

阪大小児科における過去10年間の 出生前診断のまとめ

分担研究者 藪内 百治

共同研究者 乾 幸治 豊 徹

西本潤史 岡田伸太郎

(大阪大学医学部小児科)

はじめに

有効な治療法がなく、予後不良な先天性代謝異常症を出生前に診断し、その発生を予防することが試みられてきた。このことは代謝異常の児をもつ両親が、次の妊娠では中絶を行ったりあるいは異常児出生の恐れから妊娠をあきらめている現状を改善する意味においては大きな成果をあげていると考えられる。

当小児科において過去10年間に21家系24症例の各種代謝異常症において出生前診断を行う機会を得たのでその結果と、また最近 GM2 ガングリオシドーシスにおいて α 鎖に特異的な新しい蛍光人工基質を開発し、出生前診断を行ったので報告する。

方 法

対象は表1に示すごとく、リビドーシス11症例、ムコ多糖症9症例、ムコリビドーシス2症

表1 Summary of Prenatal Diagnoses (1985)

| Subjects | Family | Cases | Normal | Affected |
|--------------------------------|--------|-------|--------|----------|
| Lipidoses (46%) | | | | |
| GM ₁ Gangliosidoses | 4 | 4 | 1 | 3 |
| GM ₂ Gangliosidoses | | | | |
| TSD | 4 | 5 | 3 | 2 |
| SD | 1 | 2 | 2 | 0 |
| Mucopolysaccharidoses (38%) | | | | |
| MPS I | 2 | 2 | 2 | 0 |
| MPS II | 5 | 6 | 5 | 1 |
| MPS IV A | 1 | 1 | 1 | 0 |
| Mucolipidoses (8%) | | | | |
| Galactosialidosis | 1 | 1 | 1 | 0 |
| I-cell Disease | 1 | 1 | 1 | 0 |
| Others (8%) | | | | |
| Methylmalonic acidemia | 1 | 1 | 1 | 0 |
| Adenosine deaminase def. | 1 | 1 | 1 | 0 |
| Total | 21 | 24 | 18 | 6 |

例, その他 2 症例の 21 家系 24 症例である。

羊水は妊娠 16~17 週において超音波下に約 20 ml 採取し, 1,000 rpm 5 分間遠心後上清を羊水とし, ペレットの細胞に, 20% 牛胎児血清を含む Eagle's MEM 培地を加えサスペンションし 5% CO₂ 下で培養した。

酵素測定は, 羊水, 培養羊水細胞のソウニケーションによるホモジュネートを酵素源として用い, 基質は, ガングリオシドーシス, ムコリピドーシス, ムコ多糖症 I においては 4-methyl-umbelliferyl 誘導体 (4MUG) を用い, ムコ多糖症 II, IVA, メチルマロン酸血症においてはアイソトープラベルの基質を用い, Adenosine Deaminase は UV 法にて, それぞれの方法にて測定した。

GM₂ ガングリオシドーシス診断の新しい蛍光人工基質 (4-methyl-umbelliferyl-6-sulfo-2-acetamide-2-deoxy-B-D-glucopyranoside, 4MUGS) は Inui ら¹⁾ の方法により作製した。また培養羊水細胞の Hexosaminidase (Hex) の DE-52 クロマトグラムも Inui ら²⁾ の方法により行った。

結 果

表 1 に示すごとく 21 家系 24 症例中, 正常と診断された症例は 18 例 (75%), 異常と診断されたものは 6 例 (25%) であった。罹患胎児は両親の希望にて人工中絶を行い, 剖検 (約 20 週) 胎児にて生化学的, 組織学的に確認した。リピドーシスの 5 例, ハンター症候群の 1 例にて, 電顕にてすでにリソゾームへの蓄積が見られた。

GM₂ ガングリオシドーシスの最近の 3 家系 3 症例 (表 2, case 1, case 2 : Tay-Sachs 病, case 3 : Sandhoff 病) における, 新しい蛍光人工基質 (4MUGS) を用いた結果を表 2 に示す。通常羊水においては, Hex A の % が低値のため熱変性法にて診断が困難であるが, この基質を

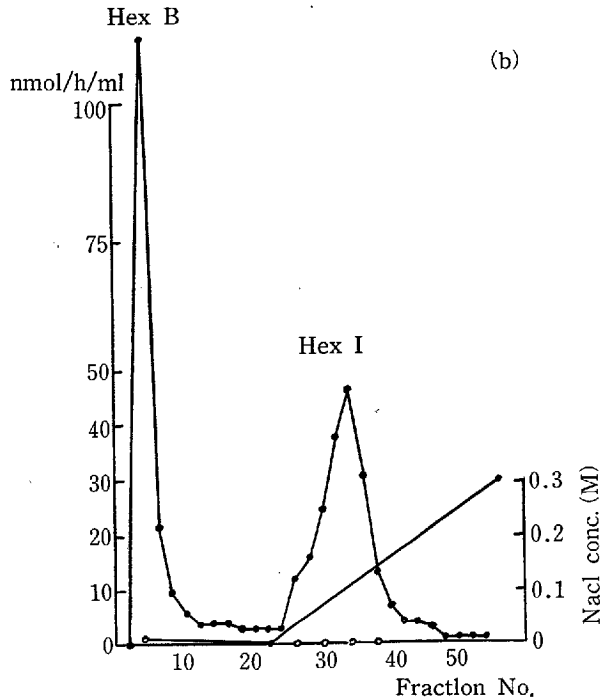
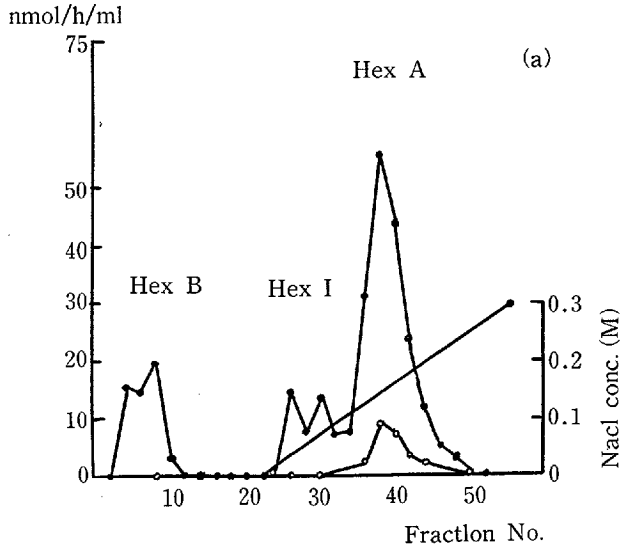
表 2 Prenatal Diagnosis for GM₂ Gangliosidoses in Three At Risk Pregnancies

| Samples Subject | Hexosaminidase | | |
|-------------------------------|----------------|--------|--------------|
| | toward 4MUG | Hex A | toward 4MUGS |
| <u>Amniotic Fluid</u> | | % | nmol/h/ml |
| case 1 | | | 14.0 |
| case 2 | | | 1.8 |
| case 3 | | | 13.8 |
| TSD (confirmed, n=8, mean±SD) | | | 2.00±0.98 |
| Controls (n=14, mean±SD) | | | 22.9±8.46 |
| <u>Cultured AFC</u> | nmol/h/mg | | nmol/h/mg |
| case 1 | 2060 | 53 | 580 |
| case 2 | 2280 | 15 | 4.2 |
| case 3 | 1430 | 78 | 388 |
| Controls (n=7, mean±SD) | 2710±480 | 67±6.9 | 451±81 |

AFC : Amniotic fluid cells.

用いることにより Tay-Sachs 病児の羊水では正常の約10%と低値を示し、1ステップで羊水においても簡便に診断できることが判明した。また培養羊水細胞においては正常の約1%であった。この基質により case 2 を罹患胎児と診断した。

上記の診断をより確実とし、4MUGS の Hex に対する基質特異性を明らかにするため、羊水培養細胞を用い、DE-52のカラムクロマトグラフィーを行った(図1, a, b, c)。正常細胞においてはこの基質では1つのピークのみ認められ(図1-a)、通常の4MUGの基質の



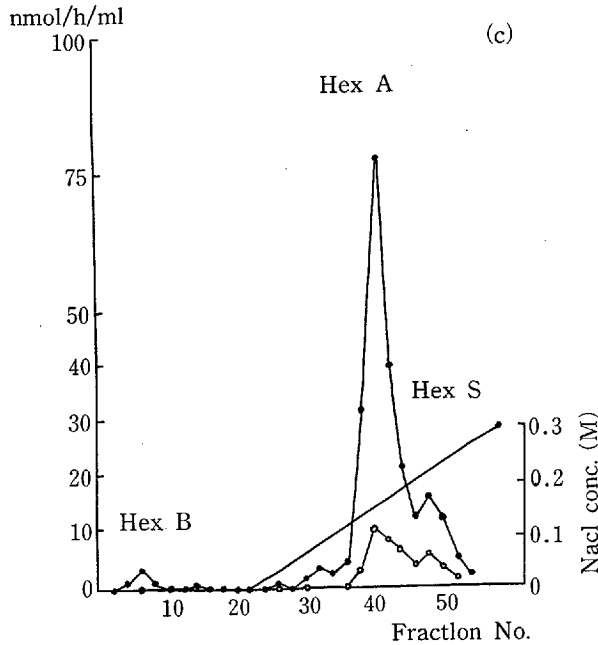


図 1

Hex A と一致していた。さらに TSD と診断した case 2 ではピークを認めず (図 1-b) TSD の保因者と考えられる case 3 では、Hex A の後方、Hex S に一致するピークが認められた (図 1-c)。以上より確実となり、またこの基質は Hex の α 鎖に特異的であると考えられた。

考 察

当小児科における出生前診断の内訳は、GM₁ ガングリオシドーシス 17%、GM₂ ガングリオシドーシス 29% と、リピドーシスが全体の 46% を占めた。ムコ多糖症は 9 症例で全体の 38% を占め、その中でもハンター症候群が 67% であった。

ムコリピドーシス (Galactosialidosis, I-cell 病) の 2 症例を含めるとリソゾーム病は全体で 92% となった。この成績を諸外国のもの^{31,4)} と比較したものを図 2 に示す。いずれの報告においてもリピドーシス、ムコ多糖症などいわゆるリソゾーム病が大多数を占めている。しかし当科ではリピドーシスでは、GM₁、GM₂ ガングリオシドーシスがすべてであり、またムコ多糖症ではハンター症候群が主となっている。これは当科では主にガングリオシドーシス、ハンター症候群を中心として研究を行ってきたためと考えられる。

出生前診断を行う際の注意点として以下の 2 点を考えねばならない。1 つは羊水採取に伴なう合併症、母体血の混入であるが、当科では過去 10 年間超音波下での穿刺で合併症は全く認められなかった。一方諸外国においては、最近在胎 8 週前後に絨毛上皮を取る方法で考案され、

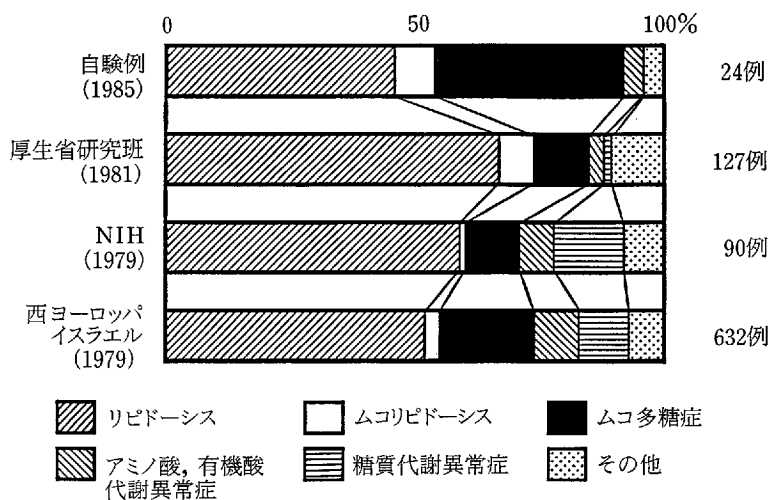


図2 先天性代謝異常症の出生前診断の比較

比較的に広く行われるようになってきている⁹⁾。この方法はより早期に診断が行える利点があり、わが国でも今後このような方法で行われるようになって考えられる。他の1つは酵素活性の測定法による誤診の危険性と、最近見出されてきているさまざまなバリエーションに対する診断法に関するものである。前者に関しては経験ある所で、文献上報告されている方法を用いれば誤診の可能性はほとんどない。一方後者に関する偽低下症、アクチベーター欠損症においては培養羊水細胞を用いた *in vivo* 測定法により可能となっている⁶⁾⁷⁾。また最近 GM₂ ガングリオシドーシスにおいて見出されている通常の基質(4MUG) に対して酵素活性をもつバリエーションに対してもここで使用した新しい基質(4MUGS) が有効であることが証明され、かつ出生前診断にも応用されている²⁾。さらに最近では、培養羊水細胞には発現されていないような酵素の代謝異常症も羊水細胞より DNA を抽出し、DNA レベルで診断しようという方向となっている⁸⁾。

出生前診断は、従来の異常代謝産物の同定、酵素活性の測定、新しい基質の開発、*in vivo* による代謝の測定、DNA レベルでの診断と大きく進歩してきている。しかしスフィンゴリピドーシスの治療という点に関しては、ほとんど有効な法がなく、今後の進歩が望まれる所である。

文 献

- 1) Inui, K. and Wenger, D.A. : Clin. Genet. **26** : 318~321, 1984.
- 2) Inui, K. et al. : Clin. Chim. Acta. (in press)
- 3) Galjaard, H. : Genetic Metabolic Diseases, Early diagnosis and prenatal analysis, Elsevier/North-Holland Biochemical press, Amsterdam, 1980.
- 4) 北川照男他 : 日本小児科学会雑誌, **86** : 2013, 1982.
- 5) Modell, B. : Lancet., **30** : 737~740, 1985.
- 6) Kihara, H. et al. : Pediatr. Res., **14** : 224, 1980.
- 7) Inui, K. et al. : Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., **80** : 3074, 1983.
- 8) Lidsky, A.S. et al. : Lancet., **9** : 549~551, 1985.



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



はじめに

有効な治療法がなく、予後不良な先天性代謝異常症を出生前に診断し、その発生を予防することが試みられてきた。このことは代謝異常の児をもつ両親が、次の妊娠では中絶を行ったりあるいは異常児出生の恐れから妊娠をあきらめている現状を改善する意味においては大きな成果をあげていると考えられる。

当小児科において過去10年間に21家系24症例の各種代謝異常症において出生前診断を行う機会を得たのでその結果と、また最近 GM2 ガングリオシドーシスにおいて鎖に特異的な新しい蛍光人工基質を開発し、出生前診断を行ったので報告する。