

### 13・3 高プロリン血症の診断を目的とした

#### pyrroline-5-carboxylic acid の合成

日本大学医学部

北川 照 男

大和田 操

### 目 的

高プロリン血症を呈する疾患のうち、プロリン代謝の一次的な障害症としては、proline oxidase の障害に基づく I 型と、pyrroline-5-carboxylic acid (以下 P5C と略) dehydrogenase の障害による II 型が知られており、また最近では  $\alpha$ -KG dehydrogenase の障害症に随伴した高プロリン血症も報告されている。高プロリン血症 II 型の血中および尿中には、P5C の増加が認められるが、I 型では P5C の増加はなく、尿中 P5C を定量することになり、両者の鑑別が可能である。しかし、P5C は不安定な物質で、化学的に純粋な形で単離することが困難なため、市販されていない。我々は、高プロリン・アラニン・グルタミン血症の 1 例を経験し、その患者における高プロリン血症の成因を知るために、尿中 P5C の定量を試みたが、その際 standard として必要な P5C を合成することを本研究の目的とした。

### 材 料

P5C 合成のために使用した材料は、下記のようなものである。

hydroxylysine hydrochloride (Sigma 社)

メタ過ヨウ素酸ナトリウム (和光純薬)

AG 50W- $\times$ 8 (20~50メッシュ, H 型, ダウケミカル社)

Dowex 2- $\times$ 8 (50~100メッシュ, CI 型, ダウケミカル社)

2, 4-dinitrophenyl hydrazine (和光純薬)

o-aminobenzaldehyde (丸若化学工業)

## 方 法

### (1) P5C の合成

Mez1 および Knox が1976年に報告した方法に準じ、図1のような順序で行った。反応の原理は hydroxylysine の過ヨウ素酸酸化によるもので、室温で mild な条件で反応させ、生じた濃度の低い P5C の溶液を陰イオン交換樹脂、次いで陽イオン交換樹脂カラムにかけて精製し、その溶液に 2,4-dinitrophenyl hydrazine を滴下して、P5C を純粋な 2,4-dinitrophenyl hydrazone として保存する。得られた P5C の hydrazone は、アセトフェノン、塩酸で処理することになり、定量的に P5C に再生することが可能である。反応の実際は、hydroxylysine 150 mg を用いて行った。

### (2) 尿中 P5C の定量

上記方法により得られた P5C の hydrazone にアセトフェノン及び塩酸を加え、partition を行い、更に水層にトルエンを加えて partition を行って P5C の standard を得、Strecher らの方法に順じて尿中 P5C を定量した。即ち、尿 2 ml に 1 ml のエタノールを加え、次いで 10% TCA、1% 0-aminobenzaldehyde のエタノール溶液 1 ml を加えて 30 分室温にて静置後、遠心分離を行い、上清を 430 m $\mu$  にて比色した。

## 結 果

(1) 150 mg の hydroxylysine を用いて合成を試みた結果、32 mg の P5C hydrazone を得ることができ、収量は約 20% であった。

(2) 高プロリン・アラニン・グルタミン血症を呈した 14 才男児例の尿中 P5C は、表1のようで、対照に比べてやや高値を示していたが、文献例の高プロリン血症Ⅱ型の値に比べると低い値であった。

## 考 按

高プロリン血症Ⅰ型は、腎障害、難聴、知能障害、脳波異常などを主症状とし、Ⅱ型では知能障害、痙攣、脳波異常が認められ、血中プロリン値はⅠ型の殆んどが 5~15 mg/dl であるのに対し、Ⅱ型の多くは 20~40 mg/dl を示すと報告されている。また、Ⅱ型においては P5C-dehydrogenase が障

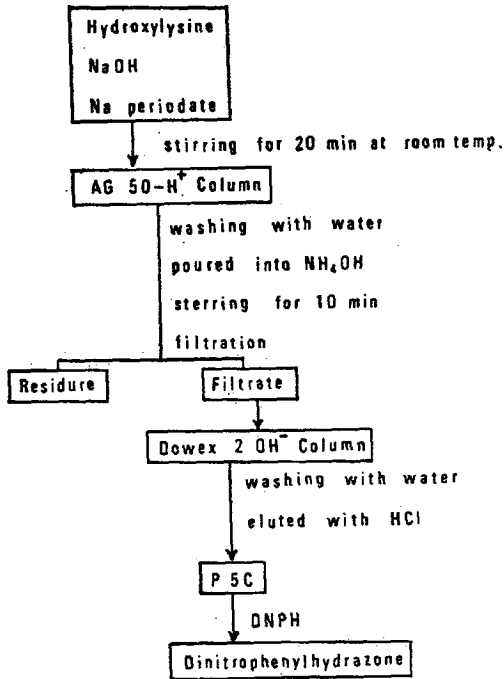
害されている結果、血中および尿中に P5C の蓄積が認められる。高プロリン血症の一部の症例は無症状であり、症状や血中プロリン値のみで両者を鑑別することは困難で、確定診断には酵素欠損の証明、或いは P5C の蓄積の有無を調べることが必要である。I 型で欠損している proline oxidase は、ヒトの肝、腎、脳に存在する酵素で、白血球や fibroblast には存在しないと云われている。従って、I 型の酵素診断には肝が必要であり、これまでに剖検肝により酵素診断を行った報告が 1 例みられるが、その他には proline oxidase を測定した報告は認められず、I 型の酵素診断は実際にはきわめて困難と思われる。一方 II 型において障害されている P5C-dehydrogenase は fibroblast にも存在し、II 型患者の fibroblast における活性低下の報告例が認められるが、この酵素測定には放射性同位原素により標識した P5C が基質として必要で、やはり酵素診断は困難である。

従って、I 型、II 型の鑑別には血中、尿中の P5C の定量が一般的に用いられている。前述のように、P5C 定量の際、Standard として必要な P5C は化学的に純粋な状態で得ることは困難で、市販されていないが、最近、P5C の合成に関する報告が散見されるので、我々も Mezl らの方法に準じて合成を試みた。Mezl らによれば、P5C の収量は over all で 50 ~ 60 % とされており、我々の成績では約 20 % と低かったが、ペーパークロマトグラフで単一の spot を示す P5C を得ることができた。

## 要 約

高プロリン血症 I 型と II 型は尿中への  $\Delta^1$ -pyrroline-5-carboxylic acid (P5C) の排泄増加の有無により鑑別可能と云われているが、P5C は市販されていないので、その合成を試みた。方法は hydroxylysine の過ヨウ素酸酸化によるもので、室温で反応させ、反応物質を陰イオン樹脂、次いで陽イオン樹脂カラムを用いて純化した。得られた P5C を standard として、高プロリン血症の患者の尿中 P5C を測定した。

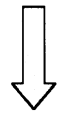
## PREPARATION OF P5C



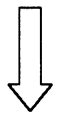
### P5C Excretion in Urine ( $\mu\text{mol} / \text{g creatinine}$ )

|                               |       |          |      |
|-------------------------------|-------|----------|------|
| Present case                  | 0.055 | 0.068    |      |
| Control                       |       | 0.032    |      |
| reported cases*<br>of type II | 0.10  | 0.20     | 0.24 |
| normal range*                 |       | 0 - 0.02 |      |

\* Arch. Dis. Child. 50 : 637, 1975



**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



## 目的

高プロリン血症を呈する疾患のうち、プロリン代謝の一次的な障害症としては、proline oxidase の障害に基づく I 型と、pyrroline-5-carboxylic acid(以下 P5C と略) dehydrogenase の障害による II 型が知られており、また最近では  $\alpha$ -KG dehydrogenase の障害症に随伴した高プロリン血症も報告されている。高プロリン血症 II 型の血中および尿中には、P5C の増加が認められるが、I 型では P5C の増加はなく、尿中 P5C を定量することになり、両者の鑑別が可能である。しかし、P5C は不安定な物質で、化学的に純粋な形で単離することが困難なため、市販されていない。我々は、高プロリン・アラニン・デルタミン血症の 1 例を経験し、その患者における高プロリン血症の成因を知るために、尿中 P5C の定量を試みたが、その際 standard として必要な P5C を合成することを本研究の目的とした。