

先天性代謝異常症罹患者および保因者の
診断法に関する研究

7・1 先天性チロジン血症の診断

筑波大学臨床医学系

中 村 了 正
宇 賀 直 樹

研 究 目 的

先天性チロジン血症 I 型および遺伝性果糖不耐症は乳児早期に発症すると急激な経過をとる。早期にそれぞれ適切な治療が行われなかった場合には肝不全により死に至ることが多い。両者の臨床像は酷似し、高チロジン血症、高メチオニン血症を伴うことから検出される。

現在、新生児マススクリーニングの進展に伴い、該 2 疾患が発見される可能性が高いと推定される。高チロジン血症は乳幼児期の肝疾患および新生児適応過程においても認められる。上記 2 疾患の鑑別を早期に行う必要がある。

先天性チロジン血症 I 型については P-Hydroxyphenyl pyruvate (PHPPA) 酸化酵素が一次欠損であるか否かに関して議論がある。本研究においては患児肝を用いてその病因を追求し、更に末梢白血球を用いた診断法の開発とその実用化の検討を行うことを目的とする。

研究対象および方法

2 例の先天性チロジン血症患児（3才8月，1才1月）よりの肝を用いて、0.15 M KCℓ 液にて 1 : 10 ホモジネートを作製した。3 例の果糖不耐症患児肝および非肝疾患性成人剖検肝（対照肝）は同様に処理して使用した。

末梢白血球は 5 % デキストラン含有生食水を用いてヘパリン加静脈血より浮遊上清として分離し、遠沈後ペレットを生理食塩水に suspend した。10 kc / 分，60 秒で超音波破碎して上清を用いた。

生化学的検索は上記の試料を用いてチロジンおよび果糖代謝に関する以下の諸酵素活性を測定した。すなわち P-HPPA 酸化酵素 (LIN 法), チロジンアミノ転移酵素 (DIAMONDSTONE 法), 果糖二リン酸分解酵素 (BAKER-WINEGRAD 法), 果糖一リン酸アルドラーゼおよび果糖二リン酸アルドラーゼ (WOLF 法) である。蛋白濃度測定は LOWRY 法を用い, 酵素活性は nanomoles/min/mg. protein で示した。酵素活性測定法の詳細は文献(1)で既に報告した。Keto-enol tautomerase はマウス肝より Knox & Pitt 法により作製したが, その他の試薬は市販のものを用いた。

研 究 成 績

(1) 患者肝における生化学的検索

2 例の先天性チロジン血症患児, 3 例の遺伝性果糖不耐症患児の肝における検索結果を表 1, 表 2 に示した。対照肝に比較すると, 前者では P-HPPA 酸化酵素は 0.85, 0.65 と低下, 後者では果糖一リン酸アルドラーゼが著しい低下を示していた。果糖二リン酸アルドラーゼは部分欠損を示し, FDP/FIP アルドラーゼ比が著しく増加していた。

(2) P-HPPA 酸化酵素の基質阻害性

基質である P-HPPA の濃度を 0.006 ~ 0.12 mM の範囲で変化させて酵素活性に対する影響を検討したが, 先天性チロジン血症患児肝は 2 例ともに著しい基質阻害性を示した。1 例の果糖不耐症患児肝と対照肝においてはこの濃度範囲においては, むしろ濃度を増すにつれて酵素活性は上昇した (図)。混合実験は正常であった。

(3) 白血球 P-HPPA 酸化酵素活性

対照成人白血球における活性は 2.95 ~ 5.95 であり, 蛋白濃度比で肝とはほぼ同程度の活性が存在することを認めた。先天性チロジン血症患児の 1 家系 (U-family), 果糖不耐症患児の 1 家系 (K-family) についての検索結果は表 3 に示した。U-family の患児は対照群の $\frac{1}{6}$ ~ $\frac{1}{8}$ に活性低下し, 同胞 1 例を除いて構成員は患児と対照群の中間レベルを示した。果糖不耐症家系の 3 名はいずれも対照群を越える活性を示した。

考 案

先天性チロジン血症と果糖不耐症は肝を試料とすれば、容易に鑑別できることは表 1, 2 の結果が示すごとくである。

P-HPPA 酸化酵素は従来、基質阻害性を示すことで有名である(2)。本酵素が先天性チロジン血症の一次欠損部位であることは疑問視されてきたが、本研究はその酵素異常の存在を指摘したと考える。本症における低チロジン食療法の劇的な有効性を理論的に裏付けるものと考えられる。

白血球に P-HPPA 活性が存在し、本症の診断に有用である。これにより肝生検を行い得ない状態においても果糖不耐症を否定することが可能である。

要 約

先天性チロジン血症 I 型と果糖不耐症は乳児期チロジン血症の典型である。乳児早期に発症し、急激な肝不全症状を呈して死に至る。制限食療法の早期開始が救命的であり、従来肝生検により診断されてきた。前者の患児肝 2 例について P-HPPA 酸化酵素活性の低下と基質阻害性の増加を認めた。末梢白血球においても該酵素活性は存在し、患児は低活性を示した。果糖不耐症児では正常であり、本法により肝生検によらずに両疾患を鑑別診断し得る。

文 献

- 1) 中村了正. Tyrosinemia の最近の諸問題
医学のあゆみ 98 (9) : 589, 1976.
- 2) Zannoni, V.G and LaDu, B.N The tyrosine oxidation system of liver. IV. Studies on the inhibition of p-hydroxypyruvic acid oxidase by excess substrate. J. Biol. Chem. 234:2925, 1959.
- 3) Buist, N.R.M. et al. Disorders of tyrosine metabolism In "Heritable Disorders of Amino Acid Metabolism" ed. Nyhan, W.L., John Wiley & Sons, New York. 1974. P160 ~ 176.

表 1. 先天性チロジン血症 I 型における肝酵素活性

	CASE SU 3y8m	CASE ME 1y1m	CONTROLS(6)
TYROSINE AMINO- TRANSFERASE	5.3	1.7	3.1 - 8.2
p-HPP OXIDASE	0.85	0.65	2.6 - 4.5
FDPase (pH 7.5)	43.4	11.6	21.1 - 25.6
F1P ALDOLASE	27.3	16.0	12.3 - 20.8
FDP ALDOLASE	44.7	34.4	17.2 - 23.9
FDP/F1P ALD. ratio	1.64	2.10	1.34- 2.02

nanomoles/min./mg protein

表 2. 果糖不耐症における肝酵素活性

	CASE M.S. F 10mo.	CASE T.K. M 4mo.	CASE K.K. M 5yrs	CONTROLS(6)
TYROSINE AMINO TRANSFERASE	3.7	3.5	10.3	3.1-8.2
p-HPP OXIDASE	2.3	3.8	3.1	2.6-4.5
FDPase (pH 7.5)	22.1	21.8	193	21.1 - 35.0
(pH 9.6)	28.9	13.8	104	27.5 - 38.0
F1P ALDOLASE	1.5	3.7	4.4	12.3- 20.8
FDP ALDOLASE	7.4	10.8	13.6	17.2- 28.7
FDP-ALD / F1P-ALD	4.9	2.9	3.1	1.0 - 1.8
F1P ACCUM.*	21.7	5.0	---	1.2 - 2.4

unit: nanomoles/min./mg prot. * nanomoles/mg prot.

図 P-Hydroxyphenylpyruvate oxidase に対する基質濃度の影響

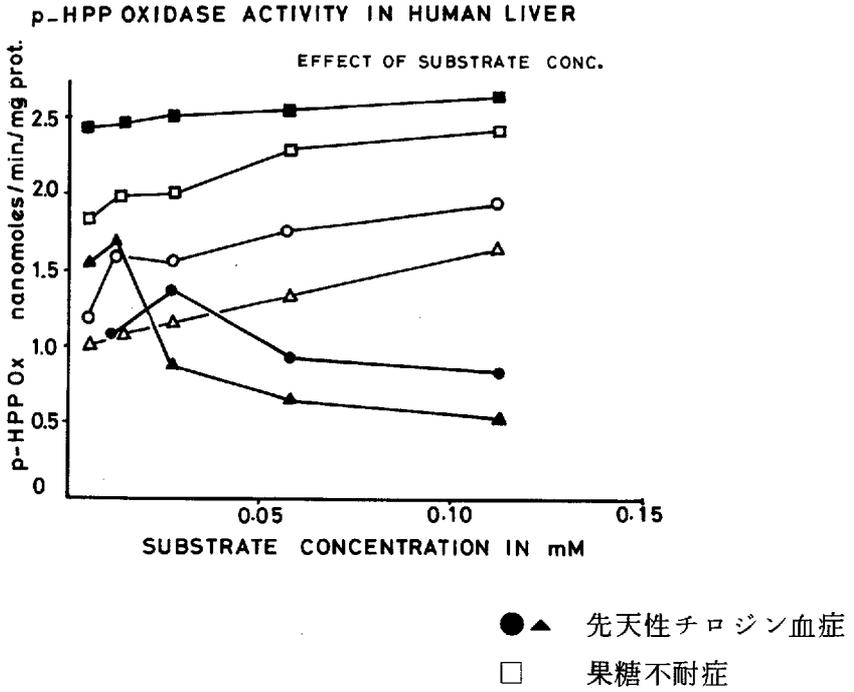
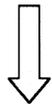


表 3. 白血球における P-HPPA 酸化酵素活性

	U-family		K-family
PATIENT	0.52	0.70	8.61
FATHER	2.63		6.53
MOTHER	1.67	1.91	11.91
SIB 1.	2.12		---
2.	3.58		
3.	2.55		
4.	1.75		
ADULT CONT'L(7)	2.95-5.95		

nanomoles/min./mg prot.



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

先天性チロジン血症 型と果糖不耐症は乳児期チロジン血症の典型である。乳児早期に発症し、急激な肝不全症状を呈して死に至る。制限食療法の早期開始が救命的であり、従来肝生検により診断されてきた。前者の患児肝2例についてPHPPA酸化酵素活性の低下と基質阻害性の増加を認めた。末梢白血球においても該酵素活性は存在し、患児は低活性を示した。果糖不耐症児では正常であり、本法により肝生検によらずに両疾患を鑑別診断し得る。