

173 Methylenetetrahydrofolate reductase 遺伝子多型はNeural Tube Defectのリスク因子か？

筑波大

濱田洋実, 山田直樹, 渡邊秀樹, 漆川 邦, 小倉 剛, 安岡真奈, 藤木 豊, 奥野鈴鹿, 宗田 聡, 久保武士

【目的】欧米では、胎児や新生児のNeural Tube Defect (NTD) のrisk factorとしてMethylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) 遺伝子C677T多型が注目されている。また、近年同じMTHFR遺伝子のA1298C多型とC677T多型がともにヘテロ接合体である場合もNTDのrisk factorである可能性が報告された。そこで本研究は、日本人におけるこれらMTHFR遺伝子多型とNTDとの関連について明らかにすることを目的とした。【方法】NTD患者(0~17歳)20名、正常女性コントロール171名の計191名を対象とした。インフォームド・コンセントを得た後、末梢血10 mlよりゲノムDNAを抽出した。遺伝子型の判定はMTHFR遺伝子C677T多型は制限酵素Hinf Iを用いたPCR-RFLP法、一方MTHFR遺伝子A1298C多型は制限酵素Mbo IIを用いたPCR-RFLP法にて行った。統計学的処理は、 χ^2 検定を用いた。なお、本研究は所属機関の倫理委員会の承認を得て行われた。【成績】C677T多型遺伝子型頻度(CC:CT:TT)および遺伝子頻度(C:T)ともに、NTD群と正常コントロール群で有意差はなかった。一方A1298C多型についても、その遺伝子型頻度(AA:AC:CC)および遺伝子頻度(A:C)ともに有意差は認められなかった。しかしながら、T677遺伝子とC1298遺伝子をともに少なくとも1つ以上ずつ持つ個体の頻度は、NTD群で0.35、正常コントロール群で0.16であり、有意にNTD群で頻度が高かった($p < 0.05$, odds ratio = 2.75 (95%CI: 1.01-7.51))。【結論】日本人では、MTHFR遺伝子C677T多型およびA1298C多型はそれぞれが単独でNTDの発症に関与している可能性は低いものの、両者が複合してその発症に関与している可能性が初めて示された。

174 母体末梢血中の胎児造血系 progenitor 細胞の証明 —非侵襲的出生前診断法の確立に向けて—

千葉大

長田久夫, 飯塚美徳, 土井茂治, 関克義, 関谷宗英

【目的】妊娠女性の末梢血中には、胎児有核細胞が極めて少数ながら存在することが証明されている。これら胎児細胞の一部が増殖能を有する造血系 progenitor 細胞であるならば、至適な培養条件下で増殖させることにより、母体血細胞の混入なく、その後の遺伝学的解析に十分な数量を回収することができる。本研究では、母体血を用いた非侵襲的出生前診断法を確立するための基礎的検討として、男児を妊娠した女性を対象に、末梢血中の胎児造血系 progenitor 細胞の検出を試みた。【方法】妊娠14週から35週の男児妊娠女性11例から、計17回にわたり末梢血3mlを採取し、これらより分離した単核細胞を、各種サイトカイン含有のメチルセルロース半固形培地にて培養した。2~3週間の培養後、形成されたコロニーを個別に回収し各々の抽出DNAから、Y染色体上のSRY遺伝子ならびに7番染色体上のZP₃遺伝子を用いたnested PCR法にて同時に増幅し、アガロースゲル電気泳動後、増幅バンドの有無を検討した。統計解析には回帰分析を用いた。【成績】各血液検体からは、1mlあたり合計 114.5 ± 50.3 (mean $\pm$ 1SD) 個のコロニーが形成された。これらの中で、SRYとZP₃遺伝子バンドを合わせ持つ胎児由来コロニーの頻度は $3.7 \pm 2.3\%$ で、末梢血1mlあたりの個数に換算すると 4.1 ± 3.1 (range 0~10.0) 個であった。妊娠週数と末梢血1mlあたりの胎児コロニー数との間には、有意の正の相関が認められた($R = 0.58$, $p = 0.015$)。【結論】造血幹細胞培養とPCR法を組み合わせた新しい胎児細胞検出システムによって、胎児造血系 progenitor 細胞が有意の頻度で母体血中を循環していることが証明された。