

Table1. Abnormalities n in urine of patients with hyperammonemia

Case No.	Case 1	Case 2	case 3	case 4
Patient code	8848000	1015100	8664000	1050700
Metabolite	Abnormalities n in [mean above n*SD]			
orotate	0.8	0.7	-2.5	-0.4
uracil	-0.2	0.8	1.7	-1.3
Pro	2.8	3.2	4.8	3.0
5OP	9.3	7.4	8.3	5.8
Gln	0.0	4.3	5.3	5.6
Asn	0.4	2.2	2.8	2.3
Ala	4.2	5.9	6.4	4.2
Gly	1.2	1.7	2.2	0.8
Glu	4.4	8.4	5.5	3.7
Asp	3.0	8.8	4.4	1.1
Orn	3.3	1.3	4.5	7.0*
Lys	2.2	1.3	3.8	3.8
α AA	4.4	7.4	2.9	2.0
Lactate	2.6	2.7	4.4	2.1
Ala / Lactate	1.6	2.2	1.5	2.0

Abnormality n is expressed based on creatinine. All cases were chemically diagnosed as having CPSD (carbamoylphosphate synthetase deficiency). Cases 1, 2 and 4 had CPS mutations, four novel, at least. Case 3 was not examined yet. * Arg administered.

ま と め

1. Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate は極性が高いため、その検出感度は有機溶媒抽出による有機酸分析より、分画しない urease 処理による一斉分析 (metabolome 計測) が高い。
2. 細胞の酸化還元ポテンシャルなどにより左右されるため、proline 以外のアミノ酸, orotate, lactate などの有機酸, glucose などの糖の同時計測 (metabolomics) により、鑑別化学診断が向上する。
3. 代謝物の計測, 定量性, 評価の流れを検証し, 解析法を向上・進化し続けることが大切である ($1:10^6\sim 8$ のダイナミック・レンジ)。
4. 今後の研究の進展には臨床像などの情報, メタボローム情報, その他の情報のつき合わせが重要と思われる。

9

謝辞および発表論文

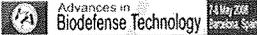
熊本大学医学部 遠藤文夫 先生, 三淵 浩 先生
九州大学医学部 井原健二 先生
金沢医科大学総合医学研究所 人類遺伝学研究部門 スタッフ

1: J Inherit Metab Dis. 2005;28:789. Acute encephalopathy associated with influenza virus infection in a patient with hyperprolinaemia type II.
Kato Y, Ihara K, Miyako K, Kuhara T, Inoue Y, Hara T.

2: J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2007;855:42.
Noninvasive human metabolome analysis for differential diagnosis of inborn errors of metabolism.
Kuhara T.

10

future
medicine



Advances in
Biodefense Technology

14 May 2008
 Volume 5(5)

Welcome Guest user | [Login](#) | [Altam Login](#) | [Register](#)

[Home](#) | [Browse Journals](#) | [Search Journals](#) | [Contact Us](#) | [About Us](#) | [My Profile](#)

Home

Future Medicine Series

[Aging Health](#)

[Biomechanics in Medicine](#)

[Nanomedicine](#)

[Pediatric Health](#)

[Personalized Medicine](#)

[Pharmacogenomics](#)

Please Note: Performing your original search, *Future Medicine* will replace 568 citations.

Summary
Pharmacogenomics
October 2006, Vol. 3, No. 7, Pages 1077-1086
 (doi:10.2217/14622416.7.7.1077)

Monitoring the health to disease continuum with global metabolic profiling and systems biology

[Home](#) | [Journal Home](#) | [TOC](#) | [Summary](#)
[Print Article](#) | [Next Article](#)
[View Article PDF \(1041 KB\)](#)
[View Full Text \(141 KB\)](#)
[Send to Librarian](#)
[Email to a Friend](#)
[RSS](#) | [TOC Alert](#) | [Custom Alerts](#) | [Alerts](#)

future
drugs

Inclusive commentary - from concept to clinic

Welcome Guest user | [Login](#) | [Altam Login](#) | [Register](#)
[Home](#) | [Browse Journals](#) | [Search Journals](#) | [Contact Us](#) | [About Us](#) | [My Profile](#)

Home

Expert Review Series

[Resonances](#)

[Register](#)

[For Authors](#)

[For Librarians](#)

[For Advertisers](#)

[News](#)

[Subscriptions/Pricing](#)

[Reprints](#)

[Advertising](#)

[More Information](#)

Please Note: Performing your original search, *Future Drugs* will replace 2322 citations.

Summary
Expert Review of Molecular Diagnostics
May 2007, Vol. 7, No. 3, Pages 247-257
 (doi:10.1586/14737159.7.3.247)

Global metabolic profiling and its role in systems biology to advance personalized medicine in the 21st Century

[Home](#) | [Journal Home](#) | [TOC](#) | [Summary](#)
[Print Article](#) | [Next Article](#)
[View Article PDF \(2201 KB\)](#)
[View Full Text \(1091 KB\)](#)
[Send to Librarian](#)
[Email to a Friend](#)
[RSS](#) | [TOC Alert](#) | [Custom Alerts](#) | [Alerts](#)



ELSEVIER

Drug Discovery Today: Technologies Vol. 4, No. 1, 2007

Editor-in-Chief
 Kelvin Lam - Harvard Stem Cell Institute, Harvard University, USA
 Henk Timmerman - Vrije Universiteit, The Netherlands



Taylor & Francis
TECHNOLOGIES

Critical path

Metabolomic biomarkers: their role in the critical path[☆]

Laura K. Schnackenberg, Richard D. Beger^{*}

Division of Systems Toxicology, National Center for Toxicological Research, Food and Drug Administration, Jefferson, AR 72078-9502, United States

V. 第2回三洲班会議プログラム

三 洩 班 班 会 議

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）主任研究者 三 洩 浩

研究課題名： 高プロリン血症の臨床的多様性の解明と新しい診断治療基準および
長期フォローアップ体制の確立

会 場： 京王プラザホテル 「ひかり」 東京都新宿区西新宿 2 丁目 2 - 1

日 時： 平成 2 1 年 11 月 6 日（木） 16 : 00 ~ 18 : 00

参 加 者： 三 洩 浩、遠藤文夫、奥山虎之、知念安紹、中村賢二、城戸 淳（敬称略）

— 式 次 第 —

I. 班長挨拶

熊本大学医学部附属病院 三 洩 浩

II 研究発表

（1）高プロリン血症の実態調査について

熊本大学医学部 三 洩 浩

（2）遺伝子解析について

熊本大学医学部 城戸 淳
中村賢二

III. 総合討論

司会 三 洩 浩

今後の研究の進め方について

— 午後 6 時終了 —

新生児スクリーニングにおける アミノ酸代謝異常症について

高プロリン血症の臨床的多様性の解明と新しい治療
診断基準、および長期フォローアップ体制の確立に関
する研究班

研究代表者 三淵 浩

先天代謝異常症の分類

代謝経路と疾患

- アミノ酸および蛋白質代謝
(PKU, MSUD, ホモシスチン尿症など)
- 尿素サイクル異常症 (OTC, CPS, シトルリン血症など)
- 有機酸代謝異常 (メチルマロン酸血症、フェニルケトン尿症、
メープルシロップ尿症、ホモシスチン尿症、シトルリン血症、
チロシン血症、高メチオニン血症、高プロリン血症、
高リジン血症、高グリシン血症)
- エネルギー代謝
- ミトコンドリア異常 (PDH, 呼吸鎖異常、MELASなど)
- 脂肪酸代謝異常 (MCADなど)
- ケトン代謝異常
- 炭水化物代謝異常 (糖原病、ガラクトース血症など)
- リン脂質代謝異常
- リン脂質病
- ムコ多糖症
- 脂質蓄積症
- ペルオキシソーム病
- リポ蛋白代謝 (高脂血症)
- ステロール代謝 (Smith-Lemli-Opitz, 胆汁酸異常)
- 蛋白質グリコシル化異常
- プリンピリミジン代謝 (レッシュユナイハン症候群など)
- 神経伝達物質代謝
- 金属代謝異常 (ウィルソン病、メンケス病など)

新しい検査法、対象疾患、体制の検討

タンデム質量分析計を用いた(化血研に導入)
先天代謝異常症のスクリーニング

・アミノ酸代謝異常症

(フェニルケトン尿症、メーフルシロウリ酸尿症、ホモシスチン尿症、高メチオニン血症、高ホロシン血症、尿素サイクル異常症)

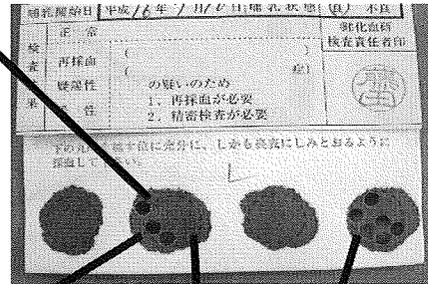
・有機酸代謝異常症

(メチルマロン酸血症、フロピオン酸血症、ケルタル酸尿症)

メチルクロトニル-CoAカルボキシラーゼ(MCC)欠損症)

・β酸化異常症

(カルニチン欠乏症、中鎖アシル-CoA脱水素酵素(MCAD)欠損症、極長鎖アシル-CoA脱水素酵素(VLCAD)欠損症、長鎖3-ヒドロキシアシル-CoA脱水素酵素(LCHAD)欠損症、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ-2(CPT2)欠損症)



Fabry病の酵素診断

TSH, 17OHP

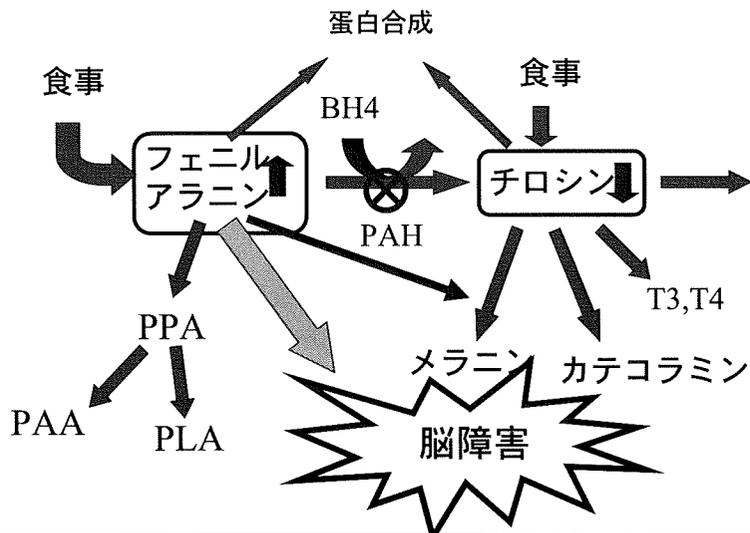
ガラクトース

その他全血10μlでの全アミノ酸測定

先天代謝異常症のシンボル フェニルケトン尿症

- フェニルアラニン水酸化酵素の異常
- 常染色体劣性遺伝
- 8-10万人に1人
- フェニルアラニンの毒性、チロシン欠乏
- 知能障害、けいれん、色素欠乏
- 新生児マススクリーニングで発見
- フェニルアラニン除去食、低蛋白食で治療
- 生涯の治療へ(気分障害の発症予防)
- Large neutral aminoacidsによる治療
- BH4(ビオプテリン)による新しい治療

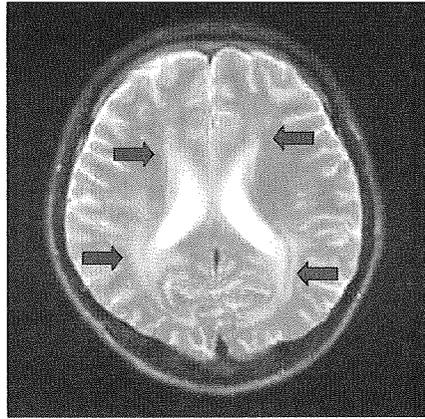
フェニルケトン尿症 (Phenylalanine hydroxylase deficiency)



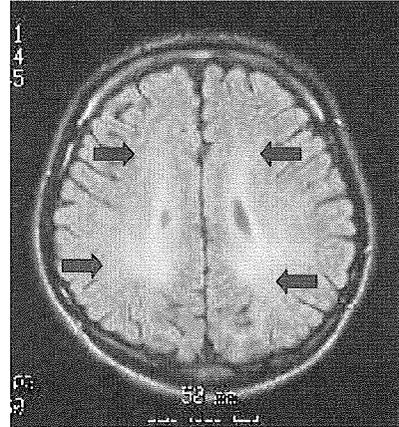
症例 (KP3)

- 19歳 男性
- 主訴: 抑うつ、幻聴、妄想
- 家族歴、既往歴に特記すべきことなし
- 現病歴: 新生児マススクリーニングで発見、古典型 PKUと診断し治療開始。遺伝子診断でV388M/R413Pの複合ヘテロと判明。その後、発育、発達に特に問題なく経過。普通高校卒業後、専門学校に進学。寮生活をしていた。寮では肉、魚は食わず、でんぷん米を主食としていたが、人目が気になり、特殊ミルクは飲んでいなかった。専門学校2年め(19歳)になり、自分の病気が気がになり、PKUについて調べるようになる。自分は駄目な人間と思い、ふさぎ込むようになり、授業が受けられなくなる。変な声が聞こえたり、自分の物が盗まれる、悪口を言われているといった幻聴や妄想が出現し、当科入院となった。

MRI



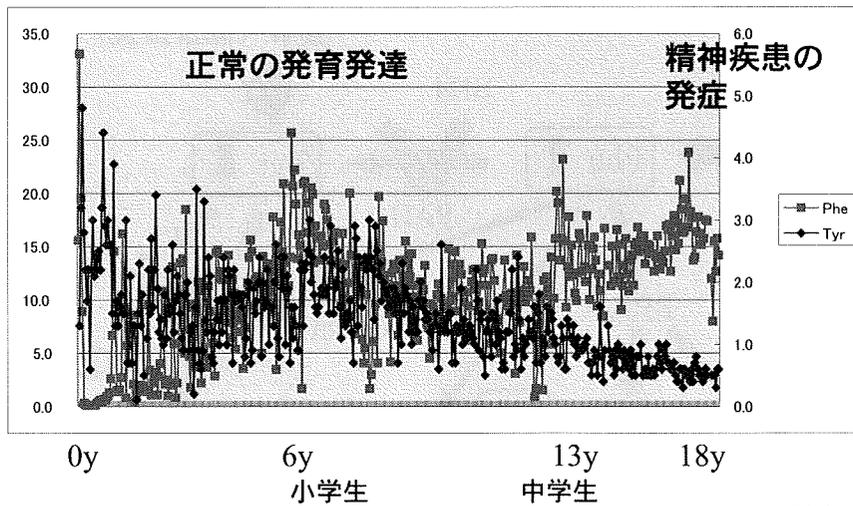
T2-weighted image

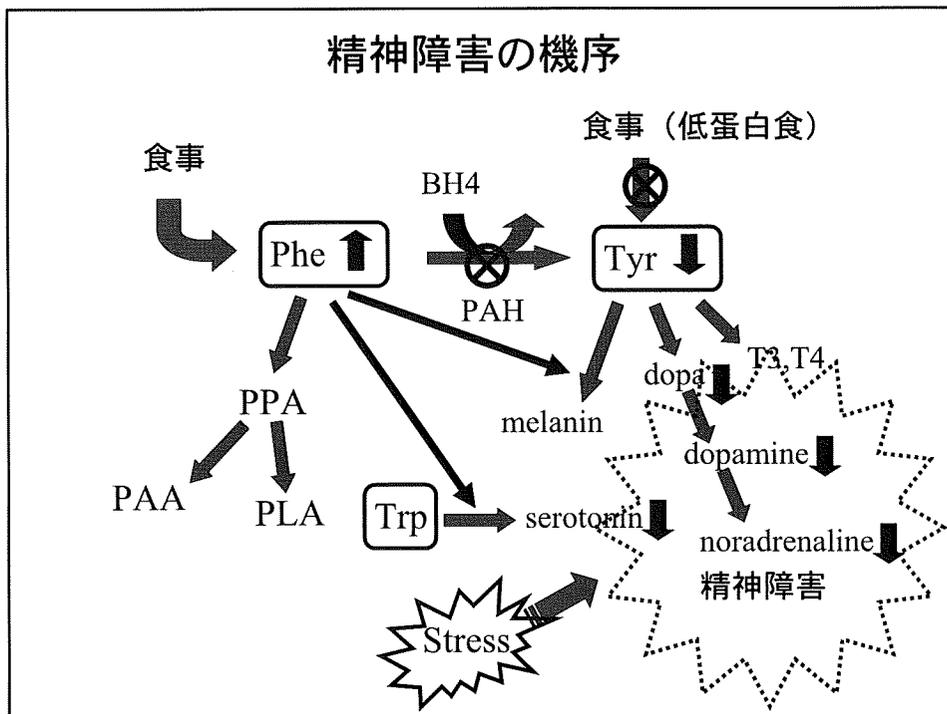
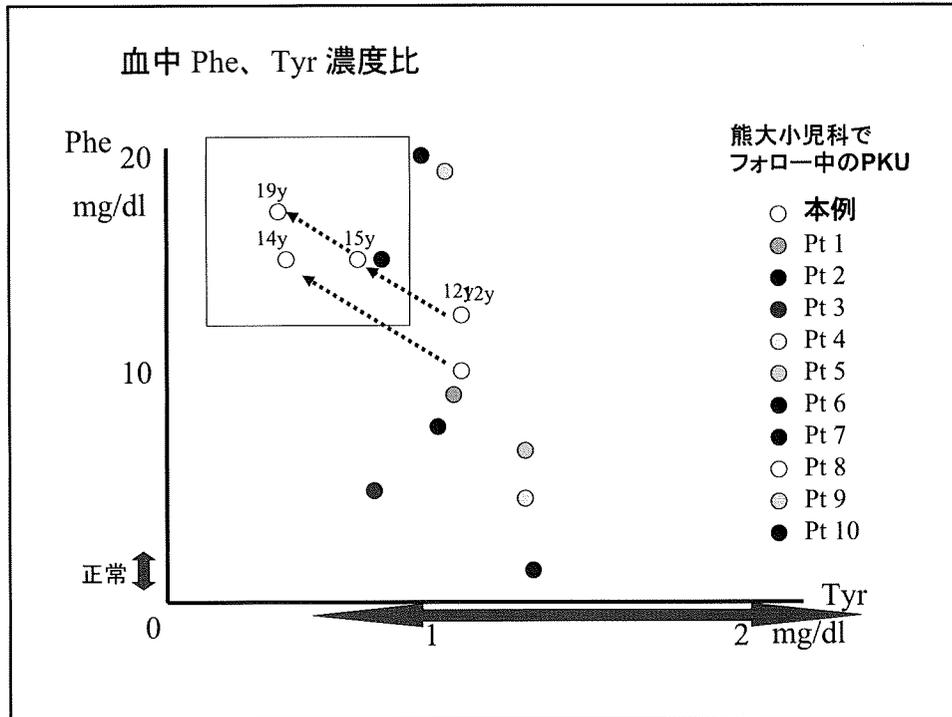


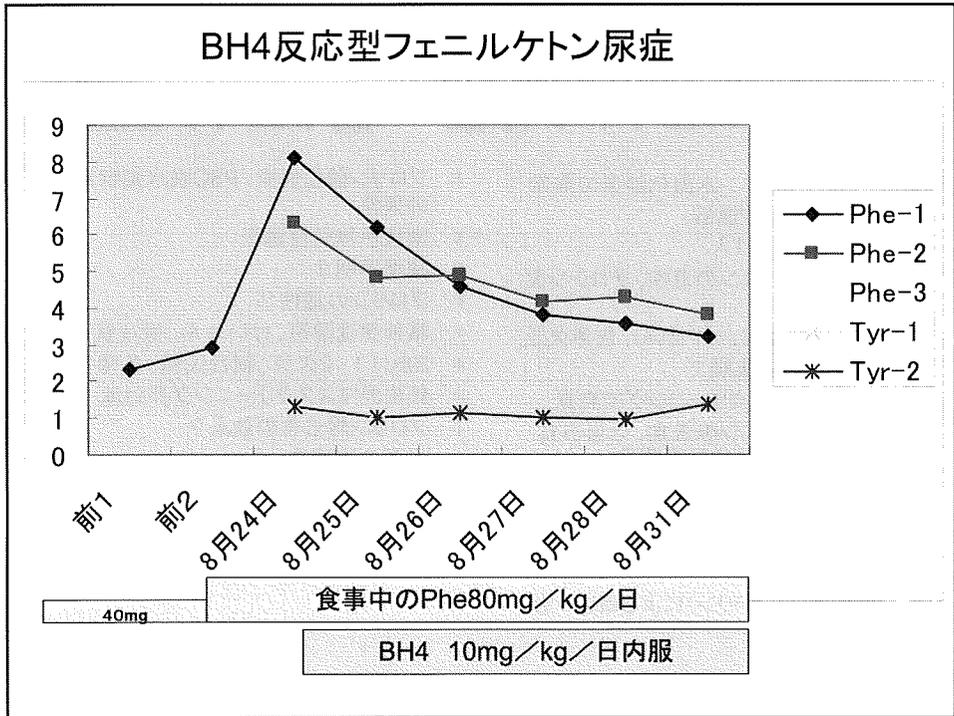
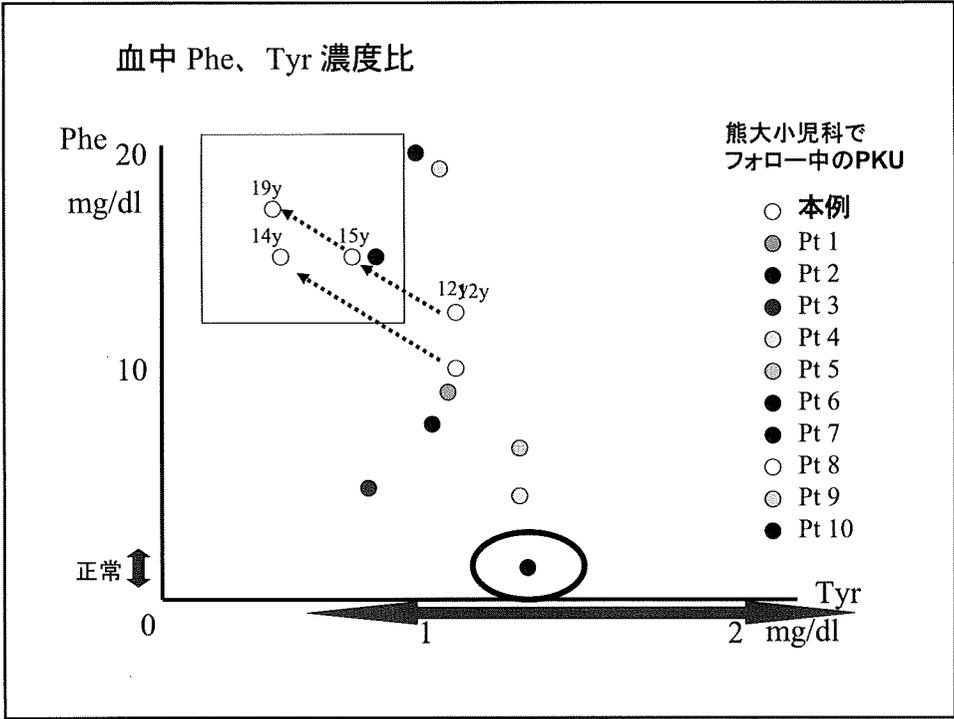
Diffusion-image

脳室周囲の白質に異常信号を認める

血中 Phe、Tyr 濃度







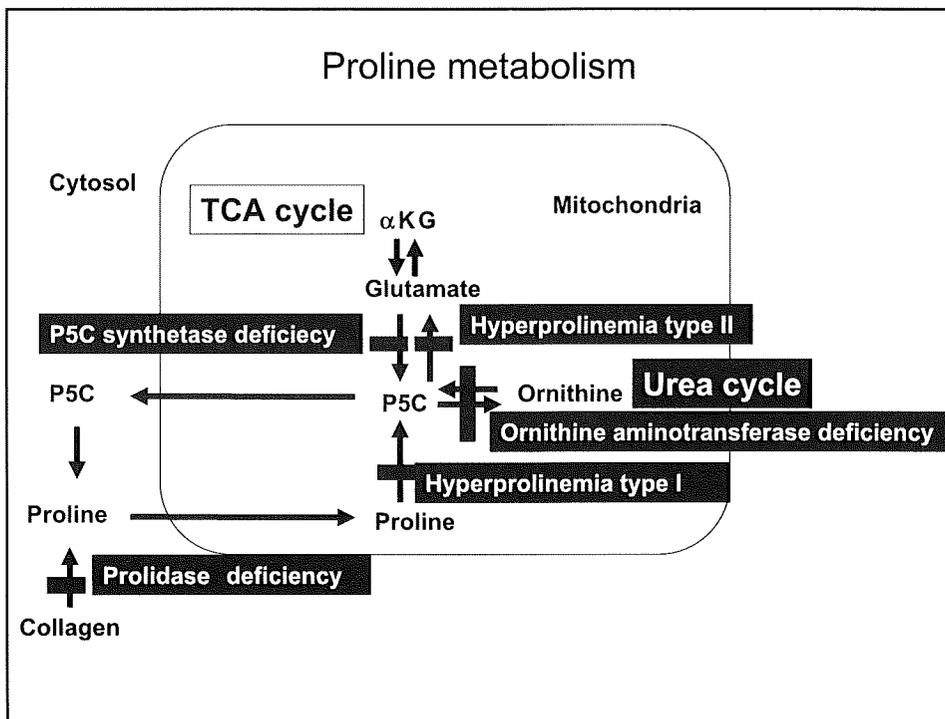
PKUの新しい治療



先天代謝異常症のシンボル

フェニルケトン尿症 高プロリン血症

- フェニルアラニン水酸化酵素の異常
- 常染色体劣性遺伝
- 8-10万人に1人
- フェニルアラニンの毒性、チロシン欠乏
- 精神発達障害、けいれん、色素欠乏
- うつ病、統合失調?
- 新生児マススクリーニングで発見
- フェニルアラニン除去食、低蛋白食で治療、新しい食材の開発
- 生涯の治療へ(気分障害の発症予防)
- Large neutral aminoacidsによる治療
- BH4(ビオプテリン)による新しい治療
- プロリン酸化酵素、P5C脱水素酵素の異常
- 常染色体劣性遺伝
- 頻度不明?
- プロリンの毒性?
- 精神発達障害、けいれん、無症状
- 22q11.2欠失、統合失調、多様?
- 新生児マススクリーニング非対象
- プロリン除去食の効果?
- 生涯の治療?
- 薬物療法?



Characteristics and molecular biology of human enzymes in proline metabolism

	P5C syntase	P5C reductase	OAT	Proline oxidase	P5C dehydrogenase	Prolidase
EC	None	EC1.5.1.2	EC2.6.1.13	None	EC1.5.1.12	EC3.4.13.9
Subcellular location	Mitochondrial inner membrane	Cytoplasm?	Mitochondrial matrix	Mitochondrial inner membrane	Mitochondrial matrix	Cytoplasm
Subunit size (kDa)	81	32/35	49	63	62	54.3
Structure	Hexamer	Homopolymer	Homoheptamer	Unknown	Homodimer	Homodimer
Cofactors	ATP, NAD(P)H	NAD(P)H	Pyridoxal phosphate	Unknown	NAD+	Mn ²⁺ , Co ²⁺ , Mg ²⁺ , Fe ²⁺
Activity in tissues	Small intestine mucosa, colon Pancreas, Brain Thymus	Ubiquitous	Ubiquitous	Liver, Kidney, Brain	Ubiquitous	Ubiquitous
Disease association	Hyperprolinemia		Gyrate atrophy	HPI	HPH	Prolidase deficiency
Genbank accession	U76542/U68758	P32322		U79754/AF120278.1	U24266	
Map location	10q24.3 to 24.6	17/1	10q26	22q11.2	1p36	19q12 to 13.11
mRNA(kb)	3.6	1.8/1.85	2.0	2.4	3.2	2.1 to 2.2
ORF(bp)	2385/2379	957/960	1317	1800	1689	1479
Comments	Two isoforms results from alternative splicing	Two isoforms encoded by separate genes				

高プロリン血症の症例

- 熊大例1例
Hyperprolinemia type II
- 九大例1例
Hyperprolinemia type II
- 金沢医大解析例7例
Hyperprolinemia type II 2例
分類不明5例

今後の課題

- アンケート
頻度調査、血中プロリン値、症状の多様性調査、診断の根拠、
治療法、臨床経過
- 文献調査およびその後の経過調査
- 再検査による血中プロリンおよび尿中代謝産物の解析
- 遺伝子解析
- 新生児マススクリーニングへのプロリン導入
- 精神障害(統合失調症)の中のプロリン値検査
- 治療法の検討
- 長期フォローアップ体制の確立

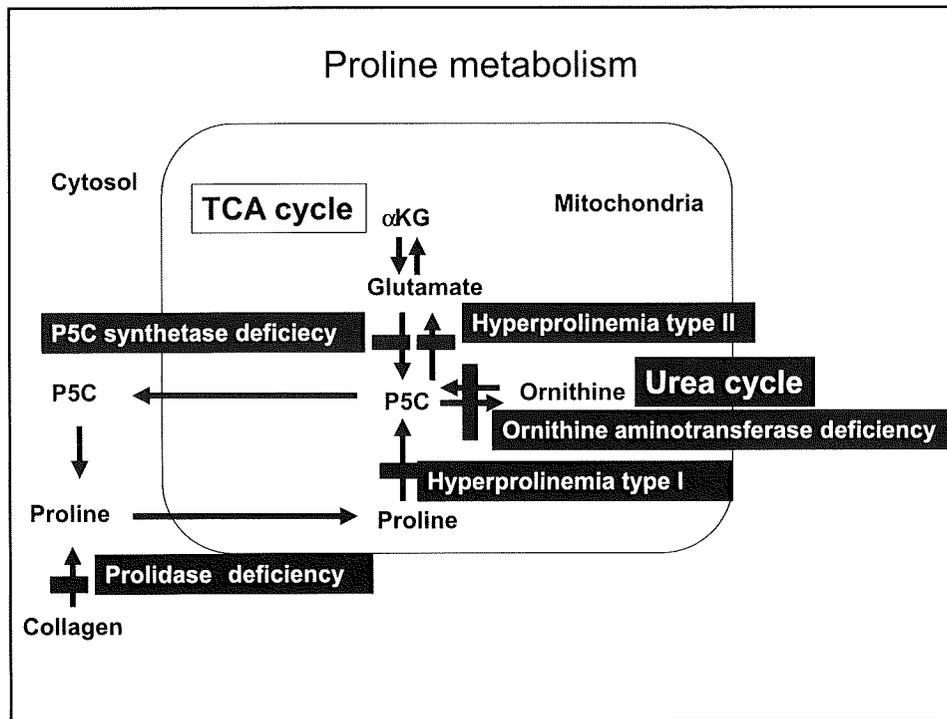
高プロリン血症の臨床的多様性の解明と新しい治療診断基準、および長期フォローアップ体制の確立に関する研究班

研究代表者

熊本大学医学部附属病院新生児学
特任教授三淵 浩

高プロリン血症概要

- 遺伝性高プロリン血症はⅠ型とⅡ型の2つのタイプに分類されている。いずれも常染色体劣性遺伝性でプロリン代謝経路に異常があり血中のプロリンが上昇する。Ⅰ型ではプロリン酸化酵素(POX)の異常、Ⅱ型ではP5C脱水素酵素の異常が判明している。
- Ⅰ型高プロリン血症の症状は報告によって一定していない。難治性のけいれんや精神発達の遅れを示す症例があるが、臨床症状を全く示さない報告もある。男児においては神経学的異常を呈する可能性が高い。Ⅱ型高プロリン血症でも難治性のけいれん(B6依存性など)や精神発達の遅れを示す症例と臨床症状を全く示さない報告がある。プロリン代謝異常と臨床症状との関連は不明な点が多く今後の課題である。
- 発生頻度は不明。
- 治療はプロリン制限食が試みられているが、効果は不明。



Characteristics and molecular biology of human enzymes in proline metabolism

	P5C syntase	P5C reductase	OAT	Proline oxidase	P5C dehydrogenase	Prolidase
EC	None	EC1.5.1.2	EC2.6.1.13	None	EC1.5.1.12	EC3.4.13.9
Subcellular location	Mitochondrial inner membrane	Cytoplasm? membrane assoc	Mitochondrial matrix	Mitochondrial inner membrane	Mitochondrial matrix	Cytoplasm
Subunit size (kDa)	81	32/35	49	63	62	54.3
Structure	Hexamer	Homopolymer	Homohexamer	Unknown	Homodimer	Homodimer
Cofactors	ATP, NAD(P)H	NAD(P)H	Pyridoxal phosphate	Unknown	NAD+	Mn ²⁺ , Co ²⁺ , Mg ²⁺ , Fe ²⁺
Activity in tissues	Small intestine mucosa, colon Pancreas, Brain Thymus	Ubiquitous	Ubiquitous	Liver, Kidney, Brain	Ubiquitous	Ubiquitous
Disease association	Hypoprolinemia		Gyrate atrophy	HPI	HPI	Prolidase deficiency
Genbank accession	U76542/U68758	P32322		U79754/AF120278.1	U24266	
Map location	10q24.3 to 24.6	17/1	10q26	22q11.2	1p36	19q12 to 13.11
mRNA(kb)	3.6	1.8/1.85	2.0	2.4	3.2	2.1 to 2.2
ORF(bp)	2385/2379	957/960	1317	1800	1689	1479
Comments	Two isoforms results from alternative splicing	Two isoforms encoded by separate genes				

研究の計画

- (1)本研究では我が国における高プロリン血症の発生状況を調査する。
- (2)特定の疾患グループにおける血中プロリン値の調査を行い発達障害、行動異常、精神疾患との関連を明らかにする。
- (3)新生児、小児、成人のそれぞれのコホートを作成し、集団における血液中のプロリン値を測定することとする。この測定には新規に我が国で開発された迅速アミノ酸測定装置(LC/MS法)を用いる。

高プロリン血症の症例の調査

- アンケート(高プロリン血症の診断あるいはプロリン異常高値)
全国の大学および基幹的病院1000施設
70%の回収率
結果 1例(高プロリン血症Ⅱ型)

J Inherit Metab Dis. 2007 Aug;30(4):515-21.
Quebec neonatal mass urinary screening programme: from micromolecules to macromolecules.
Auray-Blaos C, Cyr D, Drouin R.
There are two cases of prolidase deficiency, no case of hyperprolinemias in the screening of more than 2 500 000 newborns.

- 健常人の調査
人間ドッグにおいて500人の血中アミノ酸を調査
血中プロリン値は正規分布をとるが(51-271 μ M) 中には+2.5SD以上の人がいる。また老健施設において高プロリン血症疑い例1例

高プロリン血症Ⅱ型の1例

- 4歳、男児
- 両親血族結婚なし、兄が11カ月時にSIDSで死亡
- 既往歴に特記すべきことなし、けいれんなし
- 生来やや小柄、発達は正常。

4歳1カ月時に発熱、全身けいれん、意識障害で某病院に入院。インフルエンザAと判明し、インフルエンザ脳症と診断。血液のアミノ酸分析でプロリン2767 μ M、オルニチン211 μ M、尿中P5C陽性。その後、症状は軽快したが上記アミノ酸異常持続し、高プロリン血症Ⅱ型と診断された。

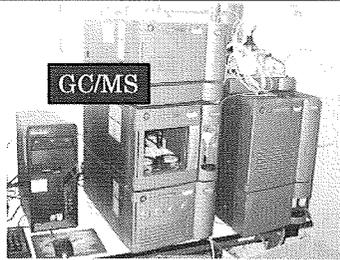
その後のけいれんなし、IQ96で正常発達を認めている。

現状における診断と治療指針

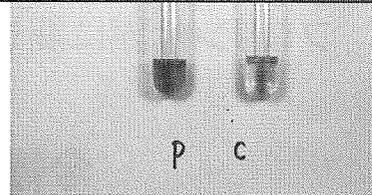
- 遺伝性高プロリン血症に特有な症状はないので、血中あるいは尿中のアミノ酸分析および尿中P5Cの検出が決め手となる。けいれんや発達障害、急性脳症などの報告もあり、このような症例では一般的なスクリーニングとして血中および尿中のアミノ酸分析を行う価値はある。血中プロリン値は高プロリン血症Ⅰ型において持続的に高値を示し、通常正常（51–271 μ M）の5–10倍（500–2600 μ M）と報告されている。Ⅱ型ではⅠ型より高く500–3700 μ Mで通常1500 μ M以上と報告されている。ただし、高乳酸血症を呈する疾患では2次的に高プロリン血症を合併することがあり注意を要する。Ⅰ型とⅡ型の鑑別はⅡ型はP5C脱水素酵素の異常であり、P5Cが上昇し尿中にP5Cが排出される。したがって尿中にP5Cが検出されなければⅠ型、検出されればⅡ型と診断できる。尿中のP5Cの検出はオルソアミノベンズアルデヒド反応により尿が橙黄色の発色を呈する。最近ではGC/MSを用いてP5Cの検出が可能である。また、Ⅱ型では血中オルニチンも上昇する。酵素活性の測定は培養リンパ球、末梢白血球、培養線維芽細胞を用いて可能である。また、遺伝子も単離されており、遺伝子解析も可能である。
- 治療指針については不明な点が多い。Ⅰ型はプロリン制限食が試みられ、血中プロリンの低下が達成されているが、その効果は不明である。無症状の例も多く、食事療法は必要ないとする意見もある。Ⅱ型については食事療法による血中プロリンの降下も困難とされ、その効果も不明である。しかし、無症状であっても、インフルエンザなどの罹患時に脳症などの発症ハイリスクが考えられ注意が必要である。

高プロリン血症の鑑別

	症状	血中プロリン値 (μM)	尿中 P5C
正常		51-271	検出せず
I 型	無症状 けいれん・発達障害 急性脳症	500-2600	検出せず
II 型	無症状 けいれん・発達障害 急性脳症	500-3700 通常1500以上 (オルニチンの 上昇)	+ 尿オルソアミノベンズ アルデヒド反応 尿GC/MS

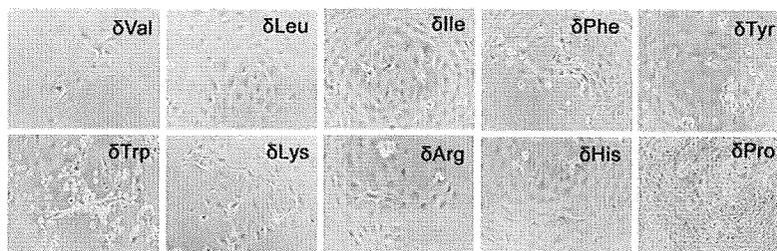


尿オルソアミノベンズアルデヒド反応



プロリン代謝に関連した新しい知見

- プロリン酸化酵素 (POX) 異常と発達障害、自閉症、統合失調症
- プロリン代謝と子宮内発育不全との関係
- POXと腫瘍増殖抑制、細胞分化への影響
- 低栄養ストレスに対するプロリン代謝の役割



唾液腺由来細胞でのアミノ酸の影響

考察・まとめ

■ なぜ高プロリン血症はすくないか

致死的？

無症状？

別の非特異的症候を呈している？

■ 臨床的多様性について

今回の調査では不明

血中プロリン濃度とは関係ないのでは

プロリン代謝に関連した別のメカニズムの存在



今後の課題

今後の課題

■ 高プロリン血症の調査

精神障害(統合失調症)自閉症、発達障害、
てんかん、急性脳症などハイリスク児での調査

■ 未検査例に対して血中プロリンおよび尿中代謝産物の解析

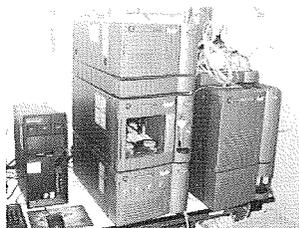
■ 遺伝子解析による臨床病型との関連の検討

■ 新生児マススクリーニングへのプロリン分析

■ 治療法、長期予後の検討

■ 健常者におけるプロリン高値の及ぼす影響の検討

■ 細胞レベルで検討



ろ紙血による
プロリン分析

