

先天代謝異常における酵素活性測定法の選択

—HGPRT 部分欠損症での化学的測定法と
生物学的測定法の差違—

和田義郎, 小林道生, 大谷 勉
小林正紀, 森下秀子, 杉山成司

(名古屋市立大学小児科)

山中 寿, 西岡久寿樹

(東京女子医大リウマチ痛風センター)

研究目的

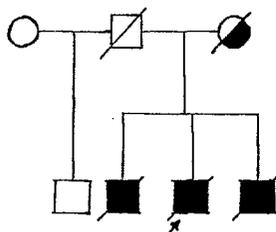
各種の先天代謝異常症の確定診断には酵素活性の測定が行われることが多い。しかし、その多くは患者から得られた組織を破壊して測るものなので生体での様子を忠実に表しているかどうかは保証の限りでない。むしろ疾患によっては他の方法（例えば培養細胞を生きた形で利用する生物学的方法）の方がより実際に近い代謝活性を表現し得る場合も有り確定診断のための方法は多岐に亘るといふべきであろう。

我々は今回、高尿酸血症および精神発達遅滞を主症状とする1家系3兄弟の症例に遭遇し赤血球の Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (以下略して HGPRT) 活性が化学的方法では極めて低いことから Lesch-Nyhan 症候群 (以下略して L-N 症候群) との鑑別診断が必要となり、選択培地を用いた生物学的方法¹⁾で細胞の viability を測定することによって L-N 症候群とは異なる HGPRT 部分欠損症と診断することが出来た。

このような方法論的に異質な測定法を組合わせて診断を確定せしめることは、新生児マススクリーニングテストでチェックされた児の鑑別診断に利用される可能性が大きいと考えて検討を行った。

研究方法

高尿酸血症、精神発達遅滞、痛風性関節炎を主症状として来院した発端者 (15 歳, 男) に関する家族的検索 (第 1 図) から異母兄 1 人を除く 3 人の兄弟が揃って同様の症状を有することを知り早朝空腹時に採血し以下の如き検査を行った。



第1図 家系図
(矢印が発端者)

(1) 赤血球のプリン代謝関連酵素活性の測定

(A) HGPRT および Adenine phosphoribosyltransferase (以下略して APRT)

Kelley らの方法²⁾に準じて測定を行った。Hypoxanthine, Guanine, または Adenine の ¹⁴C 標識化合物と Phosphoribosylpyrophosphate および赤血球溶血液を Mg⁺⁺ 存在下にて 37°C に孵置し、産生されたヌクレオチド量を測定する。

(B) アデノシン脱アミノ酵素 (以下略して ADA) および Purine nucleoside phosphorylase (以下略して PNP)

Hopkinson らの方法³⁾に準じて行った。アデノシンまたはイノシン溶液に赤血球溶血液とキサンチン酸化酵素を加えて孵置し、産生された尿酸量を測定する。

(2) 選択培地による T 型リンパ球の viability

ヘパリン処理した静脈血からリンパ球を分離し、dimethyl sulfoxide を含む培地内で凍結保存した上 60 日以内に融解して培養に用いた。3 日間 1% phytohemagglutinin で刺戟した後 T cell growth factor を含む培地で培養し、5 日後にチオグアニンを含む培地に移した。そのまま培養を続け、更に 6 日後に生存している細胞の数をトリパンブルーで染色・測定した。¹⁾

研究結果

(1) 赤血球のプリン代謝関連酵素活性

結果を第 1 表に示す。

第 1 表 赤血球のプリン代謝関連酵素活性
(nmole/mg 蛋白)

	次兄	発端者	弟	母	正常値
HPRT	0.2	0.2	0.2	51	101± 21
GPRT	0.2	0.2	0.2	52	105± 7
APRT	42	52	51	27	20± 4
ADA					
{ (2-15 Y)		121	78		89± 31
{ (16-50 Y)	92			78	74± 13
PNP	2412	2855	2429	2266	2267±751

発端者のみに止らず、次兄も弟も HGPRT 活性に関しては正常値の 0.2% 以下という著明な低下を示した。母の HGPRT 活性は再三の追試によって常に正常の約 50% 程度に低下していることが確かめられた。

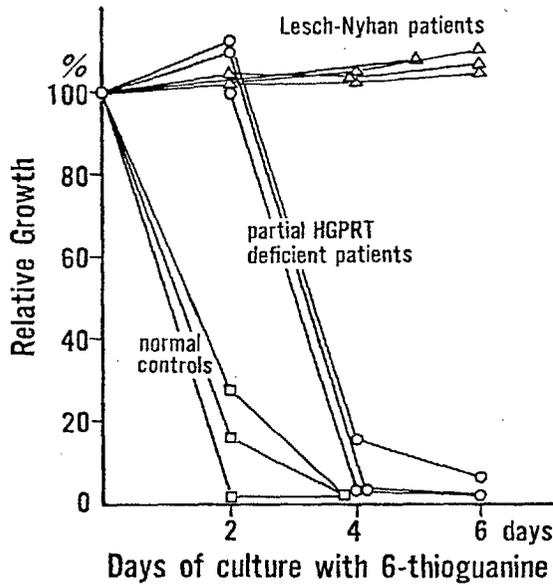
これに対して APRT 活性は兄弟 3 人ともに活性の亢進を認めたが母では有意の差を示さなかった。

ADA, PNP 活性値には異常は認められない。

(2) T 型リンパ球の Viability

結果を第 2 図に示す。

Divergent effect of 6-thioguanine (10 μ M) on T lymphocyte growth



第2図 T型リンパ球生育に及ぼす
培地中のチオグアニンの影響

培地の中にチオグアニンを添加することにより正常対照から得られたT型リンパ球は急激な viability の低下を来す。しかし一方、L-N 症候群患者から得られたT型リンパ球ではチオグアニンの影響は全く認められない。この家系の3兄弟のT型リンパ球は前二者の丁度中間的な傾向を示し viability 低下の勾配は正常対照群に比して小さいが、L-N 症候群とは明らかに違ってチオグアニンに対し感受性を示す。

考 按

赤血球溶血液を用いた酵素活性測定の結果からはこの家系の3人の兄弟はともに重篤な HGPRT 活性の低下を示し数字の上からは殆んど完全欠損 (L-N 症候群) に近い。

しかし、19歳・15歳・12歳と比較的高年齢に達しているにも拘わらず、L-N 症候群に見られる特徴的な臨床症状 (自咬症、強直性四肢麻痺、情緒不安定など)⁴⁾ を示さない。

このような酵素活性の欠損の度合と臨床症状の不一致の例は ADA 欠損症などで稀ながら報告されている。⁵⁾ おそらくリンパ球の ADA と赤血球の ADA が完全に同じではなく若干の臓器異質性を持つ故に、末梢血では ADA が欠損していても複合型免疫不全症を発症しないものと説明されている。但しこのような解離を示す例は全体からみて極めて僅かであり、L-N 症候群と云えども酵素欠損の度合と臨床症状の重篤さとの間には明らかな相関があると見なされている。⁶⁾

この症例で目立つ点は赤血球の assay では検出し得なかった (或いは極めて僅かな活性値し

か得られなかった) のに, T型リンパ球ではチオグアニンに対する感受性を有することが明瞭であった点で, 臨床症状が非典型的である点を考慮すれば, HGPRT 部分欠損症と診断するのが妥当と思われる。

神経組織での酵素活性について検討すべきことは残るとしても, 化学的手段で酵素活性を測定することは別に選択培地を用いた細胞の生物学的活性を検討することは疾患を本質的に理解するために重要な手段であると評価することが出来よう。

文 献

- 1) Yamanaka, H. et al.: Sensitivity to 6-thioguanine of T-cells from non-Lesch-Nyhan brother with undetectable hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase activities, Clin. Genet., in press.
- 2) Kelley, W. N. et al.: A specific enzyme defect in gout associated with overproduction of uric acid, Proc. Nat. Acad. Sci., 57: 1735~1739, 1967.
- 3) Hopkinson, D. A. et al.: Further data on the adenosine deaminase polymorphism and a report of a new phenotype, Ann. Hum. Genet., 32: 361~367, 1971.
- 4) 和田義郎: 先天性核酸代謝異常症, 新小児医学大系7D, p. 267~310, (中山書店), 1982.
- 5) Jenkins, T. et al.: Deficiency of adenosine deaminase not associated with severe combined immunodeficiency, J. Pediat., 89: 732~736, 1976.
- 6) Page, T. et al.: Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase variants: Correlation of clinical phenotype with enzyme activity, J. Inher. Metab. Dis., 4: 203~206, 1981.



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



研究目的

各種の先天代謝異常症の確定診断には酵素活性の測定が行われる場合が多い。しかし、その多くは患者から得られた組織を破壊して測るものなので生体での様子を忠実に表しているかどうかは保証の限りでない。むしろ疾患によっては他の方法(例えば培養細胞を生きた形で利用する生物学的方法)の方がより実際に近い代謝活性を表現し得る場合も有り確定診断のための方法は多岐に亘るといふべきであろう。

我々は今回、高尿酸血症および精神発達遅滞を主症状とする1家系3兄弟の症例に遭遇し赤血球の Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase(以下略して HGPRT)活性が化学的方法では極めて低いことから Lesch-Nyhan 症候群(以下略して L-N 症候群)との鑑別診断が必要となり、選択培地を用いた生物学的方法で細胞の viability を測定することによって L-N 症候群とは異なる HGPRT 部分欠損症と診断することが出来た。

このような方法論的に異質な測定法を組合わせて診断を確定せしめることは、新生児マススクリーニングテストでチェックされた児の鑑別診断に利用される可能性が大きいと考えて検討を行った。