

5・5 光天性代謝異常症における尿中オリゴ糖の意義

大阪大学医学部

藪内 百治  
岡田 伸太郎  
豊 徹

ま え が き

遺伝性脂質代謝異常症はライソゾームに局在する加水分解酵素の遺伝的要因にもとづく異常のために、複合脂質の代謝が障害され、複合脂質が組織中に進行性に蓄積するため発症する、いわゆる蓄積症である。歴史的には、組織を分析して異常に増量を示す物質を発見同定し、その構造から代謝経路が推定され、ついでその代謝を司る酵素の異常を証明するといった順序で研究が進められた。多くの遺伝性脂質代謝異常症は単に一つの酵素の欠陥による、単一物質の代謝障害であると考えられてきた。しかし、代表的な遺伝性脂質代謝異常症であるGM1ガングリオシドーシスの1型および2型、GM2ガングリオシドーシスのうちでSandhoff病とよばれるもの、さらに、フコシドーシスについては、単なる糖脂質の分解が障害されているばかりではなく、同時に、糖蛋白の分解経路にも異常があると思われる現象が見出されつつある。すなわち、遺伝性糖蛋白代謝異常症としての性格をもあわせて有している。現在のところ、疾患の経過や臨床症状などの解析が、すべてと云ってよいほど脂質代謝異常という観点からなされてきたが、そのみでは不十分であることが今や明らかになりつつある。

このような糖蛋白代謝の研究については、まだあまり進んでいるとはいえない。世界的にはDawsonらのグループと、Wolfeらのグループが精力的にとり組んでいるが、まだその日は浅い。

GM1ガングリオシドーシス(全身性ガングリオシドーシス)1型の患者の肝に、ガラクトース、Nアセチルグルコサミンなどを含んだ糖鎖をもつ糖ペプチドが大量に存在すること、また脳にはガラクトース、Nアセチルグルコサミン、マンノースを構成成分とするオリゴ糖が蓄積されていることなどがTsay

および Dawson<sup>1,2)</sup> により報告されている。とくに前者は骨組織にある Keratan sulfate や、血液型活性物質の糖蛋白のそれぞれ一部分をなすと考えられる構造をもち、それらが代謝される過程での異常の存在が推定できる。また GM2 ガングリオシドーシス 2 型 (Sandhoff 病) では、脳における マンノースと N アセチルグルコサミンからなるオリゴ糖の蓄積が Tsay と Dawson<sup>2)</sup> により証明された。これらのオリゴ糖の非還元末端部分が、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ異常症である GM1 ガングリオシドーシスでは  $\beta$  結合のガラクトース、また  $\beta$ -N アセチルヘキソサミニダーゼ異常症の場合には  $\beta$  結合の N アセチルグルコサミンであることから、異常蓄積物質の構造が生体における酵素異常を一次的に反映しているものと考えられる。組織に蓄積されるオリゴ糖は、おそらく血中においてもかなりの異常濃度で存在し、さらには尿中にも多量に排泄されると思われる。Strecker ら<sup>3)</sup> は Sandhoff 病患者の尿から、正常人の 10 倍ないしそれ以上のオリゴ糖を抽出したと述べている。しかもそれは小さいものは 3 糖から、大きいものは 8 糖までの多種類のものに分類することができたという。

このような知見を基盤として、われわれは尿中に排泄されるオリゴ糖が生体内における代謝異常を反映するものと考え、種々の代謝異常症について検討を加えている。

### 研 究 方 法

正常人および患者から採取した尿は細菌の増殖を防止するためトルエンを添加し、処理の直前まで  $-20^{\circ}\text{C}$  で凍結保存した。

100 ml の尿を濾過して沈でん物を除去したのち、100% 硫酸アンモニウムで除蛋白した。上清に 2 容のピリジンを加えて溶液中の硫酸アンモニウムを沈でんさせ、上清を乾固させたのち適当量の水に溶解させて Bio-Gel P-6 ( $2.6 \times 100\text{ cm}$ ) のカラムにのせ、水で溶出分画した。そのさい、連続示差屈折モニターで屈折率の変化を図示し、オリゴ糖の有無を判定する助けとした。各溶出分画の含有糖量はフェノール硫酸法で測定した。そのうち、主要なオリゴ糖のピークと考えられるものについて、その一部を封管内にて 1 N 塩酸を加え  $100^{\circ}\text{C}$ 、6 時間で水解し、水素化ホウ素ナトリウムで還元したもの

をTFA化してガスクロマトグラフィーを用い、糖組成を検討した。

## 研 究 成 果

正常人からえられた尿には、ごく僅かのラクトースと、かなりの量のグルコースがみとめられるが、3糖またはそれ以上の糖鎖からなるオリゴ糖はほとんどみとめられなかった。その一例を図1に示す。表に示すように、蛋白を除いた場合、オリゴ糖と考えられる分画の重量は無視してさしつかえないほどであった。

つぎに、あきらかにGM1ガングリオシドと診断され、おそらく2型と考えられている患者の尿についてみると、かなりの量のオリゴ糖が排泄されていることがわかり、各分画の糖測定の結果からも、組成はかならずしも単一でない可能性が示唆された(図2)。その分離と構造決定については目下研究が進められている。

病態が不明な疾患例として、網膜にcherry-red spotをみとめ、やや粗な顔貌、軽度の骨変化を呈し、白血球の $\beta$ -ガラクトシダーゼ活性がきわめて低い、おそらく遺伝性代謝異常症と考えてよい疾患(仮に $\beta$ -ガラクトシダーゼ欠損症と仮称<sup>4)</sup>)について、患者尿を検討する機会があった。年齢のかなり異なる2症例について検討したが、相当高分子と思われるオリゴ糖がみとめられた点が共通しており、しかも、明らかに前述のGM1ガングリオシドとは異なった位置に溶出されていた。(図3, 4)。

## 考 察

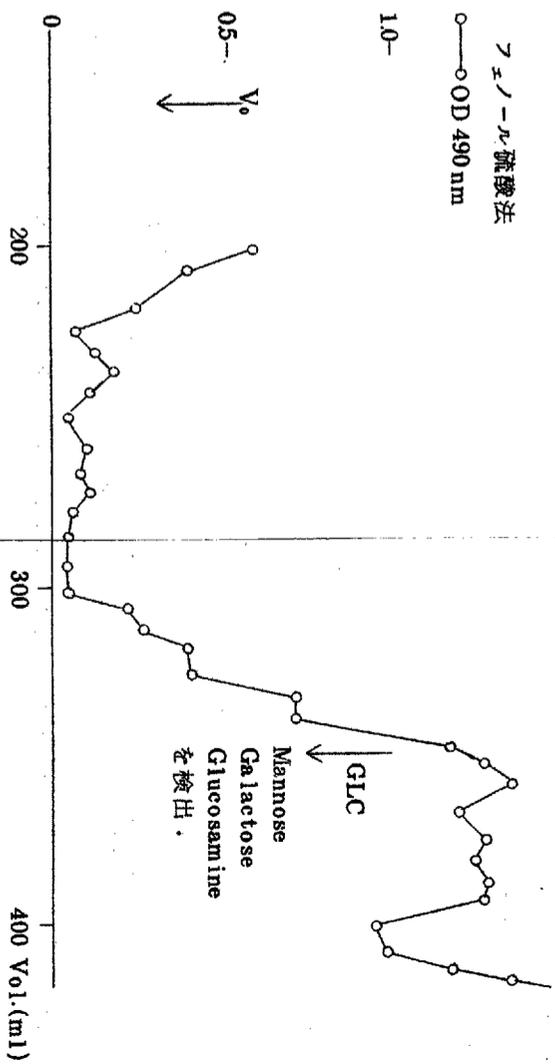
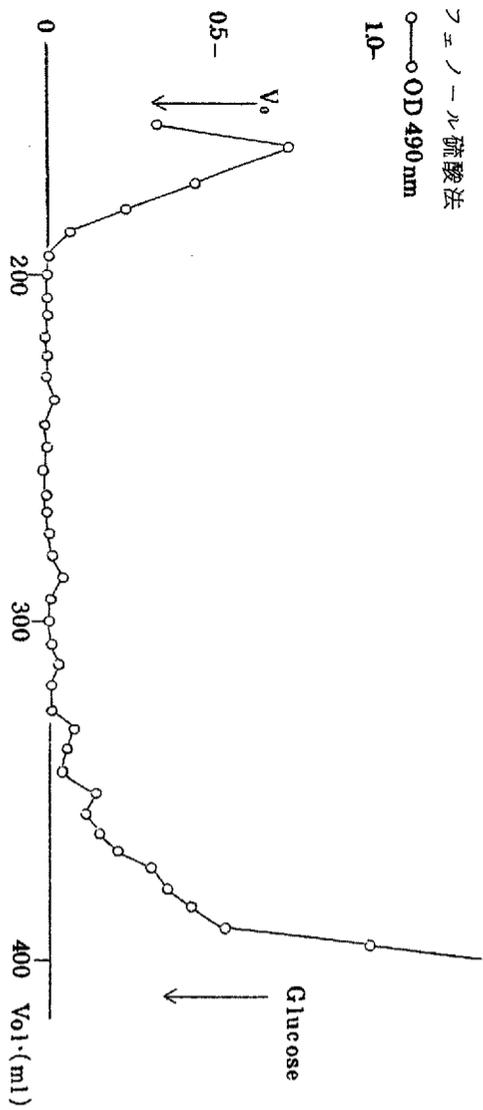
遺伝性脂質代謝異常性における尿中オリゴ糖の存在は、そのオリゴ糖の構造からみて、血液型活性物質や細胞膜の構成成分である糖蛋白質の一部が完全に代謝されずに排泄されたものと意義づけることができる。すなわち、糖蛋白代謝異常症としての現象を把握していることになる。臨床的に遺伝性脂質代謝異常症を思わせながら、組織中には特異な脂質の蓄積を見出しえない疾患も多く知られており、その主なものがムコリピドシス<sup>5)</sup>として分類されている。このうちGM1ガングリオシドシスは明らかに脂質蓄積症であり、例外的に扱うべきであるが、そのほかにフコシドシス、マンノシドシスなどが糖蛋

白代謝異常症であることが確認されている。のこりの疾患については報告がないけれども、やはり糖蛋白代謝異常の存在が強く疑われ、尿中にオリゴ糖が多量に排泄されている可能性がある。ムコリポドーシスのなかで本態が不明のものについては、従来の遺伝性脂質代謝異常症の解析方法が役立つことが多い。その理由として、組織中の脂質分析が比較的容易であるのに反して、糖蛋白や、その分解物の分析が困難であること、また、遺伝性脂質代謝異常症においては、酵素活性の異常が簡単な人工基質を用いた場合にもよく把握できるが、糖蛋白代謝の異常を示すに便利な酵素測定法が未開発であること、などが挙げられる。尿中オリゴ糖の検索は、それらの弱点を補うことのできる有力な方法であろう。オリゴ糖の存在そのものが、代謝異常の存在を示唆しうることはいうまでもないが、さらに、オリゴ糖の構造に特異性を見出しうるならば、代謝障害の具体的位置づけ、異常酵素の種類も明らかにされることが期待できる<sup>6)</sup>。この具体例としてはGM1ガングリオシス患者臓器内のオリゴ糖の研究成果がある。しかし、採取しやすい材料として尿は非常に優れており、しかも経時の変化をも追求できる点が有利である。われわれがGM1ガングリオシス2型からえたオリゴ糖が、臓器内に蓄積したものと共通していれば、一層その価値が高められる。さらに、疾患によって排泄されるオリゴ糖に違いがある可能性は、GM1ガングリオシスと $\beta$ -ガラクトシダーゼ欠損症の尿の糖パターンが異なっていることからみてもまず存在すると考えられる。したがって、この方法は将来、病因不明の代謝疾患の解析、あるいは同じ概念で包含されている疾患内での異同等の追求にはきわめて有力であろう。

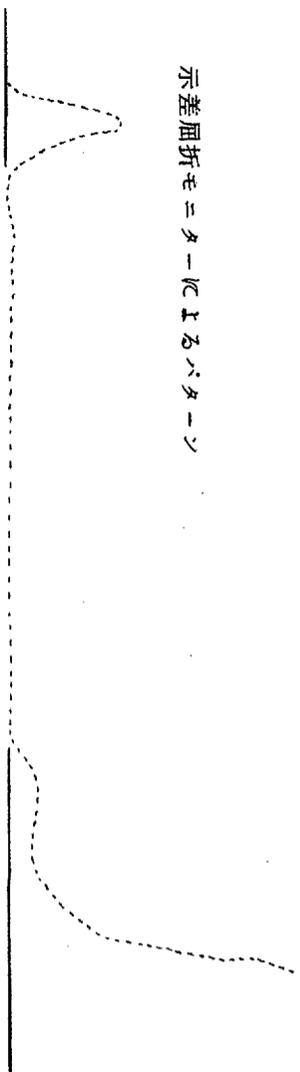
#### 文 献

- 1) Tsay, G. C., and Dawson, G. (1973). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 52, 759.
- 2) Tsay, G. C., Dawson, G., and Matalon, R. (1975). *J. Clin. Invest.* 56, 711.
- 3) Strecker, G., and Montreuil, J. (1971). *Clin. Chm. Acta*, 33, 395.
- 4) Orii, T., Minami, R., Sukegawa, K., et al. (1972).





示差屈折モニターによるパターン



示差屈折モニターによるパターン

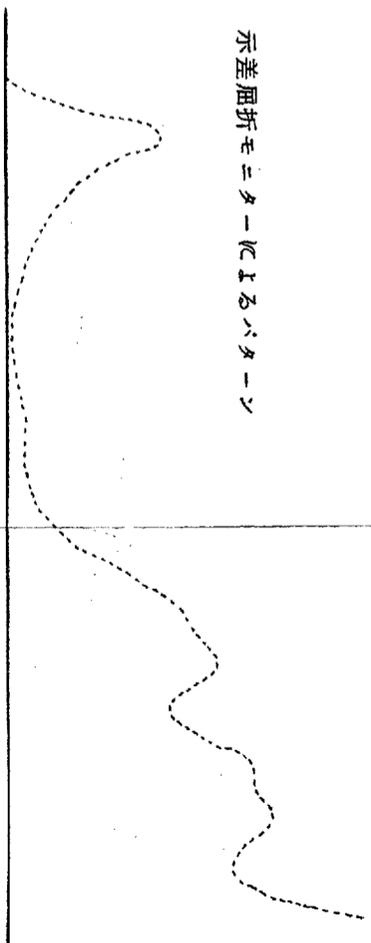


図 1. 正常小児よりえられた対照尿の Bio Gel P-6 に よる 分画

図 2. GM1 ガングリオシド症児尿の Bio Gel P-6 に よる 分画  
( 2 型, 9 歳 ♀ )

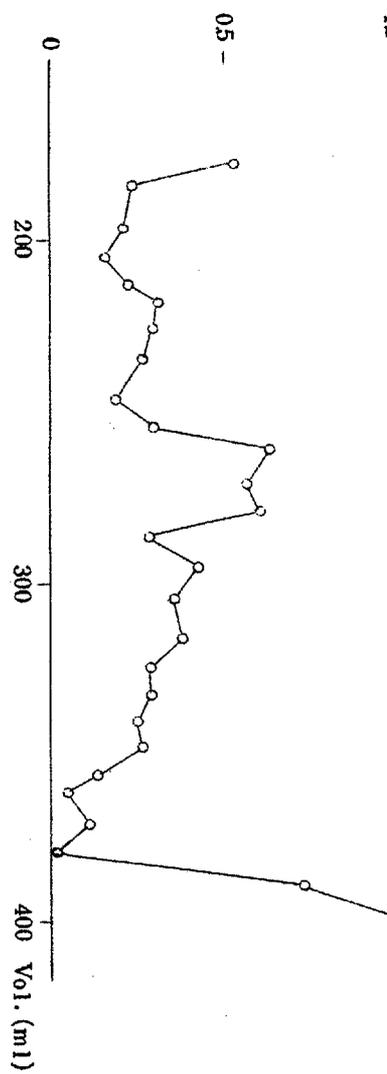


図 3.  $\beta$ -ガラクトトツターゼ欠損症 (症例 1, 9 歳♀) 尿の Bio Gel P-6 分画

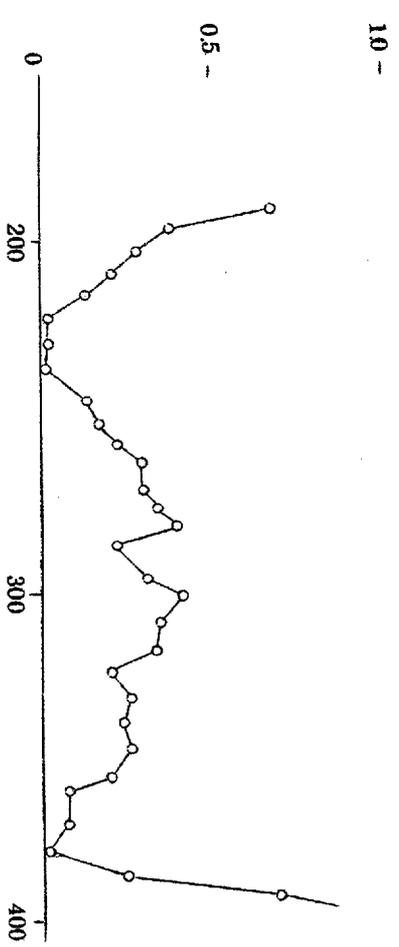


図 4.  $\beta$ -ガラクトトツターゼ欠損症 (症例 2, 32 歳♀) 尿の Bio Gel P-6 分画

↓  
**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  
↓

まえがき

遺伝性脂質代謝異常症はライソゾームに局在する加水分解酵素の遺伝的要因にもとづく異常のために、複合脂質の代謝が障害され、複合脂質が組織中に進行性に蓄積するため発症する、いわゆる蓄積症である。歴史的には、組織を分析して異常に増量を示す物質を発見同定し、その構造から代謝経路が推定され、ついでその代謝を司る酵素の異常を証明するといった順序で研究が進められた。