運動負荷時のヒト呼気極微弱発光特性の測定

小林正樹^{*}、浅井和弘^{**}、飛田渉⁺、井上洋西⁺、滝島任⁺、稲場文男[†]

*新技術事業団生物フォトンプロジェクト、**東北工業大学、+東北大学 医学部 第一内科、

#東北大学 電気通信研究所

Measurement of ultraweak photon emission characteristics of human breath during exercise.

M. Kobayashi^{*}, K. Asai^{**}, W. Hida⁺,
H. Inoue⁺, T. Takishima⁺, and
H. Inaba^{*,#}

*Biophoton Project, Res. Develop. Corp. Japan, **Tohoku Inst. of Tech., +Dep. of Med., Tohoku Univ. School of Med., #Res. Inst. Elect. Commun., Tohoku Univ.

ABSTRACT

We are pursuing the new biomedical measurements using highly sensitive detecting techniques of ultraweak photon emission from subjects related to human being. Ultraweak photon emission phenomenon (Biophoton emission) is caused by biochemical reactions in living body, and closely associated with biological functions. Especially this phenomenon is known to be related to the production of excited species or radicals in the process of lipid peroxidation of living body. This detection of ultraweak photon emission should provide new information on the physiological state of the body. We have measured ultraweak photon emission characteristics of human breath, particularly the temporal change of photon emission during excessive exercise. It was then found that their characteristics reflect the physiological change in body condition during the exercise, and their measurement is valuable to provide new biomedical information.

1. はじめに

生体作用や生命現象と密接な関連をもち、生体内の種々の情報を担っていると考えられている極微弱発光現象（生物フォトン）を利用した生体計測法について我々は各種の研究を行っている^{1)・2)・3)}。生体組織や細胞、また生体に関連した種々の分泌物や体液は、光照射による励起や刺激がない状態でも極微弱な発光を呈する。これは、生体内部での生化学的反応による励起種の生成に起因し、とりわけ活性酸素種やそれに伴う種々の遊離基の産生などと密接に関連している。具体的には、活性酸素

種が開始剤となって連鎖反応的に進行する脂質過酸化過程におけるオキシラジカルやペルオキシラジカルの産生とこれらの遊離基の再結合反応による励起種の産生が知られており、生体内過酸化の進行状態に対する指標としての生物フォトン現象の利用の可能性が示唆されている。その発光強度は 10^{-15} W以下と極めて微弱であるが、極微弱発光検出装置の高感度化や優れた極微弱発光スペクトル分析装置の研究開発によって生物フォトン現象に基づく新しい生体内情報の非侵襲的計測の道が開けてきている。

我々は、このような目的で種々の検出装置や計測方法の検討から臨床的応用を目指した各種生体試料の発光諸特性の測定などの広汎な研究を行っており、これまで血漿⁴⁾、尿、呼気⁵⁾、喀痰⁶⁾等を測定対象として新しいデータを発表してきた。今回はその中でも試料の採取が容易で、また実時間計測が可能な呼気の極微弱発光現象を利用し、その生体計測への新しい応用として過度の運動負荷時の呼気極微弱発光特性について新しい知見が得られたので報告する。呼気中には、代謝産物として呼気ガス1L当たり数 μ gから数ngの極微量物質が100種類以上排泄されていることが知られているが⁷⁾、生体内で種々の要因によって産生される活性酸素種や遊離基、励起種との関連性が推測され、極微弱発光測定によってこれらに関連した情報の高感度かつ迅速な検出が可能であると考えられる⁸⁾。過度な運動負荷時には、心筋の疲労に伴う組織内での一時的低酸素状態が活性酸素種の産生を促し、それが原因となって脂質過酸化が進行することが示唆されている。本報ではその関連性において、過度の運動負荷（無酸素運動）に由来する極微弱発光検出を目的として、装置系、測定方法の検討を行うと共に、数名の被験者を対象に発光特性の測定を行った。

2. 実験装置及び方法

図1に測定装置のブロック図を示す。運動負荷試験は、自転車エルゴメータによる一定負荷試験とし、被験者の全排出呼気ガスを極微弱発光測定装置に導入してフロー系で測定した。また同時に呼気ガスモニターを用いて分時換気量、酸素摂取量、炭酸ガス排出量の測定を行い両者のデータをマイクロコンピュータに取り込んで、リアルタイムで計測した。極微弱発光検出部は、呼気ガスの

図1 運動負荷時のヒト呼吸からの極微弱発光測定装置のブロック図

捕集と集光のためのアルミ製ガスチャンバー部と、その一端に設置された光電子増倍管（以下PM）からなり、ガスチャンバー部は、結露防止のために40℃に温度制御した。極微弱発光測定には、バイアルカリ光電面を持つR1332（浜松ホトニクス社製）PMを用い、単一光電子計数法（略して光子計数法）により行った。PMの波長感度領域は350～650nmであり、450nmにそのピークをもつ。PMからの出力パルスは、ソケットに内蔵したプリアンプを

経て、フォトンカウンターに入力される。光電子増倍管の印加電圧やフォトンカウンター入力パルス波高弁別レベルは、予め測定したPMのパルス波高分布から求めた最適動作条件に設定した。測定は、ゲートタイム10秒で室温下で行い、このときの暗電流カウントは約600count/s/10secであった。被験者（健康人）は、一方向弁を持つフェースマスクを付け、吸気にはフィルターによって濾過した室内空気をダグラスバッグに入れて用いた。この場合捕集された空気そのものの発光は認められなかった。排出された全呼吸ガスは、フェースマスクから内径30mmφのゴム管を経て極微弱発光検出装置および呼吸ガスモニターに送られ、その配管は呼吸流速と比較して両測定装置間の時間的遅れが無視できるように短く配置した。

運動負荷は、エネルギー代謝系において嫌氣的代謝への依存度が急激に増加する、すなわちAnaerobic threshold（AT）を越えるような負荷を過度の運動の指標として定負荷試験（150W）で実施した。測定は、運動前安静時（10分）、運動負荷時（被験者の能力により10分から15分）、運動終了後安静時（10分）にわたって連続して行った。被験者はいずれも健康な20代の男性とした。

3. 結果及び考察

図2に、代表的な測定例を示す。図2(a)は極微弱発光強度と分時換気量の経時的变化を安静時から、運動負荷時、運動後安静時にわたって図示したものである。極微弱発光強度は100秒当りのカウント数で表し、暗電流カウ

ントを差し引いて示した。極微弱発光強度は運動開始後から徐々に増加してほぼ一定となり、運動終了後数分にわたって発光が持続していることがわかる。図2(b)は同時に測定した分時換気量との間の相関図であり、図中の曲線で示したような経時的なヒステリシスが認められた。以上のことから極微弱発光強度の増加は、単に換気量の増加を反映したものではなく、運動負荷に起因する何らかの生体内の状態変化による生成物の発生を示唆するものと考えられる。

また、極微弱発光強度と酸素摂取量との相関図を描くと同様なヒステリシスが存在することがわかった。図3(a)には、このとき同時に測定した酸素摂取量、炭酸ガス排出量、分時換気量の推移を、図3(b)には酸素摂取量と分時換気量との間の相関図を示す。図中にATで示した点は酸素摂取量の増加に対して換気量が不連続的に変化する点、すなわちAnaerobic thresholdと推定される点である。酸素摂取量がATを越えてからの極微弱発光強度の増加が顕著であることから、これは過度の運動負荷の継続に起因するものと判断される。

図4は、4名の被験者を対象にして同様の測定を行った結果である。各被験者についてAT以降での極微弱発光強度の増加と換気量との間のヒステリシスの存在がみられたが、各被験者間でその形状には相違が認められ、ヒステリシスループ内の面積、あるいは運動開始直後からの換気量の増加に対する極微弱発光強度の増加の傾きなどに、運動能力に関連した情報が含まれていることが推察される。

4. おわりに

過度な運動負荷は組織内での一時的な低酸素状態を招来し、これがエネルギー代謝系からの電子の漏出とこれによる活性酸素種の産生をもたらすと考えられている。これが引金となって、体内で脂質過酸化が促進され種々の組織障害が生ずる。従来、血漿中の過酸化脂質濃度の測定や、過酸化脂質の分解生成物である低級炭化水素の呼吸中濃度の測定⁹⁾によって過度の運動負荷と脂質過酸

図2 (a) 呼吸極微弱発光強度及び分時換気量 ($\dot{V}E$) の経時変化

(b) 呼吸極微弱発光強度と分時換気量の相関図

○: 運動前安静時から運動開始5分後までの推移

△: 運動開始5分後から運動終了後安静時までの推移

図3 (a) 酸素摂取量 ($\dot{V}O_2$)、炭酸ガス排出量 ($\dot{V}CO_2$) 及び、分時換気量 ($\dot{V}E$) の経時変化

(b) 酸素摂取量と分時換気量の相関図

化との関連¹⁰⁾が検討されているが、採血や呼吸ガスの濃縮による採取等煩雑な処理過程を必要としていた。我々は生体内で産生される遊離基、励起種に由来する極微弱発光の高感度検出に着目し、その発光強度変化の実時間計測を試みた。その結果、過度の運動負荷に起因する何らかの生体内生成物によるものと考えられる極微弱発光強度の変化を新たにとらえることができた。発光種には、励起一重項酸素分子や励起カルボニル化合物等が考えられるが、具体的な発光機構や極微弱発光と活性酸素種の生成、脂質過酸化過程との関連性については現在検討中である。呼吸ガスの極微弱発光測定が、生体内における遊離基や励起種の産生に関する実時間情報を提供するものとすれば、本方法は臨床医学的にも極めて重要であり、今後スポーツ生理情報計測や臨床検査などへの広範な応用が期待できるものと判断される。

参考文献

- 1) 稲場文男, 光学 12, 166 (1983)
- 2) 稲場文男, 月刊 BME (日本 ME 学会誌) 1, 628 (1987)
- 3) Inaba, H., Experientia 44, 551 (1988)
- 4) Yoda, B., Goto, Y., Saeki, A., Inaba, H., Arch. Environ. Health, 40, 148 (1985)
- 5) Kobayashi, M., Asai, K., Ichimura, T., Inaba, H., Photomed. Photobiol. 10, 143 (1988)
- 6) 小林正樹, 浅井和弘, 稲場文男, 日本レーザー医学会誌 9, 527 (1988)
- 7) Krotozynski, B., Gabriel, G., O'Neill, H., Claudio, M.P.A., J. Chromatogr. Sci. 15, 239 (1977)
- 8) Williams, M.D., Chance, B., J. Biol. Chem. 258, 3628 (1983)
- 9) Wade, C.R., van Rij, A.M., Anal. Biochem. 150, 1 (1985)
- 10) Dillard, C.J., Litov, R.E., Savin, W.M., Dumelin, E.E., Tappel, A.L., J. Appl. Physiol. 45, 927 (1978)

(a) 呼気極微弱発光強度の運動負荷時における経時変化

(b) 呼気極微弱発光強度と分時換気量の相関図

(c) 呼気極微弱発光強度と酸素摂取量 ($\dot{V}O_2$) の相関図

●: 運動前安静時から運動開始5分後までの推移
○: 運動開始5分後から運動終了後安静時までの推移

図4 4名の被験者(A~D)の運動負荷時の呼気極微弱発光特性と関連パラメータの測定結果