

光環境がビリルビン測定に与える影響の検討

研究代表者 日下 隆 香川大学医学部小児科学講座

研究要旨

令和3年度の研究において、我々は日常検査において測定されるビリルビン分画の代表である直接ビリルビン値について、バナジン酸酸化法による測定では、採血直後の血液中に10-20%の割合で存在するビリルビン光立体異性体の影響の詳細を明らかにした。これにより、採血直後の検体を厳密に遮光管理しバナジン酸酸化法により測定した直接ビリルビン値から、ビリルビン光異性体の影響を除くことができるようになった。しかし、ビリルビン光異性体には、採血時点で血中に一定量存在するビリルビン光立体異性体の他に、採血後に光環境下において検体中に蓄積するビリルビン光構造異性体が存在する。このビリルビン光構造異性体が、通常光環境下においてどの程度検体中に蓄積し、測定される直接ビリルビン値に影響するかは未解明であった。本年度はこの詳細を検討した。

その結果、TB10mg/dL程度の検体においては、白色LED通常光環境下において、ビリルビン光構造異性体が1時間に1.3mg/dL増加することが明らかとなった。また、バナジン酸酸化法において、ビリルビン光構造異性体濃度 $\times 0.34$ が直接ビリルビンとして測定されることが明らかとなった。白色LED通常光環境下において、TBが約10mg/dL新生児血清ではバナジン酸酸化法による直接ビリルビン値が1時間で0.4mg/dL増加すると算出され、採血後に検体の遮光を行う事の重要性が示された。

A. 研究目的

日本において約半数の検査施設において使用されているビリルビン分画測定法であるバナジン酸酸化法による直接ビリルビン値は、抱合型ビリルビン値に近似するとして臨床的に解釈されている。しかし、直接ビリルビン値はビリルビン光異性体の影響により真の抱合型ビリルビン値と乖離して高値となっていることが明らかとなってきた。昨年度報告した様に、我々は、ビリルビン光異性体の内、ビリルビン光立体異性体の影響を明らかにした。これにより、総ビリルビン濃度が20mg/dLの新生児では、ビリルビン光立体異性体の影響により、バナジン酸酸化法における直接ビリルビン値は0.4-0.8mg/dL程度抱合型ビリルビン濃度と乖離して高くなっていることを示すことができた。しかしながら、ビリルビン光異性体の内、しかりビリルビン光構造異性体の影響についてはまだ明らかとすることができていなかった。

ビリルビン光構造異性体は生体内では速やかに排泄され、ごく少量しか血中に存在しないが、採血後の検体中においては、光照射により生成蓄積する。近年、環境光として、LED照明が利用されることが多くなっているが、白色LEDのスペクトルは、蛍光灯と比較しビリルビ

ンの吸光帯である450-500nmに高いピークを有しており、白色LEDを環境光源として用いる施設では、採血後にその環境下に検体が置かれることで、ビリルビンの光異性化反応が生じやすくなっていると推定される。本年度我々は白色LED光環境下におけるビリルビン光構造異性体の検体中における生成蓄積反応を計測すると共に、バナジン酸酸化法による直接ビリルビン値へのビリルビン光構造異性体の影響を定量的に検討した。

B. 研究方法

香川大学医学部附属病院で出生した新生児の残余血を用いて以下の2つの検討を行った。

[検討1. 白色LEDライト照射によるビリルビン光構造異性体生成速度の測定] 5例の新生児血清に当院検査部採血保管机上と同じ放射照度となるよう配置した白色LEDライトで規定時間照射した。照射時間(分)とビリルビン光構造異性体変化量を用いて線形直線回帰分析を行い、その回帰係数を求めた。

[検討2. ビルルビン光構造異性体が直接ビリルビン値へ与える影響の定量的検討] 15例の新生児血清を各々2つの試験管に分注し緑色LEDライトで、10と30秒間光照射を行い、総ビリル

ビン値、直接ビリルビン値、ビリルビン光立体異性体濃度、ビリルビン光構造異性体濃度を測定し、それぞれの変化量を求めた。直接ビリルビン値からビリルビン光立体異性体の影響を除いた値[△直接ビリルビン値-0.19×△ビリルビン光立体異性体濃度(mg/dL)]をYとし、Xをビリルビン光構造異性体濃度の変化量として線形直線回帰分析を行い、回帰係数を求めた。

(倫理面への配慮)

本研究については、香川大学病院の倫理委員会の承認を得て施行した。本研究では臨床情報を収集する際に個人情報について匿名化を行い、第三者による個人の特定ができないように配慮した。

C. 研究結果

[検討 1.]

回帰係数は0.022 (0.018-0.026)であった。白色LED光源による通常光環境下において、総ビリルビン値10mg/dL程度の検体では、1分あたり0.022mg/dL、1時間あたり1.3mg/dLのビリルビン光構造異性体が検体中に蓄積することが明らかとなった。

[検討 2.]

回帰係数は0.34であった。バナジン酸酸化法において、ビリルビン光構造異性体濃度×0.34が直接ビリルビンとして測定されることが明らかとなった。

D. 考察

白色LED光環境下において、総ビリルビン値10mg/dL程度の新生児血清では、1時間でビリルビン光構造異性体が1.3mg/dL増加し、その影響よりバナジン酸酸化法による直接ビリルビン値が0.4mg/dL増加することが分かった。

E. 結論

バナジン酸酸化法による直接ビリルビン値を抱合型ビリルビン濃度として利用するためには、検体を遮光する事が特に重要であることが明らかとなった。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Arioka M, Koyano K, Nakao Y, Ozaki M, Nakamura S, Kiuchi H, Okada H, Itoh S, Murao K, Kusaka T. Quantitative effects of bilirubin structural photoisomers on the measurement of direct bilirubin via the vanadate oxidation method Ann Clin Biochem. 2023 Feb 11;45632231154748.

2. 学会発表

1) 日下隆. 新生児期の酵素とビリルビン代謝の特異性. 第33回日本小児科医会総会フォーラム in 高松, 2022.06, 高松.

2) 岡田 仁. UBアナライザーによる総ビリルビン(TB)値と中央検査室のTB値. 第20回日本新生児黄疸研究会, 2022.10, 東京.

3) 小谷野耕佑, 有岡誠, 尾崎美世, 中村信嗣, 安田真之, 岡田仁, 伊藤進, 日下隆. バナジン酸酸化法による直接ビリルビン測定値へのビリルビン光構造異性体の影響. 第125回日本小児科学会学術集会, 2022.04, 福島.

4) 有岡誠, 川口幸穂, 井上公太, 中尾泰浩, 森本絢, 森田啓督, 中村信嗣, 小谷野耕佑, 安田真之, 岡田仁, 伊藤進, 日下隆. バナジン酸酸化法を用いた直接ビリルビン測定におけるビリルビン光構造異性体の影響. 第20回日本新生児黄疸管理研究会, 2022.10, 東京.

5) 有岡誠, 川口幸穂, 井上公太, 中尾泰浩, 森田啓督, 中村信嗣, 小谷野耕佑, 安田真之, 岡田仁, 伊藤進, 日下隆. 微量採血管で採取し遠心分離した血清検体において、白色LEDライト環境下で生成されたビリルビン光異性体がアンバウンドビリルビン値に与える影響. 第66回日本新生児成育医学会・学術集会, 2022.11, 横浜.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし