

## 診断技術の向上に関する研究グループのまとめ

分担研究者 大浦敏明  
研究協力者 中込弥男 日暮真 荻田善一  
岡田善雄 山根績 岩井和夫  
松本勇 山科郁男 成瀬浩  
須川 信 八神喜昭 松田一郎  
多田啓也 一色玄 鈴木義之  
岡田伸太郎

昭和56年2月7日(土)大阪市内島津製作所会議室において班会議を行い、昭和55年度の研究成果につき発表ならびに討議を行った。

### I. 染色体グループ

1) 中込らは染色体異常症モニタリングの診断上の問題点を、スクリーニングと精密な分析との2つの観点から検討した。まずスクリーニングに関しては見逃しと培養の不成功への対策が必要で、見逃しの内容としてはモザイクの見逃し、XおよびYクロマチン検査の信頼度の問題、構造異常の見逃しの3種があげられる。培養不成功に対しては培養技術の向上と、検体の一部を凍結保存し、必要に応じて培養を繰り返す方法がとられる。

分析精度の向上のためには、再採血の困難から検体の保存を、採血から無染色標本に至る種々の段階で考えなければならない。中込らは固定液中浮遊細胞は、 $-20^{\circ}\text{C}$ フリーザー中で6ヵ月程度の保存が可能で室温保存よりも安定なことを認めた。またプレパラートは、シリカゲル入り真空デシケーター保存で著しい保存性の改善を認めた。

分析精度向上の手段としては、螢光による定量的手法の応用と分染法の改良に新しい知見を得た。

2) 日暮らはモザイク型性染色体異常のスクリーニング法の検討を行った。性染色体異常は全新生児の0.3~0.5%といわれ、表現型は特異性が乏しく臨床診断が困難である。特にモザイク型においてそうである。161例の新生児について性染色質(X染色質およびY染色質)検査と核型分析を行い、YY個体のモザイク型スクリーニングにY染色質検査は有用であるが、X染色体異常のモザイク型スクリーニングにはX染色質検査は不適当であると考えられた。

### II. 基礎グループ

A. 組織細胞を試料とする遺伝性疾患の診断、保因者ならびに遺伝的異質性の診断法の開発

3) 荻田善一らは毛根による遺伝性疾患の系統的診断法の確立のため以下のような実験を行った。まず一本の毛根を用いる生化学的診断法に適した微量電気泳動法、放射性基質の混合による HGPRT および APRT 活性を検出するオートラジオグラム、蛍光基質による GM<sub>2</sub>-ガングリオシドーシス患者と保因者の診断、毛根を用いる染色体分析法の検討を行った。

4) 岡田善雄は色素性乾皮症 (XP) 細胞の相補性を研究し、紫外線誘発不定期 DNA 合成を指標とした場合、4NQO 誘発不定期 DNA 合成を指標とする相補性と一致することを見出した。また遺伝子工学的治療の一つとして、ターゲット細胞として亜急性硬化性全脳炎 (SSPE) 細胞を選び、ジフテリア毒素のフラグメント A を封入したリポソームで処理すると、リポソームと SSPE 細胞がよく融合し、フラグメント A が細胞内に注入されて SSPE 細胞のみが選択的に死亡することを発見した。

5) 山根績は細胞バンク設立の準備として、ジメチルスルフォキシドのロット差の細胞保存に与える影響、保存用培地に添加する血清の代用品としての牛血清アルブミンの有用性と継代培養の可能性を検討した。

#### B. 代謝産物による代謝異常症の診断法の開発

6) 岩井和夫は高速液体クロマトグラフによる尿中ビオプテリン誘導体の微量分析法を確立した。最近新生児マススクリーニングで、PKU として診断治療されている患者中に、テトラヒドロビオプテリン (BH<sub>4</sub>) 欠乏症が混在していることが明らかとなり、その早期診断法の確立が望まれているが、岩井らの方法はこの方面に大きく寄与するものである。

7) 松本勇は先天性アミノ酸および有機酸代謝異常症を自動的に診断するガスクロマト-質量分析計-コンピューター (GC-MS-COM) システムを開発し、実用化した。現在この方法で26種の疾患のルーチン分析が可能となった。また本法を用いて、3-ヒドロキシ-3-メチルグルタル酸 CoA 合成酵素欠損症を世界で初めて発見した。種々の疾患のヘテロ接合体の診断法も現在開発中である。

8) 山科郁男は複合糖質代謝異常症および類似疾患に関して以下の研究を行った。

a. アスパルチルグリコシラミン尿症のスクリーニング法として、アスパルチルグリコシラミンアミダーゼを尿に加えてインクベートし、生成する N-アセチルグルコサミンを定量する方法を考案した。

b. Lowe 症候群の皮膚線維芽細胞について、活性硫酸分解活性が患者で著しく亢進し、保因者はその約1/2の活性であった。この方法で出生前診断も可能と考えられる。

c. 複合糖質代謝異常症では一般に尿中アミノ糖の総量の顕著な増大を伴うので、尿の少量を試料としてグルコサミンとガラクトサミンの分別定量を行うスクリーニング法を確立した。

9) 成瀬浩らはフェニルケトン尿症と高フェニルアラニン血症との鑑別を目的として、重水素をラベルしたフェニルアラニンを用いてフェニルアラニン水酸化酵素の *in vivo* での活性を推測する方法を研究した。安定同位元素の少量を与えることは無害であるので、今後各種の高

フェニルアラニン血症について研究を進める予定である。

### Ⅲ. 産科グループ

10) 須川 信および 11) 八神喜昭は先天異常の出生前診断をさらに進めるために、羊水穿刺の安全性と羊水細胞分析の精度向上に関する研究を行った。一方、羊水診断に際して妊娠中期の穿刺が妊娠および胎児、あるいは新生児におよぼす影響を検討する必要がある、昭和52年以来継続している出生前診断児の長期追跡調査をまとめた。1980年末現在、羊水穿刺総数は1,322例に達し、適応の90%は染色体異常であった。最近の傾向としては、高齢妊婦に対する適応の増加と、中枢神経管欠損に対する適応の相対的増加が注目される。正診率は98.8%であったが、1979年、1980年の追加症例340例中には1例も誤診がなかった。今後の課題としてはfetoscopeの検討も考慮され、研究参加機関も来年度より増加する見込である。

### Ⅳ. 小児科グループ

12) 多田啓也らは近年例数が増加しつつある乳酸・ピルビン酸代謝異常の診断技術開発の一つとして、特に測定が困難とされていたピルビン酸カルボキシラーゼについて検討した。

従来は生検肝組織、培養皮膚線維芽細胞について酵素活性が測定されていたが、より採取容易な試料として末梢白血球が注目された。

しかし末梢白血球をそのまま検査材料に用いたのでは活性値が低く誤診を招き易いが、PHAで幼若化したリンパ球を用いると皮膚線維芽細胞の $\frac{1}{2}$ 、末梢白血球の約7倍の活性があり、十分に診断できることを示した。

13) 一色玄らはアリルスルファターゼAを純化し、それをを用いて抗体を作成し、免疫化学的手法を採用してこの酵素欠損による metachromatic leukodystrophy, multiple sulfatase deficiency について検討した。その結果、前者は本酵素の質的な異常による疾患であるが、後者は量的な異常によることを推定した。

14) 鈴木義之、15) 岡田伸太郎はいずれも羊水診断の精度向上を目指した研究を行った。

鈴木は NADH サイクリング系を利用して  $10^{-13}$  モル程度の微量のガラクトース定量法を開発し、Krabbe 病における欠損酵素ガラクトセレブロシダーゼ測定に応用して  $0.4 \mu l$  の試料で可能な方法を開発した。

岡田らは  $GM_1$ -ガングリオシドーシスにおける欠損酵素、酸性  $\beta$ -ガラクトシダーゼを組織化学的に染色し、単一培養細胞の酵素活性測定を試み、羊水診断に利用できることを確認した。

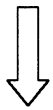
16) 大浦敏明らは新生児マススクリーニングで発見された高フェニルアラニン血症のなかに、食事療法の無効なテトラヒドロピオプテリン欠乏症 ( $BH_4$  欠乏症) が混在することから、その早期診断法を研究した。患者に  $BH_4$  を経口投与することにより  $BH_4$  欠乏症を診断し、さらにフェニルアラニン負荷試験における血中ピオプテリン活性を crithidia アッセイにより

測定し、その推移によりジヒドロピオプテリン合成酵素欠損症とジヒドロプテリジン還元酵素欠損症を鑑別できることを見出した。なお尿の高速液体クロマトグラフによるピオプテリン分析法を利用した診断法も検討中である。

17) 松田一郎らは培養リンパ球を利用した先天性代謝異常症の確定診断と株化リンパ球の細胞バンクを企図した。本年度はメープルシロップ尿症などの患者由来のリンパ球株の保存状況を報告し、このリンパ球を用いてチロジン血症診断の可能性を検討した。



**検索用テキスト** OCR(光学的文字認識)ソフト使用  
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



昭和56年2月7日(土)大阪市内島津製作所会議室において班会議を行い、昭和55年度の研究成果につき発表ならびに討議を行った。