

## 9135 脳室内Na濃度と水分摂取機構の解析

森本 武利(京都府立医科大学)

ラットの血管内に高張性食塩水を微量注入すると、数分間の潜時でラットは飲水を開始する。このメカニズムについて、従来AV3V等の血液脳関門の存在しない脳室周囲器官で血液浸透圧を直接感受しているという説が有力である。しかし、脳室内の浸透圧受容器の関与も否定できない。本研究の目的は急性に高張性食塩水を血管内に注入した際の血液および脳室内Na濃度を連続測定し、血液浸透圧上昇に伴う髄液変化を定量的に解析することである。

Pentobarbitalで麻酔したラット(体重200-300g)を使用した。予め大腿動静脈にカテーテルを刺入し体外シャントを形成し、従来我々の教室で使用している血液Na濃度連続測定装置に接続した。次に我々が自作した複合型Na電極を側脳室内に刺入固定した。それぞれの電極電位が安定してからシャント中に1M NaClを体重100g当り0.1ml(n=5)、0.2ml(n=6)、0.3ml(n=5)をそれぞれ10分間かけて注入し、注入中および注入後20分間の血液中([Na]<sub>p</sub>)および髄液中Na濃度([Na]<sub>csf</sub>)の連続測定を行った。さらに脳室とその他の組織の間質とを比較する目的で大腿筋肉の間質に電極を刺入固定し、1M NaClを0.2ml/(10min 100 g body wt)の速度で注入した際の筋肉間質のNa濃度([Na]<sub>m</sub>)を連続測定した。

その結果、[Na]<sub>p</sub>は注入終了時に各群とも最大値を示し、次の10分間で急速に低下して定常値に達した。注入終了時の各群の[Na]<sub>p</sub>の最大増加量( $\Delta$ [Na]<sub>p</sub><sup>max</sup>)を100%とすると注入終了後20分目にはどの群も約40%の値を示した。一方、[Na]<sub>csf</sub>は食塩水注入中[Na]<sub>p</sub>に比例して増加し、いずれの群でも[Na]<sub>p</sub>の最大値より2-3分の遅れで $\Delta$ [Na]<sub>p</sub><sup>max</sup>の20%の値に達し、その後その値を維持した。[Na]<sub>m</sub>は[Na]<sub>p</sub>に比例して増加し、[Na]<sub>p</sub>の最大値より2-3分の遅れで $\Delta$ [Na]<sub>p</sub><sup>max</sup>の35%の値に達し、以後漸増し続け実験終了時には[Na]<sub>p</sub>と同じ増加レベルに達した。

以上の結果は血液中の急激なNa濃度の上昇に対して髄液中Na濃度は抵抗を示し、比較的安定していること、また[Na]<sub>p</sub>と[Na]<sub>csf</sub>の変化との間には線形関係が成立することが明らかになった。さらに、血管内に高張液を注入した際の飲水は主として血液浸透圧を受容して行われると考えられた。



## 9135 脳室内Na濃度と水分摂取機構の解析

森本 武利 (京都府立医科大学)

## 1. 研究目的

ヒトが暑熱環境下で運動した場合、発汗によって脱水が生じ体液浸透圧の上昇が起きる。この浸透圧の上昇が、脱水後の水分補給を行う上で重要な口渴刺激因子であることを既に報告してきた(5,6,7)。従来、体液浸透圧はAV3V等の血液脳関門の存在しない脳室周囲器官で、血液中の浸透圧を直接感受しているという説が有力である。これらの説の根拠はイヌの血液中に高張性食塩水を投与すると飲水を開始するが、その際、髄液中のNa濃度は口渴刺激閾値にまで上昇していないという結果に基づいている(10)。しかし、長時間脱水を負荷した動物では脳室内の浸透圧も血液浸透圧と同程度にまで上昇することが知られており(4)、この脳内浸透圧の上昇は室房核、視索上核等の脳内浸透圧受容部位を直接刺激して脱水回復時の体液調節に重要であるとも考えられている(8)。これらの事実は脱水の時間、程度に応じて浸透圧受容機構が段階的に始動する可能性を示唆している。しかし、血液浸透圧が上昇した際にどの程度の時間経過で髄液または脳内浸透圧が変化するかを詳細に検討した報告は未だない。

本研究の目的はラットの血液内に高張性食塩水を注入した際の血液、髄液Na濃度の同時連続測定を行い、血液脳室間の水分塩分移動に定量的な解析を加えることである。また、血液脳室間の水分塩分移動の特殊性を明かにする目的で、Na電極を大腿筋肉間に挿入固定し、高張性食塩水注入時の間質Na濃度を連続測定し、血液脳室間の場合と比較した。

## 2. 研究方法

## 2.1. Na感受性微小電極

昨年度の当財団研究費で開発した方法に若干の改良を加えた。すなわち、従来の電極は通常のグラスキャピラリーを使用していた為に、破損し易い欠点があり、将来意識下ラットに使用するために解決すべき問題であった。そのため、ガスクロマトグラフィー用のFlexible Silica Grass Capillaryを使用しこの点を解決した。さらにラットの側脳室内に慢性に留置した長さ2-3cmのカニューラ内に挿入し、電極が脳室内に至るためには電極を細長くする必要があった。そのために、比較電極として外径0.8mm、内径0.5mmのPolyethylene tubeに3M KCl Agarを充填し、その中をGrass Capillaryを通し複合型電極を作成した。Na感受性部位は従来通りNa交換樹脂Bis(12-Crown-4)と固定膜として塩化ビニルを使用した。

## 2.2. 高張性食塩水血中注入時の血液、髄液Na濃度連続測定

Wistar系の雄ラット、体重200-300gを用いた。Pentobarbital麻醉下で大腿動静脈にカテーテルを刺入し、体外シャントを形成した後、従来我々の教室で用いている血中Na濃度連続測定装置(6)に接続した。次に複合型Na電極をラットの側脳室に挿入固定し、電位が安定するのを待って血液0.2-0.3 mlの採取を行った。この血液はヘマトクリット値(遠心法)、血清蛋白濃度(refractometry)、血清電解質濃度(Na, K: flamephotometry)の決定に用いた。次に、Na電極を右側脳室に挿入固定し電位が安定した後、静脈内に1M NaClを体重100g当り、0.1、0.2、0.3mlを10分間にわたって持続注入し、その際の血液([Na]<sub>p</sub>)、髄液Na濃度([Na]<sub>csf</sub>)を注入中10分間、注入停止後20分間にわたって連続測定し、30秒ごとの平均値を計算機に記録した。大腿筋肉の間質のNa濃度変化は1M NaClを0.2ml注入した場合のみを行った。電極の校正は実験の前後で行い、電極の感度の変化のないことを確認した。電極の感度は血液、髄液用共57-63mV/decadeで生理的範囲内で他の陽イオンの影響は無視できた。実験終了後、血液を0.2-0.3ml採取しヘマトクリット値、電解質濃度を測定した。

## 2.3. 統計処理

各平均値の有意差の検定は特に断わらないかぎり、繰り返し測定による一元配置分散分析法(ANOVA)とTukeyの最小有意差検定法(Tukey's MSD)を用い、5%の危険率で帰無仮説を棄却した。回帰分析は最小二乗法によった(9)。

## 3. 研究結果:

図1は1M NaClを0.2ml静脈血中に持続注入した際の[Na]<sub>p</sub>と[Na]<sub>csf</sub>の値を注入前からの変化量で6例の平均値とSEで示す。食塩水注入開始直後から[Na]<sub>p</sub>は直線的に上昇し、10分間で $12.8 \pm 1.2 \text{ meq/kgH}_2\text{O}$ に上昇した。注入停止後[Na]<sub>p</sub>は急激に下降し、約10分間で定常値に達し20分後の実験終了時には注入前に比べ $6.8 \pm 0.8 \text{ meq/kgH}_2\text{O}$ の有意に高い値を維持した。一方、[Na]<sub>csf</sub>は注入開始3分後より漸増しはじめ、注入停止2-3分後には定常値に達し、20分後には注入前に比べ $1.9 \pm 0.2 \text{ meq/kgH}_2\text{O}$ 有意に高い値を示した。

図2は高張性食塩水の注入速度を0.1(n=5)、0.2(n=6)、0.3 ml/min(n=5)と変化させた場合の[Na]<sub>p</sub>、[Na]<sub>csf</sub>の変化をそれぞれ注入前の値からの変化量の平均値で示す。[Na]<sub>p</sub>、[Na]<sub>csf</sub>は高張性食塩水の注入量に比例して変化した。[Na]<sub>csf</sub>は注入終了後20分では[Na]<sub>p</sub>の増加量の約20%に留まった。

図3は高張性食塩水の注入終了時の[Na]<sub>p</sub>のピーク値を100%とした時の[Na]<sub>csf</sub>または[Na]<sub>m</sub>の相対的变化量を示す。図から明かのように[Na]<sub>p</sub>の増加量に比例して[Na]<sub>csf</sub>が増加し、いわゆる血液脳室間のNaおよび水の移動において線形関係が成立する事が明らかになった。

また、 $[Na]_m$ の相対的变化は $[Na]_{csf}$ より大きく、注入終了後20分では $[Na]_p$ の増加量とほぼ等しいレベルにまで到達した。

血液脳室間の水またはNaイオンの移動に線形関係が成立したことから、図4に示す様な数理モデルを立てて解析した。すなわち、水分区分を左から血液、髄液、脳実質の各コンパートメントにわけ、血液側に高張性食塩水を注入した際の $[Na]_p$ 、 $[Na]_{csf}$ の変化から各コンパートメント間の水の透過係数を求めた。この際、解析を簡略化するために次の二点を仮定した。1) 各コンパートメント間は浸透圧差に従って水のみが移動し、電解質の移動はない。2) 脳実質の水分量は脳室に比べ充分大きく本実験の変動範囲内では脳実質内のNa濃度変化は無視できる。以上の仮定のもとに各コンパートメント間の水の移動を図4で示すような連立微分方程式で示し、最小二乗法によるカーブフィッティングで血液脳室間の水の透過係数: $K_1$ 、脳室脳実質間の水の透過係数: $K_2$ をそれぞれ求めると $K_1 = 0.024 \mu l / (meq/kg \text{ min})$ 、 $K_2 = 0.065 \mu l / (meq/kg \text{ min})$ で血液脳室間に比べ、脳室脳実質間の透過係数が2-3倍程度になった。

#### 4. 考察

今回の研究で明かになったことは、高張性食塩水を血管内に注入した場合の急激な $[Na]_p$ の増加に対して $[Na]_{csf}$ は抵抗を示し、非常にゆっくりした速度で増加した。さらに、注入速度を変化させても、 $[Na]_p$ の変化に対する $[Na]_{csf}$ の相対変化は一定であり両者の変化に線形関係が認められた。また、注入終了後20分で $[Na]_p$   $[Na]_{csf}$ は共に定常値に達するがどの群においても $[Na]_{csf}$ の増加量は $[Na]_p$ の増加量の約20%であった。一方、 $[Na]_m$ は注入停止後も増加し続け実験終了時には $[Na]_p$ と同レベルにまで到達した。

血液脳室間の水の移動のダイナミックスを検討する目的でシミュレーションを行なった結果、血液脳室間の水の透過係数 $K_1$ が決定され、従来in vitro実験で報告されている脈絡叢または脳毛細血管での値とほぼ一致した。すなわち、脈絡叢または脳内毛細血管の水の透過係数は筋肉その他の毛細血管の場合にくらべ10-20%であると言われている(3)。本実験で求めた $K_1$ の値が解剖学的に脳内のどの部分の透過係数を表すかは断定できないが、Na電極の先端が側脳室の脈絡叢近傍にあることから主として脈絡叢の透過係数を反映していると考えられる。

脳室脳実質間の透過係数 $K_2$ は $K_1$ の2-3倍の値を示した。従来、脳室脳実質間の水の透過係数を報告した例はないが、トレーサーを血液内、脳室内にそれぞれ投与し、脳実質への移動量を比較すると脳室内に投与した方が約10倍トレーサーの脳実質への移動が高いことが報告されている(1)。このことから血液脳室間に比べ、脳室脳実質間の物質移動は容易におこると考えられる。この透過係数  $K_1$ と  $K_2$ の差が高張性食塩水注入後20分たっても $[Na]_{csf}$ が $[Na]_p$ の増加レベルにまで達していない原因の一つと考えられる。すなわち、血液側の浸透圧が上昇すると、まず血液髄液間の浸透圧差に従って脳室側から血液側へ水が移動す

る。次に、自由水の喪失によって脳室の浸透圧が上昇し浸透流によって脳実質からの水の移動がおきるが、この際の水の移動は血液脳室間の場合に比べ、2-3倍の速度で行なわれる。したがって、血液脳室間と脳室脳実質間の水の移動に動的な平衡状態が成立し、 $[Na]_{csf}$ が $[Na]_p$ よりも低いレベルで定常値に達したと考えられる。

さて、温熱環境下で長時間かけてゆっくりラットに脱水負荷をかけると $[Na]_{csf}$ も $[Na]_p$ と同程度にまで上昇する(4)。今回の実験で求めたK1、K2を用いて血液浸透圧がステップ状に一定値にまで上昇した場合、完全に脳内浸透圧が血液浸透圧と平衡するのに2-3時間以上を要することがシミュレート出来た。従って、温熱脱水時にも血液Na濃度上昇に続いて髄液Na濃度が増加するのに時間のかかることが予想される。我々は最近意識下ラットの頸静脈にカテーテルを慢性に挿入し、1M NaClを0.2ml/10minで注入した場合の飲水量を経時的に測定した。その結果、高張液注入開始後約5分に飲水を開始し20-30分以内に注入した過剰の食塩を等張に戻すのに必要な水を摂取した(2)。今回の実験結果と併せて考えると、血液中のNa濃度の僅かの上昇は迅速な飲水行動を引き起こし、髄液のNa濃度が変化する前に血液浸透圧を元に戻すと考えられる。このことはThrasherら(10)の血液浸透圧上昇が主たる飲水の刺激因子になるという説を支持する。しかし、長時間脱水負荷をおこなった場合には脳内の浸透圧も血液と同じレベルにまで上昇するために、脱水回復時の飲水機構を研究する上で、Thrasherらの説(10)がそのまま当てはまるとは考えにくい。事実、急性に血液中のNa濃度のみを増加させた場合と温熱脱水によって血液および髄液のNa濃度を増加させた場合で飲水量を比較すると、後者の方が前者にくらべ3倍程度高い値を示すことを確認した。

以上のことをまとめると、血液Na濃度の急峻な増加に対し髄液Na濃度は抵抗を示し、髄液内Na濃度は比較的安定に保たれた。温熱脱水時には血液Na濃度のみならず、髄液Na濃度も上昇する。この相違から急性に血液Na濃度を上昇させた場合と温熱脱水時の水分摂取量の差を説明することができる。

## 5. 今後の課題

昨年の当財団の援助でおこなった実験により脱水時に血液脳室間の水の透過性が亢進することを明かにした(4)。その機序として、主として脈絡叢に存在する能動的な調節機構の関与が考えられ、現在血液脳室間電位および脳室内K濃度変化から検討している。また、最近、脳内Na濃度が血圧調節系で重要な入力信号となる可能性を示す結果を得た。今後、血液髄液間の水分塩分移動の調節機構、および髄液Na濃度上昇の生理的意義を飲水行動および血圧調節の両面から研究する予定である。

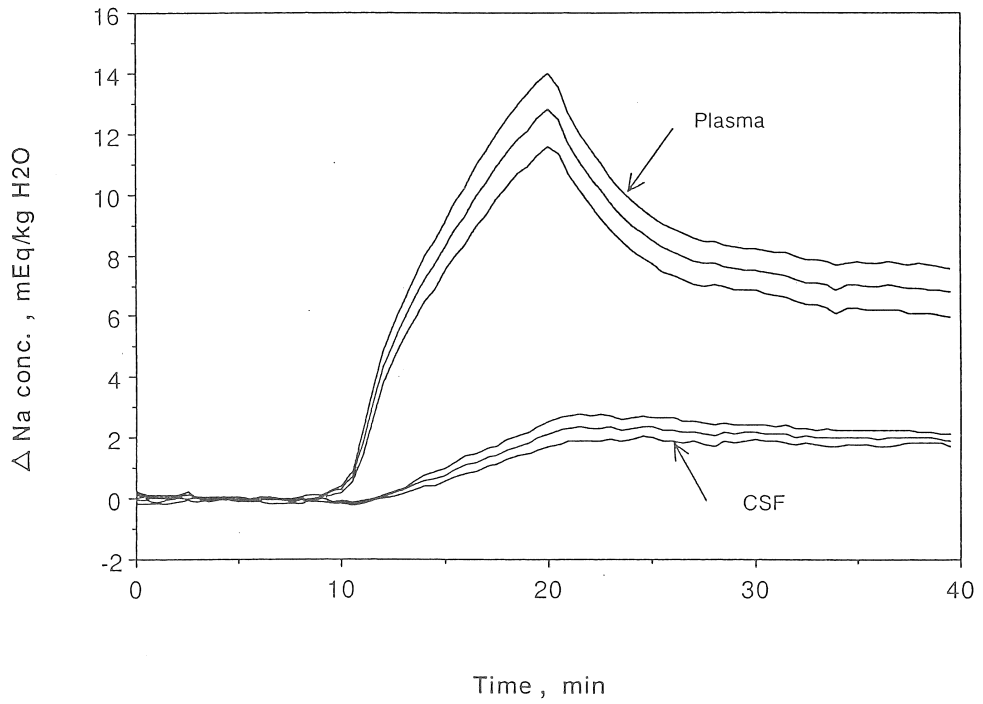


Figure 1:  
Change in Na concentrations in plasma and CSF during intravenous infusion of 0.2 ml 1M NaCl per 100g body wt for 10 min (between 10 and 20 min). Means $\pm$ SE of 6 rats are presented.

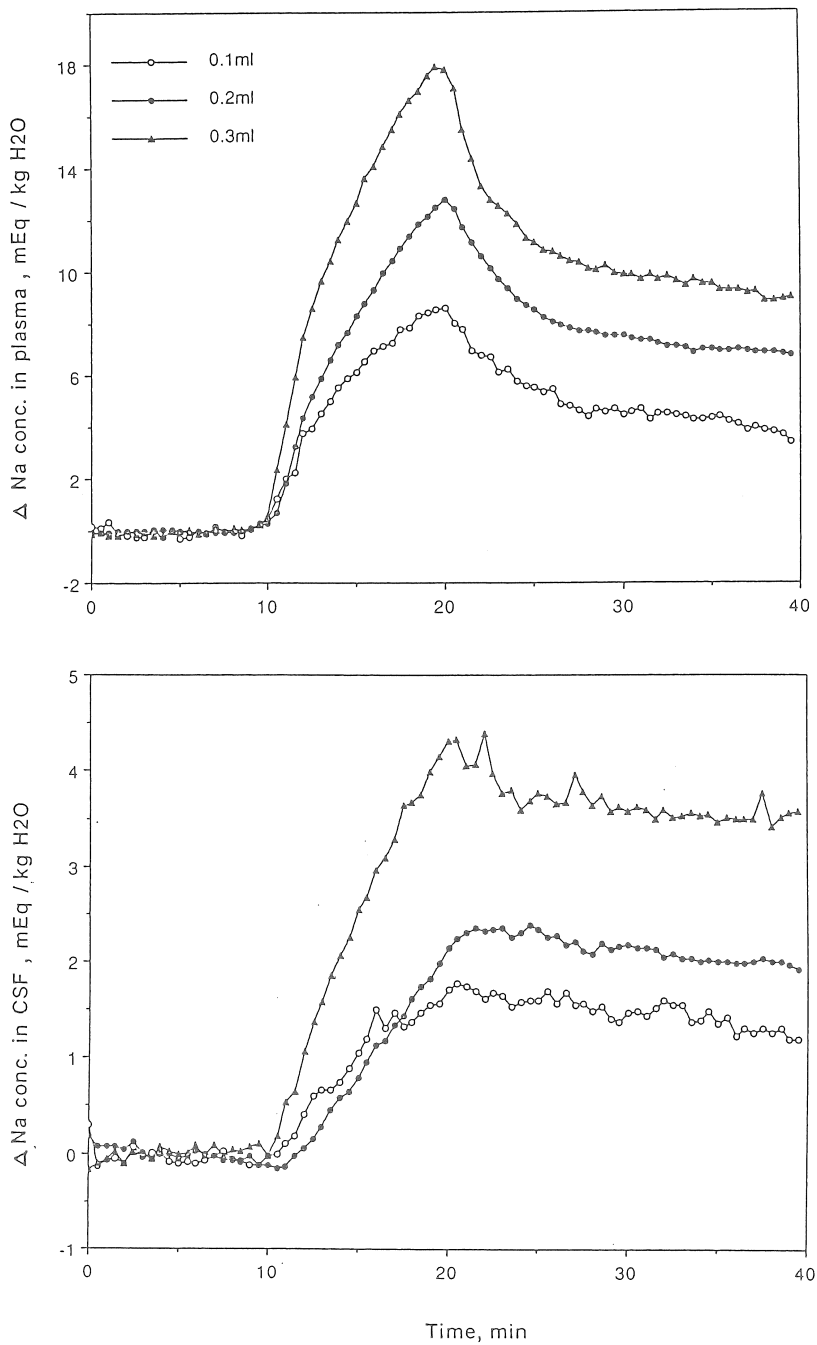


Figure 2:  
Change in Na concentration in plasma (top figure) and in CSF (bottom figure) during intravenous infusion of 0.1 ml (n=5), 0.2 ml (n=6), and 0.3 ml (n=5) of 1M NaCl per 100g body wt for 10 min (between 10 and 20 min). Mean values are presented in each group.



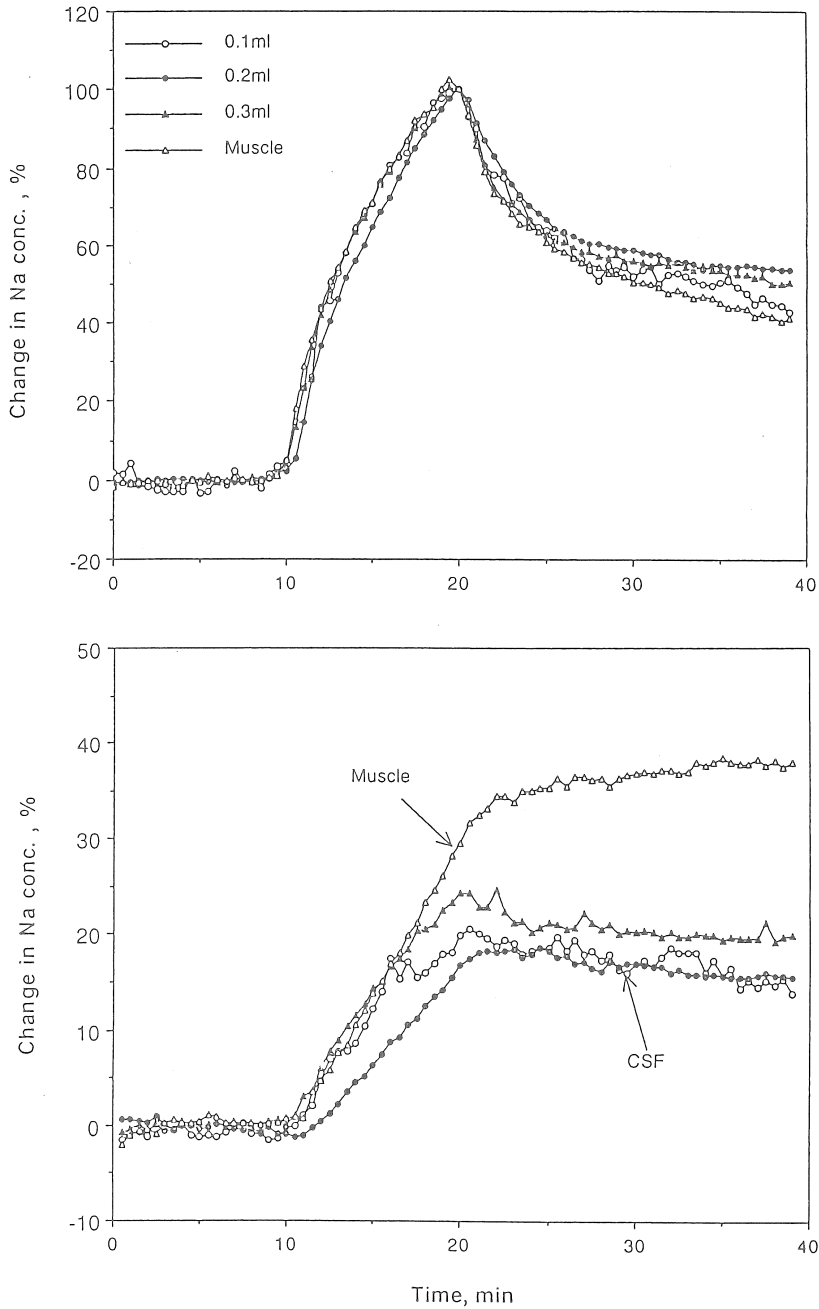
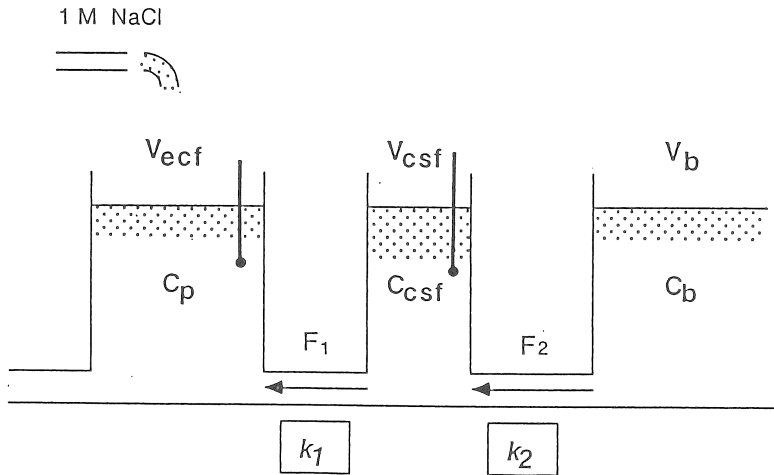


Figure 3:  
 Relative change of Na concentrations in plasma (top figure) ,  
 CSF, and interstitium of the femoral muscle (bottom figure)  
 during intravenous infusion of 0.1ml, 0.2 ml, and 0.3 ml of 1M  
 NaCl per 100g body wt for 10 min (between 10 and 20 min). Data  
 are presented as % change of the maximal increase in Na  
 concentration in plasma observed at the end infusion in each  
 group. The % changes in plasma and CSF were identical among the  
 groups, whereas relatively large response were observed in Na  
 concentration in the muscle.



Equations:

$$F_1 = k_1 \cdot (\Delta C_p - \Delta C_{csf})$$

$$F_2 = k_2 \cdot \Delta C_{csf}$$

$$\Delta V_{csf} = F_2 - F_1$$

$$V_{csf} = V_{csf}^0 - \Delta V_{csf}$$

$$\Delta C_{csf} = \frac{V_{csf}^0 \cdot C_{csf}^0}{V_{csf}} - C_{csf}^0$$

Figure 4:

A scheme of mathematical model for fluid dynamics between blood and CSF.  $C_p$ ,  $C_{csf}$ , and  $C_b$  represent Na concentrations in plasma, CSF, and interstitial space of the brain, respectively, and  $V_{ecf}$ ,  $V_{csf}$ , and  $V_b$  indicate fluid volumes of extracellular fluid space of a whole body, CSF, and the brain.  $F_1$  and  $F_2$  denote water flux from CSF to blood and from the brain to CSF, respectively.  $k_1$  and  $k_2$  denote filtration coefficient for water movement between each compartment.

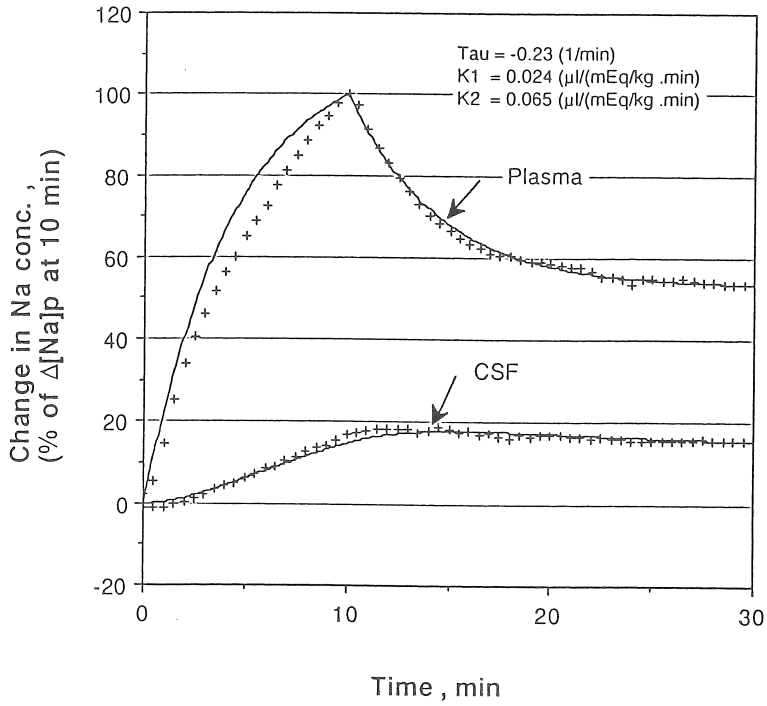


Figure 5:

Result of simulation analysis. Calculated curves based on the mathematical model were fitted to the mean data obtained by 0.2 ml 1M NaCl infusion experiment with varying  $K_1$  and  $K_2$  values.  $K_1$  and  $K_2$  values were determined so as to minimize differences between the curve and the experimental data.

6. 参考文献

- 1) Davson, H.. Physiology of the Cerebrospinal Fluid. London, UK: J.&A. Churchill, 1967. p33-55.
- 2) Doi, Y., H. Nose, and T. Morimoto. Changes in Na concentration in cerebrospinal fluid during acute hypernatremia and their effect on drinking in juvenile rats. Physiol. & Behav., in press, 1992.
- 3) Fenstermacher, J.D. and S. I. Rapoport. Blood-brain barrier In: Handbook of Physiology. The Cardiovascular System, Microcirculation. Bethesda, MD: Am. Physiol. Soc., 1984, sect. 2; vol. IV, pt.2, chapt. 21, p 978.
- 4) Nose, H., Y. Doi, S. Usui, T. Kubota, M. Fujimoto, and T. Morimoto. Continuous measurement of Na concentration in CSF during gastric water infusion in thermally dehydrated rats. J. Appl. Physiol. in press, 1992.
- 5) Nose, H., G.W. Mack, X. Shi, and E.R. Nadel. Role of osmolality and plasma volume during rehydration in humans. J. Appl. Physiol. 65: 325-321, 1988.
- 6) Nose, H., M. Morita, T. Yawata, and T. Morimoto. Recovery of blood volume and osmolality after thermal dehydration in rats. Am. J. Physiol. 251 (Regulatory Integrative Comp. Physiol. 20): R492-R498, 1986.
- 7) Nose, H., T. Yawata, and T. Morimoto. Osmotic factors in restitution from thermal dehydration in rats. Am. J. Physiol. 249: (Regulatory Integrative Comp. Physiol. 18): R166-R171, 1985.
- 8) Rundgren, M., H. Jonasson, and H. Hjelmquist. Water intake and change in plasma and CSF composition in response to acute administration of hypertonic NaCl and water deprivation in sheep. Acta. Physiol. Scand. 138: 85-92, 1990.
- 9) Sokal, R.R., and F.J. Rohlf. Biometry. New York: Freeman, 1981, p344-354 246-247.
- 10) Thrasher, T.N., C.J. Brown, L.C. Keil, and D.J. Ramsay. Thirst and vasopressin release in the dog: an osmoreceptor or sodium receptor mechanism ? Am. J. Physiol. 238: R333-R339, 1980.

Change of Na concentration in CSF during acute hypernatremia  
in anesthetized rats.

Morimoto, T., Nose, H., and Doi, Y.

Dept. of Physiol., Kyoto Pref. Univ. of Med.

**Summary**

To quantify the response of Na concentration in cerebrospinal fluid ( $[Na]_{csf}$ ) to acutely increased Na concentration in plasma ( $[Na]_p$ ), we measured  $[Na]_{csf}$  and  $[Na]_p$  continuously with a Na sensitive microelectrode in the lateral ventricle and with a flow cell typed Na sensitive electrode placed in an extracorporeal circuit, respectively. Intravenous infusion (INF) of 1M NaCl was performed with varying rates of 0.1ml (n=5), 0.2ml (n=6), and 0.3 ml/ 10 min 100g boy wt. (n=5). In every group,  $[Na]_p$  increased during 10 min of INF and reached the maximal value ( $\Delta[Na]_p^{max}$ ) of  $8.6 \pm 0.7$  (0.1ml),  $12.8 \pm 1.2$  (0.2ml), and  $17.8 \pm 1.4$  meq/ kgH<sub>2</sub>O (0.3ml), and then  $[Na]_p$  declined rapidly to approximately 40% of  $\Delta[Na]_p^{max}$  in each group and maintained this level until the end of the experiment.  $[Na]_{csf}$  in all groups increased with  $[Na]_p$  and reached 20% of  $\Delta[Na]_p^{max}$  in each group at 2-3 min after the end of INF and maintained the level until the end of the experiment. These results indicate that  $[Na]_{csf}$  responds in a linear manner to increased  $[Na]_p$ , while the cerebrospinal fluid is protected against acute change in  $[Na]_p$ .