

染色体異常症の細胞学的ならびに臨床的診断法の開発

1 4・1 染色体分染法の開発に関する研究

国立遺伝学研究所

中 込 弥 男

岡 成 寛

研 究 目 的

細分課題 1 4 の研究目的は、副課題 3 の初めの部分で解説されているごとく、イ) ロ) ハ) ニ) の 4 項目にまとめることができる。中込は主としてイ) ロ) ハ) を担当するが、本年はその内特にイ) とロ) のテーマを、重点的に研究した。イ) は、精度の高い新しい分染技術の開発を目標とする研究で、これによって従来は検出不能であった微細な染色体の変化や、同定できなかった複雑な構造異常の診断が実現し、原因不明の先天異常の内から新しい染色体異常症候群が次々と独立することが期待される。また全く新しい分野への染色体分析の応用が、実現する可能性もある。ロ) は、得られる分染所見そのものは既存の方法と変わらないが、技術的に簡単で実施が容易、結果が安定していて失敗がない、特殊な機械器具を要しない、などの諸条件を満たす簡便法の開発である。これによって、従来は特定の研究機関などにおいて実施されていた分染法の普及が実現し、ニ) のテーマによる成果と合せることにより、第一線病院における染色体異常の診断が新たに可能になるか、または水準が大巾に向上することが期待される。ハ) は、イ) およびロ) に対する、いわば補完的な研究テーマである。

研 究 方 法

先ずイ) の目的には、染色体の変異部分を分染する技術を開発することとした。従来の Q および C バンド法によっては、検出できる変異がかなり限定され

ているほか、C法では個々の染色体の識別が不能で、またQ・C逐次法ではCバンドの成功率が著しく低いなどの欠点があるため、既存の技術と全く異なる原理に基づく分染法が必要である。まず染色体の部分によりDNA複製のタイミングが異なる事実を利用して、変異部分の解析を行う技術を開発した。方法を要約すると、予めBUdRを取り込ませた培養細胞を、標本作製の数時間前に洗滌し、サイミジンを含む培養液と置換、以後は型のごとく標本を作成する。染色には、アクリジンオレンジ(AO)、ヘキスト33258、ヘキスト・ギムザ法などを試みた。

ロ)の目的には、高価で取扱いが著しく不便であり、しかも検者の眼や皮膚に有害な紫外線を放出する蛍光顕微鏡を使用せずに、Qバンドなど染色体の蛍光分析を行う可能性を検討した。先ずキナクリンマスタード(QM)およびキナクリン(Q)、AOなどの吸収スペクトルを調べ、吸収のピークが何れも可視域にあることから、白色光源と青紫領域を透過する既存の干渉フィルターの組み合わせを用いて、これらの色素で染めた標本の蛍光分析を行った。

### 研 究 成 果

イ)については、BUdR 24時間処理とサイミジン置換7時間、AO染色の組み合わせにより最良の結果が得られることが判明、これをLBA法と命名した。この方法による端部着糸型染色体についての検討の結果では、8例の患者の内より短腕の変異が69(25、以下カッコ内はQバンド法による検出数)、着糸点の変異が74(18)、同じく付随体が58(79)検出され、付随体を除き圧倒的に本法が有効であった。また中部および次中部着糸型染色体の着糸点の変異と、1、9、16番の2次狭窄部の変異が検出可能であることも本法の特徴であり、Qに続き本法による染色という逐次処理が可能であることと合せて、飛躍的な診断能力の向上が実現した。またX染色体を個々に識別する可能性を示唆する所見も得られたが、これについてはさらに検討を続ける予定である。

ロ)としては、免疫蛍光法用のFITC干渉フィルターをハロゲンランプと併用したところ、QM、Q、AO染色による標本がいずれも観察可能で、染色体のQおよびRバンド像とY小体の分析に充分使用できることがわかった。

## 考 察

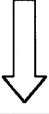
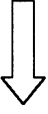
今後の問題に絞って2・3の考察を行うと、LBA法については、X染色体の家系内継承の追求を実現することと、処理条件による結果のバラツキがほぼ無視できる本法の特徴を生かして、2次狭窄部の定量的な扱いに踏み出すことが挙げられる。干渉フィルターによる蛍光法については、明るさを増すことと、スライドガラスの傷などにより生ずる赤色の除去が課題であるが、赤色域に副透過帯を持たないキナクリン専用の干渉フィルターを使用することにより、ほぼ解決すると思われるので、その開発を次年度のテーマとしたいと考えている。

## 発 表 論 文

- 1) Nakagome, Y. (1977). Initiation of DNA replication in human chromosomes. *Exper. Cell Res.* 106:457-461.
- 2) Nakagome, Y., Oka, S. and Higurashi, M. (1977). Quinacrine banding without a fluorescence microscope. *Lancet* 2:139-140.
- 3) Nakagome, Y., Kitagawa, T., Iinuma, K., Matsunaga, E., Shinoda, T. and Ando, T. (1977). Pitfalls in the use of chromosome variants for paternity dispute cases. *Hum. Genet.* 37:255-260.
- 4) Nakagome, Y., Oka, S. and Matsunaga, E. (1977). LBA technique in the detection of chromosome variants. II. Chromosomes except for those with Q variants. *Hum. Genet.* 38:307-314.
- 5) Oka, S., Nakagome, Y., Matsunaga, E. and Arima, M. (1977). LBA technique in the detection of chromosome variants. I. Chromosomes with known sites of Q variants. *Hum. Genet.* 39:31-37.
- 6) Oka, S., Nakagome, Y., Teramura, F., Hosono, F. and Katsumata, M. (1977). Trisomy/partial monosomy mosaicism of no. 13 pair [46, XX, -13, +rob(13q13q)/46, XX, r(13)(p11q34)].

Jap. J. Hum. Genet. 22:73-78.

- 7) Higurashi, M., Segawa, M., Matsui, I., Iinuma, K. and Nakagome, Y. (1977). Screening for autosomal aberrations. Acta. Paediat. Scandinav. 66:501-504.
- 8) Suzuki, Y., Ono, K., Oka, S., Matsubara, T., Arima, M. and Nakagome, Y. (1977). A case of (13q;18q) translocation with proximal 13q monosomy. Hum. Genet. 38:337-341.
- 9) Abe, T., Morita, M., Kawai, K., Misawa, S., Takino, T., Hashimoto, H. and Nakagome, Y. (1977). Partial tetrasomy 9(9pter → 9q2101) due to an extra iso-dicentric chromosome. Ann. Génét. 20:111-114.
- 10) 中込弥男(1977). Cat cry (猫鳴き)症候群. 日本臨床, 35 (春季増刊): 1346-1347.

 **検索用テキスト** OCR(光学的文字認識)ソフト使用   
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります

#### 研究目的

細分課題 14 の研究目的は、副課題 3 の初めの部分で解説されているごとく、イ)ロ)ハ)ニ)の 4 項目にまとめることができる。中込は主としてイ)ロ)ハ)を担当するが、本年はその内特にイ)とロ)のテーマを、重点的に研究した。イ)は、精度の高い新しい分染技術の開発を目標とする研究で、これによって従来は検出不能であった微細な染色体の変化や、同定できなかった複雑な構造異常の診断が実現し、原因不明の先天異常の内から新しい染色体異常症候群が次々と独立することが期待される。また全く新しい分野への染色体分析の応用が、実現する可能性もある。