

毛根を試料とするプリン代謝系の 電気泳動法的解析

萩 田 善 一
(富山医科薬科大学・
和漢薬研究所)

遺伝性代謝異常症ならびに保因者の診断には、血清・尿・唾液などの体液成分や赤血球・白血球ならびに培養によって得られる線維芽細胞が試料として用いられてきた。しかしX染色体性異常遺伝子のモザイク的発現を見出すことによる保因者診断やモザイク型染色体異常症の診断は困難であった。

本研究の目的は、試料採取が容易で、培養操作することなしに利用できる毛根を試料として用い、X染色体性あるいは常染色体性の代謝異常症とその保因者、染色体異常症ならびに和漢薬効果に対する応答性の差異をもたらす体質を検査することのできる新しい系統的診断法の確立にある。

研 究 の 目 的

痛風体質には常染色体性優性ならびX染色体劣性の遺伝形成に従う少なくとも2つ以上の遺伝的異質性の存在を明らかにした。

遺伝的異質性によって分類された痛風体質相互間には当然生化学的差異が存在すると考えられる。痛風体質の生化学的異質性を毛根を試料として解析する方法を確立する目的でポリアクリルアミドゲルを支持媒質とする垂直式微量電気泳動法を用い、X染色体性遺伝によって支配されているヒポキサンチン-グアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ(HPRT)および、常染色体性遺伝子によって支配されているアデニン-ホスホリボシルトランスフェラーゼ(APRT)活性について赤血球に含まれている酵素活性と比較することによってプリン代謝系の生化学的異質性について検討した。

研 究 方 法

毛根は水 $7\mu\text{l}$ 中に1～5本を浸し、凍結融解を5回くり返した後、BPBを含む試料稀釈溶液 $7\mu\text{l}$ を加え、12,000 g, 10分間遠心を行ない上清を試料として用いた。赤血球溶血液は、ヘパリン採血した全血 5ml を600 g, 10分間遠心後血漿成分を除き、生理食塩水で十分に洗浄した後、赤血球を $2 \times 10^9 \text{ cell/ml}$ になるように調整し、脱イオン水によって低張処理を行ない溶血させ、12,000 g, 30分間遠心分離し、上清を試料として用いた。

HPRT, APRT 活性の検出法は Bakay ら³⁾ によって報告された方法に従った。すなわち、

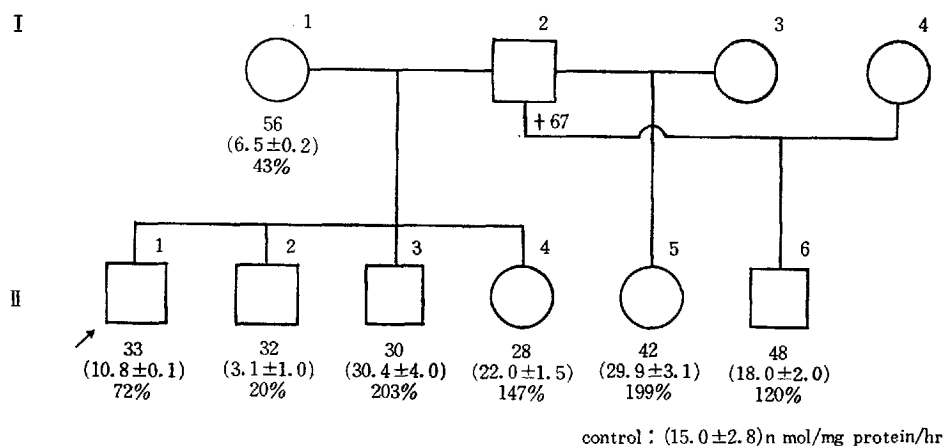


図1 Figures in parenthesis indicate the adenine phosphoribosyltransferase (APRT) activity

泳動終了後のゲル薄層を0.2 mM ホスホリボシルピロリン酸 (PRPP) および0.5 μ Ci/ml¹⁴C-ヒポキサンチンまたは、0.5 μ Ci/ml¹⁴C-アデニンを含む基質溶液中で 37℃, 1 時間反応させ生成したイノシン酸 (IMP) または アデニル酸 (AMP) を塩化ランタン溶液に 4℃, 2 時間浸漬することによりゲル薄層上に沈殿固定させる。未反応の余分な基質を脱イオン水で洗浄し除去した後、濾紙上にゲル薄層を乾燥させ、次いでフジ RX 線フィルムに 2 日間密着させることによるオートラジオグラフィ法を適用し、それぞれの酵素活性泳動帯を検出した。

研究結果

毛根の HPRT 活性泳動帯は、赤血球の活性泳動帯と大きく異なり、2～3つのサブバンドからなる1つの活性泳動帯として検出される。APRT 酵素活性は、赤血球溶血も毛根も移動度の速い1本の活性泳動帯として検出される。

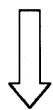
再発性尿路結石症患者の自然排出結石と手術摘出結石との赤外線分光分析法による解析結果から、2,8-dihydroxyadenine 結石であると同定された患者が、adeninephosphoribosyltransferase (APRT) の完全欠損であることを報告してきた (1980)。本年さらに、APRT 部分欠損によって尿路結石のもたらされた患者について解析した。本患者を含む家系分析の結果尿路結石は沈黙遺伝子のヘテロ接合体でも発症することが判明した。(図1参照)

考 察

プリン代謝の salvage 回路系の酵素である APRT が欠損すると、アデニン酸アデニル酸に再利用されないため、アデニンは 8-hydroxy adenine を経て 2, 8-dihydroxyadenine に変化する。この物質は尿中に排泄されるが非常に難溶性であるため、尿中析出して結石を形成する。APRT 完全欠損症の例は現在まで4例が報告されているにすぎない。うち3例は 2,8-

dihydroxyadenine 結石を形成し，残る 1 例は結石形成を認めないが尿中に 2,8-dihydroxy-adenine 結晶が証明されている。

APRT 欠損症は常染色体性劣性遺伝症と考えられており，ホモ接合体では結石を形成するがヘテロ接合体では結石形成がみられないことが報告されている。ところが APRT 部分欠損例においても結石が見出される例があることから結石形成に他の内的，外的因子が関与するかも知れない。本家系は結石形成因子の解析に適したものであると考えられる。



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



遺伝性代謝異常症ならびに保因者の診断には、血清・尿・唾液などの体液成分や赤血球・白血球ならびに培養によって得られる線維芽細胞が試料として用いられてきた。しかしX染色体性異常遺伝子のモザイク的発現を見出すことによる保因者診断やモザイク型染色体異常症の診断は困難であった。

本研究の目的は、試料採取が容易で、培養操作することなしに利用できる毛根を試料として用い、X染色体性あるいは常染色体性の代謝異常症とその保因者、染色体異常症ならびに和漢薬効果に対する応答性の差異をもたらす体質を検査することのできる新しい系統的診断法の確立にある。