

# フェニールケトン尿症に対するインスリンの効果

## 第 二 編

### 血中遊離アミノ酸に対する影響

岡山大学医学部脳代謝研究施設病態生化学部門（主任：高坂睦年教授）

沖 田 美 佐 子

（昭和51年2月25日受稿）

PKUの治療の基本は血中フェニールアラニン値を下げて血中高フェニールアラニンが惹き起こす種々の代謝障害を除くことにある。現在、このような目的のために低フェニールアラニンミルクや低フェニールアラニン食による治療が行われているが、患者の家族的、社会的環境や方法の困難性そのものなどによって、治療の長期継続は非常に困難な状態である。そこで、PKUのフェニールアラニン代謝を正常化させるための一つの方法としてインスリンの投与を試みた。インスリンは glycogen synthetase, glucokinase, phosphofructokinase, pyruvate kinase, RNA polymelase, tyrosine aminotransferase などの活性を高める<sup>1)</sup>とともに筋肉、肝臓において蛋白合成を促進し<sup>2)</sup>、血中遊離アミノ酸レベルを低下させる<sup>3,4)</sup>ことがわかっている。

本編では、インスリンによる血中遊離アミノ酸の変動を追求してインスリンがPKUのアミノ酸代謝にいかなる影響を及ぼすか検討した。

#### 方 法

血中遊離アミノ酸の分析を行った対象は、第一編におけるインスリン投与対象のうち、PKU患者6例（男4例、女2例、平均年齢28.5才）と対照正常人6例（男4例、女2例、平均年齢28.3才）である。

インスリン投与は前編のとおりレギュラーインスリン0.2IU/kgを早朝空腹時に筋注した。

アミノ酸の分析は、インスリン投与前と投与後120分の血清について前編同様の処理をしたのちアミノ酸自動分析装置により分析した。

#### 成 績

インスリン投与前と投与後120分の血中遊離アミ

ノ酸値の変化を、対照正常人群（6例）とPKU患者群（6例）について示したのが表1である。

インスリン投与前の血中遊離アミノ酸レベルは、PKUでは当然ながらPheが異常な高値（91.9±7.6μmoles/dl）を示した。そして、Tyrが有意な低値であった。その他のアミノ酸ではLeu, Ile, Val, Ala, Glu, Thr, Arg, Lys, Proが対照正常人群と比べてPKU群で有意に低値であった。また、Ser, HisもPKU群が低い傾向にある。

次に、インスリンを投与した後のアミノ酸値の変動は、対照正常人群ではほとんどのアミノ酸が減少し、減少率の大きいものから順にMet, Leu, Arg, Ile, Gln<sup>2)</sup>となっている。Aspのみは2例の増加例があった。PKU患者群ではPhe, Tyrの動きは前編で述べたとおりであるが、120分後にはPheは2例でわずかに増加しているものの他の4例では減少した。Tyrは120分後には全例で減少した。その他のアミノ酸ではLeu, Ileの減少率が大きいのは正常人群と同様である。しかし、インスリンによって起こる個々のアミノ酸の変化は、PKUでは症例間の差が大きいと思われる。各症例についての測定値を表2に示す。すなわち、Glu, Tau, Asp, Arg, His, Orn, Pro, Trpでは増加した症例もみられ、特にGluは4例で増加した。また、対照正常人の場合は著明に減少したArgがPKU群では減少率が小さかった。各症例毎にアミノ酸の増減割合を示したのが図2(1)―(6)であり、図1は対照正常人群のものである。数値はインスリン投与前に比べて投与120分後に増加あるいは減少した量を百分率(%)にして示している。

症例1（図2(1)）はPheがわずかに減少し、GluとProが増加した。また、量的には少ないが、Cys, Argも増加した。症例2（図2(2)）は、Pheはやや



図1 インスリン投与による血中遊離アミノ酸の変化

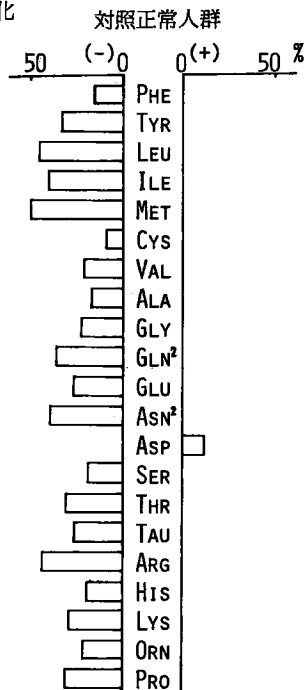


図2 (2) PKU患者 症例2

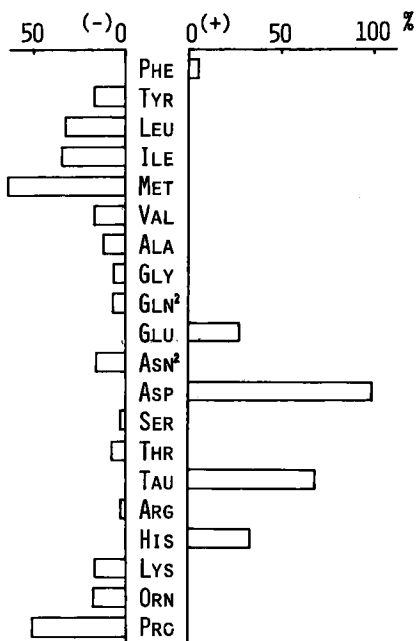


図2 インスリン投与による血中遊離アミノ酸の変化

(1) PKU患者 症例1

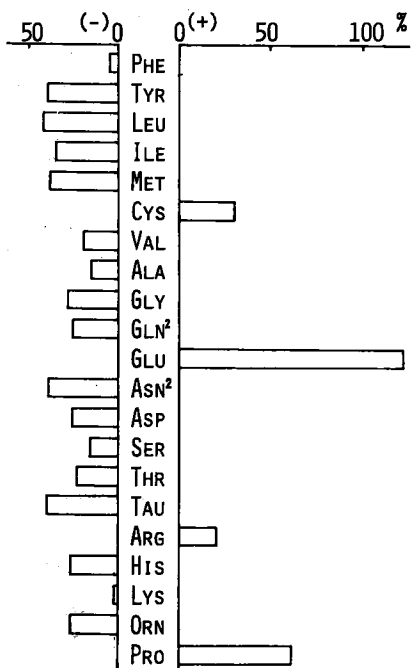


図2 (3) PKU患者 症例3

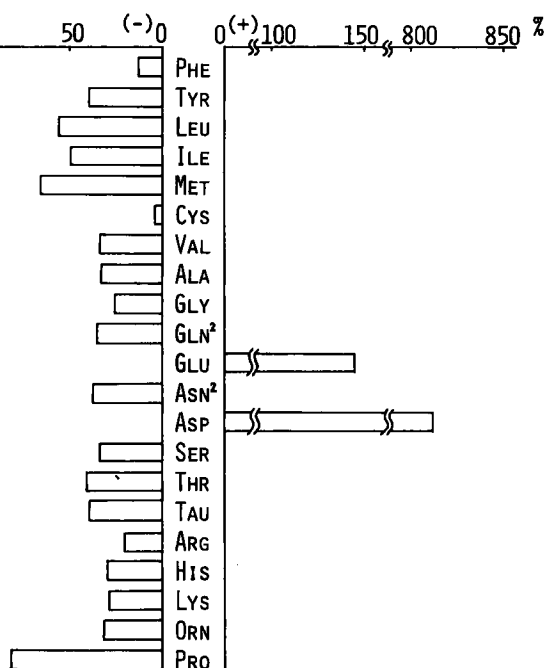


図 2 (4) PKU 患者 症例 4

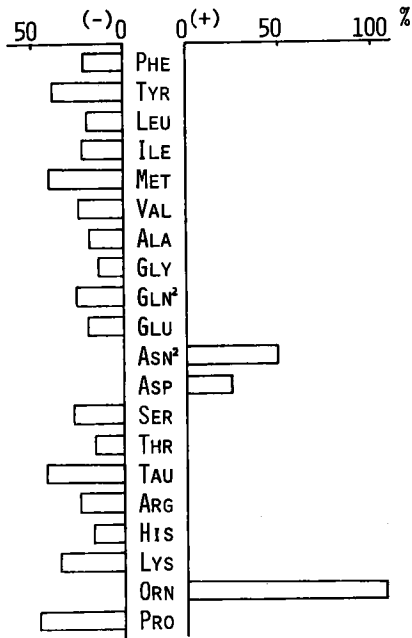


図 2 (6) PKU 患者 症例 6

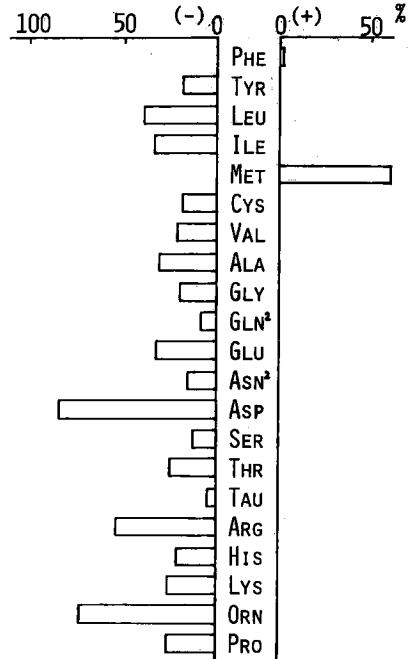
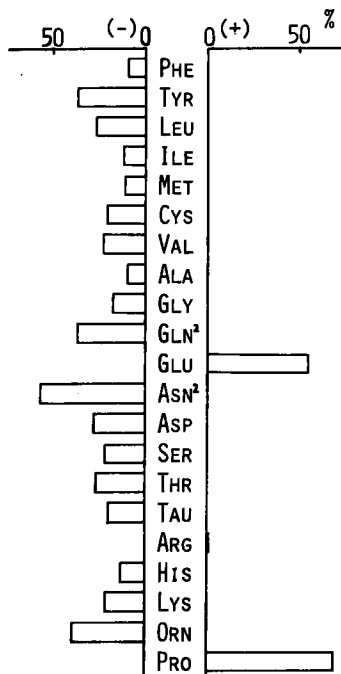


図 2 (5) PKU 患者 症例 5



増加し、その他 Glu, Asp, Tau, His が増加した。症例 3 (図 2(3)) では、Phe は減少した。一方、特に Asp の増加が顕著であり、Glu も増加した。症例 4 (図 2(4)) は、Phe は減少し、Orn が増加した。症例 5 (図 2(5)) は Phe が減少し、Glu と Pro が増加した。症例 6 (図 2(6)) では、Phe は変化が小さく、Met の増加率が高い。しかし、Met は血中濃度が低いために増加量はごくわずかで、明らかな増加とはいえない。また、Trp は症例 1, 2, 6 で分析したが、症例 1 と 2 では変化がなく、症例 6 では増加した。

考 察

外因性ならびに内因性インスリンが血中遊離アミノ酸値を低下せしめることは多くの研究によって確認されており<sup>5-8)</sup> 分枝鎖アミノ酸 (Leu, Ile, Val), Tyr, Phe の減少が大であるという報告<sup>9)</sup> や Leu, Ile, Lys, Met, Arg などの減少が大であったという報告<sup>9)</sup> がみられる。著者の成績でも、対照正常人にインスリンを投与すると Met, Leu, Arg, Ile の減少が大であるという結果で、これまでの報告と同様であった。また、Tyr の減少率は比較的高いが、Phe は正常人の場合、減少率は小さかった。

インスリンが総体的に血中遊離アミノ酸を低下させるメカニズムについては、多くの実験から、インスリンが筋肉へのアミノ酸のとりこみを促進して蛋白合成を促進させるということが認められている。インスリンによる血中遊離アミノ酸低下の中でAlaは多少その性格が異なり、減少率は最も小さく、むしろ増加するという報告もある。<sup>9)</sup>これはAlaが末梢においてglucoseからpyruvateを経て生成されることから、末梢におけるglucoseの利用方法として、インスリンがAla合成を促進するため<sup>10)</sup>といわれる。Aokiら<sup>11)</sup>は、このAla合成の際のアミノ基の供給源としてLeu, Ileなどの分枝鎖アミノ酸が利用されるのであろうといっている。

PKU患者の血中遊離アミノ酸については、Perryら<sup>12)</sup>の報告では、Thr, Asn<sup>2</sup>, Gln<sup>2</sup>, Pro, Ala, Val, Cys, Met, Ile, Leu, Tyr, Orn, Lys, His, Argが正常人に比べて有意に低値であったとしているが、著者の結果では、Asn<sup>2</sup>, Gln<sup>2</sup>, Met, Ornでは有意差を認めることができず、彼らが有意差を認めなかったGluが有意に低値となった。その他のアミノ酸は彼らの報告同様有意な低値を示し、PKU患者ではPheの異常な高値に伴って種々のアミノ酸の利用障害がおこっていることは明らかである。

このようなPKU患者にインスリンを投与した後の血中遊離アミノ酸の変動をみると、まず、Phe, Tyrの動きは、インスリン投与後60分でPheが低下するのに伴ってTyrが増加する例が1例みられ、また、Pheの増加とともにTyrの増加した例が2例あった。投与後120分ではPheは4例で減少、Tyrは全例減少という結果を得た。このことからみると、PKUにおいてPheからTyrへの径が全く閉ざされているのではなくて、インスリンの如きものでよく通じる可能性を持っているものがあり、またこの程度のインスリンでは通じないものもあり、PKUのフェニールアラニン代謝障害は一様でないことがわかる。

インスリン投与による他のアミノ酸の変動は、Leu, Ileの減少が大であること、Aspの増加例があることは対照正常人と同様である。異なる点は、4症例でGluが増加した点と、Pro, Tau, Arg, His, Orn, Trpの増加例があった点である。

症例1の場合はGlu, Arg, Proが増加した。インスリンは肝のurea cycle enzymesの活性を低下させて、尿素生成をおさえる。<sup>1)</sup>その結果、Arg, Proの血中増加を起こすとともにProはGlu生成へと働き、Glu値上昇の一因ともなったのであろう

か。このようなGlu, Arg, Proの増加は症例5においてもみられる。Gluは4症例で増加したが、Gluは通常 $\alpha$ -ketoglutarateからamino transferaseによって生成されるほか、一部はglutaminaseによってGln<sup>2</sup>から生成される。従って、インスリンがtyrosine amino transferase活性を高める<sup>1)</sup>ことにより、Phe, Tyrをアミノ基供与体として利用し、これらの減少をきたすことも推定できる。Gln<sup>2</sup>は著者の測定結果では、症例1, 2, 4では正常人に比べて明らかに低値であった。PKU患者のGln<sup>2</sup>について、Perryら<sup>12)</sup>は血中レベルの低下を認め、この血中Gln<sup>2</sup>値の低下がPKUの知能障害の一因ではないかと推論した。しかし、Perryらの説はその後Mckeanら<sup>13)</sup>Colombo<sup>14)</sup> Wongら<sup>15)</sup>によってPKU患者の血中あるいはCSF中Gln<sup>2</sup>値が必ずしも低値でないことが明らかにされたために否定的である。症例2はGlu, Asp, Tau, Hisが増加しているが、Tauの増加はMetが減少していること、Cystaにやや増加がみられた(+11.1%)ことで理解できる。症例3は他症例に比べてすべてのアミノ酸の減少率が大きく、反面Glu, 特にAspは異常に増加した。この症例のみ栄養状態が不良(体重35.0kg)であったことも減少率が大きくなった一因かもしれない。AspはGluと共に興奮性アミノ酸であって神経伝達物質として働く可能性を有する<sup>16)</sup>ので、この異常な増加はPKUの脳の動きに何らかの影響を持つものと考ええる。症例4ではOrnが増加しているが、urea cycleの抑制の結果であろうか。インスリン投与によるTrpの増加が症例6でみられた。PKUではセロトニン生成不全が知られているのでTrpの増加は脳内セロトニン増加に連なりPKUに対してよい方向に作用するはずである。

以上の如く、インスリン投与によってPKUでは血中Glu, Asp, Arg, His, Pro, Orn, Tau, Trpの増加例があった。それらのうち、Glu, Aspは神経伝達物質であることが知られている。Tauは脳の異常興奮を抑制する働きがあり<sup>17)</sup>Hisはhistamineとなって神経伝達物質として働く。これらの事実は、インスリン投与がPKUに対してよい効果を与えることを示唆するものと思われる。これらの推理仮説は、実際PKU患者について長期のインスリン治療を施してみなければわからないが、個々の症例について詳細な検討を加えると、PKU患者のある種のもの、インスリン投与により代謝改善が期待できる症例もあるように思われる。

## 要 約

1. 対照正常人6例とPKU患者6例について、インスリン投与前と投与120分後の血中遊離アミノ酸の変化を検討した。
2. 対照正常人では、Aspが2例で増加したほかはすべてのアミノ酸が減少し、Met, Leu, Arg, Ileの順に減少率が大きであった。
3. PKU患者では、Pheは4例、Tyrは全例で減少した。
4. PKU患者でGlu, Asp, Arg, His, Tau, Trp,

Orn, Proの増加例があった。

稿を終えるにのぞみ、御指導、御校閲を賜りました高坂睦年教授に深く感謝いたします。また、終始御助言と御協力をいただきました脳代謝研の皆様、及びこの研究に深い御理解と御援助を頂きました岡山県立短期大学長赤木五郎先生、栄養学教授黒田正清先生に厚く御礼を申し上げます。

(本論文の要旨は第18回日本神経化学会(1975, 東京)にて発表した。)

## 文 献

1. 岡博, インスリンと肝代謝, 10: 1273—1281, 1973.
2. Manchester, K. L., The control by insulin of amino acid accumulation in muscle. *Biochem. J.*, 117: 457—465, 1970.
3. Lotspeich, W. D., The role of insulin in the metabolism of amino acids. *J. Biol. Chem.*, 179: 175—180, 1949.
4. DE Barnola, F. V., The effect of insulin on plasma free amino acids. *Acta Physiol. Latino Amer.*, 15: 260—265, 1965.
5. Crofford, O. B., Felts, P. W. and Lacy, W. W., Effect of glucose infusion on the individual plasma free amino acids in man. *Proc. Soc. Exp. Biol.*, 117: 11—14, 1964.
6. Felig, P., Marliss, E. and Cahill, G. F., Plasma amino acid levels and insulin secretion in obesity. *N. Engl. J. Med.*, 281: 811—816, 1969.
7. Munro, H. N. and Thomson, W. S. T., Influence of glucose on amino acid metabolism. *Metabolism*, 2: 354—361, 1953.
8. Zinneman, H. H., Nuttall, F. Q. and Goetz, F. C., Effect of endogenous insulin on human amino acid metabolism. *Diabetes*, 15: 5—8, 1966.
9. Carlsten, A., Hallgren, B., Jagenburg, R., Svanborg, A., and Werko, L., Amino acids and free fatty acids in plasma in diabetes. *Acta Med. Scand.*, 179, 361—370, 1966.
10. Felig P., *Progress in Endocrinology and Metabolism — The Glucose—Alanine Cycle —*. *Metabolism*, 22: 179—207, 1973.
11. Aoki, T. T., Müller, W. A., Brennan, M. F., and Cahill, G. F., Effect of glucagon on amino acid and nitrogen metabolism in fasting man. *Metabolism*, 23: 805—814, 1974.
12. Perry, T. L., and Diamond, S., Glutamine depletion in Phenylketonuria—A possible cause of the mental defect—. *New. Eng. J. Med.*, 282: 761—766, 1970.
13. McKean, C. M., and Peterson, N. A., Glutamine in the phenylketonuric central nervous system. *New. Eng. J. Med.*, 283: 1364—1367, 1970.

14. Colombo, J. P., Plasma glutamine in a phenylketonuric family with normal and mentally defective members. *Arch. Dis. Child.*, **46** : 720—721, 1971.
15. Wong, P. W. K., Berman, J. L., Partington, M. W., Vickery, S. K., O'Flynn, M. E., and Hsia, D. Y. -Y., Glutamine in PKU. *New. Eng. J. Med.*, **285** : 580, 1971.
16. Cooper, J. R., Bloom, F. E., and Roth, R. H., *The Biochemical Basis of Neuropharmacology*. Oxford University Press, New York, 1970.
17. Barbeau, A., and Donaldson, J., Zinc, taurine, and epilepsy. *Arch. Neurol.*, **30** : 52—58, 1974.

**Effects of insulin on phenylketonuria**  
**Part 2. Effects on free amino acids in serum**  
**by**  
**Misako OKITA**

Institute for Neurobiology, Okayama Univ. Medical School

(Director : Prof. Mutsutoshi Kohsaka)

Free amino acids in sera after insulin injection were studied using six PKU subjects and six normal subjects. Blood samples were collected prior to the insulin injection and 120 minutes after insulin injection.

The results were as follows;

1. Serum free amino acid level of normal subjects except aspartic acid level were all decreased after insulin injection.
2. Serum levels of free tyrosine, leucine, isoleucine, valine, alanine, glutamic acid, threonine, arginine, lysine and proline of PKU subjects were significantly lower than normal level.
3. Phenylalanine level is decreased in four PKU cases 120 minutes after insulin injection. Tyrosine level decreased in all PKU cases 120 minutes after insulin injection.
4. The levels of glutamic acid (4 cases), aspartic acid (3 cases), proline (2 cases), tryptophan (1 case), taurine (1 case), arginine (1 case), histidine (1 case) and ornithine (1 case) of PKU subjects were increased after insulin injection.