

## 胆 汁 色 素 に 関 す る 研 究

## 第 2 編

## 各種黄疸疾患々者尿に於ける Glucuron 酸代謝に就いて

岡山大学医学部第一内科教室（主任：小坂教授）

物 部 大 成

〔昭和34年8月7日受稿〕

## 緒 言

前編に於いては機械性黄疸患者尿を用い、従来教室で発表された多くの直接 bilirubin 分割法により分離した塩型並びに ester 型直接 bilirubin に就き glucuron 酸との関係を Paper 並びに column chromatography により検討した。その結果塩型直接 bilirubin は glucuron 酸とは全く関係のない直接 bilirubin であつたが、ester 型 bilirubin 分割に於いては Billing 等の bilirubin glucuronide が所謂 ester 型 bilirubin とは別に分離された。そこで ester 型 bilirubin 分割中の所謂 ester 型 bilirubin と bilirubin glucuronide の分配状態を機械性黄疸のみならず他の黄疸疾患に就いても詳しく検討することは直接 bilirubin の本態として bilirubin glucuronide を提唱する Billing 等の説の可否を明らかにするに役立つものと考えられる。

## 実 験 方 法

## 1. 実験材料

## 1. 1. 粗天然 bilirubin 調製法

1週間以上 glucuron 酸製剤の投与を中止した黄疸疾患患者の尿を用い、岩田<sup>1)</sup>並びに坂本の方法<sup>2)</sup>に倣い調製した。即ち黄疸尿に硫酸安門を加え、bilirubin を沈澱させてから濾過し、濾紙上の残渣を飽和硫酸安門水で濾液が無色透明なる迄洗い、残渣を風乾し次いで methanol で抽出液が無色となる迄抽出を繰返す。methanol 抽出液を集め濾別減圧乾固し再び methanol に溶解し、不溶性塩類を濾別後、methanol を減圧乾固させ次いで chloroform で色素の溶出を認めなくなる迄洗滌すると残部に暗褐色粉末を得る。

## 1. 2. diazo 混液

前編に同じ。

## 1. 3. ester 型直接 bilirubin 調製法

坂本の ion 交換 chromatography<sup>3)</sup> により分離した。

## 1. 3. 1. 使用した Ion 交換樹脂及びそれらの conditioning

陰 ion 交換樹脂には Amberlite IR-4B, 陽 ion 交換樹脂には Amberlite IR C-50 を用いた。各樹脂は水を加えて湿式で乳鉢中で粉碎し、37°C の恒温器中で乾燥重量が一定となる迄充分乾燥後標準篩で粒度の等しいもの (100~60 mesh) を集め、数日水中で充分膨潤させた後 column につめ充分水洗後樹脂量の 20~30 倍量 (v/w) の 2 規定塩酸 (IR-4B は 1 規定塩酸) を 0.5 ml/min の速度で流し、次いで充分水洗後以下の方法で数回 ion 交換と再生を行い活性化して用いた。

## 1. 3. 2. Amberlite IR-4B

30 倍量 (v/w) の 1% 苛性曹達で充分洗滌後充分水洗し約 20 倍量の 2 規定食塩水で ion 交換を行つた後充分水洗、次いで約 30 倍量の 1% 苛性曹達で洗滌後充分水洗し ROH 型として使用した。

## 1. 3. 3. Amberlite IRC-50

30 倍量の 2 規定食塩水で ion 交換を行つた後充分水洗し、次いで 2 規定塩酸を 30 倍量流し、充分水洗後 HR 型として使用した。

## 1. 3. 4. ion 交換樹脂の用法

専ら ion 交換 chromatography<sup>4)</sup> によつた。樹脂は交換容量の約 3 倍量を使用した。column は上記の方法により活性化した樹脂約 20 g を一端に glasswool をつめた内径 1.8 cm の glass 管につめて作り、試料は粗直接 bilirubin を 10~20 mg % に蒸留水にとかしたもの約 100 ml を用いた。粗直接

bilirubin を先ず Amberlite IR-4B に吸着させ次いで蒸留水を 0.5 ml/min の速度で流すと、間接 bilirubin は樹脂に捕捉され、ester 型並に塩型直接 bilirubin は捕捉されず流出液中に現われる。この流出液を Amberlite IRC-50 に吸着させ、次いで蒸留水を前記の速度で流すと塩型 bilirubin は樹脂に捕捉され、ester 型 bilirubin はそのまま流出液に現われる。

## 2. 実験方法

### 2. 1. bilirubin の測定法

Jendrassik & Cleghorn 法<sup>5)</sup> に倣い測定した。総 bilirubin 量は試料 1 ml に生理的食塩水 1.5 ml, caffeine 混液 2 ml, diazo 混液 0.5 ml を加え、直接 bilirubin 量は同じく試料 1 ml に生理的食塩水 3.5 ml, diazo 混液 0.5 ml を加え 15 分後蒸留水を対照に濾光板 S<sub>53</sub> を用い Stufenphotometer にて濃度を求めて測定し、間接 bilirubin 量は両者の差により求めた。Pulfrich の Stufenphotometer はその吸光係数の目盛及び肉眼的感覚度等より、最も検討に適当な読みは 0.5 乃至 1.0 の間にあるので、濃度は大体この程度の読みになる様に適当に調製した。

### 2. 2. glucuron 酸の測定法

#### 2. 2. 1. Fishman 法<sup>6)</sup>

試料 3 ml を普通の 2 倍の共栓煮沸試験管 2 本にとり 0.2% naphthoresorcinol 液、濃塩酸各 2 ml を加え良く攪拌して密栓する。この試験管を煮沸水溶液中 (98°C) にて 1 時間 30 分加熱し、後 5°C の冷水中で 10~15 分間冷却する。冷却後加熱中生じた色素が溶ける迄攪拌し、95% ethanol 5 ml を各試験管に加え、更に toluene 8 ml を加えて再び密栓し紫色の色素を toluene 層中に抽出する為 1 分間強く振盪する。toluene 層を取り出し証明にするために 45 分間暗室に放置し、若し混濁が消失しなければ濾過し、巾 1 cm の cuvetts に移し盲検液を対照に濾光板 S<sub>57</sub> を用い、Stufenphotometer にて吸光度を測定し標準曲線から濃度を求めた。

#### 2. 2. 2. 0.2% naphthoresorcinol 液調製法

naphthoresorcinol は高価なため正覚の方法<sup>7)</sup> により naphthoresorcinol carbon 酸 barium から調製した。naphthoresorcinol carbon 酸 barium 20 mg に濃塩酸 0.3 ml を加えよく攪拌し、更に蒸留水 10 ml を加え加熱すると淡黄色透明な naphthoresorcinol 液を得る。

### 2. 2. 3. 盲検液

試料のかわりに蒸留水 3 ml を用い、上記測定法と同じ操作により得た。

### 2. 2. 4. 標準曲線

3 ml 中 5, 10, 20, 30, 40, 50  $\gamma$  の glucuron 酸を含む標準液を上記の方法で操作し盲検液を対照に吸光度を測定して求めた。但しこの間の濃度では吸光度との間に Lambert-Beer の法則に一致して直線が得られる。

## 実験成績並びに考按

機械性黄疸 4 例、急性肝炎 (細胆管炎型) 1 例計 6 例の黄疸尿を用い、ion 交換 chromatography により分離した ester 型 bilirubin 分割に就き ester 型 bilirubin に対する bilirubin glucuronide の分配状態を検討した。この場合肝機能所見と比較し、又経日的な変化を追求するために 24 時間尿を用いた。黄疸尿から諸検査に必要な量の ester 型 bilirubin を分離するためには血清直接 bilirubin 値 8~10 mg % 以上を必要とし、従つてそれより低値の多くの黄疸疾患に就き検討出来なかつた。又恢復時には尿中へ排泄される bilirubin 量が急速に減少するので、肝機能所見の改善による影響に就いても観察出来なかつた。ester 型 bilirubin 分割中の ester 型 bilirubin に対する bilirubin glucuronide の分配状態を知るには、分割中の bilirubin と glucuron 酸量とを測定し両者の分子数比から知る方法と、所謂 ester 型 bilirubin が alkali に対して安定であるに反して bilirubin glucuronide は非常に不安定であるという性質を利用し、alkali による加水分解後生じた間接 bilirubin 量の測定から求める 2 つの方法がある。この 2 つの方法に就き検討した。

### 1. ester 型 bilirubin 分割中の glucuron 酸量測定の見解

glucuron 酸量測定には Fishman の naphthoresorcinol 法を用いたが、分割液そのものを試料として用いると、glucuron 酸測定法中に含まれている塩酸加水分解のため分割中の bilirubin が 500~600 m $\mu$  に種々雑多な吸収の極大を有する反応生成物に変化し、570 m $\mu$  に於ける吸光度は著しく増大するので、このままでは誤差が大きく使用出来なかつた。そこで直接 bilirubin を加水分解し、生じた glucuron 酸を bilirubin 及びその加水分解物より分離し測定しようとした。一般に glucuronide は一規定塩酸中で 100°C 1 時間ですべて加水分解され、醋酸鉛

は色素を沈澱させるが glucuron 酸には何ら影響を及ぼさないので<sup>8)</sup>, 直接 bilirubin 水溶液に同量の 2 規定塩酸を加え, 1 時間 100°C に加熱し, 冷却後飽和醋酸鉛を色素が完全に沈澱する迄滴下し, 濾過後濾液を glucuron 酸測定に供した. この濾液の naphthoresorcinol 反応生成物の吸収曲線は 570 m $\mu$  のみに吸収の極大を有する単一の曲線で, 対照に用いた glucuron 酸の naphthoresorcinol 反応生成物の吸収曲線と略々一致した. 従つてこの濾液中には測定に際して殆んど障害物は存在しないものと考えられる. 次いで前処置としての塩酸加水分解並びに醋酸鉛による色素の除去が本来の glucuron 酸測定以外に加わるため如何なる影響を与えるかを検討した. 0.8, 1.6, 2.4, 3.2, 4.0 mg% の glucuron 酸水溶液に小牟田の方法で分離した Glucuron 酸反応陰性の ester 型直接 bilirubin を 2, 4, 6, 8, 10 mg% になる様各々加え, その 5 ml に 2 規定塩酸を同量加え 100°C 1 時間加熱し冷却後飽和醋酸鉛を色素が沈澱する迄加え, 次いで濾過し濾液を補正して glucuron 酸測定に供した. この場合上記の bilirubin の濃度の範囲では色素を沈澱させる飽和醋酸鉛の量は 0.8—2.0 ml で, そのため最終液は各 12 ml に補正した. この補正液中に含まれる glucuron 酸の量は最初の glucuron 酸の濃度 0.8, 1.6, 2.4, 3.2, 4.0 mg% に対して 3 ml に各 10, 20, 30, 40, 50 $\gamma$  含まれている. 対照としては 0.8, 1.6, 2.4, 3.2, 4.0 mg% の glucuron 酸水溶液 5 ml に蒸留水を加えて各 12 ml として用いた. 以上の操作により glucuron 酸の回収率を求めてみると, Table I に見られる如く 94—106% であり測定にあたり大

Table 1. The recovery of glucuronic acid

Bmg%	Gmg%				
	0.8	1.6	2.4	3.2	4.0
2	98	96	94	100	99
4	94	97	98	102	100
6	100	101	98	94	105
8	104	106	106	105	106
10	106	104	105	106	103

G...Glucuronic acid Concentration  
B...Bilirubin concentration

した誤差のない事が分つた. 然し bilirubin の濃度が大となるにつれて回収率は 100% 以上となり一般に高くなる傾向があつた

2. glucuron 酸量より求められた ester 型 bilirubin 分割中の全 ester 型 bilirubin に対する bilirubin

Table 2. The molar ratio of glucuronic acid to bilirubin in the ester form bilirubin fraction separated by ion-exchange chromatography

Name Date	Y. T.	I. I.	M. K.	Y. M.	H. I.	K. Y.
7/VII 1957	0.60 (30%)	0.36 (19)	0.36 (22)	0.11 (8)	0.26 (32)	0.37 (28)
10	0.35 (22)	0.45 (30)	0.30 (13)	0.10 (17)	0.44 (14)	0.32 (19)
13	0.36 (18)	0.30 (23)	0.45 (28)	0 (0)	0.36 (27)	0.34 (26)
16	0.32 (24)	0.40 (25)	0.27 (20)	0.15 (11)		0.47 (29)
26	0.44 (33)	0.27 (32)	0.53 (22)	0.21 (12)		0.25 (19)
28	0.45 (25)	0.32 (18)		0 (0)		0.36 (13)
1/VIII 6	0.36 (27)			0.13 (6)		0.38 (28)
Average	0.43 (27)	0.35 (25)	0.38 (21)	0.11 (9)	0.35 (24)	0.35 (23)

( ) ...The per-centage of alkali labile bilirubin hydrolysed to indirect reacting bilirubin by N/10 NaOH solution in the ester form bilirubin fraction

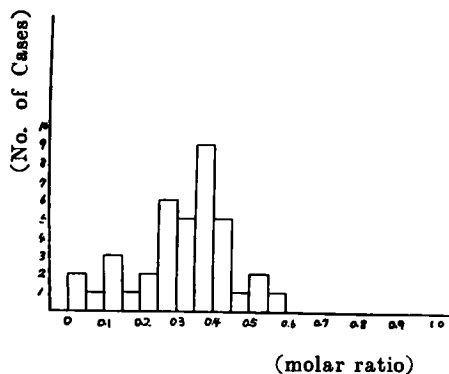
Table 3. Liver functions.

Name, Year, Sex	Y. Togawa, 70, ♀		I. Izumi, 69, ♂		M. Kii, 41, ♀		Y. Miyaguti, 41, ♂		H. Iima, 41, ♀		K. Yamamoto, 71, ♀	
	8/VII 1957	16/VII	19/VI 1957	15/VII	10/VII 1957	24/VII	15/VII 1957	28/VII	4/VIII	30/VII 1957	2/VIII	16/VIII 1957
Diagnosis	Mechanical jaundice		Mechanical jaundice (Cancer of bile duct)		Mechanical jaundice		Chronic hepatitis (Cholangiolitic form)		Acute hepatitis (Serum hepatitis)		Mechanical jaundice	
Function	Classification											
Bilirubin metabolism	Total bilirubin in serum (Direct)	15.72 (11.92)	22.09 (10.59)	12.49 (8.69)	29.05 (1420)	24.75 (18.00)	13.6 (11.3)	12.49 (8.6)	9.05 (7.4)	13.24 (11.35)	12.4 (10.5)	12.48 (11.3)
	Total bilirubin in urine (Indirect)	2.76 (0.76)			10.66 (0.89)	5.54 (0.94)	2.24					
Serum colloidal reactinns	Takata test	± ~ ±	± ~ +	±	± ~ ±	-	##	##	##	~ ±	-	-
	Gros test	±	±	± ~ +	±	±	##	##	##	±	-	±
	Weltman test	8	7	8	7	8	10	10	8	8		R7-8
	Thymol-turbidity test (Maclagen)	5.0	6.9	4.8	4.3	4.5	3.0	22.4	9.8	4.8	4.2	2.5
	Cobalt test	R3	R4	R5	R5	R5	R4	R9	R7-8	R5	R3	R5
	Scarlet Redl test	±	± ~ +	±	± ~ +	± ~ ±	1	5	4	2	3	1-2
Dye-excretion test	Bromsulphalein-re-tention test (%)									35		75
	Azonibin S test (%)									40 after 9hrs.		60
Transform-ation test	Hippuric acid synthesis (%)	48.6								16.2		
Enzymes	Serum alkaline phosphatase (Bodansky)	6.5	9.8	9.2	7.2	9.4	18.95	14.8	9.8	8.2		9.8
	Serum cholinesterase mg/ml	9.7	8.5	9.8	8.3		4.0	4.8	6.6	9.8		8.5

## glucuronide の分配状態

ester 型 bilirubin 分割中の bilirubin に対する glucuron 酸量の分子数比 (以下 G/B と記す) を求めてみると Table 2 に示す如く, 最低値 0, 最高値 0.6, 平均値 0.32 であり, Fig. 1 に見られる如くそ

Fig. 1 The relation between the molar ratio of glucuronic acid to bilirubin and the number of examined cases.



の殆んどが 0.26~0.45 を占め, それ以下又はそれ以上は極く一部に過ぎなかつた. Billing 等<sup>9)10)</sup> は直接 bilirubin を二つの色素, Pigment I 並びに II に分割し, Pigment I は間接 bilirubin の mono glucuronide であり, Pigment II はその diglucuronide であるとした. しかしながら両色素が如何なる割合で黄疸尿中に存在するかについては詳細な報告はなく, 唯 Pigment I は II より多く両者の割合は可成り動揺を示したと述べているに過ぎない. そこで以上の Billing 等の説を一応受け入れて上記の成績を検討してみると, ester 型 bilirubin 分割中の全 ester 型 bilirubin に対して bilirubin glucuronide は最低値 0, 最高値 30% から 60%, 平均値 16% から 32% の間にあり, 且つその間を動揺するものと考えられる. 各症例の肝機能検査成績は Table 3 に示す如くであり, この際えられた肝実質障害<sup>11)</sup> 程度を一~±, +, Ⅱ, Ⅲに大別し, これと上記分割中の bilirubin glucuronide, ester 型 bilirubin 量比 (以下 G/B と略す) との関係に就き検討してみると, Table 4 に見られる如く一~±のものに於いては最低値 0.25, 最高値 0.6, 平均値 0.38 を示した. Ⅱのものは 2 例に過ぎず又 Ⅲに始終した慢性肝炎例に一時的に現われたのみで, これを Ⅲに入れて総合して見ると最低値 0.2, 平均値 0.11 であつた. Ⅱ及びⅢのものに於いては一~±のものに比して G/B は最低値, 最高値並びに平均値共に

Table 4 The relation between the molar ratio of glucuronic acid to bilirubin and the liver function

Liver function \ %	0   5	6   10	11   15	16   20	21   25	26   30	31   35	36   40
~ ±			•••	•••	••••	••••	••••	•
+								
Ⅱ		•	•					
Ⅲ	••	•	••	•				

遙に低く, 明らかに G/B は肝機能と相関関係あるものと思われる.

## 3. ester 型 bilirubin に及ぼす alkali の影響

Billing 等は bilirubin glucuronide は 1/10 規定苛性曹達により数分間にして間接 bilirubin に加水分解されると述べているが詳しい検討にかけているので, alkali による加水分解の適当な条件を求めるために以下の実験を行つた. この場合 bilirubin glucuronide を分離して用うべきであるが, 上記の如く尿中の bilirubin glucuronide は一般に僅少で, しかも Paper 並びに column chromatography により分離している間に著明に減少するので充分な量の試料を得ることが出来なかつた. そこで glucuron 酸反応陽性の ester 型 bilirubin 分割そのものを使用した. glucuron 酸反応陽性の約 18 mg% の ester 型 bilirubin 水溶液に 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 規定の苛性曹達を同量加え, 5, 10, 15, 30, 60 分と放置した後, 各液を同規定の塩酸で注意して中和し更に液を補正してその間の間接 bilirubin 量を測定した. 結果は Table 5 に示す如く 0.1 規定の 15 分

Table 5. The indirect reacting bilirubin coesis (mg%) hydrolysed by alkaline in the ester form biliubin fraction

Minute \ NaoHN	0.05	0.1	0.2	0.3	0.4
5	0.55	0.84	0.92	0.98	0.84
10	0.70	1.10	1.15	0.90	0.86
15	0.83	1.16	1.12	0.87	0.74
30	0.86	1.04	1.06	0.80	0.60
60	0.80	0.98	0.97	0.77	0.55

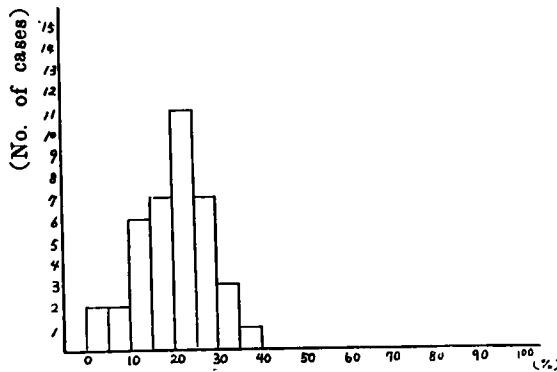
値並びに 0.2 規定の 10 分値が最高値を示した. そこで以下の実験に於いては 1/10 規定苛性曹達を同量

加え15分放置して加水分解を行った。

4. alkali 処理後生じた間接 bilirubin 量より求められた ester 型 bilirubin 分割中の全 ester 型 bilirubin に対する bilirubin glucuronide の分配状態

上記の方法で全 ester 型 bilirubin に対する bilirubin glucuronide の%を求めると、Table 2の( )に見られる如く最低値0%，最高値38%，平均値21%で、その殆んどが Fig. 2 に見られる如く16~30

Fig. 2. The relation between the per-centage of alkali-labile bilirubin and the number of examined Cases.



%を示した。次に肝障害程度との関係に就き検討すると Table 6 に見られる如く -~± のものに於いて

Table 6. The relation between the Per-Centage of alkali-labile bilirubin and the liver function

Molar ratio Liver function	0	0.06	0.11	0.16	0.21	0.26	0.31	0.36	0.41	0.46	0.51	0.56
	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.30	0.35	0.40	0.45	0.50	0.55	0.60
-~±					•	•••	•••	•••	•••	•	••	•
+												
++			•	•								
+++	••	•	••	•								

は最低値13%，最高値38%，平均値24%を示し、卅及び卅のものに於いては最低値0%，最高値17%，平均値9%を示し、前者に比して最低値、最高値並びに平均値共に低く明らかに肝機能との間に相関関係が見られた。

glucuron 酸量より求められる bilirubin glucuronide の分配状態は前述の如く尿中の bilirubin glucuronide の bilirubin に結合する glucuron 酸の分子数及びその分配状態により大きく変化し、

したがって大体の傾向を知るに過ぎない。一方間接 bilirubin 量から求める bilirubin glucuronide の分配状態は Billing 等が述べる如く bilirubin glucuronide がすべて上記の alkali 処理により加水分解されるとするならば正確な値を示すものと考えられる。しかしながら bilirubin と glucuron 酸との結合に関しても ester 結合<sup>10)12)13)</sup>以外に ether 結合<sup>14)</sup>を主張する人もあり、したがって alkali に対する態度もことなり、本測定法にも尚検討の余地あるものと考えられる。そこで以上の欠点を充分考慮に入れて両測定法から得られた結果を綜合し且つその最大公約数を求めると、尿中に現われる bilirubin glucuronide は全 ester 型 bilirubin に対して32%以下であり、殆んどが所謂 ester 型 bilirubin であると云い得る。又肝障害高度になると bilirubin glucuronide は ester 型 bilirubin に比して減少著しく且つ屢々消失したが、このことは上記の結論と共に glucuronide が bilirubin の直接化に第一次的な意義を有するとする Billing 等の説に疑いを抱かせるものとして注目し値するものと考えられる。

結 言

機械性黄疸4例、急性肝炎1例、慢性肝炎(細胆管炎型)1例計6例の黄疸尿を用い、坂本の ion 交換 chromatography 法により ester 型直接 bilirubin を分離し、その分割中の全 ester 型 bilirubin に対する bilirubin glucuronide の分配状態を検討し次の結果を得た。

1. Glucuron 酸量を測定してから計算に依り分配状態を求めてみると、
  1. 1. 全 ester 型 bilirubin に対して bilirubin glucuronide は最低値0%，最高値30~60%，平均値16~32%であった。
  1. 2. 各種疾患との関係に就いては症例数不足のため検討出来なかつた。
  1. 3. 肝機能正常又は肝障害極く軽度の症例に於いては最低値12.5~25%，最高値30~60%，平均値19~38%で、肝障害高度の症例に於いては最低値0%，最高値10.5~21%，平均値5.5~11%であった。
2. alkali による加水分解後生じた間接 bilirubin 量より求めると、
  2. 1. 最低値0%，最高値38%，平均値21%であった。
  2. 2. 肝機能正常又は肝障害極く軽度の症例に

於いては最低値13%, 最高値38%, 平均値24%で、肝障害高度の症例に於いては最低値0%, 最高値17%, 平均値9%であつた。

3. 以上の所見よりして黄疸尿中の直接bilirubinは塩型直接 bilirubin を除き殆んどが教室の所謂

ester 型直接 bilirubin であり、これに反し bilirubin glucuronide は極く一部で、しかも高度の肝障害時は所謂 ester 型直接 bilirubin に比して著しく減少し且つ消失するものと考えられる。

### 主要参考文献

- 1) 岩田：医学研究, 21, 1270 (1951)
- 2) Sakamoto, T. & Komuta, K.: Acta Med. Okayama 11, 81 (1957)
- 3) 坂本, 八幡：医学研究, 27, 373 (1957)
- 4) 本田, 垣花, 吉野：イオン交換樹脂。
- 5) Jendrassik, L. & Cleghorn, R. H.: Biochem. Z. 289, 1 (1937)
- 6) Fishman, W. H., Smith, M., Thompson D. B., Bonner, C. D., Kasdon, S. C. & Homburger, F.: J. Clin. Invest. 30, 7 (1951)
- 7) 正覚：未発表
- 8) 正宗：北海道医学雑誌, 15, 2824 (1937)
- 9) Billing, B. H.: Biochem. J. (1954) XXX.
- 10) Billing, B. H., Cole, P. G. & Lathe, G. H.: Biochem. J. 65, 774 (1957)
- 11) Popper, H. & Schffner, F.: liver Structure and Function.
- 12) Billing, B. H. & Lathe, G. H.; Biochem. J. 63, 69 (1956)
- 13) Talafant, E. Chem. listy, 50, 1329 (1956)
- 14) Schmid, R.: Science 124, 76 (1956)

## Studies on Bile Pigment

### Part 2. On the Glucuronic Acid Metabolism in the Urine of Various Biliary Jaundice

By

Taisei Monobé

Department of Internal Medicine Okayama University Medical School

(Director: Prof. Kiyowo Kosaka)

Using the urine obtained from four cases of mechanical jaundice, one case of acute hepatitis, and one case of chronic hepatitis, (cholangiolitis) to the total of six cases and isolating ester-type direct bilirubins by Sakamoto's ion-exchange chromatography, the author studied the bilirubin glucuronide distribution as against the fractions of the entire ester-type bilirubins; and obtained the following results.

1. When the distribution of bilirubin glucuronide is calculated on the basis of the quantitative determination of glucuronic acid:

a) The minimum value of bilirubin glucuronide to the entire ester-type bilirubin was zero per cent, the maximum 30—60 per cent, and the average 16—32 per cent.

b) As to the variation by different diseases it was impossible to determine definitely as the number of the cases studied was small.

c) In the case with normal liver function or with a minimal disturbance of the liver, the minimum value was 12.5—25 per cent; the maximum 30—60 per cent; and the average value was 17—38 per cent. In the case with advanced liver disorder the minimum value was

zero per cent; the maximum 10.5—21 per cent; and the average 5.5—11 per cent.

2. When the bilirubin glucuronide distribution is calculated from the indirect bilirubin content produced after hydrolysis by alkali:

a) The minimum value is zero per cent; the maximum 38 per cent; and the average was 21 per cent.

b) In the case with normal liver function or with a minimal disorder of the liver the minimum value was 13 per cent; the maximum 38 per cent; and the average value 24 per cent; while in the case with far advanced disorder of the liver the minimum was zero per cent; the maximum 17 per cent; and the average 9 per cent.

3. From these findings it can be assumed that the direct bilirubins in the jaundice urine, with exception of basic direct bilirubin, belong mostly to what we call the ester-type direct bilirubin in our laboratory, while on the contrary the quantity of bilirubin glucuronide can be found only in a small percentage, and in the case of far advanced disorder of the liver it is sometimes extremely reduced and even disappears completely when compared with the quantity of the so-called ester-type direct bilirubin.

---