

## 分担研究課題

治療用特殊ミルクの効率的運用に関する研究

研究分担者 大浦敏博（仙台市立病院 副院長）

## 日本人 PKU 患者の栄養状況について

研究協力者 岡野善行（おかのこどもクリニック 院長）

### 研究要旨

フェニルケトン尿症(PKU)の食事療法では、蛋白質の摂取を厳しく制限しながら、エネルギー量および三大栄養素、微量栄養素を健常者とほぼ等しく摂取することが求められている。今回、推奨蛋白量の 80%以上をフェニルアラニン(Phe)除去ミルクと A-1/MP-11 から得ている幼児から成人 PKU 患者の栄養評価では、推奨量のカロリーと蛋白質が摂取され、良好な血中 Phe 値が得られていた。しかしながら、Phe 除去ミルクに無添加のセレン、ビオチンの摂取量は推奨量/目安量のそれぞれ 25.0 と 18.1%と著明に少なく、有添加のマグネシウム、亜鉛、ヨウ素、リンにおいても 70～80%と摂取不足を認めた。エネルギーの 51%、炭水化物の 38%、脂質の 67%、蛋白質の 82% が Phe 除去ミルクと A-1 / MP-11 由来であった。微量元素、ビタミンでは、自然食品からは推奨量/目安量の 50%以下しか摂取できず、その多くを Phe 除去ミルクと MP-11 に依存していた。Phe 除去ミルク、A-1 / MP-11 は蛋白質を補充すると共に、脂質、微量元素、ビタミンを供給し、小児だけではなく成人 PKU 患者にも必要不可欠であることを示していた。血中セレンは PKU 患者では基準値より低下しており、血中 Phe 値の低い良好なコントロールの患者ほど血中セレンは低下していた。血中総カルニチン、尿中遊離ビオチンは基準値より低下している症例が多く、ビオチン不足で増加する尿中 3-ヒドロキシイソ吉草酸は基準値より増加していた。今回の栄養評価では、成人 PKU 患者での Phe 除去ミルクの栄養学的な重要性を認めるとともに、セレン、ビオチンの摂取不足と体液中での低下を明らかにした。Phe 除去ミルクへのセレン、ビオチン、カルニチンの添加と A-1、MP-11 の微量元素の組成について再検討の必要性を示唆している。

### 研究協力者

大浦敏博（仙台市立病院、副院長）

渡邊敏明（大阪青山大学、教授）

渡邊涼子（大阪青山大学、教授）

藤井里香（大阪府立大学、大学院生）

服部俊一（大阪市立大学附属病院、管理栄養士）

藤本浩毅（大阪市立大学附属病院、管理栄養士）

野井香梨（大阪市立大学附属病院、管理栄養士）

岡本美紀（おかのこどもクリニック、管理栄養士）

酒本和也（大阪市環境保健協会）

重松陽介（福井大学・客員教授）

竹島泰弘（兵庫医科大学、教授）

玉置知子（兵庫医科大学、名誉教授）

### A．研究目的

フェニルケトン尿症（PKU）では学童から成人での治療の中断や不十分な治療により、高フェニルアラニン（Phe）血症による精神神経症状、行動異常、EEG や MRI の異常を来すことが報告されている。現在では良好な血中 Phe 値を生涯維持することが求められている。PKU の食事療法では、蛋白質の摂取を厳しく制限しながら、エネルギー

量および三大栄養素、微量元素の摂取を健康成人とほぼ等しくすることが目標となる。そのため、わが国では Phe 除去ミルク、Phe 除去アミノ酸粉末 (A-1) や低 Phe ペプチド粉末 (MP-11) が使用されている。

前年度では、古典型 PKU 患者の食事療法とその栄養バランスについて検討した。食事療法は 2010 年度版日本人の食事摂取基準をもとに、性別、年齢別の推奨蛋白量の 80-85%以上を Phe 除去代替物で補い、20%を自然蛋白から摂取することを原則とした。この食事療法では、摂取エネルギーは性別、年齢別の摂取基準の  $100.6 \pm 18.4\%$ 、蛋白質は推奨量の  $106.4 \pm 18.7\%$ 、Phe 摂取量は  $9.8 \pm 2.2 \text{ mg/kg/day}$  で、蛋白・脂肪・炭水化物 (PFC) 比率は  $9.5 : 23.9 : 66.6\%$ とやや低脂肪高炭水化物の傾向があったが、三大栄養素はほぼ推奨量等を満足しており、血中 Phe 値もほぼ良好に維持することができていた。しかしながら、微量元素とビタミンでは Phe 除去ミルクに添加されていないセレン、ビオチンは推奨量の 25.0%と 18.1%しか摂取できておらず、Phe 除去ミルクに添加されているマグネシウム、亜鉛、ヨウ素、リンは推奨量/目安量の 80%以下で摂取不足を認めていた。今年度は各栄養素の由来、すなわち、自然食品もしくは Phe 除去ミルク/ A-1/ MP-11 からの摂取量の割合を検討した。また、その摂取量が推奨量/目安量に比較して大幅に低下していたセレンとビオチン、そして、カルニチンについて PKU 患者で測定し、基準値と比較検討した。

## B . 研究方法

栄養評価は前年度に報告したように、古典型 PKU と診断された患者 14 人 (男 9 人、4 才から 38 才) について、2010 年度版日本人の食事摂取基準をもとに、性別、年齢別の推定エネルギー必要量 (中程度身体活動レベル) と三大栄養素、微量元素、ビタミンを評価した。そして、三大栄

養素と微量元素、ビタミンの由来を検討した。血中 Phe の測定は濾紙血を用い、大阪市環境保健協会での新生児マススクリーニング測定システムであるタンデムマス法により定量的に測定した。遊離もしくは蛋白結合の血中、尿中ビオチンの測定はマイクロプレイトを用いた *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 によるマイクロバイオロジカルアッセイで測定した。尿中 3-ヒドロキシイソ吉草酸の測定は 2-nitrophenyl- hydrazine hydrochloride による誘導体化後、HPLC で測定した。血清セレンは LSI メディエンス (Tokyo) にて測定した。

## (倫理面への配慮)

本研究の栄養調査と栄養評価はフェニルケトン尿症の通常の臨床医療上、必要な範囲内で行われている。そして、ヘルシンキ宣言および人を対象とする医学系研究に関する倫理指針を遵守して施行した。担当医師は、本試験の実施にあたっては倫理的な配慮と人権擁護へ十分な配慮を行い、試験内容について十分説明した上で、患者本人もしくは代諾者の同意を得ている。同意後であっても、本人/代諾者の意思によりいつでも中止が可能で、参加中止に伴う不利益は受けない。また、個人が同定できる形ではいかなる状況においても公表しないと説明している。

## C . 研究結果

### 1 . 摂取カロリーと三大栄養素の由来

各栄養素の由来では、摂取エネルギーの  $49.4 \pm 8.9\%$  が Phe 除去ミルクと A-1 / MP-11 から得られ、炭水化物で  $37.7 \pm 10.2\%$ 、脂質で  $66.7 \pm 9.7\%$ 、蛋白で  $82.1 \pm 5.5\%$  が Phe 除去ミルクと A-1 / MP-11 から得られていた。

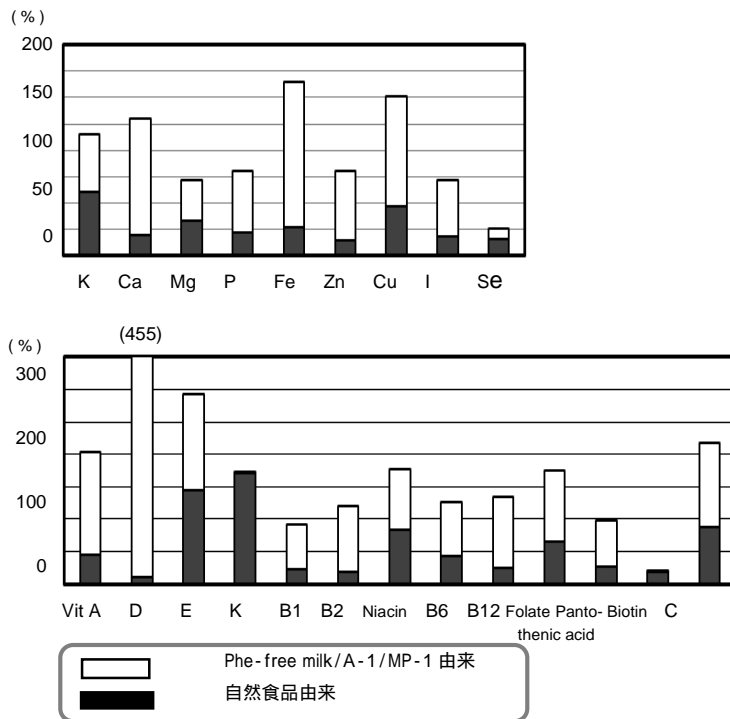


図 1. 微量元素とビタミンの推奨量/目安量に対する自然食品と Phe 除去ミルク/A-1/MP-11 からの摂取量

## 2. 日本人の食事摂取基準と微量元素とビタミン

微量元素とビタミンの摂取量を日本人の食事摂取基準（2010 版）の推奨量もしくは目安量と比較検討した（図 1）。微量元素では、幼児～成人の PKU 患者でセレンの摂取量が推奨量の  $25.3 \pm 16.2\%$  と著明に低下しており、マグネシウム（ $71.5 \pm 19.0\%$ ）、亜鉛（ $79.5 \pm 21.0\%$ ）、ヨウ素（ $71.0 \pm 17.5\%$ ）の摂取量が推奨量の 80% 以下に、リン（ $79.7 \pm 16.0\%$ ）が目安量の 80% 以下に低下していた。ビタミンでは Phe 除去ミルクに添加されていないビオチンが推奨量の  $18.1 \pm 13.5\%$  と著しい不足を生じていた。しかしながら、その他のビタミンでは全般的に食事摂取基準の推奨量もしくは目安量を満たしていた。また、耐容上限量を超えた患者はいなかった。微量元素とビタミン摂取の由来では、自然食品からは大部分の微量元素は推奨量もしくは目安量の 50% 以下にしかすぎず、その多くを Phe 除去ミルクと MP-11 から得ていた。

## 3. 体内セレンとビオチン量について（図 2）

血中セレン濃度を測定した PKU 患者 11 人全員がセレンの基準値（ $10.6-17.4 \mu\text{g/dl}$ ）より低下し、その平均値は  $5.66 \pm 2.12 \mu\text{g/dl}$  であった。血中総ビオチン量と遊離ビオチン量は解析した 9 人の中で基準値（ $1.6-3.7 \text{ ng/ml}$ 、 $0.4-1.1 \text{ ng/ml}$ ）より低下していたのは、それぞれ 4 人と 2 人のみであった。しかしながら、尿中遊離ビオチンの測定では 9 人中 8 人で基準値（ $4.4-25 \mu\text{mol/mol creat}$ ）より低下し、その平均値は  $1.48 \pm 1.66 \mu\text{mol/mol creat}$  であった。ビオチンの欠乏により上昇する尿中 3-ヒドロキシイソ吉草酸は測定した PKU 患者全員で基準値（ $3.3-12.0 \text{ nmol/mol creat}$ ）より増加していた。

## D. 考察

PKU の食事療法は繊細さが要求されるそして困難な治療法の一つである。PKU 患者に根源的な欲求であり楽しみのひとつである食事を制限する必要があるため、患者のコンプライアンスによってコントロールに大きな差ができる。

今回、年齢・性別相当の推奨エネルギー量と推

奨蛋白質量の 80% - 85% 以上を自然蛋白質の代わりに Phe 除去アミノ酸代替物で摂取することを指導した。14 名の PKU 患者のうち 1 人を除いてほぼ目標とする血中 Phe 値 (10 mg/dl 以下) を達成することができていた。その PKU 患者の栄養評価では摂取エネルギーの約 50% を Phe 除去ミルクと A-1/MP-11 から得ている。炭水化物では摂取量の 62% が自然食品由来であるのに対し、蛋白質では 18%、脂質では 33% にすぎない。すなわち、幼児から成人の PKU 患者では、蛋白質のみならず脂質も主に Phe 除去ミルクから供給されており、Phe 除去ミルクは Phe 除去蛋白質を補うのみならず、

低脂肪を補うためにも必要である。

一般の市販調整粉乳では牛乳を原料として使用することから、これらの原料由来の微量成分が含まれている。一方、Phe 除去ミルクでは精製原料 (アミノ酸粉末など) を使用することが多く、そのため、乳児に必要とされている量のビタミンやミネラルなどの微量元素を添加している。しかしながら、ビオチン、セレン、カルニチンなどの微量成分については食品添加物として調整粉乳への添加が日本では認められていなかったために、Phe 除去ミルク、A-1、MP-11 には含まれていない。(ビオチンは 2014 年に、セレンは 2016 年

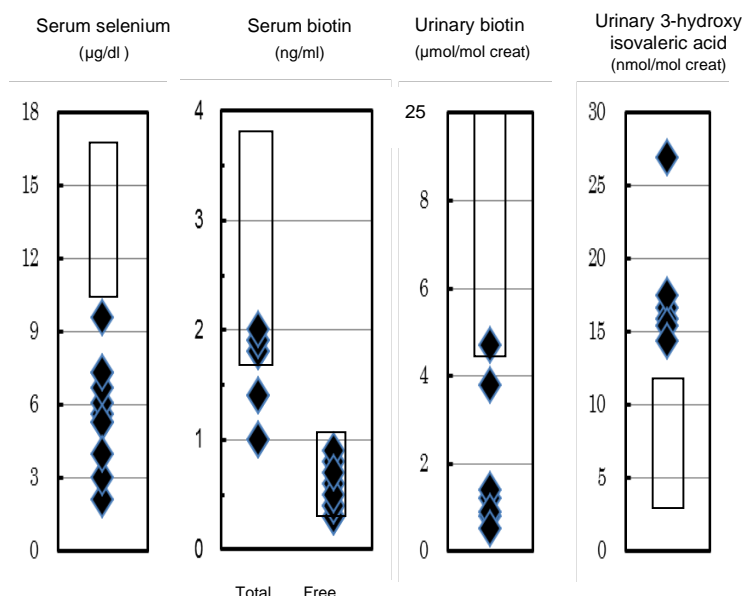


図 2 . PKU 患者の血中セレン、血中総/遊離ビオチン量、尿中遊離ビオチン量、尿中 3-ヒドロキシイソ吉草酸量

にその制限はなくなった。Phe 除去ミルク、A-1/MP-11 には現在も無添加である)。乳児期の PKU 患者ではビオチン、セレンは母乳や一般粉乳から供給される。しかしながら、幼児から成人 PKU 患者では高蛋白質食品に多く含まれるセレン、ビオチンは低蛋白質食療法のため、著しい低下を来している。

今回の栄養評価の結果では、4 才から成人までのすべての年代にわたってビオチンの摂取量は推奨量の  $18.1 \pm 13.5\%$  と低下していた。PKU 患者での血中、尿中ビオチンの測定では、血中での総ビオチン、遊離ビオチンの低下は明らかではなかつた。

しかしながら、尿中の遊離ビオチンは著明に低下しており、しかも、ビオチン依存性酵素である 3-メチルクロトニル CoA カルボキシラーゼ活性も低下し、尿中 3-ヒドロキシイソ吉草酸の増加が認められた。すなわち、PKU 患者ではビオチン摂取量の低下による体内ビオチン不足を生じていた。ビオチン欠乏症では食欲不振、皮膚の乾燥、びらん、脱毛、運動失調、筋緊張低下、発育遅延など様々な症状を呈する。わが国では調製粉乳にビオチンの添加が認められていなかったことから、アレルギー用ミルクや先天代謝異常症用ミルクの使用により、ビオチン欠乏症による皮

膚症状、脱毛などの症状が報告されている。PKU患者においても頑固な皮疹がビオチンの投与により軽快した症例が経験されている。ビオチン欠乏症は、催奇形性に関与しているという報告もなされている。妊娠を希望する成人期の女性 PKU 患者は母性フェニルケトン尿症の発症予防のために、より厳格な一般蛋白の制限されることから、ビオチン欠乏症による催奇形性について留意する必要がある。Phe 除去ミルクにビオチンを早急に添加する必要がある。

セレンは必須微量元素であり、魚介類、肉類、穀物、卵などに含まれており、通常の食生活をしている日本人では欠乏は生じない。しかしながら、低蛋白食療法を行う PKU 患者では血中 Phe の低下が報告され、長期の経静脈栄養や経腸栄養施行患者ではセレン欠乏症が報告されている。今回の栄養評価では、4 才から成人のすべての年代にわたってセレンの摂取量は推奨量の  $25.3 \pm 16.2\%$  と低下している。また、PKU 患者の血中セレン濃度の測定では基準値を大幅に下回っており、セレン摂取量の不足によるものと考えられた。

セレン欠乏症の症状は心筋障害、不整脈や心筋症による心不全をはじめ、皮膚症状、筋症状、毛髪の変化などが一般的に報告されているが、PKU 患者での症状の発現はまれである。セレン摂取量の低下と血中濃度の低下は thyroxine の血中濃度の上昇、glutathione peroxidase 活性低下による酸化ストレス状態をもたらすと報告されている。PKU 患者の種々の酸化ストレスマーカーによる評価では酸化ストレス状態にあることが強く示唆されている。そして、セレン補充を行った PKU 患者では glutathione peroxidase 活性の回復と酸化ストレスマーカーの改善が明らかにされている。また、母性 PKU ではより低い血中 Phe 値でコントロールするために、より強い蛋白制限食となり、血中セレン濃度の低下が著しいことが指摘されている。

今回の分析結果では、ほとんどの微量元素で自然食品からの供給は 50%以下に留まり、Phe 除去ミルク、A-1/MP-11 からの供給に大きく依存して

いる。ビタミン類はビオチンを除いて、Phe 除去ミルクに豊富に含まれているため、自然食品からの供給不足を十分に補っている。すなわち、PKU 患者では微量元素、ビタミンの摂取を Phe 除去ミルクと MP-11 におおきく依存しており、小児だけではなく成人 PKU 患者にも Phe 除去ミルクと MP-11 は必要不可欠であることを示していた。そして、その組成を最適にすることは非常に重要である。

Phe 除去ミルクは新生児から乳児期に、母乳もしくは一般粉乳と併用されることを前提にして、その栄養素が構成されているミルクである。そのため、離乳後の幼児から成人 PKU 患者の食事療法に対して、Phe 除去ミルク単独では良好な栄養状況を達成できるとは言えない。近年、海外では Phe 除去ミルク以外に幼児～学童用や成人用のアミノ酸代替物が作製されており、微量元素、ビタミン類を補強添加されていることが多い。また、サプリメントとして別に供給され、栄養学的に良好な改善を認めている。

## E．結論

今回の患者の栄養評価では、Phe 除去ミルク、A-1 / MP-11 は蛋白質を補充すると共に、脂質、微量元素、ビタミンを供給し、小児だけではなく成人 PKU 患者にも必要不可欠であることを示していた。微量元素、ビタミンでは患者のビオチン、セレンの摂取不足と体液での低下は著しく、早急に Phe 除去ミルクに添加される必要がある。もしくは、薬剤、サプリメントとして投与されるべきである。マグネシウム、リン、ヨウ素、亜鉛の微量元素についても MP-11 もしくは A-1 の組成を見直し、補充強化される必要がある。

## F．健康危険情報

なし

## G．研究発表

### 1．論文発表

1) Okano Y, Hattori T, Fujimoto H, Noi K, Okamoto M, Watanabe T, Watanabe R, Fujii R, Tamaoki T.; Nutritional status of patients with phenylketonuria in Japan. Mol Genet Metab Rep. 8:103-110 (2016).

## 2 . 学会発表

1) 岡野善行、渡邊敏明、渡邊涼子、藤井里香、服部俊一、藤本浩毅、野井香梨、岡本美紀；フェニルケトン尿症患者の栄養評価と体液中セレン、

カルニチン、ピオチン、3-ヒドロキシイソ吉草酸について .第 58 回 日本先天代謝異常学会、東京、2016 年 10 月 27 日～29 日)

## H . 知的財産権の出願・登録状況

### 1 . 特許取得

なし

### 2 . 実用新案登録

なし

### 3 . その他

