

一般演題

血液ガス分析による重炭酸リンゲル液（ビカーボン[®]注）
と既存の各輸液との自発呼吸下ラットにおける比較評価

鈴木素野¹⁾ 一杉岳¹⁾ 正田絵美¹⁾ 久保田伊柄子¹⁾ 清水亨^{1) 2)} 斉藤敏之¹⁾ 大井良之¹⁾

1) 日本大学大学院歯学研究科麻酔学講座

2) Department of Bioengineering, University of California, San Diego, La Jolla, California

手術・外傷に伴う出血時の輸液療法には、循環血液量の回復だけでなく、電解質の維持や酸塩基バランスの正常化も求められる。特に代謝性アシドーシス補正には、長い間、乳酸の代謝により生じる重炭酸を緩衝剤とする乳酸リンゲル液が用いられてきた。しかし、乳酸は肝臓での代謝を必要とし、出血性ショック時の緩衝剤としては効率がよくないと考えられる。さらに乳酸による細胞内代謝抑制が指摘され、出血性ショックのように大量の急速輸液を必要とする場合の緩衝剤として、乳酸がふさわしいかどうか疑問が残る。

その後、全身の筋組織でも代謝されて重炭酸イオンに変化する酢酸を用いた細胞外液輸液が開発された。確かに乳酸よりも効率よく緩衝作用を発揮することが報告されているが、出血性ショック時のように大量かつ急速に投与する場合、酢酸の持つ血管拡張作用が循環安定にとって不利であることが指摘されている。

本来は代謝を必要としない重炭酸イオンを直接配合した輸液が理想的と考えられるが、重炭酸イオンがCaやMgの二価陽イオンと反応し析出沈殿してしまうため、重炭酸リンゲル液の作製は困難であった。しかし近年、この問題を解決したビカーボン[®]注（味の素ファルマ株式会社）（以下BR）が製品化され、臨床においても使用されるようになった。大井ら¹⁾、佐藤ら²⁾は、人工呼吸器下における犬の出血性ショックモデルにおける代謝性アシドーシスに対する大量BR投与が安全であることを報告している。

しかし、BRを急速大量投与することは重炭

酸緩衝系に直接影響を与える可能性がある。つまり、自発呼吸下では呼吸抑制の懸念が生じる。そこで今回我々は、ラットの出血性ショックに対し、BRを自発呼吸下に投与して呼吸抑制と組織酸素化に着目して実験を行った。

1. 対象および方法

本実験は日本大学歯学部動物実験委員会の承認を得て行った。体重300±20gのSD系雄性ラット（日本クレア株式会社）30匹を用いた。ラットの飼育は、午前7時点灯の12時間明暗サイクル、室温23±2℃、湿度55±5%に設定した恒温恒湿の飼育室で行い、飼料と水を自由に摂取させた。

麻酔はペントバルビタール(50mg/kg, i. p)で行い、仰臥位にて気管切開後挿管した。輸液ラインとして尾静脈を確保し、右総頸動脈にて観血的に持続血圧測定(BP-308ETI; NIPPON COLIN社)した。剃毛した左鼠径部に動物用パルスオキシメーター(モデル8600V; NONIN社)を装着し動脈血酸素飽和度(SpO₂)を測定した。左大腿筋の深さ約2.5mmに、組織酸素分圧測定器(pO₂ Standard Series Probe; OXFORD OPTRONIX社)と組織血流連続モニター(OXY LAB; プライムテック社)と体温計(OXY LAB; プライムテック社)を挿入固定し、大腿筋組織酸素分圧、血流および組織温を連続的に観察した。呼吸はroom air下で自発呼吸にて管理した。本実験は麻酔薬の追加投与は行わずに実施することができた。全実験を通して体動は認められなかった。

右大腿動脈カテーテルから2ml/100g(循環

血液量の約 35%) の血液を 30 分かけて脱血した。脱血終了から 30 分間放置後、尾静脈から脱血量の 3 倍量 (6ml/100g) の各種輸液を輸液ポンプ (SP-500D; JMS 社) を用いて 30 分かけて投与し、投与後 60 分迄継続して各測定値を観察した。ラットは、生理的食塩液; NS 群、酢酸リンゲル (ヴィーン®; 日研化学) ; AR 群、重炭酸リンゲル (ビカーボン®) ; BR 群、脱血のみ行い輸液をしないコントロール (C) 群、脱血と輸液ともに行わない Sham 群の 5 群 (各 6 匹) にランダムに分けた。

観察項目は、平均動脈圧 (MAP)、心拍数 (HR)、右大腿筋組織酸素分圧 (pO₂)、組織血流 (blood flow)、組織温、酸素飽和度 (SpO₂)、動脈血 pH、PaO₂、PaCO₂、Na、K、Cl、Ca、Mg、Glucose、HCO₃⁻、BE、乳酸とした。

MAP、HR、pO₂、SpO₂、blood flow、組織温は持続的に記録し、血液ガス分析 (Stat Profile; NOVA BIOMEDICAL 社) は脱血前、脱血直後、輸液終了直後、輸液終了 30 分後と 60 分時の計 5 回行い、乳酸は脱血前と輸液終了 60 分後に測定した。

統計学的方法

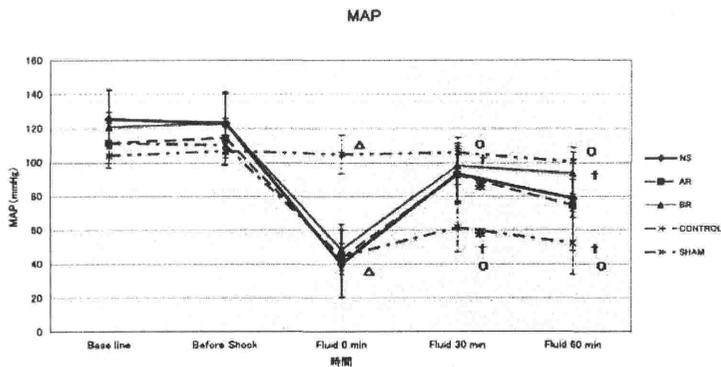
測定値は平均値と標準偏差 (mean ± SD) で表した。群内比較検定は各群について分散分析を行い、有意な場合には投与前値を対象として ANOVA の分散分析の多重比較検定を行った。群間比較検定は各群について分散分析を行い、有意な場合には群間毎に Scheffe t 検定法を行った。

有意差検定は ANOVA を用い、有意水準は p<0.05 とした。

2. 結果

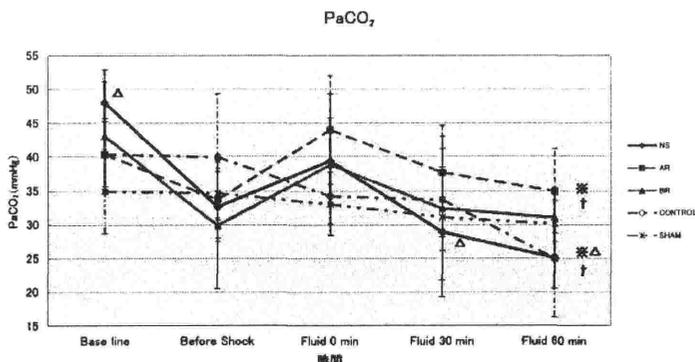
脱血と輸液によるラットの MAP の経時的変化を図 1 に示す。MAP は脱血により約 40mmHg まで著明に低下した。輸液を投与した群では輸液開始に伴って平均動脈圧は上昇し、輸液終了直後はほぼ脱血前の値に復帰した。AR 群は輸液終了 30 分時点で C 群に対し有意に高い血圧を維持した。一方、BR 群は輸液終了後 60 分と 30 分時点で C 群に対し高い血圧を維持した。輸液施行の 3 群 (NS 群、AR 群、BR 群) 間に有意差は認められなかった。

図 1 平均動脈圧の変化



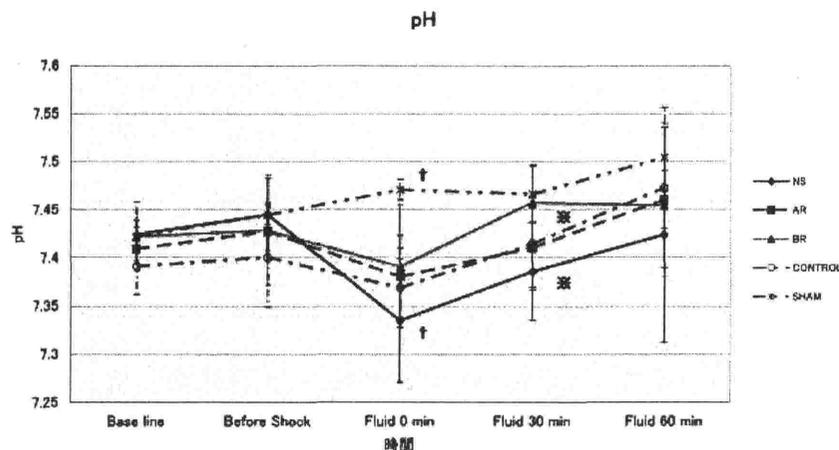
△ : 脱血群各群と Sham 群との間の有意差を示す。(p<0.05)
 ○ : C 群と Sham 群との間の有意差を示す。(p<0.05)
 † : BR 群と C 群との間の有意差を示す。(p<0.05)
 ※ : AR 群と C 群との間の有意差を示す。(p<0.05)

図 2 動脈血炭酸ガス分圧の経時的変化



△ : NS 群の Base line 時に対する輸液終了 30 分時と 60 分時の有意差を示す。(p<0.01)
 ※ : NS 群と AR 群との間の有意差を示す。(p<0.05)
 † : C 群と AR 群との間の有意差を示す。(p<0.05)

図3 動脈血 pH の経時的変化



†: 脱血群と Sham 群との間の有意差を示す。(p<0.05)

※: NS 群と BR 群との間の有意差を示す。(p<0.05)

HR は脱血後ショックにより全群において増加し、輸液終了後から徐々に減少したが輸液投与群間では差が見られなかった。

PaO₂ は本研究中、全群において有意に変化せず、各群間の有意差も各時点においてなかった。PaO₂ の全群の平均値は 102±12mmHg であった。

図2 に PaCO₂ の経時的変化を示す。PaCO₂ は出血性ショック輸液開始時まで各群において群内、群間に有意差のある変化を示さなかったが、輸液終了後 60 分時に NS 群と C 群が AR 群に対して有意な PaCO₂ の低下を示した。

図3 にラット動脈血 pH の経時的変化を示す。脱血施行群では脱血後 pH は低下し脱血しない Sham 群に対し有意差を示した。輸液施行後 30 分時点で BR 群は NS 群に対し有意差をもって pH 上昇がみられた。

BE は脱血により全脱血群が有意に低下した。BR 群は輸液投与により上昇傾向を示し、輸液終了後再び経時的に低下したものの他の輸液投与群よりも輸液終了 60 分時まで高い値を維持した (NS 群に対し有意, p<0.05)。AR 群は脱血直後の値から著明に変化せず、ショック前の値に復する傾向を示さなかった。C 群と NS 群は脱血後および輸液投与後も経時的に低下し続け、NS 群が最も強い低下を示した (輸液後 60 分値は Base line 値に対し有意, p<0.05)。

Anion Gap は脱血により全脱血群で有意に増加し、輸液投与により減少傾向を示した。その後 NS 群と AR 群では増加した (群内検定, p<0.05)。

SpO₂ は全脱血群において脱血後に低下傾向を示し、輸液によって輸液群 (NS 群、AR 群、BR 群) は上昇傾向を示したが、いずれの測定時においても群内・群間に有意差を認めなかった。

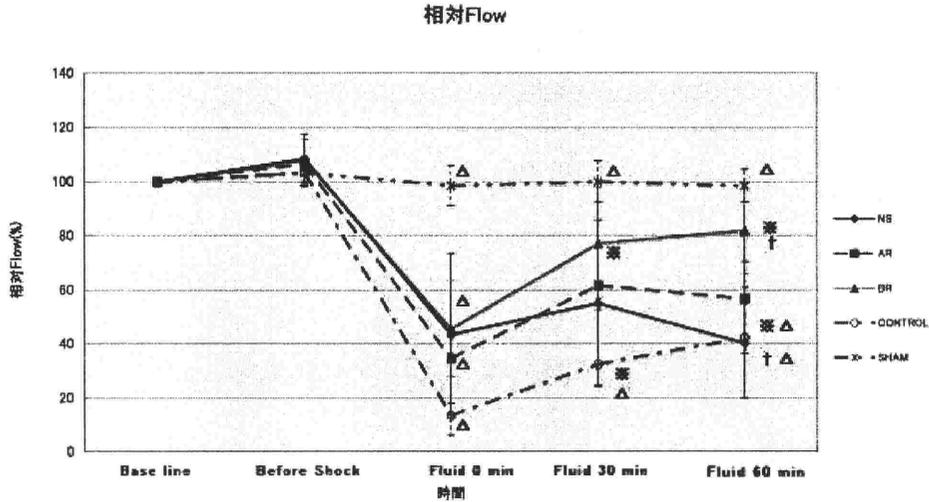
Hb は全脱血群において脱血後低下し、さらに輸液投与により低下している。その後 BR 群で一時的な上昇は認められるものの、各群で有意差は認められなかった。Hct は Hb と同様な経過を示した。

血清 Na、K、Mg、Ca、Cl は全群において本実験中有意な変化を示さなかった。

Glucose は脱血により全群で上昇した。C 群はそのまま経時的に上昇を認めたが輸液投与を行った 3 群は脱血直後よりほぼ同値で輸液終了 60 分まで推移し有意差は認められなかった。

乳酸は脱血に伴い全群で上昇し輸液投与により低下した。NS 群はその後経時的に上昇し、AR 群は輸液終了後も低下した。BR 群は輸液終了 30 分までは低下傾向を示したが、その後上昇傾向を示した。

図4 ラット大腿筋組織中細動脈血流量の経時的変化 (相対値)

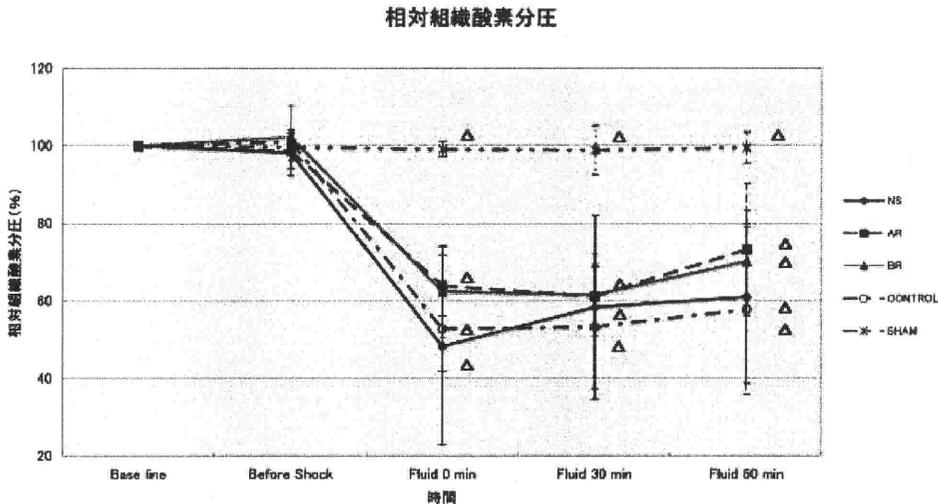


各時点でのラット大腿筋組織中細動脈血流量を実験開始時の値に比して表示した。

△: 脱血群各群と Sham 群との間の有意差を示す。(p<0.05) ※: BR 群の C 群との間の有意差を示す。(p<0.05)

†: BR 群の NS 群との間の有意差を示す。(p<0.05)

図5 ラット大腿筋組織中細動脈の酸素分圧の経時的変化 (相対値)



各時点でのラット大腿筋組織中細動脈の酸素分圧を実験開始時の値に比して表示した。

△: 脱血群各群と Sham 群との間の有意差を示す。(p<0.05)

図4に大腿筋組織中細動脈血流量 (Flow) の経時的変化を示す。Flowは脱血により全脱血群でSham群に対して有意に低下した。輸液投与群では輸液開始により再び著明にFlowが上昇し、特にBR群は脱血前の約80%近くまで回復した。(NS群およびC群の間に有意差, p<0.05)。輸液による血流の改善はBR群で著明であった。

図5に大腿筋組織酸素分圧 (pO₂) の相対値の経時的変化を示す。pO₂は全脱血群が脱血後Sham群に対して著明に低下し、輸液群(NS群、AR群、BR群)で輸液開始後回復傾向がみられるが、輸液群間に有意差はなかった。

組織温は脱血により脱血全群で低下し、その後もほぼ一定の値で推移した。輸液による有意な回復は認められなかった。

3. 考察

出血性ショックによる循環血液量喪失に対し晶質液を循環血液量維持目的に使用する場合、血管内には投与量の30%程度しか残らないことから、本研究では出血量の3倍量の輸液を投与した。

出血性ショック時は、組織血流量および組織灌流圧が低下することにより、酸素の組織への分配が低下することから代謝性アシドーシスになると考えられる。重篤なアシドーシス状態では心機能抑制³⁾やカテコラミンの効果の減弱⁴⁾、高ナトリウム血症などの不整脈の原因となる電解質異常も誘発される⁵⁾。重篤なショック時の酸塩基平衡補正に対し投与後体内で代謝され、その後重炭酸イオンへの変化を期待する従来の乳酸や酢酸リンゲル液よりも、細胞外補充液のアルカリ化剤として重炭酸イオンその物が含まれる重炭酸リンゲル液を使用する方が効率的であると考えられる。

今回脱血に伴い、全群において血圧低下、心拍数上昇、pHの低下がみられ、PaCO₂は乳酸蓄積の代償として減少し、代償性呼吸促進が進行したと考えられる。本研究の脱血量(2ml/100g)はラットの全循環血液量の約35%の出血であった。これにより一時的に平均動脈圧が40mmHgまで低下し組織血流量も低下したが、自発呼吸の減弱や停止には至らなかった。平均動脈圧の低下による圧受容体への刺激が起こり、交感神経が興奮し、HRが上昇した。また混合性アシドーシスがみられた。これに対して輸液施行は全群において循環血流量を補正し、NS群を除く輸液群は一定のpH維持作用を示した。すなわち、血中重炭酸イオン値はAR群とBR群において輸液後NS群のように低下せず、その後もAR群とBR群間に有意差は認められなかった。これはARおよびBRが一定の緩衝作用を示したことを意味しており、BRに含まれる重炭酸イオン25mEq/Lが今回の輸液速度において血中重炭酸イオン濃度を上下させるほどではなく、また2ml/100g脱血量ラットの生体レベルではARの乳酸も体内、主に肝臓による代謝系を経て有効に緩衝作用を示したと考えられる。重

炭酸イオン投与による循環系の抑制で組織血流障害が生じ、それに伴い乳酸値の上昇を指摘する報告^{6,7)}があるが、今回BR群で乳酸値の有意な上昇は認められなかった。またBR群で他の輸液施行とともに血中炭酸ガス濃度の増加が認められたが、脱血前の値に近づく程度で極端なものではなく、化学的受容器由来の代償的な自発呼吸抑制の存在が本研究ではなかった。

出血性ショック時の生体では、少ない循環血液を脳や心筋など平均動脈圧低下に伴う血管収縮が起こらず、酸素需要が多い臓器に移動させ、内臓組織・骨格筋の血流を犠牲にして重要臓器である脳・心臓への酸素供給を確保する。末梢組織への血流が限界を超えて減少した際、腸管壁の易虚血性組織では酸素欠乏により腸内細菌叢変化が起こり重篤な敗血症へ進展する。大量出血に対する輸液療法は、ヘモグロビンによる酸素供給を復活させる再灌流を促進させるが、組織虚血が局所において継続的に存在すると、活性酸素および炎症性サイトカイン産生を促し微小循環における再灌流を困難にする。迅速かつ適切な輸液の投与はヘモグロビンが通過可能な血流を保つことで微小循環を回復させ、進行性の組織酸素欠乏を回復させ、ひいては生存率を改善する⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾¹³⁾¹⁴⁾。

今回の実験では脱血に伴い組織血流は減少しそれに伴い組織PO₂も減少した。これに対して、輸液施行により組織血流の回復が見られた。BR群はNS群より組織血流量が輸液施行60分時点で有意に回復し、有意差はないが回復率は他の輸液施行群よりも高かったことから、BRの組織血流改善効果が示唆された。輸液施行群間において組織PO₂の上昇に有意差はみとめられなかったが、輸液後30分時pH値の結果より、局所的な組織のアシドーシスをBR群が早く取り除く可能性を示している。これはまた、顆粒球の活性化や血管内皮細胞との接着などの炎症反応の進行を抑え、かつ微小循環の障害のダメージも減らし再灌流がスムーズに進んだとも考えられる。

輸液群間の有意差はなかったがNS群のCl値が輸液に伴い上昇傾向を示した。NS群はま

た、pHの上昇が低く抑えられ、血中重炭酸イオン値は減少し、BEはSham群に比し低下傾向を示し、輸液終了後は経時的にアニオンギャップの上昇傾向を示した。以上からNS群では代謝性アシドーシスと呼吸性アルカローシスが進行していると考えられ、NS輸液によるクロライドシフトも生じていることが示唆された。生体はNa値が130-140mEq/L程度に対し、Cl値は100mEq/L前後とClは細胞内に多く分布するが、生理食塩水はNaと同量の154mEq/LのClが含まれるため急速輸液により血中Cl値は上昇を示し、これに伴うマイナスイオン分布の平衡移動で血中重炭酸イオンが減少し、結果的に酸塩基緩衝作用の低下が考えられた。BR、ARそれぞれClは113mEq/L、109mEq/L含まれるため、同様にCl値は輸液施行で上昇傾向であったが輸液終了60分時には、細胞内外の平衡が保たれほぼ脱血前の値に帰した。これにより、BR群は従来の細胞外輸液製剤と同様に出血時の急速輸液においてNS群に見られるような高Cl血症がなく、かつ輸液終了後AR群で認められなかったアニオンギャップ低下傾向も認めたことから、局所における代謝性アシドーシスに対する緩衝能はAR群に比し優れていると考えられる。

今回、自発呼吸下のラットを対象として出血性ショックに対する重炭酸輸液の効果を他の輸液と比較した。出血性ショックによって動脈圧が低下したため、組織血流量が低下し、組織酸素分圧が低下した。酸素供給低下による乳酸性アシドーシスが進行し、これによる代償性の呼吸促進が観察された。このような混合性のアシドーシスに対してピカーボン®は酢酸リンゲルと同程度の血液緩衝作用を示した。ピカーボン®はpH保持作用、組織血流再開作用が最も強く従来の輸液よりも強い血流、代謝改善作用の観察が今後も期待される。

参考文献

1) 大井良之, 寺嶋克幸, 小林德行 他: 重炭酸リンゲル液のアシドーシス補正効果-イヌの出血性ショックモデルにおいて-, 蘇生 2004; 23: 73-80

2) Satoh K, Ohtawa M, Katoh M et al: Pharmacological study of BRS, a new bicarbonated Ringer's solution, in haemorrhagic shock dogs. *Eur J Anaesthesiol* 2005;22: 703-711

3) Steenbergen C, Deleeuw G, Rich T et al: Effects of acidosis and ischemia on contractility and intracellular pH of rat heart. *Circ Res* 1977;41: 849-858

4) Tajimi K, Kosugi I, Hamamoto F et al: Plasma catecholamine levels and hemodynamic responses of severely acidotic dogs to dopamine infusion. *Crit Care Med* 1983;11: 817-819

5) Mizock BA, Falk JL: Lactic acidosis in critical illness. *Crit Care Med* 1992; 20:80-93

6) Suzuki T: Effect of sodium bicarbonate on lactic acidosis in dogs with hemorrhagic shock. *Masui* 1994;43:702-709

7) Arieff AI, Leach W, Park R et al: Systemic effects of NaHCO₃ in experimental lactic acidosis in dogs. *Am J Physiol* 1982; 242:586-591

8) Wettstein R, Tsai AG, Emi D et al: Improving microcirculation is more effective than substitution of red blood cells to correct metabolic disorder in experimental hemorrhagic shock. *Shock* 2004;21: 235-240

9) Wettstein R, Emi D, Intaglietta M et al: Rapid restoration of microcirculatory blood flow with hyperviscous and hyperoncotic solutions lowers the transfusion trigger in resuscitation from hemorrhagic shock. *Shock* 2006;25:641-646

10) Kushimoto S, Okajima K, Okabe H et al: Role of granulocyte elastase in the formation of hemorrhagic shock-induced gastric mucosal lesions in the rat. *Crit Care Med* 1996;24: 1041-1046.

11) Qud L, Kruse J: Progressive gastric intramucosal acidosis follows resuscitation from hemorrhagic shock. *Shock* 1996;6:61-65

- 12) Holland J, Carey M, Hughes N et al :
intraoperative splanchnic hypoperfusion,
increased intestinal permeability,
down-regulation of monocyte class II major
histocompatibility complex expression,
exaggerated acute phase response, and sepsis.
Am J Surg 2005;190:393-400
- 13) Liunqdah M, Rasmussen I, Haqlund U et al :
Intestinal blood flow and intramucosal pH in
experimental peritonitis. Shock 1999;11:
44-50
- 14) Uwe K: Pathology of fluid imbalance. Crit
Care Med 2000;4:S3-7