

ビオチンに関する異常

マルチプルカルボキシラーゼ欠損症の診断法について

和田義郎, 小林正紀, 一木 貴
浅井清文

要約: Multiple carboxylase 欠損症の 2 例の診断上の問題点について報告した。1 例は、無症状のうち血中ロイシンの高値で見つかった新生児例で確定診断に皮膚線維芽細胞を用いた。その時ビオチンを含有しない培養液で細胞培養する必要があった。他の 1 例は、6 カ月の女児で尿中有機酸分析ではプロピオン酸血症と化学診断されたが、剖検時の肝の酵素活性測定では本症と診断された。前者はビオチン投与で軽快したが、後者は投与されず亡くなった。ビオチンは簡単に入手できかつ本症に有効であるため本症のスクリーニングは必要であると思われた。

見出し語: Multiple carboxylase 欠損症, 皮膚線維芽細胞, プロピオン酸血症

ビオチンは、水溶性ビタミンの一種で、その欠乏は皮膚炎、萎縮性舌炎、知覚過敏、疲労、食欲不振などがあり、生卵の白身を長期に摂取することにより起きうる。乳児では脂

漏性湿疹、脱毛が特徴的な症状で完全静脈栄養時、ビオチンの補給を怠ると生じる¹⁾。一方、ビオチンは図 1 のように 4 つのビオチン依存性 carboxylase の補酵素として働き、その

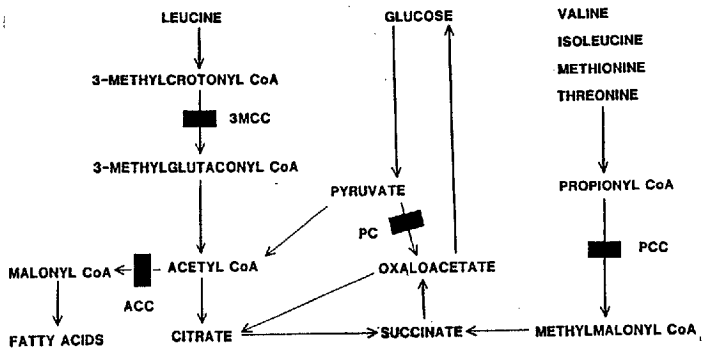


図 1. Metabolic pathway involved in the carboxylase deficiencies

3-MCC: 3-methylcrotonyl CoA carboxylase PC: pyruvate carboxylase
PCC: propionyl CoA carboxylase ACC: acetyl CoA carboxylase

名古屋市立大学医学部小児科学教室

Department of Pediatrics, Nagoya City University Medical School

うち3つはミトコンドリア内に存在する。それらの酵素の活性低下に起因する先天性代謝異常症として multiple carboxylase 欠損症が知られている²⁾。multiple carboxylase 欠損症は、臨床的に新生児発症型 (neonatal form) と遅発型 (late-onset form) の2型あり、前者は holocarboxylase synthetase の障害である²⁾。後者はピオチニダーゼの欠損と証明されており、昨年の本研究班ではそのスクリーニングについて報告した³⁾。今回は非定型的な新生児発症型2例の診断上の問題点について報告する。

症例1 (22日, 男児): 在胎40週, 出生体重3124g, 新生児マススクリーニングで血中ロイシンの高値を指摘され, 生後22日に精査目的で千葉大学小児科を受診した。その時の検査で血中ロイシン 4.76 mg/dl (1.67 ± 0.70), イソロイシン 2.61 mg/dl (0.93 ± 0.39), バリン 4.78 mg/dl (2.69 ± 0.78) と2~3倍の高値を示した。また血中カルニチンの低値, アシルカルニチンの高値を示したため尿中有機酸分析を施行したところ 3-methylcrotonyl-glycinuria と判明した。ピオチン投与により異常有機酸は減少した。生後1カ月大阪市立保健センターへ転院し, 生後6カ月皮膚線維芽細胞による酵素活性を測定した。なお血清ピオチニダーゼ活性は正常であった。

方法 (図2): 皮膚線維芽細胞を 25 cm² フラスコにて培養した。培養液は日水イーグル MEM に 10% FCS を加えたものでピオチンは, 20 µg/l 含有されている。confluent に達したところで 75 cm² フラスコに移した。その培養液は Gibco MEM Eagle に 10% FCS を加えピオチン濃度を 200 µg/l, 20 µg/l, 0 µg/l とそれぞれ3種類作製した⁴⁾。それ

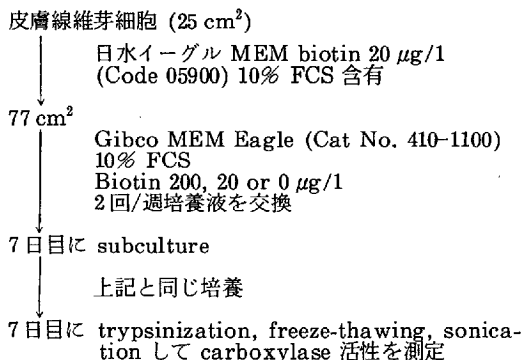


図2. Multiple carboxylase 欠損症における皮膚線維芽細胞の培養方法

ぞれ培養液を1週間に2回交換した。subculture 後, 同様のことを行い confluent に達したところでトリプシン処理, freeze-thawing, sonication を行い Atkin らの方法にしたがい3種の carboxylase 活性を測定した⁵⁾。

結果 (表1): 表1のようにピオチンの入っていない培養液で培養した皮膚線維芽細胞のみ, 3つの carboxylase 活性が6~22% と低下していた。

症例2 (6カ月, 女児): 生直後より活動性に乏しく哺乳不良であった。生後2週目より黄疸増強し生後16日目に呼吸障害, 痙攣を認めた。そのときの血中アンモニアは 400 µg/dl であった。人工呼吸にて一般状態が改善したが, 母乳再開により再びアンモニア値が上昇した。高アンモニア血症の疑いで高アンモニア血症用ミルク (明治 7925-A) と安息香酸ナトリウムの投与を受けていた。尿中有機酸分析ではプロピオン酸血症の化学診断がなされた。しかし生後6カ月, 呼吸障害, 代謝性酸血症, 白血球減少, 血小板減少を来し死亡した。

方法・結果 (表2): 本例では皮膚線維芽細胞が得られなく -70°C に保存してあった剖検肝にて3つの carboxylase 活性を測定

表 1. Enzyme Activities of Biotin-Dependent Carboxylase in Fibroblasts with Addition of Biotin to Culture Medium (pmol/min/mg protein)

| | Addition of Biotin to culture medium | Patient 1 | Control | |
|---|--------------------------------------|-----------|---------|--------------|
| Pyruvate carboxylase (PC) | 0 | 34 | 163 | 106±35 (n=6) |
| | 20 µg/l | 456 | — | |
| | 200 µg/l | 283 | 194 | |
| Propionyl CoA carboxylase (PCC) | 0 | 14 | 65 | 70±25 (n=6) |
| | 20 µg/l | 126 | — | |
| | 20 µg/l | 107 | 79 | |
| 3-methylcrotonyl CoA carboxylase (3MCC) | 0 | 0.5 | 8.9 | |
| | 20 µg/l | 6.8 | — | |
| | 200 µg/l | 16.5 | 6.5 | |

表 2. Enzymic Activities of Biotin-Dependent Carboxylase and Ornithine Transcarbamylase in Liver

| | Patient 2 | PCC def. | Control |
|---|-----------|----------|-------------------|
| Pyruvate carboxylase (PC) | 0.035 | 3.28 | 2.44±1.58 (n=5) |
| Propionyl CoA carboxylase (PCC) | 0.003 | 0.028 | 2.94±0.79 (n=4) |
| 3-methylcrotonyl CoA carboxylase (3MCC) | 0 | 0.017 | 0.038±0.074 (n=3) |
| Ornithine transcarbamylase (OTC) | 344 | 274 | 371±118 (n=6) |

nmol/min/mg protein

した。患児では3つの carboxylase とも活性値が低下していた。一方、同様に保存してあったプロピオン酸血症患児の肝では propionyl CoA carboxylase 活性のみ低下していた。またミトコンドリア内に存在する ornithine transcarbamylase 活性は、両症例とも正常であった。

考案：第1例は、新生児期にガスリー検査のロイシン高値で見つかり尿中有機酸分析で無症状であったが本症が疑われた。確定診断は皮膚線維芽細胞で行った。本症の確定診断を行うには、ビオチン-free の培養液で皮膚線維芽細胞を培養し3つの carboxylase 活性を測定する必要があった。一般に使用する MEM 培地にはビオチンが 20 µg/l 含有され

ているため本症の carboxylase 活性測定には注意する必要がある。

第2例は尿中有機酸分析ではプロピオン酸血症と診断されたが、肝の酵素活性測定では multiple carboxylase 欠損症と結果が異なった。臓器の carboxylase 活性は長期保存により低下するが、同様の条件で同期間保存されたプロピオン酸血症患児の肝では, propionyl CoA carboxylase 活性のみ低下し他の2つの carboxylase 活性は、正常だったことより本症は multiple carboxylase 欠損症の可能性が高い。プロピオン酸血症と化学診断されても multiple carboxylase 欠損症が隠れていることもあり得るので、たとえプロピオン酸血症と診断された場合もビオチンの投

与を早期に行うことが必要と思われた。ビオチンは現在、薬価収載されていて簡単に入手できる薬剤でありしかも経口、注射剤ともある。本症およびビオチン欠乏症の改善に多くの症例で効果がある^{6,7)}ためビオチン依存性酵素異常症のスクリーニングは必要であると思われる。

文 献

- 1) Kien CL, et al: Biotin-responsive *in vivo* carboxylase deficiency in two sibling with secretory diarrhea receiving total parenteral nutrition. *J Pediatr*, **99**: 546-550, 1981
- 2) Wolf B and Feldman GL: The biotin-dependent carboxylase deficiencies. *Am J Hum Genet*, **34**: 699-716, 1982
- 3) 和田義郎 他: 未熟児・新生児の血清ビオチン欠乏について. 厚生省心身障害研究 マスクリーニングに関する研究 昭和 61 年度研究報告書. 178-181, 1986
- 4) Marsac C, et al: Biotin dependent carboxylase activities in normal human and muticarboxylase deficient patient fibroblasts: relationship to the biotin content of the culture medium. *Clin Chim Acta*, **229**: 119-128, 1983
- 5) Atkin BM, et al: Pyruvate carboxylase deficiency and lactic acidosis in a retarded child without Leigh's disease. *Pediatr Res*, **13**: 109-116, 1979
- 6) Thoene J, et al: Biotin-responsive carboxylase deficiency associated with subnormal plasma and urinary biotin. *N Engl J Med*, **304**: 817-820, 1981
- 7) Wolf B, et al: Phenotypic variation in biotinidase deficiency. *J Pediatr*, **103**: 233-237, 1983



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:Multiple carboxylase 欠損症の2例の診断上の問題点について報告した。1例は、無症状のうち血中ロイシンの高値で見つかった新生児例で確定診断に皮膚線維芽細胞を用いた。その時ビオチンを含有しない培養液で細胞培養する必要があった。他の1例は、6カ月の女児で尿中有機酸分析ではプロピオン酸血症と化学診断されたが、剖検時の肝の酵素活性測定では本症と診断された。前者はビオチン投与で軽快したが、後者は投与されず亡くなった。ビオチンは簡単に入手できかつ本症に有効であるため本症のスクリーニングは必要であると思われた。