

## ジヒドロプテリジン還元酵素欠損症の DNA 診断

成澤邦明<sup>1)</sup>，松原洋一<sup>1)</sup>，大浦敏博<sup>2)</sup>

(<sup>1</sup>東北大学医学部病態代謝学)

(<sup>2</sup>東北大学医学部小児科)

### 【要 約】

DHPR 欠損症の兄弟，その両親，及び健康者 5 例に於ける DHPR 遺伝子の Msp I 切断断片を検討した。健康者には 1.3 kb の DNA 断片を持つものと 1.2 kb の断片をもつものの 2 種の RFLPs が見いだされた。患者及びその両親の DNA 断片パターンは 1.2 kb を持つ健康者 RFLPs ハプロタイプと同一であり，患者達の DHPR の遺伝子上には大きな DNA の欠失，挿入はないと考えられる。

### 【見出し語】

DHPR 欠損症，DHPR 遺伝子，DNA 診断

### 【研究目的】

テトラヒドロピオプテリン (BH<sub>4</sub>) はフェニルアラニン水酸化酵素ばかりでなくチロジン及びトリプトファン水酸化酵素の補酵素である。従って，ジヒドロプテリジン還元酵素 (DHPR) の欠損は高フェニルアラニン血症を呈して来るばかりでなく，脳のドーパミン，ノルエピネフリン，セロトニンなどの神経伝達物質の欠乏をきたしてくる。これら神経伝達物質の欠乏が中枢神経障害を惹起する要因となっていると推測され，その治療には低フェニルアラニン食療法に加えて神経伝達物質の補充療法が必要であろうと考えられる。古典的フェニルケトン尿症 (PKU) と DHPR 欠損症とは異なった病態機転を有し治療法も異にする故に，早期に鑑別することが重要で，我々はこれまで乾燥濾紙血液での DHPR 活性の測定や乾燥濾紙尿によるプテリニン測定による診断法を確立してきた。

DHPR 欠損症の治療は現在，フェニルアラニン制限食治療に加え，5-HTP，1-dopa の薬物投与がなされ，ある程度の効果は見ているものの完全に確立した治療法には至っていない。従って，より確実な出生前診断法や保因者診断法の開発は臨床的に重要である。ごく最近，ヒト DHPR cDNA がクローニングされ，遺伝子レベルでのヒト DHPR の解析が可能になった。

今回、我々はヒト DHPR cDNA を用いての DNA 診断法を検討した。

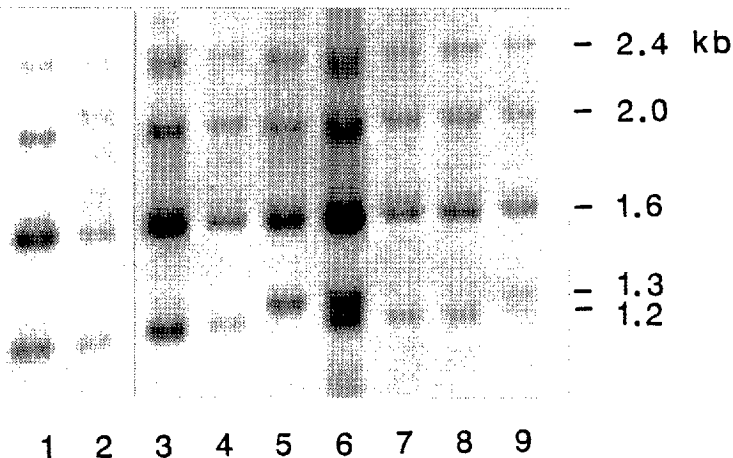
#### 【研究対象および方法】

対象；DHPR 欠損症である兄弟とその両親について検討した。患者の白血球、赤血球、線維芽細胞の DHPR 活性は粗酵素を用いる限りほぼ 0 であった。赤血球を凍結融解し、DEAE セルロースや硫酸分画などで精製した後の、患者 DHPR 活性は対照のわずか 2.4 % である。牛抗 DHPR 抗体を用いて部分精製酵素のウエスタンブロットをみると患者では該当する蛋白は見いだせず、患者 DHPR は活性の低下のみでなく、蛋白量の著明な低下を示した。

方法；患者、その両親、及び健康者の末梢白血球から抽出した DNA を制限酵素 Msp I で切断後、1% アガロースゲル上で電気泳動し、アルカリ処理にて DNA を一本鎖した後サザンブロットにて DNA をナイロンフィルター膜に転写した。これを  $^{32}\text{P}$  でラベルした DHPR cDNA でハイブリダイゼーションし、ヒト DHPR 遺伝子の制限酵素断片長を検討した。プローブとして使用したヒト DHPR cDNA クローンは Dr. H. -H. M. Dahl (Australia) から供与されたもので、5' 非翻訳領域が 25bp、蛋白翻訳領域が 757、3' 非翻訳領域が 423 bp のものである<sup>1</sup>。

#### 【結 果】

図に患者 2 例、その両親および健康者の DNA を Msp I を用いて分解したときのオートラジオグラムを示した。健康者に 1.3 kb の DNA 断片を持つものと 1.2 kb の断片をもつものの 2 種の RFLPs が見いだされた。患者兄弟例のパターンはいずれも父母のものと同じであり、しかも、1.2 kb を持つ健康者の RFLPs ハプロタイプと同一であった。このことより患者たちの DHPR の遺伝子上には、少なくともサザンブロット法で判明するほどの大きな DNA の欠失、挿入はないものと考えられる。



DHPR 欠損症家族に於ける DHPR 遺伝子の Msp I 切断断片  
レーン 1, 2；患者，レーン 3；父，レーン 4；母，  
レーン 5～9；コントロール

### 【 考 察 】

DHPR 欠損症はこれまでの酵素学的, 免疫生化学的検討結果から異質性に富む疾患と考えられる。最近, Dahl ら<sup>1</sup>, Lockyer ら<sup>2</sup>により相次いでヒトDHPR cDNA がクローニングされ, DHPR 欠損症の遺伝子レベルでの解析および遺伝子診断法の開発も可能となった。今回, DHPR 欠損症の兄弟例につき, Msp I DNA 断片を検討した結果では遺伝子診断法に結び付かなかったけれども, 今後種々の制限酵素でRFLPsの検出, DNA の欠失例の検討を行う予定である。本症では遺伝的多様性があると考えられ, その変異部位は症例毎に異なる可能性がある。従って, 多くの症例についての検索もまた必要であろう。

### 【 文 献 】

1. H. -H. M. Dahl, W. Hutchison, W. McAdam, S. Wake, F. J. Morgan and R. G. H. Cotton Nucl. Acids Res. 15, 1921-1932, 1987
2. J. Lockyer, R. G. Cook, S. Milstien, S. Kaufman, S. L. C. Woo and F. D. Ledley Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, 3329-3333, 1987

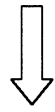
---

1. 東北大学医学部病態代謝学 (Dept. of Biochemical Genetics, Tohoku Univ. School of Medicine)  
2. 東北大学医学部小児科 (Dept. of Pediatrics, Tohoku Univ., School of Medicine)



## 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】

DHPR 欠損症の兄弟,その両親,及び健康者 5 例に於ける DHPR 遺伝子の Msp I 切断断片を検討した。健康者には 1.3kb の DNA 断片を持つものと 1.2kb の断片をもつものの 2 種の RFLPs が見いだされた。患者及びその両親の DNA 断片パターンは 1.2kb を持つ健康者 RFLPs ハプロタイプと同一であり,患者達の DHPR の遺伝子上には大きな DNA の欠失,挿入はないと考えられる。