

## 遺伝性疾患の診断に関する研究

日本大学医学部

北川 照 男

### ま と め

(1) 遺伝性疾患の診断方法は、最近著しく進歩し、その早期診断による早期治療によって、一部の遺伝性心身障害症の発症を阻止する事も可能となった。すなわち、フェニルケトン尿症、ヒスチジン血症、メープルシロップ尿症、ホモシチン尿症、ガラクトース血症については、ガスリー法やポイトラー法などの信頼度の高い新生児マス・スクリーニング法が開発され、欧米各国ではこれをいち早く採用してその発症予防に大きな効果をあげてきた。我が国でも、本年度から公費でこの検査が行われるようになり、すでに早期発見、早期治療された症例が多数報告されている。しかし、重篤な心身障害を招く先天性代謝異常症は、前記の5疾患にはとどまらず、その他数百種類の疾患があり、これらについての早期診断や早期治療法の開発が重要な研究課題となっている。

このように、現在なお発症予防が不可能な多くの先天性代謝異常症のスクリーニング法や治療を開発することは極めて重要なことであり、多田啓也班員が先天性代謝異常症の発生予防に関する開発的研究の細分課題の下にその研究を進め、高アンモニア血症をきたす幾つかの尿素サイクルの代謝異常症を同時にスクリーニングすることができる新しい診断方法を開発すると共に、富山大 萩田善一教授は毛根やリンパ球で代謝異常をスクリーニングできるマイクロ化した電気泳動装置を開発した。また、熊大 松田教授はEB virus でリンパ球を株化し、これを使用して先天性代謝異常症を診断する方法を開発し、一方、多田教授と北川班員とは協力して先天性代謝異常症の患児の培養皮膚線維芽細胞、培養羊水細胞、培養リンパ球などを長期保存するための cell bank の設置を計画中である。また、先天性代謝異常症の酵素の異常を高い信頼度で診断するには、放射性同位元素で標識した基質の合成、開発が重要であるが、北川

班員は Gaucher 病の脾から分離した ceramide glucose を用いる glucose の 1 C を  $^3\text{H}$  で標識した glucocerebroside を合成して Gaucher 病の診断を容易にし、藪内教授はヘパリンから  $\alpha\text{-L-iduronosyl-anhydromanitol}$  ( $1\text{-}^3\text{H}$ ) を合成して Hunter 病の診断を可能とした。このような放射性同位元素で標識した天然基質を得ることは先天性代謝異常症の酵素診断を著しく容易にするものとして極めて重要な研究である。

(2) 先に述べたように、先天性代謝異常症の新生児マス・スクリーニングが公費で行われるようになって、患児が相次いで発見されているが、これと共に疑わしい症例が多数見出されている。このような症例のうちには、新生児の酵素発達の未熟に基づく高アミノ酸血症や高ガラクトース血症が含まれているが、これらの症例の中から遺伝性の代謝異常症を簡単に、しかも正しく診断する事は極めて重要なことである。また、発見された患児の両親はその代謝異常症のヘテロ接合体と考えられ、その同胞の  $\frac{1}{2}$  もヘテロ接合体の筈である。そのような点から、全国的な新生児マス・スクリーニングの実施と並行して、信頼度の高い罹患者診断と保因者診断の確立が急務である。

和田義郎班員は、先天性代謝異常症罹患者および保因者の診断に関する研究の細分課題の下にこの方面の研究を進め、研究協力者の大阪市立小児保健センター大浦博士は、フェニルケトン尿症とヒスチジン血症の保因者診断法を確立し、京都府立医大 楠智一教授は各種の糖質代謝異常症の保因者診断法を検討して、その問題点を指摘した。筑波大中村了正助教授は Fucosidosis について、熊大松田教授は Fabry 病について、また和田義郎班員はメチルマロン酸血症について、夫々その保因者診断法を検討し、これを可能とする成績を報告している。

先天性代謝異常症は遺伝子の異常に基づく酵素蛋白の構造または合成異常であり、これを酵素活性の異常として捉えて、ヘテロ接合体を診断する場合は残存する酵素活性に及ばず他の因子の影響も考慮しなければならない。したがって、罹患者および保因者診断の方法については基礎的な検討が必要である。そして遺伝子の異常をより強く反映するものを捉えて診断すれば、一層信頼度の高い診断が可能となるので、この方面の基礎的な研究が展開されることにより、診断法の精度向上が大きく期待される。

(3) 先天性代謝異常症の新生児マス・スクリーニングが公費によって行われ、早期診断と治療が可能な疾患の発症予防が効果的に行われるようになったが、先天性代謝異常症の中には、リポドーシスや糖原病のように現在の知識では治療が不可能とされ、しかも予後不良な経過をとる疾患が少なくない。このような疾患の発症予防については、止むなく羊水検査その他の方法による出生前診断が行われている。先天性代謝異常症の出生前診断において正常の成績が得られた場合はよいが、異常の成績が得られた場合は、人工妊娠中絶する事が暗黙の前提となっており、その診断の誤りは許されない。したがって出生前診断の精度向上は極めて重要な研究課題であり、北川班員が6名の研究協力者と共にこの細分課題の下に研究を進めている。そして、北川班員はGaucher病の出生前診断の精度向上を目的として $^3\text{H}$ 標識glucocerebrosideによる培養羊水細胞の $\beta$ -glucosidase活性の測定法を確立した。そしてもし胎児がGaucher病と診断された場合の診断の確認は、この基質を使用して脾の $\beta$ -glucosidase活性を測定するか、培養皮膚線維芽細胞の4MU- $\beta$ -glucosidase活性を測定するか、或いは肝脾の病理組織学的な検索を行う事を推奨している。

このような胎児期に診断されたりリポドーシスの臓器脂質量は殆んど正常であって、代謝異常による脂質の蓄積を証明する事は、その蓄積量が著しく少ない事から極めて困難とされてきた。しかし、東北大多田教授は、Niemann Pick病のhigh risk pregnancyの培養羊水細胞についてsphingomyelinaseを測定し、その活性が著しく低い事から胎児はNiemann-Pick病と診断し、その臓器についてsphingomyelinを抽出し、そのceramide分画をとってGC-MSによって脂酸構成を調べ、正常とは異なる脂酸構成をもつsphingomyelinの蓄積を証明した。その他、阪大藪内教授と慈大青木講師は、 $\alpha$ -L-iduronosyl-anhydromanitol ( $1-^3\text{H}$ ) を使用して、Hunter症候群の出生前診断を試み、東大鈴木講師はWolman病のhigh risk妊婦の培養羊水細胞のacid lipaseを測定し、その出生前診断を行っている。

更に北川班員は、培養羊水細胞の封入体の証明、lysosomal acid hydrolase活性の低下、羊水中のlysosomal acid hydrolase活性の上昇の三点で、2例の胎児I cell病を診断し、その精度向上について詳細に研究し

た。

これまで高アンモニアⅡ型におけるOTCの欠損は非培養羊水細胞では証明できても、培養羊水細胞では証明できないといわれてきた。

熊大松田教授は、 $^{14}\text{C}$  標識 carbamyl phosphate を使用してリンパ球のOTC活性を高い感度で測定し、非培養リンパ球ではその活性を証明できるが、EB virus で株化したリンパ球ではその活性を証明できない事を明かにした。その研究成績によれば、培養条件を検討する事によって培養細胞のOTC活性を測定できる可能性があるといわれ、OTC欠損症の出生前診断を可能にするためにその研究の今後の発展が大いに期待される。また、名市大和田教授は、メチルマロン酸尿症を妊娠した母親の尿中に多量のメチルマロン酸が排泄されているのを証明し、胎児がメチルマロン酸尿症である事を明かにしたが、患児を分娩すると同時に母体からのメチルマロン酸の尿中排泄は消失したと報告した。先天性代謝異常症の一部の疾患においては、メチルマロン酸尿症と同様に母体の尿を検索することにより胎児診断が可能なものがあり、このような出生前診断法は羊水穿刺を行う必要がないので、この方面の今後の研究の発展が大いに期待される。

以上、先天性代謝異常症の出生前診断の精度向上について活発な研究が行われているが、そのための基礎的な研究を展開するのみならず、班員と研究協力者がお互いに協力してその診断の精度を向上するように努力している。たとえば伴性遺伝性のHunter症候群のhigh risk妊婦の羊水細胞を北川班員が培養し、阪市大須川教授により染色体分析がなされると共に、阪大藪内教授によってそのiduronosulfate sulfatase が測定され、胎児は男児であり、idurono sulfate sulfatase 活性が欠損している事が確認されたが、このような2つの方法の組合せによる出生前診断は精度が高い。

その胎児の組織のiduronosulfate sulfatase が測定されて、Hunter症候群であった事は確認されている。また、Gaucher病のhigh risk pregnancyについて、培養羊水細胞の4 methyl umbelliferyl- $\beta$ -glucosidase が多田班員によって測定され、その活性が低い事から胎児はGaucher病と診断されたが、更にその培養羊水細胞の一部について北川班員がglucocerebroside- $\beta$ -glucosidaseを測定し、その診断を確認した。

このように同一試料を2つの研究施設で分析して出生前診断を行う事は、その精度を向上させるために極めて重要な事であり、本研究班が組織された事の大きな成果の一つとしてあげる事ができる。

(4) このように先天性代謝異常症や染色体異常症の出生前診断法が著しく進歩し、その精度は益々向上し、活発にこれが行われるようになって、その発生子防に大きな効果をあげている。しかし、一方では羊水穿刺は、胎児や妊婦に対して危険があると指摘されており、出生前診断の安全性については、我が国でも十分な調査が必要と考えられていた。そのため細分課題として出生前診断児の長期追跡調査研究をとりあげ、阪市大須川侑班員が5名の研究協力者と共に研究を進めた。すなわち、これまでに羊水検査による先天異常の出生前診断を行った施設、検査件数、種類等を調査すると共に、長期追跡調査の調査項目等検討し、調査用紙を作製してその準備を完了した。なお、この研究班においては染色体異常症についての出生前診断児の長期追跡調査は須川班員と共に、名市大八神教授、東大神保講師、国立遺伝研中込博士が協力して研究し、先天性代謝異常症の出生前診断児については東北大多田教授と日大北川班員が協力して調査している。

(5) 染色体異常症は、遺伝および環境要因に基づく心身障害症のうちで特に重要な位置を占めているが、その診断法は、染色体分染法などの開発によって、最近著しく進歩している。そしてその細胞学的な診断法の進歩によって次々と新しい染色体異常症が発見されると共に、各疾患の臨床症状も整理され、染色体異常と症状との関係について詳細な検討が行われている。そして、これを更に進歩させるために、細分課題、染色体異常症の細胞学的ならびに臨床的診断法の開発が国立遺伝研中込班員と4名の研究協力者によって進められている。すなわち新生児のおよそ0.5%は、通常染色体分析によっても何らかの異常を示すが、分染法の登場以後に発見された新しい異常も多く、さらに精度の高い分染法が出現するか、またはより広く分染法などの診断手段が普及すれば、従来は原因不明とされていた先天異常の内に染色体異常に基づく症例が検出される可能性が強い。このような状況をふまえてイ)全く新しい、精度の高い分染技術の開発、ロ)簡便で普及の容易な技術の開発、ハ)既存の技術の追試、取捨選択と改良、ニ)臨床所見に基づく染色体異常診断の可能性追求を目

標として研究を進めている。

中込班員は、染色体変異の検出精度向上の目的でLBA法を開発し、この方法を症例に試みたところ、従来の技術に比べおよそ2倍の変異を検出することができた。また、X染色体の着糸点が強い蛍光を示すことから、X染色体の家系内の継承などの追求が実現する可能性が出てきた。また、フィルターの組み合わせにより蛍光顕微鏡を用いずにQバンド分析を行うことに成功し、現在のところ既存の干渉フィルターを使用しているが、この目的の専用フィルターの開発も進行中である。

佐々木教授は、昨年開発した臭化エチジウム前処理法の分裂間期細胞核(線維芽細胞)への応用により、XおよびYクロマチン検出率の大幅な改善に成功した。阿部博士は、大量のBUdR投与により2次狭窄部(h)を大きく引き伸ばし、hに挟まれた真性クロマチンの小区間を検出する技術を開発した。また同じ目的に、C腸性部をごく限局した形で染め出すことに成功した。そのほかDNA複製像検出技術の追試と改良をも試みている。

柳沢助教授は、9pトリソミーの報告例を収集し、切断点別に集計するなどして今後の解析の基礎資料とし、黒木博士は、22の部分トリソミーの検討により、22トリソミーの臨床像の特徴を明らかにすると共に、それがq11の遠位ないしq12バンドと関係することを推定した。また酵素活性により異常な染色体の区間を推定する可能性についても検討を行った。

このように、染色体異常症の診断の技術は急速に進歩しつつあり、現在なおその病因が不明な心身障害症の一部は、本研究の手によって明らかになる可能性が高く、今後の研究の進展が大きく期待される。

 **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

まとめ

(1)遺伝性疾患の診断方法は、最近著しく進歩し、その早期診断による早期治療によって、一部の遺伝性心身障害症の発症を阻止する事も可能となった。すなわち、フェニルケトン尿症、ヒスチジン血症、メープルシロップ尿症、ホモシスチン尿症、ガラクトース血症については、ガスリー法やボイトラー法などの信頼度の高い新生児マス・スクリーニング法が開発され、欧米各国ではこれをいち早く採用してその発症予防に大きな効果をあげてきた。我が国でも、本年度から公費でこの検査が行われるようになり、すでに早期発見、早期治療された症例が多数報告されている。しかし、重篤な心身障害を招く先天性代謝異常症は、前記の 5 疾患にはとどまらず、その他数百種類の疾患があり、これらについての早期診断や早期治療法の開発が重要な研究課題となっている。