

## 考 案

LP-Xの検出方法としては抗LP-X血清による沈降反応, Dextran sulfate沈澱法, Sudan black染色法などが挙げられるが, 我々はSeidelの免疫電気泳動法を用いた。Poleyらも同様の方法を用い, 胆道閉塞症16例全例(100%)にLP-Xを検出, NH22例中2例(9%)にLP-Xを検出していることは前述したが, この成績は我々の今回のデータとほぼ一致し, 両者の鑑別の有力の指標と考える。しかし, NHの場合, 日令や病日の経過で陰性から陽性に転化する症例があることは, 注目に値する。

Poleyらは, 高度の胆汁うっ滞を伴うNHにLP-Xが検出されたと報告しているが, Seidelらの報告をみると, 胆汁うっ滞を伴わない肝疾患でもLP-Xが検出されている。我々の症例でも, 黄疸を認めなかったNHの症例4, 肝硬変の1例でもLP-Xが検出された。即ち, できるだけ日令の早い時期, 病初期にLP-Xの検出を実施することが両者の鑑別に大切であり, その有用性を高めると思われる。更に, 検査法の簡便さから, 将来, 新生児期の閉塞性黄疸のスクリーニング法として利用できるものと考えられる。

Seidel<sup>3)</sup>の方法による半定量的測定も試みているが, 定性的判定に比して, 有力な手掛りになるとは考えられない結果を得ている。

## 結 論

小児肝疾患37例の血清中LP-Xの検出を試み, CBA11例全例(100%), NH11中3例(27%)で陽性で, 両者の鑑別に有用であることを確認した。NHの場合, 可及的早期の検査の実施が更に有用であることを強調し, そのスクリーニング法としての価値についても言及した。

## 文 献

- 1) Switzer, S.: J.Clin. Invest., 46: 1855, 1967.
- 2) Poley, J.R.: L.Lab. Clin. Med., 81; 325, 1973.
- 3) Seidel, D.: Clinica Chemica Acta, 31; 225, 1971.
- 4) Seidel, D.: Clinical Chemistry, 19; 86, 1973.

## 新生児肝炎および先天性胆道閉鎖症に おける血清胆汁酸代謝

東北大学医学部小児科教室

今野多助

肝疾患時に血清胆汁酸が増加することは、以前から知られていたが、1965年、Sandbergらが交換樹脂とがスクロマトグラフィー（GLC）を使用する血中胆汁酸の測定法を確立した。以後肝疾患での血中胆汁酸の変化が追求されてきたが、小児期肝疾患における報告は少ない。1969年、Clayton<sup>1)</sup>らによって肝内胆汁うっ滞を伴う家族性致死性疾患が報告され、その原因として胆管傷害性を有するLithocholic acidの増加が注目されている。1973年、Poley<sup>2)</sup>らは生後4週より10ヶ月の胆外胆道閉塞症5例、生後5日より23ヶ月の肝外胆管が開存する胆汁うっ滞症候群の4例について血清胆汁酸を検討している。彼の報告によると、肝外胆道閉塞症では、Cholic acid / Chenodeoxycholic acid (C/CDC)は0.1~0.9、胆汁うっ滞症候群では0.7~5.9であった。1975年にいたり、先天性胆汁酸代謝異常が報告された。Hanson<sup>3)</sup>らは肝内胆管酸代謝異常による胆汁うっ滞を伴う兄弟例を報告し、Cholic acidの前駆物質である3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ , 12 $\alpha$ , - tri-droxy-5-cholestan-26-oic acid (THCA)が大量に血清、尿、胆汁、糞便中に存在することから、THCAからCholic acidへの代謝障害を想定し、[<sup>3</sup>H]THCAを静注すると少量の[<sup>3</sup>H]Cholic acidへの変換を認めたとすぎない結果から、この部位の代謝障害を証明した。

これらの事実は原因不明の乳児期の閉塞性黄疸である新生児肝炎(NH)や先天性胆道閉鎖症(CBA)における胆汁酸代謝の関係やその異常を示唆するものと考えられる。しかもこれらの疾患における胆汁酸代謝を明らかにすることは、病因の解明をさぐるのみならず、臨床的には早期診断や治療に直接結びついてくるものと考えられる。

今回はNHとCBAの血清胆汁酸の分析をAmberlite XAD-2, poly-I 110カラムによるGLCによって行い、胆汁酸代謝の動態を知ることを目的とし、以下の研究結果を得たので報告する。

#### 対象と方法：

東北大学小児科を訪れた日令18より62(平均48日)のCBA5例(男子1名、女子4名)日令31より81(平均61日)のNH6例(男子4名、女子2名)、入院時に採血、血清分離、検査前まで凍結保存した。

血清1mlを9倍容の0.9% NaClを含む0.1 N Na-OH水溶液で希釈後、Amberlite XAD-2カラム(1.0×10 cm)にかけ、蒸留水30 ml, 0.1 N HCl 10 ml, 蒸留水60 mlで洗浄後、メタノール30 mlにて抽出した。抽出液は蒸発乾固し、1 N NaOHで溶解、エタノール1 ml添加、等量のヘキサンでコレステロールを除去後、エタノールを沸騰水浴上で除去した。その後、オートクレーブにて120℃4時間加水分解を行った。室温に冷却後、6 N HClにて2 pH=1とし、等量のエチルエーテルにて抽出、これに内部標準物質としてCholanic acid 30  $\mu$ gを添加した後、無水硫酸ナトリウムを適量加え、4時間以上放置後：濾過、蒸発乾固した。次に少量のエタノールで溶解後Diazomethane etherを1 ml添加、密栓後室温にて20分間放置してメチル化した。蒸発乾固、減圧デシケーターにて10分、70℃の恒温槽にて30分間加熱後、室温に放置、trimethyl silyl化後、GLCにて測定した。ガラスカラム温度は220℃、試料気化温度は270℃、キャリアーガスには窒素を用い、入口圧1.3 Kg/cm<sup>2</sup>、流量25 ml/min、感度倍率

10<sup>3</sup>, range 2~8にて, クロマトグラムを求めた。各分画の定量は標準液より作製した検量線より計算, 血清1ml当りの $\mu\text{g}$ を求めた。

回収実験:

正常人血清1ccにCholic acid, Chenodeoxycholic acid, Lithocholic acidを溶解, 上記と同様の操作を行い, 回収率を求めた。回収率は各々, 87%, 82%, 86%であり, この実験の定量性が良好なことを確認した。

結果:

表1に示したごとく一次胆汁酸総量は, CBAでは1.3.9~5.2.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$ (平均2.5.0), NHでは4.8~3.9.1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ (平均2.4.9)であった。Cholic acidは, CBAでは3.9~2.2.7(平均1.0.6), NHでは3.0~2.4.6(平均1.0.5), Chenodeoxycholic acidは, CBAでは7.3~2.8.5(平均1.4.8), NHでは1.8~2.1.9(平均1.4.2), C/CDCは, CBAでは0.3.7~0.9.0(平均0.6.6), NHでは0.2.1~1.6.9(平均0.9.7)であった。Lithocholic acidは, CBAとNHの各1例に認められたが, 各々0.8  $\mu\text{g}/\text{ml}$ と, 微量に検出されただけに過ぎなかった。

表1 先天性胆道閉塞症および新生児肝炎における血清胆汁酸( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )

	Case	Sex	Age	C	CDC	L	Total	C/CDC	
Congenital Biliary Atresia									
	1	M.K.	F	60 days	22.7	28.7	0.8	52.0	0.79
	2	Y.N.	F	62	9.7	12.8	-	22.5	0.76
	3	K.C.	F	48	3.9	10.4	-	14.3	0.37
	4	D.M.	M	56	6.6	7.3	-	13.9	0.90
	5	K.Y.	F	18	7.4	15.0	-	22.4	0.49
Neonatal Hepatitis									
	1	M.Y.	M	53 days	24.6	14.5	-	39.1	1.69
	2	K.T.	F	91	4.2	17.5	-	21.7	0.24
	3	T.S.	F	69	17.9	11.2	0.8	29.9	1.59
	4	Y.C.	M	31	8.9	18.5	-	27.4	0.48
	5	M.O.	F	69	3.0	1.8	-	4.8	1.66
	6	S.M.	F	69	4.6	21.9	-	26.5	0.21

C : Cholic acid

CDC: Chenodeoxycholic acid

L : Lithocholic acid

## 考案：

一般に、急性肝炎では血清胆汁酸は病初期に高値を示し、病状の軽快とともに急速に低下してくる。一方、閉塞性黄疸では中等度の増加を認め、時には急性肝炎の病初期と同程度に達することがあるといわれている。また当然ではあるが、血清胆汁酸は、閉塞が完全である場合に高く、不完全閉塞、一時的閉塞では低値を示すが、閉塞の時間とは関係がないといわれている。我々の今回のデータからは、CBAとNHにおいても上記のような傾向は認められるが、症例数も少なく断言はできない。

先に述べたごとく、Morrissey らによればC/CDCは、肝外胆道閉塞症では0.1～0.9、胆汁うっ滞症候群では0.7～5.9であり、両者に対してCholestyramine を経口的に2週間以上内服させると、その比は、前者では0.03～0.58、後者では2.8～8.3となるという。即ち、Cholestyramine 投与前では両者にoverlapがあるが、投与後では解離することから、鑑別診断に有用であるとしているが、CBAにおいては今日、生後2ヶ月以内の手術が望ましいとされている現状からみれば、本法の臨床診断としての価値は乏しい。しかし、我々の今回のデータでも、CBAの5例におけるC/CDCをみると0.37～0.90と全例1.0以下であり、この点はMorrissey らの報告と一致し、換言すれば、1.0以上であればNHと言いうるかが、早期の鑑別診断上重要な点となると考える。しかし、既存の検査法に比して本法は繁雑かつ時間を要することが問題となるように思える。

最近、Cholic acid, Chenodeoxycholic acidの他に、従来人肝細胞では作られないとされてきたLithocholic acidあるいはその前駆物質である3 $\beta$ -hydroxy-5-cholenoic acidなどが新生児の胎便や、CBAやNHの尿中に発見され、ある状況下では、コレステロールから3 $\beta$ -hydroxy-5-cholenoic acidを経由、Lithocholic acidに至るPathwayが存在すると考えられている。これらのmonohydroxy bile acidは胆管傷害性を有し、CBAあるいはNHの病因として注目されている。<sup>4)</sup> また、肝臓における胆汁酸の抱合は、従来taurine, glycineのみが考えられていたが、最近硫酸抱合型の代謝経路が発見され、重要なpathwayとして注目されている。この硫酸抱合は、毒性の強いLithocholic acidを硫酸抱合型として水溶性を増すことによって腎からの排泄を容易にし、Lithocholic acidの毒性から生体を守る働きをしているとされているが、胎児、新生児において、この代謝経路が不活発な可能性も考えられ、先に述べたCBAあるいはNHの病因と関連してくる可能性がある。今回の我々の実験では、CBAとNHの各1例に微量のLithocholic acidを認めたが、病因との関連を論ずることはできない。今後は、血清中又は尿中の、特に硫酸抱合型の分析が重要な手掛りとなるように思われるが、現在、尿の胆汁酸の分析を行い検索を進めている。

なお、本法による胆汁酸分析ではコレステロールの除去が重要である。何故ならば、コレステロールのピークがDeoxycholic acidのピークに一致するからである。我々の現法では、コレステロールを完全に除去できず、今回のデータからDeoxycholic acidの値を割愛した。

## 結論:

NHおよびCBAの血清胆汁酸の分析の結果、両者でCholic acidおよびChenodeoxycholic acidの一沈胆汁酸の著増が認められ、C/CDCは、CBAで全例1.0以下であり、その診断的意義が示唆された。なお、Lithocholic acidの特異的増加は血清では認めなかった。

今後、尿中胆汁酸、特にその硫酸抱合分画の分析を進め、病因との関わりを明らかにして行く予定である。

## 文 献

- 1) Clayton, R.J.: J. Pediat., 67; 1025, 1965.
- 2) Morrissey, K.P.: Surgery, 74; 116, 1973.
- 3) Hanson, R.F.: J. Clin. Invest., 56: 577, 1975.
- 4) Jenner, R.E.: Lancet; 1073, November 29, 1975.

## 新生児肝炎および先天性胆道閉鎖症におけるサイトメガロウイルスの関与について

東北大学医学部小児科教室

今野多助

国立仙台病院ウイルスセンター

沼崎義夫

新生児肝炎(NH)や先天性胆道閉鎖症(CBA)の病因は、いまだ不明であるばかりでなく、両者を同一病因とする説もあるのが現求である。しかし、NHのウイルス感染を示唆する成績も少なくなく、その解明には、更に詳しいウイルス学的検索を必要とする。

我々は<sup>1)</sup>すでにNHの一部はB型肝炎ウイルスの関与があることは報告してきたが、NH全体を説明できないのも事実である。

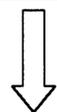
サイトメガロウイルス(CMV)がNHの原因とする成績も報告されているが、その自然感染との鑑別が困難であり、その病因的意義は明らかでないのが現状と考えられる。特に、その血清診断のみの成績はその有意性は認め難いものと思われる。

今回、我々はNHおよびCBAの尿中CMVの培養と、新しく開発した方法で早期抗原に対する血清抗体の検索を行い、その診断的意義を高めた。方法は省略するが、検索結果は表1に示した通りである。即ち、尿中にCMVが検出されたものは、CBAでは4例中0、NHでは5例中3例あ



## 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



肝疾患時に血清胆汁酸が増加することは、以前から知られていたが、1965年、Sandberg らが交換樹脂とがスクロマトグラフィー(GLC)を使用する血中胆汁酸の測定法を確立した。以後肝疾患での血中胆汁酸の変化が追求されてきたが、小児期肝疾患における報告は少かい。1969年、Clayton<sup>1)</sup>らによって肝内胆汁うっ滞を伴う家族性致死性疾患が報告され、その原因として胆管傷害性を有する Lithocholic acid の増加が注目されている。1973年、Poley<sup>2)</sup>らは生後4週より10ヶ月の胆外胆道閉塞症5例、生後5日より23ヶ月の肝外胆管が開存する胆汁うっ滞症候群の4例について血清胆汁酸を検討している。彼の報告によると、肝外胆道閉塞症では、Cholic acid/Chenodeoxycholic acid(C/CDC)は0.1~0.9、胆汁うっ滞症候群では0.7~5.9であった。