

# 眼内水素イオン濃度に関する研究

—正常家兎眼におけるジアテルミー凝固の影響—

松橋 香里, 堀内 二彦, 椎名 一雄, 高橋 寧子

東京慈恵会医科大学眼科学教室

## 要 約

我々は微小アンチモン pH 電極 (Micro Antimon pH 電極#801, Diamond Electro-Tech 社) を眼内に挿入して, 白色家兎の硝子体および網膜の pH を経時的に測定した. 実験は全身麻酔・自発呼吸下で行い, 随時血液ガス分析装置にて全身状態を確認した. さらにジアテルミーを用いて実験的な微小循環障害を作成し, 網膜 pH に与える影響について検討した. 結果は以下のとおりである. ①動脈血 pH の平均値は  $7.45 \pm 0.03$  ( $n=24$ ) であった. ②硝子体 pH の平均値は  $7.41 \pm 0.11$  ( $n=24$ ) で, 動脈血 pH とほぼ等しいか, 若干酸性側を示したが, 両者の間に統計学的な有意差はみられなかった. ③網膜 pH の平均値は  $7.31 \pm 0.11$  ( $n=22$ ) で, 硝子体の pH より酸性側を示した ( $p < 0.01$ ). ④経強膜的にジアテルミー凝固を行った後, 3週目に同様の方法で pH を測定したところ, 凝固斑内の pH は  $6.87 \pm 0.39$  ( $n=10$ ) で健常網膜にくらべて低値を示した ( $p < 0.01$ ). 本装置は眼内局所 pH の連続測定が可能であり, 網膜循環障害の基礎研究に有用と思われる. (日眼会誌 95: 1094-1098, 1991)

キーワード: pH, 微小電極, 網膜, 硝子体, 白色家兎

## Studies on Intraocular Hydrogen Ion Concentration The Effect of Diathermy Coagulation for Normal Albino Rabbits' Eye

Kaori Matsuhashi, Tsugihiko Horiuchi, Kazuo Shiina  
and Yasuko Takahashi

*Department of Ophthalmology, The Jikei University School of Medicine*

### Abstract

The vitreous and intra-retinal pH of anesthetized albino rabbits were measured using an antimony pH microelectrode (Micro Antimon pH Electrode No. 801, Diamond Electro-Tech Co. Ltd). The effect for the retinal pH was observed after regional choroidal circulatory disturbance was synthesized by trans-scleral diathermy. The results showed that the arterial blood pH was  $7.45 \pm 0.03$  ( $n=24$ ). The average vitreous pH was  $7.41 \pm 0.11$  ( $n=24$ ), which was almost equal to or slightly lower than that of the arterial blood. There were no statistical significance between the two. The average retinal pH was  $7.31 \pm 0.11$  ( $n=22$ ), which was lower statistically than that of the vitreous ( $p < 0.01$ ). The retinal pH was measured in the same way 3 weeks after the trans-scleral diathermy. Those within the coagulation scar showed pH value of  $6.87 \pm 0.39$  ( $n=10$ ). This is lower than those in a normal retina ( $p < 0.01$ ).

別刷請求先: 105 港区西新橋 3-25-8 東京慈恵会医科大学眼科学教室 松橋 香里  
(平成 2 年 6 月 1 日受付, 平成 3 年 3 月 20 日改訂受理)

Reprint requests to: Kaori Matsuhashi, M.D. Department of Ophthalmology, The Jikei University School of Medicine.

3-25-8 Nishi-shinbashi, Minato-ku 105, Japan

(Received June 1, 1990 and accepted in revised form March 20, 1991)

This instrument allows continuous pH measurements of the intraocular tissue and therefore it is thought to be useful for the studies of retinal circulatory disturbances. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 95: 1094-1098, 1991)

Key words: pH, Micro-electrode, Retina, Vitreous, Albino rabbit

### I 緒言

組織内の水素イオン濃度は、組織の虚血状態、炎症、浮腫、壊死などの病態を反映して刻々と変化する。したがって眼内の水素イオン濃度を測定することは、網膜循環障害ならびに網膜代謝の指標の1つとして意義のあるものと思われる。今回我々は、先端部の直径が極めて細い微小 pH 電極を眼内に挿入し、網膜および硝子体の pH 測定に成功したので報告する。また経強膜的にジアテルミー凝固を行って網膜の局所循環障害を作成し、pH に対する影響についても検討したので合わせて報告する。

### II 装置および方法

#### 1. 実験装置

実験装置は、Diamond Electro-Tech社製の Electro-Chem Analyzer Product No. 1300を使用した。電極は、指示電極 (pH 電極)として Micro Antimony pH Electrode (No. 801)を、比較電極として Mini Reference Electrode (No. 401)を用いた。

pH 電極は直径80μmの針状電極で、組織内の局所 pH を測定する目的で開発されている。その特性は、電気的インピーダンスは10<sup>5</sup>オーム、pH の測定範囲は 0 ~14、測定感度は0.01pH 以内、反応時間 (98%)は 3 分であった。

電極は、pH 4.7の東亜電波工業社製 pH 標準液を用いて較正を行った。測定値は本装置のデジタル表示を直読し、さらに理化電機工業社製のペン書き記録装置 (R-01型)で連続的に記録した。

#### 2. 実験方法

実験動物は体重2.5kg~3.5kgの成熟白色家兎24羽を用い、耳静脈からペントバルビタルを18mg/kg/hrの割合で点滴静注し、自発呼吸下で実験を行った。

pH 電極は、角膜輪部より2mmの毛様体扁平部に小さい強膜窓をつくり、16G 軟性血管留置針をガイドにして眼内に挿入した。比較電極は測定眼の下角膜結膜嚢に設置した。pH 電極先端部の位置は、0.5%トロピカマイド、0.5%フェニレフリン (ミドリン P<sup>®</sup>) 点眼

および1%硫酸アトロピン点眼による極大散瞳下で、角膜上に-25Dのコンタクトレンズを乗せ、双眼眼底鏡又は手術用顕微鏡で確認しながら決定した。

実験を行うに当たって、家兎の動脈血を採取し、本装置の pH 電極を用いて測定した値と、後述する血液

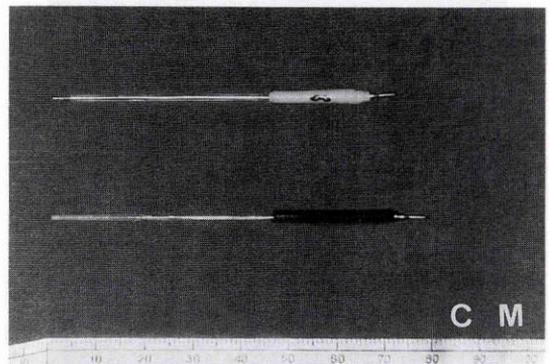


図1 電極。上、pH 電極、下、比較電極。

ELECTRO-CHEM ANALYZER  
Product No.1300

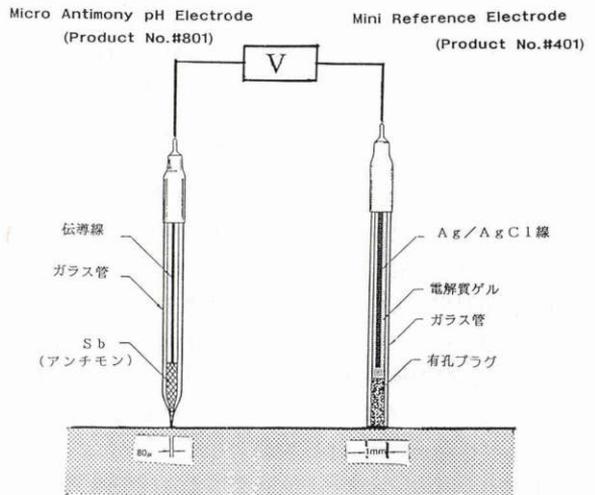


図2 電極 (模式図)。

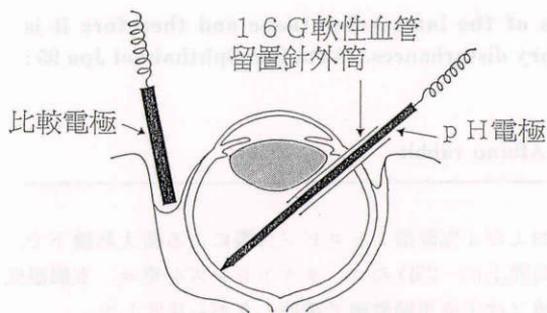


図3 測定方法 (模式図).

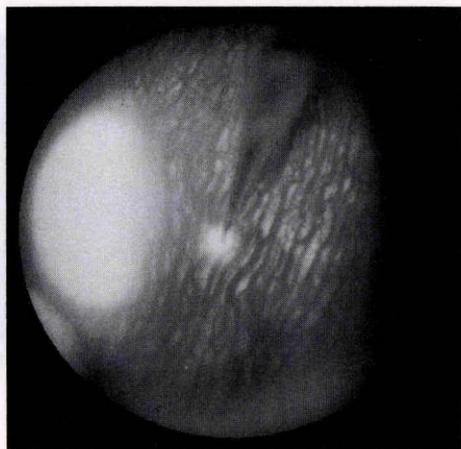


図4 網膜に穿刺されたpH電極 (刺入部が白く反射して見える, 左上はartifact).

ガス分析装置におけるpHの値を比較し, 本装置の精度を調べた。

正常家兎眼においては, 硝子体と網膜のpHを測定した。硝子体の測定部位は, 水晶体の損傷を避けるため, 網膜と水晶体後面との中間位とした。網膜のpH測定に際して, 脈絡膜出血を起こしたものはデータから除外した。統計学的な検討は, t検定を用いた。

次に経強膜的にジアテルミー凝固を施行し, 網膜局所循環障害を作成した。ジアテルミー凝固は直視下で50mV・数秒間とし, 脈絡膜血流が途絶える程度の凝固斑を視神経乳頭の約3ないし4乳頭径下方に2~3個作成した。凝固後1週間目と3週間目に, 正常家兎眼の場合と同様の方法で, それぞれ凝固斑部, 正常網膜部ならびに硝子体部のpHを測定した。

実験中の家兎の全身状態を確認する目的で動脈血を採取し, Radiometer社の全自動血液ガス分析装置

Acid Base Laboratory II (ABL II)にてPaO<sub>2</sub>, PaCO<sub>2</sub>, pHを測定し, Nova Biomedical社の全自動Na・K分析装置NOVA Iにて血中Na・K濃度の測定も行った。

### III 測定結果

#### 1. 微小pH電極の正確性

微小pH電極の精度を確認するために, 家兎動脈血を微小pH電極で測定したpH値と, 前述のABL IIで測定した値とを比較すると, 表1に示すごとく小数点以下第2桁までは極めて精度高く一致した。

#### 2. 硝子体および網膜のpH

硝子体ならびに網膜のpH測定に際し, 動脈血がPaO<sub>2</sub> 74.6±7.63, PaCO<sub>2</sub> 34.2±3.19, pH 7.45±0.03 (n=24)の条件下で測定されたデータのみを採用し, 麻酔の影響によるばらつきを最小限に抑えた。

家兎の硝子体pHは平均7.41±0.11 (n=24)で, 動脈血とはほぼ等しいか, 若干酸性側に傾いていた。t検定を用いて統計学的検索を行ったが, 両者の間に有意差は認めなかった。家兎眼は水晶体が大きく, 電極ガイドの可動範囲に制限があるため, すべての部位を測定できず, おおむね水晶体後面と網膜の中間位の硝子体pHを測定した。

家兎の健常網膜のpHは平均7.31±0.11 (n=22)で, 硝子体pHより約0.1酸性側に傾いた。両者の間には, 危険率1%以下で有意差を認めた。家兎の網膜は極めて薄い組織であり, pH電極の刺入深度を調節することは困難であった。pH電極が網膜面に接触すると電極先端部網膜に白色の反射が見られること(図4)と, Electro Chem Analyzerのデジタル表示の変化から, 電極先端の位置を確認できた。また, 1眼につき複数の箇所でも測定を行ったが, 電極先端部が接触した部位の網膜に出血を認めたものは除外し, 安定した値を示したものをデータとした。

#### 3. ジアテルミー凝固後の網膜pH

ジアテルミー施行後1週間目では, どの家兎においても, 健常網膜および凝固斑部ともデジタル表示の値が安定せず, 確実な値が得られなかった。

ジアテルミー施行後3週間目の凝固斑部のpHは平均6.87±0.39 (n=10)で, ジアテルミー凝固の強さを一定にすることが困難なため個体間での値は多少ばらついたが個々の測定部位における結果は比較的安定していた。健常網膜とジアテルミー凝固斑部網膜のpHには, 危険率1%以下で有意差を認めた。

表1 家兎耳動脈血 pH 測定値の比較

	No. 1	No. 2
微小 pH 電極	7.46	7.45
ABL II	7.468	7.452

表2 測定結果

測定部位	pH (平均値±SD)
動脈血	7.45±0.03 (n=24)
硝子体	7.41±0.11 (n=24)
健常網膜	7.31±0.11 (n=22)
凝固斑部 (3週間目)	6.87±0.39 (n=10)

\* p&lt;0.01

#### IV 考 按

今回の実験に用いた微小 pH 電極は先端部の直径が 80 $\mu$ m と、従来のガラス電極に比べて非常に細く、従って網膜の pH を測定することが可能であった<sup>1)~3)</sup>。

本装置の精度を調べる実験として、家兎動脈血の pH を本装置と前述の ABLII とで測定したところ、非常によく一致したため、本装置を信頼しうると判断した (表1)。

硝子体の pH についての報告としては、林ら<sup>1)</sup>による家兎を用いた実験で、動脈血 pH が 7.34 の時に硝子体 pH は 7.06 というものや、Von Sallmann<sup>2)</sup>による 7.04 というものがあり、網膜に近づくほど水素イオンは増加するとされている。

網膜 pH 測定史は Kobakova<sup>4)</sup> が 1946 年にガラス電極を用いて網膜表面を測定し、光刺激は暗順応した *in vitro* のカエル網膜表面を酸性化するという報告があり、Tsacopoulos ら<sup>5)</sup> は 1976 年全身的に正常な酸塩基平衡状態にあるとき、血液 pH が 7.44 で、硝子体 pH (網膜表面から 3~4mm) が 7.32、網膜 pH (神経線維層) が 7.22 であるとしている。また Oakley ら<sup>6)</sup> は 1989 年に網膜 pH は 7.20 と報告している。

いずれも網膜 pH は血液 pH より低く、これは網膜が非常に解糖作用の盛んな組織であることを示していると思われる。それに比べ硝子体は代謝活性の低い安定した組織であり、網膜に近い部位ほど酸性なのは、網膜から産生された乳酸が拡散するためではないかと推測されている。なかでも家兎のような網膜血管に乏しい動物では、網膜血管のある動物に比べて網膜の解

糖活性が高いため硝子体 pH が低いといわれている<sup>5)</sup>。

我々の結果では、硝子体 pH は動脈血とはほぼ等しいか、それより若干酸性側を示し、従来の報告に比べて両者の差が少なかった。

本実験の弱点としては、電極が網膜内にどの層を測定しているのか不明な点にあると思われる。実験終了後に家兎眼球を摘出し、病理学的な検索を行ったが、電極の穿刺部位を同定することは困難であった。

また電極を眼内に挿入しているため眼圧の変化によって各組織の pH は正常な状態とは異なっていることも考えられるが、今回は実験状態を一定にしてそれぞれの間で値を比較した。

家兎の網膜には網膜血管は少なく、多くは脈絡膜毛細血管から栄養を受けている。従って、経強膜的ジアルテルミー凝固により、脈絡膜血管を凝固することで、外傷性局所網膜循環障害の実験モデルとすることが可能と考えた。しかしジアルテルミー施行後 1 週間目の結果が不安定なのは、ジアルテルミーによる循環障害の影響以外に炎症の影響もあるかと思われた。

脳において局所循環障害の部位では、その中心部から周辺部において、急性期には虚血、低酸素、乳酸アシドーシス、浮腫など、様々な病態とともに、代謝機能にも異常を来す。やがて時間の経過と共に組織の壊死または修復がなされると、代謝機能も安定化し、この期間は約 1~3 週といわれている<sup>7)</sup>。また Oakley は *in vitro* による実験で虚血網膜は乳酸値の増加によって pH が低下すると報告している<sup>6)</sup>。同様の変化がジアルテルミーによる網膜凝固斑部およびその周辺部でも起こっていると思われ、特に凝固斑周辺部の変化は、凝固斑からの距離や血流の方向などの要因によりさらに複雑であると思われる。

吉田<sup>8)~10)</sup> は、キセノン光凝固後の家兎網膜の修復過程について、光凝固後約 3 週間で凝固斑より 0.5mm 隔たった部位の網膜外層は、形態的にも、また機能的にも、一応正常近く回復すると報告している。今回の測定結果で、ジアルテルミー施行後 1 週間目の結果が非常に不安定であったのは、ジアルテルミー施行 1 週間目でも、なお凝固斑辺縁部網膜組織は、代謝が不安定期にあったものと考えられる。3 週間目においては凝固斑中心部の pH は低下する傾向にあった。家兎は非常に網膜の薄い動物であり、ジアルテルミーの条件を一定にしても、組織障害の程度を一定にすることは困難であるため、個々の実験結果は多少ばらついたが、一個体

の中では比較的安定していた。pHの低下は組織の壊死や嫌氣的解糖による乳酸値の増加などを示すと考えられる。しかしpHのみでは網膜循環障害や代謝変化をすべて表現できるものではなく、また網膜各層の微細な変化を把握するものでもない。本法により網膜pHの変化の判定に成功したが、循環障害時に惹起される網膜組織内の変化を、pHの変動を通して把握することについては、他の生化学的検査や病理学的な検査も含めて総合的に判断することが望ましく、さらに今後の検討課題としたい。

この論文の一部は、第93回日本眼科学会総会で報告した。稿を終えるに臨み、ご校閲いただいた恩師松崎浩教授に深謝申し上げます。

文 献

- 1) 林 英之, 大島健司, 大塩義幸, 他: 硝子体腔内ガス分圧計測. 日眼会誌 86: 1184—1189, 1982.
- 2) Von Sallman L: Hydrogen ion concentration of the vitreous in the living eye. Arch Ophthalmol 33: 32—39, 1945.
- 3) Shimada K, Yano M, Shibatani K, et al: Application of catheter-tip i.s.f.e.t. for continuous in vivo measurement. Med Biol Eng Comput 18: 741—745, 1980.
- 4) Kobakova EM: Changes of pH in the retina

- of a frog. J Physiol (USSR) 32: 385—394, 1946.
- 5) Tsacopoulos M, Levy S: Intraretinal acid-base studies using pH electrodes. Effects of respiratory and metabolic acidosis and alkalosis on inner-retinal pH. Exp Eye Res 23: 495—504, 1976.
- 6) Oakley B II, Wen R: Extracellular pH in the isolated retina of the toad in darkness and during illumination. J Physiol 419: 353—378, 1989.
- 7) 藤井健一郎, 藤島正敏: 脳循環と代謝の coupling. Clinical Neuroscience 6: 737—739, 1988.
- 8) 吉田英彦: 損傷された網膜視細胞の変性及び再生に関する組織学的研究. 第1報. クセノン光凝固を施した家兎網膜の凝固部周辺の網膜視細胞等の損傷及び修復について. 日眼会誌 79: 26—37, 1975.
- 9) 吉田英彦: 損傷された網膜視細胞の変性及び再生に関する組織学的研究. 第2報. クセノン光凝固を施した家兎網膜の視細胞の凝固斑からの距離的及び経時的変化と回復について. 日眼会誌 79: 248—257, 1975.
- 10) 吉田英彦: 損傷された網膜視細胞の変性及び再生に関する組織学的研究. 第3報. クセノン凝固後の家兎網膜の修復過程における phosphorylase 活性について. 日眼会誌 79: 1585—1593, 1975.