

10・4 Hunter 症候群の出生前診断ならびに保因者の検索に 関する研究

慈恵医科大学

青木 菊 磨

衛藤 義 勝

出生前診断の精度向上に関する研究には、二つの approach が存在するその一つは測定方法に関して超微量法を開発することであり、他は特定の疾患に関して診断の特異性を高めることである。今回は後者の問題を検討することにし、最近漸く酵素学的異常が証明された Hunter 症候群を研究対象とした。本疾患は先天性代謝異常症の中でも数少ない伴性劣性遺伝による疾患であり、酵素欠損は iduronosulfate sulfatase と決定されている。臨床症状は Hurler 症候群と比較すればやや軽度であるが、治療法が確立されていない現在、出生前診断の対象となる疾患である。伴性劣性遺伝であるため、保因者の診断が重要な問題でもある。患児の同胞に女兒が含まれている場合、その女兒は 50% の危険率で保因者の可能性があり、保因者であれば次の世代において 25% の危険率で Hunter 症候群が出生してくる。一方酵素学的診断法はほぼ確立されているが、そのための基質は入手困難である。そこで本研究の目的を以下の 4 点とした。

研 究 目 的

- (1) 酵素活性測定のための基質 (α -L-iduronosyl-anhydromanitol (1- 3 H)) を作成する。
- (2) 臨床的に Hunter 症候群と診断されている 3 家系 3 例の症例に対して、血清、白血球、培養皮膚線維芽細胞を用いて酵素活性測定のための条件を検討する。
- (3) Hunter 症候群患児の母親及び同胞女兒に対して保因者の診断が可能か否かを検討する。そのために線維芽細胞の cloning を行い、得られたいくつかの cell line に対して酵素活性を調べる。

(4) 出生前診断の検討，即ち正常の羊水及び培養羊水細胞を用いて酵素学的検討を行う。出生前診断の機会があれば，この方法を応用する。

研 究 方 法

(1) 酵素活性測定のための基質の作成は，T.W. Lim, J.A. Cifonelliらの方法に準じた。即ちヘパリンを材料としてこれを亜硝酸で分解し，gelfiltrationで分画してuronosyl-anhydromannoseを分離し，これに ^3H -borotrydrideを作用させてuronosyl-anhydromanitol (1- ^3H)を作成した。

(2) iduronosulfate sulfataseの測定はLiebaersらの方法に準じて行い，酵素反応後の生成物の分離にはイオン交換セルロースセラムを用いた。

(3) 皮膚線維芽細胞及び羊水細胞の培養は我々の報告した如く行った。

(4) 皮膚線維芽細胞のcloningに必要なsingle cellの分離には，semi-solid mediaを用いる方法及びbroken cover slipsを用いる方法を採用した。

研 究 成 果

(1) Uronosyl-anhydromanitol (1- ^3H)を作成したところ，満足すべきspecific activity($40\mu\text{Ci}/\mu\text{Mol}$)が得られた。濾紙クロマトグラフィーで純度を検討したところ，monosulfated anhydromanitolの混入が30%程度に認められたので，ECTEOLAカラムで精製した。

(2) 酵素活性測定に関する諸条件は，作成した基質を用いて現在検討中である。本酵素は血清，羊水，白血球，培養皮膚線維芽細胞，培養羊水細胞に存在するものとされており，従って出生前診断は十分に可能である。

(3) 培養皮膚線維芽細胞のcloningに関して2つの方法を検討したが，満足すべき結果は得られていない。現在検討中である。

考 案

Iduronosulfate sulfataseは血清，白血球，線維芽細胞は勿論，羊水中にも十分に含まれており，僅か50 μL で測定可能とされている。従って本

症の出生前診断には今回作成した基質が是非必要であり，従来の ^{35}S のとり込みによる診断方法よりは特異的であり，精度も高い。この酵素活性測定方法で保因者の診断が可能であるか否か，今後の検討が必要とされる。線維芽細胞の cloning は保因者の診断に有力な方法とされているが，この方法は煩雑であるため実用的でなく，毛根を利用する方法も検討中である。

要 約

Hunter 症候群の出生前診断ならびに保因者の診断を行うための方法を検討した。そのためには iduronosyl-anhydromanitol (1- ^3H) を基質として Hunter 症候群の欠損酵素である iduronosulfate sulfatase を測定することが最もよい方法である。そこで基質作成を試みたところ，幸いにして純度のよい，specific activity の十分な基質を得ることが出来た。これを用いて酵素活性の測定条件を検討中であるが，羊水を用いた場合 $50\ \mu\text{l}$ で測定可能のようであり，本症の精度の高い出生前診断が可能である。

文 献

青木菊麿他，出生前診断学，先天性代謝異常症を中心として，小児科診療
37:319, 1974

↓
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
↓

出生前診断の精度向上に関する研究には、二つの approach が存在するその一つは測定方法に関して超微量法を開発することであり、他は特定の疾患に関して診断の特異性を高めることである。今回は後者の問題を検討することにし、最近漸く酵素学的異常が証明された Hunter 症候群を研究対象とした。本疾患、は先天性代謝異常症の中でも数少ない伴性劣性遺伝による疾患であり、酵素欠損は iduronosulfate sulfatase と決定されている。