

肝性ポルフィリン症における新規分子異常の同定と変異蛋白の酵素化学的性質の検討

○赤木 玲子<sup>1</sup>, 加藤 典子<sup>1</sup>, 花房 里加子<sup>1</sup>, Karl Anderson<sup>2</sup>, Eileen Jaffe<sup>3</sup>, 佐々 茂<sup>4</sup>  
(<sup>1</sup> 岡山県大・保健福祉,<sup>2</sup> テキサス大学医学部,<sup>3</sup> フォックスチェイス癌センター,<sup>4</sup> ロックフェラー大学)

【目的】ヘム合成系の第2番目の酵素であるALAD欠損が原因の急性肝性ポルフィリン症ADPは劣性遺伝性疾患であり、現在までに世界で4例が報告されているのみの稀な疾患である。我々は、5例目となるADP患者においてALAD遺伝子解析により新規点変異を発見し、変異酵素の性質を検討したので結果を報告する。

【方法】患者末梢血よりリンパ球由来のtotal RNAを調製したのち、特異的プライマーを用いてRT-PCR法によりALAD cDNAを作成した。クローン化したALAD cDNAの塩基配列を検討し、同定された変異を有するcDNAを発現ベクターに組み込み、Chinese hamster ovary (CHO) cellsに発現させて変異ALADの性質を検討した。

【結果および考察】新規2種の点変異、C1変異(G265 to A)とC2変異(T394 to C)が各々の対立遺伝子上に検出された。これらの点変異はいずれも亜鉛結合領域をコードするexon 5に位置し、それぞれアミノ酸置換(C1変異; E89K)と(C2変異; C132R)を伴うものであった。またgenomic DNAを用いた遺伝形式の検討により、C1変異は父親由来であって患者の弟にも遺伝しており、C2変異は母親由来であることが確認された。これらの変異をヘテロで発現している両親の赤血球中ALADはいずれも鉛による活性阻害に抵抗性を示した。発現実験により、両変異ALADは正常量のmRNAを発現していたにも関わらず、タンパク発現は正常ALADと比べて低く、著しく活性が低下していた。以上の結果とALAD蛋白の結晶構造解析により、両変異はともにALADの活性発現に必須な亜鉛結合部位を構成するアミノ酸もしくはその近傍のアミノ酸が置換したため、蛋白質の不安定化を伴う活性低下をもたらしたと考えられる。さらに、これらの変異蛋白は鉛との結合性が低いことから、キャリアにおける重金属毒性に対するハイリスクが示唆される。