

ガラクトース血症の新しい鑑別診断法

大阪市立小児保健センター 大浦 敏明
大阪環境保健協会 藤本 昭栄

目的：ガラクトース血症のスクリーニングに、行政的に定められているポイトラー法とともに、ペイゲン・ファージ法（P法）を併用するところが増加した。これに伴って増加する陽性および疑陽性例の簡便確実な鑑別診断法を開発する。

研究方法：ガラクトース血症には3型あり、血中にはガラクトース以外に、① galactose-1-phosphate uridyltransferase 欠損症（トランスフェラーゼ型）では Gal-1-P が増加し、② galactokinase 欠損症（キナーゼ型）では Gal-1-P は欠如し、③ uridine diphosphogalactose-4-epimerase 欠損症（エピメラーゼ型）では Gal-1-P と UDP-Gal とが増量し、それぞれパターンが異なる。P法のみではこれらの鑑別は不可能で、ポイトラー法と併用してもトランスフェラーゼ型の鑑別が可能なのである。

そこで血液濾紙より抽出した糖質を薄層プレートに展開し、蛍光剤で処理した後蛍光クロマトスキャナーで読めば、ガラクトース、Gal-1-P、UDP-Gal、乳糖、ブドウ糖の定性定量とパターン認識ができる。

実施法は下記の通りである。

- 1) 1/8 インチ disc 3枚を70% イソプロパノール 30 μ l で、1夜冷蔵庫内で抽出、その15 μ l を薄層上にスポットする。
- 2) 薄層はメルク HPTLC シリカ
- 3) 展開液
n-プロパノール 50
メチルアルコール 25
水 9.6 } 上昇法、2回
- 4) 4%リン酸に、2% O-アミノベンゼンズルホン酸を溶解した液を噴霧、120℃ 15分
- 5) 島津 CS-920 でスキャン
蛍光波長 313 nm, Filter No. 2
X: 15, Y: 100

研究結果：この方法はそれぞれの物質を個別に定量する煩を省き、1枚のプレート上に定性・定量ならびにパターン分析が可能である。この方法を用いて、トランスフェラーゼ型、キナーゼ型、エピメラーゼ型の患者血液と対照血液を検査したところ、正常血液とガラクトース血症相互の鑑別は容易であった。

したがってこの方法は、器具として蛍光クロマトスキャナーを要するが、ガラクトース血症の鑑別に有用なものとする。

ガラクトース血症Ⅲ型の新しいスクリーニング法

名城病院小児科 川村 正彦
名古屋市衛研 藤村 有信

ガラクトース血症Ⅲ型（4-Epimerase 欠損症）のスクリーニング法としては、この研究班会議で発表し、現在実用化されている Epimerase 酵素活性を直接測定する Epimerase test がある。今回は新たに血液濾紙上の UDP-galactose (UDP-gal) の微量蛍光定量法を開発した。本法は Epimerase 欠損症の裏からの確定診断法となる。

<測定原理>

UDP-gal が Epimerase により UDP glucose となるのでこれに UDP glucose dehydrogenase を作用させると UDP-glucuronate になる、この時 NADが NADHとなり蛍光を発するので、この蛍光を測定することにより UDP-glucose 量を知ることが出来る。

<試薬>

13mM NAD (ペーリンガー)	10 $\mu\ell$
Epimerase 原液 (20 $\mu\text{/m}\ell$) の $\frac{1}{100}$ 希釈液	
1M Tris-HCl Buffer pH 8.0	10 $\mu\ell$
UDP-glucose dehydrogenase (ペーリンガー)	
原液 (0.6 $\mu\text{/m}\ell$) の $\frac{1}{20}$ 希釈液	10 $\mu\ell$
合計	40 $\mu\ell$

変形固定した血液濾紙 直径3 mm 1コ

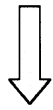
↓ 37°C 1時間 incubate

3 m ℓ H₂O を加える

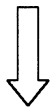
↓

NADHの蛍光を測定する

この方法で定量も出来るし半定量も出来る。正常値は UDP-galactose 0~2 mg/d ℓ であり、Epimerase 欠損症では異常値 (多分 10mg/d ℓ 以上……20~50mg/d ℓ) をとる。



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



目的: ガラクトース血症のスクリーニングに, 行政的に定められているボイトラー法とともに, ペイゲン・ファージ法(P法)を併用するところが増加した。これに伴って増加する陽性および疑陽性例の簡便確実な鑑別診断法を開発する。