

12・5 α -glucosidase 欠損症の保因者診断

筑波大学医学専門学群

中村了正

まえがき

前年度においては Fucosidosis (α -Fucosidase 欠損症) 2 家系についての検索を行い、その亜型間の鑑別、保因者診断法の確立を試み、所期の目標に達する成績を得た。本年度は現段階において、保因者診断法の確立されていない疾患の一つである全身型糖原病を対象疾患とした。

本症は発見の歴史も古く、ライソゾーム疾患研究の端緒となってきた疾患である。 α -glucosidase (以下 α GL) の欠損により、肝、心筋、骨格筋へのグリコーゲン蓄積が進行し、心不全、筋力低下、肝腫大などを主症状として多くは乳児期に死亡する。出生前診断の対象となるもので、保因者診断法の確立が必要である。

目的および研究方法

保因者診断のための試料として、末梢血球に勝るものはない。末梢血白血球を主たる試料とし、本症患者児および血縁者計 5 名、正常対象 15 名より採取、分離し、細胞碎後遠沈上清を用いた。皮膚組織培養による線維芽細胞、生検および剖検による肝臓、筋をも試料とし、比較検討を加えた。測定法は蛋白濃度約 5 mg/dl の酵素液(試料)を至適 pH (4.2 および 6.2, 図 1 参照)にて反応させた。基質として 4-methyl umbelliferyl- α -glucopyranoside (終濃度 2 mM) を使用した。測定は日立蛍光分光光度計 (365, 488 nm) によった。

研究成果

図 1 に示すごとく酵素活性は pH 4.0~4.3, 6.0~6.5 に 2 つの山をもち、それぞれ酸性 α GL, 中性 α GL と呼ばれる。患児の父 (FA), 母 (MO), 姉 (SIB) は酸性にて活性が低く、中性優位のパターンを示すが、患児のごと

き顕著な酸性側の低下，中性側の亢進は示さない。この点は患者と保因者の鑑別点となる。

表 1 に同家系 (WS) の白血球，患児骨格筋における検索結果を示した。患児では白血球酵素活性は正常の 19%，骨格筋では 4.1% と著しく低下，血縁者 3 名は中間値を示しているが，対照群との間に overlap がある。中性 α GL との ratio においても差は認められない。基質濃度を変化させて得た見かけの Km (以下 aKm) においても血縁者 3 名は対照と有意の差はない。患児では逆に低く，対照群の中性 α GL のそれと合致していた。筋における aKm とは異った態度を示している。

表 2 に示す 5 症例のうち 2 例 (NY, WS) は本症患児である。他の 3 例はこれまでの検索中に認めた α GL 低活性の症例である。症例 3, 5 は心肥大と肝腫を伴う臨床症状を示し，症例 4 はムコ多糖蓄積症である。いずれも白血球の酸性 α GL は欠損レベルであり，他の試料において正常活性を認めている。症例 4 を除いて aKm が異常であった。

考 案

保因者診断においては試料採取の容易，検査法の簡易性と微量化可能な高鋭敏性，診断の迅速性が重要条件である。末梢白血球と合成基質を利用する蛍光法が以上の条件を満すことは言うまでもない。本研究の主目的は蛍光法による保因者診断の確立であるが，上記の結果より考えると，本法は保因者をスクリーニングすること，患者と保因者を区別することには好適である。しかし，診断確定のためには第 2 段の検討が必要である。正常対照との間の overlap，合成基質の低溶解度も一因である。他疾患による低値の可能性を克服するためには，天然基質の使用，分離リンパ球，生検，組織培養細胞等の他試料の適用が考えられる。今後も更に検討を進める予定である。

結 論

α -glucosidase 欠損症 2 例を中心に，保因者診断法について検討，現段階における限界を指摘した。末梢白血球を用い，合成基質を利用する蛍光法は保因者，罹患者の選りだしには極めて有用である。しかし，保因者を本法に

よって確定診断する場合、正常との重複、他疾患の混入の可能性があり、罹患
者診断には充分であるが、保因者確定には更に第2次の検索を加えるべきであ
る。

図1 LEUCOCYTE 4-MU- α -GLUCOSIDASE

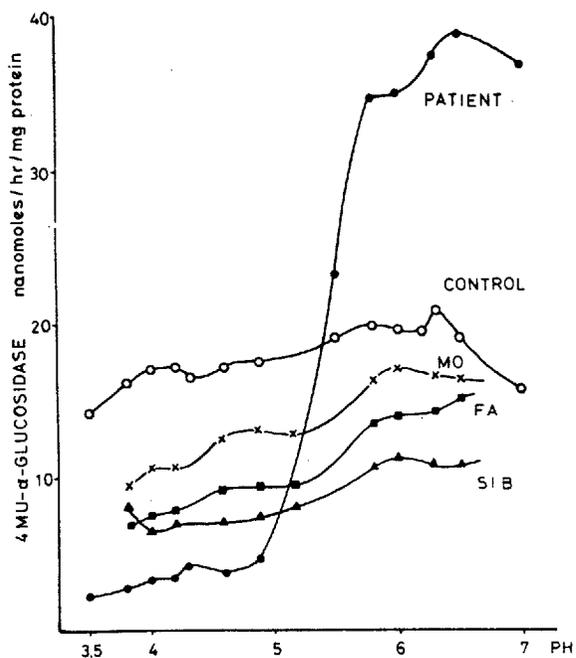


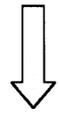
表1 ENZYMOLOGICAL STUDIES FAMILY WS GSD-II

PATIENT	d-GLUCOSIDASE				aKm of α-GL ($\times 10^{-3}M$)			
	pH	WBC		MUSCLE		WBC		MUSCLE
		(4.2)	(6.2)	(4.2)	(6.2)	(4.2)	(6.2)	(4.2)
PATIENT	3.3	37.3	0.3	4.1	0.43	0.41	5.71	
FA	7.6	14.0			1.25	0.43		
MO	10.6	16.5			1.08	0.50		
SIB	7.0	11.3			1.11	0.51		
CONTROLS	(15)	(15)	(4)	(1)	(9)	(1)	(1)	
range	10.3-29.4	12.3-46.0	4.9-8.5	5.5	0.89-1.25	0.44	0.91	
mean ± sd	17.3±6.2	27.1±9.9			1.00±0.16			

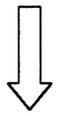
nanomoles / hr / mg prot.

表2 BIOCHEMICAL STUDIES IN BIOLOGICAL SPECIMEN

	d-GLUCOSIDASE (pH 4.2)				GLYCOGEN	aKm of dGL ($\times 10^{-3}M$)	
	WBC	FB	LIVER	MUSCLE	% wet musc.	WBC	MUSCLE
1. NY	1.2		1.4	0	7.8		
2. WS	3.8	0.8		0.3	5.6	0.42	5.71
3. EN	2.5		52.9	8.5	0.92	1.90	3.10
4. AS	2.6	17.6				0.89	
5. KO	3.7	25.6		7.5	0.88	0.53	
CONTROLS	(15)		(10)	(4)		(9)	(1)
range	10.3-29.4	7.5-90	40.0-118.3	4.9-8.5	1.0	0.89-1.25	0.91
mean ± sd	17.3±6.2		73.1±25.0			1.00±0.16	



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

前年度においては Fucosidosis(α -Fucosidase 欠損症)2 家系についての検索を行い, その亜型間の鑑別, 保因者診断法の確立を試み, 所期の目標に達する成績を得た。本年度は現段階において, 保因者診断法の確立されていない疾患の一つである全身型糖原病を対象疾患とした。

本症は発見の歴史も古く, ライソゾーム疾患研究の端緒となってきた疾患である。 α -glucosidase(以下 α GL)の欠損により, 肝, 心筋, 骨格筋へのグリコーゲン蓄積が進行し, 心不全, 筋力低下, 肝腫大などを主症状として多くは乳児期に死亡する。出生前診断の対象となるもので, 保因者診断法の確立が必要である。