

シシャパンマ峰登山中における造血動態の経時的検討

足立みなみ

京都大学医学部

瀬戸嗣郎

島根医科大学医学部

1990年、シシャパンマ峰(8027m)登山中の日本人隊員、男性22名、女性2名において、低酸素刺激に対する造血系の賦活の動態を検討した。エリスロポエチン(以下、エポ)は、高所到着後24時間以内に速やかに上昇し、その後より強い低酸素刺激に曝露される度に産生亢進が認められ、全経過において3峰性の変動を示した。C3(6920m)では、平均575mU/mlに達した。また低酸素刺激が続くにもかかわらず、2回のエポ・レベルの谷も認められた。エポによる造血系のパルス様刺激に伴い、数日後に末梢血液中に網状赤血球数の増加が確認された。網状赤血球数は登頂前の前進ベースキャンプ(5640m)にてピークを迎え、造血能力の上限が示唆された。最初のエポによる刺激から2週後に、ヘマトクリットが有意に上昇し始めた。C3では平均64%に達し、うち4名では70%と著明な多血症を呈した。こうした造血のこう進に伴い徐々に鉄欠乏に陥った。エポ分泌に関しては、個人差が大きく、低酸素に対する反応性、反応量について厳密に遺伝的に規定されていることが示唆された。しかしながら、21才から60才までの分布において、エポ産生能力、造血能力に関しては年齢による差は認められなかった。女性はいずれも低反応であった。

以上、低酸素刺激に対するエポ産生応答の生理学的知見が多く得られ、高所における造血のtime courseと多血の程度が明かとなった。酸素運搬能力の改善という適応の面からは正の評価が与えられるが、血液粘ちよう度のこう進のデメリットについて、循環器系の適応や個々人の高山病症状との関連から今後検討をすすめる必要があると思われた。

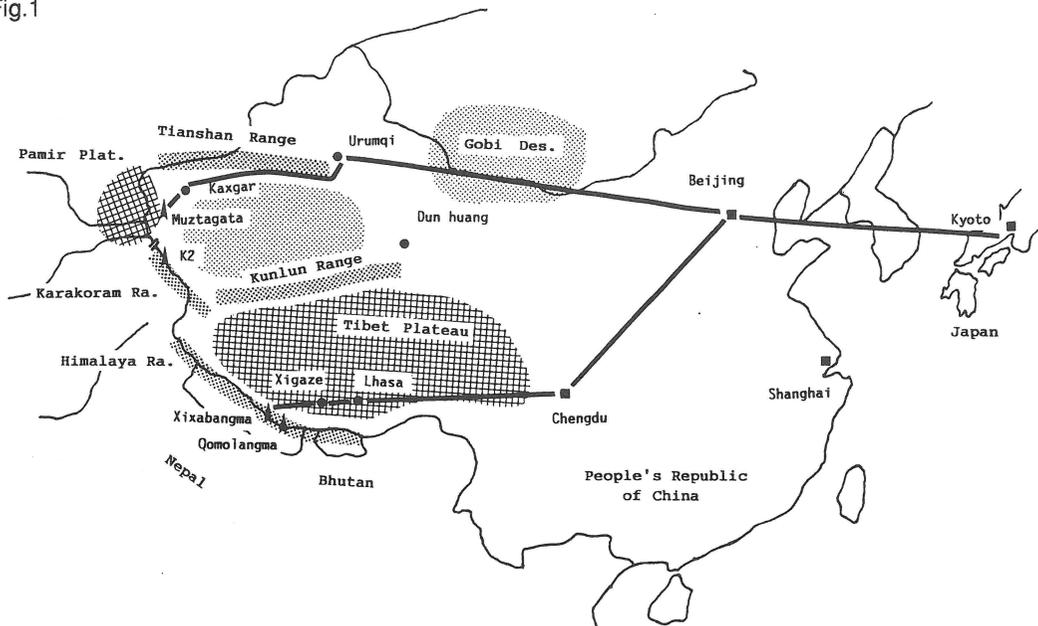
1. はじめに

平地住民が短期間のうちに高所に移動し、その低酸素環境に曝露されるとき、人体生理機構のおそらくすべてを動員して急性的な適応がなされる。一言で表現すれば酸素摂取利用能力の改善である。酸素摂取および利用能力は、1)肺での酸素の取り込み、2)血液を介した酸素運搬、3)組織での酸素の利用、の3つの要因で規定される。すでによく知られた高所での赤血球の増加は主に2)に関係する重要な適応である。

ヒマラヤ登山活動において、赤血球の産生が、いかなる速度で、どのように高度に対応して、どの程度の個人差をもって促進されるのか。

古くは1890年に Viault が、高所の住民が多血症を呈することを示した¹⁾。さらにこの分野での急性適応の最初のくわしい報告は、1969年に発表された Faura によるペルーでの研究である²⁾。以後、高所における低酸素と多血症の関係については多くの発表がなされている³⁾。われわれは、1990年中国チベット高原に位置するシシャパンマ峰登山において、造血系のカイネティクスにつき克明に検討する機会を得た。今回の研究を特徴づけることは、1)被検者数が多く、2)ほとんどの個体を研究全期間にわたって追跡でき、3)エリスロポエチン、網状赤血球数、ヘマトクリット、鉄代謝の各指標を同時点で分析し、4)標高約7000mま

Fig.1



での異なる高度（低酸素環境）での多重研究が遂行されたことなどである。付け加えるならば、シシャパンマ医学学術隊の包括的研究において得られた、造血系以外の多くのデータとの関連も検討できたことは、造血の動態を考察するうえにも有意義であった。

なかでもエリスロポエチンの産生刺激の検討ではいくつかの新しい知見が得られた。それを可能にしたのは一つには測定法の進歩である。Fauraの時代はエリスロポエチンの測定は、マウスを使った *in vivo* の生物学的測定法によった²⁾。1977年三宅がエリスロポエチンの純化精製に成功し⁴⁾、その後1985年、Lin, Jacobs 各々がヒト・エリスロポエチンの遺伝子クローニングに成功し^{5) 6)}、遺伝子組み換えによるエリスロポエチンの生産が可能となり、それに伴いエリスロポエチンの測定にも精密なラジオイムノアッセイが開発された。生理的レベルの低濃度の測定が可能になったわけである。今回の研究は、登山活動に資する高所医学という面のみならず、エリスロポエチンの分泌調節につ

いての健康成人の低酸素刺激に対する反応という面から、多くの生理学的な示唆を与えるものと考えられる。

2. 研究期間と場所

1990年2月12日に京都において、登山前の平地のデータを取り、4月8日ラサにはじまり、5月29日に至る、チベット高原シシャパンマ峰登山活動中に造血指標の測定と検体の採取を行った。一部、1989年パミール高原ムスターグアタ峰遠征時のデータと比較検討した (Fig.1)。

測定地点の日付と高度

1. 2/12	京都	
2. 4/6	成都 (Chengdu, 中国)	438m
3. 4/8	ラサ (Lhasa)	3650m
4. 4/13	シガツェ (Shigatze)	3900m
5. 4/16	ベースキャンプ (BC(1))	5020m
6. 4/22	前進ベースキャンプ (ABC(1))	5640m
7. 5/7	(ABC(2))	

- 8. 5/16 第3キャンプ (C3(1)) 6920m登頂前
 - 9. 5/18 (C3(2)) 登頂後
 - 10. 5/25 前進ベースキャンプ (ABC(3)) 5640m
 - 11. 5/29 ベースキャンプ (BC(2)) 5020m
- 注；3、4、5、6、8.の測定日はいずれもその高度に到着した翌日。

3. 対象

登山活動参加の21才から60才(平均36.1才)までの日本人男性22名、女性2名の計24名。うち19名はほぼ同一のスケジュールで行動したので、Fig.3、4、5、6にはその19名のデータをまとめた。ピーク登頂者は11名であった。

4. 測定項目と方法

1) 動脈血酸素飽和度

動脈血中の赤血球のうち何%が酸素と結合しているかを示す指標。通常平地では95%前後であり、90%を下回ると明かな低酸素状態である。

平地の医療の目安では、80から85%ですすでに酸素吸入が必要。

朝起床時と夜就眠前の安静時に、ミノルタ社製のパルスオキシメータを用いて測定した。

2) エリスロポエチン

主に腎臓で作られる赤血球産生刺激ホルモンで

あり、骨髓赤血球前駆細胞に働いて、赤血球系の分化増殖を促進し、赤血球を増加せしめる。

早朝空腹時採血後に速やかに血清を分離し、液体窒素ボンベに保存し、日本に持ち帰ったのちラジオイムノアッセイにて測定した。平地における正常値の上限は約30mU/ml。

3) 網状赤血球数

成熟赤血球の一段階手前の存在であり、造血が亢進しているときには末梢血中にいち早く増加してくるので、造血速度のいい指標となる。

血液をブリリアント・クレシルブルーを含む毛細管に採り染色後、塗抹乾燥し、標本を日本に持ち帰り鏡検カウントした。

4) ヘマトクリット

末梢血液中の赤血球の容積%。通常成人男性では45%前後、女性では40%前後。

各サンプルを2回測定し、その平均を採用した。

5) 血清鉄、総鉄結合能(TIBC)、フェリチン

鉄はヘモグロビン合成の素材。造血促進状態では活発に消費される。通常状態では、食物摂取によりバランスが保たれている。フェリチンは体内全体の貯蔵鉄の指標となる。

測定のための血清の採取、保存、運搬などエリスロポエチンと同様。

5. 結果

Fig.2 高度と動脈血酸素飽和度

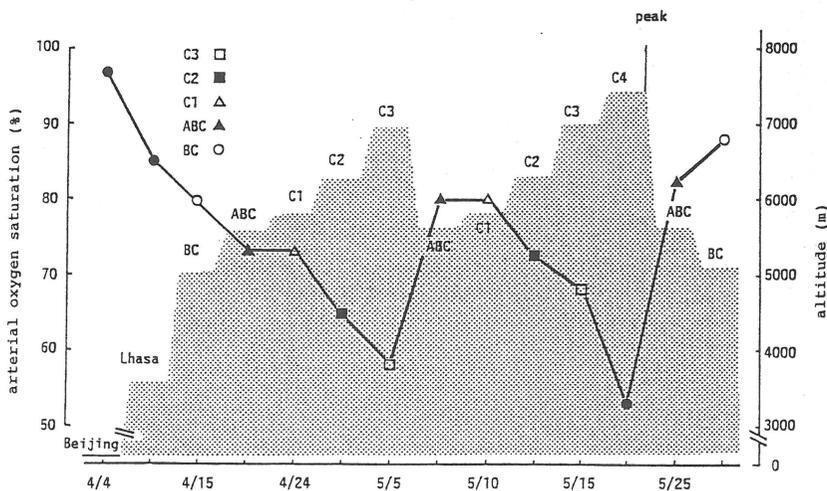
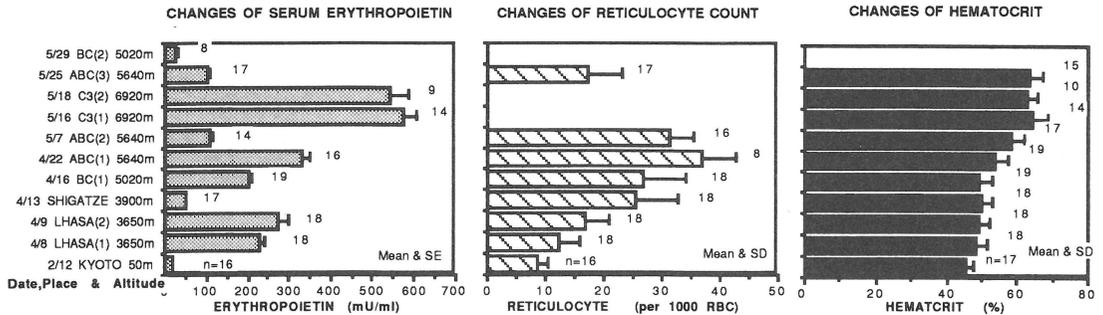


Fig.3,4,5



1) 行動経過、滞在高度と動脈血酸素飽和度 (Fig.2)

高度と動脈血酸素飽和度の関係は図のごとくである。低酸素刺激の程度を具体化するために、各地点にはじめて到着した翌朝の動脈血酸素飽和度を全隊員の平均値で記す。ラサ; 84%、シガツエ; 87% (呼吸器系の適応による改善)、BC; 79%、ABC; 72%、C3; 56%。ちなみに血液ガス分析による動脈血酸素分圧は、BC到着時平均38mmHgであった。同一高度に滞在する時間に応じて、低酸素に対する呼吸循環系の適応により、動脈血酸素飽和度は少しずつ改善された。ABCでのデータを例にとれば、4月22日; 72%、5月7日; 76%、5月25日; 81%というふうに変更された。後述するようにエリスロポエチン産生刺激との関連で看過できない現象である。

2) エリスロポエチン (以下、エポと略) の経時的変化 (Fig.3)

京都での平均は20mU/ml (以下、単位は略)。ラサ到着翌日には230 (66~1210) に急上昇した。その5日後のシガツエでは (動脈血酸素飽和度を参照)、エポのレベルは49まで下降した。BCに移動し、より強い低酸素刺激に曝された時、再び202に上昇し、ABC到着時には328に達した。その後、ABCを基点として、上部への登山ルートの開拓を行う間に、さらに種々の程度の低酸素刺激の加重を経験したが、ABC滞在約2週間のうちに、エポは106まで再度低下した。然るに、この間C3から帰還した直後の3名の隊員の夕方の方のデータも検討できたが、それぞれ494、1680、5420ときわめて高い値を示した。短期間に、エポの産生刺激、

速やかな産生応答と消失が繰り返されていたことがうかがわれた。

C3に達し、575 (51~1540) と3度目のエポのピークを迎えた。登頂前後の比較では、575と541でありほとんど差は認められなかった。これはエポ産生能の限界と考えるよりは、むしろその速い消失速度のためであろう。ABCに下降して100まで低下し、5月29日のBCでは24 (10~88) と平地と変わらないレベルに復した。

3) 網状赤血球 (以下、網赤と略) の経時的変化 (Fig.4)

赤血球1000個当りの数で示した。ラサから少しずつ増加しはじめるが、シガツエに移動して有意に上昇した。エポによる造血系の刺激の5日後であった。4月22日のABCにてピークに達し、その後漸減した。ヘマトクリットから換算した、網赤の絶対数の変化も同様の傾向であった。最高値で平地の約5倍の増加を示した。

4) ヘマトクリット (以下、ヘマトと略) の経時的変化 (Fig.5)

京都からラサにかけて平均3%の増加を示した。これは骨髓中の成熟赤血球プールからのエポによる赤血球の動員のためか、あるいは、水分の血管外への移動による軽度の濃縮に依るものであろう。以後ABCに至るまでほとんど変化は認められなかった。この間はエポによる最初の造血刺激から、実際に末梢血における赤血球の増加に反映されるまでのtime lagであり、約2週間であった。C3ではヘマトは平均64% (56~70) に達した。この時点では浮腫化傾向による血管外への水分の漏失、すなわち血液の濃縮の影響を考慮しなければなら

Fig. 6 ラサ(3650m)到着翌日の動脈血酸素飽和度と血清エリスロポエチンの相関

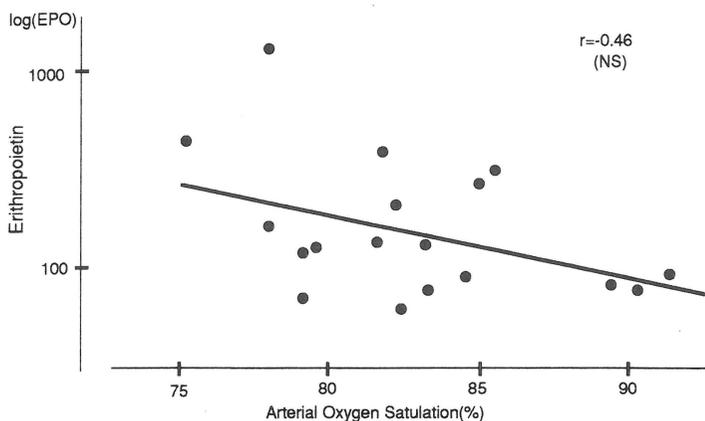


Fig. 7 ヒマラヤ超高所の低酸素環境における造血系の賦活

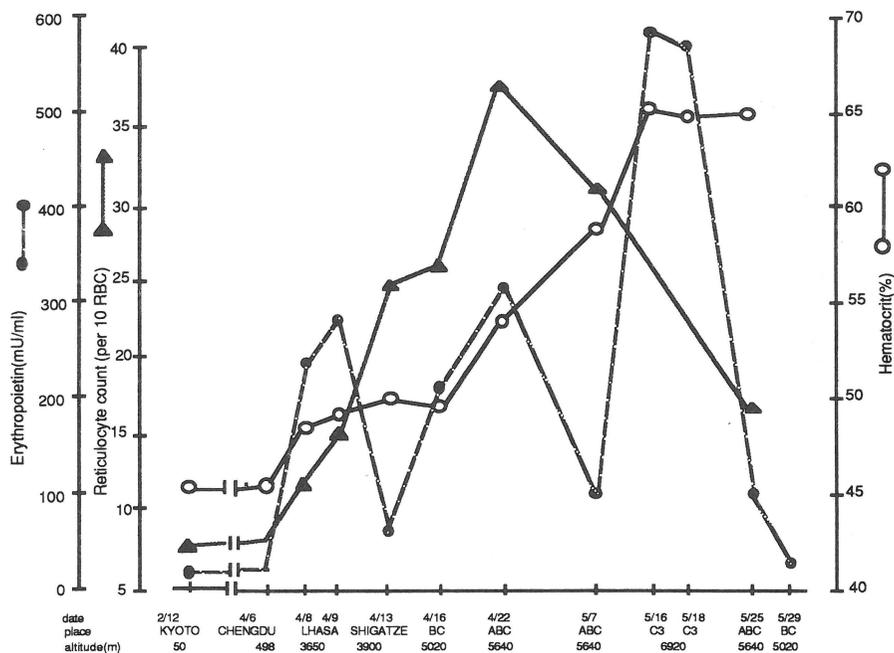


Table1. EPO産生に関する低酸素応答の個体差 (2度の異なる遠征における同一個体の反応性の一致)

	name	K.F.	S.N.	A.D.	S.S.	T.M.
	age	20-21	27-28	37-38	38-39	38-39
EPO at 4350m in 1989 (パミール高原)		*125	160	198	409	1340
EPO at 3650m in 1990 (チベット高原)		86	81	210	410	1210

* EPO; mU/ml #初めて高所に達した翌日のデータ

Table 2. 低酸素造血系賦活の年齢、性別による比較

	年齢	数	エリスロポエチン(mU/ml)			ヘマトクリット (%)		
			京都	ラサ	ABC	京都	ABC	最高値
50才以上男性	56.3 ±4.5	3	23 ±3	117 ±27	147 ±28	42.5 ±1.1	54.3 ±5.9	68.7 ±1.9
35才以上50才未満男性	38.8 ±2.8	10	19 ±3	354 ±325	457 ±457	44.6 ±2.7	53.3 ±2.9	64.7 ±2.2
35才未満男性	28.1 ±3.1	9	20 ±6	104 ±27	148 ±68	47.2 ±1.7	54.1 ±2.7	67.1 ±3.8
女性	28.0 ±5.0	2	15 ±2	33 ±0	133 ±0	40.8 ±1.2	43.0 ±1.5	51.8 ±1.2

ない。Fig.4で示されたように、造血能力はすでに上限を迎えていた。

最終的に70%に達した者は4名を数えた。なおエポ産生の程度とヘマトの上昇との相関であるが、初期のラサでのエポのレベルとラサ、ABC間のヘマト上昇分の間には、有意の相関(相関係数0.50、 $p < 0.50$)がみられた。初期にはヘマト上昇に関して、エポのhigh responderが有利であることを示すが、ヘマトと比較してエポの個体差がきわめて大きく、このことはあまり強調されるべきではない。

5) エポ産生能の検討

i) ラサにおける動脈血酸素飽和度とエポの相関 (Fig.6)

ゆるやかな逆相関が示されるものの、エポ産生能に個体差が大きいため相関係数 -0.45 は有意でなかった。低酸素刺激に対するエポ産生能は、腎臓における酸素センサーとエポ蛋白合成能の2つの因子に規定される。次のTable 1のデータと重ね合わせると、エポ産生能力は後者の因子により大きく依存することが推察される。

ii) エポ産生に関する低酸素応答の個体差 (Table 1)

隊員のうち5名は、1989年にもパミール高原のムスターグアタ峰でエポ測定がなされていたので、今回のデータと比較できた。いずれも表中の高度に達した翌朝のデータである。K. F., S. N. の low responder、A. D. の intermediate responder、S. S., T. M. の high responder にわかれた。しかも驚くべきことに、異なる機会の測定にもかかわらず各々エポ産生量がほとんど一致した。年齢的な要因も考慮されるので、今回の多人数でさらに検討を進めた。

iii) エポ、ヘマトの年齢、性別による比較 (Table 2)

エポの high responder は36才から43才までの年齢層に多く認められたが、個体差が大きく、他の年齢群との間には有意差は認められなかった。ヘマトの上昇に関しても、年齢による開きはみられず、50才以上の男性においても若年者と変わらぬ造血能を示した。これは酸素運搬能力に奇与する適応の面からは評価できるが、血管障害のリスクファクターとしてむしろ問題になると思われる。

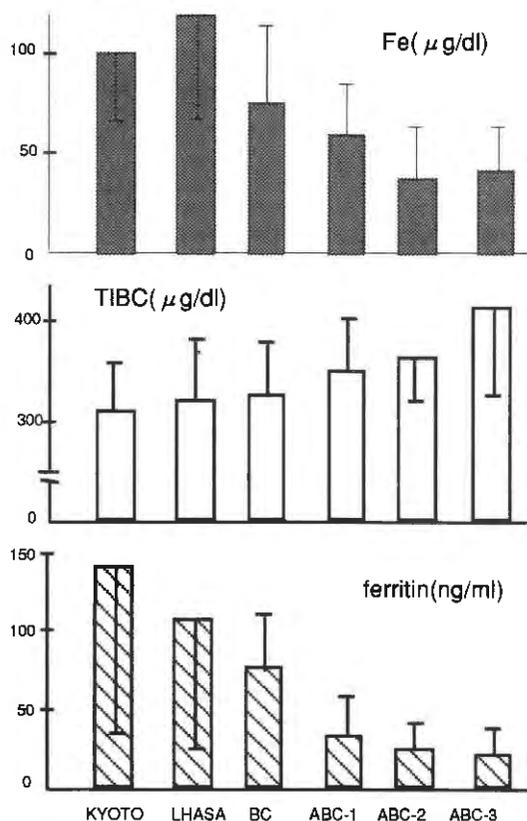
6) 鉄代謝 (Fig.8)

11名の平均値を示す。血清鉄より鋭敏なフェリチンの変化をみれば、ラサにてすでに軽度ではあるが有意の低下を認めた。体内の鉄貯蔵部位から血液を介して骨髓中に鉄が急速にトラップされ消費されはじめたことを示す。少なくとも低酸素曝露48時間以内の変化であるから、造血のために急速に大量に鉄の移動がはじまったといえる。ABCに到着した時点で、平地の27%まで低下した。ここまでのところは鉄の摂取不足の影響はあまり考える必要がなからうから、さほどに爆発的な造血の亢進の促進したことがうかがえる。フェリチンは高所滞在7週後に平地の13%に陥った。血清鉄は遅れて低下しはじめ、最低レベルが平地の38%に留まった。高所滞在7週後の血清鉄値、フェリチン値は平均でそれぞれ41mcg/dl、19ng/mlであった。血清鉄レベルの維持のために、組織内の貯蔵鉄の枯渇がより著しく進行した。Fig.4で示された造血能の上限は、こういった鉄代謝の影響を少なからず受けた結果かもしれない。

6. 考察

ヒマラヤ超高所の低酸素環境下における造血系

Fig.8 鉄代謝



の賦活のtime courseを示した (Fig.6)。エポの上昇は速やかであった。1989年の低圧実験室でのデータから、低酸素曝露後数時間でエポ・レベルが上昇し始めることを観察したが、今回のデータからエポの産生は24時間ですでに最高に近づくと考えられた。このフィールドでのデータは、これまで発表された実験室でのシミュレーションに近い結果である⁶⁾。またラットを用いた実験で、低酸素刺激後に腎臓でのエポmRNAの増加も、やや先行する現象としてとらえられている⁷⁾。このエポによる最初の造血刺激から多血化の始まりまで2週間のtime lagを認めた。赤血球の前駆細胞であるBFU-Eからの分化増殖時間にほぼ一致する。大量のエポ分泌が存在しても、少なくとも赤血球系の分化スピードの促進は起きなかったと思われる。

網状赤血球数で検討するかぎり、高所において

造血能の上限が示唆された。結果の項で述べたように、鉄の枯渇もlimiting stepとなっているかもしれない。しかしながら、鉄は筋肉その他組織の維持に必要とはいえ、このような高所の鉄欠乏に対しては、急性の低酸素負荷の場合、安易な鉄補給は不利益をもたらす可能性が高い。すなわち造血能の上限を押し上げ、さらに過度の多血状態をもたらすことが予測される。

強い低酸素刺激に対するエポ産生能に関しては、low responderとhigh responderに比較的明瞭に区分でき、低酸素センサーあるいはエポ蛋白合成過程のいずれかで遺伝的に規定されていることが考慮された。そしてその反応量も刺激の強さに対応して、個人一定の能力を有することがTable 1のデータから推論でき、予想を越える精度であった。エポ産生能、造血能について性差はあるものの、年齢による差はなく、高齢群も旺盛な造血能を示した。しかし、それに見合う心臓ポンプ機能の亢進などの適応がなされなければ、組織への酸素運搬能力の面からも逆効果となる。つまり血液粘度の上昇による組織還流の減少を克服できないからである。さらに血管障害のリスクとなりうることも付記する必要がある。さらに他の循環系の因子との関連について検討を進める必要がある。

エポは3峰性に上昇した。並行して時々動脈血酸素飽和度と比較したが、エポ産生はきわめて微妙に作動する酸素センサーで調節されていることが示唆された。ラサとBCでの酸素飽和度の差は5%であり、酸素分圧に換算すると3%以下にしかならない。その間で微細な差を感知して、エポが再上昇したわけである。一方、同程度の低酸素刺激が続けばいったん上昇した血中レベルが急速に下降した。しかしさらに強い刺激に対する反応性は保たれていた。この下降現象については、Milledge その他の数葉の報告があるが、理由は不明である。今回エポ産生に影響する諸因子について同時に検討を加えたが、少なくとも1番目のピークからの下降については以下のいずれの因子の解析でも説明されえなかった。すなわち腎への酸素供給の改善の可能性、プロスタグランジン代謝の変化、血液酸性度の変化、アルドステロンをはじ

めとする内分泌系の変化、利尿剤の使用の有無、などの因子である。エポ自身によるnegative feedbackの可能性もあげられるが、前述のラットを用いた実験では否定されている⁷⁾。ヒトでは今後の課題であろう。

著しい低酸素環境のヒマラヤを壮大な実験室として、造血系の動態について詳細に検討することにより、実験室のシミュレーションでは得られない興味深いデータを得た。今後、個人別の解析を進めること、多血症のデメリットについて自覚症状リスト、心循環系機能など同時に持ち帰った膨大なデータと突合せることにより明かにしていくことが必要である。さらに同じ観点から、急性あるいは亜急性の低酸素適応として、はたしてどの程度までの多血状態が好ましいのか、興味深くかつ実際的な命題である。本当に55%を越えると、適応から過剰適応(病的)に傾くのであろうか⁸⁾。年齢要因をどのように考慮していけばいいのか。

最後にエポの測定に協力いただいた(株)エスアールエル・小林裕次様に深く謝意を表します。

文献

- 1) Viault, F., *Compte Rendu Hebdomaire Des Sean de L'Academie Des Sciences, Paris*, 111: 911 (1890)
- 2) Faura, J. et al, *Blood* 33: 668 (1969)
- 3) Ward, M. P. et al, in "High Altitude Medicine and Physiology," p160, the University of pennsylvania Press (1989)
- 4) Miyake, T. et al, *J. Biol. Chem.* 252: 5558 (1977)
- 5) Lin, F. et al, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 82: 7580 (1985)
- 6) Jacobs, K. et al, *Nature* 313: 806 (1985)
- 7) Eckardt, K. et al, *J. Appl. Physiol.* 66(4): 1785 (1989)
- 8) Eckardt, K. et al, *Am. J. Physiol.* 258: F1432 (1990)

Summary

SEQUENTIAL ANALYSIS OF AN ERYTHROPOIETIC DRIVE AT HIGH ALTITUDES.

Minami Adachi

Department of Pediatrics, Kyoto University

Shiro Seto

Shimane Medical University

How the recruitment of erythrocytes was accelerated at high altitudes was investigated during climbing Mt. Xixabangma (8014m) in Tibet. Blood samples were drawn from 19 Japanese members, and hematocrit (Ht), erythropoietin (EPO) determined by RIA, reticulocyte count (Ret), serum levels of iron (Fe) and ferritin were examined sequentially at various points including Lhasa (3800m), Xigatze, Base Camp and Advanced Base Camp (ABC) (5500m). Soon after arrived at Lhasa, EPO increased to 230 mU/ml as a mean, in accordance with reduction of arterial O₂ saturation. In this early phase, little change was observed yet in the values of Ht, RET and ferritin. Then, EPO release was repeatedly augmented at each altitude. Ret increased stepwise in response to EPO, and thereafter Ht was elevated significantly at AC. Until this remarkable elevation of Ht, there was about two weeks interval since the first stimulation by EPO at Lhasa. At the end, Fe and ferritin were depleted. In conclusion, the polycythemia at high altitudes could be explained simply with the hypersecretion of EPO. Consequently, severe iron deficiency was brought about.