

# 論文内容要旨

論文題目

A novel murine model for acute porphyria  
generated by transgenic expression of 5-aminolevulinate synthase  
(5-アミノレブリン酸合成酵素トランスジェニックマウスによる、  
新しい急性ポルフィリン症マウスモデルの確立)

責任講座： 代謝再生統御学 講座  
代謝細胞生物学 分野

氏 名： 高 旭

## 【内容要旨】

【背景】急性ポルフィリン症 (AP) は、ヘム生合成系酵素の活性低下により生じる代謝障害であるポルフィリン症の一部で、腹痛や精神症状などの神経症状が現れる急性症状や、脱力感から四肢麻痺に到る進行性末梢神経障害、尿や便中への過剰なポルフィリン排泄などが特徴的な臨床症状として知られている。AP における急性症状の発症機構については、現在においても不明な点が多いが、有力な仮説の一つに、急性症状時に尿中への排泄が著増する、ヘム生合成前駆体 5-アミノレブリン酸 (ALA) が神経毒として作用し急性症状を惹起させるとする説がある。しかし、現在のところ、過剰な ALA が急性症状を引き起こす決定的な証拠は提出されていない。

【目的】5-アミノレブリン酸合成酵素 (ALAS) はヘム生合成系律速酵素としてヘム供給をコントロールしていることが知られている。本研究では、ALA 神経毒説を生体内で検証するために、ALAS を全身性に発現させ ALA を過剰産生させたトランスジェニックマウスを作製し、新しいタイプの急性ポルフィリン症モデルマウスの確立を試みた。

【方法】安定なアイソザイムである赤血球型 ALAS (ALAS-E) を、アクチンプロモーター (CAG promoter) で全身性発現させたトランスジェニックマウス (CAG-AE Tg) を作製し、分子生物学的・酵素学的・臨床化学的に表現型解析を行った。

【結果】CAG-AE Tg は、肝臓での ALAS 活性が野生型マウスの 20 倍以上となっており、ALAS 過剰発現マウスであることを確認した。CAG-AE Tg の、皮膚や腎臓、気管、脳など様々な臓器において大量のポルフィリン由来の蛍光が観察された。さらに、尿・便中に大量のポルフィリン・ALA・ポルフィリンノーゲン (PBG, ヘム生合成前駆体の一つ) を排泄し、HPLC 解析から、尿・便中のポルフィリンの蓄積パターンが、Protoporphyrinogen Oxidase (PPOX) が欠損した AP の一つである Variegate Porphyria (VP) とほぼ同様であることが判明した。実際、CAG-AE Tg の肝臓での PPOX 活性は、野生型の 1/3 まで低下していた。一部の CAG-AE Tg は、自然に急性症状を発症し、痙攣を伴う運動障害を示した。潜伏期と比較して急性期での尿中に排泄される ALA・PBG は著増するが、ポルフィリンは大きな変化は無かった。給餌により急性症状が改善されるグルコース効果が認められた。また、進行性の四肢麻痺を起こすマウスも現れた。

【結語】表現型解析の結果から、CAG-AE Tg がヒト急性ポルフィリン症の VP に極めて近い症状を示す、薬物投与などによらずに急性症状を呈する新しいタイプの急性ポルフィリン症モデルマウスであると筆者は結論した。本モデル系の確立により、生体内の過剰な ALA により急性症状発症が惹起されることが確認された。

山形大学大学院医学系研究科長 殿

## 学位論文審査結果報告書

申請者氏名： 高 旭

論文題目： A novel murine model for acute porphyria generated by transgenic expression of 5-aminolevulinatase synthase  
(5-アミノレブリン酸合成酵素トランスジェニックマウスによる、新しい急性ポルフィリン症マウスモデルの確立)

審査委員：主審査委員

藤 井 順 逸



副審査委員

加 藤 宏 司



副審査委員

近 藤 憲 夫



審査終了日：平成 17 年 1 月 20 日

## 【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

ポルフィリン症はヘム合成酵素の活性低下が原因で生じ、神経症状や進行性末梢神経障害をきたす急性ポルフィリン症を含む。ヘム合成の前駆体である 5-アミノレブリン酸 (ALA) には神経毒性があるため、急性ポルフィリン症の病態への関与が推定されている。これまでにヘム合成に関わる porphobilinogen deaminase と protoporphyrinogen oxidase の遺伝子を欠損するマウスが作成されているが、いずれも急性の症状を呈さない。ALA 合成酵素 (ALAS) が触媒する ALA 合成反応はヘム合成過程を律速するため、ポルフィリン症モデルを作成する上での標的としてふさわしいと考える。本研究では ALA の過剰産生を目的として ALAS 遺伝子のトランスジェニック (Tg) マウスを作成した。ALAS には赤血球系に特異的に発現する ALAS-E と組織非特異的に発現する ALAS-N があり、後者は様々な調節を受けることが知られている。ヘム代謝産物の直接作用を明確にするために、本研究では ALAS-E 遺伝子を過剰発現する Tg マウスを樹立し、その表現型を解析してヒトの病態との比較検討を行っている。

まず発現した mRNA の解析から、樹立した 2 系統のマウスでは調べた限りすべての臓器で ALAS-E を発現していることが分った。肝臓の ALAS 活性を測定すると、約 20 倍に増加していた。ポルフィリンは紫外線照射により赤色の蛍光を発するため、個体ならびに各臓器に UV を照射し得られた蛍光からポルフィリンの蓄積を評価したところ、皮膚・腎臓・気管・脳などの臓器に蓄積が確認された。また protoporphyrin IX などの合成中間体を高速液体クロマトグラフィーで定量した結果、Tg マウスで増加が確認された。尿および便の解析から、ALA ならびにヘム前駆体である porphobilinogen の排泄も増加していた。こうした測定結果の値は protoporphyrinogen oxidase の欠損した急性ポルフィリン症の一種である Variegate Porphyria に類似している。Tg マウスではポルフィリンの蓄積が起り、進行性の四肢の麻痺が現れた。さらに一部の Tg マウスでは急性症状を呈し痙攣を伴う運動障害を示した。後肢の筋肉ならびに大腿四頭筋神経の組織学的解析から、筋肉萎縮と軸索の減少が認められ、麻痺の原因と考えられた。こうした急性期におけるポルフィリン前駆体の代謝産物の解析も行われている。

以上のように ALAS-E 遺伝子を導入した Tg マウスは実際の急性ポルフィリン症、中でも Variegate Porphyria に似た症状を呈するはじめてのモデルマウスであることが示された。本マウスは解明の遅れている急性症状の発症機構を知り有効な治療を行う上で役立つと考える。以上のような医学的な有用性を高く評価し本論文が博士 (医学) 学位論文として価値があると判断した。