

4. 流早死産の血液学的・血清学的研究

③ 羊水中微量抗D抗体検出法とLDH Isozymeについて

九州大学医療技術短期大学部

久永幸雄

研究目的

羊水中 bilirubin による Rh 不適合の診断は、その開発の初期に期待されたほど正確には児の溶血の程度を反映するものではないことは従来のわれわれの成績からも明らかであり、その改善の目的で前年度通常検出不能な羊水中微量抗D抗体を限外濾過で濃縮することにより測定し、その抗体面が児の臨床像とよく一致することを報告したが、抗D抗体を鋭敏に検出する方法があれば限外濾過の必要もなく簡易に臨床応用も可能である。近年、かいこの腸内細菌から分離された serratio-peptidase が強力な protease 作用を有することに着目し、本酵素処理血球法による抗D抗体検出を試みその臨床的意義を明らかにすることを目的とした。

また、Rh 不適合を chronic fetal distress の1つの type と考えるならば、Rh 不適合における羊水中の変化が他の chronic fetal distress においても出現する場合がありますと考えられる。そこで重症感作例において羊水中 LDH isozyme pattern の LDH₅ が dominant であることに着目し、血清、羊水中の LDH isozyme pattern について検討を試みた。

研究方法

serratiopeptidase (Serratio.) による酵素処理血球法は Fig. 1 に示すごとく Two step technique と One step technique について抗D抗体既知の試料を用い、クームス法、プロメリン法と比較し、ついで血清、羊水中抗体について検討した。

LDH isozyme は pol-E-Film System による agarose gel arch 式電気泳動法を用

い、正常妊婦血清、羊水、臍帯血の isozyme pattern を Densitometer により測定してその変動を検討した。

研究結果

抗D 125 mu/ml 溶液について serratio-one-step と two-step 法およびクームス法、プロメリン法を比較すると、Serratio-one-step 法、クームス、プロメリンの抗D検出能は略々同程度であったが、Serratio-two-step 法では約3~4倍鋭敏に抗D検出能を有することが認められたので、この方法を Serratio-test として Rh 不適合症例について検討した。

羊水中抗D抗体価をクームス法、Serratio 法で測定し ODD 値ならびにそれによる予測 Hb 値と実測 Hb 値、児の予後を示したものが Tab. 1 である。Rh 不適合の例中クームス法で抗Dを測定しえたものは死産 (hydropic form) の1例のみであったが serratio 法では9例中7例に羊水中抗D抗体を認めえた。その抗体価と児の予後を見ると0~8倍は比較的軽症感作例、64倍以上は極めて重症例と考えられる。また、血清中抗体価と羊水中抗体価との間には相関係数 0.875 と高い相関がえられた。免疫抗Dグロブリンを未感作妊婦の分娩後に感作予防の目的で投与した場合、投与抗体は3日目に血清中に peak をもち、1カ月後までは投与抗体検出可能な例もあるが3カ月目には本法によっても検出不能であった。このことは免疫抗Dグロブリン投与後の follow up に本法が有用であることを示していると考えられる。なお、抗C, c, E, e, M, N, について本法とクームス法、プロメリン法を比較して抗D同様に高い抗体価を示すことが認められた。

乳酸脱水素酵素の isozyme pattern についてまず正常妊娠中の妊婦血清 pattern を検討すると、妊娠初期、中期、後期でその pattern はほとんど変化なく、57例の平均はLDH 1~5はそれぞれ36.1, 30.9, 26.8, 4.4, 1.9%であった。臍帯血25例ではLDH₂が最も高率で32.8%, ついで1と3が約26%であった。妊娠中期羊水ではLDH₅が33.5%と最も高率であるが、分娩時羊水では66.2%とさらにLDH₅の占める率が圧倒的に高くなり、母体血とも臍帯血とも異なる pattern を示した。

Rh 不適合症例についてみると Fig. 2 に示すごとくであって、Case S. M. に示すごとく光療法のみで黄の寛解した軽症例では control と比較して isozyme pattern に殆ど差異は認められなかったが、中等度感作例であった K. O. 例ではLDH₅が極めて高率を占めることが認められた。また、isozyme pattern を測定しえた内臓脱出死産量ではLDH₅が36%と低率でむしろ妊娠中期羊水の pattern に類似していた。

考 察

羊水中の抗D抗体が胎盤を通過して胎児に到達した抗体量を反映するものとして予後判定上有用であることを示唆したのはHoffbauer(1959)であるが、その後羊水中抗体検出率が40%(Hoffbauer, 1967), 38%(Murray, 1969)と低率なことから羊水中抗体価と児の予後との間には何ら関係がないという意見をもつものもあった(Beechman, 1962)。最近、羊水中抗体の検出率が種々な改良法により高くなるにつれてその有用性を主張する意見が強くなってきている(Jrgensen, 1971., Fraser, 1972, Gudson, 1970)。われわれの行なった方法は必ずしもこれらの研究者の報告に比し、羊水中抗体検出率が高率であるというものではないが、しかもなお羊水のODDによるRh不適合の管理、とくに中等度感作例の予後推定に補助的役割を果すものではないかと考えられる。

Rh 重症感作例においてはLDH₅が100%を占めるといわれるが、Rh不適合を chronic fetal distressの1つのtypeと考え、異常

妊娠における羊水、母血清、臍帯血のLDH isozyme pattern を検討してその意義を明らかにしたいと考えたが、本年度は対照群の pattern を作成しRh重症例ではLDH₅が dominant であると推測される結果をえたに過ぎず今後検討の予定である。

要 約

Rh不適合の予後判定のために微量な羊水中抗体を測定する目的で、かいこ腸内細菌より分離されたSerratia peptidaseを用いて新たな酵素処理血球法を開発しその臨床応用を試みた。本法は必ずしも従来の報告よりすぐれた抗D検出能を有するとはいい難いが、しかし羊水中抗D抗体は本法によっても高率に検出可能であり、Rh不適合予後推定の補助手段となりうると考えられた。

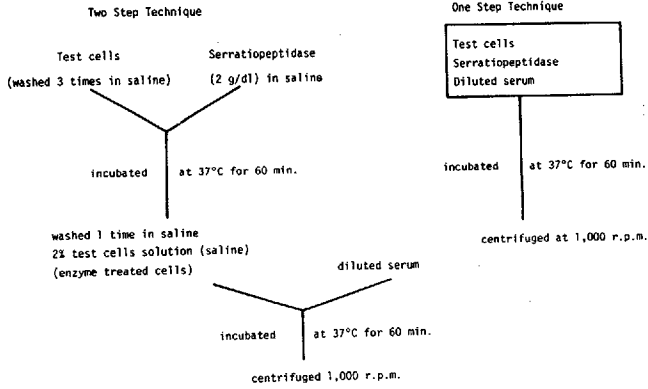
LDH isozyme pattern はRh不適合羊水ではLDH₅が dominant であるがその意義は目下明らかでない。

発 表 文 献

1. 久永幸生, 荒川公秀, 藤田寿一, 郡征一郎, 山名寛孝, 吉田茂則, 梅津 隆; 羊水中ビリルビンの測定とその臨床的意義, 産と婦, 42(5): 665, 1975.
2. S. Hisanaga, J. Fujita, H. Yamana & K. Arakawa; Serratia Test: A New Sensitive Technique for the Detection of Anti-Rh (D) Antibody, Acta Obst et Gynaec Jap, 23(1): 1976.

学 会 発 表

1. 久永幸生: 出生前医学の臨床: 羊水中ビリルビンの測定とその臨床的意義, 第19回日本医学学会総会シンポジウム。昭50年4月(於京都)



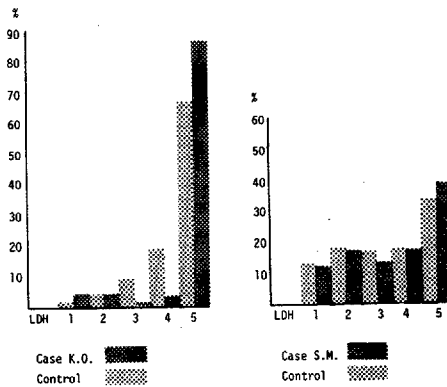
☒ 1 Procedures of serratopeptidase technique

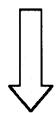
表 1 Anti-D titers in the amniotic fluid and ODD (ET:exchange transfusion, Photo:phototherapy)

Name	ODD (wks of G)	Hb(g/dl) (expected)	Hb(g/dl) (estimated)	anti-D (Coombs' T)	anti-D (Serrat. T)	prognosis
F.R.	0.102(30)	8-10.9	7.0	0	16	L & W,ET:3
N.H.	0.420(31)	7.9 >	---	8	64	Stillbirth
M.T.	0.061(29)	11-13.9	15.0	0	0	Photo.
S.K.	0.218(29)	8-10.9	unknown	0	32	L & W,ET:1
R.K.	0.128(29)	8-10.9	7.5	0	16	L & W,ET:3
T.M.	0.250(35)	7.9 >	5.9	0	32	L & W,ET:5
A.S.	0.032(36)	14 <	18.9	0	0	L & W,Photo.
S.F.	0.075(40)	8-10.9	12.5	0	8	L & W,Photo.
H.K.	0.018(39)	14 <	12.6	0	2	L & W,Photo.

☒ 2 AMNIOTIC FLUID LDH ISOZYME PATTERNS IN RH INCOMPATIBILITY

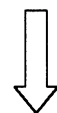
Case(wks)	LDH 1	LDH 2	LDH 3	LDH 4	LDH 5
S.M.(25)	12.1	17.6	13.6	17.6	39.1
Y.K.(31)	2.0	12.9	17.0	11.1	57.0
K.O.(35)	4.4	4.2	1.8	3.4	86.2





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



研究目的

羊水中 bilirubin による Rh 不適合の診断は,その開発の初期に期待されたほど正確には児の溶血の程度を反映するものではないことは従来われわれの成績からも明らかであり,その改善の目的で前年度通常検出不能な羊水中微量抗 D 抗体を限外濾過で濃縮することにより測定し,その抗体面が児の臨床像とよく一致することを報告したが,抗 D 抗体を鋭敏に検出する方法があれば限外濾過の必要もなく簡易に臨床応用も可能である。近年,かいこの腸内細菌から分離された serratio-peptidase が強力な protease 作用を有することに着目し,本酵素処理血球法による抗 D 抗体検出を試みその臨床的意義を明らかにすることを目的とした。