

# SFD の要因と対策に関する研究

## 胎児発育とアミノ酸代謝

岡山大学医学部産婦人科教室

江口 勝人・永田 秀明  
林 省治・関場 香

### 緒 言

胎内発育障害 (IUGR) は心身障害児発生との関連が強調されており、その胎内治療法の確立は今日産科医にとって最も重要な臨床的課題のひとつである。胎内発育障害の成因は多岐にわたっており複雑であるが、最近 intrauterine fetal hyperalimentation がトピックとなり、二糖類を主体とする糖質やアミノ酸製剤の母体投与が試みられている。しかしその臨床効果はまだ確立されていないようである。特にアミノ酸は生体において細胞の成長、さらには酵素や体蛋白の構成物質として重要であるが、現在のところ胎児のアミノ酸代謝については不明なことが多く、アミノ酸投与により、むしろ hyperamino acidemia や高窒素血症による代謝障害を招くことも懸念される。著者はこの臨床的問題に取り組む為には、まず胎児代謝の特異性を明らかにする事が重要であり、その結果、胎内発育障害の原因、病態の解明や治療法への道が開かれるものと考え検討をすすめて来た。

従来から胎児の成長、発育を母体側要因、さらには母体と胎児の接点ともいえる胎盤の機能の面から論じた報告は多いが、著者は胎児側から、すなわち胎児には母体と異った胎児特有の代謝調節が存在し、この代謝調節の異常が発育障害の原因のひとつであると考え、主として細胞レベルにおけるアミノ酸代謝について基礎検討を加えた。

### 実験対象

オリエンタル固型飼料で飼育したウィスター系ラットの胎仔、新生仔を用いた。

### 実験方法

1) グルタミン酸脱水素酵素 Glutamate dehydrogenase (GDH) 活性の測定

胎仔及び新生仔肝から Scheider の変法で、ミトコンドリア分画を得、これをアセトン、ドライアイスにて凍結、融解にてミトコンドリア膜を破壊後 15000rpm で 10 分間冷却遠心してその上清を酵素液とした。酵素活性の測定は King & Frieden の方法にて測定し、1 分間に 1  $\mu$ mole の NADH の減少をもって 1 unit とした。

2) GDH の activator の検討

酵素反応液中にロイシン、イソロイシン、バリンをそれぞれ最終濃度として  $10^{-3}$  M 含まれるように加えて、GDH 活性の変化を検討した。

3) GOT (aspartate transaminase)

ラット胎仔及び新生仔肝をミトコンドリア分画と上清分画に分け、Karmen 法にて GOTm と GOTs を測定した。

4) 肝組織アミノ酸分析

肝組織に 2.5% スルホサルチル酸を 10 倍量加えてホモゲナイズして、上清を日立アミノ酸分析計にて 21 種類のアミノ酸を測定した。

### 実験成績

1) 肝ミトコンドリア分画の GDH 活性 (図 1)  
ラット胎仔肝の GDH 活性は、胎令が進むにつれて、その値は上昇して行き、胎仔末期ではその活性は母体の値をも凌駕する値となった。

2) GDH の activator の検討 (図 2, 表 1)  
GDH 測定系に分岐鎖アミノ酸 (ロイシン, イソロイシン, バリン) を加えると、ロイシン, イソロイシン, バリンの順に GDH 活性は促進され、分岐鎖アミノ酸が GDH の activator である

ことを確認した。次に対照の GDH 活性が最大となるアンモニア濃度 80mg/100ml NH<sub>4</sub>Cl での各群の GDH 活性を求めて比較すると胎仔ではロイシンの存在により 7.4 倍, イソロイシンでは 6.5 倍, バリンでは 4.5 倍に活性化されるのに対して adult では分岐鎖アミノ酸による活性化の程度は少なく胎仔の約 1/2 にすぎない。

### 3) 肝 GOT 活性 (図 3)

ミトコンドリアに局在する GOTm は胎生期から活性が高く, adult と同程度であった。また上清中に存在する GOTs も adult と同程度の活性が認められた。

### 4) 肝組織アミノ酸分析 (図 4)

アミノ酸分画では, 分岐鎖アミノ酸, ロイシン, イソロイシン, バリンが胎生期で高濃度に含まれているのが特徴であった。また, 胎生期肝のグルタミン酸濃度が adult に比べて高く, 逆にアラニンが少なかった。

## 考 案

胎児のアミノ酸素源は専ら母体に依存しており, glucose などと同様母児相関で成立するとともに, 一方では母体から供給されたアミノ酸を利用して胎児独自の代謝調節が営まれていると思われる。母体から胎児へのアミノ酸は胎盤において能動輸送の形式で供給されており, Yamamoto et al. によればラットの場合アラニン, グルタミンが胎仔に大量に取り込まれ, nitrogen carrier として特に重要である。アラニンやグルタミンは, いわゆる中性アミノ酸であり, 組織から組織へのアンモニアの輸送型としては大変有利であり, このことは自己のアミノ酸代謝に都合のよい素材を選択的に摂取していることを表現していると考えられる。ところで血中アミノ酸分析による胎児仔のアミノ酸代謝の検討は数多く報告されているが, 組織あるいは細胞レベルでの研究は少ない。そこで著者は今回, 細胞レベルでのアミノ酸代謝, 特にアンモニアを中心とした代謝調節について検討した。

アンモニアはアミノ酸の正常代謝産物として細胞内で必然的に生成するもので, 生体機能とは密接な関係にあり, 今まではアンモニアの毒性が強

調されていたが, 最近アンモニアは本来生体にとって, 不可欠な代謝調節物質として重要な役割を果たしていることが認められている。細胞の発育過程において, このアンモニアがどのように代謝されるか大変興味あるところであり, 恐らく成人とは異なった代謝調節が営まれているものと推測される。今回, 著者はアンモニア代謝調節にあずかる代表的酵素として, GDH を測定して検討した。まず, GDH はミトコンドリアに局在し  $\text{Glutamate} + \text{NAD}^+ + \text{H}_2\text{O} = \alpha\text{-Ketoglutaric acid} + \text{NH}_4^+ + \text{NADH}$  の反応を解媒する。右行反応により, グルタミン酸からアンモニアと  $\alpha$ -ケトグルタル酸を生成し, 左行反応により, アンモニアと  $\alpha$ -ケトグルタル酸からグルタミン酸を生成する。この反応の平衡定数は  $1-10 \times 10^{-14}$  で強くグルタミン酸生成に傾いており, 細胞内のミトコンドリア内では, NADH しか助酵素として作用しないとされている。GDH は解糖系の TCA-cycle の  $\alpha$ -ケトグルタル酸とアンモニアからグルタミン酸を合成することから, 糖体謝とアミノ酸代謝を結ぶ重要な役割を果たしている。さらに, アミノ酸合成へ進む場合には, アンモニアからアミノ酸へ合成する唯一の経路となる, いわばアミノ酸中間代謝の鍵酵素である。ラット胎仔肝の GDH 活性は, 妊娠経過とともに直線的に増加し, 胎令 20 日目以後新生仔期を通じて成熟ラットよりも高い活性を維持しているのが特徴であり, 積極的にアンモニアからグルタミン酸を合成していることがうかがわれる。胎仔, 新生仔期において高活性を示す GDH の activator については興味深いところであるが, 著者はヒト胎児臍帯血中アミノグラムの成績から, 必須アミノ酸が胎児に多く取り込まれることに着目し, GDH 測定系に種々の必須アミノ酸を加えたところ, ロイシン, イソロイシン, バリンのいわゆる分岐鎖アミノ酸が細胞レベルでの GDH 測定系の activator であることを確認した。このことに関して, Yield et al. はロイシンが GDH の subunit の集合状態に影響を及ぼすと述べているが, 一方, 細胞レベルでの GDH 測定系における substrate のミトコンドリア膜の透過性の差異によるとの報告もみられる。胎仔と成熟ラッ

トのミトコンドリア膜は、磷脂質分画における脂酸構成をガスクロマトグラフィーで分析すると、胎仔では成熟ラットに比べてパルミチン酸、オレイン酸の占める割合が多く、膜の性状のみならず機能的にも異なることは容易に想像される。

さらに、ロイシン、イソロイシン、バリンの分岐鎖アミノ酸を肝組織の遊離アミノ酸濃度でみると、成熟ラットに比べて胎仔肝でははるかに高く、実際に *in vivo* でも GDH 反応系を促進しているものと考えられる。また最近、術後の輸液などに分岐鎖アミノ酸の重要性が指摘されており、分岐鎖アミノ酸は生体で不必要なアミノ酸の分解を防ぎ、*catabolism* の防止に役立つ、すなわち蛋白、アミノ酸合成に不可欠な物質であるといわれており、ミトコンドリアの機能を発揮するためにも極めて重要な必須アミノ酸であると考えられる。換言すれば、分岐鎖アミノ酸はアミノ酸代謝全体を調節しているともいえよう。

このようにラット胎仔肝ミトコンドリアで合成されたグルタミン酸はどのように代謝されるのであろうか。著者らは同じくラット胎仔肝のアミノ基転移酵素のうち、GOT (*aspartate transaminase*) をミトコンドリアに局在する GOTm と上清に局在する GOTs について、アイソザイムレベルで測定したところ、胎生期に活性が高い

ことを認めた。このことから、ミトコンドリア内で合成されたグルタミン酸は、GOTm-shuttle (勝沼) を経てアスパラギン酸となり、アスパラギン酸はミトコンドリアの外に出て、GOTs の触媒で再びグルタミン酸となり、種々の非必須アミノ酸に転換され、蛋白合成に利用されるものと考えられる。

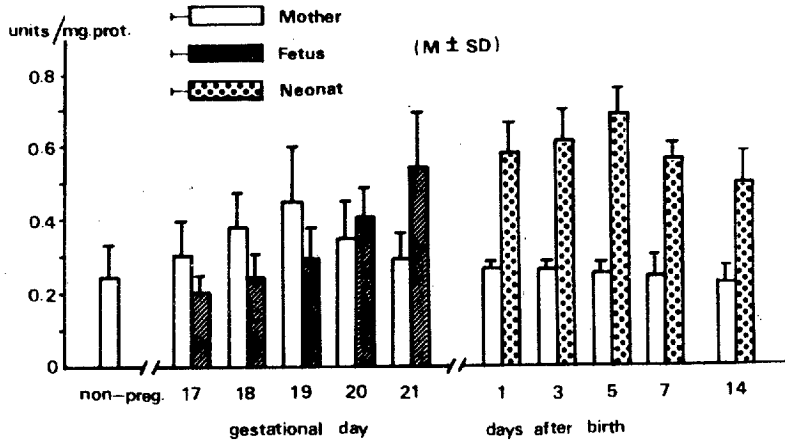
成熟ラット肝ではアンモニアは尿素サイクルを経て解毒代謝されるが、胎仔では尿素サイクルは未発達であり、自らの成長、発育に対して合目的にアンモニアを蛋白合成に利用していると思われる。そしてその最初のステップを規制しているのが必須アミノ酸(分岐鎖アミノ酸)である(図5, 6)。

このように胎児のアミノ酸代謝調節は成人とは大いに異っており、胎内発育障害の病態や治療の開発に対する一里塚ともなると考えられる。

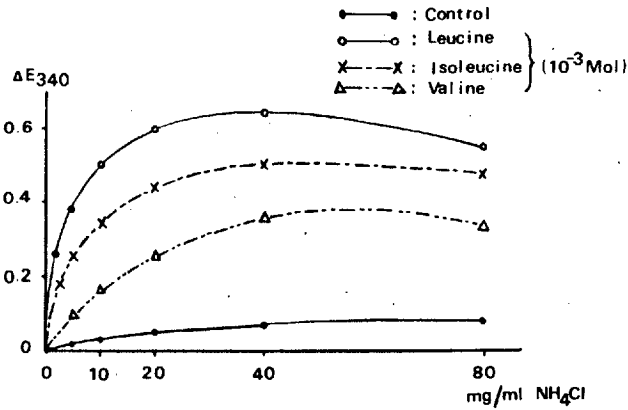
#### 学 会 発 表

- 第31回日本産科婦人科学会総会  
(昭和54年4月, 東京)
- 第15回日本新生児学会  
(昭和54年7月, 東京)
- 第9回国際産科婦人科連合世界大会  
(昭和54年10月, 東京)

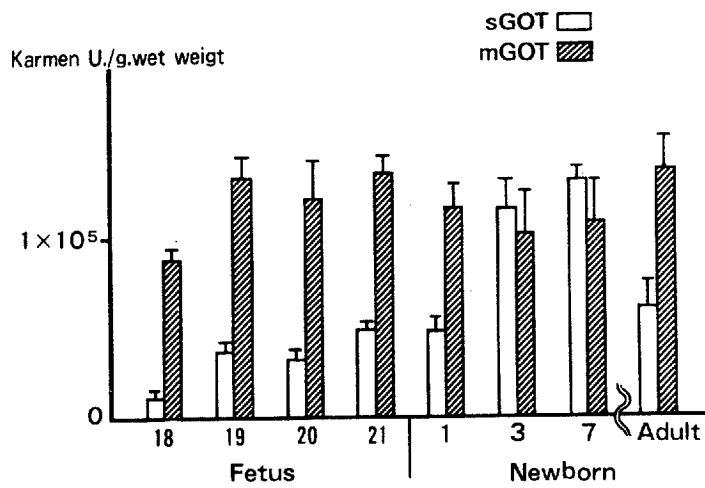
⊠ 1 GDH activities in Rat  
( Mother, Fetus & Neonat )



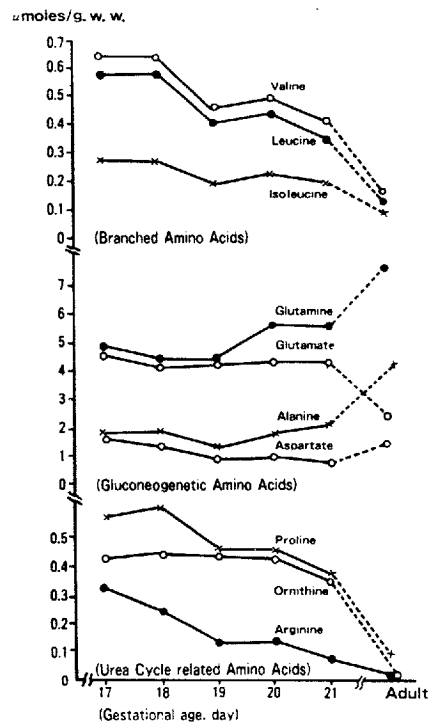
⊠ 2 NH<sub>3</sub> concentration dependency on GDH activity  
and effect of branched aminoacids  
( rat fetus )



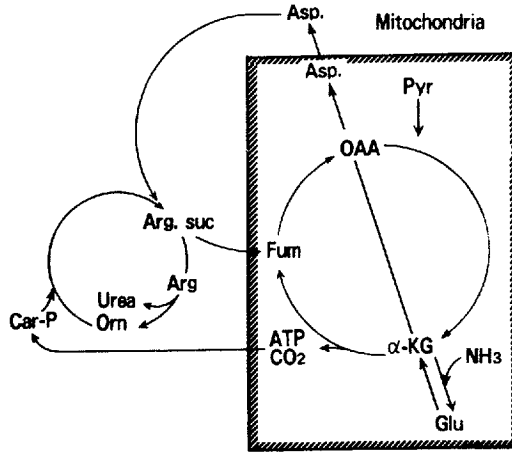
☒ 3 GOT activity in Rat Liver (Mean ± S.D.)



☒ 4 Developmental Changes in Liver Amino Acids



☒ 5 Amino acid metabolism of adult



☒ 6 Amino acid metabolism of fetus

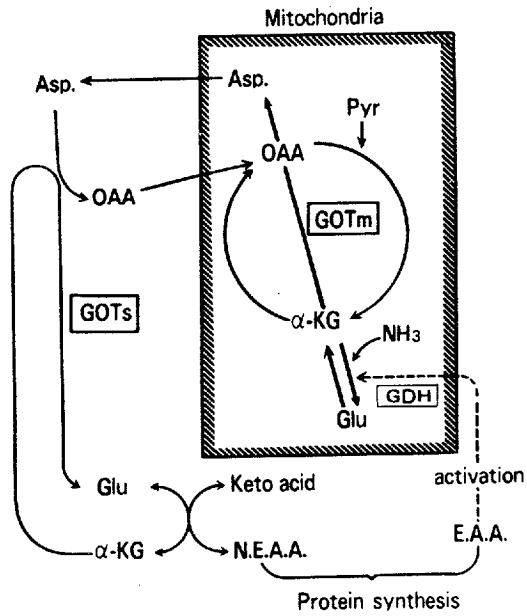
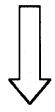


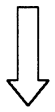
表1 Specificity of activation of glutamate dehydrogenase  
by branched amino acids in isolated mitochondria  
in rat liver

	Amino acid added ( $10^{-3}M$ )	rate of NADH oxidation ( $\mu$ mole/min.)	ratio
Fetus	None	0.074	1.0
	Leucine	0.546	7.4
	Isoleucine	0.478	6.5
	Valine	0.335	4.5
Pregnant rat	None	0.22	1.0
	Leucine	0.65	3.0
	Isoleucine	0.59	2.7
	Valine	0.45	2.0



## 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



### 緒言

胎内発育障害 (IUGR) は心身障害児発生との関連が強調されており, その胎内治療法の確立は今日産科医にとって最も重要な臨床的課題のひとつである。胎内発育障害の成因は多岐にわたっており複雑であるが, 最近 intrauterine fetal hyperalimantation がトピックとなり, 二糖類を主体とする糖質やアミノ酸製剤の母体投与が試みられている。しかしその臨床効果はまだ確立されていないようである。特にアミノ酸は生体において細胞の成長, さらには酵素や体蛋白の構成物質として重要であるが, 現在のところ胎児のアミノ酸代謝については不明なことが多く, アミノ酸投与により, むしろ hyperamino acidemia や高窒素血症による代謝障害を招くことも懸念される。著者はこの臨床的問題に取り組む為には, まず胎児代謝の特異性を明らかにする事が重要であり, その結果, 胎内発育障害の原因, 病態の解明や治療法への道が開かれるものと考え検討をすすめて来た。

従来から胎児の成長, 発育を母体側要因, さらには母体と胎児の接点ともいえる胎盤の機能の面から論じた報告は多いが, 著者は胎児側から, すなわち胎児には母体と異った胎児特有の代謝調節が存在し, この代謝調節の異常が発育障害の原因のひとつであると考え, 主として細胞レベルにおけるアミノ酸代謝について基礎検討を加えた。