

## 母体の高フェニールアラニン血症が 胎仔脳発育に及ぼす影響

島田 司 巳  
大矢 紀 昭  
山 脇 保  
笹 原 彰 子

(滋賀医大小児科)

### 研究目的

Guthrie testの普及により, classic phenylketonuria(PKU)の患児も正常の成長・発達をえられるようになったことは喜ばしいことである。しかし一方では, これが Maternal PKU という新しい問題を提起してきた。妊娠中の PKU 女性の管理基準に関してはまだ一定したものは何もみられておらず, これを決めることは緊急の重要課題である。<sup>1)</sup> 我々は, Maternal PKUの管理基準確立に資する目的で, Maternal PKUのモデル実験を行ってきた。今回は妊娠中の高 phenylalanine (phe)血症が生後の脳ミエリン形成能に及ぼす影響について実験した。

### 研究方法

#### 1. 生後1日目の脳内の蛋白, DNA, RNA量

生後4週の雌ICR-JCL系マウスを購入し, 約1週間普通飼料にて飼育した後, 次の特殊飼料に変更した。3%, 4%, 5%, 6%群は, 0.12% P-chlorophenylalanine (phe.hydroxylase 阻害剤)と3%~6%のpheを含む飼料で飼育した群である。1ヶ月以上慢性的に高phe血症としてから, 雄と同居させた。出生翌日の生後第1日目のマウスの重量を測定後, 断頭屠殺し, 脳を大脳と小脳を含む脳幹部とにわけて, 各々の重量, 蛋白, DNA, RNA量を測定した。蛋白はLowry法, DNAはBurton法,<sup>2)</sup> RNAはOrcinol反応<sup>3)</sup>にて測定した。

#### 2. 生後のミエリン形成能

A, B群はともに実験群で, 実験1と同様に, 6%群より出生した新生仔マウスをA群では日令0より6まで, pheを750mg/kg, 1日2回皮下注射し

た。また、B群では同様に生食を1日2回皮下注射した。人の出生時の脳がマウスでは生後6日目に相当するため、A群では生後6日目まで高pheの状態にした。C群は普通飼料で飼育した母獣より生まれた仔にB群と同様に生食を1日2回皮下注射した対照群である。なお、いずれの群も生後1日目にリッターサイズを10匹に統一している。以上3群を日令7, 14, 21, 28, 56に深麻酔下で生食にて灌流後に脳をとり出し、湿重量、蛋白、ならびにミエリンのマーカーク酵素として一般に認められている2',3'-cyclic nucleotide 3'-phosphodiesterase(CNP)活性を測定した。CNP活性はSoginの方法<sup>4)</sup>にて測定した。

## 研究結果

### 1. 生後1日目の新生仔マウスの脳内蛋白, DNA, RNA量について

表1に飼料中のphe含量と血中phe濃度の関係をまとめた。表2は各群の生後1日目の大脳と脳幹部の湿重量を示している。5%群ならびに6%群ではいずれも対照より低くなっている。表3に生後1日目の大脳中の総蛋白, DNA及びRNA量を示したが、同様に5%, 6%群にて対照より有意な低下がみられた。脳幹部では表4に示すごとく、5%, 6%群のみならず、4%群にてDNA, RNA量の減少がみられている。

以上を総合すると、3%群、すなわち母体の血中phe濃度11mg/dlまでは安全といえることができる。

表1：飼料中 phe量と母体血中 phe値

Group	Maternal Phe.(mg/dl)	Tyr./Phe.
Control	2.04	0.75
3% PKU	11.03	0.51
4% PKU	15.03	0.60
5% PKU	20.66	0.33
6% PKU	24.57	0.29

表2：生後1日目の体重と脳重量

Group	Body weight(g)	Cerebrum(mg)	Brain stem(mg)
control	1.85±0.15	62.10±4.94	44.90±6.79
3% PKU	1.88±0.15	62.13±6.84	45.24±7.11
4% PKU	1.72±0.08	61.22±6.44	*36.11±3.48
5% PKU	*1.62±0.14	*54.98±9.78	*36.39±3.90
6% PKU	*1.62±0.16	*48.57±5.88	*39.87±6.28

\* p<0.05

Mean±S.D.

表3：生後1日目の蛋白，RNA，DNA量（大脳）

Group	Protein(μg)	RNA(μg)	DNA(μg)
control	4416.00±688.60	281.68±37.32	200.18±25.60
3% PKU	4303.34±857.50	279.48±57.52	202.70±38.58
4% PKU	4783.68±296.37	292.91±11.95	241.51±16.57
5% PKU	*3662.09±885.83	*179.66±35.75	*183.78±31.50
6% PKU	*3129.93±478.27	*240.69±46.24	*170.85±35.14

\* p<0.05

Mean±S.D.

表4：生後1日目の蛋白，RNA，DNA量（脳幹）

Group	Protein(μg)	RNA(μg)	DNA(μg)
control	3111.55±473.98	222.42±76.70	115.35±32.36
3% PKU	3135.78±627.20	216.30±65.06	109.47±16.88
4% PKU	3059.18±453.27	*108.80±13.55	*94.17±9.10
5% PKU	*2718.96±473.80	*99.45±20.63	*105.72±22.46
6% PKU	*2652.84±435.48	*156.63±32.40	*105.09±26.11

\* p<0.05

Mean±S.D.

## 2. 生後のミエリン形成能について

### I). 出生後の脳の湿重量

大脳の生後の湿重量の増加は表5に示すごとく、日令7でC>B>Aの順に有意に小さくなっている。この傾向は日令14にてもみられるが、日令21以後にはみられない。脳幹や小脳においても同じ結果がえられている(省略)。

### II). 出生後の脳における蛋白量の増加

大脳での各群の蛋白量は日令21まで実験群は対照群より低値であったが以後有意差は消失した(表6)。脳幹部と小脳の蛋白量についても大脳と同様な経時的変化がみられた(省略)。

### III). 出生後の脳におけるCNP 活性の変化

大脳でのCNP 酵素活性を図1に示した。日令7にてA群<B群<C群の順に活性が上昇しており、日令14でも同様な傾向がみられた。

しかし、日令28には有意差は一旦消失し、日令56でAならびにBの実験群では再び対照のC群より有意に低値となった。なおAとBの両実験群の間には差はみられなかった。このような一度消失した有意差が再び生後56日に出てくるといふ傾向は脳幹、小脳においても同様にみられた(省略)。

表5: 生後の大脳重量

	Wet weight (mg) Cerebrum		
	Group A	Group B	Group C
1W	104.00±12.15 <sup>**</sup> , <sup>§§</sup>	126.25±5.74 <sup>##</sup>	163.31±12.19
2W	196.69±9.73 <sup>§§</sup>	198.50±15.59 <sup>##</sup>	233.30±14.01
3W	221.06±15.22 <sup>§</sup>	226.67±7.84	231.80±17.58
4W	245.67±21.73 <sup>*</sup>	237.14±11.32	243.15±8.78
8W	265.15±8.53 <sup>§</sup>	270.42±11.68	274.00±9.95

Significant difference between Group A and B. <sup>\*</sup>:P<0.05, <sup>\*\*</sup>:P<0.01

Significant difference between Group B and C. <sup>##</sup>:P<0.01

Significant difference between Group A and C. <sup>§</sup>:P<0.05, <sup>§§</sup>:P<0.01

表6：生後の大脳の蛋白量

Protein (mg/tissue) Cerebrum

	Group A	Group B	Group C
1W	8.35±1.04*, \$\$	9.02±0.25##	13.23±0.90
2W	18.57±1.57\$\$	17.21±1.25##	20.71±2.32
3W	22.22±2.01\$\$	22.13±0.95##	24.50±1.66
4W	31.83±2.18*	27.61±4.41#	31.32±4.44
8W	29.73±0.89\$	32.72±6.15	31.17±2.41

Significant difference between Group A and B. \*:P<0.05

Significant difference between Group B and C. #:P<0.05, ##:P<0.01

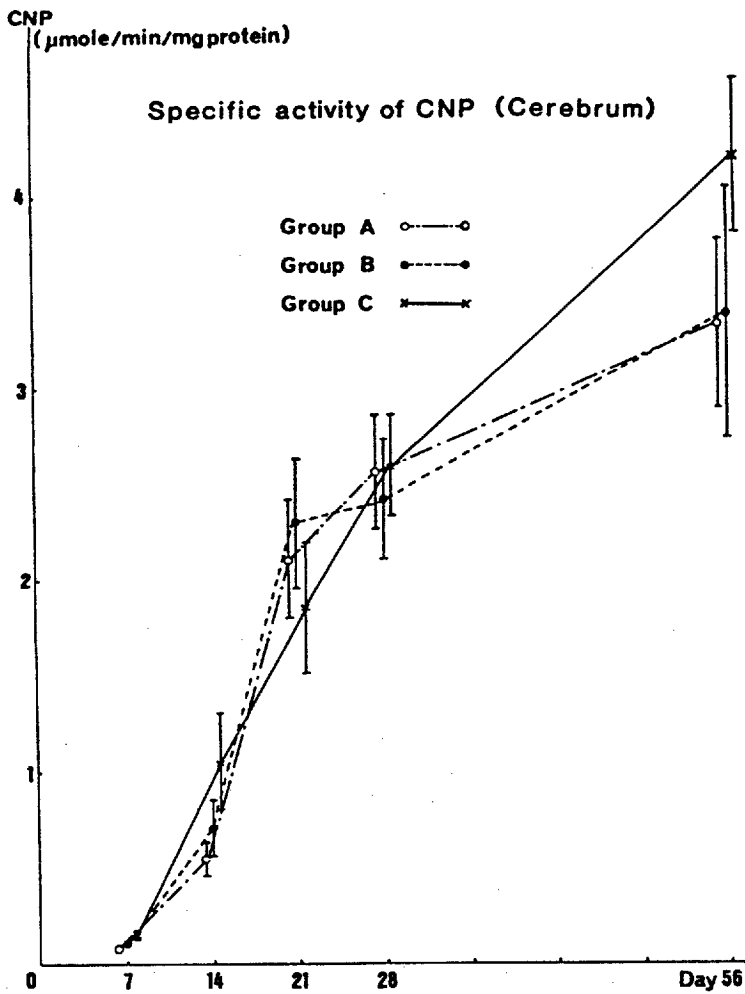
Significant difference between Group A and C. \$:P<0.05, \$\$:P<0.01

## 考 按

生後1日目の大脳ならびに脳幹部の重量、蛋白、DNA、RNA量より考えると母体の血中 phe濃度は11mg/dl まで安全ということが言える。しかし、実際の臨床例にて、生下時には小頭症などの異常はなく、生後1年間は順調に成長した Maternal PKU の子供が、2歳時には頭囲3パーセントイル以下、発達指数88となった症例報告がみられる。<sup>1)</sup> また実験的にも、生後3~15日まで高 phe血症としたラットで、負荷後95日目でもなお、ミエリン蛋白が対照より低値であったという報告もある。<sup>5)</sup>

これらの報告や胎児の血中 phe濃度が母体の血中濃度の約2倍になっている事実(データ省略)を考えると、母体の血中濃度11mg/dl まで安全と安易に結論することはできない。Speroの出生時にみられた変化が生後7日で消失するというデータも長期の観察がなされていない。<sup>6)</sup> したがって我々の CNP 活性のデータは前述の報告例ともよく合致し、たとえ母体内のみといえども、高 phe血症にさらされた胎児脳ではのちにミエリン形成が障害される可能性が大きい。したがってこのような長期間に亘る観察を続けてはじめて妊娠中の母体の血中 phe濃度の安全域も定められるものであり、なお慎重な検討が必要であると思われた。

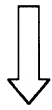
図1：生後の大脳の CNP活性の変化



文 献

- 1) Komrower, G M. et al:  
Management of maternal phenylketonuria :  
an emerging clinical problem  
Br. Med. J. 1:1383~87, 1979
- 2) Burton, K et al: A study of the conditions and mechanism of the  
diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of deoxy-  
ribonucleic acid  
Biochem. J. 62:315~23, 1956

- 3) Schneider, WC. et al: Phosphorus compounds in animal tissue:  
A comparison of methods for the estimation of nucleic acids  
J. Biol Chem. 164:747 ~51, 1946
- 4) Sogin, DC : 2',3'-cyclic NADP as a substrate for 2',3'-cyclic  
nucleotide 3'-phosphohydrolase  
J. Neurochem. 27:1333 ~7, 1976
- 5) Figlewicz, DA. et al: Experimental hyperphenylalaninemia : Effect  
on central nervous system myelin subfractions  
Exp. Neurol. 67:315~329, 1980
- 6) Spero, D.A. et al: Effects of maternal hyperphenylalaninemia on  
fetal brain development : a biochemical study  
Exp. Neurol. 79:641~654, 1983



**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

Guthrie test の普及により,classic phenyl ketonuria(PKU)の患児も正常の成長・発達をえられるようになったことは喜ばしいことである。しかし一方では,これが Maternal PKU という新しい問題を提起してきた。妊娠中の PKU 女性の管理基準に関してはまだ一定したものは何もみられておらず,これを決めることは緊急の重要課題である。我々は,Maternal PKU の管理基準確立に資する目的で,Maternal PKU のモデル実験を行ってきた。今回は妊娠中の高 phenylalanine(phe)血症が生後の脳ミエリン形成能に及ぼす影響について実験した。