

11 病の診断を下された。この時、患児はこれまでの報告と同様 Hurler 様の特異な顔貌を示し、身体発育、精神発育いずれも著しく遅れていた。

肝、脾腫があり、骨の変化もかなり著明で末梢リンパ球には多数の大きな空泡が認められた。培養皮膚 fibroblast では細胞内に多数の inclusion body を認めた。酵素活性を測定した結果、 β -glucosidase, α -fucosidase, α -mannosidase, β -glucuronidase, arylsulfatase, hexosaminidase が低下していた。

また血清中のこれ等の酵素はいずれも明らかに増加していた。臨床所見とこれ等の生化学的所見から、第 1 子に I-Cell 病の診断が下された。

両親は血縁関係にない。1974 年 11 月母親が妊娠したので、遺伝相談を行ない、母親は羊水診断をすることに同意した。

妊娠 14 週に羊水を採取した。方法は超音波により胎盤の位置を知り、局所麻酔の下に transabdominal puncture を行ない、1.5 ml の羊水を得た。

検査の結果、胎児は疾患に罹患していることが強く疑われ、I-Cell 病の診断のもとに、妊娠 20 週に経口的に Prostaglandin を投与し、さらに laminaria を使用し、治療的人工流産を行った。

研究の方法

採取した羊水は 500 r. p. m. で遠心し、浮遊細胞を集め、その上清の羊水について、酵素活性を測定した。

集めた羊水細胞は 20% fetal calf serum と抗生物質を加えた Eagle の minimum essential medium を使用して培養した。

胎児の皮膚についても同様の方法で培養した。培養後、位相差顕微鏡下に観察した。羊水細胞も皮膚培養細胞もいずれも fibroblast が得られた。別の羊水診断の目的で採取した羊水（例えば Down 症候群、adrenogenital syndrome など）を対照として使用した。これ等はほぼ同じ妊娠週数のものを選んだ。これ等羊水は遠心後、酵素活性測定時まで -20°C に凍結保存した。

対照の羊水培養細胞は、I-Cell 病診断の被検羊水採取時とほぼ同じ時期に培養を始めたものを使用した。いずれも fibroblast cell が得られた。

羊水及び培養細胞の lysosomal enzyme の測定については, Hijing (Clin. Chim Acta 40, 453-455, 1973), Matsuda (Clin Chim Acta 63, 55-60, 1975) 及び Butterworth (Clin Chim Acta 39, 275-276, 1972) の方法で測定した。

羊水は遠心後上清をそのまま酵素活性測定に供し, 細胞は 0.1 ml の蒸留水に浮遊させ, 氷水で冷やしながら 10 k サイクルの超音波で sonication し, 遠心後上清を使用した。

酵素活性測定に用いた基質は次の様である。

acid phosphatase は p-nitrophenol-phosphate を, β -glucuronidase は p-nitrophenol- β -glucuronide を, arylsulfatase は p-nitrocatechol sulfate を, α -galactosidase は 4-methyl umbelliferyl- α -galactoside を, β -galactosidase は 4-methyl umbelliferyl- β -galactoside を, α -glucosidase は 4-methyl-umbelliferyl- α -glucoside を, α -fucosidase は p-nitrophenyl- α -L-fucoside を, α -mannosidase は p-nitrophenyl- α -D-mannoside を基質として使用した。

遊離した p-nitrophenol, p-nitrocatechol は日立分光光度計で, また umbelliferyl は日立蛍光光度計で測定した。活性値はそれぞれ, 基質から遊離した p-nitrophenol または, methyl umbelliferol の値で示し, n mol/ml/min (羊水), または n mol/mg protein/min (細胞) で示した。蛋白は Lowry 等の方法で測定した。

人工流産後, 胎児の皮膚 fibroblast についても羊水培養細胞と同様の方法で培養し, その後トリプシン処理をして, 細胞を集め, sonication 後, 遠沈上清について lysosomal enzyme 活性を測定した。

診断の確認のために胎児の各臓器は電顕用に固定し, 日立の電子顕微鏡 (HS-9) を使用して観察した。

研 究 成 果

結果は表 1 に示したように, 羊水中の acid phosphatase と α -glucosidase 以外の酵素, hexosaminidase, α -galactosidase, β -galactosidase, β -glucroni-

dase, α -fucosidase, α -mannosidase, arylsulfatase いずれも著明に上昇していた。

一方羊水細胞内のこれ等の酵素活性はいずれも低下していた。

また羊水の培養細胞内には、丁度第一子の皮膚培養 fibroblast にみられたと同様の inclusion body の存在が確認された。人工流産後の胎児皮膚 fibroblast についても、羊水培養細胞の場合と同様に形態を観察し、酵素活性を測定した。

その結果、明らかに fibroblast 細胞内に inclusion body の存在を認めた。また酵素活性は羊水細胞の場合と同様に、hexosaminidase, α -galactosidase, β -galactosidase, α -fucosidase, α -mannosidase, arylsulfatase いずれも低下していた。acid phosphatase は正常であった。

組織の電顕所見では dense polymorphic contents を伴った細胞内 inclusion が皮膚、肺、腎系球体の毛細血管内皮細胞に、また近位尿管の上皮細胞に、時には脳のグリア細胞、肝細胞内にみとめられた。肝組織内に存在した赤血球中にも dense inclusion が認められた。

培養皮膚 fibroblast の細胞内は dense inclusion で満されていた。

これ等の所見は I-Cell 病に特有のもので我々の下した羊水診断は正しかったことが証明された。

考 察

I-Cell 病の生化学的特徴は acid phosphatase や α -glucosidase 以外の lysosomal enzyme が血清中で著しく増加していること、そして一方培養皮膚 fibroblast では、これ等が著明に低下していることである。

今回、検査した羊水では hexosaminidase, α -galactosidase, β -glucuronidase, β -galactosidase, α -fucosidase, 及び α -mannosidase などが著明に上昇し、一方これ等酵素は培養羊水細胞内では明らかに低下していた。この所見は Hijing 等が初めて行なった I-Cell 病羊水診断の記載と同様であり (Clin Chim Acta 44, 453-455, 1973) 我々の発表、投稿 (Humangenetik 30, 69-90, 1975) 後に出た Aula の記載 (J Pediatr 87, 221-226, 1975) とも一致

する。

以上から胎児を I-Cell 病と診断し、治療的人工流産を行なったが、診断は次の 2 点から確認された。

(1) 胎児培養皮膚 fibroblast について酵素活性を測定し、第 1 子の患児同様、hexosaminidase, α -galactosidase, β -galactosidase, β -glucuronidase, α -fucosidase, α -mannosidase などの活性値の低下を認めた。

(2) 胎児の各臓器及び培養胎児皮膚 fibroblast 内に inclusion body の存在が電顕により確認された。

I-Cell 病では培養 fibroblast 中での lysosomal enzyme をみても完全欠損ではなく、また単一の酵素が低下しているわけでもないので、当然多くの酵素を測定してみなければならない。

正常の羊水や培養羊水細胞についての各種 lysosomal enzyme の測定結果をみると、酵素活性値はかなりばらつくことが知られている。

正常値の最低値と最高値を比較した場合、hexosaminidase, α -fucosidase, α -mannosidase などは羊水中で 10 倍も、羊水培養細胞では 5 倍も異なることが報告されている。(Butterworth Clin Chim Acta 40, 139-142, 1972, Clin Chim Acta 39, 275, 1972, Gebrie Am.J.Gynecol. & Obst 114, 314, 1972)。

したがって正確な I-Cell 病の診断を下すためには、hexosaminidase を始め、多種類の lysosomal enzyme が羊水中に上昇していること、そして一方それ等が培養羊水細胞内に低下していることを確認する必要がある。もしも羊水細胞の培養に失敗したような場合には acid phosphatase 値が正常対照とほぼ同じであることを利用して、acid phosphatase 値と各酵素の比をとり、羊水中でのこの値が対照に比して著明に上昇していることを診断基準とすると良いと思われる。

要 約

I-Cell 病の羊水診断を行なった。これの確定された時点での報告は Hijing のものだけであったが、その後、Aula の報告が出たので、本研究は

第3報となる。本邦では初例である。診断に際して hexosaminidase を始め、数種の lysosomal enzyme が羊水中で高値を示し、培養羊水細胞も低下していることを基準としたが、この診断基準は、治療的人工流産後、(1)胎児皮膚培養 fibroblast 中に inclusion body をみとめ、酵素活性測定の結果、hexosaminidase を始め数種の lysosomal enzyme の低下をみとめた。(2)胎児肝、肺、腎などの組織の電顕像で inclusion body の存在がみとめられたことにより正しいことが確認された。

発 表 論 文

- 1) I. Matsuda, S. Arashima, Y. Oka, T. Mitsuyama, S. Ariga, T. Ikeuchi and I. Ichida (1975). Prenatal diagnosis of fucosidosis. Clin Chim Acta, 63, 55-60.
- 2) I. Matsuda, T. Mitsuyama, S. Arashima, Y. Oka, T. Ikeuchi, Y. Kaneko and M. Ishikawa (1975). Prenatal diagnosis of I-Cell disease. Humangenetik, 30, 69-73.
- 3) K. Abe, I. Matsuda, S. Arashima, T. Mitsuyama, Y. Oka and M. Ishikawa. Ultrastructural studies in fetal I-Cell disease. Pediat. Res in Press.

表 1 Lysosomal enzyme activity

	Amniotic fluid (nmol/ml/min)		Cultivated amniotic fluid cells (nmol/mg/min)		Cultivated skin fibroblast (nmol/mg/min)	
	tested sample	control (N=4) sample	tested sample	control sample	tested fetal sample	control sample
Hexosaminidase	70.8	9.3 — 16.6	10.5	61.4	6.8	33.3
α galactosidase	0.07	0 — 0.02	0.06	1.7	0.10	0.95
β galactosidase	0.22	0 — 0.02	0.06	1.6	0.10	0.52
β glucuronidase	0.93	0.1 — 0.5	1.0	6.18	0.33	9.33
α glucosidase	2.53	0.28 — 2.73	2.31	2.9	0.73	1.62
Acid phosphatase	0.15	0.1 — 0.83	27.0	28.6	13.0	9.15
α fucosidase	0.97	0.67 — 0.75	0.75	8.83	0.37	1.32
α mannosidase	0.56	0.08 — 0.29	1.20	5.69	0.53	2.82
Arylsulfatase	0.38	0 — 0.20	—	—	—	—

↓ 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

1967年 Leary は初めて I-Cell 病を報じ、現在まで我国でも 40 数例の報告がある。疾患の遺伝形式は常染色体劣性遺伝を示し、その特徴的所見は重篤な精神、身体の発育障害の他；特異な顔貌、重症の骨障害、関節の過伸展性、肝腫、脾腫などで、多くは 5 才未満に死亡する。

末梢血に空胞化したリンパ球を認め、また培養皮膚 fibroblast の細胞内には inclusion を認める。I Cell 病の名はこの inclusion の “I” から付けられたものである。