

分科会報告

副課題 1.

心身障害の予防に関する遺伝生化学的・ 生理遺伝学的研究

東北大学医学部

荒川 雅 男

細分課題 1.

先天性代謝異常症の細胞学的診断に関する研究

分担研究者 岡田 善雄

色素性乾皮症についての細胞レベルでの診断技術、すなわち紫外線誘発不定期DNA合成のレベルを定量的に取扱う技術を改良することによって日本人家系約40組の相補性群を決定した。殆んどすべての家系はA群に属し、僅か1家系がD群という結果を得たがこのことは欧米の家系における分布との間に極立った差を示している。アフリカと日本以外のアジア、中南米の家系調査は未だ行われていないが人種的な差があることを推測させる。

バクテリオファージ T_4 由来の Endonuclease V を色素性乾皮症患者の細胞に注入することによりその細胞に欠損していた紫外線障害DNAの除去修復機構の第1ステップの活性が回復することを確定し、続いてセンダイウイルス (HVJ) を用いて色素性乾皮症細胞に T_4 由来の Endonuclease を直渉注入する技術を確立した。そしてこの酵素がヒトの細胞中でも酵素特異性を厳格に示し紫外線により障害を受けたヒトDNAの除去修復機構の第1ステップを代償しうることを認めた。

以上の事実は先天性代謝異常症の治療についての将来の展望に1石を投ずるものであり、また臨床所見の上からは区別し得ない色素性乾皮症にも相補性の上からは6群に分れ且つそれを区別することが可能であることを具体的に示し

たもので実際的には遺伝相談などの場に多大の貢献を果すものであろう。

細分課題 2,

上 滋 野 博

・ 前 半 部 先天性代謝異常症とその保因者診断法に関する研究

・ 後 半 部 羊 水 細 胞

分担研究者 荻 田 善 一

昭和大学大津東

微量の試料を用いて先天性代謝異常症の保因者を診断するために垂直式微量電気泳動法と蛍光微量分析法に於ける条件を検討し各々の方法を確立した。また微量電気泳動法を応用して毛根から酵素蛋白成分を分離することが可能であることを示した。

すなわち垂直式微量電気泳動法に関しては蛋白質の分子量の差によって分離し得る SDS 用グラジエントアクリルアミドゲルと、酵素活性の分離検出に適した TritonX-100 及び Ampholine を含んだアクリルアミドゲルを支持媒質とする方法と装置を開発し泳動分離条件を決定した。蛍光微量分析法に関しては診断技術の簡易化と基準化を目標とし、電気泳動法によって得られた酵素活性の分離像を蛍光基質を用いて検出する方法を確立した。また毛根を試料とし症患者或いは保因者の診断に適応させるための条件も併せて検討した結果、本本の毛根細胞の 1/5 の量で診断が可能であることを確かめた。

毛根を用いる診断法は伴性劣性遺伝の形式をとって発症する疾患の、それも特に保因者の検索に特長を発揮するものであり今後の G6PD 欠損症、Lesch-Nyhan 症候群などの診断や家系的検査などに応用されることが期待されるものである。

細分課題 3, 羊水中の羊水細胞の生理学的研究

分担研究者 倉倉 智 敬

羊水中の蛋白分画の特徴は比較的低分子のものが多く、しかしすべてが

半透膜的な選択透過機構だけでは説明出来ぬ例として分子量の小さい Haptoglobin は羊水中に移行せず何等かの生物学的機構が介在するらしいことなどを明らかにして発表してきたが昭和50年度は羊水中に存在する物質の起源を求めるために特に母児の血中に不均等に分布する物質を対象として検討を加えた。

その結果ヒト絨毛性エナドトロピン(以下HCGと略)は母体血及び尿で妊娠4カ月で最高値を示し末期には減少を示したが羊水ではこれとほぼ平行した変動を示した。臍帯血中のHCGの量は極めて少く母体血の0.1%内外に過ぎなかった。これに対してプロラクチンと β_2 ミクログロブリンとは羊水中にもっとも多く検出され母体血や胎児血では比較的少量しか検出されなかった。また α -フェトプロテインは胎児血中にもっとも多量に存在し母体血中には僅かしかなく羊水では両者の中間的な値を示した。

このような検討を続けることによって羊水成分の中で genetic marker として出生前診断に応用し得る物質を定めることが出来るし、各々の成分の量的な正常範囲を定めておくことによってそのような物質の異常を来す遺伝性疾患の Homozygote 或いは Heterozygote を決定する可能性を予測するものである。

細分課題4. 胎児血液検査

胎児血液検査に羊水細胞培養法に関する研究

研究機関 岡山大学

研究員 須川 信

分担研究者 須川 信

羊水穿刺によって得た羊水を試料として出生前診断を試みる場合、羊水に血球が混入すると組織培養中に容器壁に沈着し線維芽細胞の伸展を物理的に阻害する。このことを予防するため血性羊水を低張液で瞬間的に処理すると赤血球のみが選択的に破壊され以後の培養に好結果をもたらした。また羊水穿刺の場合に若干の血液が混入することは不可避であるがもしそれが母体由来のものでなく胎児由来の血液であれば場合によっては好ましくない結果をもたらす可能性のあることを否定出来ない。そのため血性羊水を採取し

た場合に即座に胎児性血色素の有無を判定し得るHb F簡易迅速測定法を開発した。

もし羊水穿刺時Hb F含量が15%を超える血性羊水を吸引した場合にはそのまま組織培養を行うことによって白血球を試料とする胎児核型分析法を考案した。

前年度に確立せしめ得た母体血清を利用しての羊水細胞培養法による出生前診断の症例を蓄積することによって培養条件を左右する諸因子を解析しこの方法を更に確実なものへと改良した。

形態学的な異常を伴う先天異常児に対する出生前診断の方法として胎表造影法を応用した結果、染色体異常による特有な系統的異常からE trisomy, ダウン症候群の患児であることを胎生期に診断し得た。

上に挙げた羊水細胞培養法の改良については現今の出生前診断法の多くが組織培養を応用したものであり出生前診断の精度を上げることは社会的要請であることからみて貴重な研究と云えよう。

細分課題 5.

先天性代謝異常症の診断と治療に関する研究

分担研究者 荒川 雅 男

研究協力者 多田啓也, 北川

照男, 鈴木義之,

藪内百治, 松田

一郎

先天性核酸代謝異常症の新しい型として本邦より初めて報告されたPRPP合成酵素欠損による低尿酸血症について更に検討を加えた結果この患者の赤血球に含まれる酵素は蛋白合成ホルモンやACTHの投与に対しin vivoにおいて特異的な反応を示し、脳波や生化学的所見も一時的ではあるが著明な改善を示した。この詳しいメカニズムについてはまだ不明の点が多いがステロイド投与による核酸代謝の亢進という従来から知られていた現象を解明するための

重要な知見と考えられる。また先天性代謝異常症の患児の診断に当ってはステロイド服用経験の有無をはっきりさせておくべきことを示唆する結果である。

Tay - Sachs 病の出生前診断には羊水培養細胞を用いるのが羊水上清或いは非培養羊水細胞を使用する場合に比して確実であることが明らかとなった。羊水培養細胞を用いた場合には単に胎児が正常か Homozygote かの区別に止まらず Heterozygote であつたとしてもその活性の度合を云々することが出来る。また出生前診断に際して組織培養を行う時間的余裕のない場合には羊水上清を用いて DEAE Cellulose カラムにより Hexosaminidase - A 分画を磷酸緩衝液で溶出する方法によって Homozygote であるか否かを鑑別することだけは可能と報告されている。

また Tay-Sachs 病に限らず従来日本で治療手段が少く難治性であるにも不拘、技術的な難しさから診断されることの少なかつた複合脂質・複合糖質関係の先天性代謝異常症について酵素活性測定法の改良に努めた結果、Sandhoff 病・Gaucher 病・GM₁ - gangliosidosis・Fabry 病・Metachromatic leukodystrophy・Globoid cell leukodystrophy I-cell 病・Fucosidosis - β - Galactosidase 欠損症などを含めて約 60 例の患者を同定することに成功している。更に測定法を一般化して Field survey を行うとすれば日本でのこの種疾患の発生頻度が明らかになると期待される。

Mucopolysaccharidosis II 型に分類される I - cell 病は詳細な生化学的障害部位が未だ明らかではないが生後間もない時期から精神運動性の発達遅延・肝腫大などを主な臨床症状とし治療法のないままに不幸な転帰をとる先天性疾患であるが同一家系中にこの患者が発見されている high risk pregnancy において妊娠第 14 週に出生前診断を行った結果 7 つの Lysosomal enzyme の活性が羊水細胞中で低下し羊水中で上昇していることを証明、後に人工流産された胎児組織により患者であることを確認した。この場合に胎児皮膚線維芽細胞に Cytoplasmic inclusion body が認められ病変が既に胎生期に進行していたことも新しい知見として報告されている。

同じ I - cell 病をテーマとした他の研究協力者により Lysosomal enzyme の内 β - Galactosidase と β - Glucosidase について血清と臓器と

における酵素の性質の異同が検討されている。それによると pH activity 曲線では血清の酵素の至適 pH は明らかに酸性側に偏位して居り、血清 Hexoaminidase も A と B のパターンに明らかな正常対照群との差が認められた。これらの結果からは従来言われてきたような何等かのメカニズムにより細胞の Lysosomal enzyme が血清中に遊離することによって成立する疾患とは言えぬこととなり、I-cell 病では血清と臓器の酵素そのものが異なっているという推測を否定し得ることとなった。このような検索の方法は I-cell 病のような発症機構の不明な疾患を解決するために基本的且つ重要な問題で従来の常識から全くかけ離れた発病機構を示唆するものであり先天性代謝異常症のカテゴリーを考える上で重要な知見と考えられる。

一方、GM₁-gangliosidosis, Sandhoff 病, Fucosidosis において臓器に蓄積することの知られている Glycoprotein を対象としその分解産物であるオリゴ糖の尿中排泄を検討し、将来不明の疾患についても尿中のオリゴ糖の分析によって原疾患を診断し得ることを期待しているグループもあり、既に GM₁-gangliosidosis II 型と β -Galactosidase 欠損症の合計 3 例について正常の場合と異った Mannose, Galactose, Glucosamine から成る糖が尿中に排泄されていることを確かめている。この方法は複雑な代謝異常の患者から苦痛を与えることなく得られる尿を使ってオリゴ糖の性状により、例えば非還元末端の糖の性質を調べることによって未知の酵素異常を推測することも出来る点など応用範囲も広く今後の発展が期待される。

細分課題 6.

先天性代謝異常症・分子病の発生予防に関する研究

遺伝生化学的研究

分担研究者 山村雄一

研究協力者 柴田進, 三輪

史朗, 宮地隆興

昭和 49 年度に確立せしめた「生きた赤血球内のヘモグロビン機能を指標と

して赤血球機能を解析する方法」が微量の試料，短時間の測定，簡単な操作であり乍ら極めて高い精度を有し微妙変化をもコンピュータで解析し得る点を利用して解糖系に酵素異常を有する溶血性貧血の赤血球機能を検討した。その結果，各種の酵素異常を有する溶血性疾患では赤血球の酸素運搬能はジホスホグリセリン酸（以下DPG）の蓄積する疾患（ビルビン酸キナーゼ欠乏症及びホスホグリセロキナーゼ欠乏症）では増加し，DPGの減少する疾患（ホスホフルクトキナーゼ欠乏症及びジホスホグリセリン酸ムターゼ欠乏症）では減少し，グルコース磷酸インメラゼ欠乏症では変化しないことが明らかとなった。

ビルビン酸キナーゼの症例についての解析では同一家系に属する患者同志の赤血球酸素運搬能はほぼ等しいが家系を異にすると酸素運搬能も異なることが知られた。これは家系による遺伝的異質性が赤血球機能にも反映することを示す貴重を見である。

ビルビン酸キナーゼ欠乏症患者についての検索の結果として，現在どの疾患で唯一の治療法とされている摘脾の効果は網状赤血球の増加に伴う赤血球酸素運搬能の増加によるものであることが明らかとなった。

先天性代謝異常症に現れる細胞機能の異常を検討する場合に赤血球酵素異常症や異常ヘモグロビン症は絶好の素材であり，生化学的な異常から論理的に臨床症状を解きほぐすことが出来る点において今後更に注目を集めることとなり。更に検索を進めることによって遺伝的異質性が分子生物学的に解明され，これらの疾患に対する治療の道が開けることそしてまた従来日本には少いとされていた赤血球酵素異常症とヘモグロビン異常症の頻度及び分布が明らかになる日も近いことと期待されよう。

↓
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
↓

色素性幹皮症についての細胞レベルでの診断技術, すなわち紫外線誘発不定期 DNA 合成のレベルを定量的に取扱う技術を改良することによって日本人家系約 40 組の相補性群を決定した。殆んどすべての家系は A 群に属し, 僅か 1 家系が D 群という結果を得たがこのことは欧米の家系における分布との間に極立った差を示している。アフリカと日本以外のアジア, 中南米の家系調査は未だ行われていないが人種的な差があることを推測させる。