

# 有機酸代謝異常の発症予防に関する一つの試み：プロピオン酸血症，メチルマロン酸尿症における尿中，羊水中プロピオニルカルニチンの意義

研究協力者 和田 義郎

杉山成司 森下秀子 小林正紀  
(名古屋市立大学小児科)

最近の有機酸代謝異常の分野における発展は目覚ましく、すでに50種ほどの疾患が確認されている。その臨床像も明らかになりつつあり、また生化学的障害に基づく治療法の開発も進んでいる。われわれもその代表的疾患であるプロピオン酸血症、およびメチルマロン酸尿症においてカルニチン療法が有効であることを報告してきた<sup>1)</sup>。すなわち患児にカルニチンを投与した場合、尿中に多量のプロピオニルカルニチンを検出したが、これは患児組織のミトコンドリア内に蓄積された toxic なプロピオニル CoA は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、ミトコンドリア内膜を通過することで外へ輸送され、尿中に排泄されるというものである。

ところで現在主に行われている治療ではプロピオニル CoA の前駆アミノ酸を制限するため容易に低蛋白栄養となり、旺盛な発育期の、特に脳の発達におよぼす影響が懸念されている。そこでこの問題を考える上でカルニチンの投与量とプロピオニルカルニチンの尿中排泄量との関係をみる必要があるとあり、今回その検索を行った。また患児羊水中におけるプロピオニルカルニチン濃度を測定したところ興味ある成績を得たので合わせて報告する。

## 研究方法及び結果

症例は1歳9ヵ月のビオチン非依存性プロピオン酸血症と、2ヵ月の VB<sub>12</sub> 反応性メチルマロン酸尿症で、それぞれ比較的安定している時期に蛋白摂取量を一定(約1.5 g/kg/日)とし、L-カルニチンの経口投与を1週間毎に増量し、各週の最後の3～4日間の尿についてプロピオニルカルニチンを測定した。測定法は既報のカルボン酸分析計による方法<sup>1)</sup>よりさらに感度のよい isotope exchange 法<sup>2)</sup>によった。これは試料中の短鎖アシルカルニチンをカルニチンアセチルトランスフェラーゼによりアシル CoA とカルニチンに分解し、再び可逆的に isotope でラベルされたアシルカルニチンとして反応液中に存在させ、これを薄層クロマトグラフィーで分離、抽出するものである。遊離カルニチン、アセチルカルニチン、プロピオニルカ

表1 Urine free and short-chain acylcarnitines  
in a case with propionic acidemia during  
1.5gr/kg/day protein intake

L-carnitine	free	acetyl	propionyl
25mg/kg	0.64±0.12	0.18±0.06	5.46±1.75
50mg/kg	1.19±0.15	0.29±0.07	6.05±1.11
75mg/kg	1.77±0.83	0.82±0.30	10.05±4.92

( $\mu\text{mol}/\text{mg}$  creatinine)

表2 Free and short-chain acylcarnitine excretion  
in a patient with methylmalonic aciduria  
during 1.5gr/kg/day protein intake

L-carnitine therapy	carnitine excretion ( $\mu\text{moles}/\text{day}$ )		
	free	acetyl	propionyl
no	2.9± 2.8	0.8± 1.1	12.3±15.6
25mg/kg	41.9±14.9	16.7± 5.7	99.6±25.1
50mg/kg	54.7±46.4	19.5±17.4	169.7±93.1

ルニチンの Rf 値はそれぞれ0.22, 0.35, 0.43と良好であった。なお buffer として acetylation の少ない HEPES を用いた。

結果は表1, 表2に示すようにプロピオン酸血症, メチルマロン酸尿症ともに dose dependent な値を得た。

次に羊水中のプロピオニルカルニチン濃度につき同法により検討した。対象は2例のメチルマロン酸尿症で, 1例は培養羊水細胞を用いた [1- $^{14}\text{C}$ ] propionate fixation assay<sup>3)</sup> により, 他の1例は出生後尿中に多量のメチルマロン酸をカルボン酸分析計で確認したことより診断した。羊水は在胎17週目に採取した。

その結果プロピオニルカルニチン濃度は対照の約10倍近くに著増していた。

## 考 案

プロピオン酸血症やメチルマロン酸尿症では新生児早期より重篤な症状が現われ, 腹膜灌流, 交換輸血, 厳格な蛋白制限療法を必要とする。幸いに急性期を脱しても感染や蛋白摂取量増加に伴って容易に重症化するため, その後の管理, 治療は非常に難かしく, さらに発育期における低蛋白栄養も大きな問題となっている。

そこで本研究においてカルニチン投与量と尿中プロピオニルカルニチン排泄量との関係を調

表3 Propionylcarnitine concentration in the amniotic fluid of fetuses with methylmalonic aciduria

	propionylcarnitine ( $\mu\text{mol/l}$ )
MMA 1	5.2
MMA 2	5.7
control(n=4) (mean $\pm$ SD)	0.6 $\pm$ 0.3

べたところ、両疾患ともカルニチンの投与量を増やすとプロピオニルカルニチンの排泄量も増加していた。このことはカルニチン療法により、蛋白摂取許容量の増量ができることを意味しており、上記の問題を考える上で非常に有益なことと思われた。ちなみに今回メチルマロン酸尿症例から得た成績をもとにプロピオニル CoA の前駆体である一つのアミノ酸について概算すると、L-カルニチンを25 mg/kg/日投与した場合、2~3 mg/kg/日、50 mg/kg/日投与では4~5 mg/kg/日排泄されることになり、少なくともこれに相当する摂取量の増加が可能となる。実際カルニチン投与後、臨床的にも感染に対する抵抗性が増大し、蛋白摂取に対する許容量も増すなど改善が認められている<sup>4)</sup>。

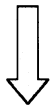
ところでプロピオン酸血症やメチルマロン酸尿症の出生前診断には現在次のような手段が用いられている。第1は培養羊水細胞を用いた〔1-<sup>14</sup>C〕propionate fixation assay<sup>3)</sup>で、これに必要な細胞数が得られれば24時間以内に診断可能であり、われわれの施設でも用いている方法である。しかし培養の失敗、また稀には母親の線維芽細胞が生えるなど問題点も残されている<sup>5)</sup>。第2は羊水上清中、あるいは母親の尿中メチルマロン酸濃度を測定する方法<sup>6)</sup>で、妊娠16~20週の時期に診断可能であるが、当然これはプロピオン酸血症には適応できず、またメチルマロン酸尿症でも僅かにしか上昇していない場合があるなど false negative の可能性がある<sup>3)</sup>。第3は最近開発された方法で羊水中の methylcitric acid を isotope dilution analysis で測定し、妊娠15~19週で対照に比し有意の上昇をみており、プロピオン酸血症、メチルマロン酸尿症で有用である<sup>7)</sup>。しかし isotopic な D<sub>3</sub>-methylcitric acid の合成が必要でどこかの施設でも簡単に行える方法ではない。同様のことは第4の方法である methyl-branched chain dicarboxylic acid の検出<sup>8)</sup>にも言えることである。

今回われわれはメチルマロン酸尿症の羊水上清中にプロピオニルカルニチンの著明な増加をみたが、これはプロピオン酸血症でも、むしろプロピオン酸血症の方がより顕著であると考えられ、出生前診断の一つとして今後十分検討されるべき検査法と言える。

以上、プロピオン酸血症、メチルマロン酸尿症においてプロピオニルカルニチンを種々の material で検索することは、病態や把握するのみならず、治療を進める上で不可欠のことと思われる。

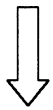
## 文 献

- 1) Sugiyama, N. et al. : Biochemical Evidence of Carnitine Effect on Propionate Elimination. *J. Inher. Metab. Dis.*, **7** : 137, 1984.
- 2) Kerner, J. et al. : A Radioisotopic-Exchange Method for Quantitation of Short-Chain (Acid-Soluble) Acyl-Carnitines. *Anal. Biochem.*, **134** : 459, 1983.
- 3) 小林正紀, 他 : VB<sub>12</sub> 不応性メチルマロン酸尿症の出生前診断に関する検討. *日児誌*, **85** : 1589, 1981.
- 4) 森下秀子, 他 : プロピオン酸血症の long term therapy —カルニチンの効果を中心に— 第27回日本先天代謝異常学会発表 (於札幌), 1984.
- 5) Buchanan, P.D. et al. : Pitfalls in the Prenatal Diagnosis of Propionic Acidaemia. *Clin. Genet.* **18** : 177, 1980.
- 6) Chalmers, R.A. et al. : Organic Acids in Man. Analytical Chemistry, Biochemistry and Diagnosis of the Organic Acidurias. Chapman and Hall, London, pp. 221~229, 1982.
- 7) Naylor, G. et al. : Isotope Dilution Analysis of Mythylcitric acid in Amniotic Fluid for the Prenatal Diagnosis of Propionic and Methylmalonic Acidemia. *Clin. Chim. Acta*, **107** : 175, 1980.
- 8) Jakobs, C. et al. : Identification of Methyl-Branched Chain Dicarboxylic Acids in Amniotic Fluid and Urine in Propionic and Methylmalonic Acidemia. *Pediatr. Res.*, **18** : 1185, 1984.



## 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



最近の有機酸代謝異常の分野における発展は目覚ましく、すでに 50 種ほどの疾患が確認されている。その臨床像も明らかになりつつあり、また生化学的障害に基づく治療法の開発も進んでいる。われわれもその代表的疾患であるプロピオン酸血症、およびメチルマロン酸尿症においてカルニチン療法が有効であることを報告してきた<sup>1)</sup>。すなわち患児にカルニチンを投与した場合、尿中に多量のプロピオニルカルニチンを検出したが、これは患児組織のミトコンドリア内に蓄積された toxic なプロピオニル CoA は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、ミトコンドリア内膜を通過することで外へ輸送され、尿中に排泄されるというものである。

ところで現在主に行われている治療ではプロピオニル CoA の前駆アミノ酸を制限するため容易に低蛋白栄養となり、旺盛な発育期の、特に脳の発達におよぼす影響が懸念されている。そこでこの問題を考える上でカルニチンの投与量とプロピオニルカルニチンの尿中排泄量との関係を見る必要があるとあり、今回その検索を行った。また患児羊水中におけるプロピオニルカルニチン濃度を測定したところ興味ある成績を得たので合わせて報告する。