

高濃度酸素による家兔網膜変性の成因

平光忠久、長谷川康紀、平田国夫(名大眼科)
 榊原文作、城所仁、鷺津卓爾、高橋英世、
 川村先生、榊原欣作(名大第1外科)、
 小林繁夫、小西信一郎、浅井れい子
 (名大高気圧治療室)

緒言 代謝の盛んな網膜は、酸素に対して極めて高い感受性を有する事は、腫瘍組織と同様に知られている。特に成熟家兔の網膜は酸素に対して脆い事は、Naell(1955)が大気圧にて高濃度酸素(60%以上)を40時間以上吸入させた家兔では、ERG(網膜電図)の消失、視細胞の変性壊死などの網膜変性が不可逆的に生ずる事を報告してより、明らかに付いた。ところで酸素による網膜障害発症の機序は、他の組織に対する酸素毒の場合と同様、まだ解明されていないので、今回の実験でこの点について探索を試みた。実験方法と結果

1. *in vivo*の実験

1) (常圧)高濃度酸素吸入時間の網膜過酸化脂質とERGに及ぼす影響

小型動物用加圧タンク(直径56cm,長さ115cm)内に、前もってERGが正常と確かめられた家兔を1回宛2羽飼育し、排出口を開口させたまま、酸素を毎分5l流し続け、酸素濃度を95%以上に保った。加湿のため酸素は水容器を通してタンク内に拡散するようにし、タンク内温度は20°C前後とした。飼育時間6, 12, 18, 24, 48, 70時間のものについて、ERGと網膜の過酸化脂質量(TBA値)の関係を調べた。使用家兔は約100羽である。ERGの測定方法は日本光電VC6型ガラス管オシロスコープ、日本コンタクトレンズ研究所製白金電極C.L.を使用し、条件は、時定数0.03秒、光刺激は2.0 Joules、距離は30cmであった。網膜の過酸化脂質量測定はTBA法により行なった。即ちタンク内より出された家兔についてERG測定を直ちに行い、その眼球を氯麻酔にて摘出し、網膜を剥離し、0.9% NaClの網膜ホモジネート1.5mlとしたものに、0.67%の *thio-barbituric acid* (TBA)水溶液に等量の氷酢酸を混合した試薬5mlを加えて混和させた。これを100°C水浴中に2/時間加熱させた後、急冷させ、クロホルム5mlに加えて振盪させたものを10分間遠心分離し、上清をとり出し、日立分光光度計にてO.D.532-O.D.600の値からTBA値を網膜湿重量当りで算出した。尚対照として通常飼育の家兔を用いた。結果は図1に示す如くである。ERG(A波+α波)は40時間吸入のものでは、ほとんど消失し、網膜変性が不可逆的に生じたが、このことはあごに報告された結果と一致している。ERGの減弱に先立ち、12時間酸素吸入のものでは過酸化脂質量(TBA値)は対照に比して約10%の増加を示し、変性が進行した48時間以上のものでは、かえって過酸化脂質量は減じた。

2) 還元型グルタチオンの防禦効果

1)と同様条件にて行い、1羽の家兔に還元型グルタチオン(2.0mg)を6mlの溶液にして筋注し、他の1羽に同量の生理食塩水を筋注し、それらを同一タンクに入れ、40

時間酸素吸入させられたもののERGの比較を各々12例について行った。又数例については病理組織学上の検索を行った。結果は図2に示される様に還元型グルタチオン投与群では非投与群に比してERGのa波振幅に減弱の度が明らかに少なかった。有意性検定では1元-対1>30にて信頼度99.7%であった。かなり多量ではあるが還元型グルタチオンは酸素による網膜変性に対して防禦効果があることがわかった。

2. *in vitro* の実験

1回の実験で家兔摘出眼3眼の剥離網膜を用い、各々重量測定後、3本の試験管にホモジネートしないで入れ、1本には、還元型グルタチオン0.3ml (200 mg/ml) を加え、他の2本と共に、0.9% NaCl液にて全量を1.3mlとした。還元型グルタチオン添加のもの、他の1つの網膜浮遊液の試験管を恒温槽に入れ、酸素ポンプによる管で連絡したビバントの先端より、試験管内液面上約3cmのところから酸素を強く吹きつめて網膜浮遊液を攪拌して、液中の酸素が飽和状態となる様にした。酸素吹きつけ5分後、網膜浮遊液を対照として大気中で室内に設置しておいたものと、各々ホモジネートしてTBA値を測定し、網膜湿重量当りで表わした。結果は、図3に示す様に酸素気流を与えた網膜浮遊液の過酸化脂質量は対照に比し、約2.5倍の増加を呈した。GSH添加のものでは、過酸化脂質の増加はなかった。又GSHのかみりに、 α -トコフェロールを添加したもので、過酸化脂質の増加はみとめられなかった。

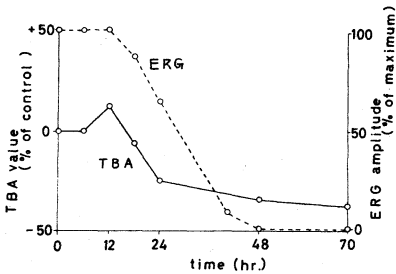


図 1

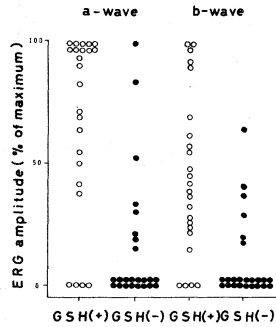


図 2

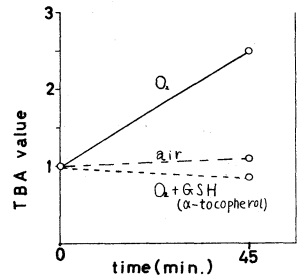


図 3

考 按

酸素の組織に及ぼす毒作用として、SH酵素の阻害、組織呼吸の低下等が報告されている。その作用機序としては、定説はなく、GerschmanはX線照射による障害作用との類似性よりその共通点であるフリーラジカルの形成を推論した。ところで近來、不飽和脂肪酸が、X線、光、重金属等の触媒作用によって自動酸化して形成される過酸化脂質はSH酵素阻害、脂質・タンパク質の破壊等により、生体機能障害を来すことが知られるようになった。酸素による網膜変性症も、X線照射による網膜変性症との類似性、初期変化として視細胞内節のミトコンドリア等の膜成分(不飽和脂肪酸と高わりがプロテイン)がおかされる事等より、過酸化脂質の形成がその成因として推論されている。今回の実験で変性の早期に過酸化脂質の増加がみられ、GSH投与により変性防禦効果が見られるが、更に*in vitro*の実験では直接的な酸素作用による顕著な現象として現われる。これらことから考えれば高濃度酸素による家兔網膜変性の成因に、過酸化脂質が主要な役割を占めていると考えられる。このことは一般的に酸素毒の機序と、その防禦作用を考える上での一助になると思われる。