

# ヒアルロン酸ナトリウム水溶液の電導度

今泉 雅資, 中塚 和夫, 古嶋 正俊

大分医科大学眼科学講座

## 要 約

硝子体ゲルの立体的網目構造に包摂された水の性質を解明するために、様々な濃度のヒアルロン酸ナトリウム水溶液の電導度を25°Cの下で測定し、ヒアルロン酸ナトリウム水溶液の濃度と比電導度および当量電導度との関係を求めた。いずれの電導度曲線においても、ヒアルロン酸ナトリウムの濃度とのあいだには、3つの相が見出された。特に、当量電導度は、高濃度及び低濃度領域では高い濃度依存性を、中間濃度領域では低い濃度依存性が認められた。以上の結果より、ヒアルロン酸ナトリウム水溶液中の水は、濃度に応じて、異なる物性を示すものが少なくとも3種類存在し、中間濃度領域のヒアルロン酸ナトリウム水溶液は、硝子体内のイオン環境の恒常性を保持するための緩衝作用を果たしている可能性が示唆された。(日眼会誌 96:641-644, 1992)

キーワード: ヒアルロン酸ナトリウム, 電導度, 硝子体, 水

## Conductivity of Sodium Hyaluronate Solution

Masamoto Imaizumi, Kazuo Nakatsuka and Masatoshi Furushima

*Department of Ophthalmology, Oita Medical University*

### Abstract

In order to elucidate the property of water contained by the stereois network in the vitreous gel, the conductivity of sodium hyaluronate solutions was measured in various concentrations at 25°C and the relationship between concentrations of sodium hyaluronate and conductivity was evaluated. Each conductivity curve was divided into three stages. Equivalent conductivity was highly dependent upon the concentration of sodium hyaluronate at high and low concentrations, but was rather independent of it in intermediate concentrations. These results suggest that there are three types of water dependent upon the concentration of sodium hyaluronate, indicating physical variety, and that sodium hyaluronate solution in the intermediate concentration may possibly have a buffer homeostatic action on the ionic environment in the vitreous body. (*Acta Soc Ophthalmol Jpn* 96:641-644, 1992)

Key words: Sodium hyaluronate, Conductivity, Vitreous, Water

## I 緒 言

硝子体は、眼内マトリックスにおける重要な透明相

で、98%以上の水を含有する親水ゲルである。硝子体の構造に関しては、Balazs<sup>1)</sup>が提出したモデルがよく知られている。このモデルによれば、硝子体は細いコ

別刷請求先: 879-55 大分県大分郡挾間町医大ヶ丘1 大分医科大学眼科学講座 今泉 雅資

(平成3年10月31日受付, 平成3年12月19日改訂受理)

Reprint requests to: Masamoto Imaizumi, M.D. Department of Ophthalmology, Oita Medical University.

1 Idaigaoka, Hasama-cho, Oita-gun, Oita 879-55, Japan

(Received October 31, 1991 and accepted in revised form December 19, 1991)

ラーゲンフィラメントが立体的な籠状の格子を無数に構成し、その籠の中にコイル状のヒアルロン酸分子が収まっている構造と考えられている。しかし、このような構造では硝子体特有の粘弾性に関して十分な説明ができないといわれている<sup>2)3)</sup>。

そこで、我々は硝子体ゲルの高次構造を解明することを目的に、硝子体中の水の物性並びに高分子との相互作用の研究を開始した。本研究では、その第1過程としてヒアルロン酸ゲルの水の性状を電導度測定という物理化学的手法を用いて検討した。

## II 実験方法

### 1. 電導度の測定方法

試料は和光純薬の生化学用ヒアルロン酸ナトリウムを用いた。ナトリウム塩を用いた理由は、硝子体内の生理的 pH 7.3~7.5 においては、ヒアルロン酸はナトリウム塩として存在しているからである。電導度の測定には、電導度計(東亜電波工業, CM-40 S型)と測定セル(東亜電波工業, CG-511 B)を用いた。測定温度は 25°C で、測定用サンプルカップを循環恒温槽(Haake CF)と接続することによって、一定に保った。

### 2. 電導度の測定原理

酸や塩またはこれらの塩を溶かした水溶液は一般に電気を通すことが知られている。たとえば、塩化ナトリウムの水溶液では、イオンの解離が生じ、この水溶液に電場をかければ、Na<sup>+</sup>は陰極方向に、Cl<sup>-</sup>は陽極方向に移動することによって、電流が流れる。こうした電気の流れやすさを表わす尺度として、抵抗の逆数を用い、これは電導度と呼ばれる<sup>4)</sup>。電導度は電極の断面積に比例し、電極間の距離に反比例することから、これを断面積 1 cm<sup>2</sup> 距離 1 cm とした場合の値(比電導度)で表現する。電導度と比電導度との間には、次式で示される関係がある<sup>4)</sup>。

比電導度 (S/cm) =

$$\frac{\text{距離 (cm)}}{\text{断面積 (cm}^2\text{)}} \times \text{電導度 (S)} \quad (1)$$

また、電解質溶液の電導を論じる場合には、今述べた比電導度のほかに当量電導度を用いる。当量電導度とはある溶液中の 1 g 当量の電解質によって生じるイオンの電導能力を表わすもので、次式によって定義される<sup>4)</sup>。

当量電導度 (Scm<sup>2</sup>) =

$$\frac{1 l}{\text{当量濃度 (equ/l)}} \times \text{比電導度 (S/cm)} \quad (2)$$

但し、本実験では、ヒアルロン酸ナトリウムの分子量や電荷の数を、厳密に規定することが困難なため、1 当量濃度を 1 g/l と定義してこれを用いた。

## III 結果

図 1 には、ヒアルロン酸ナトリウムの濃度と比電導度との関係を示した。ヒアルロン酸ナトリウムの濃度を増していくと、比電導度は増大していった。この比電導度曲線は、比電導度の増加の程度から 3 つの相に区別できた。第 1 相は、 $\sqrt{\text{濃度}}$  (以下  $c^{1/2}$  と略す) が 0 から 0.3 までの領域で、電導度の増加の程度は非常に小さい。第 2 相は、 $c^{1/2}$  が 0.3 から 4 までの領域で、増加の程度は第 1 相と比較すると大きい。第 3 相は、 $c^{1/2}$  が 4 以上の領域で、増加の程度は再び低くなり、プラトーに到達している。これは、ヒアルロン酸ナトリウ

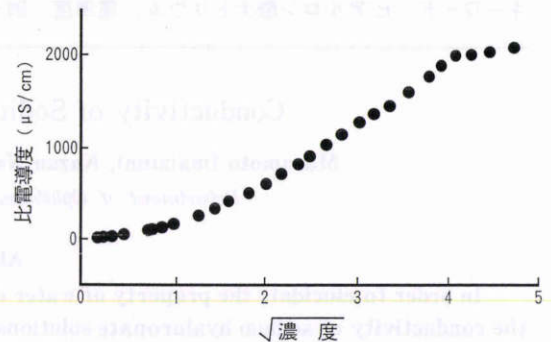


図 1 ヒアルロン酸ナトリウムの濃度と比電導度との関係。横軸にはヒアルロン酸ナトリウムの濃度の平方根を、縦軸には比電導度を示した。濃度の単位は g/l。

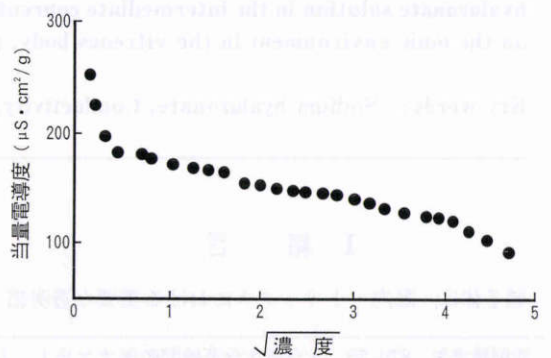


図 2 ヒアルロン酸ナトリウムの濃度と当量電導度との関係。横軸にはヒアルロン酸ナトリウムの濃度の平方根を、縦軸には当量電導度を示した。濃度の単位は g/l。

ムの濃度の増大に伴って、初めのうちは、溶液中の解離イオン数も増大するので比電導度は増大していくのに対して、十分高濃度になると、イオン間に働く静電引力や摩擦などによって、イオンの移動度が減少する傾向がでてくるためと考えられる。

図2には、ヒアルロン酸ナトリウム濃度と当量電導度との関係を示した。濃度の増加に伴い、当量電導度は減少していくが、減少の程度から、比電導度と同様に、3つの相に区別できた。第1相は、 $c^{1/2}$ が0から0.3までの領域で、電導度の減少は非常に大きいことが特徴である。第2相は、 $c^{1/2}$ が0.3から4までの領域で、減少の程度は比較的緩やかなものに変化している。第3相は、 $c^{1/2}$ が4以上の領域で、減少の程度は再び上昇している。また、無限希釈時の当量電導度は、図2のグラフを濃度0g/lに補外して求めたところ、 $306 \mu\text{Scm}^2/\text{g}$ であった。

#### IV 考 按

生体を構成する物質の中で、水の占める割合は高く、また生物物質の様々な反応や輸送も、水を媒体とした系の中で成立している。このように、水は生命を維持するために不可欠な物質である。そのため、生体組織の多くは、高分子の立体網目構造によってつくられるミクロな空間の中に多量の水を包含して、組織外への水の自己流出を妨げている<sup>5)</sup>。特に、硝子体はその高い含水率では群を抜いている<sup>1)6)7)</sup>。一般に、生体高分子ゲルは、解離基あるいは少量の電解質を含んでいるので、電導性を示すが、その大きさは水の物理化学的性質に依存している。すなわち、水(自由水)の誘電率は78.5(25°C)と非常に大きく、自由水中では溶質のイオン同士は弱い相互作用しかできないため、電導度は高くなる。一方、高分子電解質に束縛されたいわゆる結合水と称される水分子は、分子が固定され分子回転が束縛されるため、誘電率が小さくイオン間の相互作用も大きく、電導度は低くなる<sup>4)5)</sup>。以上のように、電導度を測定することによって、ゲルの中のイオン間の相互作用や水に関する情報が得られると期待される<sup>5)</sup>。

本実験では、硝子体の主要構成成分の一つであるヒアルロン酸に注目し、ヒアルロン酸ナトリウム水溶液の比電導度の測定を行い、濃度に対する比電導度及び当量電導度曲線を求めた。ヒアルロン酸ナトリウム塩は水に可容性を示し、ナトリウムイオンとヒアルロン酸イオンに解離し、ヒアルロン酸ナトリウム水溶液は

電導性を示した。図1および図2から明らかなように、両曲線は3つの相に区別された。特に、当量電導度曲線についてみれば、溶液の濃度とのあいだには、相反する電荷をもつイオン間に働く静電的な引力によつて、

$$\Lambda = \Lambda^0 - (A + B\Lambda^0)c^{1/2}$$

$\Lambda$  : 当量電導度

$\Lambda^0$  : 無限希釈時の当量電導度

A, B : 溶媒と温度に依存する定数 (3)

によって表現される直線関係が存在することが知られている(Debye-Huckelの理論)<sup>4)</sup>。本実験でも、当量電導度曲線に着目してみると、第1相では、濃度の増加に対する当量電導度の減少は非常に大きく、イオン間の相互作用力が濃度に大きく依存していると考えられる。逆に第2相では、減少の程度は比較的緩やかなものに変化している。これは、イオン間の相互作用力が、あまり濃度に依存しない状態に変化したと考えられる。第3相では、減少の程度は再び上昇している。

硝子体中のヒアルロン酸濃度は、動物の種、年齢、ゲル中の局在性によって異なるが、ヒトでは100~400  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、ウシでは300~630  $\mu\text{g}/\text{ml}$ という値が報告されている<sup>8)9)</sup>。これらの値は、当量電導度曲線上ではほぼ第2相に相当し、当量電導度があまり濃度に依存しない傾向があるといえる。この結果から、こうしたヒアルロン酸の中間濃度領域では、ヒアルロン酸の濃度によって、硝子体内のイオン間の相互作用力が変化しにくく、ヒアルロン酸が硝子体内環境の恒常性を保持するための緩衝作用を果たしている可能性が示唆された。さらに、当量電導度曲線に出現した3つの相は、ヒアルロン酸の影響によって、低濃度領域(第1相)では自由水が多く存在し、高濃度領域(第3相)では結合水が多く存在し、中間濃度領域(第2相)は両者が共存した状態を表わしているのではないかと推測した。Aliらによれば、牛眼硝子体中の20%の水はヒアルロン酸との結合水であると報告されている<sup>10)</sup>。

以上の考察より、ヒアルロン酸ナトリウム水溶液中の水は、濃度に応じて、異なる物性を示すものが少なくとも3種類存在すると結論された。

稿を終えるにあたり、御指導を賜りました山之内外一名誉教授に深謝致します。また、実験に際して、御協力を賜りました本学生理学講座の山田和廣教授に深謝致します。

本研究は文部省科学研究費補助金(課題番号03857229)の補助を受けた。付記して感謝の意を表す。

尚, 本論文の一部は, 第95回日本眼科学会総会で発表した。

#### 文 献

- 1) **Balazs EA**: Molecular morphology of the vitreous body, in Smelser GK (ed): Structure of the Eye, New York, Academic Press, 291—310, 1961.
- 2) **本田孔士**: 硝子体外科のバイオロジー, 日眼会誌 85: 1910—1949, 1981.
- 3) **岩田修三**: 硝子体液化に関する生化学的考察, 日眼会誌 85: 1965—1974, 1981.
- 4) **高橋武彦**: 電気化学概論, 東京, 槇書店, 28—49, 1971.
- 5) **鈴木周一, 相沢益男**: 多糖類と水, 原田篤也, 小泉岳夫 編: 総合多糖類科学, 東京, 講談社, 297—314, 1973.
- 6) **Sebag J**: Structure, function and age related changes of the human vitreous, in Schepens CL, Neetens A (eds): The Vitreous and Vitreoretinal Interface, New York, Springer-Verlag, 37—57, 1987.
- 7) **Sebag J**: The Vitreous: Structure, Function and Pathobiology. New York, Springer-Verlag, 17—33, 1989.
- 8) **Swann DA, Constable IJ**: Vitreous structure II. Role of hyaluronate. Invest Ophthalmol 11: 164—168, 1972.
- 9) **Balazs EA, Deulinger JL**: Aging changes in the vitreous, in Dismukes K, Sekular R (eds): Aging and Human Visual Function, New York, Alan R. Liss, 45—57, 1982.
- 10) **Ali S, Bettelheim FA**: Distribution of freezable and non-freezable water in bovine vitreous. Curr Eye Res 3: 1233—1239, 1984.