

胎児無酸素症における血液 2,3-Diphosphoglycerate 濃度について

福岡大学医学部産婦人科学教室 (主任: 白川光一教授)

麻 生 誠

2,3-Diphosphoglycerate Concentrations in Human Fetal Erythrocytes in Hypoxic Conditions

Makoto ASO

Department of Obstetrics and Gynecology, Fukuoka University School of Medicine, Fukuoka

(Director: Prof. Koichi Shirakawa)

概要 胎児無酸素症における 2,3-diphosphoglycerate (以下 2,3-DPG) を含む解糖系代謝の変化を追究し、胎児組織呼吸に対する 2,3-DPG の意義について検討し、以下の結果を得た。

(1) まず正常例について 1 モルの色素あたりの血液 2,3-DPG 濃度は、非妊婦人で $1.09 \pm S.D. 0.06$ 、妊娠末期の婦人で 0.99 ± 0.12 、分娩直後の母体で 1.04 ± 0.14 、臍帯静脈で 0.81 ± 0.17 、生後 1 時間の新生児で $0.84 \pm 0.17 M$ であった。母児間濃度勾配は胎盤呼吸において胎児側に有利に働くものと思われた。

(2) 臍帯動脈血 pH が 7.21 以上、乳酸値が 3 mM/l 以下の optimal 群において臍帯動脈血 2,3-DPG は、1 モルの色素あたり $0.79 \pm 0.16 M$ で、これに対して Apgar 指数 8 点以上で臍帯動脈血 pH が 7.20 以下か、乳酸値が 3 mM/l 以上のものでは $0.88 \pm 0.19 M$ と増加し、Apgar 指数 7 点以下のものでは逆に $0.65 \pm 0.08 M$ と減少していた。すなわち解糖系の胎児無酸素症に対する初期反応で 2,3-DPG は増加し、ついで pH の減少とともに 2,3-DPG は減少した。

(3) 胎児臍帯血 2,3-DPG は pH 7.21 あたりで最も増加し、さらにアシドーシスになると減少した。成人の無酸素症における 2,3-DPG の増加は呼吸性アルカローシスのためと推測されるが、胎児無酸素症ではこの代償機構が欠如するため 2,3-DPG が減少するものと考えられた。

(4) 胎児血 2,3-DPG 値はグリセロール、Buffer Base, pO_2 、FFA 値と逆相関し、母児間の pCO_2 差、母児間の $[H^+]$ 差、乳酸値と相関した。

(5) 母児の新鮮血と高濃度の無機磷およびブドウ糖の incubation 実験において、2,3-DPG を含め解糖系諸基質値の変化は母児ともにほぼ同様の变化を認め、特に胎児赤血球に特異な解糖系機構を見出すことは不可能であった。

(6) ACD 血による新生児交換輸血は赤血球内に著明な呼吸性兼代謝性アシドーシスを有する血球を供給するため、血球内 2,3-DPG は著明に減少して新生児組織呼吸に有害な作用を及ぼすおそれのあることを見出した。

Synopsis Metabolic changes of glycolytic substrates, including 2,3-DPG, in human fetal erythrocytes in hypoxic conditions were studied.

1) Average blood concentrations of 2,3-DPG in non-pregnants, pregnant at term, parturients immediately after delivery, umbilical veins, and newborns one hour after birth, were measured to be $1.09 (\pm S.D. 0.06)$, $0.99 (\pm 0.12)$, $1.04 (\pm 0.14)$, $0.81 (\pm 0.17)$, and $0.84 (\pm 0.17)$ Mol/Mol Hb., respectively, indicating relatively low concentrations in fetal blood.

2) Mean umbilical arterial blood concentrations of 2,3-DPG in the optimal group, subclinical lactemia and/or acidemia group, and asphyxia group, were found to be $0.79 (\pm 0.16)$, $0.88 (\pm 0.19)$, and $0.65 (\pm 0.19)$ Mol/Mol Hb., respectively.

3) Highest concentrations of umbilical arterial blood 2,3-DPG were observed in blood pH of 7.21, followed by a marked decrease together with a further decline in blood pH. The former phenomenon would be related with an initial response to fetal anoxia, the latter being attributed to a loss of respiratory

compensation in fetal acidosis.

4) Fetal blood 2,3-DPG values were found to be inversely correlated with blood glycerol, buffer base, pO_2 and FFA values.

5) Incubation experiments in maternal and fetal blood with a high concentrations of Pi at pH 8.0, showed an identical metabolic changes in both blood, i.e. a marked increase in F-1,6-DP and ATP; a slight increase in 2,3-DPG; and a marked decrease in lactate and pyruvate.

6) Changes in 2,3-DPG concentrations during neonatal exchange transfusion were also investigated.

緒言

2,3-Diphosphoglycerate (以下 2,3-DPG) は赤血球内での解糖代謝過程の分路的存在であり、解糖系の諸酵素に allosteric な作用を有し、血色素に対し親和性を有し、血色素と結合して組織への酸素解離を助け、成人において貧血、高地馴化、肺疾患、多血症を伴う先天性心疾患、甲状腺機能亢進症などで赤血球内 2,3-DPG は増加し、細菌性ショック、アシドーシス、保存血大量輸血で減少することが知られている (鈴木⁴⁾, 1972). とくに急性または慢性の無酸素症に増加することが知られ (Gerlach, et al.¹⁴⁾, 1972), 2,3-DPG を測定することが組織酸素分圧を知るための「機能的生検」であるとさえ言われている (Valeri, et al.²⁸⁾, 1972).

一方胎児血において赤血球の酸素解離曲線は成人血に比し左方に偏在し、半飽和酸素分圧 (P_{50}) が低い、その原因の一つとして胎児血色素 (HbF) は成人血色素 (HbA) に比し 2,3-DPG 結合能が低く、このため胎児血が酸素親和性が高いと説明される (De Verdier, et al.¹⁰⁾, 1969). 新生児呼吸障害症候群を示す児でも、このような胎児赤血球機能が残存して、出生後の組織酸素供給を障害していると考えられ、Osaki²²⁾ (1973) は交換輸血によつて成人赤血球で置換することによつて、児の生存率を改善させ得たと報告した。しかしながら 2,3-DPG と P_{50} との密接な関係について疑問を示すもの (Edwards, et al.¹²⁾, 1971) や、2,3-DPG の解糖代謝への feed back 機構に異説を示すもの (Beutler⁹⁾, 1971) がある。そこで本研究においては妊産婦、臍帯、新生児の血液 2,3-DPG 濃度の変化、分娩異常や胎児アシドーシスに対する 2,3-DPG 濃度の変化、母体血および胎児血の高濃度無機燐 (P_i) とブドウ糖との incuba-

tion による 2,3-DPG 濃度の変化、交換輸血における 2,3-DPG 濃度の変化を他の解糖系諸基質の変化とともに追究し、胎児無酸素症において 2,3-DPG がどのような役割を果すのか、2,3-DPG が胎児組織呼吸にどのような役割を果すのかを推測した。

研究方法

昭和50年4月から51年4月までの1年1カ月間に、福岡大学病院に入院した非妊婦、妊婦、新生児から採血して、Astrup bloodgas analyzer および oxygen saturation meter を用いて pH, pO_2 , pCO_2 , 酸素飽和度を測定し、2,3-DPG は Keitt¹⁷⁾ (1971) の蛍光酵素法により、乳酸、ピルビン酸、グリセロールは Boehringer-Mannheim test combination kit により、Fructose-1,6-Diphosphate (F-1,6-DP) は Bergmeyer⁸⁾ (1974) の記載する Michal & Beutler の方法で、FFA は和光純薬キット法で、Pi は Fiske & Subbarow により、血色素量はシアンメトヘモグロビン法で、それぞれ測定した。pH, pO_2 , および酸素飽和度を用いて Dill, et al.¹¹⁾ (1940) の式に Hilpert, et al.¹⁶⁾ (1963) の恒数を用いた $\Delta \log pO_2 = -0.50 \cdot \Delta pH$ の式で pH 7.40 での pO_2 を算出し、ついで Hill¹⁵⁾ (1910) の式 $\log \left(\frac{Hb}{HbO_2} \times 100 \right) = -n \log pO_2 - \log k + 2$ により異なる酸素飽和度・ pO_2 値を用いて連立方程式を作つて n および k を算出し、ついで $\log P_{50} = \frac{-\log k}{n}$ の式によつて P_{50} を算出した。

分娩周辺の parameter として Apgar 指数、Colorado morbidity score (Lubchenco¹⁹⁾, 1973), 胎児心拍陣痛図の定量値として Schifrin-Dame index²⁵⁾ (1972), bradycardia résiduelle (Sureau, et al.²⁶⁾, 1970), lag time (Myers, et al.²⁰⁾, 1972),

Komáromy index (Krause, et al.¹⁸⁾, 1973) など, 分娩第Ⅱ期時間などを用いてこれと臍帯動脈血 2,3-DPG 濃度との相関を追究した. 母児血の incubation 実験においては ACD 液によつて採血, 4 °C に保存して採血 2 時間以内に実験を行つた. 実験にあつては生理的食塩水で3回洗滌し, Ravazzolo²⁸⁾ が述べたように triethanolamine-HCl buffer (pH 8.0) 50mM, Na₂HPO₄ 50mM, d-glucose 10mM, NaCl 100mM, KCl 10mM の最終濃度を有する溶媒に10%赤血球浮遊液となるようにして37°C, 60分間 incubate した前後の解糖系諸基質の濃度を測定した. また新生児交換輸血に際して, 開始前, 約1/2と終了時の3回中心静脈血を採血して, さらに交換輸血使用血の一部を採取して上述の生化学値を測定した. 統計学的処理には t-test を用いた.

結 果

I. 非妊婦人, 妊娠末期の妊婦・分娩直後の産婦, 臍帯血および新生児血の 2,3-DPG 濃度

まず合併症のない非妊健康婦人, 妊娠末期陣痛未発来の妊婦・分娩直後の産婦, 臍帯静脈および生後1時間の新生児の各々12例の血液 2,3-DPG 濃度は表1の如く, 全血に対する 2,3-DPG 濃度は非妊婦で2,062±100μM/l, 妊娠末期の妊婦で1,727±172, 分娩直後の産婦で1,887±194, 臍帯静脈で1,721±266, 生後1時間の新生児血で1,787±221μM/l であつた. すなわち非妊婦に比し妊娠末期の妊婦は有意に (P<0.01) 血液 2,3-DPG 濃度が低く, 陣痛発来でやや増加して (P<0.05) 非妊婦と有意差がなくなり, 臍帯静脈血や

新生児血も非妊婦に比し有意に (P<0.05) 低いが妊産婦とは有意差がない (P>0.05).

赤血球容量に対する 2,3-DPG 濃度は非妊婦で平均5,805±382μM/l RBC で, 妊娠末期4,694±658, 分娩直後4,621±489, 臍帯静脈3,993±431, 生後1時間の新生児で4,120±776μM/l RBC であつた. すなわち非妊婦に比し妊婦・産婦・新生児のいずれも有意に (P<0.01) 低く, 妊婦, 産婦に比し臍帯血では 2,3-DPG 濃度が有意に (P<0.05) 低いが, 生後やや増加する (P>0.05) 傾向が見出された.

つぎに血色素1gあたりの 2,3-DPG 濃度は非妊婦で 16.84±0.89μM/lg Hb, 妊娠末期で15.29±1.92, 分娩直後で 16.11±2.10, 臍帯静脈で 12.51±2.62, 生後1時間の新生児で12.99±2.18 μM/lg Hb であり, 血色素1モルあたりの 2,3-DPG 濃度は非妊婦で 1.086±0.057 Mol/Mol Hb, 妊娠末期で0.986±0.124, 分娩直後で1.038±0.136, 臍帯静脈で 0.807±0.169, 生後1時間の新生児血で 0.838±0.141 Mol/Mol Hb であつた. すなわち血色素1g または1モルあたりの 2,3-DPG 濃度は, 非妊婦に比較して臍帯静脈血および生後1時間の新生児血は有意に (P<0.01) 低く, 妊婦に比較して臍帯静脈血は有意に (P<0.05) 低く, 産婦に比較して臍帯静脈血および生後1時間の新生児血は有意に (P<0.05) 低い 2,3-DPG 値が観察された.

II. 新生児の一般状態, 生化学値別の濃度

私たちは出生時の新生児一般状態および臍帯静脈血生化学値から新生児の biochemical profiling

表1 Concentrations of 2, 3-Diphosphoglyceric Acid in Non-pregnant Women, Pregnant Women at Term, Parturients immediately after Delivery, Umbilical Vein, and Newborns one hour after Birth (n=12 cases)

	n	2, 3-DPG Concentrations			
		μM/L Whole Blood	μM/L R.B.C.	μM/l gram Hb.	Mol/Mol Hb.
		Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.
Non-Pregnant Women	12	2062±100	5808±382	16.84±0.89	1.086±0.057
Pregnant Women at Term	12	1727±172	4694±658	15.29±1.92	0.986±0.124
Parturients after Delivery	12	1887±194	4621±489	16.11±2.10	1.038±0.136
Umbilical Vein	12	1721±266	3993±431	12.51±2.62	0.807±0.169
Newborns, 1 hr. after Birth	12	1787±221	4120±776	12.99±2.18	0.838±0.141

表2 Changes in 2, 3-DPG Concentrations (Mol/Mol Hb) in the Optimal Group, Subclinical Acidemia and/or Lactemia Group, Asphyxia Group, and Cesarean Section Group

	Optimal Group*	Subclinical Acidemia and/or Lactemia Group**	Asphyxia Group***	Cesarean Section Group
n	21	24	12	12
	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.
Maternal, before Labor	1.090±0.310	1.090±0.406	0.987±0.361	—
Maternal after Delivery	1.065±0.226	1.174±0.303	1.065±0.297	1.200±0.219
Umbilical Vein	0.819±0.155	0.858±0.174	0.677±0.187	0.871±0.129
Umbilical Artery	0.794±0.145	0.884±0.194	0.645±0.084	0.903±0.174
Neonatal, 15' after Birth	0.716±0.084	0.839±0.168	0.716±0.077	0.877±0.135
Neonatal, 30' after Birth	0.748±0.103	0.865±0.174	0.742±0.135	0.871±0.116
Neonatal, 60' after Birth	0.806±0.219	0.968±0.168	0.677±0.245	0.858±0.200

* Apgar Score ≥ 8 , Umbilical Arterial $[H^+] < 60$ nM/L, [Lactate] < 3 mM/L.** Apgar Score ≥ 8 , Umbilical Arterial $[H^+] \geq 60$ nM/L and/or [Lactate] ≥ 3 mM/L.*** Apgar Score ≤ 7 .

によつて新生児を分類した²⁾。すなわち新生児 Apgar 指数が8点以上, 臍帯動脈血水素イオン $[H^+]$ が60nM/l 以下 (pH では7.21以上), 乳酸値が3mM/l 以下のものを optimal (最適条件) 群, Apgar 指数が8点以上, 臍帯動脈血 $[H^+]$ が60nM/l 以上か, 乳酸値が3mM/l 以上のものを subclinical acidemia and/or lactemia 群, Apgar 指数が7点以下のものを Asphyxia (仮死) 群とし, これらと帝王切開児群の4群の母児の血液 2,3-DPG 濃度の変化は表2に示すとおりである。

すなわちまず optimal 群では母体の分娩開始前平均 2,3-DPG 濃度は1.09±0.31, 分娩直後で1.07±0.23, 臍帯静脈で0.82±0.16, 臍帯動脈で0.79±0.15, 生後15分の新生児中心静脈血で0.72±0.08, 生後30分で0.75±0.10, 生後60分で0.81±0.22Mol/Mol Hb であつた。すなわち陣痛開始前および分娩直後の母体血は臍帯動静脈血, 生後15分, 30分, 60分の新生児血に比し有意に ($P < 0.01$) 高い 2,3-DPG 濃度がみられた。これに対し subclinical acidemia and/or lactemia 群では母体分娩開始前1.09±0.41, 分娩直後1.17±0.30, 臍帯静脈 0.86±0.17, 臍帯動脈 0.88±0.19, 生後15分 0.84±0.17, 30分 0.87±0.17, 60分 0.97±0.17Mol/Mol Hb と, 2,3-DPG 濃度が optimal 群に比して15分, 30分, 60分の新生児中心静脈血

において有意に ($P < 0.05$) 高値を示した。また仮死群では母体分娩開始前0.99±0.36, 分娩直後1.07±0.30, 臍帯静脈0.68±0.19, 臍帯動脈0.65±0.08, 生後15分0.72±0.08, 30分0.74±0.14, 60分0.68±0.25Mol/Mol Hb と, optimal 群に比し臍帯動脈血で ($P < 0.05$), subclinical acidemia and/or lactemia 群に比し臍帯静脈 ($P < 0.05$), 臍帯動脈 ($P < 0.01$), 生後15分 ($P < 0.05$), 60分 ($P < 0.05$) の新生児血で有意に低い 2,3-DPG 濃度がみられた。最後に帝切群では分娩直後の母体血が1.20±0.22, 臍帯静脈0.87±0.13, 臍帯動脈0.90±0.17, 生後15分0.88±0.14, 30分0.87±0.12, 60分0.86±0.20Mol/Mol Hb の 2,3-DPG 濃度を示し, optimal 群に比し生後30分の新生児血においてのみ有意に ($P < 0.05$) 高値がみられた。

Ⅲ. 臍帯動脈血における水素イオン濃度別の 2,3-DPG 濃度および P_{50}

臍帯動脈血において $[H^+]$ 別の 2,3-DPG 濃度および P_{50} を示したものが表3で, まず $[H^+]$ が45~50nM/l で平均 2,3-DPG 濃度は0.79±0.15, 50~55nM/l で0.89±0.18, 55~60nM/l で0.81±0.16, 60~65nM/l で0.89±0.13, 65~70nM/l で0.82±0.20, 70~75nM/l で0.74±0.25, 75nM/l 以上で0.53±0.09Mol/Mol Hb で $[H^+]$ が60~65nM/l (pH が7.20) のあたりで最も高い

表3 2,3-DPG Concentrations (Mol/Mol Hb.) and P₅₀ (mmHg) Values at different Hydrogen Ion Concentrations (Umbilical Arterial Blood)

Umbilical Arterial Hydrogen Ion Concentrations (nM/L)	2,3-DPG (Mol/Mol Hb.)		P ₅₀ (mmHg)	
	n	Mean±S.D.	n	Mean±S.D.
45—50	20	0.787±0.149	20	27.6±5.0
50—55	22	0.891±0.184	23	24.2±10.7
55—60	24	0.809±0.155	27	27.1±7.3
60—65	9	0.894±0.132	9	27.7±15.4
65—70	9	0.824±0.199	11	25.4±6.1
70—75	7	0.739±0.249	7	25.0±5.5
≥75	5	0.533±0.094	3	21.3±2.0

2,3-DPG 濃度が観察された。また [H⁺] が60～65nM/l における 2,3-DPG 濃度に比し, [H⁺] が75nM/l 以下となった場合の 2,3-DPG 濃度は有意に低値がみられた (P<0.05)。

これに対して P₅₀ は [H⁺] が45～50nM/l で 27.6±5.0mmHg, 50～55nM/l で 24.2±10.7, 55～60nM/l で 27.1±7.3, 60～65nM/l で 27.7±15.4, 65～70nM/l で 25.4±6.1, 70～75nM/l で 25.0±5.5, 75nM/l 以上で 21.3±2.0 で, [H⁺] が60～65nM/l で同じく最も高い P₅₀ 値がみられた。

IV. Apgar 指数別の 2,3-DPG 濃度

生後1分の Apgar 指数別の 2,3-DPG 濃度については表4に示すように, [H⁺] 別ほど著明ではないが, 生後1分の Apgar 指数が7点のとき,

表4 Mean Umbilical Arterial Blood 2,3-DPG Concentrations (Mol/Mol Hb.) and P₅₀ Values (mmHg) at different one-minute Apgar Scores

One-minute Apgar Scores	2,3-DPG (Mol/Mol Hb.)		P ₅₀ (mmHg)	
	n	Mean±S.D.	n	Mean±S.D.
10	36	0.838±0.174	42	28.4±10.5
9	38	0.834±0.188	49	27.0±8.7
8	8	0.791±0.100	8	21.4±4.3
7	4	0.903±0.169	6	29.5±3.6
≤6	11	0.716±0.210	14	23.9±5.9

2,3-DPG 濃度は 0.90±0.17Mol/Mol Hb, P₅₀ が 29.5±3.6mmHg で最も高い値がみられた。

V. 臍帯動脈血における 2,3-DPG 濃度, P₅₀ と他の parameter との相関

Apgar 指数, [H⁺], pO₂, pCO₂, 母児間の pCO₂ 勾配差, Buffer Base, グリセロール濃度, 乳酸濃度と 2,3-DPG および P₅₀ の相関係数の correlation matrix を示したのが表5である。n が 100 であるので 1%以下の危険率での相関を示す相関係数は 0.208, 5%以下の危険率でのそれは 0.159 以上である。従つて 2,3-DPG 濃度と pO₂, 母児間の pCO₂ 差, Buffer Base, グリセロールとの間に有意の相関 (P<0.01) があり乳酸との間にも有意の相関 (P<0.05) がみられた。しかしながら P₅₀ と他の parameter との間には有意の相関は認められなかつた。また Colorado morbidity score と $\gamma=0.362$, Schifrin-Dame index とは $\gamma=$

表5 Correlation Matrix of Umbilical Arterial Blood Biochemical Parameters. (n=100, $\alpha=1\%$ correlation limit: 0.208, $\alpha=5\%$ correlation limit: 0.159). ΔpCO_2 f-m means the difference of pCO₂ values between fetal umbilical blood and maternal peripheral venous blood

	P ₅₀	Apgar	[H ⁺]	pO ₂	pCO ₂	ΔpCO_2 _{f-m}	B.B.	Glycerol	Lactate
2,3-DPG	0.121	-0.107	0.154	-0.298	0.114	0.301	-0.298	-0.344	-0.159
P ₅₀		0.082	0.046	0.105	0.102	0.152	0.083	0.018	0.051
Apgar Score			-0.547	0.059	-0.209	-0.380	0.332	-0.250	-0.167
[H ⁺]				-0.236	0.448	0.676	-0.552	0.224	0.338
pO ₂					-0.314	-0.243	0.092	-0.025	-0.155
pCO ₂						0.722	0.221	-0.074	-0.025
ΔpCO_2 f-m							-0.113	0.020	0.190
Buffer Base								-0.170	-0.355
Glycerol									0.141

表6 Incubation Effects of Maternal and Fetal Blood Cells on F-1,6-DP, 2,3-DPG, Pyruvate, Lactate, and ATP in a Medium containing 50 mM Pi and 10 mM Glucose at pH 8.0. (n=12)

		F-1,6-DP ($\mu\text{M/L}$ R.B.C.)	2,3-DPG ($\mu\text{M/L}$ R.B.C.)	Pyruvate ($\mu\text{M/L}$ R.B.C.)	Lactate ($\mu\text{M/L}$ R.B.C.)	ATP ($\mu\text{M/L}$ R.B.C.)
		Mean \pm S.D.	Mean \pm S.D.	Mean \pm S.D.	Mean \pm S.D.	Mean \pm S.D.
Maternal Blood	Before	195.9 \pm 51.0	3362 \pm 927	43.36 \pm 17.58	996.9 \pm 749.5	790.5 \pm 133.1
	After	711.0 \pm 236.5	3512 \pm 996	10.26 \pm 6.45	605.2 \pm 189.1	987.2 \pm 174.0
	Δ	515.1 \pm 504.4	145 \pm 163	-33.11 \pm 14.36	-391.7 \pm 725.4	196.7 \pm 193.7
Fetal Blood	Before	214.7 \pm 64.0	3169 \pm 861	49.28 \pm 22.60	708.4 \pm 285.2	857.5 \pm 150.9
	After	799.6 \pm 450.4	3464 \pm 688	10.14 \pm 4.55	602.5 \pm 127.6	1149.4 \pm 273.1
	Δ	544.7 \pm 552.7	278 \pm 274	-39.30 \pm 22.39	-105.8 \pm 240.5	291.8 \pm 288.5

表7 Substrate and Acid-base Balance Changes before and after Exchange Transfusions in 6 Newborn Infants with two-days-old ACD-stored Blood. (Central Venous Blood)

Parameters		Pre-Transfusion	Post-Transfusion	ACD-Stored Blood
		Mean \pm S.D.	Mean \pm S.D.	Mean \pm S.D.
2,3-DPG	(mM/L)	2.01 \pm 0.51	0.96 \pm 0.33	0.61 \pm 0.20
2,3-DPG	($\mu\text{M}/1\text{g Hb}$)	15.87 \pm 5.30	7.31 \pm 2.26	5.40 \pm 2.25
Pyruvate	($\mu\text{M}/\text{L}$)	128.1 \pm 44.1	153.0 \pm 40.0	236.3 \pm 92.0
Lactate	(mM/L)	2.00 \pm 0.40	2.67 \pm 0.81	3.92 \pm 1.52
Pi	(mM/L)	2.01 \pm 0.51	2.18 \pm 0.49	1.56 \pm 0.39
Glycerol	($\mu\text{M}/\text{L}$)	305.8 \pm 84.4	224.0 \pm 78.0	99.4 \pm 45.4
FFA	($\mu\text{Eq}/\text{L}$)	768.2 \pm 475.3	416.2 \pm 215.7	248.6 \pm 146.2
Glucose	(mg/dl)	88.2 \pm 30.7	127.8 \pm 51.2	358.5 \pm 42.5
Acetoacetate	($\mu\text{M}/\text{L}$)	76.7 \pm 19.2	70.1 \pm 7.3	48.2 \pm 8.5
β -OH butyrate	($\mu\text{M}/\text{L}$)	36.8 \pm 16.9	33.2 \pm 9.6	27.4 \pm 11.7
ATP	($\mu\text{M}/\text{L}$)	767.2 \pm 237.0	651.0 \pm 186.3	514.5 \pm 143.0
pO ₂	(mmHg)	49.3 \pm 17.8	41.1 \pm 12.9	45.5 \pm 13.9
pCO ₂	(mmHg)	42.8 \pm 14.4	51.5 \pm 11.1	156.4 \pm 46.2
[H ⁺]	(nM/L)	48.4 \pm 5.0	56.5 \pm 12.3	231.0 \pm 42.2
Base Deficit	(mEq/L)	5.5 \pm 2.9	6.3 \pm 3.3	(uncalculable)

-0.315, bradycardia résiduelle とは $\gamma=0.281$, lag time とは $\gamma=0.260$ と 1%以下の危険率で相関し, 分娩第Ⅱ期時間とは $\gamma=-0.171$, Komáromy index とは $\gamma=0.163$ と 5%以下の危険率で相関した。

VI. 母児赤血球の incubation 実験

母児各々から採血し採血2時間以内の赤血球を洗滌して pH 8.0, 50mM 無機燐, 10mM ブドウ糖の中で 37°C, 60分間 incubate した前後の F-1,6-DP, 2,3-DPG, ピルビン酸, 乳酸, ATP の変化を示したものが表6である。すなわち F-1,6-DP は母赤血球において, 196から 711 $\mu\text{M}/\text{L}$ に増加, 胎児赤血球でも 215から 800 $\mu\text{M}/\text{L}$ へほぼ同様の増加がみられた。これに対し 2,3-DPG

は母赤血球において 3.36から 3.51mM/l, 胎児赤血球でも 3.17から 3.46mM/l とわずかに増加したのに過ぎなかつた。一方ピルビン酸は母赤血球で 43.4から 10.3 $\mu\text{M}/\text{L}$ へ減少, 児赤血球でも同様に 49.3から 10.1 $\mu\text{M}/\text{L}$ に減少した。また乳酸は母赤血球で 997から 605 $\mu\text{M}/\text{L}$ へ, 児赤血球で 708から 603 $\mu\text{M}/\text{L}$ へ減少し, ATP は母赤血球で 791から 987 $\mu\text{M}/\text{L}$ へ児赤血球で 858から 1149 $\mu\text{M}/\text{L}$ へ増加した。すなわち母赤血球のいずれにおいても高濃度の無機燐とブドウ糖との incubation により F-1,6-DP と ATP が著明に増加し, 乳酸とピルビン酸が著明に減少したにもかかわらず, 2,3-DPG はわずかに増加したにとどまつた。これらの変化は母児において有意差はなく全く同一の

パターンを示した。

VII. 新生児交換輸血における変化

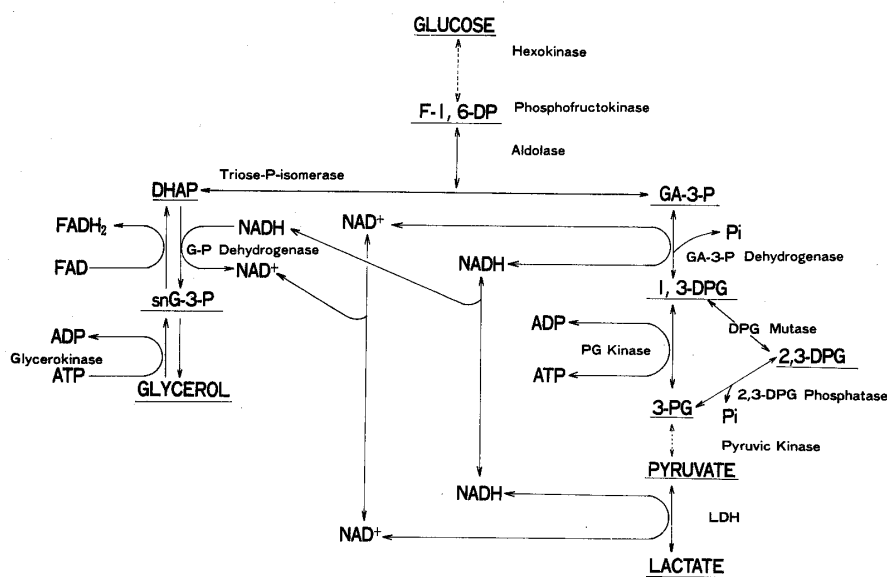
表7は主として新生児高ビリルビン血症に対する交換輸血療法の前, 中, 後の諸基質値とこれと交換輸血に用いた ACD 血 (通常採血後2日) の諸基質値を比較したものである. すなわち 2,3-DPG は交換輸血前中心静脈血に $2.01 \pm 0.51 \text{ mM/l}$ (または $15.87 \pm 5.30 \mu\text{M/lg Hb}$) 存在したが, 2,3-DPG を $0.61 \pm 0.20 \text{ mM/l}$ (または $5.40 \pm 2.25 \mu\text{M/lg Hb}$) しか保有しない ACD 血で交換輸血をすると, 交換輸血後 2,3-DPG は $0.96 \pm 0.33 \text{ mM/l}$ (または $7.31 \pm 2.26 \mu\text{M/lg Hb}$) と著明に ($P < 0.01$) 減少した. これに対しピルビン酸, 乳酸, 無機磷, ブドウ糖などは増加し, グリセロール, FFA, アセト酢酸, β -水酸化酪酸, ATP などは減少した. この交換輸血後の新生児中心静脈血の血液ガス値の変化は $p\text{O}_2$ が 49.3 から 41.1 mmHg に減少し, $p\text{CO}_2$ が 42.8 から 51.5 mmHg に増加し, $[\text{H}^+]$ が 48.4 nM/l ($\text{pH } 7.32$) から 56.5 nM/l ($\text{pH } 7.25$) に著明に減少し, Base Deficit が 5.5 から 6.3 mEq/l に増加した. またこの交換輸血に用いた血液は $p\text{O}_2$ 45.5 mmHg , $p\text{CO}_2$ 156.4 mmHg , $[\text{H}^+]$ 231 nM/l ($\text{pH } 6.64$) の代謝性兼呼吸性アシドーシスの状態にあることも見出した.

考案

まず 2,3-DPG の測定については Teunissen et al.²⁷⁾ (1974) が述べているように colorimetric method, enzymatic rate-dependent method, enzymatic end-point method があり, いずれもその正確度は同様に互いの相関度は 0.99 以上とされる. 私達の用いた Keitt 法はこのうち end-point assay で簡便かつ正確に 2,3-DPG 濃度が測定出来た. P_{50} については (1) 既知の $p\text{O}_2$ と Hb を平衡させ酸素飽和度を測定して酸素解離曲線を作る, (2) Hb の種々な酸素飽和度における $p\text{O}_2$ を測定して解離曲線を作つて P_{50} を求める, (3) 完全に還元した血液を 100% O_2 と接触させ, 血液の $p\text{O}_2$ と気相の酸素量から XY レコーダーにより酸素解離曲線を描かせるという3方法があるが (山村⁶⁾, 1972), 本研究では (2) によつて Dill¹⁴⁾ および Hill¹⁵⁾ の式を用い, Hilpert¹⁶⁾ の胎児血恒数 0.50 を用いる方法を利用した.

正常成人の赤血球の 2,3-DPG は $4 \sim 5 \text{ mM/l}$ と高濃度で赤血球中有機酸の 75% にあたり, ATP は 1.5 mM/l にすぎず, これらが増加すると P_{50} は 2,3-DPG 1 mM あたり 3 mmHg 増加して酸素解離曲線は右方へ移動する. 2,3-DPG の生成は図1の如く GA-3-P から dehydrogenase と NAD

図1 Pathways of Glycolysis



の存在のもとに 1,3-DPG となり, DPG mutase により 2,3-DPG が生成されるが, 1,3-DPG のうちその88~90%は ADP の作用で 3-PG となり, 2,3-DPG になるものは10~12%にすぎない. DPG mutase の酵素活性は pH 上昇, 1,3-DPG, 3-PG の濃度上昇により促進され, 2,3-DPG の濃度上昇により抑制される. 低酸素環境において, (1) 還元 Hb が増加して遊離 2,3-DPG が減少する. (2) 急性無酸素症に対する代償性の呼吸性アルカローシスがおこつて赤血球内 pH が上昇する. (3) 慢性無酸素症では Hb が還元すると陰性荷電が減少して Donnan 平衡を通じて赤血球 pH がアルカリ側へ移動するため 2,3-DPG が増加するとされる (Gerlach, et al.¹⁴⁾), (4) さらに赤血球内 pH 上昇により phosphofructokinase 活性が増加して赤血球解糖能が亢進して 2,3-DPG が増加するとも考えられる.

しかしながら無酸素症においては代謝性アシドーシスによる pH 低下により $\Delta \log P_{50}/\Delta pH$ で示される Bohr 効果により酸素解離曲線が右方へ移動して P_{50} を正常に保つているとされ, これを重炭酸で急速に是正すると, 2,3-DPG が増加して Bohr 効果を代償するのに時間がかかるため重篤な組織無酸素症を招来する危険があるとされる (Bellingham, et al.⁷⁾). しかしながら Rand, et al.²⁴⁾ は血中 2,3-DPG 濃度の異なる動物を無酸素症にしても polarography で測定した脳, 腎, 筋肉の組織 pO_2 の変化はほぼ同様で 2,3-DPG の組織 pO_2 に及ぼす影響は小さいものであろうと推測した.

このように成人においては 2,3-DPG について多くの知見が得られているが, 妊婦, 胎児, 新生児については未知のことが多い. 荒木他¹⁾ は正常婦人と胎児の 2,3-DPG 濃度の差がないと報告し, 一方 Enoki, et al.¹⁸⁾ や芦生他³⁾ は母体血より胎児血に低い 2,3-DPG 濃度を見出した. 本研究でも胎児血に母体血に比し低い 2,3-DPG 濃度を見出し, 胎盤呼吸において母より児へ酸素を運搬するのに有利であろうと考えられた. また胎児血は HbF が 2,3-DPG に対し親和性が低く還

元 Hb の β -鎖に結合し難いとされ, Oski²²⁾ はこのため赤血球 1 mlあたりの 2,3-DPG 量 ($\mu M/ml$) に成人 Hb の%を掛けたものを functional DPG fraction と呼び, これと P_{50} が高い相関を有するとし, また Orzalesi, et al.²¹⁾ は $DPG \times [HbA (\%) + 0.4 \times HbF (\%)]$ (nM/ml RBC) を effective DPG としこれが P_{50} と 0.931と高い相関を示すことを見出した.

つぎに私たちが見出した pH が 7.20あたりで 2,3-DPG 濃度が増加する現象については, 胎児無酸素症の initial response として解糖能亢進のため (金岡²⁾) と考えられ, このため subclinical acidemia and/or lactemia 群で最も 2,3-DPG 濃度が高くなるが, 仮死群では代謝性アシドーシスのため 2,3-DPG がかえつて減少し, 胎児無酸素症においては成人の如く呼吸性アルカローシスによる代償がみられず, むしろ pCO_2 は増加するため 2,3-DPG 濃度が減少するものと考えられ, 2,3-DPG 効果よりも Bohr 効果が組織呼吸に大きな役割を果していると考えられ, P_{50} は 2,3-DPG に比しその変化が少なく安定していると考えられた. 胎児血の 2,3-DPG 濃度とグリセロール濃度の逆相関については今後その原因を究明する必要があるものと思われた.

本研究においてまた高 Pi および高ブドウ糖環境において pH 8.0で incubate した結果, 解糖能全体の亢進がみられたにもかかわらず 2,3-DPG の増加は著明でなく, 母児ともに 2,3-DPG 濃度上昇に自律機構があり, ある程度以上の上昇がないことを見出した. この問題について Ravazzolo, et al.²³⁾ は成人血よりも胎児血に 2,3-DPG 濃度上昇が著明であつたと述べているが, 成人血は採血 2 時間以内で用いられたが, 臍帯血は採血 24 時間以内で用いられたためと考えられた. 交換輸血の 2,3-DPG 減少については遠山他⁵⁾ が 4°C 保存の ACD 血では採血 3~4 日で $10 \mu M/1g$ Hb 以下となり, 1 週で測定不能となり, 室温では 6 時間で $5 \mu M/1g$ Hb 以下となることを見出し, これに対し ATP はよく保存されると述べた. しかしながら交換輸血においてこのように代謝性アシド

ーシスによる低 2,3-DPG 濃度の血液を用いても新生児に重篤な組織呼吸の障害はみられず, Bohr 効果によつて代償されている可能性が示唆された。

本研究は第28回日産婦学術講演会, および第12回日本新生児学会においてその要旨を発表した。稿を終るにあたり御指導, 御校閲を頂いた白川光一教授, 金岡毅助教授に深謝し, 測定の援助を頂いた尾園裕子氏, 高杉満美子氏, 福岡大学電子計算センター淵脇昭文氏に深謝します。

文 献

1. 荒木 勤, 河村 堯, 川崎尚和: 正常新生児早期の赤血球内 2,3-DPG と酸塩基平衡. 日産婦誌, 25: 1321, 1973.
2. 金岡 毅: 胎児の呼吸循環機能よりみた胎児の安全限界の判定. 日産婦誌, 28: 933, 1976.
3. 芹生順一, 浅田昌宏, 竹村 晃, 倉智敬一: 胎児赤血球の酸素親和性に対する pH と DPG 効果. 新生児誌, 12: 53, 1976.
4. 鈴木 博: 赤血球内 2,3-Diphosphoglycerate の働き. 医学のあゆみ, 81: 385, 1972.
5. 遠山 博, 関口 彌: 保存血と 2,3-DPG について. 麻酔と reanimation, 6: 45, 1975.
6. 山村秀夫: ヘモグロビンの kinetics (I), 2,3-DPG, 呼吸と循環, 20: 167, 1972.
7. Bellingham, A.J., Dettler, J.C. and Lenfant, C.: The role of hemoglobin for oxygen affinity and red cell 2,3-DPG in the management of diabetic ketoacidosis, Trans. Assoc. Amer. Physicians, 83: 113, 1970.
8. Bergmeyer, H.U., ed.: Methods of enzymatic analysis, 2nd English ed., Vol. 1—4, Academic Press, New York, 1974.
9. Beutler, E.: 2,3-DPG affects enzymes of glucose in red blood cells, Nature New Biology, 232: 20, 1971.
10. DeVerdier, C.H. and Garby, L.: Low binding of 2,3-DPG to hemoglobin F. A contribution to the knowledge of the binding site and an explanation for the high oxygen affinity of foetal blood, Scand. J. Clin. Lab. Invest., 23: 149, 1969.
11. Dill, D.B., Graybiel, A., Hurtado, A. and Taquini, A.C.: Der Gasaustausch in den Lungen im Alter, Z. Alterforsch., 2: 20, 1940.
12. Edwards, M.J., Canon, B., Albertson, J. and Bigley, R.H.: Mean Red cell age as a determinant of blood oxygen affinity, Nature (London), 230: 583, 1971.
13. Enoki, Y., Yasumitsu, Y., Tomita, S., Maeda, N. and Okada, T.: Oxygenation properties and 2,3-DPG of human adult and fetal blood, Japanese J. Physiol., 22: 557, 1972.
14. Gerlach, E. and Duhamel, J.: 2,3-DPG metabolism of red cells: regulation and adaptive changes during hypoxia. In Oxygen affinity of hemoglobin and red cell acid base status, Roth, M. and Astrup, P., ed., p. 552, Academic Press, New York, 1972.
15. Hill, A.V.: The possible effects of the molecules of haemoglobin on its dissociation curve, J. Physiol. (London), 40: 4, 1910.
16. Hilbert, P., Fleishman, R., Kempe, D. and Bartels, H.: The Bohr effect related to blood and erythrocyte pH, J. Physiol. (London), 205: 337, 1963.
17. Keitt, A.S.: Reduced nicotinamide adenine dinucleotide-linked analysis of 2,3-DPG: Spectrophotometric and fluorometric procedures, J. Lab. Clin. Med., 77: 470, 1971.
18. Krause, W., Thieme, G. and Volkmer, H.: Untersuchungen zur rechenautomatischen Auswertung gasanalytisch und elektronisch gewonnener Parameter sub partu, Z. Geburtsh., Perinat., 177: 129, 1973.
19. Lubchenco, L.: cited by Klaus, M.H. and Fanaroff, A.A.: Care of the high-risk neonate, p. 312, W.B. Saunders, Philadelphia, 1973.
20. Myers, C.G., Krapohl, A.J., Peterson, R.D. and Caldeyro-Barcia, R.: New Method for measuring lag time between human uterine contraction and the effect on fetal heart rate, Amer. J. Obstet. Gynec., 112: 39, 1972.
21. Orzalesi, M.M. and Hay, W.W.: The relative effect of 2,3-DPG on the oxygen affinity of fetal and adult hemoglobin in whole blood, Experimentia, 28: 1480, 1972.
22. Oski, F.A.: The unique fetal red cell and its function, Pediatrics, 51: 494, 1973.
23. Ravazzolo, R.: Effect of inorganic phosphate on 2,3-DPG levels of fetal and adult red cells, Biol. Neonat., 25: 263, 1974.
24. Rand, D.W., Norton, J.M., Barker, N.D., Lovell, M.D. and Austin, W.H.: Responses to graded hypoxia at high and low 2,3-DPG concentrations, J. Appl. Physiol., 34: 827, 1973.
25. Schifrin-L.S. and Dame, L.: Fetal heart rate patterns, J. Amer. Med. Ass., 219: 1322, 1972.
26. Sureau, C., Chavinie, J., Michelon, B., Feldman, M., Cannon, M. and LeHouzec, R.: Le problème du rythme cardiaque foetal. Difficultés d'interprétation. Solutions techniques, Gynec. Obstet. (Paris), 69: 259, 1970.

27. *Teunissen, A.J., DeLeeuw, R.J.M., Bonik, A.B.T.J., Hamelink, M.C. and Maas, A.H.J.:* Comparison of five methods for determination of 2,3-DPG in blood, *Clin. Chem.*, 20: 649, 1974.
28. *Valeri, C.R., Zaroulis, C.G. and Rortier, N.J.:*

Peripheral red cells as a functional biopsy to determine tissue oxygen tension, *In Oxygen affinity of hemoglobin and red cell acid base status*, Roth, M. and Astrup, P. ed., p. 650, Academic Press, New York, 1972.

(特別掲載 No. 4125 昭52・2・15受付)
