

## 微少熱量計の臨床応用

Clinical Application by Flow  
Microcalorimeter Mixing Cell

伊藤 正次郎\*

### 緒 言

微少熱量計の医学における利用は、1970年代にWadsöらを中心としてヨーロッパで進められてきた。医学において診断機器として利用するためには、多数の検体を処理できること、再現性のあるデータが得られること、感度としては $1\mu\text{W}$ 程度の熱量が測定できることが必要である。最近までの機器は、上記条件を必ずしも満足するものが得られないために、利用が遅れているものと思われる。著者らはこれらの点を改良し、ほぼ満足すべき機器を日常の研究、診断、治療に利用し始めた。改良点の主な点は、A・Bの検体を混合することであった。混合が一定に行われることが必要で、そのために混合セルの改良を行った。また、センサー部分の熱安定性を得るために、センサーを空気中ではなく液相内に置くことを行った。このことによってセンサー内部の温度をより安定にすることができた。次に検体を自動的に吸引してセンサー内に送るためのオートサンプラーを使用することによって、1日に100検体を処理し得ることができた。

臨床的応用としては、血液型、抗生物質の感受性、酵素の力価の利用が行われたが、最近、ヒトの血漿の混合熱と、その混合熱に対して血液細胞の関与が興味ある結果を示した。血液細胞が熱産生を抑制する者が81.8%と大部分を占め、18.2%は熱産生を助長することが示された。また、血液細胞を含んだヒト血漿の混合熱と、自己赤血球、または羊赤血球を混合すると、自己赤血球との混合熱が羊赤血球の混合熱より高い例が16.3%も見られた。このような現象が、和漢薬その他の薬物により正常化されることによって、喘息、難治皮膚病、腎不全等が症状の好転を認め、医学に役立つことが見られてきた。

### 実験方法

#### A) 人血試料

1) 空腹時、ヒト肘静脈血管より、ヘパリン加真空採血器により10~20ml採血する。

2) 次に600rpm20分間遠心し上清を分取し液量を

\* 生体反応研究所：東京都新宿区西新宿7-9-7 〒160

測定する。

3) この上清 Cell-rich-plasma を、Phosphate buffer saline (pH 7.4・以下PBS) で6倍に希釈する。これを Cell-rich-plasma 試料とする。

#### B) 自己赤血球試料・羊赤血球試料

自己赤血球(以下Auto)は人血沈渣の赤血球をPBSで洗浄し、1000rpm遠心の沈渣を細胞数 $2.01 \times 10^7$ 個/mlに作る。羊赤血球(以下Sheep)は同様に $0.76 \times 10^7$ 個/mlに作る。

#### C) Cell-free-plasma 試料

Cell-rich-plasma を3000rpm10分間遠心し、その上清を Cell-free-plasma 試料とする。

#### D) PHA(Phytohemagglutinin)溶液

PHA(DIFCO)をPBSで $0.1\mu\text{g/ml}$ とする。

#### E) 漢方薬試料

漢方薬エキス顆粒0.1gを10mlのPBSに溶解し、Cell-rich-plasma 1.5mlに5 $\mu\text{l}$ を添加する。

#### F) 測定条件

当研究所開発の恒温槽(図1)に自所開発の混合セル(センサーはメルクワ社製)に図の様にオートサンプラーを用い、ペリスタポンプで流速0.1ml/minで混合した後、センサー内に送りこむ。水槽内温度は $36\text{C}^{\ast 1}$ 、マイクロボルトメーターレンジ100 $\mu\text{V}$ 、レコーダーレンジ500mV、フルスケール5 $\mu\text{V}$ 、キャリブレーションはマンガン線に10 $\mu\text{W}$ になるように電流を流して行った。チャートスピードは2.5mm/minであった。

### 臨床応用の実例

図2に示されるように、10 $\mu\text{W}$ の電流を混合セル内に流して補正を行い、この高さから検体の混合熱を求めた。Cell-free-plasma とPBSの混合熱10.77 $\mu\text{W}$ 、Cell-rich-plasma とPBSの混合熱5.97 $\mu\text{W}$ 、Blood Cellが混合熱を4.8 $\mu\text{W}$ 抑制していることが示された。次にCell-rich-plasma と、自己赤血球(Auto)を含んだPBS試料との混合熱が7.60 $\mu\text{W}$ と、赤血球の含まれることにより1.63 $\mu\text{W}$ の発熱が増加している。次に羊赤血球(Sheep)の加わったPBSの混合熱では6.67 $\mu\text{W}$ とAutoの方が1.53 $\mu\text{W}$ 高い値が示されている。正常人の場合はSheepの方がAutoより高い値が示されるのに、この症例では異常値が示されている。このCell-rich-plasmaに漢方薬(例えば温清飲)を添加した時のPBSとの混合熱は6.63 $\mu\text{W}$ 、また、Autoとの混合熱は5.90 $\mu\text{W}$ 、Sheepは6.87 $\mu\text{W}$ となり、薬物添加をすることにより、Autoの混合熱量を抑制し、Sheepの混合熱を上昇させるようになった。この様な薬物が治療効果があると考えてきた。十

\* $t/\text{C} = T/\text{K} - 273.15$

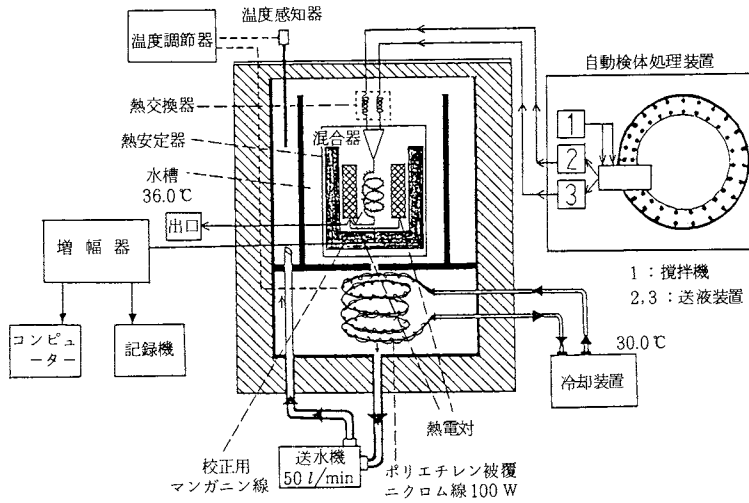


図1 微小熱量測定装置

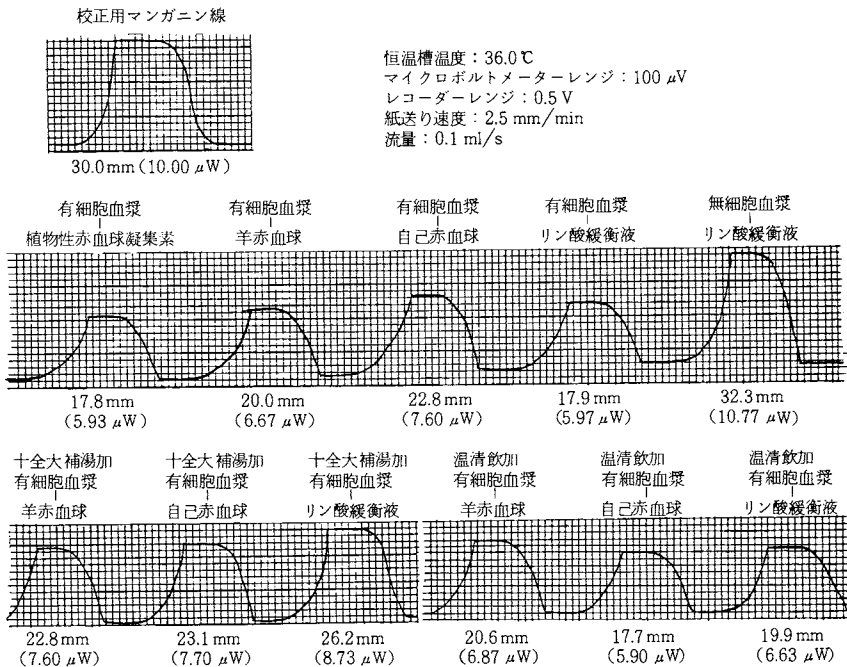


図2 臨床応用の実例

十全大補湯の場合には、PBS との混合熱は 8.73  $\mu$ W で、Auto との混合熱は 7.70  $\mu$ W、Sheep との混合熱は 7.60  $\mu$ W と、Auto の熱量の方が高く、治療目的には不適な漢方薬となる。このようにして漢方薬、西洋薬の血液細胞に対する適正な薬物を選択することを日常の診療に利用している。

当研究所では、日常この検査によって患者の治療を行ってきたが、その結果を示す。

血液細胞が混合熱を抑制するもの	81.8%
助長するもの	18.2%
自己赤血球 (Auto) と羊赤血球 (Sheep) と Cell-rich-plasma の混合熱	
自己赤血球が羊赤血球より高いもの	16.3%
自己赤血球が羊赤血球と同じ位のもの	34.5%

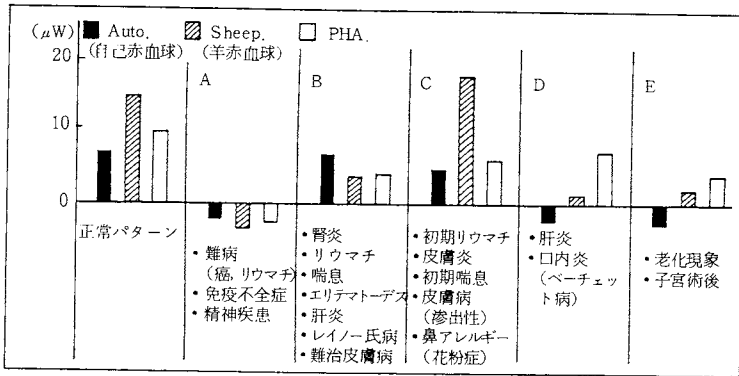


図3 マイクロカロリメータによる自己赤血球, 羊赤血球, PHAの熱産生(μW)の動態(PBSとの混合熱を差し引いた動態)と病気傾向

考 察

医学においては生化学的, 免疫学的, 病理学的な検査が行われ, 医学はそれにより大きな進歩をとげてきた。最近までの臨床検査は結果を判断することが主流であった。また, どの臓器が故障したのかという病理的判断が主であった。人間の異常は, 壊れてしまってからでは回復がむずかしいので, 故障をしないよう体の状況を正常化する試みが重要と思われる。そのためには生体内で起こっている現象を, そのままあまり手を加えないでみる必要がある。

その点で熱測定は試料にあまり手を加えないで測定できる利点を持っている。また, 生体の現象は, 血液が流動して代謝を行っているので, Flow Microcalorimeter は最も適切なものと考えられる。実際の人血の流速は相当早いものであるが, 測定では, 試料の量を多くし難いので6ml/h位から90ml/h位までが限度である。流速を早くすることによって混合熱は高くなる。したがって検体の稀釈を大きくすることも可能となる。次に血液細胞をリンパ球, 多核白血球, 血小板, その他の細胞に分離して測定すべきと思われるが, 生体内で全部協同して働いているので臨床的には問題はないと考えられ, 学問としては問題のある所である。リンパ球の分離にフィコールが用いられているが, この方法を行うとリンパ球が変化するので問題があり使用できない。もちろんこのような方法以外にもアフィニティークロマトによって分離することも考えられる。

我々は, 熱産生ヘルパー・サブプレッサーの現象が生体の細胞性免疫に対して重要な課題を示し, サイエンスとしても重要な研究課題と考え, 現在臨床的に充分利用し得るようになってきた。1979年には、『医用熱測定研究会』(生体反応研究所内)が発足した。現在では医用熱測

定の研究が多く, 研究者によって広く発展することを祈るものである。

文 献

- 1) 伊藤正次郎: 第3回熱測定講習会, 生物科学への応用臨床検査への応用, 47~, 生体反応研究所 (1978)
- 2) 伊藤正次郎, 横田義信: 精密カロリメータの生物分野における利用方法の研究, 抗生物質分解酵素の検定, 河医研研究年報 **25**, 63, 1975
- 3) 伊藤正次郎, 田中映吾, 伊藤晶啓, 権田金治, 他: フロー型微小熱量計によるヒト血液の細胞性免疫反応の研究, 河医研研究年報 **28**, 69, 1978
- 4) 伊藤正次郎, 峯尾 哲, 沼田昌明, 津田精二, 他: フロー型微小熱量計によるヒト血液の細胞性免疫反応の研究Ⅱ, 河医研研究年報 **29**, 13, 1979
- 5) 伊藤正次郎, 峯尾 哲, 沼田昌明, 伊藤正善, 富田有祐, 他: 自己赤血球と人末梢白血球との熱反応, 河医研研究年報 **29**, 17, 1979
- 6) 山田陽子, 岡本 恵, 鈴木覚義: 妊娠経過における PHA, Sheep 赤血球と含白血球血漿との熱産生の変化, 河医研研究年報 **29**, 23, 1979
- 7) 鈴木覚義, 伊藤正次郎: 微小熱量計による PHA 試験と妊娠経過, 日産婦東京会報 **29** (4), 278, 1980
- 8) U. Bandmann, M. Monti & I. Wadsö: Microcalorimetric measurements of heat production in whole blood and blood cells of normal persons, *Scand. J. clin. Lab. Invest.* **35**, 121, 1975
- 9) S. Ito: Clinical application of cellulas immunity of human blood by flow microcalorimeter mixing cell, 台湾医学会第74届総会外賓講演内容抄録, 54 (1981. 11. 14)
- 10) 東京慈恵会医科大学小児科学教室(主任: 前川喜平教授), 松永光平, 富田有祐: アレルギーにおける微量熱測定の臨床的応用第1報, レアギンの検出

- (1984)
- 11) 東京慈恵会医科大学小児科学教室(主任:前川喜平教授), 松永光平, 富田有祐: アレルギーにおける微量熱測定の臨床的应用第2報, 白血球 $\beta$ -receptor機能判定(1984)
  - 12) 日重 厚, 長岡由憲, 伊藤正次郎: Flow micro-calorimeterを用いた諸種疾患患者の熱産生値と全身状態との関連性について, Proc. Symp. WAKANYAKU, 16, 220, 1983
  - 13) 伊藤正次郎, 微小熱量計による漢方薬の選定(第I報), 漢方診療Vol. 4, No. 5 (1985)
  - 14) 伊藤正次郎, 微小熱量計による漢方薬の選定(第II報), 漢方診療Vol. 5, No. 1 (1986)
  - 15) 織高研, 生体反応研究所, 森本 敏, 中石優美子, 伊藤正次郎, バリノマイシンとアルカリイオンとのカロリメトリック相互作用, 第22回熱測定討論会講演要旨集(1986. 10. 22~24)

## インドネシア繊維開発研究所DSC始末の記

本年2月, 4週間バンドンにあるインドネシア工業省所属の, 繊維開発研究所におもむき, 日本製のDSCを立ち上げ, かの地の研究員と共に働く機会があったので報告する。

バンドンはジャワ島のやや西より, ジャカルタから車で4時間ほど, スンダ族の故地である。赤道より少し南, まさに熱帯であるが高地であるため, 気温は25~32℃と, 低地, ジャカルタやソロに比べてしのぎやすい。バンドンには, インドネシア工科大学, セルロース研究所など多くの研究教育機関が集っている。熱帯の大木が街路をおおい, ペチャ(自力自転車の乗物), 馬車, 自動車, 天秤をかついだ物売りなどで, 違った返す活気のある都市である。

熱分析に関して云えば, バンドンには既に2台の“動いている”装置がある由であるが, 残念ながらみる機会はなかった。化学会に近い組織はあるとのことであったが, 何分, 研究員の給与が低く, 学会費を徴集できないため, 学会誌が発行できないそうである。このため, 若

い研究員がインドネシア語で論文をかく機会がない。

研究所の建物はどれも立派であるが, 電気, 水道などが定期的に送られるとは限らないので, 実験するのはなかなか大変であり時間がかかる。特に繊維開発研究所は地理的状況のせいか, ほぼ断水状態にあるため水を使う装置は無理で, この点, 熱分析しかもDSCは大変有利であった。暑さの関係で, 研究所は8時に始まり2時に終る。昼食は抜きである。研究員は男女ほぼ半数ずつ, 和気あいあい, 原理, 解析法, 実地訓練などを行った。但し, DSCの立ち上げまでには, 電源の配線から始めて, 日本では考えられない大騒動があったが一。繊維開発研究所では, 主として合成繊維の分析にDSCを使うことになる。

バンドンで動いている3台目の熱分析装置を立ち上げて私もうれしく, 将来もアジア熱分析学会などが開かれる機会があって, 若いインドネシアの研究員が参加してくれたらと夢をみている次第である。

(織高研) 畠山立子