

No	質問内容	解 答				
		形式1		形式2		
		はい	いいえ	①	②	③
5	1才をすぎた患者の母親に対する質問 (15例のうち4例はfree diet)					
	a. 月1回の通院は面倒でしたか?	4	11			
	b. 治療効果について疑いをもったことがありますか?	4	7			
	c. 治療をしてよかったですと思いますか?	11	0			
	d. スクリーニングをせず、ヒスチジン血症であることを知らない方がよかったですと考えますか。	2	13			
6	同胞に発達の正常なヒスチジン血症患者を持つ母親に対して、(4例)					
	a. 正常に育っている同胞をみると治療をしなくてもよかったですと考えますか。	2	2			
	b. ヒスチジン血症であることを知らない方がよかったですと思いますか。	2	2			

ガラクトース血症スクリーニングについて

- ① NADPH, NADH 蛍光スポットテストの改良
- ② Paigen法によるGal -1- P の高感度検出法

研 究 分 担 者

(岡山大学医学部脳代謝研究施設内) 高 坂 睦 年

研 究 協 力 者

(岡山県環境保健センター) 美 澄 博 雅

和 田 洋

(国立岡山病院小児医療センター) 市 場 洋 三

(1) NADPH, NADH 蛍光スポットテストの改良

ガラクトース血症のスクリーニングにおいて、新生児血液汚紙の galactose-1-phosphate uridyl-transferase (1)、galactose-4-epimerase (2)、galactose または galactose-1-phosphate を検出する(3)。目的でNADPH, NADH の蛍光スポットテストが実施されている。(a)この中で所謂ポイトラ-法(1)即ち、galactose-1-phosphate uridyl-transferaseの活性の検出を利用した screening に於ては、その活性の低下を来し易く、活性の検出が困難となり、確認のための再テスト、再採血が必要な場合も多い。蛍光の検出を容易

にする方法を考案し検出感度を上昇させたので報告する。

原報に従って反応させた後(37°C、3 hr)、大浦らの考案したディッププレートによって、DE-81 濾紙(Whatman)に反応液を spot して乾燥させ、長波長紫外線ランプ(365 nm)で蛍光を観察した。本法によるスポットでは反応液中に含まれる高濃度の血色素はDE-81 濾紙への吸着が少なく、spot の周知に移動したが、NADPHは spot した中心部に保持され、血色素とほぼ分離したので蛍光の観察が容易であり、半定量も可能である。対照での非特異蛍光も見られなかった。(b)従来の方法に比して蛍光強度も強いので、弱い活性の酵素 galactose-4-epimerase(2)の検出に応用した。その結果 epimerase 欠損症のヘテロ保因者が検出できた。この症例は正常新生児の43%の活性で、両親の1人が対照の35%の活性であった。

(c) galactose、galactose-1-phosphate の spot test による定量法は藤村ら(3)によって既に報告されているが、マス・スクリーニングのためには、血液濾紙の固定法が煩瑣であること、感度が低いことなどの難点があった。この点について改良した。3 mmの血液濾紙ディスクにメタノール、エーテル(1:1) 15 μ l を加え室温で1~2 hr 放置し、反応液(0.16 M-Tris-acetate pH8.6 1.25 mM dithiothreitol, 3mM NAD、0.04% Saponin 5 \times 10⁻³ U/ml galactose dehydrogenase) 30~50 μ l を加え37°Cで90分反応させ、毛細管を用いてDE-81 濾紙に spot する。galactose-1-phosphate も測るときは alkaline phosphatase 2.3 U/ml を反応液に加えておく。この方法により、galactose は 2 mg/dl まで検出できる。他の定量法(下記)と良く一致した。(Fig-1)

(2) Paigen法による gal-1-P の高感度検出法

Paigen法では新生児血液濾紙中の galactose、galactose-1-phosphate、UDP-gal、等が測定できる。galactose 以外の誘導体に対しては感度が低いことが報告されている。他方では galactose と gal-1-P の合計が Paigen法での値であるとの報告もあり、Paigen法について充分認識されていない。galactose と galactose-1-P を含む血液濾紙をピンの上に支持し、alkaline phosphate で処理し、さらに Methanol-acetone (1:1) で固定し、Paigen plate で測定した。このようにして得られた gal+gal-1-P の値と他の方法での定量値とは良い相関を示した(Fig-2)。また、従来の Paigen法では gal-1-P に対しては感度の低いことも示された。

引用文献

- (1) E. Bentler k M, C. Baluda, J. Lab. Clin. Med. 68. 137-141. 1966
- (2) 川村ら、第7回代謝異常スクリーニング研究会予稿集 P23. 1979
- (3) 藤村有信ら、名古屋市衛生研究所年報 23, 15~21. 1976

Fig 1. アルカリフォスファターゼ処理した血液汙紙の Paigen法によるガラクトース値 (galactose + gal -1-P) とスポットテストによるガラクトース値 (gal + gal -1-P) の相関

Fig 2 (●) Paigen法によるガラクトース値と酵素法によるガラクトース値 (gal+gal-1-P) の相関 (○)、同一検体 (血液汙紙) のアルカリフォスファターゼ処理後の Paigen法によるガラクトース値と酵素法によるガラクトース値 (gal+gal -1- P) の相関

Fig. 1.

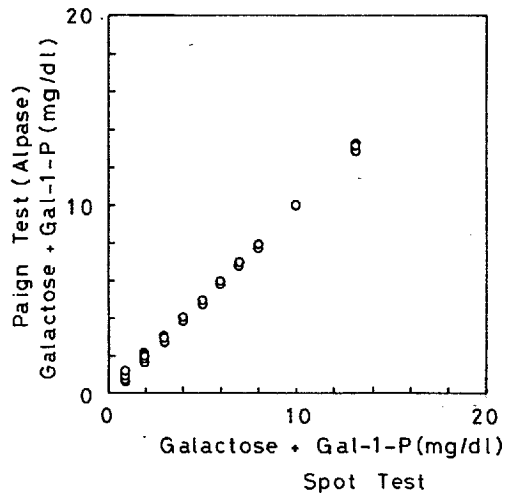
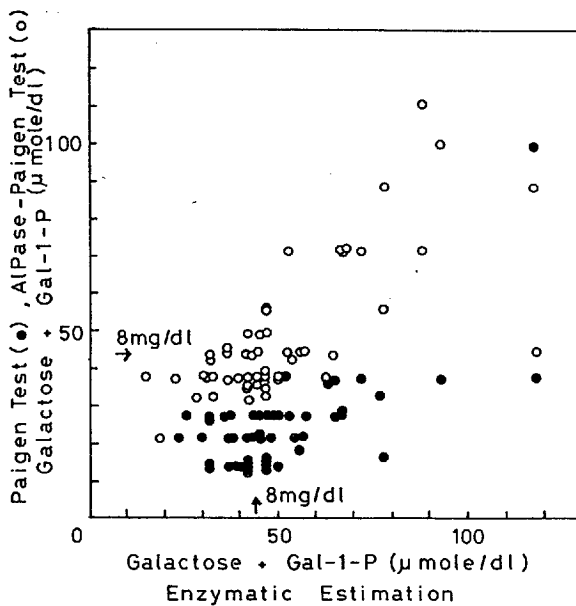
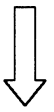


Fig. 2.





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



- (1)NADPH、NADH 蛍光スポットテストの改良
- (2)Paigen 法による gal-1-P の高感度検出法