

2)-1 第1回目潜水の浮上直後からの水面待機時間(SIT)と第2回目潜水可能時間

水面待機時間をSITと略称する。SIT: Surface Interval Time

第2回目潜水の規模を目標潜水深度とSITが指定されているものとする。この条件で第1回目潜水に続いて第2回目の減圧停止不要潜水時間がどの程度になるかを1999・Table4を用いて評価し、あわせて窒素分圧との関係を探る。

2)-2 水面待機時間(SIT)と第2回目潜水深度の指定

浮上直後のグループ指標Jで終えた第1回目潜水の第2回目潜水開始までの水面待機時間(SIT)を65分、第2回目潜水深度を前回の47(fsw)より浅い38(fsw)と想定する。

2)-3 第2回目潜水開始時(SIT終了時)の窒素分圧

第1回目潜水を終えて水面浮上直後から第2回目潜水開始まで大気を呼吸するので浮上直後の窒素分圧は減少する。その程度は $P_{tis} = P_0 + (P_a - P_0)(1 - e^{-0.693 t / T_{1/2}})$ を用いて36.11(fsw)と計算される。ここに初期値 P_0 は水面浮上直後の40.68(fsw)、

$P_a = 26.07(\text{fsw})$: 呼吸ガス〈大気〉の窒素分圧 $= 33 \times 0.79$

$t = 65$ 分、半飽和時間 $T_{1/2} = 120$ 分である。

①函数電卓による直接計算: $P_{tis} = 40.68 + (26.07 - 40.68)(1 - e^{-0.693 \times 65 / 120})$
 $\approx 36.11(\text{fsw})$

②時間函数表による計算: $P_{tis} = 40.68 + (26.07 - 40.68) \times 0.313 \approx 36.11(\text{fsw})$

2-3) 1999・Table4が教えてくれる事項: 第2回目潜水時間

SIT開始時のグループ指標はJである。1999・Table4(右の表を参照して)の上段斜めレベルのJに着目し、人差し指をそこに置き、次に水平に右側に向かって指を動かして65分=1時間5分=1:05に該当する時間を探し出す。該当する時間が見当たらないので、1:05の範囲に入る時間区分を探すと、上段0:55と下段1:19の数字の組み合わせが見つかる。

この数値が存在する箇所から下に向かって指を垂直に降ろすと上段表と下段表の中間のアルファベット群に辿りつく。ここには「新グループ指標」の名称がついている。

辿りついたアルファベットHが新たなグループ指標Hで、この程度のSITでは第2回目潜水終了時の窒素分圧(瞬間的浮上を想定すれば水面浮上時の窒素分圧)が1章・表1のHの深度範囲に限定されることを示す。窒素分圧換算では、1章の表1より37.13~38.63(fsw)の範囲である。

次に、新グループ指標Hからさらに下方に降りていき、この列と第2回目潜水深度38(fsw)表では40(fsw)を右に辿った線との交点に着目すると、87分となる。これが残留窒素時間(RNT)

である。

1999・Table3の深度40(fsw)における減圧不要潜水限界時間(NDL)は200分なので、 $200 - 87 = 113$ 分を得る。この時間が第2回目の最長滞底時間となる。

RNT : Residual Nitrogen Times 残留窒素時間

NDL : No-Decompression Limit 減圧不要潜水限界時間

3) 新グループ指標Hの意味

指標Jは表2-2より120分組織（以下、同様）の窒素分圧範囲（40.29～41.79fsw）である。一方、新グループ指標Hが示すSITは1999・Table4より（0:55～1:19）の範囲すなわち水面待機時間55～79分である。最小水面待機時間55分で窒素分圧範囲（40.29～41.79）も減少し、37.43～38.21(fsw)となる。この範囲は表2-2より37.13～38.63(fsw)の範囲すなわちグループ指標Hに該当する。ここで水面待機時間の最初の10分間における120分組織の減少量は無視している。無視する理由は、次に示す3点からきている。

- ①この10分間で120分組織より半飽和時間が短い組織の窒素分圧増大が収まり、減少に転じることが殆どの場合であることから、
- ②実質的に120分組織の窒素分圧減少に関与する時間は、上記の55分から10分を差し引いた45分と想定することができる。
- ③想定は窒素分圧を安全側評価（過大側評価）にしている。

次頁U,S.Navy Dive Table4注釈

指標Jの窒素分圧（PN₂と総称）上下限値は以下のようになる。

指標JのPN₂の下限值40.29(fsw)の変動：

$$\begin{aligned} \text{PN}_2 &= P_0 + (P_a - P_0)(1 - e^{-0.693 \times t / T_{1/2}}) \\ &= 40.29 + (26.07 - 40.29) \times (1 - e^{-0.693 \times 45 / 120}) \\ &= 40.29 + (26.07 - 40.29) \times 0.228 \\ &= 37.43 \end{aligned}$$

指標JのPN₂の上限値41.79(fsw)の変動：

$$\begin{aligned} \text{PN}_2 &= P_0 + (P_a - P_0)(1 - e^{-0.693 \times t / T_{1/2}}) \\ &= 41.79 + (26.07 - 41.79) \times (1 - e^{-0.693 \times 45 / 120}) \\ &= 41.79 + (26.07 - 41.79) \times 0.228 \\ &= 38.21 \end{aligned}$$

窒素分圧範囲は37.43～38.21fswとなり、この範囲はグループ指標Hに該当する。

U.S. Navy Dive Table 4

Residual Nitrogen Timetable for Repetitive Air Dives – 1999

Locate the diver's repetitive group designation from his previous dive along the diagonal line above the table. Read horizontally to the interval in which the diver's surface interval lies.

Next, read vertically downward to the new repetitive group designation. Continue downward in this same column to the row which represents the depth of the repetitive dive. The time given at the intersection is residual nitrogen time, in minutes, to be applied to the repetitive dive.

* Dives following surface intervals of more than 12 hours are not repetitive dives. Use actual bottom times in the Standard Air Decompression Tables to compute decompression for such dives.

** If no Residual Nitrogen Time is given, then the repetitive group does not change.

		Repetitive group at the beginning of the surface interval															
		Z	O	N	M	L	K	J	I	H	G	F	E	D	C	B	A
		NEW GROUP DESIGNATION															
Repetitive Dive Depth	feet / meters	Z	O	N	M	L	K	J	I	H	G	F	E	D	C	B	A
10	3.0	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
20	6.1	**	**	**	**	**	**	9:17	3:59	2:79	2:08	1:59	1:20	1:08	0:58	0:48	0:39
30	9.1	†	†	4:69	3:49	2:79	2:29	1:90	1:59	1:22	1:09	0:88	0:70	0:54	0:39	0:25	0:12
40	12.2	2:57	2:41	2:13	1:87	1:61	1:38	1:16	1:01	0:87	0:73	0:61	0:49	0:37	0:25	0:17	0:07
50	15.2	1:69	1:60	1:42	1:24	1:11	0:98	0:87	0:76	0:66	0:56	0:47	0:38	0:29	0:21	0:13	0:06
60	18.2	1:22	1:17	1:07	0:97	0:88	0:79	0:70	0:61	0:52	0:44	0:36	0:30	0:24	0:17	0:11	0:05
70	21.3	1:00	0:96	0:87	0:80	0:72	0:64	0:57	0:50	0:43	0:37	0:31	0:26	0:20	0:15	0:09	0:04
80	24.4	0:84	0:80	0:73	0:68	0:61	0:54	0:48	0:43	0:38	0:32	0:28	0:23	0:18	0:13	0:08	0:04
90	27.4	0:73	0:70	0:64	0:58	0:53	0:47	0:43	0:38	0:33	0:29	0:24	0:20	0:16	0:11	0:07	0:03
100	30.5	0:64	0:62	0:57	0:52	0:48	0:43	0:38	0:34	0:30	0:26	0:22	0:18	0:14	0:10	0:07	0:03
110	33.5	0:57	0:55	0:51	0:47	0:42	0:38	0:34	0:31	0:27	0:24	0:20	0:16	0:13	0:10	0:06	0:03
120	36.6	0:52	0:50	0:46	0:43	0:39	0:35	0:32	0:28	0:25	0:21	0:18	0:15	0:12	0:09	0:06	0:03
130	39.6	0:46	0:44	0:40	0:38	0:35	0:31	0:28	0:25	0:22	0:19	0:16	0:13	0:11	0:08	0:06	0:03
140	42.7	0:42	0:40	0:38	0:35	0:32	0:29	0:26	0:23	0:20	0:18	0:15	0:12	0:10	0:07	0:05	0:02
150	45.7	0:40	0:38	0:35	0:32	0:30	0:27	0:24	0:22	0:19	0:17	0:14	0:12	0:09	0:07	0:05	0:02
160	48.8	0:37	0:36	0:33	0:31	0:28	0:26	0:23	0:20	0:18	0:16	0:13	0:11	0:09	0:06	0:04	0:02
170	51.8	0:35	0:34	0:31	0:29	0:26	0:24	0:22	0:19	0:17	0:15	0:13	0:10	0:08	0:06	0:04	0:02
180	54.8	0:32	0:31	0:29	0:27	0:25	0:22	0:20	0:18	0:16	0:14	0:12	0:10	0:08	0:06	0:04	0:02
190	59.9	0:31	0:30	0:28	0:26	0:24	0:21	0:19	0:17	0:15	0:13	0:11	0:10	0:08	0:06	0:04	0:02

Residual Nitrogen Times (Minutes)

† Read vertically downward to the 40/12.2 (feet/meter) repetitive dive depth. Use the corresponding residual nitrogen times (minutes) to compute the equivalent single dive time. Decompress using the 40/12.2 (feet/meter) standard air decompression table.

第3章 酸素中毒

高分圧酸素と活性酸素との関係（作業及び酸素減圧に伴う生体への影響）

酸素減圧の有用性検討

1. 高気圧酸素 US Navy Table6 における生体内の酸化・抗酸化力の変化

「第41回日本高気圧環境・潜水医学会」抄録（2006年11月3日～4日 琉球大学医学部臨床講義棟）

1-1. 目的

高気圧酸素（HBO：Hyperbaric Oxygen）治療の副作用の一つである酸素中毒は、活性酸素（ROS：Reactive oxygen species）が関与していることが知られている。我々は、今回、末梢血のヒドロペルオキシド濃度を呈色させ光度計にて測定することで身体内の活性酸素レベルを測定する ROM（Reactive Oxygen Metabolites）テストおよび各種酸化・抗酸化力の指標について評価したので報告する。

1-2. 方法

10名の健常被験者（男性3名、女性7名、平均年齢 32.8 ± 5.4 歳）に対して US Navy Table 6 のプロトコールに従って HBO 曝露を行った。採血は、HBO 直前・直後に行われ、採尿（8-OHdG）については、HBO 曝露日と翌日の早朝尿とした。酸化ストレスの指標である血清 ROM（Reactive oxygen metabolites）、および血清 BAP（Biological Antioxidant Potential）、血清 HEL（Hexanoyl-Lysine）、

血清 LPO（lipid peroxides）、血清 SOD（Superoxide dismutase）、血清 CoQ10（CoEnzyme Q10）濃度、血清 CoQ10 酸化率、尿中 8-OHdG（8-hydroxydeoxy-guanosine）を測定した。

1-3. 結果

血清 ROM については、HBO 直後に平均値が 6.9%増加した（HBO 前： 315.3 ± 16.6 U.CARR, HBO 後： 337.0 ± 16.9 U.CARR； $p > 0.05$ ）。血清 BAP は HBO 直後に 2.1%増加、血清 HEL は 3.1%増加、血清 LPO は 26.5%増加、血清 SOD は 1.5%増加、血清 CoQ10 濃度は 17.5%増加、血清 CoQ10 酸化率は曝露前後ともに 0.0%、尿中 8-OHdG は 3.1%増加した（いずれも有意差なし）。

1-5. 結論

US Navy Table 6 曝露によって ROS は一過性に増加することが示唆された。ROS を定量的に評価する指標として ROM テストは有用であり比較的鋭敏に反映するものと考えられた。

2. 食事制限下の高気圧酸素曝露における血漿遊離アミノ酸の変化

「第 41 回日本高気圧環境・潜水医学会」抄録

(2006 年 11 月 3 日～4 日 琉球大学医学部臨床講義棟)

2-1. 目的

血漿遊離アミノ酸は、酵素異常による先天性アミノ酸代謝異常のみならず、後天性疾患の診断や病態の解明、臓器の機能評価の手段として注目されつつあり、最近では肝代謝を始めとしてさまざまな病態または生体内の変化において代謝過程が変化することが知られてきている。今回、我々は、食事制限下において身体に直接的に酸化ストレスをもたらすとされる高気圧酸素 (HBO: Hyperbaric Oxygen) が血漿遊離アミノ酸にどのような影響をもたらすかについて検討したので報告する。

2-2. 方法

被験者は HBO (米国海軍 Table 6A) 施行群 10 名 (女性 10 名、平均年齢 35.1 ± 11.5 歳) および HBO を施行しないコントロール群 9 名 (男性 5 名、女性 4 名、平均年齢 33.4 ± 7.0 歳) とした。HBO 群においては HBO 直前と直後に採血を行い、コントロール群においても同時点で採取し、血漿遊離アミノ酸を HPLC-ESD 法にて測定した。HBO 群、コントロ

ール群ともに、検査日の朝食前 12 時間を禁食 (水分摂取のみ可) とし、当日の HBO 前の朝食については 160 g の白米および味噌汁 1 杯とし、HBO 中の昼食については 160 g の白米のみとした。HBO 中の水分摂取は 500ml とした。

2-3. 結果

HBO 施行群において、HBO 後、血漿グルタミンが減少した (HBO 前: 514.3 ± 76.4 nmol/ml、後: 483.2 ± 64.1 nmol/ml) ($P < 0.05$)、フィシャー比についても HBO 後に減少した (HBO 前: 2.94、後: 2.76) ($P < 0.05$)。尿素、アスパラギン、グリシン、ヒスチジン、リジン、アルギニンについては有意な変化を認めなかった。

2-4. 結論

HBO は血漿遊離アミノ酸代謝に何らかの影響を与える可能性があることが示唆された。

3. 高気圧酸素曝露によって発生する活性酸素に対する CoEnzyme Q10 の抑制作用についての検討

「第 41 回日本高気圧環境・潜水医学会」抄録
(2006 年 11 月 3 日～4 日 琉球大学医学部臨床講義棟)

3-1. 目的

抗酸化物質である CoQ10 (CoEnzyme Q10) を内服している被験者において、HBO 曝露による活性酸素発生の影響を検討したので報告する。

3-2. 方法

6 名の健常被験者 (女性 6 名、平均年齢 36.2 ± 14.6 歳) は CoQ10 600mg/day 内服 2 週間目に US Navy Table 6 のプロトコールに従って HBO 曝露された (内服群)。一方、コントロール群については 10 名の健常被験者 (男性 3 名、女性 7 名、平均年齢 32.8 ± 5.4 歳) が CoQ10 のプラセボを 2 週間内服して同様のスケジュールで HBO 曝露された (非内服群)。検体採取は、内服前、HBO 直前、直後、1 日後、3 日後、7 日後に行われた。

3-3. 結果

非内服群において血清 ROM (Reactive Oxygen Metabolites) (単位: U. CARR) は、HBO 直後に平均値が 6.9% 有意に増加した ($p > 0.05$) (HBO 直前: 315.3 ± 52.5 , 直後: 337.1 ± 53.5)。血清 BAP (Biological

Antioxidant Potential) については有意な変化を示さなかった。一方、内服群において血清 ROM は HBO 後に有意な変化を示さなかった。また、血清 BAP (単位: $\mu\text{mol/l}$) については 3 日後と 8 日後に有意な増加を認めた ($p > 0.05$) (内服前 2451.2 ± 80.5 , HBO 直前: 2462.3 ± 190.7 , 3 日後: 2712.0 ± 135.7 , 8 日後: 2668.0 ± 193.9)。血清 CoQ10 濃度は、内服 2 週間目 (HBO 直前) において、内服群は、非内服群の 6.4 倍、内服前の 7.6 倍であった。血清 CoQ10 酸化率は、内服群において HBO 直前は 0.0%、直後は 1.68% に増加した (非内服群は HBO 経過中すべて 0.0%)。

3-4. 結論

CoQ10 は HBO によって発生する活性酸素を消去またはその発生をコントロールする可能性がある。

4. FREE RADICALS AND ANTIOXIDANT POTENTIAL IN SCUBA DIVER

UNDERSEA AND HYPERBARIC MEDICAL SOCIETY SCIENTIFIC MEETING & ASSOCIATES/BNA Annual Scientific Meeting 22-24 June 2006 H13

ABSTRACT

BACKGROUND: No studies exists on the estimated risk from oxidative stress induced by recreational scuba activities, although some observations suggest that inhaled oxygen under hyperbaric treatment increase oxidative stress on living body. This study intended to evaluate oxidative stress and antioxidant potential of divers during scuba activity, and to estimate the effect of reactive oxygen on recreational scuba divers.

4-1. METHODS

The subjects were 7 healthy divers. Group A: maximum depth of 20m for 20 minutes, total diving time was 36 minutes including 6 minutes of decompression time. Group B: maximum depth of 20m for 20 minutes, total diving time was 53 minutes including 23 minutes of decompression time. Blood samples were collected from divers' forearm vein before and after diving. Immediately after having had the samples, a portable free radical and antioxidant potential determination device called FRAS® (Free Radical Analytical System) was used to measure the reactive oxygen metabolites (ROMs) and the biological antioxidant potential (BAP). To estimate the stress level for ROMs and BAP values, divers who met the following condition: HR<140bpm and tank pressure>30kg/cm² were selected as the low stress group (Group C).

4-2. RESULTS

There was no significant difference (Group A: 318.0 ± 37.7 to 299.3 ± 32.9 U.CARR, Group B: 309.6 ± 51.0 to 303.2 ± 40.3 U.CARR). In Group C, the ROMs value significantly decreased -8.1% after diving (314.0 ± 32.7 to 288.5 ± 28.1 U.CARR) (P=0.038). All subjects maintained proper BAP values before diving, and there were no significant changes in the values after diving (Group A: 2495.0 ± 89.4 to 2606.3 ± 329.7uM, Group B: 2358.8 ± 163.7 to 2233.8 ± 165.2uM, Group C: 2404.5 ± 165.8 to 2361.2 ± 323.0uM).

CONCLUSION: In this study, it was confirmed that there was a time frame when serum ROMs decrease in low stressed scuba diving, which suggests that free radical damage may be reduced in scuba activities under certain conditions.

4-3. INTRODUCTION

It is well known that reactive oxygen is a cause of significant cell damage by the oxidation of membranes or by altering critical enzyme pathways and systems. Many studies point out that oxidative stress appears to be associated with increased production of reactive oxygen radicals that alter the natural antioxidant defense mechanisms present in most cells and tissues.

Some reports states observations that inhaling oxygen under hyperbaric treatment increased oxidative stress on living body, however, there are no studies on estimating the risk of oxidative stress caused by inhaling high pressure air from tanks during scuba diving by healthy subjects under sea. For divers' health care, it is an important issue whether scuba diving as a recreational activity increases oxidative stress or not. The aim of this study is to evaluate oxidative stress and antioxidant potential of divers during scuba diving activity under sea, and to estimate the effect of reactive oxygen on recreational scuba diving.

4-4. METHODS

Subjects

Healthy eleven divers enrolled in the study (nine male, two female, age range 44.5 ± 8.6 years-old, 6 smokers included). All subjects were informed of the aim of this study, and informed consent was obtained from all subjects. Divers were randomly assigned to two groups, Group A (six divers) or Group B (five divers). They dived with the following protocol in sea:

Diving protocol (Fig.1)

Group A: maximum depth at 20m for 20 minutes, total diving time was 36 minutes including six minutes decompression time (safety stop at three meters deep for three minutes).

Group B: maximum depth at 20m for 20 minutes, total diving time was 53 minutes including 23 minutes decompression time (safety stop at three meters deep for ten minutes).

Definition of LS (Low stressed) group: To estimate the effect of stress level for ROMs and BAP values, divers who satisfied following condition: HR < 140 bpm during diving and gas cylinder pressure > 30 kg/cm² in after diving (190 kg/cm² in before diving) were selected for LS group. These divers were regarded as less stressed divers.

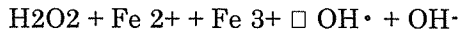
During diving, each diver carried a pulse sensor (SEIKO PULSE GRAPH® SEIKO WATCH Co., Japan) to confirm one's own heart rate to be below 110 bpm. They also carried diving computers (CITIZEN AIR DIVER®, Citizen Watch Co., Ltd.) to control the time and depth of diving.

Sample collection and measurements

Blood samples were collected from divers' forearm vein before and after diving. Immediately after gathering samples, a portable free radical and antioxidant potential determination device called FRAS® (Free Radical Analytical System) (Diacron, srl., Italy) was used to measure the reactive oxygen metabolites, ROMs and the biological antioxidant potential, BAP.

ROMs test: Test for oxidative stress level

The method is based upon metals transition capacity to catalize, once these metals are freed from their chelate protein transport forms and the deposit where they are normally found in plasma and cells, reactions from the formations of free radicals according to Fenton's reaction as in the following formula, or in radical propagation:



The radicals which are produced, the quantity of which is directly proportional to the quantity of peroxide present in plasma, are chemically trapped by phenolic derivate molecules, and through the reaction, these peroxides are transformed into ions. The ion transformation colors the peroxides, and the color can be measured with photometers.

Practically, a small amount of serum is diluted in an acid buffer solution (pH 4.8). The iron ions that were bonded to the serum proteins become available to catalyze in vitro the breakdown of blood hydroperoxides to alkoxy and peroxy radicals.

The chromogen (N,N,-diethylparaphenylen-diamine) is oxidized by hydroperoxy and alkoxy radicals, then change to colored cation detectable at 505 nm. The concentration of colored complex reflects (correspond, related) to the hydroperoxides levels of the tested biological sample.

The results were expressed as U CARR, where 1 CARR U corresponds to 0.08 mg/100 mL H₂O₂.

The normal range has been determined as 250-300 U.CARR.

BAP test: Test for biological antioxidant potential

Based on the ability of a colored solution, containing a source of ferric (Fe³⁺) ions bound to a chromogenic substrate (i.e. a thiocyanate derivative), to decolor when Fe³⁺ ions are reduced to ferrous ions (Fe²⁺), as it occurs by adding a blood plasma sample. For the test, plasma sample already has been dissolved in a colored solution obtained by mixing a source of ferric ions (i.e. ferric chloride, FeCl₃).

Practically, a small amount of blood plasma (10 µL) to be tested is dissolved in a colored solution, which has been previously obtained by mixing a source of ferric ions (i. e. ferric chloride, FeCl₃) with a special chromogenic substrate (i. e. a thiocyanate derivative)

After five minutes incubation at 37°C, the solution will decolor, reflecting the ability of plasma to reduce ferric ions to ferrous ions, according to these reactions:

By photometrically assessing the intensity of decoloration, the amount of reduced ferric ions can be adequately evaluated, which shows antioxidant potential of tested sample.

The value more the 2,200 µM is estimated to physiological adequate.

Statistics

All data are expressed as mean ± SD. Statistical analysis was performed on a personal computer with the Microsoft Excel. Variables were analyzed by paired t-test to analyze change from baselines. P values of less than 0.05 were considered significant.

RESULTS

Table 1 depicts the background of subjects and informational data on the test day. Though subjects of this study included six smokers, result shows no difference in the control values of ROMs and BAP between smokers and non-smokers. Based on the definition, six subjects

were selected for LS group. There was no relation among smoking habit, age, gender and diving experience for selection of low stressed group.

In both groups A and B, ROMs values did not show any significant difference between before and after diving. There was no significant difference (Group A: 318 ± 37.7 U.CARR to 299.3 ± 32.9 U.CARR, Group B: 309.6 ± 51.0 to 303.2 ± 40.3 U.CARR). However, in LS group, the ROMs value decreased -8.1% significantly after diving (314.0 ± 32.7 to 288.5 ± 28.1 U.CARR, $P=0.038$) (Table 2). All subjects maintained proper BAP values before diving, and there were no significant changes in the values after diving. (Group A: 2495.0 ± 89.4 to 2606.3 ± 329.7 μ M, Group B: 2358.8 ± 163.7 to 2233.8 ± 165.2 μ M, Group C: 2404.5 ± 165.8 to 2361.2 ± 323.0 μ M) (Table 2).

Table 2 Results of d-ROMs and BAP

	ROMS(U CARR)		BAP(μ Mol/l)		
	Before	After	Before	After	
A	318.0 ± 37	299.3 ± 33	A	2495.0 ± 89.4	2606.3 ± 329
B	309.6 ± 51	303.2 ± 40	B	2358.8 ± 164	2233.8 ± 165
LS	314.0 ± 32	288.5 ± 28	LS	2404.5 ± 166	2361 ± 323

*LS: Low stressed group i.e. HR<140 and remaining air in tanks>30kg/cm²

Subjects	Subjects initials	Gender	Age	Smoker	Diving experience
A1	MK	M	59	Yes	>10,000times
A2	YY	M	38	Yes	>700 times
A3	TY	M	37	Yes	398 times
A4	MT	F	45	No	1,600 times
A5	SK	M	39	Yes	1,040 times
A6	GT	M	35	Yes	> 5,000 times
B1	MS	M	35	Yes	7,000 times
B2	NS	M	44	Yes	850 times
B3	NK	M	49	No	850 times
B4	NT	M	57	No	3,100 times
B5	GM	F	51	No	150 times

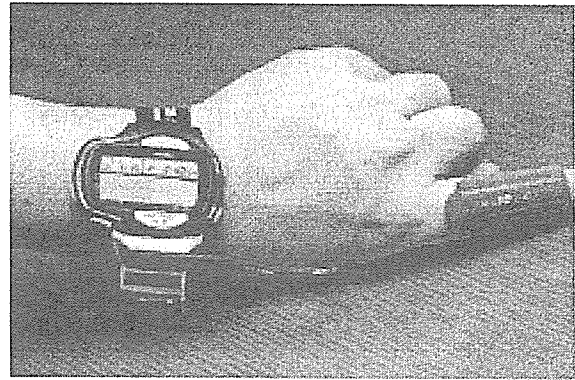
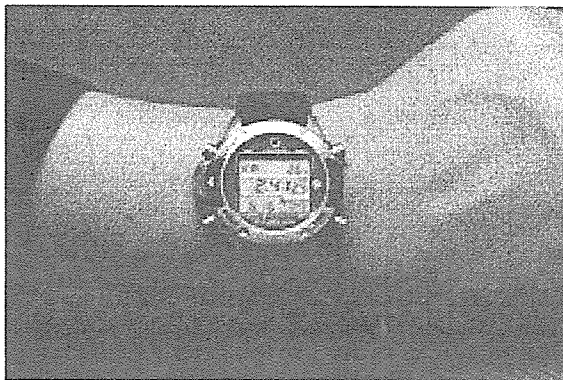
Table 1 Demographic data of subjects

Subjects	Self condition*	Subjective stress**	Maximum HR at 20m depth	Remaining air in tanks	Selection for LS***
A1	Good	None	150	70	LS
A2	Mild general fatigur	Slight	100	20	
A3	Mild lack of sleep	None	65	30	LS
A4	Good	None	103	70	LS
A5	Good	None	120	60	LS
A6	Good	Slight	200	70	
B1	Good	None	110	25	
B2	Good	None	100	55	LS
B3	Good	Moderate	100	70	LS
B4	Good	None	100	20	
B5	Good	None	90	10	

*Self conditon: Subjective self condition on morning of the test day

**Subjective stress: Subjective physical and mental stress during diving

***LS: Low stressed group i.e. HR<140 and remaining air in tanks > 30kg/cm2



4-5. DISCUSSION

Generally, it is said that the rise of inhalation oxygen partial pressure increases the generation of reactive oxygen as by products of promoted oxygen metabolism in the body. If the generated reactive oxygen and free radicals not appropriately eliminated, there is a risk of oxidative damage in the body. Also, although it is said that physical exercise improves antioxidant potential, the change of antioxidant potential in scuba diving wherein compressed air is inhaled has not been clarified in relation to physical activities in scuba diving.

In this study, it was confirmed that there is a time frame when serum ROMs decrease in

low stressed scuba diving, which signifies that free radical damage may be reduced in scuba activities under a certain conditions. Usually, it is said that about 2% of oxygen consumed in respiration at rest becomes free radicals, but in scuba diving wherein high partial pressure oxygen is inhaled, there are concerns that free radical generation may increase in accordance with the increased oxygen intake. However, as for physical exercise and lipid hyperoxidation, it is reported that exercise load up to 50% of maximum oxygen intake does not affect the lipid hyperoxidation.

Furthermore, as in the LS Group in this study, in scuba activities wherein stress load was relatively low, radical generation might have not been so significant. Nonetheless, even taking this in consideration, many issues remain to be solved regarding the result that shows the decrease of free radicals while ROMs level was expected to rise during scuba diving. One possibility is that although there may have been generation of free radicals during scuba activities, the scavenger system in the divers' body was mobilized and that the ROMs level was lower after diving.

In this study, the fluctuating situation of the scavenger system during scuba diving activities was not grasped, but it was confirmed that antioxidant potential shows no significant change before and/or after a single scuba diving activity. It is considered that one of the reasons for that is that the samples of this study were all well experienced divers. According to studies related to antioxidant potential, people who exercise frequently have higher level of antioxidant enzyme and other antioxidant substances. The antioxidant potential that was measured in this study showed a high value before the experiment in all Groups. It is considered that this is because the samples had already acquired sufficient antioxidant potential in their daily exercise activities that includes diving.

There is also the possibility that the divers' confidence in their activities underwater may have prevented mental stress. As time and repeated activities are necessary for a person to acquire the ability to strengthen the antioxidant potential of the body by doing regular exercise, it is possible that significant change in antioxidant potential in scuba diving activities may appear by continuously observing the samples.

The ROMs test is effective in that it can measure the amount of hydroperoxides (ROOH) in the blood that are the by-products of oxidized lipid, protein, nucleotides, and amino acids that have been damaged by free radicals. The life span of a free radical in the body is extremely short-lived, but the oxidative damage done by free radicals in the body can be evaluated by measuring ROMs. There are some clinical studies that report the change of ROMs due to oxidative stress in ischemic reperfusion, change of ROMs after celiotomy operation. With regards to the topic of physical exercise and oxidative stress, there are studies of athletes, and the ROMs test is utilized to promote better performance.

As a conclusion, in low stressed scuba diving, there is a time frame when the serum ROMs decrease, and rise of oxidative stress due to high pressurized oxygen inhalation was not found. As one topic to follow, an investigation needs to be conducted on what influences the oxidative damage in cases when diving is conducted repeatedly, and how divers acquire the antioxidant potential features. Moreover, although evaluation of oxidative stress and heart

beat change is difficult because of multiple factors that affect the relation between the two parameters, it is thought that appropriate analysis is possible when accurate control is conducted.

5. 高気圧酸素における血漿遊離アミノ酸の検討

【日本高気圧環境・潜水医学会 投稿中】

8-1. はじめに

高気圧酸素 (HBO: Hyperbaric oxygen) は、脂質、たんぱく質、DNA の酸化など、細胞障害を起こしうる活性酸素の発生を増加させることが報告されている¹⁾。活性酸素は、老化や疾病との関連について、これまで多数の報告があり、様々な病気の原因や病態増悪因子として知られている²⁾。一方、生体内には、ビタミンCやEなどに代表される大量の抗酸化物質が存在し、スカベンジャーとしての役割を果たしている³⁾。近年では、一般社会においても“抗酸化ブーム”という言葉で象徴されるように、抗酸化作用のある物質を含んだサプリメント類が多数販売され、その市場は1兆円にも達する勢いである⁴⁾。中でも、アミノ酸の中には抗酸化作用のあるものもあるため⁵⁾ アミノ酸サプリメントは、コエンザイムQ10などと並んで需要率が非常に高くほとんどのドラッグストアに陳列されている。しかしながら、抗酸化アミノ酸を始めとするサプリメント類は、ヒトにおける効果のエビデンス、または生体内における抗酸化作用の機序、およびその生理的作用についてはあまり解明されていない。

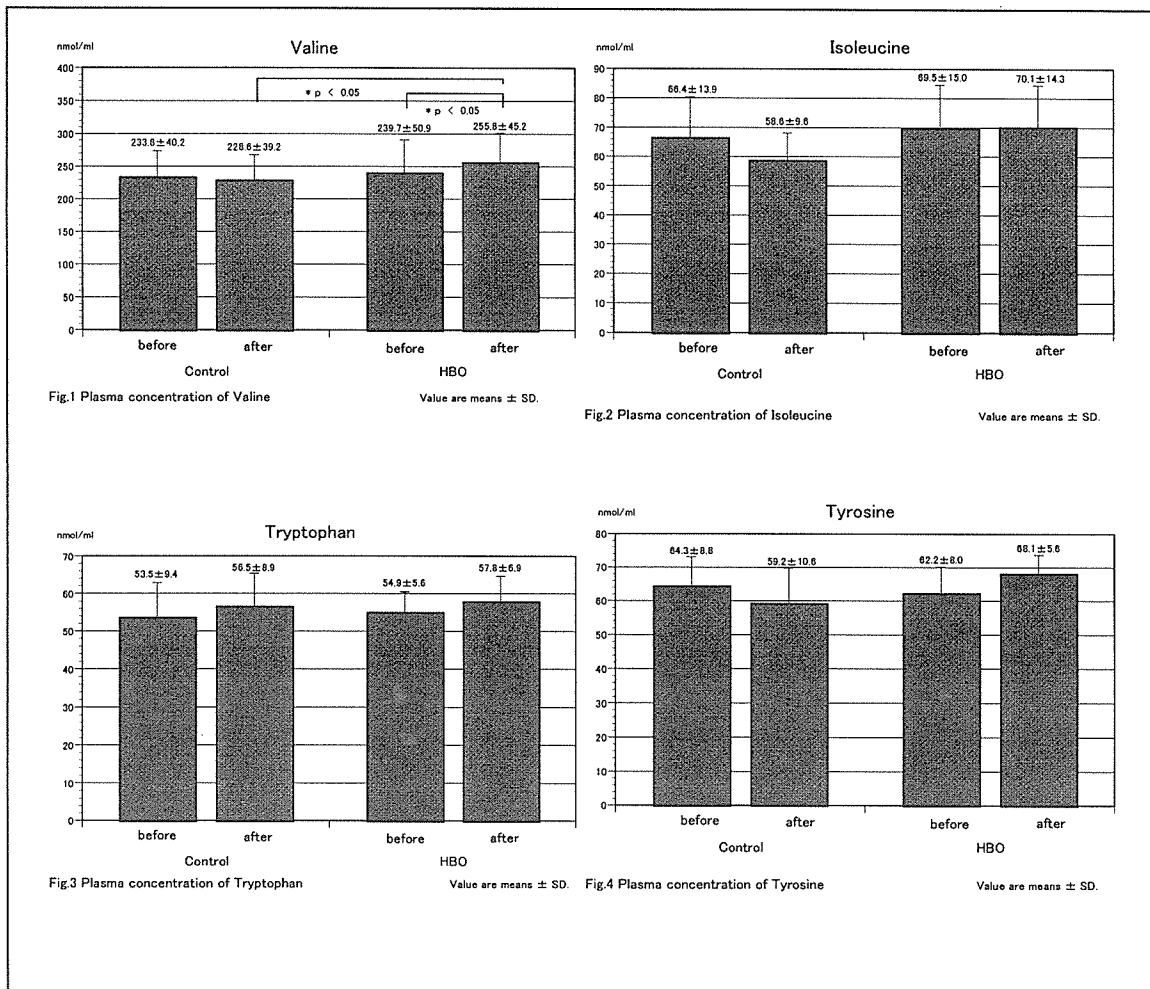
一方、基礎的研究では、HBOの酸化ストレスが生体内のアミノ酸に影響することが確認されており、Itoら⁶⁾は、高気圧酸素曝露によってラットの脳のア르기ニン代謝が変化することを報告し、また、Mialonら⁷⁾は、マウスの大脳皮質等において、タウリン、グルタミン酸、アスパラギン酸が減少し、酸化ストレスによる遊離作用が生じることを報告している。また、抗酸化作用を有するアミノ酸は、酸化ストレスを受けた際、代謝および体内動態が変化する可能性がある⁸⁾。

今回、我々は、健常者においてHBOが血漿遊離アミノ酸にどのように影響したかについて検討した。

8-2. 方法

HBOは、健常者10名(男性6名、女性4名、平均年齢 34.3 ± 7.2 歳)に対して、アメリカ海軍が作成したTable 6(時間延長のない標準治療表)のスケジュールで施行された。抗酸化剤の常用者、ピル服用者、喫煙者については、被験者に含まれていない。HBO前日は、日常通りの生活と食事を摂取し、HBOを施行する当日は、HBO前の採血直後に、朝食として、おにぎり2個を摂取し、HBO試行中、ゲージ圧0.09MPaに減圧された際の1回目の空気呼吸(酸素ブレイク)中に、昼食として、おにぎり2個を摂取した。HBO中は、座位安静、睡眠不可とし、水分摂取は500ml以内とした。HBOを受けた同被験者は、1ヶ月が経過した後、HBO曝露なし群(安静コントロール群)として、HBO曝露時と同様のスケジュールで実験が行われた。

血漿遊離アミノ酸測定のための採血は、HBOの前・後に行われた。採血された検体は可及的速やかに遠心分離(3,000回転、15分、室温)後、血漿のみを採取し、 -18°C にて凍結保存された。HBOの翌日、すべての検体は同時に測定された。バリン($224.1 \sim 276.3 \text{nmol/l}$)、イソロイシン($63.4 \sim 88.0 \text{nmol/l}$)、トリプトファン($43.0 \sim 67.2 \text{nmol/l}$)、チロシン($54.6 \sim 75.2 \text{nmol/l}$)について検討された。検体は、陽イオン交換樹脂クロマトグラフィーを用いたニンヒドリン反応による自動アミノ酸分析装置(日立835-50型自動アミノ酸分析器)により測定された。



当研究は、ヘルシンキ宣言に基づき、東京医科歯科大学医学部附属病院の倫理委員会の許可を得た後、被験者の体調、健康状態を充分配慮したうえで行われた。被験者には、当該研究の意味、実験に参加することで得ることのできる利益および不利益について説明し、同意書を作成したうえで施行された。

統計：血漿遊離アミノ酸は、HBO 前値と HBO 後値、および HBO 群と HBO 曝露なし群（安静コントロール群）との比較において、Wilcoxon signed-ranks test を使用し検定された。いずれの検定も $p < 0.05$ をもって有意と判定した。結果については、平均±標準偏差 (SD) にて記載した。

8-3. 結果

HBO 曝露群において、HBO 後、バリンは有意に増加し、曝露なし群の HBO 後の値と比較し

ても有意に高値を示した ($p < 0.05$) (Fig. 1)。イソロイシンには有意な変化は認められず (Fig. 2)、抗酸化作用のあるトリプトファンおよびチロシンについても有意な変化を認めなかった (Fig3, 4)。

8-4. 考察

血漿遊離アミノ酸は、現在、臨床では、酵素異常による先天性アミノ酸代謝異常のみならず、後天性疾患の診断や病態の解明、臓器の機能評価の手段として注目されつつある⁸⁾。アミノ酸代謝に影響する疾患および病態としては、肝疾患、腎疾患、心疾患、内分泌疾患、糖尿病、血中インスリン濃度の変化、呼吸不全、神経疾患、感染症、低蛋白血症（状態）および低蛋白栄養、薬剤投与などが報告されている⁹⁾。たとえば、肝不全を代表とする肝疾患では、バリン、イソロイシン、ロイシン

などの分岐鎖アミノ酸 (BCAA: branched chain amino acid) が低下し、チロシンやフェニルアラニンなどの芳香族アミノ酸 (AAA: aromatic amino acid) およびメチオニンが上昇し、Fisher 比 (BCAA/AAA モル比) が著減する。この機序として、アミノ酸の供給不足、アミノ酸代謝酵素の問題などが介在しているといわれており、アミノ酸の変化は、臓器の中でも、特に、肝臓の代謝過程と深く結びついている。我々の研究においては、HBO が、アミノ酸分画に著名な変化をもたらすことは少ないと考えられ、肝臓における代謝に関連しているバリンについては変化が認められたことより、HBO が何らかの形で肝臓の代謝に影響している可能性は示唆される。先行研究では、HBO が、ビリルビン血中濃度の改善をはじめ、肝機能の改善または多臓器不全の補助治療として有用であったことが報告されている¹⁰⁻¹⁴⁾。これらの機序については、未だ十分に解明されてはいないが、肝細胞膜における酸素供給や DNA 合成能の亢進などが寄与するのではないかと推察されている。一方、動物実験においては、ラットを 3 絶対気圧に 2 時間酸素暴露させた際、大脳皮質のミトコンドリアと細胞質において SOD (superoxide dismutase activity) と guanidinoacetic acid の増加がみられ、アルギニン濃度の上昇とアルギナーゼ活性の減少、延髄においてもグリシンアミノトランスフェラーゼ活性が減少したことが報告されている⁵⁾。また、600KPa に 24~90 分間酸素暴露させたマウスにおいても、線条体、脳幹、および大脳皮質において、GABA の減少とともに抗酸化作用のあるタウリン、グルタミン酸、アスパラギン酸濃度が減少したことが報告されている⁶⁾。我々の研究においては、抗酸化アミノ酸であるトリプトファンとチロシンには変化を認めず、酸化ストレスが抗酸化アミノ酸に影響する可能性は少ないことが示唆された。しかしながら、アミノ酸は、ヒトにおいても生体内に広く分布するため、組織 (検体)、酸素分圧、暴露時間などの

条件の違いによって影響の受け方は異なることが予想される。

一方、腎臓では、腎疾患を有する際に蛋白質やアミノ酸の異化亢進と同化低下による代謝異常が生じ、必須アミノ酸、ヒスチジン、チロシンおよび BCAA (バリン、イソロイシン、ロイシンなど) などが減少することが知られている¹⁵⁾。今回の研究では、被験者の肝機能 (ALT, AST, LDH)、腎機能 (BUN と Cr) については血液生化学検査において異常が認められておらず、肝機能や腎機能の異常がアミノ酸代謝に影響した可能性は少ないと考える。

一方、外傷などのストレスを受けた際、BCAA などのアミノ酸が低下することが知られている¹⁶⁾。HBO に曝露することがストレス反応を惹起することは考えにくいですが、今回の被験者は、始めて HBO を経験する者ばかりであったので、緊張などによる一種のストレス反応がアミノ酸代謝に影響しなかったとは言い切れない。

血漿遊離アミノ酸測定では、採血から測定までに費やされる時間によって、検査結果に影響が生じる可能性がある。アスパラギン酸、グルタミン酸、およびアミノ酸濃度に影響を及ぼすアンモニアなどは、保存温度が高くなるにつれて増加し、一方、アスパラギン、グルタミン、シスチンは低下傾向を示す。今回の実験は、環境温度 22~24℃にて行われ、また、温度によって鋭敏な変化を示すアミノ酸は含まれておらず、採血から遠心分離までは可及的速やかに処理が行われており、環境温度や時間経過が検査結果に及ぼした影響は少ないと考える。

被験者の年齢、および性差については、加齢に伴って分岐鎖アミノ酸が減少し、女性は男性よりトレオニンが高値を示すことが知られている⁹⁾。今回の実験においては、アミノ酸の測定結果が、基準値 (±2SD) から外れるデータはほとんどなく、年齢についても、20 歳代後半から 40 歳代前半の被験者であり、これらの要因が検査結果に影響した可能性は低い

と考える。

血漿遊離アミノ酸は、食事を摂取することで増加し、その構成比はその内容によって左右される。日内変動もあり、一般に早朝は低値を示し、身体活動によって、アラニン、バリン、イソロイシン、ロイシンが増加、オルニチンについては減少することが知られている⁷⁾。今回の研究では、朝食前 (HBO 前) と、昼食後約 3 時間 (HBO 後) について比較したため、これらの影響については考慮される必要がある。アミノ酸は、1 日以上絶食によって、血漿中の BCAA が増加し、数 10 時間以上の絶食によってグリシンとトレオニンを除いたほとんどのアミノ酸が減少する。我々の実験においては、HBO 前日までの食事についてはコントロールしなかった。また、HBO 前の身体活動についても、特に制限は設けなかったが、身体活動量としては、全員が 30 分以内の歩行をしたという程度であり、HBO 中は安静座位姿勢をとり、一連の実験中には大きな活動はなかった。また、被験者は、HBO 前と HBO 中に、1 個約 100g のおにぎり (中身はうめぼしとさけ) を摂取した。精白米 100g 中には、蛋白質 6.8g が含まれており、イソロイシンは 290mg、ロイシンは 570mg を含有しているとされる。しかしながら、イソロイシンは HBO 群においても、安静群においても有意差はなく、食事が血漿遊離アミノ酸の百分率 (%) に大きく影響したとは考えにくい。

被験者は、抗酸化アミノ酸を含有するサプリメントについては内服していなかったが、軽い食事制限によるダイエット中の者、過去には抗酸化物質を含めたサプリメントの内服経験を有する者、野菜や果物などについて若干の偏食趣向がある者などが含まれていたため、個体差による影響がなかったとは言い切れない。

以上のように、血漿遊離アミノ酸の変化を検討するには、測定に関わる影響因子が多いためバイアスを生じやすいという問題がある。今後、被験者の選定、実験系の工夫も加えた

うえで、HBO などの酸化ストレスが、抗酸化アミノ酸に与える影響および生体内の酸化防御機構に与える影響などについてさらに研究を進めたい。

引用文献

- 1) Narkowicz CK, Vial JH, McCartney PW: Hyperbaric oxygen therapy increases free radical levels in the blood of humans. *Free Radic Res Commun* 1993; 19: 71-80.
- 2) Ames BN, Gold LS: Endogenous mutagens and the causes of aging and cancer. *Mutat Res* 1991; 250: 3-16.
- 3) Anderson D: Antioxidant defences against reactive oxygen species causing genetic and other damage. *Mutat Res* 1996; 350: 103-108.
- 4) 医薬品・食品の安全性の確保. In: 厚生労働省(編) 厚生労働白書平成 17 年版、(株)ぎょうせい (東京)、2005; pp353-373.
- 5) 品目別各論: In: 味の素株式会社 (編)、アミノ酸ハンドブック、(株)工業調査会、2003; pp148-174.
- 6) Ito T, Yufu K, Mori A, Packer L: Oxidative stress alters arginine metabolism in rat brain: effect of sub-convulsive hyperbaric oxygen exposure. *Neurochemi International*. 1996; 29: 187-195.
- 7) Mialon P, Joanny P, Gibey R, Cann-Moisan C, Caroff J, et al.: Amino acids and ammonia in the cerebral cortex, the corpus striatum and the brain stem of the mouse prior to the onset and after a seizure induced by hyperbaric oxygen. *Brain Res* 1995; 676: 352-357.
- 8) 武藤泰敏: 肝不全とアミノ酸代謝; とくに分枝鎖アミノ酸を中心として *最新医学* 1980; 35: 1573-1582.
- 9) 白木亮, 福島秀樹, 森脇久隆: アミノ酸とその分画. In: 和田攻, 大久保昭行, 矢崎義雄, 大内尉義(編) *臨床検査ガイド第 1 版*、文光

- 堂（東京）、2005；pp203-208.
- 10) 松田範子, 恩田昌彦, 森山雄吉, 田尻孝, 金徳栄, 他：広範切除肝に対する高圧酸素療法の影響. 日高圧医誌 1990; 25 : 129-135.
- 11) 藤原恒弘, 難波康男, 藤原久子, 荏田誠, 吉田和正, 他：急性肝不全に対する HBO の効果について、日高圧医誌、1986 ; 21 : 191-197.
- 12) 橋本公昭, 上西正明, 吉岡敏治, 杉本侃：ショック回復後も長期間遷延した肝、腎機能障害に対する OHP の効果、日高圧医誌、1986; 21 : 199-203.
- 13) 有川和宏, 堂籠博, 山岡章浩：周術期高ビリルビン血症に対する高気圧酸素療法の有用性、日高圧医誌、2001; 36 : 193-200.
- 14) 中山幸一, 八木博司, 北野正剛, 兼松隆之, 坂口正剛, 他：肝硬変末期にみられる肝不全に対する高気圧酸素(OHP)療法の効果、日高圧医誌、1986; 21 : 113-119.
- 15) Orita Y, Fujiwara Y, Abe H., Etiological studies of secondary hypertension. Renal hypertension. Nippon Rinsho. 1984 ; 42:359-364.
- 16) 斎藤公志郎, 加藤昌彦, 武藤泰敏：アミノ酸とその分画. In: 和田攻, 大久保昭行, 永田直一, 矢崎義雄(編) 臨床検査ガイド第1版、文光堂（東京）、2001; pp228-233.

6. INDEXES OF OXIDATIVE STRESS DURING HBO TREATMENT

UNDERSEA AND HYPERBARIC MEDICAL SOCIETY SCIENTIFIC MEETING & ASSOCIATES/BNA Annual Scientific Meeting 22-24 June 2006 H13

6-1. BACKGROUND

It has been suggested that the side effect of Hyperbaric Oxygen (HBO) Therapy are caused by increased Reactive Oxygen Species (ROS). The aim of this study is to evaluate the serial changes of oxidative status and antioxidant power in humans after exposure to HBO.

6-2. MATERIALS AND METHODS

Ten healthy volunteers were exposed according to USN Table 6. Venous blood samples were taken to measure Reactive Oxygen Metabolites (ROM) and Biological Antioxidant Potential (BAP) as indexes of oxidative stress and antioxidant power before exposure, respectively. Blood samples were taken to examine the serial changes of ROM and BAP immediately after the exposure, and 1, 3, 7 post exposure days. Urine samples were also taken before and 1 day after exposure to measure 8-OHdG as an index of oxidative stress on DNA.

6-3. RESULTS

ROM increased to 6.1% from the baseline value at the end of the exposure (290.2 ± 17.2 to 308.0 ± 18.7 , $p < 0.05$), and then it decreased to 8.5% 1 day after exposure (to 265.4 ± 19.5 , $p < 0.05$). BAP increased to 6.1% (2481.7 ± 102.8 to 2633.4 ± 62.2) immediately after exposure, which had no significant difference. There was also no difference in 8-OHdG between before and 1 day after exposure (5.45 ± 0.6 to 5.49 ± 0.8).

6-4. CONCLUSIONS

Although oxidative stress in humans increased immediately after a single exposure to HBO, antioxidants might be mobilized at the same time by a defense reaction to protect the body against ROS. These data suggested that complete elimination of increased ROS was accomplished by 1 day after exposure. ROM test could monitor the oxidative stress more readily in clinical situations.

第4章 潜水実態調査

第1節 潜水プロフィールの調査結果

1. 目的

潜水者の潜水プロフィールを収集し、実際の潜水深度や潜水時間などを調べ、減圧症の危険性の有無を検証することが目的である。

2. 調査方法

潜水プロフィールを調べる方法は、一般に市販されている潜水記録用時計(CITIZEN 社製、Air Divers 200m)を用い、潜水中に携行してもらい、潜水後に時計を回収し、記録されたデータをパソコンに保存し、後日その保存されたデータを回収して、解析分析をした。記録されたデータは、マルチレベル(5秒毎に時間と深度)潜水である。

潜水によって体内溶解する窒素ガスを調べるためにプログラムを開発した。潜水プロフィールにより平均水深と潜水時間およびマルチレベル潜水の計算方法を選択できるが、本報告ではマルチレベル潜水での計算とした。ワークマンは不活性ガスである窒素ガスを組織内圧力で表していますが、ここでは、高圧則別表第2の体内ガス圧係数と同じ表示とす

るため、窒素ガスを80%とした場合の大気圧での窒素の飽和溶解圧力を1として、深度及び経過時間ごとに、どの程度の割合で(1の何倍にあたるか)組織内に圧力として溶け込んでいるかを、半飽和時間の5、10、20、40、80、120、200、240分の8組織で表した。

3. 調査対象および潜水業種

北海道で流水ダイビングのガイドを行っている潜水者のG地区、公的機関で潜水業務を行っている海洋潜水者のH地区、海洋作業を行っている潜水者のI地区、同じく海洋作業を行っている潜水者のJ地区の10カ所を調査対象とした。

業種別では、海洋作業潜水者2カ所、公的機関の潜水者1カ所、レジャーを対象とした潜水者1カ所である。