

皮膚筋炎患者尿中に見出された物質と Try. Pro. 代謝との関連性 (予報)

柴田 幸雄¹⁾・太田 隆男¹⁾・中塚 正博¹⁾・竹内 章夫¹⁾
坪内 涼子¹⁾・布勢 秀夫¹⁾・羽根田 みや子¹⁾・松川 貞夫²⁾
(¹⁾愛知医科大学学生化学教室*, (²⁾和歌山県立医科大学**)

On Some Metabolites of Tyrosine or Proline Finding in Dermatomyositis-patient-urine (one of collagen disease)

Yukio SHIBATA¹⁾, Takao OHTA¹⁾, Masahiro NAKATSUKA¹⁾, Fumio TAKEUCHI¹⁾,
Ryoko Tsubouchi¹⁾, Hideo FUSE¹⁾, Miyako HANEDA¹⁾ and Sadao MATSUKAWA²⁾

¹⁾Aichi Medical University, Department of Biochemistry and

²⁾Department of Chemistry, Wakayama Medical College

In 1957, Nishimura and Shibata have detected the 2, 5-dihydroxyphenyl pyruvic acid like substance in the urine of dermatomyositis patient. This substance might be one of the metabolite of tyrosine. And also the symptom of the patient, especially rheumatic fever, has recovered by the administration of low tyrosine diet. From later experiments, it was suggested that proline metabolism were also disturbed in accordance with the disturbance of tyrosine metabolism in collagen diseases. So we synthesized this substance, pyrrole-1, 2-dicarboimide that was perhaps the metabolite of proline and have also found this substance in the urine of collagen disease patient. Then we are studying about the meaning of the excretion of these two substances in clinical pathology and clinical nutrition.

1957年西村, 柴田¹⁾は, 皮膚筋炎と思われる患者尿中から 2, 5-ジオキシフェニルピルビン酸 (2, 5-(OH)₂PPA) と類似の物質を見出した。(岩鶴内科から転科してきた患者)

同じ頃古武弥人らはトリプトファン (Trp) と酪酸ソーダ (NaBu) とを同時にラットに投与すると V.B₆ 欠乏と同じような状態となり, キサンツレン酸 (XA) が尿中に多量排泄され, ラットは糖尿病様症状を発現することを報告²⁾, また大阪大学の竹田, 田中らは同じような状態でチロシン (Tyr) を与

*所在地: 愛知県愛知郡長久手町大字岩作字雁又21 (〒480-11)

**所在地: 和歌山市9番丁9 (〒640)

えるとホモゲンチジン酸 (HA) らしき物質が尿中に排泄される事を報告している。我々はこれらをもとに膠原病関係の患者尿をペーパークロマトグラフィー (PC) で検討すると Tyr 代謝における幻の代謝物 (2,5-(OH)₂PPA) と思われる物質を見出した。

方法と結果

以上の事実を検討するため次の如き実験を行なった。

1) 尿中からの 2,5-(OH)₂PPA の同定

患者の 24 時間尿を減圧濃縮し、無機塩をのぞいた後、一次元上行性ペーパークロマトグラフィーを行なった。その際ろ紙は東洋ろ紙 No.52 を使い、展開液としては主として n-ブタノール：酪酸：水 (4 : 1 : 1) で 24 時間の展開を行なった。

尚、2,5-(OH)₂PPA の結晶はきわめて不安定のためその後、和歌山医大・化学の山口、松川が合成したラクトン形を使用し、実験サンプルと比較し、その結果、患者尿中の物質は 2,5-(OH)₂PPA のスポットの位置と一致した。(Table 1., Fig. 1.)

Table 1. Identification of 2, 5-(OH)₂ from urine of collagen disease patients

	Substance from urine of collagen disease patients	2, 5-(OH) ₂ PPA (Synthetic)
Rf value	0.45 (sometimes 0.25)	0.45 and 0.25
Fluorescent	blue violet	blue violet
Ultra violet absorption	Rf 0.45 λ max280-285m μ Rf 0.25 λ max260-265m μ	same as left data

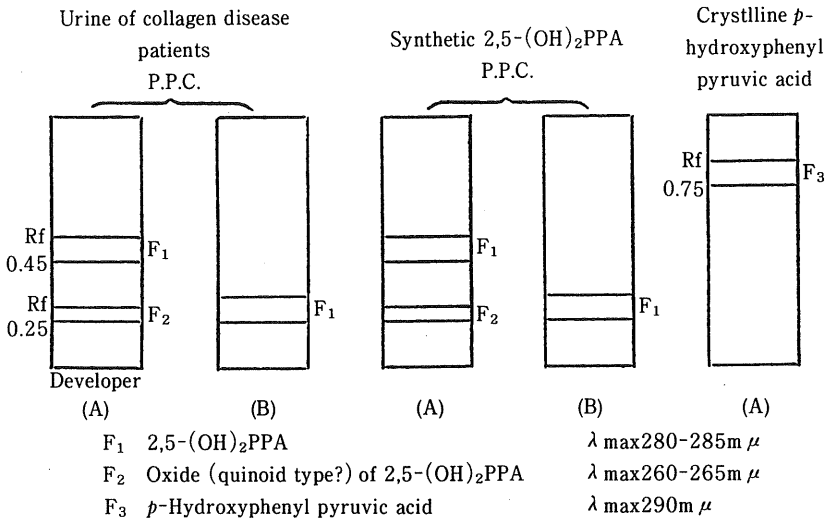


Fig. 1. Paper-partition chromatography (P. P. C.) and ultra-violet absorption spectrum.

2) Tyr と NaBu とを同時投与後, 2,5-(OH)₂PPA とと思われるスポットが陽性となる日数

雄性ラットを使用し Tyr, NaBu 同時投与後 2,5-(OH)₂PPA のスポットが陽性になるまでの日数を調べると, 早いもので10日, おそらく1ヶ月後には陽性となった。尚, Tyr 単独投与群でははっきりした結果は得られなかった。

3) 患者における Tyr 代謝

患者における Tyr 代謝を調べるため健康人で異常を認めない量を経口投与すると, 2,5-(OH)₂PPA とと思われる物質が尿中に認められた。ついで尿中に排泄されるホモゲチジン酸 (HA) 量を測定するとその結果は Table 2. の如くで疾患により異なっていた。

Table 2. HA excretion in urine at some diseases (mg/day)

Diseases	numbers of Patients	HA excretion in urine		
		Max.	Min.	Ave.
Collagen diseases				
Rheumatoid arthritis	24	0	46	11.7
Chronic discoid lupus erythematosus	6	3.4	12.5	
Erythematosus subacuta	1		10.2	12.9
Systemic disseminated erythematosus	2	24.2	38.2	
Dermatomyositis	2	3.8	4.2	4
Weber-Christian's disease	1			7
Sclerodermia circumscripta	1			6.1
Total	37			
Liver disease	21	1.1	4.9	2.6
Other diseases	50	2.1	6.7	3.59
Healthy people	20	2.2	6.9	4

4) ラットにおける実験的膠原病状態発現に関する実験

そこで雄性ラットを使用し, 膠原病状態をひきおこすため Tyr (100mg/kg/day) を継続投与し種々の代謝物の変化を調べたが, その結果特に関係の深い尿中シアル酸について記すと Fig.2. の如くで次第にその排泄は増加してくる。

5) 低 Tyr 食事療法

Tyr の代謝異常をきたしていることから Table 3. の如き食事を患者に与え, ある程度の病氣回復をみた³⁾ (大阪市立大学家政学部の協力をえた)。

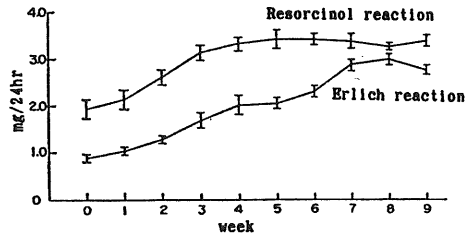


Fig. 2. Sialic acid in urine of Tyr administered rats.

Table 3. Low phenylalanine and tyrosine diets for collagen disease patients

		Daily intake	Remarks	
			Phenylalanine (% in protein)	Tyrosine (% in protein)
Protein	Jellice (gelatin)	60g	1.4-2.5	0.2-0.4
	Whale	20g	2.6	2.4
	Cod	∕	1.3-2.3	2.5
	Herring	∕	2.8	2.5
Carbo- hydrate	Starch	300g	(-)	(-)
Fat	Margarine	25g	(-)	(-)
	Vegetable oil	20g	(-)	(-)
Vegetable	Pumpkin	Proper quantity		Extremely low
	Onion			
	Radish			
	Carrot			
	Cabbage			
	Coltsfood			
Fruit	Apple, orange, tomato, straw- berry	Proper quantity		Extremely low

Remarks:

- (1) In general, dietary protein contains 4-6% phenylalanine, and total diet contains 0.4% L-tyrosine and 0.04% L-tryptophan, respectively.
- (2) Sugar and sodium chloride; freely given
Soy sauce and Worcestershire sauce; restricted
Total calory; about 2,400 calories
- (3) Daily intake of internal medicine;

DL-tryptophan*	0.5g
DL-valine*	1.0g
DL-methionine	3.0g
Panvitan M**	3 tablets (Takeda Pharmaceutical Ind. Ltd. Japan)

 - * Because of extremely low components of tryptophan and valine in gelatin
 - ** Rich in vitamins and minerals
- (4) The diet is adequate to permit normal health and exerts no specific side-effects on the patients.
- (5) In general, effects appear 1-2 weeks after starting this dietary treatment.

6) プロリン (Pro) 代謝に関する実験 (同時に見出された Pro 代謝物と思われるピロール-1,2-ジカルボイミド (Py-1,2-CI) について)

その後、2,5-(OH)₂PPA と思われる PPC におけるスポットの部分抽出し、種々検討すると本物質と同じ位置に Pro 代謝物と思われる Py-1,2-CI が同時に見出されたので本物質をピロール-2-カルボン酸メチルエステルから合成し、比較検討すると同一物質であることが確認された。(和歌山医大化学, 松川)

以上の結果から、最初皮膚筋炎患者に関する実験から Tyr の代謝異常があると思われたが、その後の実験によると Pro の代謝も同時にひきおこされていると考えられ検討を進めると、Pro 代謝物と思われる Py-1,2-CI 様物質の存在が認められた。これらの事実から、一般に膠原病患者においては程度の差こそあれ Tyr, Pro 両アミノ酸の代謝異常があるものと推測される。^{4,5)}

今後これらの実験結果をふまえ、ラットにおける V. B₆ 欠乏の状態での Tyr, Pro を同時に継続過剰投与したラット群での血中アミノ酸分析を行ない、又膠原病患者の血清、尿についても再検討し、(サンプルは本学皮膚科佐々田教授から得ている。)これらの事実を確認するとともに、一方、ラット血中遊離アミノ酸の動きについても検討を加え、その臨床病理学的意義をみるほか、これらの臨床栄養学的な栄養アセスメントの面についての検討をも加えている。

文 献

1. 西村長応, 柴田幸雄 (1957) 膠原病に於けるフェニルアラニン, チロシン中間代謝の研究, 最新医学, 12, 2:114
2. 柴田幸雄 (1985) トリプトファンの中間代謝に関する研究, 愛知医大誌, 13, 2:167-180
3. 西村長応, 金沢稔ら (1957) 最新医学, 最新医学社, 12, 12:55
4. 松川貞央, 山口正雄 (1968) 第12回天然有機化合物討論会講演要旨集, 仙台:117
5. YAMAGUCHI, M. and S. MATSUKAWA (1969) On the Specificity of Pyrrole-1,2-dicarboimide for Collagen Diseases, Wakayama Med. Rept., 13:169-172