

## プロポフォールの脳移行における赤血球の役割

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/9318">http://hdl.handle.net/2297/9318</a>

## プロポフォールの脳移行における赤血球の役割

金沢大学医学部医学科麻酔・蘇生学講座 (主任: 小林 勉教授)

西 村 和 浩

静脈麻酔薬プロポフォールは、水にほとんど不溶である。プロポフォールが血管内から脳組織に分布する経路として、赤血球に分布した薬物が直接接合によって脳の毛細血管内皮細胞に移行し、そこから脳組織に分布する可能性が考えられる。本研究では、まずプロポフォールの血液中での分布を調べるために、ラットにおける単回および持続静脈内投与時の、プロポフォールの赤血球移行率を求めた。次に、プロポフォールの脳移行過程への赤血球の関与を調べるために、プロポフォールを洗浄赤血球、血漿または生理食塩水と混合した溶液を試験液として、ラット頸動脈1回注入法を実施した。用いた試験液の種類によって、洗浄赤血球群、血漿群、生食群の3群に分類し、これら3群の脳移行率 (brain uptake index, BUI) を比較した。さらに、赤血球の絶対量が減少した場合のプロポフォールの脳移行を調べる目的で、ヘモグロビン濃度を1/2に減少させたラット貧血モデル (貧血群) を作製し、プロポフォールを持続静注したときの脳-血液分配係数 ( $K_{br}$ ) を測定して、ヘモグロビン濃度が正常な対照群と比較した。以上の各実験の結果、プロポフォールの赤血球移行率は、単回投与では  $70.8 \pm 2.9\%$  ( $\bar{x} \pm SD$ ,  $n=4$ )、持続投与では  $69.6 \pm 3.4\%$  ( $n=8$ ) であった。また、洗浄赤血球群のBUIは  $18.0 \pm 2.2\%$  ( $n=5$ ) となり、血漿群 ( $10.8 \pm 1.8\%$ ,  $n=5$ ) および生食群 ( $10.2 \pm 2.9\%$ ,  $n=5$ ) に比較して、有意に高い値を示した ( $p<0.05$ )。貧血モデルを用いた実験では、循環動態は貧血群と対照群の間で差がなかった。プロポフォールの全血中濃度は、貧血群と対照群でそれぞれ  $6.60 \pm 1.74 \mu\text{g/ml}$  ( $n=8$ )、 $4.68 \pm 1.69 \mu\text{g/ml}$  ( $n=8$ ) であり、貧血群が有意に高い値を示した ( $p<0.05$ )。貧血群の  $K_{br}$  は  $0.555 \pm 0.175$  ( $n=8$ ) であり、対照群 ( $1.021 \pm 0.296$ ,  $n=8$ ) に比較して有意に低い値を示した ( $p<0.05$ )。以上から、プロポフォールは血液中では約70%が赤血球に分布し、プロポフォールの脳への移行には赤血球が促進的な役割を果たすことが示唆された。

**Key words** anemia, brain uptake index, distribution, erythrocyte, propofol

静脈麻酔薬の一種であるプロポフォール (ディプリバン™, ゼネカ薬品, 大阪) は、作用発現が速やかで、かつ代謝が速いため持続時間が短く、蓄積性が少ない<sup>1) 2)</sup>。この特徴によって、プロポフォールは持続投与による血中濃度の調節が容易であり、また投与を中止すれば血中濃度は速やかに低下する<sup>3)</sup>。プロポフォール (化学名, 2, 6-diisopropylphenol) はフェノール誘導体に属し、脂肪乳剤として提供されている。この溶液は、プロポフォール10mg/mlを含有する白色の水性等張乳濁液である。基剤として大豆油、グリセリン、精製卵黄レシチンを含むしている。

プロポフォールは水にほとんど不溶であるため、従来考えられているような、血漿水を介する脳組織への移行は考えにくい。逆に脂溶性が高いことから、血液中では細胞膜の脂質に結合したもので、すなわち赤血球結合型薬物が多量に存在すると推測される。したがって、血漿水を介する組織移行に代わる経路として、赤血球が毛細血管を通過する際に、赤血球に分布した薬物が直接接合によって血管内皮細胞に移行し、そこから脳組織に分布する可能性が考えられる。そこで著者は、赤血球がプロポ

フォールの脳組織への移行過程にどの程度関与しているのかを明確にする目的で、ラットを用いた一連の実験を行った。すなわち、実験1ではプロポフォールの赤血球移行率を、実験2ではプロポフォールの脳組織への移行に及ぼす各血液成分 (赤血球および血漿) の影響を、実験3では急性貧血ラットにおけるプロポフォールの脳移行を、それぞれ調べた。

### 対象および方法

#### I. 実験動物

実験1, 2, 3とも、雄性Sprague-Dawley系ラット (体重330-440g) を用いた。また、すべての実験は、動物を背臥位にして行った。

#### II. 実験1: プロポフォールの赤血球移行率

##### 1. 実験手順

##### 1). 単回投与群

ラット ( $n=4$ ) を塩酸ケタミン (三共, 東京) 100mg/kgの腹腔内投与により麻酔した後、左大腿静脈に24ゲージのテフロンカテーテル (Jelco™, Critikon, Rome, Italy) を留置し、ヘパ

平成10年8月3日受付, 平成10年8月25日受理

Abbreviations: BUI, brain uptake index;  $C_b$ , propofol concentration in whole blood; CBF, cerebral blood flow;  $C_{br}$ , propofol concentration in brain; CO, cardiac output;  $C_p$ , propofol concentration in plasma; dpm, disintegrations per minute; HPLC, high performance liquid chromatography;  $K_{br}$ , brain/blood partition coefficient;  $\text{PaCO}_2$ , arterial carbon

リンナトリウム (ヘキスト・マリオン・ルセル, 大阪) を100単位 (0.1ml) 静注した. 30分後にプロポフォール 9.3mg/kgを大腿静脈より急速単回静注し, さらにその2分後に経皮的に心臓を穿刺して, 2.5mlの血液を採取した. ヘマトクリット値 (Hct, %) を自動血液ガス分析装置 ABL-510 (Radiometer, Copenhagen, Denmark) を用いて測定した後, 血液0.5mlをプロポフォールの全血中濃度 (propofol concentration in whole blood,  $C_b$ ) 測定用の検体とし, 残りの血液から遠心 (4℃, 1500回転/分, 15分間) で得られた血漿0.5mlを血漿中濃度 (propofol concentration in plasma,  $C_p$ ) 測定用の検体とした. 各検体は4℃で保存し, 8時間以内にプロポフォール濃度の測定を行った.

## 2). 持続投与群

ラット (n=8) に対して, ヘパリンナトリウム静注までの準備を前項と同様に行った. プロポフォール 9.3mg/kgを急速単回静注し, 次いで30mg/kg/時間の速度で持続静脈内投与を行い, 1時間後に経皮的に心臓穿刺によって血液2.5mlを採取した. この血液はHctを測定後, 前項と同様に処理して $C_b$ と $C_p$ の測定に供した.

## 2. プロポフォールの血中濃度の測定

$C_b$ と $C_p$ は, Plummerら<sup>8)</sup>の方法に準じて, 高速液体クロマトグラフィー (high performance liquid chromatography, HPLC) を用いて測定した. 全血または血漿0.5mlにシクロヘキサン (和光純薬, 大阪) 5.0ml, 0.1mol/lのリン酸2水素ナトリウム溶液 (和光純薬) 1.0ml, および内部標準物質としてチモール (和光純薬) 1.0 $\mu$ gを加え, 振盪機R-10 (大洋科学, 東京) により15分間振盪した. 次いで, 遠心 (4℃, 3000回転/分, 15分間) して有機層を採取し, あらかじめテトラメチルアンモニウム (ナカライテスク, 京都) 1.0 $\mu$ gを入れておいた別の試験管に移した. この試験管の内容を加温 (50℃) と窒素ガスの吹きつけで乾固したうえ, HPLCの移動相200 $\mu$ lに再溶解し, そのうち20 $\mu$ lをHPLCに注入した.

HPLCの移動相には, アセトニトリル (和光純薬) 600mlと蒸留水400mlの混合液に, 3フッ化酢酸 (和光純薬) 1mlを加えたものを使用した. なお, この移動相は, 使用前にヘリウムガスを通して脱気した. HPLCはLC-10AT (島津製作所, 東京) を使用し, カラムには $\mu$  Bondapak  $C_{18}$ ™ (Waters, Milford, USA) を用いた. 移動相の流量は4.0ml/分とした. 検出器には蛍光検出器Waters 470™ (Waters) を用い, 励起波長を276nm, 検出波長を310nmに設定した.

プロポフォール濃度測定用の検量線を作製する目的で, 別のラットから採取した全血および血漿0.5mlを用いて, 0.5-10.0 $\mu$ g/mlの既知濃度のプロポフォール溶液を調整した. この検体から得られたクロマトグラム上のプロポフォールとチモールのピーク高比を求め, 検量線を作製した. これらの検量線は上記の濃度範囲において良好な直線性を示し, 相関係数は全血用および血漿用とも0.997以上であった. また, 検量線の傾きは, それぞれ0.474  $\pm$  0.024 ml/ $\mu$ g ( $\bar{x}$   $\pm$  SD, 以下同じ) と0.460  $\pm$  0.041ml/ $\mu$ gであり, 変動係数はそれぞれ5.2%と8.9%であった. 全血および血漿のいずれについても, プロポフォールの測定感度は10.0ng/mlであった.

3. プロポフォールの血液-血漿間分配率 (blood/plasma partition coefficient,  $R_b$ ) と赤血球移行率 (distribution ratio to erythrocytes, T) の計算<sup>9)10)</sup>

$R_b$ は,  $C_b$ を $C_p$ で除して求めた (式1).

$$R_b = \frac{C_b}{C_p} \quad \dots\dots\dots (1)$$

Tは, 単位体積の全血中に存在するプロポフォールのうち, 赤血球に結合したものの百分率とした (式2).

$$T = \left[ \frac{C_b - C_p \times \left( \frac{100 - \text{Hct}}{100} \right)}{C_b} \right] \times 100 = \left[ 1 - \frac{1}{R_b} \times \left( \frac{100 - \text{Hct}}{100} \right) \right] \times 100 \quad \dots\dots\dots (2)$$

## Ⅲ. 実験2: プロポフォールの脳移行に及ぼす各血液成分の影響

### 1. 実験手順

まず, 頸動脈に注入する試験液を作製するために, ラット (n=5) をケタミン 100mg/kgの腹腔内投与で麻酔した後, 経皮的に心臓を穿刺して血液を採取した. その血液にヘパリンを添加 (血液1mlに対して5単位) した後, 遠心 (4℃, 1500回転/分, 15分間) して血漿を分離した. 残った血球成分を生理食塩水で3回洗浄し, 最終的にHctが40-50%になるように生理食塩水を添加して, 洗浄赤血球浮遊液を作製した. 次に, 1%プロポフォール10 $\mu$ lと<sup>14</sup>C-ブタノール (0.2 $\mu$ Ci/ml, アマシャム・ジャパン, 東京) 1 $\mu$ lを, 洗浄赤血球, 血漿または生理食塩水のいずれかに溶解することによって全量200 $\mu$ lに調整し, 3種類の試験液を作製した. なお, 洗浄赤血球を含む試験液のHctは, ABL-510で確認した.

これらの試験液中に含まれるプロポフォールの脳組織への移行を, 頸動脈1回注入法<sup>11)</sup>で測定した. 本法は, 被検薬物を動物の頸動脈から急速に注入後断頭して, その脳移行率を測定する方法である (図1). すなわち, ラット (n=15) をケタミン 100mg/kgの腹腔内投与で麻酔し, 右総頸動脈を露出したうえ, 洗浄赤血球群, 血漿群, 生食群の3群に無作為に分けた (各群n=5). 次に, 29ゲージ針付き注射器を用いて総頸動脈を直接穿刺し, あらかじめ37℃に加温しておいた試験液 (200 $\mu$ l) を頭側に向けて約0.5秒で注入した. 注入終了から5秒後に断頭して右大脳半球を取り出し, 重量を電子式上皿天秤 (日本シベルワグナー, 横浜) で測定した. その後, 脳をホモジネートし, 0.1gずつをプロポフォールの脳内濃度 (propofol concentration in brain,  $C_{br}$ ) 測定と<sup>14</sup>C-ブタノールの放射活性測定に供した. なお, 前者は4℃で保存しておき, 後者は検体採取後速やかに後述する処理を行い, いずれも8時間以内に測定を行った.

### 2. プロポフォールの $C_{br}$ の測定

$C_{br}$ は, 血液の場合と同様の方法で測定した. また, 脳内濃度測定のための検量線を別のラットを用いて作製した. その検量線は0.5-10.0 $\mu$ g/gの濃度範囲で良好な直線性を示し, 相関係数は0.998以上, 検量線の傾きは0.182  $\pm$  0.001g/ $\mu$ g, 変動係数

dioxide pressure; PaO<sub>2</sub>, arterial oxygen pressure; R<sub>b</sub>, blood/plasma partition coefficient; T, distribution ratio to erythrocytes

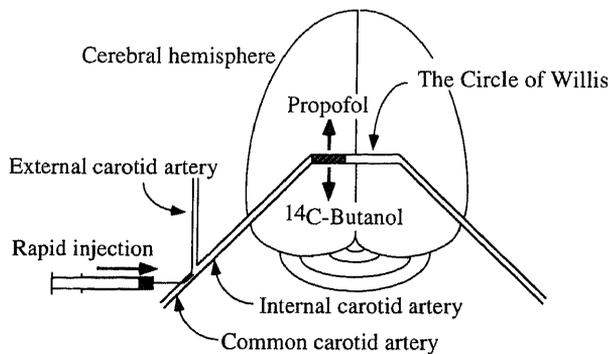


Fig. 1. Schema of single carotid injection technique in rats. Propofol containing  $^{14}\text{C}$ -butanol mixed with one of the three vehicles: erythrocyte suspension, plasma, or saline is rapidly injected into the common carotid artery followed by decapitation after 5 seconds. Approximately 20% of the injectate reaches the brain, while residual 80% passes through the external carotid artery.  $^{14}\text{C}$ -butanol diffuses completely to the brain as a reference substance. Hatched area indicates the injectate, which is supposed not to mix with circulating blood.

は0.4%であった。なお、脳内濃度は脳組織1g当りの値として求めた。

### 3. $^{14}\text{C}$ -ブタノールの放射活性の測定

脳組織0.1gの入ったガラス容器に可溶化剤ソルバブル™ (0.5M, Packard, Groningen, the Netherlands) 1.5mlを加え、60℃で90分間振盪した。次に過酸化水素水(和光純薬) 200 $\mu\text{l}$ を加え、室温で15分間静置した後、60℃で15分間振盪し、室温に戻してクリアゾル I™ (ナカライテスク) 12mlを加えた。5規定の塩酸(和光純薬) 150 $\mu\text{l}$ を加えて中和した後、液体シンチレーションカウンターLSC-3500 (アロカ, 東京) を用いて、 $^{14}\text{C}$ の放射活性を測定した。また、使用した試験液についても、その2 $\mu\text{l}$ にクリアゾルIを4ml加えて $^{14}\text{C}$ の放射活性を測定した。

### 4. 脳移行率 (brain uptake index, BUI) の計算

$^{14}\text{C}$ -ブタノールの放射活性から、脳におけるブタノールの抽出率を求めた。次に、ブタノールの抽出率を100%としたときのプロポフォールのBUIを次の式(3)によって計算した。

$$\text{BUI}(\%) = \frac{C_{\text{br}}(\mu\text{g/g}) \times \text{右大脳半球の重量 (g)}}{^{14}\text{C-カウント (脳)}} \times 100 \\ = \frac{\text{プロポフォールの投与量}(\mu\text{g})}{^{14}\text{C-カウント (試験液)}} \times 100 \quad \dots\dots\dots (3)$$

$^{14}\text{C}$ -カウント (脳), 脳組織の $^{14}\text{C}$ 放射活性 (disintegrations per minute, dpm)

$^{14}\text{C}$ -カウント (試験液), 試験液のdpm

## IV. 実験3: 急性貧血ラットにおけるプロポフォールの脳移行に関する検討

### 1. 実験動物の準備

ラット (n=16) を酸素5 l/分とセボフルラン (丸石製薬, 大阪) 2-3%を吸入させて麻酔した。大腿静脈および大腿動脈に24ゲージのテフロンカテーテル (Critikon) を留置し、それぞれを静

脈路および動脈圧測定用にあてた。動脈圧は、血圧測定装置AP-611G (日本光電, 東京) で持続的に測定した。次に、気管切開を行い、臭化バンクロニウム (日本オルガノン, 東京) を静注して被検動物を非動化して、小動物用人工呼吸器SN-480-7 (シナノ, 東京) に接続した。なお、調節呼吸には純酸素を用い、3cm水柱の呼気終末陽圧を負荷した。続いて、胸骨左縁より約2cmの肋骨間胸を加えて心臓を露出し、血流量測定用のマイクロスフェアを注入するためのポリエチレンチューブPE-10 (夏目製作所, 東京) を心尖部から左心室内へ挿入した。なお、実験中は、大腿動脈に留置したカテーテルから定時的 (後述) に採血し、pH, 酸素分圧 (arterial oxygen pressure,  $\text{PaO}_2$ ), 二酸化炭素分圧 (arterial carbon dioxide pressure,  $\text{PaCO}_2$ ), ヘモグロビン濃度およびHctを、自動血液ガス分析装置ABL-510により測定した。

### 2. 実験手順

外科的処置が終了した時点で、動脈血ガス分析を行い、 $\text{PaCO}_2$ が35-40mmHgとなるように換気条件を設定した。次に、ラットを無作為に貧血群 (n=8) と対照群 (n=8) とに分けた。貧血群では、大腿動脈から血液2mlを採取し、その血液を遠心して得られた血漿のみ約1mlに生理食塩水1mlを加えて大腿静脈へ戻すという操作を5-6回反復し、動物のヘモグロビン濃度を群分け前値の約1/2にした。対照群では、この間何の操作も加えなかった。貧血モデルの作製が完了した時点で、セボフルランの吸入を中止した。血行動態が安定しているのを確認した後、プロポフォールを9.3mg/kg急速静注し、次いで30mg/kg/時間の速度でシリンジポンプSTC-525 (テルモ, 東京) を用いて持続投与した。投与開始から1時間後に、カラードマイクロスフェア (直径15 $\mu\text{m}$ , 1万個/ $\mu\text{l}$ , プライムテック, 東京) を2,000,000個含む懸濁液 (10%デキストラン中に0.05%ツイーン80™を含有) を左心室内に留置してあるカテーテルから20秒で注入した。心拍出量 (cardiac output, CO) を測定するため、マイクロスフェア注入の10秒前から75秒間、定流量ポンプ (Masterflex™, Cole-Parmer Instrument Co., Illinois, USA) を用いて大腿動脈から0.8ml/分の速度で持続的に採血した (採取血総量=1.0ml)。ポンプ回路に残留する血液を生理食塩水でよく洗浄し、採取した血液と混合してCO測定に供した。

以上の操作が終了した後、約10分間血行動態が安定するのを待って、大腿動脈から血液を2ml採取すると同時に断頭した。採取した血液は、実験1と同様に処置して $C_{\text{br}}$ と $C_{\text{p}}$ の測定に供した。次いで、両側大脳半球を取り出してホモジネートした。その約0.1gは4℃で保存して $C_{\text{br}}$ 測定に供し、約1gをカラードマイクロスフェアによる脳血流量 (cerebral blood flow, CBF) 測定に供した。なお、心拍数と血圧および動脈血ガスの測定は、群分け前、群分け後のプロポフォール投与開始前、プロポフォールの投与を開始してから30分後、および断頭直前の4時点で行った。

### 3. COおよびCBFの測定<sup>12)</sup>

COの測定にはカラードマイクロスフェア抽出用キット (プライムテック) を用いた。すなわち、採取した血液 (1ml) に溶血試薬5mlを加えて溶血させた後、組織/血液分解試薬Iを5ml加え、80℃で30分間加温して加水分解した。次に、組織/血液分解試薬IIを5ml加え、3000回転/分で30分間遠心分離し、沈渣をマイクロスフェア計数試薬に懸濁して総容量0.4mlの

検体を作製した。フックスローゼンタル血球計数用プレパラート(萱垣製作所, 東京)に検体を20μl滴下し, 光学顕微鏡を用いてマイクロスフェアー数を計測した。血液の採取速度(0.8ml/分)と左心室内に投与したマイクロスフェアー数(2,000,000個)の積を血液中のマイクロスフェアー数で除してCOを計算した(式4)。

$$CO(\text{ml}/\text{分}) = \text{血液採取速度} \times \frac{2,000,000}{\text{採取血液中のマイクロスフェアー数}} \dots\dots\dots (4)$$

CBFの測定にあたっては, まず脳組織の重量を正確に測定した後, 組織/血液分解試薬Iを5ml加え, 80℃で2時間加温して組織を破壊した。次いで, 血液の場合と同様の方法でマイクロスフェアー数を計測した。CO, 検体の重量, および検体中のマイクロスフェアー数から脳組織1g当りのCBFを下の式で計算した(式5)。

$$CBF(\text{ml}/\text{分}/\text{g}) = CO \times \frac{1}{\text{検体重量}} \times \frac{\text{検体中のマイクロスフェアー数}}{2,000,000} \dots\dots\dots (5)$$

検体中のマイクロスフェアー数は, 3回の測定の前平均を用いた。

4. 脳-血液分配係数 (brain/blood partition coefficient,  $K_{br}$ ) の計算

$K_{br}$  は,  $C_{br}$  を  $C_b$  で除して求めた(式6)

$$K_{br} = \frac{C_{br}}{C_b} \dots\dots\dots (6)$$

V. 統計処理

すべての測定値は,  $\bar{x} \pm SD$  で示した。実験1における群間の比較には対応のないt検定を用いた。実験2におけるBUIの比較, 実験3における群間および群内の比較には分散分析を用い, 有意差のみられた場合には多重比較としてScheffé法を用いた。いずれの場合も, 危険率5%未満をもって有意差とした。

成 績

I. 血液-血漿間分配率および赤血球移行率(表1)

単回投与群および持続投与群ともに, Hctは45%前後であった。  $C_b$  と  $C_p$  の比を示す  $R_b$  は, 両群とも平均2.0であり, これが

ら計算された赤血球移行率Tの値は, 両群とも70%前後であった。

II. プロポフォールの脳移行に及ぼす各血液成分の影響(図2)

作製した洗浄赤血球浮遊液のHctは46.1±1.1%であり, これにプロポフォールとブタノールを加えて調整した試験液のHctは43.6±1.1%であった。洗浄赤血球群のBUIは18.0±2.2%であり, 血漿群の10.8±1.8%および生食群の10.2±2.9%に対して, 有意に高い値を示した(それぞれ  $p=0.0016$  および  $0.0008$ )。血漿群と生食群のBUIには, 有意差を認めなかった。

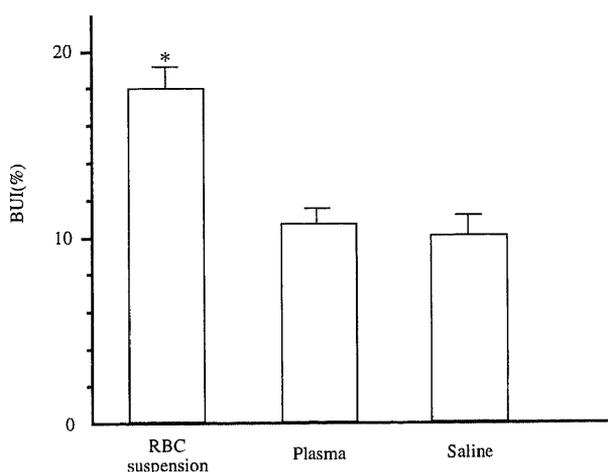


Fig. 2. Brain uptake index (BUI) after single carotid injection of propofol. Propofol and  $^{14}\text{C}$ -butanol are rapidly injected into the right common carotid artery with one of the three vehicles: red blood cell suspension ( $n=5$ ), plasma ( $n=5$ ), or saline ( $n=5$ ). The animals are decapitated 5 seconds after the injection. The cerebral hemispheres ipsilateral to the injection site are removed and homogenized. The samples are assayed for propofol concentration with high-performance liquid chromatography and for  $^{14}\text{C}$ -butanol with liquid scintillation counter. The ratio of propofol concentration to  $^{14}\text{C}$ -radioactivity in the brain and in the injectate is calculated. BUI is defined as the ratio in the brain divided by the ratio in the injectate. Each value represents  $\bar{x} \pm SD$ . \* $p<0.05$  vs. plasma and saline groups.

Table 1. Propofol distribution in blood

Group <sup>a)</sup>	No. of rats	Hct (%)	$R_b$ <sup>b)</sup>	T <sup>c)</sup> (%)
Bolus	4	45.5 ± 2.6 <sup>d)</sup>	2.0 ± 0.3	70.8 ± 2.9
Continuous infusion	8	45.9 ± 2.0	2.0 ± 0.3	69.6 ± 3.4

a) Bolus, the group in which blood sample is taken at 2 min after 10 mg/kg bolus intravenous administration of propofol; Continuous infusion, the group in which blood sample is taken at 1 hr after a bolus (10 mg/kg) followed by a continuous infusion of propofol at 30 mg/kg/hr. Concentrations of propofol in whole blood and plasma are measured in two groups.

b)  $R_b$ , a blood-plasma partition coefficient of propofol.

c) T, a distribution ratio of propofol to erythrocytes.

d) Each value represents  $\bar{x} \pm SD$ .

### Ⅲ. 急性貧血ラットにおけるプロポフォールの脳移行

#### 1. ヘモグロビン濃度およびHctの変化 (表2)

群分け前のヘモグロビン濃度は、貧血群と対照群の間に差がなかった。断頭時の貧血群のヘモグロビン濃度は、対照群の約1/2であった。両群のHctも、ヘモグロビン濃度と同様の所見を示した。

#### 2. 循環動態の変化 (表3, 4)

平均動脈圧は、すべての時点で貧血群に比べ対照群が高い傾向を示した。また、両群の平均動脈圧と心拍数は、プロポフォール投与開始後に上昇する傾向を示した。しかし、いずれに関しても、群間および群内に有意差を認めなかった。断頭10分前に測定したCOおよびCBFについても、両群間に有意な差を認めなかった。

#### 3. 動脈血ガス分析値の変化 (表5)

Table 2. Hemoglobin concentration and hematocrit

Group <sup>a)</sup>	No. of rats	Hb <sup>b)</sup> (g/dl) and Hct (%)			
		Baseline	Before administration of propofol	30 min after propofol infusion	Decapitation
<b>Hb</b>					
Anemia	8	13.6±0.5 <sup>c)</sup>	6.9±0.8*#	7.3±0.8*#	7.2±0.6*#
Control	8	13.7±0.6	13.8±0.6	14.2±0.7	14.8±0.8
<b>Hct</b>					
Anemia	8	41.7±1.6	21.6±2.3*#	22.9±2.4*#	22.6±1.6*#
Control	8	42.1±1.8	42.2±1.8	43.5±1.8	45.0±1.8

a) Anemia, animals whose hemoglobin concentration is decreased to a half of the baseline value by replacing erythrocytes with saline; control, animals with normal hemoglobin concentration.

b) Hb, hemoglobin concentration.

c) Each value represents  $\bar{x} \pm SD$ .

\* p<0.05 vs. control group; #p<0.05 vs. baseline value.

Table 3. Mean arterial pressure and heart rate

Group <sup>a)</sup>	No. of rats	MAP <sup>b)</sup> (mmHg) and HR <sup>c)</sup> (beats/min)			
		Baseline	Before administration of propofol	30 min after propofol infusion	Decapitation
<b>MAP</b>					
Anemia	8	121.0±22.1 <sup>d)</sup>	122.4±12.0	131.1±11.1	130.3±13.3
Control	8	132.0±10.8	132.0±10.8	140.0±2.6	136.4±8.1
<b>HR</b>					
Anemia	8	360.0±52.6	382.5±24.1	406.9±61.3	401.9±67.3
Control	8	376.9±35.3	384.4±34.0	427.5±16.0	420.0±22.7

a) Anemia, animals whose hemoglobin concentration is decreased to a half of the baseline value by replacing erythrocytes with saline; control, animals with normal hemoglobin concentration.

b) MAP, mean arterial pressure.

c) HR, heart rate.

d) Each value represents  $\bar{x} \pm SD$ .

Table 4. Cardiac output and cerebral blood flow just before decapitation

Group <sup>a)</sup>	No. of rats	CO <sup>b)</sup> (ml/min)	CBF <sup>c)</sup> (ml/min/g brain)
Anemia	8	139.2±31.8 <sup>d)</sup>	0.804±0.238
Control	8	120.4±28.9	0.774±0.303

a) Anemia, animals whose hemoglobin concentration is decreased to a half of the baseline value by replacing erythrocytes with saline; control, animals with normal hemoglobin concentration.

b) CO, cardiac output measured by colored-microsphere technique.

c) CBF, cerebral blood flow measured by colored-microsphere technique.

d) Each value represents  $\bar{x} \pm SD$ .

Table 5. Arterial blood gas analysis

Group <sup>a)</sup>	No. of rats	pH, PaO <sub>2</sub> <sup>b)</sup> (mmHg) and PaCO <sub>2</sub> <sup>c)</sup> (mmHg)			
		Baseline	Before administration of propofol	30 min after propofol infusion	Decapitation
pH					
Anemia	8	7.427±0.045 <sup>d)</sup>	7.433±0.033	7.436±0.040	7.408±0.059
Control	8	7.435±0.043	7.440±0.036	7.445±0.035	7.436±0.039
PaO <sub>2</sub>					
Anemia	8	296.5±124.7	443.2±49.3	425.6±48.7	397.5±49.4
Control	8	328.3±144.8	361.5±100.9	371.7±88.7	368.8±66.8
PaCO <sub>2</sub>					
Anemia	8	38.9±5.8	38.3±3.8	37.8±4.1	39.2±2.6
Control	8	35.6±5.5	36.3±2.2	36.1±3.9	38.7±2.4

a) Anemia, animals whose hemoglobin concentration is decreased to a half of the baseline value by replacing erythrocytes with saline; control, animals with normal hemoglobin concentration.

b) PaO<sub>2</sub>, arterial oxygen pressure.

c) PaCO<sub>2</sub>, arterial carbon dioxide pressure.

d) Each value represents  $\bar{x} \pm SD$ .

Table 6. Propofol concentration

Group <sup>a)</sup>	No. of rats	C <sub>B</sub> <sup>b)</sup> ( $\mu$ g/ml)	C <sub>P</sub> <sup>c)</sup> ( $\mu$ g/ml)	C <sub>Br</sub> <sup>d)</sup> ( $\mu$ g/g brain)	T <sup>e)</sup> (%)	K <sub>Br</sub> <sup>f)</sup>
Anemia	8	6.60±1.74 <sup>g)*</sup>	5.04±1.43†	3.69±1.44	40.8±11.6†	0.555±0.175†
Control	8	4.68±1.69	2.53±0.98	4.52±1.14	69.6±9.6	1.021±0.296

a) Anemia, animals whose hemoglobin concentration is decreased to a half of the baseline value by replacing erythrocytes with saline; control, animals with normal hemoglobin concentration.

b) C<sub>B</sub>, propofol concentration in whole blood.

c) C<sub>P</sub>, propofol concentration in plasma.

d) C<sub>Br</sub>, propofol concentration in brain.

e) T, a distribution ratio of propofol to erythrocytes.

f) K<sub>Br</sub>, a brain/blood partition coefficient of propofol, which is the ratio of C<sub>Br</sub> to C<sub>B</sub>.

g) Each value represents  $\bar{x} \pm SD$ .

\* p<0.05 vs. control group; †p<0.01 vs. control group.

動脈血のpH, PaO<sub>2</sub>, およびPaCO<sub>2</sub>は, 群間および群内に有意差を認めなかった. PaO<sub>2</sub>は両群とも常に290mmHg以上であり, PaCO<sub>2</sub>は35-40mmHgの範囲内に保たれていた.

#### 4. 各検体中のプロポフォール濃度 (表6)

C<sub>B</sub>およびC<sub>P</sub>は, いずれも貧血群が対照群より有意に高い値を示した (それぞれp=0.0412および0.0011). 一方, C<sub>Br</sub>は両群間で差を認めなかった. 対照群の赤血球移行率Tは約70%で実験1の結果と一致したが, 貧血群では約40%と有意に低い値を示した (p=0.0008). また, 貧血群のK<sub>Br</sub>は対照群の約1/2であり, 有意に低い値を示した (p=0.0018).

### 考 察

今回の研究の結果, 実験1ではプロポフォールは血液の中では約70%が赤血球に分布すること, 実験2では赤血球の存在によってプロポフォールの脳移行率が有意に増加すること, 実験3ではヘモグロビン濃度が1/2の貧血状態では脳-血液分配係数が1/2に減少することがそれぞれ明らかとなった.

プロポフォールの赤血球移行率を測定した報告は少ない.

Ginら<sup>13)</sup>は, ヒトでの赤血球移行率を約50-60%としているが, ラットに関しては報告がない. 今回の実験1では, 単回静注後の急速分布相ならびに, 持続静注時の定常状態における, 赤血球移行率の測定を行った. ラットにおけるプロポフォールの血中除去半減期は約33分<sup>14)</sup>と短いため, 単回静注に引き続いて持続静注を1時間行えば, 定常状態に達しているとみなすことができる. 実験1の結果, 生理的なHct (45%前後) では, プロポフォールは血液の中では70%が赤血球に, 残り30%が血漿中に, それぞれ分布することが明らかとなった. また, 急速分布相と定常状態のいずれについても, プロポフォールの血中分布には差がないことが確認できた.

実験2で用いた頸動脈1回注入法<sup>15)</sup>では, 薬物が脳を通過するのに十分であり, かつ脳から血管内への流出が最少に抑えられる時間に断頭することが重要である. また, 被検薬物を総頸動脈から注入した場合, 外頸動脈へ流れる割合 (約80%) と実際に脳に達する割合 (約20%) が, 個体差や試験液の種類によって異なる可能性がある<sup>15)</sup>. この問題点を解決するために, 脳透過の速やかな対照物質を被検薬物に混合して投与するのが一

般的である<sup>20)</sup>。さらに、急速に注入することによって、試験液と循環血液との混合は無視しうる<sup>21)</sup>。今回の実験では、脳移行が速やかに脳通過直後(約5秒)の抽出率が100%の<sup>14</sup>C-ブタノールを対照物質として用い、約0.5秒で注入を行い、断頭時間を注入終了から5秒後に設定した。

実験2の結果から、洗浄赤血球群と生食群のBUIを比較することによって、赤血球の存在はプロポフォールの脳への移行を有意に増加させること、さらに、血漿群と生食群のBUIを比較することによって、血漿の存在はプロポフォールの脳への移行に有意な影響を及ぼさないことが明らかになった。したがって、Hct 45%前後の生理的な血液中では、投与されたプロポフォールは実験1の結果から赤血球と血漿に7:3の比率で分布するが、脳組織への移行には血漿に分布した30%よりも、赤血球に分布した70%のプロポフォールが重要な役割を果たすものと考えられる。

実験3は、実験2の結果をさらに臨床に近いモデルで確認しようとしたものである。実験計画の時点では、貧血群のヘモグロビン濃度は正常の約1/2になるため、循環動態の変化を来し、プロポフォールの脳への移行に影響を与える可能性が危惧された。しかしながら、HR、MAP、COなどには両群間に有意差を認めなかった。また、CBFを変化させるPaCO<sub>2</sub>、さらにはCBFそのものにも、両群間に差がなかった。以上から、今回の貧血群と対照群でみられた差異が、循環動態によってもたらされた可能性は少ない。

実験3では、貧血群のC<sub>br</sub>は対照群に比較して低い傾向が認められたが、有意差はなかった。しかし、定常状態でプロポフォールの脳移行性を示すと考えられるK<sub>br</sub>は、貧血群で対照群の約1/2となった。したがって、ヘモグロビン濃度がプロポフォールの脳組織への移行を左右するといえる。すなわち、実験3の結果は、赤血球がプロポフォールの脳組織への移行を促進することをさらに裏付けるものとなった。

実験3で測定した対照群におけるプロポフォールのK<sub>br</sub>は、1.0であった。Simonsら<sup>22)</sup>は、ラットにプロポフォール9mg/kgを単回静注したときのK<sub>br</sub>は、2分後で2.3、4分後で3.4と報告している。また、Shyrら<sup>23)</sup>は、ラットにプロポフォール(60mg/kg/時間)を15分間持続静注したときのK<sub>br</sub>は約2.9であったとしている。しかし、前者の実験は単回投与後におけるものである。また、後者は持続投与ではあるが、投与開始からわずか15分後に測定されており、定常状態ではない。したがって、今回の研究結果とこれらの報告とは投与条件が異なっており、単純に比較することはできないと考える。

実験3では、プロポフォールの投与速度が同一であるにもかかわらず、貧血群のC<sub>br</sub>は対照群の約1.4倍の値を示した。この原因には次の2つの可能性が考えられる。まず第1は、定常状態における分布容積(steady state distribution volume, Vdss)の減少である。一般に静注した生理食塩水のうち血管内に留まるのは30%前後であって他は血管外に移行する。今回の貧血群作製にあたっては、赤血球成分の喪失量と同量の生理食塩水を補充したのみであり、循環血液量が減少していた可能性は否定できない。循環血液量の減少はVdssを減少させ、貧血群のC<sub>br</sub>を上昇させる要因になりうる。第2の可能性は、クリアランスの低下である。すなわち、プロポフォールは大部分が肝臓において代謝され、そのクリアランスは肝血流量と肝における除去率の積として表わされる<sup>24)</sup>。プロポフォールのような肝除去率

の高い薬剤の場合、クリアランスは肝血流量の影響を最も強く受ける<sup>25)</sup>。今回の実験では肝血流量の測定は行わなかったが、肝血流量を決める最大の因子である心拍出量に両群間で差がなかったことから、肝血流量にも大きな差はないものと推測される。一方、肝除去率は肝への取り込みと肝代謝機能の双方を総合的に表わす指標であるが、代謝機能が貧血状態で変化すると考えにくい。したがって、貧血群ではプロポフォールの肝への取り込みが減少し、その結果としてC<sub>br</sub>が上昇した可能性がある。

従来から、薬物の組織移行は、次のような仮説(free drug hypothesis)<sup>26)</sup>によって説明されてきた。すなわち、多くの薬物は血中では血漿蛋白と結合して存在し、組織へは蛋白と結合していない、非結合型の薬物のみが移行する。また、薬理作用を発現できるのは、組織における非結合型の薬物であり、この濃度は常に血漿中の非結合型薬物の濃度と比例関係にあるので、血漿中の非結合型の濃度は、組織中の非結合型の濃度、さらにはその薬理作用を反映する。プロポフォールについてもこの仮説を適用した研究<sup>27)・28)</sup>が幾つか報告されている。しかし、今回の研究の結果から、プロポフォールの組織移行に関しては、赤血球からの直接移行がより重要な経路と考えられた。したがって、非結合型薬物濃度のみでは、プロポフォールの薬理作用を論ずることはできない。

プロポフォールの脳移行に及ぼす赤血球の役割についての研究は、これまでに発表されていない。他の薬剤に関しては、Fenertyら<sup>29)</sup>とLinら<sup>30)</sup>のグループがベンゾジアゼピン系薬剤のBUIを測定し、薬物の脳移行に血漿蛋白が関与することを指摘している。また、Hiramatsuら<sup>30)・31)</sup>が、ステロイドの脳組織への移行について、血漿蛋白成分よりも赤血球膜の存在によって大きく促進されることを報告している。

プロポフォールは麻酔臨床上有用な薬剤である。しかし、プロポフォールの脳移行における赤血球の役割に関する今回の研究結果から、赤血球はプロポフォールの脳への移行に促進的な役割を果たしており、貧血状態ではプロポフォールの脳への移行が減少する可能性が示された。このことから、術前から強い貧血がある場合や術中に大量出血を来した場合には、プロポフォールの脳への移行が減少する可能性がある。

## 結 論

ラットを対象に、プロポフォールの血液中で分布、各血液成分がプロポフォールの脳組織への移行に及ぼす影響、および急性貧血モデルにおけるプロポフォール持続静注時の脳移行について検討し、以下の結論を得た。

1. 血液中に投与されたプロポフォールは、その70%が赤血球と結合して存在し、血漿中よりも赤血球に多く分布する。
2. 赤血球の存在はプロポフォールの脳組織への移行を促進する。
3. ヘモグロビン濃度が1/2になると、プロポフォールの脳移行は約1/2に減少する。

## 謝 辞

稿を終るにあたり、御指導、御校閲を賜りました金沢大学医学部麻酔・蘇生学講座小林勉教授に深甚なる謝意を申し上げます。また、終始直接御指導、御助言を頂きました金沢大学医学部麻酔・蘇生学山本健助教授に深く感謝いたします。

なお、本研究の要旨は第19回日本麻酔・薬理学会総会(1997, 東京)

および第45回日本麻酔学会総会(1998, 鹿児島)において発表した。

## 文 献

- 1) Shafer A, Doze VA, Shafer SL, White PF. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of propofol infusions during general anesthesia. *Anesthesiology* 69 : 348-356, 1988
- 2) Kay NH, Uppington J, Sear JW, Douglas EJ, Cockshott ID. Pharmacokinetics of propofol ('Diprivan') as an induction agent. *Postgrad Med J* 3 : 55-57, 1985
- 3) Nolan A, Reid J. Pharmacokinetics of propofol administered by infusion in dogs undergoing surgery. *Br J Anaesth* 70 : 546-551, 1993
- 4) Simons PJ, Cockshott ID, Douglas EJ, Gordon EA, Knott S, Ruane RJ. Species differences in blood profiles, metabolism and excretion of <sup>14</sup>C-propofol after intravenous dosing to rat, dog and rabbit. *Xenobiotica* 21 : 1243-1256, 1991
- 5) Hughes MA, Glass PSA, Jacobs JM. Context-sensitive half-time in multicompartment pharmacokinetic models for intravenous anesthetic drugs. *Anesthesiology* 76 : 334-341, 1992
- 6) Smith I, White PF, Nathanson M, Gouldson R. Propofol. An update on its clinical use. *Anesthesiology* 81 : 1005-1043, 1994
- 7) Kanto J, Gepts E. Pharmacokinetic implication for the clinical use of propofol. *Clin Pharmacokinet* 17 : 308-326, 1989
- 8) Plummer GF. Improved method for the determination of propofol in blood by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J Chromatogr* 421 : 171-176, 1987
- 9) 伊賀立二, 沢田康文, 杉山雄一. 生理学的薬物速度論. 医薬品開発のためのファーマコキネティクス実験法(花野学, 梅村甲子郎, 伊賀立二編), 第1版, 397-473頁, ソフトサイエンス社, 東京, 1985
- 10) 粟津莊司, 渡辺淳. 生理学的モデル. 薬物速度論の基礎, 第1版, 47-70頁, 廣川書店, 東京, 1988
- 11) Bonate PL. Animal models for studying transport across the blood-brain barrier. *J Neurosci Methods* 56 : 1-15, 1995
- 12) Hakkinen JP, Miller MW, Smith AH, Knight DR. Measurement of organ blood flow with coloured microspheres in the rat. *Cardiovasc Res* 29 : 74-79, 1995
- 13) Gin T, Wong J, Tan P, Lam KK. Protein binding of propofol. *Anaesth Intensive Care* 23 : 250 Abs, 1995
- 14) Cockshott ID, Douglas EJ, Plummer GF, Simons PJ. The pharmacokinetics of propofol in laboratory animals. *Xenobiotica* 22 : 369-375, 1992
- 15) Oldendorf WH. Measurement of brain uptake of radiolabeled substances using a tritiated water internal standard. *Brain Res* 24 : 372-376, 1970
- 16) Pardridge WM, Fierer G. Blood-brain barrier transport of butanol and water relative to N-isopropyl-*p*-iodoamphetamine as the internal reference. *J Cereb Blood Flow Metab* 5 : 275-281, 1985
- 17) Oldendorf WH, Braun LD. [<sup>3</sup>H]Tryptamine and <sup>3</sup>H-water as diffusible internal standards for measuring brain extraction of radio-labeled substances following carotid injection. *Brain Res* 113 : 219-224, 1976.
- 18) Crone C. The permeability of brain capillaries to non-electrolytes. *Acta Physiol Scand* 64 : 407-417, 1965
- 19) Raichle ME, Eichling JO, Grubb RL. Brain permeability of water. *Arch Neurol* 30 : 319-321, 1974
- 20) Raichle ME, Eichling JO, Straatmann MG, Welch MJ, Larson KB, Ter-Pogossian MM. Blood-brain barrier permeability of [<sup>14</sup>C]labeled alcohols and [<sup>18</sup>O]labeled water. *Am J Physiol* 230 : 543-552, 1976
- 21) Simons PJ, Cockshott ID, Douglas EJ, Gordon EA, Knott S, Ruane RJ. Distribution in female rats of an anaesthetic intravenous dose of <sup>14</sup>C-propofol. *Xenobiotica* 21 : 1325-1335, 1991
- 22) Shyr MH, Tsai TH, Tan PPC, Chen CF, Shan SHH. Concentration and regional distribution of propofol in brain and spinal cord during propofol anesthesia in the rat. *Neurosci Lett* 184 : 212-215, 1995
- 23) Lange H, Stephan H, Rieke H, Kellermann M, Sonntag H, Bircher J. Hepatic and extrahepatic disposition of propofol in patients undergoing coronary bypass surgery. *Br J Anaesth* 64 : 563-570, 1990
- 24) 加藤隆一. 薬の体内分布と臓器クリアランス. 臨床薬物動態学, 第1版, 31-61頁, 南江堂, 東京, 1992
- 25) Teh J, Short TG, Wong J, Tan P. Pharmacokinetic interactions between midazolam and propofol: an infusion study. *Br J Anaesth* 72 : 62-65, 1994
- 26) Costela JL, Jiménez R, Calvo R, Suárez E, Carlos R. Serum protein binding of propofol in patients with renal failure or hepatic cirrhosis. *Acta Anaesthesiol Scand* 40 : 741-745, 1996
- 27) Dawson PJ, Bjorksten AR, Blake DW, Goldblatt JC. The effects of cardiopulmonary bypass on total and unbound plasma concentrations of propofol and midazolam. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 11 : 556-561, 1997
- 28) Fenerty CA, Lindup WE. Brain uptake of L-tryptophan and diazepam: the role of plasma protein binding. *J Neurochem* 53 : 416-422, 1989
- 29) Lin T, Lin JH. Effects of protein binding and experimental disease states on brain uptake of benzodiazepines in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 253 : 45-50, 1990
- 30) Hiramatsu R, Nisula BC. Erythrocyte-associated component of blood cortisol. *Ann NY Acad Sci* 538 : 159-166, 1988
- 31) Hiramatsu R, Nisula BC. Erythrocyte-associated cortisol: measurement, kinetics of dissociation, and potential physiological significance. *J Clin Endocrinol Metab* 64 : 1224-1232, 1987
- 32) Hiramatsu R, Nisula BC. Uptake of erythrocyte-associated component of blood testosterone and corticosterone to rat brain. *J Steroid Biochem Mol Biol* 38 : 383-387, 1991

**Erythrocytic Promotion of Propofol Uptake by the Brain** Kazuhiro Nishimura, Department of Anesthesiology and Intensive Care Medicine, School of Medicine, Faculty of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920-8640 – J. Juzen Med Soc., **107**, 276 – 284 (1998)

**Key words** anemia, brain uptake index, distribution, erythrocyte, propofol

#### Abstract

Propofol extensively binds to erythrocytes in blood because of its high lipid-solubility. Erythrocyte-bound propofol may then transfer to the brain through direct contact between erythrocytes and vascular endothelial cells. This study examines the role of erythrocytes in uptake of propofol in rat brains. Firstly, propofol distribution in the blood was investigated. Distribution ratios of propofol to erythrocytes were measured after both bolus administration and continuous infusion. Secondly, uptake of propofol by the brain was studied using a single carotid injection technique. Uptake of propofol by the brain was compared for three different vehicles: an erythrocyte suspension, plasma and a saline solution. Thirdly, brain-blood partition coefficients ( $K_{br}$ ) were measured under steady-state continuous infusion of propofol in acute anemic rats. The distribution ratio of propofol to erythrocytes was 70.8% at 2 min after the bolus administration, and 69.6% after 1 hr continuous infusion. The brain uptake index (BUI) of propofol in the erythrocyte suspension group ( $18.0 \pm 2.2\%$ ,  $n=5$ ,  $\bar{x} \pm SD$ ) was higher than that in either the plasma group or the saline group ( $10.8 \pm 1.8\%$ ,  $n=5$  and  $10.2 \pm 2.9\%$ ,  $n=5$ , respectively,  $p < 0.05$ ). In the anemic rats, hemodynamic parameters did not show statistically significant differences to the control rats. Whole blood concentration of propofol was  $6.60 \pm 1.74 \mu\text{g/ml}$  in the anemic rats, which was higher than that in the control rats ( $4.68 \pm 1.69 \mu\text{g/ml}$ ,  $p < 0.05$ ).  $K_{br}$  in the anemic rats was approximately half of that in the control rats ( $n=8$  in each group,  $p < 0.05$ ). From this we conclude that erythrocytes promote the uptake of propofol in rat brains.