

ラット酸素誘導網膜症におよぼす Vitamin E 欠乏の影響に関する実験的研究

慶大眼科

植村恭夫 秋谷 忍
矢部比呂夫

研究目的

従来、未熟児網膜症の実験モデルとして種々の幼若動物についての oxygen induced retinopathy が病態解明に多大の貢献をもたらしてきたが、Patz によると¹⁾ 動物種によって酸素感受性に差があるとされ、特に幼若ラットの酸素感受性は極めて軽微であるとされてきた。このためラットを使用した実験モデルの報告はみられなかったが、ウサギなどよりも、よりヒトに近いその網膜血管の構築や個体差の少なさを考慮すると、ラットに oxygen induced retinopathy が確実に発生させられれば意義が深いと思われる。また、在胎週数の短く、出生時体重の小さいヒト未熟児は生理的に Vitamin E 欠乏状態にあるため、高濃度の酸素負荷があると生体膜が障害されやすいとされていることから、ラットを使用した oxygen induced retinopathy に Vitamin E 欠乏がおよぼす影響を解明することは重要なことである。幼若ラットにおいて oxygen induced retinopathy が確実に発生するものか否か、また Vitamin E 欠乏がラットの oxygen induced retinopathy にいかなる影響を与えるかについて実験を行い検討した。

研究方法

実験材料には wister 系ラットを用い Ashton の方法 (80~90%酸素・大気圧下で4日間) に準じて生後1日目より4日間酸素投与後、大気中にもどし通常の飼育を行った。親ラットは4日間の高濃度酸素負荷に耐えられないため2匹の親ラットに隔日に授乳させた。網膜症の発症は墨汁注入血管標本、光学顕微鏡切片標本によって観察した。Vitamin E 欠乏についてはオリエンタル酵母糊の

ラット用 Vitamin E 欠乏食および対照食を飼料として、妊娠初期より飼育した親ラットより出産した幼若ラットを十分な量の採血の可能な生後20日まで飼育した後、心臓よりヘパリン採血し、同時に眼球を摘出し冷却下に網膜を剥離した後、両眼の網膜をあわせ1検体とし、総湿重量を測定した。血漿および網膜中の Vitamin E の同族体のうち主成分である α トコフェロールを高速液体クロマトグラフィーにて測定²⁾ した。また同様に Vitamin E 欠乏食で飼育した親ラットより出産した幼若ラットに生後1日目より前述と同様の方法で酸素投与した群と Vitamin E 欠乏食のみで酸素投与をしない群の墨汁注入血管標本作製し観察した。この際、網膜血管の伸展度は乳頭鋸状縁間の距離と乳頭と網膜血管の最先端の距離を顕微鏡用マイクロメーターで測定し、その比率で検討した。

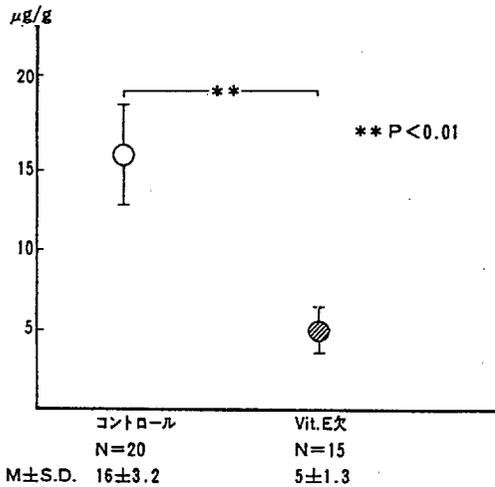
研究結果

1. 酸素負荷後、生後15日目の墨汁注入血管標本で眼底の下方と鼻側を中心に著明な網膜血管の伸びの遅延があり、Demarcation line を形成しているのが認められた。この部分を光学顕微鏡切片標本の H・E 染色で観察すると網膜神経線維層と思われる位置より、管腔内に血球成分や墨汁を有する網膜浅層血管の増殖を認めた。この増殖性変化は硝子体腔へ向い、その先端部では内境界膜を破り硝子体腔内で増殖していた。

2. 生後20日目の Vitamin E 欠乏食および対照食群の血漿中の Vitamin E 量を比較した結果、有意差 ($P < 0.01$) を認めた。また生後20日目の Vitamin E 欠乏食および対照食群の網膜中の Vitamin E 量を比較した結果 (図1)、有意の差

図 1

生後20日ラット網膜中 Vit. E

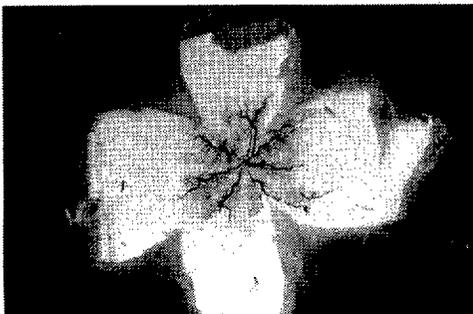


($P < 0.01$) を認めた。

3. Vitamin E 欠乏食の網膜血管を墨汁注入血管標本で観察したところ、正常の幼若ラットの網膜血管の発育に比して遅延している傾向がみられたが、retinopathy の発症の所見はみられなかった。

4. Vitamin E 欠乏食に酸素負荷を加えた群の網膜血管を墨汁注入血管標本で観察したところ、網膜血管の伸びは極端に不良であり、全体に網膜血管が拡張している所見が認められた。しかし、retinopathy の発生はみられない。図 2 は、酸素負荷後の生後10日目の墨汁注入血管標本であるが、網膜血管の伸びは極めて不良で後極部にとどまり、血管は著明に拡張、蛇行しており、未熟児網膜症の II 型を思わせる所見を呈した。酸素負荷後の生

図 2



後15日目の墨汁注入血管標本において Demarcation line を形成した oxygen induced retinopathy の発生を認めた。

考 案

Ashton の種々の幼若動物における網膜に与える酸素毒性の報告 (1967)³⁾ で、ラットおよびマウスはニワトリ、ウサギとは全く異なり高濃度酸素負荷の効果がないとしている。また、Vitamin E の効果にも言及し、酸素負荷による血管閉塞に対しては防止効果がないが、Vitamin E 欠乏は網膜血管の酸素感受性を亢進させる可能性があるとしている。従来、酸素感受性が低いとされてきたラットを今回の実験モデルに選定した理由の一つにラットの場合、Vitamin E 欠乏の飼育飼料がすでに確立されているが、ウサギなどの場合はまだないという点があった。幼若ラットに酸素負荷したところ、病理組織学的にも確認しうる oxygen induced retinopathy が再現性をもって認められた。幼若動物の網膜血管が生後に、乳頭上より網膜内に発達することが、ヒトの胎児期の網膜血管の発達過程に類似することから、発達途上の網膜血管の酸素に対する感受性の研究にモデルとして広く使用されてきたが、血管の未熟性自体は未熟児網膜症の直接の原因ではなく、血管発達を導く網膜組織の未熟性とその代謝の状態が重要な鍵を握るのではないかという、最近の傾向を踏まえると、従来の実験モデルには限界があった⁴⁾。Vitamin E は強力な抗酸化作用によって、過酸化脂質の生成を防止し、生体膜の機能を正常に保っていると考えられるが、生まれながらに生体膜が脆弱で、生理的に Vitamin E 欠乏状態にある未熟児は高濃度の酸素負荷によって、過酸化脂質が増加し生体膜が障害され、未熟児網膜症などの障害が起こるという考えがある⁵⁾。ラットを使用した動物モデルにおいて、Vitamin E 欠乏状態をつくりだせれば、ヒトの場合の在胎週数の短い、未熟性の高い状態により類似したモデルとなるわけで未熟網膜症の病態解明に極めて有用であると思われる。これまで種々の動物の網膜中の Vitamin E 量に関する報告はまれであるが、高田らの⁵⁾ 幼若ネコを用いた報告によると生後21日目の対照群で

は 4.74 ± 1.62 feg/g 湿重量であり、これに比すると今回の著者らの対照群の値は高値ではあるが、Vitamin E 欠乏食群では有意に低値を示している。このことより Vitamin E 欠乏食による飼育で網膜中も Vitamin E 欠乏状態になっていると考えられた。Vitamin E 欠乏食で飼育した群と Vitamin E 欠乏に酸素負荷した群の網膜血管を比較検討すると、Vitamin E 欠乏のみでは網膜血管の発育は遅延するが、retinopathy は発生せず、酸素負荷があってはじめて初期においては血管拡張、蛇行などの変化を示し、後に retinopathy の発生をみる。換言すれば、Vitamin E 欠乏によって未熟性が高まり、酸素感受性が亢進した状態となりこれに加えて酸素負荷があると、従来の通常の oxygen induced retinopathy ではみることのできなかった多彩な網膜血管の変化がみられたものと考えられる。

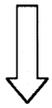
要 約

幼若ラットにおいては酸素誘導網膜症は発症する。妊娠初期より Vitamin E 欠乏食で飼育する

と出産した幼若ラットを Vitamin E 欠乏状態になし得る。Vitamin E 欠乏は網膜血管の酸素感受性を増強させる。

文 献

- 1) Arnall Patz, : Development of retinal vessels. Investigative Ophthalmology 7: 699-700, 1968.
- 2) 阿部皓一他: 血清中のトコフェロール同族体の高速液体クロマトグラフィーによる定量, ビタミン49巻7号: 259-263, 1975.
- 3) Norman Ashton, : Some aspects of the comparative pathology of oxygen toxicity in the retina. Brit. J. Ophthalm. 52:505-529, 1968.
- 4) 植村恭夫: 未熟児網膜症, 小児科診療46巻12号, 14-21, 1983.
- 5) 高田正博: 未熟網膜に対する酸素と抗酸化剤の影響, 未熟児・新生児の酸素障害 112-120, 医歯薬出版株式会社, 東京, 1981.



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



研究目的

従来,未熟児網膜症の実験モデルとして種々の幼若動物についての oxygen induced retinopathy が病態解明に多大の貢献をもたらしてきたが,Patz によると,動物種によって酸素感受性に差があるとされ,特に幼若ラットの酸素感受性は極めて軽微であるとされてきた。このためラットを使用した実験モデルの報告はみられなかったが,ウサギなどよりも,よりヒトに近いその網膜血管の構築や個体差の少なさを考慮すると,ラットに oxygen induced retinopathy が確実に発生させられれば意義が深いと思われる。また,在胎週数の短く,出生時体重の小さいヒト未熟児は生理的に VitaminE 欠乏状態にあるため,高濃度の酸素負荷があると生体膜が障害されやすいとされていることから,ラットを使用した oxygen induced retinopathy に VitaminE 欠乏がおよぼす影響を解明することは重要なことである。幼若ラットにおいて oxygen induced retinopathy が確実に発生するものが否か,また VitaminE 欠乏がラットの oxygen induced retinopathy にいかなる影響を与えるかについて実験を行い検討した。