

Title	高速液体クロマトグラフィーを用いた羊水中Lecithin / Sphingomyelin ratio (L/S比) 測定とその臨床応用
Author(s)	榊原, 繁樹
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/36707">http://hdl.handle.net/11094/36707</a>
DOI	
rights	
Note	

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

## 【7】

氏名・(本籍)	さかき 榊	ばら 原	しげ 繁	き 樹
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	8 2 4 2	号	
学位授与の日付	昭和 63 年 5 月 23 日			
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当			
学位論文題目	高速液体クロマトグラフィーを用いた羊水中 Lecithin/Sphingomyelin ratio (L/S比) 測定とその臨床応用			
論文審査委員	(主査) 教授	谷澤	修	
	(副査) 教授	田川	邦夫	教授 宮井 潔

## 論文内容の要旨

## 〔目 的〕

新生児呼吸窮迫症候群 (respiratory distress syndrome, RDS) を出生前に予測する方法として、薄層クロマトグラフィー (Thin Layer Chromatography, TLC) による羊水中 L/S 比 (Lecithin Sphingomyelin ratio) の測定が一般に行われている。しかし、この TLC は測定手技が煩雑で、迅速性に問題がある。

今回、この点を改善し更に、胎児水腫例における児の肺機能をも予測する事を目的として、リン脂質抽出段階におけるアセトン沈澱法の省略の可否を検討し、測定には高速液体クロマトグラフィー (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) を適用し、その測定系の精度と臨床例における有用性を検討した。

## 〔方法ならびに成績〕

- 1) 測定法：被検羊水にクロロフォルム：メタノール=1：1の溶媒を加えリン脂質分画をクロロフォルム層内に分離し窒素ガス下に蒸発乾固させた。HPLCカラムは、5 $\mu$ mの球形シリカを充填した Microsorb column (米国 Rainin 社製) を使用した。展開液はアセトニトリル：メタノール：水=75：15：13の組成とし、1.0ml/分の流速にて羊水より抽出したリン脂質を展開した。分離された検体は紫外線分光検出器により、203nmの波長で測定し、マイクロコンピュータを用いた自動面積測定装置により Lecithin および Sphingomyelin の面積比より L/S 比を算出した。
- 2) 測定系の精度：L/S比が1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0の値に精製された市販の標準液について、これらを5回ずつ測定した結果、L/S比=1.0のものが $1.21 \pm 0.047$  (MEAN $\pm$ S.D.) CV=3.84%, L

$L/S=2.0$ が $2.12 \pm 0.012$   $CV=5.59\%$ ,  $L/S=3.0$ が $3.64 \pm 0.34$   $CV=9.40\%$ ,  $L/S=4.0$ が $4.41 \pm 0.32$   $CV=7.35\%$ ,  $L/S=5.0$ が $6.16 \pm 0.41$   $CV=6.75\%$  ( $CV$ は変動係数), と測定された。回帰式は,  $Y=0.8X+0.17$  ( $Y$ : 標準液の $L/S$ 値  $X$ : HPLC値)  $r=0.984$ と非常に良好な相関と再現性が得られた。

Lecithin の回収率は88.9%, Sphingomyelin の回収率は81.4%であった。

- 3) アセトン沈澱法の省略の可否について: 羊水より分離されたリン脂質のうちで, 界面活性がないとされている不飽和レシチンを除去する方法として, アセトン沈澱法が提唱されているが, 同一検体30例を用いてアセトン沈澱法と, これを用いない方法とでクロマトグラフィーの値の相関を検討した結果,  $Y=3.25X-2.14$  ( $Y$ : アセトン沈澱法を用いないで得られた $L/S$ 値  $X$ : アセトン沈澱法による $L/S$ 値)  $r=0.987$ と極めて高い相関があり, アセトン沈澱法を省略できる事が示唆された。
- 4) 臨床検討: 対象とした41例の臨床症例の内, 29例が正常群, 9例がRDS発症群, 3例が胎児水腫群であった。RDSの診断に対する sensitivity と specificity とが共に高くなる $L/S$ 値は $L/S=4.20$ となり $L/S=4.20$ をRDS群と正常群との判別を行う限界値とした判定を行った結果, RDSの sensitivity は, 88.9%であり, 正常群の specificity は93.1%であった。また胎児水腫3例について, この限界値を適用し, 全例に呼吸不全の予知が出生前に可能であった。

羊水採取から測定結果を得るまでに要した時間は, 90分であった。

(総括)

高速液体クロマトグラフィーを用いた羊水中の $L/S$ 比測定において抽出段階で長時間を要するアセトン沈澱法を省略し得る事を証明し, 短時間で従来のTLC法と同等以上の臨床結果を得る事のできる, 簡便で迅速な測定法を確立した。

またRDSとは診断されないが, 胎児水腫の一症状として見られる胸水貯留の3症例の出生後の呼吸不全も, 本法による診断基準で全例出生前予測が可能であった。

以上の成績より, 従来, 長時間と熟練度を必要とされたTLCに代り, 本法がRDSばかりでなく胎児の出生前肺機能予測法として, 臨床応用可能である事が示唆された。

## 論文の審査結果の要旨

未熟児の予後を最も左右する疾患は新生児呼吸窮迫症候群(以下RDSと略す)であり, 従来このRDSの発症を予測する方法として, 薄層クロマトグラフィー(以下TLCと略す)による羊水中Lecithin/Sphingomyelin ratio(以下 $L/S$ 比と略す)測定が行われており, この $L/S$ 比が2.0をこえていれば80%以上の正診率で児の肺成熟が予測出来るとされて来た。

ところがTLCによる $L/S$ 比測定は手技が複雑で長時間と熟練度を必要とする為, staffの少い臨床現場には適用出来ない場合も生じていた。

本研究においては, 時間の短縮化と手技の簡素化を目的として, リン脂質抽出段階でアセトン沈澱法

の省略の可否を検討すると共に、測定に高速液体クロマトグラフィーを用いる事により、測定時間の短縮と手技の簡素化を可能とした。

その結果、従来の検査時間を6時間から1.5時間へと大幅に短縮する事が可能となった。

さらに臨床症例38例に本法を適用し、sensitivity 88.9%、specificity 93.1%なる結果を得る事が出来た。従って本研究で行ったHPLCによる羊水中のL/S比測定は胎児肺機能を予測する上で、TLC法に比し、簡便でかつ迅速、正確な方法であり、日常の臨床検査法として十分に利用出来ると考えられた。

以上により、本論文は学位論文に値すると考えられる。