

輸送装置付き小型チェンバーにおける高圧環境下での ネコによる採血と送液手技の検討

水嶋康男^{*1} 関 邦博^{*1} 設楽文朗^{*1}
他谷 康^{*1} 岩崎麻理子^{*2} 桑原信之^{*3}
中山英明^{*4}

従来の動物用高圧実験装置では、高圧環境下の動物からの採血および薬液の投与は困難であった。従来から使用していた小型の高圧チェンバーに、新たに輸液容器を開発し設置して、送液および採血について実験を行った。高圧チェンバーの内容積は約30ℓの透明アクリル製で脳内温度、脳波、心拍等の生体情報を導出できるコネクターを設置している。実験は、1～11ATA、そして呼吸用混合ガスとして空気およびHe-O₂を用いて加圧を行い、保圧後チェンバー内のネコに採血および薬液投与試験を実施した。その結果、高圧環境下のネコからの採血は、徐々にしか採取できなかった。送液については、格別の障害もなく順調に行えた。また、薬液投与後の脳波も併せて記録する事ができた。ネコの採血は、体内に挿入したポリエチレン製のチューブの径が細過ぎたこと、挿入部位が適当でない等の技術的な問題が提起された。また、本輸液容器を用いて送液と採血ができることが判明した。今後さらに改良を加え、より迅速にしかも確実な送液と採血手技の確立をはかりたい。

Study of Blood Sampling and Drug Injection System in Cats under Hyperbaric Environment

Yasuo Mizushima^{*5} Kunihiro Seki^{*5} Fumiro Shidara^{*5}
Yasushi Taya^{*5} Mariko Iwasaki^{*6} Nobuyuki Kuwabara^{*7}
Hideaki Nakayama^{*8}

In animal experiments in vivo at high ambient pressure, practical problems are blood sampling and drug injection between two different ambient pressures. The suction and injection system described in this report is simple and reliable, and it permits the accurate repeated injection of several drugs.

*1 潜水技術部

*2 岐阜大学医学部

*3 上智大学生命科学研究所

*4 産業医科大学

*5 Manned Undersea Science and Technology Department

*6 Gifu University, School of Medicine

*7 Sophia University

*8 University of Occupational and Environmental Health

Three experiments were conducted on cats inside a small hyperbaric chamber (30 liters) with this suction and injection system. The cats, implanted the electrodes for EEG and ECG, were operated on to insert a polyethylene tube into external the jugular vein for blood sampling and drug injection in different environments (1 ATA air, 6 ATA air and 11 ATA He-O₂). We succeeded in blood sampling and drug injection in cats under hyperbaric environment using EEG and ECG recording.

1. ま え が き

実験動物を用いた高圧生理学等に係る研究分野として電気生理学、神経生理学、呼吸生理学が現在最も広範囲に行われており、またその報告も数多い。しかしながら、有人シミュレーション実験では採血を行うことによって生化学的分野の研究が可能となり、特に尿分析とともに血液分析が重要な研究対象となっている。また今日ヒトにおいて最も重要な研究課題として高圧環境への曝露時に見られる高圧神経症候群 (HPNS) の発現を抑制する手法の確立があげられており、その一手段として N₂ ガスの持つ麻酔作用の導入も試みられ、今後は麻酔作用を有する薬物等の利用についても検討されている。この様な背景にあって、実験動物を用いた高圧生理学の研究分野においては、高圧環境下に曝露されている生体からの採血およびチェンバー外からの薬物投与に関する報告は数少なく、僅かに Aanderud (1981)¹⁾ のラットでの報告だけである。この原因としては、現在使用されている多くの動物用高圧チェンバーは、(1)操作に多くの人員と経費を要すること、(2)採血および輸液手技がいまだに確立されていないこと、などが挙げられる。

以上のことから本実験では、小型高圧チェンバーに採血および輸液を行うための特殊輸液装置を設置し、ネコを用いて、本装置の採血および輸液法の確立を図るとともに、その手技手法について検討したので報告する。

2. 方 法

2.1 高圧小型チェンバーのシステムと付属装置 (写真1)

本実験に用いた高圧小型チェンバーは、本体が

透明アクリル樹脂でできた外径 730 mm、内径 500 mm、長さ 480 mm、内容積 30 ℓ の円筒型で、内部の観察も容易な高圧容器である。このチェンバーの最大使用圧力は 11 ATA (10 kg/cm²) である。扉部はステンレス製のスライド方式で 6 個のナットによる締め付け方式をとっている。この扉には 27 ピンのキャノンコネクターが埋め込まれており、脳波、体温、心拍数等の生体情報やチェンバー内の環境温湿度をモニターすることができる。

採血および送液を行うための特殊輸液装置は、写真 2 から分るとおり、ステンレス製で円筒縦型の圧力容器である。また円筒中央部にはアクリル製の覗き窓が付いており、この容器に内蔵された注射筒の目盛りを見ながら採血することができる。また送液に関しては、写真 2 の上部に見られるスクリュース式のハンドルを使用して行うことができる。

実験時における環境ガスのモニターは、図 1 に示した実験方法の概略図からも分るとおり、チェンバー内のガス排気弁を通して CO₂ 分析計 (赤外線方式の CO₂ 分析計: 島津製作所 WR-106) および O₂ 分析計 (: Applied Electro-Chemistry Inc. Oxygen Analyzer S-3A) に送気し、連続的に分析を保ち、炭酸ガスの除去は 1 ℓ/min の換気量にて換気することにより行った。

2.2 実験動物の前処置

実験に使用した動物は、推定年齢 1~3 才、体重 3.3~4.9 kg の健康な成猫 9 匹であり、実験実施の少なくとも 3 日前にケタールの麻酔下において送液および採血のためのカニューレーション手術を行った。使用したカニューレは外径 0.8~1.0 mm、内径 0.5~0.8 mm のポリエチレンチューブであり、外頸静脈に留置した。また、このチューブ

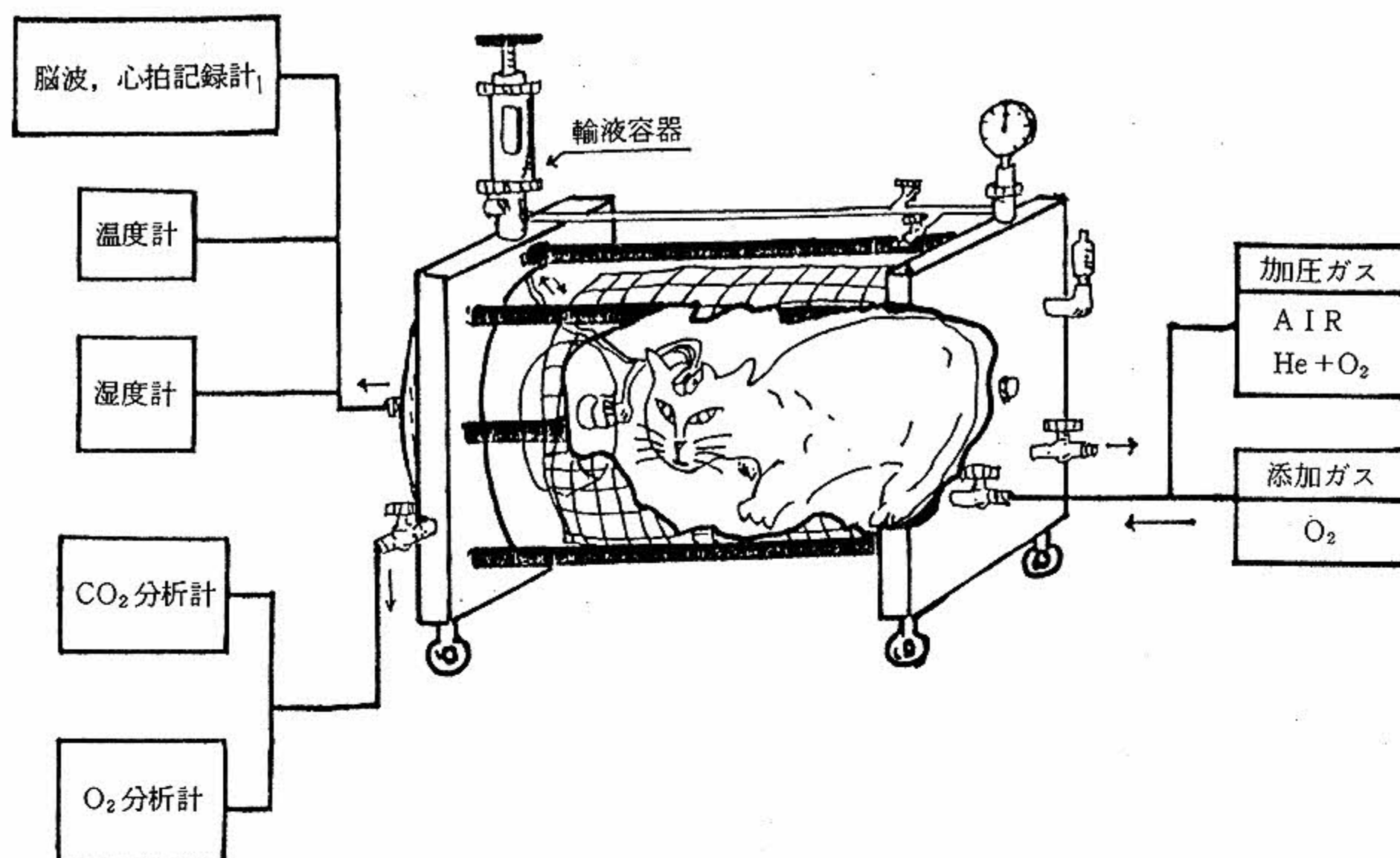


図1 実験方法概略図

Diagram of experimental outline

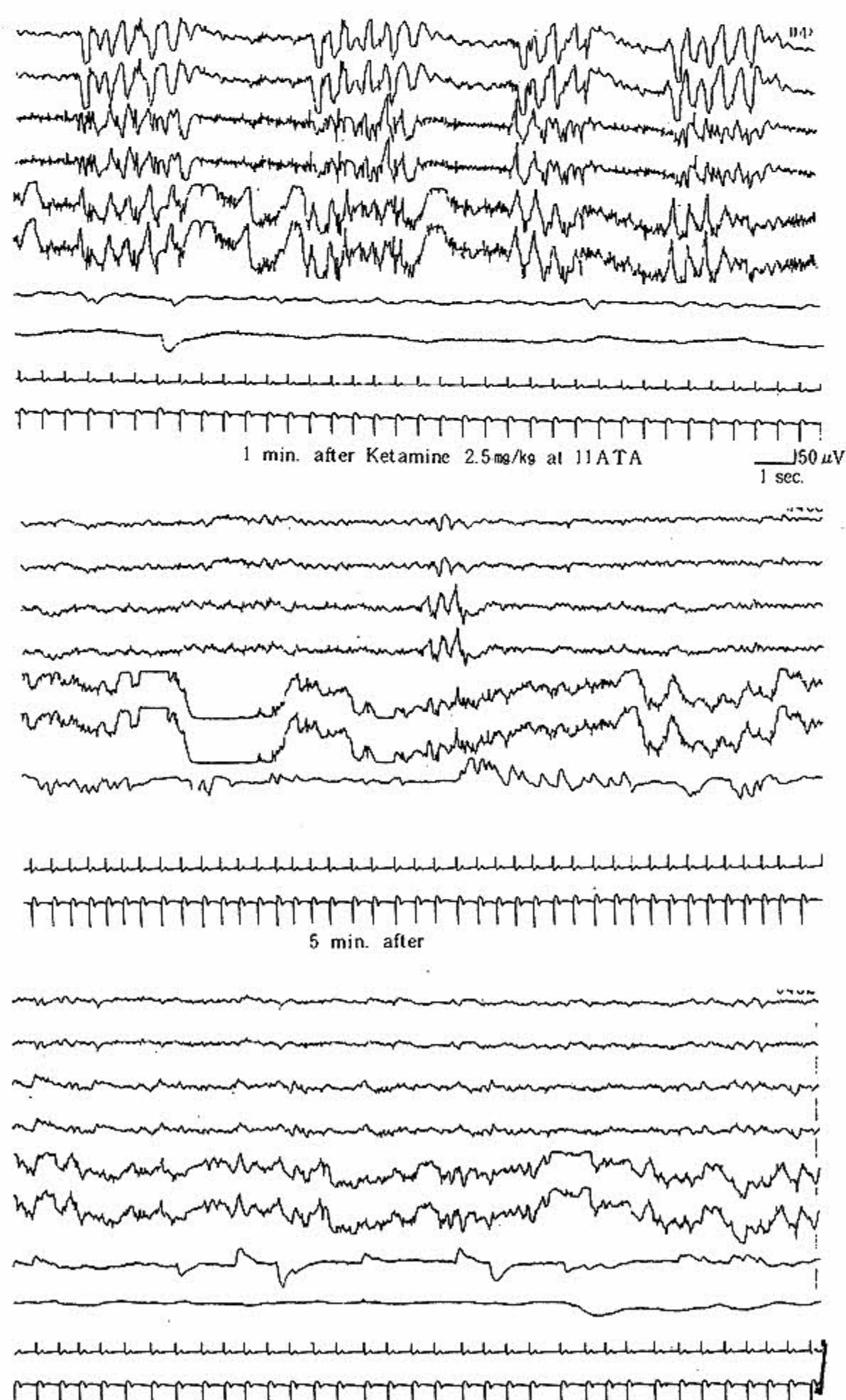


図2 1 ATA における薬物脳波

Alterations of EEG recording at 1 ATA

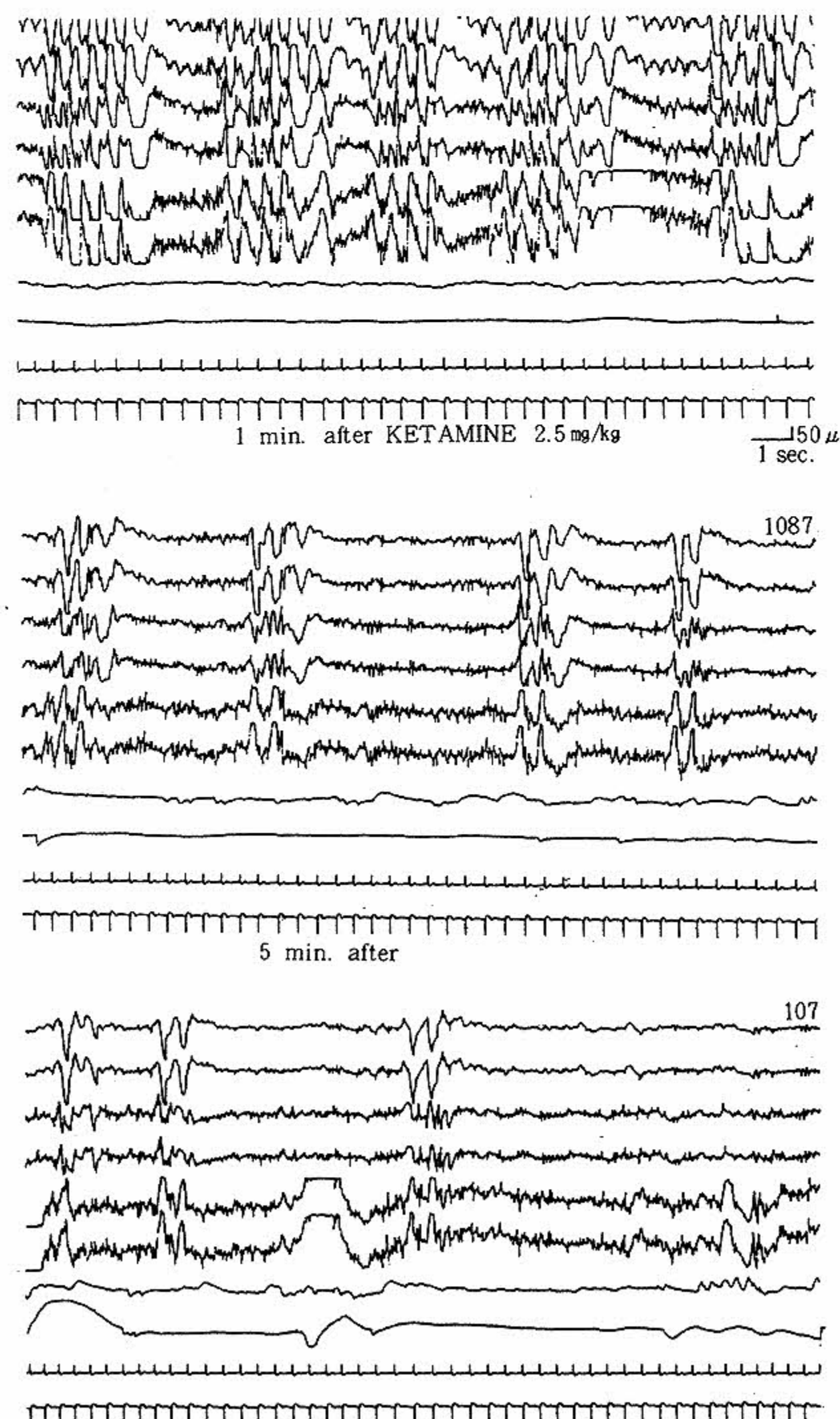


図3 11ATA における薬物脳波

Alterations of EEG recording at 11ATA

は皮下を経由して頭部に引き出し、200 V/mlのノボヘパリンNaを常時チューブ内に満たして、チューブ内の血液凝固を防いだ。このチューブの全長は110 cmであり、死腔量は0.51 mlであった。

2.3 実験条件

実験は、大気圧空気環境、6 ATA, Air および11 ATA, He-O₂ (83%, 17%) の3条件にて行った。また、本実験は送液および採血手技の検討が目的であるため、保圧は1~2時間とし、深度到達後5~10分経過後、採血および送液を行った。なお、減圧については6 ATA, Air の環境において、12, 9, 6, 3 mごとにおのおの、2, 16, 33, 55分の減圧停留時間を取り、また11 ATA, He-O₂ では深度40, 18, 9, 6, 3 mにおいておのおの15分間の減圧停留時間とし、減圧を行った。

2.4 輸液および採血方法

輸液は本体付属の輸液容器にて行う(図1参照)。先ず輸液容器本体の上部ハンドル部を取り外し、常圧とする。その後内部に設置してあるディスプレイ注射シリンジ(1 ml, 20 ml)にて、できるだけゆっくりと血液を吸引採取する(写真4)。

送液は、薬液を満たした注射シリンジを輸液容器に入れ、注射器の先端は採血と同様に前もってネコの体内に挿入しておいたカテーテルの一端に結合する。このカテーテルが短い場合は、2本の注射針を、接着させたコネクターで延長させる。輸液容器上部のハンドル部分を回転させて注射シリンジの内筒を押し下げる。こうしてチェンバー内のネコに、薬液の静脈投与をすることができる。この方法を使用することによって、外部より数回にわたって採血、送液操作を行える。

3. 結 果

採血は1 ml注射シリンジを用い、シリンジ内を陰圧にして行った。そして、吸引には人為的な力を要することが分った。これは1 ATA においても同様であった。1 ml注射シリンジを固定して、約30分間の時間をかけて血液を吸引を試み、シリンジ内のノボヘパリンNa 液中に血液を約0.5~2.0 ml採取した。しかし、ネコからシリンジに至るチューブには2カ所の接続部がある。この部分には、注射針を改良して作ったコネクターがある。シリンジ内筒を引くと同時にこの接続

部から環境ガスの流入があった。

送液については、送液速度を手動時と同等に、できるだけゆっくりと(0.7 ml/min)抑えることによって可能となった。しかし直接シリンジを押し下げるハンドル部は目盛りがなく、ストップウォッチで送液速度を調整しながら回転投与を行った結果、実際の送液速度にかなりのばらつきが出た。そのため、あらかじめハンドルの回転数と送液量の関係を計算しておき、一定の送液速度によって操作した。全送液量が1~2 mlであることから1 mlおよび2.5 mlシリンジを用いたが、シリンジの長さが短か過ぎて、輸液容器本体の覗き窓から見えないという問題を生じた。そこでツベルクリン用の長軸の1 mlシリンジを用いたところ、全投与量2 mlの場合、投与を2回に分けて行ったため正確な作用発現時間に差を生じた。また20 mlシリンジでは目盛りが大き過ぎ、正確な投与量を知ることができなかった。

高圧環境下のネコに投与された2.5~3.7 mg/kgのケタラールより見出される所見は、1 ATA 下で投与後、心拍数が87から206 b. p. m. と頻脈傾向を示し、60 sec 後に脳波上に大徐波が発現した。11 ATA 下では、投与後の心拍数は変化は見られなかったが、30 sec 経過後に脳波の変化が見られた(表-1)。

6 および11 ATA の保圧後指示どおりの減圧速度で実行しおのおの猫は生還した。

表1 ケタラール10投与(2.5 mg/kg. min)後の脳波波形変化の出現時間(ネコ)
Reaction time after injection of Ketar 10

圧 力 (ATA)	呼吸ガス	酸素分圧 (ATA)	脳波上の大徐波 出現時間(Sec)
1	AIR	0.21	60
6	AIR	1.26	30
11	He-O ₂	1.87	30

4. 考 察

高圧チェンバー内に曝露されたネコからの採血手技においては、チェンバー内圧力とカニューレ

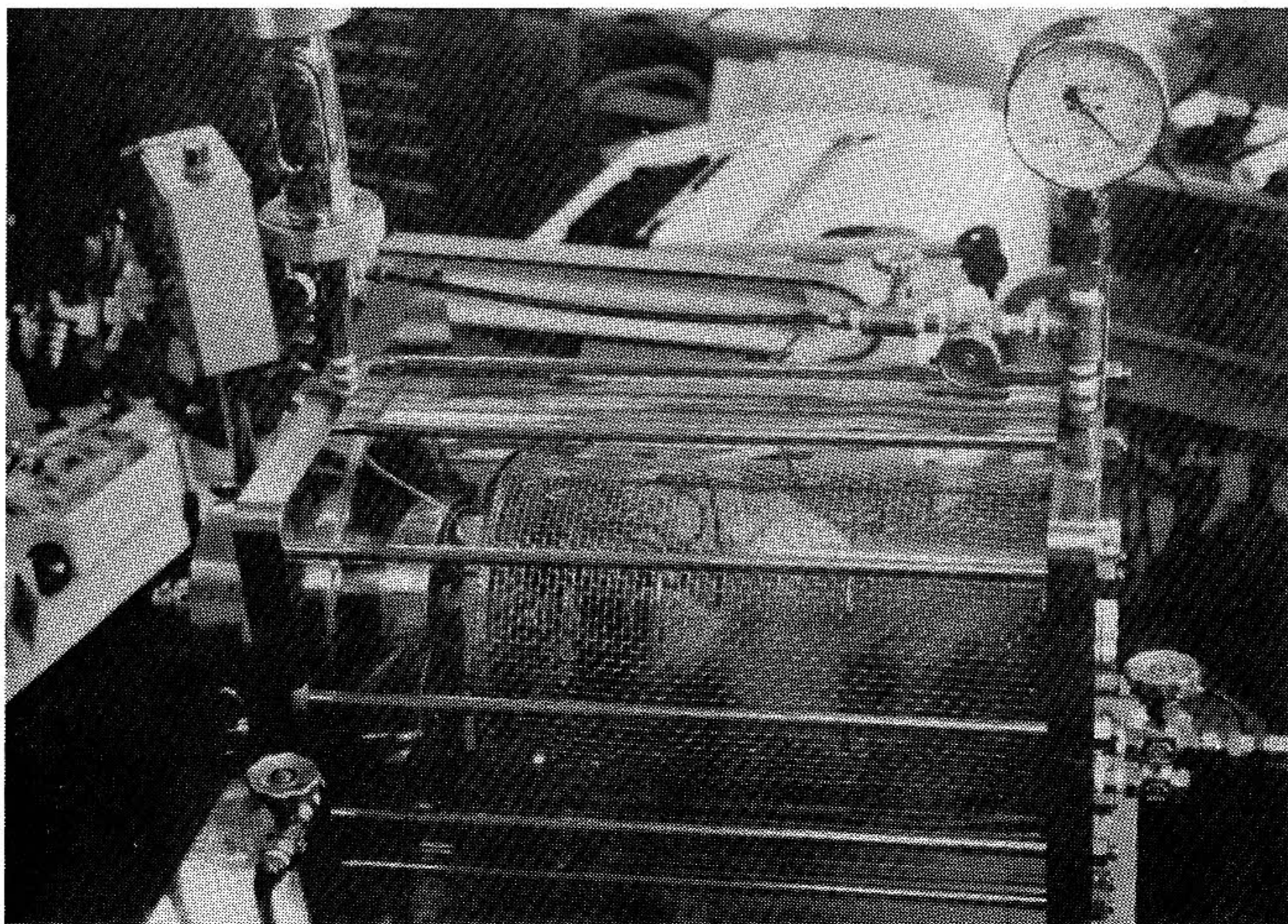


写真1 輸液容器付小型チェンバー
Small chamber with transfusion syringe

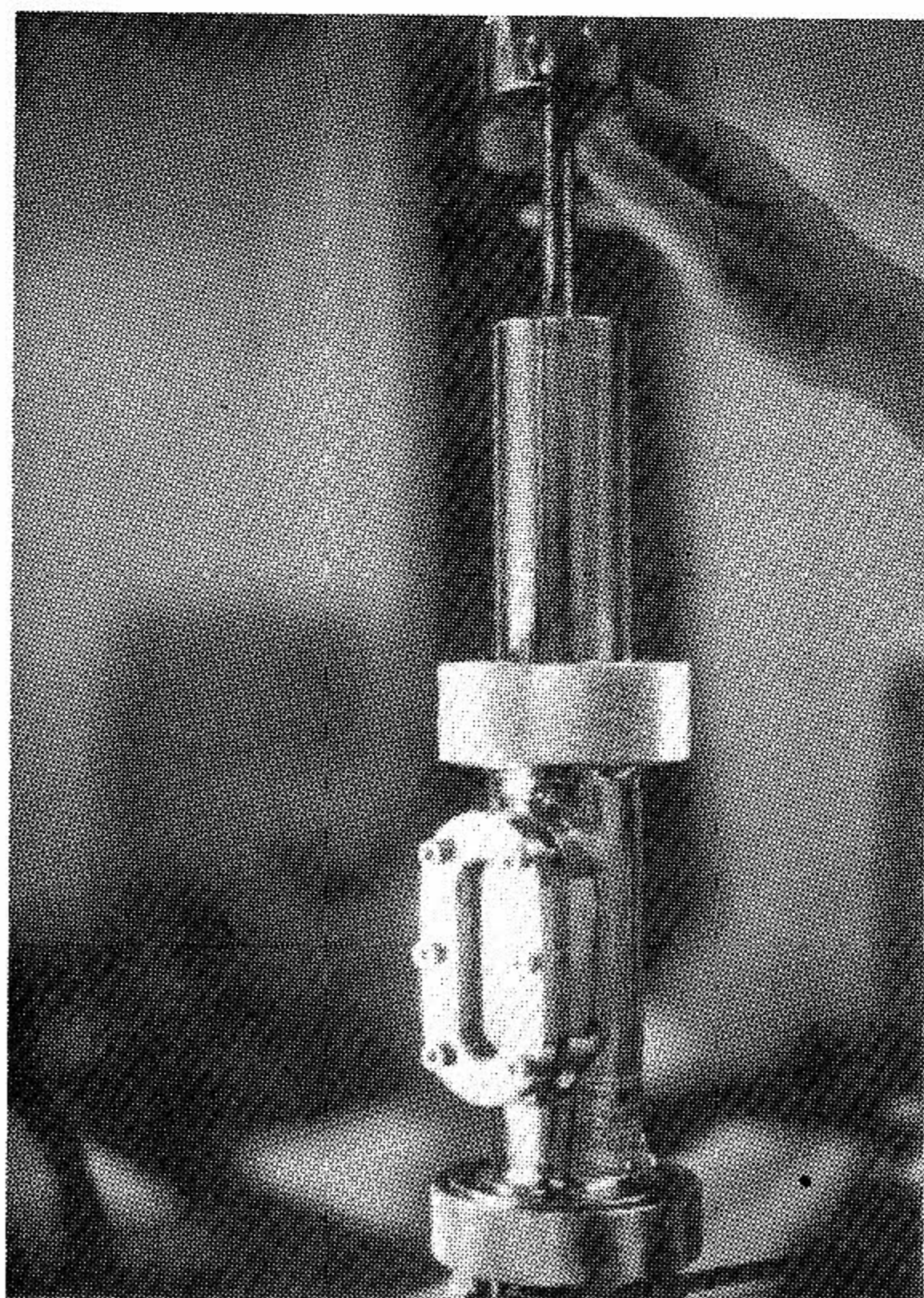


写真2 輸液容器部
Transfusion syringe

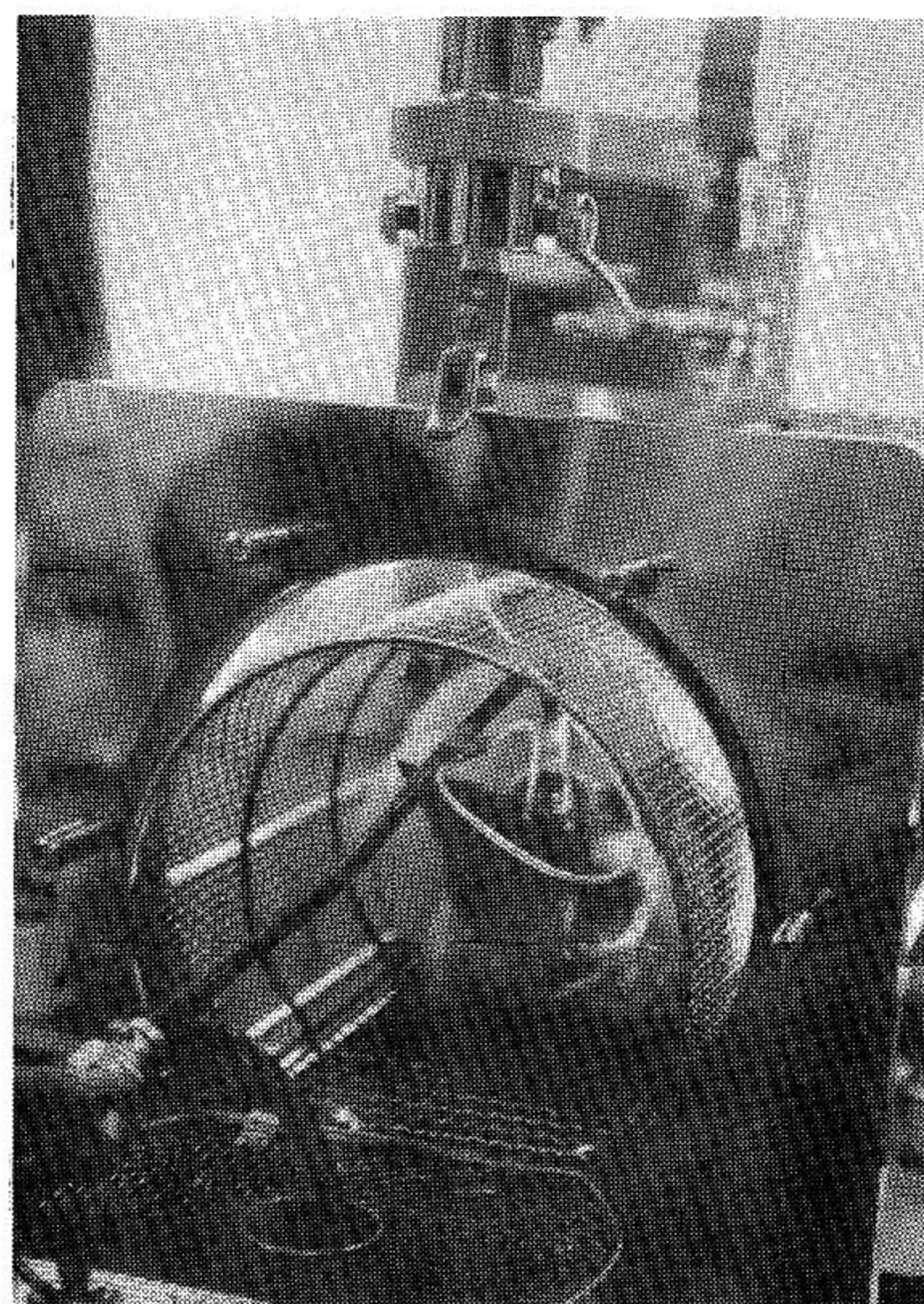


写真3 チェンバー内の様子
Inside of small chamber

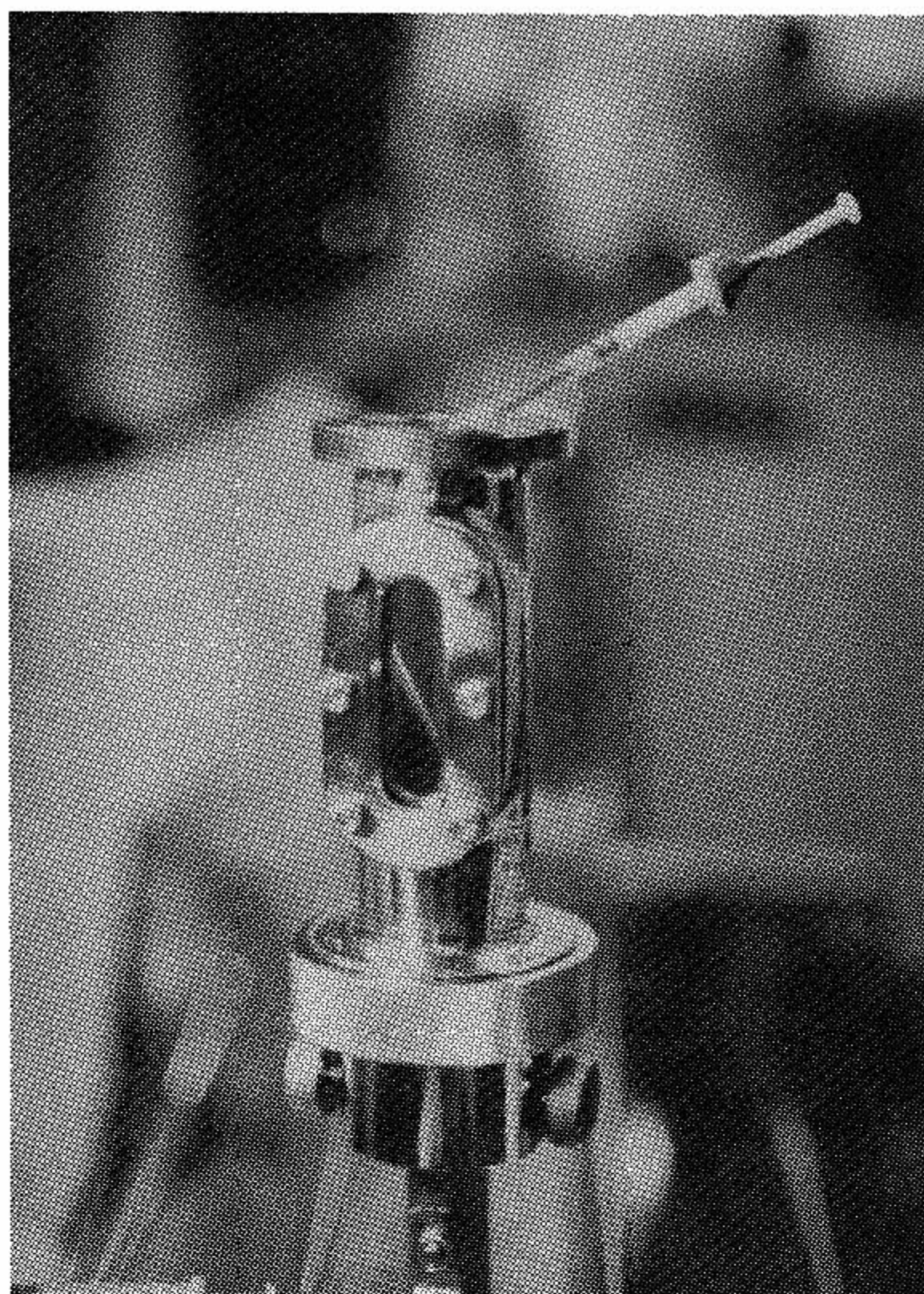


写真4 採血の様子
Sampling

を介して大気圧におかれたシリンジ内との圧力差が有るため、また外部から吸引による圧力低下のため静脈血管がつぶされ、微量の血流しか、採血することはできなかった。またカニューレを延長するために用いた注射針の接続部からの環境（チェンバー内）ガス流入により、血液がたまるはずのシリンジにガスのみ逆流して採血できない事例も生じた。このことについては、本実験ではネコの頸静脈の血流方向と同方向にチューブを挿入したことに起因したと考えられた。しかし、採血時における急激な差圧が血管壁を閉塞させたことが最も大きな原因と考えられ、今後はどこに差圧を利用して採血するかについて検討する必要がある。Aanderrudの方法では、ラットの血管に挿入したチューブ端は、チェンバー外部のステンレススチール管とネジ止め接続することによって、ガスもれのトラブルは見られないという。この方法ではラットを用いているが、死腔量は計0.15mlと比較的多いことを問題にしている。本実験では死腔量は0.5 mlであったが、今後はチューブをより短縮させることを考えている。送液については、正確

な送液量と送液速度について、さらに改善しなければならないことが示された。

高圧環境と大気圧下とで薬物作用の発現に違いが出るかどうかは、1979年の海中医学会で高圧環境下の薬物作用が討論されたのを始め、諸説があって一概には結論を下せない。本実験の脳波所見では、1 ATAと11 ATAで発現時間および消失時間に差は見られているが、これが圧力によるものか明らかにすることはできなかった。

また心拍数、体温にも1 ATAと11 ATAで差が見られたが、これも例数が少ないため明確な結論を得ることはできなかった。

Kendig（1979）は、高圧環境下では大気圧環境に比較して麻酔作用が抑制される傾向にあるという。以上を考慮しても、本方法は脳波所見の比較が行え、しかも高圧下の薬理作用の検討が行えるというメリットがある。今後さらに採血手技の改善を行い、気泡検知等の生体情報を同時に取得する手法の開発を行いたい。

5. 結 論

高圧環境下に曝露されているネコからの採血と送液手技の開発について実験を行い下記の知見を得た。

- (1) 9匹の成猫の、外頸静脈にカニュレーションを施し、大気圧での送液および採血を行うことができた。
- (2) 大気圧環境下から6 ATA, Air, 11 ATA, He-O₂ 環境下のネコの採血および送液手技の資料が得られた。
- (3) 高圧環境下のネコよりの迅速な採血を行うためには、カニューレの長さ、材質等についてさらに検討する必要があることが判明した。

文 献

- 1) Aanderrud, L., 1981, "A System for Pharmacological Studies in Small Animals at High Pressure", Undersea Biomed. Res., 8(2), 69-74
- 2) Baily, C. P., 1977, "High Pressure and Intravenous Steroid Anesthesia in Rats" J Appl. Physiol., 43(2), 183-188
- 3) Bennet, P. B., "Anesthesia at High Pres-

- sure", 21th Undersea Med. Soc. Workshop, 1979-9, Bethesda, 55-60
- 4) Mastrangelo, J. J. et al., 1979, "Nerve Membrane Lipid Fluidity; Opposing Effects of High Pressure and Ethanol", Undersea Biomed. Res. 6(1), 47-53
 - 5) Miller, S. L., 1961, "A Theory of Gaseous Anesthetics". Proc. N. A. S, 47
 - 6) Walker, E., 1977, "New Observation on Pressure Induced Motor Disturbances in a Small Mammal", Undersea Biomed. Res., 4(1), 1-8
 - 7) Small, A., 1970, "The Effects of Hyperbaric Helium-Oxygen on the Acute Toxicity of Several Drugs", Toxicol. Appl. Pharmacol., 17, 250-261
 - 8) Walsh, J. M., "Behavioral Effects of Drugs in the Hyperbaric Environment", 21th Undersea Med. Soc. Workshop, 1979-9, Bethesda, 17-21
 - 9) 日本機械学会編, "機械工学便覧 改訂6版", 日本機械学会 (1977)