

**尿濾紙を用いたムコ多糖症スクリーニングの検討
(分担研究：スクリーニングの新しい対象疾患に関する研究)**

鈴木義之、桜庭 均、加瀬良一、
斎藤貴子、高柳正樹*

要約 尿濾紙を用いたムコ多糖症スクリーニングの可能性を調べるため、Whatman濾紙No.540と東洋濾紙No.327を用いて検討した。前者の場合、濾紙に浸透したムコ多糖とクレアチニンは水で容易に抽出でき、紙質も強靱で取り扱い易く、便利であった。一方、後者の場合は、濾紙からのムコ多糖の抽出にはアルカリ処理と加温を要し、多少煩雑であったが、現行の神経芽細胞腫マズスクリーニングに使用されているため、試料採取の面から有用性が大きいと考えられた。いずれの濾紙を用いた場合も、ムコ多糖症患者群と対照者群との間に比較的はっきりとした差が認められ、これらの尿濾紙を用いたムコ多糖症スクリーニングは可能と思われた。

見出し語 ムコ多糖症、Whatman濾紙No.540、東洋濾紙No.327

(財)東京都臨床医学総合研究所臨床遺伝学研究部門、千葉県こども病院代謝科*
(Department of Clinical Genetics, The Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science,
*Division of Metabolism, Chiba Children's Hospital)

研究方法

1) 尿検体

既知のムコ多糖症患者7例と対照者40例(そのうち6カ月~1歳の年齢のものが28例、それ以上の年齢のものが12例を含む)由来の尿を試料とした。ムコ多糖症患者の内訳は、1歳以下の年齢の者がHurler症候群1例、Hunter症候群1例及び β -グルクロニダーゼ欠損症1例であり、それ以上の年齢のものは、Hurler症候群1例及びHunter症候群3例である。

2) 尿濾紙からのムコ多糖及びクレアチニンの抽出率の検討

尿濾紙として、Whatman濾紙No.540と東洋濾紙No.327を用いた。前者の場合、2 x 3 cmの濾紙片に既知の濃度のムコ多糖または標準コンドロイチン-6-硫酸を含む尿を浸透させて乾燥させた後、細切した。この細切片に1 mlの水を加えて、4℃で18時間処理し、ムコ多糖(またはコンドロイチン-6-硫酸)とクレアチニンを抽出した。後者の場合、水でのムコ多糖抽出は困難であった(前年度報告参照)。そこで、直径1/4インチ(約6 mm)のパンチ片を作製し、同様の尿試料を塗布し乾燥させた。このパンチ片10個に対し700 μ lの0.18M Tris-formate buffer (pH8.8)を加え、4℃で一夜放置した。さらに、それを60℃で1時間処理することにより、ムコ多糖(またはコンドロイチン-6-硫酸)とクレアチニンを抽出した。これらの試料から濾紙片を除き、7,000 x gで10分間遠心分離し、上清を試料としてムコ多糖とクレアチニンの定量を行なった。ムコ多糖とクレアチ

ニンの測定はWhitleyらの方法^{1, 2)}に従って行なった。

3) 尿濾紙を用いたムコ多糖とクレアチニンの測定

a) Whatman 濾紙No.540を用いる場合

尿試料をWhatman濾紙No.540に浸み込ませ、乾燥させた。これを試料として、2)に記載した方法でムコ多糖とクレアチニンの量を測定した。

b) 東洋濾紙No.327を用いる場合

尿試料を東洋濾紙No.327にスポットして乾燥させた後、直径1/4インチのパンチ片を10個打ち抜いた。これを試料として2)に記載した方法でムコ多糖とクレアチニンの量を測定した。

結果と考察

Whatman濾紙No.540を用いて水抽出を行なった場合、ムコ多糖(またはコンドロイチン-6-硫酸)及びクレアチニンの抽出率はともに100%と良好な結果を得た。東洋濾紙No.327を用いて、ムコ多糖(またはコンドロイチン-6-硫酸)及びクレアチニンをアルカリ抽出した場合、それぞれの抽出効率は、100%及び90%と算出された。上記の結果を基に、それぞれの種類の抽出法で、ムコ多糖症患者(但し、1歳以下の患者においては、得られた尿試料の量が少なく、Whatman濾紙No.540を用いた分析のみを行なった)と対照者由来の尿濾紙からムコ多糖とクレアチニンを抽出し、定量を行なった。その結果を表に示した。いずれの方法を用いた場合も、ムコ多糖症患者群では、尿中ムコ多糖量(ムコ多糖量/クレアチニン量として提示)は対

照者群のそれに比べて著しい増加を示し、本法の有用性が確認された。Whatman濾紙No.540は、抽出が容易で紙質が強靱のため、尿濾紙を用いたムコ多糖症スクリーニングには極めて便利な濾紙と考えられる。一方、東洋濾紙No.327は、ポリアミド系補強剤を含むため、ムコ多糖の抽出には、アルカリ処理や加温の必要があり、多少煩雑である。しかし、この濾紙は、生後6カ月児の神経芽細胞腫マススクリーニングに広く使用されており、検体採取の面から有用性が大きい。今後、さらに検体数を増やして検討すると共に、マススクリーニングに利用できる様な簡便なシステム構築が必要と考えられる。

謝辞

ムコ多糖症患者及び対照者からの尿検体採取に際し、岐阜大学医学部小児科 祐川和子先生、東京都衛生局健康推進部母子保険課、同予防医学協会、同五日市保健所及び同秋川保健所の皆様の援助を受けた。厚く感謝致します。

文献

- 1) Whitley, C.B., et al.: Clin. Chem. 35: 374-379, 1989
- 2) Whitley, C.B., et al.: Clin. Chem. 35: 2074-2081, 1989

表

Glycosaminoglycan Concentration in Reference Urine Samples Measured by Paper Matrix / DMB Method

| Case | Age | Sex | Diagnosis | Glycosaminoglycan Concentration (mg GAG / g Creatinine) | |
|----------------|-------|-----|----------------------|---|--------------------|
| | | | | Whatman 540 | Toyo 327 |
| MPS | | | | | |
| Patient 1 | 1m | M | β-Glucuronidase def. | 1,420 | N.E. ^{a)} |
| 2 | 9m | F | Hurler | 1,294 | N.E. |
| 3 | 11m | M | Hunter | 1,364 | N.E. |
| 4 | 11m | M | Hunter | 969 | N.E. |
| 5 | 8y | M | Hunter | 419 | 535 |
| 6 | 9y | M | Hunter | 439 | 452 |
| 7 | 11y | M | Hunter | 366 | 378 |
| 8 | 24y | M | Hurler | 235 | 156 |
| Control | | | | | |
| | 6m-1y | | (n=28) | 69.7 (±60.4) ^{b)} | 53.3 (±71.5) |
| | > 1y | | (n=12) | 30.9 (±15.8) | 23.3 (±20.4) |

a) N.E., Not Examined

b) Expressed as Mean (± S.D.)



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 尿濾紙を用いたムコ多糖症スクリーニングの可能性を調べるため、Whatman 濾紙 No.540 と東洋濾紙 No.327 を用いて検討した。前者の場合、濾紙に浸透したムコ多糖とクレアチニンは水で容易に抽出でき、紙質も強靱で取り扱い易く、便利であった。一方、後者の場合は、濾紙からのムコ多糖の抽出にはアルカリ処理と加温を要し、多少煩雑であったが、現行の神経芽細胞腫マススクリーニングに使用されているため、試料採取の面から有用性が大きいと考えられた。いずれの濾紙を用いた場合も、ムコ多糖症患者群と対照者群との間に比較的はっきりとした差が認められ、これらの尿濾紙を用いたムコ多糖症スクリーニングは可能と思われた。