

Paigen 法を応用した galactosemia の鑑別診断

一色 玄*, 周山 逸人, 藤本 昭栄**

* 大阪市大小児科, ** 大阪市環境保健協会

研究目的

Galactosemia のマススクリーニングには Beutler 法以外に Paigen 法も用いられており, この方法により古典的な galactosemia 以外の galactose 代謝異常もスクリーニングされている。

Paigen 法に用いられている Q396 株大腸菌では, galactose のみならず lactose, gal-1-p. UDP-Galactose のいずれによっても生長帯が認められている。これらの生長帯にはそれぞれの特徴があり, galactose と lactose では辺縁の鮮明な円形生長帯を形成する。しかし, gal-1-p や UDP-Galactose の生長帯では円形生長帯の周囲に薄い“ぼけ”像が見られ, Paigen 法の結果を判定する際に苦慮することも多い。従来, 我々は薄層クロマトグラフィーによって検体中の糖を同定し, galactosemia の鑑別診断を行ってきた。しかし, マススクリーニングの現場では Paigen 法の手法のみによって鑑別するのがより簡便である。

Paigen 法における gal-1-p の生長帯周囲の“ぼけ”は alkaline phosphatase (以下 phosphatase) 前処理により galactose に変換させると消失するはずであり, この方法は galactose と gal-1-p が蓄積する uridyltransferase 欠損症に有用であると思われる。UDP-Galactose は phosphatase の作用をうけないので, UDP-Galactose の同定は不可能である。しかし, UDP-Galactose を nucleotide pyrophosphatase (以下 pyrophosphatase) により, gal-1-p に変換させて, その後, 更に phosphatase の処理で galactose にすると Paigen 法での“ぼけ”が消失するはずである。我々はこのような見地より以下のような検討を行った。

実験方法

血液濾紙 1/8 inch disc 1 個を Tris-HCl buffer (pH 7.4) 0.01 ml, 0.2 units pyrophosphatase と 37°C. 60 min incubation した後, Tris-HC buffer (pH 8.0) 0.01 ml, 0.5 units phosphatase とまた, 37°C 60 min incubation した。この方法で処理した disc を用いて Paigen 法を行った。同様に血液濾紙 disc を用いて phosphatase 処理のみを行い, Paigen 法を行った。

結 果

表 1

	galactose	gal-1-p	UDP-Galactose
無 処 理	“ぼけ”なし 生長帯：鮮明	“ぼけ”あり 生長帯く同モル galactose	“ぼけ”あり 生長帯く同モル galactose
phosphatase 前処理のみ	“ぼけ”なし 生長帯：鮮明	“ぼけ”あり 生長帯＝同モル galactose	“ぼけ”あり 生長帯く同モル galactose
pyrophosphatase 処理後 + phosphatase 処理	“ぼけ”なし 生長帯：鮮明	“ぼけ”あり 生長帯＝同モル galactose	“ぼけ”あり 生長帯＝同モル galactose

表 1 に示している様に galactose では pyrophosphatase の前処理の有無にかかわらず生長帯は鮮明な円を形成し、周囲に“ぼけ”は見られなかった。これに対し、gal-1-p では phosphatase のみの前処理で周囲の“ぼけ”が消失し、同モル濃度の galactose に相当する大きさの生長帯が見られた。UDP-Galactose では pyrophosphatase と phosphatase の両処理で初めて、周囲の“ぼけ”が消えて同一モル濃度の galactose と同じ大きさの生長帯を呈した。

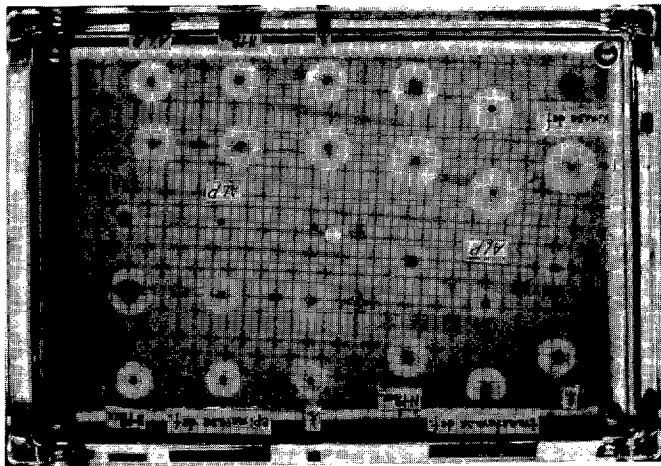
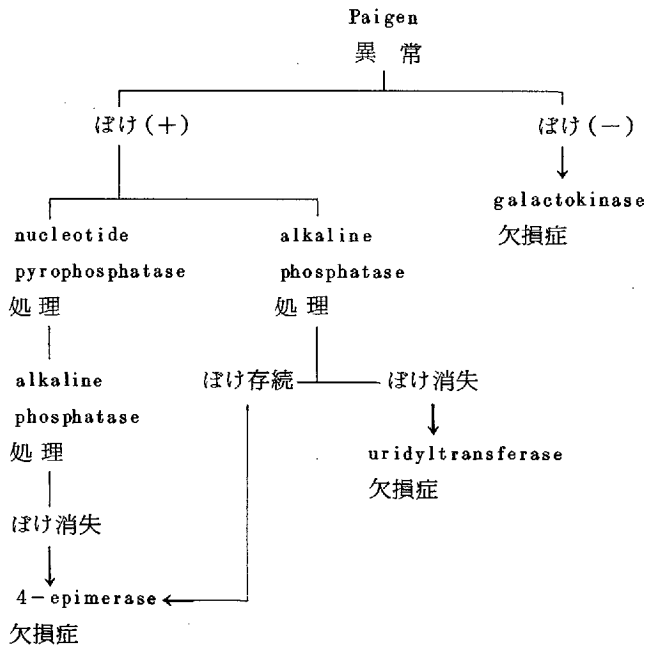
次に、未治療の uridyltransferase 欠損症例、epimerase 欠損症例、galactokinase 欠損症例の検体を用いて検討した。これらの症例では各々 gal-1-p、UDP-Galactose、galactose の増量が認められるものと思われる。表 2、写真 1 に示した様に galactokinase 欠損症例では前処理の有無に関係なしに、生長帯が鮮明に現れ、周囲の“ぼけ”が認められなかった。

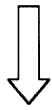
Uridyltransferase 欠損症例では未処理時に周囲の“ぼけ”があり、phosphatase の処理により、消失し、鮮明な生長帯になった。これは蓄積した gal-1-p が galactose に変化したことによると考えられる。更に、pyrophosphatase の処理を加えても生長帯の大きさの変化が認められなかった。epimerase 欠損症例では未処理の検体に周囲の“ぼけ”が認められ、pyrophosphatase の処理により、“ぼけ”が改善され、更に phosphatase 処理を加えると生長帯が鮮明化し、且つ、その大きさも増加し、同一モル濃度の galactose の生長帯の大きさを示し、これは蓄積した UDP-Galactose が本法の処理により galactose になったことを示すものと思われる。

結 論

本法により、Paigen 法の応用のみで検体中の UDP-Galactose の同定が容易に行いうる。この同定法によれば各マススクリーニング施設における galactosemia の鑑別診断が簡便に行われるものと思われる。

表 2.





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



研究目的

Galactosemia のマススクリーニングには Beutler 法以外に Paigen 法も用いられており、この方法により古典的な galactosemia 以外の galactose 代謝異常もスクリーニングされている。

Paigen 法に用いられている Q396 株大腸菌では、galactose のみならず lactose, gal-1-p, UDP-Galactose のいずれによっても生長帯が認められている。これらの生長帯にはそれぞれの特徴があり、galactose と lactose では辺縁の鮮明な円形生長帯を形成する。しかし、gal-1-p や UDP-Galactose の生長帯では円形生長帯の周囲に薄い“ぼけ”像が見られ、Paigen 法の結果を判定する際に苦慮することも多い。従来、我々は薄層クロマトグラフィーによって検体中の糖を同定し、galactosemia の鑑別診断を行ってきた。しかし、マススクリーニングの現場では Paigen 法の手法のみによって鑑別するのがより簡便である。Paigen 法における gal-1-p の生長帯周囲の“ぼけ”は alkaline phosphatase(以下 phosphatase)前処理により galactose に変換させると消失するはずであり、この方法は galactose と gal-1-p が蓄積する uridylyltransferase 欠損症に有用であると思われる。UDP-Galactose は phosphatase の作用をうけないので、UDP-Galactose の同定は不可能である。しかし、UDP-Galactose を nucleotide pyrophosphatase(以下 pyrophosphatase)により、gal-1-p に変換させて、その後、更に phosphatase の処理で galactose にすると Paigen 法での“ぼけ”が消失するはずである。我々はこのような見地より以下のような検討を行った。