

総説

## 猫の糸球体濾過量 (GFR) 測定の基礎研究 - 非イオン性X線造影剤iodixanolの単回静注・1回採血法の検討 -

片山 理恵子<sup>1, 2)</sup>, 片山 泰章<sup>1, 3)</sup>, 齋藤 惇<sup>2)</sup>, 山岸 則夫<sup>1, 3)</sup>, 古濱 和久<sup>1, 2)</sup>

### 要約

猫の糸球体濾過量 (glomerular filtration rate : GFR) の測定には, これまでイヌリン (inulin) や非イオン性ヨード系1量体X線造影剤イオヘキソール (iohexol) がトレーサー (tracer) として用いられ, 全身クリアランスあるいは血漿消失 (血清クリアランス) から算出されてきた. 反面, 溶解度, 測定操作あるいは測定感度において難点があると指摘されて久しい. 一方, 猫では高齢化に伴い慢性腎臓病 (chronic kidney disease : CKD) が増加傾向にあり, CKDの障害度 (腎残存予備能) を正確に把握しておくことはQOL (quality of life) 上, 極めて重要な課題となっている. そこで, 本研究では, 頻回採血や採尿の必要がなく, 生体への負担が少ないと考えられる血清クリアランス法 (単回静注・1回採血法) に注目し, 猫での確立を試みた. まず, tracerとして, 微量測定が可能で, 糸球体濾過型の物理・化学的特性を有する非イオン性ヨード系2量体X線造影剤イオジキサノール (iodixanol) に着目した. 次に, 健常あるいはCKD猫を用いて, iodixanolの至適用量 ( $Q_{total}$  : 40 mg I/kg), 最適採血時間 ( $t$  : 90分後), 分布容積 (distribution volume :  $V_1 = 647.6e^{0.023C}$ ) および血清濃度 (1ポイント :  $C_{90min}$ ,  $\mu\text{g I/ml}$ ) からJacobssonの式を応用して単回静注・1回採血法でのGFR測定を可能にした. 本法で得られたGFR値は従来法 (inulin 単回静注・頻回採血法) と高い相関性を有し, GFR背景値が約70%低下すると, 血清クレアチニン値が上昇することを確認した. 以上より, iodixanolの単回静注・1回採血法は従来法に比べ頻回採血によるストレスを軽減し, 同一猫からGFRを経時的に把握できることから, 臨床応用が可能と判断した.

キーワード : 猫, 糸球体濾過量 (GFR), iodixanol, 1回採血法

### 緒言

獣医療における腎機能検査としては, 血中尿素窒素 (BUN) やクレアチニン濃度を主体とする血液生化学検査, 尿蛋白, 糖, 比重 (浸透圧), 酵素などの定性あるいは定量的な尿検査, 画像診断, 腎生検あるいは腎クリアランス試験が挙げられ, これらを組み合わせで診断が行われている [1]. しかし, BUNやクレアチニン濃度は両腎のネフロンが60-70%以上障害されて初めて上昇すること, 尿比重や蛋白は飲水量・尿量に影響され, 日内・個体変動を示し易いことから, 傷害の有無は推定できるものの, 正確な障害度 (腎残存予

備能) は把握できない [1]. 一方,  $\gamma$ -グルタミルトランスフェラーゼ (GGT), 乳酸脱水素酵素 (LDH) やN-アセチル- $\beta$ -D-グルコサミニダーゼ (NAG) などの尿中酵素は初期腎障害には鋭敏に反応するが, その局在は非特異的であること, 障害時には尿中に多くの阻害あるいは活性物質が存在すること, 他尿検査と同様, 尿量に依存することから, 腎残存予備能の程度や慢性疾患の予後判定には対応できない.

腎クリアランス試験は, 単位時間当たり尿中に排泄されるtracer量を指標として腎機能を評価する手法であり, このうち糸球体濾過量 (GFR) は医学および

<sup>1)</sup> 岐阜大学大学院連合獣医学研究科

<sup>2)</sup> 岩大支会, 岩手大学獣医学課程基礎獣医学分野

<sup>3)</sup> 岩大支会, 岩手大学獣医学課程臨床獣医学分野

獣医学において最も腎残存予備能を鋭敏に反映するとされている [1, 2]. 特に高齢化とともに慢性腎臓病 (CKD) が増加傾向にある猫においては, GFRの把握はCKDの早期発見およびQOLの向上に有用である. 猫のGFR測定用のtracerとしては, 腎糸球体で排泄される特性を有するinulinあるいはクレアチニンが利用されてきたが, 尿クリアランス法では頻回蓄尿が必要なこと, 膀胱カテーテル留置の煩雑さおよび感染リスクがあること, さらに頻回採血による動物へのストレスも大きいことから, 研究目的以外, 獣医療ではほとんど応用されていない. また, クレアチニンは腎尿管からの分泌が存在するため, 標準的なinulin法と比べ, クレアチニンクリアランスは高値を示すことが報告 [3] されている. 一方, 血漿 (血清) クリアランス法は, 尿採取の必要がないため, 小動物現場では繁用されつつあるが, inulinは溶解度が低く投与前に加温操作が必要であり, かつ投与量および採血量も多く, 測定操作自体も煩雑で測定感度も低い. 現在, 猫医療ではGFR測定に非イオン性ヨード系 1 量体 X 線造影剤 iohexolが, 最も実用的なtracerとして単回静注・頻回採血法で用いられている [4, 5]. しかし, iohexolは浸透圧が高く (浸透圧比: 約 2), ヒトでは腎機能低下患者への投与の際には注意を要することが指摘されている [6, 7]. 猫においても, 非尿素窒素血症ではiohexolの 90 mg I/kgを静注するのに対し, 高尿素窒素血症では半量 (45 mg I/kg) に減らすことが推奨されている [4, 5].

そこで, 微量測定が可能 [8-14] で, 有害作用がより少ないと考えられる非イオン性ヨード系 2 量体 X 線造影剤iodixanolに着目した. Iodixanolは 1 分子中に 6 つのヨードを持つため, iohexol (1 分子中に 3 つのヨード) に比べ, 半量でiohexolと同様の薬理 (造影) 効果を発揮する [15, 16]. また, ヒト慢性腎臓病患者を用いての大規模な 2 重盲検試験によると, iodixanolはiohexolに対し, 有意差を持って血清クレアチニン値を増悪しないことが判明しており [6, 7], iodixanol優位のEBM (evidence-based medicine) が検証されている. さらに, 等張 (浸透圧比約 1) であるため, 投与時の疼痛・熱感がほとんど見られないとの報告もある [17]. なお, 物理・化学的性状に関しては, 両造影剤間には差異がなく, 体内で代謝分解されることなく, 血漿タンパク質とも結合せず, 尿管からの再吸収および分泌も殆どなく糸球体から濾過・排泄され, 半減期も短い特性がある [18].

本研究では, 従来までの頻回採血による検査の煩雑さと動物へのストレスを軽減し, GFRをより迅速にかつ簡便に測定するために, 健常およびCKD猫を用い

てiodixanolの単回静注・1回採血法の確立を試み, 標準薬であるinulinと比較して, その妥当性を検討した.

## 材料と方法

### 使用動物

実験には, 健常猫として雑種 (白石実験動物飼育所, 埼玉) またはNIBS系 (日生研株式会社, 山梨) 猫を計 26 頭 (平均年齢 1.3 歳, 平均体重 4.3 kg) 用いた. 腎障害猫として, 岩手大学農学部附属動物病院において慢性腎臓病と診断された 11 頭 (平均年齢 7.8 歳, 平均体重 3.7 kg) を飼い主の同意のもと使用した. 診断クライテリアは International Renal Interest Society (IRIS) の猫CKRステージ分類に従った [19]. 猫の飼育・管理および使用は岩手大学動物実験委員会認可 (A201129) とともに「岩手大学動物実験に関する指針」に従って実施した.

### 使用薬物

Iodixanol (ヨード濃度として 320 mg I/ml, ビジパーク®, 第一三共, 東京) は市販の製剤をそのまま使用した. Inulin (40 mg/ml, イヌリド®注, 富士薬品, 埼玉) は専用の溶解器 (ドライバス, 富士薬品) で 20 分間加熱・溶解し, 室温に戻して使用した.

### Iodixanolとinulinの投与量

Iodixanolの投与量を設定するために, 20, 40, 80 または 160 mg I/kgを健常猫 (n = 4) の橈側皮静脈に単回静脈内投与し, 投与 60, 90, 120 および 180 分後に反対側橈側皮静脈から採血 (約 0.4 ml) し, 血清消失推移を調べた.

Inulinは予備試験を基に, 投与量を 50 mg/kg, 採血時間を 60, 90 および 120 分後とした.

### コンパートメントモデルによるGFRの算出

上記結果を基に, iodixanolの至適用量である 40 mg I/kgを健常猫 (n = 3) に単回静脈内投与し, 投与 5, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210 および 240 分後の計 11 回採血し, 台形法を用いて, 1 および 2 コンパートメントモデルでそれぞれ血中薬物濃度時間曲線下面積 (area under the curve: AUC) を求め, 下式に従ってGFRを算出した [20].

$$GFR = \text{投与量} / AUC$$

### Iodixanolの頻回採血法における最適採血時間

Iodixanolの 40 mg I/kgを健常猫 (n = 4) に単回静脈内投与し, 5 点採血 (60, 90, 120, 150 および 180

分後)と3点採血の3つの組み合わせ(60, 90および120分後, 60, 90および150分後と60, 120および180分後)でそれぞれ1-コンパートメントモデルに従ってGFRを求め, 最適採血時間を調べた。

#### iodixanolの1回採血法でのGFRの算出

Iodixanolを健常およびCKD猫に投与し, 単回静注・頻回採血法を用いてクリアランス(CL)を算出した。得られたCL値と用いた投与量( $Q_{total}$ ), 採血時間( $t$ : 60, 90または120分後)および $t$ 時間における血清iodixanol濃度( $C_t$ :  $C_{60\text{ min}}$ ,  $C_{90\text{ min}}$ または $C_{120\text{ min}}$ )を下記Jacobssonの式[21]にそれぞれ代入した。

$$CL = \{1 \times (t/V_1 + 0.0016)^{-1}\} \times \ln(Q_{total}/V_1 \times C_t) \dots (1)$$

(1)式を変形して,

$$V_1 = tCL/x \dots (2)$$

$$【F(x) = \exp(x) - \alpha x】$$

“x”値をNewton法[22, 23]を用いて解き, 見かけ上の分布容積( $V_1$ )を計算した。得られた“解”は, Microsoft Office Excel 2007(マイクロソフト, 東京)の“Goal-seek”機能を用いて確認を行った。算出した $V_1$ 値を縦軸に, 各 $C_t$ 値( $C_{60\text{ min}}$ ,  $C_{90\text{ min}}$ または $C_{120\text{ min}}$ )を横軸にとりPearson's plotによって

$$V_1 = \alpha^{\beta C_t} \dots (3)$$

となる近似直線を求めた( $\alpha$ および $\beta$ は定数)。その後, 投与量( $Q_{total}$ ), 採血時間( $t$ ),  $t$ 時間における血清iodixanol濃度( $C_t$ )と(3)式に $C_t$ 値を代入して得た $V_1$ 値を下式(4)に再度代入することで1回採血法でのGFRを算出した。

$$GFR = \{1 \times (t/V_1 + 0.0016)^{-1}\} \times \ln(Q_{total}/V_1 \times C_t) \dots (4)$$

GFRは体重当たりの濾過量( $\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$ )と体表面積当たりの濾過量( $\text{mL}/\text{min}/\text{m}^2$ )で求めた。体表面積(BSA)の算出には下式[24]を用いた。

$$BSA = 0.1 \times \text{bodyweight (in kg)}^{2/3}$$

#### iodixanolの1回採血法とinulinの頻回採血法で求めたGFRの比較

iodixanol単回静注・1回採血法の妥当性を, inulinの単回静注・頻回採血法との相関性で調べた。すなわち, iodixanolの40 mg I/kgおよびinulinの50 mg/kgを健常猫( $n = 11$ )およびCKD猫( $n = 9$ )に同時投与し, 60, 90および120分後に採血(約1.2 mL)した。採血は, iodixanolの1回採血法では90分後, inulinの単回静注・頻回採血法では3ポイント(60, 90及び120分後)とした。なお, 同時投与において, iodixanolおよびinulinは相互の血中濃度に対し, 干渉しないことを予め確認した。また, 経時的にGFR測定する場合には5日以上の間隔を設けた。

#### 血清iodixanolあるいはinulin濃度の測定と血清生化学検査

血清iodixanol濃度は逆相高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いてJacobsenら[18]の方法を一部変更[8]して測定した。すなわち, 血清0.1 mLと同量の20%トリクロロ酢酸を混合し, 4℃下で30分インキュベートして, 遠心分離後(14,000 g, 10分間, 4℃)上清を採取して, 除タンパク処理を行った。上清はHPLC用インサートに80  $\mu\text{L}$ 分注し, 流速1 mL/min, 注入量10  $\mu\text{L}$ で測定した。HPLCシステムは分離装置(Alliance™ Waters 2690 Separations Module, Waters, Milford, MA, USA), UV detector(Waters 996 Photodiode Array Detector, Waters), データ解析および危機制御装置(MILLENNIUM<sup>32</sup> Waters, Waters)と250 x 4.6-mm C-18 逆相カラム(関東化学薬品, 東京)を使用した。HPLC用移動相はMQ水と80%アセトニトリルを用いた。Iodixanolの検出は波長244 nmで行い, 予め作成しておいた猫用標準検量線より血清iodixanol濃度を求めた。1検体の測定には約20分間要し, 測定可能濃度は6.25-200  $\mu\text{g I}/\text{mL}$ であった。

血清inulin濃度は比色法(ダイヤカラー®・inulin, 東洋紡績, 大阪)で測定した。測定下限は20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。

GFR測定日に得られた血清を用いて, BUNおよびクレアチニン濃度をオートアナライザー(Accute TBA-40FR, 東芝メディカルシステムズ, 栃木)で測定した。なお, iodixanolおよびinulinともBUNおよび血清クレアチニンの測定系に干渉しなかった。

#### 統計解析

得られたデータは平均値±標準誤差(SEM)で表し, 2群間の比較ではF検定による分散分析を用い,

その後Studentのt検定を実施した。3群以上の場合は一元配置分散分析 (one-way ANOVA) を行い、有意差が認められた場合、Dunnettの多重比較検定を行った。危険率5%未満で差異が認められた場合に有意差があると判定した。相関性はPearsonの相関係数で判断した。Iodixanolの1回採血法と3回採血法で求めたGFRの相関性を求める場合はDeming法の直線関係式およびBland-Altman法による解析 [25, 26] をPrism 5 (GraphPad Software, San Diego, CA) で行った。

## 結 果

### 1. Iodixanolの投与量および採血時間の設定 (頻回採血法)

Iodixanolの20, 40, 80あるいは160 mg I/kgを健常猫に単回静脈内投与し、血中消失推移を投与180分後まで観察したところ、全ての用量で線形性を持って消失した。しかし、20 mg I/kgでは投与150分で血清濃度が測定限界以下に達し、検出できなかった (図1)。これらの結果を基に、以後の検討にはiodixanolの用量は40 mg I/kgとした。

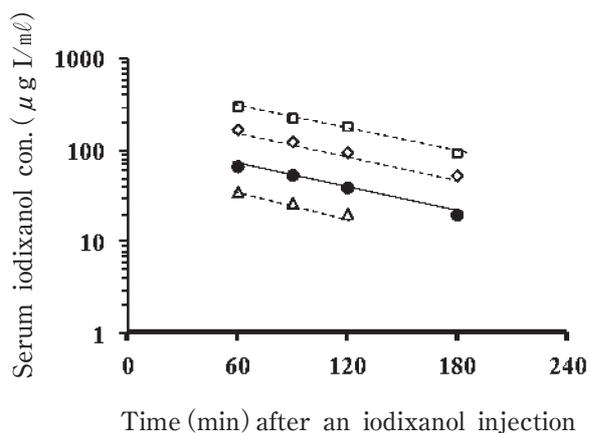


図1 健常猫へ各種用量のiodixanolを単回静脈内投与した際の血清iodixanol血中消失曲線。n = 4。  
△ : 20 mg I/kg, ● : 40 mg I/kg,  
◇ : 80 mg I/kg, □ : 160 mg I/kg

Iodixanolの40 mg I/kg投与での血中消失推移を投与直後より詳細に調べたところ、2相性 (分布と排泄相) を示した (図2)。そこで、排泄相を基にした1コンパートメントモデルと分布および排泄相から成る2コンパートメントモデルでAUCを求めGFRを算出したところ、平均GFR値 (n = 4) は、1コンパートメントモデルの方が約10%高値を示した。

Iodixanolの40 mg I/kg投与時の最適採血時間を調べたところ、5点採血 (60, 90, 120, 150および180分後) 値と、3点採血の3つの組み合わせ (60, 90およ

び120分後, 60, 90および150分後と60, 120および180分後) との間で、GFR値に有意差は認めなかった (図3)。

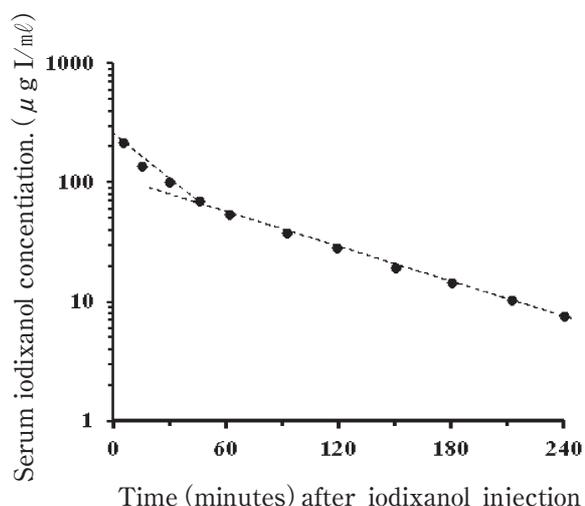


図2 健常猫へiodixanolの40 mg I/kgを単回静脈内投与後に頻回採血した際の血中iodixanol消失曲線

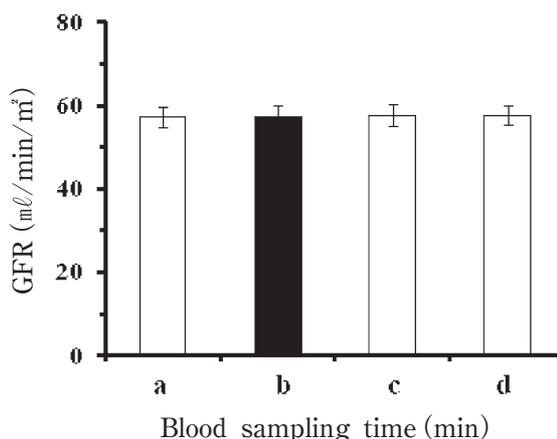


図3 健常猫へiodixanolの40 mg I/kgを単回静脈内投与した際の採血時間の組み合わせによるGFRの比較。a : 60, 90, 120, 150および180分。b : 60, 90および120分。c : 60, 90および150分。d : 60, 120および180分。n = 4

### 2. Iodixanolの1回採血法によるGFRの算出

Iodixanolの頻回採血法で得られたGFR値、投与量 ( $Q_{total}$ : 40 mg I/kg)、採血時間 ( $t$ : 60, 90または120分後) および $t$ 時間での血清iodixanol濃度 ( $C_{60 \text{ min}}$ ,  $C_{90 \text{ min}}$  および $C_{120 \text{ min}}$ ) をJacobssonの式に代入し、見かけ上の分布容積 ( $V_1$  値) をそれぞれ求めた。確認のため、Microsoft Office Excel 2007の“Goal-seek”で $V_1$ を求めたところ、全ての“解”は一致していた。

投与90分後における $V_1$ 値のPearsonの相関係数 ( $r = 0.95$ ,  $P = 0.001$ , 図4) は投与60分後 ( $r = 0.90$ ) あ

るいは120分後 ( $r=0.92$ ) に比べより良好であった。投与90分後における $V_1$ 値を血清iodixanol濃度 ( $C_{90\text{ min}}$ ) から求める式を下記に示した。

$$V_1 = 647.6e^{-0.023C}$$

( $n=24$ , サンプル数: 同一猫を頻回用いて得たデータを含む=62)

Iodixanolの1回採血法で求めた健常猫の背景GFR値 ( $n=15$ ) は  $3.31 \pm 0.1 \text{ ml/min/kg}$  ( $57.4 \pm 1.7 \text{ ml/min/m}^2$ ) であった。

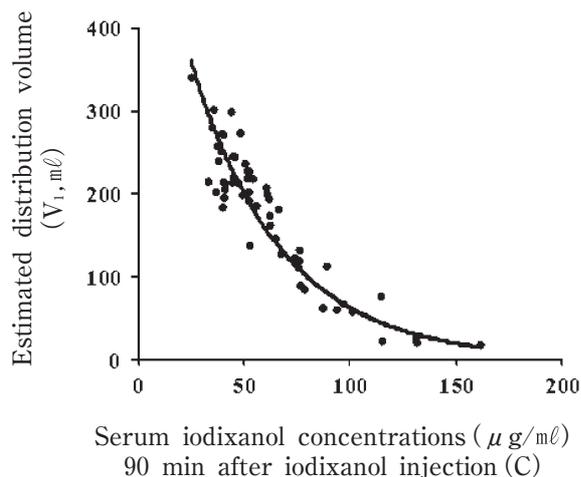


図4 算出した見かけ上の分布容積 ( $V_1$ ) と iodixanol投与90分後における血清iodixanol濃度 ( $C$ ) の相関性。  $V = 647.6e^{-0.023C}$ ,  $r = 0.95$  ( $P = 0.001$ )  $n = 24$  (サンプル数 = 62)

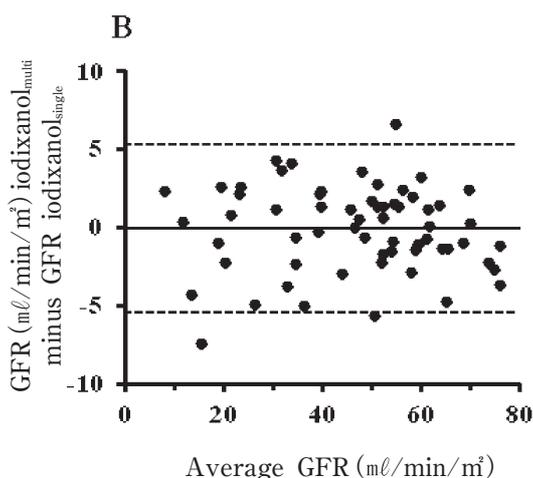
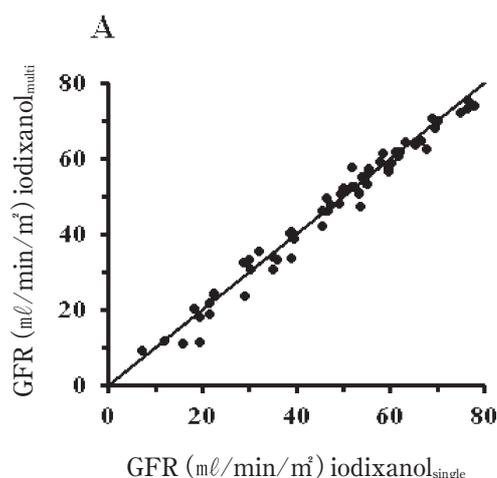


図5 健常およびCKD猫におけるiodixanolの1回採血法 ( $GFR_{\text{iodixanol}_{\text{single}}}$ ) と頻回採血法 ( $GFR_{\text{iodixanol}_{\text{multi}}}$ ) で算出したGFRの相関性。  $n = 24$  (サンプル数 = 62)。 (A) Deming法の直線関係式。  $y = 0.996x + 0.153$ 。 (B) Bland-Altman法による解析。 Mean bias : 0.05

### 3. Iodixanolの頻回採血法と1回採血法で求めたGFRの比較

健常およびCKD猫を含む同一の猫 ( $n = 24$ , サンプル数 = 62) を用いてiodixanolの頻回採血法 (60, 90および120分後) と1回採血法 (90分後) で得られたGFR値をDeming法の直線関係式およびBland-Altman法で解析したところ、高い相関性が認められた (図5,  $r = 0.99$ )。

### 4. Iodixanolの1回採血法とinulinの頻回採血法で求めたGFRの比較

健常およびCKD猫 ( $n = 20$ , サンプル数 = 35) を用いてiodixanolとGFR標準薬inulinを同時投与し、各々GFRを算出し、Demingの直線関係式およびBland-Altman法で比較したところ、両法間には高い相関性が認められた (図6,  $P = 0.001$ )。しかし、平均値においてiodixanolの1回採血法の方がinulinの頻回採血法に比べ、約  $0.2 \text{ ml/min/kg}$  ( $3.5 \text{ ml/min/m}^2$ ) 高値を示した。

### 5. Iodixanolの1回採血法で求めたGFRとBUNおよび血清クレアチニンの相関性

健常およびCKD猫 ( $n = 26$ , サンプル数 = 84) におけるiodixanol単回静注・1回採血法によるGFRとBUNおよび血清クレアチニン濃度の相関性を検討した。背景GFRの約70%低下 ( $GFR: 1.0 \text{ ml/min/kg}$ :  $17.2 \text{ ml/min/m}^2$ ) で、血清クレアチニン濃度の上昇傾向が認められ、BUNもほぼ同様の傾向を示した (図7)。

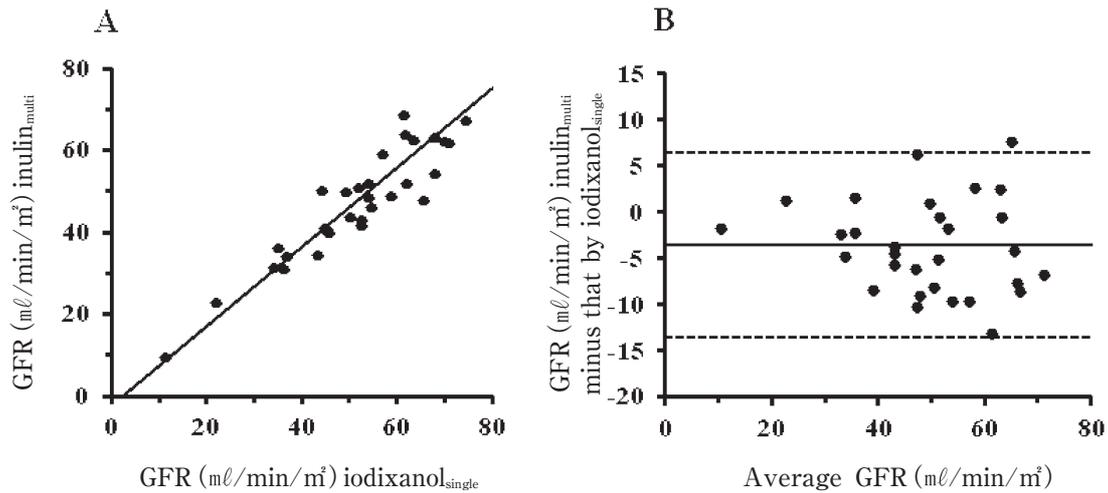


図6 健常およびCKD猫におけるiodixanolの1回採血法（GFR iodixanol<sub>single</sub>）とinulinの頻回採血法（GFR inulin<sub>multi</sub>）で算出したGFRの相関性。n = 20（サンプル数 = 35）。(A) Deming法の直線関係式。y = 0.972x - 2.496。(B) Bland-Altman法による解析。Mean bias : -3.53。破線：95% 信頼限界

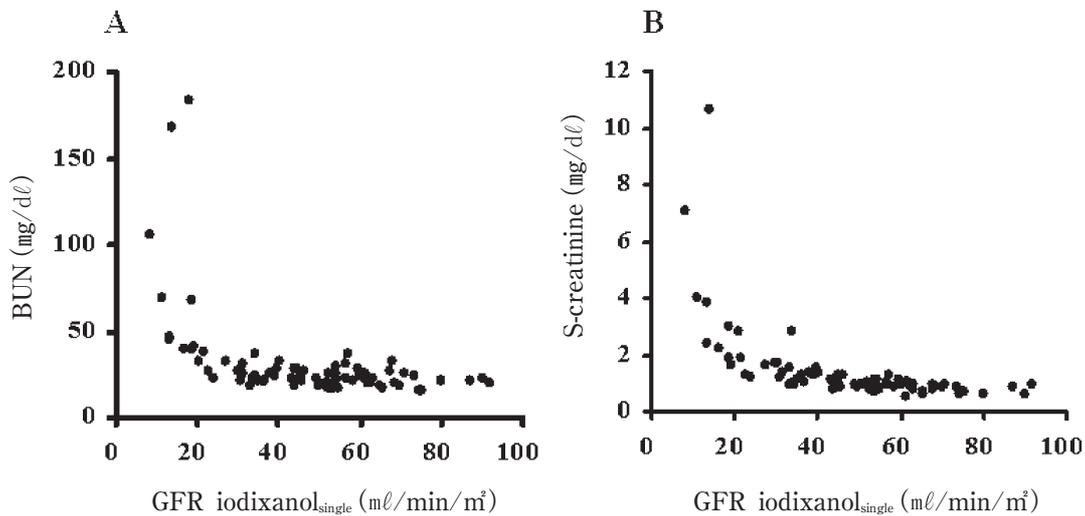


図7 健常およびCKD猫におけるiodixanolの1回採血法で算出したGFRとBUN (A) および血清クレアチニン (B) 濃度の相関性。n = 26（サンプル数 = 84）、破線：95% 信頼限界

### 考 察

猫CKDにおけるGFRの変化を経時的に把握する目的で、より有害作用やストレスが少ないと考えられるiodixanolの血清クリアランス法（単回静注・1回採血法）に着目し、その確立を試みた。

まず、健常猫を用いて、iodixanolの至適用量を調べたところ、投与180分後まで血中濃度推移がモニターできる最小用量は40 mg I/kgであった。したがって、投与量は40 mg I/kgに設定した。本用量は、iohexolが猫医療 [4, 5] において健常動物で用いられている90 mg I/kgの半量以下、高窒素血症動物での45 mg I/kgより低用量であった。これら造影剤間の用量の違いは、1分子当りに含有するヨード量の違いと考えられた。なお、設定した40 mg I/kg投与量は、小動物医療でCT

撮像に用いられているiodixanolの用量300 mg I/kg [16] の約1/7に相当する。

Iodixanolの40 mg I/kg投与における血中消失推移を投与直後より詳細に観察すると2相性を示した。そこで、1あるいは2コンパートメントモデルに当て嵌めAUCを求め、それぞれGFRを算出したところ、GFR値は1コンパートメントモデルの方が約10%高値を示した。これは1コンパートメントモデルではAUCが少なく計算されるためと考えられるが、臨床現場において10回を超える採血（2コンパートメントモデル）は実用性がないと考えられるため、本研究ではAUC算出に1コンパートメントモデルを採用した。

1コンパートメントモデルを基に、40 mg I/kg投与での5点採血と3点採血でGFRを求め比較したとこ

ろ、採血時間の組み合わせによる差異は認められなかった。したがって、短時間内に検査が終了する60、90および120分を、最適採血時間として選択した。

次に、iodixanolの1回採血法でGFRを算出するために、Jacobssonの式に着目した。Jacobssonの式は既に、ラット [8, 9]、ウサギ [27]、子牛 [11] およびヒト [21] でその妥当性が検討されている。Jacobssonの式の特徴は、GFR算出の変動因子としての投与量、採血時間、血中濃度及び分布容積を含むことである。しかし、この変動因子のうち、分布容積は個体毎あるいは病態により異なるため、個別に求める必要がある。薬物動態学 (pharmacokinetics) に従うと、分布容積 (V) は、投与量 ( $Q_{total}$ ) を初期血清中薬物濃度 ( $C_0$ : y軸との交点) で徐す ( $V = Q_{total}/C_0$ ) ことで得ることができる。しかし、今回採用した1コンパートメントモデルでは、線形性を最少採血の3回で求めるため、大きな誤差が生じ可能性がある。そこで、下記Jacobssonの式に、

$$CL = \{1 \times (t/V_1 + 0.0016)^{-1}\} \times \ln (Q_{total}/V_1 \times C_t)$$

iodixanolの頻回採血法で健常とCKD猫から得られたGFR値 (CL)に、投与量 ( $Q_{total}$ )、採血時間 ( $t$ : 60, 90あるいは120分後) と $t$ 時間における血清中iodixanol濃度 ( $C_t$ ) を代入し、Newton法 [22, 23] を用いて、各採血時間帯における $V_1$ 値 (見掛け上の分布容積) を求めた。その後、これら $V_1$ 値と血中濃度との相関性をPearson's plotで解析したところ、90分後採血が他採血時間 (60あるいは120分後) に比べより高い相関性を示した (図4)。そこで、1回採血法によるGFR測定では、投与量 ( $Q_{total}$ ) を40 mg I/kg、採血時間 ( $t$ ) を90分後、その時の血清iodixanol濃度 ( $C_t$ ) と個体毎の見掛け上の分布容積 ( $V_1$ ) =  $647.6e^{-0.023C}$ を元のJacobssonの式に再度代入することにより、算出が可能となった。

この1回採血法の妥当性を検証するために、iodixanolの頻回採血法 (図5) あるいはinulinの頻回採血法 (図6) との相関を調べたところ、両測定法との間に極めて高い相関関係が認められた。しかし、従来法であるinulinの頻回採血法のGFR実数値を比較したところ、iodixanolで得られた値はやや高値を示した (図6)。このことは猫では微量のiodixanolが尿管から分泌されることを示唆しているかもしれない。

本条件下でのiodixanolの1回採血法による健常猫の背景GFR値は $3.31 \pm 0.1$  ml/min/kg ( $57.4 \pm 1.7$  ml/min/m<sup>2</sup>) であった。この値は各種tracerで算出された既知データ、すなわちMiyamoto (4) の $3.64 \pm 0.13$  ml/

min/kg, Ross & Finco (28) の $2.94 \pm 0.32$  ml/min/kg, Hallerら (29) の $2.07-3.69$  ml/min/kg ( $35.9-58.5$  ml/min/m<sup>2</sup>) あるいはGoodmanら (30) の $3.31 \pm 0.27$  ml/min/kgと近似の値を示した。

Iodixanolの1回採血法で求めたGFRと血清クレアチニン濃度の相関性をみると、GFRが約70%低下すると明らかな血清クレアチニン濃度の上昇がみとめられ (図7)、成書の記述 [1, 31] と合致していた。また、我々の検討では、クレアチニン値が1.6 mg/dl前後のGFR値は $1.31$  ml/min/kg ( $23.0$  ml/min/m<sup>2</sup>) であり、健常猫におけるGFR値の約40%に相当した。これはIRISの血清クレアチニン値1.6 mg/dl以上では残存腎機能は33%以下とする猫CKDステージ分類ともほぼ一致していた [1]。このことはGFRが血清パラメータよりも鋭敏に反応し、腎残存予備能を定量的に把握できることを裏付けていると考えられた。なお、BUNは食餌や血流量の影響を受け易く、尿管からの再吸収もあるため、血清クレアチニンに比べやや反応性が劣りバラツキも大きかった。

単回採血法では正確にiodixanolを静脈内投与することが必須であるが、投与90分後に必ずしも正確に採血することはなく、採血時間を正確に記述することの方がより重要である。血清iodixanol測定に関し、今回はHPLC法を使用した。臨床現場で広範に利用できる比色法 [13] でも測定可能である。また、試料として、血清あるいは血漿のどちらを用いても、iodixanol濃度には差異はみられていない。

実験期間中、iodixanolの投与に関連した有害作用あるいは投与時の疼痛は全く観察されなかった。

以上のことから、iodixanolの単回静注・1回採血法は従来法に比べ頻回採血によるストレスを軽減し、同一猫からGFRを経時的に把握できることから、臨床応用可能な簡便法と考えられた。

岩手大学では、本法による猫GFRの測定を行っています。また犬GFRの測定も始めました。データ収集にご協力いただける先生がいらっしゃいましたら、測定の依頼・予約は岩手大学附属動物病院 (電話019-621-6238 担当: 獣医外科学教室 片山泰章)、結果および検査内容に関する問い合わせは獣医薬理学教室 古濱和久 (電話019-621-6213) までお願いいたします。

## 謝 辞

本研究の遂行にあたり、ご支援を賜りました富士フイルム株式会社安全性評価センター 佐藤 洋博士ならびに岩手大学獣医薬理学、大動物診断治療学および小動物外科教室各位に深く感謝いたします。

## 引用文献

- [ 1 ] Heiene R, Lefebvre HP : Assessment of renal function. In : Elliott J. and Grauer GF. [eds] BSAVA manual of canine and feline nephrology and urology. 2<sup>nd</sup> ed. 犬と猫の腎臓病と泌尿器病マニュアル II, pp.113-121, New LLL Publisher, 大阪 (2007)
- [ 2 ] Von Hendy-Willson VE, Pressler BM : An overview of glomerular filtration rate testing in dogs and cats. *Vet J*, 188, 156-165 (2011)
- [ 3 ] Darling IM, Morris ME : Evaluation of "true" creatinine clearance in rats reveals extensive renal secretion. *Pharma Res*, 8, 1318-1322 (1991)
- [ 4 ] Miyamoto K : Use of plasma clearance of iohexol for estimating glomerular filtration rate in cats. *Am J Vet Res*, 62, 572-575 (2001)
- [ 5 ] Miyagawa Y, Takemura N, Hirose H : Evaluation of a single sampling method for estimation of plasma iohexol clearance in dogs and cats with various kidney functions. *J Vet Med Sci*, 72, 271-278 (2010)
- [ 6 ] Aspelin P, Aubry P, Frasson S-G, Strasser R, Willenbrock R, Berg KJ : Nephrotoxic effects in high-risk patients undergoing angiography. *N Engl J Med*, 348, 491-499 (2003)
- [ 7 ] McCullough PA, Bertrand ME, Brinker JA, Stacul F : A meta-analysis of the renal safety of isomolar iodixanol compared with low-osmolar contrast media. *J Am Coll Cardiol*, 48, 692-699 (2006)
- [ 8 ] Katayama R, Yamaguchi N, Yamashita T, Watanabe S, Satoh H, Yamagishi N, Furuhashi K : Calculation of glomerular filtration rate in conscious rats by the use of a bolus injection of iodixanol and a single blood sample. *J Pharmacol Toxicol Method*, 61, 59-64 (2010)
- [ 9 ] Katayama R, Watanabe K, Yamagishi N, Abe S, Satoh H, Furuhashi K, Sequential measurements of glomerular filtration rate in conscious rats by a bolus injection of iodixanol and a single blood sample. *J Appl Toxicol*, 31, 360-365 (2011)
- [10] Katayama R, Saito J, Katayama M, Yamagishi N, Yamashita T, Kato M, Furuhashi K : Simplified procedure for the estimation of feline glomerular filtration rate using iodixanol, *J Am Vet Res*, (in press)
- [11] Imai K, Yamagishi N, Okura N, Fukuda T, Hirata T, Okada K, Sato S, Furuhashi K : Estimation of glomerular filtration rate in calves using the contrast medium iodixanol. *Vet J*, PMID : 22075711 (in press)
- [12] Imai K, Yamagishi N, Kim D, Devkota B, Sato S, Murayama I, Furuhashi K : Serum clearance of iodixanol for estimating glomerular filtration rate in calves. *J Vet Med Sci*, 73, 1625-1628 (2011)
- [13] Miura M, Yamagishi N, Sasaki K, Kim D, Devkota B, Furuhashi K : Colorimetric assay for the quantification of serum iodixanol concentration and its application on estimation of glomerular filtration rate in cattle. *Res Vet Sci*, doi : 10.1016/j.rvsc.2011.07.010, PMID : 21963243 (in press)
- [14] Satoh H, Abe S, Kato M, Saito J, Furuhashi K : Optimum condition for serum clearance of iodixanol, applicable to the estimation of glomerular filtration rate in horses. *Vet Res Commun*, 35, 463-468 (2011)
- [15] Kishimoto M, Yamada K, Tsuneda R, Shimizu J, Iwasaki T, Miyake Y : Effect of contrast media formulation on computed tomography angiographic contrast enhancement. *Vet Radiol Ultrasound*, 49, 233-237 (2008)
- [16] Kishimoto M, Yamada K, Watanabe A, Miyamoto K, Iwasaki T, Miyake Y : Comparison of excretory urographic contrast effects of dimeric and monomeric non-ionic iodinated contrast media in dogs. *J Vet Med Sci*, 69, 713-715 (2007)
- [17] 高砂 浄, 笠井義男, 北野 裕, 森 和彦, 小林令子, 牧野充裕, 萩原雄大, 広橋正章, 野村護, Algate DR : 新規非イオン性等浸透圧造影剤 Iodixanol の一般薬理作用. *J Toxicol Sci*, 20, 133-151 (1995)
- [18] Jacobsen PB, Blindheim L, Skotland T : Bio analytical methods for iodixanol and their application to studies on metabolism and protein binding. *Acta Radiol*, S399, 61-66 (1995)
- [19] Polzin DJ, Osborne CA, Ross SJ : Chronic

- kidney disease. In: Ettinger SJ, Feldman EC, eds. Textbook of Veterinary Internal Medicine, 6th ed, pp.1756-1785, St Louis, MO : WB Saunders (2005)
- [20] Heiene R, Reynolds BS, Bexfield NH, Larsen S, Gerritsen RJ : Estimation of glomerular filtration rate via 2- and 4-sample plasma clearance of iohexol and creatinine in clinically normal cats. *Am J Vet Res*, 70, 176-185 (2009)
- [21] Jacobsson L : A method for the calculation of renal clearance based on a single plasma sample. *Clin Physiol*, 3, 297-305 (1983)
- [22] Smale S : On the efficiency of algorithms of analysis. *Bull Am Math Soc*, 13, 87-121 (1985)
- [23] Varona JL : Graphic and numerical comparison between iterative methods. *Math Intell*, 24, 37-46 (2002)
- [24] Holt JP, Rhode EA, Kines H : Ventricular volumes and body weight in mammals. *Am J Physiol*, 215, 704-715 (1968)
- [25] Bland JM, Altman DG : Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet*, 1, 307-310 (1986)
- [26] Bland JM, Altman DG : Measuring agreement in method comparison studies. *Stat Method Med Res*, 8, 135-160 (1999)
- [27] Michigoshi Y, Yamagishi N, Satoh H, Kato M, Furuhashi K : A new approach for estimating the rabbit glomerular filtration rate using a single-blood-sample method with inulin. *J Am Ass Lab Anim Sci*, 50, 702-707 (2011)
- [28] Ross LA, Finco DR : Relationship of selected clinical renal function tests to glomerular filtration rate and renal blood flow in cats. *Am J Vet Res*, 42, 1704-1710 (1981)
- [29] Haller M, Rohner K, Muller W, Reutter F, Binder H, Estelberger W, Arnold P : Single-injection inulin clearance for routine measurement of glomerular filtration rate in cats. *J Feline Med Surg*, 5, 175-181 (2003)
- [30] Goodman LA, Brown SA, Torres BT, Reynolds LR, Budenberg SC : Effects of meloxicam on plasma iohexol clearance as a marker of glomerular filtration rate in conscious healthy cats. *Am J Vet Res*, 70, 826-830 (2009)
- [31] DiBartola SP : Clinical approach and laboratory evaluation of renal disease, In : Ettinger SJ, Feldman EC, Textbook of Veterinary Internal Medicine, 5th Edition, pp.1600-1614, WB Saunders, Philadelphia (2000)