

水素ガスクリアランス法によるヒト下肢筋血流量の研究

前田 順一・竹宮 隆

Measurement of muscle blood flow in human lower extremities by hydrogen gas clearance method

Jun-ichi MAEDA, Takashi TAKEMIYA

SUMMARY

From the experimental study of functional microcirculation in the intact-denervated hindlimb preparation of the rabbit, interest has been focused on the appearances of vasomotion, heterogeneity and dual blood flow channels in the human lower extremities.

In present experiment using hydrogen gas clearance method, a wire sensor embedded in the muscle was 80 μm in diameter. Time-dependent analysis of local tissue blood flow was done by means of Height-Area method.

Results were summarized as follows;

1) The resting blood flow (ml/100g/min) in M. tibialis anterior and M. gastrocnemius were 5.53 ± 0.81 (21) and 4.32 ± 0.59 (28), (mean \pm SE) respectively. There was no significant difference between them.

2) All of clearance curves in M. tibialis anterior exhibited mono-exponentials, but 9% in M. gastrocnemius were bi-exponentials.

These data indicate that microcirculatory affairs mentioned above may be conducted precisely through the local area-oriented analysis of muscle fiber type.

Key words: Muscle type, Functional microcirculation, Dual blood flow channels

I 緒 言

筋組織の運動性高血流 (exercise hyperemia) の特性に関する研究は、全身持久力の維持向上や疲労発現の低減促進の立場から極めて重要であると考えられている²⁾⁹⁾¹⁰⁾¹⁹⁾。とくに運動生理学の領域においては、局所の物質代謝が円滑に処理されると同時に、末梢から心臓への静脈還流の確保も重要である⁷⁾¹⁶⁾。従って局所の筋組織におけるこの2局面の調和は、総体的に全身持久力の持続に関する筋微小循環の条件でもあるといわれている¹⁷⁾²¹⁾。

この筋組織における2局面とは二相血流路³⁾¹¹⁾¹⁷⁾¹⁸⁾²¹⁾のことであり、この機能的な交互性は

今後の持久力研究に1つの活路とみることができ。従って、その特性が静的筋組織においても現われるものかどうか関心のあるところである。

著者らはこのような動機をもとに、今回、改めて健康人の静止時筋血流量を再検討することにした。このために留置型のワイヤー-H₂電極が活用された。そして、血流量の筋種による差異の問題や測定中の機能的な変動を新しい視点に立って観察することが本論のねらいである。

II 方 法

1. 被 検 者

被検者は、22歳から30歳の健康な成人男子5名

であった。被検者には実験の目的と危険性についてあらかじめ説明し、実験参加の承諾を得た。

2. 組織血流測定

腓腹筋と前脛骨筋の血流量を Aukland ら¹⁾の水素ガスクリアランス法を用い、安静仰臥位で測定した。組織中の水素ガス濃度測定には、ポーラログラフ法を基本原理とした水素クリアランス式組織血流計 MHG-D1 (UNIQUE MEDICAL CO.)を用いた。本装置は、クリアランス曲線の解析に Zierler²³⁾の理論に基づいた Height-Area 法を採用している。その概要は以下の通りである¹⁴⁾。組織水素ガス量の初期値を q_0 、時間 t 後に組織内に残る水素ガス量を $q(t)$ 、水素分子の組織内走行時間平均値 (mean transit time) を \bar{t} とすれば、三者の関係は

$$\int_0^{\infty} q(t)dt = q_0 \cdot \bar{t} \dots\dots\dots(1) \text{となる。}$$

一方、ある組織の全血流量 (V) が一定の血流量 (F) で灌流されるとすると、血液の平均灌流時間 (\bar{t}_b) は $\bar{t}_b = V/F$ である。ここで水素ガスが血液と均等に混合し、水素が通過する部分すべてを血液も通る場合には、 \bar{t} と \bar{t}_b は同じ値になる。さらに、水素ガスが拡散した組織量に対応する血液量を V 、組織と血液間の水素ガス拡散係数を λ 、水素ガスが拡散した組織重量を W とするならば、 $\bar{t} = \bar{t}_b = (\lambda \cdot W)/F$ となる。 F/W は単位組織重量当りの血液量であることから、これを f とすれば $f = \lambda/\bar{t} \dots\dots(2)$ となる。(1), (2) 式より最終的な $f = (\lambda \cdot q_0) / \int_0^{\infty} q(t)dt$ という式が得られる。この式はある時間内 (t) での水素濃度の変化量 ($q_0 - q(t)$) … Height … をその時間にクリアランス曲線と基線の作る面積 ($\int_0^t q(t)dt$) … Area … で割ることにより単位重量当りの組織血流量を計算できることを示している。本研究では解析時間を3分間とし、1回のクリアランス中に3~5回の測定が可能であった。

水素濃度測定のための関電極として、径80 μ mのワイヤー型 pt-pt black 電極を筋腹中央に刺入し、不関電極として皿型 Ag-AgCl 電極を皮膚に装着した。水素ガスは、5~10%濃度となるよう吸気中にフラッシングし、加湿後に自発呼吸により吸入させた。記録曲線より組織内の水素濃度が飽和に近い状態に達したことを確認した後、吸入を停止しクリアランス曲線を記録した。クリアランス曲線の基線安定と連続性より、算出された血

流値の妥当性を確認した。

3. 統計的処理

測定した筋組織血流は、筋種ごとに平均値と標準誤差で示した。平均値の差の検定には student-t 検定を用い、有意水準を危険率5%以下とした。

III 結 果

1. 基礎実験

H₂ガス吸入の循環系への影響を検討するために、末梢循環の指標として指尖容積微分脈波 (Δ DPG) を記録し、同時に Δ DPG からの脈拍数とサーミスター法による呼吸相を記録した。Fig. 1 に示すとおり、H₂ガス吸入により Δ DPG・脈拍数・呼吸相に大きな変化は認められなかった。実験期間中の実験室温は、26~29°C であった。

2. 筋組織血流量

Fig. 2 に水素のクリアランス曲線の典型的な例を示した。無麻酔のヒトでは、電極周辺の vasomotion が活発であることや、微細な筋収縮が生ずるために、クリアランス曲線にノイズが乗ることもあった。また安静時の筋組織血流が低いために、飽和状態に達するまでに時間を要する場合が多く、本例のようにすでに80%近くの飽和は得られているものの完全な飽和状態には到らない場合も見受けられた。しかし、本研究において筋組織血流の算出に用いたクリアランス曲線はすべて解析の条件を満たすものであった。

腓腹筋ではクリアランス曲線のうち9.0%に bi-exponential なものが認められたが、前脛骨筋ではすべて mono-exponential な曲線となった。

1回のクリアランス中に算出された筋組織血流値は、8.0, 6.5, 7.4, 4.2, 4.9ml/100g/min, 2.4, 2.7, 4.2, 3.2ml/100g/min などのように1回の解析毎に変動した。

Fig. 3 には、筋血流量の測定値を平均値で示した。安静仰臥位での前脛骨筋と腓腹筋血流量は、それぞれ $5.53 \pm 0.81(21)$, $4.32 \pm 0.59(28)$ ml/100g/min であった。両筋種間の筋血流差は統計的に有意ではなかった。

IV 考 察

1. クリアランス曲線の解析法

Aukland ら¹⁾により発表された水素ガスクリアランス法は、不活性で拡散性の高い水素ガスを生体内の各組織に一定濃度で飽和させた後、水素ガ

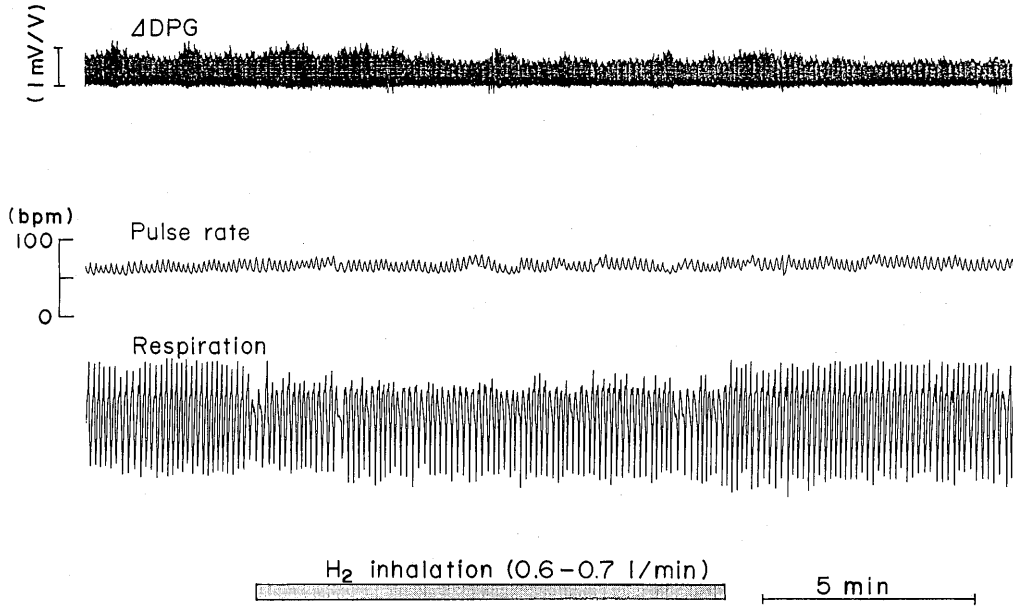


Fig. 1. Records showing that there are no significant trouble on delta DPG, Pulse Rate and Respiratory Rhythm by the inhalation of hydrogen gas (ca. 10%) in man.

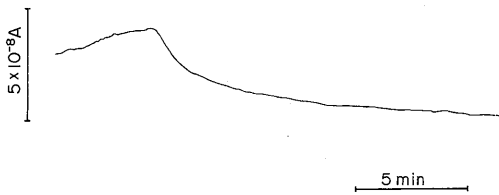


Fig. 2. Trace indicating the disappearance curve of hydrogen gas saturation in the tissue after cesation of inhalation.

スの供給を止め組織中に蓄積された水素ガスが血流によって洗い流される状態をクリアランス曲線として記録し、この曲線の解析により組織血流を絶対値で算出する方法である。

クリアランス曲線の解析には、これまで1回のクリアランス曲線から水素濃度の半減時間を求めることにより組織血流を算出する Auklandら¹⁾の方法 ($T_{1/2}$ 法) が用いられてきた。しかし本実験では、Zierlerの理論²³⁾による Height-Area 法を用いた。本法では、水素濃度の変動とクリアランス曲線と基線の間で作られる面積を測定し血流値を算出する。特色は1回のクリアランス中に設定した時間で解析を繰り返し、より経時的な血流値を算出できることである。

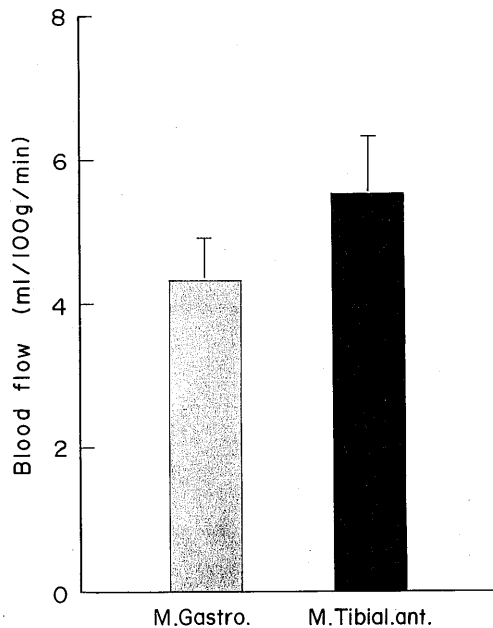


Fig. 3. Graph representing the blood flow at rest of M. gastrocnemius and M. tibialis anterior in lying position of man.

今回のクリアランス曲線を $T_{1/2}$ 法で分析した時の筋組織血流値は前脛骨筋で 6.45 ± 0.75 、腓腹筋

で $4.56 \pm 0.41 \text{ ml}/100 \text{ g}/\text{min}$ であった。この値と Height-Area 法を用いた結果 (5.53 ± 0.81 , $4.32 \pm 0.59 \text{ ml}/100 \text{ g}/\text{min}$) との間には前脛骨筋・腓腹筋ともに有意な差はみられず、両方法とも実用的には大きな違いのないことがわかる。従って今後は、クリアランスの途中で繰り返し組織血流を計算できるという特色を持つ Height-Area 法を用い、安静時筋組織血流の変動状況や post exercise hyperemia などの経時的な変動の特性を筋種毎に検討することも可能であると考えられる。

2. 筋組織血流量算出に影響する要因

組織水素ガス濃度測定には、 O_2 濃度・pH・温度・アスコルビン酸による影響が Aukland ら¹¹⁾により指摘されている。このなかでも O_2 濃度は影響力が大きく、呼吸状態によって大きく変わる可能性があり注意を要する。本研究では基礎実験として水素ガス吸入が脈拍・呼吸相・ Δ DPG に与える影響を検討した。その結果、今回の実験で用いた $0.6 \sim 0.7 \text{ l}/\text{min}$ の水素ガスの吸入速度では呼吸相に大きな影響を与えないことが示された。従って O_2 濃度にも大きな変動はなかったものと考えられる。さらに測定中に O_2 濃度が大きく変化した場合にはクリアランス曲線が基線を下回ってしまうことから、今回解析に用いた正常なクリアランス曲線にはこれらの影響は少ないと思われる。また脈拍・ Δ DPG もほとんど変化せず、水素ガス吸入が中枢・末梢循環に大きな影響を与えないことを確認した。

3. 静止筋組織における二相血流路

本研究では組織の水素濃度の測定に径 $80 \mu\text{m}$ の関電極を用いた。従って測定された筋組織血流は、径 $30 \mu\text{m}$ 程度の細動脈レベルから終末細動脈や径数 μm の毛細血管を含む総和的な血流を表わすことになる。しかし、前脛骨筋では100%、また腓腹筋では91%のクリアランス曲線が mono-exponential なものとなっている。このことは筋線維の分布パターンに対応する筋血流分布の不均一性¹⁵⁾にもかかわらず、径 $80 \mu\text{m}$ の関電極で測定した組織血流がより局所的で均一な微小血管網の血流を反映していることによるものと考えられる。今後、意識下のヒトにおいて筋線維分布状況などに対応させた筋局所循環適応の研究に活用できるものと思われる。しかしながら、腓腹筋ではクリアランス曲線の9%が bi-exponential となっている。Renkin¹⁸⁾は各種指示薬の拡散曲線が multi-

exponential になることから機能的な二相血流路の概念を提出している。さらに Nakamura ら¹⁷⁾は犬に水素ガスクリアランス法を、Takemiya ら²¹⁾は家兎に FM-stimulation 法を用いて二相血流路の存在を示している。本研究の腓腹筋における結果はヒトにおける二相血流路の存在を示唆するものであったが、さらに例数を増やし検討することが必要であると思われる。

4. 筋組織血流量の筋種差

筋組織血流に関して、動物実験では筋分離標本⁶⁾・各種不活性ガス⁴⁾²⁰⁾・マイクロスフェア法¹⁵⁾などを用いて、筋線維組成に対応した筋血流の不均一性などが意識下の動物においても研究されている。

一方、ヒトにおける筋血流量の測定法は、venous occlusion plethysmography による体肢血流量の測定から、Lassen ら¹³⁾により Kety¹²⁾の理論を採用して創案された¹³³Xe クリアランス法による筋組織血流測定へと進んできた。しかし¹³³Xe クリアランス法は、放射性の不活性ガスを用いることによる放射線管理区域の問題や測定部位の皮下脂肪量に影響を受けるなどの測定技術上の問題を有している。また、筋血流を過小評価するという報告⁹⁾もあり、血流の絶対値測定法としての妥当性に問題を含んでいる。

これに対し水素ガスクリアランス法は、水素という取扱の簡便な不活性ガスを使用し、電極を複数化する事により同時に複数カ所の測定が可能なこと、採血の必要がなく測定部位の組織損傷は軽微であること、10~20分間隔で繰り返し測定が出来ることなどの特徴を有する²²⁾。

今回水素ガスクリアランス法を用いて測定したヒト下肢の筋血流量は、前脛骨筋で $5.53 \pm 0.81 (28) \text{ ml}/100 \text{ g}/\text{min}$ 、腓腹筋 $4.32 \pm 0.59 (21)$ であった。¹³³Xe クリアランス法を用いた研究では、Lassen ら¹³⁾の $2.20 \pm 0.65 (46)$ や Grimby ら⁸⁾の $2.5 \sim 2.9 \pm 1.6 \text{ ml}/100 \text{ g}/\text{min}$ という報告があり、今回の測定値はこれらの報告のほぼ2倍になっている。Cerretelli ら⁹⁾の報告にあるように、¹³³Xe クリアランス法での値が実際の血流量より50%程度も過小評価になっているとするならば、水素ガスクリアランス法を用いて測定した今回の血流値は筋組織血流の絶対値に近いと考えられる。

意識下の動物では、酸化能力が高く遅筋線維の優勢な深部腓腹筋やヒラメ筋の組織血流は、解糖

系能力が高く速筋線維の多い表層部腓腹筋や前脛骨筋よりも血流が大きいと言われている¹⁵⁾。本研究では、前脛骨筋と腓腹筋血流に有意な差異が認められなかった。これは、腓腹筋の表層に近いところに電極を刺入したために、前脛骨筋と同様の速筋線維の優勢な部位の血流を測定することになったことによると考えられる。今後、遅筋線維の優勢なヒラメ筋などの同時測定が必要であると思われる。

5. 静止筋組織血流の機能的変化

本研究ではクリアランス曲線の解析に、Height-Area法を用い3分間の解析時間を設定した、従って1回のクリアランス中に3～5回の測定が可能であった。1試行内で連続して算出された今回の筋組織血流は、2～3倍の変動幅を示した。これは、径80 μ mの電極周辺の局所的な血流の変動をとらえたものと考えられ、交感神経性血管収縮線維の興奮状態の変化や代謝産物の局所への滞留や流出などによる休止毛細血管の再活動を含む微小循環の流動性を示すものと思われる。

以上の結果より、ポーラログラフィー法を基本原理としたAuklandら¹⁾の水素ガスクリアランス法をヒト筋組織血流量の測定に適用する場合、Zierlerの理論を用いることによりクリアランス曲線の経時的な解析が可能になったと考えるものである。今後この特色を生かして、安静時微小循環調節、運動性高血流や運動後血流変動の経時的な分析研究に適用していくつもりである。

V 結 語

ヒト筋組織血流測定に水素ガスクリアランス法の適用を試み、次のような結果を得たので報告する。

- 1) 水素ガス吸入 (0.6～0.7 l/min) による脈拍数・呼吸相・ Δ DPGの変動は、認められなかった。
- 2) 筋組織血流は、前脛骨筋 5.53 ± 0.81 (21)、腓腹筋 4.32 ± 0.59 (28) ml/100g/minであった。両筋種間の血流差は、有意ではなかった。
- 3) 前脛骨筋ではすべてのクリアランス曲線がmono-exponentialであったが、腓腹筋ではその9.01%がbi-exponentialであった。

前脛骨筋と表層部腓腹筋の筋組織血流絶対値に有意差は認められなかったものの、クリアランス曲線の分類による経時変化に差が見られ

た。この結果は、われわれのデータが筋種によっては筋微小循環応答に差のあることを示し、このことはさらに筋の表層部や深層部を含む局所の筋・脈管特性を検討する必要があることを示唆している。

参 考 文 献

- 1) Aukland, K., Bower, B.F. and Berliner, R.W. : Measurement of local blood flow with hydrogen gas. *Circulation Res.* 14:164-187, 1964.
- 2) Barcroft, H. : *Circulation in skeletal muscle.* Handbook of Physiology 2. sect. 2. :1353-1385, 1963.
- 3) Barlow, T.E., Haigh, A.L. and Walder, D.N. : Dual circulation in skeletal muscle. *J. Physiol.* 149:18, 1959.
- 4) Cerretelli, P., Marconi, C., Pendergast, D., Meyer, M., Heisler, N. and Piper, J. : Blood flow in exercising muscle by xenon clearance and by microsphere trapping. *J. Appl. Physiol.* 56(1): 24-30, 1984.
- 5) Cerretelli, P., Pendergast, D., Marconi, C. and Piper, J. : Blood flow in exercising muscles. *Int. J. Sports Med.* 7:29-33, 1986.
- 6) Folkow, B. and Halicka, H.D. : A comparison between "Red" and "White" muscle with respect to blood supply, capillary surface area and oxygen uptake during rest and exercise. *Microvasc. Res.* 1:1-14, 1968.
- 7) Guyton, A.C. : Venous return. *Handbook of Physiology. Circulation 2, sect. 2.:* 1099-1133, 1963.
- 8) Grimby, G., Häggendal, E. and Saltin, B. : Local xenon 133 clearance from the quadriceps muscle during exercise in man. *J. Appl. Physiol.* 22(2): 305-310, 1967.
- 9) Haddy, F.J., Scott, J.B. and Grega, H.J. : Peripheral circulation; Fluid transfer across the microvascular membrane. *Cardiovascular Physiology II* (9), 63-109, 1976.
- 10) Hudlická, O. : Effect of training on macro- and microcirculatory changes in exercise. *Exercise Sport Sci. Rev.* 5:181-230, 1977.
- 11) Hyman, C. : Independent control of nutritional and shunt circulation. *Microvasc. Res.* 3: 89-94, 1971.
- 12) Kety, S.S. : The theory and applications of the exchange of inert gas at the lung and tissues. *Pharmacol. Rev.* 3:1-41, 1951.

- 13) Lassen, N.A., Lindbjerg, J. and Munck, O.: Measurement of blood-flow through skeletal muscle by intramuscular injection of xenon-133. *Lancet* 1:686-689, 1964.
- 14) Lassen, N.A., Henriksen, O., and Sejrsen, P.: Indicator methods for measurement of organ and tissue blood flow. *Handbook of Physiology Sect. 2; The Cardiovascular System Vol. 3; Peripheral Circulation and Organ Blood Flow*: 21-63, 1983.
- 15) Laughlin, M. and Armstrong, R.B.: Muscle blood flow during locomotory exercise. *Exercise Sports Sci. Rev.* 13: 95-136, 1985.
- 16) Mixter, G. Jr.: Respiratory augmentation of inferior caval flow demonstrated by a low resistance phasic flowmeter. *Am. J. Physiol.* 172: 446-456, 1953.
- 17) Nakamura, T., Suzuki, T., Tsuiki, K. and Tominaga, S.: Non-nutritional blood flow in skeletal muscle determined with hydrogen gas. *Tohoku J. exp. Med.* 106:135-145, 1972.
- 18) Renkin, E.M.: Effects of blood flow on diffusion kinetics in isolated, perfused hindleg of cats: a double circulation hypothesis. *Am. J. Physiol.* 183: 125-136, 1955.
- 19) Spark, H.V. Jr. and Belloni, F.L.: The peripheral circulation; Local regulation. *Ann. Rev. Physiol.* 40:67-92, 1978.
- 20) 竹宮 隆, 橋爪和夫, 田中幸夫, 橋羽裕規男, 高瑞鐘: 水素ガスクリアランス法による家兎後肢骨格筋とその腱の組織血流について, *体力科学* 31(1): 41-50, 1982.
- 21) Takemiya, T., Higuchi, Y., Maeda, J.: Two patterns of blood flow increase during muscle pump action produced by FM-stimulation. *Bull. Institute of Health & Sports Sciences, University of Tsukuba.* 6:233-244, 1983.
- 22) Young, W.: H_2 clearance measurement of blood flow: A review of technique and polarographic principles. *Stroke* 11(5):552-564, 1980.
- 23) Zierler, K.L.: Equations for measuring blood flow by external monitoring of radioisotopes. *Circulation Res.* 16:309-321, 1965.