

1-4. 筋ジスの出生前DNA診断

片山 進*

デュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)は出生男児およそ4,000名に1名の割合で発生する重篤なX連鎖性劣性遺伝病である。人類が罹患する病気のなかで最も悲惨な疾患といわれている。我が国では患者数約7,000名、毎年150名前後が発生していると推定される。患児は出生直後は正常であるが、3才から6才頃までに徐々に歩行障害などが発症し、12才までに車椅子を必要とし、20才までに死亡する。DMDの根本的な治療法は残念ながらまだないので患児を持つ家系内の女性で、出産を考える人にとって本人が保因者か否か、あるいは妊娠した場合に胎児が正常か罹患児かの決定は深刻な問題となっている。かって妊娠中期に胎児の臍帯血を採取しそのCPK測定による診断も行われた。しかしこの診断法の信頼性は乏しく、現在では利用されていない。

一方分子生物学の進歩を背景として、1985年頃からDNAを利用した新しい筋ジスの診断法が次々と登場してきた。初期のDNA診断はサザン法によるgenomicプローブを利用したRFLP分析から始まった。次に筋ジスの遺伝子がクローニングされ、cDNAプローブで欠失を見る方法が出てきた。さらには近年ではPCR法で欠失を見る方法や増幅産物を制限酵素で切断してDNA多型を見るPCR-RFLP法が出現し、従来のサザン法にとって代わりつつある。さらに最

近ではより多型の検出率が高いといわれるdinucleotide repeat polymorphismや、mRNAよりcDNAを合成するRT-PCR法などもある。これらの分析法はそれぞれ一長一短があるので症例により分析法を使い分ける必要がある(図1)。

筋ジスの出生前診断で重要な事は診断の時点で家系内に患児が生存し、患児のDNAが手に入るかどうかである。これにより診断法が異なるからである。当科での保因者診断と出生前診断施行時の筋ジス患児の生存率をみると保因者

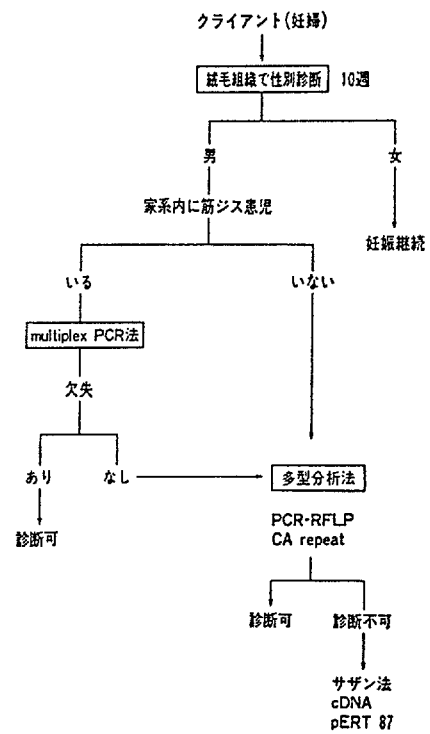


図1 筋ジス出生前診断の手順

*東邦大学医学部第1産婦人科

診断では12家系中9家系で75%であり、出生前診断では28家系中18家系の64%であった。一方 multiplex PCRで欠失をみる方法は短時間で結果が出て、信頼性も高い。しかし欠失の検出率は諸家の報告を平均すると日本人では約50%程度である。したがって出生前診断における multiplex PCRの有用性は $64\% \times 50\% = 32\%$ となり、残りの約70%は多型分析が必要なる。多型分析ではPCR-RFLP法が最も有用で約86%で診断可能である。

今回このPCR-RFLP法を利用した出生前診断でその有用性と限界をしめした興味ある症例を経験したので報告する。

症例1は双胎の出生前DNA診断例。2児とも男児でドシェンヌ型筋ジストロフィーであった例である。クライアントは27才の初妊婦で妊娠12週で紹介により来院した。13才で死亡した妊婦の兄が筋ジスであった。家系内発症はこの兄のみで孤発例である。母親のCPKは高値で保因者と考えられた。しかし本人のCPKは正常値であり保因者が正常か不明であった。2羊膜性の双胎であった。18週で羊水穿刺を施行し、インジゴカルミンを利用し2つの羊水腔より別々の羊水を採取した。PCR法で性別は2児とも男児、超音波でも男児と確認した。PCR-RFLP法(87-15/Xmnl)で胎児はクライアントの母親由来のアリールをうけつぎ、罹患の可能性は50%と診断した(図2)。クライアントは相談の結果20週で人工中絶した。抗ジストロフィン抗体(4種類)によるジストロフィン免疫染色で流産胎児は2児とも筋ジストロフィーであった。この症例は双胎の筋ジス男児の出生を防ぐことができ、PCR-RFLP法の有効性を確認しえた例であった。

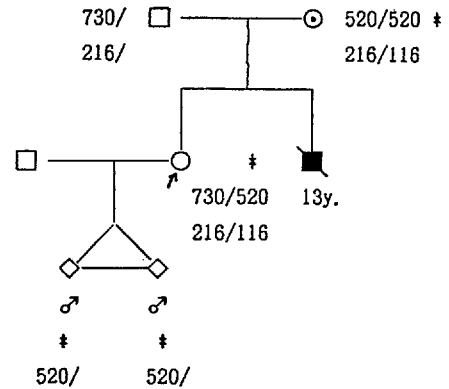


図2 分析結果(PCR法で2児とも男児、超音波でも確認)

症例2は組み換え(recombination)によるドシェンヌ型筋ジストロフィーの発症と考えられる例である。クライアントは27才の2回経産婦で第1子と母方の叔父がDMDの遺伝性家系。本人のCPKは377は高値で保因者と考えられた。第2子(娘)と妹の保因者診断希望した。図3にPCR-RFLP分析の泳動写真と図4にその結果をしめした。患児のアリール730bpが筋ジスの変異遺伝子と連鎖していると考えるところの変異遺伝子は祖父由来となり祖母が保因者であることと矛盾した。また娘はDNA診断では非保因者となるがCPKは1349と高値で実際は保因者と考えられこの点も矛盾する。そこで変異遺伝

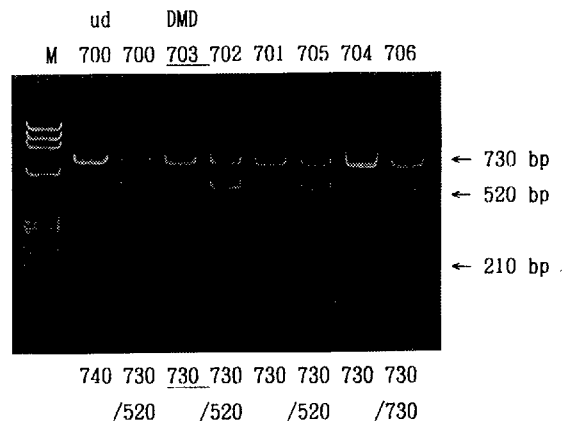


図3 PCR-RFLP analysis (87-15/Xmnl) after digestion

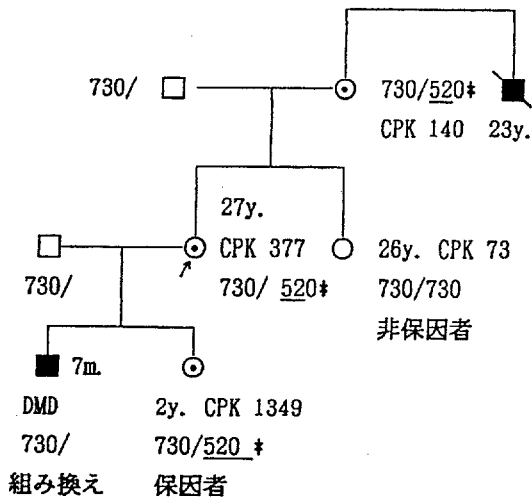


図4 分析結果(87-15/Xmnl)

子は祖母から本人、娘へと受け継がれた522bpのアリールと連鎖していると考えたと矛盾点なく理解できた。クライアントの妹は522bpのアリールとは別の730bpのアリールをうけつぎ非保因者と考えられた。この場合筋ジスの変異遺伝子は2本のX染色体の間で発生した組み換え(recombination)により730bpのアリールに乗り移ったと考えられた。2000kbの大きさをもつ筋ジスの遺伝子内では組み換えは減数分裂100回あたり2回2%の率でおこるといわれている。したがってPCR-RFLP分析の信頼性は98%と

なる。PCR-RFLP分析の際にはこの点を念頭におき、DNA診断の落とし穴として十分に注意が必要である。

発表論文：

- 1) S. Katayama: Molecular biological approaches to genetic disorders in prenatal diagnosis. Early Human Development 29: 149-153, 1992
- 2) S. Katayama, N. Takeshita, T. Yano et al.: Deletion detection for diagnosis of Duchenne muscular dystrophy in the Japanese population—Comparison between the polymerase chain reaction and the southern blot analysis—. Jpn Human Genet 38: 177-184, 1993
- 3) S. Katayama, T. Yano, N. Takeshita, Y. Abe, A. Usui, H. Kubo, K. Momose: Prenatal diagnosis of Duchenne muscular dystrophy by restriction fragment length polymorphism analysis with pERT 87 intragenomic deoxyribonucleic acid probes. Acta Obst Gynaec Jpn 43: 633-640, 1991



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



デュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)は出生男児およそ 4,000 名に 1 名の割合で発生する重篤な X連鎖性劣性遺伝病である。人類が罹患する病気のなかで最も悲惨な疾患といわれている。我が国では患者数約 7,000 名,毎年 150 名前後が発生していると推定される。患児は出生直後は正常であるが,3 才から 6 才頃までに徐々に歩行障害などが発症し,12 才までに車椅子を必要とし,20 才までに死亡する。DMD の根本的な治療法は残念ながらまだないので患児を持つ家系内の女性で,出産を考える人にとって本人が保因者か否か,あるいは妊娠した場合に胎児が正常か罹患児かの決定は深刻な問題となっている。かつて妊娠中期に胎児の臍帯血を採取しその CPK 測定による診断も行われた。しかしこの診断法の信頼性は乏しく,現在では利用されていない。