

熱分析の病態解析への応用

畠山立子*

生体組織には60~80%の水が含まれている¹⁾。この生体組織中の水は、生体機能に支障が生じた場合、水の構造変化を通じて、正常な状態の維持に努めるなど、巧妙な生命現象の一翼に参与していることは、近年多くの研究分野で注目されているところである。

熱測定の分野でも、生命科学に関連して、酵素の変性や、酵素と低分子との相互作用などについての研究が非常に活発に行われていることは、よく知られている。しかしながら、生体組織そのものを熱測定の対象に選び、しかも病態と対応して考察するという研究が始まったのはごく最近のことである。

生体組織中の水の熱分析を行う場合は、いくつかの方法が考えられる。1) 水の重量減少をTGを用いて測定する。2) 水の蒸発熱をDTAを用いて測定する。3) 水の結晶化および融解の温度および熱量をDTAまたはDSCを用いて測定する。

Ohsakaら²⁾は、ラットの皮膚に毒素を注射して、組織中の水の重量減少、蒸発曲線を逐次測定して、治癒の過程を追跡した。Fig. 1にラットの皮膚の重量減少曲線およびDTA曲線を示す。実線は対照試料(健常部)であり、破線は毒素注射後3時間後の試料である。図から明らかのように、対照試料の方が水は高い温度まで保持されていることが分る。OhsakaらはTG曲線の微分曲線の変曲点の高温側で蒸発する水を結合水、低温側で蒸発する水を自由水と仮定して、生体組織中の水の分類および定

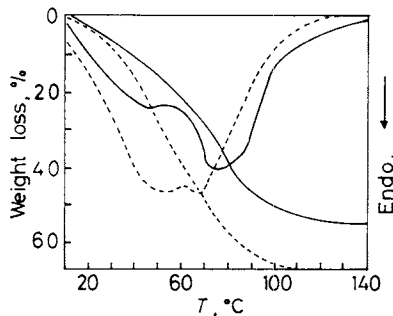


Fig. 1 TG and DTA curves of control rat's skin (—) and rat's skin, 3 hrs after injection of *C. Oedematiens* toxin (-----).

* 繊維高分子材料研究所：茨城県筑波郡谷田部東1-1-4 〒1305

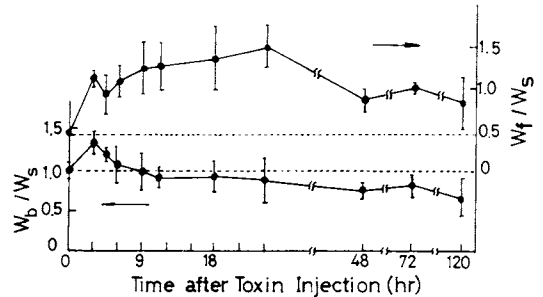


Fig. 2 Changes in the amount of free and bound water during the course of edema formation induced in rat skin by *C. Oedematiens* toxin.

量化を行った³⁾⁴⁾。

Fig. 2に乾燥試料重量(W_s) 1g 当りの自由水の重量(W_f)及び結合水の重量(W_b)の時間依存性を示す。自由水が対照試料に比べて多く、しかも治癒過程とともに増大減少を示し、2つの極大を示すことが分る。この結果は、毒素による浮腫の形成および治癒の過程で、皮膚組織中の水の物理状態と、各状態の水の量が特異な変動パターンを示すことを明らかにしている。毒素の投与による血管透過性亢進にもとづく微小循環系の水の漏出に、自由水増大の原因の一つを求めているが、変化の全体の説明は、現時点で必ずしも明らかでない。しかし、熱分析が浮腫形成のメカニズムをときあかす一助になることは充分期待される。

著者らは、ウサギ及びイヌの心筋組織に含まれる水の緩和時間をNMRにより測定してきた⁵⁾。試料中の水の絶対量を測定するためTGおよび主としてDSCによる測定を行った。目的は、心筋梗塞を伴う心筋組織の変化と水の構造変化過程を対応させ、NMRによる生体組織診断の基礎的なデータを得るにあつたが、NMR測定の過程で、心筋梗塞後の時間による水の構造変化依存性があることが明らかになったので、DSCによる一連の測定をNMRと対応して行った。

Fig. 3に、純水、未処置のウサギの心筋組織、梗塞1週間後の心筋中の組織変化が認められなかった部分(健常部)と、組織変化が認められた部分(梗塞部)の水のDSC融解曲線を示す。試料重量は約3mg、昇温速度は5K/minで、密閉型のアルミニウム容器を用い、 -70°C から 50°C までを測定した。対照に用いた未処置の試料(曲線Ⅱ)の融解は純水のそれに比べて約 5°C 低い温度から融解がはじまり、しかも2つのピークが重なっていることが分る。高温側のそれは、純水のピークとほぼ対応している。梗塞部分の融解ピークの高温側は小さくなり、低温側のピークが大きくなっている。それに比べて健常

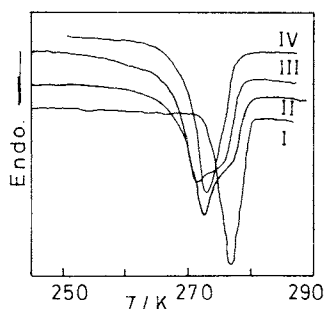


Fig. 3 DSC melting curves of pure water and rabbit's heart tissue.

I: pure water, II: control tissue, III: no-infarcted area after one week infarction, IV: infarcted area after one week infarction.

部の融解曲線、ピークの形状は未処置試料とよい対応を示す。

既に報告した通り^{6,7)}、融解ピークから熱量を計算して水分量を計算した値と、試料を乾燥して得た水分量とは一致しない。これは、生体組織中の親水基に水が強く束縛され、他の水分子と共に結晶化しないためである。不凍水 (non-freezing water) とよばれるこのような水は熱分析からは一次の相転移として観測されない。従って不凍水の含有率は次式から算出できる。

$$C_{nf} = C_t - C_{fw} \quad (1)$$

C_t は重量法で測定した全水分率であり、 C_{fw} は凍結可能な水、すなわち融解の熱量から算出した水の量である。 C_{fw} の中には自由水及び結晶化はつくが、自由水より低温で融解する水の存在が考えられる⁷⁾。

(1)式から計算したウサギの心筋組織に含まれる C_{nf} を梗塞してから経過時間に対してプロットしたのが、Fig. 4である。梗塞部の不凍水は、梗塞の後期に増大しているが、これは心筋組織がフィブリル化してコラーゲン組織の生成する時期と対応している。なお詳細な議論を行うためには、より多くの実験データの集積が必要である。

生体組織を熱分析を行う場合の問題点、特に困難を伴う点を数えてみると、1) 試料間の差が大きく、データのばらつきが避けられない。2) このため統計的処理を行う必要があり、実験数を多くせざるをえない。3) 60~80%という過剰な水を含むため、試料のサンプリング、保存などの影響が大きい。4) 絶乾水分量が計算のもとになるが、絶乾水分量そのものが測定の際のばらつきが大きい。5) Fig. 1およびFig. 3からも明らかのように、熱

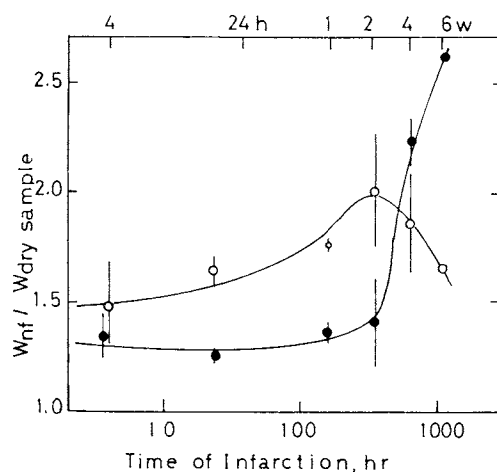


Fig. 4 Change of non-freezing water content with time after infarction.

○ control ● infarcted

分析データがかなり大まかなので、ピークの分離方法など測定者の裁量が大きく、測定者間誤差の原因となる。このような困難な点はあるが、他方、1) 水の融解、蒸発など、測定そのものは簡単であり、2) 珍しい面白いデータが得られる。

生体組織の熱分析は、現在ではまだまだあまり多くは手のつけられていない分野である。しかし生体中の水の構造変化と生命現象という、興味深い領域の一端を垣間みることのできる測定法の一つであるということができよう。

文 献

- 1) C. F. Hazlewood, "Cell-Associated Water", (Eds. W. Drost-Hanzen and J. S. Clegg), Academic Press, (1979) p. 165
- 2) A. Ohsaka, K. Yoshikawa, M. Momota and S. Iwasa, "Natural Toxin" (Eds. D. Eaker and T. Wadström) Pergamon Press, Oxford and New York, p. 389 (1980)
- 3) A. Ohsaka and M. Momota, "Influences of water and water Activity on Quality and Stability of Foods", (Eds L. B. Rockland and G. F. Steward), Academic Press, New York (1980)
- 4) 蓬坂 昭, 理学電機ジャーナル **12**, 14 (1981)
- 5) 松田光生, 杉下靖郎, 飯田啓治, 伊藤 徹, 畠山兵衛, 畠山立子, 上平 恒, NMR医学会, 仙台 (1983)
- 6) 畠山立子, 中村邦雄, 畠山兵衛, 熱測定 **6**, 50 (1979)
- 7) K. Nakamura, T. Hatakeyama and H. Hatakeyama, *Polymer* **24**, 871 (1983)