

## ピルビン酸カルボキシラーゼ欠損症の診断法

多 田 啓 也

高 田 五 郎

大 竹 正 俊

(東北大学医学部小児科)

先天性乳酸アシドーシスは比較的多くみられる小児期の代謝異常症であるが、その病因は様々であり有機酸代謝異常に基づく二次的のものからピルビン酸代謝に関与する酵素 (pyruvate carboxylase, pyruvate dehydrogenase complex, etc) の欠損症が知られている。その臨床症状、経過も多様であり臨床症状から病因を診断することは困難であり酵素レベルでの診断が必要である。

従来ピルビン酸カルボキシラーゼ (PC) 欠損症の診断は生検肝組織、培養皮膚線維芽細胞が用いられてきたが、最近 Atkin らは末梢白血球を用いて PC 活性が測定可能であると報告した。しかしわれわれが試みた結果では末梢白血球中 PC 活性は極めて低く、正常と患者とを区別することは困難であると思われる。末梢白血球中の PC は主としてリンパ球に存在することから、われわれは末梢白血球よりリンパ球を分離し PHA (phytohemagglutinin) で芽球化し PC 活性を測定する方法を検討した。

### 方 法

ヘパリン血 4 ml から Ficoll-Paque によりリンパ球を分離し、PHA を添加した 20% FCS 加 RPMI-medium-1640 培養液中で約 72 時間培養し、得られたリンパ芽球 (蛋白量 1~2 mg) を 0.25 M sucrose, 50 mM potassium phosphate buffer, pH 7.4, 1 mM EDTA, 0.1% Triton-X-100 にてホモジナイズし、Utter and Keech の変法に従い PC 活性を測定した。

### 結 果

リンパ芽球中の PC 活性は蛋白量 50  $\mu$ g から 500  $\mu$ g まで直線性が認められ、また反応時間は 90 分まで直線性が認められた。

本法によるリンパ芽球中 PC の specific activity は末梢白血球のその約 7 倍であり、培養皮膚線維芽細胞の約 1/2 であった。biotin-dependent multiple carboxylase 欠損症の患者では活性は殆ど検出し得なかった (表 1)。

表1 PC activities in lymphoblasts, fibroblasts and mixed leukocytes from normal and disease controls and a patient with biotin-dependent multiple carboxylase deficiency.

Lymphoblasts, fibroblasts and leukocytes were prepared and assayed for PC activities as described in the text. Samples from the patient and three disease controls were assayed in parallel with samples from normal controls.

a) Number of subjects is in parentheses.

b) Values are expressed as the mean  $\pm$  SD followed by the range.

c) Values are significantly different ( $p < 0.001$ ) from mixed controls (i.e. disease and normal controls).

PC activities (pmol/min per mg protein)		
Lymphoblasts		
Normal controls (7) <sup>a)</sup>	259 $\pm$ 34 <sup>b)</sup>	(213 ~ 318)
Disease controls (3)	259 $\pm$ 46	(216 ~ 322)
(Mean $\pm$ SD)	(259 $\pm$ 38)	
Patient (1)	< 6	
Fibroblasts		
Normal controls (3)	591 $\pm$ 69 <sup>c)</sup>	(531 ~ 676)
Leukocytes		
Normal controls (5)	38 $\pm$ 9 <sup>c)</sup>	( 26 ~ 54)

## 考 察

われわれの方法は末梢血 1~2 mlより分離したリンパ球で PC 活性測定可能であり、操作も簡単であり皮膚培養線維芽細胞を用いる場合に比し時間が短縮できる点、試料が容易に入手し得る点において臨床上有用であると思われる。



## 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



先天性乳酸アシドーシスは比較的多くみられる小児期の代謝異常症であるが、その病因は様々であり有機酸代謝異常に基づく二次的のものからピルビン酸代謝に関与する酵素(pyruvatecarboxylase, pyruvate dehydrogenase complex, etc)の欠損症が知られている。その臨床症状、経過も多様であり臨床症状から病因を診断することは困難であり酵素レベルでの診断が必要である。

従来ピルビン酸カルボキシラーゼ(PC)欠損症の診断は生検肝組織、培養皮膚線維芽細胞が用いられてきたが、最近 Atkinらは末梢白血球を用いて PC 活性が測定可能であると報告した。しかしわれわれが試みた結果では末梢白血球中 PC 活性は極めて低く、正常と患者とを区別することは困難であると思われる。末梢白血球中の PC は主としてリンパ球に存在することから、われわれは末梢白血球よりリンパ球を分離し PHA(phytohemagglut in)で芽球化し PC 活性を測定する方法を検討した。