

呼気中水素測定の基礎的検討

Measurement of breath hydrogen

劉 鳳* 近藤 孝晴* 戸田 安士*

Feng LIU, Takaharu KONDO, Yasushi TODA

This investigation was performed as a part of the study for the incidence of milk intolerance among Japanese population.

Breath hydrogen was analyzed with MicroLyzer (Quintron Instruments). Successive dilutions of the standard gas and expired gas yielded a close correlation with a theoretical value. Intraanalysis variation was minimal and the value obtained with MicroLyzer showed a good correlation with the value obtained with a thermal conductivity gas chromatograph (Shimazu).

All the subjects studied showed increased breath hydrogen levels as compatible with lactose deficiency but only 25% of the subjects had symptoms of lactose intolerance.

はじめに

高齢者の潜在的な骨粗鬆症の一次予防として、カルシウムを多く含む牛乳の飲用が勧められている。しかし、高齢者では、牛乳を飲む習慣のない人が多いことや、牛乳摂取にとまらなう下痢や腹痛（牛乳不耐症）が若年者より高頻度に発生することなどにより、牛乳摂取の普及が妨げられている。この牛乳不耐症の原因は乳糖分解酵素欠損のためである。日本人のほとんどは乳糖分解酵素を欠くといわれているがその実態は明かでない。乳糖分解酵素欠損症の診断は、古くは乳糖負荷後に血糖が上昇しないことが診断基準とされたが、感度は十分ではなかった。最近では、乳糖が腸内細菌により分解されて呼気中に水素が出現することから、この水素を測定する方法が一般的となり、診断の感度も向上した。呼気中の水素の測定は gas chromatograph によるが複雑さのためほとんど普及していない（1）。最近 Quintron 社の水素測定用 gas chromatograph (MicroLyzer) が輸入されるようになった。この測定機器は簡便かつ軽量な上に感度、精度とも十分といわれ（2）

国外ではもっぱらこの機種あるいは類似の機種を用いて呼気中の水素測定が行われている。本研究の目的は、日本人における乳糖分解酵素欠損の実態を検討することであるが、ここでは第一報として、MicroLyzer を用いた呼気中水素の測定に関して基礎的な検討を行った。

対 象

健康な高齢者60名（平均年齢 68 ± 4.5 歳， $M \pm S D$ ，男27名，女33名）を対象とした。検査の目的，危険性などを十分説明し，同意を得て実験を行った。

方法

1) MicroLyzer による水素の測定

MicroLyzer は大気を carrier gas とし，molecular sieve カラムを使用して呼気中の還元ガスのうち水素のみを N 型半導体のセンサーを用いて測定する装置である。少なくとも2時間の warming-up の後に用いた。検体測定前に calibrating standard (Quingas, 96ppm) 20ml を用いて校正を行った。

2) gas chromatograph による水素の測定

* 名古屋大学総合保健体育科学センター

* Research Center of Health, Physical Fitness and Sports, Nagoya University

gas chromatograph (GC-8APT, 島津製作所) を用いた。2 m の S U S カラムおよび、担体として molecular sieve 5A を用いた。carrier gas は argon を用い、2 次圧を $6\text{kg}/\text{cm}^2$ とした。Detector/Injection 温度は 100°C 、Column 温度は 65 から 80°C とし、T C の電流は 60mA とした。standard gas は Quingas を用いたが水素の同定には 100% 水素 (ガスクロ工業) を用いた。気体の測定用にガスサンプラ (MGS-4) を用い、分析にはクロマトパック (C-R1B) を使用した。

3) 乳糖負荷試験

早朝空腹時に乳糖 25g を微温湯 250ml に溶かして飲ませた。飲用前、および $30, 60, 90, 120, 180$ 分後に呼気を採取し水素を測定した。実験後および当日夜腹部症状の有無を確認した。

4) 呼気採取法

gas sampler (Quintron社) を用いて呼気を採取した。一部では Douglas bag を用いて 3 分間の呼気総量を求め、水素の総排出量を算出した。

5) 統計的解析

統計は t テストを用い、 $P < 0.05$ を有意差ありと判定した。必要に応じて、多重解析を加えた。

結 果

1. MicroLyzer の基礎的検討

1) standard gas

standard gas を大気で希釈し、 $48, 24, 12, 6, 3\text{ppm}$ の標準 gas を作成した。この標準 gas は MicroLyzer の実測値と直線的に比例した ($r = 0.999, P < 0.01$) (Fig.1)。また、呼気 (56ppm) を大気で倍々に希釈した直線はこの標準直線とほぼ平行であった (Fig.2)。

2) 精度

96ppm の standard gas を 10 回連続測定したところ $93 \pm 1.8\text{ppm}$ であり、変異係数は 2% と良好であった。

3) gas chromatograph との比較

1) で作成した標準 gas を MicroLyzer および

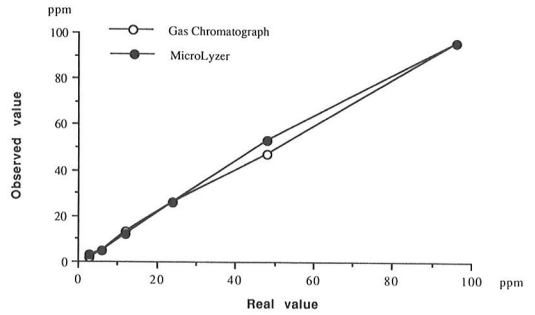


Fig.1 Dilution curves for standard gas measured with Microlyzer or gas chromatograph

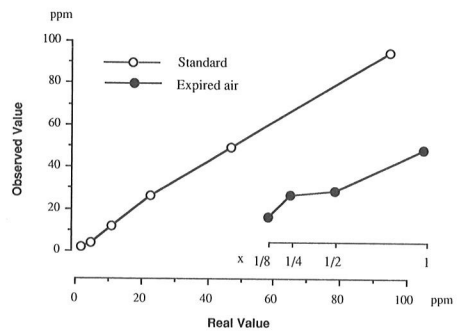


Fig.2 Dilution curves for standard gas and expired gas

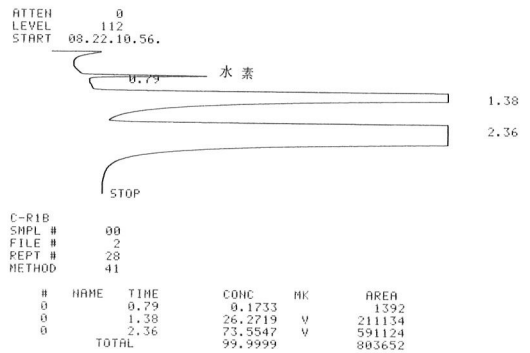


Fig.3

gas chromatograph で測定した (Fig.3)。両直線はほぼ一致し相関係数も 0.997 であった ($P < 0.01, Fig.4$)。

4) 呼気採取法の比較

Douglas bag により採取した呼気中の水素と

gas sampler による呼気中の水素とは $r = 0.872$ と良好な相関関係があった。呼気中の水素が183ppmと高値を示した検体を除くと $r = 0.907$ と相関は更によくなった (Fig. 5)。

2. 乳糖負荷試験

呼気中水素は空腹時には3.3ppmであったが、乳糖負荷180分後には67.7ppmに増加した。呼気中水素の増加は全例に認められたが、性、年

齢、自覚症状の有無、牛乳飲用習慣の有無などで差がなかった (Table 1 ~ 4, $M \pm S D, P > 0.05$)。

考 案

MicroLyzer は標準ガスおよび呼気の水素濃度を0~96ppmまで直線的に測定可能であった。

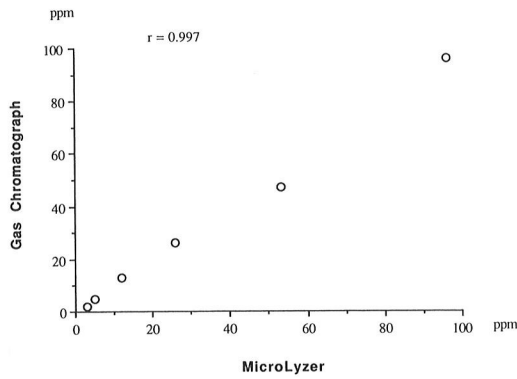


Fig.4 The simultaneous comparison of analyses of various dilutions of a 96 ppm standard gas with a gas chromatograph and the Microlyzer

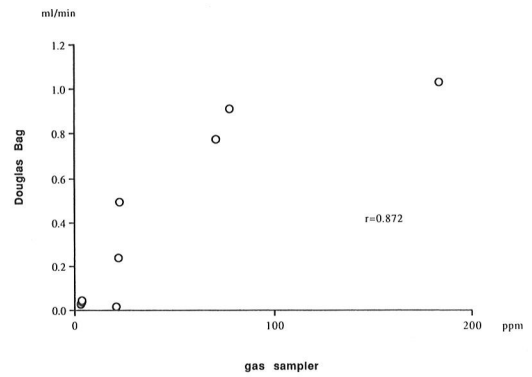


Fig.5 Comparison between Douglas bag and gas sampler

表1 乳糖負荷後の呼気中水素濃度 (性別) (ppm)

	0	30	60	90	120	180 min
男性 n = 27	3.6 ± 4.1	8.1 ± 7.0	16.6 ± 16.7	34.0 ± 27.8	50.7 ± 27.6	56.2 ± 25.1
女性 n = 33	3.2 ± 2.7	8.0 ± 9.5	25.0 ± 26.7	51.7 ± 38.3	79.0 ± 58.6	77.1 ± 44.9
計 n = 60	3.3 ± 3.4	8.1 ± 8.4	21.2 ± 23.3	43.8 ± 34.9	66.3 ± 37.7	67.7 ± 14.3

表2 乳糖負荷後の呼気中水素濃度 (年齢別) (ppm)

	0	30	60	90	120	180 min
70歳以上 n = 23	3.3 ± 3.6	5.5 ± 4.5	16.1 ± 17.8	30.4 ± 31.8	53.0 ± 30.4	59.2 ± 26.2
69歳以下 n = 37	3.1 ± 3.6	9.7 ± 9.7	24.4 ± 26.0	50.0 ± 38.1	74.5 ± 56.5	73.0 ± 43.9
計 n = 60	3.3 ± 3.4	8.1 ± 8.4	21.2 ± 23.3	43.8 ± 34.9	66.3 ± 37.7	67.7 ± 14.3

表3 乳糖負荷後の呼気中水素濃度（症状の有無）（ppm）

	0	30	60	90	120	180 min
なし n=43	3.6±3.6	8.1±8.1	19.9±16.8	39.7±33.1	62.6±47.5	65.3±40.2
あり n=15	2.9±2.8	8.3±10.0	26.7±33.0	53.2±41.8	71.6±52.0	78.3±14.2
下痢(実験中) n=3	4.3± 3.1	18.0±20.9	52.7±66.2	60.0±13.5	104.0±48.6	69.0±36.1
下痢(実験後) n=9	2.0± 1.5	5.9± 4.0	23.6±20.3	57.0±51.7	66.2±58.3	68.6±36.8
腹部膨満 (実験中) n=5	4.0± 4.3	6.2± 3.7	27.4±19.3	72.8±56.3	80.8±67.7	92.0±38.6
腹部膨満 (実験後) n=6	1.8±1.6	5.5±5.0	17.3±18.8	48.8±36.9	69.5±54.4	68.8±41.5

表4 乳糖負荷後の呼気中水素濃度（牛乳飲用習慣の有無）（ppm）

	0	30	60	90	120	180 min
あり n=56	3.5± 3.5	8.4± 8.6	21.3±23.1	45.3±35.8	68.4±82.2	68.8±39.4
なし n=4	1.8± 1.5	4.0± 4.0	19.5±30.4	20.8±18.1	26.3±24.4	53.0±17.1
計 n=60	3.3± 3.4	8.1± 8.4	21.2±23.3	43.8±34.9	66.3±37.7	67.7±14.3

精度も測定内変異係数2%と良好であった。再現性（測定間変異係数）の検討は行えなかった。MicroLyzer では Quingas を用いて calibration を行うが、Quingas の倍倍希釈による検量線は毎回ほとんど同一で、しいて再現性を求めるならば、測定間変異係数は0ということが出来る。従来もっとも精度がよいといわれてきた gas chromatograph との相関も $r=0.997$ と良好であったことから、MicroLyzer による呼気中水素の測定は簡便かつ正確と考える。

MicroLyzer のセンサー部は湿気に弱く、日本の梅雨の高温多湿が心配であったが、カラムの乾燥剤を頻回に交換することにより約1年後の現在も特に問題はない。

呼気の採取は従来単位時間当りの呼気全量を採取して、水素の総排出量を測定していた。1回の呼気中の水素濃度と良好な相関関係が見られたことから、gas sampler による1回のみの呼気採取でスクリーニングには十分と考えられ

た。しかし、Strocchi ら（3）の報告のごとく、呼吸の方法によってはバラツキも認められることから、一定時間のいきこらえを行うとよい。

日本人を含む東洋人のほとんどは乳糖分解酵素欠損症といわれている。今回の検討でも60人の高齢者全員に乳糖負荷後の呼気中水素の上昇が認められ、乳糖分解酵素欠損症と考えられた。しかし、なんらかの消化器症状があって乳糖不耐症と考えられたのは15名（25%）のみであった。残りの75%では、乳糖分解酵素欠損があっても乳糖不耐症の症状は出現せず、なんらかの代償機転が働いているものと考えられた。従来この代償機転は腸内細菌の適応によると考えられていた。しかし、牛乳を日常飲んでいない人でも乳糖不耐の症状の出現のない人がいたり、逆に、日常牛乳を飲んでいて何の症状もでない人でも乳糖負荷により乳糖不耐の出現する人があったことから、腸内細菌以外の要因の関与も推定される。その一つとして乳糖の小腸通過時

間も考慮する必要がある。すなわち、乳糖の小腸通過時間の遅い場合は単位時間に大腸に入る乳糖の量が少なく、この場合には少ない腸内細菌で対処が可能と推定される。同様に、胃排出時間や、これら消化管の運動機能に影響を与える消化管ホルモンの関与などについても今後検討する必要がある。

本研究の費用の一部は文部省科学研究費補助金(02680102)および名古屋大学学術振興基金によった。

文 献

- 1) 鈴木健二. 呼気水素試験 (E H T) の臨床応用に関する基礎的研究 日内会誌 70:52-61, 1981
- 2) Alessandra Strocchi, C.Ellis, and M.D.Levitt: Reproducibility of measurement of trace gas concentrations in expired air. Gastroenterology 101,175-179, 1991
- 3) N.W.Solomons, L.H.Hamilton, N.T.Christman, and D.Rothman. Evaluation of a rapid breath hydrogen analyzer for clinical studies of carbohydrate absorption. Dig.Dis. Sci. 28: 397-404,1983

(1991年11月30日受付)

