

# Maternal PKUにおける心奇形の発生機序に関する研究（第2報）

岡野 善行, 周山 逸人, 一色 玄 (大阪市大, 小児科)  
 長谷 豊, 鶴原 常雄 (大阪市立小児保健センター)  
 大浦 敏明 (大阪市環境保健協会)

## 研究目的

フェニルケトン尿症の母親から生まれた児は、知能障害、小頭症、心奇形などが非常に多く、母性フェニルケトン尿症 (maternal PKU) と呼ばれている。本症の脳障害については、蛋白合成異常によるとする報告がある。しかし、最大の致死的原因である心奇形に関する実験的研究は全く見られない。本研究は、maternal PKU を予防すべく、適切な Phe 制限食療法を究明するための基礎実験として、L-Phenylalanine (Phe) 負荷妊娠ラットの胎仔脳心臓における蛋白合成障害の有無について検討した。

## 研究方法

1) [ $^{14}\text{C}$ ] leucine, [ $^{14}\text{C}$ ] urea の各臓器への分布—妊娠 20 日の SD 系ラットに 2.5% L-Phe 溶液 5ml/350g、または生理食塩水 (対照群) を投与し、30 分後 [ $^{14}\text{C}$ ] urea を腹腔内投与し、60 分後エーテル麻酔下にて採血し、各臓器を摘出した。蒸留水にてホモゲナイズし、10000×g、30 分で得られた上清に同量のトリクロロ酢酸を加え、2000×g、15 分で遠心し、蛋白分画と上清分画に分け、その放射活性を液体シンチレーションカウンターにて測定した。また、血漿についても同様の操作を行った。

2) アミノ酸組成、ポリゾーム沈降パターンの分析—ポリゾーム沈降パターンの分析は、表 1 に示した投与方法で作製したラットを用い、Roberts らの方法<sup>1)</sup> に準じて行った。また、各試料のアミノ酸分析は、高速液体クロマトグラフィーを用い、0- $\beta$ -フタルアルデヒドによる蛍光法にて測定した。

表 1

Loading procedure for phenylalanine or/with p-chlorophenylalanine

Groups	Loaded materials*	Loading to mothers				
		Gestation days and times				
		18 th 21 h	19 th 9 h	20 th 21 h	9 h	
Phe+p-CPhe	2.5% Phe+3.0% p-CPhe 2.5% Phe	↓	↓	↓	↓	Sacrificed 1h after last injection
p-CPhe	3.0% p-CPhe Saline	↓	↓	↓		
Control	Saline	↓	↓	↓	↓	

\* 5 ml/350g body weight  
 p-CPhe : p-chlorophenylalanine

## 研究結果

1) 蛋白および上清分画への $[^{14}\text{C}]$  leucine、 $[^{14}\text{C}]$  urea の取り込み—対照群に比べて、負荷群の上清分画への $[^{14}\text{C}]$  leucineの取り込みは(表2)母ラット脳、胎仔脳で最も低下しており、胎仔全体、心臓、肝臓、血清においても低下が認められた。又、蛋白分画においても(表3)、同様の結果が得られた。上清分画への $[^{14}\text{C}]$  ureaの取り込みは、対照群と比べて差がなかった。また、蛋白分画への $[^{14}\text{C}]$  ureaの取り込みはなかった。

表 2 Effects of L-phenylalanine loading on L-(U- $^{14}\text{C}$ ) leucine incorporation into supernatant fractions of various tissues and plasma

	Control rats (dpm/g wet weight)	Phenylalanine loading rats (dpm/g wet weight)	Percent for control	P
Mother				
Plasma	8430 ± 582 (7)	8814 ± 1435 (7)	104.6	NS
Brain				
Cerebrum	9497 ± 1404 (7)	5623 ± 579 (7)	59.2	<0.001
The other part	8865 ± 853 (7)	4775 ± 666 (7)	53.9	<0.001
Heart	8471 ± 1112 (6)	7978 ± 2111 (7)	94.2	NS
Liver	17065 ± 1781 (7)	14977 ± 2046 (7)	87.8	NS
Placenta	16542 ± 4257 (6)	11166 ± 2108 (7)	67.5	<0.05
Fetus				
Plasma	12678 ± 1094 (6)	9409 ± 607 (6)	74.2	<0.001
Brain	12724 ± 1937 (7)	5547 ± 877 (7)	58.4	<0.001
Heart	17327 ± 1325 (7)	11073 ± 1002 (7)	63.9	<0.001
Liver	16884 ± 2487 (7)	11690 ± 1262 (7)	69.2	<0.001

Each value represents the average ± SD.  
In parenthesis, the number of rats is shown.  
NS: Not significantly different.

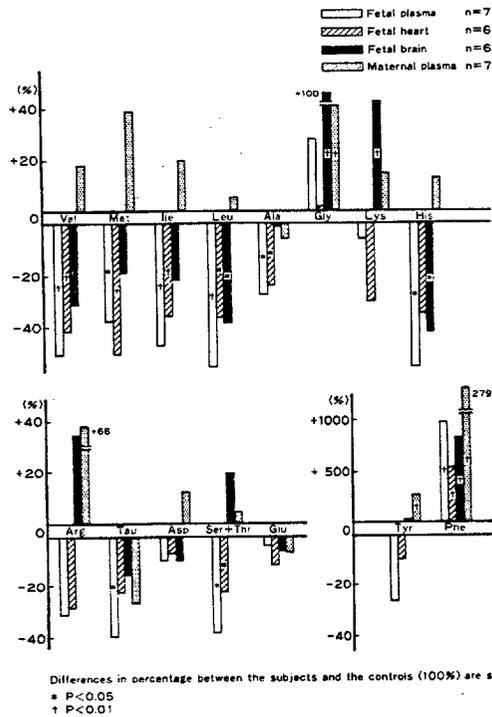
表 3 Effects of L-phenylalanine loading on L-(U- $^{14}\text{C}$ ) leucine incorporation into protein fractions of various tissues and plasma

	Control rats (dpm/mg protein)	Phenylalanine loading rats (dpm/mg protein)	Percent for control	P
Mother				
Plasma	2708 ± (7)	2705 ± 364 (7)	99.9	NS
Brain				
Cerebrum	334 ± 29 (7)	212 ± 21 (7)	63.2	<0.001
The other part	371 ± 64 (7)	252 ± 27 (7)	67.8	<0.005
Heart	395 ± 43 (6)	412 ± 72 (7)	104.3	NS
Liver	1052 ± 241 (7)	930 ± 120 (7)	88.4	NS
Placenta	730 ± 74 (6)	672 ± 106 (7)	92.1	NS
Fetus				
Plasma	1579 ± 264 (6)	1205 ± 249 (6)	76.3	<0.05
Brain	664 ± 192 (7)	291 ± 50 (7)	43.8	<0.001
Heart	1116 ± 156 (7)	642 ± 66 (7)	57.5	<0.001
Liver	1224 ± 225 (7)	842 ± 174 (7)	77.7	<0.01

Each value represents the average ± SD.  
In parenthesis, the number of rats is shown.  
NS: Not significantly different.

2) 血漿および胎仔各組織の遊離アミノ酸組成—Phe + p-Cphe 負荷による各臓器の遊離アミノ酸の変化を、対照群に対する百分率で示した(図1)胎仔血漿、心臓では必須アミノ酸、特に、分枝アミノ酸とメチオニンの低下があり、脳では上記アミノ酸の低下に加えて、グリシンとリジンの著明な上昇があった。母ラット血漿では著変は認められなかった。

図 1 Effects of L-phenylalanine and p-chlorophenylalanine loading on free amino acids concentration in tissues and plasma



3) 胎仔脳と心臓のポリゾーム沈降パターン—胎仔脳、心臓(図2)のいずれにおいても、Phe + p-CPhe 群では、対照群に比較して、モノゾームの軽度増加、ダイゾームの著明な増加があった。p-CPhe 群では、ダイゾームの軽度増加がみられた。オリゴゾームについては、3群の間に明確な差はなかった。

## 考 案

2)

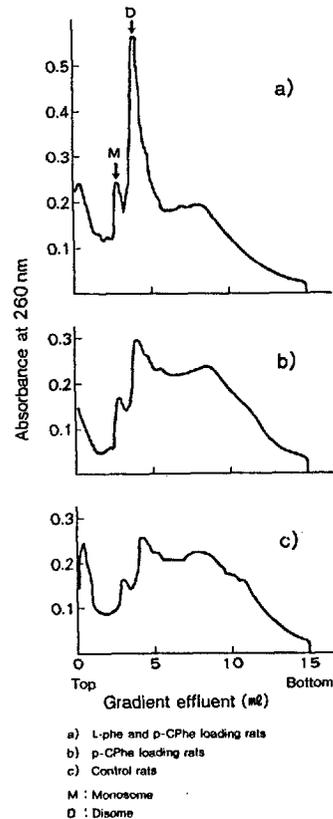
Lenkeらの報告によれば、Maternal PKU児の心奇形の頻度は384例中36例、約10%に認められ、特に母親のphe血中濃度が16mg/dl以上の場合高率に認められている。現在までのMaternal PKUの動物モデルでは、出産後の学習能力異常、脳内アミノ酸インバランス、脳内ポリゾームパターンの変化等については述べられているが、心臓の蛋白合成に言及したものは無い。

今回の実験結果は、母ラットの高Phe状態は従来報告されている胎仔脳だけでなく、胎仔心臓にも影響を与えることを示している。母ラットの高Phe状態により、まず胎盤において、ロイシンをはじめとする必須アミノ酸の能動輸送の抑制があり、そのため胎仔血漿で高Pheを伴うアミノ酸インバランスが惹起される。そして、胎仔血漿での変化が胎仔の各臓器のアミノ酸インバランスを引き起こし、蛋白合成に多大な影響を与えられと考えられる。実際、Phe負荷により [14

C] leucineの蛋白分画への取り込みの抑制があり、アミノ酸の蛋白合成への利用の低下を引きおこしている。また、ポリゾーム沈降パターンの変化で示されたように、蛋白合成における translation 段階での抑制が認められている。一方、生体内水分量に従って分布する尿素では、対照群との差はなく、高phe血症が胎盤での血行動態に著しい変化をもたらし、胎仔に影響を与えているとは考えられない。

PKUの女性が妊娠し、Phe制限食療法を行わない場合、胎児の器官形成期に、高Phe血症の影響による蛋白合成阻害が惹起され、器官形成に異常を来すと考えられる。これまで、蛋白合成阻害剤の投与により、心奇形を始めとして、骨格異常、口蓋裂、中枢神経系の奇形などの先天奇形が注<sup>3)</sup>じることがすでに証明されている。Maternal PKUにおいても、臨床的に心奇形および先天奇形が数多く報告されており、今回の実験結果は、Maternal PKUの心奇形の発生機序に蛋白合成阻害が大きな要因となることを示したものと考えられる。

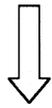
図 2 Effects of L-phenylalanine and p-chloro-phenylalanine loading on purified polysome profiles in fetal heart



## 文 献

- 1) Roberts, S. and Morelos, B. S. : Role of ribonuclease action in phenylalanine-induced disaggregation of rat cerebral polyribosomes. *J. Neurochem.* 26: 387-400(1976)
- 2) Lenke, R. R. and Levy, H. L. : Maternal phenylketonuria and hyperphenylalaninemia: an international survey of the outcome of untreated and treated pregnancies. *N. Engl. J. Med.* 303: 1202-1208(1980)
- 3) Willson, J. G. : Embryotoxicity of drugs in man. In *Handbook of teratology vol. 1*, Wilson, J. G. and Fraser, F. C., Plenum Press, New York. 309-356 (1977)
- 4) Oura, T. and Hase, Y. : Japanese experiences in maternal phenylketonuria. In *Neonatal screening*, Naruse, H. and Irie, M. Excerpta Medica, Amsterdam. 235-240 (1983)

本研究の一部は、昭和58年度厚生省心身障害研究助成金によるものである。



**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

フェニルケトン尿症の母親から生まれた児は、知能障害、小頭症、心奇形などが非常に多く、母性フェニルケトン尿症(maternal PKU)と呼ばれている。本症の脳障害については、蛋白合成異常によるとする報告がある。しかし、最大の致死的原因である心奇形に関する実験的研究は全く見られない。本研究は、maternal PKUを予防すべく、適切なPhe制限食療法を究明するための基礎実験として、L-Phenylalanine(Phe)負荷妊娠ラットの胎仔脳、心臓における蛋白合成障害の有無について検討した。