

大阪市立大学医学部

多田啓也

研究目的

遺伝生化学の面的的進歩を背景として最近数多くの先天性代謝異常症が発見され、従来原因不明であった病態が漸次明らかにされつつある。しかしこれら先天性代謝異常症の多くは知能障害や痙攣等の中樞神経症状を呈し現在有効な治療法はなく多くは小児期に死亡するか或いは重症心身障害児として悲惨な人生を過すのが現状である。このような家庭ではまた患児が産まれたらという不安のために子供を産むことを断念したり、妊娠中絶を行なう場合が多い。反面、健康な子供を持ちたいという願望は切なるものがある。

本研究はかかる疾患を出生前に診断する方法を確立するものであり、これは不治の遺伝病の負荷のある親でも健康な子供を産むことを可能ならしめるという意味で患者にとって大きな福音であり、また不治の病を背負った不幸な子供の出生を未然に防ぐことをも可能とするものである。

研究方法

前に Tay-Sachs 病の患児を出産した既往のある妊婦 6 例を対象に、夫婦の希望により妊娠 16～24 週の間羊水穿刺を行い、得られた羊水細胞を培養し、羊水上清、羊水非培養細胞、羊水培養細胞についてそれぞれ O'Brien らの方法に基づき hexosaminidase 活性を測定した、DEAEセルローズ分画法および加熱法を用いて hexosaminidase A と B に分け、4-MU- β -glucosamine を基質として蛍光法により活性を測定し、A および B の総ヘキサミニダーゼ活性に対する % を求めた。

さらに診断后生れた子供の血清ヘキサミニダーゼ活性を測定し、羊水診断時のデータとの比較検討を行った。

また本症の homozygote, heterozygote および正常と判定した羊水を retrospective に分析し、段階的食塩添加による DEAEセルローズカラ

ムクロマトグラフィーによるヘキソサミニダーゼ溶出像の比較検討を行った。

研究成果ならびに考察

羊水上清、非培養羊水細胞、培養羊水細胞中のヘキソサミニダーゼ活性は表 1 に示す如くであり、6 例中 5 例は hexosaminidase A 活性は正常ないし heterozygote のレベルであり妊娠を継続しいずれも健康児を出産した。第 2 例は羊水中ヘキソサミニダーゼ A 活性が 8 % という低値を示し、非培養細胞、羊水培養細胞いずれにおいても A 活性は認められなかった。したがって胎児は恐らく homozygote であろうと判断し、両親の希望により妊娠 23 週で中絶を行った。流産胎児組織を検索した結果、脳に GM₂ ganglioside の著明な蓄積および肝・脳のヘキソサミニダーゼ A 活性の欠損が認められ、Tay-Sachs 病の homozygote であることが確認された、(詳細な生化学的、組織学的所見については昨年度報告済み)。

表 2 は羊水診断后生れた子供の血清ヘキソサミニダーゼ A 活性を測定した結果であり、症例 1, 3, 5 は正常、4, 6 は heterozygote と判定される。この値を retrospective に羊水診断時の値と比較してみると(表 1, 2 参照)、培養羊水細胞での値と極めてよく一致している。しかも培養羊水細胞のヘキソサミニダーゼ活性の正常値は羊水上清や非培養羊水細胞のそれと比べて総活性値が高く、しかも A 活性の正常範囲が狭い(60~80%)、したがって培養羊水細胞を用いる方法が本症の羊水診断に最も信頼度が高いと結論し得る。

図 1 は Tay-sachs 症の homozygote, heterozygote であると判断された羊水上清を用い、段階的食塩添加による DEAEセルローズカラムクロマトグラフィーによるヘキソサミニダーゼの溶出像を比較したものである。

homozygote では A 分画に相当する部分にはピークは認められず、heterozygote では正常と homozygote との中間を示し低い A 分画のピークが認められた。

培養羊水細胞を用いる方法が最も的確であるが、羊水細胞の培養が不成功の場合や時間的に培養の時日(通常 4 週間)を待てない場合には上述の DEAEセルローズカラムクロマトグラフィーによる hexosaminidase の溶出像

の分析が一つの診断法として有用と思われる。

要 約

Tay-Sachs 病の high risk pregnancy 6 例につき羊水診断を行い、1 例は homozygote 2 例は heterozygote、3 例は normal と判定された。homozygote と判定された 1 例は両親の希望により妊娠中絶が行われ、胎児を分析の結果本症であることが確認された。残り 5 例は妊娠を継続しいずれも健康な子供を出産した。これら子供の血清ヘキササミニダーゼ A 活性を測定し、羊水診断時の羊水血清、非培養羊水細胞、培養羊水細胞のヘキササミニダーゼ A 活性と比較した結果、培養羊水細胞の値が生れた子供の血清の値と最もよく一致した。したがって Tay-Sachs 病の羊水診断には培養羊水細胞の該酵素活性を測定する方法が最も信頼度が高いという結論を得た。

また本症の homozygote, heterozygote および正常の羊水を用い retrospective に hexosamidase を段階的食塩添加・DEAE-セルロースカラムクロマトグラフィーにより分析した結果、homozygote, heterozygote, 正常の間に明らかな溶出像の差が認められ、本法も Tay-Sachs 症の羊水診断に有用であることが示唆された。

発 表 論 文

樋上 忍、西沢 弘二、大村 清、杉本 浩一、
一色 玄、多田 啓也、鴨下 重彦 (1976)

Prenatal Diagnosis and Fetal Pathology of Tay-Sachs

Disease. Tohoku J. exp. Med., 118, 197.

表1 Hexosaminidase activity in amniotic fluid, uncultured cells, and cultured cells

Subject	Amniotic Fluid		Uncultured Cells		Cultured Cells	
	Total Hex. Activity ¹⁾	Hex. A %	Total Hex. Activity ²⁾	Hex. A %	Total Hex. Activity ²⁾	Hex. A %
1. O. H. (22w)	559	16	113	43	—	—
2. K. N. (20w)	568	8	55 ³⁾	0	1045	0
3. S. Y. (24w)	554	40	356	37	1240	67
4. K. N. (20w)	460	55	81	33	1192	34
5. S. M. (20w)	633	28	94	27	1360	73
6. U. F. (22w)	270	13	523 ³⁾	14	1207	40
CONTROL	320-650 (N=10)	10-60	50-420 (N=10)	30-50	1020-2580 (N=10)	60-80

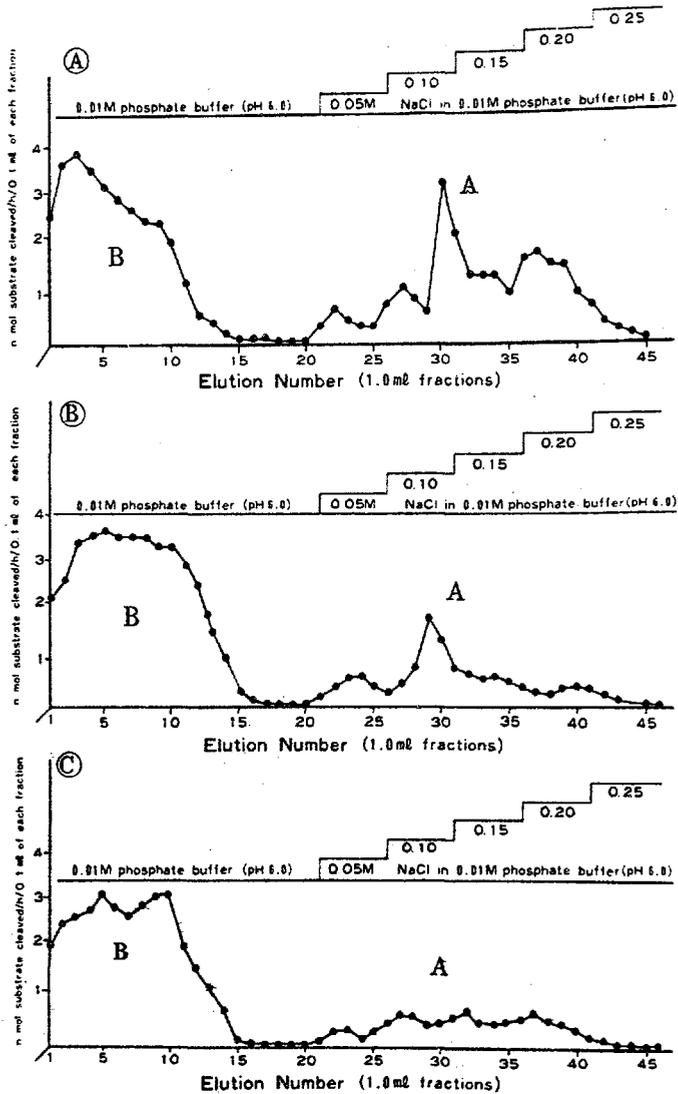
1) n mol substrate cleaved/h/ml

2) n mol substrate cleaved/h/mg protein

3) n mol substrate cleaved/h/0.1 ml homogenate

表2 Serum hexosaminidase A activity

Subject	Sex	Gestational age (w)	Birth Weight (g)	Age at examination (Y)	Hexosaminidase A %
1 Child	Male	40	4000	1 $\frac{7}{12}$	60
3 Child	Female	40	2920	1 $\frac{11}{12}$	64
4 Child	Male	36	2610	1 $\frac{2}{12}$	30
5 Baby	Male	40	3180	at birth	65
6 Baby	Female	37	2470	at birth	45
Control Child (1Y)					52~70 (N=10)



⊠ 1 Separation of hexosaminidase components of amniotic fluid on DEAE-cellulose chromatography in 0.01M sodium phosphate buffer, pH 6.0. A. Control fluid. B. Case 4 (heterozygote). C. Case 2 (homozygote).

↓ **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

遺伝生化学の画期的進歩を背景として最近数多くの先天性代謝異常症が発見され、従来原因不明であった病態が漸次明らかにされつつある。しかしこれら先天性代謝異常症の多くは知能障害や痙攣等の中枢神経症状を呈し現在有効な治療法はなく多くは小児期に死亡するか或いは重症心身障害児として悲惨な人生を過すのが現状である。このような家庭ではまた患児が産まれたらという不安のために子供を産むことを断念したり、妊娠中絶を行なう場合が多い。反面、健康な子供を持ちたいという願望は切なるものがある。