総説

テトラヒドロbiopterin研究の将来

一瀬 (鷲見) 千穂, 大槻 眞嗣, 白石 弘章, 野村 隆英

要約:テトラヒドロbiopterin ((6R)-L-erythro-tetrahydrobiopterin, BH4) は生体内で GTP を基質として生合成される。生合成酵素は、律速段階である GTP シクロヒドロラーゼ I, 6-ピルボイルテトラヒドロbiopterin 合成酵素 (6-pyruvoyl-tetrahydropterin synthase, PTPS), セピアプテリン還元酵素から成る。BH4 生成の異常で生じる疾患には、悪性高フェニルアラニン血症、ドパ反応性ジストニアがあるが、パーキンソン病、精神分裂病などにおいても BH4 の代謝異常が原因あるいは増悪因子になっている可能性が示唆されている。一方、BH4 は血管保護因子としても注目され、その機能低下が動脈硬化症の発症に関与する。最近、著者らの研究室ではジーンターゲットングの手法を用いて BH4 生合成の第2段階を触媒する PTPS 遺伝子を破壊した PTPS ノックアウトマウスを作成した。これらモデルマウスを用いた研究が BH4 の神経系、循環系疾患の発症における役割やその治療法の開発に貢献すると考えられる。著者らの研究室では、原生動物であるテトラヒメナが BH4 の異性体であるテトラヒドロモノプテリンを有しており、そのレベルは細胞周期に関係することを見いだした。BH4 以外のプテリン誘導体がヒトの生理・病態にどのように関わっているかも興味深い研究課題である。

1. はじめに

テトラヒドロbiopterin ((6R)-L-erythro-tetrahydrobiopterin, BH4) はカテコールアミンやセロトニン生合成の律速段階を触媒するチロシン水酸化酵素

(EC1.14.16.2, tyrosine hydroxylase, TH), トリプトファン水酸化酵素 (EC1.14.16.4, tryptophan hydroxylase, TPH), そしてフェニルアラニンの代謝に働くフェニルアラニン水酸化酵素 (EC1.14.16.1, phenylalanine hydroxylase, PAH) など、芳香族アミノ酸モノオキシゲナーゼの補酵素である。また、BH4 は一酸化窒素合成酵素 (EC1.14.13.39, nitric oxide synthase, NOS) のコファクターであり、NOS 活性の発現に必須の因子である。このことから BH4 は神経系や内分泌系、免疫系そして循環系など生体内での多彩な機能の調節因子として重要な働きをしていることが推察される。実際、BH4 代謝の異常によってフェニルケトン尿症、ドパ反応性ジストニア (dopa-responsive dystonia, DRD, 瀬川病) といった神経系の難病が引き起こされることが知られている。BH4 は補酵素でありながら生体内で GTP を基質として生合成されるのでビタミンではない。BH4 の生合成酵素は律速段階である GTP シクロヒドロラーゼ I (EC3.5.4.16, GTP cyclohydrolase I, GCHI), 6-ピルボイルテトラヒドロbiopterin 合成酵素 (EC4.6.1.10, 6-pyruvoyl-tetrahydropterin synthase, PTPS), セピアプテリン還元酵素 (EC1.1.1.153, sepiapterin reductase, SPR) から成る (図1)。これら酵素の cDNA はヒト (1, 2), マウス (3, 4), ラット (5~7) などについてクローニングされている。ゲノム構造についてはヒトとマウスの GCHI (8), PTPS (9, 10), SPR (11, 12) について報告されている。ゲノム構造が明らかにされたことから、今後は分子遺伝学的な手法を応用して、BH4 生合成系の酵素活性発現がどの様に調節されているのか、さらに、BH4 産生系酵素遺伝子のノックアウトや過剰発現が生体にどのような結果をもたらすのか、などについて急速に明らかにされてゆくであろう。本総説では特に、BH4 研究の進展が期待される神経系と循環器系に焦点をあて、その将来の方向性を考えてみたい。更に、生体内のプテリン誘導体の生物学的役割の新たな可能性についても考えてみたい。BH4 については、先に三輪ら (13) および Thöny ら (14) によるすぐれた総説があるので参考にされたい。

キーワード:テトラヒドロbiopterin,
GTP シクロヒドロラーゼ I,
6-ピルボイルテトラヒドロbiopterin 合成酵素,
ノックアウトマウス,
テトラヒドロモノプテリン

藤田保健衛生大学医学部薬理学教室
(〒470-1192 愛知県豊明市杣掛町田楽ヶ窪 1-98)

e-mail: tnomu@fujita-hu.ac.jp

原稿受領日: 2001 年 9 月 19 日, 編集委員会依頼総説

Fig. 1 Biosynthesis of tetrahydrobiopterin and possible relation of tetrahydrobiopterin to diseases. Abbreviations: GCHI: GTP cyclohydrolase I, PTPS: 6-pyruvoyl-tetrahydropterin synthase, SPR: sepiapterin reductase, DHPR: dihydropteridine reductase, PCD: pterin-4 α -carbinolamine dehydratase

2. BH4 代謝の異常と神経疾患の分子基盤

BH4 と疾患との関連について、知られていること、予測されることを図1にまとめた。

正常な状態ではBH4は、細胞内でGTPを出発点とする *de novo* の生合成系によって、また一部はコファクターとして関与する酵素反応で生成するキノノイド型ジヒドロビオプテリンを還元することによって補充される。BH4 生合成系酵素、またはリサイクル系の酵素の遺伝的な異常によって生じる疾患には、前述のように悪性高フェニルアラニン血症(15)とDRD(16)がある。古典的なフェニルケトン尿症がPAHの欠損によってフェニルアラニンの過剰とチロシンの欠乏を生じるのに対し、悪性高フェニルアラニン血症はPAHのコファクターであるBH4が欠乏するため *in vivo* でPAHの活性が低下して発症する。フェニルアラニンの代謝だけでなく、PAHと同様にBH4をコ

ファクターとするTHやTPHの活性も低下するため、神経伝達物質であるカテコールアミン、セロトニンの生合成も障害される。このため臨床症状はより重篤でフェニルアラニンの摂取を制限しても発達遅滞が進行するが、BH4の投与とともに神経伝達物質の前駆体であるL-ドパや5-ヒドロキシトリプトファンの補充療法が有効である。これまでに世界で300例以上の報告があり、最も多いのはBH4生合成の第2段階を触媒するPTPS遺伝子の変異で約60%を占める。2番目に多いのはBH4リサイクル系のジヒドロプテリジン還元酵素(EC1.6.99.7, dihydropteridine reductase, DHPR)で約30%、残りの10%はGCHIや4 α -カルビノールアミンデヒドラターゼ(EC4.2.1.96, pterin-4 α -carbinolamine dehydratase, PCD)の変異によるもので常染色体劣性遺伝形式をとる。現在BH4欠損症に関する国際データベースBIODEFおよびBIOMDBがインターネット上で公開されている(www.bh4.org/)

(17). また最近 Bonafé らにより, 新たに BH4 生合成の最終の2段階を触媒する SPR の変異が報告された(18).

BH4 生合成系酵素の異常にもとづくと考えられる疾患の他の例は DRD である. DRD は小児期に発症するジストニア (筋肉の緊張の異常にともなう姿勢の異常, ゆっくりしたねじるような不随意運動, 持続的な筋収縮のために動作が硬くなるものもある) を主徴とした遺伝性疾患で, 著明な日内変動があること, L-ドパ投与によってジストニア症状が消失し, on-off 現象などパーキンソン病において見られるような L-ドパの副作用がほとんど見られないこと, 無症候性キャリアが存在すること, 女性の発症率が男性に比べて約4倍高いことなどが特徴である. DRD の患者では BH4 生合成の律速段階を触媒する GCHI の遺伝子の片方のアレルに変異を有することがわかった(19). このため GCHI が低下し, BH4 が不足するために黒質—線条体系ニューロンでドパミンの生合成が低下してジストニアを発症すると考えられる.

BH4 は上記のように神経伝達物質の生合成にかかわる酵素のコファクターとしての役割を持っている. TH (20), および TPH (21) の BH4 に対する K_m は 20~100 μM , PAH の K_m 値は 2~3 μM (22) である. これらの芳香族またはインドールアミノ酸水酸化酵素に対しては BH4 は比較的ゆるく結合し, 基質に水素原子を付加する際の電子供与体として働く. 一方 NOS に対しては, BH4 はヘムおよび L-アルギニンとともに安定なダイマーの形成に必要であるとされている. 神経型 NOS に対する BH4 の K_m 値は 0.02~0.03 μM と極めて低く (23), 強固に結合することが予測される. 悪性高フェニルアラニン血症や DRD で一酸化窒素 (NO) の異常にもとづく症状が著明でないのは, こういった疾患でも BH4 生合成酵素の活性がわずかに残存し, NOS の誘導を必要としない場合には微量の BH4 によって NO の産生が維持されうるためかもしれない.

BH4 の神経系に対するその他の作用としては, ラットの線条体からドパミンやセロトニンを放出させる作用が報告されている. 詳細なメカニズムは不明であるが, Ca^{2+} チャネルの活性化を介しているらしい (24). また BH4 が PC12 細胞の無血清培養や NGF 除去時に細胞保護的に働くという報告があり (25), BH4 が NO やドパミンに由来するラジカルを消去することも, 細胞の保護作用に関係していると思われる (26). 特発性のパーキンソン病において, グルタチオンの減少など酸化ストレスの関与が疑われており, この点との関連が興味深い. 一方で NO は脳虚血時の遅発性神経細胞死を誘発するとされており, ラットの一時的脳虚血モデルでは BH4 合成阻害薬の投与によって細胞死が減少したという報告がある (27).

最近著者らの研究室では, BH4 の代謝異常と神経疾患との関わりを検討する目的で, ジーンターゲットングの手法を用いて BH4 生合成の第2段階を触媒する PTPS 遺伝子を破壊したマウスを作成した (28). ホモ接合体マウスはほぼメンデル則に従った割合で出生するが, 生後2日以内に全例が死亡した. ノックアウトマウスの新生仔脳では BH4 に由来するbiopterinの量が野生型の5%に低下し, 前駆物質に由来するネオブテリンが蓄積していた. ドパミン, ノルアドレナリンおよびセロトニンの含量が極度に低下し, フェニルアラニンの蓄積も見られた. ノックアウトマウスの脳ホモジネートで酵素活性を定量したところ, TPH の活性には変化がなかったのに対し, TH の活性は反応系に充分量の BH4 を添加したにも関わらず野生型の7%に低下していた. NOS 活性は有意に低下していたが, TH に比較すると軽度であった. 抗 TH 抗体を使用した免疫組織化学的解析では, 黒質, 腹側被蓋野などの細胞体では野生型とホモ接合体マウスで差がないのに対し, 黒質から投射するドパミンニューロンの神経終末の存在する線条体では, ホモ接合体では TH の染色性が極めて弱かった. この結果は BH4 の不足は TH のタンパク質量の選択的な減少をもたらし, その影響が特に神経終末部に現れることを示しており, DRD 患者の病理解剖脳で線条体において TH のタンパク質の減少がみられたことと符合する (29). また腹腔内に BH4 を投与する事によって1週間生存させたホモ接合体マウスの脳では, TH の活性がコントロールの50%まで回復し, 線条体の抗 TH 抗体による染色性も回復していた. 今後はどのような機序で, BH4 が TH に選択的な影響を与えるのかが焦点になろう. また薬物の投与や遺伝子の導入で部分的にレスキューすることによって生存期間を延長できれば, より多くのことが明らかにできると思われる.

セロトニン系ではコファクターである BH4 の不足によってセロトニン合成が低下するのに対し, カテコールアミン系ではコファクターの不足に加え TH そのものの減少で二重にダメージを受ける. 我々の実験結果はカテコールアミン合成系とセロトニン合成系では BH4 代謝の変化に対して応答性が異なることを示唆するものであり, 従来それぞれのモノアミン系神経の異常に起因すると考えられてきた精神神経疾患, パーキンソン病や DRD のみでなく感情障害, 精神分裂病, 自閉症といった疾患の中にも BH4 の代謝異常が原因あるいは増悪因子になっているものがあるかも知れないことを想像させる.

3. BH4 と循環器系

免疫系においては, $INF\gamma$ (interferon γ), $TNF\alpha$ (tumor necrosis factor α) 等のサイトカイン刺激によって T

細胞, マクロファージ, 単球などで GCHI が誘導され一酸化窒素産生が増大することが知られている (30). このとき同時に誘導型 NOS の発現が誘導されるマウスのマクロファージのような細胞では, BH4 は誘導型 NOS のコファクターとして働くのであろう (31). 一方循環器系においてもサイトカイン刺激により, 血管内皮細胞 (32), 血管平滑筋細胞 (33), そして心筋細胞 (34) における BH4 の生合成が促進される. しかしながら, ヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (human umbilical vein endothelial cells, HUVEC) においては, 炎症性サイトカイン刺激により BH4 生合成が促進されるが, 誘導型 NOS に由来するような著しい NO 産生はみられない (32). このことは, HUVEC においてはサイトカイン刺激で誘導される BH4 は NOS のコファクターとして作用する以外にも何らかの役割を担っていることを示唆している. 血管内皮細胞で生成された BH4 は, パラクリンの作用して, 血管平滑筋細胞の誘導型 NOS 活性を増強する可能性もある (35). 従って, 敗血症性ショック時には, 血管壁における NO 産生部位が, 内皮細胞から平滑筋細胞へと移行することも示唆される.

BH4 には抗酸化作用, NO の毒性に対する自己防御 (14), そして, 血管新生の促進 (36) といったコファクター以外の作用も知られている. 近年, 高血圧, 高脂血症, 喫煙といった冠危険因子を有する患者において, 内皮依存性血管拡張反応が低下していることが指摘されている. 一方, 血管内皮型 NOS は, BH4 が減少すると NO を産生せず, 多量の hydrogen peroxide を産生する (37). Hydrogen peroxide は, superoxide anion と反応して強力な酸化物質である hydroxy radical に変化する. その結果, 酸化ストレスによって, 血管内皮が障害される. この際, BH4 を補充すると内皮依存性血管拡張反応が改善する (38). 今後, BH4 は抗動脈硬化薬として注目されるであろう. 更には, 血管内皮障害に対して GCHI を用いた遺伝子治療等も期待される.

4. BH4 の新たな生体内機能, および, その他の新たな一酸化窒素誘導体の生体内機能

BH4 は細胞増殖因子として機能することが示唆されている. BH4 がラット PC12 細胞の EGF による増殖の細胞内メディエーターであること (39) などの例が報告された. 最近, 鞭毛虫類の *Leishmania* の分化過程に BH4 が調節因子として機能していることが報告された (40). BH4 レベルの低下は *Leishmania* の virulence の増強を調節するようである.

これまでの研究で BH4 以外にも幾つかの一酸化窒素誘導体が種々生物の体内に存在することが明らかにされてきた. 鞭毛虫類に属するテトラヒメナに一酸化窒素誘導体 monap-

Pteridine derivatives	R ₁	R ₂	R ₃
Pterin	NH ₂	H	H
L-Biopterin	NH ₂	L-erythro-(CHOH) ₂ -CH ₃	H
D-Neopterin	NH ₂	D-erythro-(CHOH) ₂ -CH ₂ OH	H
D-Monapterin	NH ₂	D-threo-(CHOH) ₂ -CH ₂ OH	H
Dictyopterin	NH ₂	D-threo-(CHOH) ₂ -CH ₃	H
Folic acid	NH ₂	CH ₂ -NH-C ₆ H ₅ -CO-Glu	H

Fig. 2 Chemical structure of pteridine derivatives.

terin の還元型, tetrahydromonapterin, が存在することが報告されている (41). Monapterin は biopterin の異性体であり (図 2), GTP を前駆物質として GCHI を介して生合成される (42). 我々は, テトラヒメナの増殖相では monapterin 生合成酵素の GCHI 発現が高まることを見だし, tetrahydromonapterin がこの原生動物の分裂増殖に関する因子として機能している可能性を報告した (42). タマホコリカビ (*dictyostelium discoideum*) においては一酸化窒素誘導体として dictyopterin (図 2) が存在しており, この生合成酵素である GCHI 活性がタマホコリカビの細胞体の集合の過程で変化すること, そして細胞体の集合プロセスが体内 dictyopterin レベルによって調節される可能性が示唆されている (43).

Leishmania ではビオプテリントランスポーターが同定されている (44). このトランスポーターを *Leishmania* の細胞膜上に過剰発現させるとビオプテリンや葉酸の取り込みが増加し, methotrexate への耐性が形成される. ビオプテリントランスポーターの制御が *Leishmania* 症の治療法開発に寄与する可能性があり興味深い.

5. おわりに

BH4 はカテコラミン・セロトニン合成, 一酸化窒素合成など生体内で種々の重要な働きを調節する因子である. これまで, BH4 の代謝異常が神経系, 循環系などの疾患にどのように関っているかは明らかにすることが困難であったが, BH4 生成が出来ない PTPS ノックアウトマウス

の開発により今後研究が進展できると期待される。ヒトを含む生物界にはBH₄以外のプテリン誘導体が存在し何らかの機能を果たしているものと考えられる。今後、新規プテリン誘導体の生体機能調節への関与を解明し、病態発生や治療薬開発に結び付けていけるものと期待される。

謝辞：本稿執筆の機会をお与え下さいました岐阜大学医学部・植松俊彦教授、京都薬科大学・岡部進教授に感謝申し上げます。

文 献

- 1) Ichinose H, Katoh S, Sueoka T, Titani K, Fujita K and Nagatsu T: Cloning and sequencing of cDNA encoding human sepiapterin reductase - an enzyme involved in tetrahydrobiopterin biosynthesis. *Biochem Biophys Res Commun* **179**, 183-189 (1991)
- 2) Togari A, Ichinose H, Matsumoto S, Fujita K and Nagatsu T: Multiple mRNA forms of human GTP cyclohydrolase I. *Biochem Biophys Res Commun* **187**, 359-365 (1992)
- 3) Nomura T, Ichinose H, Sumi-Ichinose C, Nomura H, Hagino Y, Fujita K and Nagatsu T: Cloning and sequencing of cDNA encoding mouse GTP cyclohydrolase I. *Biochem Biophys Res Commun* **191**, 523-527 (1993)
- 4) Ota A, Ichinose H and Nagatsu T: Mouse sepiapterin reductase: an enzyme involved in the final step of tetrahydrobiopterin biosynthesis. Primary structure deduced from the cDNA sequence. *Biochim Biophys Acta* **1260**, 320-322 (1995)
- 5) Citron BA, Milstien S, Gutierrez JC, Levine RA, Yanak BL and Kaufman S: Isolation and expression of rat liver sepiapterin reductase cDNA. *Proc Natl Acad Sci USA* **87**, 6436-6440 (1990)
- 6) Hatakeyama K, Inoue Y, Harada T and Kagamiyama H: Cloning and sequencing of cDNA encoding rat GTP cyclohydrolase I. The first enzyme of the tetrahydrobiopterin biosynthetic pathway. *J Biol Chem* **266**, 765-769 (1991)
- 7) Inoue Y, Kawasaki Y, Harada T, Hatakeyama K and Kagamiyama H: Purification and cDNA cloning of rat 6-pyruvoyl-tetrahydropterin synthase. *J Biol Chem* **266**, 20791-20796 (1991)
- 8) Ichinose H, Ohye T, Matsuda Y, Hori T, Blau N, Burlina A, Rouse B, Matalon R, Fujita K and Nagatsu T: Characterization of mouse and human GTP cyclohydrolase I genes. Mutations in patients with GTP cyclohydrolase I deficiency. *J Biol Chem* **270**, 10062-10071 (1995)
- 9) Kluge C, Brecevic L, Heizmann CW, Blau N and Thöny B: Chromosomal localization, genomic structure and characterization of the human gene and a retropseudogene for 6-pyruvoyltetrahydropterin synthase. *Eur J Biochem* **240**, 477-484 (1996)
- 10) Turri MO, Ilg EC, Thöny B and Blau N: Structure, genomic localization and recombinant expression of the mouse 6-pyruvoyltetrahydropterin synthase gene. *Biol Chem* **379**, 1441-1447 (1998)
- 11) Ohye T, Hori T, Katoh S, Nagatsu T and Ichinose H: Genomic organization and chromosomal localization of the human sepiapterin reductase gene. *Biochem Biophys Res Commun* **251**, 597-602 (1998)
- 12) Lee SW, Park IY, Hahn Y, Lee JE, Seong CS, Chung JH and Park YS: Cloning of mouse sepiapterin reductase gene and characterization of its promoter region. *Biochim Biophys Acta* **1445**, 165-171 (1999)
- 13) 三輪聡一, 渡辺恭良, 越村邦夫, 眞崎知生: テトラヒドロbiopterin研究の新しい展開. *日薬理誌* **100**, 367-381 (1992)
- 14) Thöny B, Auerbach G and Blau N: Tetrahydrobiopterin biosynthesis, regeneration and functions. *Biochem J* **347**, 1-16 (2000)
- 15) Scriver CR, Eisensmith RC, Woo SLC and Kaufman S: The hyperphenylalaninemias of man and mouse. *Annu Rev Genet* **28**, 141-165 (1994)
- 16) Segawa M, Ohmi K, Itoh S, Aoyama M and Hayakawa H: Childhood basal ganglia disease with remarkable response to L-Dopa, hereditary basal ganglia disease with marked diurnal fluctuation. *Shinryo (Tokyo)* **24**, 667-672 (1971)
- 17) Blau N, Barnes I and Dhondt JL: International database of tetrahydrobiopterin deficiencies. *J Inher Metab Dis* **19**, 8-14 (1996)
- 18) Bonafé L, Thöny B, Penzien JM, Czarnecki B and Blau N: Mutations in the sepiapterin reductase gene cause a novel tetrahydrobiopterin-dependent monoamine-neurotransmitter deficiency without hyperphenylalaninemia. *Am J Hum Genet* **69**, 269-277 (2001)
- 19) Ichinose H, Ohye T, Takahashi E, Seki N, Hori T, Segawa M, Nomura Y, Endo K, Tanaka H, Tsuji S, et al: Hereditary progressive dystonia with marked diurnal fluctuation caused by mutations in the GTP cyclohydrolase I gene. *Nat Genet* **8**, 236-242 (1994)
- 20) Numata Y, Kato T, Nagatsu T, Sugimoto T and Matsuura S: Effects of stereochemical structures of tetrahydrobiopterin on tyrosine hydroxylase. *Biochim Biophys Acta* **480**, 104-112 (1977)
- 21) Kuhn DM, Meyer MA and Lovenberg W: Comparisons of tryptophan hydroxylase from a malignant murine mast cell tumor and rat mesencephalic tegmentum. *Arch Biochim Biophys* **199**, 355-361 (1980)
- 22) Kaufman S: New tetrahydrobiopterin-dependent systems. *Annu Rev Nutr* **13**, 261-286 (1993)
- 23) Giovanelli J, Campos KL and Kaufman S: Tetrahydrobiopterin, a cofactor for rat cerebellar nitric oxide synthase, does not function as a reactant in the oxygenation of arginine. *Proc Natl Acad Sci USA* **88**, 7091-7095 (1991)
- 24) Koshimura K, Murakami Y, Tanaka J and Kato Y: The role of 6R-tetrahydrobiopterin in the nervous system. *Prog Neurobiol* **61**, 415-438 (2000)
- 25) Koshimura K, Tanaka J, Murakami Y and Kato Y: Enhancement of neural survival by 6R-tetrahydrobiopterin. *Neuroscience* **88**, 561-569 (1999)
- 26) Nakamura K, Bindokas VP, Kowlessur D, Elas M, Milstein S, Marks JD, Halpern HJ and Kang UJ:

- Tetrahydrobiopterin scavenges superoxide in dopaminergic neurons. *J Biol Chem* **276**, 34402-34407 (2001)
- 27) Cho S, Volpe BT, Bae Y, Hwang O, Choi HJ, Gal J, Park LCH, Chung CK, Du J and Joh TH: Blockade of tetrahydrobiopterin synthesis protects neurons after transient forebrain ischemia in rat: a novel role for the cofactor. *J Neurosci* **19**, 878-889 (1999)
 - 28) Sumi-Ichinose C, Urano F, Kuroda R, Ohye T, Kojima M, Tazawa M, Shiraishi H, Hagino Y, Nagatsu T, Nomura T, et al: Catecholamine and serotonin are differently regulated by tetrahydrobiopterin: a study from 6-pyruvoyltetrahydropterin synthase knockout mice. *J Biol Chem* (in press, M 102237200 e-published on August 21, 2001)
 - 29) Furukawa Y, Negaard TG, Gütllich M, Rajput AH, Pifl C, DiStefano L, Chang LJ, Price K, Shimadzu M, Hornykiewicz O, et al: Striatal biopterin and tyrosine hydroxylase protein reduction in dopa-responsive dystonia. *Neurology* **53**, 1032-1041 (1999)
 - 30) Shodon G, Troppmair J, Fontana A, Huber C, Curtius HC and Niederwieser A: Biosynthesis and metabolism of pterins in peripheral blood mononuclear cells and leukemia lines of man and mouse. *Eur J Biochem* **166**, 303-310 (1987)
 - 31) Xie Q, Whisnant R and Nathan C: Promoter of the mouse gene encoding calcium-independent nitric oxide synthase confers inducibility by interferon γ and bacterial lipopolysaccharide. *J Exp Med* **177**, 1779-1784 (1993)
 - 32) Werner-Felmayer G, Werner ER, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Schmidt K, Weiss G and Wachter H: Pteridine biosynthesis in human endothelial cells: impact on nitric oxide-mediated formation of cyclic GMP. *J Biol Chem* **268**, 1842-1846 (1993)
 - 33) Hattori Y, Nakanishi N, Kasai K, Shimoda S and Gross SS: Pyrrolidine dithiocarbamate inhibits immunostimulant-induced tetrahydrobiopterin synthesis in rat vascular smooth muscle. *Eur J Pharmacol* **296**, 107-112 (1996)
 - 34) Kasai K, Hattori Y, Banba N, Hattori S, Motohashi S, Shimoda S, Nakanishi N and Gross SS: Induction of tetrahydrobiopterin synthesis in rat cardiac myocytes: impact on cytokine-induced NO generation. *Am J Physiol* **273**, H665-H672 (1997)
 - 35) Schaffner A, Blau N, Schneemann M, Steurer J, Edgell C-J S and Schoedon G: Tetrahydrobiopterin as another EDRF in man. *Biochem Biophys Res Commun* **205**, 516-523 (1994)
 - 36) Shimizu S, Yasuda M, Ishii M, Nagai T, Kiuchi Y and Yamamoto T: Stimulation of in vitro angiogenesis by tetrahydrobiopterin in bovine aortic endothelial cells. *Jpn J Pharmacol* **80**, 177-180 (1999)
 - 37) Cosentino F and Katusic ZS: Tetrahydrobiopterin and dysfunction of endothelial nitric oxide synthase in coronary arteries. *Circulation* **91**, 139-144 (1995)
 - 38) Cosentino F and Lüscher TF: Tetrahydrobiopterin and endothelial function. *Eur Heart J* **19**, G3-G8 (1998)
 - 39) Anastasiadis PZ, Bezin L, Imerman BA, Kuhn DM, Louie MC and Levine RA: Tetrahydrobiopterin as a mediator of PC12 cell proliferation induced by EGF and NGF. *Eur J Neurosci* **9**, 1831-1837 (1997)
 - 40) Cunningham ML, Titus RG, Turco SJ and Beverley SM: Regulation of differentiation to the infective stage of the protozoan parasite *Leishmania major* by tetrahydrobiopterin. *Science* **292**, 285-287 (2001)
 - 41) Sugimoto T, Ikemoto K, Murata S, Tazawa M, Nomura T, Hagino Y, Ichinose H and Nagatsu T: Identification of (6R)-5,6,7,8-tetrahydro-D-mono-pterin (= (6R)-2-amino-5,6,7,8-tetrahydro-6-[(1R,2R)-1,2,3-trihydroxypropyl]-pteridin-4(3H)-one) as the native pteridine in *Tetrahymena pyriformis*. *Helv Chim Acta* **84**, 918-927 (2001)
 - 42) Tazawa M, Ohtsuki M, Sumi-Ichinose C, Shiraishi H, Kuroda R, Hagino Y, Nakashima S, Nozawa Y, Ichinose H, Nagatsu T, et al: GTP cyclohydrolase I from *Tetrahymena pyriformis*: cloning of cDNA and expression. *Comp Biochem Physiol* **127**, 65-73 (2000)
 - 43) Gütllich M, Witter K, Bourdais J, Veron M, Rödl W and Ziegler I: Control of 6-(D-threo-1',2'-dihydroxypropyl)pterin (dictyopterin) synthesis during aggregation of *Dictyostelium discoideum*. *Biochem J* **314**, 96-101 (1996)
 - 44) Kündig C, Haimeur A, Légaré D, Papadopoulou B and Ouellette M: Increased transport of pteridines compensates for mutations in the high affinity folate transporter and contributes to methotrexate resistance in the protozoan parasite *Leishmania tarentolae*. *EMBO J* **18**, 2342-2351 (1999)

Abstract – Perspectives on tetrahydrobiopterin research. Chiho SUMI-ICHINOSE, Masatsugu OHTSUKI, Hiroaki SHIRAISHI and Takahide NOMURA (Department of Pharmacology, Fujita Health University School of Medicine, 1-98 Dengakugakubo, Kutsukake-cho, Toyoake, Aichi 470-1192, Japan).

Folia Pharmacol. Jpn. (Nippon Yakurigaku Zasshi) **118**, 371~377 (2001)

Tetrahydrobiopterin ((6R)-L-erythro-tetrahydrobiopterin, BH4) is de novo synthesized from GTP. Enzymes involved in its synthesis are the rate limiting enzyme GTP cyclohydrolase I, 6-pyruvoyl tetrahydropterin synthase (PTPS) and sepiapterin reductase. Abnormalities in the metabolism of BH4 have been demon-

strated in some diseases affecting the central nervous systems such as atypical phenylketonuria, hereditary progressive dystonia (Segawa's disease). Furthermore, BH4 has been shown to be involved in vascular protection. It is suggested that the dysfunction of endothelial BH4 leads to atherosclerosis. Recently we established BH4-deficient mice by disrupting the PTPS gene to investigate the effects of BH4 depletion on the animals and the involvement of BH4 in regulating biological functions including neural systems. Investigation utilizing this model animal can contribute to the development of new therapeutic strategies toward various diseases involving neurological and vascular systems. Pterin derivatives other than biopterin may also be involved in the regulation of a variety of biological functions. We found that ciliated protozoan *Tetrahymena pyriformis* synthesizes tetrahydromonapterin, isomer of BH4, and its levels alter according to the progress of the cell cycle. How pterin derivatives are related to the human physiology and diseases is an interesting subject of investigation.

Keywords: tetrahydrobiopterin; GTP cyclohydrolase I; 6-pyruvoyl tetrahydropterin synthase; knockout mouse; tetrahydromonapterin

著者プロフィール

一瀬 (鷺見) 千穂 (いちのせ(すみ) ちは, Chiho SUMI-ICHINOSE) (写真前列右)

藤田保健衛生大学医学部薬理学, 講師, 博士 (医学).

◇1988年名古屋大学医学部卒業, '92年名古屋大学大学院医学研究科博士課程修了, '92年藤田保健衛生大学医学部薬理学助手, '94~'96年 IGBMC (Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Pierre Chambon 所長) 留学, '99年藤田保健衛生大学医学部薬理学講師, 現在に至る.

◇研究テーマ: モノアミンニューロンをモデルとした, 神経疾患の分子基盤とその代償機構の研究. ◇趣味: 考古学, 弓道, 笛も吹きます.

大槻 眞嗣 (おおつき まさつぐ) (写真後列左)

藤田保健衛生大学循環器内科, 講師, 博士 (医学).

◇1988年藤田学園保健衛生大学 (現藤田保健衛生大学) 医学部卒業. '94年藤田保健衛生大学医学部薬理学助手, '99年同大学循環器内科講師, 現在に至る.

◇研究テーマ: ヒト臍帯静脈血管内皮細胞における情報伝達機構の検討, ヒト心筋組織の病理学的, および, 生化学的検討.

◇趣味: 運動 (愛犬メロンとの散歩, スイミング), 音楽鑑賞 (ヒット曲中心).

白石 弘章 (しらいし ひろあき) (写真後列右)

藤田保健衛生大学医学部薬理学教室, 助手, 修士 (薬学).

◇1997年岐阜薬科大学卒業, '99年同大学大学院薬学研究科博士前期 (修士) 課程修了 (生化学 原 明教授), 同年藤田保健衛生大学医学部薬理学教室研究技術員, 2000年4月同教室助手, 現在に至る.

◇研究テーマ: 血管内皮細胞におけるテトラヒドロbiopterinの生合成調節機構とその意義に関する研究. 各論の内に秘められた普遍的真理の探究を研究モットーとし, 日々細胞と格闘している. ◇趣味: 散歩, 読書 (ミステリー小説の医薬学的考察).

野村 隆英 (のむら たかひで) (写真前列左)

藤田保健衛生大学医学部薬理学講座, 教授, 医学博士.

◇1975年名古屋大学医学部卒業. '81年名古屋大学大学院医学研究科博士課程修了. '82年名古屋大学医学部助手 (薬理学教室), '84年名古屋保健衛生大学 (現藤田保健衛生大学) 医学部講師 (薬理学), '87年同助教授, '97年同教授. '78~'80年インディアナ大学医学部生化学教室 (Robert A. Harris 教授) 留学. ◇研究テーマ: 分子薬理学, 生化学薬理, テトラヒドロbiopterinと生体機能調節.

◇著書: 「シンプル薬理学」南江堂 (1999). ◇趣味: 犬との散歩, 園芸, 音楽鑑賞 (クラシック), 読書 (文学).