

## 血液成分を使用した代謝疾患の確定診断

分担研究者	松	田	一	郎
研究協力者				
九州大学小児科	水	上	茂	樹
長崎大学小児科	辻		芳	郎
東北大学小児科	多	田	啓	也
北海道大学小児科	荒	島	真	一 郎
名古屋市立大学小児科	和	田	義	郎
日本大学小児科	北	川	照	男

### 研究の主旨

種々の代謝疾患が小児の心身障害の原因の1つになっているが、現在なおそれらの疾患の診断に種々改良、改善されるべき問題が残されている。この研究班では検査材料として直接臓器でなく患者からの採血により得られるものを対象として検査することを目的とした。しかも技術面での改良を検討し最少量のサンプルを使用するように務めることにした。

### 研究分担及びその研究結果

#### 1. 多核白血球の機能異常の生化学的診断

九州大学医学部生化学

水 上 茂 樹 他

多核白血球食菌時に放出される超酸素イオン ( $O_2^-$ ) や過酸化水素などを僅か10 $\mu$ lの全血を用いて測定する方法を開発した。正常人の白血球ではコンカナバリンAとサイトカラシンDを併用しても、食菌時と同様の反応を示すが、慢性肉芽腫患者の白血球では、食菌時及びコンカナバリンA、サイトカラシンによる刺激時いずれの場合も $O_2^-$ 、 $H_2O_2$ の放出をみなかった。実際に臨床の場で役立つ極めて漸新な方法である。

#### 2. ヒト多核白血球の貪食殺菌時の化学発光測定に関する研究

長崎大学医学部小児科

辻 芳 郎 他

多核白血球が食菌した際Chemi luminescence (CL)が生じ、これは液体シンチレーションカウンターを用いて測定することが出来る。今年度はルミノールを使用することにより、より少量の多核白血球で、しかも操作も簡単なCLの測定法を開発した。本研究の目的とするサンプルの少量化に成功したのみでなく、実際の臨床の場に有用な方法である。

#### 3. アデノシン・デアミネース (AD) 欠損症の血液成分による確定診断、並びに治療に関する研究

東北大学医学部小児科

多田啓也 他

重症複合免疫不全症の患者について赤血球及びEBウイルスを使用して株化したリンパ球についてAD活性を測定し、いずれも著明に低下していることを認めた。この疾患からリンパ球を株化したのはこの報告が世界始めてであり、今後この株を保存することにより、治療法の検討などにも役立つと思われる。なお本患児の乾燥血液ろ紙を用いてスクリーニングを試みた結果陽性を示した。

4. 原発性遠位尿細管性酸血症における赤血球炭酸脱水酵素の活性

北海道大学医学部小児科

荒島真一郎 他

Carbonic anhydrase (CA)のアイソザイムB, Cを純化し、その抗体を作り赤血球のCA活性を生化学的及び免疫化学的に測定した。

尿細管性酸血症の患者ではCA-Bのspecific activityが低下していた。腎のCA-B活性を赤血球CA-Bから推定出来る可能性を示唆した。今後、抗痙攣剤など使用児にみられるアシドーシスの解明にも利用出来るし、この所見は治療にも役立つことが可能である。

5. 血液成分を用いた各種ライソゾーム酵素活性の測定

名古屋市立大学医学部小児科

和田義郎 他

4MU誘導体の人工基質を用いてリンパ球、白血球、血清及びBarkittリンパ腫及び伝染性単核球症から樹立し長期間継代培養したlymphoid cellのライソゾーム酵素活性を測定し、その至適条件を検討した。ライソゾーム病はこれまでに報告が多く、この結果はこれら患者の診断、さらに保因者診断の際にも利用される基本的なデータを提供した。

6. 白血球によるGaucher病の酵素診断の検討

日本大学医学部小児科

北川照男 他

4MU-B-glucoside, 2-hexadecanoylaniline-4-nitrophenyl-B-glucosideを用いてGaucher症患者の白血球、皮膚培養線維芽細胞についてB-glucosidaseを測定し、白血球を用いての診断の可能性を追求した。白血球の場合は皮膚培養線維芽細胞よりもやや困難である印象をうけた。Beutlerによりすでに確立されたと思われていた白血球を使用した。この疾患の診断も各々の例では問題のあることが解った。保因者診断の問題も含め臨的に有意義な結果と思われる。

7. 赤血球を利用したインスリンレセプターの測定

熊本大学医学部小児科

松 田 一 郎 他

インスリンレセプターは末梢血を利用する場合は、これまで主に mononucleocyte が用いられ全血で100 ml以上も必要であった。今回5~10 mlの採血量で、赤血球を用いることでインスリンレセプターを測定することが可能であることを示した。この方法は将来肥満児、糖尿病患者などのより詳細な検討、治療効果判定に有用になると思われる。また他のペプチドホルモンのレセプターの検査にも赤血球が用いられる可能性が考えられ、このことは今後臨床レベルで広く利用追求されよう。

班研究会後総合討議がなされた。ここでは今後メーブルシロップ尿症、malignant hyperphenylalaninemiaなど、現在厚生省で決められ広く行なわれている新生児スクリーニングで見い出された疾患の確定診断について検討を重視して、この研究班の仕事を進めることが話しあわれた。

## 赤血球を利用したインスリンレセプターの測定

熊本大学医学部小児科

松 田 一 郎  
並 川 東 志 夫  
並 川 俊 子  
藤 本 茂 紘

インスリンレセプターについては培養ヒトリンパ球、末梢ヒトリンパ球、単球、脂肪細胞、肝細胞などについて研究されてきた。その結果全身性リポディストロフィ肥満やある種の薬剤使用時にインスリンレセプターが減少していることが判明した。今後さらに種々の疾患で研究されなければならない。実際の臨床の場で最も利用性の高い細胞は末梢リンパ球であるが、十分な検査を進めるためには100 mlにも及ぶ採血量が必要である。したがって、小児、特に乳児を対象とする場合には少量の採血量でインスリンのレセプターを測定する方法の関心が望まれる。我々は赤血球を使うことを考え、少量の採血量でしかもACD液中に保存すれば少なくとも3日間はインスリンレセプターの測定が可能であることを見出した。

### 方法及び結果

5~10 mlへパリン採血し、3,000回転10分間遠心し、血漿及びbuffy coatを吸引除去

↓ **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

研究の主旨

種々の代謝疾患が小児の心身障害の原因の1つになっているが、現在なおそれらの疾患の診断に種々改良、改善されるべき問題が残されている。この研究班では検査材料として直接臓器でなく患者からの採血により得られるものを対象として検査することを目的とした。しかも技術面での改良を検討し最少量のサンプルを使用するように務めることにした。