

P-149 新しい21-水酸化酵素欠損症出生前診断法の開発 (PCR-SSCP多型解析法)

日本医大, 同生化学*
林 瑞成, 木島一洋, 天神尚子, 進 純郎,
島田 隆*, 荒木 勤

〔目的〕 最近21-水酸化酵素欠損症胎児への経母体的ステロイド投与により男性化を予防できたとの報告がされており胎生早期の診断により、発症が予防できる可能性が示唆されている。しかし、現在のRFLP法では、確実な診断は不可能であった。そこで、我々は、PCR-SSCP法 (1本鎖DNA高次構造多型解析) を用いたリンケージ解析にて、出生前診断法の開発を試みた。

〔方法〕 21-水酸化酵素遺伝子は、10のExonより成り立っている。この遺伝子をリンケージ解析するために12組のPCR primer を作製した。これは、Exonをすべて含み、一部のIntronを含むよう設計した。また、設計にあたり既知の変異部位は、すべて含めた。このすべてのPrimerを用いてPCR-SSCP法にて検討した。

〔成績〕 臨床診断の確定している17名の患者と正常コントロールを解析したところ全ての患者について複数箇所のフラグメントの多型が見られた。更に、4家系について発端者及びその両親と兄弟の解析をおこなったところ、各フラグメントの多型は、家族間でリンケージが認められた。

〔結論〕 現在発見されている変異は遺伝子上に広く分布しているが、本方法では、これらをカバーすることが可能であり、又、病因遺伝子の塩基配列を決定しなくともSSCP多型リンケージ解析により確実な診断を行うことが可能である。

P-150 先天性骨形成不全症の遺伝子解析とその受精卵診断の可能性への検討

名古屋市大
飯田忠史、種村光代、岡田節男、鈴木薫、
八神喜昭

〔目的〕 致死性の先天性骨形成不全症の多くは常染色体優性遺伝形式をとり、突然変異によっておこり、再発の危険はほとんど無いものと考えられている。今回、臨床的にⅡ型先天性骨形成不全症と診断された兄弟例を経験し、その遺伝子解析を行い再発機序を明らかにすると同時に本家系における受精卵診断の可能性について検討した。

〔方法〕 本症はコラーゲン分子のtriple helixを構成するGly-X-YのGlyに対するコドンが1塩基置換などにより他のアミノ酸に変わることが原因となる。そこで、患児の培養線維芽細胞よりmRNAを抽出、逆転写PCR法により $\alpha 1$ 鎖のtriple helixをコードする部分をクローニングし塩基配列を決定した。また、再発した原因が親の細胞において同じ変異がモザイクで存在している可能性が高いため、親の皮膚細胞、白血球、精子を試料として検索した。

〔成績〕 患児線維芽細胞を用いた遺伝子解析では、約半数のクローンに1塩基置換が存在し、Exon44に含まれる862番目のアミノ酸GlyがSerに変異していることが判明した。また、両親の解析では、父親の組織に変異がモザイク状態で存在することが判った。そこで、着床前診断の可能性を探るために顕微鏡下で精子を1匹ずつ取り出し、単一精子から変異が同定できるかどうかを検索し、約40%の精子に変異遺伝子の存在が確認された。〔結論〕 優性遺伝であるⅡ型先天性骨形成不全症の兄弟発症例を経験し、その再発機序解明の過程でコラーゲン分子のコドンの1塩基置換であることを明らかにし、父親が変異遺伝子をモザイク保有していることを示した。次に、この変異を単一細胞で検出できるシステムを確立し、着床前診断に応用可能であることを明らかにした。