

Maternal PKUの治療に関する実験的研究
(分担研究：現行マススクリーニングにより発見され
た患児の管理と長期予後に関する研究)

川村智行*¹、周山逸人*¹、大浦敏明*²

要約：Maternal PKUの治療は、妊娠前より、母体にPhenylalanine (Phe)制限食を行うことが原則であるが、高Phe血症において見られる他のアミノ酸の減少を、それらのアミノ酸を母体に投与することによって補う必要があるという考え方がある¹⁾²⁾。今回我々は、maternal PKUにおいてこれらのアミノ酸の投与が、その胎児にどのような影響を及ぼすのかを調べるために、Phe負荷妊娠ラットに他のアミノ酸やブドウ糖、インスリンを投与して、母鼠とその胎仔の脳、肝臓、血清への^[14C]Leucineの取り込みについて検討した。

Phe負荷により、母鼠脳、胎仔脳、胎仔肝臓、胎仔血清において^[14C]Leucineの取り込みが減少するが、ブドウ糖、Tyrosineの投与により胎仔血清、胎仔肝臓で改善を認めた。インスリンやMethionine、Lysineの投与では改善を認めず、Histidineの投与ではかえって悪化を認めた。

母体の高Phe血症における胎仔の血清、肝臓での^[14C]Leucineの取り込みの減少が、ブドウ糖、Tyrosineの投与により改善したことは、maternal PKUにおいてブドウ糖やTyrosineの投与が、胎盤でのアミノ酸輸送に好影響を及ぼす可能性が考えられた。しかし、母鼠脳、胎仔脳において改善を認めなかったことは、投与量など今後検討する必要があると思われた。

見出し語：maternal PKU、glucose、^[14C]Leucine uptake

方法：体重200g程度のSD系ラットを妊娠させ妊娠第0日目より3.5%のL-

Phenylalanine (Phe)含有飼料により飼育した。妊娠第20日目に、二群に分け（この二群は妊娠ラットの腹腔内投与が手技的に困難であることから静注に変更したもので比較を目的に分けたのではない）、一群は3mmol/

*¹大阪市立大学医学部小児科学教室

*²大阪市立更生療育センター

kg b.w. のPhe と0.04 μ Ci/g b.w. の[U- 14 C]Leucine (336mCi/mmol) を他のアミノ酸やブドウ糖、インスリンなどと同時に静脈内投与し、1時間後開腹断頭し、母鼠と胎仔それぞれの血清、肝臓、脳を採取した。もう一群は、同量のPhe を腹腔内投与し、30分後同量の [14 C]Leucine と他の同時投与物質を静脈注射した。更に30分後に断頭し、同様に各臓器を採取した。各臓器は、2-4 倍量 (v/w) の蒸留水を加え、回転後遠心し、上清の一部分にシチ液を加えて液体シンチレーションカウンターで放射能活性を測定した。また別の一部分はTCA 溶液を加えて遠心しその上清を酸可溶性分画、沈渣を蛋白分画 (1N NaOHで溶解) として放射能活性を測定した。

なお、コントロール群として標準飼料で飼育した妊娠ラットに [14 C]Leucine を投与し、同時投与物質の代わりに生食を投与したものを用いた。放射能活性は、各飼料の蛋白量をLowry 法³⁾で測定し蛋白1g 当たりの取り込み量 (dpm/g protein) で比較した。結果：1) 標準飼料群と3.5% Phe 添加飼料群の母鼠とその胎仔の平均体重、胎仔匹数を比較した。(図1)

胎仔数に差はなかったが、Phe 添加飼料群の母鼠とその胎仔の体重は有意に低下していた。

2) この両群の各臓器についての [14 C]Leucine 取り込みを比較した。

(図2) 両群に差は認めなかった。

3) 各臓器への [14 C]Leucine の取り込みをコントロール群、Phe 負荷群、Phe

と他の物質同時投与群で比較した。

(図3) Phe 単独投与では、母鼠の脳、胎仔の血清、肝臓、脳において [14 C]Leucine の取り込みは著明に低下するが、ブドウ糖、Tyrosine の投与で胎仔の血清と肝臓における取り込みの改善が見られた。この改善は、母鼠、胎仔の脳では認められなかった。また、他のアミノ酸やインスリンの投与では改善なく、Histidine 投与では逆に悪化を認めた。

考察：maternal PKU において、胎児に障害を及ぼす原因として、高Phe 血症は、他のアミノ酸の胎児への移行を競合的に阻害し、アミノ酸の不均衡が蛋白合成障害を惹起するためと考えられている^{4) 5)}。

今回我々は、妊娠ラットとその胎仔の各臓器における [14 C]Leucine の取り込みについて検討し、高Phe 血症による取り込みの低下に対する、他のアミノ酸やブドウ糖、インスリン投与による影響を見てきた。

ブドウ糖投与により、胎仔の血清、肝臓において、 [14 C]Leucine の取り込みの改善が見られた。この改善はインスリンでは見られず、その機序については不明である。母鼠、胎仔の脳では改善を認めなかったことより、血液-脳関門と胎盤における、アミノ酸輸送機構の違いを示していると考えられる。また、Tyrosine 投与により [14 C]Leucine の取り込みに若干の改善、Histidine 投与により悪化を認めた。これは、投与アミノ酸の用量に関係があるかも知れないが、高

Phe血症において、他の1つのアミノ酸を増加させることは、アミノ酸の不均衡を増強させ、結果として $[^{14}C]$ Leucineの取り込みが低下した可能性が考えられる。今回、各アミノ酸血中濃度、血糖値については測定しておらず、各数値の有意差についても、検体数が少ないため検討できなかった。今後、検体数を増やし更に検討を続けていきたいと考えている。

文献：1) Pratt, O.E.: A new approach to the treatment of phenylketonuria. J. ment. Defic. Res. 24, 203, 1980

2) Berry, H.K., et al: New approach to treatment of phenyl-ketonuria. In: P. Mittler,

Ed., Research to Practice in Mental Retardation. Fourth International Congress of the LASSMD, vol. III, Biochemical Aspect. pp. 229-239 (University park press, Baltimore, Md, 1977)

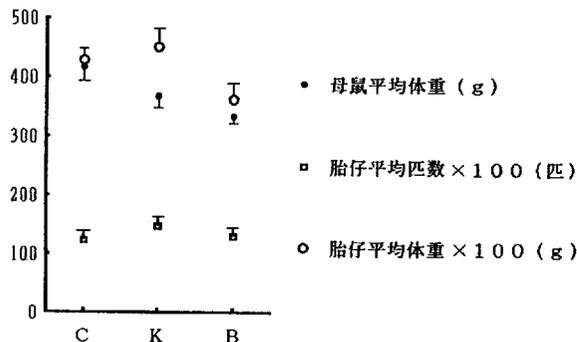
3) Lowry, O., et al: Protein measurement with the forin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193, 265, 1951

4) Suyama, I., et al: Fetal heart malformations in experimental pregnant rats. Cong, Anom. 29, 15, 1989

5) Okano, Y., Suyama, I., et al: Effect of phenylalanine loading on protein synthesis in fetal heart and brain of rat. J. Inherited Metb. Dis. 9, 15, 1986

図 1

各種の母鼠及び胎仔の平均体重と胎仔平均匹数



C: 標準飼料の自家受精妊娠母鼠 (n=6)

K: 標準飼料の直接購入妊娠母鼠 (n=5)

B: 3.5% Phe含有飼料の自家受精妊娠母鼠 (n=13)

図2

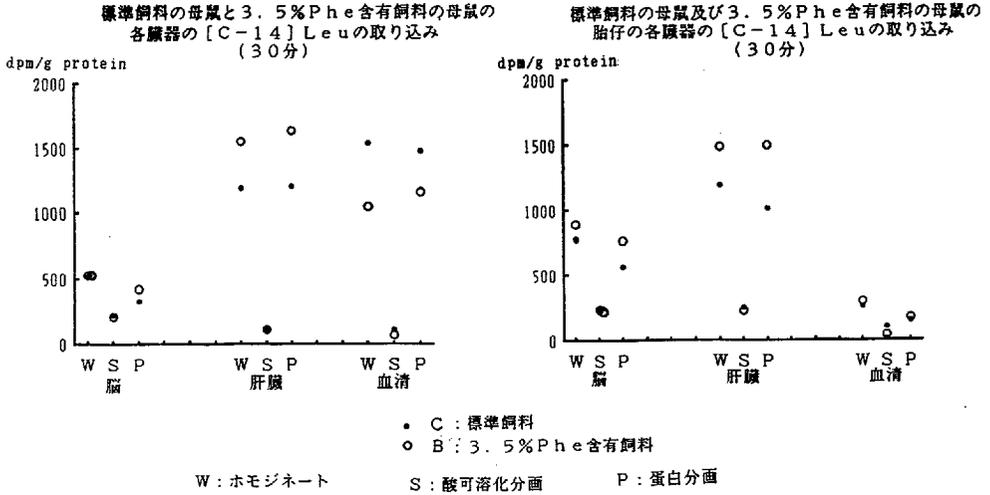


図3-1 母鼠各臓器 (Phe腹腔内投与群)

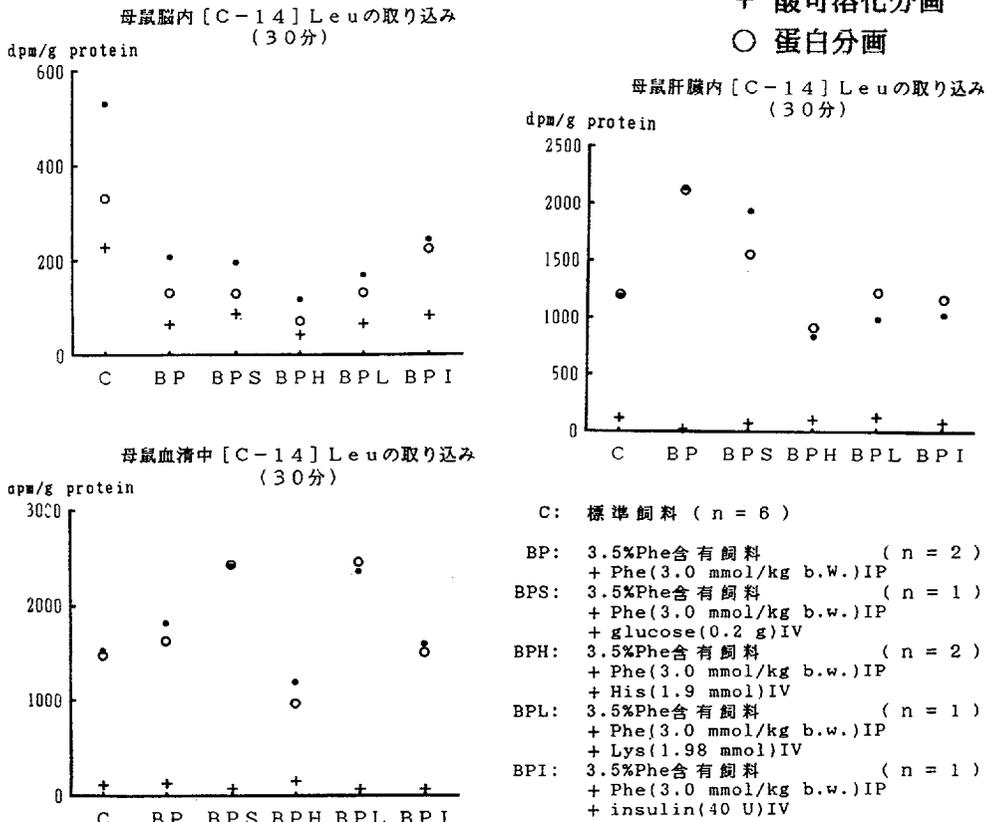
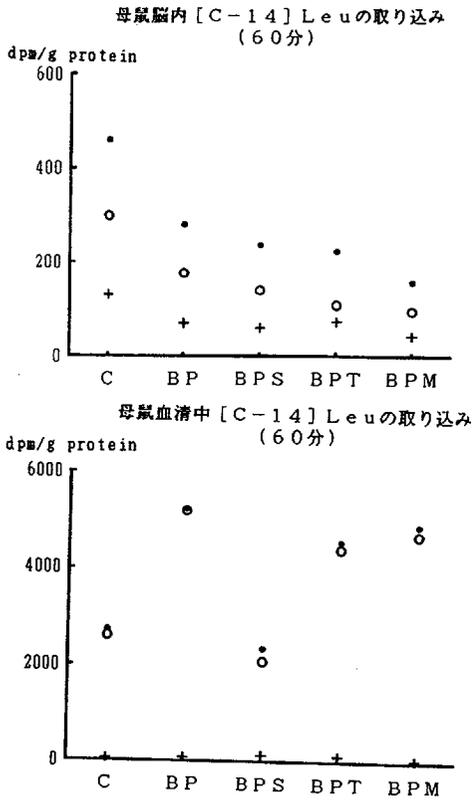
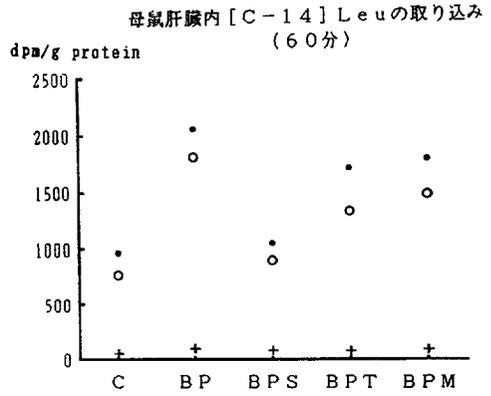


図3-2 母鼠各臓器 (Phe静注群)



● ホモジネート
+ 酸可溶化分画
○ 蛋白分画

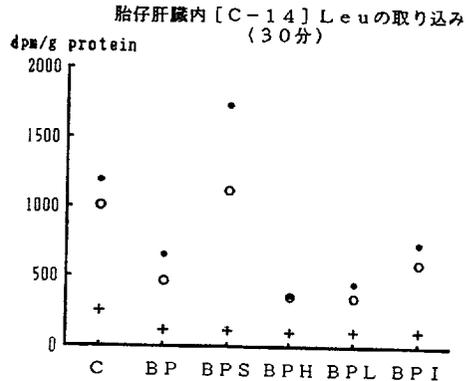
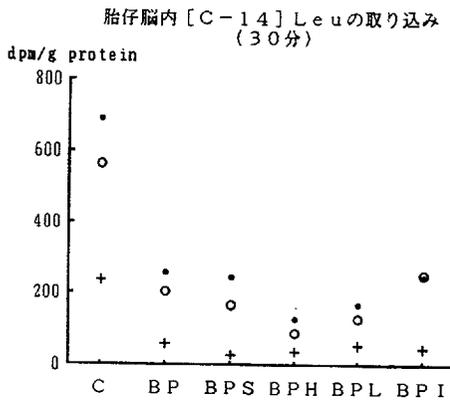


C: 標準飼料 (n = 1)

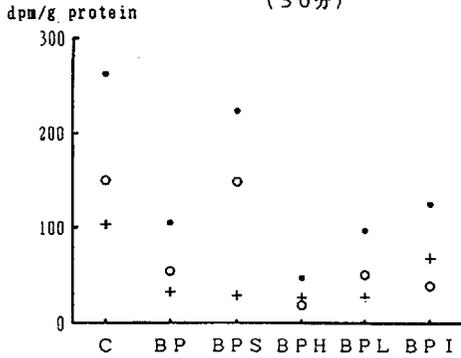
BP: 3.5%Phe含有飼料 (n = 1)
+ Phe(3.0 mmol/kg b.w.)IV
BPS: 3.5%Phe含有飼料 (n = 3)
+ Phe(3.0 mmol/kg b.w.)IV
+ glucose(0.4 g)IV
BPT: 3.5%Phe含有飼料 (n = 2)
+ Phe(3.0 mmol/kg b.w.)IV
+ Tyr(0.07 mmol/kg b.w.)IV
BPM: 3.5%Phe含有飼料 (n = 1)
+ Phe(3.0 mmol/kg b.w.)IV
+ Met(2.8 mmol/kg b.w.)IV

● ホモジネート
+ 酸可溶化分画
○ 蛋白分画

図3-3 胎仔各臓器 (Phe腹腔内投与群)



胎仔血清中 [C-14] Leu の取り込み (30分)

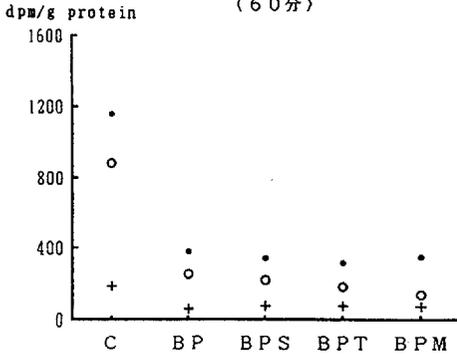


- C: 標準飼料 (n = 6)
- BP: 3.5%Phe含有飼料 (n = 2) + Phe(3.0 mmol/kg b.w.)IV
- BPS: 3.5%Phe含有飼料 (n = 1) + Phe(3.0 mmol/kg b.w.)IV + glucose(0.2 g)IV
- BPH: 3.5%Phe含有飼料 (n = 2) + Phe(3.0 mmol/kg b.w.)IV + His(1.9 mmol)IV
- BPL: 3.5%Phe含有飼料 (n = 1) + Phe(3.0 mmol/kg b.w.)IV + Lys(1.98 mmol)IV
- BPI: 3.5%Phe含有飼料 (n = 1) + Phe(3.0 mmol/kg b.w.)IV + insulin(40 U)IV

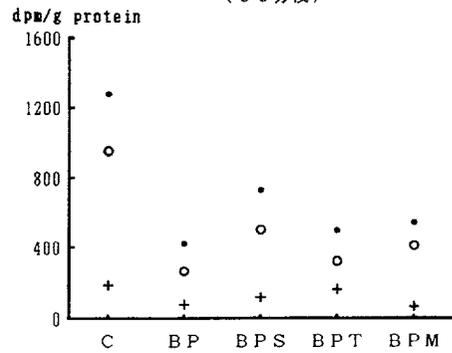
図3-4 胎仔各臓器 (Phe静注群)

- ホモジネート
- + 酸可溶化分画
- 蛋白分画

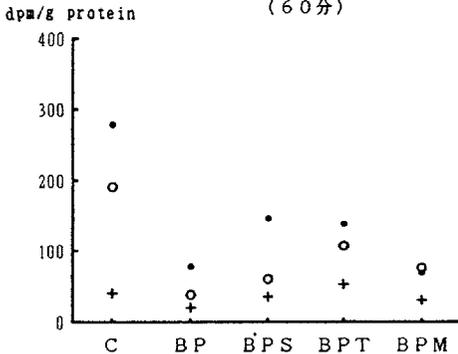
胎仔脳内 [C-14] Leu の取り込み (60分)



胎仔肝臓内 [C-14] Leu の取り込み (60分後)



胎仔血清中 [C-14] Leu の取り込み (60分)



- C: 標準飼料 (n = 1)
- BP: 3.5%Phe含有飼料 (n = 1) + Phe(3.0 mmol/kg b.w.)IV
- BPS: 3.5%Phe含有飼料 (n = 3) + Phe(3.0 mmol/kg b.w.)IV + glucose(0.4 g)IV
- BPT: 3.5%Phe含有飼料 (n = 2) + Phe(3.0 mmol/kg b.w.)IV + Tyr(0.07 mmol/kg b.w.)IV
- BPM: 3.5%Phe含有飼料 (n = 1) + Phe(3.0 mmol/kg b.w.)IV + Met(2.8 mmol/kg b.w.)IV



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:Maternal PKUの治療は、妊娠前より、母体に Phenylalanine(Phe)制限食を行うことが原則であるが、高 Phe 血症において見られる他のアミノ酸の減少を、それらのアミノ酸を母体に投与することによって補う必要があるという考え方がある 1)2)。今回我々は、maternal PKU においてこれらのアミノ酸の投与が、その胎児にどのような影響を及ぼすのかを調べるために、Phe 負荷妊娠ラットに他のアミノ酸やブドウ糖、インスリンを投与して、母鼠とその胎仔の脳、肝臓、血清への[14C]Leucine の取り込みについて検討した。Phe 負荷により、母鼠脳、胎仔脳、胎仔肝臓、胎仔血清において[14C]Leucine の取り込みが減少するが、ブドウ糖、Tyrosine の投与により胎仔血清、胎仔肝臓で改善を認めた。インスリンや Methionine、Lysine の投与では改善を認めず、Histidine の投与ではかえって悪化を認めた。

母体の高 Phe 血症における胎仔の血清、肝臓での[14C] Leucine の取り込みの減少が、ブドウ糖、Tyrosine の投与により改善したことは、maternal PKU においてブドウ糖や Tyrosine の投与が、胎盤でのアミノ酸輸送に好影響を及ぼす可能性が考えられた。しかし、母鼠脳、胎仔脳において改善を認めなかったことは、投与量など今後検討する必要があると思われた。