

ビリルビンの立体ないし構造光異性化反応における 光エネルギー量ないし波長依存性に関する研究

香川医科大学小児科

大西 鐘 壽, 伊 藤 進
磯 部 健 一* (*母子センター)

1. 序 言

新生児黄疸の光療法におけるビリルビン代謝の主な経路は、立体異性化により生じた(ZE)-bilirubinの形で主として胆汁中への排泄、及び立体兼構造異性化により生じた(EZ)-and (EE)-cyclobilirubin (以下cyclobilirubinと省す)の胆汁・尿中への排泄から成っている。我々は1979年以来ヒト新生児において後者のcyclobilirubinの生成が光療法の主要な経路であることを立証し報告してきた^{1,2,3)}。この2つの経路は、光源の光エネルギー分布、即ち光源特性に依存することについても既に証明し報告したが⁴⁾、同一光源を用いて光エネルギー量を変化させた時のin vitroにおける光異性化への影響については未だ殆ど検討されていないので今回研究を行なった。

2. 対象・方法

ビリルビン(10mg/dl)とアルブミン(2g/dl)との複合体溶液をPyrex tubeにて0.5mlずつ分注し、(0.1M phosphate buffer, pH 7.4) blue-white lampの本数と高さを変えることによりMinolta-fluoro lite meter 451の値で0.244から $18 \mu W \cdot cm^{-2} \cdot nm^{-1}$ まで約74倍変化させ、嫌気的条件下にて照射し、2分間照射後の(ZE)-bilirubinの(ZZ)-bilirubinに対する比率(%)と、15分間照射後の(EE)-and (EZ)-cyclobilirubinの両者を合計した生成量を高速液体クロマトグラフィーにて測定した⁵⁾。

3. 成績・考察

a. 立体異性化と光エネルギー量

図1(a)に示す如く光エネルギーが $3.88 \mu W \cdot cm^{-2} \cdot nm^{-1}$ 以上では(ZE)-bilirubinの(ZZ)-bilirubinに対する比率が36~38%と一定になっ

た。これは光平衡が少なく共 $3.88 W \cdot cm^{-2} \cdot nm^{-1}$ 以内(照射時間では2分以内に相当する)に成立することを示す。しかしそれ以下の光エネルギー、例えば $2.14 \mu W \cdot cm^{-2} \cdot nm^{-1}$ では2分で、その比率は33%であった。従って光平衡に達する為に必要な最少の光エネルギーと考えられる $3.88 \mu W \cdot cm^{-2} \cdot nm^{-1}$ に近い量、即ち照射時間を2倍の4分とすると光平衡に達した。また、 $0.244 \mu W \cdot cm^{-2} \cdot nm^{-1}$ の非常に弱い光では、その比率は6%であり、光平衡に必要な最少の光エネルギーに相当する量、即ち照射時間を15倍の30分とすると36%の光平衡に達した。

たとえば光照射エネルギーをa倍に増加させた時には各波長の光エネルギーはa倍に増加したことになる。

(ZZ)-bilirubinの%をB, (ZE)-bilirubinの%をDとし、(ZZ)-bilirubinから(ZE)-bilirubinへの速度定数を K_1 , (ZE)-bilirubinから(ZZ)-bilirubinへ復帰する速度定数を K_2 とすると、図2の如き微分方程式が成り立つ⁵⁾。この微分方程式を解くと

$$B = \frac{k_1}{k_1 + k_2} B_0 e^{-(k_1 + k_2)t} + \frac{k_2}{k_1 + k_2} B_0,$$

$$D = \frac{k_1 B_0}{k_1 + k_2} (1 - e^{-(k_1 + k_2)t}),$$

となる。但し B_0 は $t=0$ 時の(ZZ)-bilirubinの%である。 t を長時間にとると、(ZE)-bilirubinの(ZZ)-bilirubinに対する比率は k_1/k_2 となり、光エネルギーをa倍にしてもその速度定数は ak_1 , ak_2 となり、aは消去されるため(ZE)-bilirubinの(ZZ)-bilirubinに対する比率は変化しない。要するに、(ZE)-bilirubinの生成即ち(ZE)-bi-

lirubinの(ZZ)-bilirubinに対する光平衡は光源の波長エネルギー分布、即ち光源特性に依存し、その光エネルギー量の変化には影響されないことが理論的にも実験的にも立証された。

また Costarino⁶⁾の報告で、white lampを用いて $6 \mu\text{W} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{nm}^{-1}$ と $12 \mu\text{W} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{nm}^{-1}$ の光エネルギーで高ビリルビン血症の未熟児に光療法を施行した時の血中の(ZE)-bilirubinの総ビリルビンに対する比率を経時的に測定した成績が報告されているが、両者間に有意差は認められなかったと云う。即ち上記の *in vitro* の成績及び理論は *in vivo* の成績と一致し、我々の考えを支持する報告がなされている。

b. 構造異性化と光エネルギー量

cyclobilirubinの生成量と光エネルギー量との関係については、図1(b)に示す如く15分間に生成されたcyclobilirubinの量と光エネルギー量の間には比例関係が存在することが証明された。

既に報告した如く、(EZ)-cyclobilirubinの生成速度は(EZ)-bilirubinに比べ非常に大であるので、(ZZ)-bilirubinと(ZE)-bilirubinとの間に光平衡が成立した後は、(ZZ)-bilirubinの量に依存して(EZ)-cyclobilirubinは生成される。従って15分間に生成される(EZ)-cyclobilirubinは、(ZZ)-bilirubinよりの速度定数 k に比例すると考えられ、その速度定数は光エネルギー量に比例して増加するため上記の *in vitro* の結果が得られたと解釈される。よってcyclobilirubinの生成速度は、光源特性と光エネルギー量の両者に依存すると結論される。

前述の Costarino⁶⁾らの報告で(EZ)-cyclobilirubinの総ビリルビンに占める割合を $6 \mu\text{W} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{nm}^{-1}$ と $12 \mu\text{W} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{nm}^{-1}$ の光エネルギーで比較すると、光エネルギー量を2倍に増加させると有意に(EZ)-cyclobilirubinが増加する成績が得られており、我々の理論を支持する臨床的成績である。

Tan⁷⁾の報告によれば、血清ビリルビンの低下の程度と光エネルギー量との間に dose response の

関係があり、この臨床的効果はcyclobilirubinを介した経路によることを考えれば我々の *in vitro* の実験成績と一致し、我々の考えを裏づける結果であると結論される。

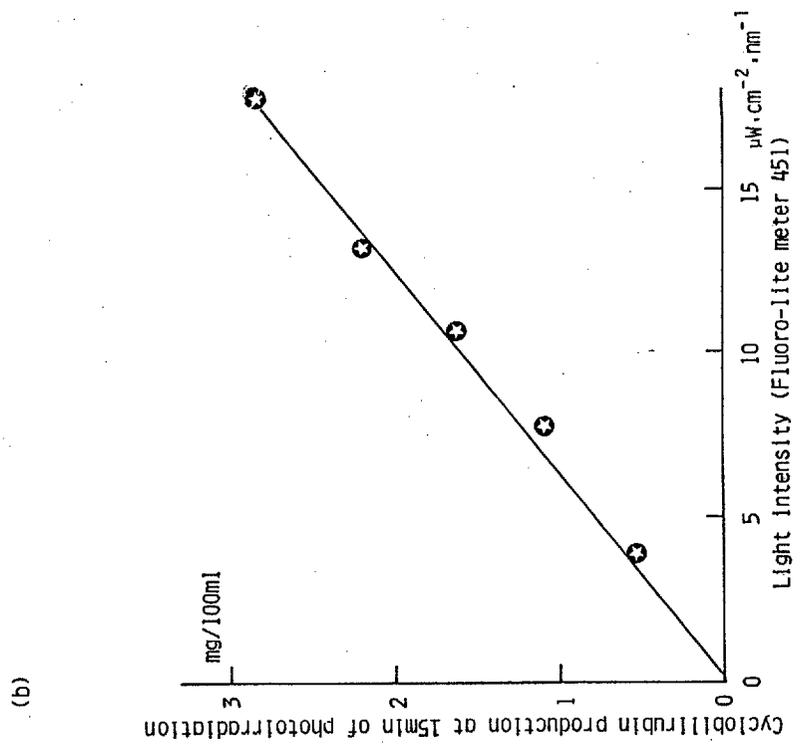
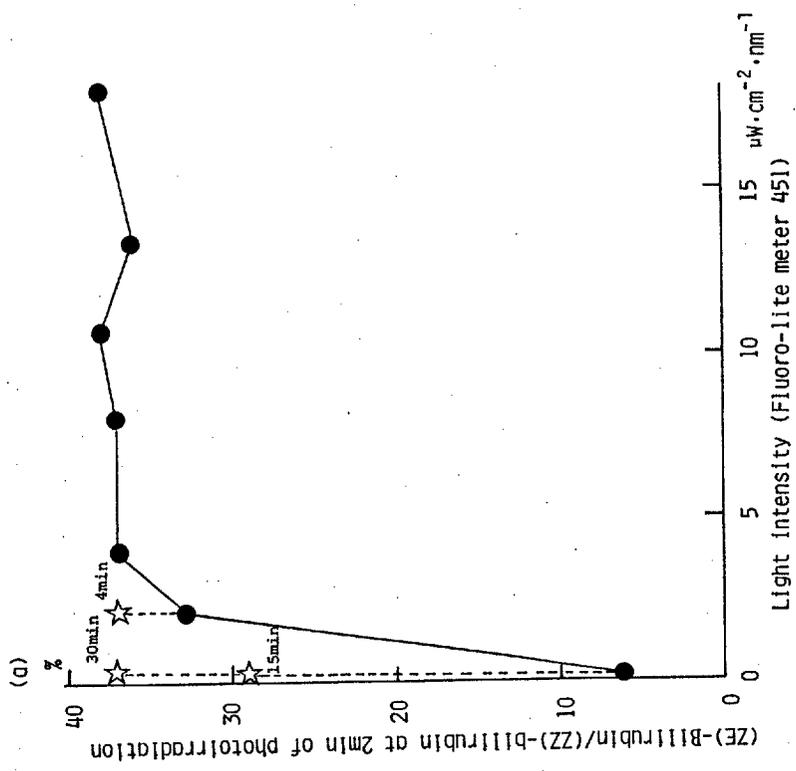
4. 結論

立体異性体である(ZE)-bilirubinの(ZZ)-bilirubinに占める割合、即ち立体異性化は光平衡に必要な光エネルギー量以上では一定であり、立体兼構造異性体である(EZ)-and (EE)-cyclobilirubinの生成量は光エネルギー量と光源特性に依存することが立証された。

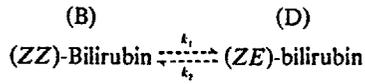
5. 文献

1. Onishi, S., Itoh, S., Kawade, N., Isobe, K. and Sugiyama, S.: The separation of configurational isomers of bilirubin by high pressure liquid chromatography and the mechanism of jaundice phototherapy. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 90: 890-896, 1979.
2. Onishi, S., Miura, I., Isobe, K., Itoh, S., Ogino, T., Yokoyama, T. and Yamakawa, T.: Structure and thermal interconversion of cyclobilirubin. *J. Biochem.* 218: 667-676, 1984.
3. Onishi, S., Isobe, K., Itoh, S., Manabe, M., Sasaki, K., Fukuzaki, R. and Yamakawa, T.: Metabolism of bilirubin and its photoisomers in newborn infants during phototherapy. *J. Biochem.*, 100: 789-795, 1986.
4. Onishi, S.; Itoh, S.; Isobe, K.: Wave-length-dependence of the relative rate constants for the main geometric and structural photoisomerization of bilirubin IX α bound to human serumalbumin. *J. Biochem.* 236: 23-29, 1986.
5. Itoh, S. and Onishi, S.: Kinetic study of the photochemical changes of (ZZ)-bilirubin IX α bound to human serum

- albumin. *J. Biochem.* 226 : 251-258, 1985.
6. Costarino, A. T., Ennever, J. F., Baumgart, S., Speck, W. T., Paul, M. and polin, R. A. : Bilirubin photoisomerization in premature neonates under low- and high-dose phototherapy. *Pediatrics*, 75 : 519-522, 1985.
7. Tan, K. L. : The pattern of bilirubin response to phototherapy for neonatal hyperbilirubinaemia. *Pediatr. Res.*, 16 : 670-674, 1982.



☒ 1



$$\frac{dB}{dt} = k_2 D - k_1 B$$

$$\frac{dD}{dt} = k_1 B - k_2 D$$

where B and D are percentages of B and D respectively.

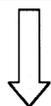
$$B = \frac{k_1}{k_1 + k_2} B_0 e^{-(k_1 + k_2)t} + \frac{k_2}{k_1 + k_2} B_0$$

Similarly:

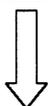
$$D = \frac{k_1 B_0}{k_1 + k_2} (1 - e^{-(k_1 + k_2)t})$$

$$D/B = k_1/k_2 \quad (ak_1/ak_2)$$

☒ 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



4. 結論

立体異性体である(ZE)-bilirubinの(ZZ)-bilirubinに占める割合,即ち立体異性化は光平衡に必要な光エネルギー量以上では一定であり,立体兼構造異性体である(EZ)-and(EE)-cyclo-bilirubinの生成量は光エネルギー量と光源特性に依存することが立証された。