

B-16 アスピリンとカルニチン代謝について

研究協力者 楠 智 一 京都府立医科大学 小児科
 共同研究者 幸 道 直 樹・木 崎 善 郎・山 本 徹
 竹 内 義 博・古 川 宣 明 同大小児科
 井 上 文 夫 同大附属小児疾患研究施設内科部門

目的；Reye症候群がアスピリン使用例に認められるとの報告は少なからずあり、何等かの関連が疫学的に示唆されている。一方カルニチンは、全身型欠損症がReye症候群と極めて類似した症状を呈する事からも注目されているが、この代謝的役割は最近では脂質代謝全般に渡っていると考えられている。我々はReye症候群に見られる肝の脂肪変性に注目し、カルニチンとアスピリン投与の関連について基礎的検討を行なった。まずアスピリン投与を受けている患児におけるカルニチン代謝変化、次にアスピリン投与マウスの血中および主要臓器内でのカルニチン濃度変動について、組織学的所見を含めて検討を行なった。

方法；研究対象症例は川崎病罹患児で、冠動脈後遺症のために長期にわたりアスピリンを服用している患児13例と、服用していない患児4例である。血清および尿カルニチンは遊離カルニチン（FC）とアシルカルニチン（AC）に分けて測定した。動物実験はJcl-ICR系雄マウスを使用し、3週齢にて離乳し、4週齢よりサリチル酸100mg/kg/day 7日間連続腹腔内投与した。対照には生食投与群を用いた。カルニチン測定はEngelらの方法で前処置し、McGarryらの方法を一部改変して測定した。血清TGは酵素法、クレアチニンはFolin-Wu法にて測定した。肝バルオキシゾーム（POX）染色はNovikoffの方法によった。

成績；(A) 症例研究；アスピリン投与群（MCLS 1群）の年齢、投与量、期間、非投与群（MCLS 2群）の年齢は表1のごとくである。表2に血清及び尿カルニチン値（mean±SD）を示した。対照は健康3歳児である。血清FCはMCLS 1群で 41.30 ± 7.30 nmole/mlと、対照

の 53.22 ± 6.82 に比べて有意に低値であった。ACには差はなく、従って総カルニチン(TC)もMCLS 1群で低値であった。尿カルニチンはクレアチニン当たりに換算した。FCはMCLS 1群で高い傾向にあったが統計学的に有意ではなかった。

ACは対照が 219.37 ± 100.35 であるのにたいしMCLS 1群では 2286.62 ± 1293.43 と約10倍の高濃度で排泄されていた。

(B) 動物実験結果

1)カルニチン濃度；サリチル酸投与(SA)群は期間内の体重増加がやや悪い傾向にあったが、各臓器別重量には差を認めなかった(表3)。脳、心、肝、血漿の各カルニチン濃度を表4から表7に示した。

心カルニチンは他の臓器に比べて3倍から6倍の高濃度であるが、SA群と対照の2群間には有意差はなかった。FCのTCに占める割合(F/T)は脳で0.49, 0.50と他臓器に比べて低い傾向にあったが、2群間での差は認めていない。血漿カルニチンも同様の結果であった。血漿TGはSA、対照それぞれ 144.5 ± 24.2 , 142.0 ± 8.8 mg/dlと差を認めなかった。

2)肝POX染色；図1左側に対照、右側にSA投与肝電顕像を示す。黒く染色されている

表1 対 象

	年齢(歳)	アスピリン投与量 (mg/kg/day)	投与期間	(n)
MCLS 1群	3.8 ± 2.9	17.1 ± 9.6	2週~8年	(13)
MCLS 2群	6.4 ± 4.1	(-)	(-)	(4)

表2

	Serum Carnitine			(n)
	Free	Acyl	Total	
MCLS 1群	41.30 ± 7.30 ^{**}	21.34 ± 9.30	62.65 ± 13.63 ^{**}	(13)
MCLS 2群	49.94 ± 5.94	19.59 ± 6.44	69.54 ± 10.04	(4)
Control	53.22 ± 6.62	25.04 ± 3.91	78.25 ± 7.56	(10)

nmole/ml
* P < 0.001
** P < 0.01

	Urine Carnitine			(n)
	Free	Acyl	Total	
MCLS 1群	174.13 ± 175.55	2286.62 ± 1293.43 [*]	2460.15 ± 1382.48 [*]	(10)
Control	114.44 ± 61.99	219.37 ± 100.35	333.78 ± 144.89	(9)

(nmole/mg crea.)
* P < 0.001

表3

	SA	Control
体重増加(g/7days)	3.04 ± 0.53	5.25 ± 1.01
臓器重量(g)		
脳	0.333 ± 0.012	0.324 ± 0.011
心	0.131 ± 0.007	0.128 ± 0.009
肝	1.510 ± 0.091	1.645 ± 0.152

のがPOXである。定量化していないがSA群でPOX数が増加している傾向にあった。ミトコンドリアには何ら形態学的変化は認めず、また脂肪滴の存在も認めなかった。図2は強拡大であるがSA群で明らかに増大したPOXを認めた。

3)ミトコンドリアが膨化するとOptical Density(OD)が低下することを利用してYouの方法に従いアスピリン代謝産物のミトコンドリアへの影響をモニターしたのを図3に示した。サリチル酸では濃度を上昇するに従いODの著明な低下を見たがGentisateやSalicylurateではこの変化は認めなかった。

考察：Reye症候群とアスピリンが何等かの関連があることは疫学的に示唆されているが生化学的な因果関係についてはいまだ明確ではない。Reye症候群はミトコンドリアの障害による疾患と考えられている。一方アスピリンは酸化のリン酸化のUncouplerとして知られておりその投与はミトコンドリアβ酸化に影響を与えると思われる。しかしながら今回の吸光度変化からはミトコンドリアの膨化を来すには比較的高濃度のサリチル酸が必要であった。また電顕にて形態学的にミトコンドリア障害を認めない条件下でもPOX増殖作用があることが示された。このことからPOXの増殖はミトコンドリア障害による二次的代償機構によるものでなく、アスピリンの一次的作用によると思われる。POXは近年脂

表4 Carnitine levels in Brain

	Free	Acyl	Total	F/T
SA				
mean	174.32	138.62	312.94	0.50
SD	32.16	61.12	34.47	0.07
Control				
mean	205.30	237.00	442.30	0.49
SD	97.77	158.71	130.38	0.29

nmole/g wet wt

表5 Carnitine levels in Heart

	Free	Acyl	Total	F/T
SA				
mean	1328.47	483.18	1811.65	0.76
SD	296.22	429.30	526.23	0.17
Control				
mean	1105.03	576.45	1681.47	0.66
SD	224.17	220.03	66.93	0.12

nmole/g wet wt

表6 Carnitine levels in Liver

	Free	Acyl	Total	F/T
SA				
mean	335.20	163.55	498.74	0.75
SD	101.66	102.84	57.44	0.13
Control				
mean	292.96	116.52	409.47	0.71
SD	76.03	24.82	60.43	0.10

nmol/g wet wt

表7 Concentration of Plasma Carnitine

	Free	Acyl	Total	F/T
SA				
mean	37.70	9.19	46.88	0.81
SD	5.46	3.93	7.35	0.07
Control				
mean	41.96	16.10	58.01	0.74
SD	2.66	10.08	10.43	0.11

nmol/ml

必要であった。また電顕にて形態学的にミトコンドリア障害を認めない条件下でもPOX増殖作用があることが示された。このことからPOXの増殖はミトコンドリア障害による二次的代償機構によるものでなく、アスピリンの一次的作用によると思われる。POXは近年脂

脂肪酸β酸化が存在が明らかとなり種々の病態との係わりが注目されている。POX におけるβ酸化そのものは一般にカルニチン非依存性であるが、POX内には中、短鎖のCarnitine

Acyltransferaseが存在する事や薬剤の誘導により同酵素活性が亢進する事などからShorteningされたAcyl-CoAがPOXからミトコンドリアへ移動する際にはカルニチンが関与している事が想定されている。カルニチンの主な役割はミトコンドリア内の長鎖脂肪酸のβ酸化におけるCarrierとしてであるが、その他臓器内のAcyl-CoA/Co-Aの調節や上述した作用など脂質代謝全般にかかわっていると考えられている。アスピリンを服用している川崎病罹患児の血清、尿カルニチンの検討から

図1

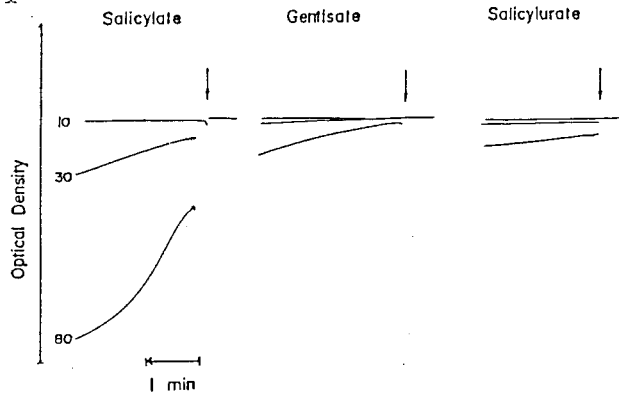


図2

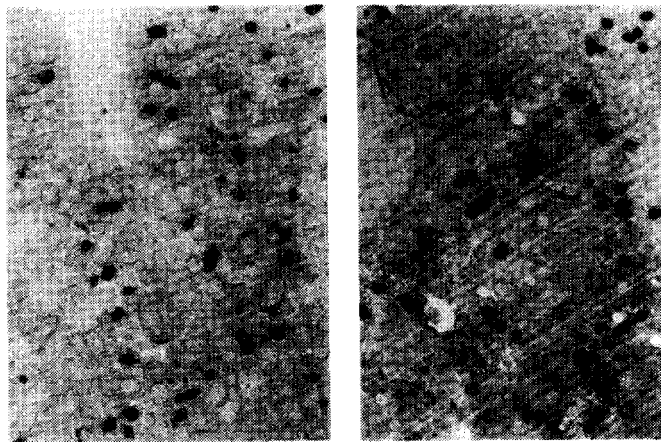
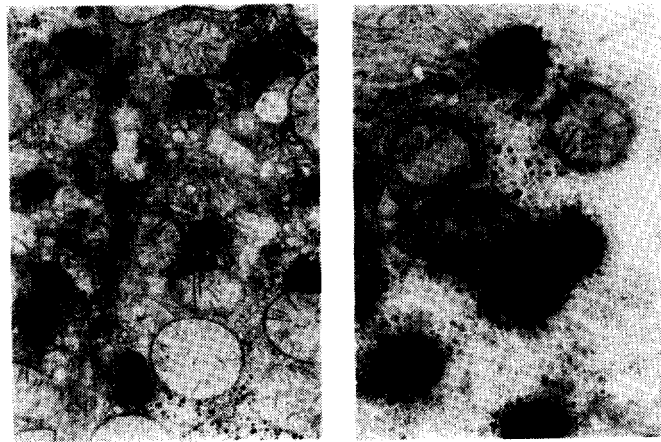


図3



は生体内でカルニチンの需要又は消費の亢進が起こっていると考えられた。しかしながら今回行なった動物実験ではサリチル酸 7日間の投与では肝電顕にてPOXの増大などの変化は認められたもののミトコンドリアには変化なく又各主要臓器内カルニチン濃度にも差を認め

なかつた。アスピリンの経口投与でミトコンドリアおよびPOXの β 酸化が共に亢進し血清や肝のTGが低下したとの報告もあるが我々の結果では血清TGにも差を認めなかつた。従って現時点では表8のごとくアスピリンの投与条件により引き起こされる代謝変化を整理して考える必要があると思われる。すなわちアスピリン少量短期投与では、これが今回我々が行なった実験に匹敵すると思われるが、ミトコンドリア障害はなく軽度のPOX増殖のみでこれはミトコンドリアの処理能力内であるためにカルニチン代謝には大きな変化がない。また症例研究の結果から、投与が長期にわたるとPOXの増加が益々進み生体でのカルニチン需要が増しACの増加、過剰排泄が起こって来る事が考えられる。さらに大量投与では却ってミトコンドリアへの直接の障害から β 酸化が低下するがこの際POXはどのようなのかは現在のところ不明である。

Reye症候群では血清FCの低下や尿Short-chain ACの増加などのカルニチン代謝変動の報告があるがPOXについては十分な検討がなされていない。アスピリン投与によりカルニチン代謝に変化をきたす可能性があること、またReye症候群においてカルニチン代謝変動が示唆されることなどからアスピリンの長期投与が生体にReye症候群の準備状態を作っている可能性は否定できない。しかしながらアスピリンは今日広く使用されており感染などの因子が関与したとしてもこれらの要因のみでReye症候群がひき起こされるとは考えにくくReye症候群の患児では正常児とは異なった代謝系の素因が存在しているのではないかとと思われる。

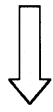
ヒトにおけるアスピリンの投与量がマウスではどれくらいなのか、投与期間はどうか、など設定しなければならない問題が存在するが、我々は今後もミトコンドリア、POXの両organelleそれぞれに焦点をあてアスピリンの作用を生化学、形態の両面から検討していきたいと考えている。

表8 アスピリン投与の影響

	アスピリン投与		
	少量短期	少量長期	1回大量
ミトコンドリア β 酸化	→	→	↓
ペルオキシゾーム β 酸化	↑	↑↑	?
カルニチン代謝変化	→	↑	?

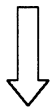
文献

1. American Academy of Pediatrics Committee on Infectious Disease: Aspirin and Reyes Syndrome. *Pediatrics*, 69, 810-812, 1982
2. Chapoy, P.R., et al; Systemic carnitine deficiency-A treatable inherited lipid storage disease presentig as Reye Syndrome, *New Eng. J. of Med.*, 303, 24, 1389-1394, 1980
3. Engel, A.G., et al; Primary systemic carnitine deficiency. II Renal handling of carnitine, *Neurology(Ny)*, 31, 819-825, 1981
4. McGarry, J.D. and Foster, D.W.; An improved and simplified radioisotopic assay for the determination of free and esterified carnitine, *J. Lipid Res.*, 17, 277, 1976
5. Novikoff, A.B., et al; Visualization of peroxisomes(microbodies) and mitochondria with diaminobenzidine, *J. Histochemistry Cytochemistry*, 17, 10, 675-680, 1969
6. You, K.; Salicylate and mitochondrial injury in Reye syndrome, *Science*, 221, 8, 163-165, 1983
7. Bieber, L.L., et al; Possible function of short-chain and medium-chain carnitine acyltransferase, *Federation Proceeding*, 41, 12, 2858-2862, 1982
8. 須我哲弥、堀江修一；ベルオキシゾームと疾患、代謝、20, 9, 1117-1127, 1983
9. Hidemi Ishii and Tetsuya Suga; Clofibrate-like effect of acetylsalicylic acid on peroxisomes and on hepatic and serum triglyceride levels, *Biochemical Pharmacology*, 28, 2829-2833, 1979



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;Reye 症候群がアスピリン使用例に認められるとの報告は少なからずあり、何等かの関連が疫学的に示唆されている。一方カルニチンは、全身型欠損症が Reye 症候群と極めて類似した症状を呈する事からも注目されているが、この代謝的役割は最近では脂質代謝全般に渡っていると考えられている。我々は Reye 症候群に見られる肝の脂肪変性に注目し、カルニチンとアスピリン投与の関連について基礎的検討を行なった。まずアスピリン投与を受けている患児におけるカルニチン代謝変化、次にアスピリン投与マウスの血中および主要臓器内でのカルニチン濃度変動について、組織学的所見を含めて検討を行なった。