

ヒアルロン酸由来のオリゴ糖を基質とした Tay-Sachs 病の酵素診断法の開発

岡 田 伸 太 郎
豊 徹
藪 内 百 治
(大阪大学医学部小児科)

N-acetyl- β -hexosaminidase 活性低下症である Tay-Sachs 病の酵素診断をおこなうにあたり、従来から 4-MU 誘導体あるいは、p-ニトロフェノール誘導体を酵素活性測定用の基質として使用し、加熱テストやイオン交換カラムにより、 β -ヘキソサミニダーゼA活性を測定する方法がとられてきた。われわれは、 β -ヘキソサミニダーゼのアイソザイムであるA分画とB分画のうち、主としてA分画が、ムコ多糖体（コンドロイチン-6-硫酸またはヒアルロン酸）の代謝に関与している事実に注目し¹⁾、ヒアルロン酸由来のオリゴ糖を、ヘキソサミニダーゼA活性測定用の基質としてもちいることにより、Tay-Sachs 病の酵素診断のための簡易な測定方法を開発した。

方 法

Höök らの方法に従い²⁾、ヒアルロン酸をヒドラミンにより、脱アセチル化させたのち、 $[^3\text{H}]$ -無水酢酸により、再アセチル化させ、N- $[^3\text{H}]$ acetylglucosamine を含有するヒアルロン酸を生成する。これを Hyaluronidase, β -Glucuronidase により酵素的に分解させ、ゲル濾過法、濾紙クロマトグラフィーにより、N- $[^3\text{H}]$ acetylglucosamine-Glucuronic acid-N- $[^3\text{H}]$ acetylglucosamine からなる3糖を抽出し、 β -ヘキソサミニダーゼ活性測定用の基質とした。酵素活性の測定には、肝あるいは、皮膚線維芽細胞由来の酵素液と上記の基質を反応させ、遊離した N- $[^3\text{H}]$ -グルコサミンを AG1 \times 8 (ギ酸型) カラムにより分画採取し、その Radioactivity をカウントし、酵素活性値を得た。

結 果

Tay-Sachs 病由来の皮膚線維芽細胞あるいは剖検肝中のヘキソサミニダーゼ活性は、対照に比し、著明な酵素活性の低下をみた (表1)。正常肝由来の酵素を陰イオン交換カラムにより、A分画とB分画に分画させ、上記の基質に対する分解能を検討した結果、主として、A分画のみがこの基質に作用した (図1)。

表1 N-acetyl-beta-hexosaminidase Activities
in Skin Fibroblasts Homogenates

	Hyaluronic acid beta-Hex.	4MU-beta-Hex.
Tay-Sachs		
1.	0.0253	3,541
2.	0.0372	3,846
3.	0.0108	1,138
	0.0134	1,169
ML-I	0.225	2,961
ML-II		
1.	0.0313	743
2.	0.0410	649
3.	0.0441	697
4.	0.0278	731
Control	0.2~0.816(N=11)	1,157~3,180 (N=11)

Activity is expressed as nmol/mg protein/hour.

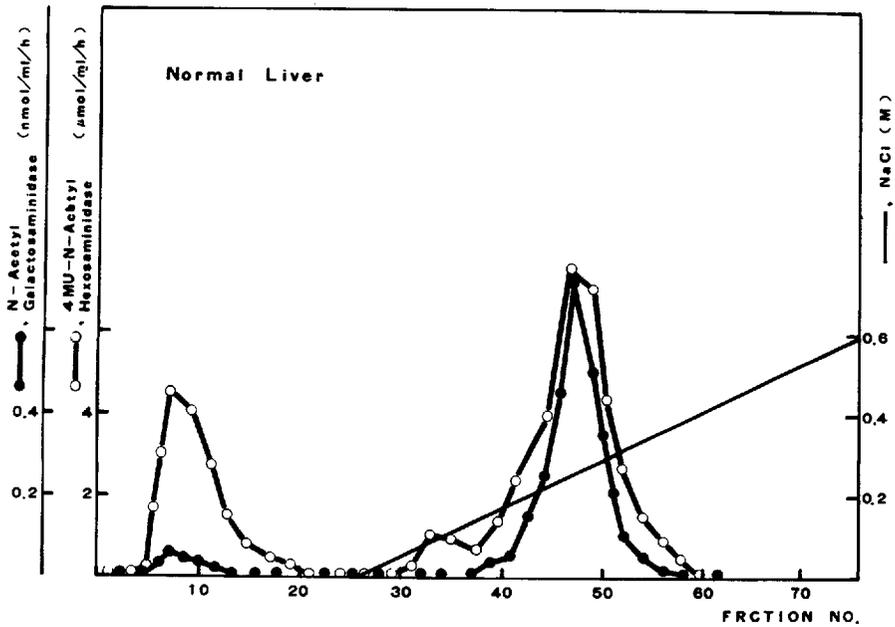


図1 正常肝 β-ヘキソサミニダーゼの DEAE-セルロースクロマトグラフィー

考 按

人工基質である 4MU 誘導体を基質としてもちい、A分画とB分画の熱安定性の差を利用して、Tay-Sachs 病の酵素診断をおこなう測定法は、簡単で有用な方法ではあるが、本来ならば熱安定性を示すB分画が、加熱により失活したとの報告もあり、時にはあやまった結果をもたらす危険性がある。われわれが開発した新しい測定方法は、A分画を直接測定でき、その測定方法も容易であることから、Tay-Sachs 病の酵素診断法の一つとして、試みられてもよい。

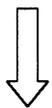
文 献

- 1) Yutaka, T., Kato, T., Okada, S. and Yabuuchi, H.: Impaired degradation of chondroitin sulfate in GM₂-gangliosidosis. Clin. Genet., **22**: 165~171, 1982.
- 2) Höök, M., Riesenfeld, J. and Lindahl, U.: N-[³H] acetyl-labeling, a convenient method for radiolabeling glycosaminoglycans. Analy. Biochem., **119**: 236~245, 1982.



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



N-acetyl- β -hexosaminidase 活性低下症である Tay-Sachs 病の酵素診断をおこなうにあたり、従来から 4-MU 誘導体あるいは、p-ニトロフェノール誘導体を酵素活性測定用の基質として使用し、加熱テストやイオン交換カラムにより、 β -ヘキソサミニダーゼ A 活性を測定する方法がとられてきた。われわれは、 β -ヘキソサミニダーゼのアイソザイムである A 分画と B 分画のうち、主として A 分画が、ムコ多糖体(コンドロイチン-6-硫酸またはヒアルロン酸)の代謝に関与している事実に注目し、ヒアルロン酸由来のオリゴ糖を、ヘキソサミニダーゼ A 活性測定用の基質としてもちいることにより、Tay-Sachs 病の酵素診断のための簡易な測定方法を開発した。