

遺伝性代謝異常症における上皮性 細胞酵素の測定

岡 田 伸 太 郎
豊 徹
加 藤 伴 親
(大阪大学医学部小児科)

リソゾーム蓄積症の研究では、リンパ球、培養皮膚線維芽細胞が主に用いられているが、性質の異なる細胞でのリソゾーム酵素活性の測定も有用と考えられ、皮膚の初代培養の際に得られる上皮性細胞において、リソゾーム酵素活性の測定と、電顕による観察を行った。

方 法

皮膚生検を行い、この皮膚片をメスで約 0.2 mm 角に切り、6 cm の plastic dish に針で密着させ、20%血清加 Eagle's MEM を加えて培養を行った。十分量の上皮性細胞の増殖が得られた後、線維芽細胞を除去するため、トリプシン処理を行い、生理的食塩水で洗浄した後、この上皮性細胞のシートを針で集めた。最初の皮膚片は除去した。上皮性細胞に相当量の蒸留水を加えて、Teflon ホモゲナイザーでホモゲナイズし、酵素源とした。リソゾーム酵素活性測定は 4MU 化合物を用いて、蛋白量の測定は Lowry 法で行った。

材 料

正常由来および、I cell 病、その両親、マンノシドーシスとその家族、シアリドーシスとその父由来の上皮性細胞を用いた。

結 果

β -galactosidase (β -Gal), β -hexosaminidase (β -Hex) は上皮性細胞においては、線維芽細胞よりも低い活性を示したが、 α -mannosidase (α -M), α -fucosidase (α -F) は、線維芽細胞とほぼ同じ活性を示した。I-cell 病、シアリドーシス由来の上皮性細胞においては、 β -Gal 活性は対照に比し低値を示した。I-cell 病由来の上皮性細胞においては、 β -Gal 活性は低値を示したが、 β -Hex, α -M, α -F 活性は、ほぼ正常範囲内の活性値を示し、これは I-cell 病の臓器における所見と一致するものであり、興味あるものと考えられた。マンノシドーシス由来の細胞では、 α -M 活性は対照に比し著明な低値を示した。電顕所見では、上皮性細胞のマーカーである tonofilament がよく認められ、シアリドーシス由来の上皮性細胞においては、空胞形成、封入体と考えられる所見が得られた。

表1 β -Galactosidase activity in cultured epithelial cell

I-cell disease (T.N.)	0.8
I-cell disease (R.I.)	1.3
Father (T.N.)	6.4
Mother (T.N.)	1.6
Sialidosis (M.M.)	7.5
Sialidosis (T.M.)	1.4
Father (M.M. and T.M.)	34
Control	56±22

(N=6, 31-96)
(n mol/mg prot./h)

α -Mannosidase activity in cultured epithelial cell

Mannosidosis (J.H.)	1.5
Father (J.H.)	29
Mother (J.H.)	16
Brother I (J.H.)	13
Brother II (J.H.)	23
I-cell disease (T.N.)	27
I-cell disease (R.I.)	26
Father (T.N.)	56
Mother (T.N.)	44
Control	54±22

(N=8, 26-84)
(n mol/mg prot./h)

β -Hexosaminidase activity in cultured epithelial cell

I-cell disease (T.N.)	312
I-cell disease (R.I.)	271
Father (T.N.)	593
Mother (T.N.)	514
Control	785±469

(N=13, 278-1863)
(n mol/mg prot./h)

α -Fucosidase activity in cultured epithelial cell

I-cell disease (T.N.)	5
I-cell disease (R.I.)	8
Father (T.N.)	17
Mother (T.N.)	5
Control	18±11

(N=12, 6-44)
(n mol/mg prot./h)

Lysosomal Hydrolase activities in cultured skin fibroblasts and epithelial cells

	Skin fibroblasts				Epithelial cells			
	β -Gal	β -Hex	α -M	α -F	β -Gal	β -Hex	α -M	α -F
ICD (T.N.)	17	743	20	4.8	0.8	312	27	5
ICD (R.I.)	33	965	18	3.6	1.3	271	26	8
Father (T.N.)	214	2212	119	101	6.4	593	56	17
Mother (T.N.)	229	2379	138	113	1.6	514	44	5
Control								
Mean±S.D.	203±65	2795±1283	65±20	56±38	56±22	785±469	54±22	18±11
Number	10	10	10	10	6	13	8	12
Range	122-336	1175-5508	44-110	26-151	31-96	278-1863	26-84	6-44

(n mol/mg prot./h)

ま と め

今回発表した方法は①培養の条件により得られる上皮性細胞の量が一定しない。②上皮性細胞の継代培養が不可能である。③線維芽細胞を完全には除き得ないなどの欠点はあるが、応用価値はあるものと考えられ、今後、症例のある毎に検討する予定である。



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



リソゾーム蓄積症の研究では、リンパ球、培養皮膚線維芽細胞が主に用いられているが、性質の異なる細胞でのリソゾーム酵素活性の測定も有用と考えられ、皮膚の初代培養の際に得られる上皮性細胞において、リソゾーム酵素活性の測定と、電顕による観察を行った。