

●原 著

減圧症の実験的研究

—ヘリウム酸素混合ガス潜水と空気潜水の比較—

野寺 誠*, 宮崎正己**, 後藤與四之*, 梨本一郎*

体重が260～350gのウィスター系雄性ラット32匹(各群8匹)をヘリウム酸素混合ガス(He-79.5%, O₂-20.5%)により, 7 ATAにて30, 45, 60及び90分間の高圧暴露を行った。毎分20 mの速度で1 ATAまで減圧した。減圧10分後, これらのラットの減圧症症候を観察した。さらに減圧20分後, 生存するラットはpentobarbitalで不動化し, 減圧60分まで顕微鏡高速度VTR装置により, 後大静脈における気泡の出現状況を観察した(He-O₂暴露群)。また, 同様の観察を空気暴露したラット32匹についても行った(空気暴露群)。

(1) He-O₂暴露群では, 32匹中10匹が減圧後15分以内に死亡した。生存した22匹中14匹のラットに四肢の麻痺による歩行困難が観察された。空気暴露群では減圧後15分以内に8匹が死亡したが, 生存した24匹には減圧症の症候はみられなかった。

(2) He-O₂暴露群で生存した20匹中16匹に気泡がみられた。このうち7例においては, 気泡は減圧後60分以内に消失した。空気暴露群では生存した24匹中8匹に気泡がみられた。しかしながら, ほとんどの例(7/8)で気泡数の減少や消失は認められなかった。

以上の結果から, 短時間でしかも深い潜水では, 空気よりHe-O₂の方が脊髄型減圧症のリスクが高いことが示唆された。さらにヘリウム気泡は空気気泡よりも形成しやすく, 消失しやすいことも示唆された。

キーワード: 減圧, ヘリウム酸素混合ガス, 脊髄型減圧症, 気泡, ラット

EXPERIMENTAL STUDIES OF DECOMPRESSION SICKNESS ON RATS

—Comparison between heliox and air dives—

Makoto Nodera*, Masami Miyazaki**, Yoshiyuki Gotoh*, and Ichiro Nashimoto*

*Department of Hygiene, Saitama Medical School

**School of Human Sciences, Waseda University

Thirty-two male Wistar strain rats weighing 260-350g were exposed to He-O₂ (He-79.5%, O₂-20.5%) atmospheres of 7 ATA for 30, 45, 60 or 90min in a small hyperbaric chamber. And then they were decompressed to 1 ATA at a rate of

20m/min. Ten min after surfacing, to examine the manifestations of decompression sickness (DCS), they were taken off from hyperbaric chamber. Twenty min after surfacing, survived rats were anesthetized with sodium pentobarbital (60mg/Kg, i.p.), and observed the appearance of bubbles in posterior vena cava using microscopic high speed VTR system until 60 min after surfacing (He-O₂ group). Another group of 32 rats were subjected to air dive using same dive profiles (air group).

(1) In He-O₂ group, ten out of 32 rats died within 15 min after surfacing. Fourteen of 22 survived rats showed difficulty walking owing to the paralysis of legs. In air group, 8 rats died within 15 min after surfacing, while 24 survived rats had no DCS symptoms.

(2) In He-O₂ group, bubbles were seen in 16 of

*埼玉医科大学衛生学教室

**早稲田大学人間科学部

20 survived rats. These bubbles disappeared within 60 min after surfacing in 7 cases. In air group, bubbles were seen in 8 of 24 survived rats. In most of cases (7/8), however, bubbles did not reduce their size, and did not disappear with elapsed time.

These results suggest that the risk of spinal DCS is higher in He-O₂ dive at deep depth for relatively short period than that in air dives. Moreover, our findings also suggest that helium bubbles easily form and easily disappear than nitrogen bubbles.

Keywords :

Decompression
Helium-oxygen mixed gas
Spinal DCS
Bubble
Rat

はじめに

圧気潜函や潜水など、いわゆる高気圧環境での作業を終えて常圧下に戻る際に急激な減圧を行うと、減圧症 (decompression sickness) に罹患することがある。減圧症の症状は四肢の関節痛、呼吸困難あるいは麻痺等多様であるが^{1)~3)}、いずれの場合も急激な減圧により生体内に生じた気泡が原因となることは、Paul Bert⁴⁾以来一般に認められてきた。この減圧性気泡は、高圧環境下で組織に溶解した不活性ガスが急激な減圧によって過飽和状態となり、体内で気泡化するものと考えられている⁵⁾⁶⁾。

一方、水深30mを越える潜水では空気中の窒素分圧の上昇により、麻酔作用が発現する。また、空気密度の増加のため呼吸抵抗が増大する。こうした空気の欠点を除去するため、深い潜水では空気の代わりにヘリウムを主体とした混合ガスが多く用いられるが⁵⁾⁷⁾、実験動物とくにラット等の小動物にヘリウム混合ガスを使用した際に発症した減圧症の病態に関する報告は少ない。そこで著者らはヘリウム酸素混合ガス (以下、He-O₂) 高圧暴露後、減圧ストレスを与えたラットの死亡の有無を含めた症候と血管内気泡の出現状況を観察し、空気環境に高圧暴露した群と He-O₂環境に高圧暴露した群の比較検討を行った。

実験方法

体重260~350gのwistar系雄性ラット8匹を1群とし、内径30cm、高さ最大25cmの円筒型の高圧チャンバーを用い、空気(空気暴露群)とHe-O₂(He-O₂暴露群)の2種の環境ガスで圧暴露した。圧暴露プロフィールは、7ATAまで約2分間で加圧し、30分間の保圧後に大気圧まで2atm/minの速度で減圧する基本プロフィールに加え、より気泡を形成しやすい条件での減圧症罹患の様子を見るため、保圧時間を45、60、90分とした圧暴露条件も設定し実験を行った。空気暴露群は全期間空気であり、He-O₂暴露群は加圧開始から減圧後10分までヘリウム79.5%、酸素20.5%の混合ガス環境下に滞在させたものである。

圧暴露したラットの状態、行動は減圧終了後15分まで観察した。生存したラットは、pentobarbitalを腹腔内に投与(60mg/kg)して不動化した後、腹部正中切開を行った。そして、後大静脈及び合流する近位の静脈における気泡の出現状況を顕微鏡高速度VTR装置(nac, MHS-200)により観察した(録画速度:毎秒200フレーム)。気泡は実験が終了する減圧後60分まで観察した。また、麻酔剤投与前に死亡したラットについても剖検し、後大静脈内の気泡形成状況を観察した。

結果

1. 減圧終了後15分までの外部所見と死亡例の剖検所見

麻酔剤投与前に死亡したものは、高圧チャンバーから取り出した時点ですでに死亡しているか、もしくは呼吸困難を起こして短時間のうちに死亡した。各条件における死亡例数をTable 1に示した。外部所見の観察対象である、減圧15分後まで生存したラットは、空気暴露群では各8例中30分暴露8例、45分暴露6例、60分暴露7例、90分暴露3例、合計24例、He-O₂暴露群では各8例中30分暴露5例、45分暴露6例、60分暴露7例、90分暴露4例、合計22例であった。

減圧終了後15分まで生存していた例は、空気暴露群では外見上とくに異常な動作は認められなかったが、He-O₂暴露群では14例(14/22)に片側もしくは両側の後肢麻痺等の症状が認められた(Table 2)。動作に異常が認められた14例のうち

Table 1 Mortality of rats within 15 min after surfacing following high pressure exposures

Group	Exposure time(min)	Number of experimental rats	Number of fatal rats (%)
Air	30	8	0 (0)
	45	8	2 (25)
	60	8	1 (12.5)
	90	8	5 (62.5)
	Total	32	8 (25)
He-O ₂	30	8	3 (37.5)
	45	8	2 (25)
	60	8	1 (12.5)
	90	8	4 (50)
	Total	32	10 (31.3)

前肢、後肢ともに動かず起立及び歩行が不能となった例が3例、観察開始時から両後肢麻痺が見られた例が9例、後肢片側のみの麻痺が見られた例が2例あった。後肢麻痺の例は腹部及び後肢を引きずり、前肢のみで歩行した (Fig. 1)。動作に異常が認められた He-O₂ 暴露群14例の暴露時間毎の内訳は、30分暴露1例、45分暴露5例、60分暴露5例、90分暴露3例であった。

なお、死亡したラットは空気暴露群、He-O₂ 暴露群いずれも解剖の結果、後大静脈の血管内容を空虚にする大量の気泡が確認された。

2. 減圧終了後15分以降—麻酔処置後の静脈内気泡の観察

減圧終了後15分まで無麻酔下のラットの動作を観察した後、生存例に麻酔剤を投与し、後大静脈に出現した気泡を顕微鏡下で直接的に観察した。

死亡例のなかった空気暴露群30分暴露では、全8例いずれも観察期間を通じて後大静脈内に気泡の出現が認められなかった。一方、He-O₂ 暴露群では、30分暴露で生存した5例中2例(40%)に静脈内気泡の出現が認められた。

さらに、暴露時間が長くなると気泡出現率は Table 3 に示すごとく空気暴露群では45分暴露6例中1例(16.6%)、60分暴露7例中5例(71.4%)、90分暴露3例中2例(66.7%)であった。一方、He-O₂ 暴露群では45分暴露が6例中6例(100%)、60分暴露が5例中4例(80%)、90分暴露が4例中4例(100%)であった。なお、麻痺が見ら

Table 2 Occurrence of DCS symptoms in survived rats

Group	Exposure time(min)	Paralysis / survived rats
Air	30	0/8
	45	0/6
	60	0/7
	90	0/3
	Total	0/24 (0%)
He-O ₂	30	1/5
	45	5/6
	60	5/7
	90	3/4
	Total	14/22 (63.6%)

れた例にはいずれも気泡の出現が確認された。

ところで、He-O₂ 暴露群60分暴露では気泡観察中に2例が死亡した。この2例のうち1例は両後肢に麻痺が見られた例であり、他の1例は前肢後肢ともに動かず歩行不能であった。また、この2例には観察開始時から大きいものでは直径200 μm を超える気泡が単一もしくは泡末状を呈して連続的に通過するのが観察され、後大静脈よりも内径が小さい腸腰静脈や股静脈の血行を阻害することもあった。しかしながら、観察終了まで生存した例ではいずれも直径100 μm 以下のものが、単一もしくは多くても10個程度集合した状態で観察

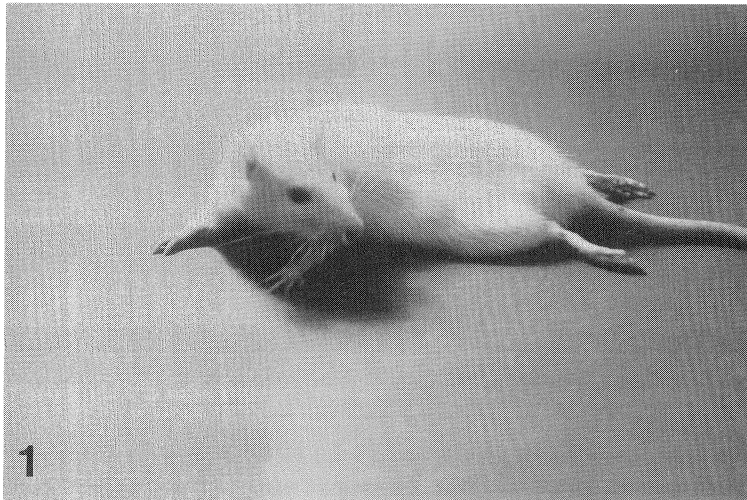


Figure 1 Spinal DCS rat caused by helium mixed gas hyperbaric exposure. (Survived case.)

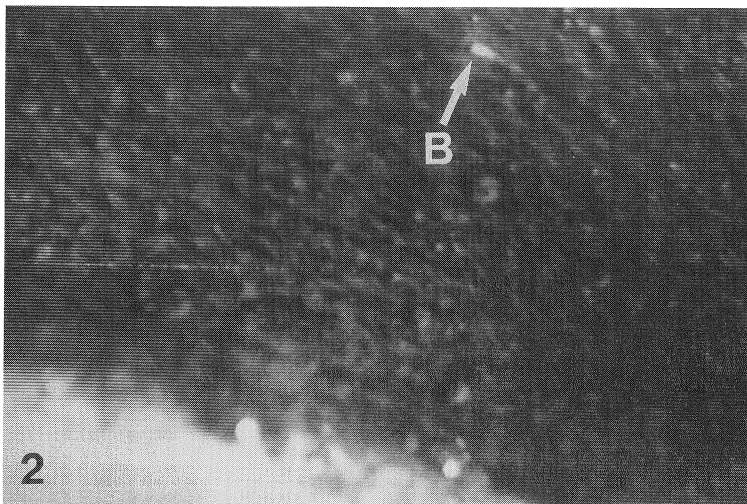


Figure 2 Flowing bubble in posterior vena cava (He-O₂) B: Bubble.

されることが多く、継続的に観察部位を通過した (Fig. 2, Fig. 3a)。

なお、後大静脈を通過する気泡は空気暴露群の1例を除き、He-O₂暴露群のいずれの例でも観察を開始した減圧終了後約20分から見られた。空気暴露群では生存した24例中8例に気泡が観察された。このうち1例は観察開始から間もなく(減圧終了後約30分経過時)に気泡が一度に3個通過したのみで、その後は全く気泡が見られなかった例

である。それ以外の7例は観察中に気泡数が著しく減少することはなく、観察を終える減圧60分後まで断続的に気泡が通過するのが確認された。これに対してHe-O₂暴露群では生存した22例中18例に気泡が見られたが、観察中に死亡した2例を除いた16例中7例(43.8%)が観察中に気泡は出現しなくなった (Fig 3b)。また、消失に至らなかった残りの9例においても、観察開始から早い時点では常時見られていた気泡は、観察終了に近く

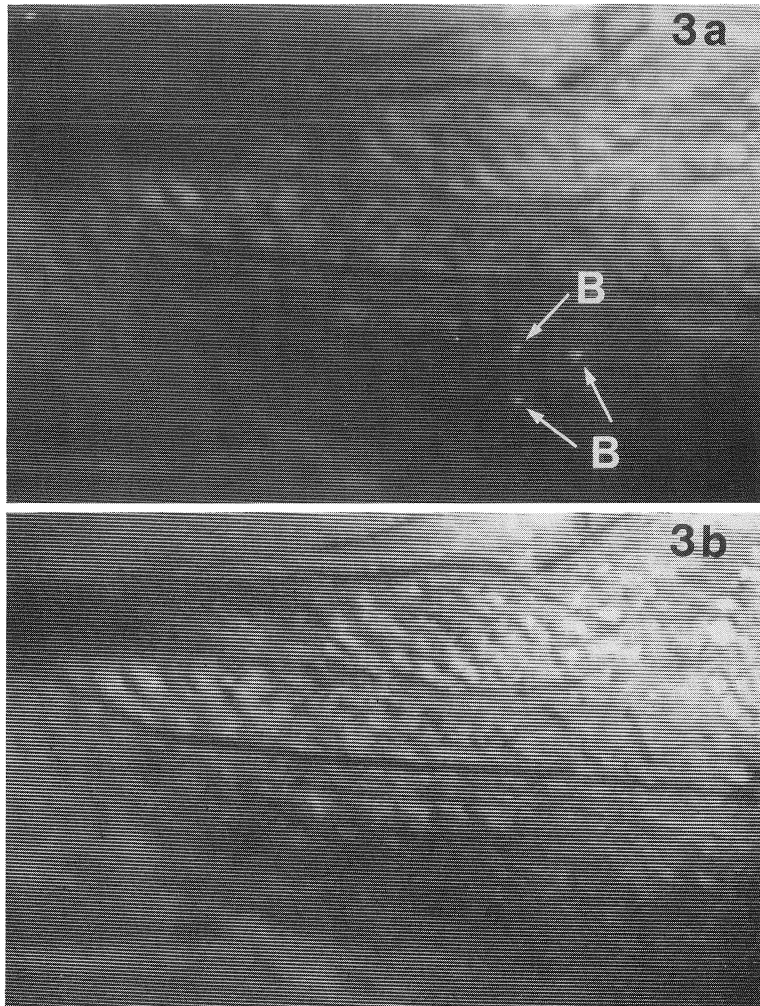


Figure 3 Flowing bubbles in posterior vena cava (He-O₂)
 Bubbles disappeared within 60 min after surfacing.
3a : 30 min after surfacing. **3b** : 60 min after surfacing.
 B : Bubble.

なると稀にしか見られなくなった。

考 察

ヘリウムは窒素よりも脂肪組織への溶解度が低いために生体に溶け込む不活性ガス量が少なく、しかも拡散速度が高いために減圧の際に体外に排泄され易い⁵⁾⁸⁾⁻¹⁰⁾。したがって、長時間にわたる潜水では空気 (N₂-O₂) よりも He-O₂ を用いた方が減圧が有利になると考えられる。

本実験では Table 1 と Table 3 に示したごと

く、30分暴露では、He-O₂暴露群のみに死亡例や生存例中の気泡出現例が認められたことから、暴露時間が短い場合には、He-O₂暴露の方が空気よりも気泡が形成しやすいことが伺われた。窒素が主成分の空気圧暴露とヘリウムが主成分の He-O₂ 圧暴露におけるこの結果の相違は、窒素とヘリウムがいずれも生体にとって不活性なガスであることから、その原因が両者の物理的性質の違いに起因すると考えるのが妥当と思われる。すなわち、ヘリウムは窒素と比較して脂肪に対する溶解度は

Table 3 Appearance of bubbles in posterior vena cava in survived rats

Group	Exposure time(min)	Number of survived rats	Appearance of bubbles	
			After 20 min from surfacing	After 60 min from surfacing
Air	30	8	0	0
	45	6	1	1
	60	7	5	4
	90	3	2	2
	Total	24	8	7
He-O ₂	30	5	2	1
	45	6	6	3
	60	5	4	3
	90	4	4	2
	Total	20	16	9

低い、拡散速度が大きい。したがって、短時間の内に飽和状態に達するいわゆる吸収の早い組織においては、暴露時間が短い場合にはむしろ He-O₂の方が減圧に際して過飽和の程度が大きくなるためと考えられる。

また、空気暴露群の生存例中大静脈に気泡が確認された8例のうち、観察期間中に消失したのは1例(12.5%)のみであり、他の7例は観察終了まで次々と気泡が観察部位を通過するのが認められた。気泡が消失した1例は、観察開始から間もなく、気泡が3個まとまって観察部位を通過したのみで、その後はまったく気泡の通過が確認されなかったため、それ以前から継続的に出現していたとは断定出来ない。これに対して、He-O₂暴露群では観察終了まで生存した16例中7例(43.8%)では、継続的に観察部位を通過していた気泡が消失した。また、本実験では後大静脈を通過する気泡数もしくは気泡量を定量的に計測は出来なかったが、それ以外の例でも通過する気泡数の減少を示唆する現象が認められた。これは、ヘリウムが組織への高い拡散性の反面、減圧後体内から排泄され脱飽和する速度も大きいことに由来するものと考えられる。

ところで、小動物が減圧症に罹患するとおもに肺血管内の気泡が原因で生じる呼吸困難(チョークス)³⁾が原因となって死亡すると考えられている。これは静脈内の気泡が肺毛細血管に trap された結果、呼吸障害を起こしたり、Butler らが指摘

するごとく、さらに肺の血管系における負荷が増大する結果、動脈側へ気泡が移行することがその原因と考えられている¹¹⁾¹²⁾。従って、ハムスターやラット等の小動物を用いた減圧実験においては、気泡が形成して減圧症に罹患する場合には短時間のうちに死亡し、死亡しない場合では外見は異常がなく、大血管系や微小循環系にも大量の気泡が観察されることはほとんどない¹³⁾。

本実験においても減圧後短時間の内に死亡したものは、高圧チャンバーから出した時点ですでに死亡していたものを除き、死亡する前にひどい喘ぎが見られたが、減圧後生存するものについては、空気暴露群ではとくに異常と思われる動作が観察されることはなかった。ところが、He-O₂暴露群では生存した63.6%(観察終了まで生存したうちの60%)に、しかも30から90分的全暴露時間で動作の異常が見られた。このうち前肢、後肢ともに動かず起立及び歩行がまったく不能であった3例は麻痺と判断するには問題があるが、それ以外はすべて片側もしくは両側後肢麻痺であった。これらの例では外見上の異常は後肢が動かないだけで、空気暴露の死亡前にみられるような激しい呼吸困難や痙攣は見られず、前肢によって這回ることが可能であった。こうした症状から、本実験の例はマウス、ハムスターまたはラット等の小動物を用いて行われた従来の減圧実験では、その病態等に関して詳細がほとんど報告されていない脊髄型減圧症である可能性が大きい。

この結果は、ただちに He-O₂ 圧暴露と空気圧暴露の際の気泡形成部位の違いや、脊髓型減圧症の発症機序を明らかにするものではない。しかしながら、少なくとも He-O₂ の使用が、圧暴露条件によっては減圧性気泡を形成しやすいばかりでなく、脊髓型減圧症をも容易に起こしうることを示している。

ま と め

実験動物にラットを用い、空気と He-O₂ (79.5%/20.5%) で比較的短時間の圧暴露をした際の減圧症の罹患状況及び大静脈内の気泡の出現状況を観察し、両者の比較を行った結果、以下のことが知られた。

1) 比較的短時間の圧暴露では空気よりも He-O₂ の方が血管内気泡を形成し易く、消失し易いことが知られた。このことはヘリウムが窒素よりも飽和、脱飽和速度の大なることに由来するものと思われる。2) 空気圧暴露の生存例では異常動作が見られなかったが、He-O₂ 圧暴露では、後肢の麻痺が生存ラットの半数以上に認められ、He-O₂ 圧暴露は脊髓型減圧症リスクも高いことが示唆された。

本論文の要旨は1部 11th Joint Meeting of the United States-Japan Cooperative Program in Natural Resources (UJNR) にて発表した。

〔参 考 文 献〕

- 1) Hills, B.A.: Decompression Sickness, p.29-34, A Willy-Interscience Publication, New York, Brisbane and Tronto, 1977
- 2) Kindwall, E.P.: Decompression sickness, In "Hyperbaric oxygen therapy" (Editors: Davis, J.C. and Hunt, T.K.), 125-128, Undersea medical society, Inc., Bethesda, 1977
- 3) Elliott, D.H., Phil, D.: Clinical manifestations of decompression sickness, In: "Hyperbaric & Undersea Medicine" (Editor: Davis, J.C.), Chap. 11, 2-5, Medical Seminars, Inc., Texas, 1981
- 4) Bert, P.: Barometric Pressure, Undersea Medical Society, Inc., Bethesda, 1978
- 5) 三浦豊彦, 狩野弘之, 藤元武, 多田治: 労働衛生ハンドブック, 715-723, 労働科学研究所, 東京, 1974
- 6) Hallenbeck, J.M.: Some aspects of the basic pathophysiology of decompression sickness, In: "Hyperbaric & Undersea Medicine" (Editor: Davis, J.C.), Chap. 10, 2-7, Medical Seminars, Inc., Texas, 1981
- 7) Edmonds, C., Lowry, C. and Pennefather, J.: Diving and subaquatic medicine (2nd edition), 25-26, A diving medical centre publication, Australia, 1981
- 8) Shilling, C.W., Werts, M.F. and Schandemeier, N.R.: The Underwater Handbook, 470-471, Plenum press, New York, 1976
- 9) 梨本一郎, 後藤興四之: ヘリウム酸素潜水作業の安全性に関する研究, 昭55年度災害研究報告書, 1989
- 10) Wienke, B.R.: Basic decompression theory and application, 71-72, Best publishing co., Arizona, 1991
- 11) Butler, B.D. and Hills, B.A.: The lung as a filter for microbubbles, J. Appl. Physiol., 47, 537-543, 1979
- 12) Lynch, P.R., Brigham, M., Tuma, R., Wiedeman, M.P.: Origin and time course of gas bubbles following rapid decompression in the hamster, Undersea Biomed. Res., 12, 105-114, 1985
- 13) 野寺誠, 後藤興四之: 減圧ストレスによるハムスター類袋の微小循環変化, 日本高気圧環境医学会雑誌, 20, 156-160, 1985