

新生児期の α_2 -アンチプラスミンの動態

— 成熟児・未熟児の新生児期における α_2 -アンチプラスミンの推移 —

奈良県立医科大学小児科学教室

松岡宏明

α_2 -ANTIPLASMIN LEVELS IN THE NEWBORN PERIOD: CHRONOLOGICAL CHANGES OF α_2 -ANTIPLASMIN ACTIVITY AND ANTIGEN IN FULL TERM AND PREMATURE INFANTS

HIROAKI MATSUOKA

Department of Pediatrics, Nara Medical University

Received March 31, 1989

Summary: Levels of α_2 -antiplasmin activity (α_2 -AP: C) and antigen (α_2 -AP: Ag) were measured in 50 normal full-term and 21 premature newborn infants during the first month of life. In full-term infants, the α_2 -AP: Ag levels were assayed by electro immuno assay (EIA) and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The mean values of α_2 -AP: C, α_2 -AP: Ag-EIA and α_2 -AP: Ag-ELISA were lowest on the first day of life, i.e., 59.5 ± 8.8 u/dl, 61.3 ± 7.1 u/dl and 60.8 ± 9.2 u/dl respectively. The values gradually increased during the first month, reaching 96.2 ± 8.3 u/dl, 99.2 ± 7.1 u/dl and 97.7 ± 8.0 u/dl respectively.

Premature infants were divided into three groups based on their birth weight: Group A of 2001–2500 g; Group B of 1501–2000 g; Group C of below 1500 g. In Group A, the mean values of α_2 -AP: C and α_2 -AP: Ag on the first day of life were 59.0 ± 10.0 u/dl and 60.2 ± 9.1 u/dl. The values gradually increased during the first month, reaching 90.6 ± 9.2 u/dl, 91.0 ± 13.8 u/dl respectively. These levels were almost the same as those of full term infants. In Group B, the mean values on the first day of life were 57.2 ± 11.8 u/dl and 56.8 u/dl respectively. These levels moderately increased during the first month, showing 77.8 ± 9.8 u/dl, 75.8 ± 6.8 u/dl. These levels were lower than those of Group A. In Group C, these levels on the first day of life were 56.1 ± 9.3 u/dl and 55.8 ± 7.4 u/dl. These levels slightly increased during the first month, showing 65.5 ± 13.7 u/dl, 66.6 ± 12.8 u/dl respectively. These levels were apparently lower than those of Group A and B. There was no significant difference in α_2 -AP: C and α_2 -AP: Ag in their samples.

Index Terms

α_2 -antiplasmin activity, α_2 -antiplasmin antigen, newborn, premature infant

緒 言

α_2 -アンチプラスミン (α_2 -AP) はフィブリノゲンおよびフィブリンに特に親和性の強い血液中の蛋白分解酵素であるプラスミンに対して、強力な阻害作用を示す分子量67,000の糖蛋白である¹⁾。

本因子の先天性欠乏症は鯉江ら²⁾ (1978) により血友病様の出血症状を呈する患者の検索より見いだされ、その後、数家系が報告されている^{3)~7)}。教室では上辻ら³⁾ (1981) が本邦第2例目の1家系3姉妹について報告した。この家系では3例とも新生児期に臍部出血をきたしたのが特徴的であった。

α_2 -AP は肝臓で作られるので⁸⁾、重篤肝疾患に低下⁹⁾、また、血管内凝固症候群¹⁰⁾、ウロキナーゼあるいはストレプトキナーゼによる血栓溶解療法中などで低下する¹¹⁾ことが知られている。

新生児期では武内ら¹²⁾ (1981)、三浦ら¹³⁾ (1986) が臍帯血で軽〜中等度に低下することを報告しているが、教室の塚田¹⁴⁾は生後1カ月より15歳までの正常乳児及び小児における α_2 -AP 活性および抗原量の推移を検索し、 α_2 -AP 活性、抗原量とも1カ月で正常成人値に達していることを報告した。しかし、新生児期の本因子の経日的推移については明かでない。

新生児期には肝の未熟性ならびにビタミン K 欠乏により、プロトロンビン、第VII因子、第IX因子、および第X因子が低下し、これらの低下度は新生児メレナや、乳児特発性ビタミン K 欠乏による出血症の発現と密接に関連していることはよく知られている¹⁵⁾。これらビタミン K 依存性因子の欠乏症の他に新生児早期ことに未熟児では感染、呼吸窮迫症候群などのリスクにより血管内凝固亢進症候群 (DIC) を発来することも観察されるところである^{16)~18)}。従って新生児期の凝固線溶系因子の動態と血中蛋白分解酵素を制御するプロテアーゼインヒビターの働きを知ることは新生児期の出血の成因を解明する上に重要と考えられる。

著者らは生理的に重要なプロテアーゼインヒビターの1つである α_2 -AP について、2種の抗 α_2 -AP 血清を用いたサンドイッチ ELISA 法による抗原微量測定法を確立した¹⁹⁾。

今回の方法を用いて成熟児・未熟児の新生児期における α_2 -AP 抗原量を測定し、S-2251 を用いた発色基質法による α_2 -AP 活性量との推移を比較検討したので報告する。

検索対象及び方法

1. 検索対象：奈良県立医科大学及び天理市立病院で出生した正常分娩児で、出血症状や強度の黄疸その他特に重篤な合併症を伴わない成熟児50例、未熟児21例の新生児期の血漿415サンプルについて検索した。

正常満期産新生児は在胎期間が38~42週間、生下時体重が2,501から4,000gの児を対象とし、臍帯血血漿50例、日齢1, 3, 5, 6~7, 生後1カ月の新生児血漿各50例 (男25, 女25) について検索した。

未熟児は出生体重2,500g以下のAFD (appropriate for date) 児を対象とし、これを出生体重別に3グループに分類した。Group A (2,001~2,500g) 7例 (男4例, 女3例), Group B (1,501~2,000g) 5例 (男1例, 女4例), Group C (780g~1,500g) 9例 (男3例, 女6例) について日齢0から生後1カ月まで経日的に採血し検索した。

また比較として20~40歳の健康成人50例 (男25例, 女25例) の血液を検索した。

2. 採血：臍帯血は胎児娩出後速やかに臍帯静脈より、新生児は手背静脈より、健康成人は肘関節部静脈よりそれぞれ23G注射針で施行した。これらを直ちに3.8%クエン酸ナトリウムが1/10量になるように混和し3,000rpm 15分間遠心分離し血漿を得た。

3. α_2 -AP 活性の測定：発色性合成ペプチド基質のS-2251を用いた発色基質法にて測定した²⁰⁾。まず、被検血漿50 μ lに添付の希釈緩衝液2.0mlを加え、40倍の被検希釈血漿液を作成、これをプラスチック試験管に400 μ l採取した。そこに基質液S-2251を100 μ lを加え混和し、37°Cで約5分間加温した。さらにプラスミン液を100 μ l加え混和し、37°Cで正確に10分間加温した。最後に反応停止液2.0mlを加え分光光度計にて蒸留水を対照に波長405nmで吸光度を測定した。正常血漿の希釈液で同様の測定を行い、作成した標準希釈曲線よりu/dlに換算した。

4. α_2 -AP 抗原量の測定：著者らの考案したモルモット抗血清と家兔抗血清でサンドイッチしたEnzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法¹⁹⁾と、Laurellによる免疫電気泳動法²¹⁾ (Electro immuno assay, EIA) の2法によった。

1) ELISA 法：方法の詳細は省略するが、NUNCK社のポリプロピレン製96穴マイクロプレートの各ウエルに抗ヒト α_2 -AP モルモット血清の125倍希釈液を吸着被覆せしめ、そこに1,000倍希釈した検体を加え、4°Cで1昼夜静置後、250倍希釈した抗ヒト α_2 -AP 家兔血清

を加え、37°C、3時間反応せしめた。最後に4,000倍希釈したペルオキシダーゼ標識抗家兔 IgG ヤギ血清を37°C、1時間反応させ、フェニレンジアミンで発色させ吸光度を測定した。

2) EIA (Laurell 法) 法: 家兔抗 α_2 -AP 血清を用い、ロケット免疫電気泳動法にて測定した。3%抗ヒト α_2 -AP 家兔血清を加えた1%アガロース平板を作製し、抗原孔に8 μ lの血漿を入れ、ペロナル緩衝液 (pH 8.6) 存在下に0.8 mA/cm、16時間泳動した。泳動後、0.5%クマシーブリリアント青で染色し、脱色乾燥して形成された被検血漿及び希釈正常血漿のロケット高より希釈直線を作成し被検血漿の値を求めた。

成 績

1. 成熟新生児の α_2 -AP 活性および α_2 -AP 抗原量の推移: 在胎38~42週、生下時体重2,501から4,000gの成熟新生児について、臍帯血血漿50例、日齢1, 3, 5, 6~7および生後1カ月の各50例 (男25例, 女25例) の α_2 -AP 活性および α_2 -AP 抗原量を測定した。

α_2 -AP 活性は臍帯血では40~84 u/dl で平均値 \pm SD は 66.8 ± 10.1 u/dl で健康成人の75~120 u/dl (男80~120 u/dl, 女75~110 u/dl) 平均値 98.4 ± 9.8 u/dl (男

98.9 ± 9.2 u/dl, 女 98.0 ± 10.3 u/dl) の約2/3の値であった。日齢1では40~80 u/dl (男48~75 u/dl, 女40~80 u/dl) で平均値は 59.5 ± 8.8 u/dl (男 59.0 ± 8.2 u/dl, 女 60.0 ± 9.5 u/dl) とより低値を示したが、日齢3では40~90 u/dl (男45~85 u/dl, 女40~90 u/dl) 平均 67.3 ± 11.2 u/dl (男 68.1 ± 9.9 u/dl, 女 66.3 ± 12.5 u/dl), 日齢5では47~95 u/dl (男47~90 u/dl, 女50~95 u/dl) で平均 73.0 ± 11.4 u/dl (男 73.1 ± 10.5 u/dl, 女 73.0 ± 12.4 u/dl), 日齢6~7では55~105 u/dl (男55~105 u/dl, 女68~98 u/dl) で平均 82.2 ± 10.8 u/dl, (男 82.4 ± 12.9 u/dl, 女 81.9 ± 8.5 u/dl) と漸次増加し、生後1カ月では80~112 u/dl (男85~112 u/dl, 女80~110 u/dl) で平均 96.2 ± 8.3 u/dl (男 97.0 ± 7.8 u/dl, 女 95.6 ± 9.0 u/dl) と健康成人レベルとほぼ同じ値に達した (Table 1 及び Fig. 1)。

α_2 -AP 抗原量は EIA 法と ELISA 法の2方法で行った。

EIA 法による α_2 -AP 抗原量は臍帯血血漿では45~85 u/dl 平均値 66.7 ± 9.6 u/dl で、健康成人の80~130 u/dl (男84~130 u/dl, 女80~110 u/dl) 平均値 98.6 ± 8.1 u/dl (男 99.6 ± 9.2 u/dl, 女 97.5 ± 6.9 u/dl) の約2/3の値であった。日齢1では45~74 u/dl (男45~70 u/

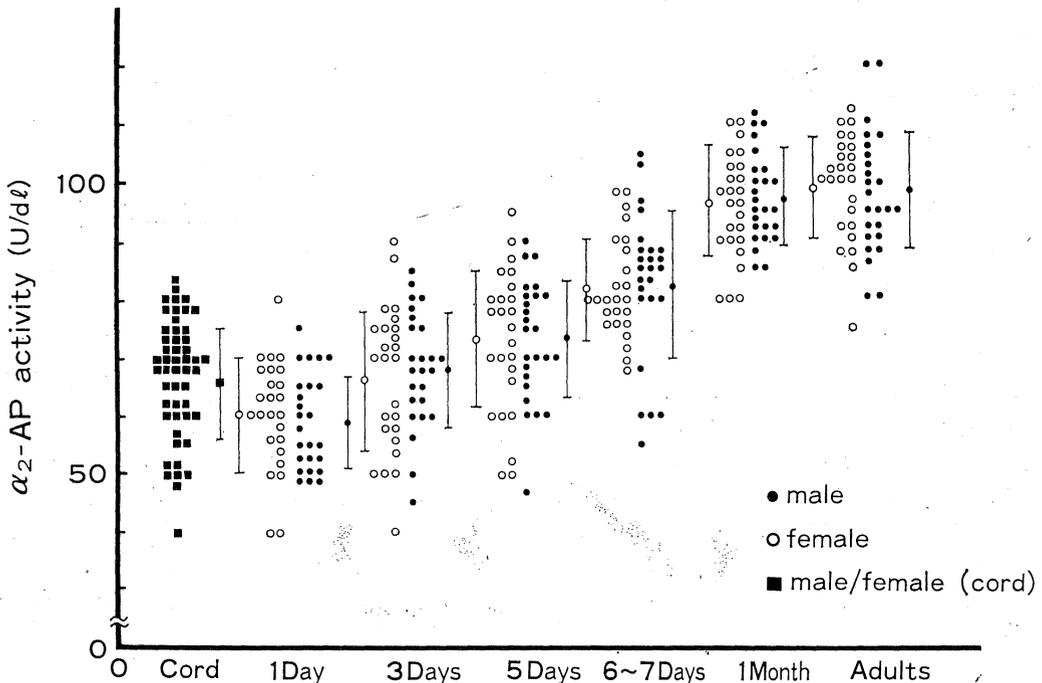
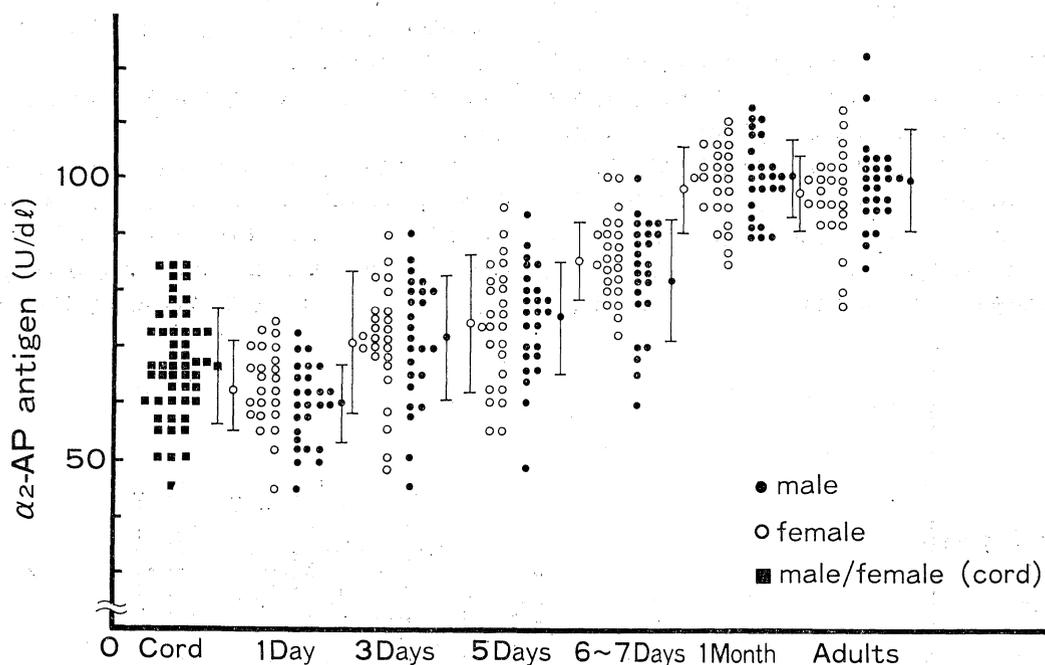


Fig. 1. Chronological changes of α_2 -AP activity assayed by amidolytic method in full term infants.

Table 1. Chronological changes of α_2 -AP activity and α_2 -AP antigen in full term infants

			Cord	1 Day	3 Days	5 Days	6~7 Days	1 Month	Adults
α_2 -AP activity by amidolytic method	Male	N=25		59.0±8.2	68.1±9.9	73.1±10.5	82.4±12.9	97.0±7.8	98.9±9.2
	Female	N=25		60.0±9.5	66.3±12.5	73.0±12.4	81.9±8.5	95.6±9.0	98.0±10.3
	Total	N=50	66.8±10.1	59.5±8.8	67.3±11.2	73.0±11.4	82.2±10.8	96.2±8.3	98.4±9.8
α_2 -AP antigen by EIA	Male	N=25		60.2±6.9	71.3±11.4	75.0±9.9	82.0±11.2	100±7.2	99.6±9.2
	Female	N=25		62.6±7.2	70.9±12.9	74.2±11.7	85.1±7.0	98.4±7.0	97.5±6.9
	Total	N=50	66.7±9.6	61.3±7.1	71.1±12.1	74.6±10.8	83.5±9.1	99.2±7.1	98.6±8.1
α_2 -AP antigen by ELISA	Male	N=25		61.1±9.6	71.3±9.7	74.0±10.1	78.9±10.9	98.5±7.9	96.8±12.2
	Female	N=25		60.6±8.9	69.3±12.2	73.0±11.8	82.6±6.6	97.0±8.1	95.2±10.7
	Total	N=50	67.6±8.8	60.8±9.2	70.3±11.0	73.6±10.9	80.8±9.1	97.7±8.0	96.0±11.4

Fig. 2. Chronological changes of α_2 -AP antigen assayed by EIA in full term infants.

dl, 女 45~74 u/dl) 平均値 61.3±7.1 u/dl (男 60.2±6.9 u/dl, 女 62.6±7.2 u/dl) とより低下したが, 日齢3では 40~97 u/dl (男 45~90 u/dl, 女 40~97 u/dl) 平均値 71.1±12.1 u/dl (男 71.3±11.4 u/dl, 女 70.9±12.9 u/dl), 日齢5では 48~100 u/dl (男 48~93 u/dl, 女 55~100 u/dl) 平均値 74.6±10.8 u/dl (男 75.0±9.9 u/dl, 女 74.2±11.7 u/dl) 日齢6~7では 56~100 u/dl (男 56~100 u/dl, 女 72~100 u/dl) 平均値 83.5±9.1 u/dl (男 82.0±11.2 u/dl, 女 85.1±7.0 u/dl) と漸次増加し, 生後1カ月では 85~112 u/dl (男 90~112 u/dl, 女 85~110 u/dl) 平均値 99.2±7.1 u/dl (男 100±7.2

u/dl, 女 98.4±7.0 u/dl) と健康成人とほぼ同じレベルに達した (Table 1 及び Fig. 2).

ELISA 法による α_2 -AP 抗原量は臍帯血漿では 50~82 u/dl で平均値 67.6±8.8 u/dl と中等度に低下していたが, 日齢1では 40~80 u/dl (男 45~80 u/dl, 女 40~80 u/dl) 平均値 60.8±9.2 u/dl (男 61.1±9.6 u/dl, 女 60.6±8.9 u/dl) と更に低下した. 日齢3では 40~100 u/dl (男 48~85 u/dl, 女 40~100 u/dl) で平均値 70.3±11.0 u/dl (男 71.3±9.7 u/dl, 女 69.3±12.2 u/dl), 日齢5では 50~92 u/dl (男 50~92 u/dl, 女 50~90 u/dl) で平均値 73.6±10.9 u/dl (男 74.0±10.1 u/dl,

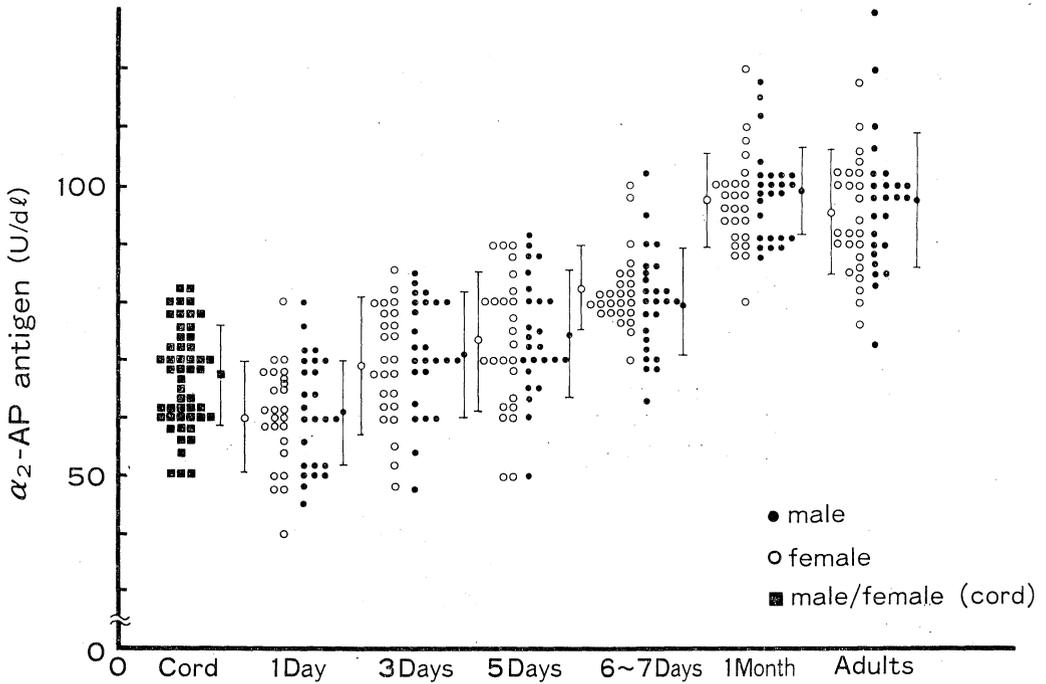


Fig. 3. Chronological changes of α_2 -AP antigen assayed by ELISA in full term infants.

女 73.0 ± 11.8 u/dl), 日齢 6~7 では $70 \sim 102$ u/dl (男 $50 \sim 102$ u/dl, 女 $70 \sim 100$ u/dl) 平均値 80.8 ± 9.1 u/dl (男 78.9 ± 10.9 u/dl, 女 82.6 ± 6.6 u/dl) と漸次増加し, 生後 1 カ月では $80 \sim 120$ u/dl (男 $88 \sim 118$ u/dl, 女 $80 \sim 120$ u/dl) 97.7 ± 8.0 u/dl (男 98.5 ± 7.9 u/dl, 女 97.0 ± 8.1 u/dl) ではほぼ健康成人の $70 \sim 130$ u/dl (男 $70 \sim 130$ u/dl, 女 $74 \sim 118$ u/dl) 平均 96.0 ± 11.4 u/dl (男 96.8 ± 12.2 u/dl, 女 95.2 ± 10.7 u/dl) の値に達した (Table 1 及び Fig. 3).

2. 成熟児の α_2 -AP 活性と α_2 -AP 抗原量の相関: α_2 -AP 活性と EIA による α_2 -AP 抗原量の相関は, 臍帯血漿では $r=0.77$, 日齢 1 で $r=0.79$, 日齢 3 で $r=0.85$, 日齢 5 で $r=0.85$, 日齢 6~7 で $r=0.86$, 生後 1 カ月で $r=0.60$ でいずれも比較的良好に相関していた (Fig. 4).

α_2 -AP 活性と ELISA による α_2 -AP 抗原量の相関は, 臍帯血漿では $r=0.74$, 日齢 1 で 0.61 , 日齢 3 で 0.85 , 日齢 5 で 0.74 , 日齢 6~7 で 0.75 , 生後 1 カ月で 0.67 で上記とほぼ同様の相関を示していた (Fig. 5).

EIA 法と ELISA 法による α_2 -AP 抗原量の相関は, 臍帯血漿では $r=0.71$, 日齢 1 で 0.61 , 日齢 3 で 0.81 , 日齢 5 で 0.77 , 日齢 6~7 で 0.75 , 生後 1 カ月で 0.63 で何れも比較的良好に相関していた (Fig. 6).

3. 末熟児の α_2 -AP 活性および α_2 -AP 抗原量の推移: Group A (出生体重 $2,001 \sim 2,500$ g) 末熟児 7 例 (男 4 例, 女 3 例), Group B ($1,501 \sim 2,000$ g) 5 例 (男 1 例, 女 4 例), Group C ($1,500$ g 以下) 9 例 ($1,000 \sim 1,500$ g: 男 3 例, 女 5 例, 780 g: 女 1 例) について, 生直後より 1 カ月まで経目的に α_2 -AP 活性および α_2 -AP 抗原量の推移を検索した.

1) Group A (7 例) の α_2 -AP 活性は臍帯血漿サンプルでは $54 \sim 80$ u/dl (平均値 \pm SD, 69.6 ± 8.9 u/dl) で成熟新生児と同様の値であった. 日齢 1 では $45 \sim 72$ u/dl (59.0 ± 10.0 u/dl) とより低値であったが, 日齢 3 で $54 \sim 85$ u/dl (68.5 ± 11.1 u/dl), 日齢 7 で $62 \sim 97$ u/dl (77.8 ± 12.2 u/dl), 生後 2 週間で $64 \sim 98$ u/dl (85.6 ± 18.8 u/dl), 生後 1 カ月で $76 \sim 102$ u/dl (90.6 ± 9.2 u/dl) と成熟児とほぼ同程度の増加を示した (Table 2 及び Fig. 7, upper).

著者らの ELISA 法による α_2 -AP 抗原量は, 臍帯血漿サンプルでは $52 \sim 78$ u/dl (69.8 ± 9.7 u/dl) で成熟新生児と同様の値であった. 日齢 1 では $50 \sim 64$ u/dl (60.2 ± 9.1 u/dl) とより低値であったが, 日齢 3 で $54 \sim 83$ u/dl (65.6 ± 11.3 u/dl), 日齢 7 で $58 \sim 90$ u/dl (76.3 ± 11.3 u/dl), 生後 2 週間で $62 \sim 92$ u/dl (80.0 ± 15.9 u/dl), 生後 1 カ月で $80 \sim 98$ u/dl (91.0 ± 13.8 u/dl) と成熟児とほ

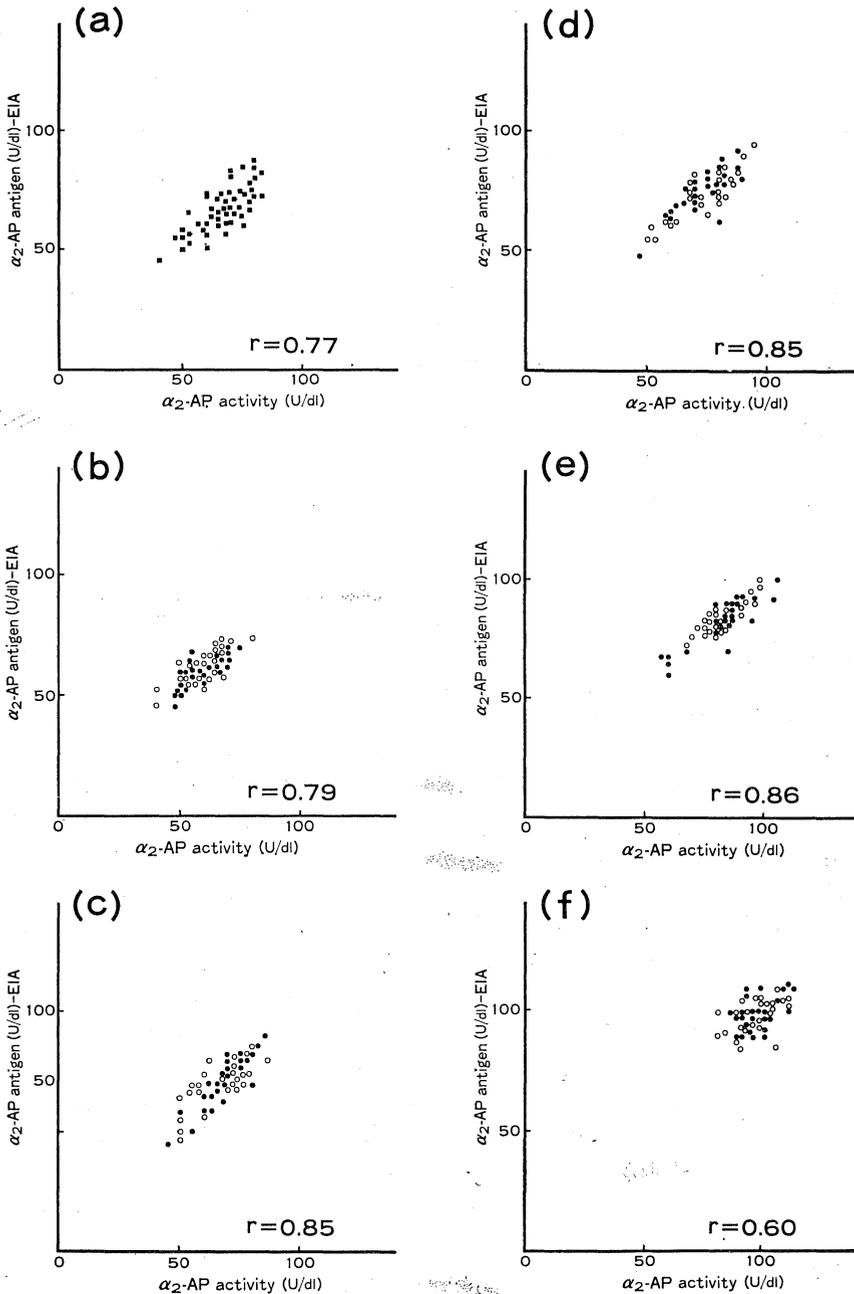


Fig. 4. Correlation between α_2 -AP activity and α_2 -AP antigen assayed by EIA in each chronological group. (a) cord (b) 1 day (c) 3 days (d) 5 days (e) 6~7 days (f) 1 month
● male ○ female ■ male/female (cord)

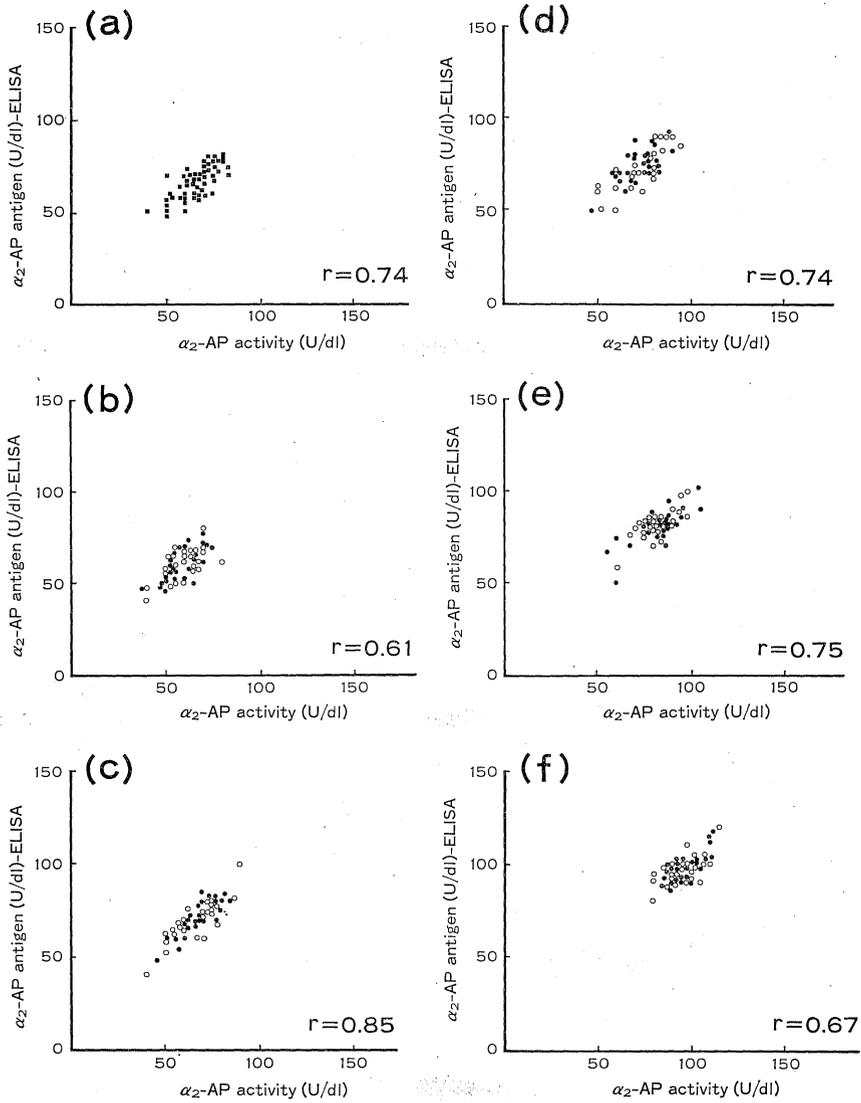


Fig. 5. Correlation between α_2 -AP activity and α_2 -AP antigen assayed by ELISA in each chronological group. (a) cord (b) 1 day (c) 3 days (d) 5 days (e) 6~7 days (f) 1 month
 ● male ○ female ■ male/female (cord)

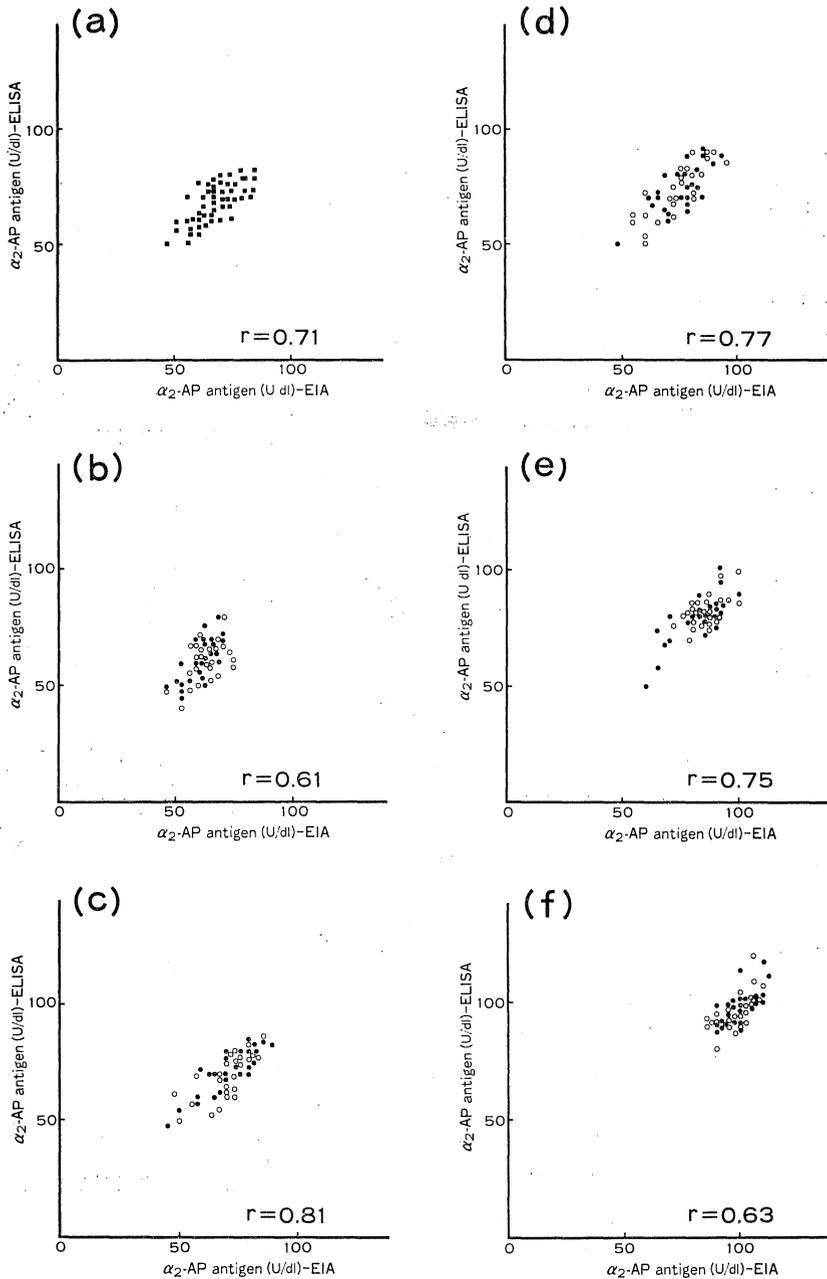


Fig. 6. Correlation between α_2 -AP antigen assayed by EIA and ELISA in each chronological group. (a) cord (b) 1 day (c) 3 days (d) 5 days (e) 6~7 days (f) 1 month
● male ○ female ■ male/female (cord)

Table 2. Chronological changes of α_2 -AP activity and α_2 -AP antigen in premature infants

		Cord	1 Day	3 Days	7Days	2 Weeks	1 Month
2001 ~2500 g N=7	α_2 -AP activity	69.6±8.9	59.0±10.0	68.5±11.1	77.8±12.2	85.6±18.8	90.6± 9.2
	α_2 -AP antigen	69.8±9.7	60.2± 9.1	65.6±11.3	76.3±11.3	80.0±15.9	91.0±13.8
1501 ~2000 g N=5	α_2 -AP activity	67.6±8.6	57.2±11.8	63.3± 5.0	64.1± 6.7	72.5± 7.5	77.8± 9.8
	α_2 -AP antigen	68.3±6.5	56.8± 5.2	62.6± 5.7	67.6±6 .8	74.7± 5.4	75.8± 6.8
below 1500 g N=9	α_2 -AP activity	62.4±7.8	56.1± 9.3	64.1± 9.8	64.4± 9.3	69.6± 5.9	65.5±13.7
	α_2 -AP antigen	63.6±7.6	55.8± 7.4	62.1± 9.0	67.5± 7.0	66.6± 6.4	66.6±12.8

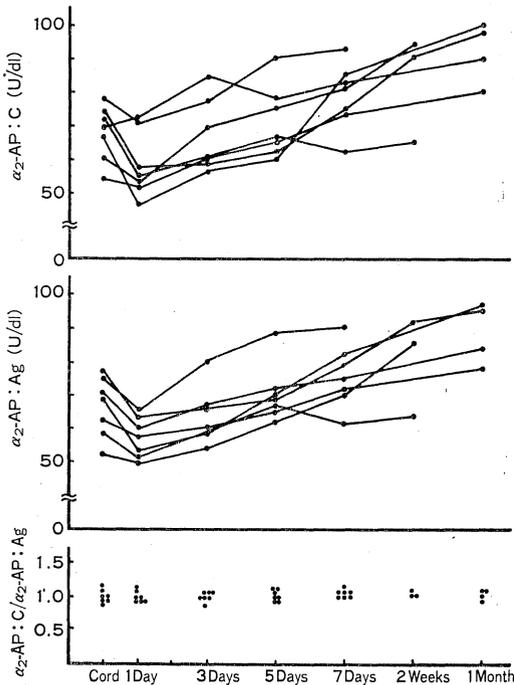


Fig. 7. α_2 -AP activity (α_2 -AP: C), α_2 -AP antigen (α_2 -AP: Ag) and ratio of α_2 -AP: C to α_2 -AP: Ag in premature infants with body weight 2001~2500 g.

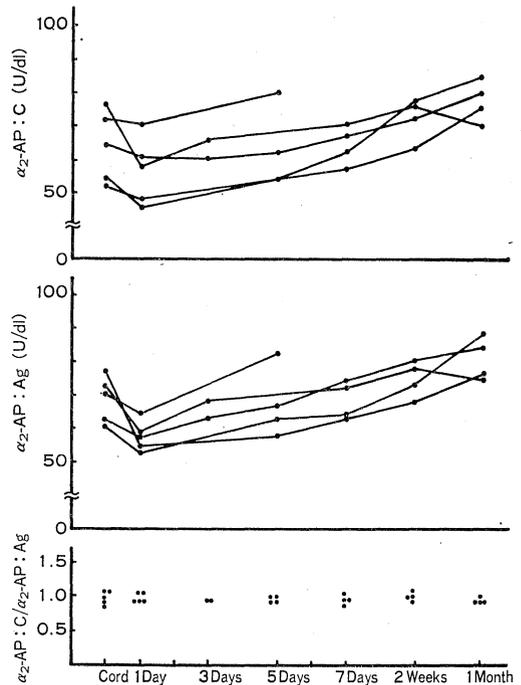


Fig. 8. α_2 -AP activity (α_2 -AP: C), α_2 -AP antigen (α_2 -AP: Ag) and ratio of α_2 -AP: C to α_2 -AP: Ag in premature infants with body weight 1501~2000 g.

ほぼ同程度の増加を示した (Table 2 及び Fig. 7, middle).

α_2 -AP 活性と α_2 -AP 抗原量の相関: Group A の未熟児の α_2 -AP 活性/ α_2 -AP 抗原量の比は臍帯血では 0.9~1.2, 日齢 1 は 0.9~1.2, 日齢 3 は 0.9~1.1, 日齢 7 は 0.9~1.2, 生後 2 週間は 1.0~1.1, 生後 1 カ月は 0.9~1.1 でいずれの日令でも 0.5 以下の低値を示すものはなかった (Fig. 7, bottom).

2) Group B (5 例) の α_2 -AP 活性は, 臍帯血血漿サンプルでは 54~76 u/dl (67.6±8.6 u/dl) で成熟新生

児とはほぼ同様の値であった。日齢 1 では 45~70 u/dl (57.2±11.8 u/dl) とより低下したが, 日齢 3 で 55~70 u/dl (63.3±5.0 u/dl), 日齢 7 で 58~72 u/dl (64.1±6.7 u/dl), 生後 2 週間で 62~78 u/dl (72.5±7.5 u/dl), 生後 1 カ月で 70~84 u/dl (77.8±9.8 u/dl) 出生時に比べ中等度の増加を示した (Table 2 及び Fig. 8, upper).

ELISA 法による α_2 -AP 抗原量は, 臍帯血血漿サンプルでは 60~78 u/dl (68.3±6.5 u/dl) であった。日齢

1では 52~64 u/dl (56.8±5.2 u/dl) とより低値であったが、日齢3で 60~68 u/dl (62.6±5.7 u/dl)、日齢7で 58~74 u/dl (67.6±6.8 u/dl)、生後2週間で 68~80u/dl (74.7±5.4 u/dl)、生後1カ月で 68~90 u/dl (75.8±6.8 u/dl) と出生時に比べ中等度の増加を示した (Table 2 及び Fig. 8, middle).

α_2 -AP 活性と α_2 -AP 抗原量の比は臍帯血では 0.8~1.1, 日齢1は 0.9~1.1, 日齢3は 0.9~1.0, 日齢7は 0.8~1.1, 生後2週間は 0.9~1.1, 生後1カ月は 0.9~1.0でいずれの日齢でも 0.5以下の低値を示すものはなかった (Fig. 8, bottom).

3) Group C (9例) の α_2 -AP 活性は、臍帯血血漿サンプルでは 50~72 u/dl (62.4±7.8 u/dl) で成熟児より若干低値であった。日齢1は 48~68 u/dl (56.1±9.3 u/dl)、その後も同程度の推移で日齢3は 52~78 u/dl (64.1±9.8 u/dl)、日齢7は 50~78 u/dl (64.4±9.3 u/dl)、生後2週間は 66~80 u/dl (69.6±5.9 u/dl)、生後1カ月は 50~84 u/dl (65.5±13.7 u/dl) と出生時に比べ軽度の増加のみであった (Table 2 及び Fig. 9, upper).

ELISA 法による α_2 -AP 抗原量は、臍帯血血漿サンプルでは 50~75 u/dl (63.6±7.6 u/dl) で成熟児より若

干低値であった。日齢1では 52~68 u/dl (55.8±7.4 u/dl)、その後も同程度の推移で日齢3では 56~75 u/dl (62.1±9.0 u/dl)、日齢7で 56~77 u/dl (67.5±7.0 u/dl)、生後2週間で 62~75 u/dl (66.6±6.4 u/dl)、生後1カ月で 54~80 u/dl (66.6±12.8 u/dl) と出生時に比べ軽度の増加のみであった (Table 2 及び Fig. 9, middle).

尚、経過を追えなかった在胎25週で出生体重 774 g と、在胎30週で出生体重 664 g の2例の男児の臍帯血漿中の α_2 -AP 活性と抗原量はそれぞれ 45 u/dl, 40 u/dl と 50 u/dl, 45 u/dl であった。

α_2 -AP 活性と α_2 -AP 抗原量の比は臍帯血で 0.9~1.2, 日齢1は 0.9~1.2, 日齢3は 0.9~1.1, 日齢7は 0.9~1.2, 生後2週間は 0.9~1.1, 生後1カ月で 0.9~1.0でいずれの日齢でも 0.5以下の低値を示すものはなかった (Fig. 9, bottom).

考 案

新生児期における血中線溶能については、線溶発現の中核物質であるプラスミンの前駆体のプラスミノゲンが低下しているに関わらず、フィブリン分解産物 (FDP) の出現、ユーグロブリン溶解時間の短縮などの所見により、一般に亢進傾向にあると解されている²²⁾。その機序については線溶活性物質と線溶阻止物質との動態が密接に関連していると考えられているが、その詳細は充分明かでない。線溶阻止物質としては α_2 -AP, α_2 -マクログロブリン (α_2 -M), アンチトロンビン III (AT-III), α_1 -アンチトリプシン (α_1 -AT) などが知られているが、このうち、即効生で強力なものは α_2 -AP である²³⁾²⁴⁾。

新生児期の α_2 -AP の動態についての検索は少ない。教室の武内ら¹²⁾は臍帯血では免疫拡散法による α_2 -AP 抗原量は、3.9±1.0 mg/dl で正常血漿の約1/2量に低下していることを観察し、白幡ら²⁵⁾、三浦ら¹³⁾は約70%であったと報告した。一方、布施ら²⁶⁾は蛍光合成基質法で臍帯血の α_2 -AP は有意の低下を認めなかったとのべている。

教室の塚田¹⁴⁾は正常小児の α_2 -AP 活性と抗原量の推移を検索し、 α_2 -AP は II, VII, IX, X などの凝固因子の動態と異なって、生後1カ月ですでに健康成人レベルに達していることを報告した。しかし、 α_2 -AP が新生児期にどの程度まで低下し推移するか経日的な消長については明かでない。従って、著者は成熟新生児及び未熟児の α_2 -AP の活性、ならびに抗原量の経日的推移を追求することを試みた。

新生児とくに未熟児は採血量に制約されるので、活性および抗原の測定には微量法が望ましい。今回、著者は

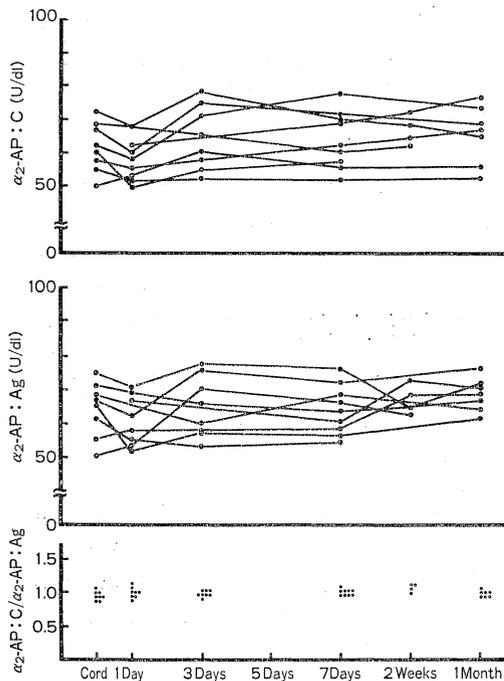


Fig. 9. α_2 -AP activity (α_2 -AP: C), α_2 -AP antigen (α_2 -AP: Ag) and ratio of α_2 -AP: C to α_2 -AP: Ag in premature infants with body weight below 1500 g.

α_2 -AP 活性は40倍希釈血漿 400 μ l を用いる発色合成基質法で行った。又、抗原量については従来の Laurell 法による測定では原血漿を要し、且つ、正常血漿の1/8以下の濃度は測定しがたいことより、2種の抗 α_2 -AP 抗血清を用いたサンドイッチ ELISA 法による α_2 -AP 抗原の微量測定法を開発した¹⁹⁾。本法は1,000倍希釈した被検血漿を用い、感度は0.06 μ g/ml まで測定でき、また96穴マイクロプレートで行うので多数検体を同時に測定しうる利点がある。 α_2 -AP 抗原量は、成熟新生児で EIA 法とサンドイッチ ELISA 法の2法で、未熟児ではサンドイッチ ELISA 法で測定した。

成熟新生児50例の臍帯血中の α_2 -AP 活性は66.8 \pm 10.1 u/dl で、 α_2 -AP 抗原量は、EIA 法で66.7 \pm 9.6 u/dl、ELISA 法で67.6 \pm 8.8 u/dl、 α_2 -AP 活性と抗原量の相関は $r=0.77$ と 0.74 でいずれも良好であった。従って、臍帯血では α_2 -AP の質的異常はないものと考えられた。

日齢1では α_2 -AP 活性は59.5 \pm 8.8 u/dl、抗原量は、EIA 法で61.3 \pm 7.1 u/dl、ELISA 法で60.8 \pm 9.2 u/dl とより低値を示したが、日齢3で α_2 -AP 活性は67.3 \pm 11.2 u/dl、抗原量71.1 \pm 12.1 u/dl と70.3 \pm 11.0 u/dl、日齢5で α_2 -AP 活性73.0 \pm 11.4 u/dl、抗原量74.6 \pm 10.8 u/dl と73.6 \pm 10.9 u/dl、日齢6~7で82.2 \pm 10.8 u/dl、抗原量83.5 \pm 9.1 u/dl と80.8 \pm 9.1 u/dl で漸次増加し、生後1カ月では α_2 -AP 活性96.2 \pm 8.3 u/dl、抗原量99.2 \pm 7.1 u/dl と97.7 \pm 8.0 u/dl で正常成人値レベルに達していた。

α_2 -AP 活性と抗原量の相関は、EIA 法では臍帯血血漿で $r=0.77$ 、日齢1で $r=0.79$ 、日齢3で $r=0.85$ 、日齢5で $r=0.85$ 、日齢6~7で0.86、生後1カ月で $r=0.60$ 、ELISA 法では臍帯血血漿で $r=0.74$ 、日齢1で0.61、日齢3で0.85、日齢5で0.74、日齢6~7で0.75、生後1カ月で0.67と良好であった。従って、いずれの日齢でも α_2 -AP 抗原の質的異常はないものと考えられた。

次に出血症状その他合併症の認めなかった未熟児について、生直後より1カ月間、経目的に α_2 -AP 活性および α_2 -AP 抗原量の推移を追求した。

出生体重2,001~2,500 g の未熟児7例では、臍帯血血漿中の α_2 -AP 活性は69.6 \pm 8.9 u/dl、抗原量69.8 \pm 9.7 u/dl で成熟児のそれらに比しほぼ同様の値であった。日齢1ではそれぞれ59.0 \pm 10.0 u/dl、60.2 \pm 9.1 u/dl とより低値であったが、日齢3で68.5 \pm 11.1 u/dl、65.6 \pm 11.3 u/dl、日齢7で77.8 \pm 12.2 u/dl、76.3 \pm 11.3 u/dl、生後2週間で85.6 \pm 18.8 u/dl、80.0 \pm 15.9 u/dl と漸次増加し生後1カ月で90.6 \pm 9.2 u/dl、91.0 \pm 13.8 u/dl と

成熟児のそれらとほぼ同様の値を示した。

出生体重1,501~2,000 g の未熟児5例では、臍帯血血漿中の α_2 -AP 活性は67.6 \pm 8.6 u/dl、抗原量68.3 \pm 6.5 u/dl で成熟児のそれらに比しほぼ同様の値であった。日齢1ではそれぞれ57.2 \pm 11.8 u/dl、56.8 \pm 5.2 u/dl とより低値であったが、日齢3で63.3 \pm 5.0 u/dl、62.6 \pm 5.7 u/dl、日齢7で64.1 \pm 6.7 u/dl、67.6 \pm 6.8 u/dl、生後2週間で72.5 \pm 7.5 u/dl、74.7 \pm 5.4 u/dl と漸次増加し、生後1カ月で77.8 \pm 9.8 u/dl、75.8 \pm 6.8 u/dl と出生時に比べ中等度の増加を示した。

出生体重780~1,500 g の未熟児9例では、臍帯血血漿中の α_2 -AP 活性は62.4 \pm 7.8 u/dl、抗原量63.6 \pm 7.6 u/dl で成熟児より若干低値であった。日齢1ではそれぞれ56.1 \pm 9.3 u/dl、55.8 \pm 7.4 u/dl とより低値であったが、日齢3で64.1 \pm 9.8 u/dl、62.1 \pm 9.0 u/dl、日齢7で64.4 \pm 9.3 u/dl、67.5 \pm 7.0 u/dl、生後2週間で69.6 \pm 5.9 u/dl、66.6 \pm 6.4 u/dl と漸次増加し生後1カ月で65.5 \pm 13.7 u/dl、66.6 \pm 12.8 u/dl と出生時に比べ軽度の増加のみであった。

これらの未熟児は在胎30週から38週のものであった。出生直後の α_2 -AP 活性及び抗原量は出生体重の低いもの程、ともに低下している傾向にあったが、1,000 g 以上の例では活性、抗原量とも50 u/dl 以下のものはなかった。ただ経過を追えなかったが、在胎25週で出生体重774 g と30週で664 g の極小未熟児2例では、 α_2 -AP 活性はそれぞれ45 u/dl、50 u/dl で、又、抗原量は40 u/dl、45 u/dl と明らかに低値であった。

出生後経過を追得た未熟児で、2,000 g 以上の群は1カ月後 α_2 -AP 活性は90.6 \pm 9.2 u/dl、 α_2 -AP 抗原量91.0 \pm 13.8 u/dl で成熟新生児のそれらとほとんど差異はなかったが、1,501~2,000 g の群では77.8 \pm 9.8 u/dl、75.8 \pm 6.8 u/dl、1,500 g 以下の群では65.5 \pm 13.7 u/dl、66.6 \pm 12.8 u/dl と出生体重の低いほど増加傾向は少なかった。しかし、いずれの群においても、出生直後から経目的経過において α_2 -AP 活性と α_2 -AP 抗原量の比は0.8~1.2で、0.5以下の例はなかった。従って、これら検索例では在胎期間が少なく、出生体重が低い未熟児でも、 α_2 -AP はその成熟度に応じて産生され、 α_2 -AP の質的異常はとくにないものと推察された。

新生児期には肝の未熟性ならびにビタミンK欠乏により、プロトロンビン(第II因子)、第VII因子、第IX因子および第X因子の活性が生理的に低下し、これらの低下度は新生児出血症の発現とも関連することはよく知られてきたところである。教室でも新生児期の凝固因子の消長について検索を重ね、II、VII、IXおよびX因子は生直

後、成人の1/2~1/3に低下しているも成人値に達するのは、VII 3カ月、X 7カ月、II 9カ月でIXは1年と最も遅延することを観察してきた^{27)~31)}。

これに対し、AT-III、プロテイン C などの凝固抑制物質の生後の推移については殆ど知られていない。線溶物質については臍帯血漿中のプラスミノゲン量は成人値の約1/2であると報告されているが³²⁾、その後の消長は明かでない。今回の著者の成績では、成熟新生児の α_2 -APは生直後成人のほぼ2/3の値を示しているの、新生児期 α_2 -APとプラスミノゲンとはほぼ対応して産生され、線溶系は平衡状態を保っていると考えられる。 α_2 -APは生後1カ月で成人値に達することを観察したが、 α_2 -APは肝では急速に合成が進行するものと思われる。同じく肝で合成される、II、VII、IX、Xなどの凝固因子もその合成速度はそれぞれ異なっているが、 α_2 -APはこれらの因子に較べてもその生合成が急速であることは意義は不明であるが本因子の特徴として興味深い。

結 論

成熟児および未熟児の生後1カ月までの α_2 -AP活性および抗原量の推移を検索した。

1. 成熟児50例の臍帯血漿中の α_2 -AP活性は 66.8 ± 10.1 u/dl 抗原量はEIA法で 66.7 ± 9.6 u/dl、ELISA法で 67.6 ± 8.8 u/dlであった。日齢1で、活性 59.5 ± 8.8 u/dl、抗原量 61.3 ± 7.1 u/dlと 60.8 ± 9.2 u/dlでより低下したが、その後漸次増加し、生後1カ月で活性量 96.2 ± 8.3 u/dl、抗原量 99.2 ± 7.1 u/dlと 97.7 ± 8.0 u/dlではほぼ成人値に達した。

2. 出生体重2,001~2,500gの未熟児7例では臍帯血漿中と日齢1の α_2 -AP活性、及び抗原量は成熟児とほぼ同様の値であった。その後漸次増加し生後1カ月で α_2 -AP活性 90.6 ± 9.2 u/dl、抗原量は 91.0 ± 13.8 u/dlと成熟児とほぼ同程度の増加を示した。

出生体重1,501~2,000gの未熟児5例では臍帯血漿中と日齢1の α_2 -AP活性、及び抗原量は成熟児より若干低値であった。その後漸次増加し、生後1カ月で α_2 -AP活性は 77.8 ± 9.8 u/dl、抗原量は 75.8 ± 6.8 u/dlと出生時に比べ中等度の増加を示した。

出生体重1,500g以下の未熟児9例では臍帯血漿中と日齢1の α_2 -AP活性、及び抗原量は成熟児より若干低値であった。その後も同程度の推移で生後1カ月で α_2 -AP活性 65.5 ± 13.7 u/dl、抗原量 66.6 ± 12.8 u/dlと出生時に比べ軽度の増加のみであった。

本論文要旨は第13回産婦人科・新生児血液研究会及び第33回未熟児新生児学会に於て発表した。

文 献

- 1) **Moroi, M. and Aoki, N.:** Isolation and characterization of α_2 -plasmin inhibitor from human plasma. *J. Biol. Chem.* 251: 5956-5965, 1976.
- 2) **Koie, K., Kamiya, T., Ogata, K., Takamatsu, J. and Kohakura, M.:** α_2 -plasmin inhibitor deficiency (Miyasato disease). *Lancet* II: 1334-1336, 1978.
- 3) 上辻秀和, 吉岡 章, 高瀬俊夫, 三上定昭, 飯田泰子, 塚田周平, 福井 弘: 先天性 α_2 -antiplasmin欠乏症の1家系3症例. *臨床血液* 22: 1160-1167, 1981.
- 4) **Kluft, C., Vellenga, E., Brommer, E.J.P. and Wijngaards, G.:** A familial hemorrhagic diathesis in a Dutch family: an inherited deficiency of α_2 -antiplasmin. *Blood* 59: 1169-1180, 1982.
- 5) **Miles, L.A., Plow, E.F., Donnelly, K.J., Hougie, C. and Griffin, J.H.:** A bleeding disorder due to deficiency of α_2 -antiplasmin. *Blood* 59: 1246-1251, 1982.
- 6) **Knot, E.A.R., Ten Cate, J.W., Lamping, R.J. and Gie, L.K.:** Functional characterization and metabolism in a heterozygote deficient patient. *Thromb. Haemostas.* 55: 375-378, 1986.
- 7) 池松正次郎, 福武勝幸, 羽田雅夫, 福江英尚, 藤巻道男, 福武勝博: 第24回プラスミン研究会報告集. p 115-119, 1984.
- 8) 山中恒夫, 青木延雄: 肝硬変における plasmin inhibitor の動きと t-AMCA. 第19回プラスミン研究会報告集. p 64-71, 1979.
- 9) **Aoki, N. and Yamanaka, T.:** The α_2 -plasmin inhibitor levels in liver diseases. *Clin. Chim. Acta* 84: 99-105, 1978.
- 10) 高橋芳右, 花野政春, 滝沢慎一郎, 帯刀 亘, 布施一郎, 佐藤 健, 和田 研, 柴田 昭: 播種性血管内凝固症候群(DIC)の経過にともなうプロテインC, アンチトロンビンIII, α_2 プラスミンインヒビター, プラスミノゲンおよび von Willebrand 因子の変動. *臨床血液* 29: 336-343, 1988.
- 11) 三木弘彦: 網脈静脈閉塞症に対する血中 α_2 -Plasmin Inhibitor 指標による有効な繊維素溶解療法の検討. *日本眼科紀要* 38: 1442-1446, 1987.

- 12) 武内吉彦, 神吉博子, 足立豊彦, 市川正裕, 上辻秀和, 福井 弘: 正常新生児臍帯血における線溶阻止因子について. 小児科臨床 34: 1003-1007, 1981.
- 13) 三浦義雄: α_2 -Plasmin Inhibitor の産科領域における臨床的意義についての研究. 日医大誌. 53: 258-270, 1986.
- 14) 塚田周平: α_2 -Plasmin inhibitor に関する研究. 第2報 正常小児各年齢群における α_2 -Plasmin inhibitor 活性及び抗原量. 奈医誌. 36: 78-89, 1985.
- 15) Goldman, H.I. and Deposit, F.: Hypoprothrombinemic bleeding in young infants. Am. J. Dis. Child. 111: 430-432, 1966.
- 16) Hath-away, W.E., Mull, M.M. and Pechet, G.S.: Disseminated intravascular coagulation in the newborn. Pediat. 43: 233-240, 1969.
- 17) Markarian, M., Githens, J.H., Rosenblut, E., Fernandez, F., Jackson, J., Bannen, A.E., Lindley, A., Lubchenco, O. and Martorell, R.: Hypercoagulability in premature infants with special reference to the respiratory distress syndrome and hemorrhage. Biol. Neonate 17: 84-97, 1971.
- 18) Gross, S.J. and Stuart, M.J.: Hemostasis in the premature infant. Clin. Perinatal. 4: 259-304, 1977.
- 19) 松岡宏明, 橋本憲治, 金廣照美, 杉本充彦, 高瀬俊夫, 三上貞昭, 福井 弘: 2種の異種抗体を用いたELISAによる α_2 -アンチプラスミン抗原量の測定. 奈医誌. 40: 264-270, 1989.
- 20) 浅井正樹, 遠藤 武, 佐藤久美子, 児玉隆成, 中島正三, 中野 茂, 高木 明, 浅井紀一: α_2 -プラスミンインヒビター測定用改良キットの検討. 臨床検査 27: 933-937, 1983.
- 21) Laurell, C.B.: Quantitative estimation of proteins by electrophoresis in agarose gel containing antibodies. Anal. Biochem. 15: 45-52, 1966.
- 22) 福井 弘, 喜多悦子: 新生児の凝固機構. 周産期医学 3: 709-720, 1973.
- 23) Müllertz, S. and Clemmensen, I.: The primary inhibitor of plasmin in human plasma. Biochem. J. 159: 545-553, 1976.
- 24) Collen, D.: Identification and some properties of a new fast-reacting plasmin inhibitor in human plasma. Eur. J. Biochem. 69: 209-216, 1976.
- 25) 白幡 聡, 中村外士雄, 椎木みどり: 新生児の凝血系. 臨床血液 28: 1065-1074, 1987.
- 26) 布施養慈, 柿沼三郎, 細野幸多, 棚倉正江, 布施梢: 周産期における血液線溶能測定の臨床的意義. 産婦血液 9: 35-38, 1985.
- 27) 三村良明: 新生児期のプロトロンビンに関する研究. I. 新生児臍帯血のプロトロンビン活性及びプロトロンビン抗原について. 奈医誌. 31: 343-353, 1980.
- 28) 吉川 昇: 小児期の凝固第VII因子に関する研究. 奈医誌. 38: 1007-1018, 1987.
- 29) 阪井利幸: 新生児期の第IX因子に関する研究. II. 新生児期における第IX因子凝固活性及び第IX因子抗原について. 奈医誌. 33: 99-107, 1982.
- 30) 三上貞昭, 松山郁子, 神吉博子, 沢井 遵, 高瀬俊夫, 松岡宏明: 乳児期における第IX因子活性及び抗原の推移. 奈医誌. 36: 287-290, 1985.
- 31) 沢井 遵: 第X因子の凝血的測定法に関する研究. II. 正常小児各年齢群における第X因子活性及び抗原量の推移. 奈医誌. 36: 90-100, 1985.
- 32) Gross, S.J. and Stuart, M.J.: Hemostasis in the premature infant. Perinatol. 4: 259-304, 1977.