

211 母体血による無侵襲的胎児 DNA 診断法(Fetal DNA Diagnosis from Maternal Blood, FDD-MB)の開発 —第4報—

金沢医大、うきた病院\*、SRL (株) \*\*  
高林晴夫、桑原惣隆、浮田俊彦\*、伊川和美\*、  
山藤 薫\*、羽重田さおり\*\*

【目的】本会において、これまで我々は母体血から胎児有核赤血球(NRBC)を高率に発見し、それらを micromanipulator を使い選択的に回収し、同時に PCR, FISHによる胎児 NRBC の single cell analysis により胎児 DNA 情報を得ることが可能であることを報告してきた。今回は本法をさらに発展させ、胎児 NRBC の primer extension preamplification (PEP)-PCR による single cell analysis が可能であるか検討した。また、母体血中の胎児 NRBC の出現率についても再検討を行った。【方法】micromanipulator により男性胎児 NRBC (10 個) を単離し、random primer を使い PEP(50 cycles)を行い、続いて DYZ1 領域および TSD 領域の primer を使いそれぞれ PCR(40 cycles)を行った。また、NRBC の回収法に改良を加え、正常妊婦(79 例)、褥婦(13 例)の血中胎児 NRBC の出現率を改めて算定し直した。【成績】単離した男性胎児 NRBC の PEP-PCR の結果、すべての細胞から DYZ1, TSD 領域の signal が得られた。また、母体血中の NRBC の出現は、妊娠 5 週からみられ、妊娠 8 週以降では全てに出現が確認された。褥婦においては、産褥 3 日、30 日の出現率はそれぞれ 86%、33%であった。【結論】PCR, multi-color FISH, PEP-PCR による胎児 NRBC の single cell analysis が可能となった。我々の開発した本法を用い、さらに将来は PEP-comparative genomic hybridization(CGH)を応用することにより広範な胎児 DNA 情報が、妊娠 8 週以降では全妊娠期間を通じて母体血から non-invasive, risk-free に得られるようになり、近い将来、本法の幅広い臨床応用、普及が見込まれる。

212 Apert 症候群の出生前遺伝子診断

千葉大  
石井譲, 木下一志, 長田久夫, 関谷宗英

【目的】Apert 症候群は頭蓋骨早期融合症の一型で、尖頭・両眼隔離・合指症を特徴とする。最近、頭蓋顔面症候群に属する幾つかの疾患は、fibroblast growth factor receptor (FGFR) 遺伝子ファミリーの異常に起因することが判明した。Apert 症候群では、FGFR2 遺伝子の第 2・第 3 免疫グロブリン様ドメイン間の結合部に 2 種類の異常が報告されている。今回我々は、Apert 症候群の患児を持つ家系において、FGFR2 遺伝子の上記の部位を解析し、さらに羊水胎児細胞を用いて出生前遺伝子診断を試みた。

【方法】母・父・正常第 1 子・罹患第 2 子の末梢血有核細胞、ならびに第 3 子の羊水細胞より RNA を抽出し、対応する cDNA を作製後、各 cDNA から FGFR2 遺伝子の第 7 エクソン 5' 末端部分を nested PCR 法にて増幅した。次に増幅産物を制限酵素 Mbo I, Bgl I, Hae III, ならびに BstU I にて消化し、ポリアクリルアミドゲルにて電気泳動後、銀染色を行いバンドパターンを各試料間で比較検討した。

【成績】各制限酵素認識部位の有無より、罹患第 2 子では塩基配列上 934 番塩基が C から G へと置換され、その結果アミノ酸配列上 252 番目のセリンがトリプトファンに変換されていることが判明した。この FGFR2 遺伝子の点変異は報告異常例の一方に一致した。また、母・父・正常第 1 子、ならびに第 3 子羊水細胞試料には同じ点変異は認められなかった。【結論】本家系における Apert 症候群の発症は突然変異に由来し、かつ第 3 子胎児には同一異常の存在しないことが遺伝子レベルで確認された。