

抗活性型セルロプラスミン抗体を用いた新規Wilson病 マススクリーニング法の開発

冷牟田修一^{1,2}, 清水敬子^{1,2}, 青木継稔¹

要約；セルロプラスミン（CP）のオキシダーゼ活性を中和するモノクローナル抗体（MoAb）を開発し、このMoAbを用いて活性型CPのみを測定するELISA法を構築した。本法を用いることにより、従来のポリクローナル抗体法では不可能であった活性型CPのみの検出及び、Wilson病患者に認められる不活性型CPの検出が可能となった。また本方法を用いることにより、生理的にCP量の少ない新生児期での濾紙血を用いるスクリーニングの可能性が示唆された。

見出し語；マススクリーニング, Wilson病, ELISA法, 活性型セルロプラスミン

目的；Wilson病は、出生約30,000～35,000人に1人といわれ、現在我国において実施されているフェニルケトン尿症マススクリーニングによる発見頻度の2～2.5倍と多い。また本症は、D-ペニシラミン等の銅キレート剤の経口投与により発症予防或いは、治療可能な数少ない先天代謝異常の1つである。Wilson病は血清CP値の低下及び肝への銅蓄積が特徴とされる¹⁾。近年、血清CP値の低下は、CP蛋白の減少のみでなく不活性型CPの発現による

CP活性の低下に起因するといわれている。（第36回日本人類遺伝学会、山口、1991年10月）。我々は、活性型CPのみを認識するMoAbを作製し、これを用い、小児、新生児、Wilson病患者血中の活性型CPを測定した。さらに、MoAbとポリクローナル抗体の併用により、小児及びWilson病患者血中の活性型及び、不活性型CPの測定を行った。更に血液濾紙中のCPの保存安定性について検討した。
方法；MoAbの作製はTogashiraの

1. 東邦大学医学部
2. 出光興産中央研究所

図 1

健康人、新生児及びウィルソン病患者血清中の活性セルロプラスミン量

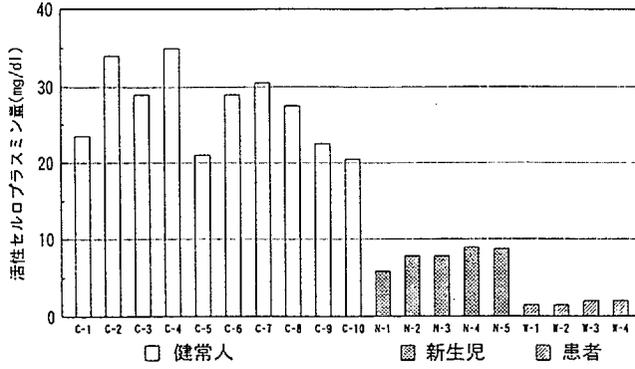
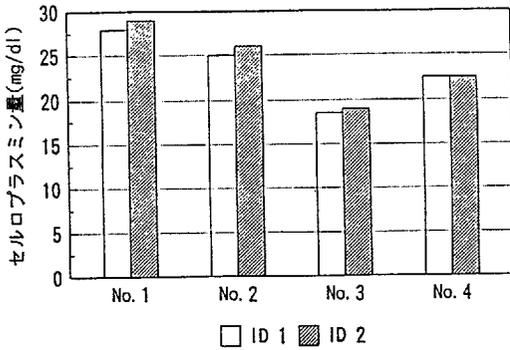


図 2

健康人血清中のセルロプラスミン量



ウィルソン病患者血清中のセルロプラスミン量

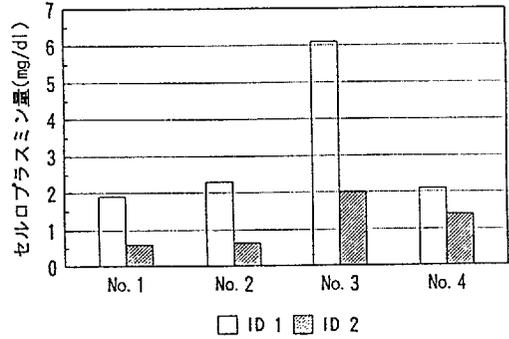
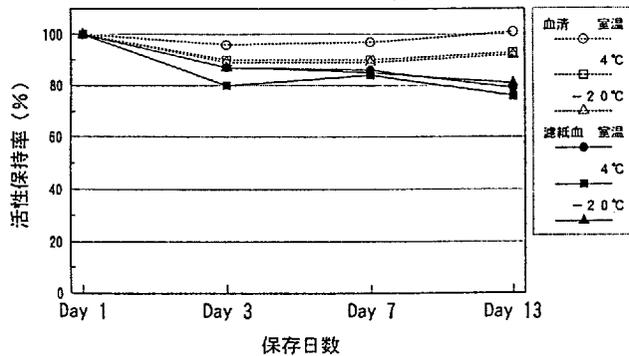


図 3

保存状況と活性セルロプラスミン量の推移

(n = 8)



方法に従った²⁾。活性中和能は抗原（精製 CP）と抗体を混和、incubation 後、電気泳動し、失活している抗原-抗体複合物を検出することにより、選別した。活性中和能を持つ MoAb、ID1 及び、持たない MoAb、ID2 の 2 種を用いてサンドイッチ ELISA を構築し、この系を用いて、小児、新生児、Wilson 病患者血清中の活性型 CP を測定した。又、ポリクローナル抗体（カッパル社）を下部抗体とし、上部抗体に ID1、ID2 を用いた方法でも測定した。更に、濾紙血サンプルを作製し、1 日、8 日、13 日と経時的に本方法を用いて測定し、濾紙血サンプル中活性型 CP の低下の有無を検討した。

結果と考察；小児、新生児、Wilson 病の血中活性型 CP 量を測定したものを図 1 に

示す。小児では 20~40 mg/dl、新生児では 6~9 mg/dl、Wilson 病患者では 0~2 mg/dl であった。又、小児と Wilson 病患者の血中全 CP 量と活性型 CP 量を図 2 に示す。小児では全 CP 量と活性型 CP 量がほぼ同じ値であるのに対して Wilson 病では、活性型 CP 量が著しく低下していること及び、不活性型 CP がかなり存在することが判明した。又、濾紙血サンプル中活性型 CP の経時変化を図 3 に示す。室温保存においても 13 日経過後、80% の活性が保持されていた。以上の結果から、本方法により Wilson 病のスクリーニングが容易であることが明らかとなった。さらに、新生児期による濾紙血法によるマススクリーニングの可能性も示唆された。

文献

- 1) Scheinberg, I. and Sternlieb, I. ; Wilson's disease, WB saunders, 1984
- 2) Togashi, T., Kuwajima, S., Takebayashi, T., Itoh, H. and Katoh, T. (1981) Production of antibodies against measles virus and HBs antigen by use of the mouse hybridoma technique. Uirusu. 31 (2), 145-152



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



要約;セルロプラスミン(CP)のオキシダーゼ活性を中和するモノクローナル抗体(MoAb)を開発し、この MoAb を用いて活性型 CP のみを測定する ELISA 法を構築した。本法を用いることにより、従来のポリクローナル抗体法では不可能であった活性型 CP のみの検出及び、Wilson 病患者に認められる不活性型 CP の検出が可能となった。また本方法を用いることにより、生理的に CP 量の少ない新生児期での濾紙血を用いるスクリーニングの可能性が示唆された。