

【原著】

酸素減圧によるスクーバダイビングでの酸化ストレスと抗酸化力の変化

鈴木 直子¹⁾ 山見 信夫²⁾ 柳下 和慶³⁾ 外川 誠一郎³⁾
芝山 正治⁴⁾ 山本 和雄¹⁾ 眞野 喜洋³⁾
(株)オルトメディコ研究開発部¹⁾
信愛会山見医院²⁾
東京医科歯科大学医学部附属病院高気圧治療部³⁾
駒沢女子大学人文学部⁴⁾

スクーバダイビングで酸素減圧を行ない酸化ストレスと抗酸化力の変化を検討した。被験者は健康成人男性ダイバー8名であり、5分間で深度50mまで潜降し20分間在底した後に、段階的に41分間かけて浮上した。吸入ガスは水深6mの浮上までは圧縮空気を用いて、水深6mの減圧停止開始から海面までは純酸素を用いた。この潜水前後において、静脈血中のreactive oxygen metabolites (ROM) と biological antioxidant potential (BAP) を測定した。ROMとBAPの両者はダイビング後に有意に上昇したものの、ともに正常範囲内であった。今回の結果は、酸素減圧による水深50mのスクーバダイビングが生体に障害を起こす程度のものではないことを示唆している。

キーワード ダイバー、酸化、抗酸化物質、酸素中毒、活性酸素種

【Original】

Oxidative stress and antioxidant potential in response to oxygen decompression during SCUBA diving

Suzuki N¹⁾, Yamami N²⁾, Yagishita K³⁾, Togawa S³⁾, Shibayama M⁴⁾, Yamamoto K¹⁾, Mano Y³⁾

1) Department of Research and Development, Orthomedico Inc.

2) Shinaikai Yamami Clinic

3) Department of Hyperbaric Medicine, Tokyo Medical and Dental University

4) Department of Humanities, Komazawa Women's University

ABSTRACT

We investigated the effect of oxygen decompression during SCUBA diving on oxidative stress and antioxidant potential in humans. The subjects were eight healthy male divers. They descended to 50 meters of seawater (msw) in 5 minutes. After 20 minutes at the bottom, they returned to the surface in 40 minutes using staged decompression procedures. Their breathing mixture was changed from air to 100% oxygen at 6 msw. The blood reactive oxygen metabolite (ROM) and biological antioxidant potential (BAP) were measured before and after the dive. Both ROM and BAP showed a significant increase after diving compared to the pre-dive values. However, these higher values were still within the normal range observed for a resting, non-diving population. The present study suggests that oxygen decompression during SCUBA diving to 50 msw does not induce oxidative stress disorders.

keywords diver, oxygenation, antioxidant, oxygen toxicity, reactive oxygen species

はじめに

潜水における血中の酸化ストレスと抗酸化力の評価には、いくつかの生体反応マーカーが用いられており、酸化ストレスマーカーとして過酸化脂質 (LPO) やmalondialdehyde (MDA), 抗酸化マーカーとしてsuperoxide dismutase (SOD) やglutathione peroxidase (GSH-Px), catalase (CAT) 活性などが知られている。先行研究においては、スクーバダイビングでは潜水後にリンパ球中の過酸化水素産生が上昇し、それに伴い生体内の防御反応としてGSH-PxとCAT活性が上昇するとの報告や⁷⁾、連続した高気圧酸素曝露により血漿ROMが上昇し、SODとCAT活性が低下することが報告されている¹²⁾。我々は、最近の研究成果から比較的安定した指標とされ、アンチエイジングドックや動脈硬化ドック等の指標としても用いられている酸化ストレス指標であるreactive oxygen metabolite (ROM) と抗酸化力指標であるbiological antioxidant potential (BAP) に着目して今回の研究に使用した。これらの指標は、持ち運び可能な機器で測定を行うことができるため屋外での研究にも活用しやすく、また、採血から15分程度で結果値が得られるため、採血時の酸化、抗酸化の反応を速やかに評価するのに適している。

一方、スクーバ潜水では減圧症の予防目的での酸素減圧が普及しつつあるが、どの程度の水深から純酸素を吸入するべきかについては必ずしも意見が統一されているわけではない。複数の呼吸用混合ガスを使用するスクーバタイプの潜水を指すいわゆる“テクニカルダイビング”では1.6ATA以浅とすることが多い¹⁾。しかしながら、この程度の酸素分圧であっても、運動や水中環境下のストレスによって生体内の酸化およびその防御反応である抗酸化反応は影響を受ける可能性があることが推察される。

そこで今回、われわれはROMとBAPを指標として酸素減圧を行うスクーバダイビングにおける安全性を検討した。

対象と方法

対象者は、健常成人男性ダイバー8名とした。対象者の年齢は平均44歳、潜水経験は、空気潜水が平均

1143本 (最少:250本, 最多:3600本), 混合ガス潜水が平均215本 (最少:22本, 最多:550本), 経験年数は平均21年 (最短:10年, 最長:40年)であった (表1)。

対象者は2名ずつバディを組み、岸からエントリーした。試験実施日の気候は気温24℃, 海面水温21℃, 水深50mの水温は15℃であった。被験者は、午前8時に朝食を摂り、午前9時に500mlの飲料水を摂取、その後、ドライスーツを着用し、午前10時から潜水を開始した。潜水器はスクーバを使用し、14ℓスチール空気ボンベ2本, 5.7ℓアルミ酸素ボンベ1本を携帯した。当日は、血中の酸化、抗酸化に影響を与えると思われるサプリメントの摂取やスポーツドリンクの摂取等を潜水後の検査終了後まで中止とした。

ダイビングプロフィールを図1に示す。ダイバーは、海面から5分かけて水深50mまで潜降し、20分間在底した。その後、水深27mまで9m/分の減圧速度を保ちながら浮上し、水深27mで30秒間停止、以降、3m/分の浮上速度を保ちながら、水深21mで1分間停止、以降、水深18mで2分間停止、水深15mで2分間停止、水深12mで5分間停止、水深9mで6分間停止、水深6mで12分間停止し、3分かけて海面まで浮上した。ダイバーは、水深6mに達した時点で呼吸源を切り替え、減圧停止開始から海面に浮上するまで純酸素を吸入した。減圧時間は合計41分とした。スクーバ潜水器の装着は実験補助者によって介助され、潜降および浮上の操作は被験者自身が行った。深度50mでは同一地点に留まり、遊泳は行わなかった。

検体用の血液は、潜水直前、直後にダイバーの肘静脈から採取された。血清ROMおよび血清BAPは、採血直後にFree Radical Analytical System (Diacron社製, Grosseto, Italy) によって測定された^{2,3)}。酸素の肺毒性単位 (Unit Pulmonary Toxic Dose; UPTD) は、Wrightら⁴⁾が提唱した $UPTD = t \cdot \{0.5 / (PO_2 - 0.5)\}^{-0.833}$ (tは曝露時間:分, PO_2 は吸入酸素分圧:気圧)の式によって算出した。

本研究は、東京医科歯科大学倫理審査委員会の審査を受け、承認された後、ヘルシンキ宣言に従い実施された。

統計

血清ROMおよび血清BAPの値、年齢については、平均±SDで示した。

潜水前・後の血清ROMおよび血清BAPについては、Wilcoxonの符号付順位検定を行い、 $P<0.05$ を有意差ありと判定した。

結果

表2に、酸化ストレスの指標とされる血清ROMと、抗酸化力の指標とされるBAPの値を示した。血清ROMは、ダイビング開始前 258.3 ± 51.4 U.CARR (単位については末尾参照)であったが、ダイビング終了直後 281.8 ± 39.4 U.CARRに増加した ($p=0.049$)。血清BAPは、ダイビング開始前 2393.6 ± 268.2 $\mu\text{mol}/\ell$ であったが、終了直後 2691.0 ± 311.8 $\mu\text{mol}/\ell$ に増加した ($p=0.012$)。潜水後、視聴覚異常や吐き気、筋肉のけいれん等といった酸素中毒の症状は認められ

なかった。

本研究におけるダイビングプロフィールのUPTDは59.1であった。

考察

本研究において、酸素減圧を伴う深度50mへのスクーバダイビングにおいて、酸化ストレスの指標であるROMが潜水前 258.3 ± 51.4 U.CARRから潜水後 281.8 ± 39.4 U.CARRと有意に上昇し、その防御反応と考えられる抗酸化力の指標であるBAPが潜水前 2393.6 ± 268.2 $\mu\text{mol}/\ell$ から潜水後に 2691.0 ± 311.8 $\mu\text{mol}/\ell$ と有意な上昇が認められた。しかし、測定した2つのマーカーはいずれも健常者の正常値範囲内の値を示しており、酸化ストレスが生体に大きく影響を及ぼす程度のものではないと考えられた。

先行研究においても、高分圧酸素吸入が生体内の酸化ストレスおよび抗酸化力に影響することが知られ

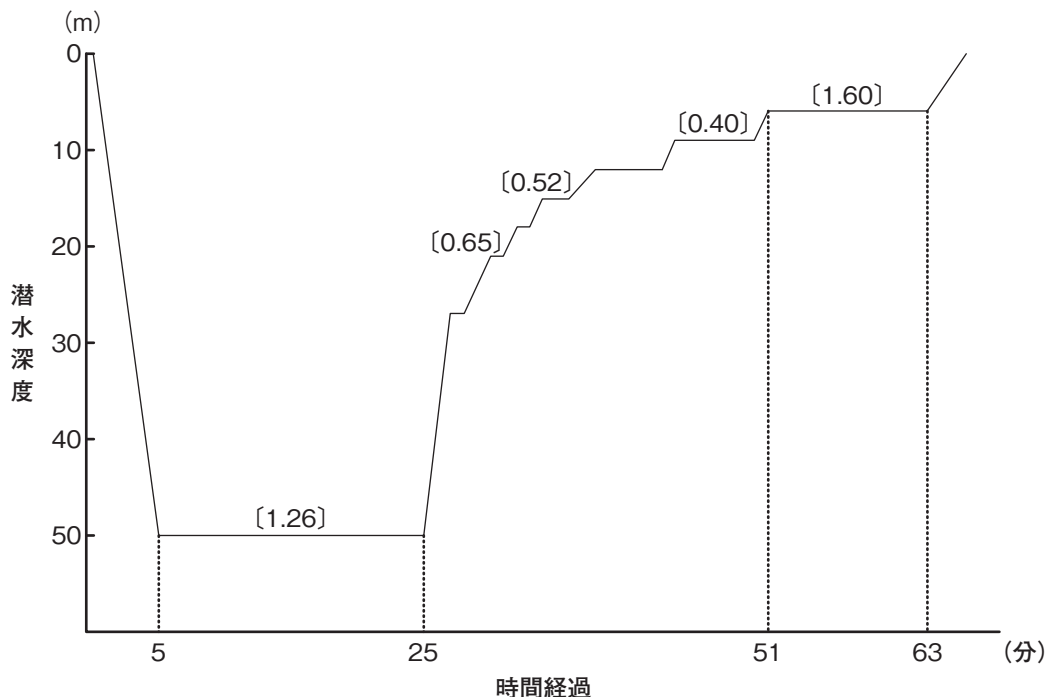
表1 被験者の属性

被験者	年齢 (歳)	ダイビング経験			身長 (cm)	体重 (kg)	BMI
		空気潜水 (本) (時間)	混合ガス(※) (本) (時間)	経験年数 (年)			
No.1	43	1000 1500	550 825	18	177.0	65.0	20.7
No.2	62	1500 2250	320 480	40	172.0	77.5	26.2
No.3	30	250 208	30 21	10	175.0	66.4	21.7
No.4	54	300 210	101 105	36	162.5	63.6	24.1
No.5	42	998 665	30 20	20	166.0	71.4	25.9
No.6	34	799 600	22 17	14	186.0	93.2	26.9
No.7	38	700 105	120 180	10	174.0	82.4	27.2
No.8	49	3600 5400	550 800	23	177.0	78.4	25.6
平均	44.0	1143.4	215.4	21.4	173.7	74.7	24.7
±	±	±1070.9	±227.8	±	±	±	±
SD	10.6	±1367.3	±306.0	11.3	7.2	10.1	2.4
		±1790.9	±347.7				

※ 酸素・窒素の2種混合ガスまたは酸素・窒素・ヘリウムの3種混合ガス

ている^{5, 6)}。Ferrerら⁷⁾は、深度40m, 25分間のスクーバダイビングにおいて、リンパ球中のGPxが有意に増加(潜水前と比較して潜水後に21.5%の増加)し、リンパ球中の過酸化水素が潜水前と比べて潜水後に1.2倍に増加したと報告し、スクーバダイビングは酸化ストレスを上昇させるが、そのダメージを減らすために抗酸化酵素による防御機構が働くと述べている。我々の

研究では、酸素減圧を行わない深度20mまでのスクーバダイビングにおいて、潜水中の心拍数が140/分以下のダイバーでは、血清ROMの有意な低下(潜水前と比較して潜水後に8.1%の低下)が認められたが、血清BAPは変化しなかったことを報告した⁸⁾。1.3ATAの酸素を呼吸しながら、水深50mにおいて毎分20mの速度で1,200m泳ぐ運動負荷をかけたリブリーザーダイバ



※図中の〔 〕は呼吸ガスの酸素分圧

図1 ダイビングプロフィール

表2 血清ROMおよび血清BAPの値

被験者	ROM (U.CARR)		BAP (μmol/ℓ)	
	潜水前	潜水後	潜水前	潜水後
No.1	258	277	2764	2873
No.2	241	276	2011	2235
No.3	238	255	2362	2770
No.4	250	296	2208	3268
No.5	310	287	2772	2797
No.6	181	227	2279	2458
No.7	237	272	2259	2597
No.8	351	364	2494	2530
平均±SD	258.3±51.4	281.8±39.4	2393.6±268.2	2691.0±311.8
P値	0.049		0.012	
正常値	200~320		2200以上	

ーでは、血清BAPの有意な増加(潜水前と比較して潜水後に10.7%の増加)が認められたが、血清ROMは変動しなかった⁹⁾。Suredaら¹⁰⁾は、息こらえ潜水においても、赤血球中のCAT活性の平均値増加(潜水前と比較して潜水後に11.4%の増加)と白血球中のSODの平均値増加(潜水前と比較して潜水後に3.6%の増加)を報告している。一方、高圧タンクによる高気圧酸素曝露においては、最大酸素分圧2.8ATA以下に5時間滞在する米国海軍治療表Table6では血清BAPは変化を示さなかったが、血清ROMの有意な増加(HBO曝露前と比較してHBO曝露後に6.9%の増加)を認め¹¹⁾、2.5ATA、30分×2回の高気圧酸素曝露を15回した患者では、血漿ROMの平均値増加(HBO曝露前と比較して15回HBO曝露後に42.4%の増加)と血漿MDAの平均値増加(HBO曝露前と比較して15回HBO曝露後に61.6%の増加)が見られ、さらには、赤血球中のSODの平均値低下(HBO曝露前と比較して15回HBO曝露後に23.4%の低下)とCAT活性の平均値低下(HBO曝露前と比較して15回HBO曝露後に10.4%の低下)が報告されている¹²⁾。また、Clarkら¹³⁾は、高気圧酸素を吸入する際に間欠的に空気呼吸を行うと酸化防御機構が作用すること、高気圧酸素曝露中の酸素分圧の変化が、酸化・抗酸化反応に影響することを報告している。これらの報告にも、はじめに述べた酸化ストレスと抗酸化力のマーカーが使用されている。これらのマーカーは酸素曝露や持続時間、さらにはair breakなどで微妙な差異があるが、先に述べたとおり、持ち運び可能で採血から15分程度で結果値が得られるROMとBAPは、血中の酸化、抗酸化反応を速やかに評価するのに適している。したがって、これらのマーカーを用いて今回の6mからの酸素減圧による50mまでのスクーバ潜水で酸化ストレスと抗酸化力の評価を行なった。ただし、Harmaら¹⁶⁾は、血清ROMは血液中のceruloplasminの影響を受けることを指摘し、ヒドロペルオキシドを反映しているに過ぎないことから全ての活性酸素種を評価するものではないことから酸化ストレスを示すマーカーとしての限界を指摘している。また、酸化ストレスや抗酸化力の変化は一部の血清蛋白などの影響も受けることから、今後はROMに影響する因子による影響も検討しながら、他のマーカーも合わ

せて測定する必要があると考える。抗酸化力は、酸素分圧や曝露時間によって影響の受け方が異なり、酸素呼吸中に空気呼吸のインターバルをどの程度取るかによっても影響のされ方が異なるものと考えられる。本研究では、潜水の前・後2ポイントだけの測定しか行っていないため、潜水中の酸化ストレスの程度は評価できていない。また、酸化ストレスマーカーも1種類しか測定していないため、防御機構の機序を考慮しても、今後は、時間経過を追った多種の検査マーカーについても検討する必要があると考える。

また、酸化ストレスは高分圧酸素の曝露だけでなく運動や精神的ストレスでも影響を受けることが知られている。例えば、丸岡ら¹⁴⁾は、トレッドミルを使用した運動負荷状況下において、負荷量が増すに従いROMが有意に増加する(安静時と比較して運動負荷直後に7.8%の増加)と報告している。さらに、精神的なストレスの影響について、Yamaguchiら¹⁵⁾が、会議におけるスピーチと質問による精神的ストレスを負荷させた状態において、酸化ストレスの指標とされる尿中ビリルビン酸化生成物が増加(負荷無しと比較して負荷有り70%の増加)し、酸化ストレスに対する防御機構が働いた可能性を示唆している。したがって、ROMとBAPも運動負荷や精神的ストレスによって影響を受ける可能性はある。しかし、本研究では運動負荷のほとんどない受動的な潜水であり、平均潜水歴21年の経験豊富なダイバーが被験者であったことから、ROMとBAPとの運動や精神的ストレスによる変化は最小限に抑えられていると考えられる。

以上の生体の酸化ストレスの指標を除くと、肺では広くUPTDが用いられている。本研究のダイビングプロフィールにおけるUPTDは59.1であり、前述した酸素減圧を行わないスクーバダイバーを対象とした研究⁸⁾のUPTDは11.5、リブリーザーダイバーの研究⁹⁾での88.2、米国海軍治療表Table6は646である。したがって、このUPTDは酸素による直接的な肺毒性を示す指標であり、生体におよぼす酸化ストレスの指標としては肺に限定されたものと考えられる。今回の研究では、肺酸素中毒を発生させるUPTD量をはるかに下回るレベルの酸素減圧潜水において、酸化ストレスと抗酸化力の増加を認めたが、健常者の正常値を逸脱す

るものではなかった。

減圧障害の予防として試みられている酸素減圧を用いた水深50mへのスクーバダイビングにおいて、生体内の酸化ストレスと抗酸化力の変動は許容範囲内であり、生体に障害をおよぼすものではないことが示唆された。

文 献

- 1) Jan N: 生理学的結論. 野澤徹訳 エキステッドレンジダイバーマニュアル. 愛知 Technical Diving International Japan. 2001; 1: 1-38.
 - 2) Pasquini A, Luchetti E, Marchetti V, et al. Analytical performances of d-ROMs test and BAP test in canine plasma. Definition of the normal range in healthy Labrador dogs. *Vet Res Commun* 2008; 32: 137-143.
 - 3) Han S.Y., Chang H.J., Choi S.I. et al.: Total antioxidant status and oxygen free radicals during hepatic regeneration. *Transplantation Proceedings* 2006; 38: 2214-2215.
 - 4) Wright WB: Use of the University of Pennsylvania, Institute for Environmental Medicine procedure for calculation of cumulative pulmonary oxygen toxicity. *US Navy Experimental Diving Unit Research Report* 1972; 2-72.
 - 5) Clark JM, Thom SR: Oxygen under pressure. In: Brubakk AO, Neuman TS, ed. *Bennett and Elliott's Physiology and Medicine of Diving*. 5th ed. Edinburgh; Saunders. 2003; pp.358-418.
 - 6) Clark JM, Thom SR.: Toxicity of oxygen, Carbon Dioxide, and Carbon Monoxide. In: Bove AA, ed *Bove and Davis' Diving Medicine*. 4th ed. Philadelphia; Saunders. 2004; pp.241-259.
 - 7) Ferrer MD, Sureda A, Batle JM, et al.: Scuba diving enhances endogenous antioxidant defenses in lymphocytes and neutrophils. *Free Radic Res* 2007; 41: 274-281.
 - 8) 山見信夫, 金剛寺純子, 山本和雄, 他.: スキューバダイビングにおける活性酸素種及び抗酸化力の変化. *日本高気圧環境医学会雑誌*. 2005; 40: 182.
 - 9) 鈴木直子, 山見信夫, 柳下和慶, 他.: リブリーザーダイビングにおける生体内の酸化・抗酸化力の変化. *日本高気圧環境・潜水医学会雑誌* 2007; 42: 212.
 - 10) Sureda A, Batle JM, Tauler P, et al.: Vitamin C supplementation influences the antioxidant response and nitric oxide handling of erythrocytes and lymphocytes to diving apnea. *Eur J Clin Nutr* 2006; 60: 838-846.
 - 11) 金剛寺純子, 山見信夫, 山本和雄, 他.: 米軍再圧治療表6による Reactive Oxygen Metabolites (ROM) と Biological Antioxidant Potential (BAP) の変化. *日本高気圧環境・潜水医学会雑誌* 2007; 42: 23-29.
 - 12) Benedetti S, Lamorgese A, Piersantelli M, et al.: Oxidative stress and antioxidant status in patients undergoing prolonged exposure to hyperbaric oxygen. *Clin Biochem* 2004; 37: 312-317.
 - 13) Clark JM, Lambertsen CJ, Gelfand R, Troxel AB: Optimization of oxygen tolerance extension in rats by intermittent exposure. *J Appl Physiol* 2006; 100: 869-879.
 - 14) 丸岡弘, 小牧宏一, 井上和久: 心肺運動負荷が酸化ストレス度に及ぼす影響について. *日本臨床生理学会雑誌* 2005; 35: 283-288.
 - 15) Yamaguchi T, Shioji I, Sugimoto A., Yamaoka M: Psychological stress increases bilirubin metabolites in human urine. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 293: 517-520.
 - 16) Harma MI, Harma M, Erel O: d-ROMs test detects ceruloplasmin, not oxidative stress. *Chest* 2006 Oct; 130: 1276.
- U.CARRの単位について: 血清ROMの測定結果の数値は, 任意の単位として開発者であるCARRATELLIの名からU.CARRとしている。1U.CARRは0.08mg/100ml H₂O₂に相当する。詳細は文献2)を参照。