

特殊調製ミルクに含まれるカルニチン

杉 山 成 司
鈴 木 孝 一
森 下 秀 子
小 林 正 紀
和 田 義 郎
(名古屋市立大学小児科)

先天性代謝異常症の病態生理の解明が進むにつれてその治療法も次々と開発され、最近では遺伝子工学の技術を応用したより本質的な治療法への確立へと向っている。しかし現時点ではその主流はやはり Bickel らのフェニルケトン尿症患児に試みた食事制限療法に根差している。ことにアミノ酸，有機酸，糖代謝異常症などではこの新生児期早期からの食事療法が予後に大きく影響するため甚だ重要である。

われわれは本研究において有機酸代謝異常の代表的疾患であるプロピオン酸血症ならびにメチルマロン酸尿症におけるカルニチン投与の有効性を証明した。しかしその治療として用いられる特殊調製ミルクがカルニチン欠乏食であることに驚かされた。そこでその他の特殊調製ミルクについてもカルニチン含量を知ることが不可欠と考えられたので、現在入手できる種々の特殊調製ミルクについて検索を行った。

プロピオン酸血症におけるカルニチン投与の有効性

症 例

生下時体重 1,955 gr (34週 2 日)，Apgar 6 点で出生する。両親は血族結婚でなく，第 1 子は流産で，第 2 子は生後 8 日目に死亡している。本児はその第 5 子である。哺乳開始後まもなく嘔吐出現し，哺乳不良にて日令 16 日目よりアミノ酸輸液を施行後，日令 31 日目に突然高アンモニア血症をきたし昏睡状態となった。当院入院後も感染や蛋白摂取量増加に伴ない高アンモニア血症，高グリシン血症，貧血，好中球減少，血小板減少などが見られ，交換輸血を繰り返した。血中の有機酸分析ではプロピオン酸の増加が認められた。さらに患児の fibroblast を用いて propionyl-CoA carboxylase 活性を測定したところ，対照の 1% と著減していた。しかし 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase 活性および pyruvate carboxylase 活性は正常であった。propionyl-CoA carboxylase の biotin に対する反応は見られなかった。以上より本児を propionyl-CoA carboxylase 欠損症と診断した。

カルニチン代謝の検索

表1 Levels of serum and urine carnitine before and after carnitine administration

	Carnitine therapy	
	before	after
Serum carnitine ($\mu\text{mol/l}$)		
free	3.3	11.5
esterified	12.4	78.9
total	15.7	90.0
Urine carnitine ($\mu\text{mol/l}$)		
free	3.2	148.2
esterified	52.2	514.5
total	54.4	662.7

表2 Propionylcarnitine levels, as propionate in urine before and after carnitine therapy

Urine	Propionate (mg/dl)	
	before	after
No hydrolyzed	0	0
Hydrolyzed	0.17	1.64

DL-カルニチン (80 mg/kg/日) の経口投与を月令3.5ヵ月時の比較的落ち着いた状態で蛋白摂取量が1~1.3 gr/kg/日の時に行い、その前後の血清および尿中のカルニチン濃度を測定した。測定法は McGarry らの radioenzyme 法¹⁾ を一部改変し、Tris-buffer に替えて HEPES-buffer を²⁾、sodium tetrathionate に替えて N-ethylmaleimide を³⁾ 用いた。その結果、投与前の遊離型カルニチン値は血清、尿とも著明に低下しており、カルニチン欠乏状態を示していた。総カルニチン値も低値であったがこれは低蛋白栄養を反映しているものと考えられた。投与後は血清総カルニチン値は上昇し正常化した。依然として遊離型は低値のままであり、エステル化型の増加が著明であった (表1)。

次に尿中プロピオニルカルニチンについて投与前後の比較を行った。方法は尿を KOH でアルカリ化し、28°C30分 incubation することでプロピオニルカルニチンを加水分解し、得られたプロピオン酸をカルボン酸分析計で測定した。結果は表2に見る如く加水分解処理前の尿ではカルニチンの投与に関係なくプロピオン酸は検出されなかったが、加水分解処理後にはプロピオン酸が認められ、しかも投与後のそれは前に比べ約10倍に増加していた (表2)。このこ

とよりプロピオン酸血症児ではプロピオニル CoA がカルニチンアセチルトランスフェラーゼの働きによりカルニチンと結合してプロピオニルカルニチンとなり尿中に排泄されることが判明し、従って治療法としてのカルニチン投与の有効性が証明された。

メチルマロン酸尿症におけるカルニチン投与の有効性

症 例

8才の女兒で生下時体重2,750 gr (39週2日)、血族結婚の両親より、その第2子として出生する。第1子は正常男児だが、第3子の男児が新生児期早期より高アンモニア血症、代謝性アシドーシスにて日令5日目に死亡する。その時点でメチルマロン酸尿症と判明したため、本児も生後1才6ヵ月の時に検索され、ビタミン B₁₂ 不応性メチルマロン酸尿症と診断された。臨床上新生児期より哺乳不全などが認められていたが、重症には至らず経過していた。月令4ヵ月には嘔吐、筋力低下などの発作を繰り返し、また月令9ヵ月には嘔吐、脱水、呼吸困難、意識障害、低体温を呈したことがある。しかしその後家族の同意が十分得られず、特別の治療管理はなされていなかった。今回このような状況のなかで、DL-カルニチン (100 mg/kg/日) 3日間経口的に投与し、投与前、投与中および投与中止後3日目におのおの早朝尿を採取し、そのカルニチン濃度とプロピオニルカルニチン濃度を検討した。

本症例においても投与前の尿では遊離型カルニチンは検出できず、全てエステル化型カルニチンであった。一方、投与中には遊離型もエステル化型も著明な増加を見たが、投与中止後3日目の尿では、それぞれ投与前値に戻っていた (表3)。

尿中プロピオニルカルニチンについてもほぼ同様な結果で、投与中は著明な排泄増加を見た。以上よりメチルマロン酸尿症でもプロピオン酸血症と同じ機構が働くことが判明したため、カルニチン投与の有効性が結論された (表3)。

表3 Carnitine administration in methylmalonic aciduria

Carnitine administration (DL-100mg/kg/day)	1	2	3	4	5	6	7 day
urinary carnitine ($\mu\text{mol/g creatinine}$)							
free	0			302			0
esterified	189			987			90
total	189			1289			90
urinary propionylcarnitine (as propionate mg/g creatinine)	4			153			14

特殊調製ミルク中のカルニチン濃度

一般調製ミルクおよび種々の特殊調製ミルクをおのおのの標準調乳濃度に調製し、そのカルニチン含量を前述の方法で検索した。

結果は表4に示す如く、一般調製ミルク中の遊離型カルニチン濃度は27~142 nmol/ml、総カルニチン濃度は58~226 nmol/mlとバラツキが見られた。また特殊調製ミルク中、未熟児用ミルクはほぼ一般調製ミルクと同じであり、L-MCTと低カルシウム粉乳もほぼ同じ傾向であった。しかしその他アミノ酸、有機酸、糖代謝異常用特殊ミルク、および牛乳アレルギー・乳糖不耐症用ミルクでは総カルニチン量は僅かにしか認められず、そのほとんどがエステル化型であり、遊離型カルニチン濃度はほとんどの場合検出できなかった。英国で使用されているフェニルケトン尿症用ミルク（青木菊麿先生提供）もほぼ同様な結果であった。

考 案

カルニチン欠乏状態は先天性のカルニチン代謝異常による全身性、筋性カルニチン欠乏症に見られる他、二次的にきたす場合も少なからず報告されている⁴⁾。なかでも未熟児への低カルニチン栄養による⁵⁾ものや、種々の先天性代謝異常、とりわけ有機酸代謝異常における低カルニチン血症⁶⁾⁷⁾は見逃すことはできない。

ところでカルニチンの1日所要量は現在のところ明らかでないが、その場合次のような点を考慮する必要がある。1つは内因性カルニチンで、カルニチン生合成の最終段階の律速酵素である γ -butyrobetaine hydroxylase 活性は人の肝において乳児では成人値の約12%⁸⁾で、特に未熟児・新生児では外因性カルニチンの供給が絶たれると容易に低カルニチン血症となることが知られている⁵⁾。次に腸管からの吸収の問題があり、能動輸送機構の関与が考えられている。これには母乳栄養児の方が人工栄養児より血清カルニチン値が高いとの報告⁹⁾もあり、母乳と人工乳との間に輸送の差がある可能性もある。腎からのカルニチン排泄についてみると未熟児においても低カルニチン血症時尿中へのカルニチン排泄がほとんどなくなることより、すでに再吸収の閾値が存在するものと思われる。

今回の結果では一般調製ミルク中のカルニチン濃度は遊離型、総カルニチンとも約4~5倍の違いが見られたが、低値を示したミルクでも母乳値（総カルニチンとして56.0~69.8 nmol/ml¹⁰⁾と近似しており、その評価に当っては十分慎重に検討する必要がある。しかし治療用特殊ミルクについてみるとそのほとんどがカルニチンを僅かにしか含んでおらず、遊離型では2.0 nmol/ml未滿と欠乏状態であり、大きな問題と考えられた。

近年カルニチンの作用は単に長鎖脂肪酸のミトコンドリア内での β -酸化に不可欠のみならず、アシル CoA 誘導体の buffering effect、あるいは CoA-SH の供給体としての役割が注目されている。この点に着目して今回われわれはミトコンドリア内にプロピオニル CoA が蓄積されるプロピオン酸血症およびメチルマロン酸尿症に対してカルニチンを投与したところ、尿

表4 各種人工乳におけるカルニチン濃度

品名	会社名	品名記号	調乳濃度 (%)	カルニチン n mol/ml				適応症 ^{a)}
				遊離型	エステル化型	総	エステル化型/総(%)	
ソフトガード FM-K	明治		14	27	31	58	53	
レーベンスミルク60	和光堂		13	29	42	71	59	
ネオミルク	雪印		13	81	90	171	53	
SMA S-26	日本ワイス		12.6	142	84	226	37	
ネオミルク PM	雪印		16	23	26	49	53	未熟児
プレミルク	和光堂		17	66	93	159	58	未熟児
ボンラクト	和光堂		15	ND ^{b)}	16	16	100	牛乳アレルギー・乳糖不耐症
ラクトースフリー	和光堂		15	ND	16	16	100	乳糖不耐症
無乳糖粉乳	雪印	GL	13	ND	3	3	100	ガラクトース血症・原発性乳糖不耐症
L-MCT	和光堂		15	51	89	140	64	脂肪吸収不全
低ナトリウム粉乳	雪印	LNA	13	ND	13	13	100	心・腎疾患
低カルシウム粉乳	雪印	LCA	13	28	28	56	50	特発性高カルシウム血症
ロフェミルク S	雪印		15	6	15	21	71	フェニルケトン尿症
フェニルアラニン・ロイシン除去粉乳	雪印	S-1	15	2	ND	2	0	チロジン血症
蛋白除去ミルク	雪印	S-23	15	ND	11	11	100	高アンモニア血症, シトルリン血症, アルギニノコハク酸尿症, 高オルニチン血症 (高アンモニア血症を伴うもの)
高アンモニア血症・シトルリン血症フォーミュラ	明治	7925-A	15	ND	14	14	86	高アンモニア血症, シトルリン血症, アルギニノコハク酸尿症, 高オルニチン血症 (高アンモニア血症を伴うもの)
ロイシン・イソロイシン・バリン・メチオニン・スレオニン除去フォーミュラ	明治	8001	15	2	12	14	100	有機酸代謝異常症
イソロイシン・ロイシン・バリン除去フォーミュラ	明治	815	15	ND	9	9	100	楓糖尿症
ヒスチジン除去フォーミュラ	明治	725	15	ND	10	10	100	ヒスチジン血症
糖原病用治療用フォーミュラ (昼間用)	明治	8005	14	ND	14	14	100	肝型糖尿病
Maxamine XP	Scientific Hospital Supplies		15	ND	4	4	100	フェニルケトン尿症

a) 製造業者の表示による

b) ND は 2.0 nmol/ml 未満を意味する

中に多量のプロピオニルカルニチンが排泄されることを見出した。このことは蓄積しているプロピオニル CoA がミトコンドリア内膜に存在するカルニチン・アセチルトランスフェラーゼの働きにより、投与されたカルニチンと結合してプロピオニルカルニチンとなり、次いでミトコンドリア内膜のカルニチン・アシルカルニチントランスロカーゼの働きによりミトコンドリア内膜を通過し細胞外へ転送されることを意味しており、従って toxic なプロピオニル CoA はカルニチン投与により体外へ除去されることが結論された。しかしその際用いた治療用特殊ミルク（明治8001, 雪印 S-23）にはこの治療上有効と証明されたカルニチンがほとんど含まれていなかった。

これら疾患では新生児期早期より重篤な症状が現われるため、腹膜灌流, 交換輸血, 厳格な蛋白摂取制限食療法など精力的治療を要し, 幸いに急性期を脱しても感染, 蛋白摂取量増加により容易に悪化するため, その管理は極めて難しい。このような患児に新生児期早期から現在の特種治療用ミルクを用いた場合, 外因性カルニチン摂取は望めず, 内因性カルニチン合成は期待できず, 低蛋白栄養によるカルニチン代謝の異常もきたす可能性があるなど, どれも患児に不利に働くことになる。同じようなことが低カルニチン血症を呈し, 特殊ミルクを必要とする多くの先天性代謝異常症についてもいえることである。また先天性心疾患患児においてはカルニチンの欠乏による心筋での脂肪酸の酸化障害に基づく悪影響が懸念される。

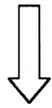
以上の点から現在製造されているこれら特殊調製ミルクの使用に当り, 何らかの方法でカルニチンを添加することが急務であると考えられる。この場合使用するカルニチンは生物学的活性を有するL型でなければならないが, 残念ながら国内では今のところ DL 型しか入手できない。問題は生物学的に不活性なD型の使用は, 構造的拮抗作用のためL型カルニチンの組織内への取り込みを阻害すること¹¹⁾¹²⁾, また構造的類似性に基づくと考えられる筋無力症様症状を引き起こすなどの報告があること¹³⁾である。DL 型ではL型に比べ血中および組織中カルニチン濃度の上昇は悪く¹⁴⁾, 使い方次第ではD型同様の副作用が十分考えられる。

本研究でも明らかになったように今後アシル CoA 誘導体の蓄積する種々の疾患の治療法の1つとしてカルニチン投与が期待されるおり, カルニチンの需要性も高まることが予想される。そのためにも一日も早いL型カルニチンの開発が望まれる。

文 献

- 1) McGarry, J.D. and Foster, D.M. : An improved and simplified radioisotopic assay for the determination of free and esterified carnitine. *J. Lipid Res.*, **17** : 277, 1976.
- 2) Christiansen, R.Z. and Bremer, J. : Active transport of butyrobetaine and carnitine into isolated liver cells. *Biochim. Biophys. Acta*, **448** : 562, 1976.
- 3) Parvin, R. and Pande, S.V. : Microdetermination of (–) carnitine and carnitine acetyltransferase activity. *Anal. Biochem.*, **79** : 190, 1977.
- 4) Rebouche, C.J. and Engel, A.G. : Carnitine metabolism and deficiency syndromes. *Mayo Clin. Proc.*, **58** : 533, 1983.

- 5) Penn, D., Schmidt-Sommerfeld, E. and Pascu, F. : Decreased tissue carnitine concentration in newborn infants receiving total parenteral nutrition. *J. Pediatr.*, **98** : 976, 1981.
- 6) Sugiyama, N., Morishita, H., Nagaya, S., Nakajima, T., Kawase, A., Ohya, A., Sugiyama, S., Kamiya, K., Watanabe, I., Togari, H., Kobayashi, M., Ogawa, Y. and Wada, Y. : Biochemical evidence of carnitine effect on propionate elimination. *J. Inher. Metab. Dis.*, in press.
- 7) Roe, C.R., Hoppel, C.L., Stacey, T.E., Chalmers, R.A., Tracey, B.M. and Millington, D.S. : Metabolic response to carnitine in methylmalonic aciduria. *Arch. Dis. Child.*, **58** : 916, 1983.
- 8) Rebouche, C.J. and Engel, A.G. : Tissue distribution of carnitine biosynthetic enzymes in man. *Biochim. Biophys. Acta*, **630** : 22, 1980.
- 9) Curry, E. and Warshaw, J.B. : Higher serum carnitine levels and ketogenesis in breast fed as compared to formula fed infants (abstract). *Pediatr. Res.*, **12** : 504, 1978.
- 10) Sandor, A., Pecsuvac, K., Kerner, J. and Alkonyi, I. : On carnitine content of the human breast milk. *Pediatr. Res.*, **16** : 89, 1982.
- 11) Paulson, D.J. and Shug, A.L. : Tissue specific depletion of L-carnitine in rat heart and skeletal muscle by D-carnitine. *Life Sci.*, **28** : 2931, 1981.
- 12) Vary, T.C. and Neely, J.R. : Characterization of carnitine transport in isolated perfused adult rat hearts. *Am. J. Physiol.*, **242** : H585, 1982.
- 13) Bazzato, G., Mezzina, C., Ciman, M. and Guarnieri, G. : Myasthenia-like syndrome associated with carnitine in patients on long-term haemodialysis. *Lancet*, **i** : 1041, 1979.
- 14) Rebouche, C.J. : Effect of dietary carnitine isomers and γ -butyrobetaine on L-carnitine biosynthesis and metabolism in the rat. *J. Nutr.*, **113** : 1906, 1983.



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



先天性代謝異常症の病態生理の解明が進むにつれてその治療法も次々と開発され、最近では遺伝子工学の技術を応用したより本質的な治療法への確立へと向っている。しかし現時点ではその主流はやはり Bickel らのフェニルケトン尿症患者に試みた食事制限療法に根差している。ことにアミノ酸, 有機酸, 糖代謝異常症などではこの新生児期早期からの食事療法が予後に大きく影響するため甚だ重要である。

われわれは本研究において有機酸代謝異常の代表的疾患であるプロピオン酸血症ならびにメチルマロン酸尿症におけるカルニチン投与の有効性を証明した。しかしその治療として用いられる特殊調製ミルクがカルニチン欠乏食であることに驚かされた。そこでその他の特殊調製ミルクについてもカルニチン含量を知ることが不可欠と考えられたので、現在入手できる種々の特殊調製ミルクについて検索を行った。