

### 5・3 銅の微量測定法の検討と Kinky Hair Disease の出生前診断に関する研究

東京慈恵会医科大学 小児科

青 木 菊 麿

#### 研 究 目 的

Menkes Kinky Hair Syndrome (MKHS)は1962年Menkesらにより報告され、臨床的には中枢神経系の進行性の障害、毛髪の特有な変化、動脈内膜の異常などの特徴があり、伴性劣性遺伝による予後不良の疾患である。

1972年DanksらはMKHSにおいて消化管からの銅の吸収障害の存在することを証明し、そのための銅の欠乏、銅を必要とする酵素の活性の低下が本症の病態像であることを考察している。その後MKHSに対する銅の投与による治療法が多くの人により試みられているが、治療が成功した報告はみられていない。そのため本症に対して出生前診断が試みられており、これによるMKHSの出生防止が望まれる。

Gokaら(1976)はMKHSの培養皮膚線維芽細胞を用いて銅の代謝を検討し、細胞内の銅の含有量が著しく増加していることを報告した。

Horn(1976)は $^{64}\text{Cu}$ の細胞内へのとり込みがMKHSにおいて増加していることを報告し、それを培養羊水細胞に応用して出生前診断に成功している。その後 $^{64}\text{Cu}$ を用いる銅代謝の研究がMKHSに対して広く応用されるようになってきたが、この方法に対して現在のわが国においては以下のような制限がある。

- (1)  $^{64}\text{Cu}$  核種の入手は週に1回程度に制限されている。
- (2)  $^{64}\text{Cu}$  核種を使用出来る施設が比較的限られている。
- (3) 半限期がおよそ12時間であり、tracer実験に用いる核種の中では非常に短い。そのためこの核種を入手出来る地域が限られてしまう。
- (4) 一般的な意味で核種による汚染がある。

以上のように $^{64}\text{Cu}$ を用いることが困難な場合があり、Gokaらの報告した細胞内の銅を直接測定する方法を検討し、それを出生前診断に応用することを

試みた。

### 研究対象および方法

MKHSではない培養皮膚線維芽細胞をコントロールとした。第1子がMKHSで死亡した家族の第2子に対して出生前診断を行い、性別を判定したところ男子であったため、培養羊水細胞の銅代謝を検討した。皮膚線維芽細胞および羊水細胞の培養は以前報告した方法によった。

培養細胞内の銅の測定には日立170-70形ゼーマン原子吸光分光光度計を用いた。この方法による測定の特徴は、非常に高感度であり、検出限界は $3 \times 10^{-11}$ gである。バックグラウンド吸収の補正が高精度であり、測定試料の複雑な前処理を必要とせず、極めて微量(10 $\mu$ l)の試料で測定が可能である。Cell homogenateに1M H<sub>2</sub>NO<sub>3</sub>を同量加えてhot plate上で徐々に加熱して湿式灰化を行い、蒸発させた後に10mM H<sub>2</sub>NO<sub>3</sub>に溶解し、標準添加法および検量線による直接測定法により測定した。

### 研 究 成 績

表1に示す如く、コントロールの培養皮膚線維芽細胞内の銅は $4162 \pm 152$  ng/mg proteinであり、Gokaらの報告した値とよく一致する。一方high riskの培養羊水細胞中の銅はコントロールの値とほぼ同様であった。同時に測定したNa, Kの値は両者でほぼ同様であった。

<sup>64</sup>Cuを用いた細胞内へのとり込み実験の結果は図1に示す如くであり、high riskの培養羊水細胞において著しく高いとり込みを示した。

### 考 按

ゼーマン原子吸光分光光度計を用いた細胞内の銅の測定は非常に高感度であり、試料10 $\mu$ l中の蛋白量は5 $\mu$ g前後で十分であり、0.03 ppm迄測定可能である。しかも試料の前処理は容易であり、従って培養羊水細胞中の銅の測定の精度向上に関しては非常に有効である。<sup>64</sup>Cuとり込みによる診断には多くの制限があり、容易に実施出来ないため、原子吸光光度計による細胞内銅の測定がMKHSの出生前診断に応用出来れば非常に有意義であると考えられる。<sup>64</sup>Cu

のとり込みによる結果と比較検討して、出生前診断の方法を確立することが望まれ、今後の慎重な検討が必要である。

尚今回行なった羊水穿利、および羊水細胞の培養、胎児の性の結定は、東京大学医学部産婦人科神保利春先生によって行なわれた。羊水細胞によるMKHSの診断の機会を与えて下さったことに感謝する。

#### 要 約

Menkes Kinky Hair Syndrome は予後不良の疾患であり、治療法も確立されていないので、出生前診断が望まれる。本症の培養皮膚線維芽細胞中の銅の含有量の高いことが報告されており、微量の銅を高感度に測定する目的で、ゼーマン原子吸光分光光度計を用いたところ好結果を得ることが出来た。この方法は本症の出生前診断に応用出来る可能性があるものと思われた。

#### 参 考 文 献

- 青木菊磨他：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
- Goka, T.J. et al.: Menkes disease: A biochemical abnormalities in cultured human fibroblasts, Proc. Nat. Acad. Sci, U.S.A. 73:604, 1976
- Horn, N.: Copper incorporation studies on cultured cells for prenatal diagnosis of Menkes' disease Lancet:1156, 1976

表1 Cu concentration in normal skin fibroblasts and amniotic fluid cells from a fetus at risk.

	Copper concentration ( ng/mg protein)
Control (n=6)	41.62 ± 15.2
Amniotic at risk (n=1)	35.10 ± 4.5
Goka et al. Control	59.2 (23 - 95)
Menkes	335.5 (230 - 440)

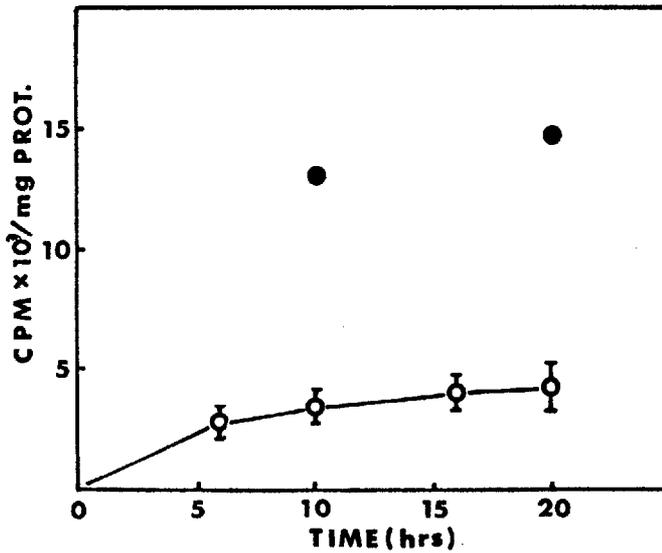
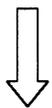


图1 <sup>64</sup>Cu accumulation in normal cultured skin fibroblasts (○) and cultured amniotic fluid cells (●) from a fetus at risk.



## 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



### 要約

Menkes Kinky Hair Syndrome は予後不良の疾患であり,治療法も確立されていないので,出生前診断が望まれる。本症の培養皮膚線維芽細胞中の銅の含有量の高いことが報告されており,微量の銅を高感度に測定する目的で,ゼーマン原子吸光分光光度計を用いたところ好結果を得ることが出来た。この方法は本症の出生前診断に応用出来る可能性があるものと思われた。