

## 6. 実験的減圧症に対するビタミンEの影響について

川 眞人\* 林 皓\* 田村裕昭\*  
林 克二\* 山口柳二\* 渡辺誠治\*  
手塚雄介\*\*

### Effect of Vitamin E on Platelets Changes Associated with Decompression

M. Kawashima\*, K. Hayashi\*, H. Tamura\*, S. Watanabe\*, R. Yamaguchi\* and Y. Tezuka\*\*

\*Department of Hyperbaric Medicine, \*\*Department of Clinical Investigation, Kyushu Rosai Hospital, Kokuraminami-ku, Kitakyushu 800-02 JAPAN

The influence of Vitamin E on platelet count of rats associated with decompression was studied. In the first study, when rats stayed at 6 absolute atmosphere (ATA) for 2 hours and were decompressed within 15 minutes, platelet count fell from  $56.13 \pm 4.14 \times 10^4/\text{mm}^3$  to  $39.06 \pm 12.98 \times 10^4/\text{mm}^3$  after decompression.

In the second study, rats were divided into 3 groups: group A rats were fed Vitamin E-deficient diets (tocopherol 3mg/kg), group B rats were fed the control diets (tocopherol 18mg/kg), and group C rats were fed the Vitamin E diets (tocopherol 180mg/kg). These groups were fed for 3 months.

Platelet count fell from  $64.84 \pm 3.70 \times 10^4/\text{mm}^3$  to  $56.66 \pm 5.03 \times 10^4/\text{mm}^3$  after the decompression in group A. Platelet count fell from  $56.28 \pm 3.12 \times 10^4/\text{mm}^3$  to  $45.62 \pm 13.84 \times 10^4/\text{mm}^3$  in group B. But there were no significant changes of platelet in group C. In the third study, survival rate after decompression was studied. The highest survival rate was observed in group C (50.0%) and the lowest survival rate was in group A (16.7%). These results suggest that platelets changes after decompression are inhibited by Vitamin E.

高気圧環境下で生体内に溶解していた窒素ガスが、急激な減圧によって気泡となって血管内に血栓をきたし、減圧症を引き起こすことは Paul Bert の報告以来広く知られている。

近年減圧症の成因として単なる気泡発生説にとどまらず、減圧によって発生した気泡による血液凝固系の変動や血管の攣縮作用、血管壁の障害など多くの知見が得られている。

我々も剖検潜水士の脊髄や骨髄内血管に血小板血栓を見出して以来、気泡と血小板との関連に注目してきた。

一方、ビタミンEが血液凝固機能に影響を与えることは、Adamstin の報告以来多くの報告があり、特に近年血小板凝集阻害効果に関して多数の報告がある。

Philp<sup>1)</sup>らは、ラットの減圧症において、減圧後血小板が減少し、血清脂質も減少することから、血管内気泡が血小板凝集と血清脂質の集合を促進させ、微小循環障害をきたして減圧症をひきおこすのではないかと述べている。

今回我々は、ラットを使用して実験的減圧症を発症させ、ラットの血小板数の変動とビタミンEの影響について観察を行ったので報告する。

### 実験方法

#### 1) 実験 I

コントロール食(ビタミンEすなわち Tocopherol 20mg/kg)で餌育したウィスターキング系ラットの雄(平均体重408.6g)18匹を実験用高圧タンクに入れ、6 ATA下に2時間滞在させた後、15分間で減圧し、実験前後の血小板数を Centrifuge dilution 法にて測定した(図1)。

\*九州労災病院高圧医療研究部

\*\*九州労災病院臨床検査部

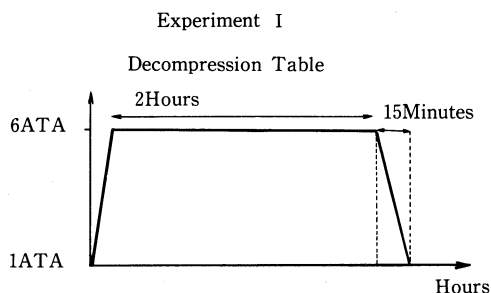


図1 Platelets were counted before compression and after decompression.

## 2) 実験 II

21匹のラットをA, B, C三群に分け, A群にはビタミンE欠乏食(Tocopherol 3mg/kg), B群にはコントロール食(Tocopherol 18mg/kg), C群にはビタミンE添加食(Tocopherol 180mg/kg)で3カ月間飼育した。3カ月後のラットの平均体重はA群406g, B群408g, C群382gであった。

飼育終了後各群2匹ずつ血清中のビタミンE測定のために殺し, 各群5匹ずつは6ATA下に2時間滞在させたあと15分間で減圧し, 実験前後の血小板数を測定した。

採血は減圧終了後5分間でクロロホルムにて麻醉後心腔内穿刺にて行った。なおビタミンEの測定法は蛍光強度法によった。

## 3) 実験 III

実験IIと同様に飼育したラット各群12匹ずつ(平均体重A群391g, B群401g, C群376g)を6ATA下に2時間滞在させて15分間で減圧し, 減圧症による死亡率を観察した。

各実験群のデータはTテストにより統計学的に検定した。

## 実験結果

### 1) 実験 I

血小板数は, 実験前は $56.13 \pm 4.14 (\times 10^4 / \text{mm}^3)$ で実験後は $39.06 \pm 12.98 (\times 10^4 / \text{mm}^3)$ と明らかに減少していた ( $P < 0.01$ ) (表1)。

### 2) 実験 II

各群の血清中のビタミンEはE欠乏群(A群)では最も低く, コントロール群(B群)は中等度, ビタミンE添加群(C群)は最も高く, 一応飼育の目的は達していると考えられた(表2)。

表1 Effects of Decompression on Platelets in Control Rats

(Experiment I)	
Count before Compression	Count after Decompression
$(\times 10^4 / \text{mm}^3)$ $56.13 \pm 4.14$	$(\times 10^4 / \text{mm}^3)$ $39.06 \pm 12.98$ $P < 0.01$

表2 Serum Vitamin E in Rats

(Experiment II)			
Group	Received Vitamin E	No. of Rats	Serum Vitamin E
A (E-Deficient)	3 mg/kg	1	0.31mg/dl
		2	0.15mg/dl
B (Control)	18mg/kg	1	0.42mg/dl
		2	0.52mg/dl
C (E-Sufficient)	180mg/kg	1	0.85mg/dl
		2	1.22mg/dl

表3 Effects of Decompression on Platelets in Rats

(Experiment II)		
Group	Count before Compression	Count after Decompression
A (E-Deficient)	$(\times 10^4 / \text{mm}^3)$ $64.84 \pm 3.70$	$(\times 10^4 / \text{mm}^3)$ $56.66 \pm 5.03$
B (Control)	$56.28 \pm 3.12$	$45.62 \pm 13.84$
C (E-Sufficient)	$48.26 \pm 7.23$	$50.94 \pm 7.78$

表4 Survival Rate after Decompression

(Experiment III)			
Group	Survival	Death	Total
A (E-Deficient)	2(16.7%)	10(83.3%)	12(100.0%)
B (Control)	3(25.0%)	9(75.0%)	12(100.0%)
C (E-Sufficient)	6(50.0%)	6(50.0%)	12(100.0%)

血小板数は実験後でA群が平均87.4%, 有意に減少していた ( $P < 0.05$ ), B群では平均81.1%有意に減少していた ( $P < 0.01$ ), C群では実験前と有意の差がなく, E添加によって血小板減少が抑制されていることを示していた(表3)。

### 3) 実験 III

最も高い生存率はC群 (50.0%) で、最も低い生存率はA群 (16.7%) であった。実験ラット数が少ないため統計学的な有意差は出なかった (表4)。

### 考 察

減圧症の病因として気泡塞栓説は、Paul Bert (1878) の報告以来もっとも一般的に知られているが、気泡塞栓説のみでは説明できない事象が数多く観察されてきた。

減圧症の発症に血液凝固系が関与することは従来多数の報告がある。

End<sup>2)</sup> (1938) は急速な減圧は赤血球を凝集させ血栓症を引き起こすと述べ、Carson (1942) は、実験動物の重症型の減圧症では著明な血液濃縮が見られると述べている。

Hartveit<sup>3)</sup> (1968) は、実験的空気塞栓症の死因は、肺動脈のフィブリン塞栓であり、ヘパリンの使用は生存率を高めることを観察している。

Hallenbeck<sup>4)</sup> (1973) は、気泡は Hageman factor (XII) を活性化させ、凝固系を亢進させると述べているし、Barthélémy (1963) はヘパリンの使用は減圧症の予防や治療に有用であると述べている。

Philp<sup>1)</sup> (1972) は、実験的減圧症では、血小板と血清脂質が減少し、気泡が血小板凝集を促進し、血清脂質も合体して凝固系が亢進し、血栓形成が促進されて減圧症が発生することを血液学的及び病理組織学的に証明し、減圧症の予防や治療に抗凝固剤が有用であることを述べている。

我々は<sup>5,6)</sup>、すでに急性減圧症の剖検例を検索した結果、大腿骨骨頭の骨髓内に多数の気泡とそれに伴う血小板の凝集や血栓形成を観察し血栓形成は肺や脊髄にも見られ、減圧症では凝固系が重要な因子であることを示唆する所見を報告してきた。(図2)

北野<sup>7)</sup> (1977) は、減圧症の剖検例の脊髄所見から、骨髓における静脈洞と同様、生理的に流れの緩慢な血流のプールのごとき硬膜外静脈叢に、脊髄および硬膜外腔の脂肪組織より発生した気泡が集合し、二次的に血液の凝固亢進をきたし、この部位の循環が高度に障害されていると述べている。

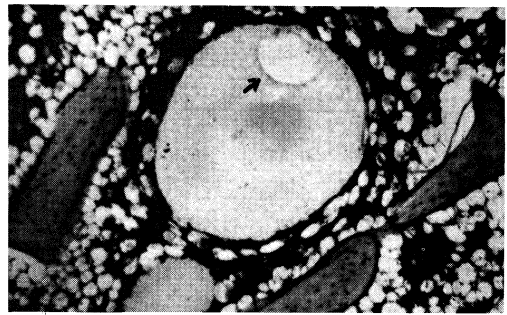


図2 急性減圧症剖検例の骨髓内気泡(矢印)とその周辺の血小板凝集

減圧症の本態は、気泡とそれに続発する凝固系の亢進であることは以上の報告からでも明らかであるが、その病態生理は大体次のように要約される。

減圧に伴って発生した血管内気泡は、接触因子を活性化し、凝固系を亢進させる。一方組織中に発生した気泡は、組織の破壊産物である脂肪、脂肪酸、ヒスタミン、セロトニン、ブラディキニン、リパーゼ、蛋白分解酵素と共に血中に移行し、血小板凝集を促進したり、血管内皮の傷害、血管壁の攣縮をきたし、血栓形成を容易にする。

血管内皮傷害は、血管の透過性を亢進させて血液を濃縮させる。血管攣縮は、血流を障害し、濃縮とあいまって血栓形成を促進させる。

このようにして、血小板凝集から血栓形成、更に二次的な循環障害が発症する。これが減圧症の病態生理の基本であると考えられている。

そこで減圧症の予防や治療に抗凝固剤の使用が一般化してくる背景が考えられるが、我々がビタミンEに注目したのは、他の抗凝固剤に比して副作用が少なく、長期間投与が可能であり、その投与が急性減圧症の予防のみならず、慢性減圧症の予防につながる可能性も考えられるからである。

ビタミンEの抗凝固作用について友田<sup>8)</sup>は、Thromboplastin 形成の第1段階および Fibrin 形成の第3段階において抗凝固的に作用すると述べている。

黒川<sup>9)</sup>らは光電比色計を用い、正常人血小板のADP凝集作用に対するビタミンEの効果を検討し、ビタミンEがADPの血小板凝集作用を抑制すると述べている。

近年注目されているのは、血小板凝集反応と Prostaglandin 代謝との関係である。

血管損傷により内皮が剥離するとコラーゲンが流血中に露出し、血小板を刺戟する。組織液の血中混入により生じた微量のトロンビンも同様に血小板を刺戟する。

Samelson の研究によると血小板膜の Phospholipase A<sub>2</sub> は膜磷脂質からアラキドン酸を遊離し、遊離のアラキドン酸は Cyclooxygenase により、PGG<sub>2</sub>, PGH<sub>2</sub> (PG endoperoxides), さらに TXA<sub>2</sub> (Thromboxane A<sub>2</sub>) に代謝される。Thromboxane A<sub>2</sub> は ADP を放出させて強力な血小板凝集作用を呈するとされている。

一方 PGG<sub>2</sub> の一部分は、血管壁内に取りこまれて PGI<sub>2</sub> (Prostacycline) となり、これは逆に血小板凝集を阻害する作用がある。

このように血栓形成のホメオスタシスは TXA<sub>2</sub> と PGI<sub>2</sub> のバランスの上に成り立っていることが近年明らかにされている。

Moncada<sup>10)</sup>らは、過酸化脂質は PGI<sub>2</sub> の生成を強く抑制し、逆に PGI<sub>2</sub> による血小板凝集作用を強めると述べている。

Machlin<sup>11)</sup>らは、ビタミン E は過酸化脂質の生成を抑制することにより、PGI<sub>2</sub> の生成を促進し、血小板凝集を阻害すると述べている。

以上の報告を総合すると、ビタミン E は、過酸化脂質を介して PGI<sub>2</sub> の生成を促進し、血小板凝集を阻害するということになるが、今回の我々の実験は、それを証明する根拠のひとつを与えてくれている。

ラットの減圧症における血小板の減少は、Philp によれば凝固系の亢進による血小板の消費からくるものである。

実験 I では、減圧によるラットの血小板の減少が明らかにされ、実験 II では、ビタミン E が血小板減少を抑制していることを示唆する結果を示している。

実験 III では、ビタミン E 欠乏群に減圧症による死亡率が最も高く、ビタミン E 添加群に死亡率が最も低いという結果が判明した。

以上の実験結果から、ビタミン E が減圧後の血小板の凝集消費からおこる血小板減少を阻害し、減圧症の予防に有用であることを示唆することが考えられる。

## 結 論

ビタミン E は抗凝固作用を有する薬剤の中では最も安全な薬剤と考えられ、減圧症の予防や治療に応用できるのではないかと考えて今回の実験を行った結果、減圧症に伴う血小板の凝集消費を抑制することを示唆する所見が得られた。

減圧に伴う骨壊死や脊髄障害は、日本の潜水士に広範囲にみられ、頻度の高いことをすでに我々は報告してきた。これらの病因に減圧後の凝固系の亢進が深く関与していることは我々の剖検例でも十分に立証されている。

骨壊死や減圧症の予防にビタミン E が有用であるか否かは臨床的には証明されていないが、今回の実験はビタミン E の臨床への応用を示唆するものといえる。

実験 I : ラットを 6 ATA に 2 時間滞在させ、15 分間で減圧したところ血小板数が著明に減少した ( $P < 0.01$ )。

実験 II : ビタミン E 欠乏食とコントロール食および E 添加食で 3 カ月間飼育したラットに同様に減圧を行ったところ、ビタミン E 欠乏食ラット群では血小板数は 87.4% の減少が見られた ( $P < 0.05$ )。コントロール食ラット群では血小板数は平均 81.1% の減少が見られた ( $P < 0.01$ )。

しかしビタミン E 添加食ラット群では有意の変動がなく、減圧による血小板凝集に伴う血小板の減少が抑制されていることが観察された。

実験 III : 同様の減圧法で各群 12 匹ずつの減圧後の生存率を見たところ、ビタミン E 欠乏群に生存率が最も低く (16.7%)、ビタミン E 添加群では生存率が最も高く (50.0%)、コントロール群では 25.0% であった。

以上の結果より、減圧症に伴う凝固亢進状態の予防や治療にビタミン E が有用であることを示唆する所見が得られた。

(稿を終えるにあたり、多大のご指導を頂いた天児民和九州大学名誉教授、九州労災病院名誉院長に深謝する)。

## 【参 考 文 献】

- 1) Philp R. B., et al: Interactions between gas bubbles and components of the blood. *Aerospace Med.* 43: 946~953, 1972.
- 2) End, E.: Use of new equipment and helium gas

- in world record-dive. *J. Indust. Hyg. Toxicol.* 20 : 511, 1938.
- 3) Hartveit, F. et al : The pathology of venous air embolism. *Br. J. exp. Path.* 49:81—86, 1968.
  - 4) Hallenbeck, J.M. et al : Accelerated coagulating whole blood and cell-free plasma by bubbling in vitro. *Aerospace Med.* 44 : 712—714, 1973.
  - 5) Kawashima M. et al: Histopathology of the early stage of osteonecrosis in divers. *Und. Biomed. Res. Journ.* 4 : 409—417, 1977.
  - 6) Kawashima M. et al: Pathological review of osteonecrosis in divers. *Clin. Orthop. Rel. Res.* 130 : 107—117, 1978.
  - 7) 北野元生ほか：減圧症における脊髓病変. *臨整外*, 12 : 1130—1139, 1977.
  - 8) 友田豊：ビタミンEの血液凝固におよぼす影響. *ビタミン*, 23 : 251—256, 1961.
  - 9) 黒川一郎ほか：ビタミンEの血液保存効果にかんする研究. *ビタミン*, 41 : 1—3, 1970.
  - 10) Moncada, S. et al: Biochemical aspects of prostaglandins and thromboxanes. ed. by N. Kharash and J. Fried. p.155, Academic Press, N. Y., 1977.
  - 11) Machlin, L. J. et al : Influence of Vitamin E on platelets aggregation and thrombocytopenia in the rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 149 : 275, 1975.