

生物の熱測定—状態の測定

山村雅一*, 石原良美**, 大久保朋一*, 大谷育子***,
松波紀行****, 成田英之****, 木下幸大****

(平成5年1月25日受理)

**Calorimetry of Organism
— A Measure of the State**

Masaichi Yamamura, Yoshimi Ishihara, Tomoichi Ohkubo, Ikuko Ohtani,
Noriyuki Matsunami, Hideyuki Narita and Kohdai Kinoshita

(Received January 25, 1993)

Whole body calorimetry was used to measure the heat dissipated by a mouse and hence determine its state. The measurement was continuously done for 32 hours from 10:00 till 18:00 of the following day. It was found that a clear rhythm could be seen, when a mouse was healthy, i.e. circadian rhythm. Each individual mouse displayed a surprisingly similar pattern, when repeated measurements were made at various time intervals. Although the addition of a plant extract to drinking water caused weight loss, probably due to bitterness of the drinking water and a consequent reduction in food intake, the circadian rhythm was not disturbed. The rhythm was completely disrupted, when pain was induced by injecting 0.1M acetic acid intraperitoneally, this was partially normalised when 100mg/Kg Aspirin was given. However it was surprising that injection of Aspirin into a normal mouse caused a disturbance in rhythm. Interestingly no heat was dissipated when mice were under anaesthesia.

The result clearly indicate that whole body calorimetry is a useful tool to determine the state of a mouse as well as individuality.

1. はじめに

関集三大阪大学名誉教授が25年以上前に講義で, "み

みずが這うとき熱が出る。その熱は測定できる"と言われたことがあった。その言葉を私なりに具体化してきた。

* 東海大学医学部分子生命科学I: 〒259-11 神奈川県伊勢原市望星台
** 東海大学理学部化学科: 〒259-12 平塚市金目1117
*** 東海大学医学部麻酔科: 〒259-11 伊勢原市望星台
**** 東京医科大学麻酔科: 〒160 新宿区西新宿6-7-1
* Mole Life Science, Tokai Univ. School of Med, Boseidai, Isehara 259-11, Japan.

** Faculty of Science, Tokai Univ., 1117 Kaname, Hiratsuka 259-12, Japan.
*** Dept. of Anaesthesiology, Tokai Univ. School of Med, Boseidai, Isehara 259-11, Japan
**** Dept. of Anaesthesiology, Tokyo Med. Colloge, 6-7-1 Nishi-shinjuku, Tokyo 160, Japan.

生物の熱測定領域では生物の生存を生物全体として、動的な状態での熱が測定される。生物の熱は生物が生存する限り発生することから、熱測定の長所は測定対象となる生物に全く触る事無く、従って破壊することなく、生物を全体として測定出来ることである。このことだけでも十分に測定する意味はあるのだが、熱測定は未だに生物の世界に浸透出来ないでいる。その原因の一つは熱が定量出来る量であることへの理解がないことと、熱発生の理由が明確でないことだと思う。したがってこの論文では生物での熱発生を説明した上で、実際例を動物個体の測定から示す。細胞や細菌の測定例はすでにいくつか論文があるので、そちらを参考にしてほしい¹⁾³⁾。そして測定された熱量が生物の性質を示す物性の一つとして取り扱えるかどうかを議論したい。

2. 理論

2.1 生物の熱発生

生物の熱は、基質(栄養素である糖、タンパク質、脂肪)の酸化反応(燃焼)の結果ではなく、生物が達成した仕事の結果発生すると考えるのが正しい。言い替えれば酸化反応の結果遊離されるのは、生物にとって仕事へ変換可能な自由エネルギーではあっても熱への変換ではない。その遊離された自由エネルギーを使って生物は仕事を達成し、生存する。酸化反応の結果遊離する自由エネルギーを、全て仕事へ変換することは、たとえ効率が良くとされる生物でも不可能である。従って利用されなかったエネルギーは熱へ変換される。これが生物の熱発生メカニズムであると考えられる。

自由エネルギーから仕事への変換効率は、個体や細胞が決まると一定である、と仮定すれば自由エネルギーと熱発生とは正比例の関係となる。従って仕事と熱発生とも正比例の関係となる。

2.1.1 個体レベル

このように発生した熱はもともと体外へ放出され、事実、変温動物ではそのまま体外へ流出してしまう。しかしその熱の一部(その他の熱は流出熱量として体内へ出される)を利用出来る動物、恒温動物、への進化が起った。その結果体内での化学反応が気温に左右されることなく進行出来る条件が整い、仕事が常に達成されるようになり、気温とは無関係に行動出来るようになった。しかしこのことの代償を支払う結果を生む、すなわち体温の維持が出来なくなる程度の仕事では生存が不可能となる状態におちいることになった。一方変温動物では低温下化学反応の停止により事実上仕事が達成出来なくても生存可能である。体温維持に必要な熱以外の熱は体外に流出し、流出熱量となる。従って発生された熱の一部分

は体温維持に用いられ、それ以外は流出熱と定義することが出来る。体温維持のための熱は発熱等の生体の条件が変わらない限りほぼ一定量体内に留まる。従って熱発生と流出熱は比例する。

恒温動物の体温が一定である状態以外に、病気等で体温の上昇がある時には体温維持に必要な熱に加え体温上昇に必要な熱が体内に保留される。

2.1.2 細胞レベル

体温程度の温度が与えられている条件がもともとあるので熱発生がそのまま細胞外へ流出すると考えられる。したがって流出熱と産生熱は同じである。

2.2 生物の仕事

生物の仕事は自由エネルギーを利用し行われる全ての事柄を含む。具体的には個体レベルでは筋肉運動等の力学的な仕事、生物に必要なタンパク質、核酸の合成等の化学的な仕事、そして神経系統の機能維持を含む。細胞レベルでは膜の運動、構成成分の合成等がある。

2.2.1 仕事と生物の状態

仕事量が多い筋肉運動が活発である時や、高分子化合物の合成が盛んである成長期は、活動している状態である。逆に睡眠休止中であれば、達成する仕事量が減る。それ故、生物の状態は達成する仕事量によって決まると考えてもよい。

2.2.2 熱と生物の状態

生物の状態が仕事量により決まれば、結果的には状態が熱発生量を決める。従って産生された熱量から体温維持熱量を引いた流出熱量も決まる。したがって流出熱量は生物の状態に依存するが、体温維持に利用される熱量は生物の状態とは無関係にほぼ一定である。

2.3 以上をまとめると

生物の仕事量によって生物の状態がきまる。同時に産生熱量もきまる。産生熱量から一定量の体温維持熱量が体内に残り、その他は流出熱量として体外へ流出する。生物の状態が変化しても、体温維持熱量は変化しないが、その他は変化し、それぞれが比例する。

3. 全身熱測定の応用

3.1 和漢薬領域での応用

和漢薬はもともと全身への機能を改善あるいは回復することを目的として処方される。実際私達が服用するのもそのためである。しかし和漢薬の効果が科学の領域で議論の対象となっているのは、局所的な各論的な方法で結果を出し、考察として全身の効果を考える事に頼らざるを得ないのが現状である。

流出熱量測定が生物全体の状態を判断する指標になりうるのではないかと考え、これを利用し和漢薬エキス

流出熱量に対する効果を試みた。

流出熱量は午前10時から始め、翌日午後6時まで行った。流出熱量キログラム(kJ)への積分はマウスが熱量計の環境に順応した後、リズムが始まる午後6時から翌日6時までの24時間の全体と8時間毎の区分(夜, N; 午後6時 昼, D; 午前10時から午後6時)とした。使用した熱量計は電子科学社Biodynamic Calorimeter, BDC200で、内部には充分な水、餌、が用意され、その上任意な運動が可能な回転軸が設置されている。空気は毎分100mlの速度で空気穴から流入させた。

Calibrationはマウスの測定条件と同じに行い、電気的な熱量(0.5W)とチャートでの高さとの間には正の比例関係が存在した。

使用したマウスは雄ICR系6匹で同じ時に8週令で購入し、以下の条件で投薬、飼育、熱測定を行った。

購入後10日間動物室にて環境に慣らした後漢方薬投与前の状態を測定する目的で、流出熱量を測定した(Fig. 1中0)。測定を終了したマウスは動物室に戻し、その後7日間和漢薬エキスを蒸留水に懸濁し与え、最後の二日間上記に準じて熱測定を行った。(Fig. 1中1)。以後マウスは通常の飼育条件にして一週間後と3週間後熱測定を行った(Fig. 1中2と4)。Fig.1は6匹のマウスの流出熱量パターンを示した。Fig.1から明かなように、個々のマウスの24時間連続した流出熱量パターンには個体差が明確に観察された。更にこの測定結果から、個特有(特に上から2番目マウスで顕著)のパターンは測定時期にかかわらずほぼ同じであった。和漢薬エキス投与によって、流出熱量パターンに異常を引き起こさないことも明かである。

Fig.1から8時間毎(N, M, D)の流出熱量を週毎に図にしたのがFig.2である。Fig.2から個々のマウスの8時間毎24時間でのリズムを、週を追って見る事ができる。どのマウスもリズムとして見るときには変化がないと結論出来る。

Fig.3は24時間における総流出熱量変化と体重の変化を図にした。漢方薬投与期間体重の減少が明らかに見られたが、マウスaが他のマウスに比べて体重は他と同じであるにもかかわらず、遥かに高い流出熱量を記録した。マウスeは体重が他のマウスに比べ重たいにもかかわらず流出熱量としては他と殆ど同じであった。体重と24時間流出熱量との相関指数 $r=0.1049$ であった。

3.2 痛みの測定へ

痛みがあれば動かなくなるのは予測出来る現象である。従って"動かない状態を流出熱測定から測定出来る"と考え、測定した。この結果は東京医科大学、麻酔科三宅有教授の協力で松波医師が行った。

痛みは0.1M酢酸溶液0.25mlを午後5時から5時30分の

間に腹腔内投与し誘発した。投与後すぐに熱量計に戻し熱測定を翌日午後6時まで続けた。コントロール(Control)として0.25mlの生理食塩水を投与した。その上、最も古くしかも鎮痛効果が期待できるアスピリン(Asprin; 100mg/kg)の投与での変化をみるためアスピリン単独投与と上記の要領で痛みを誘発させた場合をも検討した。アスピリンは筋肉注射により、酢酸投与より30分前に投与した。

熱測定の要領は上記の通りであるが、アスピリン投与、痛みの誘発のために短時間であるが熱量計を開放した。

全部で31匹のマウスを以下の群にわけスケジュールに従って処置と熱測定を行った。7匹のマウスに生理食塩水投与(Fig.4左上)、8匹のマウスには酢酸投与(痛みの誘発, Fig.4右上)、8匹のマウスにはアスピリン単独投与(Fig.4左下)、及び8匹のマウスアスピリン投与後酢酸投与(Fig.4右下)したときの個々のマウスのリズムの変化をFig.4に示した。生理食塩水では一日のリズムはFig.2でみられた変化とほぼ同じで乱れは測定されなかった。しかし酢酸投与で明らかに一日のリズムに乱れがみられ、さらにアスピリン単独投与によっても明かなリズムに乱れが観察された。しかしそれらの乱れは痛みと鎮痛剤両者共存すると乱れの程度が軽くなり、完全ではないがリズムが正常状態に近くなった。

3.3 麻酔状態の測定

寝ている状態でも麻酔状態と睡眠状態とは異なる。この研究は東海大学、医学部、麻酔科の大谷医師が行った。全身麻酔時での流出熱量を測定すると両者の違いが明らかに識別することが出来る。睡眠状態での流出熱量は日中(Fig.1 D; 午前10時から午後6時までを参照)が一日の間で最低ではあるが常に0.5ワット程度熱量として存在する。しかしインフロンガス1.5%での全身麻酔状態では流出熱量が"零"を記録した。1.0%では睡眠中より低いが決して"零"の流出熱量を記録することはなかった。現在異なった麻酔ガスを用いた研究を東京医科大学、成田医師が行っており、麻酔ガスの種類で同じ濃度でも経験上麻酔深度が浅いガスは流出熱量が高く記録されている。

3.4 考察

今回使用したマウスは母マウスは同じであるので兄弟である。毛並みに乱れないことから健康で正常な状態である。にもかかわらず流出熱量では個々の差が見られるのは、個々の健康な状態がそれぞれ差があることを示唆している。いいかえれば、健康な状態とは個とは無関係に存在する普遍的な状態ではなく、個に付属する状態であり、個々で異なった健康な状態があると言える。具体的には、マウスaとcでは運動量が他のマウスに比べ

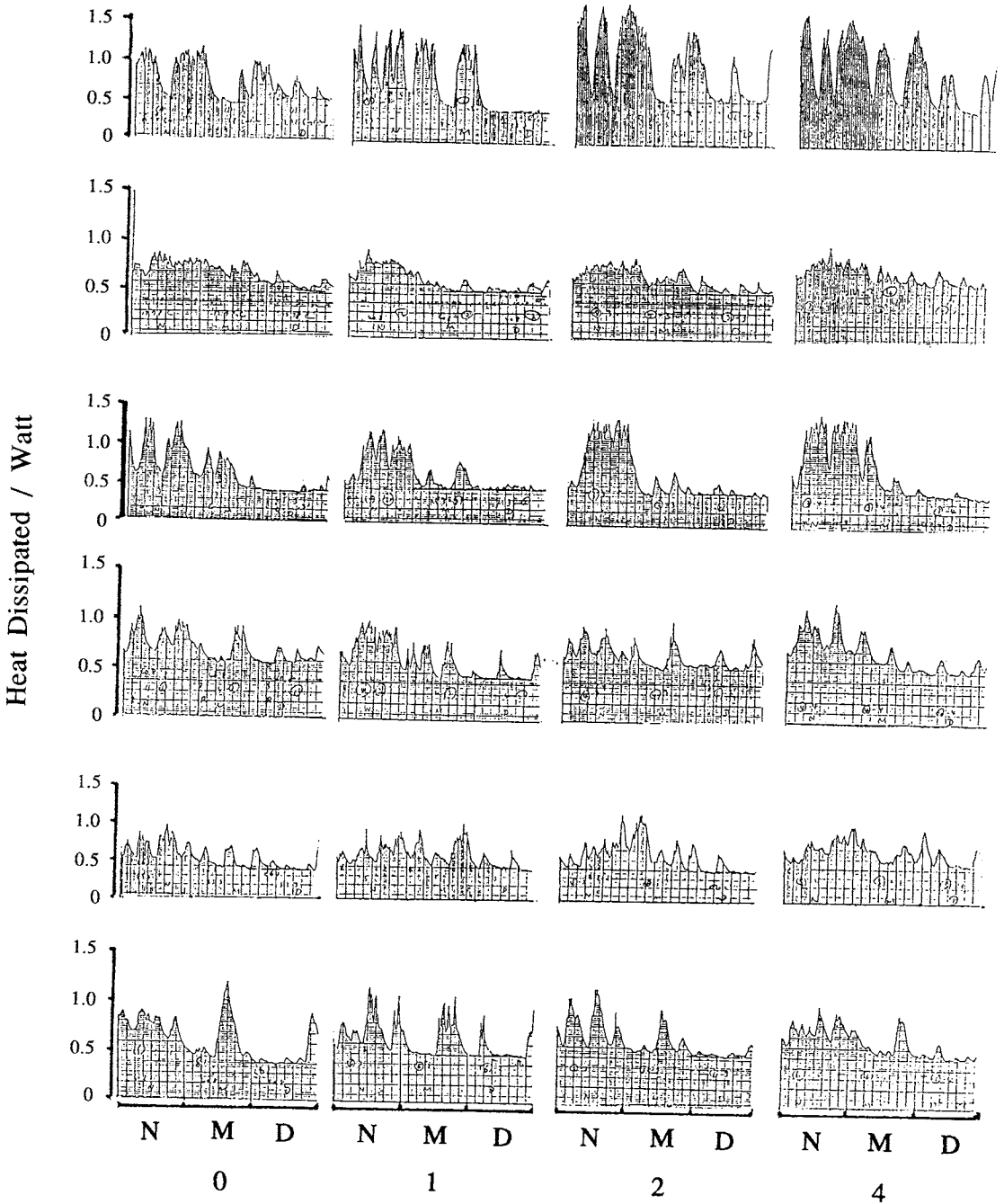


Fig.1 24-hour Pattern

24-hour pattern of heat dissipated by 6 mice(a, b, c, d, e and f) at various time intervals(0)in the figure represents 10 week-old,(1) 11 week-old, (2;) 2 week-old, (4) 14 week-old mice respectively. A suspension of a plant extract in water was given for 1 week after the measurement of 10 week-old mice were done.

Night(N) represents between 18:00 and 02:00, Morning(M) between 02:00 and 10:00 and Day(D) between 10:00 and 18:00.

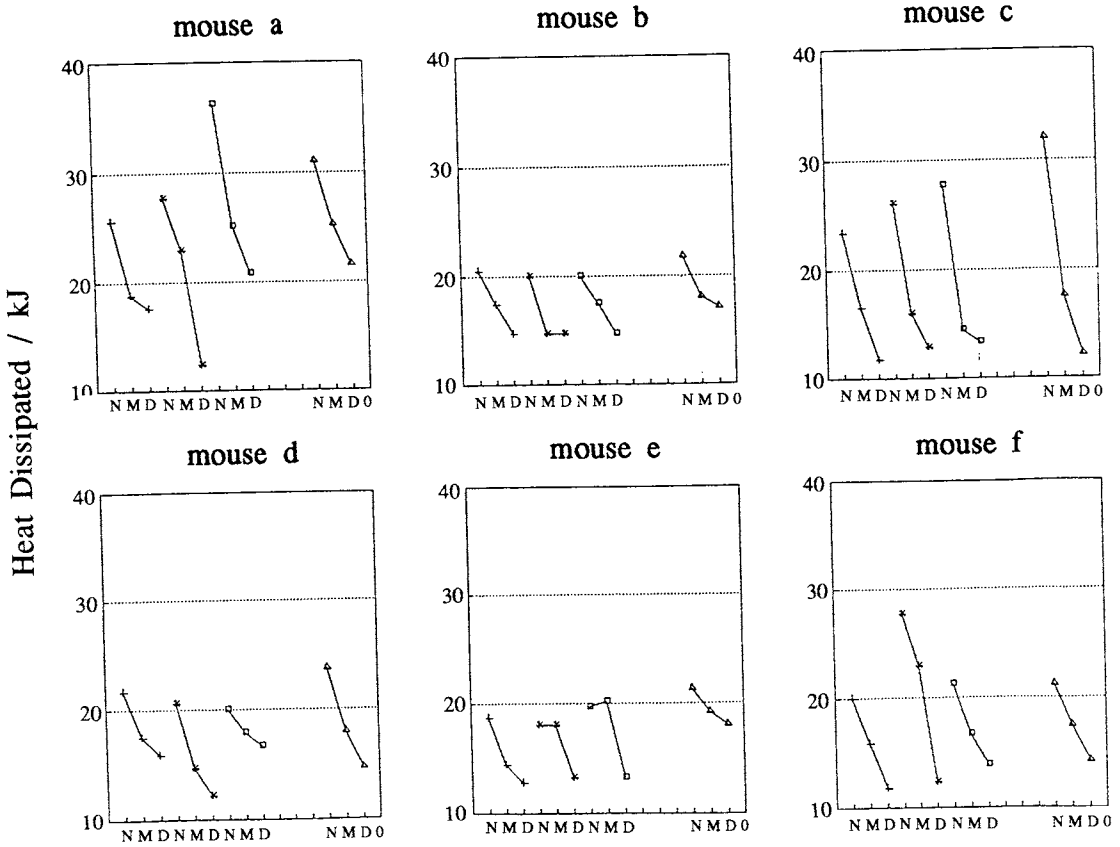


Fig.2 Circadian Rhythm

For each mouse heat dissipation measurements were calculated from Fig.1 and plotted for 8-hour periods.

圧倒的に多く、8時間毎の変動が大きいことが健康な状態である。マウス b では運動をそれほどしないことが、このマウスにとって健康な状態である。個々の状態が測定時期によりそれほど変化しないことが、流出熱パターンが個々のマウスで変わらないことから明かであるが、この発見は驚きである。このことは、流出熱測定により個々のマウスの状態を数値化していると考えてもよい。また将来、流出熱量変化によって個の認識が出来る可能性を秘めていると考えられる。

一日でのリズムは中枢神経機能の一部で重要な機能であるから、老化など自然な機能の乱れを観察出来ると考えられる。

体重と流出熱量とは無関係である結果が今回出たが、これは前に報告した4週令と6週令マウスの測定で後者がより高い流出熱量を記録した結果⁵⁾と相反する結果のように見える。この違いは週令による違いが影響してい

ると思う。成長期にある4-6週令では仕事量の増加とともに体重の増加があり、流出熱量が総和されているためであろうと思う。今回の測定では9週令以後のマウスであり、年齢からすると既に成年期であり、体重の増加はそれほどではないので、流出熱量の変化は個々のマウスでの仕事量と仕事への効率の違いによって生じていると考えられる。

和漢薬は身体全体に対する効果を期待するのが目的であるが、身体全体を測定する適当な方法はない。生体が発生する流出熱量が生物の状態を反映すると考えられるので投与前後での熱測定を行った。

投与によって体重の減少(Fig.3参照)が見られた原因は和漢薬extract懸濁液がかなり苦いためにマウスが液体を飲まず、従って餌を食べず、結果として体重が減少したと考えられる。動物を使うこのような実験では、飲食を強制的に達成するするのが通常であるが、この実験ではあ

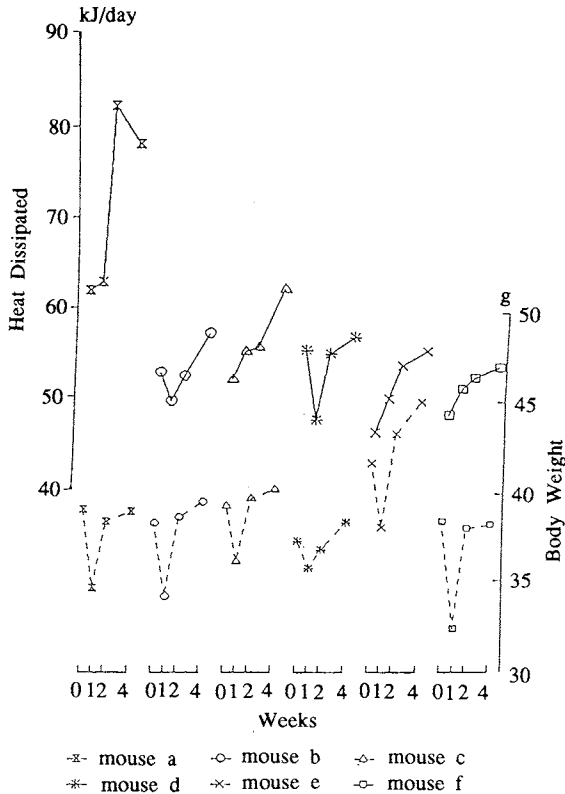


Fig.3 Heat dissipation during 24-hour and Body Weight Total heat dissipation during 24-hour(kJ) and body weight(g) were plotted against the intervals indicated as above.

くまでマウスの自発的な飲食を考えているので、この結果になった。将来は不快さ(苦みは匂い等)をなくし水と同じ程度飲める懸濁液を投与出来ればと考えている。動物実験はあくまで自発的な状態で行うのが正しいと思う。

大切なことは体重が減少したからといって、流出熱量パターンと一日のリズムには異常が起きなかったことである。投薬により通常の一日のリズムに異常が起らないは大切な事対象としたので、異常が誘発されれば困る。異常誘発の例の一つがアスピリン単独投与に起因するリズムの乱れ(Fig.4参照)である。これはアスピリンを健康で正常な時に摂取すると正常な状態から逸脱することを示している。

和漢薬が全てのマウスに効果を示すとは考えられないので、効果がある場合とない場合を区別して考える必要がある。このことを念願においてFig.2を解釈すると、体重の減少があつたにもかかわらず流出熱量の増加を示したマウス4匹(a,c,eそしてf)は、効果があると判断でき

るのかもしれない。

痛みの測定の分野での熱測定は今後発展することを望んでいる。モルヒネが鎮痛剤として使われ始めてからその依存性の為に長期的な使用には躊躇がある。一方では慢性的な痛み苦しむ人は多く存在し、その人々にとって痛みから開放されることは通常の生活に戻ることを意味する。将来痛みに関する研究で痛みの共存がある限り、モルヒネ等の薬剤が長期に投与しても依存性の危険が少ないことが実験で明らかになれば、長期投与も可能になるかもしれない。そのためには健康な時の状態、痛みのあるときの状態、依存性を示すときの状態を測定し、痛みが存在するとき、モルヒネを使用すると健康な状態を示しモルヒネを中止すると痛みのある状態が出現するが、依存性の状態にはならないことを証明出来ればよい。

麻酔の深度はいままで痛みを与えて反応するかどうかから判断されてきたが、流出熱量が零となることを基準にすれば、動物に痛みを与えることなく深度を標準化でき今後有効な手段になると思う。

4. 終わりに

非破壊的である熱測定が生物の世界で大変有効であるのは、同じ個体を何度も測定出来ることである。したがって今後は同一個体での変化を測定することが研究の課題となると思う。熱測定を利用すれば使用する動物の数を減らすことが出来るばかりでなく、殺す必要は全くなくなる。

今まで動物実験は個体を定義出来なかったために、個体差を出来る限りなくすために、多くの個体を使用し、実験を繰り返し、統計を駆使しなければ結果がでなかった。ここでも痛みの研究は、その手法に準じておこなったので31匹マウスを使用した。7匹以外の24匹ものマウスは酢酸投与での痛みを与えざるをえなかった。一方、たった6匹の個体を何度も測定した和漢薬の研究では個を何度も測定し個での変化を観察し、有用な知見を得ることができたと思う。

謝 辞

この研究のヒント“みみずが這うと熱が出、その熱を測定できる”を二十数年前に与えて下さいました関集三 大阪大学名誉教授に感謝致します。もし関先生が薬学研究科で講義をされていなければ、この私の研究はなかったと思います。

この研究を初期から支援し、元気づけて頂きました、東京医科大麻酔科三宅有教授(故人)、に感謝し、ご冥福をお祈り致します。

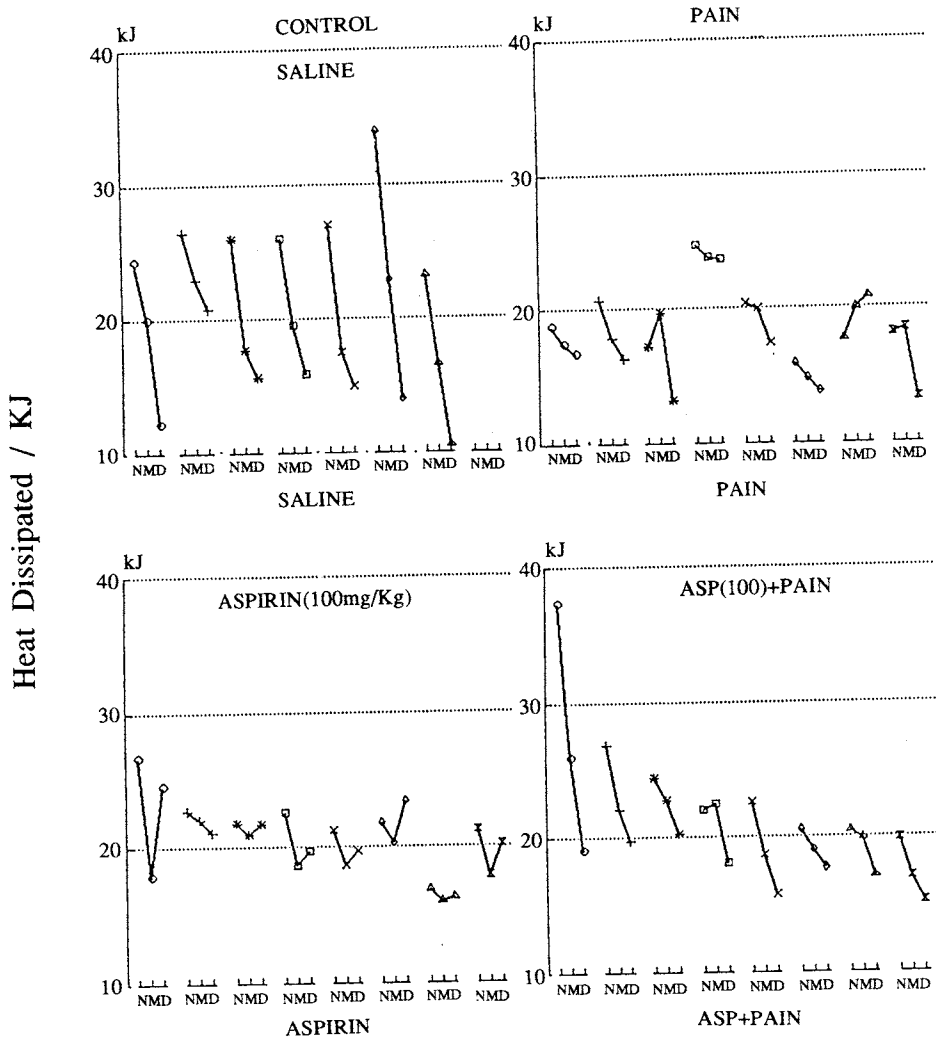


Fig.4 The effect of Pain, and Pain Killer(Aspirin) on Rhythm

Mice were intraperitoneally injected (i.p.) with saline as control, acetic acid(i.p.) to induce pain, Aspirin (intramuscular;i.m.) or Aspirin together with acetic acid between 17:00 and 17:30.

文献

- 1) M. Yamamura, H. Hayatsu and T. Miyamae, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **140**, 414 (1986).
- 2) 山村雅一, 蛋白質, 核酸, 酵素 **33**, 356 (1988).
- 3) H. Hayatsu, T. Miyamae and M. Yamamura, *J. Immunol. Methods* **109**, 157 (1988).
- 4) 特集: 生物の熱測定 *Tokai J. Exp. Clin. Med.*, 15.
- 5) 山村雅一, 熱測定 **18**, 34 (1991).

要旨

全身熱量計はマウス全身から流出する熱を測定する装置であり, それをマウスの状態測定に応用した。測定は午前10時から翌日午後18時までの32時間行った。その結果健康なマウスは明確なリズム, すなわち Circadian Rhythm, を示した。一定の間隔で同一の個体を繰り返し測定すると, 流出熱量パターンはほぼ同じであった。和漢薬の効果の判定に熱測定を応用し, 和漢薬を水に懸濁

し与えた。苦みあるため摂水が減り、従って摂食が減少し、結果として体重の減少が見られた。しかしリズムは乱れなかった。0.1M酢酸を腹腔内投与し痛みを誘発したとき、リズムの乱れは顕著であった。しかし100mg/kgのアスピリンを痛みを誘発したマウスに与えると、完全

ではないが健康は時に近いリズムになった。アスピリンを単独で健康なマウスに投与すると、驚いた事にリズムの乱れが見られた。麻酔状態では流出熱量が検出出来なかった。これらの結果は全身熱測定がマウスの状態の測定及び個体の定義に役立つことを示唆している。

国際熱測定連合(ICTAC)入会のお誘い

国際熱測定連合 (International Confederation for Thermal Analysis and Calorimetry: ICTAC)は、熱分析とカロリメトリーの分野の唯一の国際組織である。日本熱測定学会も加盟しているが、個人会員としても入会できる。個人会員には年2回Newsが配布され、この分野のさまざまな国際的活動のニュースが直接入手できるほか、"For Better Thermal Analysis and Calorimetry" (傘下の各委員会の活動成果などを記載したパンフレット)と名簿が送られる。日本熱測定学会は加盟しているから、その会員の年会費は15スイスフラン(米ドル換算10\$)[非会員

は20スイスフラン, 14\$]であり、トラベラーズ・チェックで送金できる。申込先は下記の通りであり、活動を記述したリーフレットは学会事務局(あるいは〒305 つくば市御幸が丘27 ダイセル化学工業(株)筑波研究所 小沢丈夫)から入手できる。

Dr. H. G. McAdie
H. G. McAdie Associates
Toronto, Ontario M4P 3B7,
Canada

新刊紹介

E. L. Charsley, S. B. Warrington, Ed.,
"Thermal Analysis
—Techniques and Application",

Royal Soc. Chem., (1992) pp.296.

英国化学会から出版されたこの単行本は、1991年9月12,13日にわたり英国で開かれた熱分析講習会にもとづいて編集された。DTA, DSC, TG, TG-DTA/DSC, EGA, TMA, 動的熱機械測定, 高温X線回折, 高温顕微鏡観察の技法が解説されている。その他、試料の測定している性質の変化速度、たとえば質量減少速度を一定に保つように温度を制御させる熱分析、速度制御熱分析、Controlled Rate Thermal Analysisも取り上げられている。これに当時のICTA会長、S. St. J. Warne教授によ

る熱分析入門およびICTA紹介の章が設けられ、ICTAC現副会長Charsley教授(編者)が熱分析の情報入手につき記述している。応用の解説を含め全体で15章である。

多様な応用分野の中から、高分子、医薬品、冶金と材料科学、鉱物と化石燃料、触媒が取り上げられ、それぞれの専門家により解説されている。この他に、とくに品質保証への熱分析の応用が加えられた。

このように多分野にまたがり多くの読者を対象として、入門的解説からやや専門的な記述まで含んでおり、わが国で出版されている単行本に似たような趣となっている。熱分析の性格によるのであろう。しかし、やや詳しくみると、解説内容の取り上げ方、強調点、例示などの点で独特のものがあり、興味深い。わが国ではすでに同様な解説書が出版されているから、わが国の入門者には不向きであるが、むしろ、熱分析の講義や解説を行おうとする前に読み比べれば、いろいろと考えさせられ、示唆が得られるものと思われる。

(ダイセル化学工業(株) 小沢丈夫)