

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

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 時間酸素曝露させた際、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、株式会社工業調査会 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; pp 203-208.
- 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, 菊田誠, 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.

9. INDEXES OF OXIDATIVE STRESS DURING HBO TREATMENT

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

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.

MATERIALS AND METIHODS

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.

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).

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 cli nical situations.

第5章 潜水実態調査

1. 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

北海道の定置網の保守管理を行っている漁業潜水者A地区、伊豆諸島で追い込み潜水漁業を行っているB地区、同じく伊豆諸島で追い込み潜水漁業を行っているC地区、C地区と同じ島で天草やケイカイ草を採取している漁業潜水者のD地区、沖縄で伊豆諸島と同じ追い込み漁業を行っているE地区、ファンダイバーのガイドを行っている潜水者のF地区、北海道で流氷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、漁業潜水者5カ所、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2カ所である。

4. 調査地区毎の潜水者数

10 地区毎の調査協力をしていただいた潜水者数を表 4-1 に示す。

表 4-1 地区毎の調査潜水者

地 区	潜水者数と潜水者の分類記号	
A(北海道、定置網)	4名	a-1、a-2、a-3、a-4
B(伊豆諸島)	4名	b-1、b-2、b-3、b-4
C(伊豆諸島、追い込み)	6名	c-1、c-2、c-3、c-4、c-5、c-6
D(伊豆諸島、草)	12名	d-1、d-2、d-3、d-4、d-5、d-6、d-7、d-8、 d-9、d-10、d-11、d-12
E(沖縄)	2名	e-1、e-2
F(伊豆半島、ガイド)	7名	f-1、f-2、f-3、f-4、f-5、f-6、f-7、f-8
G(北海道の流水潜水)	1名	g-1
H(公的機関の海洋潜水)	8名	h-1、h-2、h-3、h-4、h-5、h-6、h-7、h-8
I(海洋潜水)	2名	i-1、i-2
J(海洋潜水)	6名	j-1、j-2、j-3、j-4、j-5、j-6

5. 期間

期間は、それぞれの地区で異なるが、2004年7月～2006年9月である。

6. 調査結果

6-1. 北海道(A地区)の定置網漁業潜水者の潜水プロフィール

6-1-1. 調査期間及び回数

調査期間は、定置網漁業就業期間の2005年6月～年11月である。延べ潜水回数は124回、延べ日数は35日、1日の繰り返し潜水回数の平均は3.5回(±SD3.4回、max19回、min1回)である。潜水時間、最大水深、平均水深、休憩時間の平均は表6-1-1に示す。

表 6-1-1 潜水時間、最大水深、平均水深、休憩時間の平均値

	潜水時間(分)	最大水深(m)	平均水深(m)	休憩時間(分)
mean±SD	9±7	16.3±10.7	9.9±6.8	43±59
min~max	0~34	1.3~43.8	1.1~29.5	5~296

6-1-2. 一日の潜水回数

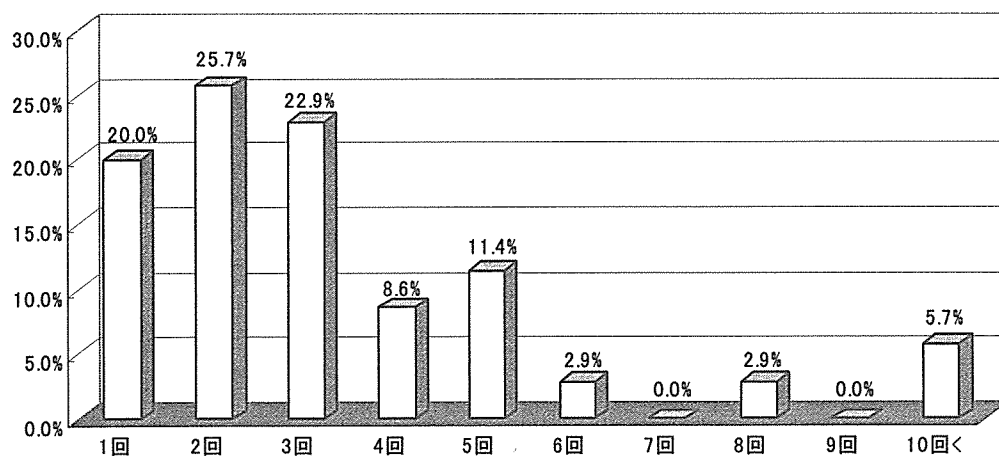


図 6-1-1 繰り返し潜水回数の割合

6-1-3. 潜水時間

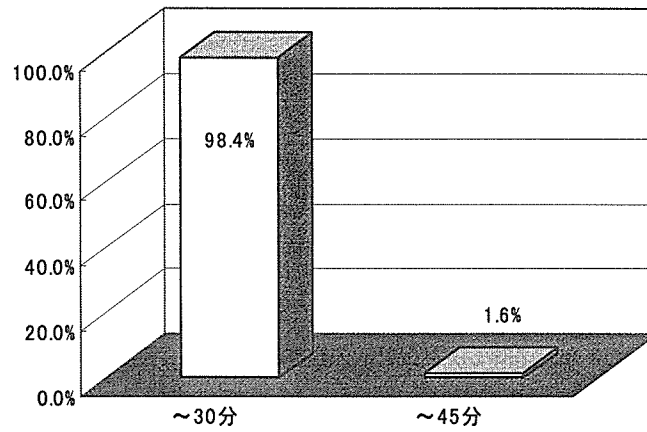


図 6-1-2 潜水時間(分)の割合

6-1-4. 最大潜水水深

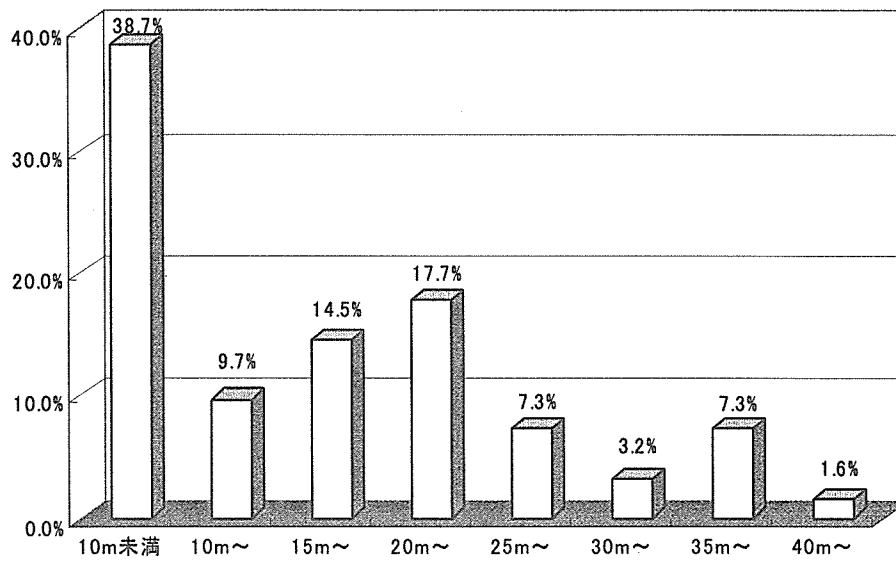


図 6-1-3 最大水深(m)の割合

6-1-5. 平均水深

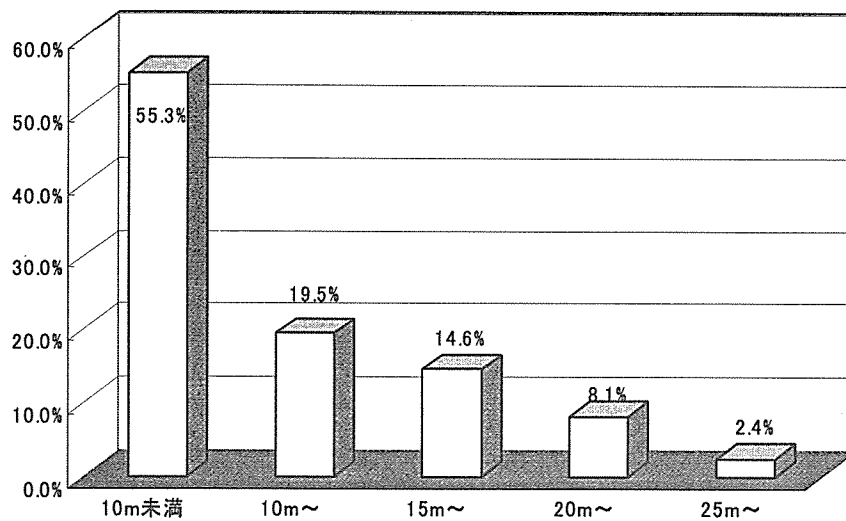


図 6-1-4 平均水深(m)の割合

6-1-6. 休憩水時間

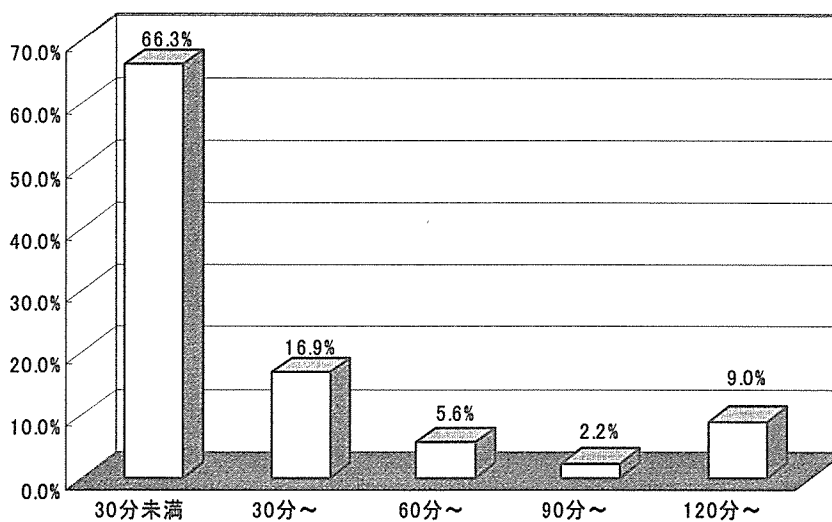


図 6-1-5 休憩時間(分)の割合

6-1-7. 最大水深と繰り返し潜水回数の関係

1日に19回潜水をしている潜水者が1名存在するが、19回の平均水深が9.3m、平均潜水時間が5分であった。11回目(11本目)に23.7mに22分潜水していることが気にはなる。

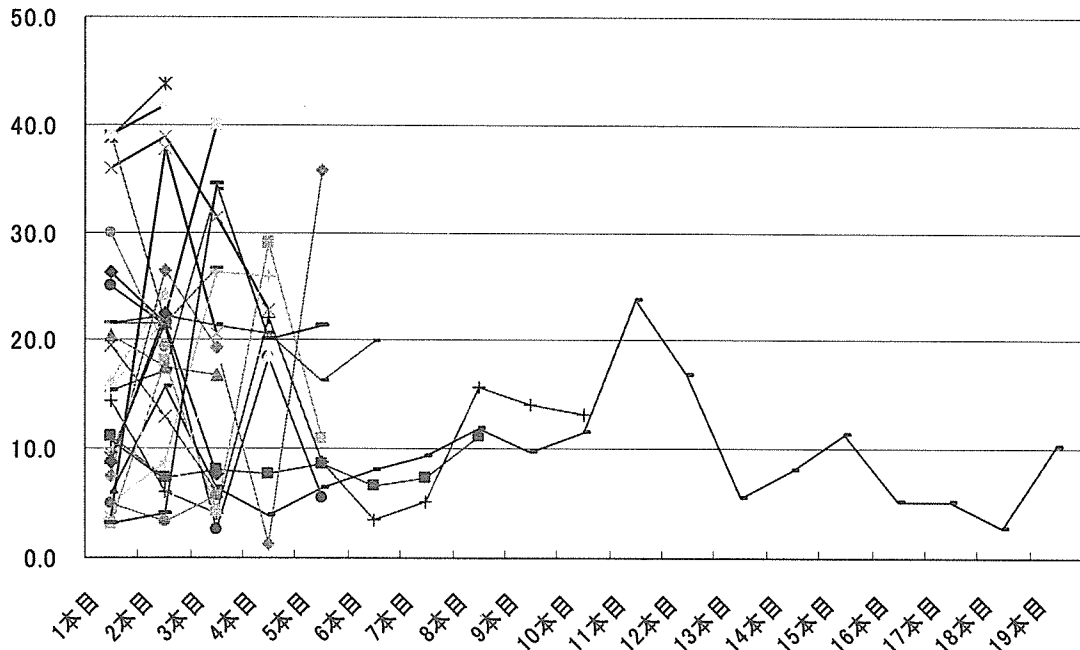


図 6-1-6 潜水者毎の最大水深(m)と繰り返し潜水回数

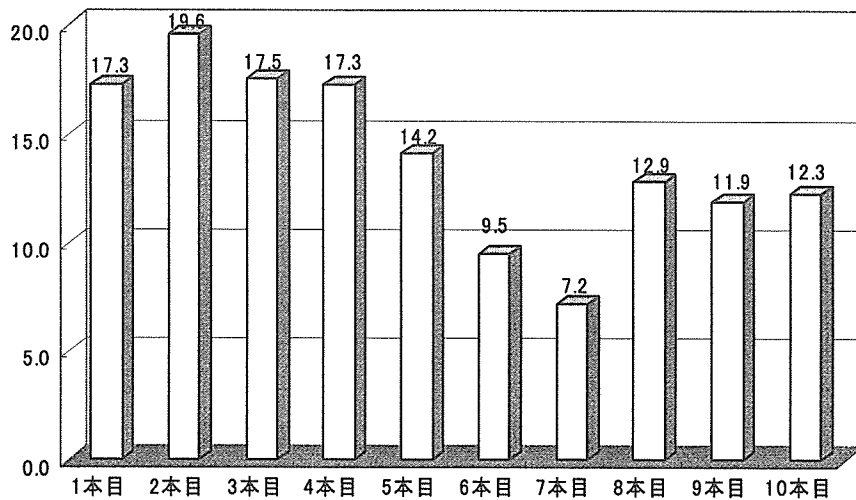


図 6-1-7 最大水深(m)と繰り返し潜水回数の平均

6-1-8. 平均水深と繰り返し潜水回数

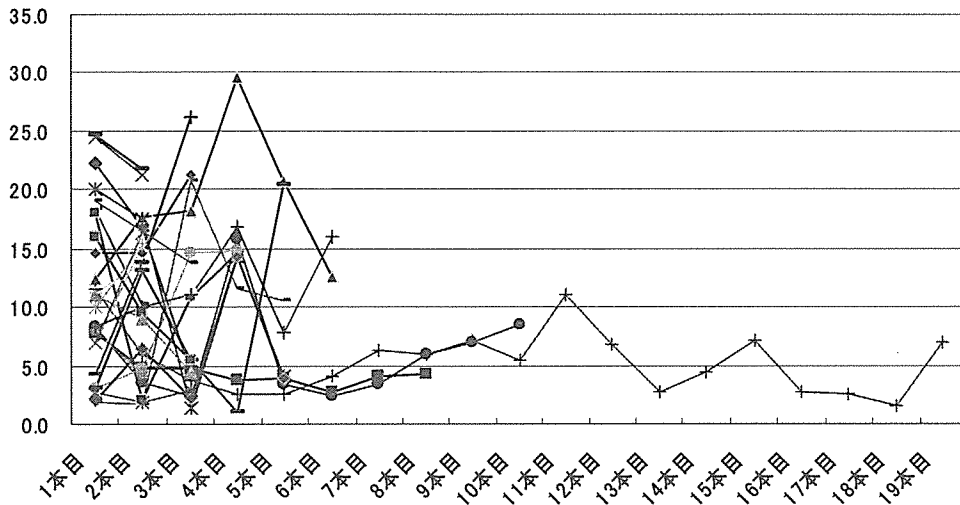


図 6-1-8 潜水者毎の平均水深(m)と繰り返し潜水回数

図 6-1-9 は 10 回目(10 本目)までの繰り返し潜水しか載せていない。11 回目以後は 1 日だけの潜水であった。

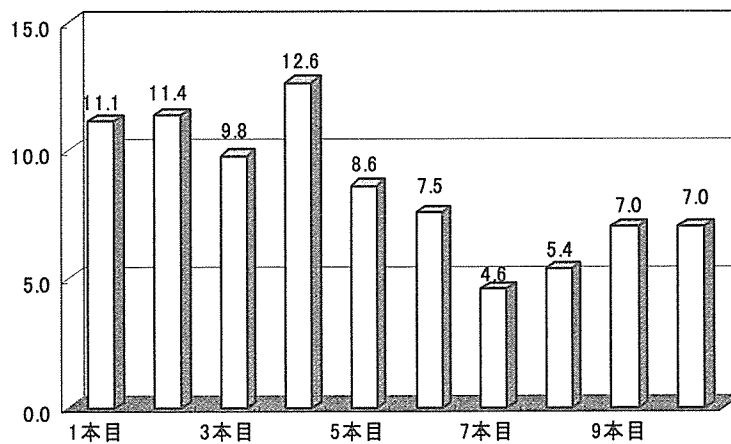


図 6-1-9 平均水深(m)と繰り返し潜水回数の平均

6-1-9. 潜水プロフィールと体内窒素ガスの一例

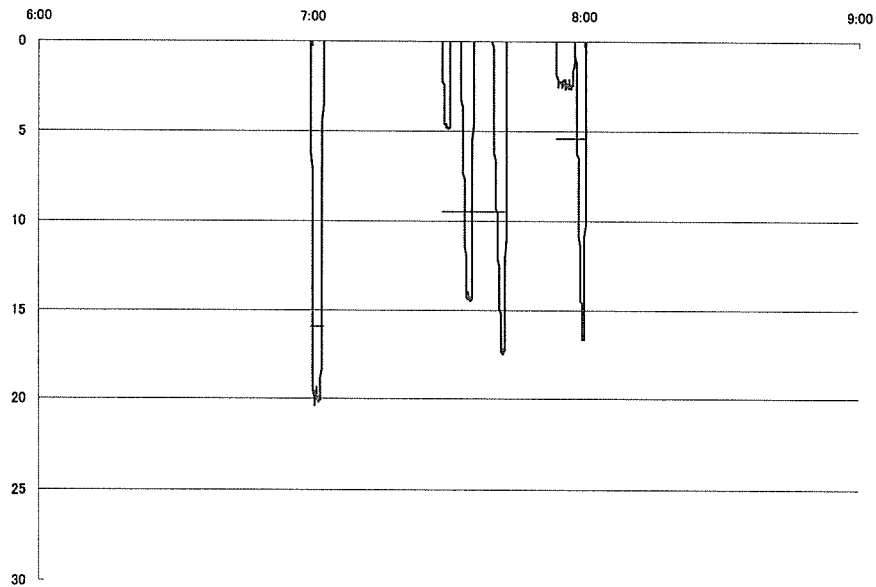


図 6-1-10 潜水プロフィールの一例(HSHJ20050602)
 (1 回目の最大深度 20.4m、平均深度 16.0m、潜水時間 7 分、休憩時間 26 分、
 2 回目の最大深度 17.5m、平均深度 9.5m、潜水時間 14 分、休憩時間 10 分、
 3 回目の最大深度 16.7m、平均深度 5.4m、潜水時間 6 分)

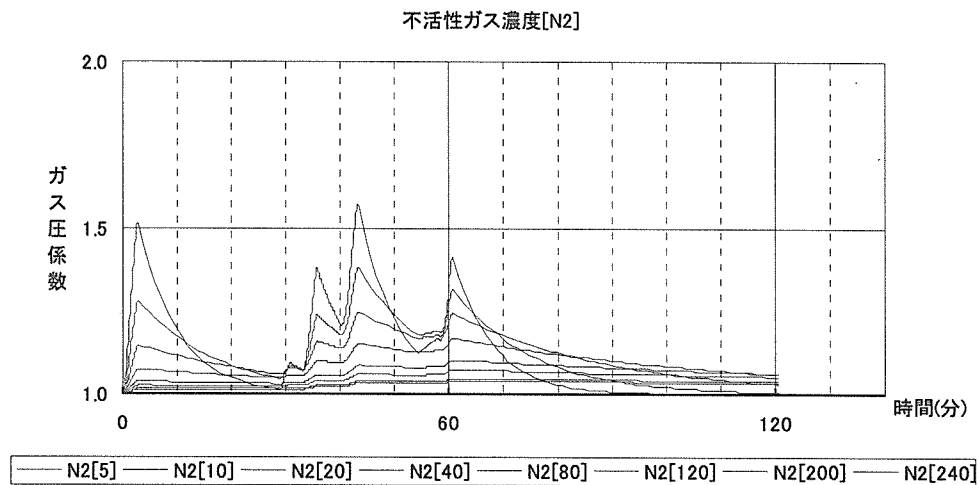


図 6-1-11 窒素ガスの変化(HSHJ20050602)

6-1-10. 減圧症の危険性

本地区は、5～11月のサケ・マス定置網の保守管理潜水である。過去においては定置網深底部

の水深 90m までをスクーバで潜水したことなどが原因で 9 例の減圧症発症を認めている。深く潜水することから減圧症の危険性が非常に高く、1980 年以後に最初の健康診断を東京医科歯科大学の眞野教授指導下で行った機会に、毎年春の就業前に現地の病院で健康診断を実施している。この機会を利用して、雇用責任者との話し合いおよび講習会を実施し、水深 40m 以上の潜水は原則禁止とするとともに、潜水業務の割合をできるだけ減らす方針となったことが減圧症予防対策に繋がり、1994 年以後の減圧症は発症していない。

調査においても 1 日の繰り返し潜水回数は平均 3.5 回であるが、潜水時間が平均 9 分と短く、最大深度の平均が 16.3m、平均深度が 9.9m と比較的浅い潜水となった。最も深い潜水で 43.8m であり、このときの潜水は 1 回目の最大深度 38.8m、潜水時間 21 分、2 回目は 43.8m、の 14 分、それぞれ 3~5m で減圧を行い、減圧症の危険性は低い状態であった。潜水時間が 30 分以内(98%)であり、減圧症の危険性はそれほど高いとはいえない。潜水作業は定置網の設置や管理であるため、それぞれの定置網の設置場所によって条件は異なると思われるが、全体的には減圧症の危険性は少ないと思われる。

雇用責任者と潜水従事者および我々の努力によって安全対策が進み、成果が認められた地区である。

6-2. 伊豆諸島(B地区)の追い込み漁業潜水者の潜水プロフィール

6-2-1. 調査期間及び回数

調査期間は、2004年7月～2005年10月までの6月～10月の漁期であり、タカベやイサキの追い込み潜水漁業である。延べ潜水回数は538回、1日の延べ潜水日数は96日、1日の繰り返し潜水回数の平均は5.6回(±SD2.34回、min1回、max12回)である。潜水時間、最大水深、平均水深、休憩時間の平均は表6-2-1に示す。

表 6-2-1 潜水時間、最大水深、平均水深、休憩時間の平均値

	潜水時間(分)	最大水深(m)	平均水深(m)	休憩時間(分)
mean±SD	23±19	16.4±6.7	10.9±4.7	34±39
min～max	0～126	1.9～41.1	1.5～26.9	5～389

6-2-2. 一日の潜水回数

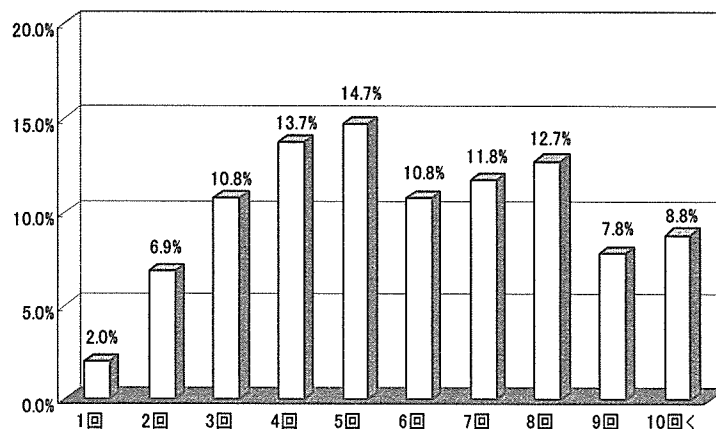


図 6-2-1 繰り返し潜水回数の割合

6-2-3. 潜水時間

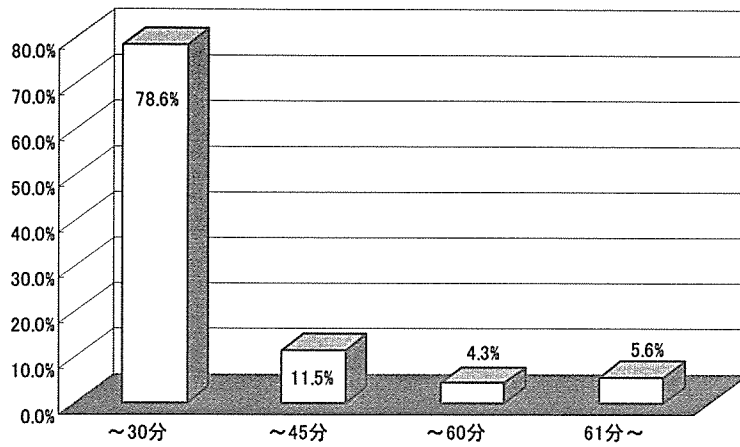


図 6-2-2 潜水時間(分)の割合

6-2-4. 最大潜水水深

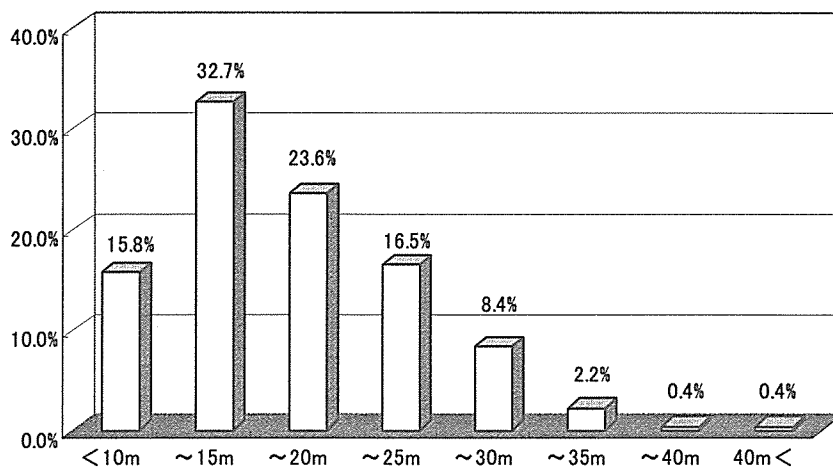


図 6-2-3 最大水深(m)の割合

6-2-5. 平均水深

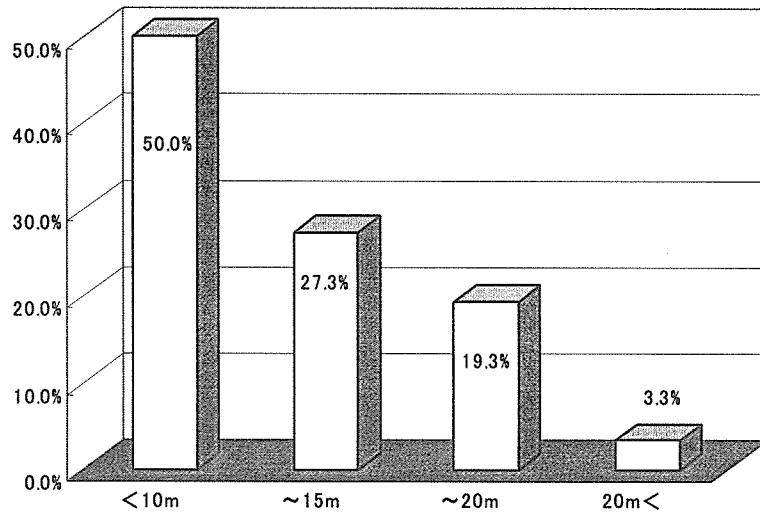


図 6-2-4 平均水深(m)の割合

6-2-6. 休憩時間

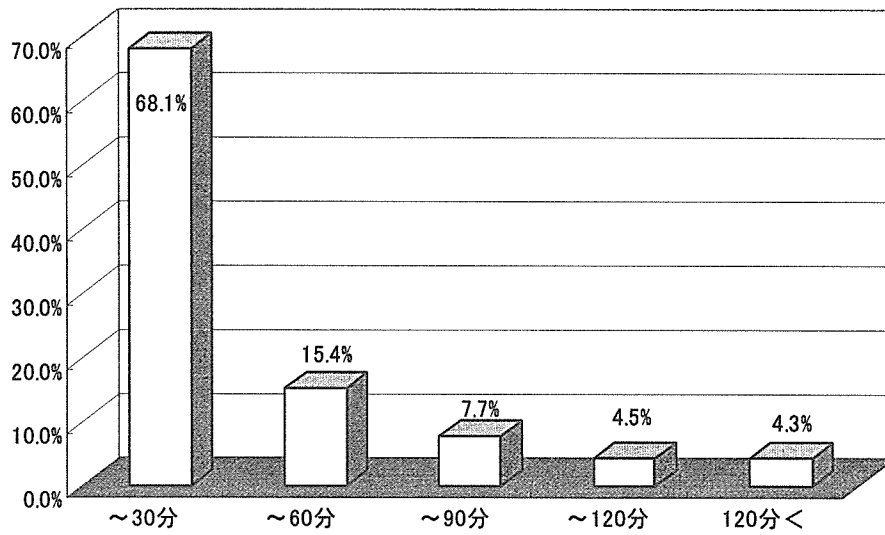


図 6-2-5 休憩時間(分)の割合

6-2-7. 最大水深と繰り返し潜水回数の関係

魚を確認した時点から浅い方へと何回かに分かれて追い込み、最終的に深度 10m 前後で揚げる一連の漁法であるため、潜水回数を重ねる毎に深度が浅くなる。

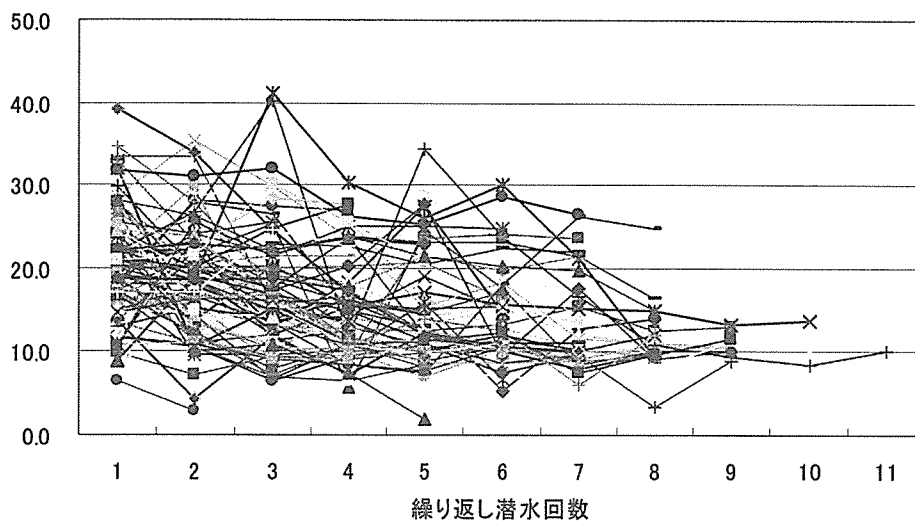


図 6-2-6 潜水者毎の最大水深(m)と繰り返し潜水回数

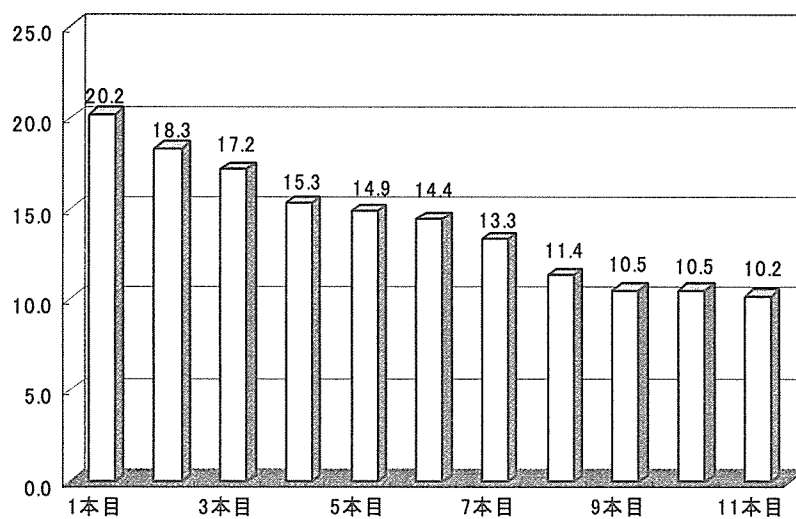


図 6-2-7 最大水深(m)と繰り返し潜水回数の平均

6-2-8. 平均水深と繰り返し潜水回数の関係

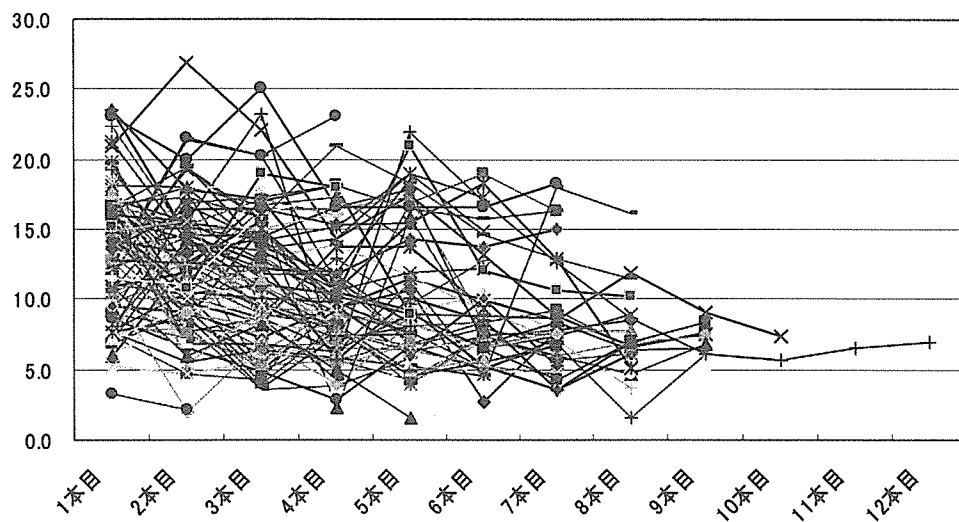


図 6-2-8 潜水者毎の平均水深(m)と繰り返し潜水回数

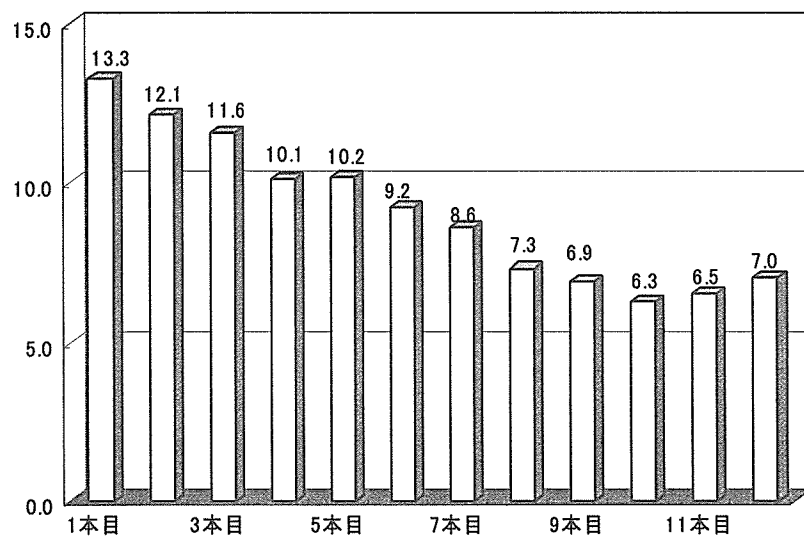


図 6-2-9 平均水深(m)と繰り返し潜水回数の平均

6-2-9. 潜水プロフィールと体内窒素ガスの一例

25m の水深から魚を追いつみ徐々に浅い方へ移動している。最終的に魚を揚げる水深を 10m 前後としているのが理解できる。

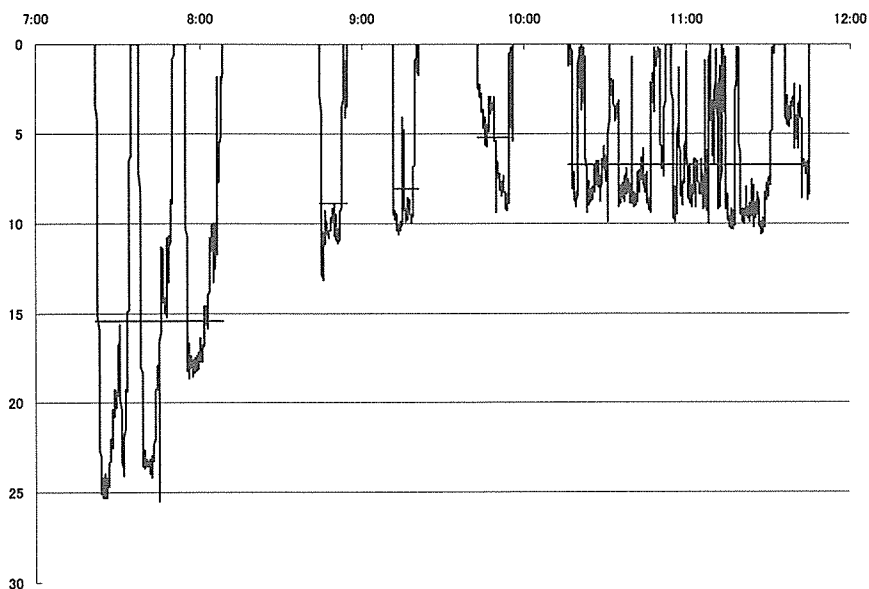


図 6-2-10 潜水プロフィールの一例(WMJ20050715)

(1 回目の最大深度 25.3m、平均深度 15.5m、潜水時間 64 分、休憩時間 17 分、
 2 回目の最大深度 13.4m、平均深度 8.9m、潜水時間 10 分、休憩時間 17 分、
 3 回目の最大深度 10.7m、平均深度 8.1m、潜水時間 9 分、休憩時間 22 分、
 4 回目の最大深度 9.3m、平均深度 5.2m、潜水時間 14 分、休憩時間 20 分、
 5 回目の最大深度 10.6m、平均深度 6.8m、潜水時間 89 分)

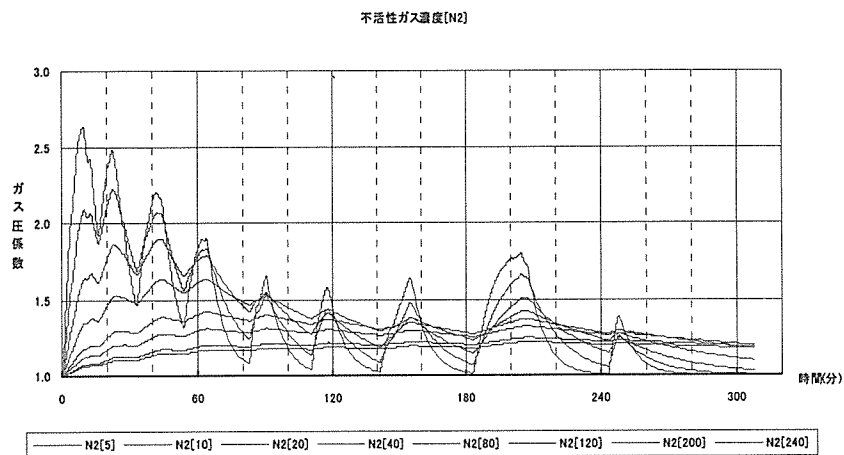


図 6-2-11 窒素ガスの変化(WMJ20050715)