

VI. 高ビリルビン血症に関する研究

総括報告書

分担研究者 大西 鐘 壽

研究目的

昭和58, 59年度の研究成果を踏まえて新生児黄疸に対する臨床的, 基礎的検討がなされた。今年度は総括の年であるが, それぞれの研究者が結論を得るにはまだ年・月を要すると思われる。また, 59年度に施行した全国的なレベルの新生児黄疸に関する実態調査の結果に基づいて更に詳しい実態調査を行なった。

研究成果

1) 新生児黄疸の臨床的研究

- i) 皮膚ビリルビンの臨床的意義に関する研究
- ii) ABO不適合溶血疾患診断基準の作成
- iii) ヘモクロビン分解産物とキャリアー蛋白に関する研究

正常成熟新生児において, 経皮的ビリルビン濃度測定値と血清総ビリルビン濃度との間に成り立っている一定の平衡関係に対して, 病的新生児の核黄疸危険増悪因子がどの様に影響するかを検討した。未熟児, 呼吸窮迫症候群は①対照の正常成熟児群に比して血清総ビリルビン濃度に対して相対的に経皮ビリルビン濃度測定値が高値を示した。②アンドーシス, 低血糖, 感染症は対照群に比べ変動が著しい。③新生児仮死群, 胎便吸引症候群は対照群と同様の傾向を示した。④チアノーゼ型の先天性心疾患については一定の関係は得られなかった。ABO不適合溶血疾患は, 臍帯血での同型成人赤血球による間接Coombs力価を32倍以上とすると診断的価値が高いという成績が得られた。

光療法に合併する bronze baby syndromeにおいて血中のビリルビンの構造異性体である (EZ)-cyclobilirubin 値の総ビリルビン値に対する比率と hemin のキャリアー蛋白である血清 hemope-xin との関係を検討すると, (EZ)-cyclobilirubin が 2.5 % 以上の群の hemope-xin 濃度は, それ以下の群に比して有意に低値であった。

2) 核黄疸の臨床的研究

- i) 低出生体重児における高ビリルビン血症と核黄疸助長因子の検討
- ii) 新生児高ビリルビン血症の聴性脳幹反応に及ぼす影響
- iii) アルブミンとビリルビンの相互作用
- iv) 核黄疸 (アルブミンとビリルビンの相互作用)

昭和47~59年の新生児剖検例1018例中50例の核黄疸を認め, 核黄疸助長因子の臨床的分析により感染症およびアンドーシスが最も重要な因子であると考えられた。総ビリルビン値のみで, 低出生体重児の核黄疸の発症を予測することは全く不可能であり, 現在一般に用いられている光療法の基準値では, 核黄疸の予防は不可能であった。交換輸血施行例はビリルビン値が, 高くても核黄疸の発生は少なかった。しかし, 超未熟児においては, 助長因子がなくても核黄疸の発症例があり原因解明には更に基礎的検討を要する。著者は言及されていないが, この施設の様核黄疸発見のため剖検時に脳をホルマリン固定し7-10日に脳の断面を観察する体制を確立することが核黄疸の病理的診断を行なうための不可決の条件である。

聴性脳幹反応を用いビリルビンの毒性を検討し、血清総ビリルビン値20mg/dl、血清アンバウンドビリルビン値0.5μg/dl以上でI、II波の潜時の延長がみられ、この変化はビリルビン値の低下と共に正常化するが、一部黄疸消失後でも4カ月から6カ月までI波からIV・V波の潜時の延長が認められた。

未熟児の血清を用いてビリルビンのtitration curveを求め、アルブミンのビリルビンに対する結合能について検討した。total binding capacity及びmolar binding capacityは、出生体重が低い未熟性の強い群のほど有意に低いことが確認された。

最近動脈管閉鎖に用いられるメフェナム酸は、ペルオキシターゼ法によるアルブミンの結合部位での薬剤の結合定数が $K_d = 1.36 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ であり強力なdisplacerであることが示唆された。しかし、臨床的にメフェナム酸投与前後における未熟児のunbound bilirubinの変化、bilirubin titration curveを検討したが、unbound bilirubinの変化は認められず、bilirubin titration curveにおいて一症例のみメフェナム酸の影響が疑われた。Gunn ratのモデル実験では、未熟児への投与量の25倍までは、ビリルビン・アルブミンの結合に変化を与えなかった。

3) 核黄疸の基礎的研究

i) ビリルビン性脳障害におけるリソゾーム系の反応

ii) ビリルビンの脳内移行について

Gunn ratにおけるビリルビン毒性発現機構の研究一環としてホモ接合体ラットの小脳を用い、ビリルビン脳障害時におけるリソゾーム系酵素についての質の違い、及びホモ接合体ラットで著しく活性の増加するβ-glucuronidaseと活性上昇の殆どみられないacid phosphataseについて酵素組織化学的に小脳内分布を検討した。ホモ接合体Gunn ratにおいては活性上昇の僅かなacid phosphatase、α-mannosidaseは軽いリソゾームに分布しhomogenizationのみで遊離され易くTriton X-100で膜を可溶化しても活性はあまり上昇しない。しかし、活性上昇の著しいarylsulfataseとβ-glucuronidaseは、主に重いリソゾームに分布しhomogenizationのみでは遊離され難く、Triton X-100処理により活性が上昇した。また、比重の軽いリソゾームと重いリソゾームに含まれるarylsulfataseは、等電点が異なり前者はより酸性側にあった。組織化学的にacid phosphataseの分布を見るとホモ接合体Gunn ratのみに出現するミクログリアと考えられる小型細胞のみにβ-glucuronidase活性は見られ、acid phosphatase活性はそれのみでなくブルキニエ細胞、小脳核細胞に活性が分布していた。

ビリルビンの血清中の存在様式とリポ蛋白に結合ビリルビンの脳への移行に関して検討した。正常のSprague-Dawleyのラットの血清にビリルビンを加え、unbound及びリポ蛋白結合ビリルビン量の日令的变化を調べた。黄疸を示すヒトにおいてもリポ蛋白結合ビリルビン量も検討した。ラットにおいては、unbound bilirubinは、生後0日が最も高く以後日令と共に減少し、unboundとリポ蛋白結合ビリルビンは、ほぼ同様の挙動を示す事が判明した。displacerであるサルチル酸を加えるとunbound及びリポ蛋白結合ビリルビン値は、サルチル酸濃度に比例して上昇した。ヒトにおいては、総ビリルビン量の7~8%がリポ蛋白に存在し、年令の変動はないと報告した。また1週令より6週令までの無アルブミンラットにアルブミン結合ビリルビン、リポ蛋白結合ビリルビンを注入した。ビリルビンの脳内移行は、アルブミン結合ビリルビン溶液注入群よりリポ蛋白結合ビリルビン溶液注入群の方が1~3週令までは約60%高値を示した。しかし、4週以後は、両群であまり差は認められなかった。脳の分布では、大脳へは殆ど移行せず、小脳への移行が主であった。

4) 光療法の臨床的研究

i) 高ビリルビン血症における交換輸血児のfollow-up

ii) 成熟児高ビリルビン血症に対する光療法

iii) 高ビリルビン血症における水分投与量と光線療法の効果についての研究

iv) 新生児高ビリルビン血症の光療法に対するgreen lampの臨床効果について

V) 低出生体重児の高ビリルビン血症に対する green light 療法

交換輸血児の身体的及び精神的発達は、少数例の follow up であるが非交換輸血児と差はなく、貧血を呈する児は、交換輸血児に多かった。また、低出生体重児、交換輸血回数が多い例に貧血がみとめられる傾向があった。

院内出生児で小児科医または、新生児医が全新生児を管理する施設へ光療法施行の実態を調べるアンケート調査を行なった結果、わが国の成熟児の高ビリルビン血症の治療殊に光療法の適応基準は統一されておらず、基準よりもそれ以前の管理体制及び治療方針の差異が問題であることが判明した。また、著者らの光療法基準を日令 4-6 日で $21\sim 24\text{mg/dl}$ として治療された成熟児の聴力障害を中心とした follow up においても異常を認めなかった。

投与水分量と光療法におけるビリルビンの減少率の関係について満期産新生児を対象に検討し、生後 24 時間までは、投与水分量の多い群にビリルビン減少率が大きかった。生後 72 時間以後は、水分投与に有意差があってもビリルビンの減少率には差がなかった。

我々が行った in vitro の研究成果を踏まえて試作された green lamp を用いて臨床的效果を検討したが、成熟児・未熟児共に効果は従来の blue-white lamp と同程度で得られることが証明された。

5) 光療法の基礎的検討

i) green light 療法の基礎的研究

ii) green light 療法におけるビリルビン代謝

ヒト新生児の光療法の作用機序は、(ZZ)-bilirubin の光エネルギーによる立体異性化により生ずる (ZE)-bilirubin と、(EZ)-bilirubin を介して生成される構造異性体である (EZ)-及び (EE)-cyclobilirubin の生成排泄が主体である。この光異性体の生成には、光源の波長依存性があり、立体異性化には、 $400\sim 550\text{nm}$ の波長の内 410nm が最も有効であり、構造異性化には 510nm が最も有効であった。そのため blue-white lamp 及び各種の green lamp を用いて in vitro で両者の生成を見た所、藤掛、西村両氏の用いた green lamp は、構造異性体である cyclobilirubin の生成において blue-white lamp と同程度であり、立体異性体の (ZE)-bilirubin の生成においては、blue-white lamp より有意に低値であった。それは、光異性体の in vivo の分布においても同様であった。しかし、両氏の報告にある様に二種の光源間に臨床的效果の面で有意差はなく、(ZE)-bilirubin のクリアランスや cyclo-bilirubin のクリアランスが各症例で各々ほぼ一定と考えれば、それぞれの光異性体が血中で高値になれば血中よりの排泄もそれに比例して多くなると考えられるが、blue-white lamp で in vivo において green lamp よりも (ZE)-bilirubin が血中で高値に拘らず臨床効果に差は認められなかった。以上より、光源の臨床的有効性を見るのに in vitro においても cyclobilirubin の生成を見る事が重要であった。

green lamp は市販の green lamp と試作の green lamp を用い、血清中の bilirubin の photoisomer を分析すると構造異性体である (EZ)-cyclobilirubin の生成率は、in vitro の成績と同様に試作の green lamp の方が良好であり、blue-white lamp の DNA の断裂作用と云う潜在的有害性を回避できることから、臨床的に試作の green lamp がより安全な光源となると考えられた。

6) 新生児黄疸に関する実態調査

昨年度に引き続き大学病院 80 施設を含む全国主要新生児施設 216 ケ所へ、各施設の血清ビリルビン濃度の各種測定法による値の分布、核黄疸及び bronze baby syndrome の症例毎の詳細な調査等についてアンケートを行ない、新生児高ビリルビン血症に治療基準作成の可能性を検討した。標準血清のビリルビン濃度については 95 施設から測定結果が得られた。核黄疸症例は昨年度も含めて 27 施設から 107 例の回答が得られた。今回の調査結果より、①標準血清 (HPLC 法による総ビリルビン濃度: $12.24\text{mg}/100\text{ml}$, グルクロン酸抱合ビリルビン濃度: $0.1\text{mg}/100\text{ml}$) の総ビリルビン測定値の施設間のバラツキが大であること ($13.3\pm 1.5\text{mg}/100\text{ml}$, $7\sim 17\text{mg}/100\text{ml}$)、② 1500g 未満の極小未熟児で、ビリルビ

ン値及びアンバウンドビリルビン値のいずれの値も核黄疸を予測し得ないこと、③成熟児の核黄疸の成因と未熟児特に極小未熟児のそれとの間に本質的な差異が存在する可能性があること、④核黄疸の危険因子の評価が特に極小未熟児で極めて困難であること、⑤新生児医療における病的新生児をチェックする体制が不完全であること、⑥剖検による核黄疸の診断の体制が不完全であること等の問題点がクローズアップされた。



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

昭和 58, 59 年度の研究成果を踏まえて新生児黄疸に対する臨床的, 基礎的検討がなされた。今年度は総括の年であるが, それぞれの研究者が結論を得るにはまだ年・月を要すると思われる。また, 59 年度に施行した全国的なレベルの新生児黄疸に関する実態調査の結果に基づいて更に詳しい実態調査を行なった。