

大阪市立大学生活科学部紀要・第36巻(1988)

Duchenne型筋ジストロフィー児の尿中3-メチル ヒスチジン・クレアチニン比について

—測定条件の検討とベスタチン投与の影響—

平野久美子*・坂本吉正*・板垣泰子*¹・森 裕子*²
久保祥子*³・深井佐和子*³・神野倫子*⁴・森島泰子*⁴

Urinary 3-methylhistidine:creatinine ratio in the patients with Duchenne muscular dystrophy

— Studies on the condition for the measurement and the effect of oral
administration of Bestatin —

KUMIKO HIRANO, YOSHIMASA SAKAMOTO, YASUKO ITAGAKI, YUUKO MORI,
SYOUKO KUBO, SAWAKO FUKAI, TOMOKO ZINNO and YASUKO MORISHIMA

はじめに

3-メチルヒスチジンは筋蛋白のアクチンとミオシンに特異的に含まれる。これら蛋白の異化により血中に遊離しそのまま代謝、再利用されることなく尿中に排泄されるため、筋蛋白分解の有用な指標として認められている。¹⁾ また、クレアチニン排泄量は筋肉の絶対量に比例し、3-メチルヒスチジンのクレアチニンに対する比(以下3MH/Cr比と略す)は筋原線維蛋白の異化率に比例する²⁾³⁾とされている。

この考えに基づいてDuchenne型筋ジストロフィー⁴⁾⁵⁾⁶⁾をはじめ腫瘍や感染、低栄養、飢餓等の窒素損失と関連のある疾患において、筋原線維蛋白の異化率として3MH/Cr比が測定されるなど臨床に利用されることが多くなってきている。⁷⁾ ただ3-メチルヒスチジン法の問題点は外因性の3-メチルヒスチジンを如何に排除するかということである。一般に日常食では肉魚食品が用いられることが多く、ヒトでは肉魚由来の3-メチルヒスチジンをかなり摂取している。そのため尿中に排泄される3-メチルヒスチジンには内因性のものと食事性のものとが含まれているので、筋蛋白分解率の指標として尿中3-メチルヒスチジンを測定する場合には、72時間の

食事制限(肉魚食品禁止)と24時間蓄尿の2つの条件が最低守られる必要があるとされている。⁸⁾ このためには入院の上、食事制限、蓄尿が必要であるが、対象が低年齢層の場合、患児、家族の負担がかなり大きいものとなる。そこで本研究では予備研究で、正常成人女子を対象として食事制限時間の短縮と部分尿使用の可能性について以下の考えに基づいて検討した。

尿中には3-メチルヒスチジンの他にも数種類のメチルアミノ酸が排泄されている。⁹⁾ その一つである1-メチルヒスチジンはβ-アラニンとのジペプチド、アンセリンとして肉魚類に存在している。¹⁰⁾ そして尿中の1-メチルヒスチジンの大部分は、摂取した肉魚食品中のアンセリンからのものであることが示されている。¹⁰⁾ 一方、1-メチルヒスチジンは3-メチルヒスチジンとは異って、ヒトの骨格筋には存在しないので内因性の尿中排泄量は低値である。¹⁰⁾ 最近Sjölinら¹⁰⁾が1-メチルヒスチジンの尿中排泄量が外因性の3-メチルヒスチジン摂取量の指標として役立つかもしれないと報告している。従って1-メチルヒスチジンを指標にして食事性3-メチルヒスチジンをチェック排除することができるかどうか。そうならば現在行われている食事制限時間を、より短縮すること、24時間尿を部分尿とすることができるの

* 大阪市大生活科学部児童保健

* 1 国立療養所宇多野病院小児科

* 2 大阪市大生活科学部児童学科昭和61年卒

* 3 大阪市大生活科学部児童学科昭和62年卒

* 4 同 上 昭和63年卒

ではないかと考え、肉魚食品摂取と尿中3MH/Cr比、1MH/Cr比との関連を検討した。

以上の予備研究の後、Duchenne型筋ジストロフィー児の尿中3MH/Cr比について研究した。食事制限時間を15時間に短縮、部分尿を用いた。また同時に1MH/Cr比を測定し肉魚禁止の指示が守られているかどうかをチェックした。

Duchenne型筋ジストロフィー児は筋萎縮、筋力低下が進行する遺伝性疾患である。大多数は10才頃までに歩行不能となり20才頃までに死亡する。¹¹⁾ その病態は筋蛋白分解の異常亢進であると考えられている。¹¹⁾

本研究ではDuchenne型筋ジストロフィー児と正常学童の尿中3MH/Cr比の比較、Duchenne型筋ジストロフィー児の尿中3MH/Cr比と年齢、障害度、体重・身長比との関連を調べた。さらに、Duchenne型筋ジストロフィー児に対して、これまでに多くの治療が試みられてきたが、現時点でもまだ本質的な治療法は確立していない。最近、細胞膜蛋白の異常分解が原因であることが判明し、¹¹⁾¹²⁾ この異常を矯正するためにプロテアーゼ阻害剤の使用による対症療法が試みられつつある。¹³⁾¹⁴⁾ そこで本研究でもDuchenne型筋ジストロフィー児にプロテアーゼ阻害剤の一つ Bestatin の投与を試み、3MH/Cr比に影響がみられるかどうかについても検討した。尚、Bestatin (以下ベスタチン) は梅沢¹⁵⁾らにより *Streptomyces olivoreticuli* の培養液に発見された低毒性、低分子量のペプチドで、哺乳動物の細胞表面に存在するアミノペプチダーゼBおよびロイシナーミンペプチダーゼの活性を拮抗阻害する。その化学式は $C_{16}H_{24}N_2O_4$ 、構造式は 3-(R)-amino 2-(5)-hydroxy-4-Phenylbutanoyl-(S)-leucine で無臭の白色結晶性粉末、苦味を呈する物質である。

実験方法

1. 研究対象および採尿

最初に正常成人女子(21才-23才)14名を対象として尿中3MH/Cr比、1MH/Cr比の個体間変動を検討した。また、このうちの2名について、個体内変動、肉魚食品摂取の影響について検討した。

尿は早朝第一尿を用いた。但し個体内変動の検討に際しては排泄時毎の尿を採取した。

次にDuchenne型筋ジストロフィー児の尿中3MH/Cr比の検討では、国立療養所宇多野病院に入院または通院中の患児23名(3才-21才)および対照として大阪市立小学校3年生(8才)の健康児27名(男10名、女17名)を対象とした。

さらに、Duchenne型筋ジストロフィー児のうち7名(4-8才、障害度1度)にベスタチン投与を試みた。すなわちdouble blind法で4名にはベスタチンを、3名にはプラセボを1日300mgを経口投与した。投与期間は昭和60年12月から昭和61年9月までの9カ月間である。投与開始前と投与後3カ月、6カ月、9カ月の尿中3MH/Cr比、1MH/Cr比を測定した。

採尿前日の夕食から当日の朝食まで肉魚食品禁止として(約15時間)採尿した。採尿後、冷凍保存し測定直前に解凍して用いた。

2. 尿中クレアチニンの測定

クレアチニンはFolin¹⁵⁾の方法で定量した。すなわち尿0.1mlに飽和ピクリン酸2ml、10%水酸化ナトリウム溶液0.4mlを加え室温で30分放置後発色した橙色の溶液に脱イオン水を加え総量20mlとする。よく混和後Baush Lomb型比色計で520m μ における吸光度を測定した。ブランクは尿のかわりに脱イオン水を用いた。標準液は0.01%クレアチニン液1mlを用いた。次いで尿1ml当りのクレアチニン量(mg)を計算した。

3. 尿中1-メチルヒスチジン、3-メチルヒスチジンの分離および測定

直径1cmのクロマト管にあらかじめ作製した樹脂Dowex 50W \times 4(200-400 mesh)2,6-ルチジン型を充填する。樹脂柱の高さは1cmとする。このカラムに尿1mlを通し次いで10%2,6-ルチジン溶液20mlでイミダゾールアミノ酸分画(ヒスチジン、1-メチルヒスチジン、3-メチルヒスチジン)を溶出した。ビーカーに集めた溶出液をホットプレート(200 $^{\circ}$ C)上で蒸発乾固し、その乾固物を0.1mlの脱イオン水で再び溶解したものを試料とした。試料を15cm \times 16cmの東洋濾紙No.50の濾紙上の一点(左および下端より1.5cm)にクロマト用ピペットを用いて10 μ lをヘヤードライヤーで乾燥させながら塗布した。そして上昇法二次元ペーパークロマトグラフィーを行なった。展開溶媒は第一次元、二次元ともメタノール・ピリジン・脱イオン水(8:4:20)を用いた。第一次元方向に展開後とり出し風乾し、再度同方向に展開後風乾し、次に方向を変えて第二次元方向に1回展開した。展開後風乾し0.2%ニンヒドリンアセトン溶液に浸漬し風乾後、正確に80 $^{\circ}$ C10分間加熱発色させた。1-メチルヒスチジン、3-メチルヒスチジンに相当する発色斑(図1)をそれぞれ切り抜き、これを別々に試験管に入れ50%メタノール液3.5mlを加えニンヒドリン発色色素を抽出した。抽出液の570m μ における吸光度を測定した。1-メチルヒスチジンおよび3-メチルヒスチジンそれぞれの検量曲線から値を求めた。次いで尿1



図1. 尿中Methylhistidineのペーパークロマトグラム
mlあたりのクレアチニン量 (mg) と1-メチルヒスチジン、3-メチルヒスチジン量 (μmol) から1MH/Cr比、3MH/Cr比 ($\mu\text{mol}/\text{mg}$) を算出した。

4. 機能障害度

機能障害度は厚生省班会議基準¹⁶⁾によったもので診断カルテにより調べた。

5. 体重・身長比

身長、体重は診断カルテにより調べた。患児と同姓、同年令、同身長に該当する健常児の身長適正体重に対する患児の実測体重比を算出し、これを体重・身長比¹⁶⁾とした。

6. 肉魚食品摂取量

対象が1日に食べた肉魚およびその加工品の種類とおよその摂取量をアンケート調査法による食事記録から調べた。

実験結果

1. 肉魚食品摂取と尿中3MH/Cr比、1MH/Cr比との関連

1) 尿中3MH/Cr比の個体間変動と1MH/Cr比
図2に示すように正常成人女子の肉魚禁止食時(72時

間)の3MH/Cr比は 0.128 ± 0.045 、1MH/Cr比は 0.097 ± 0.042 で両値とも低値であった。また個体間変動中も小さかった。尚この時の3MH/Cr比、1MH/Cr比の平均値+1SDをそれぞれの基礎値とすることにした。日常食摂取時の1MH/Cr比の平均値は基礎値の約12倍の高値であった。また個体間変動も大きかった。3MH/Cr比も日常食摂取時では高値を示したが、その差は基礎値の約1.3倍で、1MH/Cr比ほどの上昇ではなかった。また、個体間変動もみられたが、1MH/Cr比にくらべると小さかった。採尿前日の夕食から当日の朝食まで肉魚禁止食摂取時尿については、1MH/Cr比の平均値は 0.155 ± 0.061 で基礎値の約1.1倍高く、有意の差があった。一方3MH/Cr比の平均値は 0.131 ± 0.007 で基礎値との間に差はみられなかった。

2) 3MH/Cr比と1MH/Cr比の相関

成人女子14名の3MH/Cr比、1MH/Cr比のデータから両値の相関を調べた。肉魚禁止食摂取時では両値の間に相関はみられなかったが、日常食摂取時では有意の相関がみられた($P < 0.05$)。また、1MH/Cr比が基礎値0.139以下の場合に3MH/Cr比がその基礎値0.173を越える者は認められなかった。(表1)

3) 3MH/Cr比の個体内変動と1MH/Cr比

被検者A、Bの2名について、日常食摂取時および肉魚禁止食摂取時(72時間)の1個体内における日内変動を調べた。肉魚禁止食摂取時では図3に示すように3MH/Cr比、1MH/Cr比ともに日内変動はほとんどみられなかった。また1日尿と部分尿との間の差も低値であった。一方、日常食摂取時では1MH/Cr比は被検者の2人ともかなり大きい日内変動がみられた。3MH/Cr比も1MH/Cr比が高値を示したBで変動がみられた。しかし1MH/Cr比にくらべるとその変動中はかなり小さかった。

4) 3MH/Cr比におよぼす肉魚摂取の影響と1MH/Cr比

被検者A、Bの2名を対象として、鶏肉、豚肉、牛肉、鮭の4種類について摂取の影響を調べた。摂取量は1日 $120 \pm 34\text{g}$ である。摂取した翌朝第一尿の3MH/Cr比、1MH/Cr比を測定した。3MH/Cr比は図4に示すように、鶏肉摂取時において上昇が著しかった。先に示した基礎値にくらべて約8倍の高値であった。牛肉、豚肉摂取後は基礎値の約1.1倍の増加であった。鮭摂取時はほとんど増加がみられなかった。尿中3-メチルヒスチジン量は肉魚食品の摂取量に影響されるだけでなく(表2)その種類によっても影響され、差がみ

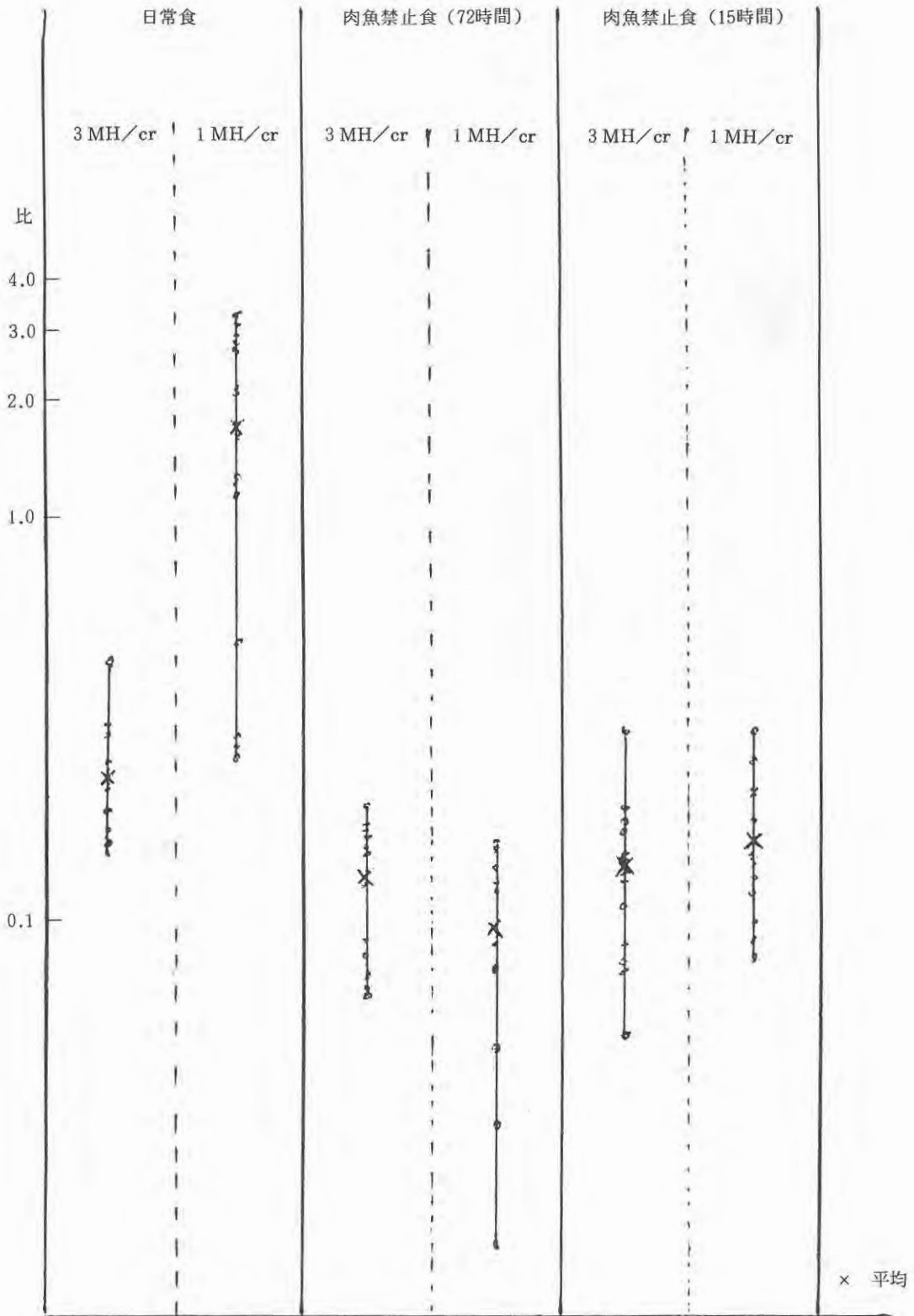


図2 正常成人女子の日常食時および肉魚禁止食時の尿中 3 MH/cr比と 1 MH/cr比の分布

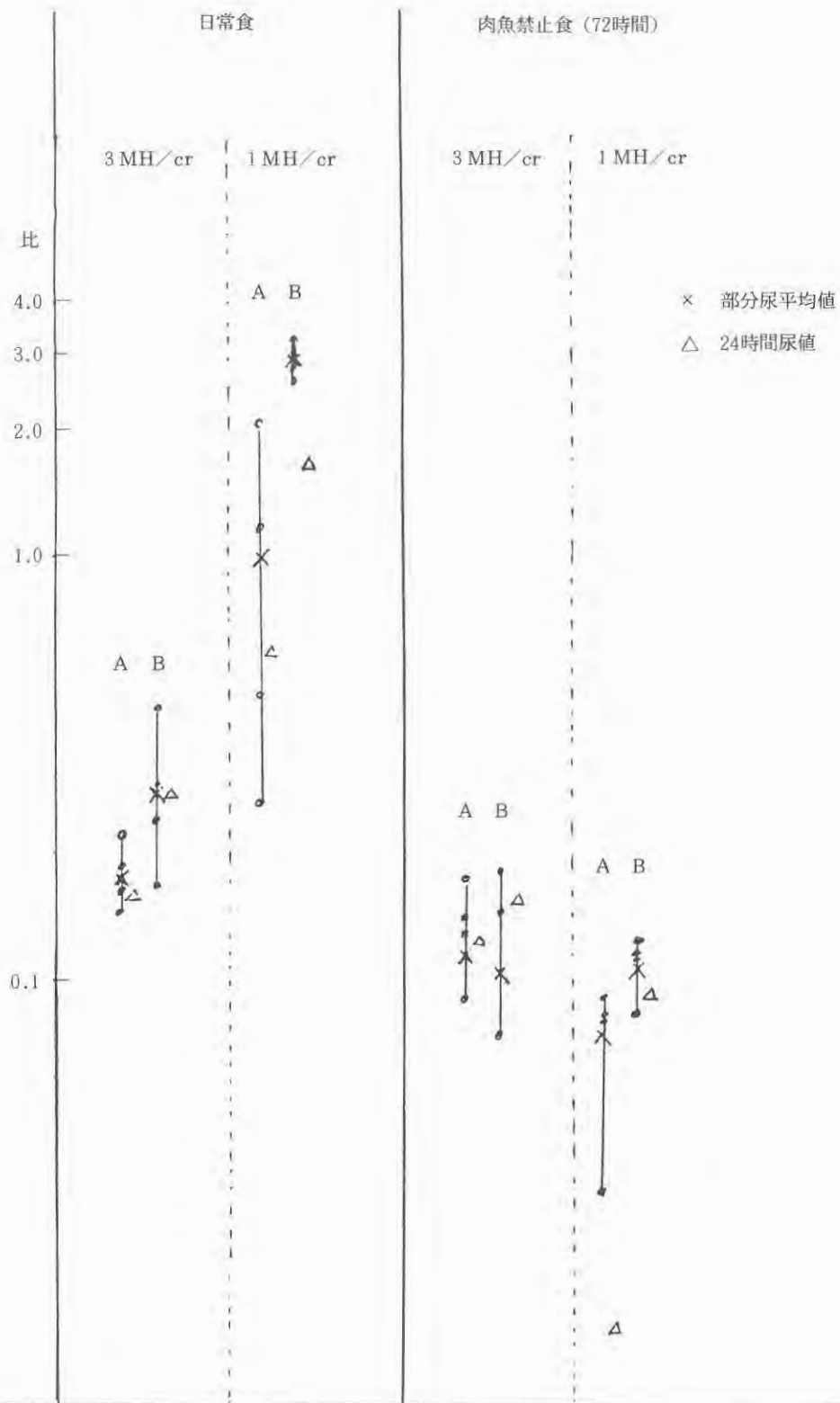


図3 日常食時および肉魚禁止食時の尿中1 MH/cr比、3 MH/cr比の個体内変動

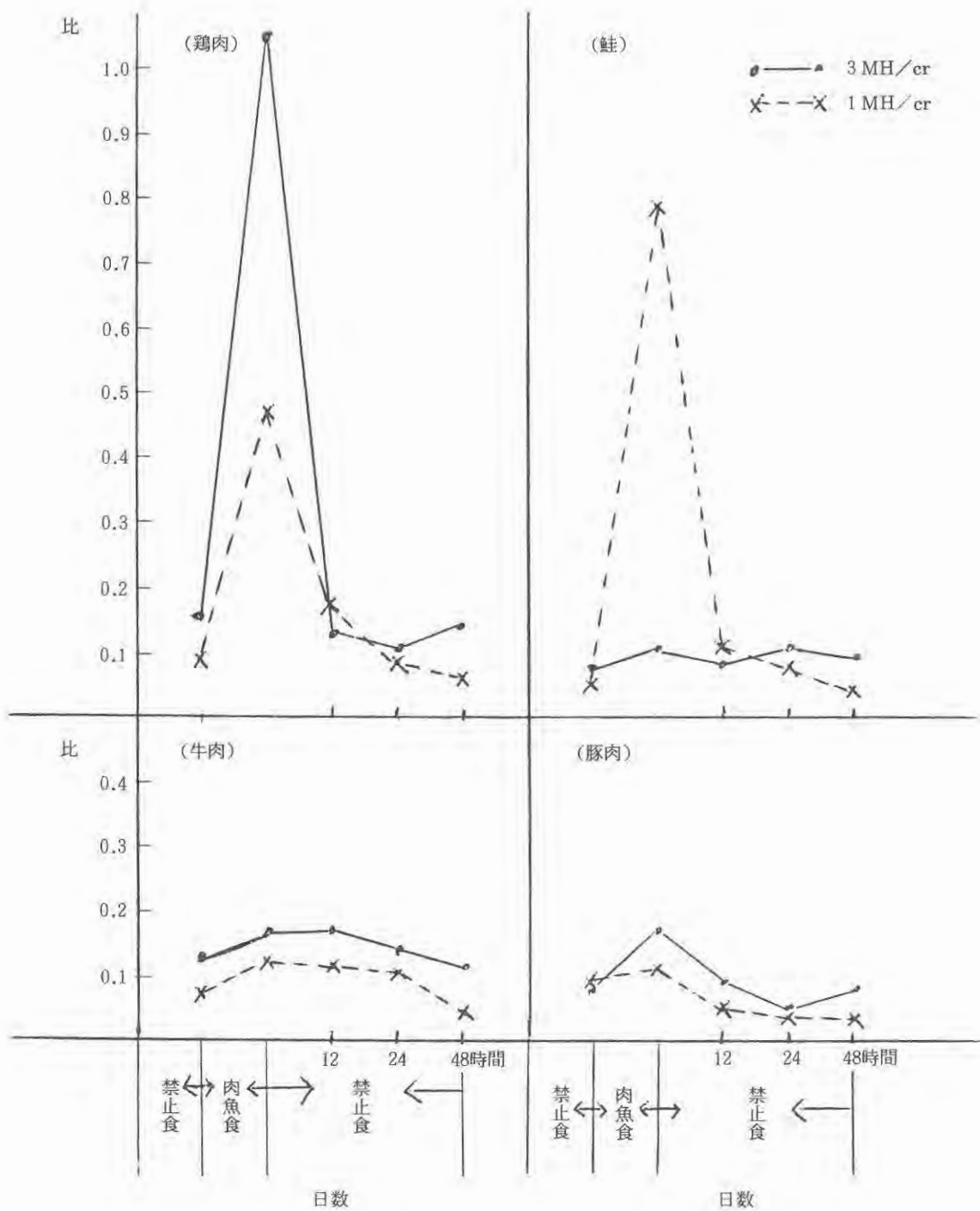


図4 尿中1 MH/cr比, SMH比におよぼす肉魚食品摂取の影響

表1. 正常成人女子の日常食時および肉魚禁止食時の尿中3MH/cr比と1MH/cr比

食事 メチルヒスチジン 対象	日常食		肉魚禁止食 (72時間)		肉魚禁止食 採尿前日の夕食 から当日の朝食	
	3MH/cr	1MH/cr	3MH/cr	1MH/cr	3MH/cr	1MH/cr
1	0.187	0.257	0.191	0.154	0.172	0.283
2	0.212	2.082	0.173	0.117	0.162	0.091
3	0.162	1.137	0.151	0.150	0.079	0.117
4	0.153	0.251	0.079	0.117	0.146	0.117
5	0.146	0.481	0.162	0.091	0.073	0.121
6	0.238	3.285	0.089	0.099	0.051	0.207
7	0.166	2.618	0.163	0.074	0.290	0.144
8	0.436	2.844	0.067	0.088	0.180	0.175
9	0.293	2.849	0.066	0.132	0.106	0.080
10	0.299	3.096	0.176	0.031	0.140	0.207
11	0.243	0.268	0.146	0.117	0.130	0.146
12	0.298	1.610	0.073	0.121	0.086	0.098
13	0.223	1.600	0.130	0.047	0.123	0.138
14	0.201	1.276	0.125	0.015	0.127	0.249
平均	0.233 ±0.078	1.691 ±1.120	0.128 ±0.045	0.097 ±0.042	0.131 ±0.007	0.155 ±0.061
最高値と 最低値の 差	0.290	3.028	0.125	0.123	0.239	0.203
3MHと 1MHの 相関	$\alpha = 0.570$		$\alpha = 0.079$		$\alpha = 0.135$	

表2. 成人女子の夕食における肉魚摂取量と3MH/cr比、1MH/cr比

肉魚摂取量	人数	3MH/cr	1MH/cr
50g未満	2	0.170±0.024	0.254±0.004
50g以上～ 100g未満	5	0.195±0.041	0.952±0.559
100～150	5	0.281±0.103	2.401±0.540
150～200	1	0.299	3.096
200g以上	1	0.238	3.285
計	14	0.233±0.078	1.691±1.120

られることが示された(図4)。1MH/Cr比についても、肉魚食品摂取後の上昇の程度は種類によって異なり、鮭摂取時が最も高値を示し次いで鶏肉摂取時であった。豚肉、牛肉摂取時の1MH/Cr比の上昇はわずかであった。肉魚摂取後の3MH/Cr比、1MH/Cr比の上昇の程度は鮭摂取時にみられるように必ずしも一致しなかった。

次いで、これら4種類の肉魚摂取後、肉魚禁止食とし、

肉魚禁止食24時間目、48時間目、72時間目の3MH/Cr比、1MH/Cr比の変化を調べた。両値とも平均値では肉魚禁止食24時間目ではほぼ基礎値にまで低下していた。

II Duchenne型筋ジストロフィー児の尿中3MH/Cr比の研究

Duchenne型筋ジストロフィー児30名、正常学童52名を対象として採尿前日の夕食から当日の朝食まで(約15時間)肉魚禁止として採尿した。尿中1MH/Cr比が先に示した基礎値0.139以下の者は、このうちDuchenne型筋ジストロフィー児23名、正常学童27名であった。以下はこれらを対象として分析した結果である。

1) Duchenne型筋ジストロフィー児の尿中3MH/Cr比

Duchenne型筋ジストロフィー児の尿中3MH/Cr比の平均値は0.344±0.162で、正常学童の0.147±0.061に比し約2.3倍の高値であった(表3)。

表3. Duchenne型筋ジストロフィー児と正常学童の尿中3MH/cr比

区分	対象	Duchenne型筋ジストロフィー児			正常学童		
0.0	0.095				0.020	0.081	0.086
					0.088	0.094	
0.1	0.147	0.174	0.181		0.101	0.104	0.109
					0.115	0.118	0.118
					0.123	0.134	0.136
					0.138	0.141	0.149
					0.163	0.170	0.187
					0.196	0.196	
0.2	0.203	0.266	0.297		0.206	0.220	0.233
					0.262	0.290	
0.3	0.302	0.302	0.304				
	0.309	0.336	0.347				
0.4	0.414	0.419	0.422				
	0.435	0.439	0.464				
	0.479	0.480	0.483				
0.5							
0.6	0.656						
平均	0.344±0.162			0.147±0.061			

2) Duchenne型筋ジストロフィー児の尿中3MH/Cr比と障害度、年齢、体重・身長比との関連

Duchenne型筋ジストロフィー児の尿中3MH/Cr比と障害度、年齢、体重・身長比との間には、いずれの項目についても関連はみられなかった(表4)。

表 4. Duchenne 型筋ジストロフィー児における障害度、年齢、体重・身長比別尿中 3MH/cr 比

項目	分類	人数	3MH/cr 比
障害度	軽度 (1, 2, 3)	12	0.314±0.165
	中等度 (4, 5, 6)	7	0.360±0.100
	重度 (7, 8)	4	0.327±0.134
年齢	就学前 (6才未満)	6	0.310±0.144
	学童・生徒 (6~15才)	10	0.348±0.153
	成人 (15才以上)	7	0.325±0.121
体重・身長比	80% 未満	7	0.382±0.118
	80% 以上	16	0.330±0.128

表 5. Duchenne 型筋ジストロフィー児の尿中 3MH/cr 比におよぼすベスタチン投与の影響

経過 対象	投与 開始前	投 与 後			
		3カ月	6カ月	9カ月	
ベ ス タ チ ン 群	1	0.480	0.265	0.206	0.224
	2	0.336	0.261	0.221	0.221
	3	0.095	0.201	0.330	0.324
	4	0.174	0.294	0.133	0.175
	平均	0.271 ±0.172	0.256 ±0.037	0.223 ±0.081	0.236 ±0.063
プ ラ セ ボ 群	1	0.266	0.300	0.372	0.394
	2	0.483	0.293	0.404	0.428
	3	0.181	0.292	0.210	0.276
	平均	0.310 ±0.156	0.295 ±0.004	0.329 ±0.104	0.366 ±0.080

3) Duchenne型筋ジストロフィー児の尿中 3MH/Cr 比におよぼすベスタチン投与の影響

ベスタチンを Duchenne 型筋ジストロフィー児に経口投与し、尿中 3MH/Cr 比におよぼす影響をプラセボ群と比較検討した。結果は表 5 に示すように、ベスタチン群、プラセボ群ともに投与後 3カ月、6カ月、9カ月時点の 3MH/Cr 比の平均値は投与開始時の値とほとんど変わらなかった。しかし、9カ月時点の両群の平均値はベスタチン群が 0.236±0.063 であったのに対しプラセボ群は 0.366±0.080 でプラセボ群の方が有意に高値であった。尚、開始時の値は両群間に有意の差はなかった。

考 察

尿中 3MH/Cr 比は筋原線維蛋白分解率の有用な指標として認められている。¹⁾ ただ問題点は食事性 3-メチルヒスチヂンを排除するために、72時間の食事制限

(肉魚禁止)と24時間蓄尿が最低必要条件とされていることである。⁸⁾

ところで尿中に排泄されている各種メチルアミノ酸の中で、1-メチルヒスチヂンは食事由来のものが大部分で、摂取した肉魚食品中のアンセリンからのものであることが示されている。¹⁰⁾ このことから Sjölin¹⁰⁾ らは 1-メチルヒスチヂンが食事性 3-メチルヒスチヂンの指標として役立つかもしれないことを示唆した。

そこで本研究では 1-メチルヒスチヂンを指標にして食事性 3-メチルヒスチヂンをチェック排除することができれば、現在の 72時間の食事制限時間をより短縮し、また 24時間尿を部分尿とすることが可能になるのではないかと考え、そこで最初に成人女子を対象として、肉魚食品摂取と尿中 3MH/Cr 比、1MH/Cr 比との関連について予備研究を行なった。

72時間肉魚禁止食摂取時の 3MH/Cr 比は 0.128±0.045、1MH/Cr 比は 0.097±0.042 で低値であった。3MH/Cr 比は Seashore¹⁸⁾ や高木¹⁹⁾ の成績とほぼ一致した。尚、この時の値をそれぞれの基礎値とすることにした。

一方、日常食摂取時では 3MH/Cr 比は基礎値の 1.3倍、1MH/Cr 比は 12倍の上昇を示し、肉魚食摂取後、3MH/Cr 比、1MH/Cr 比は明らかに増加した。特に 1MH/Cr 比の方が増加量が大きかった。Sjölin¹⁰⁾ も肉魚摂取の指標として 3-メチルヒスチヂンよりも 1-メチルヒスチヂンの方が感度が高いと述べている。

肉魚の種類別では鶏肉摂取後の 3MH/Cr 比、1MH/Cr 比の上昇が最も目立った。Sjölin¹⁰⁾ も分析した 10種類の肉魚の 1-メチルヒスチヂンの含量はさまざまで、鶏肉中の 1-メチルヒスチヂン量が非常に高く、鶏肉摂取後 1-メチルヒスチヂンの尿中排泄量が非常に高値を示すことを認めている。鮭摂取後の尿中 3MH/Cr 比は上昇を示さず基礎値と差がなかった。しかし尿中 1MH/Cr 比は基礎値の約 5.7倍の上昇を示した。牛肉、豚肉摂取後の 3MH/Cr 比、1MH/Cr 比の上昇はいずれも基礎値の 1.1倍程度でわずかであった。このように肉魚摂取後の 3MH/Cr 比、1MH/Cr 比の変動の程度は肉魚の種類によって、かなりの違いがみられた。Huzar²⁰⁾ も鶏肉摂取後の方が牛肉摂取後よりも、尿中 3-メチルヒスチヂンの上昇の程度が大きいことを観察し、これは鶏肉には可溶性の遊離の 3-メチルヒスチヂンが多く、牛肉には 3-メチルヒスチヂンはアンセリンとして結合型で存在し、遊離の 3-メチルヒスチヂンが存在しないためであるとしている。またそ

の摂取後の尿中3MH/Cr比，1MH/Cr比は鮭摂取時にみられるように，両値が平行的に変動するとは限らなかった。

以上の結果から筋蛋白分解率の厳密なデータが要求される場合は，食事性3-メチルヒスチジンをチェックするために1-メチルヒスチジンを指標とすることには問題があると思われる。食事性3-メチルヒスチジンの完全除去のためには，やはり諸家の報告⁴⁾⁵⁾⁶⁾⁸⁾の如く72時間の肉魚禁止食と24時間蓄尿の方法が，現在では確実に簡便で最も望ましい方法であろう。

しかし，本研究で採尿前日の夕食から当日の朝食まで（約15時間）肉魚禁止食の条件下で測定した3MH/Cr比の平均値が基礎値と差がなかったことや，肉魚禁止食1日ではほぼ基礎値にまで低下していたことから，短時間の肉魚禁止食でも食事性3-メチルヒスチジンは大体除去できる場合が多いように思われる。Eliaら²¹⁾も肉魚禁止食にすると3-メチルヒスチジンの尿中排泄量が急速に低下することを認めている。

また，肉魚禁止食摂取時における3MH/Cr比の日内変動が小さく24時間尿と部分尿で差がみられなかったことから，24時間尿でなくて部分尿でも充分であると考えられる。Speekら²²⁾も部分尿の使用が可能であることを認めている。したがって，およその見当をつける目的であるなら，今回の測定条件下の3MH/Cr比を筋蛋白分解率の指標として用いても，研究結果にそれほど大きな誤りを生じることはないのではないと思われる。但し3MH/Cr比と同時に1MH/Cr比を測定し，この値が基礎値0.139以下であることを条件とする。これは本研究で1MH/Cr比の方が肉魚摂取に対する感度が高かったことと，1MH/Cr比が0.139以下の場合に3MH/Cr比がその基礎値0.173を越える者が認められなかったので，1MH/Cr比が基礎値以下であれば食事性3-メチルヒスチジンが除去されている可能性はかなり高いと考えたからである。逆に，1MH/Cr比が0.139を越える場合の3MH/Cr比を筋蛋白異化率の成績とすれば誤りを生ずる危険があるかもしれないので避けるべきである。

ところで，Huzar²⁰⁾らはヒト成人の尿中3-メチルヒスチジンの排泄量におよぼす食事性肉の影響を検討し，市販の野菜スープやチーズピザなど肉魚が含まれていないと考えられている冷凍食品や加工食品の中に，3-メチルヒスチジンの含量の高い肉エキスが使われているために，これらの食品を摂取して，肉魚食品禁止食の指示が守られていると考えられている被検者に尿中3MH/Cr比が高値を示す例があることを報告している。そこ

で彼等は12時間という短時間食事制限下における尿検査用食事法を具体的に示している。肉魚禁止という指示よりも，このように具体的に食べてもよい食品を指示する方法で食事指導を徹底させ，一方で1MH/Cr比を同時に測定して，食事の指示が守られているかどうかをチェックすれば，採尿前日の夕食から当日の朝食まで（約15時間）肉魚禁止，部分尿採尿という今回の測定条件下の3MH/Cr比測定は，従来の72時間肉魚禁止，24時間蓄尿の測定条件にかわって，外来で行える有効な検査として可能ではないかと思われた。

以上の予備研究の後，次に進行性の骨格筋変性による筋萎縮，筋力低下を示す疾患であるDuchenne型筋ジストロフィー児の尿中3MH/Cr比について研究した。

Duchenne型筋ジストロフィー児はその進行を抑えることができない致死的な病気として社会的にも医学的にも大きな問題を抱えており，その原因や治療に対してこれまでにきわめて大きい努力が払われてきた。そして最近では，Duchenne型筋ジストロフィー児は筋細胞膜蛋白が異常に分解される疾患として理解されている。¹¹⁾¹²⁾

一方，尿中3MH/Cr比は筋原線維蛋白の異化率に比例するという考えから，Mecherran,²¹⁾³⁾熊谷ら⁴⁾が各種神経筋疾患での異化率を計測し，Duchenne型筋ジストロフィー児で高値をみている。これらは72時間肉魚禁止食，24時間蓄尿での結果であるが，本研究の15時間の肉魚禁止食，部分尿の3MH/Cr比についても，その平均値は0.346±0.133で正常学童の0.148±0.062に対して約2倍の高値を示し，筋蛋白分解が亢進していることが示唆された。また，障害度，年齢，体重・身長比と3MH/Cr比との相関を検討したが，これについてはいずれも一定の傾向はみられなかった。病気の進行につれて3MH/Cr比が上昇するという事はなかった。

最近，この筋蛋白分解の異常亢進を矯正するために，プロテアーゼ阻害剤の使用による対症療法が試みられつつある。¹³⁾¹⁴⁾本研究においてもプロテアーゼ阻害剤の一つベスタチンをDuchenne型筋ジストロフィー児に経口投与し，尿中3MH/Cr比におよぼす影響を検討した。ベスタチン投与開始9カ月後の3MH/Cr比は，プラセボ群にくらべて有意に低値を示した。例数が少ないので，この結果から直ちにベスタチン投与により尿中3MH/Cr比が低下するとは結論できないが，逆に影響がないとも断定できない結果であった。青柳ら¹⁴⁾も進行性筋ジストロフィー児にベスタチン投与を試み，筋蛋白分解酵素の血清レベルが有意に抑制されたことを認め，病気の初期の幼児にこの薬剤を用いることは価値があるか

もしれないと述べている。筋ジストロフィー児へのベスタチン投与の効果について今後さらに検討する価値があると考えられる。

要 約

正常成人女子を対象として肉魚食品摂取と尿中 3MH/Cr 比 ($\mu\text{mol}/\text{mg}$) と 1MH/Cr 比 ($\mu\text{mol}/\text{mg}$) との関連について予備研究を行ったのち、次に Duchenne 型筋ジストロフィー児の尿中 3MH/Cr 比について研究した。

その結果は以下の如くである。

1. 正常成人女子の72時間の肉魚禁止食時の 3MH/Cr 比は 0.128 ± 0.045 , 1MH/Cr 比は 0.097 ± 0.042 であった。この平均値 + 1SD をそれぞれの基礎値とすることにした。
2. およその見当をつける目的であるなら、採尿前日の夕食から当日の朝食まで (約15時間) 肉魚禁止、部分尿、1MH/Cr 比が基礎値 0.139 以下という測定条件下の 3MH/Cr 比を筋蛋白異化率の指標としても、結果にそれほど大きな誤りは生じないと思われた。
3. 以上の条件下で測定した Duchenne 型筋ジストロフィー児における 3MH/Cr 比は 0.346 ± 0.133 で、正常学童の 0.148 ± 0.062 に比し有意に高値であった。
4. Duchenne 型筋ジストロフィー児において 3MH/Cr 比と障害度、年齢、体重・身長比との間に関連はみられなかった。
5. Duchenne 型筋ジストロフィー児にベスタチン投与を試み 3MH/Cr 比におよぼす影響を調べた。投与前値に比し低下する傾向がみられ、ベスタチン投与の影響がないとはいえない結果であった。さらに検討する価値があると考えられる。

稿を終えるにあたり採尿に際し御協力いただきました大阪市立山之内小学校の諸先生ならびに宇多野病院の職員の方々に深謝いたします。また採尿に御協力下さいました児童の皆様に御礼申し上げます。

尚、本研究の一部は第28回日本小児神経学会総会で発表された。

文 献

- 1) 平山千里, 村脇美和, 堀立明: 日本臨床, 43, 秋季臨時増刊号, 268 (1985)
- 2) Mckerran R. O., Halliday, Purkiss, P.: J. Neurosurg Psych. 40, (1977)
- 3) Mckerran R. D., Halliday, D., Purkiss, P.

and Rooyson, P: J. Neuro. Psych. 42, 536 (1979)

- 4) 熊谷俊幸, 竹内達生, 原紀美子, 宮崎修次, 利光直次郎, 塩野谷隆義, 小松喜代, 水谷直樹, 渡辺一功: 脳と発達, 16, 445 (1984)
- 5) Ballard, F. J., Tomas, F. M. and Stern, L. M.: Clin. Sci. 56, 347 (1979)
- 6) Mussini, F. Muscl & Nerve, 7, 388 (1984)
- 7) 中嶋昭夫: 医学のあゆみ, 120, 355 (1982)
- 8) Tomas, F. M., Ballard, F. J. and Pope, L. M.: Clin. Sci. 56, 341 (1979)
- 9) 井上良一: 臨床神経学, 20, 510 (1980)
- 10) Sjolín, J. Hjort, G. and Hambræus, L. Metabolism, 36, 1175 (1987)
- 11) 鈴木義之, 新本美知枝, 辻明彦, 揚瑞成: 小児科, 29, 27 (1988)
- 12) Hoffman, E. P., Knudson, C. M., Campbell, K. P. and Kunkel, L. M.: Nature 330, 754 (1987)
- 13) 斉田恭子, 板垣泰子, 平野久美子, 坂本吉正: 厚生省神経疾患研究 筋ジス第3班 昭和60年度研究報告書, 312 (1986)
- 14) Takaaki Aoyagi, Takao Wada, Fukiko Kozima Machko Nagai Shigeiko Harada Masao Kinoshita, Nobuoki Yamada and Hamao Umezawa: J. Clin. Biochem. Nutr., 1, 65 (1986)
- 15) Hamao Umezawa, Takaaki Aoyagi, Hiroyuki Suda, Masa Hamada Tomio Takeuchi: J. Antibiotics 29, 97 (1976)
- 16) 平野久美子, 坂本吉正, 板垣泰子: 日本小児科学会誌, 88, 2833 (1984)
- 17) 平野久美子, 坂本吉正, 板垣泰子: 日本小児科学会誌, 91, 1333 (1987)
- 18) Seashor J. H., Huszar G. and Davis E. M.: Metabolism, 30, 959 (1981)
- 19) 高木研: 川崎医学会誌, 10, 322 (1984)
- 20) Huszar, G., Golenwsky, G., Malocco, J. and Davis, E.,: Br. J. Nutr. 49, 287 (1983)
- 21) Elia, M., Carter, A. and Smith, R.,: Clin. Sci., 59, 509 (1980)
- 22) Speek, A. J.: J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 24, 465 (1986)

(昭和63年10月11日受理)

Summary

In our preliminary experiments, the influences of meat or fish ingestion on the ratios of 3-methylhistidine:creatinine (μmol 3-methylhistidine/mg creatinine, 3MH/Cr) and 1-methylhistidine:creatinine (μmol 1-methylhistidine/mg creatinine, 1MH/Cr) were examined in normal females.

Subsequently we studied the 3MH/Cr ratio in untimed urine sample after 15 hours of a meat free diet for patients with Duchenne muscular dystrophy.

The results were as follows.

- 1) The mean 3MH/Cr ratio and the 1MH/Cr ratio in normal females on a meat free diet for 72 hours were 0.128 ± 0.045 , 0.097 ± 0.042 , respectively.
These ratios have been expressed as the basal value, respectively.
- 2) Under the dietary regimen used in the present experiment the 3MH/Cr ratio in partially collected urine sample will be useful as a approximate index of the rate of myofibrillar protein degradation, provided that the 1MH/Cr ratio has taken less than the basal level (0.139).
- 3) In the normal children, the mean the 3MH/Cr ratio was 0.148 ± 0.062 (mean \pm S.D.)
In the patients with muscular dystrophy, the mean ratio 0.346 ± 0.133 , which was significantly higher than that of normal children and the value was about twice.
- 4) There were no relationships between the 3MH/Cr ratio and the disability stage and the relative ratio of body weight to standard height in the patients with the Duchenne type and irrespective of sex and age.
- 5) The administration of Bestatin for the children with Duchenne type muscle dystrophy showed the tendency of lower 3MH/Cr ratio than the value of control.