

PKU/高フェニルアラニン血症の確定診断に関する研究
ー遺伝子検査による鑑別診断ー

(分担研究：マススクリーニング対象疾患一次スクリーニングから二次スクリーニング法のあり方に関する研究)

分担研究報告書

呉 繁夫¹⁾、侯 殿昌¹⁾、大浦敏博²⁾、松原洋一¹⁾、成澤邦明¹⁾

<要約>

マス・スクリーニングで見出された高フェニルアラニン血症 (HPA) 患者のなかにフェニルアラニン水酸化酵素 (PAH) の補酵素であるBH4投与に反応し血中フェニルアラニンが低下するが尿中プテリジン分析などからBH4欠乏症とは考えられない症例が存在する。今回私共はこのようなHPA患者3例のBH4の反応性を再検討し、更にPAH遺伝子変異を検索したので報告する。解析した3症例、6アレルのすべての変異を同定した。そのうち4アレルは我が国で既に同定されている変異で残りの2アレルは未同定の変異を有していた。今回の2症例はBH4に反応するにも関わらずPAH遺伝子異常症であることから、鑑別診断上このような症例の存在に留意する必要がある。また、BH4投与は母性PKUの予防時など食餌療法が難しい場合の補助治療法となる可能性があると考えられた。

<見出し語>

高フェニルアラニン血症、テトラヒドロbiopterin反応性、フェニルアラニン水酸化酵素遺伝子変異、アレル特異的PCR増幅

東北大学医学部病態代謝¹⁾ (Department of Bichemical Genetics, Tohoku University School of Medicine), 同小児科²⁾ (Department of Pediatrics)

<研究方法>

3名のHPA患者の尿中プテリン分析、DHPR活性、経口BH₄負荷試験、及びPAH遺伝子変異の検索を行った。

1) BH₄負荷試験：体重当たり10mgのテロラハイドロビオプテリン（サントリー株式会社より供与）を経口投与し図4にある各時間で採血し、血中Phe濃度を測定した。

2) DHPR活性は血液濾紙を用いた方法で行った。尿中プテリン分析はHPLCによった。

2) アレル特異的PCR増幅による既知変異の有無の検索：R413P, R111X, R243Q, R252W, IVS-4, T278I, R241C, Y204C, IVS-9, V388Mの10種類の変異を検索した。DNAの抽出は血液ろ紙を3mm径のパンチ片3個を0.1mlの100ug/mlのProteinaseKを含む溶液により消化し、この酵素を熱変性させたものを使用した。PCR産物は2%アガロースゲル電気泳動により確認した。

3) PAHcDNA変異検索：変異遺伝子検索はリンパ芽球中に微量に存在する異所性PAHmRNAを利用した。即ち、患者由来のリンパ芽球細胞からpolyA+RNAを抽出し、逆転写酵素によりcDNAを調製した。これを鋳型にnested PCR法にてPAHcDNAの蛋白翻訳領域を増幅後、直接シークエンス法にて変異部位を同定した（文献）。また、遺伝子型の決定はエクソンを含む遺伝子断片をPCR法にて増幅し直接シークエンス法によった。

<結果>

検索対象とした3例のHPA患者のBH₄反応性を図1に示す。症例2に関しては1年間離して再度BH₄負荷試験を行い再現性の有ることを確認した（図1-C）。

3症例の尿中プテリン解析及びDHPR活性を表1に示す。尿中プテリン分析の結果にはBH₄生成過程の障害を示す所見

は認められず、また、DHPR活性はいずれも正常であった。

3症例のPAH遺伝子変異を表1に示す。R252W, IV-4, AR413Pはいずれも日本人で比較的報告の多いPKU変異である。S407Sは日本人患者で報告のない遺伝子変異で、A373T変異今回初めて同定された遺伝子変異である。

<考察>

今回解析した3症例共にBH₄反応性に再現性があり、6アレルすべてにPAH遺伝子変異が見出されたことから、PAH遺伝子異常でBH₄反応性HPAが起こり得ることを示すことが出来た。現在、一次スクリーニングで陽性となった新生児に対し、BH₄生成障害による高フェニルアラニン血症との鑑別の目的でBH₄負荷試験が行われている。今回の2症例はBH₄に反応するにも関わらずPAH遺伝子異常症であることから、鑑別診断上このような症例の存在に留意する必要があると考えられた。

BH₄投与は母性PKUの予防時など食餌療法が難しい場合の補助治療法となる可能性があると考えられた。

今回見出された変異がいかんしてBH₄反応性を生むのかは不明である。今後詳細な解析を行っていく必要があると考えている。

<文献>

Takahashi, K, Kure, S, Mastubara, Y, and Narisawa, K. Novek phenylketonuria mutation detected by analysis of ectopically transcribed phenylalanine hydroxylase mRNA from lymphoblasts. Lancet, 340:1473, 1992.

表 1

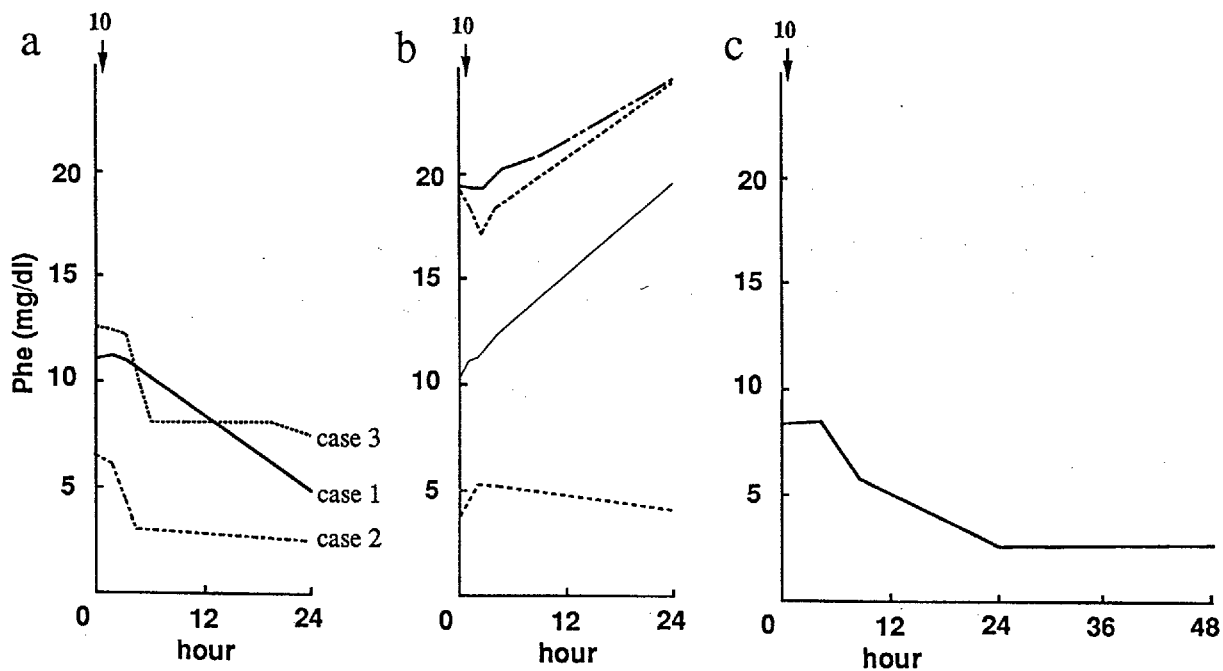


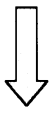
表 1

Table. Analysis of pterine and DHPR activities

	serum Phe at screening (mg/dl)	urinary pterine			DHPR activity in dried blood paper (nmole/min/disk)	PAH gene mutations	
		neopterine (nmole/mol creatinine)	biopterine (nmole/mol creatinine)	ne/tb (%)		paternal allele	maternal allele
Case 1	16	1.0	0.9	53*	0.89 †	R252W	P407S
Case 2	4	1.3	2.0	39	0.81	IV-4	A373T
Case 3	8	3.9	4.2	48	0.94	R413P	R241C

* ne/tb = 100 x neopterin/(neopterine + biopterine); normal range, 37-82%.

† normal range, 0.8-1.2.



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



<要約>

マス・スクリーニングで見出された高フェニルアラニン血症(HPA)患者のなかにフェニルアラニン水酸化酵素(PAH)の補酵素である BH4 投与に反応し血中フェニルアラニンが低下するが尿中プテリジン分析などから BH4 欠乏症とは考えられない症例が存在する。今回私共はこのような HPA 患者 3 例の BH4 の反応性を再検討し、更に PAH 遺伝子変異を検索したので報告する。解析した 3 症例、6 アレルのすべての変異を同定した。そのうち 4 アレルは我が国で既に同定されている変異で残りの 2 アレルは未同定の変異を有していた。今回の 2 症例は BH4 に反応するにも関わらず PAH 遺伝子異常症であることから、鑑別診断上このような症例の存在に留意する必要がある。また、BH4 投与は母性 PKU の予防時など食餌療法が難しい場合の補助治療法となる可能性があると考えられた。