

## B-9 アスピリン投与の尿中有機酸およびアミノ酸に及ぼす影響

研究協力者 楠 智 一 京都府立医科大学 小児科

共同研究者 古川 宣明・井上 文夫 京都府立医科大学小児科

目的：近年、欧米を中心とした疫学的研究から、Reye症候群の発症にアスピリンの使用が関与していることが示唆され、<sup>1)</sup>様々な論議を呼ぶに至った。多くの精力的な研究にもかかわらず、現時点でもアスピリンが本症の発症にどの程度関与しているかは不明である。しかしながら、小児科領域においては、アスピリンは解熱剤ばかりでなく抗炎症剤、抗凝固剤としてもひろく使用されていることから、早急かつ慎重な検討が望まれる。<sup>2)</sup>今回われわれは、アスピリンを服用後に発症したReye症候群の2例を経験したので、その尿中有機酸分析とアスピリン代謝産物について検討するとともに、アスピリンの投与が尿中有機酸とアミノ酸に及ぼす影響についても検討した。

方法：(1) 尿中有機酸分析；対象としては2例のReye症候群患児の入院時の尿、6例の川崎病(MCLS)および5例の若年性関節リウマチ(JRA)患児のアスピリン服用後2-6時間の尿と健康小児8例の早朝尿を用いた。方法としては、0.2 mgクレアチニン相当の尿に内部標準としてヘプタデカン酸 30  $\mu$ g を加え、ヒドロキシシリアミンでオキシム化したのち、酢酸エチルおよびジエチルエーテルで抽出し、BSTFA でTMS誘導体とした。サンプルは、ガスクロマト質量分析計(Shimadzu GCMS 6020)で分析し、データは SCAP 1123(DEC)にて解析した。尿中有機酸のマスプロファイルから、各物質につき特有のイオンを選択し、その面積の内部標準のイオン(m/z 327)の面積との比を出し、定量値として比較した。

(2) 尿中アスピリン代謝産物の測定；先のReye症候群2例の尿と、アスピリンを服用中の川崎病患児17例と若年性関節リウマチ患児4例のアスピリン服用後2-6時間の尿を用いた。アスピリン投与量は川崎病では10 mg/kgから50 mg/kg、若年性関節リウマチでは30 mg/kg から60 mg/kgまでであった。0.2 mgクレアチニン相当の尿に内部標準としてアラキジン酸100  $\mu$ g を加え、酸性化してジエチルエーテルで抽出し、BSTFAにてTMS誘導体とした。サリチル酸はm/z 267、ゲンチジン酸はm/z 355、サリチル尿酸はm/z 324、アラ

キジン酸は $m/z$  369 を用い、selected ion monitoring により定量を行なった。

(3) 尿中アミノ酸の測定；川崎病患児15例と健康小児19例につき、尿中アミノ酸を高速液体クロマトグラフィーにより測定し、クレアチニン当たりの値に換算した。

成績：(1) 尿中有機酸分析；Fig.1 は症例1と2の尿中有機酸のTIM クロマトグラムである。2例とも乳酸、2-Hydroxybutyrate, 3-Hydroxybutyrateの著明な増加がみられ、アジピン酸、スベリン酸などのジカルボン酸の増加とともに、5-Hydroxycaproate もみられた。また、アスピリン代謝産物であるサリチル酸、ゲンチジン酸、サリチル尿酸などもみられた。Tab.1 はその定量結果である。アスピリン投与の影響をみるためにアスピリン服用者と健康小児との尿を比較した結果では、アスピリン服用群のほうが乳酸およびL/P 比の軽度の増加がみられ、アジピン酸は軽度低下の傾向があるものの、他の有機酸では差はみられなかった。

(2) 尿中アスピリン代謝産物；Tab.2 はアスピリン代謝産物の定量結果である。Reye症候群ではサリチル酸およびゲンチジン酸の排泄の増加がみられたが、サリチル尿酸については増加はなかった。また、川崎病と若年性関節リウマチの間でも差はなかった。

(3) 尿中アミノ酸；Fig.2 は尿中アミノ酸の結果である。糖原性アミノ酸のうち、グルタミン+スレオニン、セリン、グリシン、ヒスチジンがアスピリンを服用している川崎病患児で低値であった。他のアミノ酸には差はなかった。また、アミノ酸とアスピリン投与量との関係についても検討したがいずれのアミノ酸についても相関はみられなかった。

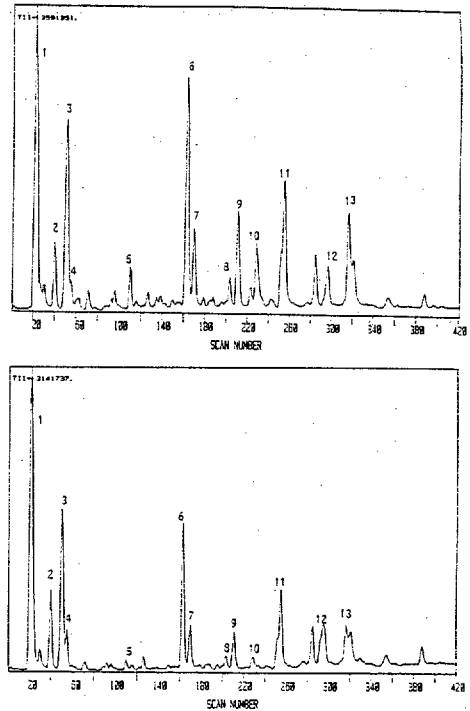


Fig.1 TIM chromatograms of urinary organic acids from two patients with Reye syndrome. Compounds identified were as follows; 1.lactate, 2.2-hydroxybutyrate, 3.3-hydroxybutyrate, 4.pyruvate, 5.5-hydroxycaproate, 6.adipate, 7.salicylate, 8.4-hydroxyphenylacetate, 9.suberate, 10.gentisate, 11.4-hydroxyphenyllactate, 12 heptadecanoate(internal standard), 13.salicylurate

考察：Reye 症候群の病因のひとつとして、近年アスピリンは注目を集めているが、その関与のメカニズムについてはよくわかっていない。今回のアスピリンを服用後に発症したReye症候群の尿中有機酸分析からは、組織の嫌氣的代謝を反映する乳酸や2-Hydroxybutyrateの増加や、肝でのβ酸化の障害を反映するωジカルボン酸やω-1酸化物の5-Hydroxy-<sup>3</sup>caproateも排泄されていた。これらの結果は、これまで報告された所見と一致しており、ミトコンドリア障害とくにpyruvate dehydrogenaseやpyruvate carboxylase活性の低下や呼吸鎖の障害をつよく示唆するものであり、サリチル酸が酸化的リン酸化のuncouplerとして知られていることから、本症の発症にアスピリンが関与する場合のあることが考えられた。

一方、アスピリンを長期間服用している川崎病や若年性関節リウマチ患児においては、乳酸やL/P比の軽度の上昇はみられたものの、ジカルボン酸であるアジピン酸は逆に低下しており、β酸化の障害はないと考えられた。アスピリンの肝細胞の代謝に与える影響としては、ミトコンドリアの呼吸鎖の障害を介するものだけでなく、ペルオキシゾームや細胞質に与える影響もあることから、今回得られた結果の解釈にも慎重を要すると思われる。

尿中のアスピリン代謝産物については、Reye症候群ではサリチル酸、ゲ

	SI	Reye(n=2)	Aspirin(n=11)	Control(n=8)
Lactate	190	548.49, 988.84	27.59 ± 10.98	12.01 ± 6.11
Pyruvate	232	59.82, 199.73	7.51 ± 2.33	6.92 ± 2.70
L/P ratio		9.17, 4.95	3.81 ± 1.66	1.79 ± 0.62
2-HB	233	23.40, 47.75	n.d.	n.d.
3HB+3HIB	233	294.85, 294.70	10.50 ± 4.80	11.71 ± 9.49
Citrate	363	12.47, n.d.	5.35 ± 6.97	3.76 ± 2.25
Aconitate	375	14.77, n.d.	11.14 ± 7.44	12.26 ± 6.57
Isocitrate	245	2.98, n.d.	4.65 ± 4.20	3.70 ± 2.38
Succinate	247	24.97, 7.84	22.77 ± 29.11	22.32 ± 11.13
Fumarate	245	105.25, 15.58	2.51 ± 4.06	1.19 ± 0.93
Malate	335	0.93, n.d.	0.39 ± 0.36	0.22 ± 0.26
Adipate	275	403.49, 353.48	0.49 ± 0.68	2.09 ± 1.57
4HPAA	179	102.08, 79.04	94.86 ± 71.82	51.50 ± 33.85
4HPLA	179	218.66, 281.67	29.10 ± 73.01	4.52 ± 2.24
Hippurate	236	0.53, n.d.	28.70 ± 39.11	31.73 ± 26.30

Tab.1 Urinary organic acid profiles in Reye syndrome, patients with aspirin ingestion and healthy controls. Values were given as mean ± standard deviation. SI indicates selected ion for quantification of each compound. Values were indicated as percentage of peak area of selected ion of each compound to internal standard(heptadecanoate,SI=327).

	Reye		MCLS	JRA
	Case 1	Case 2	(n=17)	(n=4)
Salicylate	134.0	136.2	13.1 ± 18.5 (0.4-72.3)	18.6 ± 9.2 (7.3-28.6)
Gentisate	134.1	107.9	3.8 ± 6.4 (0-22.5)	12.3 ± 14.5 (0-28.4)
Salicylurate	1331.9	908.2	511.2 ± 604.0 (31.7-2444.3)	510.3 ± 252.3 (243.6-761.6)

Tab.2 Urinary aspirin metabolites in Reye syndrome and other diseases. Values were given as mean ± standard deviation, and parenthesis indicates ranges. Unit was micrograms per milligram of creatinine.

ンチジン酸の排泄が増加していたが、アスピリン代謝産物のうち、サリチル酸が最もミトコンドリアの障害作用が強いことが知られている。従って、Reye症候群では、アスピリンの代謝に異常を来たした結果、細胞内のサリチル酸濃度が高くなったためにミトコンドリア障害を来たした可能性も考えられる。しかし、肝機能障害を有する例では、尿中アスピリン代謝産物のうち、遊離のサリチル酸やゲンチジン酸が増加するとの報告もあり、今回の結果は、単に肝障害の結果を見ているのかもしれない。

尿中アミノ酸の排泄パターンには、多くの要因とくに腎尿細管機能、組織のアミノ酸利用、肝障害などが関与することが知られている。今回、アスピリンを服用中の川崎病患儿でいくつかのアミノ酸の低下が見られたが、腎障害や肝障害の場合はアミノ酸の排泄が増加することが多いことから、今回の結果は組織でのアミノ酸の利用の変化に基づくものと考えられる。とくに、グリシンはサリチル酸を抱合してサリチル尿酸として体外へ排泄するのに使われるため、低下する可能性が考えられる。セリンもグリシンと相互変換することから二次的に低下するとも考えられるが、他のアミノ酸については十分な説明は得られない。一方、Reye症候群では、アラニン、リジンなどが著明に上昇しており、アスピリン服用者のパターンとは異なるものであった。

以上のことから、Reye症候群における病態とアスピリン服用者における代謝変化とは明らかに異なると考えられるが、その病態へ至るまでのrisk factorとしてアスピリンがなんらかの作用を有している可能性は否定できない。従って、今後とも慎重にアスピリンとReye症候群との関係については検討が必要と思われる。

結論：(1) アスピリンを服用後に発症した2例のReye症候群およびアスピリン服用者につ

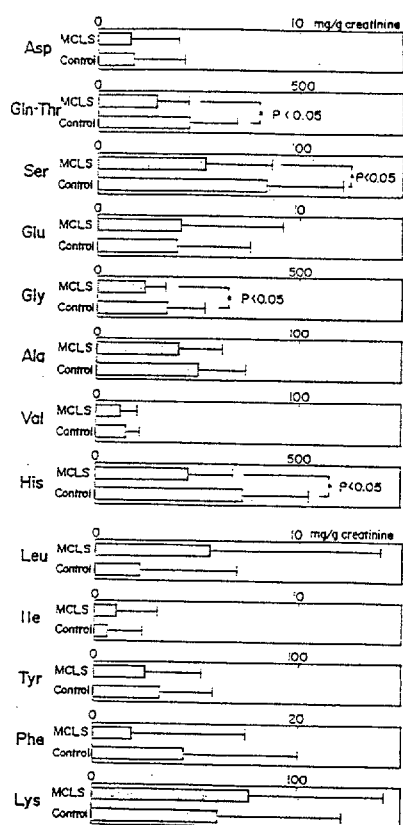


Fig.2 Urinary amino acids excretion .

き、尿中有機酸、アスピリン代謝産物、アミノ酸を測定した。(2) Reye症候群患児では、肝での嫌氣的代謝や $\beta$ 酸化の障害などのミトコンドリアの障害を示唆する所見が得られ、アスピリン代謝産物でもサリチル酸、ゲンチジン酸の排泄増加がみられた。(3) アスピリン服用者では、軽度の乳酸の排泄増加があり、尿中アミノ酸でも低下しているものもみられたが、ミトコンドリアの障害を示す所見は得られなかった。

#### 文献

- 1) Starko, K.M. et al. Pediatrics. 66:859-864, 1980
- 2) 清水次子他. 京都市病紀. 3:102-108, 1983
- 3) Harrington, W. et al. Clin.Chim.Acta. 74:247-254, 1977
- 4) Martens, M.E. et al. Biochem.Pharmac. 33:2869-2876, 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



目的:近年、欧米を中心とした疫学的研究から、Reye 症候群の発症にアスピリンの使用が関与していることが示唆され、様々な論議を呼ぶに至った。多くの精力的な研究にもかかわらず、現時点でもアスピリンが本症の発症にどの程度関与しているかは不明である。しかしながら、'小児科領域においては、アスピリンは解熱剤ばかりでなく抗炎症剤、抗凝固剤としてもひろく使用されていることから、早急かつ慎重な検討が望まれる。今回われわれは、アスピリンを服用後に発症した Reye 症候群の 2 例を経験したので、その尿中有機酸分析とアスピリン代謝産物について検討するとともに、アスピリンの投与が尿中有機酸とアミノ酸に及ぼす影響についても検討した。