

フェニールアラニンのラット肝 ミトコンドリアの呼吸に与える影響

芳野 信, 荒牧修一, 古賀靖敏
山下文雄 (久留米大小児科)

研 究 目 的

フェニールケトン尿症(PKU)患者女性から生れる児に脳障害, 重症奇型がおこることが知られている。このmaternal PKUの発生機序には, 胎児の, 母体高フェニールアラニン環境への暴露の関与が考えられている。われわれは, フェニールアラニン(Phe)が, 胎生期の各種臓器のエネルギー代謝に何らかの影響を与えるのではないかと考え, その実験モデルとして, ラット肝ミトコンドリアの呼吸に与える Phe の影響を検討した。

研 究 方 法

1. 実験動物

体重 300 g 前後のウィスター系ラットを用いた。

2. ミトコンドリア分画の分離

24時間絶食後, ラットを断頭し, 肝を分離, 氷冷したA液(70 mM シュウクロース, 210 mM マニトール, 0.1 mM EDTA, 10mM トリス-HCl, pH 7.4)中で細切し, ホモジナイズののち, 1M トリスで pH を 7.4 に調整し, Hogeboom ら¹⁾の方法に準じミトコンドリア分画を得た。これを氷冷B液(250 mM マニトール, 10 mM リン酸カリウム, 2 mM MgCl₂, 0.2 mM EDTA, 10 mM KCl, 10 mM トリス-HCl, pH 7.4)に懸濁し, 実験に用いた。

3. ポーログラフィーによるO₂消費量の測定

Chance & Williams ら²⁾の方法により, Clark 型電極を用いて測定した。まず25℃に保温したセルにミトコンドリア懸濁液, B液, B液に溶解したPhe (pH 7.4, 終濃度 0.1, 0.5, 1.0 mM) を総量 3.3 ml となるよう加えた。ついでロテノン 4 μ g を添加後, 10分間プレインキュベートした後, コハク酸ナトリウム 15 μ mol を基質として加え, 2分後に ADP 0.975 μ mol を追加して, state 3 の O₂ 消費を記録した。ついで, ADP の消費をまち, state 4 の O₂ 消費を測定した。

state 3, state 4 の O₂ 消費量から呼吸調節率を, 添加ADP量と state 3 での O₂ 消費量より P/O 比を求めた。

研究結果

添加 Phe 濃度が 0.5 mM 以上では state 3 の O_2 消費は有意に低下し、コハク酸自体の酸化、または電子伝達の障害がおこっている可能性を示唆する結果をえた (図 1)。いっぽう、state 4 のそれはほとんど影響をうけなかった (図 1)。この結果、Phe 0.5 mM 以上では呼吸調節率は低下した (表 1)。さらに 1.0 mM では P/O 比の低下もみられ (表 1)、Phe またはその代謝産物は、脱共役作用も有することが推測された。

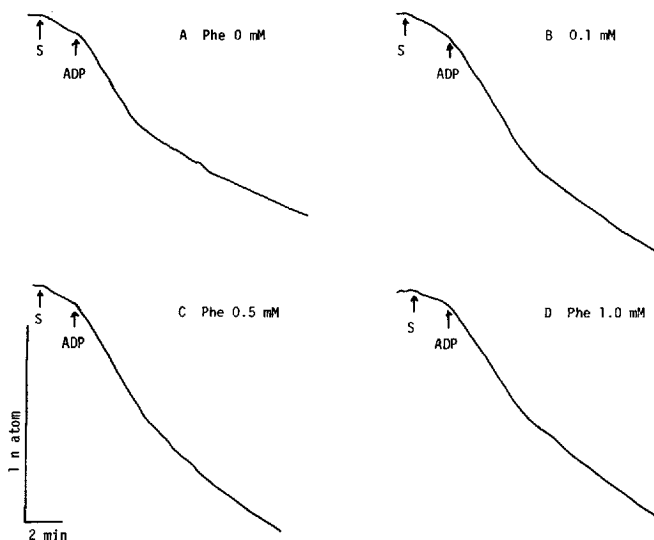


図 1 フェニールアラニンの、ラット肝ミトコンドリアの酸素消費に与える影響

S: コハク酸, ADP: ADPの添加をあらわす

表 1 フェニールアラニンの、ラット肝ミトコンドリアの呼吸調節率, P/O 比に与える影響

Phe(mM)	酸素消費量*		呼吸調節率	P/O比
	state 3	state 4		
0	9.4	2.6	3.6	2.5
0.1	10.1	3.5	2.9	2.2
0.5	7.0	3.0	2.4	2.3
1.0	6.3	4.5	1.4	1.6

* mn atom/min-mg · protein

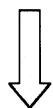
考 察

上記の成績から、高濃度の Phe またはその代謝産物が、ミトコンドリアの呼吸、ひいてはエネルギー生成を阻害することが推測される。未治療の PKU 患者では、血中 Phe 濃度が 1.0 mM (16.5 mg/dl) をこすことはまれではない。このような高 Phe 環境に暴露された胎児の中枢神経系その他の臓器で慢性のエネルギー代謝の阻害が、maternal PKU の障害の機序の一因となることは十分可能性のあることと考えられる。

文 献

- 1) Hogeboom, G.H., Schneider, W.C. and Pallade, G.E., : Cytochemical studies of mammalian tissues. 1. isolation of intact mitochondria from rat liver; some biochemical properties of mitochondria and submicroscopic particulate material. J. Biol Chem., 172:619, 1948
- 2) Chance, B. and Williams, G.R.: Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation. 1. Kinetics of oxygen utilization. J. Biol. Chem., 217:383, 1955

本研究は昭和 58 年度厚生省心身障害研究費補助金による。



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

フェニールケトン尿症(PKU)患者女性から生れる児に脳障害,重症奇型がおこることが知られている。この maternal PKU の発生機序には,胎児の,母体高フェニールアラニン環境への暴露の関与が考えられている。われわれは,フェニールアラニン(Phe)が,胎生期の各種臓器のエネルギー代謝に何らかの影響を与えるのではないかと考え,その実験モデルとして,ラット肝ミトコンドリアの呼吸に与える Phe の影響を検討した。