

EIAキットによる気道吸引液中肺サーファクタント測定

(分担研究： 新生児の呼吸管理に関する研究)

小川 雄之亮*

要 約

出生直後の呼吸窮迫症候群 (RDS) の診断の為の臨床検査法を確立すべく、肺サーファクタントアポ蛋白 A (SP-A) の 2 種のモノクローナル抗体を用いたサンドイッチ EIA 法によるキットについて検討した。

羊水抽出 SP-A を standard とした検量曲線では 1 μ g まで測定可能であった。

成人の気道吸引液に血液や胎便を添加してそれらの測定への影響を見たところ、血液は 50% までの添加は問題無かったが、胎便は遠沈除去しない限り免疫反応を抑制した。

出生後 24 時間以内に採取した気道吸引液について検討したところ、RDS 例では 5 μ g/ml 以下であったが、同胎齡の非 RDS 例や満期産非 RDS 例ではほぼ 5 μ g/ml 以上の SP-A を検出した。従って、本キットは微量検体で短時間に RDS の診断が行える臨床検査として有用であると結論された。

見出し語： 呼吸窮迫症候群 (RDS)，肺サーファクタント，アポ蛋白 A (SP-A)，気道吸引液，酵素免疫定量法 (EIA)

研究 方 法

黒木らの開発した SP-A の 2 種のモノクローナル抗体を利用した帝人研究所試作のサンドイッチ EIA 法のキットを用いて気道吸引液中の肺サーファクタントアポ蛋白 (SP-A) を定量した。

検量曲線作成にはヒト羊水より抽出精製した SP-A を標準物質として用いた。

胎便や血液の検査に及ぼす影響を見る実験では、人工換気施行中の成人の気道吸引液を得、血液もしくは胎便をこの成人気道吸引液で段階希釈して SP-A 測定を行った。

新生児の気道吸引液中の SP-A 測定は、臨床上に RDS と診断した低出生体重児計 12 例 (平均出

生体重：1050 \pm 173 g；806 ~ 1294 g，平均在胎：27 W 6 D \pm 6 D；27 W 0 D ~ 29 W 3 D)，ほぼ同胎の非 RDS 極小未熟児計 8 例 (平均出生体重：712 \pm 148 g；486 ~ 936 g，平均在胎：26 W 5 D \pm 1 W 5 D；23 W 6 D ~ 28 W 5 D)，非 RDS 成熟児 8 例 (平均出生体重：2769 \pm 605 g；2070 ~ 374 g，平均在胎：40 W 1 D \pm 1 W 4 D；37 W 0 D ~ 42 W 4 D) について行った。即ち、ルーチン操作として行われている気道吸引の際に我々の考案した特殊な気道吸引液採取管を用いて経時的に気道吸引液を採取し、これらについて上記のキットを用いて SP-A の濃度を測定した。測定に要した検体量は 0.1 ml であり、これをバッファーで

* 埼玉医科大学総合医療センター小児科

希釈して測定した。

結 果

羊水抽出SP-Aを標準物質として作成した検量曲線は図1に示すごとくで、1~5 μg の範囲で正確な測定が可能であることが示された。

気道吸引液への血液の混入についての成績は50%までの混入では測定結果に何等影響を示さなかった。

胎便の混入は測定結果に大きな影響を及ぼした。しかし、胎便混入気道吸引液も遠沈操作により上清をとって測定するとほとんど影響を示さなかった。

RDS12例の生後24時間以内の気道吸引液中のSP-A濃度は図2に見るごとく、ほとんどの例で検出不能で、存在しても5 $\mu\text{g}/1\text{ml}$ 未満であった。これに対しほぼ同胎齢の非RDS極小未熟児、並びにRDS以外の原因で人工換気を施行した成熟児ではほとんどの例で10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の値を示した。

また、RDS例については、生後30~60時間に採取した気道吸引液中のSP-A濃度と比較したが、図3のごとく全例高値を示し、RDSの回復と共に肺サーファクタントの産生および分泌が認められた。また、これは人工肺サーファクタント補充療法を受けた例も同じ現象が確認された。

考 察

従来RDSの診断は臨床的になされ、必ずしも肺サーファクタント欠如例のみではない可能性があった。このことは人工肺サーファクタント補充療法の出生後早期開始の際に症例の選択で大きな問題となる。

一方、出生時に欠如していた肺サーファクタントが諸種の治療によってどうなるかも不明であり、新生児の内因性のサーファクタントの動態を調べ

ることがきわめて重要な命題である。

今回の成績はSP-A測定キットが気道吸引液を検体として用いられる事が可能であり、きわめて微量の検体で比較的短時間で測定可能であることを示した。また、血液の混入もほとんど影響を与えず、胎便の混入の場合も遠沈して上清をとればかなり正確な測定が可能である事が示され、臨床検査として優れたものであると結論出来よう。

また、RDS例で、人工肺サーファクタントの補充療法の有無に拘らず、状態の改善により気道吸引液中にSP-Aが出現し増量してきたことは、外因性の肺サーファクタントは内因性の肺サーファクタントの生後の産生及び分泌に何等影響を与えるものではないことを示すものであり、きわめて興味深い。

尚、この測定法は肺サーファクタントのSP-Aをマーカーとしているが、現在市販の人工肺サーファクタントのアポ蛋白はSP-BもしくはSP-Cで、SP-Aは含まれておらず、投与した外因性の肺サーファクタントを検出するものではない。したがって本法は患児自身の内因性の肺サーファクタントのみを測定できるものであり、この点も優れたものとして強調されるべきであろう。

文 献

- 1) Kuroki, V., et al.: Two-site "simultaneous" immunoassay with monoclonal antibodies for the determination of surfactant apoproteins in human amniotic fluid. *Pediatr. Res.*, 19: 1017, 1985.
- 2) 小川雄之亮, 他: ヒト肺表面活性物質の特異蛋白-その特性分析と酵素免疫定量法の開発- , 日界面医学会誌, 16: 126, 1985.
- 3) 江口秀史, 小川雄之亮: RDS診断法, 周産期医学, 19: 201, 1989.

Standard Curve

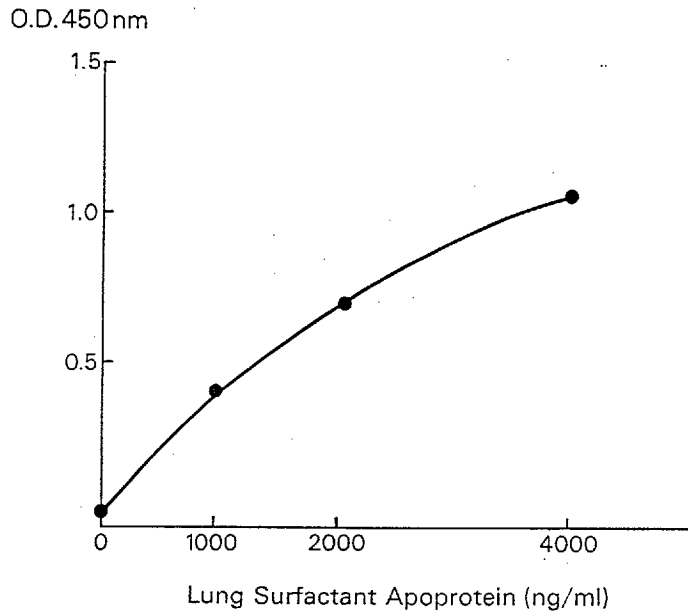


图 1.

Surfactant Apoprotein ($\mu\text{g/ml}$)
 in the Tracheal Aspirate
 Obtained within the First 24hrs.

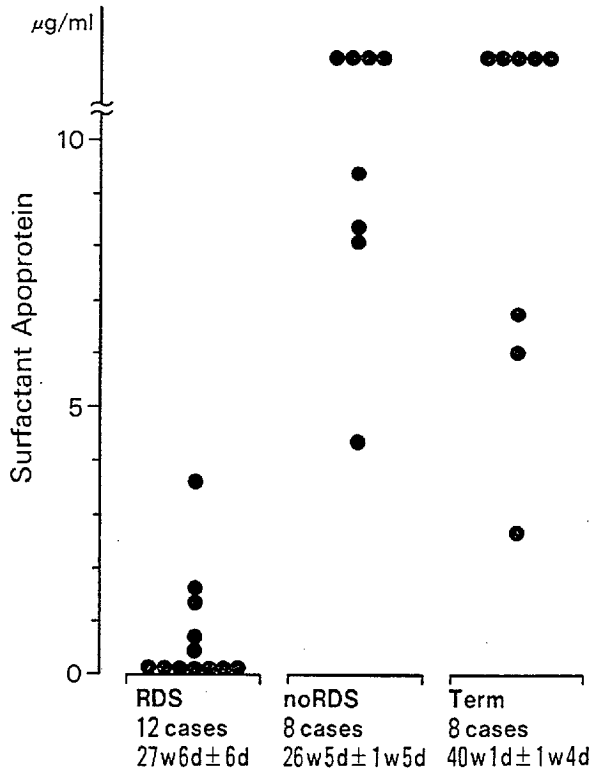


图 2.

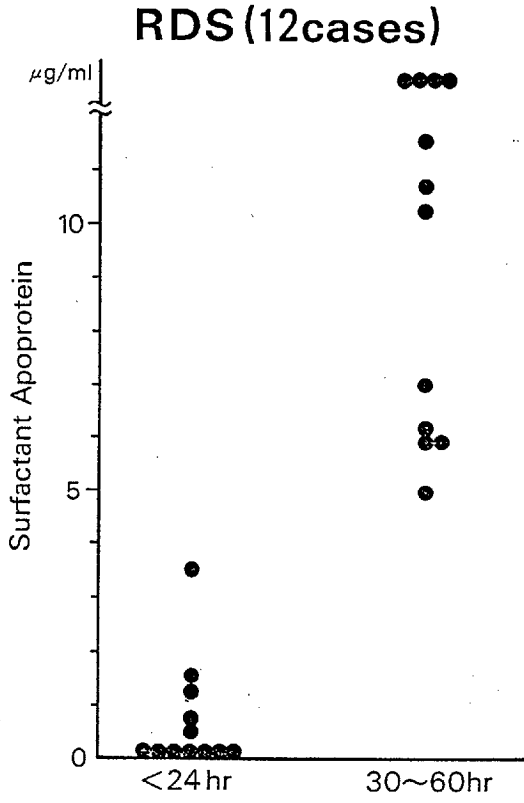
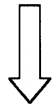
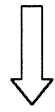


图 3.



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



要約

出生直後の呼吸窮迫症候群(RDS)の診断の為に臨床検査法を確立すべく、肺サーファクタントアポ蛋白 A(SP-A)の2種のモノクローナル抗体を用いたサンドイッチ EIA 法によるキットについて検討した。

羊水抽出 SP-A を standard とした検量曲線では $1\mu\text{g}$ まで測定可能であった。

成人の気道吸引液に血液や胎便を添加してそれらの測定への影響を見たところ、血液は50%までの添加は問題無かったが、胎便は遠沈除去しない限り免疫反応を抑制した。

出生後24時間以内に採取した気道吸引液について検討したところ、RDS例では $5\mu\text{g}/\text{m}1$ 以下であったが、同胎齢の非RDS例や満期産非RDS例ではほぼ $5\mu\text{g}/\text{m}1$ 以上の SP-A を検出した。従って、本キットは微量検体で短時間に RDS の診断が行える臨床検査として有用であると結論された。