



Title	イオン性低浸透圧造影剤(Ioxaglate)の赤血球膜に及ぼす作用
Author(s)	岡田, 進; 朝日, 良一; 田島, なつき 他
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1987, 47(5), p. 729-744
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/18110
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

イオン性低浸透圧造影剤（Ioxaglate）の赤血球膜に及ぼす作用

日本医科大学放射線医学教室・付属第一病院放射線科（教授：加藤 富三）

岡 田 進 朝 日 良 一

日本医科大学放射線医学教室（主任教授：恵畑 欣一）

田 島 なつき 隈 崎 達 夫

関東通信病院血液内科（部長：新谷 和夫）

長 谷 川 節 雄

日本医科大学第一生理学教室（主任教授：品川 嘉也）

菊 池 洋 史 上 坂 伸 宏

（昭和61年9月16日受付）

（昭和61年10月28日最終原稿受付）

Effect of Ionic Low-Osmolality Contrast Medium (Ioxaglate) on Erythrocyte Membrane

Susumu Okada and Ryouichi Asahi

Department of Radiology, Nippon Medical School 1st Hospital

(Director: Prof. Tomizo Kato)

Natsuki Tajima and Tatsuo Kumazaki

Department of Radiology, Nippon Medical School

(Director: Prof. Kinichi Ebata)

Setsuo Hasegawa

Department of Hematology, Kanto Teishin Hospital

(Director: Kazuo Niitani)

Hiroshi Kikuchi and Nobuhiro Uyesaka

1st Department of Physiology, Nippon Medical School

(Director: Prof. Yoshiya Shinagawa)

Research Code No. : 502

Key Words : Contrast media, Ioxaglate, Erythrocytes, Osmolality, Viscosity

The effect of radiographic contrast media on erythrocyte membrane was investigated systematically by the measurement of osmotic fragility, volume change, shape change and viscosity of red cell suspension, setting osmolality, viscosity and iodine content in order. Marked decrease in osmotic fragility induced by contrast media was observed. The volume change of erythrocytes showed that the permeability of contrast molecule across membrane was lower than that of NaCl. There was a little difference in blood viscosity under the isoosmolality condition (300 mOsm/kgH₂O) between ioxaglate solution (1.46 cp), iothalamate solution (0.96 cp) and NaCl solution (0.8 cp), and little shape change was induced by ioxaglate and by iothalamate under this condition. It became evident that the difference in blood viscosity was due mainly to the difference in viscosity of contrast solution. Metrizamide caused striking shape change and increase in blood viscosity under this condition. Increase in blood viscosity was induced by hypertonic iothalamate solution under the condition of equal viscosity (1.29 cp, 641

mOsm/kgH₂O) and of equal iodine content (115 mgI/ml, 668 mOsm/kgH₂O). These hypertonic iothalamate solutions caused also remarkable shape changes, which were agreed with the shape changes induced by hypertonic NaCl solution (661 mOsm/kgH₂O). Ioxaglate solution, which osmolality was almost isotonic under these conditions, had less rheological and morphological effect on erythrocytes than iothalamate solution. It was made clear that rheological effect of contrast solution originated not only in the viscosity of contrast solution but in the osmolality of it. There were little difference in blood viscosity and in red cell shape between ioxaglate, iothalamate and NaCl solution under the physiological condition (300 mOsm/kgH₂O, 15.0 mgI/ml, 0.8 cp). Metrizamide, however, caused obvious shape change and increase in blood viscosity even under this condition. It appeared that the effect of metrizamide solution on erythrocyte membrane was not attributable to the viscosity and to the osmolality but to the loss of membrane stability induced by some direct effect of metrizamide on cell membrane. This study showed also that the iodine conjugated in contrast compound was less toxic than free iodine ion.

In conclusion, it was revealed that the membrane stability of erythrocytes should not be changed by contrast media, and that the osmolality of contrast solution was more important factor than the viscosity and the iodine content of it concerning on the physiological behavior of erythrocytes.

1. はじめに

今日、水溶性ヨード造影剤は放射線医学的検査に於いてきわめて重要な位置を占めている。旧くは、Osborne ら¹⁾の NaI による尿路系の造影に端を発し、尿路系、血管系などの造影には常にヨード化合物が用いられてきた。一方、造影剤投与に伴うショック、疼痛、循環動態の変化などの副作用に対し常に関心が持たれてきた²⁾。近年、非イオン化、ダイマー化などの技術により、従来の造影剤に比べ、浸透圧を1/2~1/3に低下させた所謂低浸透圧造影剤が開発され、すでにすぐれた臨床評価をうけている^{3)~5)}。これら新しい造影剤の誕生にも触発されて、造影剤の生体に及ぼす影響についてますます興味をもたれるようになってきた。

ところで、最近、赤血球の deformability (変形能) が循環動態を左右する重要な因子として注目されている⁶⁾。造影剤の赤血球膜に及ぼす影響についても数多くの報告があるが^{7)~12)}、それらはいずれも造影剤を単に添加又は希釈した実験であり、試験溶液の浸透圧、ヨード含有量、粘度及び pH など物理的及び生理的条件を整えた実験がなされていない。先に我々は、上記条件を整えて赤血球の形態を観察し、各因子の赤血球膜に対する作用について簡単な報告をした¹³⁾。今回、さらに詳細な形態変化の研究に加え、浸透圧脆弱性、容積

変化、血液粘度に関する定量的な実験を行い、造影剤の赤血球膜に対する作用を系統的に調べ、新しく開発された低浸透圧造影剤 ioxaglate の有効性について検討したので報告する。

2. 試料と方法

赤血球は健康男子の肘静脈より採血し、抗凝固剤として Heparin 10U/ml を使用した。血球は 800G×10分遠沈後、plasma 及び buffy coat を除去し、HEPES buffer 10mM で pH 7.4 に調整した 300mOsm/kgH₂O NaCl 溶液で 3 回洗浄した。容積変化は室温で、浸透圧脆弱性試験、粘度測定及び形態変化の実験は 37℃ で行った。使用造影剤は iothalamate (第一製薬)、ioxaglate (Guerbet 社)、metrizamide (日本シェーリング) の 3 種類である。metrizamide は近年開発された非イオン性造影剤で、一方、ioxaglate はモノアシッドダイマーの形をとるイオン性造影剤であり、iothalamate に比べ、いずれも浸透圧が低いのが特徴である。

1) 浸透圧脆弱性試験

従来の常法により行った。即ち、造影剤及び NaCl 溶液に各々 HEPES buffer 10mM を加えて pH を 7.4 に調整し、200~20mOsm/kgH₂O の浸透圧勾配を作製、これに洗浄赤血球を加え 37℃ 1 時間 incubate 後遠沈し、上清の吸光度 (O.D. 540

nm)を測定して溶血度を求めた。浸透圧は永点降下型浸透圧計 (Precision systems, Inc. Osmette A) を用いて測定した。

2) 赤血球の容積変化

ヘマトクリット(Hct.)法により、浸透圧変化に伴う赤血球の容積変化を測定した。造影剤は溶液の比重が大きく、遠沈に際し赤血球が沈降せず、Hct. 値が測定できない場合が多い⁸⁾¹¹⁾。それで測定可能であったiothalamateを用いて実験を行った。iothalamate及びNaCl溶液に各々HEPES buffer 10 mM を加え pH 7.4 とし、210~450mOsm/kgH₂O の浸透圧勾配を作製した。これにHct. 値78%の洗浄赤血球を等量加え、室温にて30分 incubate 後、12,000rpm にて10分間遠沈し、Hct. 値を測定した。試験溶液と洗浄赤血球の混合によって溶液の濃度は変化し、浸透圧の最終値は226~423mOsm/kgH₂O となった。赤血球の浸透圧変化に伴う容積変化は Ponder の式 (Van't Hoff 式と等価) に従う事が知られている¹⁴⁾。

$$V = RW \left(\frac{1}{T} - 1 \right) + 100$$

ここで V は細胞容積、W は浸透圧変化に応じる細胞内の水の量、R は Ponder の補正係数、T は tonicity、100 は等張液での細胞の容積を表す。実験結果は Ponder の plot を用いて解析した。

3) 赤血球浮遊液の粘度及び赤血球の形態変化

すべての試験溶液は HEPES buffer 10mM を用い pH を 7.4 に調整した。造影剤を蒸留水で希釈し、試験溶液の浸透圧を 300mOsm/kgH₂O に調整した系(a)、試験溶液の粘度を 1.4cp に調整した系(b)、試験溶液のヨード含有量を 140mgI/ml に調整した系(c)を作製した。次に、300mOsm/kgH₂O の造影剤溶液と 300mOsm/kgH₂O の NaCl 溶液を適当に置換し、試験溶液のヨード含有量を 300mOsm/kgH₂O の NaI 溶液のヨード含有量に相当する 18.3mgI/ml に調整した系(d)を作製した。この時実験精度内 (±0.05cp) で各試験溶液の粘度もすべて等しく 0.8cp であった。以上 4 実験系の各試験溶液の浸透圧、粘度及びヨード含有量を Table 1 の () 内に示す。ヨード含有量は計算値、浸透圧と粘度の値は実測値である。赤血球浮

遊液は、Hct. 値78%の洗浄赤血球に各試験溶液を等量加え、粘度測定と形態変化の実験に用いた。従って、試験液溶の濃度が変化するので、比例計算で求めた 4 実験系の浸透圧、粘度及びヨード含有量の最終値を Table 1 に示す。すべての実験系において 300mOsm/kgH₂O の NaCl 溶液による実験を行い対照とした。

更に、浸透圧及びヨードが赤血球形態に及ぼす作用を明確にするために以下の実験を行った。浸透圧効果は、NaCl 溶液により 220, 300, 420, 460, 740, 2,200mOsm/kgH₂O (最終値: 234, 300, 398, 431, 661, 1,857mOsm/kgH₂O) の浸透圧溶液を作製して調べた (e)。ヨードについては、溶液のヨード含有量を各々 25, 30mgI/ml (最終値: 20.5, 24.6mgI/ml) とした NaI 及び ioxaglate 溶液を作製して調べた。この際 NaI 溶液の浸透圧は各々 339, 474mOsm/kgH₂O (最終値: 332, 443mOsm/kgH₂O) であったが、ioxaglate 溶液の浸透圧も NaCl 溶液を適宜加える事により同一に調整した (f)。

粘度は、室温にて10分間 preincubate し、37℃にて5分間 incubate 後、円錐平板粘度計(東京計器)を用い、37℃でずり速度 3.83sec⁻¹ (1rpm) から 192.00sec⁻¹ (50rpm) の範囲で測定した。赤血球浮遊液のみかけの粘度をずり速度に対して plot するとともに、更にその Casson plot をとって解析した。赤血球浮遊液の粘度は Casson の式

$$\sqrt{\dot{\gamma}} = \frac{1}{\sqrt{\eta_c}} (\sqrt{\tau} - \sqrt{f_c})$$

によく従う事が知られている⁶⁾¹⁵⁾¹⁶⁾。ここで $\dot{\gamma}$ はずり速度、 τ はずり応力、 η_c は Casson 粘度、 f_c は Casson 降伏値を表す。

赤血球の形態変化は、NaCl を適宜添加して、浸透圧を実験に用いた赤血球浮遊液の浸透圧と等しくした 1%glutaraldehyde 溶液 (25mM phosphate buffer, pH 7.4) にて固定後、TMD 透過型微分干渉顕微鏡 (Nikon) を用い 400 倍で調べた。

3. 結 果

1) 浸透圧脆弱性試験

赤血球膜の浸透圧脆弱性に及ぼす造影剤の効果を Fig. 1 に示す。50%溶血値は NaCl 132mOsm/

Table 1 Experimental conditions to study the effect of contrast media on blood viscosity and red cell shape. (see Materials and Methods)

Experimental conditions	Test solution	Visc. (cp)	Osm. (mOsm)	Icontent (mg/ml)
a) iso-osmolality	iothalamate	0.96 (1.0)	300 (300)	45.1 (55.0)
	ioxaglate	1.46 (1.6)	300 (300)	121 (148)
	metrizamide	1.54 (1.7)	300 (300)	127 (155)
	NaCl	0.8 (0.8)	300 (300)	— —
b) equal viscosity	iothalamate	1.29 (1.4)	641 (716)	109 (133)
	ioxaglate	1.29 (1.4)	278 (273)	110 (134)
	metrizamide	1.29 (1.4)	271 (264)	107 (130)
	NaCl	0.8 (0.8)	300 (300)	— —
c) equal iodine content	iothalamate	1.29 (1.4)	668 (749)	115 (140)
	ioxaglate	1.37 (1.5)	293 (291)	115 (140)
	metrizamide	1.37 (1.5)	284 (280)	115 (140)
	Nal	0.8 (0.8)	1919 (2275)	115 (140)
	NaCl	0.8 (0.8)	300 (300)	— —
d) equal osmolality, viscosity and iodine content	iothalamate	0.8 (0.8)	300 (300)	15.0 (18.3)
	ioxaglate	0.8 (0.8)	300 (300)	15.0 (18.3)
	metrizamide	0.8 (0.8)	300 (300)	15.0 (18.3)
	Nal	0.8 (0.8)	300 (300)	15.0 (18.5)
	NaCl	0.8 (0.8)	300 (300)	— —

kgH₂O, iothalamate 75 mOsm / kgH₂O, metrizamide 71mOsm/kgH₂O, ioxaglate 57mOsm/kgH₂O と、いずれの造影剤も、NaCl に比べ顕著な浸透圧溶血抵抗の増大(浸透圧脆弱性の減少)を引き起こした。浸透圧脆弱性には溶質の赤血球膜に対する直接作用のみならず、溶質分子の赤血球膜透過性も関与しているので¹⁴⁾、以下の実験を行った。

2) 赤血球容積変化

造影剤の赤血球膜透過性を調べるために、容積変化の実験を行った。iothalamate 溶液及び NaCl による容積変化の Ponder の plot を Fig. 2 に示す。Ponder の plot の傾きは各々の溶液で等しかったが、iothalamate によって赤血球の容積は NaCl に比べて2.6%減少した。この iothalamate による容積減少は、浸透圧効果で表すと等張付近で NaCl に比べ21mOsm/kgH₂O の差に相当する (Fig. 2)。Ponder の plot において、傾きは浸透圧

変化に応じる細胞内の水の量を意味し、傾きが等しい事は浸透圧挙動が等しい事を意味する¹⁴⁾。従って、iothalamate による赤血球容積の減少は、iothalamate の赤血球膜透過性が低い事を示している。

(3) 赤血球浮遊液の粘度及び赤血球の形態変化

a) 等浸透圧条件

等浸透圧条件下では、各造影剤溶液の粘度及びヨード含有量は各々異なる値を示している (Table

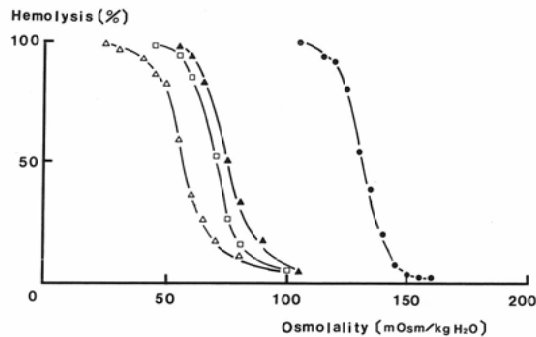


Fig. 1 Effect of contrast media on osmotic fragility of erythrocytes.

●: NaCl solution, ▲: iothalamate solution, □: metrizamide solution, △: ioxaglate solution.

1). iothalamate のみかけの粘度 (Fig. 3A) 及び Casson 粘度 (Fig. 3B) は NaCl に比べてわずかに増し、又、ioxaglate のそれらは iothalamate よりわずかに増していたが、Casson 降伏値 (Fig.

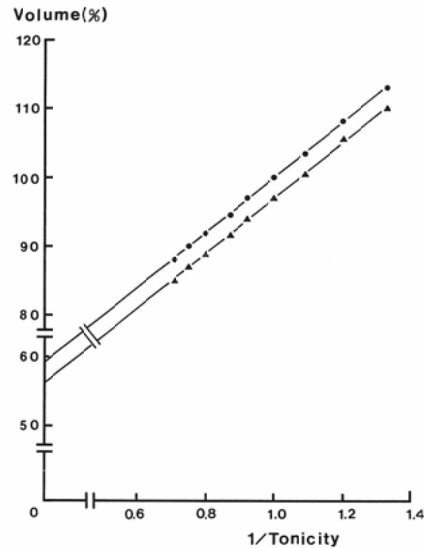


Fig. 2 Volume changes in red cells when immersed in NaCl (●), iothalamate (▲) solutions of various tonicity.

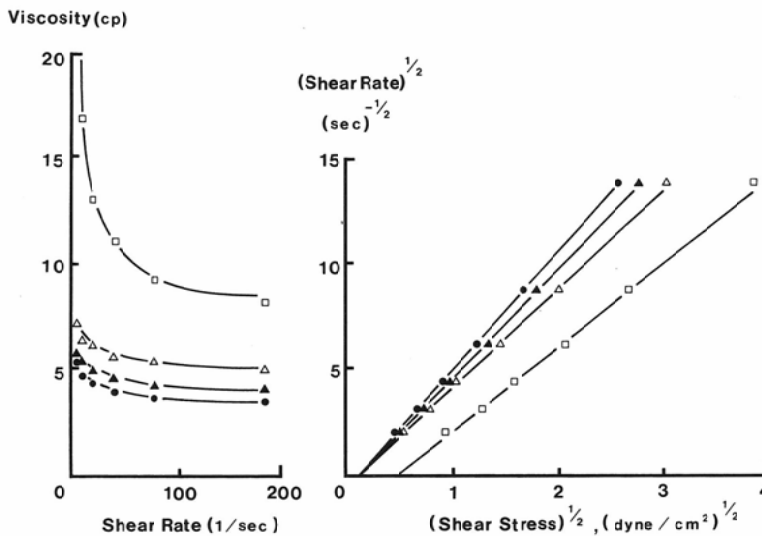


Fig. 3 Viscosity of red cell suspension under the condition of iso-osmolality.

(A): apparent viscosity as a function of shear rate, (B): Casson's plot of (A)

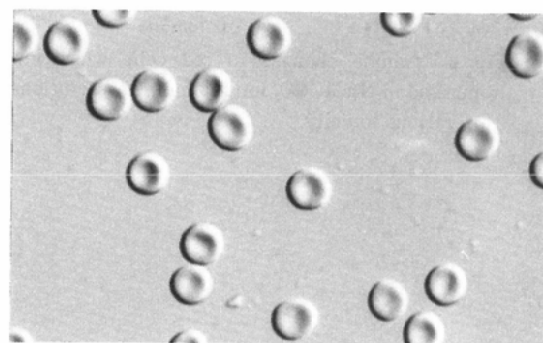
●: NaCl solution, ▲: iothalamate solution, △: ioxaglate solution, □: metrizamide solution

3B)に差異はみられなかった。metrizamide は、みかけの粘度、Casson 粘度のみならず、Casson 降伏値をも著しく増大させた (Fig. 3)。次に、同一条件下で各溶液が赤血球膜の形態に及ぼす作用を調べた。ioxaglate 及び iothalamate ではほとんど形態変化がみられなかったが、metrizamide は著しい形態変化を引き起こし、すべての赤血球を echinocyte II, III に変化させた (Fig. 4)。以上より、iothalamate に比べ、ioxaglate によって赤血球浮遊液の粘度 (以下、血液粘度と記す) がわずかに上昇したのは、赤血球膜の変形による結果ではなく、ioxaglate 溶液の粘度 (1.46cp) が iothalamate (0.96cp) よりも高い為である事が判明した。metrizamide による血液粘度と降伏値の顕著な増大は、溶液粘度が高い (1.54cp) 事にもよるが、ioxaglate 溶液の粘度 (1.46cp) を考慮すると、これのみでは他剤では認められない降伏値の増大

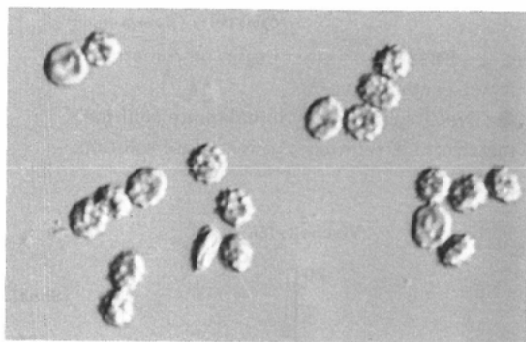
を説明しえず、metrizamide が引き起こした著しい形態変化の関与が強く示唆された。

b) 等粘度条件

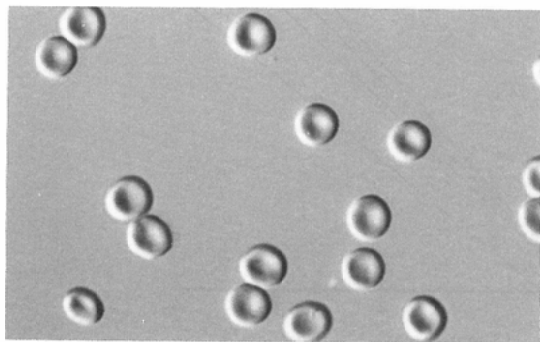
等張条件では溶液の粘度が異なるため、次に溶液の粘度を一定 (1.29cp) にした実験 (Table 1) を行った。NaCl に比べ、ほぼ等張な ioxaglate 溶液 (278mOsm/kgH₂O) はわずかに血液粘度を増したに過ぎないが、高張な iothalamate 溶液 (641 mOsm/kgH₂O) は Hct. 値の減少にもかかわらず明らかな血液粘度の増大を引き起こした。metrizamide 溶液 (271mOsm/kgH₂O) はほぼ等張であったが、血液粘度のみならず、降伏値をも増大させた (Fig. 5)。形態変化を調べた結果、ioxaglate は NaCl 溶液とほとんど変わらず、明らかな形態変化はみられなかったが、iothalamate は echinocyte II, III の混在を引き起こし、一部の赤血球を shrink させた。以下に示すように、この形



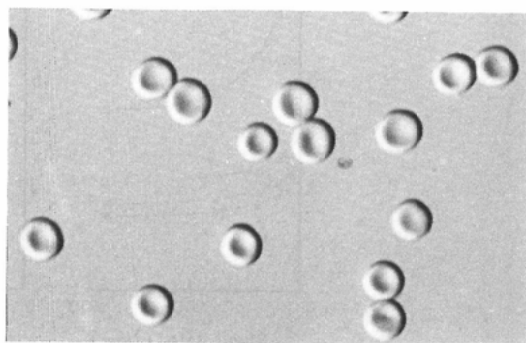
A



B



C



D

Fig. 4 Red cell shape under the condition of iso-osmolality.

(A): NaCl solution, (B): metrizamide solution, (C): iothalamate solution, (D): ioxaglate solution

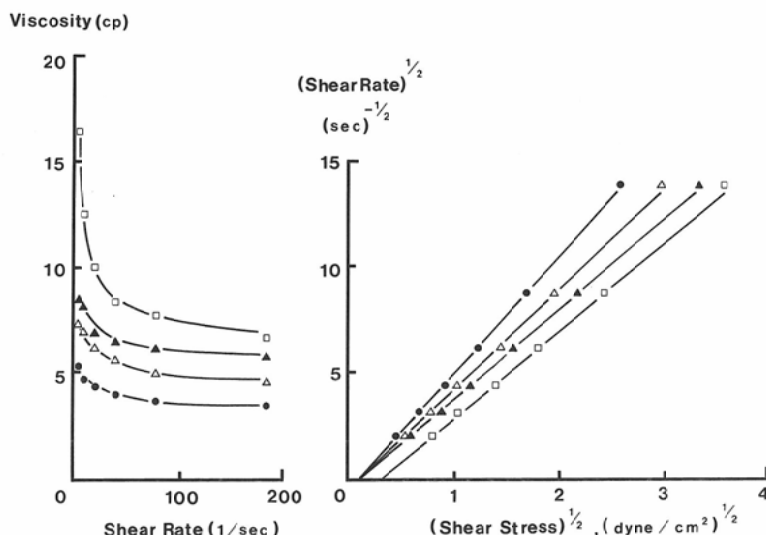


Fig. 5 Viscosity of red cell suspension under the condition of equal viscosity. (A): apparent viscosity as a function of shear rate, (B): Casson's plot of (A) ●: NaCl solution, △: ioxaglate solution, ▲: iothalamate solution, □: metrizamide solution

態変化は661mOsm/kgH₂OのNaCl溶液による形態変化とほぼ等しいものであった (Fig. 11E). 即ち, この iothalamate による形態変化は, 一部には iothalamate の直接的な作用もあるが, 主として iothalamate 溶液の浸透圧 (641mOsm/kgH₂O) による事が判明した. metrizamide は著しい形態変化を引き起こし, 全ての赤血球が echinocyte II, III に変形していた (Fig. 6). 以上より, 本条件下で iothalamate によって血液粘度の増大をみたのは, 主として高浸透圧下で赤血球の変形能が低下した為である事が判明した. 又, この実験によって, metrizamide の作用は, 溶液の粘度や浸透圧のみによるものではなく, 赤血球膜に対し何らかの強い直接的な作用を及ぼした結果である事が明らかになった.

c) 等ヨード含有量条件

優れた造影能を得るためには充分なヨード含有量が必要であり, 又, 同じヨード含有量の場合には, 生体への影響が少ない造影剤が望ましい. そこでヨード含有量を調整した実験 (Table 1) を行った. 尚, NaI 溶液を用い, free のヨードとベンゼン環に結合したヨードの差異についても調べ

た. 血液粘度は高い方から, NaI > metrizamide > iothalamate > ioxaglate の順であった. NaI 及び metrizamide は Casson 降伏値も増大させたが, NaI の方がより大きな値であった (Fig. 7). 形態変化に関しては, iothalamate は echinocyte II, III 及び shrunken cell を出現させたが, ioxaglate ではほとんど形態変化を認めなかった. metrizamide はすべての赤血球を echinocyte II, III に変えた. 極めて高張な NaI 溶液 (1,919mOsm/kg H₂O) はすべての赤血球を高度に shrink させた (Fig. 8). iothalamate 溶液 (668mOsm/kgH₂O) が ioxaglate 溶液 (293mOsm/kgH₂O) に比べて赤血球膜に強い作用を及ぼしたのは, 等粘度条件下の実験でも明らかにされたように浸透圧が高いためである. NaI 溶液でみられた赤血球膜に対する著しい作用は, shrunken cell が如実に示すように, 主として溶液 (1,919mOsm/kgH₂O) が極めて高張である事によるが, 1,857mOsm/kgH₂O の NaCl 溶液による形態変化 (Fig. 11F) に比べて echinocyte 様の形態変化が顕著にみられ, 以下の項 (f) に示すように, free のヨードによる影響も相俟っている事が示唆された.

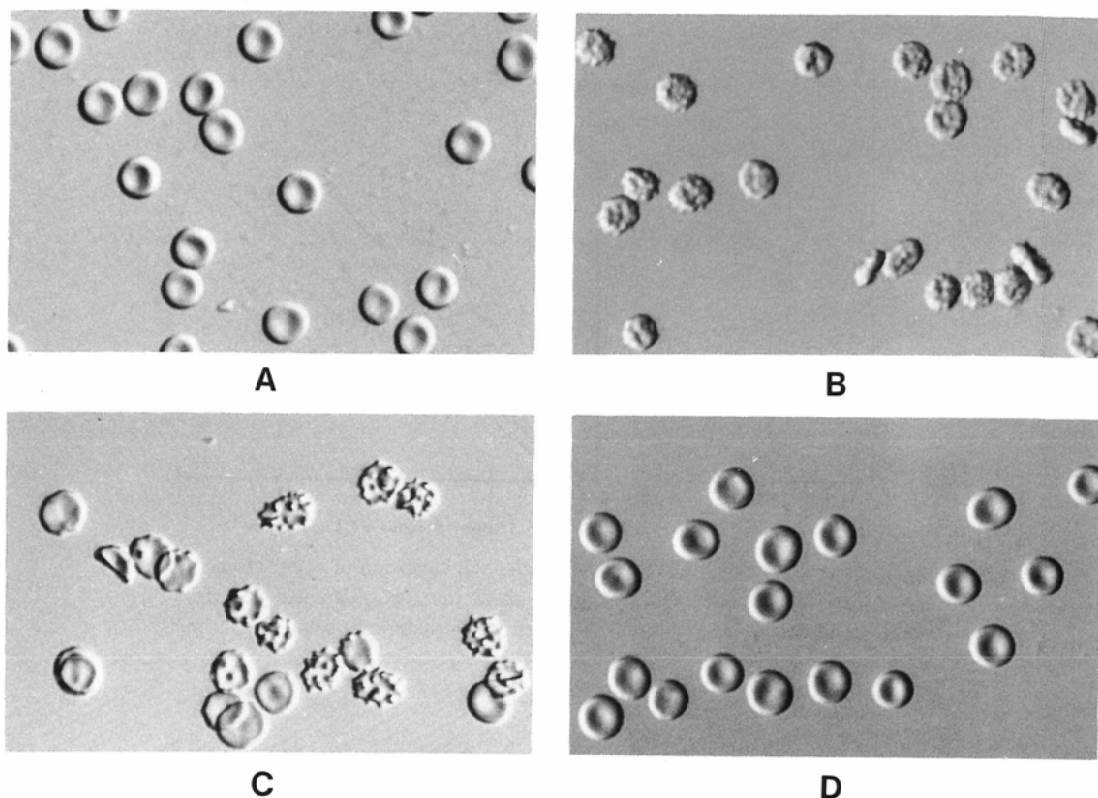


Fig. 6 Red cell shape under the condition of equal viscosity.

(A): NaCl solution, (B): metrizamide solution, (C): iothalamate solution, (D): ioxaglate solution

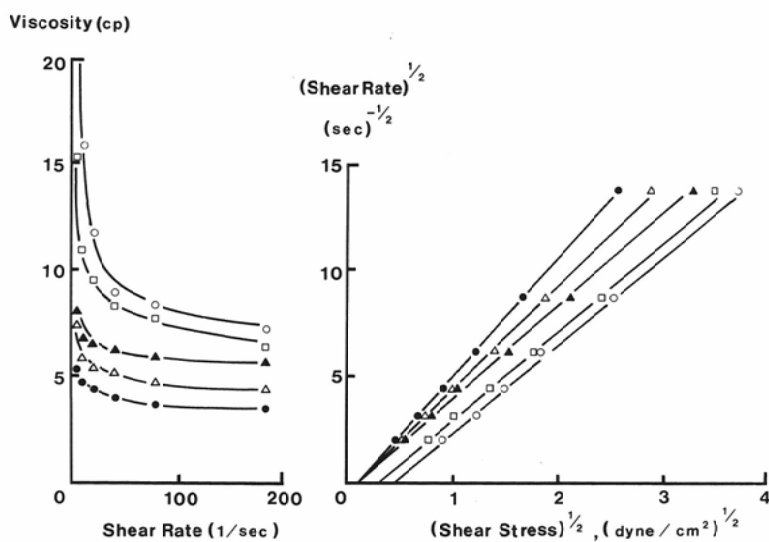


Fig. 7 Viscosity of red cell suspension under the condition of equal iodine content.

(A): apparent viscosity as a function of shear rate, (B): Casson's plot of (A).

●: NaCl solution, △: ioxaglate solution, ▲: iothalamate solution, □: metrizamide solution, ○: NaI solution

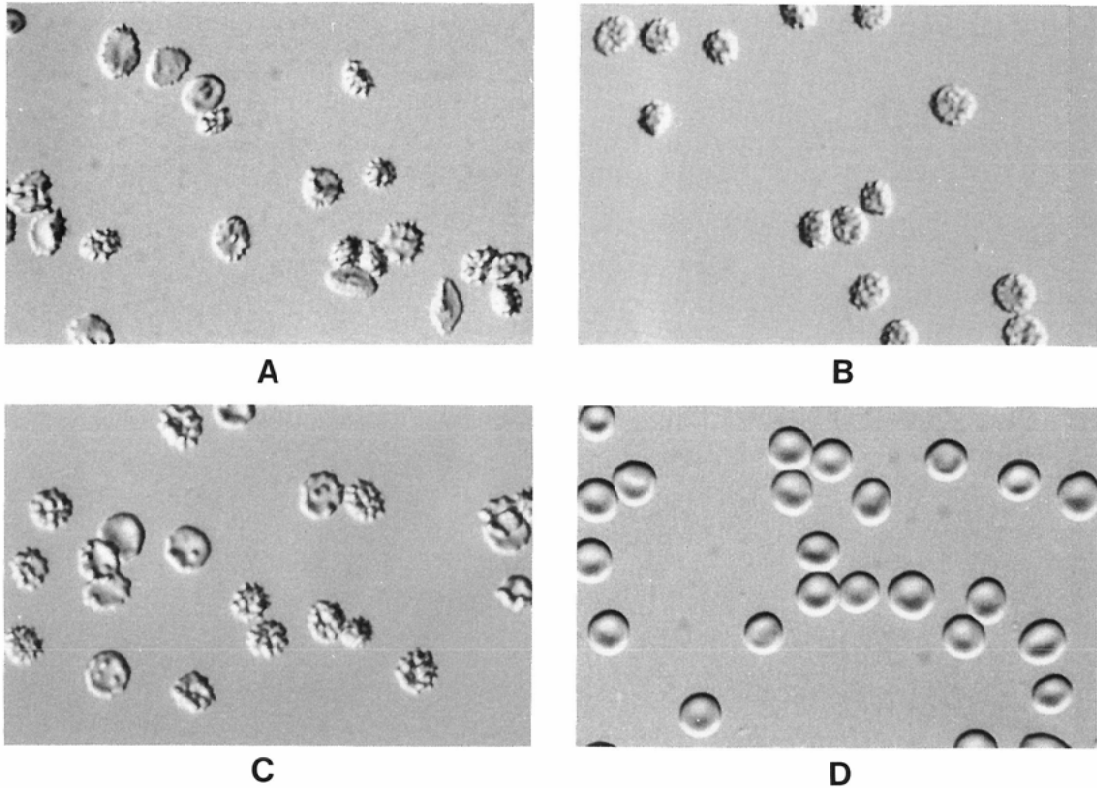


Fig. 8 Red cell shape under the condition of equal iodine content.
 (A) : NaI solution, (B) : metrizamide solution, (C) : iothalamate solution, (D) :
 ioxaglate solution

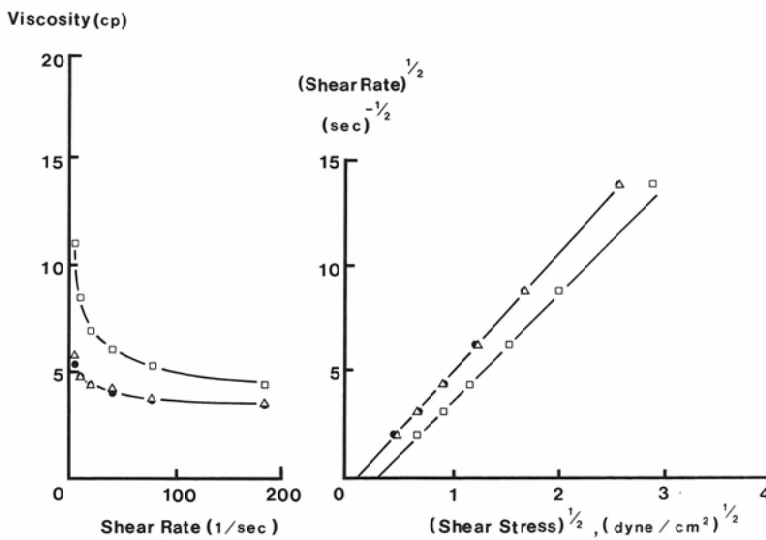


Fig. 9 Viscosity of red cell suspension under the condition of equal osmolality,
 viscosity and iodine content.

(A) : apparent viscosity as a function of shear rate, (B) : Casson's plot of (A)
 ● : NaCl solution, △ : ioxaglate solution, □ : metrizamide solution

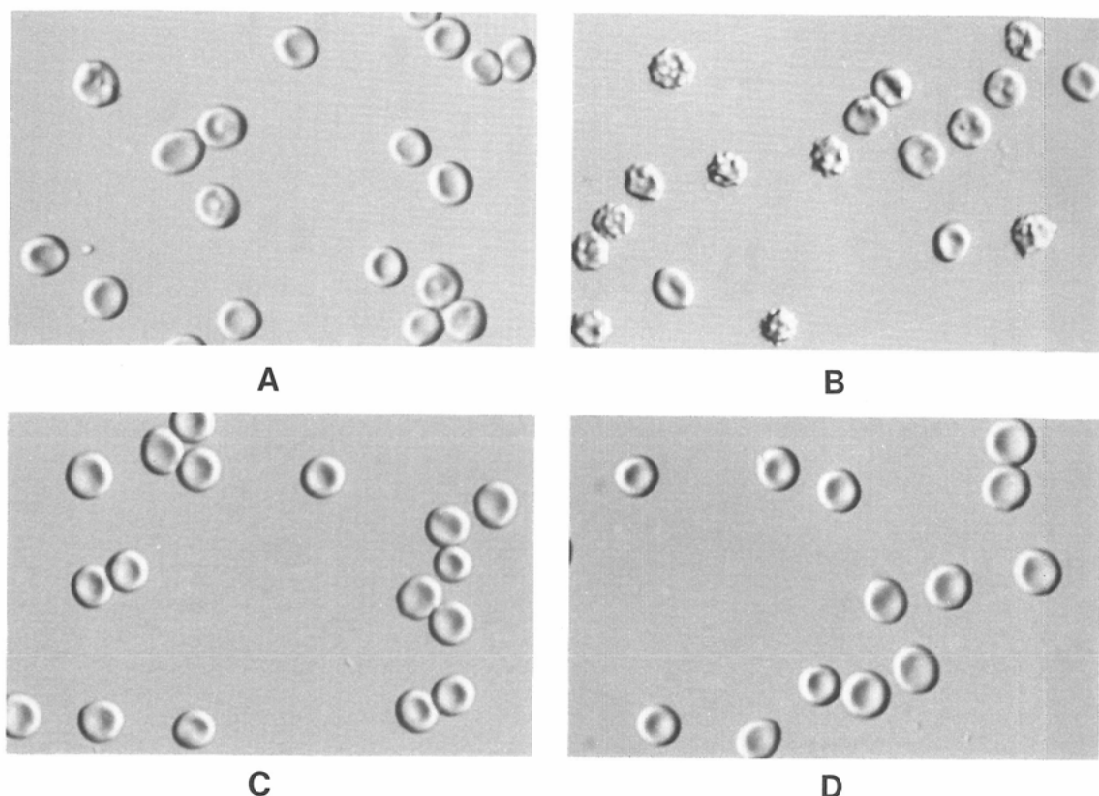


Fig. 10 Red cell shape under the condition of equal osmolality, viscosity and iodine content.

(A) : NaI solution, (B) : metrizamide solution, (C) : iothalamate solution, (D) : ioxaglate solution

d) 等浸透圧, 等粘度, 等ヨード含有量条件(生理的条件)

この実験は, 各試験溶液の浸透圧 (300mOsm/kgH₂O), 粘度 (0.8cp), 及びヨード含有量 (15mgI/ml) が全て同一であり (Table 1), ほぼ生理的条件と見なせる. ioxaglate, iothalamate 及び NaI 溶液は, NaCl 溶液と同じ血液粘度及び降伏値を示したが, metrizamide 溶液は, 血液粘度, 降伏値のいずれも NaCl 溶液より増大させた (Fig. 9). 但し, iothalamate と NaI の結果は ioxaglate と同じなので図示はしていない. 形態変化をみると, ioxaglate 及び iothalamate では赤血球の形態変化はみられなかったが, metrizamide は各段階の echinocyte を出現させた. NaI 溶液では, 一部に echinocyte の I の出現をみた (Fig. 10). 尚, NaI 溶液による形態変化の出現

はヨード含有量にして 15~16mgI/ml 程度であり, 形態変化の程度には, かなりの個体差がみられた. NaI 溶液による形態変化の濃度依存性については以下の項 (f) で示される. 以上より, metrizamide は, この生理的条件下においても, 溶液の浸透圧, 粘度, ヨード含有量に関与しない赤血球膜に対する強い直接的作用を有する事が判明した.

e) 赤血球の形態に及ぼす浸透圧の効果

NaCl で各種浸透圧溶液を作り, 赤血球の形態に対する浸透圧効果を調べた. 浸透圧変化に伴い, 赤血球の形態は一連の変化を示した (Fig. 11). 300mOsm/kgH₂O の溶液中では全ての赤血球は正常な discocyte を呈しているが, 溶液が低張になるにつれ赤血球は膨潤し, ドーム型の血球となり, 更には spherocyte へと変化した. 溶液が高張

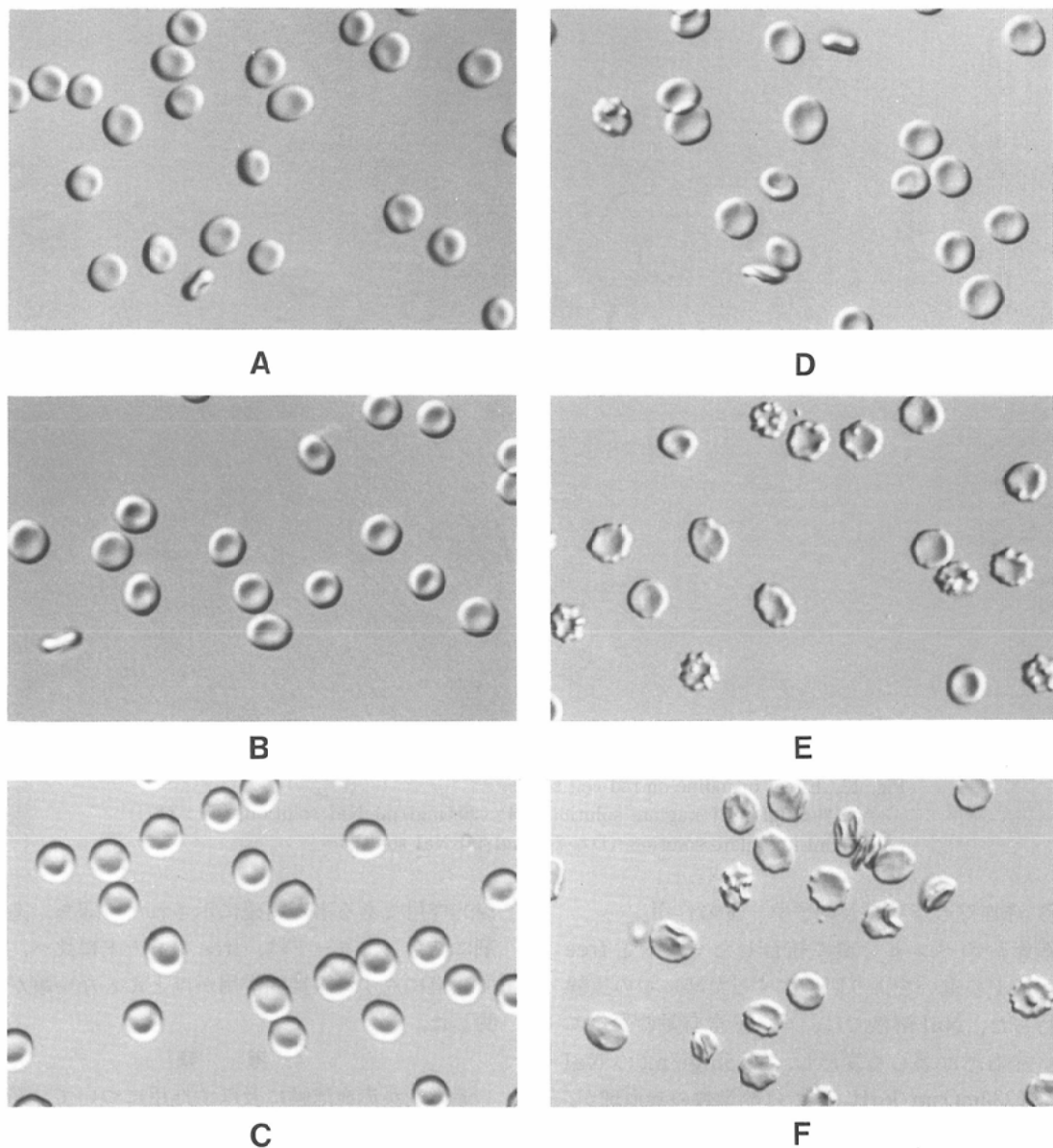


Fig. 11 Effect of osmolality on red cell shape.

Each test solution was made by NaCl solution.

(A): 234mOsm/kgH₂O, (B): 300mOsm/kgH₂O, (C): 398mOsm/kgH₂O, (D): 431mOsm/kgH₂O, (E): 661mOsm/kgH₂O, (F): 1,857mOsm/kgH₂O

になると、400mOsm/kgH₂O 程度までは形態変化を認めないが、430mOsm/kgH₂O 付近で一部に echinocyte I が出現し、更に、661mOsm/kgH₂O では各段階の echinocyte の混在に加えて shrunken cell が出現、浸透圧の増大と共に shrinkage

が高度となり、1,857mOsm/kgH₂O では全ての赤血球が高度に shrinkage を示していた。この実験結果と他の項目の結果を比較する事によって、造影剤の浸透圧効果による赤血球の形態変化が明らかにされた。

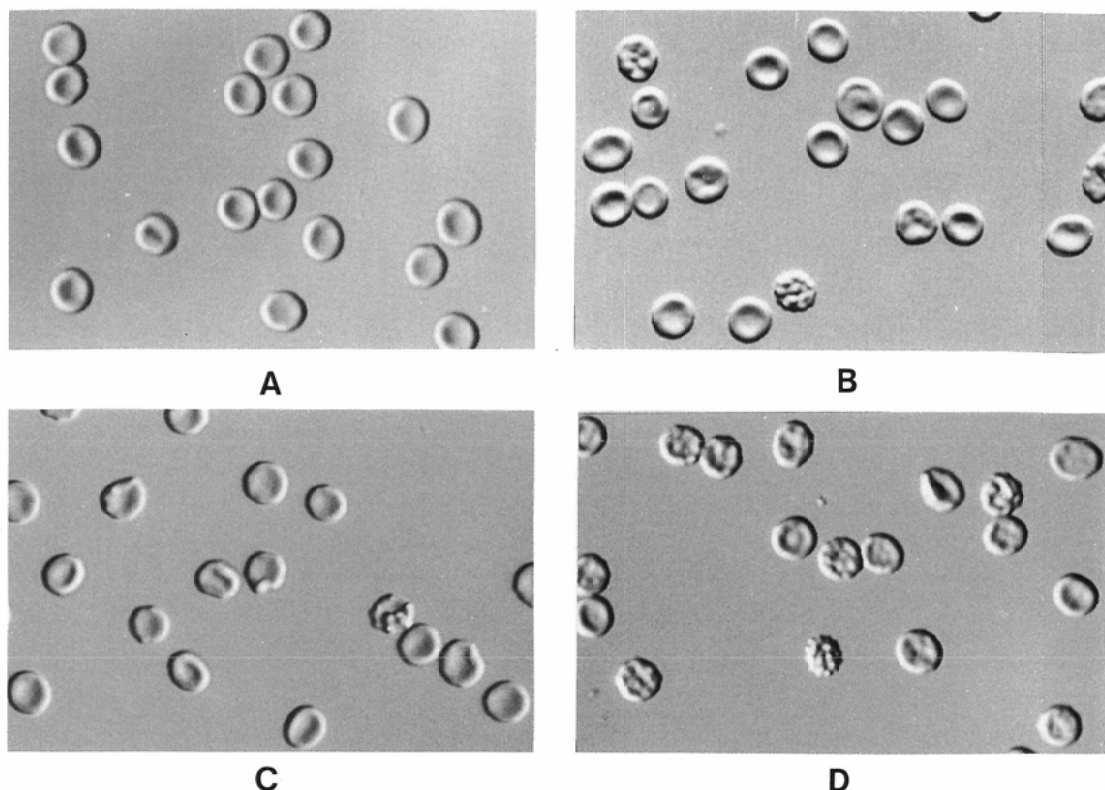


Fig. 12 Effect of iodine on red cell shape.

(A): 20.5mgI/ml ioxaglate solution, (B): 20.5mgI/ml NaI solution, (C): 24.6mgI/ml ioxaglate solution, (D): 24.6mgI/ml NaI solution.

f) 赤血球の形態に及ぼすヨードの作用

造影剤のベンゼン環に結合したヨードと free のヨードの違いをより明確にするためにこの実験を行った。NaI 溶液では、ヨード含有量の変化に伴い赤血球は著しく変形し、20.5mgI/ml の NaI 溶液 (332mOsm/kgH₂O) では約半数の赤血球が、24.6mgI/ml の NaI 溶液 (443mOsm/kgH₂O) ではすべての赤血球が echinocyte I, II に変形していた (Fig. 12B, D)。ioxaglate 溶液では、24.6mgI/ml において一部に echinocyte I の出現をみたにすぎず (Fig. 12A, C)、この ioxaglate 溶液 (24.6mgI/ml, 443mOsm/kgH₂O) による形態変化は 431mOsm/kgH₂O の NaCl 溶液によるそれとほぼ同じであった (Fig. 11D)。従って、ioxaglate 溶液による赤血球の形態変化は、主として溶液の浸透圧効果によるものであり、一方、NaI 溶液中での形態変化は主として free のヨードの直

接的作用である事が明確に示された。即ち、造影剤に結合したヨードは、free のヨードに比べ、赤血球膜に対する直接的作用がほとんどない事が判明した。

4. 考 察

造影剤が赤血球膜に及ぼす作用について、造影剤の浸透圧効果、膜透過性、粘度及びヨード含有量などに留意し、赤血球膜の脆弱性、容積変化、血液粘度及び形態変化を系統的に調べた結果について考察する。

造影剤が赤血球膜の脆弱性に及ぼす作用を調べる為、造影剤溶液で浸透圧勾配を作り浸透圧脆弱性試験を行ったが、いずれの造影剤も NaCl に比べて顕著な溶血抵抗増大現象を示した (Fig. 1)。造影剤の膜透過性について調べる為に容積変化の実験を行い、Ponder の plot を用いた解析より、造影剤 (iothalamate) による容積減少は等張付近に

おける浸透圧効果にしてNaClに比べて21 mOsm/kgH₂Oの差に相当する事が示され、iothalamateは、赤血球膜の透過性が低い事が判明した(Fig. 2)。一方、浸透圧脆弱性試験では、iothalamateによって溶血抵抗がNaClに比べて50%溶血点で約57mOsm/kgH₂O増大している(Fig. 1)。従って、両者を直接比較する事はできないが、造影剤による溶血抵抗増大現象に関する作用機序として、造影剤の赤血球膜に対する直接作用のみならず、造影剤分子の膜透過性も密接に関与している事が初めて明らかにされた。Paulらは一定濃度の造影剤をNaClの浸透圧勾配溶液に加え溶血抵抗を調べ、我々と同様造影剤による溶血抵抗の増大を示している¹⁷⁾。又、Aspelinは造影剤と血液を混合してヘマトクリット値を測定し、造影剤の割合が多いほどヘマトクリット値が減少する事を示しているが¹¹⁾、この実験では浸透圧を一定にしておらず、主として造影剤添加による浸透圧効果をみたものと思われる。これらの実験では、今回明らかになった造影剤の赤血球膜に及ぼす作用機序の一つ、即ち、造影剤の赤血球膜に対する透過性を論議する事はできない。

赤血球が高度の変形能を有している事は、生体内での正常な血液循環を維持する為の重要な因子である⁶⁾。今回我々は、赤血球の変形能を評価する方法の一つとして血液粘度を測定した。造影剤は溶液自体の粘度と浸透圧という、少なくとも2つの要素により血液粘度を変化させるため、我々が行ったようにこの各々を一定に整えた実験を行わなければ、得られた結果が主として何による作用であるかを明確にする事はできない。ちなみに、Aspelin¹¹⁾やSchönbein⁹⁾は造影剤添加後のplasmaの粘度と全血粘度の比をとる事により、造影剤溶液の粘度が全血粘度に及ぼす影響を評価したが、ニュートン流体であるplasmaの粘度と非ニュートン流体である全血の粘度の比をとる事は本質的にはさしたる意味の無い事である⁶⁾。等浸透圧条件においてioxaglate溶液(1.46cp)及びiothalamate溶液(0.96cp)とNaCl溶液(0.8cp)でみられる血液粘度にはそれほど大きな差がみられず、主としてそれは溶液の粘度の差に起因する

事が明らかにされた(結果3-a)。又、溶液の粘度は等しく浸透圧が異なる場合、高張なiothalamate溶液(641mOsm/kgH₂O)はほぼ等張のioxaglate(278mOsm/kgH₂O)に比べて血液粘度を明らかに増大させた(Fig. 5)。これらは、造影剤の血液粘度に及ぼす作用は、溶液自体の粘度のみならず浸透圧の効果が大きい事を示唆している。更に、等ヨード含有量(115mgI/ml)条件での各種造影剤の粘度と浸透圧が血液粘度に及ぼす作用も考慮すると(Fig. 7)、粘度の効果よりむしろ浸透圧の効果の方が重要であると考えられる。ちなみに、Rand & Lacombe¹⁸⁾は犬に浸透圧及び粘度の異なる種々の溶液を注入し、高張液の注入で血液粘度が著明に増大するのに対し、浸透圧が同じで粘度の異なる溶液の注入に際しては血液粘度の変化はほとんど認められなかった、と報告している。

赤血球の形態変化をみると、等浸透圧条件においてmetrizamideは著明な形態変化を引き起こしているのに対し、iothalamate及びioxaglateはほとんど形態変化をおこさず(Fig. 4)。更に、溶液の浸透圧及び粘度を共に生理的範囲内に整えるならば、赤血球の形態はmetrizamideを除いて、NaCl溶液とほとんど変わらない事が示された(Fig. 10)。一方、等粘度及び等ヨード条件下で高張のiothalamate溶液(641mOsm/kgH₂O及び668mOsm/kgH₂O)はすべての赤血球をechinocyte II, III及びshrunken cellに変形させたが(Fig. 6, 8)、これは同程度の浸透圧(661mOsm/kgH₂O)のNaCl溶液による赤血球形態変化とほぼ同じであった(Fig. 11E)。即ち、iothalamate溶液における赤血球形態変化は主として浸透圧変化によるものである。Aspelinら及びDawsonらは、造影剤は等張でもかなりの形態変化を引き起こすと報告している¹⁰⁾¹⁹⁾²⁰⁾。しかし、例えばAspelinらの報告では、対照の赤血球においてさえも、各種アーティファクトによるとと思われる形態変化が認められ、造影剤での形態変化も増幅されている可能性が強い²¹⁾。Schiantarelliら²²⁾は固定した赤血球を走査型電子顕微鏡で観察し、等張ではiothalamateはわずかな形態変化しか起こさない事を示しており、これは電子顕微鏡と微分干渉顕微鏡

の解像力を考慮すると我々の結果と一致する。この様に等張条件では、造影剤が赤血球膜に及ぼす作用は従来考えられていたよりもはるかに少ないと言える。他方、Schiantarelli らは、高張な溶液 (611mOsm/kgH₂O) 中でも赤血球の形態はさほど変化しないとしているが、彼らは赤血球を固定する際に等張の固定液を用いている。ところが浸透圧変化による赤血球膜の水の透過速度は非常に大きい²³⁾。従って、高張液中の赤血球をそのままの形で固定する為には、我々が行ったように固定液の浸透圧をも試験溶液の浸透圧に合わせなければならず、これにより初めて浸透圧が赤血球の形態に及ぼす作用を観察する事ができる。400mOsm/kgH₂O 程度の浸透圧溶液中では赤血球の形態はほとんど変化しない事を確認しており (Fig. 11C), Schiantarelli らの報告は、高張溶液中の赤血球が等張の固定液によりもとの discocyte にもどった為、形態変化が少なかったと考えられる。以上より、浸透圧の上昇に伴って赤血球膜への作用も増大する事が明らかになった。また、浸透圧変化に伴う赤血球の形態変化は、それに伴う血液粘度の増大を裏付けるものである。

ヨードが赤血球膜に及ぼす作用については、かつて造影剤開発の端緒となった NaI 溶液を free のヨードのコントロールとして用い、造影剤のベンゼン環に結合したヨードとの差異について調べた。ヨード量 15mgI/ml では iohalamate 及び ioxaglate は赤血球の形態を変化させず、NaI 溶液はわずかながらも形態変化を引き起こした (Fig. 10A)。ヨード量の増加に伴い (20.5, 24.6 mgI/ml), NaI 溶液中の赤血球は濃度依存性に echinocyte の出現を増し、その程度も進行した (Fig. 12B, D)。一方、ioxaglate 溶液中では、24.6 mgI/ml においてもわずかに形態変化を見たにすぎず、しかもその変化は主として溶液の浸透圧効果によるものであった (結果 3-f)。即ち、造影剤のヨードは free のヨードに比べて赤血球膜に及ぼす作用が極めて少ない事が判明した。この結果は、良い造影能を得る為にヨード含有量を増す事自体は、それに伴って粘度や浸透圧が著しく増大しない限り、赤血球膜に対してさほど悪影響を及

ぼさない事を示している。

ところで、Aspelin らは metrizamide が他の造影剤に比べて著しい形態変化を引き起こす事を指摘しており¹⁰⁾¹⁹⁾、これは我々の結果と一致するものであった (Fig. 4, 6, 8, 10)。一方、彼は血液粘度の測定や filtration 法による変形能の報告では¹¹⁾¹²⁾、高張な造影剤で shrinkage を示した赤血球に比べ、metrizamide による形態変化は変形能には影響を及ぼさないと結論している。しかし彼の行った実験においては、metrizamide は 500 mOsm/kgH₂O、他剤は 1,100 及び 1,500mOsm/kgH₂O であり、浸透圧条件が著しく異なる。従って、metrizamide の膜への作用よりも、他剤の浸透圧効果がより顕著に現れた結果と考えられる。事実、Stäubli らは同一浸透圧において、metrizamide に比べ、ioxaglate は変形能に及ぼす影響が少ない事を filtration 法により示している²⁴⁾。我々の実験では、metrizamide はすべての条件下において血液粘度及び降状値の著しい増大と著明な赤血球形態の変化を引き起こした。特に、生理的条件下で、他の造影剤は血液粘度及び形態変化が NaCl 溶液とほぼ等しいにもかかわらず、metrizamide はこれらを増大させた (Fig. 9)。この結果は、metrizamide の赤血球膜に及ぼす作用は粘度や浸透圧の効果のみでなく他の造影剤とも異なった機序による事を強く示唆している。metrizamide には側鎖としてグルコサミンが付いている事と関係があるのかもしれない。Ekeland & Uflacker²⁵⁾は、ウサギ耳介血管への造影剤注入に伴う毛細血管の虚血時間は、高浸透圧造影剤 metrizoate に比べて、metrizamide の方がはるかに長い事を報告している。metrizamide は、実際の臨床利用において、従来の造影剤に比べ疼痛が少なく、血行動態に及ぼす作用が少ないとする報告もみられるが²³⁾²⁴⁾、これは metrizamide の低浸透圧性による効果と考えられる。一方、選択的腎動脈造影において、metrizamide では尿蛋白が著明に増加する事を、Holtås らは犬²⁶⁾及び臨床例²⁷⁾で示している。この metrizamide による蛋白尿を、Tejler らは糸球体における透過性亢進によるとし、その原因として metrizamide による血管内皮の障害を

予想しているが²⁹⁾、これは、ここに示した赤血球膜に対する作用からみても十分考えられる事である。尚、Nilsson は、ioxaglate を用いた選択的腎動脈造影後の尿蛋白は極めて少ないと報告している²⁹⁾。

造影剤を放射線学検査に用いる場合、優れた造影能を得る為には充分なヨード含有量が必要である。しかし、従来の造影剤でヨード含有量を増すと、これに伴って浸透圧は増大し、造影剤注入に伴う副障害も増加する。血漿浸透圧の5~8倍という著しく高浸透圧な従来の造影剤に対し、浸透圧を従来の1/2~1/3に低下させた所謂低浸透圧造影剤はこの意味で望ましい²⁾。今回の実験により、高浸透圧造影剤による赤血球膜に対する悪しき作用が定量的に示された。また、ioxaglate と同様な低浸透圧造影剤でも、metrizamide は赤血球膜に極めて強い直接的作用を及ぼす事も示された。従って ioxaglate は iothalamate や metrizamide より優れた造影剤と考えられる。これらの結果は、ioxaglate が従来の造影剤に比べて造影剤注入に伴う副障害が極めて軽微であるとする臨床的報告⁴⁾⁵⁾に対する、一つの生理学的根拠と思われる。結論として、造影剤は赤血球膜に対して直接的作用を及ぼさない事が必要であり、又、造影剤のヨード含有量よりも浸透圧や粘度が重要な因子で、とりわけ浸透圧の増大は赤血球膜に顕著な作用を及ぼす事が明らかになった。従って、造影剤溶液はより生理的な条件に近づける事が望ましい。

5. ま と め

1) 浸透圧脆弱性試験より、造影剤による溶血抵抗増大現象が見いだされた。又、浸透圧変化による赤血球容積変化の実験より、造影剤は NaCl に比べて赤血球膜の透過性が低い事が示された。従って、造影剤による溶血抵抗増大現象には、造影剤の膜に対する直接的作用のみならず、造影剤の膜透過性も密接に関与している事が初めて明らかにされた。

2) 等浸透圧条件下では、ioxaglate, iothalamate 及び NaCl 溶液でみられる血液粘度にはわずかな差しか認められず、又赤血球の形態にはほとんど差がみとめられなかった。従って、この血液粘度

の差は、主として溶液の粘度の差による事が判明した。

3) 等粘度及び等ヨード含有量条件では、高張な iothalamate 溶液は著しい血液粘度の増大と形態変化をおこし、その形態変化は同程度に高張な NaCl 溶液とほぼ同じであった。一方、ioxaglate はこれらの条件ではほぼ等張であり、形態変化はほとんど認めず、わずかに血液粘度を増したにすぎなかった。従って、造影剤のレオロジー的効果は、単に造影剤の粘度によるものではなく、むしろその浸透圧に起因する事が明らかにされた。

4) metrizamide は等浸透圧、等粘度及び等ヨード含有量の全ての条件で、驚くべきほどの形態変化と血液粘度の増大を誘起し、更に、他剤では全く変化の生じなかった生理的条件下でも、明確な形態変化と血液粘度の増大をみた。即ち、metrizamide の作用は、単に溶液の粘度や浸透圧によるものではなく、膜への直接的作用である事が明らかになった。

5) 造影剤のベンゼン環に結合したヨードは free のヨードに比べて毒性が少ない事も判明した。

6) 以上より、造影剤は赤血球膜へ直接的作用を及ぼさない事が必要であり、造影剤のヨード量よりも、粘度や、とりわけ浸透圧が重要な因子である事が結論される。従って、ioxaglate は iothalamate や metrizamide より優れた造影剤といえる。

有意義な論議と励ましを戴いた、日本医科大学放射線医学教室・第一病院放射線科加藤富三教授、日本医科大学放射線医学教室恵畑欣一主任教授、関東通信病院血液内科新谷和夫部長、日本医科大学第一生理学教室品川嘉也主任教授に感謝致します。

本研究の一部は文部省科学研究費 (58870005 to Uyeyaka, N.) によってなされた。

文 献

- 1) Osborne, E.D., Sutherland, C.G., Scholl, A.J. Jr. and Rowntree, L.G.: Roentgenography of urinary tract during excretion of sodium iodid. Jour. A.M.A., 80: 368-373, 1923
- 2) Grainger, R.G.: Intravascular contrast media-the past, the present and the future. Brit. J. Radiol., 55: 1-18, 1982
- 3) Suzuki, S., Mine, H. and Iwai, T.: Clinical experience of ioxaglate in femoral angiogra-

- phy. *Acta Radiol. [Diagn.]* 23 : 87-92, 1982
- 4) Nyman, U., Nilsson, P. and Westergren, A. : Pain and hemodynamic effects in aortofemoral angiography. Clinical comparison of iohexol, ioxaglate and metrizamide. *Acta Radiol. [Diagn.]* 23 : 389-399, 1982
 - 5) Kumazaki, T., Hosoi, S., Sugawara, K. and Honda, K. : Bronchial and intercostal angiography with ioxaglate and diatrizoate in man. A comparative investigation. *Acta Radiol. [Diagn.]* 25 : 49-53, 1984
 - 6) 岡 小天 : バイオレオロジー. 裳華房, 1984
 - 7) Chaplin, H. Jr. and Carlsson, E. : Changes in human red blood cells during in vitro exposure to several roentgenologic contrast media. *A.J. R.*, 86 : 1127-1137, 1961
 - 8) Bernstein, E.F., Evans, R.L. and Saltzman, G. F. : Physico-chemical properties of blood following exposure to methylglucamine iodipamide, and other contrast media. *Acta Radiol. [Diagn.]* 2 : 401-419, 1964
 - 9) Schmid-Schönbein, H., Teitel, P., Tietz, G. und Özlen, A. : Hämorheologische Effekte von Ioxaglat : Ein Beitrag zur Deutung der Wirkung hyperosmolarer Röntgenkontrastmittel auf die Fließfähigkeit von Erythrozyten. *Radiologe*, 24 : 478-487, 1984
 - 10) Aspelin, P. : Effect of ionic and non-ionic contrast media on morphology of human erythrocytes. *Acta Radiol. [Diagn.]* 19 : 675-687, 1978
 - 11) Aspelin, P. : Effect of ionic and non-ionic contrast media on whole blood viscosity, plasma viscosity and hematocrit in vitro. *Acta Radiol. [Diagn.]* 19 : 977-989, 1978
 - 12) Aspelin, P. : Effect of ionic and non-ionic contrast media on red cell deformability in vitro. *Acta Radiol. [Diagn.]* 20 : 1-12, 1979
 - 13) 田島なつき : 対血漿比等浸圧性非イオン性造影剤 (Iohexo 1140) の基礎及び臨床応用に関する研究. I. 赤血球の形態変化に及ぼす作用. *日本医学放射線学会雑誌*, 46 : 469-477, 1986
 - 14) Ponder, E. : Hemolysis and related phenomena. J. & A. Churchill LTD. London, 1954
 - 15) Blair, G.W.S. : An equation for the flow of blood, plasma and serum through glass capillaries. *Nature*, 183 : 613-614, 1959
 - 16) Oka, S. : Some theoretical studies on hemorheology. *Advances in Biophysics*, 3 : 97-160, Univ. of Tokyo Press, 1972
 - 17) Paul, J., Freyria, A.M., Clendinnen, G., Amiel, M. and Eloy, R. : Diminished osmotic and chemically induced haemolysis of human erythrocytes following exposure to contrast media molecules. *Haemostasis*, 13 : 385-393, 1983
 - 18) Rand, P.W. and Lacombe, E. : Effects of angiocardigraphic injections on blood viscosity. *Radiology*, 85 : 1022-1032, 1965
 - 19) Aspelin, P., Stohr-Liessen, M. and ALmén, T. : Effect of iohexol on human erythrocytes. I. Changes of red cell morphology in vitro. *Acta Radiol., [Suppl.]* 363 : 117-122, 1980.
 - 20) Dawson, P., Harrison, M.J.G. and Weisblatt, E. : Effect of contrast media on red cell filtrability and morphology. *Brit. J. Radiol.*, 56 : 707-710, 1983
 - 21) Besis, M. : Red cell shapes. An illustrated classification and its rationale. (In) Besis, M., Weed, R.I. and Leblond, P.F. eds : Red cell shape 1-25, Springer-Verlag, New York, Heidelberg, Berlin, 1973
 - 22) Schiantarelli, P., Peroni, F., Tirone, P. and Rosati, G. : Effects of iodinated contrast media on erythrocytes. I. Effects of canine erythrocytes on morphology. *Invest. Radiol.*, 8 : 199-204, 1973
 - 23) Foster, R.E. : The transport of water in erythrocytes. (In) Bronner, F. and Kleinzeller, A. eds : Current topics in membranes and transport. 41-58, Academic Press, 1971
 - 24) Stäubli, M., Brauschweig, J. and Tillmann, U. : Changes in the rheologic properties of blood as induced by sodium/meglumine ioxaglate compared with sodium/meglumine diatrizoate and metrizamide. *Acta Radiol. [Diagn.]* 23 : 71-78, 1982
 - 25) Ekeland, A. and Uflacker, R. : Effect of meglumine metrizoate and metrizamide on the microcirculation. *Animal Experiments. Acta Radiol. [Diagn.]* 19 : 969-976, 1978
 - 26) Holtås, S. and Tejler, L. : Proteinuria following nephroangiography. IV. Comparison in dogs between ionic and non-ionic contrast media. *Acta Radio. [Diagn.]* 20 : 13-18, 1979
 - 27) Holtås, S., Almén, T., Hellsten, S. and Tejler, L. : Proteinuria following nephroangiography. VI. Comparison between metrizoate and metrizamide in man. *Acta Radiol. [Diagn.]* 21 : 491-494, 1980
 - 28) Tejler, L., ALmén, T. and Holtås, S. : Proteinuria following nephroangiography. I. Clinical experiences. *Acta Radiol. [Diagn.]* 18 : 634-640, 1977
 - 29) Nilsson, P., Holtås, S. and Tejler, L. : Subjective responses and albuminuria induced by ioxaglate during renal angiography in man. *Radiology*, 144 : 509-512, 1982