

A：予知・予防の進歩

核黄疸（ビリルビン脳症）の発症予知と予防

社会医療法人愛仁会高槻病院小児科部長 李 容 桂

キーワード 核黄疸、ビリルビン脳症、アンバウンドビリルビン、新生児黄疸

はじめに

新生児黄疸の多くは良性で生理的なものであり、過剰な治療介入により母親への不安を強いたり母乳育児を妨げたりしてはならない。しかしながら、最近でも稀にビリルビン毒性による神経障害をきたすことが報告されている^{1~3)}。特に極低出生体重児の長期予後フォローではアテトーゼ型脳性麻痺児の増加に加え、その原因に慢性ビリルビン脳症の関与が指摘されているところでもあり、日常的に着実な黄疸管理が必要である。本稿では、これまでの新生児黄疸研究の歴史を振り返りながら⁴⁾、新生児のビリルビン代謝、核黄疸(kernicterus)の発症機序、アンバウンドビリルビン(unbound bilirubin: UB)測定、そして核黄疸の発症予知と予防戦略の現状について概説する。

1. 新生児のビリルビン代謝

新生児ビリルビン代謝の特徴は、①生理的に多血であり赤血球寿命も成人に比し短いため赤血球崩壊によるビリルビン産生量が大きく、②肝臓でのグルクロン酸転移酵素(UDP-GT)の活性が低いためビリルビン処理能力に劣り、③腸肝循環の亢進のため腸からのビリルビンの再吸収量も多いことなどである(図1)⁵⁾。このため、新生児のほとんどが、生後4~5日でピークとなるような生理的黄疸を呈する。生理的範囲を超える黄疸は病的黄疸ないし新生児高ビリルビン血症と呼ばれ、生後24時間以内に出現する早発黄疸、血清総ビ

リルビン(TB)値が正常域を超えて高くなる重症黄疸、および生後2週間以上持続する遷延性黄疸に大別される。

1) ビリルビンの産生

ビリルビンはヘムの最終代謝産物として体内で産生される。すなわち、ヘムは主に老化赤血球の異化により供給され、脾臓など細網内皮系で律速段階酵素であるヘムオキシゲナーゼにより水溶性のビリベルジンに変換され、さらにビリベルジン還元酵素により速やかに非抱合型[間接型]ビリルビン(unconjugated [indirect] bilirubin)に還元される。この非抱合型ビリルビンは水に不溶であり肝臓や腎臓から排泄されず、血中ではそのほとんどがアルブミンと結合した状態で循環している。

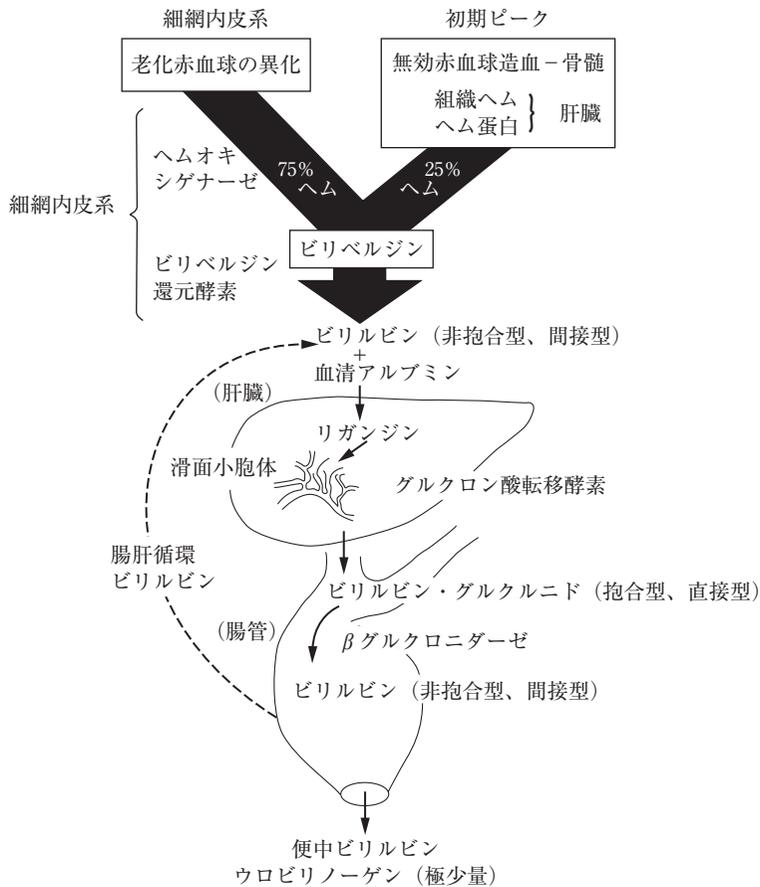
2) ビリルビンの肝臓への取込みとグルクロン酸抱合

非抱合型ビリルビンは肝細胞膜から肝細胞内に取込まれ、主に細胞内蛋白のリガンディンと結合し、さらに滑面小胞体に運ばれUDP-GTによりグルクロン酸抱合を受け水溶性の抱合型[直接型]ビリルビン(conjugated [direct] bilirubin)であるモノグルクロニドやジグルクロニドとなる。

3) ビリルビンの排泄と再吸収

抱合型ビリルビンは肝臓より胆汁中へと排泄され小腸内に移行し、そのまま便中に排泄されるか、一部は腸内細菌の働きでウロビリノーゲンへと還元され体外に排泄される。しかし、新生児では腸内細菌叢が未発達でウロビリノーゲン生成が少なく、抱合型ビリルビンのかなりの部分は腸管や母乳中のβグルクロナダーゼにより再び非抱合型

図1. 新生児のビリルビン代謝⁵⁾



ビリルビンに変えられ腸管壁より血中に再吸収されて肝臓に戻る（腸肝循環）。

2. 核黄疸（ビリルビン脳症）の発症機序

核黄疸は病理学的に淡蒼球、視床下核、アンモン核など大脳基底核の黄染をきたす疾患である。最近では古典的な病理所見、臨床症状を呈する核黄疸と区別し、ビリルビンによると考えられる脳障害を臨床的にビリルビン脳症（bilirubin encephalopathy）と呼んでいる。

1) ビリルビン毒性与核黄疸の発症機序

核黄疸の発症には、血中 UB レベルの上昇、血液脳関門の破綻、そして脳組織内アシドーシスの亢進が関与していると考えられている⁶⁾。アルブミン非結合型ビリルビン、すなわち UB は血液脳

関門を容易に通過し神経毒性を引き起こす。一方、アルブミン結合型ビリルビンは、低酸素血症、高炭酸ガス血症、高浸透圧血症、そして敗血症などにより破綻した血液脳関門から脳に侵入する。In vitro にも in vivo でも、ビリルビン毒性が UB にユニークに由来していることが示されてきた^{7,8)}。Diamond & Schmid は新生仔モルモットの頸静脈からビリルビンを注入した時、生理食塩水に溶かしたビリルビンは脳内へ移行しやすいが、ヒト血清アルブミンを加えるとほとんど移行しないことから、中枢神経系に対して毒性を持つビリルビンは蛋白に結合していない UB であることを明らかにした⁸⁾。

遊離ビリルビン理論によると、ビリルビン毒性は UB 二価陰イオン (dianion) 分子が脳内に侵入、

細胞膜に結合しその有毒作用を及ぼす。すなわち、血漿中のUBは dianion の形として存在すると推測されるが、疎水性の状態へと変化したビリルビン酸は細胞膜の脂肪層に侵入、そして脳内にビリルビン沈着をもたらすと推測される (図2)⁹⁾。

2) 核黄疸の臨床症状

急性期の臨床症状として、I期(生後数日)には筋緊張低下、嗜眠、哺乳力減弱をきたし、II期(生後数日～1週間)には筋緊張亢進、後弓反張、発熱、甲高い泣き声、痙攣などを呈し、III期(生後1～2週間以降)には筋緊張亢進は減弱ないし消退する。更に慢性期(生後1～1年半)の臨床症状としてアテトーゼ、上方凝視麻痺、難聴などの核黄疸後遺症が出現する。通常、I期では可逆性のことも多いが、II期に至ると不可逆性でありビリルビン毒性による脳障害が惹起されるものと考えられている。核黄疸の発症予防のためには、I期症状の段階での適切な治療が必要である¹⁰⁾。

しかしながら、特に早産児におけるビリルビン脳症は未だ明確に定義されていない。最近、Shapiroらは、核黄疸の新しい定義として、その臨床症状を重症度(軽度、中等度、重度)と局在性(限局型、混合型、古典的)による分類を提唱している。古典的な核黄疸は、錐体外路障害と

してのジストニアやアテトーゼ、難聴、凝視麻痺、歯牙のエナメル異形成などをきたす極度の脳障害である。限局型の核黄疸は1つのシステムに限られた症状を示すものであるが、厳密には限局型の核黄疸は見られることはなく、混合型、すなわち auditory predominantあるいは motor predominantなものに分類される。特に早産児では auditory predominant kernicterusが多いのではないかと報告している¹¹⁾。

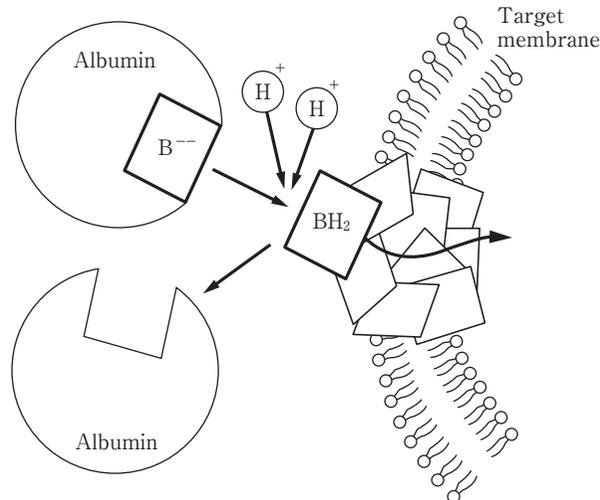
3. アンバウンドビリルビン測定

血中UB、すなわちアルブミンに結合していない遊離ビリルビンは、比較的微量であるが血液脳関門を容易に通過し神経組織に結合して毒性を示すことより、核黄疸の危険性を予知するうえで最も鋭敏な指標(ビリルビン結合変数)と考えられる。

1) 中村らの考案した POD-GOD 法の原理

Jacobsenは1969年に遊離ビリルビンは過酸化水素とペルオキシダーゼ(POD)により酸化分解されるが、アルブミンに結合したビリルビンは酸化されにくいと発表、その結合様式が質量作用の法則に基づき、アルブミンの結合部位が2つある(ビリルビンと強い親和性を有する第1結合部

図2. ビリルビン酸の細胞膜脂質二重層内沈着のメカニズム⁹⁾



位1つと弱い親和性を有する第2結合部位2つが存在する)ことを明らかにした¹²⁾。中村らはこの原法で用いられるエチル過酸化水素の代わりに、ブドウ糖とグルコースオキシダーゼ(GOD)で発生した過酸化水素にPODを作用させビリルビン酸化分解を起こさせる方法を考案した^{13~15)}。本測定法の原理は、アルブミン非結合型のUBは過酸化水素とPODの存在下で容易に酸化分解されるが、アルブミン結合型のビリルビンは酸化分解されにくいという性質に基づいており、UB濃度はその酸化分解の初速度より測定される(図3)¹³⁾。

2) UB-Analyzer の開発と普及

光学機器メーカーのアローズ社の協力により温度制御機構を内蔵したUB-Analyzerが1982年に開発され、その後は国内外(保険収載1993年、アメリカFDA認可1998年)で広く臨床使用されてきている。本機器は、TB濃度を分光光度法により、UB濃度をPOD-GOD法により迅速に微量自動測定することができる。UB-Analyzerによる自動測定法は、従来のマニュアル法との相関は極めて良好(相関係数=0.974)であり、また反復測定による変動係数(CV)は、TB濃度については2.25%、UB濃度については3.27%と再現性も良好である¹⁴⁾。

UB-Analyzerの使用上の問題点としては、UB値は検体の溶血や直接ビリルビン値が2mg/dLを超えると見かけ上高値を示し、またビタミンCが多量に存在すると見かけ上低値を示すことがある(その抗酸化作用のためPODによるビリルビン酸化作用を阻害する)。胆汁うっ滞やブロンズ

ペビー症候群などを呈する場合には、抱合型ビリルビンの上昇や光異性体であるEZサイクロビリルビンの蓄積などの影響により、UB値が高値へシフトする¹⁶⁾。またUB-Analyzerによる標準的希釈検体でのUB値は、非希釈検体のそれより著明に低くなるため、正確な測定としてはできる限り希釈を少なくすることが必要であるとの報告もある¹⁷⁾。

4. 核黄疸の発症予知とその予防戦略

急性ビリルビン脳症の早期発見のためには、臨床症状の注意深い観察や核黄疸危険因子、すなわち溶血性疾患、仮死、アシドーシス、呼吸窮迫、低体温、低蛋白血症、低血糖、敗血症、頭蓋内出血、競合薬剤(ビリルビン・アルブミン結合のdisplacer)などの有無の確認とともに、より直接的な指標と考えられる血清UB濃度測定によるビリルビン神経毒性の評価が重要である^{18,19)}。

1) 血清 UB 濃度測定と核黄疸の発症予知

Nakamuraらは、核黄疸を予測するうえで血清UB濃度の適正なカットオフ値は極低出生体重児(VLBW)で0.8μg/dL、出生体重1,500g以上の低出生体重児(LBW)および正期産児で1.0μg/dLであると報告した(図4)²⁰⁾。すなわち、非溶血性の高ビリルビン血症に対して光線療法を施行した低出生体重児138例についての検討のなかで、核黄疸リスクありと診断されたのは12例で、そのうち11例が急性ビリルビン脳症の徴候を認め交換輸血を受けた。そして、核黄疸を予測するうえでの感度と特異度が、TB値の範囲8~26mg/dLとUB値の範囲0.6~1.5μg/dLで検討され、TB値よりもUB値がより適しているとして、これらUB濃度のカットオフ値を提唱している^{20,21)}。しかし、周産期新生児医療を取り巻く環境はこの20年近くの間大きく変化し、超低出生体重児を含む早産児生命予後の著しい改善だけでなく、新生児黄疸治療の面でも光線療法機器の改良進歩や侵襲的な交換輸血療法の頻度激減などが見られるようになった。現在、この「中村の基準」の改訂に関する臨床研究が進められている。

図3. アンバウンドビリルビン測定(POD-GOD法)の原理¹³⁾

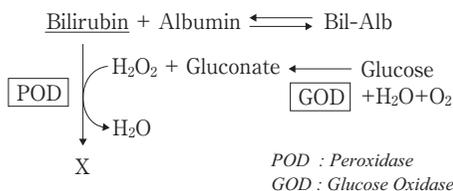
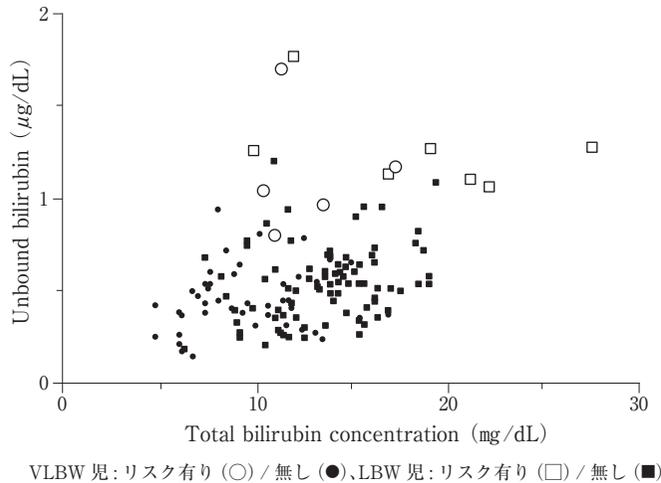


図4. 非溶血性の高ビリルビン血症例における最高TB値とUB値との関係²⁰⁾

2) 聴性脳幹反応と核黄疸の発症予知

聴性脳幹反応 (auditory brainstem response : ABR) は、外耳から音刺激を与えることにより発生する7種類のピーク波からなる反応であり、一般にI波、III波、V波の発生起源はそれぞれ蝸牛神経、対側上オリブ核、下丘とされている。ABR検査は感音性難聴や脳幹障害の診断だけでなく、ビリルビン神経毒性の客観的な評価としても有用と考えられている。

Nakamuraらは、ビリルビンが聴覚神経路に対する特異的な偏向性を持っているため、ビリルビンによる神経損傷の早期発見はABRの使用により可能になるかも知れないと報告した²²⁾。

Funatoらは、TB ≥ 20 mg/dLの高ビリルビン血症を呈した正期産児37例におけるABRとUB濃度についての多変量解析より、ABR異常所見はTBレベル(23 mg/dL)よりもUBレベル(1.0 μ g/dL)との相関が有意であったとしながら、UB濃度の測定はvigintiphobia(20の恐怖)にある正期産の新生児におけるビリルビン脳症のリスクの可能性を評価するうえで役立つかも知れないと報告した²³⁾。

3) 頭部MR画像と核黄疸の発症予知

急性ビリルビン脳症ではT1強調磁気共鳴(MR)画像での淡蒼球・視床下核・海馬などの

高信号域が特徴的であり、一方、慢性期の病変ではT2強調MR画像での高信号域を認めることが知られている^{24, 25)}。MR画像は正期産児だけでなく早産児においてもビリルビン脳症の評価に有用であり、参考に当院で慢性ビリルビン脳症と診断された1例の臨床経過を呈示する(図5)²⁶⁾。

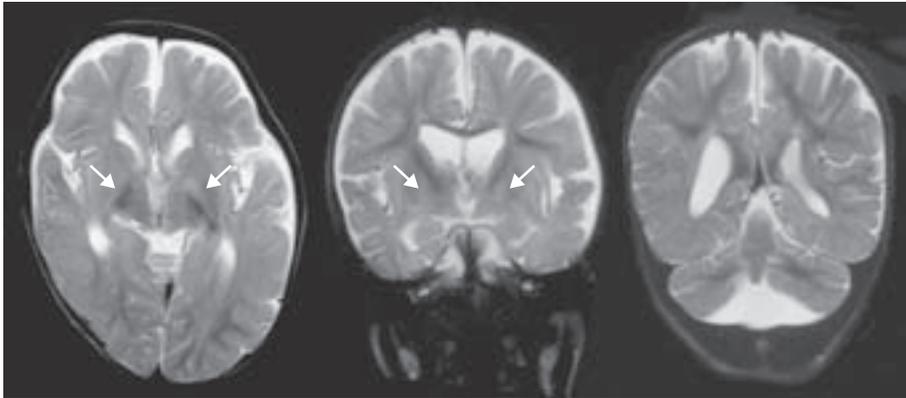
4) 核黄疸の予防戦略の現状

新生児黄疸治療の目的は核黄疸の発症予防であり、主に光線療法と交換輸血が行われており、更に最近では種々の薬物療法が試みられている²⁷⁾。

①光線療法：光線療法の光源は、蛍光灯、ハロゲン光源および発光ダイオード(LED)などである。光源色としては、青白色光(波長450nm領域)ないし緑色光(波長510nm領域)が用いられており、緑色光のほうが、DNA損傷など有害とされる400～450nmの波長エネルギーが少ない。照射方法としては、保育器の上から照射する方法、ベッド型で新生児の背面から照射する方法および新生児を包んで照射する方法などがあり、後の2つの方法は、眼帯も不要で、母子分離をなくし母乳育児を続けるうえで有用である。光線療法の際には網膜や性腺の保護を行うとともに、発熱・不感蒸泄の増加にも注意が必要である。

②交換輸血：交換輸血は重症黄疸における血中ビリルビンの除去だけでなく、溶血性疾患での感

図5. 超低出生体重児 (25w,705g, 女児) の生後15ヶ月時の頭部T2強調MR画像



症例は切迫早産で母体搬送後に緊急帝王切開にて出生、Apgarスコア1点/4点、気管内挿管蘇生後NICU入院。日齢15に肺炎の発症を契機に遷延性黄疸(TB:12.6mg/dL、UB:1.45 μ g/dL)を呈したため、免疫グロブリン補充や抗生剤投与とともに光線療法を3日間施行、明らかな神経症状は認めず。生後5か月でのABRは無反応で、生後7か月頃から不随意運動をきたすようになり、生後9か月から補聴器を装着、その後失調型脳性麻痺を呈した。生後15か月(修正12M)での頭部T2強調MR画像にて小脳低形成と大脳基底核萎縮を伴う淡蒼球の高信号を認めた。3歳から聴覚支援学校に通園。(森之宮病院小児神経科:荒井洋先生MR画像提供)

作赤血球や抗体の除去に最も有効な方法である。RhD不適合例ではRhD陰性のABO同型血を使用し、ABO不適合例ではO型血球とAB型血漿による合成血またはO型血を使用する。しかし、交換輸血は感染や移植片対宿主反応(GVHD)などの危険性を有していることを十分考慮のうえ、慎重に行わねばならない。

③薬物療法:[γ グロブリン療法]が血液型不適合による溶血性黄疸に対し交換輸血を回避させる治療法として注目されている(ただし保険適応外使用)。作用機序は、 γ グロブリンが網内系細胞のFcレセプターをブロックし、抗体感作赤血球の網内系への取り込みを防止溶血を阻止すると考えられている²⁸⁾。[アルブミンの静脈投与]は遊離ビリルビンと結合し神経毒性を有する血中UBレベルを迅速に減少させるのに有効である可能性が報告されている^{29,30)}。[錫メゾポルフィリン(SnMP)]はヘムオキシゲナーゼを抑制することにより、ビリルビン産生を抑制することが可能である。理論的には重症黄疸やビリルビン脳症の発症予防戦略に有用と考えられるが、光過敏性の副作用が報告されており臨床使用に関するアメリ

カFDAの認可は未だ得られていない。ヘム代謝経路の産物である一酸化炭素・鉄・ビリベルジン・ビリルビンは生体内で重要な生理活性を有しており、SnMPによるこれら物質の抑制の影響についても更に検討が必要と考えられている^{31~33)}。

おわりに

新生児の病的黄疸をできるだけ非侵襲的にかつ見逃すことなく捉えながら適切な治療へと繋げていくことは、新生児早期における育児支援のなかでも非常に重要な課題である。産科・新生児病床の不足等から産褥早期退院の傾向が進んできているなか、今後より一層の適正な黄疸管理を目指すとともに、多くの新生児がごく自然に母乳で育つことができるような医療環境の提供に努めることが大切である。また、特に超低出生体重児においては、急性ビリルビン脳症の臨床症状に乏しく長期予後追跡中に初めて慢性ビリルビン脳症と診断されることもあり、核黄疸(ビリルビン脳症)の全数把握のためには、新生児黄疸の臨床症状、血清UB濃度や急性期ABR所見、そして長期予後追跡での神経学的後遺症および頭部MR画像所

見を含む前方視的研究とともに、神経学的後遺症に対するビリルビン神経毒性の関与を含めた病態解析が望まれる。

文献

- Burke BL, Robbins JM, Bird TM, et al. Trends in hospitalizations for neonatal jaundice and kernicterus in the United States, 1988-2005, *Pediatrics*, 123(2):524-532, 2009
- Okumura A, Kidokoro H, Shoji H, et al, Kernicterus in preterm infants, *Pediatrics*, 123(6):e1052-e1058, 2009
- 神農英雄、廣瀬悦子、白井憲司ほか「新生児期に高度の高ビリルビン血症を認めず乳児期にアテトーゼ様の神経症状を呈した早産児の3例」日本未熟児新生児学会雑誌、21(1):113-119、2009
- 中村肇「新生児黄疸の歴史 核黄疸撲滅への戦い」周産期医学、37(10):1229-1233、2007
- Maisels MJ, Jaundice, In Avery GB, Fletcher MA, MacDonald MG, eds, *Neonatology: Pathophysiology and Management of the Newborn* 5th ed, Lippincott Williams & Wilkins, 1999
- Bratlid D. How bilirubin gets into the brain, *Clin Perinatol*, 17(2):449-465, 1990
- Wennberg RP, Ahlfors CE, Rasmussen LF, The pathochemistry of kernicterus, *Early Human Development*, 3(4):353-372, 1979
- Diamond I, Schmid R, Experimental bilirubin encephalopathy, The mode of entry of bilirubin-14C into the central nervous system, *J Clin Invest*, 45(5):678-689, 1966
- Brodersen R, Binding of bilirubin to albumin and tissues, In Stern L, editor, Monset-Couchard M, Minkowski A, ed, *Physiological and Biochemical Basis for Perinatal Medicine*, Karger, 1981
- Connolly AM, Volpe JJ, Clinical features of bilirubin encephalopathy, *Clin Perinatol*, 17(2):371-379, 1990
- Shapiro SM, Bhutani VK, Johnson L, Hyperbilirubinemia and kernicterus. *Clin Perinatol*, 33(2):387-410, 2006
- Jacobsen J, Binding of bilirubin to human serum albumin - determination of the dissociation constants, *FEBS Lett*, 5(2):112-114, 1969
- Nakamura H, Lee Y, Microdetermination of unbound bilirubin in icteric newborn sera: an enzymatic method employing peroxidase and glucose oxidase, *Clin Chim Acta*, 79(2):411-417, 1977
- Shimabuku R, Nakamura H, Total and unbound bilirubin determination using an automated peroxidase micromethod, *Kobe J Med Sci*, 28(2):91-104, 1982
- 李容桂「新生児黄疸における Unbound bilirubin の臨床的評価」日本新生児学会雑誌、18(2):259-269、1982
- Itoh S, Kawada K, Kusaka T, Yasuda S, Okada H, Imai T, Isobe K, Influence of glucuronosyl bilirubin and (EZ)-cyclobilirubin on determination of serum unbound bilirubin by UB-analyser, *Ann Clin Biochem*, 39(Pt6):583-588, 2002
- Ahlfors CE, Vreman HJ, Wong RJ, Bender GJ, Oh W, Morris BH, Stevenson DK, Effects of sample dilution, peroxidase concentration, and chloride ion on the measurement of unbound bilirubin in premature newborns, *Clin Biochem*, 40(3-4):261-267, 2007
- Ahlfors CE, Wennberg RP, Ostrow JD, et al, Unbound (free) bilirubin: Improving the paradigm for evaluating neonatal jaundice, *Clinical Chemistry*, 55(7):1288-1299, 2009
- Lee YK, Daito Y, Katayama Y, et al, The significance of measurement of serum unbound bilirubin concentrations in high-risk infants, *Pediatr Int*, 51(6):795-799, 2009
- Nakamura H, Yonetani M, Uetani Y, et al, Determination of serum unbound bilirubin for prediction of kernicterus in low birthweight infants, *Acta Paediatr Jpn*, 34(6):642-647, 1992
- 米谷昌彦、李容桂、船戸正久ほか「血清アンバウンドビリルビン濃度測定 of 臨床的有用性とカットオフ値の検討」小児科臨床、44(8):2244-2250、1991
- Nakamura H, Takada S, Shimabuku R, et al, Auditory nerve and brainstem responses in newborn infants with hyperbilirubinemia, *Pediatrics*, 75(4):703-708, 1985
- Funato M, Tamai H, Shimada S, et al, Vigintiphobia, unbound bilirubin, and auditory brainstem responses, *Pediatrics*, 93(1):50-53, 1994
- Volpe JJ, *Bilirubin and Brain Injury, Neurology of the Newborn*, 5th ed, Saunders, 619-651, 2008
- 船戸正久、和田浩、玉井善ほか「ビリルビン脳症」周産期医学、37(10):1303-1308、2007
- 李容桂、南宏尚、片山義規ほか「核黄疸(慢性ビリルビン脳症)と思われる超低出生体重児の3例」日本小児科学会雑誌、114(2):281、2010
- 李容桂「新生児の黄疸」産婦人科治療、100(増

- 刊):779-787、2010
28. 片山義規、南宏尚、李容桂ほか「新生児溶血性疾患におけるガンマグロブリン療法の適応」日本未熟児新生児学会雑誌、20(2):248-254、2008
 29. Hosono S, Ohno T, Kimoto H, et al, Effects of albumin infusion therapy on total and unbound bilirubin values in term infants with intensive phototherapy, *Pediatr Int* 43(1):8-11, 2001
 30. 五百蔵智明、久呉真章、上村裕保ほか「出生体重 1,500g 以上の低出生体重児の高アンバウンドビリルビン血症に対する交換輸血を回避するためのアルブミン静脈投与の試み」日本周産期・新生児医学会雑誌 41 (3):569-575、2005
 31. Kappas A, Drummond GS, Manola T, et al, Sn-protoporphyrin use in the management of hyperbilirubinemia in term newborns with direct Coombs-positive ABO incompatibility, *Pediatrics*, 81 (4):485-497, 1988
 32. 森岡一朗「錫メゾポルフィリン (SnMP) による新生児黄疸の予防」*周産期医学* 37(10):1269-1273、2007
 33. Wong RJ, Bhutani VK, Vreman HJ, et al, Tin mesoporphyrin for the prevention of severe neonatal hyperbilirubinemia, *NeoReviews* 8 (2):e77-e84, 2007

* * *