

## 京都大学シシヤパンマ医学学術登山隊 (KUMREX'90)

### —血液・尿検査実施経過の概要—

瀬戸嗣郎

島根医科大学小児科

高所の低酸素世界に、平地の大病院と変わらないような臨床検査室を作り、多方面からの包括的な検査を行うことが、人体の低酸素適応を個体の総合的な生理レベルで追跡することを可能にするであろう、という目論見で今回のシシヤパンマ高所医学研究の内容が計画された。そのためには、血液や尿を通じて、人体の内的環境の変化を多項目にわたって詳細に探ることがまず必要である。たとえば“浮腫”というきわめて一般的な高所障害の病態をとりあげても、心臓血管系の物理的な働き、種々のホルモンの相互作用、塩分水分の代謝変化など多くの要因が絡み合っている。単一の因子のデータ解析を羅列するのは本意ではなく、むしろ各因子の相互関係、因果関係に着目するべきであろう。しかし多項目の測定をもってしても、浮腫促進過程、浮腫防御作用のメカニズムを辿るにあたり、その複雑な糸を解きほぐしていくことは容易ではないと、今持ち帰った膨大なデータを前にして感じる。今回のシシヤパンマ隊での研究が、当初の目論見のどの程度まで達成できたかは現在結論を下すことはできない。本稿では血液尿検査の概要を報告することとし、今後展開される個別の報告の序にかえたい。

#### 1 はじめに

すでに本誌の第1号で、今回の研究のpreliminaryとして位置づけられる、1989年ムスターグアタ医学研究の血液学的研究の項で概要を述べたので、一部参照していただきたい。その時の反省として出された検査の密度や項目、あるいは方法の問題点について、今回は相当の改善が得られた。方法については、少し反省をまじえながら詳細に報告する。今後の同様のフィールドワークの参考になれば幸いである。

#### 2 サンプルの詳細

血液尿検査用機材のリストを表1に挙げた。

##### 1) 血液採取

特殊な採血を除いてほぼ全例、21Gの注射針とデイスボーザブルシリンジで行った。高所では血

液が相当粘ちようとなるので、検体の滑らかな採取のためには18Gを用いるべきであろう。早朝空腹時に行ったが、1度に多いときで20名の被検者の採血とサンプル処理を4人のスタッフで行わねばならなかった。労力もさることながら、採血時間のズレが、日内変動を有する項目のデータに影響を及ぼす可能性が、現地においても若干懸念された。

いま一つの問題は採取血液の温度管理であった。大半のホルモン、血小板関連物質のための検体は低温での処理が要求される。氷水条件を作るのは困難であるので、デリケートなサンプルの処理は優先的に早朝の低温下で行った。採血回数は多い人で都合12回にのぼり、1回当たり30ml~40ml採取されたので、1人当たり全経過を通じて400ml程度の採血量となった。

表 1. 血液尿検査用機材 (疫学隊の分も含む)

	個数		個数
1) 血液採取用			
血液ガス分析用シリンジ	250	ビベッター 5 ml	1
1 ml シリンジ	155	1 ml	3
5 ml シリンジ	280	0.2 ml	2
10 ml シリンジ	490	ポリピベット	1220
20 ml シリンジ	700	1 ml 用チップ	3300
30 ml シリンジ	190	0.2 ml 用チップ	1300
20 G 留置針	170	リンパ球分離液	
22 G 留置針	90	リンパ球洗浄液	
18 G 注射針	230	DMSO	
21 G 注射針	760	滅菌ピベット	
23 G 注射針	450	滅菌チップ	
26 G 注射針	190	ヘパリン	20
延長チューブ	370	D P G 用除蛋白液	
三方活栓	290	抽出用 P C A 溶液	
採血用枕	5	中和液	
駆血用ゴム	10	P C A 原液	
カット綿	多数	$\beta$ T G 用試薬	
アルコール綿容器	6	A N P 用試薬	
消毒用アルコール (500ml)	5	試験管立て大	14
(100ml)	7	ピンセット	6
バンソウコウ	多数	3) サンプル保存用	
デイスボ手袋 (箱入り)	5	NUNC クライオチューブ	4450
キムワイブ	20	フリージングコンテナ	11
2) サンプル分離、測定用			
血清分離用試験管 9 ml	550	クライオチューブ立て	6
6 ml	400	油性マーカー	150
E D T A 入試験管 7 ml	980	スライド標本箱	7
E D T A · 2 K 入試験管	200	デフワーボックス	1
マイクロチューブ	1500	液体窒素防手袋	2
A N P 用マイクロチューブ	360	金属じょうご	2
血糖用試験管	200	4) 尿検体採取保存用	
$\beta$ T G 用試験管	200	アリコート瓶	75
P G 用試験管	200	採取容器	150
A C T 用試験管	200	蓄尿用プラボトル 2 L	20
滅菌 F スピッツ	1400	秤量用シリンダー 2 L	2
血算用検体容器	450	200 ml	2
ヘマト用キャピラリー	1200	6 N 塩酸 500 ml	3
ヘマト用パテ	23	尿保存袋	520
ヘマト計算盤	2	5) その他	
網赤用キャピラリー	600	生理食塩水 20 m	50
スライドグラス	700	500 ml	12
引きガラス	8	蒸留水 500 ml	12
リン酸緩衝バッファー 500 ml	2	1 L	1
ライト染色液 100 ml	3	2.5 L	2
洗浄用バッファー		尿テストテープ	多数
染色バット	2	使用済み針入れ缶	多数
		ごみ袋	多数

2) 血液検体処理 (使用機器と電源)

変質を防ぐため、A N P 用、血小板放出物質用などの試薬に関しては、搬送中可能な限り温度管

理に配慮し、現地にて使用前日に分離用試験管に調製添加した。採取された血液は、速やかに各用途の試験管に分注された。

A N P 用検体は、マイクロチューブ中の試薬と

混和後、マイクロ遠心機（卓上マイクロ遠心機、50W、I W A K I）にて速やかに血漿分離された。この遠心機はC3（6920m）にも運び上げられ、バッテリー（湯浅電池、12V-4AH）を電源としてC3における全ての検体の処理に使用された。バッテリーはC1で充電されて持ち上げられたが、マイクロ遠心機ののべ60分程度の使用と20Wのインピーダンス心拍出量測定器ののべ40分程度の使用に対して、最初の1度の充電で事足りた。C3でのすべての予定検査が終了したとき、丁度バッテリーの電力の切れたことが昨日のように思い出される。

その他の血液検体については、BCとABCにおいて卓上小型遠心機（model 2010、180W、Kubota）を主に使用し処理された。電源はホンダ発電機（EM900<900W>、EX550<550W>、EX300<300W>）からインバーターを通して取られた。550Wの出力のEX550では、低酸素下のABCにおいて、遠心機1台を稼働させるのにギリギリのパワーであった。他にヘマトクリット遠心機（KH-120II、300W、Kubota）も使用した。

医療機器を無事に稼働させる安定した電力を得ることが、とにかく最も困難な作業であった。今回予定したサンプリングを完遂できたことには、平地の1/2以下の低酸素でも作動した発電機その他の機器の優秀性と、電気関係担当の上田隊員に負うところ大である。

### 3) 血液サンプルの保存と運搬

サンプルの保存と運搬は、この種の海外におけるフィールドワークでは最も厄介な問題である。

分離された血清、血漿をすべて測定項目別に、1. 8mlのクライオチューブ（Nunc）に分注し、液体窒素ボンベ中に浮遊させ保存した。

液体窒素のメンテナンスについては、1昨年のムズターグアタでの経験を踏まえ、日本に持ち帰るまでのリスクを計算して慎重に計画した。表2に示したボンベを用意した。LAB50の2本は液体窒素の輸送用で、他の検体保存用ボンベに比べ軽便にできており、保存効率では劣るものの、容器重量が小さくかつ大容量を運ぶことができる。今回のサンプル輸送作戦では大変な威力を発揮した。

先に送られていた7本のボンベは、3/23成都にて液体窒素を充填され、ラサで我々の到着を待ち受けた（総量約160L）。4/6往路の成都でLAB50に液体窒素を充填した。4/8ラサよりサンプルの収集を開始した。ラサ出発時、全体に7割程度の内容量であったので、LAB50の1本を空にして保存用の7本に補充し満たんとした。4/16BC到着時の確認では、道中悪路を3日間車に揺られたにもかかわらず、すでに検体の保存を始めた1本を除いて、目減りは1~2割と僅かであった。

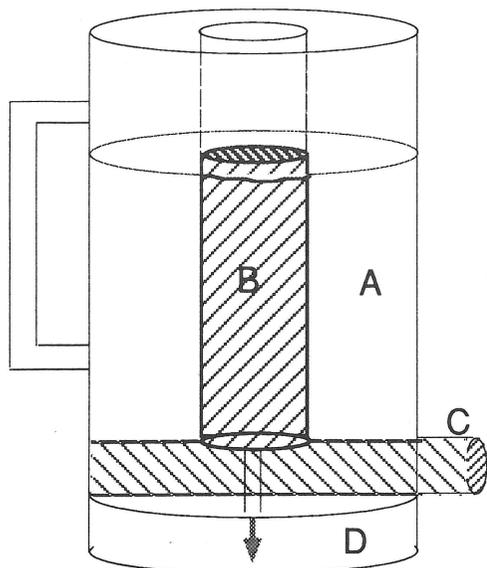
BCでは主にXC47/11の1本を保存用に供した。ABCには満たんのSC20/20の2本を運んだ。その後多本数のチューブを保存することになるが、ABCでの36日間余裕を持って収納できた。

一方、他のボンベへの補充のために空にしたLAB50の2本とDalic-18の1本を、4/29中途帰国者に依頼して成都に降ろし、再度充填されてBCに戻された。この補充により、帰

表2 液体窒素およびボンベ

品名	製造会社	充填量	使用個数
SC20/20	Minnesota Valley Engineering	20L	3
XC47/11	〃	47L	2
LAB50	〃	50L	2
SC4/3V (少量搬送用)	〃		1
DALIC-18	大阪酸素	18L	1
DALIC-20	〃	20L	1

図1 蓄尿用アリコート瓶



国時の運搬用の必要量のみならず、松林率いるフィールドワーク隊にも満たんのボンベ2本を供給できた。

帰国の途次の成都にて、サンプル・ボンベに液体窒素を再度一杯に充填したが、十分に余裕があり要らざる配慮であった。運搬には航空便を利用せざるをえないが、今後はますます液体窒素の搬送が難しくなるであろうから、別の方策(ドライアイス)の併用や、漏出の心配のない容器を準備することが望ましい。

2019本のクライオチューブのサンプルを持ち帰った。ほとんどが完全な凍結密封状態で保持されていた。

#### 4) 尿の採取と保存

図1のイラストに示したようなアリコート瓶を各自に配布し、24時間尿を蓄積した。ビールジョッキの形をしたAの容器に尿を貯め、Cのバルブを押すと、全体の1/46の量に相当するBの円筒の中の尿のみが、下のDの容器の中に落下する。従って毎回1/46量がDに蓄尿されていくことになる。残りのAの中の尿は捨てるから、容器の持ち運びも容易である。Dに少量の塩酸をあ

らかじめ加えておき、酸性蓄尿を行った。1日3Lまでの排尿量なら安全にD容器に蓄積できた。夜間の凍結が問題であったが、通常の蓄尿容器(2L)も用意し予備にあてた。

1週間に1度の割で蓄尿を行ったが、1日尿量を計算後に一部を尿保存用の樹脂袋に入れ、凍結保存した。同時に早朝尿を、尿テストテープとナトリウム、pH簡易測定器でチェックした。これらの仕事には杉江、陣内隊員が多量の尿と格闘しながらがんばった。

#### 5) 測定

ほとんどの検査項目については、日本に持ち帰ったサンプルをもって測定されたが、ここでは現地で施行された項目を記す。ヘマトクリットの測定には、BC、ABCでは前述のヘマトクリット遠心機を使用した。北京、成都、C3では簡易のヘマト測定機(マイクロスピ、エームス社製)を用いた。両者の方法でのデータの相関も検討したが、きわめて良好であった。

網状赤血球はプリリアント・クレシルブルー入りの毛細管の中で染色の後、塗抹標本を作成し、ライト染色を施したうえ、日本に持ち帰りカウントした。自動血球計算器はトーア医用電子社製のものをBCに運び、白血球数、赤血球数、ヘモグロビン、血小板数などを測定した。久保隊員の大変な努力で、往路のBCではなんとか測定にこぎつけたが、ほこりと低温のためトラブルの連続であった。強風で舞うほこりの中で機械を守ることは、テントの中とはいえ相当に困難であった。また夜間の低温による回路の凍結をさけるため、1日の検査終了毎に回路から水抜きをせざるをえなかった。結局帰路のBCでは使用不能であった。

血液ガス分析器はチバコーニング社製model 1-168をBCに据え付け、往路と帰路に測定した。これは無事に作動してくれた。あと全血凝固時間の測定には、ITC社製ヘモクロンを用いた。新鮮尿のチェックも随時行ったのは前に述べた通りである。

#### 3 検査対象

登山活動に参加した日本人隊員27名と、途中

表3 サンプル採取日時・場所

月日	場所	高度(m)	被検者数
2. 12	京都		26
2. 26	〃		21
4. 4	北京	43	2
4. 6	成都	498	21
4. 8	ラサ	3650	21
4. 9	〃	〃	11
4. 10	〃	〃	8
4. 13	シガツェ	3900	19
4. 16	BC	5020	20
4. 17	〃	〃	12
4. 18	〃	〃	9
4. 22	ABC	5640	12
4. 23	〃	〃	12
4. 25	〃	〃	7
4. 26	〃	〃	8
4. 27	BC	5020	3
4. 28	〃	〃	3
5. 1	ABC	5640	8
5. 7	〃	〃	15
5. 8	〃	〃	14
5. 9	〃	〃	7
5. 16	C3	6920	7
5. 17	〃	〃	4
5. 18	〃	〃	12
5. 19	〃	〃	2
5. 23	〃	〃	5
5. 25	ABC	5640	21
5. 26	〃	〃	21
5. 29	BC	5020	10

BCを訪問した戸部、堀、林の3名、さらにBCにて肺水腫に陥っていたイタリア隊のシェルバ1名の計31名を対象とした。うち女性は2名。年齢は21才から64才までであり、中央値は38才、平均は38.4才であった(シェルバを除く)。

個人のプロフィールの詳細については、各報告で述べられるであろうから割愛する。頻回の採血にもかかわらず、隊員から文句も出ずにすべてスムーズに行えたことは、ひとえに全員のチームワークの賜であろう。

同行した日本猿の2頭、ムギとキュウタさらには現地のヤクからも採血した。

#### 4 サンプル採取日時・場所

表3にヒトから血液サンプルを採取した日時と場所および各検査時の被検者数を示した。当初考えていた検査プランの原則は、低酸素適応の初期の段階ではできるだけ検査密度を濃くして頻回に施行すること、新たな高度に達したときには必ず翌朝にサンプリングを行うことの2点であった。本隊の十数名はABCに到達するまで、同じスケジュールで行動したので、登山活動に抵触することなくそれらの目的は比較的容易に達成できたと思う。しかし現地では27回のサンプリング回数にのぼり、多忙をきわめた。ちょうど2日に1度の割合で採血していたことになる。サンプリング数はのべ341人日であった。この仕事には、血液検体処理チームの瀬戸、足立、菅、杉江がおもに携わった。

#### 5 測定項目

現在まで測定された検査項目と今後の測定予定を表4に示す。約80項目になる予定である。各検査の目的については、ヒマラヤ学誌の第1号31ページからを参考にさせていただきたい。

#### 6 おわりに

本誌では、まず造血系の研究のまとめを報告する。研究成果の総括と、個別の検体系の研究発表は、自覚症状リストおよびバイタルサインの解析をまっけて、次号で行う予定である。

#### 謝辞

測定に協力していただいた、エスアールエル株式会社、シオノギ製薬微生物研究所その他の協力施設、京都での研究の場を与えて下さった京都武田病院、さらには文中で述べました機器の貸与をいただいた会社の各位には、謹んで深く謝意を表します。

表4 血液・尿検査項目 (疫学隊の分は含まず)

1) 造血系 白血球数、赤血球数、ヘモグロビン、 血小板数、ヘマトクリット、 網状赤血球数、エリスロポエチン、 血清鉄、総鉄結合能、フェリチン	8) 肝機能 GOT、GPT、LDH、 $\gamma$ GTP、 ALP、コリンエステラーゼ、 総ビリルビン、TTT、ZTT
2) 内分泌系 心房性ナトリウム利尿ホルモン (ANP)、レニン活性、 アンギオテンシンI、 アンギオテンシンII、 アンギオテンシン転換酵素、 アルドステロン、 抗利尿ホルモン(ADH)、 副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)、 ガストリン [予定]	9) 腎機能 BUN、クレアチニン、 クレアチニンクリアランス [予定]
3) 代謝系 乳酸、ビルビン酸、 2, 3-DPG、アセト酢酸、 3-ヒドロキシ酪酸、総ケトン体、 過酸化脂質、SOD、 活性型ビタミンD [予定]	10) 膵機能 アミラーゼ
4) 凝固系 活性化全血凝固時間	11) 電解質 ナトリウム、カリウム、クロール、 カルシウム、リン、血清浸透圧
5) 血小板由来物質 $\beta$ トロンボグロブリン、 血小板第4因子	12) 骨格筋、心筋由来物質 CPK、アルドラーゼ、 ミオグロビン、クレアチン、 心筋軽鎖ミオシン
6) プロスタグランジン トロンボキサンB <sub>2</sub> 、 11-デヒドロトロンボキサンB <sub>2</sub> 、 6-ケトPGF <sub>1</sub> $\alpha$ 、 PGE <sub>2</sub> [予定]	13) 血清脂質・蛋白 コレステロール、リン脂質、 HDLコレステロール、 トリグリセライド、総蛋白、 アルブミン、A/G比
7) 内因性オピオイド $\beta$ -エンドルフィン	14) その他 尿酸、 血中プリン代謝産物 [予定]、 リンパ球分離保存、 血小板分離保存
	15) 尿検査 尿テープ検査、 尿中ナトリウム、pH、 カテコラミン代謝産物 [予定]、 尿中プリン代謝産物 [予定]