



Title	In vitroにおける血管造影剤の赤血球の凝集および形態に及ぼす影響について
Author(s)	東, 静香; 安河内, 浩; 石岡, 邦明 他
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1989, 49(6), p. 748-757
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/16105
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

In vitro における血管造影剤の赤血球の凝集および 形態に及ぼす影響について

帝京大学医学部放射線科学教室

東 静香 安河内 浩 石岡 邦明 東谷 秀樹
谷部 正浩 古賀 雅久 白土 誠

（昭和63年12月7日受付）

（平成元年1月24日最終原稿受付）

The Effects of Angiographic Contrast Media on the Aggregation and the Morphology of Red Cells In Vitro

Shizuka Higashi, Hiroshi Yasukochi, Kuniaki Ishioka, Hideki Toya, Masahiro Tanibe,
Masahisa Koga and Makoto Shirato

Department of Radiology, Teikyo University School of Medicine

Research Code No. : 502

Key Words : Contrast media, Red blood cells, Aggregation,
Morphology, Light microscope

The effects of four angiographic contrast media on the aggregation and morphology of human red cells in vitro, using microscopic observations were studied. The media included an ionic contrast medium, sodium meglumine amidotrizoate (amidotrizoate); non-ionic low-osmolal contrast media, iopamidol and iohexol; and an ionic low-osmolal contrast medium, sodium meglumine ioxaglate (ioxaglate).

Strong, large aggregates formed in the control blood, without media, where aggregation of red cells was inhibited by contrast media mixed with the blood in a ratio of 2:1. Almost no aggregates were observed for amidotrizoate, an ionic contrast medium, while there were a few rouleaux formed in the presence of ioxaglate. Nearly all of the red cells aggregated in the presence of ipamidol and iohexol; iohexol produced the greater aggregation of the two. Besides rouleaux, irregular aggregates were formed with iohexol. When the contrast media were mixed with blood in a ratio of 1:2, their inhibitory effects on aggregation declined. These results clearly indicate that contrast media inhibit the in vitro aggregation of red cells, and ionic-contrast media produced more potent inhibitory effects than non-ionic media. With added NaCl and meglumine, iohexol did not induce red cell aggregation.

This suggests that ionic-contrast media have greater inhibitory effects on aggregation than non-ionic media, a result of their ionic properties.

Red cells were morphologically quite normal in the presence of ioxaglate, where most red cells were crenated in the presence of ipamidol and iohexol, and shrank in the presence of amidotrizoate. In the presence of ipamidol and iohexol with the osmolality adjusted to that of a saline solution, both normal red cells and crenation were observed. This suggests that non-ionic contrast media may directly effect morphological changes in red blood cells.

These results revealed that ioxaglate, an ionic contrast medium, was the best in vitro medium, to prevent aggregation of red cells and crenation deformity of erythrocytes.

はじめに

1960年代にトリヨードベンゼン酸系造影剤であるアミドトリゾ酸 (amidotrizoate), メトリゾ酸 (metrizoate), イオタラム酸 (iothalamate) やヨーダミド, ダイアトリゾ酸 (diatrizoate) など, イオン性造影剤が開発され急速に普及してきたが, これらの造影剤は浸透圧が人血漿と比較して5~8倍と高く, かつ生物学的活性がかなり高いため, 呼吸困難や血圧低下などの重篤な副作用を引き起こした。その後, 1970年に入り副作用の軽減をはかるため非イオン性モノマーのメトリザミド (metrizamide), イオパミドール (iopamidol), イオヘキソール (iohexol), イオプロマイド, 非イオン性ダイマーのイオトロラン, さらにイオン性ダイマーのイオキサグル酸 (ioxaglate) など, 低浸透圧造影剤が相次いで開発され, 現在では従来のイオン性造影剤に変わって使用頻度が増加しつつある。

造影剤の副作用では, アナフィラキシー反応, および中枢神経系, 腎臓・肝臓・脾臓, 心臓, 血管内皮, 肺, 血液などへの影響が報告されているが, 血液に関しては, 赤血球の形態変化^{1,2)}と凝集^{3,4)}, 血液凝固抑制作用^{5~8)}などがある。赤血球は造影剤と接触すると形態変化および凝集して手細血管血流量の減少を引き起こし, もし血球がつまると細動脈を閉塞し, 臨床上の障害を誘発するといわれており, この原因として造影剤の高浸透圧, 化学毒性が挙げられているが, 未だ不明な点が多い。

そこで今回, 四種類の造影剤を選び, *in vitro*でのヒト赤血球の形態及び凝集に対する影響に関して検討し考察したので報告する。

材料と方法

イオン性造影剤として sodium meglumine amidotrizoate(amidotrizoate) (ウログラフィン 60% ; シェーリング AG), 非イオン性低浸透圧造影剤として iopamidol (イオパミロン300 ; シェーリング AG), iohexol (オムニパーク300 ; 第一製薬), イオン性低浸透圧造影剤として sodium meglumine ioxaglate(ioxaglate) (ヘキサブリックス ; 栄研化学)を使用した。血液はヘマトクリット値40~50%の10名の健常人から採血した。

1) 赤血球の凝集

血液は採血後直ちにスライドグラス上で各溶液と良く混和し, 混合10分以後15分以内に光学顕微鏡(ニコン)にて100倍の倍率で観察した。観察順位は無作為とし, 対照として血液のみを使用した。

検討項目は, ①血液20μlと生理食塩水, ioxaglate, iopamidol, iohexol, amidotrizoateの各溶液40μl, ②血液20μlと生理食塩水, ioxaglate, iopamidol, iohexol, amidotrizoateの各溶液20μl, ③血液40μlと生理食塩水, ioxaglate, iopamidol, iohexol, amidotrizoateの各溶液20μl, ④血液20μlとNaClおよびmeglumine添加iohexolの40μl (iohexolにはそれぞれNaClを0.9mg/ml, meglumineを0.6mg/1.0mlの濃度で加え, 546mOsm/kgとする), ⑤血液20μlと546mOsm/kgのiohexolの40μl, とした。

凝集の強さは, その程度に従って次のクラスに分けた。I : ほとんど凝集を認めないか, またはところどころに小さな凝集を認める, II : 小さな凝集のなかにところどころに分離した赤血球を認める。III : 大部分凝集でかつ小さな凝集, IV : 大部分凝集でかつ大きな凝集。

2) 造影剤の赤血球の形態に及ぼす影響

血液はヘパリンと十分混和し3,000rpmで10分間遠心分離し, リン酸緩衝液で2回洗浄後血漿とbuffy coatを除去した。赤血球層の0.1mlは各溶液の0.4mlと混和して10分間インキュベーションした。混合液はスライドグラスに1滴載せ, 微分干渉光学顕微鏡(オリンパス)で400倍の倍率で観察した。

検討項目は, ①生理食塩水, ioxaglate, iopamidol, iohexol, amidotrizoateの各溶液, ②浸透

Table 1 Osmolality, iodine content and viscosity of various contrast media

Test solution	Osmolality (mOsm/Kg)	Iodine content (mg/ml)	viscosity (cP, 37°C)
0.9% NaCl	300	0	0.8
Amidotrizoate	1570	292	3.8-4.2
Ioxaglate	600	320	7.5
Iopamidol	616	300	4.4
Iohexol	690	300	6.1

Values are published results.

Table 2 Effects of various contrast media on red cell aggregation

	0.9% NaCl	Ioxaglate	Iopamidol	Iohexol	Amidotrizate
Solution : Blood 2 : 1					
Grade	I	I	II	III	I
Rouleaux formation	-	+	+	+	-
Iodine conc. mg/ml	0	213	200	200	195
Solution : Blood 1 : 1					
Grade	I	II	II	III	I
Rouleaux formation	-	+	+	+	-
Iodine conc. mg/ml	0	160	150	150	146
Solution : Blood 1 : 2					
Grade	IV	III	IV	IV	III
Rouleaux formation	+	+	+	+	+
Iodine conc. mg/ml	0	107	100	100	97

Grade I : no aggregates or only a few aggregates, Grade II : mixture of small aggregates and free red cells, Grade III : all, small aggregates, Grade IV : all, large aggregates. Iodine conc. : iodine concentration.

Control blood without addition of contrast media formed Grade IV aggregates: its rouleaux formation was (+).

Table 3 Effect of meglumine and NaCl on red cell aggregation of iohexol

Test solution	Rouleaux formation	Aggregates
Iohexol(546 mOsm/kg)	-	+
Iohexol + Mg. + NaCl(546 mOsm/kg)	-	-

Mg.=meglumine

圧を300mOsm/kgに調製したiopamidol, iohexol, amidotrizoic acidの各溶液, ③浸透圧を400mOsm/kg, 600mOsm/kg, 800mOsm/kgに調整した食塩水とした。浸透圧は氷点降下型浸透圧計（京都第一科学）を用いて測定した。

各溶液の種類及び性質はTable 1に示した。

結果

1) 赤血球の凝集

各項目の結果はTable 2, 3ならびにFig. 1, 2, 3, 4に示す通りである。対照血液の赤血球は大きな凝集を形成した。

血液20μlと各溶液40μlの混合では、生理食塩水, amidotrizoate, ioxaglateでは凝集はほとんど無いか、あるいは軽かったのに対し、iopamidol, iohexolでは大部分の赤血球は凝集し、その程度は iohexolの方がより強かった。各凝集は連

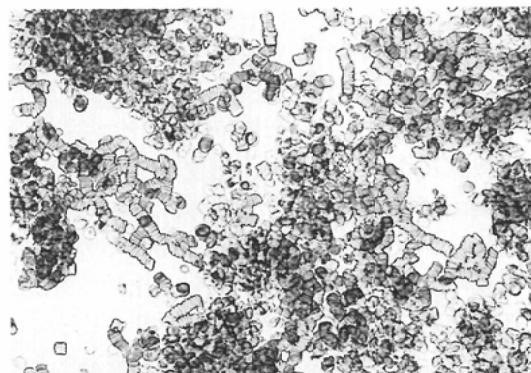


Fig. 1 Aggregation of control blood.

錢形成 (Rouleaux formation) が主であったが、iohexolでは不規則な凝集もみられた。

血液40μlと各溶液20μlの混合では全例が凝集した。その程度は生理食塩水, iohexol, iopamidolが強く、次いで ioxaglate と amidotrizoate の順であった。Amidotrizoateでは連錢形成のほかにも不規則な凝集がみられたが、大部分は連錢形成であった。

血液20μlとNaClおよびmeglumine添加のiohexol(546mOsm/kg)40μlの混合ではほとんどの赤血球は分離した。一方、浸透圧546mOsm/kgのiohexolでは大部分に小さな連錢形成や、小さ

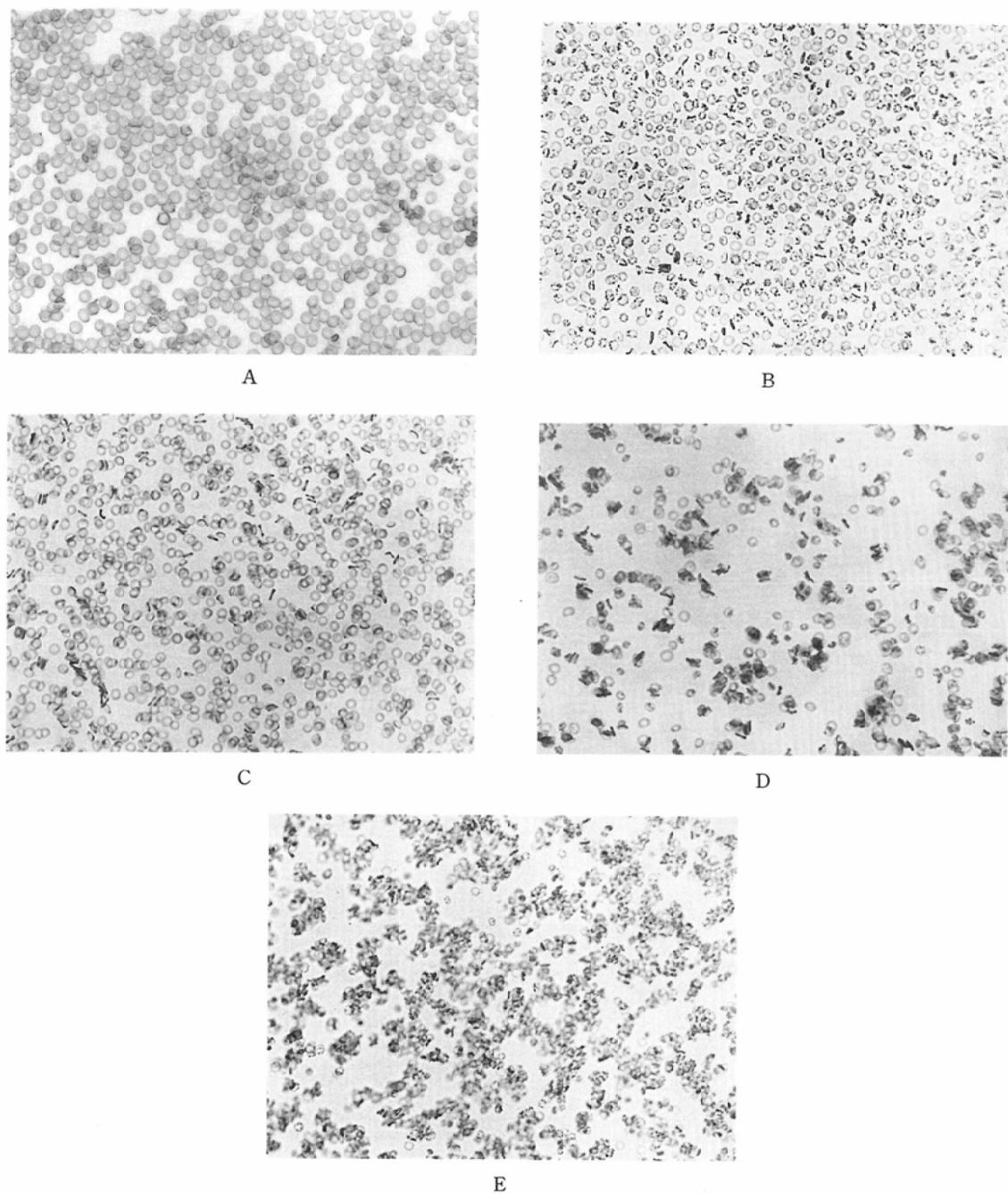


Fig. 2 Aggregation of red cells in a mixture of contrast medium and blood at 2:1.

A. 0.9% NaCl, B. Amidotrizoate, C. Ioxaglate, D. Iopamidol, E. Iohexol

く不規則な凝集を認めた。

2) 赤血球の形態

各造影剤および食塩水による赤血球の形態変化

は、Table 4 ならびに Fig. 5, 6, 7 に示した。

対照の生理食塩水では赤血球は中心が凹で円盤上の形態を示した。Ioxaglate では辺縁部がやや

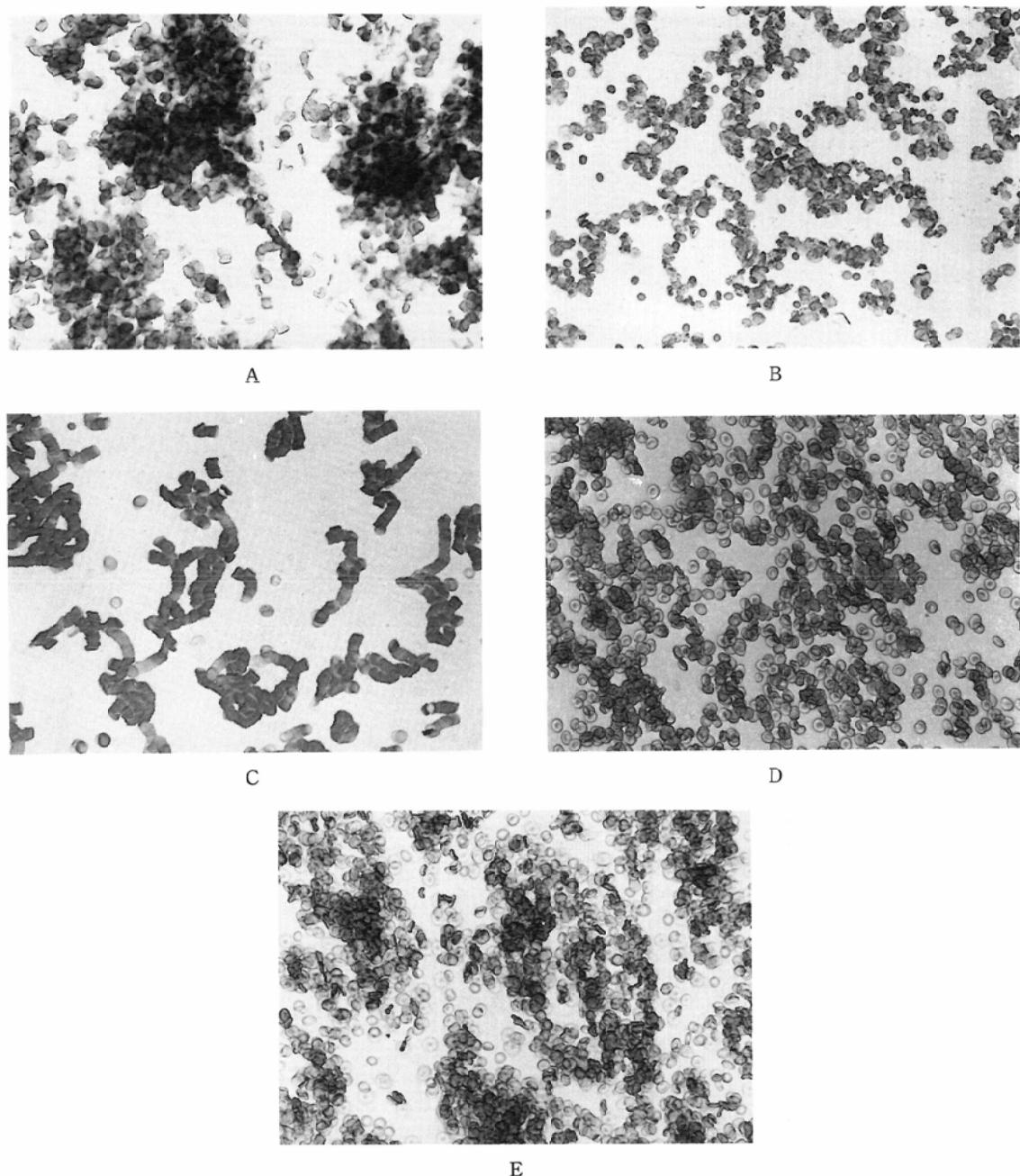


Fig. 3 Aggregation of red cells in a mixture of contrast medium and blood at 1:2.
A. 0.9% NaCl, B. Amidotrizoate, C. Ioxaglate, D. Iopamidol, E. Iohexol

不整なものと正常赤血球が混在しており、Iopamidol, iohexol では大部分が円鋸歯状赤血球に変化した。Amidotrizoate では歪み萎んだ赤血球と

なった。

生理食塩水の300mOsm/kg と同じ浸透圧に調製した iopamidol, iohexol, amidotrizoate によ

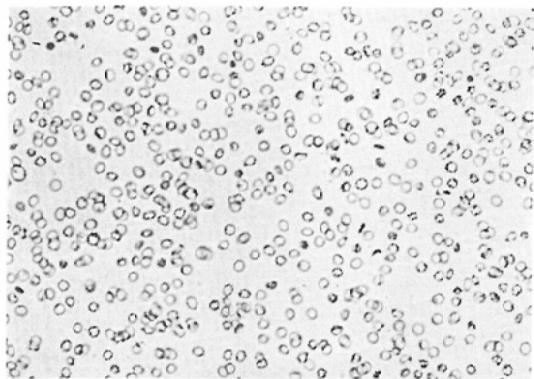


Fig. 4 Effect of meglumine and NaCl on red cell aggregation of iohexol.

Table 4 Effect of various contrast media on morphology of human red cells

Test solution	Osmolality (mOsm/kg)	Degree of deformity
NaCl solution	300*	-
NaCl solution	400*	+
NaCl solution	600*	+
NaCl solution	800*	++
Ioxaglate	600	-
Amidotrizoate	1570	++
	300*	-
Iopamidol	616	++
	300*	+
Iohexol	690	++
	300*	+

- : almost normal, + : mixture of normal with ethynocyte, ++ : almost ethynocyte, +++ : almost shrunken cells.

* : Determined by freezing point depression by us.
Other values are published results.

Terms, ethynocyte and shrunken cells were quoted from the report of Aspelin³.

る赤血球の形態変化では、iohexol, iopamidol, とともに正常赤血球と軽度の円鋸歯状赤血球が混在していた。一方、amidotrizoate では赤血球はほぼ正常形態を示した。

さらに、400mOsm/kg, 600mOsm/kg, 800mOsm/kg に調製した食塩水による赤血球の形態変化では、浸透圧が 400mOsm/kg では正常赤血球と辺縁部がやや不整な赤血球が混在し、600mOsm/kg では辺縁部がやや不整な赤血球と正常赤血球、円鋸歯状赤血球が混在していた。800

mOsm/kg では大部分の赤血球が円鋸歯状赤血球に変化した。

考 察

今回の in vitro の検討では、対照血液の赤血球では強い凝集が観察されたが、造影剤を加えると凝集は抑制され、抑制作用はイオン性造影剤の amidotrizoate や ioxaglate の方が非イオン性低浸透圧造影剤の iohexol や iopamidol よりも強かった。この結果は Aspelin らの報告³と一致している。彼らは凝集を光度測定法と光学顕微鏡とで観察しているが、対照を何も加えない血液とした時、イオン性高浸透圧造影剤では非イオン性低浸透圧造影剤よりも凝集抑制作用が強く、また造影剤の濃度が高いほどその作用は強いと報告している。一方、造影剤は赤血球凝集に対しては促進作用を有するとする Raininko らの報告⁴がある。彼らは赤血球・造影剤比を 1 : 3 の割合で混合した時の凝集を光学顕微鏡で観察しているが、対照の生理食塩水では凝集はみられず、ioxaglate で 19%, metrizamide で 59%, iopromide で 81%, iohexol と iopamidol では 91% の凝集が観察されたと報告している。我々の観察でも、対照を血液のみとすれば各造影剤は赤血球凝集抑制作用を有するといえるし、対照を生理食塩水とした場合、amidotrizoate を除き凝集促進ということがいえ、両者の主張と矛盾するものではない。

イオン性造影剤は非イオン性造影剤よりも凝集抑制作用が強いという見解はほぼ一致しているが、個々の凝集力や連鎖形成、不規則な凝集の存在比も報告により違いがみられる^{3,4)}。これは混合する赤血球と造影剤との量の比率、抗凝固剤の有無、混合の有無などの条件により差がでてくるものと思われる。

赤血球凝集抑制機序については、イオンの存在が関与しているらしいと推測されているが詳細には不明である。そこで我々は、実際に最も凝集の強かった iohexol に meglumine と NaCl を添加し、iohexol による凝集がどのように変化するかを検討した。その結果、実際にイオン性造影剤に使用されている量の約 1/10 の濃度の meglumine と NaCl で、赤血球の凝集は分散してバラバラとな

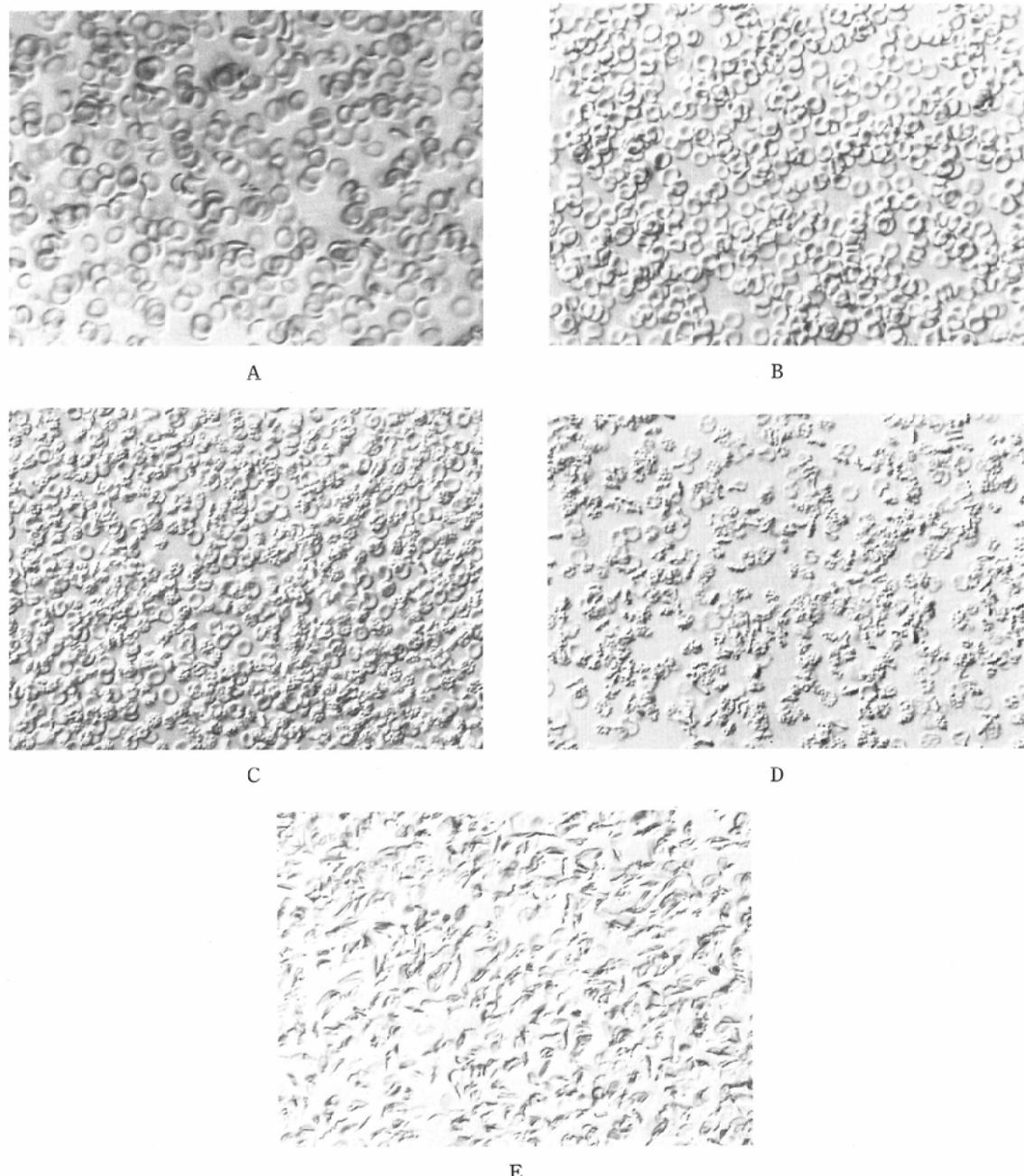


Fig. 5 Morphological change in red cells induced by contrast media.
A. 0.9% NaCl, B. Ioxaglate, C. Iopamidol, D. Iohexol, E. Amidotrizoate

り、イオン性造影剤に添加されている meglumine と NaCl が赤血球凝集抑制に関与していることが明らかとなった。

ところで、イオンの添加により浸透圧が上昇す

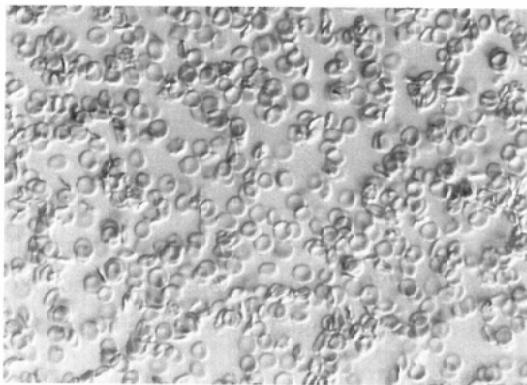
ることは知られているが、この浸透圧の上昇により凝集が分散したのではないかという疑問が生じるかも知れない⁹⁾。しかし、545mOsm/kg の iohexol で認められた凝集が同じ浸透圧の meg-



A



B



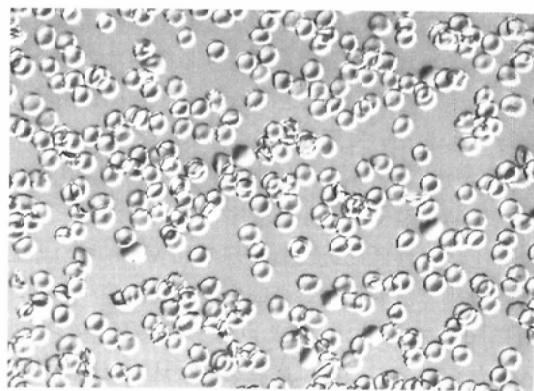
C

Fig. 6 Morphological change in red cells induced by contrast media adjusted to 300mOsm/kg.
A. Iopamidol, B. Iohexol, C. Amidotrizoate

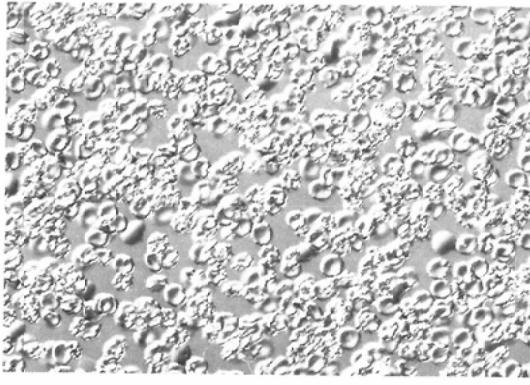
lumine, NaCl 添加 iohexol で全く認められなかつたことから、赤血球凝集抑制にイオンが関与していると考えるのが妥当であろう。

平成元年 6 月 25 日

(37)



A



B



C

Fig. 7 Morphological change in red cells induced by NaCl solution adjusted to 400mOsm/kg, 600mOsm/kg and 800mOsm/kg.
A. 400mOsm/kg NaCl, B. 600mOsm/kg NaCl, C. 800mOsm/kg NaCl

また、円鋸歯状赤血球に変化した赤血球が凝集を加速する³⁾、もしくは抑制するのではないかと考えられている⁹⁾が、我々の観察では、一般に正常

形態の赤血球では連鎖を形成し易く、円鋸歯状赤血球では不規則な凝集を形成する傾向はみられるが、イオンを添加すると重なり合った円鋸歯状赤血球でもお互いに反発するように離れていくのが観察されることから、凝集の原因が形態変化にあるとは考え難く、詳しい機序は不明である。

非イオン性低浸透圧造影剤の *in vitro* での赤血球の凝集や形態変化および血液凝固に基づく副作用に関しては¹⁰⁾、アメリカにおいては造影剤に入ったシリンジの中に血液を吸い込んだ時に形成された血栓が6カ月で10件あったが、血栓性合併症の症例報告はなく、他方、赤血球凝集によると思われる iopamidol の重篤な塞栓症が1,750例中2例報告¹¹⁾されている。これらの報告および我々の実験からも明らかなように、非イオン性低浸透圧造影剤による使用時には、カテーテル内で血液との長時間の接触を避け、赤血球凝集を生じないことが重要と思われる。

次に *in vivo* での赤血球凝集との関連について若干考察すると、古くより高浸透圧造影剤を血管注入すると微小循環の赤血球凝集が起こり、血流速度が減少して血圧が上昇することが観察されてきた¹²⁾¹³⁾。1973年には、ウサギを用いた実験でイオン性高浸透圧造影剤の metrizoate は非イオン性低浸透圧造影剤の metrizamide よりも肺動脈圧を上昇させ、この原因としてイオン性高浸透圧造影剤は非イオン性低浸透圧造影剤よりも赤血球をより凝集するからであろうと考えられた¹⁴⁾。これらの報告のように、イオン性高浸透圧造影剤が *in vivo* では赤血球凝集を促進するならば、*in vitro* での結果と矛盾することになる。しかし、どの報告も微小循環での赤血球凝集を実際に顕微鏡で観察してはおらず、凝集の状態は不明である。*In vivo* では *in vitro* とは異なり赤血球の形態変化が凝集に積極的に関与しているとする報告¹⁵⁾もあり、*in vitro* とは異なる機序が存在すると思われる。

造影剤の赤血球の形態変化への影響に関しては、多くの報告がある¹⁾²⁾¹⁶⁾¹⁷⁾が、我々の検討ではイオン性高浸透圧造影剤の amidotrizoate では歪み萎み硬縮した赤血球となり、非イオン性低浸透

圧造影剤である iopamidol と iohexol では大部分が円鋸歯状赤血球に変化した。これらの変化の主原因は浸透圧にあると思われる。つぎに、300mOsm/kg に調整した amidotrizoate ではほとんどが正常赤血球であるのに、300mOsm/kg の iopamidol と iohexol でかなりの円鋸歯状赤血球が観察された。この結果は Aspelin の報告²⁾と一致するもので、彼は、非イオン性造影剤による形態変化の原因は、浸透圧のみならず赤血球膜への化学毒性作用によるものがあると説明している。しかし、化学毒性のほか造影剤の粘度¹⁸⁾、分配係数¹⁹⁾なども影響を与える因子とする報告もあり、なお今後の検討が必要である。さらに、600mOsm/kg の ioxaglate でなぜ形態変化が少ないのでかに關しても、現在不明である。

以上、*in vitro* では赤血球凝集および形態変化の両面を考慮すると、イオン性低浸透圧造影剤の ioxaglate が最も優れた造影剤といえよう。

ま と め

1. 対照血液の赤血球では強い凝集が観察されたが、造影剤を加えると凝集は抑制され、抑制作用はイオン性造影剤の amidotrizoate, ioxaglate が非イオン性低浸透圧造影剤の iohexol, iopamidol よりも強かった。また、血液・造影剤比を高くすると抑制作用は低下した。

2. 最も凝集の強かった iohexol に meglumine と NaCl を添加すると赤血球の凝集は分散し、イオンの性質が赤血球凝集抑制に関与していることが示唆された。

3. 赤血球の形態変化に関しては、amidotrizoate で最も強く、ついで iopamidol と iohexol の順であった。ioxaglate では形態変化は最も軽かった。

4. 300mOsm/kg に調整した iopamidol と iohexol で円鋸歯状赤血球が存在したことから、非イオン性低浸透圧造影剤による形態変化は、浸透圧のみならず赤血球膜への化学毒性作用によるものと考えられた。

5. *In vitro* では赤血球の凝集および形態変化の両面に対し、イオン性低浸透圧造影剤の ioxaglate が最も優れた造影剤といえる。

文 献

- 1) Aspelin P: Effect of ionic and non-ionic contrast media on morphology of human erythrocytes. *Acta Radiol Diagn* 19: 675—687, 1978
- 2) Aspelin P: Effect of ionic and non-ionic contrast media on red cell deformability in vitro. *Acta Radiol Diagn* 20: 1—12, 1979
- 3) Aspelin P, Schmid-Schönbein H: Effect of ionic and non-ionic contrast media on red cell aggregation in vitro. *Acta Radiol Diagn* 19: 766—784, 1978
- 4) Raininko R, Ylinen S-L: Effect of ionic and non-ionic contrast media on aggregation of red blood cells in vitro. A preliminary report. *Acta Radiol* 28: 87—92, 1987
- 5) Rao AK, Roa VM, Willis J, et al: Inhibition of platelet function by contrast media: Iopamidol and ioxaglate versus iothalamate. Work in progress. *Radiology* 156: 311—313, 1985
- 6) Dawson P, Hewitt P, Mackie IJ, et al: Contrast, coagulation, and fibrinolysis. *Invest Radiol* 21: 248—252, 1986
- 7) Engelhart JA, Smith DC, Bull BS, et al: Aspirated blood and low-osmolality contrast agents: An embolic hazard? *Radiology Suppl* 165: 152, 1987
- 8) Mosier LD, Joist JH, Chance D, et al: An in vitro effects of ionic and nonionic contrast media on coagulation, platelet function and fibrinolysis. *Radiology Suppl* 165: 62, 1987
- 9) Aspelin P, Birk A, Almén A, et al: Effect of iohexol on human erythrocytes. II. Red cell aggregation in vitro. *Acta Radiol Suppl* 362: 123—126, 1980
- 10) Robertson HJF: Blood clot formation in angiographic syringes containing nonionic contrast media. *Radiology* 163: 621—622, 1987
- 11) Bashore TM, Mark DB, Davidson C, et al: Iopamidol use in the cardiac catheterization laboratory: Initial experience in 1750 patients. *Diagn Imaging Suppl* 19: 22, 1987
- 12) Johnson JH, Krisely MH: Intravascular agglutination of the flowing blood following the injection of radiopaque contrast media. *Neurology* 12: 560—569, 1962
- 13) Björk L: Effect of angiography on erythrocyte aggregation in the conjunctival vessels. *Acta Radiol Diagn* 6: 459—464, 1966
- 14) Almén T, Aspelin P: Cardiovascular effects of ionic monomeric, ionic dimeric and non-ionic contrast media. Effects in animals on myocardial contractile force, pulmonary and aortic blood pressure and aortic endothelium. *Invest Radiol* 10: 557—563, 1975
- 15) Dawson P, Harrison MJG, Weisblatt E: Effect of contrast media on red cell filtrability and morphology. *Brit J Radiol* 56: 707—710, 1983
- 16) Schiantarelli P, Peroni F, Tirone P, et al: Effects of iodinated contrast media on erythrocytes. I. Effects of canine erythrocytes on morphology. *Invest Radiol* 8: 199—209, 1973
- 17) Aspelin P, Stöhr-Liessen M, Almén T: Effect of iohexol on human erythrocytes. I. Changes of red cell morphology in vitro. *Acta Radiol Suppl* 362: 117—122, 1980
- 18) 隅崎達夫, 上坂伸宏: 造影剤の赤血球膜への影響, 日獨医報, 31: 488—499, 1986
- 19) Yamazaki T, Suzuki T, Sakamoto T, et al: Effects of radiographic contrast media on human erythrocyte. Proceedings International Symposium on Contrast Media, Tokyo, 169—176, 1987