

## 研究の主旨

種々の代謝疾患が心身障害の原因の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を用いるのではなく、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。また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た。なお本年度は昨年度の総合討議の折に出された主旨を全うするため、特に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出された疾患の確定診断についての検討を主視する方向で研究が進められた。

## 研究分担及び研究成果

### 1. 多核白血球の機能異常症の生化学的診断

九州大学医学部生化学

水 上 茂 樹 他

これまで2年間にわたり、ごく少量の血液それも全血を用いて、多核白血球が放出する $O_2^-$ や、過酸化水素を測定する方法を開発した。この方法は臨床的に特に年少児に利用出来る方法であり、しかも活性酸素誘導のメカニズムの解明にも役立つことが出来る方法である。正常白血球にコンカナバリンA、サイトカラシンDなどを作用させると食菌時と同様の反応を示した。またこの場合の代謝誘導に微細管系が関与していると思われ、このことはレクチンや重水により促進され、Cyclic AMP やコルヒチンにより阻害されることから推論した。また、この誘導には細胞内溶質の遊離カルシウム濃度が関係し、これを低下させると阻害がおこり、またカルシウム濃度を正常化すると改善されることを示した。これらのメカニズムを探知する方法は臨床の場でも十分に適用できるものであり、臨床検査の1つとして用いられれば易感染症の解明に役立つと思われる。

### 2. ルミノールを用いたヒト多核白血球の化学発光に関する研究

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に出すChemiluminescenceは酸化的代謝過程で生ずる $O_2^-$ 、 $H_2O_2$ ・OH、 $^1O_2$ などいわゆる活性酸素によるもので、ルミノールを使用すれば少量の血液で、しかも簡単な操作により測定できることを示した。またこの方法を用いて種々検討した結果、逆に白血球のみでなく、血清のオプソニン活性の測定にも本方法が利用できることを明らかにした。

この方法は実際の臨床の場ですぐ役立つすぐれた方法である。

### 3. 未熟児における Adenosine deaminase および purine nucleoside phosphorylase の経時的発達について

## 名古屋市立大学医学部小児科

和田 義 郎 他

酵素異常に基く免疫機能異常は近年多くの注目を集めているが、なかでもリンパ球の核酸代謝に  
関与する酵素、adenosine deaminase (ADA)、purine nucleoside phosphoryla-  
se (PNP)、HGPRT、PNTなどと免疫機能の間には密接な関係があることが知られてい  
る。しかしこれらの酵素は生後間もなくは、とくに未熟児のそれらはいまだ未発達の段階にあるこ  
とも考えられる。それだけに各時期における正確な値を知ることが大切で、これを知っていて始め  
て、その異常を推定、確認できることになる。

新生児、未熟児、小児、成人についてHopkinsの方法によりADA、およびPNPを測定した  
が、成熟児では生後2ヶ月まで、また未熟児では1週前後まで成人値より高い値を示すがやがて成  
人値に到ることが解った。未熟児ではその後再び上昇する傾向がみられた。

また感染症に罹感するとADA、PNPいずれもかなり高値に上昇することが解った。これらは  
ADA、PNPの値の意味を解釈する場合有用な所見である。

### 4-1. 赤血球を用いたガラクトース血症の診断

#### 北海道大学医学部小児科

荒 島 真 一 郎 他

厚生省がガラクトース血症の新生児スクリーニングを開始して以来、発症前に診断し早期治療を  
行える症例数が増してきている。血中ガラクトースの上昇する疾患にはGalactose-1-Uridyl-  
transferaseの欠損の他、Galactokinase, epimeraseなどの障害があり、スクリ  
ーニングで発見した患者の確定診断がぜひ必要になる。荒島らは新しい方法の開発ではないが、少  
量の末梢赤血球を用いて確定診断できる方法を比較検討した。その結果epimeraseはGitzel-  
manの方法が、GalactokinaseとG-1-P uridyl transferaseはRobinsonの方法  
が臨床的に有効な方法であることを確認した。

### 4-2. 赤血球炭酸脱水酵素の動態—抗痙攣剤による代謝性アシドーシスの発生機序

#### 北海道大学医学部小児科

荒 島 真 一 郎 他

昨年検討した赤血球炭酸脱水酵素のImmunoabsorbent測定法を利用して抗痙攣剤使用者に  
みられるアシドーシスの発生機序を検討した。この結果アシドーシスが抗痙攣剤使用者にみられる  
骨変化をおこす因子の1つとして重要であること、またこの場合抗痙攣剤が炭酸脱水酵素活性を阻  
害する可能性があることを示した。この所見は長期抗痙攣剤使用者にみられる骨病変を予防、治療  
するのに役立つものである。

## 5. 白血球による dihydropteridine reductase 欠損症の診断に関する研究

東北大学医学部小児科

多田 啓也 他

厚生省が始めたフェニルケトン尿症のマススクリーニングが普及するにつれて、フェニルアラニン高値の新生児が多く発見されるようになった。但しこのなかにはフェニルケトン尿症の他に高フェニルアラニン血症が混在しており、これらをできるだけ早期に確定診断し適切な治療を行なわなければならない。悪性高フェニルアラニン血症は dihydropteridine reductase (DHPR) 欠損症、および biopterine 欠損症でおこる。多田等は末梢白血球を用い DHPR 測定法を開発し、さらに免疫学的に肝のそれと白血球のそれとが同一のものである可能性を証明した。

この方法は今後スクリーニングで発見された患児の確定診断に極めて有効な方法である。

## 6. ヒスチジン、フェニルアラニンの赤血球、血漿分布に関する研究

日本大学医学部小児科

北川 照男 他

厚生省が始めた新生児スクリーニングを円滑に進めていくうえで、この方法の精度管理が大きな問題になっているが、この精度管理に必要な標準サンプルを作成する場合の基礎的な研究として、これが行なわれた。

直接ヒスチジン血症の患者から得た血液では赤血球、血漿のヒスチジン値は 1 : 1 であるが、*in vitro* にヒスチジンをヘパリン採血したサンプルに添加し、一定時間放置した場合、赤血球内への取り込みは低く、両者間の比は 1 : 1 にならなかった。ヒスチジン血症患者、正常人にヒスチジンを経口負荷し 1、2、4 時間に採血して血球、血漿のヒスチジンをみたところ、その比はやはり 1 : 1 ではなかった。フェニルアラニンについて同様の検査を行ったが、この場合フェニルアラニンの赤血球内移行は極めてすみやかであった。これらの現象はアミノ酸の転送は決して同一でなく、疾患の症状発現などとも関連している可能性があると考えられた。

### 7-1. メープルシロップ尿症患者由来リンパ球の株化とその酵素活性

熊本大学医学部小児科

松田 一郎 他

厚生省が始めた新生児スクリーニングで発見されたメープルシロップ尿症の患者の診断確定のために末梢血で酵素活性を測定することを検討した。その結果  $2 \times 10^6$  個の白血球を用い、 $^{14}\text{C}$ -ロイシンを基質として活性測定のできることを示した。

さらに患児から採血し、そのリンパ球を分け、それに Epstein - Barr ウイルスを感染させて細胞を株化し、それを生存したままで保存することに成功した。このようにして保存すれば将来 cell bank をつくることも出来、遺伝的背景や治療成績との関係なども検討できる。現在 3 つの

株が樹立されている。

7-2 赤血球を利用したインスリンレセプターの測定法(その2)

熊本大学医学部小児科

松田 一郎 他

赤血球を用いてインスリンレセプターを測定することができれば、単核球を用いる場合と異なり少量の採血量ですみ、とくに年少児を対象とする場合に有益である。方法は昨年発表した方法を用い、成人血、臍帯血、インスリンノーマの患者赤血球についてレセプターを測定した。成人血と臍帯血とでは差異を見出せなかったが、インスリンノーマの患者では手術前は数が少なかったが、術後改善する傾向がみられた。

この方法は今後臨床の場で難治性の糖尿病の診断や、その他インスリン代謝を検討する場合に有効な方法として使われるものと思われる。

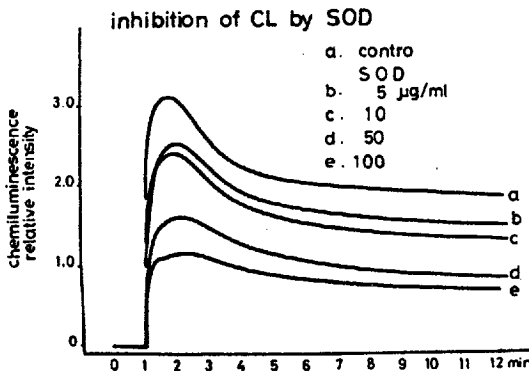


図 1.

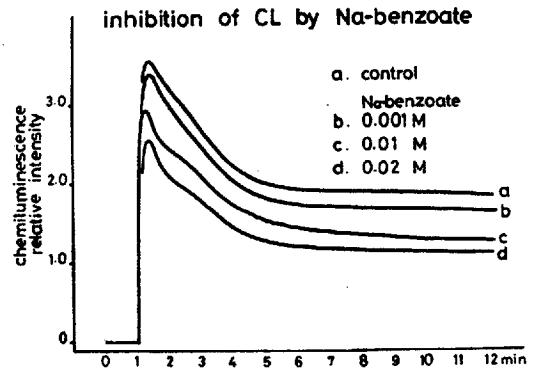


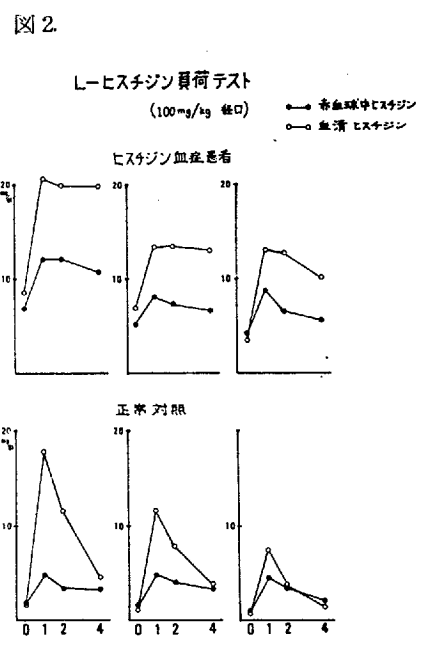
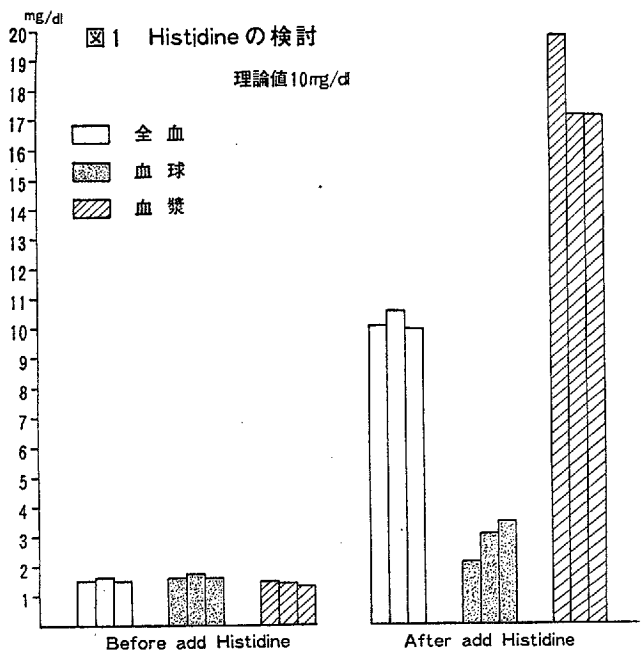
図 2.

TABLE 1 DIHYDROPTERIDINE REDUCTASE ACTIVITY IN LEUKOCYTES

DHPR ACTIVITY*	
(NMOLES CYTOCHROME C REDUCED MIN <sup>-1</sup> MG <sup>-1</sup> PROTEIN)	
PATIENT M.S. **	UNDETECTABLE
PATIENT K.S. **	UNDETECTABLE
FATHER	11.4
MOTHER	12.1
CLASSICAL PKU T.I.	30.9
CLASSICAL PKU K.I.	22.9
CONTROL (N=28)	
MEAN ± SD	25.0 ± 5.2
RANGE	16.8 - 35.4

\*DHPR ACTIVITY WAS ASSAYED ACCORDING TO METHOD I.

\*\*DHPR 欠損症



## メープルシロップ尿症患者由来リンパ球の株化とその酵素活性

熊本大学小児科

松田 一郎  
赤星 泉  
山本 治郎

—はじめに—

これまでわが国では、新生児スクリーニングにより5名のメープルシロップ尿症の患者が発見され、うち1名は新生児期に死亡したが残りの4名は生存し治療をうけている。われわれは、これら患者からリンパ球を分離しそれを Epstein Barr ウイルスを使って株化、保存し、今後の研究、治療法改善などに役立てることを目標として以下の研究を行った。

—方 法—

鹿児島、久留米、京都に在住する患者より採血し、培養液中に入れて郵送してもらい、これに



## 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を用いるのではなく、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。また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た。なお本年度は昨年度の総合討議の折に出された主旨を全うするため、特に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出された疾患の確定診断についての検討を主視する方向で研究が進められた。