

新生児溶血性黄疸発症に関する研究

— Coil Planet Centrifuge System による新生児の 赤血球膜滲透圧抵抗の経日的推移について —

Studies on Neonatal Jaundice
—Measurement of Osmotic Fragility of the Neonatal Red
Cells by Means of Coil Planet Centrifuge System—

大阪市立大学医学部産科婦人科学教室

荻田 幸雄 Sachio OGITA 島本 雅典 Tadafumi SHIMAMOTO
大西 賢哲 Masanori OHNISHI 亀井 輝二 Teruji KAMEI
石河 修 Osamu ISHIKO 松本 雅彦 Masahiko MATSUMOTO
須川 侑 Tadashi SUGAWA

概要 新生児黄疸の発症は、肝解毒処理機構の未熟性に求められるが、肝解毒処理機能を上廻る過剰の赤血球崩壊に基づく **Bilirubin** の生成過剰も重要な因子として考慮されねばならない。

そこで著者らは、**Coil Planet Centrifuge System** を用いて臍帯血及び新生児の赤血球膜滲透圧抵抗の経日的推移を検討し、赤血球膜の物理的脆弱性と易溶血性との関連の追求を試みた。

その結果、①成人血の最小抵抗値及び最大抵抗値は、それぞれ $110.7 \pm 4.1 \text{mOsM}$, $68.4 \pm 4.0 \text{mOsM}$ を示し、正規分布型 **pattern** をとるが、②臍帯血の溶血域は $125.3 \pm 10.5 \text{mOsM}$, $57.4 \pm 3.2 \text{mOsM}$ と広く、成人血に比し滲透圧抵抗の弱い血球及び強い血球が多量に存在することを明らかにし得た。また、③“弱い血球”は生後7日以内に、④“強い血球”は生後1カ月で血中より消失し成人型 **pattern** に近づくことが判明した。

そして、このCPC法による滲透圧抵抗の弱い血球の新生児血中よりの急速な消失が生体内での溶血の結果である可能性を示唆した。

緒 言

新生児溶血性黄疸の発症要因は、その一つを肝解毒処理機構の未熟性、殊に **bilirubin** 代謝に関連深い肝 **UDP-Glucuronyltransferase** 活性の低値 (**Gartner & Arias 1963**) に求められるが、肝解毒処理機能を上廻る赤血球崩壊に基づく **bilirubin** 生成過剰も重要な因子として考慮されねばならない。

従来、新生児黄疸発症の予測に関しては、血液型不適合妊婦の血中抗体価 (支倉1972) あるいは羊水中 **bilirubin** 様物質の消長 (**Liley 1961**, 1963) に求められているが、これらは方法論的に

必ずしも赤血球自体の易溶血性を反映するものではない。

そこで著者らは、**Ito et al. (1969)** により開発された **Coil planet centrifuge system** (以下 **cpc** 法と略す) を用いて、臍帯血及び新生児血の赤血球膜抵抗の **pattern** 及びその経日的推移を検討し、物理的脆弱性と易溶血性との関連を検討すると共に新生児黄疸発症の原因論的解析を試みた。

実験材料並びに方法

1) 試料：用いた血液は、① 正常成人血、② 臍帯血、③ 新生児血であり、採血は原則として静脈側よりヘパリン処理、ディスプレイ注射器にて行

い、採血後可及的速やかに、あるいは4°Cに保存し12時間以内に測定した。

2) CPC法

cpc法は写真1に示す如き内径0.7mm、全長340cmのポリエチレンチューブのCoil内にグラディエーター(三鬼エンジニアリング製, Model, GRD-V)を用いて、図1に示す如くNaClによる200~30mOsMのLinear gradient solutionを封入し、この200mOsM側にヘパリン処理血20 μ lを入れ加熱封印する。

写真1 上:Coil 中:試料血封入後 下:遠心操作後

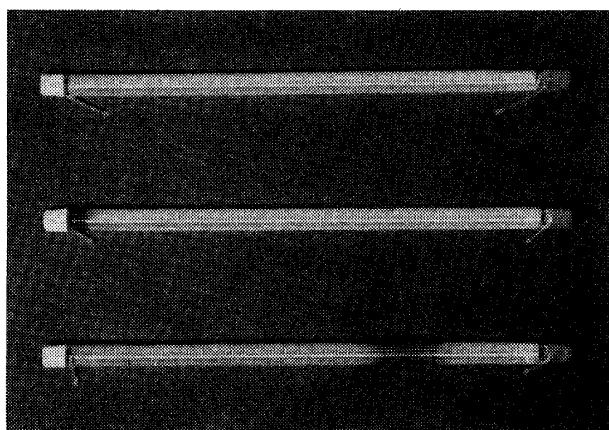
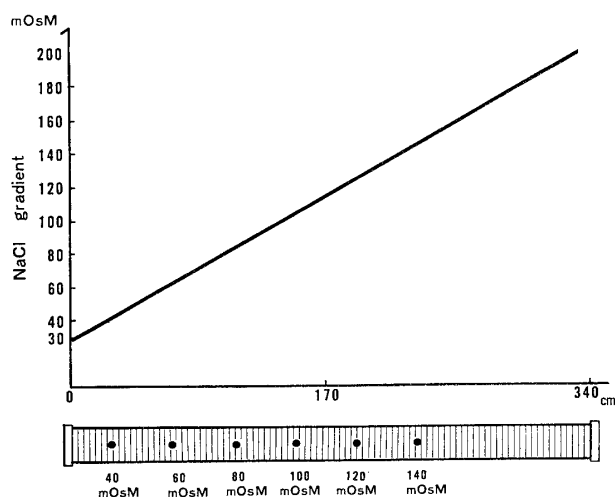


図1 Coil内の浸透圧濃度勾配



そしてcpc型遠心器(三鬼エンジニアリング製, Model, ST)で300×g, 1500rpm, 37±1°Cで15分間遠心し、生じた遠心力で赤血球を低張側に移動させ溶血せしめる。即ちCoil内を等

速で移動する赤血球は漸次低張NaCl溶液に接し、その脆弱性に応じて浸透圧抵抗値を越えた点で溶血を起こすものであるが、溶血後は遠心力によつて移動することはない。

遠心後Coilはスキャンニングスペクトロフォトメータ(三鬼エンジニアリング製, Model, SSP)で溶血patternを記録し、比例式により浸透圧最大抵抗値及び最小抵抗値を算出した。

3) Parpart法(Parpart et al, 1947)による浸透圧抵抗の測定。

pH 7.4, 10%緩衝液加食塩水を用いて、各溶液の浸透圧濃度を測定し、それぞれの溶液10mlに試料の血液0.5mlを加え室温にて5分間放置後、2000rpmにて5分間遠沈し、上清のヘモグロビン量から最小抵抗値及び最大抵抗値を求めた。

また、残存血球について再度cpc法による溶血patternを測定した。

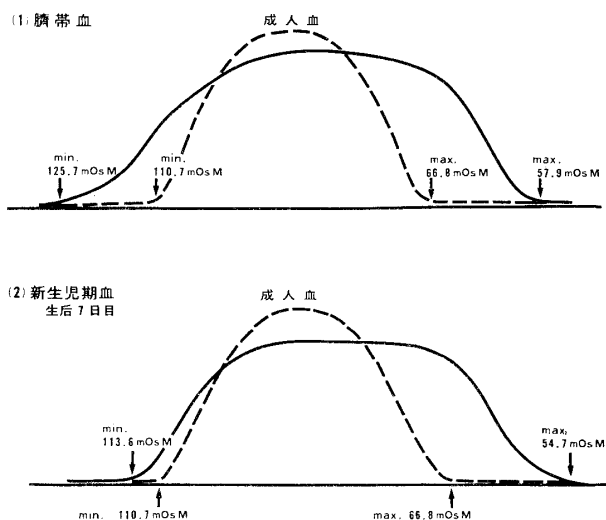
実験結果及び考察

1) 正常成人血の溶血 pattern

健康成人血50例のcpc法による溶血patternは、最小抵抗値110.7±4.1mOsM, 最大抵抗値68.4±4.0mOsM, であり、図2に示す如く殆ど対称的、且つ急峻な正規分布型を示した。この最小抵抗値(溶血開始値)及び最大抵抗値(溶血終了値)は性別及び年齢差に有意差を認めなかつた。

2) 臍帯血の溶血 pattern

図2 CPC法による出生後の溶血 pattern の変動



分娩時に採取した臍帯血 105例の最小抵抗値及び最大抵抗値はそれぞれ $125.3 \pm 16.2 \text{ mOsM}$, $57.4 \pm 3.2 \text{ mOsM}$ であり, 図2に示す如く溶血 pattern は成人のそれに比し扁平であり, 溶血の peak は低張側に偏位することが明らかとなった.

即ち, 臍帯血溶血域は成人血のそれに比べて有意に広い, 換言すれば臍帯血中には成人血に比して滲透圧抵抗の弱い赤血球及び, より強い赤血球が比較的多く, 存在することが判明した. また臍帯血溶血 pattern において, 特徴的なことはその最小抵抗値のばらつきが多く, 且つ 110 mOsM 以下をとるものは殆ど認められなかつたことである.

3) 新生児赤血球滲透圧抵抗の経日的推移

臍帯血で測定した60例について出生後の赤血球滲透圧抵抗を経日的に測定した結果, 図2に示す如く生後7日目の溶血 pattern は最小抵抗値において正常成人域に近づく一方, 表1で示す如く最大抵抗値の成人域への接近は遅く, 約1カ月を要することが判明した.

表1 新生児期に於ける赤血球抵抗値

	最小抵抗値 (mOsM)	最大抵抗値 (mOsM)
臍帯血 (n=105)	125.3 ± 10.5	57.4 ± 3.2
生後7日目 (n=60)	113.6 ± 5.2	54.7 ± 3.5
生後14日目 (n=20)	111.1 ± 4.0	58.3 ± 2.6
生後21日目 (n=9)	110.9 ± 4.0	61.9 ± 3.0
成人血	110.7 ± 4.1	68.4 ± 4.0

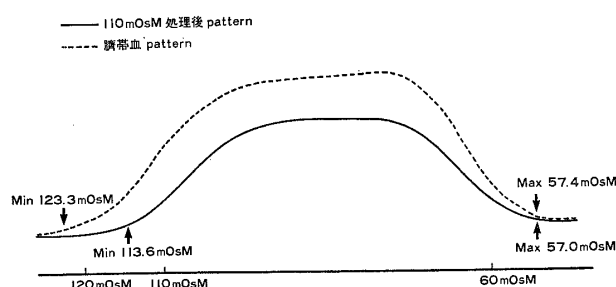
今, 滲透圧抵抗の“弱い赤血球”を成人の最小抵抗値 110 mOsM から考えて 110 mOsM 以上とすると, 新生児血中の“弱い赤血球”は生後7日以内に消失し, この減少は殆どの症例において生後3~4日目迄にみられ, 以後漸減する傾向が認められた.

4) C P C法及び Parpart 法との比較

同一臍帯血を用いて cpc 法及び従来の試験管法 (Parpart 法) で滲透圧抵抗値の比較検討を行った. その結果, cpc 法による最小抵抗値 113.3 mOsM , 最大抵抗値 67.4 mOsM の検体は Parpart

法では, 最小抵抗値 152 mOsM , 最大抵抗値 68 mOsM を示した. 即ち, Parpart 法による溶血開始値は, cpc 法に比し, 約 40 mOsM 程高張側で始まるが, 溶血終了値は殆ど差異は認められなかつた.

図3 Parpart 法による溶血後残存血球の C.P.C. pattern



また, 110 mOsM で部分的に溶血させた後, 残存血球について cpc 法にて溶血 pattern を分析すると, 図3に示す如く Parpart 法では cpc 法の全ての溶血域で溶血を起していることが明らかとなった. 換言すれば, cpc 法による“弱い赤血球”は Parpart 法による滲透圧抵抗の弱い血球とは異質のものであると判断された.

考 察

C P C法は Parpart 法と異なり, 後者が低張液中で瞬間的な水分流入 (Osmo shock) によつて溶血するのに反して, 前者は水分流入が定速且つ緩徐で, 膜異常による溶血をより忠実に解析しうるものである.

一般に, 生体における溶血は形態的あるいは機能的に障害された赤血球が, 脾, 肝を代表とする細網内皮系に trapping されることにより起るが, 形態あるいは機能の異常が膜抵抗性の異常として反映する可能性が推測される. そうすると新生児の易溶血性を膜抵抗性を指標として把握出来れば, 新生児黄疸の予測に関して有力な根拠を提供することになる.

この観点から, 著者らは cpc 法を用い臍帯血及び新生児血の膜抵抗の推移を追求したが, 個体差が著しいが臍帯血中には成人に比し, 滲透圧抵抗 110 mOsM 以上を有する弱い血球が比較的多量

に存在し、しかもこれらの脆弱血球が生後数日以内に急速に消失し、約一週間で成人の溶血域に移行する現象を認め、それはこれらの血球が生体内で溶血する結果である可能性を強く示唆するものである。

一方、臍帯血の **cpc** 法により認められた滲透圧抵抗のより強い血球の存在は **Parpart** 法による検討からも臍帯ならびに新生児血液に新生赤血球が多量に存在することを意味するものである。

今後、著者らは肝酵素の適応酵素的性格から肝未熟性による黄疸発症 (**Gartner** 1963, 島本ら1975) も含めて、新生児溶血性黄疸を代謝性の適応不全ならびに赤血球の未熟性に求め、ことに **cpc** 法による滲透圧抵抗の推移と黄疸発症との関連を追求したいと考える。

尚本論文の要旨は第51回近畿産科婦人科学会学術集

会 (1974, 京都) 及び第27回日本産科婦人科学会学術講演会 (1975, 京都) にて発表した。

文 献

- 島本雅典, 荻田幸雄, 大西賢哲, 野間英晴, 石河修, 須川 信 (1975): 産婦進歩, 27, 95.
 友倉逸人 (1972): 産婦人科の世界, 24, 120.
Gartner, L.M. and Arias, I.M. (1963): *Am. J. Physiol.*, 205, 663.
Ito, Y., Aoki, I., Kimura, E., Nunogaki, K. and Nunogaki, Y. (1969): *Analytical Chemistry*, 41, 1579.
Lily, A.W. (1961): *Am. J. Obst. Gynec.*, 82, 1359.
Lily, A.W. (1963): *Am. J. Obst. Gynec.*, 86, 485.
Parpart, A.K., Lorenz, P.B., Parpart, E.R., Gregg, J.R. and Chase, A.M. (1947): *J. Clin. Invest.*, 26, 636.

(No. 2931 昭50・6・9 受付)