

母体の高フェニールアラニン血症が 胎仔の生後のミエリン形成に及ぼす影響

島田 司巳, 大矢 紀昭, 山脇 保, 笹原 彰子

要約 これまで母体の高フェニールアラニン(phe)血症が、胎仔の生後のミエリン形成に及ぼす影響について、ミエリンの指標酵素である 2', 3'-cyclic nucleotide 3'-phosphodiesterase (CNP) 活性につき検討してきた。その結果、実験的高phe血症マウスより出生した仔マウスでは、日令28付近で一度有意差の消失する時期があるものの、ミエリン形成のほぼ完了する日令56まで、大脳、脳幹、小脳のいずれの部位においてもCNP比活性の低下が認められ、ミエリン形成の障害されることが明らかとなった。そこで、今回は、さらにミエリンの質的異常を検討するため、myelin subfractionsの割合および各subfractionの脂質構成について調べた。その結果、日令56の胎生期高phe血症群で減少していたミエリンはmyelin subfraction別にみると、成熟型ミエリンとされているlight myelin subfractionであった。一方、未熟型ミエリンとされているheavy myelin subfractionの蛋白量には変化がなかったことより、胎生期高phe血症のミエリンに対する影響は、未熟型より成熟型へのミエリンの成熟障害にあることが示唆された。また、胎生期高phe血症群では、heavy myelin subfractionにおいて不飽和脂肪酸の飽和脂肪酸に対する比(U/S比)の減少がみられ、胎生期高phe血症が不飽和脂肪酸の脳内での不足をひきおこすと考えられ、不飽和脂肪酸の少ない質的に異常なheavy myelinはlight myelinへと成熟できず、最終的にミエリン形成障害にいたると考えられた。

見出し語：胎生期高phe血症，ミエリン形成，light myelin，heavy myelin

研究方法 生後3週のICR/JCL系雌マウスを購入し、約1週間普通飼料にて飼育した後、実験群、対照群に分けた。実験群は、6%pheおよび0.12%p-chlorophenylalanine添加飼料で1ヵ月以上飼育し、慢性的に高phe血症としてから交配し、その後も出産までは同様の特殊飼料にて飼育した母獣より出生した仔である(胎生期高phe血症群)。

対照群は、同様の期間、普通飼料にて飼育したマウスより出生した仔である。

各群の仔マウスを日令28および56に深麻酔下で屠殺し、全脳を摘出し、この脳よりNortonらの方法¹⁾でミエリン分画を得た。これをさらにMatthieuらの方法²⁾でlightおよびheavy myelin subfractionにわけ、各々のsubfractionについて、Lowry法³⁾で蛋白量を測定し、また脂質構成を検討した。脂質は、Blighらの方法⁴⁾で抽出後、薄層クロマトグラフィ⁵⁾⁶⁾にて分け、燐脂質、コレステロール・遊離脂肪酸について分析した。メタノリシス後、各脂肪酸のメチルエステルをガスクロマトグラフィで定量し、U/S比を算出した。燐脂質定量には、Bartrett法⁷⁾、コレステロール定量⁸⁾には酵素法を用いた。

結果 全脳のミエリン分画の蛋白量は、実験群、対照群で日令28では差はなく、日令56ではじめて実験群が有意に低値となった(Table 1)。しかし、light myelin subfractionでは、日令28ですでに差がみられ、日令28、56で各々対象群の76%および78%まで減少していた。一方、heavy myelin subfractionでは差は認めなかった。

ミエリン分画の脂質は、light myelin subfractionにおいて、各脂質含量とも実験群において、減少傾向を示したが、U/S比には有意な変化はなかった(Table 2)。Heavy myelin subfractionでは、ホスファチジルエタノールアミンおよびスフィンゴミエリン分画のU/S比が日令56の実験群で有意に低下し、他の燐脂質分画や遊離脂肪酸でも低下傾向がみられた(Table 3)。

考察 マウスにおいて胎生期高phe血症が脳のミエリン形成におよぼす影響を、脳のミエリン形成がほぼ完了する日令56まで観察した。CNP活性の低下が一時期を除き持続していることより、ミエリン形成の障害されていることが判明した。種々の動物モデルにおいて、ミエリン形成と学習能力には正の相関関係がみられるという報告⁹⁾より、これがmaternal PKUの精神発達遅滞の大きな要因になっていると考えられた。

胎生期高phe血症群におけるミエリン分画の蛋白量減少は、subfraction別にみるとlight myelin subfractionにおける減少を反映しており、lightおよびheavy myelin subfractionが各々、成熟型、未熟型ミエリンとみなされている¹⁰⁾ことから、胎生期高phe血症のミエリンに対する影響は、未熟型から成熟型への成熟障害にあると考えられた。

また、胎生期高phe血症群のheavy myelin subfractionにおけるU/S比の減少は、PKU患者の脳や、実験的高phe血症ラットの脳における報告¹¹⁾¹²⁾とも一致した。即ち、胎生期、生後とに関らず、高phe血症が不飽和脂肪酸の脳内での不足をひきおこすと考えられ、不飽和脂肪酸の少ない質的に異常なheavy myelinはlight myelinへと成熟することができず、最終的にミエリン形成障害にいたると考えられた。

文献

- 1) Norton, WT. et al : J. Neurochem. 21, 749, 1973
- 2) Matthieu, JM. et al : J. Neurochem. 30, 783, 1978
- 3) Lowry, OH. et al : J. Biol. Chem. 193,

- 265, 1951
- 4) Bligh, EG. et al : Can.J.Biochem. Physiol. 37, 911, 1959
- 5) Broekhuysse, RM. : Biochim. Biophys. Acta, 280, 637, 1972
- 6) Tanaka, K. et al : Neurology, 36, 791, 1986
- 7) Bartrett, GR. : J.Biol. Chem, 234, 466, 1959
- 8) Allain, CC. et al : Clin. Chem., 20, 470,
- 1974
- 9) 塚田裕三 : 蛋白質・核酸・酵素 22, 833, 1977
- 10) Hofteig, JH. et al : Life Sci., 18, 543, 1976
- 11) Jhonson, RC. et al : Arch. Neurol, 34, 288, 1977
- 12) Jhonson, RC. et al : Neurochem. Res, 5, 709, 1980

Table 1. Protein contents in myelin fraction (mg/brain)

Group	Day	Light myelin	Heavy myelin	Total myelin
E	28	0.694±0.149*	0.363±0.182	1.055±0.293
C	28	0.908±0.140	0.204±0.070	1.112±0.141
E	56	0.880±0.209*	0.459±0.138	1.272±0.188**
C	56	1.121±0.156	0.434±0.111	1.668±0.098

E : experimental group, C : control group
Significant difference between groups E and C. *:P<0.05, **:P<0.01

Table 2. Lipids composition in light myelin subfraction

Group	Day	Cholesterol _l	PE _l (U/S)	PI+PS _l (U/S)	PC _l (U/S)	Sph _l (U/S)	FFA (U/S)
E	28	223.9±45.4	5.5±1.0* (0.39±0.15)	4.3±1.2 (1.23±0.81)	6.3±2.4 (0.23±0.07)	1.5±0.7 (0.15±0.08)	ND (0.34±0.16)
C	28	263.4±50.9	10.2±0.9 (0.40±0.16)	10.3±4.4 (0.94±0.49)	14.6±5.7 (0.19±0.08)	2.4±0.5 (0.15±0.07)	ND (0.33±0.20)
E	56	224.1±53.7	43.6±2.3 (0.79±0.21)	12.0±1.2 (0.54±0.13)	21.9±1.9 (0.32±0.15)	3.2±0.6 (0.02±0.01)	ND (0.37±0.32)
C	56	298.9±78.6	37.7±5.1 (0.97±0.30)	13.4±1.4 (0.87±0.02)	22.9±2.4 (0.67±0.32)	4.4±1.9 (0.42±0.14)	ND (0.05±0.02)

Table 3. Lipids composition in heavy myelin subfraction

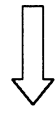
Group	Day	Cholesterol _h	PE _h (U/S)	PI+PS _h (U/S)	PC _h (U/S)	Sph _h (U/S)	FFA (U/S)
E	28	69.6±4.8	3.4±1.4 (0.08±0.06)	ND	1.7±0.5 (0.19±0.08)	ND	ND (0.43±0.11)
C	28	77.8±4.6	5.5±1.6 (0.75±0.45)	ND	2.6±0.7 (0.39±0.12)	ND	ND (0.69±0.17)
E	56	120.2±89.5	5.8±0.6 (0.08±0.05)*	3.1±0.5 (0.17±0.09)	4.8±0.6 (0.11±0.08)	0.5±0.06 (0.01±0.004)*	ND (0.17±0.07)
C	56	117.8±67.0	6.4±0.4 (0.25±0.05)	3.8±0.3 (0.24±0.10)	6.1±0.8 (0.17±0.07)	0.8±0.41 (0.07±0.009)	ND (0.41±0.18)

E : experimental group, C : control group
PE : phesphatidylethanolamine, PS+PI : phosphatidylserine plus inositol phosphatide, PC : phosphatidylcholine, Sph : sphingomyelin, FFA : free fatty acid
_l : µg/light or heavy myelin subfraction/brain
_h : µg/light or heavy myelin subfraction/brain
Significant difference between groups E and C. *:P<0.05



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



要約 これまで母体の高フェニールアラニン (phe)血症が、胎仔の生後のミエリン形成に及ぼす影響について、ミエリンの指標酵素である 2',3'-cyclic nucleotide 3'-phosphodiesterase (CNP)活性につき検討してきた。その結果、実験的高 phe 血症マウスより出生した仔マウスでは、日令 28 付近で一度有意差の消失する時期があるものの、ミエリン形成のほぼ完了する日令 56 まで、大脳、脳幹、小脳のいずれの部位においても CNP 比活性の低下が認められ、ミエリン形成の障害されることが明らかとなった。そこで、今回は、さらにミエリンの質的異常を検討するため、myelin subfractions の割合および各 subfraction の脂質構成について調べた。その結果、日令 56 の胎生期高 phe 血症群で減少していたミエリンは myelin subfraction 別にみると、成熟型ミエリンとされている light myelin subfraction であった。一方、未熟型ミエリンとされている heavy myelin subfraction の蛋白量には変化がなかったことより、胎生期高 phe 血症のミエリンに対する影響は、未熟型より成熟型へのミエリンの成熟障害にあることが示唆された。また、胎生期高 phe 血症群では、heavy myelin subfraction において不飽和脂肪酸の飽和脂肪酸に対する比 (U/S 比) の減少がみられ、胎生期高 phe 血症が不飽和脂肪酸の脳内での不足をひきおこすと考えられ、不飽和脂肪酸の少ない質的に異常な heavy myelin は light myelin へと成熟できず、最終的にミエリン形成障害にいたると考えられた。