

機器紹介

極微弱発光測定装置 (ケミルミネッセンスアナライザー)

山本文雄* 伊原郁夫** 田中一彦*
吉田成彦* 村下十志文* 川副浩平*
藤田 毅*

近年、極微弱発光を測定する技術が開発され、生体の病的変化と結びつけられ論じられようとしている。例えば、癌患者の血液や糖尿病、高脂血症の患者の血液¹⁾において、この極微弱発光は強く、この仕組の解明に今尚かなりの心血が注がれている。そもそも、この極微弱発光の生化学領域への応用は、この分野のパイオニアである東北大学の稲場文男教授によって開始され、数多くの生体の不思議な現象の謎を解く手がかりを与えてくれた様である。我々は、この極微弱発光計測がどの様になされるか専門的知識を持たないが、文献的に知り得た知識を紹介すると共に、心臓外科領域の問題との関連においてこの極微弱発光計測装置を紹介する。

生体膜の構成成分であるリン脂質は、リノール酸、アラキドン酸などの高度不飽和脂肪酸を多く含むため、過酸化反応を受けやすく、この過酸化脂質由来の障害が近年注目されてきた。この過酸化脂質の測定法は大きく4つに大別できる。すなわち、TBA法、ガスクロマトグラフィー法、酵素法、そして化学発光法である。本装置は、この化学発光法として利用することが出来る。組織脂質過酸化で生じた脂質酸素ラジカルの一つであるペルオキシラジカルは、ラッセル機構による二分

子分解反応を生じ、一重頂酸素と励起カルボニル化合物を生成する。化学発光法は生体組織に生じたこれらの励起種が基底状態へ自発的に遷移する際に発する可視部領域の極微弱光を光電子倍增管を用いて検出する方法である。類似の発光が、脂質ヒドロペルオキシドと生体ヘム化合物であるヘモグロビン、ミオグロビン、チトクロムCとの反応で観測でき、又組織ホモジネートに脂質ヒドロペルオキシドを添加した系でも認められる。10⁻¹⁴ワット以下である極微弱光の測定には低雑音の光電子倍增管を備えた単一光電子計数方式による検出装置を使用する。図1は、東北電子(株)製の極微弱発光検出装置(OX7-TC)である。図2は、その装置のブロック図を示したものであるが、本装置は稲場文男教授の15年間に及ぶ心血の結晶

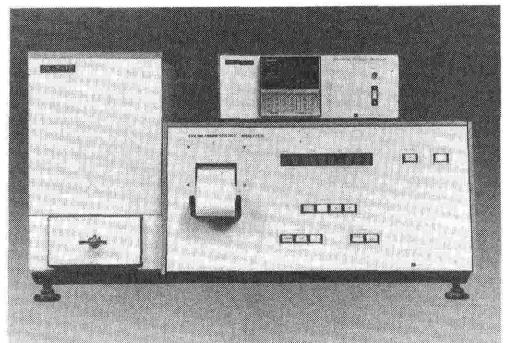


図1 極微弱発光測定装置 (OX7-TC)

* 国立循環器病センター、心臓外科

** 国立循環器病センター、脳神経外科

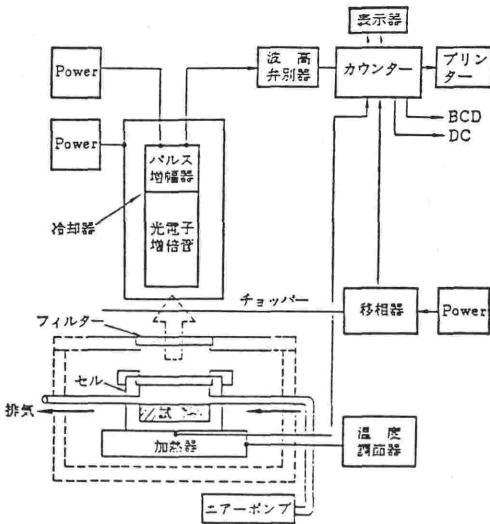


図2 極微弱発光測定装置ブロック図

である。

さて、1955年 Melrose により “elective cardiac arrest” なる概念が報告²⁾され、以後、開心術時の心筋保護法が開発され、開心術の成績は飛躍的に向上安定してきた。しかしながら、現在でもこの方法の若干の違いによる影響はあるものの大動脈遮断時間の限界は、2～3時間であろう。一方、心臓移植に際する心保存も現在の所 4°C で6時間位の保存は可能であるが、これらの限界を越えると心筋傷害は著しく、irreversible となる様に思える。こういった虚血心筋傷害を如何に防ぐかという点については現在の所適確な方法はなく、様々な方法³⁾が試みられている。Hess⁴⁾らは、こういった様々な現象に由来する心筋傷害を free radicals の観点からとらえ、この free radicals の制御が重要であることを指摘している。心筋細胞が虚血に陥ると、ミトコンドリア周

辺の酸素濃度は低下し、電子伝達系に過剰な電子の蓄積が生じ、radical が形成され、膜脂質の多価不飽和脂肪酸基がこの radical の受容体となり、膜内にアルキルラジカルの生成、これがミトコンドリアに存在する酸素と容易に反応し、連鎖的な過酸化反応が開始され、膜内に過酸化脂質が産生される⁵⁾。こうして膜の構造が障害されると、もはや細胞内外の様々なホメオスタシスは維持できず、確実に細胞は死に至るようになることが推測される。この free radical こそが心筋障害の諸悪の根源ではないかと、我々は現在本装置を用いて、様々な研究に着手しているところである。

この装置は、生命科学は言うに及ばず、食糧化学など様々な分野で応用されているが、最近この分野の発展に再び巨大プロジェクトが生まれ、この稲場グループの極微弱発光計測技術の向上に期待が寄せられている。我々も、この極微弱発光計測技術の向上が、虚血一再灌流障害の mechanism の解明にも応用できればと、極微弱発光計測技術の向上を切に願っている者である。

文 献

- 1) 後藤由夫：昭和57年度文部省科学研究費総合研究 (A)研究成果報告書。極微弱光による生体内過酸化脂質の同定とその老化ならびに成人病における意義。
- 2) Melrose, D. G., Dreyer, B., Bental, H. H., Baker, J. B. E.: Elective cardiac arrest. Lancet 2:21-22, 1955.
- 3) 藤田 毅, 山本文雄：日本の主要施設における心筋保護法の現状；厚生省循環器病研究委託費：心臓手術における心筋保護に関する基礎的並びに臨床的研究, アンケート調査結果から, 日胸外会誌 34(9)：1-11, 1986.
- 4) Hess, M. L., Manson, N. H.: Review article: Molecular oxygen: Friend and Foe. J Mol Cell Cardiol 16:969-985, 1984.
- 5) Demopouilos, H. B.: The basis of free radical pathology. Fed Proc 32:1859, 1973.