

## 網膜光障害へのジメチルチオウレアの保護効果に ついての電気生理学的検討

大内 哲也

岩手医科大学医学部眼科学教室

### 要 約

**目的:** 網膜光障害に対するジメチルチオウレア (DMTU) の保護効果を網膜電図 (ERG) を用いて検討する。

**対象と方法:** DMTU 各群では、光障害作製の 24 時間前と作製直前にそれぞれ 250, 500, あるいは 750 mg/kg の DMTU を白色ウサギの腹腔内に投与した。対照群には、生理食塩水のみを腹腔内に投与した。光障害後の ERG a, b および c 波の振幅の光障害前のそれに対する比率 (保存率) を求め、それを対照群と各用量の DMTU 投与群間で比較した。

**結果:** 光障害 24 時間後に 750 群では、a 波の保存

率が対照群に比較して有意に大きかった。対照群の c 波振幅の保存率は著明に低下したが、500 および 750 群では c 波の保存率が対照群に比較して有意に大きかった。さらに、c 波の保存率は DMTU の投与量が大きくなるに従って増大した。

**結論:** DMTU は網膜色素上皮および視細胞の光障害に対して保護効果を持つことが電気生理学的に確認された。(日眼会誌 104:133—141, 2000)

**キーワード:** ジメチルチオウレア (DMTU), 網膜光障害, 網膜電図 (ERG), 網膜色素上皮, 視細胞

## Electrophysiological Evaluation of the Protective Effect of Dimethylthiourea against Retinal Photic Injury

Tetsuya Ouchi

Department of Ophthalmology, Iwate Medical University School of Medicine

### Abstract

**Purpose:** The protective effect of dimethylthiourea (DMTU) against photic injury of the retina was evaluated by electroretinogram (ERG).

**Methods:** In the DMTU-treated group, 250, 500, or 750 mg/kg DMTU was administered intraperitoneally to albino rabbits at 24 hours and immediately before starting light exposure to the eye. In the control group, physiological saline was injected intraperitoneally instead of DMTU. Preservation rates of ERG a-, b- and c-wave amplitudes were defined as the percentages of the post-photic injury values to the pre-photic injury ones, and were compared between the control and the DMTU-treated groups.

**Results:** In 750 mg/kg DMTU-treated group, the preservation rate of the a-wave was significantly

higher than that in the control group 24 hours after the photic injury. While the preservation rate of the c-wave was remarkably low in the control group 24 hours after the photic injury, it was significantly higher in the 500 and 750 mg/kg DMTU-treated groups. Furthermore, better preservation rates of the c-wave were noted with higher doses of DMTU.

**Conclusion:** These results suggest that DMTU protects against photic injury of the retinal pigment epithelium and photoreceptors. (J Jpn Ophthalmol Soc 104: 133—141, 2000)

**Key words:** Dimethylthiourea (DMTU), Retinal photic injury, Electroretinogram (ERG), Retinal pigment epithelium, Photoreceptor

## I 緒 言

網膜の光による障害については Noell ら<sup>1)</sup>が報告して以来、数多くの研究<sup>2)~18)</sup>がなされ、視細胞および網膜色

素上皮が光障害の主座であることが明らかになり<sup>1)~4)</sup>、さらに、網膜光障害の発生機序の一つとしてフリーラジカルの関与が推定されてきている<sup>5)~10)</sup>、フリーラジカルは脂質を過酸化することによって細胞膜に障害を与え

別刷請求先: 020-8505 盛岡市内丸 19-1 岩手医科大学医学部眼科学教室 大内 哲也

(平成 11 年 3 月 23 日受付, 平成 11 年 9 月 8 日改訂受理)

Reprint requests to: Tetsuya Ouchi, M.D. Department of Ophthalmology, Iwate Medical University School of Medicine, 19-1 Uchimarui, Morioka 020-8505, Japan

(Received March 23, 1999 and accepted in revised form September 8, 1999)

る。視細胞外節は不飽和脂肪酸を多く含み、また、周囲の酸素分圧が高い<sup>19)</sup>ので、フリーラジカルによって脂質の過酸化を受けやすい環境にある。したがって、網膜を構成する成分のうち、特に視細胞外節とそれを貪食した網膜色素上皮が光による影響を受ける<sup>11)</sup>と考えられている。

このように、網膜光障害にはフリーラジカルの存在が関与していることから、フリーラジカルの消去物質である抗酸化剤が網膜光障害に対して保護効果があることがすでに確認されている<sup>5)~10)</sup>。抗酸化剤の一つであるジメチルチオウレア(1,3-dimethyl-2-thiourea, DMTU)は水溶性の合成抗酸化剤で、フリーラジカルの中でもヒドロキシルラジカルを特異的に消去する物質である<sup>6)7)</sup>。これまでの形態学的あるいは生化学的方法による研究では、DMTUが網膜光障害に対して強い保護効果を発揮する<sup>6)7)</sup>ことが明らかにされている。しかし、DMTU自体の網膜に対する毒性の有無、および光障害に対する保護効果を網膜の機能の面から検討した報告は少なく、Hannaら<sup>18)</sup>がブタの網膜の光障害作製前にDMTUを投与し、光障害後に網膜電図(electroretinogram, ERG)のaおよびb波の振幅が保たれたとの報告のみのものである。そこで今回、DMTUの網膜毒性および網膜光障害に対する保護効果について、a, b波のみならず、網膜色素上皮の活動性をとらえ、光による網膜の障害を鋭敏に反映するc波<sup>12)13)</sup>も指標として検討した。

## II 実験方法

### 1. 対 象

体重2.5~3.5 kgの白色ウサギ31匹31眼を用いた。ウサギをキシラジン塩酸塩(セラクター<sup>®</sup>)1.5 mg/kgおよび塩酸ケタミン(ケタラール<sup>®</sup>50)25.0 mg/kgの大腿四頭筋への筋肉注射によって全身麻酔した。被検眼(左眼)をミドリリンP<sup>®</sup>と1%硫酸アトロピンの点眼によって散瞳した。

### 2. 網膜光障害作製の装置およびその方法

網膜の光障害の作製は以下の方法で行った。500 Wの白色キセノンアークランプ(XW-500, 三双製作所)(図1)を光源とし、これをウサギの角膜頂点から4 cmの距離に置いた。光源と被検眼の間に赤外線吸収フィルタ(IRA-25, 東芝化成)を設置し、熱による網膜障害を防御した。このキセノンアークランプの分光特性と赤外線吸収フィルタの透過率曲線(それぞれの製品説明書から引用)を図2に示す。ポリメチルメタクリレート製の乳白色のコンタクトレンズ型の散光板(特別注文製作, 京都コンタクトレンズ)を角膜上に置いて照射光が網膜全体に当たるようにした。今回用いた散光板は赤外線非吸収型のポリメチルメタクリレート製で、250 nm付近からの波長を透過させる<sup>20)</sup>と考えられる。したがって、今回用いた照射光の分光特性は紫外線の一部と可視光線とから成ると推測される。照射光の強度は散光板を通した角膜面上で88 W/

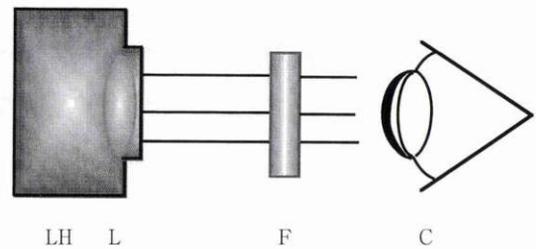


図1 網膜光障害の作製装置。

LH: キセノンアークランプ, L: 石英レンズ, F: 赤外線吸収フィルタ, C: 散光板

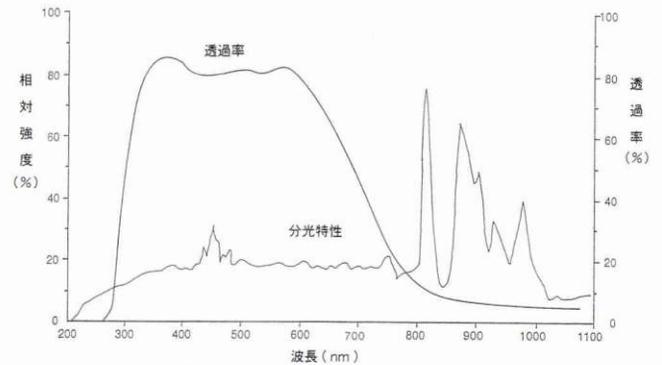


図2 キセノンアークランプの分光特性と赤外線吸収フィルタの透過率曲線。

それぞれの製品説明書から引用して作製した。今回用いた照射光の分光特性は紫外線の一部と可視光線とから成ると思われる。

m<sup>2</sup>とした。光照射は12~15時までの3時間持続して行った。網膜光障害の程度は体温によって左右される<sup>11)14)~16)</sup>ので、光照射中、直腸温を30分ごとに測定し、体温が低下した際には保温器(PS-C, サクラ精機)を用いて体温を38.9±0.6(平均値±標準偏差)℃に保った。光照射中は角膜上皮の乾燥を防ぐために生理食塩水を5分ごとに、ヒドロキシエチルセルロース(スコピゾル<sup>®</sup>15)を15分ごとに点眼した。

### 3. 薬物投与法

#### 1) DMTUのERG波形への影響(図3)

まず、DMTU自体によるERG波形への影響を検討するため、750 mg/kgのDMTU(Aldrich Chemical Inc)を生理食塩水10 mlに溶解し、これを5匹のウサギへ24時間間隔で2回(各12時)(合計1,500 mg/kg)腹腔内投与した。DMTU投与前(10時)および2回目の投与から27時間後(DMTU1回目投与前から51時間後)の15時にERGを下記の方法で記録し、ERG各波の振幅を投与前後で比較した。

#### 2) DMTUの網膜光障害防御作用(図4)

DMTUの250(250群, n=5), 500(500群, n=5)あるいは750 mg/kg(750群, n=7)を生理食塩水10 mlに溶解し、光障害を作製する24時間前および直前の2回(合計

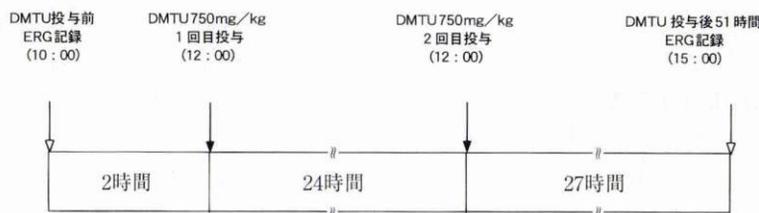


図3 1,3-dimethyl-2-thiourea (DMTU)の網膜電図波形に及ぼす影響の実験方法.

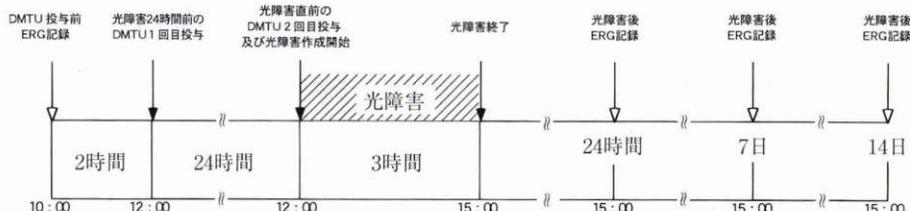


図4 DMTU 投与, 網膜光障害作製ならびに網膜電図記録の時間関係.

それぞれ 500, 1,000 および 1,500 mg/kg), ウサギの腹腔内に投与した. その後に上記の光障害を作製し, ERG を下記の方法で記録した. 対照 (n=9) としては生理食塩水 10 ml を, DMTU 投与の場合と同様に腹腔内に 2 回投与した.

4. ERG 記録のための光刺激装置

ERG 記録のための光刺激の光源として, 別の 500 W の白色キセノンアークランプ (XW-500, 三双製作所) を直流安定化電源 (XD-25, 三双製作所) で点灯し, 刺激光の光路に中性フィルタおよびオプティカルウエッジフィルタを置いた. さらに, 刺激光を電磁シャッターを経て, ファイバーオプティクスを通して角膜面上 2 cm の位置に導いた (図 5). 刺激光の照度は角膜面上での照度計 (PI-303 B, トプコンメディカルジャパン) による測定で  $37 \times 10^3$  lux であり, これを 0 log unit とし, ERG a, b あるいは c 波の記録にそれぞれ 0, -2.5, あるいは -3.0 log unit の強度を用いた. 刺激持続時間は電磁シャッターによって a, b 波の記録には 100 msec, c 波では 5 sec とした.

5. ERG の記録法

ERG 記録用電極として, 関電極としては a, b 波の記録にはコンタクトレンズ型の金電極 (京都コンタクトレンズ) を用いた. c 波の記録には自作した亜鉛・硫酸亜鉛不分解電極を用い, 関電極を永田式の電極用コンタクトレンズ (京都コンタクトレンズ) によって角膜上に固定した. 不関電極および接地電極としては, a, b 波の記録には円盤状銀皿電極を, c 波の記録には亜鉛・硫酸亜鉛不分解電極を用い, いずれの記録の場合も, 不関電極を被験眼と同側の, 接地電極は対側の耳介に設置した.

a, b 波の記録は交流増幅器 (VC-11, 日本光電) を用い, low および high cut filter をそれぞれ 1.5 Hz と 1 kHz に設定した. c 波は直流増幅器 (AD-610 G, 日本光電) を

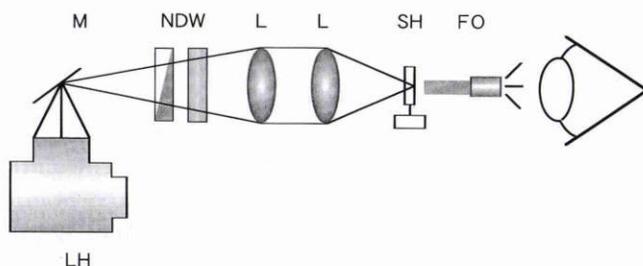


図5 網膜電図記録のための光刺激装置.

LH: キセノンアークランプ, M: 表面鏡, NDW: 中性フィルタとオプティカルウエッジの混合型フィルタ, L: レンズ, SH: 電磁シャッター, FO: ファイバーオプティクス

用いて記録した.

ERG の記録は全例について DMTU 投与前 (10 時) と光障害後 24 時間 (15 時) に, また, 対照群の 9 眼中 4 眼および 750 群の 7 眼中 3 眼については 7 日および 14 日後の時点 (いずれも 15 時) に, 暗順応下で行った.

40 分間の前暗順応の後に, a, b 波を 0.5 sec 間隔で 5 回記録し, 次いでその 40 分後に c 波を 1 回記録した. a, b 波について, 0.5 sec 間隔で行った 5 回の記録の 1 回目と 5 回目では, 振幅は不変であった. a, b 波の振幅は, 5 回記録を加算した波形について検討した. a 波では基線から a 波の最低点まで, b 波では a 波の最低点から b 波の頂点までを, c 波では基線からその頂点までを計測した.

DMTU 投与の各群および対照群について, ERG a, b および c 波の光障害前の振幅に対する光障害後の振幅の比率を保存率 (%) と定義して検討した. 結果の数値は Student's unpaired t-検定で有意差を求め, 危険率  $p = 0.05$  未満を有意とした. DMTU の ERG 波形に及ぼす影響を調べる際には, Student's paired t-検定を行った.

### III 結 果

#### 1. DMTU の ERG 波形に及ぼす影響

DMTU 自体の ERG 波形に及ぼす影響をみるために、DMTU 750 mg/kg を 2 回(合計 1,500 mg/kg)投与したウサギのうちの 1 眼の DMTU 投与前および投与 27 時間後(DMTU 1 回目投与から 51 時間後)の ERG 波形の例を図 6 に示す。DMTU 投与の前後で ERG の波形および a, b, c 波振幅に明らかな変化はみられなかった。

5 眼から得られた DMTU 投与前の ERG a, b および c 波振幅の平均値±標準偏差はそれぞれ75.0±17.1, 118.8±36.7 および 204±53.7 μV であり、DMTU 投与後はそれぞれ 68.8±9.9, 117.5±38.4 および 200±51.0 μV であった。いずれの波の振幅も DMTU 投与によって有意な変化を示さなかった。

#### 2. 対照群および DMTU 各群における光障害前後の ERG の変化

図 7 に対照群ならびに DMTU 各群のうちの各 1 眼ず

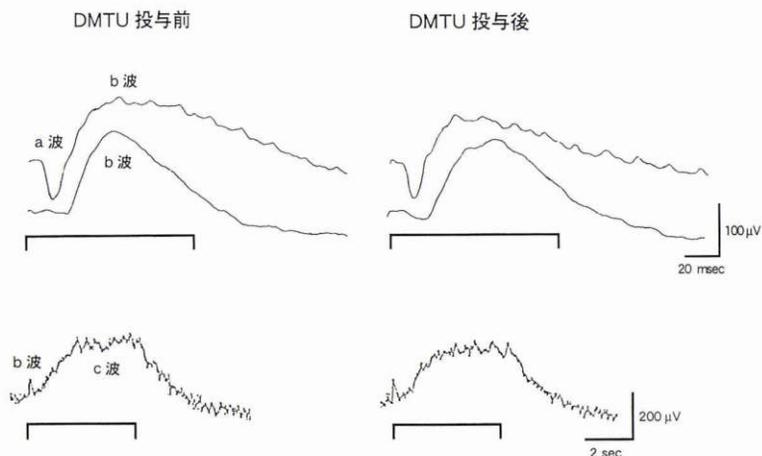


図 6 DMTU 投与前後の網膜電図の代表波形。

DMTU 投与前後で網膜電図 a, b および c 波のいずれにも明らかな波形変化はみられない。

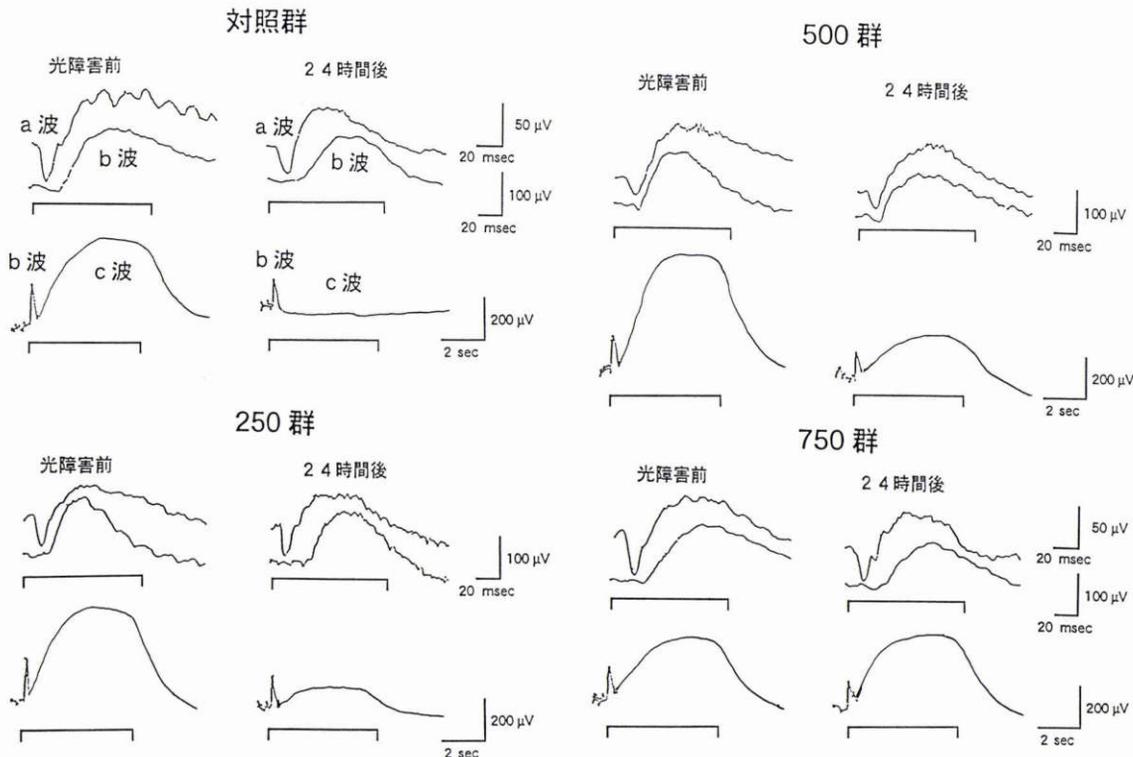


図 7 対照群および DMTU 各群の網膜光障害前後の網膜電図の代表波形。

対照群では光障害 24 時間後に a および b 波振幅の保存率の低下は軽度であったが、c 波振幅の保存率は著明に低下し、平坦な波形となった。DMTU 各群では、光障害後の c 波振幅の保存率が投与量に依存して良好に保たれた。

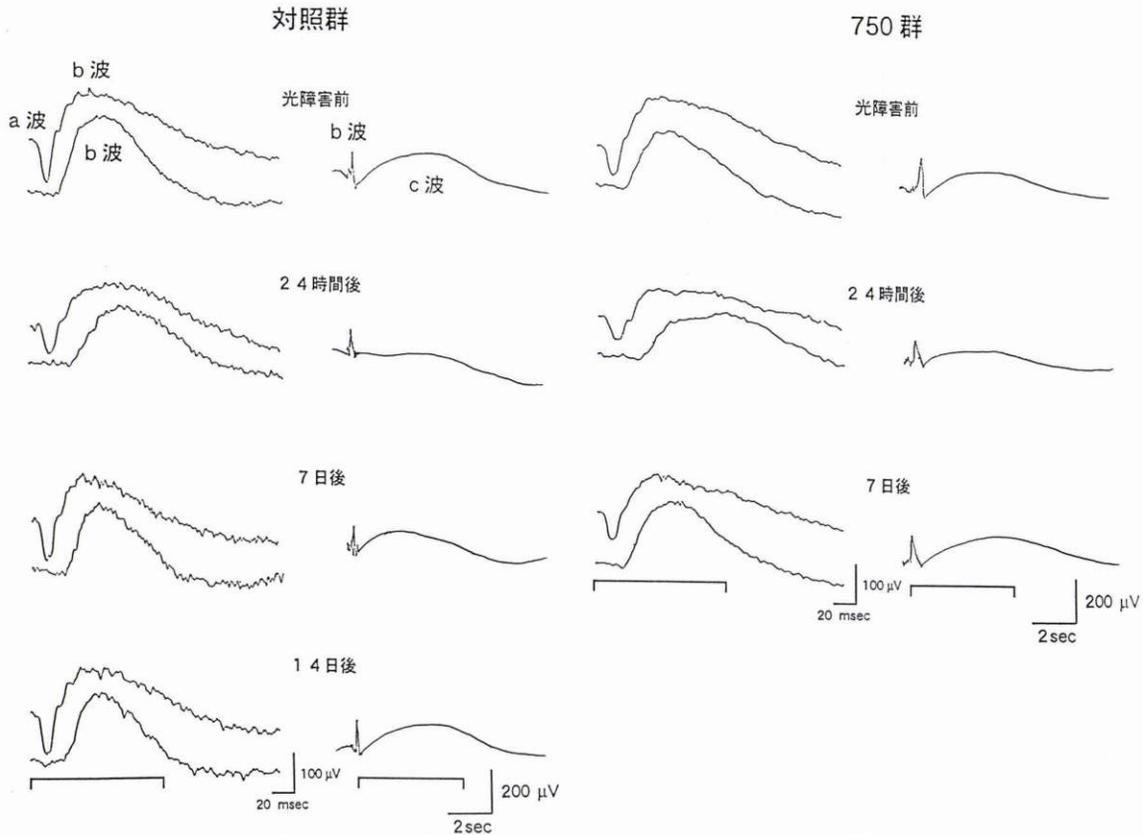


図8 対照群および750群の網膜光障害前から網膜光障害14日後までの網膜電図の代表波形。

対照群では光障害14日後に光障害前の振幅にほぼ回復した。一方、750群では光障害7日後に光障害前の振幅にほぼ回復した。

つについて、光障害前および障害24時間後のERG a, b および c 波の波形の代表例を示す。対照群では、光障害24時間後に a および b 波振幅の保存率がそれぞれ70.6 および74.1%であった。一方、c 波振幅の保存率は0%と著明に低下し、波形は平坦となった。DMTU 群では、投与したDMTUの投与量が多いほど、光障害後の各波振幅の保存率が良好に保たれる傾向が観察され、特にc波においてその傾向が明瞭であった。図8には対照群および750群における光障害前、障害24時間、7日および14日後のERGの代表波形を示す。この代表波形におけるERG各波振幅の保存率は、対照群ではa, b およびc波において障害24時間後にそれぞれ70.6, 74.2, 0%に低下し、障害7日後では94.1, 83.8, 66.7%となり、障害14日後にはほぼ障害前の振幅にまで回復した。750群ではa, b およびc波振幅の保存率が障害24時間後にそれぞれ75.1, 72.0, 71.4%に低下し、障害7日後にはほぼ障害前の振幅にまで回復した。750群の全例においては、この代表波形と同様の経過を示したので、ERGの記録を光障害7日後までとした。

#### 1) a 波振幅の保存率(図9, 10)

図9に光障害24時間後の対照群およびDMTU各群におけるERG各波の保存率の平均を示した。対照群におけるa波振幅の保存率は70.8±10.7%であり、250,

500 および750群ではそれぞれ76.2±20.3, 80.2±11.7 および83.1±9.4%であった。これらのDMTU群における保存率は、いずれの投与量でも対照群におけるそれよりも大きく、また、投与量に依存して保存率が大きくなる傾向を示し、特に750群では対照群に比較して有意( $p < 0.05$ )に大きかった。しかし、250群と500群および500群と750群の間では有意の差はなかった。図10の上段には対照群( $n=4$ )における、下段には750群( $n=3$ )における光障害前から14日後までのERG a, b, c 波の保存率の経過を示す。対照群におけるa波振幅の保存率は、24時間後に72.8±11.8%であったが、7日後に84.5±19.0%となり、14日後には97.3±5.4%に回復した。一方、750群ではa波振幅の保存率は、24時間後に77.8±6.9%であったが、7日後には96.9±5.3%となり、対照群におけるそれに比較して有意差はなかったが良好な回復を示した。

#### 2) b 波振幅の保存率(図9, 10)

光障害24時間後のb波振幅の保存率は、対照群では66.9±7.2%であり、250, 500 および750群ではそれぞれ72.5±8.5, 73.8±11.4 および76.3±10.8%であった(図9)。a波と同様にDMTU群におけるb波振幅の保存率は、対照群に比較するといずれの投与量でも大きく、投与量に依存して大きくなる傾向を示したが、どの投与量

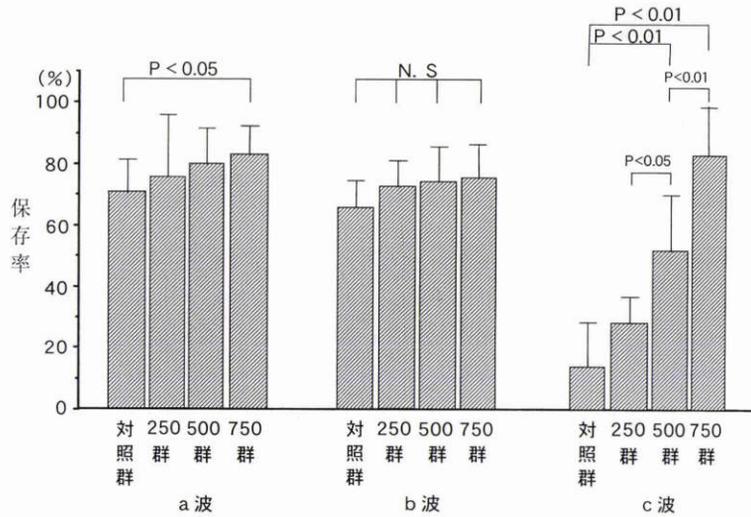


図9 光障害 24 時間後の対照群 (n=9) および DMTU 各群の網膜電図各波の保存率。

250 群 (n=5), 500 群 (n=5), 750 群 (n=7), NS: 有意差なし

a 波においては 750 群で保存率が対照群に比較して有意に大きかった。b 波の保存率は DMTU の投与量に依存して大きくなる傾向はあったが、対照群と比較して有意ではなかった。c 波においては 500 群および 750 群で保存率が対照群に比較して有意に大きかった。

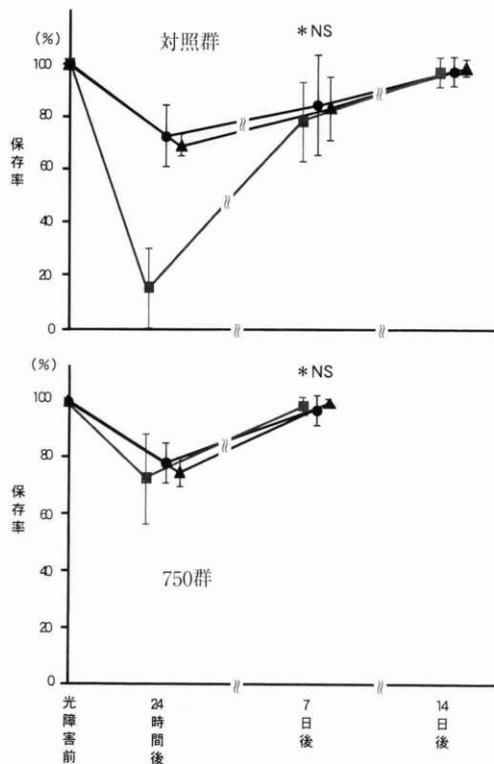


図10 対照群および 750 群の網膜光障害前から網膜光障害 14 日後までの網膜電図各波の保存率の経過。

対照群の各波は、光障害 7 日後に約 80% に回復し、14 日後まで回復傾向を示した。750 群では各波の保存率が光障害 7 日後には、ほぼ 100% となり、対照群と比較し有意ではなかったが、良好な回復を示した。上段：対照群 (n=4)、下段：750 群 (n=3)。●：a 波、▲：b 波、■：c 波、NS：有意差なし

においても対照群、750 群ともに b 波振幅の保存率は a 波振幅の保存率と同様の経過を示し、750 群では a 波と同様に対照群に比較して有意を示さなかったが、b 波振幅の回復が良好であった。

3) c 波振幅の保存率 (図 9, 10)

光障害 24 時間後の c 波振幅の保存率は、対照群では 14.0 ± 15.1% であり、a および b 波振幅と比較すると、光障害による振幅の減少は著明であった。250, 500 および 750 群の c 波振幅の保存率はそれぞれ 27.9 ± 8.6, 51.1 ± 18.1 および 83.3 ± 15.5% であった (図 9)。DMTU 群の c 波振幅の保存率は対照群と比較すると、いずれの投与量でも大きく、投与量に依存して大きくなる傾向を明瞭に示した。対照群と比較して 250 群では有意差を示さなかったが、500 および 750 群では対照群よりも有意に (p < 0.01) 大きかった。また、250 と 500 群の間 (p < 0.05)、および 500 と 750 群の間 (p < 0.01) においても有意差があり、DMTU の投与量が大きいかほど、保存率は大きかった。また、図 10 に示すように、7 日および 14 日後の対照群における c 波振幅の保存率は、24 時間後に 13.8 ± 16.0% であったが、7 日後には 77.9 ± 15.1%、14 日後には 97.2 ± 5.6% となり、7 日および 14 日後では a および b 波振幅の保存率にほぼ等しかった。これに対して、750 群では c 波振幅の保存率は、24 時間後に 72.5 ± 15.9% であり、7 日後には 98.1 ± 3.2% となり、a および b 波振幅の保存率に類似した経過を示した。

IV 考 按

網膜への光照射によるフリーラジカルの発生によって惹起される障害を軽減するとされる薬物を用いて、その効果を組織化学的に検討した結果の報告はいくつかみら

においても対照群との間および各投与量間で有意の差を示さなかった。また、図 10 に示した 7 日および 14 日後に

れる。例えば, Organisciak ら<sup>5)</sup>は抗酸化剤であるアスコルビン酸をラット網膜の光障害作製の 24 時間前と作製直前に腹腔内に投与した場合には, 光障害による外顆粒層の視細胞核の減少とロドプシン量の減少とが軽微であったとして, アスコルビン酸の有効性を報告した。湖崎ら<sup>9)</sup>は長波長を除いたキセノン光を有色ウサギに照射した場合に, 対照群では網膜色素上皮が 12 時間後には壊死に陥っていたのに対し,  $\alpha$ -トコフェロール投与群では網膜色素上皮の障害が軽度であったことを報告した。

DMTU を用いた組織学的研究としては, Organisciak ら<sup>7)</sup>がラットの腹腔内に DMTU を光障害作製の 24 時間前と作製直前に投与した報告がある。その結果, アスコルビン酸の場合と同様に, DMTU 投与群では光障害による外顆粒層の視細胞核の減少とロドプシンの減少が軽度であったことから, DMTU がフリーラジカルの主な標的となる視細胞外節膜の不飽和脂肪酸の減少を防ぎ, その保護効果はアスコルビン酸よりも大きかったことを報告している。しかし, これまでに DMTU の光障害に対する網膜機能の保護効果を電気生理学的に検討した報告は少なく, 特に c 波までを含めた報告はないようである。

DMTU は合成抗酸化剤<sup>6)7)</sup>であるため, 生体に内在するアスコルビン酸,  $\alpha$ -トコフェロールあるいはスーパーオキシドディスムターゼなどの抗酸化剤とは異なり, 生体に有害となることも危惧される。そこで今回, まず, DMTU 自体の網膜に対する毒性を ERG を用いて検討した。今回の研究で用いた DMTU のうち最も投与量の大きい 750 mg/kg の投与後 51 時間で, ERG 各波に明らかな変化はなかった。

Lam ら<sup>6)</sup>によると, DMTU の半減期は約 19 時間であったと報告されている。投与後 7 日および 14 日において白色ウサギの体内に DMTU はほとんど存在しなくなると考えられたため, 今回は光障害を加えず, DMTU を投与した 5 眼においては投与後 7 日および 14 日には ERG の記録を行わなかった。しかし, DMTU を投与した光障害作製 7 日後の 750 群の 3 眼においては ERG 振幅の良好な回復がみられた。さらに, 今回と同じ投与量の DMTU 投与の網膜組織への影響をみた報告でも, 明らかな形態学的変化は生じていない<sup>6)7)</sup>。したがって, 今回の DMTU の投与量では, 網膜色素上皮を含めた網膜外層および内層に明らかな機能的障害を引き起こさないと推測される。

光障害によって生じる ERG 各波の波形変化は特徴的であった。すなわち, 今回作製した程度の光障害では, a および b 波振幅の保存率はいずれも 65~70% であって同じ程度であった。この a 波の変化が今回の光障害の視細胞への影響の程度を示しており, 光障害後に a 波振幅の回復もみられたことから, 視細胞の障害は不可逆的なものではなく, 軽度なものであったと考えられる。b 波については, 湖崎ら<sup>4)9)</sup>が今回と同様の光障害作製条件にお

いて網膜内層に組織学的変化はなかったと報告していることから, b 波の光障害後の振幅の低下は主に視細胞の障害を反映したものと考えられる。

c 波振幅の光障害 24 時間後の保存率(約 14%)は a および b 波に比較して著しく低かった。c 波は ERG 成分の陽性波の PI と陰性波の PIII の総和であり, PI は視細胞および網膜色素上皮に由来し, PIII は視細胞由来の fast PIII と Müller 細胞由来の slow PIII とから成る。また, c 波は光刺激によって惹起される網膜色素上皮細胞の apical membrane の過分極によって生じ<sup>21)</sup>, 網膜色素上皮の活動性を反映するとともに, 視細胞の活動性および視細胞と網膜色素上皮間の接合状態にも影響される。c 波振幅低下の一因に視細胞の障害を挙げることができるが, 視細胞の障害のみを反映したとすれば, 保存率は a, b 波と同程度に留まると考えられ, c 波振幅の著明な低下の説明としては不十分である。Kuwabara<sup>11)</sup>によると, 光障害後には網膜下に変性脱落した視細胞外節が蓄積し, 視細胞と網膜色素上皮の正常な接合が損なわれていたという。しかし, 光障害後の a 波振幅の低下が軽度であったことから, これらの変化も c 波振幅低下の主因とは考えにくい。したがって, c 波振幅の著明な低下は光障害によって生じた網膜色素上皮自体の変化が反映されていると推察される。また, 著者ら<sup>13)</sup>は以前の報告において, 光障害後に c 波が消失し, 陰性の slow PIII 様の波形となったことを報告した。今回は光障害後に c 波は陰性波にはならず, ほぼ平坦な波形となった。今回, c 波が光障害後に陰性波にならなかったのは, 前報<sup>13)</sup>では光照射を 4 時間行ったのに対し, 今回は 3 時間であったため網膜色素上皮の障害が軽度であり, 陽性の PI 成分が比較的保たれたためと考えられる。

今回, DMTU の投与に際しては, Organisciak ら<sup>7)</sup>が最も効果的であったとする投与法に従い投与した。Organisciak ら<sup>7)</sup>によると, DMTU は 1 回目投与後 4 時間で眼組織濃度がピークに達し, その後, 徐々に減少したが, 2 回目を投与することにより, その 4 時間後には濃度が 1 回目のピーク時の約 2 倍であったとしている。また, Lam ら<sup>6)</sup>は DMTU を光照射 3 時間前に 1 回投与した場合に, その 2 時間後に DMTU の眼組織濃度がピークに達し, その半減期は約 19 時間であったとしている。そのため, 今回は DMTU の眼組織濃度をより高めるため, 光照射を行う 24 時間前と光照射直前の 2 回にわたって投与した。その結果, 500 群では c 波において, 750 群では a および c 波において保存率が対照群に比較して有意に大きかった。特に 750 群では c 波振幅の保存率が  $83.3 \pm 15.5\%$  と良好であったことから, DMTU の光障害前の投与は網膜色素上皮および視細胞の光障害を軽減すると思われる。これまで光障害による網膜色素上皮の障害は, 主に熱効果によるものと視細胞の障害によって生じる二次的なものが考えられてきた<sup>11)</sup>。しかし, 湖崎ら<sup>4)9)</sup>は視細胞に

先立って網膜色素上皮に光による障害が生じ、 $\alpha$ -トコフェロールの投与によってその障害が軽減することを報告した。ミトコンドリアは脂質含量が多い細胞内小器官であり、脂質過酸化を受けやすい<sup>17)</sup>。このため、光照射によって網膜色素上皮細胞内のミトコンドリアに発生したフリーラジカルが網膜色素上皮の障害を惹き起こすのではないかと湖崎ら<sup>9)</sup>は推測している。今回、フリーラジカルの消去物質である DMTU の投与によって c 波振幅が著明に保たれたことは、網膜色素上皮内で光照射によって発生するフリーラジカルに対して DMTU が抗酸化作用を示したと考えられる。

c 波の保存率は、a および b 波とは異なり、DMTU の投与量に依存して著明に大きかった。DMTU の腹腔内投与 24 時間後の濃度は、網膜色素上皮および脈絡膜においては網膜よりも 4~5 倍高く<sup>7)</sup>、投与量に応じて増大する<sup>6)</sup>とされている。したがって、DMTU 投与量が大きくなるほど、網膜色素上皮に高濃度に供給され、網膜色素上皮の光障害に対して抗酸化作用を発揮したものと考えられる。

光障害後、後期における ERG 波形の変化をみると、今回の光障害の作製条件では、750 群では 7 日、対照群では 14 日で光障害作製前の振幅にほぼ回復した。しかし、Organisciak ら<sup>7)</sup>によると、DMTU を光障害作製後に投与した場合には保護効果はなかったことから、DMTU には障害された網膜の修復を促進する作用はないものと考えられ、光障害時に存在しなければ保護効果はないものと考えられる。

以上のように、DMTU 自体では ERG 波形の明らかな変化がみられなかったことから、今回の濃度の DMTU は組織学的<sup>6)7)</sup>にも電気生理学的にも網膜毒性を示さないと考えられた。また、DMTU によって a および c 波に対する光障害が軽度にとどまったことから、DMTU を光障害の前に投与することは視細胞および網膜色素上皮の光障害に対して保護効果を持ち、特に網膜色素上皮に対する効果が大きいことが電気生理学的に確認された。

今回の結果およびこれまでの DMTU に関する報告<sup>6)7)18)</sup>から、DMTU 自体の網膜に対する毒性はある程度否定できるが、その投与方法の多くは腹腔内投与である。Hanna ら<sup>18)</sup>は静脈内投与を行っているが、生体に対する毒性などについては検討しておらず不明である。また、投与時期が光障害前であり、投与量も大量であることから、現在の段階では臨床へ直接結びつくものではない。しかし、DMTU の予防的投与が網膜光障害に対して有効である可能性が推定され、さらには虚血による網膜障害の発生機序にもフリーラジカルが関与し、抗酸化剤の投与が有効であったとの報告<sup>22)</sup>もあることから、DMTU は今後臨床応用へ向けて投与の方法、時期あるいは量など、さらに基礎的研究を積み重ねる必要があると思われる。

稿を終えるに当たり、ご指導とご校閲を賜りました岩手医科大学眼科学教室田澤 豊教授に深謝いたします。また、終

始ご指導いただいた町田繁樹講師に感謝申し上げます。

## 文 献

- 1) Noell WK, Walker VS, Kang BS, Berman S: Retinal damage by light in rats. Invest Ophthalmol 5: 450—473, 1966.
- 2) Noell WK: There are different kinds of retinal light damage in the rat. In: Williams TO, et al (Eds): The Effects of Constant Light on Visual Processes. Plenum Press, New York, 3—28, 1980.
- 3) Tso MOM, Woodford BJ: Effect of photic injury on the retinal tissues. Ophthalmology 90: 952—963, 1983.
- 4) 湖崎 淳, 竹内正光, 高橋寛二, 山岸和矢, 大熊 紘, 宇山昌延: 有色家兎における網膜光障害—1. 障害の発生と修復過程の病理組織学的研究—. 日眼会誌 98: 738—748, 1994.
- 5) Organisciak DT, Wang HM, Li ZY, Tso MOM: The protective effect of ascorbate in retinal light damage of rats. Invest Ophthalmol Vis Sci 26: 1580—1588, 1985.
- 6) Lam S, Tso MOM, Gurne DH: Amelioration of retinal photic injury in albino rats by dimethylthiourea. Arch Ophthalmol 108: 1751—1757, 1990.
- 7) Organisciak DT, Darrow RM, Jiang YL, Marak GE, Blanks JC: Protection by dimethylthiourea against retinal light damage in rats. Invest Ophthalmol Vis Sci 33: 1599—1609, 1992.
- 8) 平光忠久, 大城三和子: 紫外線照射による過酸化脂質形成と活性酸素消去酵素. あたらしい眼科 5: 1024—1026, 1988.
- 9) 湖崎 淳, 竹内正光, 高橋寛二, 山岸和矢, 大熊 紘, 宇山昌延: 有色家兎における網膜光障害—2.  $\alpha$ -トコフェロールの効果—. 日眼会誌 98: 948—954, 1994.
- 10) 湖崎 淳, 竹内正光, 高橋寛二, 山岸和矢, 大熊 紘, 宇山昌延: 網膜光障害における  $\alpha$ -トコフェロールの保護効果—ニトロブルーテトラゾリウム染色による検討—. 日眼会誌 99: 161—165, 1995.
- 11) Kuwabara T: Photic and photo-thermal effects on the retinal pigment epithelium. In: Zinn KM, et al (Eds): The Retinal Pigment Epithelium. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts and London, 293—313, 1979.
- 12) Skoog KO, Jarkman S: Photic damage to the eye: Selective extinction of the electroretinogram. Doc Ophthalmol 61: 49—53, 1985.
- 13) 大内哲也, 町田繁樹, 田澤 豊: 網膜光障害時の網膜電図 a, b および c 波の変化. 眼紀 45: 952—955, 1994.
- 14) de Lint PJ, van Norren D, Toebosch AW: Effect of body temperature on threshold for retinal light damage. Invest Ophthalmol Vis Sci 33: 2382—2387, 1992.
- 15) Organisciak DT, Darrow RM, Noell WK, Blanks JC: Hyperthermia accelerates retinal light damage

- in rats. Invest Ophthalmol Vis Sci 36: 997—1008, 1995.
- 16) 森 圭介, 米谷 新, 林 直樹, 阿部友厚: 青色光による網膜障害と眼底の冷却効果. 日眼会誌 101: 633—638, 1997.
- 17) 藤田 直: ビタミン E とミトコンドリア. 福場博保, 他(監), 五十嵐修(編): ビタミン E—基礎と臨床—. 医歯薬出版, 東京, 116—122, 1985.
- 18) Hanna N, Peri KG, Abran D, Hardy P, Doke A, Lachapelle P, et al: Light induces peroxidation in retina by activating prostaglandin G/H synthase. Free Radic Biol Med 23: 885—897, 1997.
- 19) Linsenmeier RA: Effects of light and darkness on oxygen distribution and consumption in the cat retina. J Gen Physiol 88: 521—542, 1986.
- 20) 市川一夫: 術後視機能—各種レンズの特性から—, 臨眼 47: 180—183, 1993.
- 21) Oakley B II, Green DG: Correlation of light-induced change in retinal extracellular potassium concentration with the c-wave of the electroretinogram. J Neurophysiol 39: 1117—1133, 1976.
- 22) 加藤千晶: 電気生理学的にみた網膜の虚血—再灌流障害に対する抗酸化剤の役割. 日眼会誌 99: 552—557, 1995.
-