

染色体異常症の診断技術の向上に関する研究

中 込 弥 男
安 積 順 一
岡 成 寛
松 原 貴 子
(国立遺伝学研究所人類遺伝部)

はじめに

新生児の調査によると、約0.6%が染色体異常を示す。わが国の年間出産数は170～200万であるから、毎年10,000～12,000例の染色体異常児が生まれていることになる。死産児や周産期死亡では6～7%、自然流産の調査では平均20%が異常を示すことが知られており、先天異常のモニタリングに際しては、染色体の問題は避けて通れないことになる。

モニタリングにおける問題点

染色体異常のモニタリングにおける問題点を、診断技術の面から整理してみよう。まずスクリーニング(A)と精密な分析(B)という二つのレベルに分けて考えるのが、現実的であろう。前者については、異常の見逃がし(A1)と培養の不成功(A2)、後者については、確定診断に精密な分析法を必要とするのに追加の検体が得られない(再採血が不可能)のが最大の問題で(B1)、分染技術の開発などにより分析精度の向上を図る(B2)ことも重要である。それぞれの項目別に、具体的な対策などをまとめてみよう。A1は、さらに三つの問題に分けることができる。モザイクの見逃がし、XおよびYクロマチン検査の信頼度の問題、構造異常の見逃がしの計3種である。A2については、検体の一部を凍結保存し、必要に応じて培養を繰り返す方法があればよいことになる。B1については、培養終了後に固定済みの検体を保存するか、培養途中または培養前の細胞を生きた状態で保存できればよいことになる。最新の高精度分染法は培養途中での種々な処理を必要とするので、最後の方法が最も理想的である。B2は分染技術そのものの開発が主で、報告された技術の追試と改良なども一部加えて行う必要がある。まず、中込が本年度に行った検討の結果を述べ、続いて日暮担当の部分を別項にまとめる。

検体の保存について

検体の保存は、採血から無染色の染色体標本(以下単にプレパラート)に至る多くの段階で行うことができる。

イ) 固定ずみ材料の保存：プレパラートまたは固定液中に浮遊した細胞を良好な状態で保存することができれば、一般的な分染法の他、DAPI や distamycin-DAPI など多数の螢光法、核仁形成部を対象とする銀染色などによる解析が可能である。プレパラートを室温で放置した場合、180日目にはQバンドの染色性が低下し、著しく褪色しやすくなる。トリプシンGバンド (GTG) の処理時間は、標本作製後14日、60日、180日、270日において、それぞれ10、60～120、400～500、600秒で、480日放置したプレパラートでは良好なGバンドは得られなかった。シリカゲル入りの真空デシケーターに保存すると、GTG の処理時間は60日で20～30秒、180日で100～120秒、480日で180～200秒と、著しく改善される。固定液（氷酢酸およびメタノール、1：3）中での保存については、 -20°C のフリーザーに6ヵ月程度保存したものでは100%分析可能であった。3年間の保存後には40～50%のみが可能で、標本の質についてもかなりの低下がみられた。

ロ) 再度の培養を目的とする検体の保存：リンホプレプにより分離した白血球については、凍結保存後のリンパ系細胞株樹立の成功率は約30%であるが、今回は全血を凍結保存した後に染色体分析用の短期培養を行うか、リンパ系細胞株の樹立を行う方法の確立を試みるため、検討を始めている。

分析精度の向上

イ) 定量的手法の染色体分析への応用：染色体の異型の検出や、構造異常の発生に際して生ずる染色体の過不足の検出精度を向上せしめることを目的とする。

異型については、D群およびG群の計5対の端部着糸型染色体について検討した。BUdRを17時間、洗浄後にTdRを7時間取り込ませ、キナクリン(Q) 続いてアクリジンオレンジ(AO)で逐次染色し、各段階毎に撮影を行うLBA法(中込・岡, 1977)により螢光像のネガフィルムを得て、反転後に走査型顕微濃度計(ニコンビッカース M85)を用いてAOの螢光量を定量した。各異型部分は着糸点より付随体までを一括して測定したが、12個体より計47個所の異型を検出することができた。13, 14, 15, 21, 22番について、それぞれ9, 11, 7, 10, 10個所である。

逆位や相互転座と思われる症例が多発奇形や精神薄弱を示す場合、微小な欠失が合併している可能性が問題となる。多発奇形の症例に一見inv(7)(p13q32)の核型を認めたので、定量法を応用しt検定を行ったところ、正常と逆位を持つ7番の間に有意差はなく、単純な逆位に奇形が偶発したという結論となった。なおr(6), rec(14) dup q, dup(14q)などの構造異常の症例に対しても欠失ないし過剰部分の定量を行った。

ロ) 分染法の開発と改良：通常に分染法より一段高い精度の分染を必要とする場合には、Yunis法などの高精度分染法が用いられるが、手技も複雑で、成功率も高いとはいえない。そこで新しい分染法の開発を試みた。まずDNAのG・C塩基対に結合するアクチノマイシンDを培養中に添加したが、ややG淡バンド部の延長はみられたものの、分裂頻度の減少が著しい

ため実用性に乏しいと判断された。標本作製の数時間前に AO を投与し、分裂中期へ向けての染色体の凝縮を抑制する試みについては、かなりの好結果が得られたが、さらに分裂頻度と分析精度を上げるため処理条件などをつめる予定である。

非対称型の染色体交換などにより二動原体型 (dic) 染色体が生ずると、動原体 (着糸点) の内片方は不活性化する場合が多い。この際に着糸点は Cd バンド法による染色性を失うこと、他方 C バンドによる染色性は保たれること、などはすでに中込ら (1977) が 1 例で観察し報告した。その後 dic 計 8 例を蒐集して検討したところ、これらの現象がかなり普遍的にみられることがわかった。機能の有無に応じ染色体上の構造物が出現ないし消失する初めての事例であり、興味深い。由来不明の構造異常を同定する場合には、本現象も考慮しなければならない。

(inv : inversion, r : ring, rec : recombinant, dup : duplication)

文 献

- 1) Azumi, J., Nakagome, Y., Oka, S. and Matsunaga, E. : A new approach in the evaluation of chromosome variants in man. II. Pairs without Q or C (qh) variants. *Hum. Genet.*, **55** : 75~79, 1980.
- 2) Oka, S., Nakagome, Y., Azumi, J., Matsunaga, E. and Igarashi, Y. : A new approach in the evaluation of chromosome variants in man. III. Pairs with established Q or C variable sites. *Hum. Genet.*, **55** : 327~331, 1980.
- 3) Nakagome, Y., Tanaka, T., Hashimoto, T., Kuyama, M. and Maruyama, M. : Interstitial deletion 6 q in a malformed boy. *Ann. Génét.*, **23** : 49~51, 1980.
- 4) Nakagome, Y. : On the new policy for reports on chromosomal anomalies. *Hum. Genet.*, **53** : 427, 1980.
- 5) Nakagome, Y. and Suzuki, Y. : Reply to the letter of Prieto et al. concerning our paper on a case of 13 q;18 q translocation. *Hum. Genet.*, **53** : 283, 1980.
- 6) Nakagome, Y. : Suppressed centromere and the loss of "centric dot" in dicentric chromosomes. *Annual Rep. Nat. Inst. Genet.*, **30** : 97~98, 1980.
- 7) Nakagome, Y., Azumi, J., Oka, S. and Matsunaga, E. : A new approach in the evaluation of chromosome variants in man. (II and III). *Annual Rep. Nat. Inst. Genet.*, **30** : 99, 1980.
- 8) 中込弥男 : ヒトの染色体地図. *小児科 Mook.* **11** : 67~77, 1980.
- 9) 中込弥男 : 染色体の微細構造と遺伝情報, 新小児医学大系 (小林登, 他編). 第 7 巻 B, 中山書店, 東京, 11~33, 1980.
- 10) 中込弥男, 飯沼和三 : 染色体研究法, 新小児医学大系 (小林登, 他編). 第 7 巻 B, 中山書店, 東京, 34~47, 1980.
- 11) 中込弥男 : 常染色体異常の概観・A 群染色体の異常, 新小児医学大系 (小林登, 他編). 第 7 巻 B, 中山書店, 東京, 227~235, 1980.
- 12) 中込弥男 : その他の常染色体異常, 新小児医学大系 (小林登, 他編). 第 7 巻 B, 中山書店, 東京, 323~329, 1980.



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



はじめに

新生児の調査によると、約0.6%が染色体異常を示す。わが国の年間出産数は170~200万であるから、毎年10,000~12,000例の染色体異常児が生まれていることになる。死産児や周産期死亡では6~7%、自然流産の調査では平均20%が異常を示すことが知られており、先天異常のモニタリングに際しては、染色体の問題は避けて通れないことになる。