

## 診断技術の向上に関する研究班 昭和57年度研究業績のまとめ

分担研究者	大浦敏明		
研究協力者			
染色体グループ	中込弥男	日暮真	
基礎グループ	荻田善一	岩井和夫	松本勇
	山科郁男	成瀬浩	
小児科グループ	松田一郎	多田啓也	鈴木義之
	岡田伸太郎	一色玄	大浦敏明
産科グループ	須川 侑	八神喜昭	久永幸生
	尾崎公己	佐藤孝道	松本雅彦
細胞バンクグループ	岡田善雄	荻田善一	松田一郎
	須川 侑	中込弥男	多田啓也
	北川照男	和田義郎	山科郁男
	鈴木義之	岡田伸太郎	高瀬譲治

昭和57年度の研究報告と3年間の総括を兼ねて、昭和58年2月19日「診断技術の向上に関する研究班」の班会議を大阪で開催した。メンバーは昨年度と同様である。

昭和55年度に発足した「診断技術の向上に関する研究班」の研究成果は以下のように総括される。

### 研 究 目 標

先天異常のうち、外表奇形、精神発達障害、免疫不全症を除き、特殊かつ高度の技術を必要とする疾患の診断法を開発することを目標とした。具体的には、先天性代謝異常と染色体異常が対象となった。

とくに、昭和52年に発足した先天性代謝異常症の新生児マス・スクリーニングの進展に伴い、古典的な疾患概念では理解できない新しい病態像と新しい疾患が発見され、治療の適応とも関連してその早期鑑別は緊急のこととなった。このような現下の状況に鑑み、新生児マス・スクリーニングの関連する事項を積極的に取り上げた。

## 構成とその経過

初年度は染色体、基礎、小児科、産科の4グループとし、それぞれ中込弥男、荻田善一、松田一郎、須川 信を代表者として委嘱した。

第2年度は、昭和49年「国立遺伝衛生研究所」設立案に細胞バンク設置が提案されて以来、昭和50年「細胞バンク設立のための基礎調査」(大浦・北川)、昭和54年「細胞バンクの設立と運営に関する研究」(大浦・北川他)と提案が重ねられ、細胞保存に対する要望が全国的に高まっているので、その具体策を検討する目的で細胞バンクグループが加えられ、岡田善雄がその代表者となった。

第3年度の構成は前年と同様である。

## 研究 成 果

### 染色体グループ (代表 中込弥男)

染色体異常は先天異常の重要な一部分を占め、その出生頻度は0.5～1%といわれている。またモニタリングのマーカーとして、最も確実なものの一つである。しかし技術的困難から、検体の大量処理に問題があり、微細構造とその機能面においても未知の部分が少なくない。中込らは凍結保存など多数例の処理に、簡単で成功率の高い培養法を開発し、アクリジンオレンジ法など高精度分染法により幾多の新しい知見をもたらした。

また日暮らは表現形からは診断の困難な性染色体異常モザイクのスクリーニングを検討し、その方法論と現時点での限界を明確にした。同時に統計処理の実用的な方法を提示した。

### 基礎グループ (代表 荻田善一)

このグループの研究領域は広汎であるが、大別して、①組織細胞を試料とする遺伝性疾患の診断、保因者ならびに遺伝的異質性の診断法の開発と、②代謝産物による代謝異常症の診断法の開発に分けられる。

①に関しては、荻田らは主として毛根による微量電気泳動法、オートラジオグラムなどを駆使するプリン体代謝異常症の患者および保因者の診断法を開発し、臨床的に応用した。また生化学的手法だけでなく、組織化学、染色体分析も含めた毛根による遺伝性疾患の系統的診断法が確立された。

彼らはさらに、生体に有害な活性酸素を不活化する superoxide dismutase (SOD) の微量解析へとその応用を広めた。

なお細胞バンクグループに入っているが、岡田の細胞工学に関する研究も、内容的にはこのグループに属する。

②に関しては、マス・スクリーニングに関連したものが多い。

新生児スクリーニングでフェニルケトン尿症の疑いで発見されたもののなかに、遺伝的に異質な多くの疾患が含まれることが明らかとなった。そのうち最も重要なものは、テトラヒドロ

ビオプテリン (BH<sub>4</sub>) 欠乏症である。本症の初期の臨床像は古典的フェニルケトン尿症(PKU)とほとんど変わらないが、その本態はフェニルアラニン (PHE) 水酸化酵素の欠損でなく、その補酵素 BH<sub>4</sub> の欠乏にある。その原因として、ジヒドロプロテリジン還元酵素 (DHPR) 欠乏症と、ジヒドロビオプテリン合成酵素 (DHBS) 欠乏症の2種のあることも明らかとなった。臨床的に極めて重要なことは、BH<sub>4</sub> 欠乏症は、PKU におけるような食事療法のみでは脳障害の予防が不可能で、重度の発達遅滞、難治性けいれん、極度の筋緊張低下、反復する感染などのため、多くは乳幼児期に死亡するという事実である。この故悪性高フェニルアラニン血症とも呼ばれる。これは BH<sub>4</sub> が PHE 水酸化酵素の補酵素であるだけでなく、トリプトファン水酸化酵素、チロジン水酸化酵素の補酵素でもあるので、BH<sub>4</sub> 欠乏は神経アミンのセロトニン、カテコールアミン欠乏をきたすからである。この理由で、BH<sub>4</sub> 欠乏症患者には、食事療法とともに、早期からアミン前駆物質である 5-ヒドロキシトリプトファン (5-HTP) と L-DOPA の投与が必要である。したがって、BH<sub>4</sub> 欠乏症とその病型診断は刻下の急務となった。

岩井らは尿の高速液体クロマトグラフィーによる分析で BH<sub>4</sub> 欠乏症の診断を可能にし、大浦、多田、一色らはその臨床応用へと発展させている。最近関連物質として葉酸代謝異常による疾患が貧血、代謝異常の原因として注目されているが、その高精度分析法も開発された。

成瀬らは、古典的 PKU と高フェニルアラニン血症 (HPA) との鑑別のため、肝生検を必要とせず、人体に無害な重水素ラベル PHE を用いた PHE 水酸化酵素の生体での測定法を開発した。本法はガスクロマトグラフィー-マススペクトロメトリー (GC-MS) 装置を要するので、一般施設では実施困難であるが、明るい方向を見出したものとして評価される。

彼らはまた、有機酸分析法として、multi-detection system, アミノ酸分析法としてイオンペアクロマトグラフィーによる方法を考案実用化した。今後の研究に大きな利便を与えることとなる。

松本らは早くから GC-MS コンピューターシステムによる代謝異常症の診断システムを開発し、その項目を現在75まで増加させた。

近年先天性代謝異常中、有機酸代謝異常の占める割合は急速に増加しているが、その一つの理由として GC-MS による松本らの診断システムが大きく貢献している。

山科は治療法はまだ発見されていないが、臨床と研究で新しい発展が予想される複合糖質異常症のマス・スクリーニング法として、尿中アミノ糖の簡易分析法を開発した。

一方 Lowe 症候群は従来その本態が不明とされていたが、山科はまず患者尿中ムコ多糖体の著しい低硫酸化を発見し、この現象は患者皮膚由来の線維芽細胞でも見られること、患者では活性硫酸を分解する酵素活性が正常の10倍も高いことを報告した。その酵素は、ヌクレオチドピロホスファターゼの一種で、線維芽細胞での酵素活性の測定により、患者のみならず保因者診断も可能で、羊水診断の可能性が示唆されている。

**小児科グループ** (代表 松田一郎)

このグループの研究は、主として新生児マス・スクリーニングに関連したものと、超微量定

量法の開発に向けられた。

前者としては、多田らはさきに赤血球中 DHPH 活性の測定に成功し、血液濾紙を用いての患者と保因者の診断を可能にした。また高速液体クロマトグラフィーによる尿中ビオプテリン分析を行い、BH<sub>4</sub> 欠乏症の病型診断が可能であることを報告した。

大浦ら、一色らは岩井らの方法により尿中ビオプテリンによる BH<sub>4</sub> 欠乏症の病型診断を行ったが、その値は年齢差が大きく、また血中 PHE の高低によっても大きく変動することを知り、これらの要因を考慮しなければ正確な診断は不可能であった。そこで、尿中ビオプテリン誘導体の変動を、新生児から老人にわたって多数例につき分析し、その動向を明らかにした。また古典的 PKU の治療中の変動、HPA の種々の変異型における特徴的所見を得た。最終年度では、おそらく世界最初の DHBS 欠乏症の解剖例を得、その生化学的、病理学的検討を行った。一色らはその他ムコ多糖の検査法、異染性ロイコジストロフィーの遺伝的異質性、ムコ多糖体症の致死性病変としての心臓障害の超音波診断法を報告した。

松田らはメープルシロップ尿症およびその変異型の末梢リンパ球をひろく全国より集め、その株化、永久保存に成功した。これは一種の細胞バンク機能も果しており、今後発見される患者の検索にも非常に有用である。また株化リンパ球を用いて、培養液中ロイシンの発育阻害と、細胞中酵素活性との有意の相関を認めた。

微量定量法の開発に関しては、鈴木らは引続き自動サイクリング装置による酵素測定法の開発に従事し、昨年度第 1 号器を試作した。種々の改良を加え、ガラクトセレブロンダーゼの超微量測定が可能となった。しかしまだメカニズムに関して不安定な部分が残されており、引続き研究中である。将来の発展が期待される。

岡田(伸)らは、単一細胞レベルでの  $\beta$ -galactosidase 活性検出法、上皮性細胞における酵素診断の有用性をすでに報告し、今年度は Tay-Sachs 病において、ヒアルロン酸由来のオリゴ糖を基質とする簡便な酵素診断に成功した。これは新しくかつ有意義な改良法である。

#### 産科グループ (代表 須川 信)

本グループは臨床と遺伝相談の立場から、年々増加の傾向にある出生前診断の 1,641 例につき、その精度向上のため多面的解析を行ったものである。資料が提供されたのは 8 施設で、その適応となった疾患は、染色体異常 (90%)、性染色体異常 (2.6%)、先天性代謝異常 (7.3%)、神経管欠損 (0.3%) である。その結果、わが国における出生前診断のほぼ全貌が明らかにされた。わが国では、外国のような高齢妊婦が少なく、すでに先天異常児を持つ親の遺伝相談の色彩が強い。

技術的には診断の成功率、児および母体への合併症の発現など欧米に比較して遜色なく、高水準にあることが確認された。

出生前診断は、障害児問題に多様な価値観の存在するわが国では、まだ社会的に十分認知されているとはいえない。しかし医療のレベルでは、個々の妊婦からの要求は増加しており、一方この方面における世界的な技術の進歩は著しい。将来とも出生前診断をどう位置づけ、どう

運用するかにつき、技術的検討とともにさらに研究を継続する必要がある。

#### 細胞バンクグループ (代表 岡田善雄)

遺伝病細胞の保存と相互利用は、先天異常の予防に欠くことのできない領域の一つである。昭和49年以降幾たびか基礎的検討がなされてきたがまだ実現の兆しが無い。たまたま、「先天異常モニタリングに関する研究班」の行政システム研究班において、先天異常モニタリングセンターの構想が検討されることになったので、その機能のなかに組入れられることを希望して、昨年度本研究班から行政システム研究班に要望書が提出された。しかしモニタリングセンターの内容に関して班内での見解の多様性のため採用されなかったため、漸進的ではあるが、より実現性の高い案として、「細胞バンク・グループ」独自で次のような方針が提案された。

#### 細胞バンク設立

第1ステップ：先天異常患者を積極的に取扱っている日本各地の病院を選んで、それぞれに「細胞保存システム（液体窒素、 $-80^{\circ}\text{C}$ 冷凍庫）」を配備できるよう要請する。

第2ステップ：配備できた病院では保存株のリストの提出を義務づける。このためには維持費の補助が必要である。この作業のなかから、全国の関係者のネットワーク組織を作りあげる。

第3ステップ：真に利用度の高い、永続性のある細胞バンクセンターを、このネットワーク組織の上に作りあげる。

現在米国、カナダなどでは完備した細胞バンクが運営されており、わが国の研究者も辛うじてその恩恵に頼っている現状である。いま遺伝子工学が飛躍的に進歩しつつあるなかで、gene bank の構想さえ進められている。細胞バンクの構想も、そのような一連の動きと関連して、関係各方面とも連携し、さらに構想を進展させることが望まれる。

なお本グループの班員として、個々に以下の研究がなされた。

岡田（善）は、年来の研究テーマである色素性乾皮症とコケイン症候群の相補性の研究を進展させ、また SSPE 細胞をフラグメント A を封入したリポソームと融合させることにより、選択的に死滅させることに成功した。本年度はさらに、赤血球ゴースト法による DNA の細胞内注入法を開発した。これら一連の研究は、細胞工学の発展に大きく寄与するものである。

北川らは先天性代謝異常の出生前診断に関して研究し、昨年度はアルギニノコハク酸尿症と、メープルシロップ尿症、本年度は I-cell 病について精細な検討を行った。

和田らはシトルリン血症の量的異常と、メープルシロップ尿症の出生前診断の研究を行った。

これらの研究は、産科グループの出生前診断が主として染色体異常であるのに対して、先天性代謝異常に関する情報としてわが国の出生前診断を補完するものである。

#### 刊 行 物

全国の新生児マス・スクリーニングセンター、精密検査機関、治療機関および先天異常の研究者の便宜のため、次の二つの刊行物を作成した。いずれも近い将来の改訂を予想しての刊行物である。

1. 全国先天性代謝異常・染色体異常精密検査機関名簿（担当 大浦敏明）
2. 検査マニュアル（第1集）  
（編集委員長 萩田善一）



## 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



### 研究目標

先天異常のうち, 外表奇形, 精神発達障害, 免疫不全症を除き, 特殊かつ高度の技術を必要とする疾患の診断法を開発することを目標とした。具体的には, 先天性代謝異常と染色体異常が対象となった。

とくに, 昭和 52 年に発足した先天性代謝異常症の新生児マス・スクリーニングの進展に伴い, 古典的な疾患概念では理解できない新しい病態像と新しい疾患が発見され, 治療の適応とも関連してその早期鑑別は緊急のこととなった。このような現下の状況に鑑み, 新生児マス・スクリーニングの関連する事項を積極的に取り上げた。