

## B-13 Reye 症候群におけるジカルボン酸尿症などの 有機酸代謝の異常

招待講演者 松 本 勇 金沢医科大学人類遺伝学研究所生化学部門

研究目的: Reye症候群の発症の生化学的機構の解明と、診断基準の設定が主要目的で、解析にはガスクロマトグラフィー質量分析計-コンピュータとアミノ酸分析計を用いた。

方法: Reye症候群, ケトosis型および非ケトosis型ジカルボン酸尿症、糖新生系酵素障害を伴った疾患の患者、対照として健常人のいずれも尿または血清を用いた。尿試料はいずれも早朝尿を用い、患者尿では早朝尿あるいは発作時の尿を用いた。血液は尿試料と対応する時間帯に採取し分析に用いた。いずれも採取後は直ちに $-20^{\circ}\text{C}$ に凍結し、分析時まで保存した。尿は0.5 mgクレアチニン相当量を用い、血清はその0.2 mlを分析に用いた。アミノ酸分析では、尿試料は遠心して狭雑物を除いたそのままの試料を、日本電子製全自動アミノ酸分析計 JMA 200A に注入して分析した。血清は1 mlずつを注入し、同様に分析した。

有機酸分析では、上述の0.5 mgクレアチニン相当量の尿に、20  $\mu\text{g}$  のn-ヘプタデカン酸を内部標準物質として加え、pHを1に合わせた後、6 mlのジエチルエーテルを加えて振とう抽出する。ジエチルエーテル層を減圧下に濃縮し、それに100  $\mu\text{l}$  のN, O-ビストリメチルシリルアセトアミド (N, O-bis-trimethylsilylacetoamide: BSTFA)を加えて $60^{\circ}\text{C}$ で30分間反応させてトリメチルシリル(TMS)誘導体とする。血清は0.5 mlを採り、尿と同様に処理してTMS誘導体とする。いずれもその1~2  $\mu\text{l}$ をGC/MS分析に用いた(1)。

症例: Reye症候群の患者は1才6ヵ月の男児で、昭和55年10月に満期正常出産。1才6ヵ月時、嘔吐を伴う意識障害を呈した。通常の血液検査では、血清GOT, GPT, アンモニアの著明な上昇が認められた。昭和57年4月、尿中アミノ酸と有機酸分析を行った(2)。他疾患の患者については

記述を省略する。

成績と考察: Reye症候群患児の尿中有機酸の TIMクロマトグラムを図 1に示した。

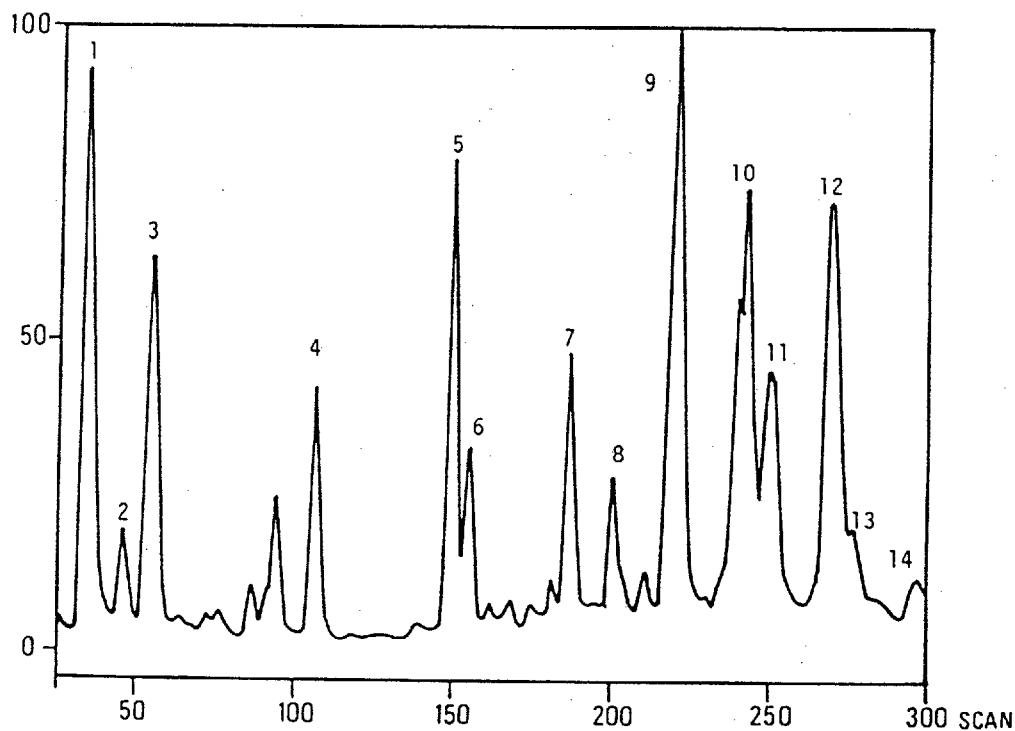


図 1: 18 生月のReye症候群男児尿中有機酸の TMS誘導体のTIM クロマトグラム

ピーク 1: 乳酸、ピーク 2: 2-ヒドロキシ酪酸、ピーク 3: 3-ヒドロキシ酪酸、ピーク 4: コハク酸、ピーク 5: アジピン酸、ピーク 6: 2-ヒドロキシベンゾエート、ピーク 7: スベリン酸、ピーク 8: 2,5-ジヒドロキシベンゾエート、ピーク 9: 4-ヒドロキシフェニール乳酸+セバシン酸、ピーク 10: 3-ヒドロキシ-1,10-デカンジオエート、ピーク 11: n-ヘプタデカン酸 (内部標準物質)、ピーク 12: 2-ヒドロキシベンズイルグリシン、ピーク 13: 3-ヒドロキシ-1,12-ドデカンジオエート、ピーク 14: 3-ヒドロキシ-1,14-テトラデカンジオエート

対照の健常児尿中有機酸のクロマトグラムに比べて、乳酸、2-ヒドロキシ酪酸、3-ヒドロキシ酪酸、コハク酸、アジピン酸、2-ヒドロキシベンゾエート、スベリン酸、2,5-ジヒドロキシベンゾエート、4-ヒドロキシフェニール乳酸+セバシン酸、3-ヒドロキシ-1,10-デカンジオン酸、2-ヒドロキシベンゾイルグリシン、3-ヒドロキシ-1,12-ドデカンジオエート、3-ヒドロキシ-1,14-テトラデカンジオエートなどが著明に増加し、殊に一連のジカルボン酸類と乳酸（35倍）、2-ヒドロキシ酪酸（30倍）およびケトン体の3-ヒドロキシ酪酸の増加が著明であった。

ところで、ジカルボン酸尿症では非ケト-シス型もケト-シス型も多量のアジピン酸、スベリン酸、セバシン酸および1,10-デカンジオエートなどの中鎖ジカルボン酸が尿中に排泄される(3)。このような中鎖ジカルボン酸の異常排泄をきたす理由は、カルニチン欠損症などのように、長鎖脂肪酸のミトコンドリア内への輸送機構に障害があるため、長鎖脂肪酸はカルニチンを必要としないペルオキシゾームで $\beta$ 酸化される。ペルオキシゾームでは中鎖脂肪酸はそれ以上 $\beta$ 酸化されないため、細胞質に出て $\omega$ 酸化される結果、これらの疾患では中鎖ジカルボン酸類の尿中への異常排泄をきたすことになる。ケト-シス型ジカルボン酸尿症では、前記中鎖ジカルボン酸類の他に、アセト酢酸や3-ヒドロキシ酪酸などのケトン体の大量排泄を伴う。この型の疾患では、クエン酸生成が充分におこなわれていないため、解糖系、あるいは脂肪酸の異化によって生成したアセチル CoAがケトン体生成に利用されていることが原因である。すなわち、クエン酸生成の主役である糖新生系の鍵酵素であるピルビン酸カルボキシラーゼの障害が同時におこっているか、または脂肪酸の異化が亢進していることがその大きな理由として考えられる。ジカルボン酸類の大量排泄が同時に起っていることからすると、後者の可能性を考えるのが最も妥当であろう。

Reye症候群の生化学的特徴の一つは、初期にはケト-シス型ジカルボン酸尿症を伴うことで、その点では感染や糖尿病、あるいは飢餓などによる脂肪酸の異化の亢進に伴うジカルボン酸尿症と似ているが、しかし著明な高乳酸血症もきたす点では明らかにそれらの疾患とは異なる。高乳酸血症をきたす疾患はいろいろ知られているが、そのうちピルビン酸脱水素酵素複合体、ピルビン酸カルボキシラーゼ、電子伝達系酵素、膜輸送系などの障害が最も考え易い。但し、膜輸送系の障害を除いてこれらの酵素障害では、逆にジカルボン酸尿症を伴うことはない。また前述のように、カルニチン欠損症では非ケト-シス型ジカルボン酸尿症は起るが、ケト-シス型ジカルボン酸尿症は起らない。したがって、Reye症候群はこれらいずれの疾患とも一致しない。

Reye症候群のもう1つの大きな生化学的特徴は、高アンモニア血症をきたすことである。高アンモニア血症をもたらす疾患群には、ミトコンドリア内とミトコンドリア外の尿素回路系酵素、

N-アセチルグルタミン酸合成酵素の障害と数種の有機酸血症が知られている。N-アセチルグルタミン酸合成酵素とカルバミルリン酸合成酵素の障害を除いた尿素回路系酵素障害では、オロット酸あるいはウラシルの尿中排泄の増加を伴う。Reye症候群では高アンモニア血症をきたすが、尿中ウラシルやオロット酸の増加はみられない。しかも高乳酸血症およびジカルボン酸類の増加以外の有機酸血症も観察されない。したがって、Reye症候群における高アンモニア血症の原因は、ミトコンドリア内酵素のN-アセチルグルタミン酸合成酵素、あるいはカルバミルリン酸合成酵素のいずれかの障害によるものと考えざるを得ない。

さらに生化学的なもう一つの大きな特徴は、低血糖をきたすことである。これは極めて明白に糖新生系の障害を示すもので、その鍵酵素であるピルビン酸カルボキシラーゼの障害を非常に強く示唆するものである。しかし、前述のように、本酵素の障害は低血糖や高乳酸血症を説明することはできるが、ケトosis型ジカルボン酸尿症を説明し得ない。

以上のことから明かなように、Reye症候群は上記のいずれの疾患とも完全には一致せず、したがって、それらとは全然別個の疾患であることが明白である。また本疾患では著明な高脂血症をきたすことと、特有の脂肪肝がみられることが大きな特徴である。このことは、アセチル CoAがクエン酸回路系で充分利用されていないことを裏付けるものであろう。

ところで、Reye症候群にみられる上記の生化学的特徴が全て単一酵素の欠損で説明することは現在の知見からは困難で、またそうでなければならぬと言う理由はない。しかし、先天性の複数酵素の欠損であるとしたら、新生児期の非常に早い時期に発症することが考えられるし、当然臨床症状も極めて重篤であることが予想される。これまで報告された本疾患は、これらの点で必ずしも予想とは一致しない。したがって、先天性の複数酵素の欠損ではないと考えるべきである。

上に列挙した生化学的知見は、先天的ではないが、複数の酵素が同時に、あるいはほとんど同時に障害されたためと解釈するとよく説明できる。すなわち、高アンモニア血症をきたすN-アセチルグルタミン酸合成酵素、あるいはカルバミルリン酸合成酵素の障害、高乳酸血症をきたすピルビン酸脱水素酵素複合体、クエン酸回路系酵素、あるいは糖新生系のピルビン酸カルボキシラーゼの欠損、およびジカルボン酸尿症をもたらす膜輸送系酵素の障害、またはカルニチンの欠損が同時に起った状態を想定するとよく説明できる。以上の酵素、あるいは酵素系に共通しているのは、いずれもミトコンドリアに局在しているということである。

別報で久原が報告するように、抗てんかん薬、バルプロ酸の代謝のうち、Reye症候群患者ではミトコンドリア内でおこなわれる $\beta$ 酸化だけが完全に消失することも、本疾患におけるミトコン

ドリアの障害が先行していることを証明するものである(4)。

#### 結論

Reye症候群における代謝異常をガスクロマトグラフィー質量分析計を用いて解析した結果、ミトコンドリアに局在する酵素、あるいは酵素系の障害によると考えられる一連の生化学的知見が得られ、本疾患における高アンモニア血症、高乳酸血症およびケトース型ジカルボン酸尿症と低血糖や高脂血症、特有の脂肪肝などもそれによって充分説明し得ることが分った。

#### 文献

1. 松本 勇, 質量分析, 32: 79-96, 1984
2. 松本雅裕, 井上義人, 新家敏弘, 久原とみ子, 松本勇, 竹内誠, 斎藤利徳, 第28回小児代謝研究会抄録, 92-93, 1983; Abstracts of the 31st Annual Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, 497-498, 1983
3. Chalmers, R.A., Lawson, A.M., "Organic Acids in Man", Chapman and Hall Ltd., pp. 350-382, 1982
4. Kuhara, T., Inoue, Y., Matsumoto, M., Shinka, T., Matsumoto, I., Kitamura, K., Fujii, H., Sakura, N., Clin. Chim. Acta, 145: 135-142, 1985



**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



#### 結論

Reye 症候群における代謝異常をガスクロマトグラフィー質量分析計を用いて解析した結果、ミトコンドリアに局在する酵素、あるいは酵素系の障害によると考えられる一連の生化学的知見が得られ、本疾患における高アンモニア血症、高乳酸血症およびケトーシス型ジカルボン酸尿症と低血糖や高脂血症、特有の脂肪肝などもそれによって充分説明し得ることが分った。