

## ムコ多糖症の新生児期マススクリーニングに関する研究：

### 特殊抗体を用いた血漿及び尿中ケタラン硫酸、ヘパラン硫酸、コンドロイチン硫酸 及びデルマトン硫酸の測定

岐阜大学小児科	磯貝光治、近藤直実
生化学工業	加藤 修、宮浦修一、岡村和夫
大阪市立大学小児科	田中あけみ
国立成育医療センター	奥山虎之、松尾宣武
中部学院大学	折居忠夫

#### [序論]

ムコ多糖症は先天代謝異常症の中では発症数が多く、新生児マススクリーニングに将来ムコ多糖症が追加されれば、早期診断、早期治療が可能となり、予後の著しい改善が期待される。

#### [方法]

ムコ多糖症の尿を用いたマススクリーニングの研究を 1993 年から岐阜県で行っている。今年度は、KS, HS, CS の特殊抗体を作成し、それを用いた ELIZA サンドイッチ法によって MPS 患者および健康人コントロールの血漿中、尿中のケタラン硫酸、ヘパラン硫酸、コンドロイチン硫酸、デルマトン硫酸の測定を行った。

#### [結果]

KS 抗体を用いたスクリーニング方法は、ケタラン硫酸への特異性が高く、また検量線では、吸光度とほぼ正比例の関係を得ることができた。また、ヘパラン硫酸、コンドロイチン硫酸、デルマトン硫酸でも同様にそれぞれの抗体を用いた方法で吸光度とほぼ正比例していた。この抗体を用いた ELIZA サンドイッチ法で血漿中、尿中のムコ多糖を測定した、血漿中のケタラン硫酸は、MPS IV 型に限らず、すべての型の MPS 患者で高値となった。年齢別に検討したところ、MPS 患者、健康人ともに年齢依存的で、少年期から青年期に高値を示し、成人では減少していた。また、乳児期においても MPS 患者の血漿中ケラタン硫酸は、健康人コントロールの臍帯血に比べて有意に高値を示し、これは、すべての年齢層で MPS 患者はコントロールに比べ高値であった。血漿中のヘパラン硫酸も、MPS II, III B 患者で高値であったが、今後 III A, III C など他の亜型、多数の症例について検討が必要である。

#### [考察]

特殊抗体を用いた ELIZA サンドイッチ法による血漿中、尿中ムコ多糖の測定法について検討した。各年齢層の多数例の健康人および各亜型についての検討が必要である。

#### [結論]

KS 抗体を用いてのムコ多糖症のスクリーニングは有用と考えられるが、今後各年齢層における多数例の解析、健康対照と各亜型についてのデータの蓄積が必要である。将来、新生児マススクリーニングに KS 抗体を用いたムコ多糖症スクリーニングの有用性が判明すれば、ムコ多糖症の早期発見、早期治療が可能となると考えられる。

研究課題：Sandhoff 病モデルマウスの発症機構の解明と新規細胞補充療法開発への応用

研究者、所属：徳島大学薬学部附属医薬資源教育研究センター・環境生物工学 伊藤 孝司

研究要旨：

【序論】 Sandhoff 病は、リソソーム性 $\beta$ -ヘキソサミニダーゼ ( $\beta$ -Hex) の $\beta$ -サブユニット遺伝子の変異が原因で酵素欠損、GM2-ガングリオシド等の基質の過剰蓄積および中枢神経症状を伴って発症する遺伝性糖質代謝異常症である。本研究では当該遺伝子破壊により作製された Sandhoff 病モデルマウス (SD マウス) を用い、組織異常シグナルの誘導という観点から糖脂質蓄積症の発症機構を解明することを目的として研究を行った。

【方法】 生直後、2 週齢 (発症前) および 14 週齢 (発症後) の各ステージの SD マウス (n=3) から得た各臓器中の各種ケモカインの発現量 (mRNA およびタンパク) を定量的 PCR 法および ELISA 法により測定し、野生型 (n=3) と比較解析した。また各臓器から糖脂質を抽出し、GM2 および GA2 の蓄積量を解析した。

【結果】 解析したケモカイン (fractalkine, MIP-1 $\alpha$  および SLC) のうち、MIP-1 $\alpha$  の発現レベル (mRNA およびタンパク質) が SD マウスの脳 (大脳、小脳および脳幹) において発症に先行して有意に増大していることを初めて明らかにした。一方他の臓器においては MIP-1 $\alpha$  の発現量の顕著な差は観察されなかった。また脳組織において他のケモカインについては変動は認められなかった。脳組織における MIP-1 $\alpha$  の発現増大は生直後から始まっており、GM2-ガングリオシドの蓄積との相関が認められた。

【考察・結論】 SD マウスの脳組織では、生直後からケモカインの一種である MIP-1 $\alpha$  の発現が特異的に増大し始めており、またその経時変化は GM2-ガングリオシドの蓄積の進行と平行していた。従って MIP-1 $\alpha$  の発現誘導が、この疾患において神経変性などの脳組織の異常を伝えるシグナルとして機能している可能性が考えられた。多発性硬化症、エイズ脳症あるいはアルツハイマー病などの神経免疫疾患においてもある種のケモカインの発現誘導が報告されており、中枢神経症状の発症に共通の機構の存在が示唆された。

## 研究課題名：ライソゾーム病患者認定のため、診断方法の統一と標準化

研究者・所属：(株) エスアールエル 検査統括部 横山安伸

### 1. 研究要旨

#### A 研究目的

本研究班の研究課題は、「ライソゾーム病の病態解明及び治療法の開発」にある。同時に、ライソゾーム病患者認定のため、診断方法の統一と標準化の必要性から、酵素測定及び遺伝子解析系の一元化システムを構築することを目的とする。

#### B 研究方法

ムコ多糖症の尿スクリーニング検査と酵素測定の実施体制について、医療情勢、社会情勢を踏まえて構築する。

#### C 研究結果

倫理的、社会的、法的問題を内包する遺伝性疾患を対象とした遺伝子診断は、「包括的遺伝子診療体制」のもとで実施されるべきであり、「包括的遺伝子診療サポートシステム」と云った積極的な連携システムの構築が不可欠と考え、本年度は、岐阜大学小児科の協力を得て、ムコ多糖症の尿スクリーニング検査と酵素測定システムを構築した。

#### D 考察

遺伝代謝性疾患を対象とした酵素学的診断は、その倫理的、社会的、法的問題に配慮しつつ、「包括的遺伝子診療体制」のもとで実施されなければならない。そこで、医療機関から物理的に隔離された衛生検査所が、この「包括的遺伝子診療体制」の中で検査実施の役を果たすとすると、臨床医、検査員そして疾患専門医あるいは基礎研究者との密接な連携を如何に構築するかが課題となる。したがって、医療機関（病院）における「包括的遺伝子診療体制」の実現を積極的にサポートする「包括的遺伝子診療サポートシステム」の構築が不可欠と考える。本年度構築したムコ多糖症尿スクリーニング検査と酵素測定検査システムは、「包括的遺伝子診療体制」の実現の一助となることを期待する。

#### E 結論

- 1) 遺伝性疾患を対象とした酵素診断を含む遺伝学的診断は、その倫理的、社会的、法的問題に配慮して、「包括的遺伝子診療体制」のもとで実施されるべきである。
- 2) 「包括的遺伝子診療サポートシステム」は、医療機関（病院）における「包括的遺伝子診療体制」を積極的にサポートするものであり、その実現には、臨床医、検査員そして疾患専門医あるいは基礎研究者との密接な連携が不可欠である。
- 3) 本年度は、岐阜大学小児科の協力を得て、ムコ多糖症の尿スクリーニング検査と酵素測定システムを構築した。
- 4) 今後、DNA多型、疾患遺伝子変異等のデータベース化し、蓄積された情報を開示することにより付加価値の向上に努力する。