

「母乳黄疸の成因と生物学的意義」

分担研究：母乳内物質の人体への影響に関する研究

香川医科大学

研究協力者 伊藤 進

要約：平成4年度より今年度までの当院での遷延性黄疸の頻度について、1カ月健診で来院した正期産児を対象に経皮的黄疸計により検討した。その結果、その前胸部の測定値が16以上を示したものは対象者の約25%であった。母乳性黄疸の成因について、母乳性黄疸を含む1カ月健診児を対象に、タウリンの血清中濃度およびクレアチニンで補正した尿中タウリン濃度と血清(ZZ)-ビリルビン濃度との相関を検討したが有意な相関は得られなかった。

母乳黄疸の生物学的意義を検討するために、in vitroの系で活性酸素の一種である O_2^- を生成させ、それにビリルビンを共存させてビリルビンの酸化物質であるpropentdyopent物質とビリベルジンを測定した。その結果、ビリベルジンの生成は測定感度以下に止まったものの、propentdyopent物質の上昇が認められた。そこで、母乳性黄疸を含む1カ月健診児を対象に血清(ZZ)-ビリルビン濃度とクレアチニンで補正した尿中propentdyopent物質濃度および血清中ビリベルジン濃度との相関を検討した。両者ともに血清(ZZ)-ビリルビンと有意な正の相関が認められた。この事実は、ビリルビン濃度が高い程、生体で生成されている活性酸素をより多く捕捉・消去していることを示唆させると考えられた。そこで、従来よりビリルビンの抗酸化作用により安定化すると報告のある不飽和脂肪酸とビタミンAについて、その血清中濃度と血清(ZZ)-ビリルビンとの相関を検討したが有意な相関は認められなかった。

見出し語：母乳性黄疸、propentdyopent物質、ビリベルジン、抗酸化作用、不飽和脂肪酸、ビタミンA

研究目的：母乳育児を続ける上で負の要因になり易い母乳性黄疸について、平成4年度と5年度は1カ月健診における遷延性黄疸の管理方法について研究を行った^{1)、2)}。今年度は、そのまとめとして①当院における1カ月健診における遷延性黄疸の頻度、

②母乳性黄疸とタウリンの関係、③血清ビリルビンとビリルビンの酸化物質との関係、④高間接ビリルビン血症の血清不飽和脂肪酸およびビタミンA濃度への影響について検討を加えた。母乳性黄疸の成因として、ビリルビンの腸肝循環の亢進が重要視されている³⁻⁵⁾。しかし、未だ不明な点も多い。そのため、血清総ビリルビン濃度が高い程、血清中タウリン抱合型胆汁酸のグリシン抱合型胆汁酸に対する比率が高いとの報告⁶⁾があるので、これに着目して血清タウリンや尿中タウリンについて検討した。

ビリルビンの生理作用については、平成5年度の報告書で高間接ビリルビン血症を示す1カ月健診児において可視的黄疸が強い程、クレアチニンで補正した尿中propentdyopent物質が多量に排泄されていることを証明した^{7)、8)}。今年度は、上記の結果をより詳細に証明するために、in vitroの系でキサンチン酸化酵素によりスーパーオキシドアニオンラジカル(O_2^-)を定量的に生成させ、ビリルビンの共存下でその酸化物質であるpropentdyopent物質およびビリベルジンを測定し、この系での O_2^- の捕捉・消去作用を検討した。また、血清中のビリルビン分画を高速液体クロマトグラフィーで測定し、同時に採尿した試料でクレアチニンの測定とpentdyopent反応を行い、血清(ZZ)-ビリルビン濃度とクレアチニンで補正した尿中propentdyopent物質および血清ビリベルジン濃度との相関を検討した。また、従来からビリルビンはその抗酸化作用を介する不飽和脂肪酸(リノレン酸)⁹⁾やビタミンA¹⁰⁾の安定化作用が報告されており、それらの物質と血清(ZZ)-ビリルビン濃度との相関を検討した。これらの研究により、母乳性黄疸の成因と生物学的意義を解明することを究極の目的としている。なお、母乳栄養児に關係する黄疸をすべて母乳黄疸とし、その内の母乳が原因の遷延性黄疸を母乳性黄疸と定義した。

研究方法：

1. 当院における遷延性黄疸児の頻度

平成4年度から今年度まで、1カ月健診で来院した正期産児243人を対象にミノルタ黄疸計を用いて経皮的ビリルビン濃度を前胸部と前額部で測定した。環境光の影響を比較的受け難い前胸部の測定値が16以上²⁾を示す者を遷延性黄疸児としてその頻度を求めた。また、それらの全例について尿中ビリルビンを測定し閉塞性黄疸を否定した。同時に、栄養法についても検討を加えた。

2. 母乳性黄疸の成因に関する研究(血清中および尿中のタウリン濃度と血清(ZZ)-ビリルビン濃度との関係について)

1カ月健診で来院した母乳栄養単独か混合栄養であってもそのほとんどが母乳によりまかなわれている母乳性黄疸を含む正期産児33例を対象に、ヘパラスチンテスト施行時に親の承諾を得て採血し、遮光下で血清を分解した。また、同時に採尿し、尿沈渣検査時の上澄とともに -70°C で保存し以下の検討を行った。

1) 血清ビリルビン分画の測定

血清のビリルビン分画は、高速液体クロマトグラフィ(HPLC)で分析した^{11)、12)}。そのピーク面積より、絶対検量線法により(ZZ)-ビリルビンとその光異性体である(ZE)-ビリルビン、抱合ビリルビンであるbilirubin monoglucuronide(endovinylとexovinyl isomer)およびbilirubin diglucuronideの濃度を測定した。

2) 血清中および尿中のタウリン濃度の測定

血清中のタウリン濃度は、血清 $50\mu\text{l}$ を5%トリクロル酢酸で除タンパク後、その上澄をオルトフタルアルデヒドを用いたポストラベル法によるHPLCで測定した。尿中のタウリン濃度は、2%スルホサリチル酸で除タンパクし、日立のアミノ酸分析計で測定した。それと同時に、尿中クレアチニン濃度を測定し、尿中タウリン濃度をクレアチニン濃度で補正した。

こうして得られた値をもとに、血清タウリン濃度および尿中クレアチニン濃度で補正した尿中タウリン濃度の各々と血清(ZZ)-ビリルビン濃度との相関を検討した。

3. 母乳性黄疸の生物学的意義の研究

1) ビリルビンの抗酸化作用に対する *in vitro* の研究

O_2 生成系として、 $58\mu\text{M}$ のキサンチン溶液(0.05Mリン酸ナトリウム-0.01M EDTA緩衝液 pH 7.5)の3.0mlに酸素を3分間通気し、それにリン酸緩衝液で10倍希釈した酵素液(キサンチン酸化酵素懸濁

液、バターミルク製)0.1mlを加え 25°C で反応させた(以下反応液とする)。反応は、30分間で完了することをキサンチンから尿酸へのスペクトルの変化より確認した。また、対照としては酵素液の代わりに0.1mlのリン酸緩衝液のみを加えた(以下対照液とする)。0.01M EDTA水溶液にビリルビン1mgと0.1N NaOH 0.3mlを加え溶解し、総量を100mlとしてビリルビン水溶液を作成した。反応液3.1mlにビリルビン水溶液0.5mlを加え 25°C で30分間反応させた。対照液についても同様の操作を行った。その両者について、溶液中のpentdyopent反応、ビリルビンおよびピリベルジン濃度をHPLCで測定した。その測定は5回行った。また、ビリルビン・ヒト血清アルブミン複合体溶液(ビリルビン10mg/dl,ヒト血清アルブミン2g/dl,0.1Mリン酸緩衝液 pH 7.4)についても各々の液に $100\mu\text{l}$ ずつ加え同様の検討を行った。

2) 血清(ZZ)-ビリルビン濃度と血清ピリベルジン濃度および尿中propentdyopent物質の関係

血清ピリベルジン濃度は、HPLCで測定した¹³⁾。尿中propentdyopent物質はpentdyopent反応とクレアチニン濃度を測定し、520nmの吸光度をクレアチニン濃度で補正して表した⁷⁾。前項で測定した血清の(ZZ)-ビリルビン濃度とこれらの測定値との相関を求めた。

3) 母乳性黄疸の遊離脂肪酸分画への影響

母乳性黄疸を含む1カ月健診児における血清遊離脂肪酸分画を測定した。

方法は、血清 $75\mu\text{l}$ に内部標準としてメタノールで溶解した $50\mu\text{g/ml}$ のnonadecanoic acid($\text{C}_{19:0}$)を $10\mu\text{l}$ 加え攪拌後、クロロホルム・メタノールの2:1の混合溶液を3.6ml加え、遊離脂肪酸を5分間抽出した。その後、3000rpmで遠沈し上澄を吸引除去し、有機溶媒層を取り遠沈エバポレーターで蒸発乾固した。それに、prelabel試薬として9-anthryldiazomethane(ADAM)を加えて、室温で30分以上反応させた。その反応液をHPLCで分離し、飽和脂肪酸としてpalmitic acid($\text{C}_{16:0}$)とstearic acid($\text{C}_{18:0}$)を、不飽和脂肪酸としてoleic acid($\text{C}_{18:1}$)、linoleic acid($\text{C}_{18:2}$)およびlinolenic acid($\text{C}_{18:3}$)を測定した。前項で測定した血清(ZZ)-ビリルビン濃度と不飽和脂肪酸の飽和脂肪酸に体する比との相関を検討した。

4) 母乳性黄疸のレチノール濃度への影響

血清 $100\mu\text{l}$ に内部標準として酢酸レチノールを含むメタノール溶液 $100\mu\text{l}$ を加え混合し、それにn-hexaneを3ml加え抽出した。3000rpmで5分間遠沈し、

有機溶媒層を採取し、遠沈エバポレーターで蒸発乾固した。それを100 μ lのメタノールで溶解し、その50 μ lをHPLCで分析し、レチノール濃度を測定した。これらの操作は可能な限り遮光下で行った。

前項で測定した血清(ZZ)-ビリルビン濃度とレチノール濃度との相関を検討した。

結果：

1. 当院における遷延性黄疸の頻度

前胸部のミノルタ黄疸計の測定値が16以上の値を示した児は、対象児243人中61人であった。対象児の栄養法は、人工栄養のみが7人、人工栄養の多い混合栄養26人で、その他は母乳栄養単独か母乳栄養の多い混合栄養であった。61人の遷延性黄疸児は、全例母乳栄養単独か母乳栄養の多い混合栄養であり、その臨床経過より母乳性黄疸がその原因として最も考えられた。

2. 母乳性黄疸の成因に関する研究（血清中および尿中タウリン濃度と血清（ZZ）-ビリルビン濃度との関係）

1) 血清ビリルビン分画について

1カ月健診における母乳性黄疸を含む33例の血清ビリルビン分画の濃度は、(ZZ)-ビリルビン 5.085 ± 3.377 (0.289~12.850) mg/dl, (ZE)-ビリルビン 0.897 ± 0.676 (0.240~3.238) mg/dl, bilirubin diglucuronide 3.58 ± 3.57 (0.00~13.02) μ g/ml, bilirubin monoglucuronide endovinyl isomer 6.49 ± 7.58 (0.70~39.56) μ g/mlおよび bilirubin monoglucuronide exovinyl isomer 3.97 ± 3.73 (0.13~18.16) μ g/ml（平均±標準偏差（範囲））であった。以上の測定による血清抱合ビリルビン濃度および試験紙による尿中ビリルビン検査より、閉塞性黄疸児は一例も含まれていなかった。そして、この血清(ZZ)-ビリルビン濃度について、以下に示すin vivoにおける他の物質との相関を検討した。

2) 血清中および尿中のタウリン濃度について

血清タウリン濃度の平均値と標準偏差は、 71.74 ± 21.31 μ Mで、クレアチニンで補正した尿中タウリンの平均と標準偏差は、 5.54 ± 2.38 μ mol/mgCrであった。血清(ZZ)-ビリルビン濃度と血清タウリン濃度（図1）およびクレアチニンで補正した尿中タウリン濃度（図2）共に有意な相関を示さなかった。

3. 母乳性黄疸の生物学的意義

1) ビリルビンの抗酸化作用に関する in vitroの研究

ビリルビン水溶液における反応液中の(ZZ)-ビリルビン濃度は、対照液と比較して 0.054 ± 0.036 mg/dl

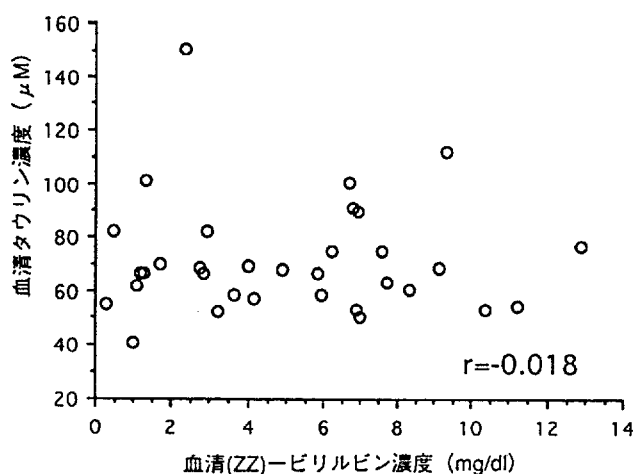


図1. 血清(ZZ)-ビリルビンと血清タウリン

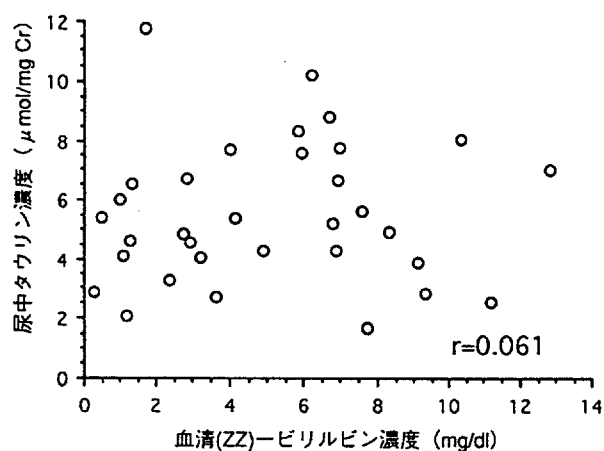


図2. 血清(ZZ)-ビリルビンと尿中血清タウリン

（平均±標準偏差）低下していた。propentdyopent物質の520nmの吸光度の増加は、反応液中では $(2.40 \pm 0.33) \times 10^{-3}$ を示したのに対し、対照液では認められなかった。また、ピリベルジンは反応液および対照液ともに測定感度（約50 μ g/dl）以下にとどまり検出されなかった。

ビリルビン・ヒト血清アルブミン溶液では、ビリルビンは対照液に比較して 0.022 ± 0.003 mg/dl低下したが、ビリルビン水溶液でのその低下との間には有意差はなかった。propentdyopent物質による520nmの吸光度の増加は、反応液中 $(2.67 \pm 0.54) \times 10^{-3}$ に対し対照液中 $(1.46 \pm 0.27) \times 10^{-3}$ であり、両者の間の比較では5%以下の危険度で反応液が有意に高値をとっ

た。また、ビリベルジンは反応液および対照液ともに測定感度以下であったが、感度限界のところでは反応液においてビリベルジンの微小のピークを認めた。

2) 血清(ZZ)-ビリルビン濃度と血清ビリベルジン濃度および尿中propentdyopent物質の関係

血清(ZZ)-ビリルビン濃度と血清ビリベルジン濃度との間には、相関係数0.631(危険率0.01%以下)で有意な正の相関を得た(図3)。また同様に、クレアチニンで補正した尿中propentdyopent物質とは、相関係数0.804(危険率0.01%以下)で有意な正の相関が認められた(図4)。

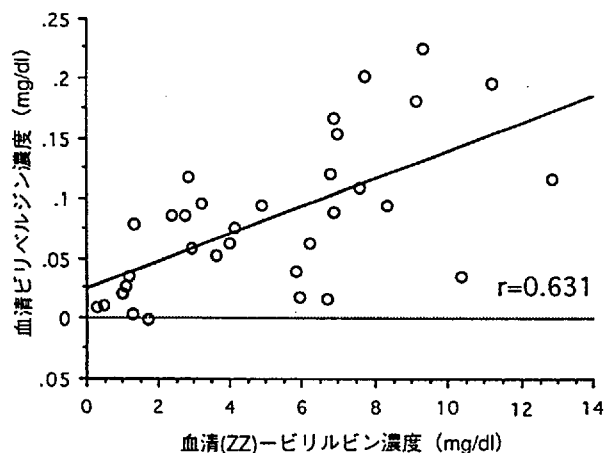


図3. 血清(ZZ)-ビリルビンと血清ビリベルジン

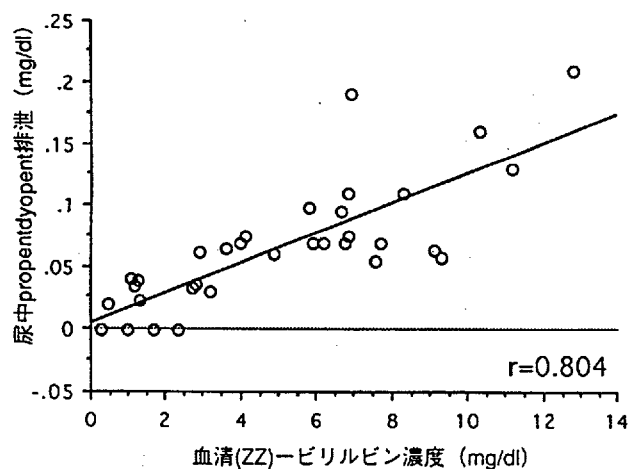


図4. 血清(ZZ)-ビリルビンと尿propentdyopent

3) 母乳性黄疸の遊離脂肪酸分画への影響 飽和脂肪酸である血清遊離palmitic acidおよびstearic

acid濃度の平均±標準偏差は、それぞれ 48.2 ± 15.4 および $17.2 \pm 5.2 \mu\text{g/ml}$ であり、不飽和脂肪酸である血清遊離oleic acid, linoleic acidおよびlinolenic acid濃度は、それぞれ 36.2 ± 24.3 , 22.3 ± 7.77 および $1.57 \pm 1.43 \mu\text{g/ml}$ であった。血清(ZZ)-ビリルビン濃度と(不飽和脂肪酸/飽和脂肪酸)の間には、有意な相関は認められなかった(図5)。

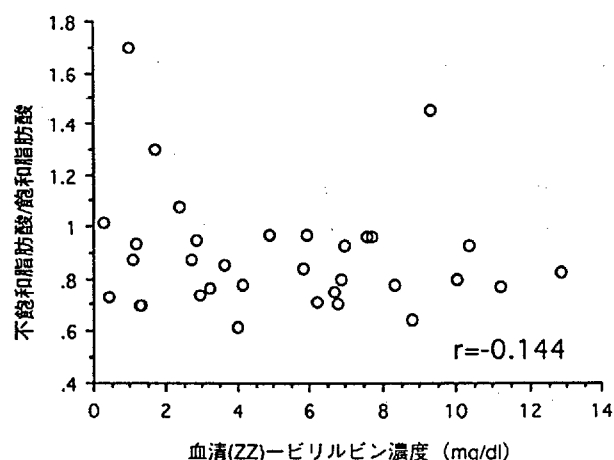


図5. 血清(ZZ)-ビリルビンと血清不飽和脂肪酸/飽和脂肪酸

4) 母乳性黄疸のレチノール濃度への影響

血清レチノール濃度の平均±標準偏差は、 $27.5 \pm 28.3 \mu\text{g/dl}$ であった。血清(ZZ)-ビリルビン濃度とレチノール濃度との間には、有意な相関は認められなかった(図6)。

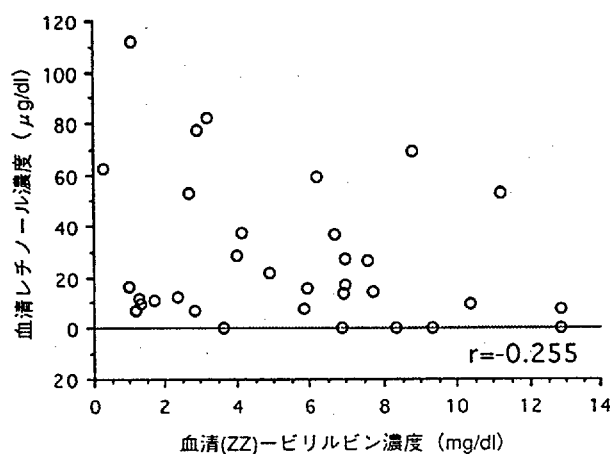


図6. 血清(ZZ)-ビリルビンと血清レチノール

考案：母乳性黄疸の主要な原因としては、現在ビリルビンの腸肝循環の亢進が最も有力であるが¹⁴⁾、その他に肝ビリルビン-UDP-グルクロニルトランスフェラーゼに対する母乳中の阻害物質¹⁵⁻¹⁷⁾やタウリンの影響⁶⁾などが報告されている。タウリンについては、母乳中に多く含まれ児においても肝や脳に多く分布し、胎生期から新生児期にかけてそれらの機能の発達に重要な役割を果たしていると考えられている^{18)、19)}。また、活性酸素の捕捉・消去作用に関しても好中球が主に産生するハイポクロライドのタウリンによる捕捉作用が見い出された²⁰⁾。新生児期におけるこの役割も今後注目され、ビリルビンと同様に徐々に解明されることが期待される。

ところで、母乳性黄疸との関係についてはYamadaらが血清総ビリルビン濃度が高いほど(タウリン抱合型胆汁酸/グリシン抱合型胆汁酸)が高いことを報告した⁶⁾。我々は、胎生期より肝内タウリン濃度が高い程、肝内タウリン抱合型胆汁酸濃度が高いことを既に報告した²¹⁾。そこで血清中および尿中タウリン濃度と血清(ZZ)-ビリルビン濃度との相関を検討したが、その相関は得られなかった。このことは、タウリンの肝への取り込みやグリシン抱合に対する母乳内物質の影響があることを示しているかもしれない。

母乳性黄疸の生物学的意義については、ビリルビンの活性酸素の捕捉・消去作用を中心にin vitroおよびin vivoで今回検討した。in vitroの検討において、キサンチン酸化酵素系での O_2^- 生成に対してビリルビンがpropentdyopent物質に酸化され、 O_2^- を捕捉していることを証明した。安藤ら²²⁾のリポゾームを用いたリポドペリオキシラジカル生成系での報告で、リポゾームに結合したビリルビンを増加させるとpropentdyopent物質が主に増加し、ヒト血清アルブミンに結合したビリルビンを増加させた場合にはビリベルジンが主に増加した。しかし、我々の系ではヒト血清アルブミンに結合したビリルビンにおいて明らかなビリベルジンの増加は認められなかった。この差異は、使用した活性酸素種の違いやその生成量が影響したものであると考えられるが今後の検討を必要とする。

ビリルビンの物理化学的性質を考えると、非常に水に溶解し難い²³⁾ため生体膜の脂質二重層へ広く分布し、非常に酸化され易いため^{24)、25)}、生体の局所における抗酸化作用を担っていると考えられる。そして、局所で発生した活性酸素の捕捉・消去はそ

れを処理する物質の局所の濃度に影響される。今回のin vivoの検討で、血清(ZZ)-ビリルビン濃度が高い程その酸化物質である尿中propentdyopent物質や血清ビリベルジン濃度が増加した。このことは、生体内で生成された活性酸素をビリルビンがより多く処理し、内因性の酸化され易い物質を安定化していることを示唆している。そこで、ビリルビンが共存するとその酸化が阻害されることが期待される不飽和脂肪酸⁹⁾とレチノール¹⁰⁾について、それらの血清中濃度と血清(ZZ)-ビリルビン濃度との関係を検討したが、両者の間に相関関係は証明できなかった。

いずれにしても、ビリルビンの抗酸化作用を介した母乳性黄疸の生物学的意義を考える場合、ビリルビンの酸化物質およびビリルビンにより安定化される内因性物質の関係で検討する必要がある。これらの検討を行うことにより、母乳育児の継続に際し負の要因に成り易い母乳性黄疸についてその生物学的意義を見出し、その指導に科学的根拠が付け加えられることが期待される。

文献：

- 1) 伊藤進、河田興、住谷朋人、ほか：一カ月健診における遷延性黄疸の管理法の研究—尿中ビリルビン測定の意味—。新生児誌、29:892-897、1993。
- 2) 伊藤進、矢口善保、白神佳子、ほか：一カ月健診における遷延性黄疸の管理法の研究—ミノルタ黄疸計を用いた検討—。新生児誌、30:399-402、1994。
- 3) Gartner LM: Breast milk jaundice. In Hyperbilirubinemia in the Newborn. Report of the 85th Ross Conference on Pediatric Research. Columbus, Ohio, Ross Laboratories, 1983。
- 4) Gartner LM, Lee KS, Vaisman S, et al: Effect of milk feeding on intestinal bilirubin absorption in rat. J Pediatr 103:464-471, 1983。
- 5) 越智三起子、國方徹也、伊藤進、ほか：新生児期における血漿中抱合ビリルビンの動態の解析と母乳黄疸の成因に関する研究。未熟児新生児学会雑誌、2:125-131、1990。
- 6) Yamada M, Tazawa Y, Nakagawa M, et al: Alternations of serum bile acid profile in breast-fed infants with prolonged jaundice. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, 4:207-211, 1985。
- 7) Itoh S, Yaguchi Y, Ishii M, et al: Relationship between the transcutaneous bilirubin level with urinary bilirubin and propentdyopent levels in breast milk

jaundice. *Photomedicine and Photobiology*. 1994 in press.

8) 伊藤進、大滝吉紀、林田幸、ほか：高間接ビリルビン血症による遷延性黄疸と尿中プロベントディオベント。日児誌、印刷中

9) Onishi S, Yamakawa T, Ogawa J: Photochemical and photobiological studies on the light-treated newborn infants. XIII.I.C.P. *Perinatology*, 1:373-379, 1971.

10) Bernhard K, Ritzel G, Steiner KU: Über eine biologische Bedeutung der Gallenfarbstoffe. Bilirubin und Biliverdin als Antioxydation für das Vitamin A und die essentiellen Fettsäuren. *Helvetica Chimica Acta*, 35:306-313, 1952.

11) Onishi S, Itoh S, Kawade N, et al: An accurate and sensitive analysis by high pressure liquid chromatography of conjugated and unconjugated bilirubin IX α in various biological fluids. *Biochem J*, 185:281-284, 1980.

12) Itoh S, Onishi S: Kinetic study of the photochemical changes of (ZZ)-bilirubin IX α bound to human serum albumin. *Biochem J*, 226:251-258, 1985.

13) 西田智子、照下真美、近藤昌敏、ほか：光療法におけるbiliverdinの動態生理学的意義。日本未熟児新生児学会雑誌、3:244-251,1991.

14) 大西鐘壽、伊藤進、磯部健一：母乳黄疸とくに抱合ビリルビンの代謝。新生児誌、29：23-39、1993.

15) Arias IM, Gartner LM, Seifter S and Furman M: Prolonged neonatal unconjugated hyperbilirubinemia associated with breast feeding and a steroid, pregnane-3(alpha), 20(beta)-diol, in maternal milk that inhibits glucuronide formation in vitro. *J Clin Invest*, 43:2037-2047, 1964.

16) Bevan BR, Holton JB: Inhibition of bilirubin conjugation in rat liver slices by free fatty acids, with relevance to the problem of breast milk jaundice. *Clin Chim Acta*, 41:101-107, 1972.

17) Luzeau R, Levillain P, Odievre M and Lemonnier A: Demonstration of a lipolytic activity in human milk that inhibits the glucuro-conjugation of bilirubin. *Biomedicine*, 21:258-262, 1974.

18) 伊藤進、山川毅、大西鐘壽：ヒト肝臓内タウリン、グリシン濃度及び各種胆汁酸の発達変化。日児誌、87:458-462,1983.

19) Gaull GE, Rassin DK: Taurine infant nutrition. edited by HKA Visser, *Nutrition and Metabolism of the Fetus and Infant*, Martinus Nijhoff Publishers,

Hague/Boston/London, 1979 pp213-224.

20) Weiss SJ, Klein R, Slivka A and Wei M: Chlorination of taurine by human neutrophils-evidence for hypochlorous acid generation. *J Clin Invest*, 70:598-607, 1982.

21) 伊藤進、大西鐘壽、磯部健一、ほか：胎児期の胆汁酸抱合能の発達とその影響因子（第2報）。第85回日本小児科学会学術集会抄録集、1982.

22) 安藤美智子、伊藤進、磯部健一、大西鐘壽：周生期の活性酸素防御機構における新生児黄疸の病態生理学的意義。—第2編 血清アルブミンより遊離した非抱合ビリルビンの機能的二面性—。未熟児新生児学会雑誌、2:104-111,1990.

23) Brodersen R: Binding of bilirubin to albumin implications for prevention of bilirubin encephalopathy in the newborn. *CRC Crit Rev Clin Lab Sci*, 11:305-399, 1979.

24) Stocker R, Glazer AN, Ames BN: Antioxidant activity of albumin-bound bilirubin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 84:5918-5922, 1987.

25) Stocker R, Yamamoto Y, McDonagh et al: Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science*, 235:1043-1046, 1987.



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:平成 4 年度より今年度までの当院での遷延性黄疸の頻度について、1 ヶ月健診で来院した正期産児を対象に経皮的黄疸計により検討した。その結果、その前胸部の測定値が 16 以上を示したものは対象者の約 25%であった。母乳性黄疸の成因について、母乳性黄疸を含む 1 ヶ月健診児を対象に、タウリンの血清中濃度およびクレアチニンで補正した尿中タウリン濃度と血清(ZZ)-ビリルビン濃度との相関を検討したが有意な相関は得られなかった。母乳黄疸の生物学的意義を検討するために、in viro の系で活性酸素の一種である O₂ を生成させ、それにビリルビンを共存させてビリルビンの酸化物質である propentdyopent 物質とビリベルジンを測定した。その結果、ビリベルジンの生成は測定感度以下に止まったものの、propentdyopent 物質の上昇が認められた。そこで、母乳性黄疸を含む 1 ヶ月健診児を対象に血清(ZZ)-ビリルビン濃度とクレアチニンで補正した尿中 propentdyopent 物質濃度および血清中ビリベルジン濃度との相関を検討した。両者ともに血清(ZZ)-ビリルビンと有意な正の相関が認められた。この事実は、ビリルビン濃度が高い程、生体で生成されている活性酸素をより多く捕捉・消去していることを示唆させると考えられた。そこで、従来よりビリルビンの抗酸化作用により安定化するとの報告のある不飽和脂肪酸とビタミン A について、その血清中濃度と血清(ZZ)-ビリルビンとの相関を検討したが有意な相関は認められなかった。