

# 酵素法による高オルニチン血症の スクリーニング法の検討

多 田 啓 也  
石 沢 志 信  
(東北大学小児科)  
藤 村 有 信  
(名古屋市衛生研究所)

## はじめに

血中オルニチンの特異的増量を来す疾患として脳回転状網脈絡膜萎縮症 (Gyrate atrophy of the choroid and retina) がある。本症は6~10才頃から夜盲や近視で発症し漸次視力障害が進行し、最終的には40~50才代で盲目となる疾患であり常染色体劣性の遺伝形式をとる。眼底所見は極めて特徴的であり、まず始めは周辺部に斑状、貝殻状、島状の萎縮巣が出現し進行するにつれてこれらは融合し地図状となり、あたかも脳表面を思わせるような像を呈する。1973年 Simell および Takki<sup>1)</sup>により本症患者の血中にオルニチンが増量していることが報告され、次いで Shih<sup>2)</sup>により ornithine aminotransferase (OAT) の欠損に基づくことが明らかにされた。

吾々は本症の病態生理を研究し<sup>3)~6)</sup>OATが生理的に網膜色素上皮、毛様体、虹彩に高い活性を有すること、眼ではオルニチン→プロリンの一方交通的代謝経路が存在することから、本症の病変が眼組織におけるプロリン欠乏によるものであろうと推測した。この仮設に基づき吾々はプロリン補充療法を試みた。既に眼底に高度の変性像を来した例では効果が認められなかったが、偶々発見した幼若例(4才)では5年間のプロリン治療により病変の進行が阻止されていると思われる成績が得られている。プロリン治療が有効か否かの判定はさらに長期観察が必要であるが、いずれにしろ本症の治療は眼底の網脈絡膜萎縮が進行する以前に開始すべきであらうと思われる。

高オルニチン血症のマス・スクリーニング法として、Guthrie<sup>7)</sup>のmicrobioassay法があるが、この方法ではシトルリン、アルギニン、オルニチンの総和として測定されるため、高オルニチン血症のスクリーニングには適当でない。

そこで本研究では藤村<sup>8)</sup>が開発した酵素法を用いて新生児マス・スクリーニングを試みた。

## 研究 方 法

測定原理：図1に示す如く、オルニチンはOATによりpyroline-5-carboxylateに転化

し、P5CRによりプロリンに転化する。P5CRの反応にはNADH共転しており、NADHの減少を蛍光光度計で測定する。

## 測 定 法

3 mmディスクの血液濾紙を試験管に入れ、血液固定化液（7% TCA溶液）10  $\mu$ lを濾紙に添加し十分に吸収させる。37°Cで約10分間放置後、酵素液 100  $\mu$ l添加し混合、37°Cで20分間インキュベーション、蒸留水を2.8 ml添加し蛍光強度を励起波長 340 nm、測定波長 450 nmで測定した。

## 試 薬

- (1) 蛍光強度調整液（蛍光強度調整液；22.5 nMキニーネ硫酸溶液）
- (2) 血液固定化液（7% TCA；2-メチル-2-プロパノール混液）
- (3) 酵 素 試 薬（オルニチン； $\alpha$ -ケトグルタル酸アミノ転移酵素，ピロリン-5-カルボン酸脱水素酵素，NADP<sup>+</sup>， $\alpha$ -ケトグルタル酸）
- (4) 酵 素 溶 解 液（0.2M PIPES緩衝液，pH 7.5）
- (5) 標 準 液（40  $\mu$ M オルニチン）

## 成績並びに考察

図2は正常新生児100例の血液濾紙並びに脳回転状網脈絡膜萎縮症々例の血液濾紙を用いて本法によりオルニチン濃度測定を行なった結果であり、両者の間には重なりは認められず、本法により高オルニチン血症（OAT欠損症）のスクリーニングが可能であることが示唆された。同時に新生児の血液オルニチンの正常値は5 mg/dl以下であることが示された。

次いで新生児 10,000例の血液濾紙を用いて高オルニチン血症のスクリーニングを実施した。10,000例の中 5 mg/dlを越えた例は8例認められた。これら症例につき生后1～3カ月時に血中オルニチンの測定を行った結果、いずれも正常範囲に復しており、新生児の一過性の上昇と考えられた。(表1)。

## 文 献

- (1) Simell, O. & Takki, K.: Raised plasma ornithine and gyrate atrophy of the choroid and retina. *Lancet* 1: 1030, 1973.
- (2) Shih, V. E., Berson, E. L., Mandell, R. & Schmidt, S. Y.: Ornithine ketoacid transaminase deficiency in gyrate atrophy of the choroid and retina. *Am. J. Hum. Genet.* 29: 98, 1977.
- (3) Hayasaka, S., Shino, T., Takaku, Y. & Mizuno, K.: Ornithine ketoacid aminotransferase in the bovine eye. *Invest. Ophthalmol.* 19:1457, 1980.

- (4) Tada, K., Saito, T., Hayasaka, S. & Mizuno, K. : Hyperornithinemia with gyrate atrophy : Pathophysiology and treatment. J. Inherit. Metab. Dis. 6 : 105, 1983.
- (5) Saito, T., Omura, K., Hayasaka, S., Nakajima, H., Mizuno, K. & Tada, K. : Hyperornithinemia with gyrate atrophy of the choroid and retina. A disturbance in De Novo formation of proline. Tohoku J. exp. Med., 135 : 395, 1981.
- (6) 多田啓也 : 高オルニチン血症, 新内科学大系, 年刊版 '84 - C ( 国分達郎也編 ) P 76 中山書店 ( 東京 ) 1984.
- (7) Talbot, H.W., Sumlin, A. B., Naylor, E.W. & Guthrie, R. : A neonatal screening test for argininosuccinic acid lyase deficiency and other urea cycle disorders. Pediatrics. 70 : 526, 1982.
- (8) Fujimura, Y., Matsuzawa, T., Kawamura, M., Tada, K. and Mizuno, K. : Mass screening of urea cycle diseases : A new mass screening of hyperornithinemia by using two coupling enzymes. Tohoku J. exp. Med., 141 : 257, 1983.

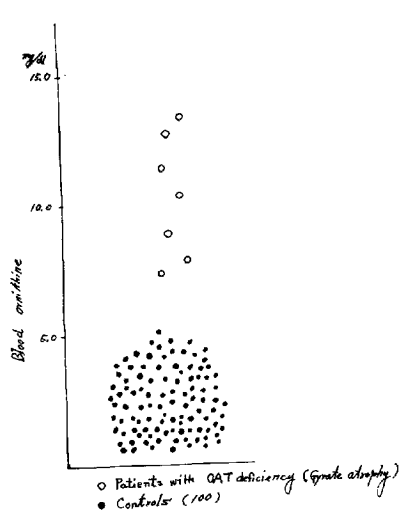


図2 血液濾紙による血中オルニチン測定成績

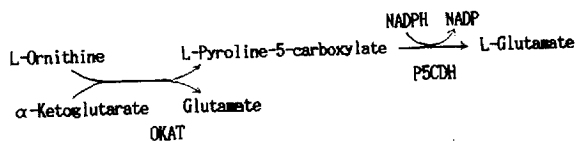
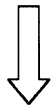


図1 スクリーニング法の原理

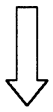
検体数 (血液濾紙)	10,000
5 mg/dl <	8
精密検査	Normal

表1 血液濾紙による血中オルニチンスクリーニング成績



## 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

血中オルニチンの特異的増量を来す疾患として脳回転状網脈絡膜萎縮症(Gyrate atrophy of the choroid and retina)がある。本症は6~10才頃から夜盲や近視で発症し漸次視力障害が進行し、最終的には40~50才代で盲目となる疾患であり常染色体劣性の遺伝形式をとる。眼底所見は極めて特徴的であり、まず始めは周辺部に斑状、貝殻状、島状の萎縮巣が出現し進行するにつれてこれらは融合し地図状となり、あたかも脳表面を思わせるような像を呈する。1973年 Simell および Takki により本症患者の血中にオルニチンが増量していることが報告され、次いで Shihらにより ornithine aminotransferase(OAT)の欠損に基づくことが明らかにされた。

吾々は本症の病態生理を研究しOKTが生理的に網膜色素上皮、毛様体、虹彩に高い活性を有すること、眼ではオルニチンプロリンの一方交通的代謝経路が存在することから、本症の病変が眼組織におけるプロリン欠乏によるものであろうと推測した。この仮説に基づき吾々はプロリン補充療法を試みた。既に眼底に高度の変性像を来した例では効果が認められなかったが、偶々発見した幼若例(4才)では5年間のプロリン治療により病変の進行が阻止されていると思われる成績が得られている。プロリン治療が有効か否かの判定はさらに長期観察が必要であるが、いずれにしろ本症の治療は眼底の網脈絡膜萎縮が進行する以前に開始すべきであろうと思われる。

高オルニチン血症のマス・スクリーニング法として、Guthrieらのmicrobioassay法があるが、この方法ではシトルリン、アルギニン、オルニチンの総和として測定されるため、高オルニチン血症のスクリーニングには適当でない。

そこで本研究では藤村らが開発した酵素法を用いて新生児マス・スクリーニングを試みた。