

ラット組織およびヒト血液における還元型プテリンの合成活性について

吉岡真一, 政田正弘, 溝上 隆, 吉田威夫, 秋野美樹 (都立大・理・生物), 松尾宣武 (都立小児病院)

Synthesizing activity of reduced pterins in rat tissues and human blood

SHIN'ICHI YOSHIOKA, MASAHIRO MASADA, TAKASHI MIZOKAMI, TAKEO YOSHIDA, MIKI AKINO, NORITAKE MATSUO

テトラヒドロビオプテリン (H_4BP) は芳香族アミノ酸水酸化酵素の補酵素であり, H_4BP 合成能欠損による悪性高フェニルアラニン血症 (MHPA-Ⅲ) が知られている。 H_4BP の生合成は $GTP \rightarrow$ ジヒドロネオプテリントリリン酸 (H_2NP-P_3) $\rightarrow$ 中間体 X $\rightarrow$ セピアプテリン (SP) $\rightarrow$ ジヒドロビオプテリン $\rightarrow H_4BP$ の順で起こると考えられている。 H_2NP-P_3 を中間体 X に変換する酵素を SP 合成酵素 1 (SSE-1), 中間体 X を SP に還元する酵素を SSE-2 と名づける。

MHPA-Ⅲ の患者では尿中に H_2NP-P_3 由来と考えられるネオプテリンが大量に排出され, SP を投与すると血中のフェニルアラニンが減少することなどから, MHPA-Ⅲ では SSE-1 か SSE-2 のいずれかが欠損していると考えられる。プテリンの HPLC 分析によって両酵素活性を微量の組織を用いて測定する方法を開発し, ラット組織の酵素活性を調べた。活性は腎・肝・松果体で強く, 赤血球中にも活性が認められた。ラット血液中に活性が存在する点に注目し, 活性測定法をヒト血球成分に応用したところ, ヒトの場合も活性が測定可能であった。MHPA-Ⅲ の患者 (兄と妹) と対照の血球中の酵素活性を比較したところ, SSE-1 の活性が MHPA-Ⅲ の患者では対照の約半分であった。また, SSE-2 の活性は両者の間に差がなかった。この結果, この 2 例の患者では, SSE-1 の活性低下が H_4BP の欠損をひき起こすものと結論される。また, 患者の母親では SSE-1 の活性は患者と対照との中間であった。今後, 他の MHPA-Ⅲ の患者や他の型の高フェニルアラニン血症についても酵素活性について検討したい。

ウシ肝抽出液中における NADPH-特異性ジヒドロプテリジン還元酵素 (NADPH-DPR) の等電点的多型

中西信夫, 山田正三 (城西歯科大・生化)

Multidistribution of NADPH-specific dihydropteridine reductase in bovine liver extract or isoelectric focusing

NOBUO NAKANISI, SHOZO YAMADA

テトラヒドロプテリン (PH_4) 依存性の芳香族アミノ酸水酸化酵素はフェニルアラニン代謝や生理活性アミン生合成における key enzyme である。これらの水酸化酵素に PH_4 を供給するジヒドロプテリジン還元酵素のうち NADPH に特異性を示す酵素 (NADPH-DPR) の等電点的多型について検討した。部分精製標品 (Sephadex G-100 step) は等電点電気泳動において 4 つの酵素活性ピークを示した (pI 6.7, 6.9, 8.1, 8.3)。完全精製標品の場合には pI 8.3 (main) と pI 8.1 (minor) に 2 つのピークが得られた。精製標品と NADPH を混合した後 (0°C, 1h) 等電点泳動を行うと pI 6.7, 6.9, 7.1, 8.3 に活性ピークが得られた。pI 6.7, 7.1, 8.1, 8.3 の酵素について 6-メチルプテリンあるいはビオプテリンを用いた場合につき NADPH 濃度の活性に対する影響を比較検討したがいずれもほぼ同様の結果を得た。さらに single radial immunodiffusion 法 (SRID) によって酵素タンパク質量を定量しこれをもとに各の pI の酵素の比活性を求めたがいずれも同様であった。以上のことから本酵素には pI 8.1 のものと pI 8.3 のものが存在すること, pI 6.7, pI 6.9 の活性はそれぞれ pI 8.1, pI 8.3 酵素と NADPH 2 分子との複合体であり pI 7.1 活性は pI 8.3 酵素と NADPH 1 分子との複合体によるものと推定される。また SRID による酵素タンパク質量を用いて求めた部分精製標品 (Sephadex G-100 step) の比活性は精製標品の約 60% しかなく, このことは G-100 step の標品中に本酵素に対する活性調節因子あるいは阻害作用を持つ物質が存在していることを示唆するものと思われる。