

脆弱X症候群の疫学

研究協力者 梶 井 正
(山口大学医学部小児科)

染色体の脆弱部位 (fragile sites) を大別すると、特定の個体でのみ出現頻度が高く、遺伝性の認められる heritable fragile sites と、大多数の人に発現するが、出現頻度は低い common fragile sites に分けられる。前者は、その発現に必要な培養条件により、Folate-sensitive fragile sites, Brd U-requiring fragile sites, distamycin-A inducible fragile sites に分けられ、それぞれ15部位、1部位、2部位の計18部位が知られている。近年、Glover ら¹⁾が aphidicolin で6部位の、Sutherland ら²⁾は5-azacytidine, Bromodeoxyuridine で、それぞれ2部位、3部位の common fragile sites が高頻度に発現することを報告した。従って、common fragile sites と heritable fragile sites の区別は、当初考えられたほど明確でなく、検出のための培養条件により、前者から後者に移行すると考えられる。

folate-sensitive fragile sites に属する fra (X) (q27) が精神薄弱を伴う以外は臨床症状を呈しない。一般集団での fragile sites の分布についても詳細な報告はない。われわれは、一般集団と fra (Xq27) 陽性児につき、4種の培養条件下での common fragile sites の分布を比較検討した (昭和59年度研究報告)。今回は①3種の培養条件下での fragile sites の出現頻度を同様に検討した。さらに② thymidylate stress によるリンパ球の大型化、③ common fragile sites に対する aphidicolin と ethanol の相乗効果について検討した。

1. 3種の培養条件下での fragile sites の出現頻度

① 9～33歳の正常男女7人、fra (X) 陽性男子3名の末梢血リンパ球を次の3種の培養条件下で4日間培養した。1) Eagle の MEM (葉酸 1 mg/L を含む) に BrdU 20 μ g/ml を培養最後の6時間加えたもの (MEM+BrdU)、2) MEM から葉酸を除いたもの (MEM-FA)、3) MEM-FA に BrdU 20 μ g/ml を培養最後の6時間加えたもの (MEM-FA+BrdU) の3種で、いずれも PHA と仔ウシ血清 5% を加えた。通常のギムザ染色標本について各培養ごとに100の分裂像を観察し、染色体上の fragile sites の部位を記録した後に脱色、G-分染し、fragile sites の部位を同定した。

各培養ごとの fragile sites の頻度は、MEM+BrdU で24.7%、MEM-FA で24.5%、MEM-FA+BrdU で86.2%だった (図1)。上記の何れかの条件で平均1%以上の断裂を示した部位は次の12ヵ所だった。1P31, 2P24, 3P14, 5P14, 6q13, 6q26, 7P14, 9P13, 10q21, 13q31, 16q23, 18q12。3種の培養条件下での fragile sites を比較すると、common fragile sites

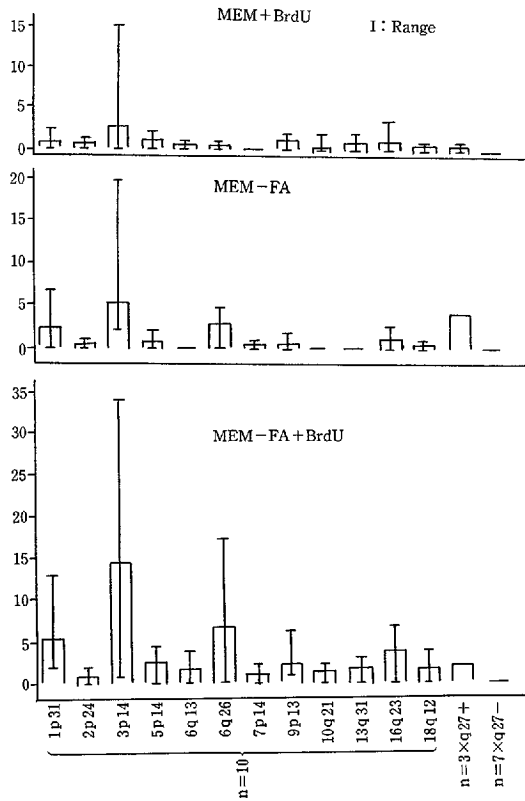


図1 各種培養条件のもとにおける common fragile sites と fra(x) の出現頻度。上段：MEM+BrdU, 中段：MEM-FA, 下段：MEM-FA+BrdU。

では相乗的に作用し、Xq27 は減少した。従って、BrdU は Xq27 の発現を抑制する。正常人と fra (X) 陽性者では、Xq27 以上の fragile sites の出現部位と頻度は差がなかった。従来報告のない部位は 2P24, 5P14, 7P14, 18q12 だった。

2. Thymidylate stress によるリンパ球の大型化

② fra (X) (q27) 検出のための thymidylate stress の条件下では、リンパ球の大型化がみられる。リンパ球の直径を、7~33歳の正常男女6名の末梢リンパ球を用い以下の条件について検討した。1) MEM, 2) MEM+BrdU, 3) MEM に aphidicolin 0.2 μ M を培養最後の26時間加えたもの (MEM+aphidicolin), 4) MEM に MTX 10 μ g/mlを培養最後の24時間加えたもの (MEM+MTX), 5) MEM に FudR 0.1 μ M を培養最後の24時間加えたもの (MEM+FudR), 6) MEM-FA の6種で、いずれも PHA と仔ウシ血清5%を加え4日間培養し、染色体標本を作った。通常のギムザ染色標本について各培養ごとに200個のリンパ球の直径を顕微鏡下で計測した。

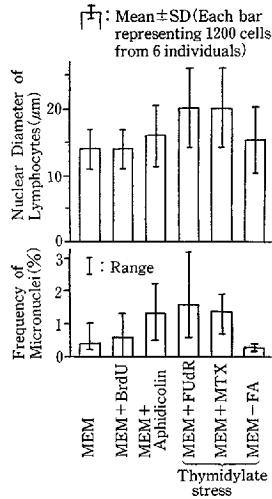


図2 リンパ球を各種の条件下で培養したときのリンパ球核(上段)の大型化と micronuclei の出現頻度(下段)。一般に thymidylate stress のかかる条件でリンパ球の大型化が著しい。

いずれの条件下でもリンパ球の直径は正規分布を示した(図2)。各培養での6人の合計1,200個のリンパ球の直径の平均値と標準偏差は、MEM, $13.7 \pm 3.07 \mu$, MEM+BrdU, $14.3 \pm 3.36 \mu$, MEM+aphidicolin, $16.1 \pm 4.43 \mu$, MEM+MTX, $20.6 \pm 6.08 \mu$, MEM+FudR, $20.5 \pm 5.93 \mu$, MEM-FA, $15.5 \pm 4.46 \mu$ だった。従って thymidylate stress 下(条件4, 5, 6)と aphidicolin の培養液への添加によりリンパ球が大型化した。

3. Aphidicolin と ethanol の相乗効果

③ Aphidicolin は DNA-polymerase α の抑制と thymidylate synthetase の抑制作用が知られている。Aphidicolin の作用に対する ethanol の影響を検討した(図3)。22歳と23歳の2人の成人女子の末梢血リンパ球を Eagle の MEM に PHA と仔ウシ血清5%を加えた培養液中で4日間培養した。Aphidicolin (最終濃度 $0.2 \mu\text{M}$)を培養最後の26時間加え, ethanol または dimethylsulfoxide (DMSO) の最終濃度を0.02%, 0.1%, 0.2%, 0.5%, 1%, 2% に変化させた。対照として, ethanol または DMSO のみを添加した培養を用いた。また, Thymidylate synthetase の抑制作用のある FudR (最終濃度 $0.1 \mu\text{M}$)を培養最後の26時間加え, ethanol の最終濃度を前述のように変化させた。通常のギムザ染色標本について, 各培養ごとに100個の分裂像を観察し, 染色体上の断裂の数, 3P14 の数, 分裂指数を記録した。さらに8個の分裂像の100ヵ所の fragile sites を記録した後に脱色, G-分染し, fragile sites の部位を同定した。

分裂指数は ethanol 添加ではその濃度が0.5%までは1.4, 1%で0.6, 2%で0になった。DMSO 添加ではその濃度が2%まで変化なかった。fragile sites の頻度は aphidicolin 添加条

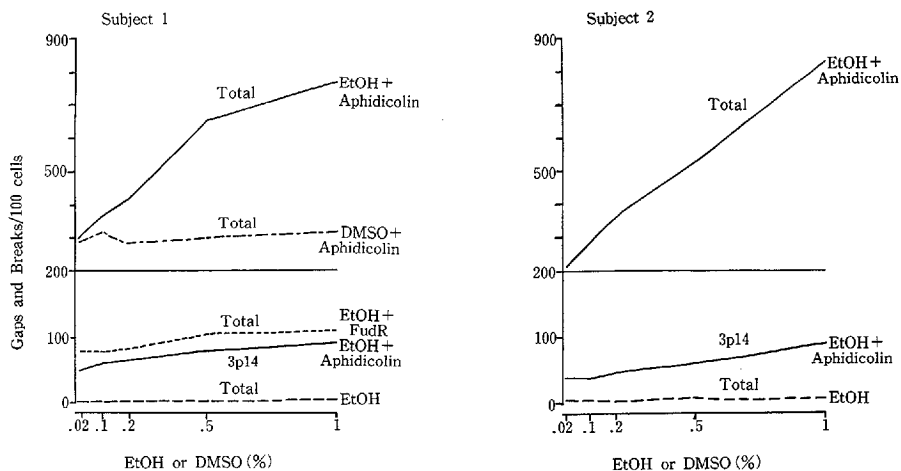


図3 Aphidicolin と ethanol の相乗作用。Aphidicolin+ethanol (実線) では, ethanol の濃度の上昇とともに fragile sites の頻度が増加する。Ethanol 単独 (破線), aphidicolin+DMSO (---) では, 濃度の上昇とともに fragile sites の増加は生じない。同様に FudR に ethanol を加えても, fragile sites の頻度は上昇しなかった。

件下で, ethanol 0.02%では, 検体Aで201%, 検体Bで296%, 濃度を増すにつれて増加し, ethanol 1%でそれぞれ823%, 765%に達した。DMSO 添加では0.02%~2%で差がなく, 245~312%の間にあった。3P14 の頻度は全 fragile sites の頻度に比例した。分染色によって確認した2% ethanol 添加時の100ヵ所の fragile sites についても45ヵ所が common fragile sites だった。ethanol 単独では分裂指数は低下するが, fragile sites の頻度は増加しなかった。FudR 添加下では, ethanol の濃度0.02%~2%で差がなく, 78%~109%だった (図3)。以上の結果から, ethanol と aphidicolin は common fragile sites の発現に相乗的に作用し, その作用は DNA-polymerase α に抑制的だと考えた。DMSO にはこの作用はない。

考 察

現在, fra (X) (q27) 以外の fragile sites の臨床的な意味は不明だが, 発癌遺伝子の局在部位と一致するものや, de-novo 染色体構造異常者で染色体切断部と一致して fragile sites が発現する症例の報告が見られ, 今後発癌機序や染色体異常の発生等の機序の解明において, 多数の data の集積が必要である。

学 会 発 表

- 1) 新川詔夫, 石切山敏, 村野一郎, 杉尾嘉嗣, 梶井 正: 家族性 MR 集団中の脆弱X症候群. 第86回日本小児科学会, 昭和58年4月15日~17日.
- 2) 杉尾嘉嗣, 村野一郎, 梶井 正: 新しい fragile site : fra (2) (P25). 第87回日本小児科学会, 昭和59年5月18日~20日.
- 3) 杉尾嘉嗣, 梶井 正: 各種培養条件下における染色体脆弱部位の出現頻度. 日本人類遺

伝学会第29回大会，昭和59年11月14日～16日。

- 4) 村野一郎，杉尾嘉嗣，梶井 正：葉酸欠乏培養によるリンパ球の大型化．第88回日本小児科学会，昭和60年6月21日～23日。
- 5) 村野一郎，梶井 正：Thymidylate stress によるリンパ球の大型化．日本人類遺伝学会第30回大会，昭和60年11月7日～9日。
- 6) 桑野 聡，村野一郎，梶井 正：葉酸欠乏培地に BrdU 添加時の common fragile sites の検出．日本人類遺伝学会第30回大会，昭和60年11月7日～9日。



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



染色体の脆弱部位(fragile sites)を大別すると,特定の個体でのみ出現頻度が高く,遺伝性の認められるheritable fragile sitesと,大多数の人に発現するが,出現頻度は低いcommon fragile sitesに分けられる。前者は,その発現に必要な培養条件により,Folate-sensitive fragile sites,Brd U-requiring fragile sites,distamycin-A inducible fragile sitesに分けられ,それぞれ15部位,1部位,2部位の計18部位が知られている。近年,Gloverらがaphidicolinで6部位の,Sutherlandらは5-azacytidine,Bromodeoxyuridineで,それぞれ2部位,3部位のcommon fragile sitesが高頻度に発現することを報告した。従って,common fragile sitesとheritable fragile sitesの区別は,当初考えられたほど明確でなく,検出のための培養条件により,前者から後者に移行すると考えられる。

folate-sensitive fragile sitesに属するfra(X)(q27)が精神薄弱を伴う以外は臨床症状を呈しない。一般集団でのfragile sitesの分布についても詳細な報告はない。われわれは,一般集団とfra(Xq27)陽性児につき,4種の培養条件下でのcommon fragile sitesの分布を比較検討した(昭和59年度研究報告)。今回は3種の培養条件下でのfragile sitesの出現頻度を同様に検討した。さらに thymidylate stressによるリンパ球の大型化, common fragile sitesに対するaphidicolinとethanolの相乗効果について検討した。