

13・2 シトルリン血症患者由来の lymphoid cell の シトルリン代謝, シトルリン血症発症要因の検索

熊本大学医学部

松 田 一 郎
赤 星 泉
山 本 治 郎

はじめに

シトルリン血症はアルギニノコハク酸合成酵素の先天性異常によりおきる疾患で、現在少なくとも3つの型が知られている。今回、我々は2人の成人型に分類される患者から樹立した lymphoid cell について、シトルリン代謝を調べ enzyme regulation 及び臨床系との関連性について検討した。

研究目的

生体について直接検査できる範囲は限られている。そこで患者由来のリンパ球を疾患モデルとして検索すれば、患者について得られなかった情報を得ることができる。

研究方法

2名の成人型シトルリン血症患者から採血し、Ficol-conray を使用して、リンパ球を分離し、E-B ウィルスを感染させて株を樹立し、それぞれ Ya, Sh 株とした。

(1) 細胞増殖曲線：正常対象細胞 Ya, Sh, 各細胞群を(a)アルギニン, (+)シトルリン, (b)アルギニン(-)シトルリン(+), (c)アルギニン(-)シトルリン(-)の培養液で細胞増殖曲線をしらべた。

(2) 各細胞の Viability 85% のもので loyarishmic growth phase にある細胞を一度シトルリン(-)アルギニン(-)の培養液で洗ったあと、 ^{14}C -シトルリンの取り込みをみた。 ^{14}C -シトルリンを取り込んだ細胞にオートラジオグラフィを行い、グレインの数を算えた。また細胞を氷冷した 0.8% 食塩

水, 5% TCA, 100% メタノールで洗滌した後, バイアルに移して cpm を液体シンチレーションカウンターで測定した。細胞内の free のアミノ酸は, 島津高速液体クロマトグラフィ (カラム: 7840-B-30) を使用して測定した。

結 果

- (1) 正常対象細胞はシトルリン(+)アルギニン(-)の培養液中では2~3日の lag time 後, アルギニン(+), シトルリン(-)の細胞と同様に増殖した。しかし, Ya, Sh いずれもシトルリン(+), アルギニン(-)の培養液では増殖しなかった。アルギニン(-), シトルリン(-)では正常対象, Ya, Sh, いずれも増殖しなかった。
- (2) シトルリン 1mM, アルギニン(-)の培養液中で培養液交換をつづけながら培養をつづけたところ, Ya は約40日後に増殖し始めた。Sh は60日間様子をみたが増殖しなかった。
- (3) 株樹立後, オートラジオグラフィでグレイン数を算えたところ, 正常対象ではほとんどが20以上であったが, Ya ではほとんどが10以下であった。
- (4) 細胞内に取り込んだ ^{14}C -シトルリンの cpm をみたところ, 正常対象は $2266 \text{ cpm}/5 \times 10^5$ Ya, Sh は $255 \text{ cpm}/5 \times 10^5$, $384 \text{ cpm}/5 \times 10^5$ であった。シトルリン添加培養液に適応した Ya は, $5198 \text{ cpm}/5 \times 10^5$ と増加していた。
- (5) 細胞内の free アミノ酸濃度は正常対象, Ya, Sh いずれも差がなく, シトルリン, アルギニンはいずれも測定限界以下であった。

考 察

治療法として低蛋白食を与えると共にアルギニンを与える。また患者自身アルギニンの多い食品を好むことと, 細胞増殖で得られた結果はよく符合している。Ya, Sh 株では ^{14}C -シトルリンの取り込みが低下しているが, これは細胞内のシトルリンのプールが増大したためでなく, シトルリンの利用の低下がシトルリンの取り込みそのものを抑制しているためと考えられた。Ya は 1mM シトルリン濃度下で長期間培養すると適応するが, これは Ya の中に正常細胞

がたまたまあり， selection がなかったのか，または全体の細胞が適応したのかこの時点では解らない。最近，シトルリン血症の患者の肝アルギニノコハク酸合成酵素をみた研究で，正常肝の酵素と酵素量では差があるが，質的な差はなかったとの報告がある。このことは，酵素量の regulation に何らかの異常があることを示している。1mMシトルリン濃度は患者血清シトルリンの約10倍であり，正常人血清のその約100倍に相当する。Shは適応しなかったので，YaとShには遺伝的に何らかの差があると思われる。

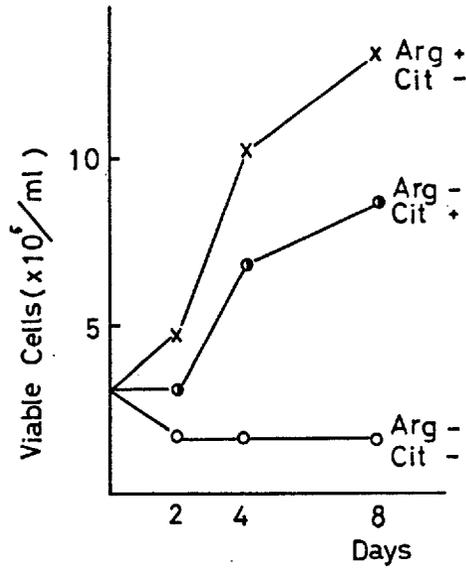
要 約

2例のシトルリン血症の患者由来のリンパ球株を使い，シトルリン代謝をしらべた。シトルリン(+), アルギニン(-)の培養液では正常と異なり，患者由来の細胞ではほとんど細胞増殖を示さなかったが，1mMシトルリン添加培養液～5週間以上，培養をつづけたところ，1つの細胞株はその状態に適応し発育した。以上の所見から本症の遺伝的異質性を検討した。

文 献

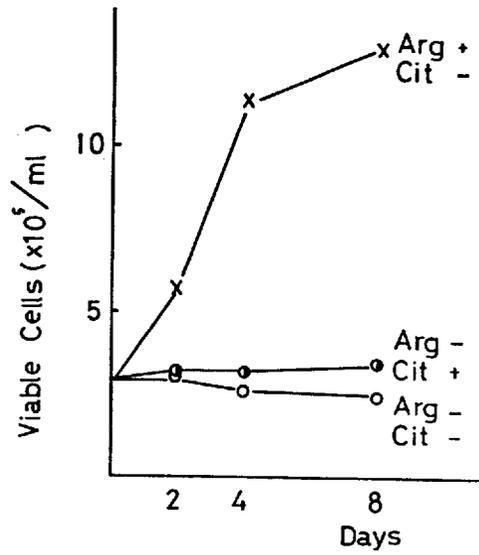
- 1) Matsuda I., et al. : Variant form of Citrullinemia. J. Pediat. 88; 824-826, 1976
- 2) Matsuda I., et al. : Lysine intolerance in a variant form of citrullinemia. Pediat. Res. in press
- 3) Matsuda I., et al. : Lysosomal enzyme activities in cultured lymphoid cell line. Clin. Chim. Acta 80; 483-486, 1977

図 1



正常対象細胞の増殖曲線

図 2



シトルリン血症由来細胞の増殖曲線

↓
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
↓

はじめに

シトルリン血症はアルギニノコハク酸合成酵素の先天性異常によりおきる疾患で、現在少なくとも3つの型が知られている。今回、我々は2人の成人型に分類される患者から樹立した lymphoid cell について、シトルリン代謝を調べ enzyme regulation 及び臨床系との関連性について検討した。