

9. 先天性副腎過形成症をモデルとした モニタリングシステムの研究 その1

分担研究者 笹 月 健 彦
(東京医歯大人類遺伝)

目 的

本邦における各種先天異常の発生頻度を正確に把握し、必要に応じて適宜警報を発することが出来るような先天異常のモニタリングシステムを確立することを目的とする。

この目的を達成するために、21-hydroxylase 欠損による先天性副腎過形成症をモデルとして、モニタリングシステム確立のための調査研究を行なう。

緒 言

21-hydroxylase 欠損症による先天性副腎過形成症 (congenital adrenal hyperplasia : CAH) は、常染色体性単純劣性遺伝病である。臨床的には単純男性化型および食塩喪失型の二型が存在し、単純男性化型の女性では、女性仮性半陰陽を呈し、男性にあっても二次性徴早期発現、骨端線の早期閉鎖、小人症を呈する。

食塩喪失型では、生後一週以降に異常な体重減少、嘔吐、下痢、脱水症状にひきつづき循環不全、ショック状態におちいり死亡することがある。ところが出生直後に診断し直ちに治療を開始すれば、生命予後、あるいは身長予後に著しい改善をもたらすことができる疾患である。

本症の発生頻度 (対出生数) は人種により著しく異なるが、これまでの報告では、エスキモー500 : 1, スイスで5,000 : 1, 米国40,000~67,000 : 1, 本邦ではおよそ45,000 : 1と考えられている。

ここでは、日本人における CAH 患者25名を含む20家系について遺伝的解析 (性差, 分離比, 連鎖, 連鎖不平衡, 遺伝的異質性など) を行ない、CAH における遺伝学的問題点を明らかにし、CAH の発生をモニターする上で、これらの問題点が有する意義を明らかにすることにより、広く先天異常のモニタリングシステムの確立のために解決すべき問題点を探る。さらに CAH の発生モニターのための診断法, 対照集団, 患児を持つ母が新たな妊娠をした場合の出生前診断についても検討を加える。

方 法

CAH の分離比の検定は、Weinberg の発端者法により、単独確認 ($\pi = 0$) で、HLA との連鎖は Morton の逐次検定法により解析した。

成績と考察

〔A〕先天性副腎過形成症

(1)両親の近親婚率

CAH 発生家系の 6 例を図 1 に示し、20 家系のまとめは表 1 に示す。患者両親の近親婚は 20 家系中 2 家系に見られ (10%) たが、これはいずれもいとこ婚より遠い血族血婚であった。日本におけるいとこ婚率は 2~4 % であるが CAH の発生にいとこ婚が要因の一つとなるかは今後解明されるべきであろう。

(2)性比

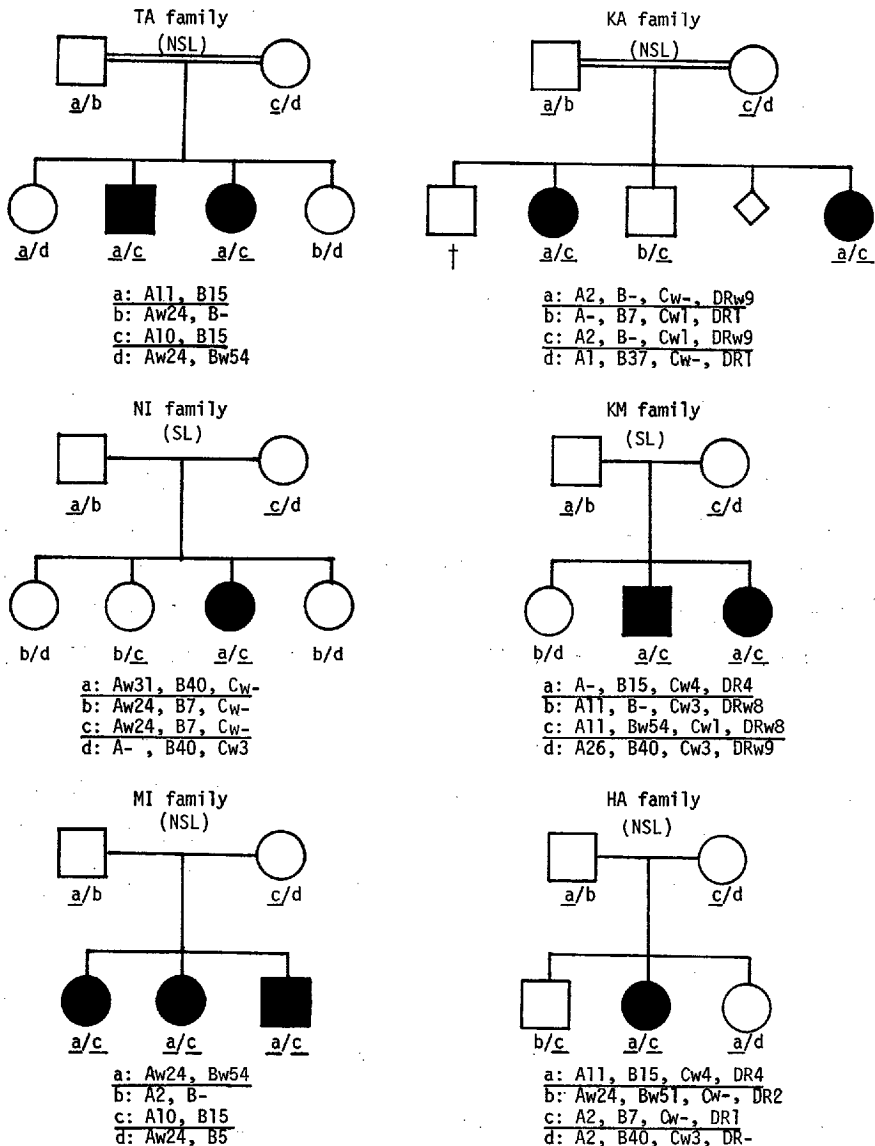


図 1

発端者20名の性比を調べてみると男1：女1.86で女性に多いようにみえる。この発端者の性比にみられるかたよりは、単純劣性遺伝としては説明されないが、女兒の方が男児より、外陰部の男性化ということから発見され易いことが最も大きな理由と思われる。

(3)分離比

表 1

family	parents	HLA haplotypes	HLA haplotypes of the children	
			affected	unaffected
TA (NSL)	F: A11, B15 / Aw24, B- M: <u>A10, B15</u> / Aw24, Bw54	a/b c/d	2 a/c	1 a/d, 1 b/d
KA (NSL)	F: A2, B-, Cw-, DRw9 / A-, B7, Cw1, DR1 M: <u>A2, B-, Cw1, DRw9</u> / A1, B37, Cw-, DR1	a/b c/d	2 a/c	1 b/c
NI (SL)	F: Aw31, B40, Cw- / Aw24, B7, Cw- M: <u>Aw24, B7, Cw-</u> / A-, B40, Cw3	a/b c/d	1 a/c	1 b/c, 2 b/d
KM (SL)	F: A-, B15, Cw4, DR4 / A11, B-, Cw3, DRw8 M: <u>A11, Bw54, Cw1, DRw8</u> / A26, B40, Cw3, DRw9	a/b c/d	2 a/c	1 b/d
MI (NSL)	F: Aw24, Bw54 / A2, B- M: <u>A10, B15</u> / Aw24, B5	a/b c/d	3 a/c	
HA (NSL)	F: A11, B15, Cw4, DR4 / Aw24, Bw51, Cw-, DR2 M: <u>A2, B7, Cw-, DR1</u> / A2, B40, Cw3, DR-	a/b c/d	1 a/c	1 b/c, 1 a/d
YO (NSL)	F: Aw24, Bw51, Cw- / A-, Bw52, Cw- M: <u>A11, Bw51, Cw3</u> / Aw24, B7, Cw-	a/b c/d	1 a/c	1 a/d, 1 b/d
KS (NSL)	F: Aw24, B5 / Aw24, B7 M: <u>Aw24, B7</u> / Aw33, Bw35	a/b c/d	1 a/c	1 b/d
HI (NSL)	F: Aw24, B15, Cw1, DR- / A2, B-, Cw3, DR2 M: <u>A2, Bw35, Cw3, DR5</u> / A11, B7, Cw-, DR1	a/b c/d	1 a/c	1 a/d
YA (SL)	F: A11, Bw39, Cw-, DR4 / A2, Bw51, Cw-, DR- M: <u>Aw24, Bw54, Cw1, DR-</u> / Aw34, B40, Cw-, DRw9	a/b c/d	1 a/c	1 b/d
FU (SL)	F: A2, Bw54, Cw-, DRw8 / A11, Bw54, Cw1, DR1 M: <u>A11, B-, Cw1, DRw8</u> / A26, B40, Cw3, DRw9	a/b c/d	1 a/c	1 b/c
KU (SL)	F: A-, B7, Cw-, DR1 / Aw24, Bw52, Cw-, DR2 M: <u>Aw24, B40, Cw-, DR4</u> / Aw33, Bw44, Cw3, DRw8	a/b c/d	1 a/c	1 b/c
AK (SL)	F: A11, B-, Cw3, DRw8 / Aw24, B7, Cw1, DR1 M: <u>A26, B-, Cw1, DR-</u> / A-, B40, Cw3, DRw9	a/b c/d	1 a/c	1 b/c
UE (NSL)	F: <u>Aw24, B40, Cw3</u> / Aw33, Bw44, Cw- M: <u>Aw24, B5, Cw-</u> / A-, B40, Cw3	a/b c/d	1 a/c	1 b/c
NO (SL)	F: Aw33, Bw44, Cw-, DR- / A-, B-, Cw-, DR- M: <u>A26, B40, Cw3, DR-</u> / A2, B-, Cw-, DR2	a/b c/d	1 a/c	1 a/d
SA (SL)	F: A2, B40, Cw- / A2, B-, Cw3 M: <u>Aw33, Bw44, Cw-</u> / Aw24, B13, Cw3	a/b c/d	1 a/c	1 b/d
KI (SL)	F: A26, Bw39, Cw- / Aw24, B7, Cw- M: <u>Aw31, B5, Cw-</u> / A26, B40, Cw-	a/b c/d	1 a/c	1 b/d
SN (SL)	F: A11, B-, Cw-, DR2 / A26, Bw35, Cw3, DR- M: <u>Aw24, B7, Cw-, DRw8</u> / A-, B-, Cw1, DR-	a/b c/d	1 a/c	
MY (SL)	F: A2, B40, Cw-, DR2 / Aw24, B-, Cw-, DR4 M: <u>Aw24, Bw52, Cw-, DR-</u> / A-, B13, Cw3, DR2	a/b c/d	1 a/c	
SE (NSL)	F: A11, B15, Cw4, DR4 / Aw24, Bw54, Cw1, DR- M: <u>A26, Bw54, Cw1, DR-</u> / Aw30, Bw52, Cw3, DRw8	a/b c/d	1 a/c	

表1からこの疾患の分離比を、発端者は各家系に1人の単独確認として発端者法により求めると、分離比の観察値は0.192となり、単純劣性遺伝の期待値0.25との差は有意ではない($t = 0.751$)。すなわち、ここで集められた CAH は単純劣性遺伝として間違いない。

(4) HLA との連鎖の検定

ヒト第6番目染色体短腕上に位置する HLA を遺伝標識として各家系構成員について HLA のタイプを検索したところ、同一家系内に患者が2人以上発生している4家系においては患者の HLA タイプは発端者の HLA タイプと完全に一致していること、及び調査した20家系全において健常者(両親をも入れた保因者をも含めて)の HLA タイプは患者とは決して一致していないことが判明した。表1に20家系構成員の HLA タイプをまとめてある。これをもとに、Morton の逐次検定法で lod score を計算したものをまとめると、表2のようになり θ (recombination fraction) = 0.00 の時に、lod score は最大値 5.535 となり、これは、連鎖があれば lod score が3以上という Morton の判定基準にあてはまるため、CAH を発症せしめる遺伝子と HLA とは非常に密に連鎖していることが判明した。さらに発端者20名について HLA との相関を検定したところ、HLA-A11 が45%認められ、一般集団における13.2%と比して有意の増加を示している ($p < 0.007$) (表3)。この相関は CAH を発症せしめる遺伝子と HLA-A11 との連鎖不平衡に由来するものと考えられる。

また、血族結婚のみられた KA 家では患者は、HLA-A2-B(-)-DRw9 に関してホモ接合体となっており、祖先由来の HLA と連鎖した CAH 発症遺伝子もホモ接合体になっているこ

表2 Lod score for linkage between HLA and 21-OH deficiency
(calculated without distinguishing the carriers from the healthy)

family	recombination fraction(O)					
	0.00	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05
MI	1.204	1.178	1.151	1.125	1.098	1.071
KM	0.727	0.710	0.692	0.675	0.657	0.639
KA	0.727	0.704	0.683	0.662	0.640	0.618
TA	0.576	0.554	0.532	0.510	0.488	0.466
HA	0.426	0.409	0.392	0.376	0.360	0.345
NI	0.375	0.366	0.357	0.348	0.339	0.330
YO	0.250	0.241	0.233	0.224	0.216	0.208
KS	0.125	0.125	0.124	0.123	0.122	0.121
YA	0.125	0.125	0.124	0.123	0.122	0.121
SA	0.125	0.125	0.124	0.123	0.122	0.121
KI	0.125	0.125	0.124	0.123	0.122	0.121
HI	0.125	0.116	0.108	0.100	0.093	0.086
FU	0.125	0.116	0.108	0.100	0.093	0.086
KU	0.125	0.116	0.108	0.100	0.093	0.086
AK	0.125	0.116	0.108	0.100	0.093	0.086
UE	0.125	0.116	0.108	0.100	0.093	0.086
NO	0.125	0.116	0.108	0.100	0.093	0.086
total	5.535	5.358	5.184	5.012	4.844	4.677

表3 Association between HLA and 21-OH deficiency

antigens	patients (n = 20)	controls (n = 50)	p value
HLA -A1	0 %	2.3%	< 0.007
2	30.0	42.7	
11	45.0	13.2	
w24	50.0	44.9	
26	30.0	15.9	
w31	10.0	12.7	
w33	10.0	8.0	
-	25.0	17.2	
HLA -B5	25.0	37.3	
7	25.0	12.3	
13	0	2.3	
15	30.0	17.7	
w35	5.0	13.6	
w39	10.0	4.3	
40	30.0	36.4	
w44	10.0	10.0	
w54	25.0	9.1	
-	35.0	30.7	
HLA-Cw1	35.0	18.3	0.14
2	0	1.6	
3	25.0	36.7	
4	15.0	5.8	
-	110	87.0	

とを示している。しかし TA 家では血族結婚ではあるが患者の HLA はホモ接合体となっていない。これは患児においてホモ接合体になっている CAH 発症遺伝子が両親の共通の祖先に存在した一個の CAH 発症遺伝子に由来しているのだが、HLA との間に crossing over が生じたか、あるいは共通の祖先の一個の遺伝子ではなく、別々の二人の祖先の二個の遺伝子に由来しているためであろう。

(5) ACTH 負荷による保因者の検定

ACTH 負荷後、17-hydroxy progesterone (17-OHP) および 21-deoxycortisol が異常高値を示すことを利用して、健常同胞から保因者を区別することができる (図2)。

20家系中健常同胞9名について検索したところ5名が異常高値を示し保因者と推定された。この5名の HLA タイプは、affected haplotype を有していることから保因者と推定される。ところが9名中残り4名は ACTH 負荷によっては、保因者ではないと推定されたが HLA タイプからは4名中2名が affected haplotype を有しており、保因者と推定された。ACTH 負荷後の17-OHP 値による保因者と非保因者との完全な分離は不可能であることが他の実験からも推測されるため、ここでみられた2名は保因者である可能性が高いが、CAH を発症せしめる遺伝子と HLA との crossing over によって HLA タイプからは保因者と推定されたが実際は保因者ではない可能性も勿論残される。しかしながら、すでに述べた連鎖検定の結果から

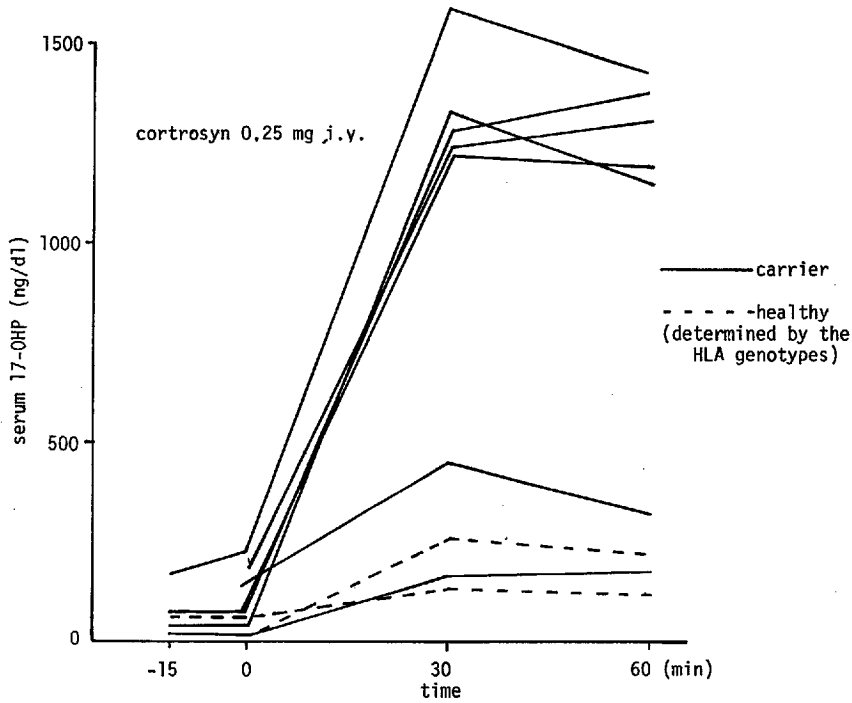


図 2

CAH を発症せしめる遺伝子と HLA との連鎖は非常に密であることをも考え合わせると、ACTH 負荷による保因者の同定よりも、HLA タイプによる同定の方が有効であると考えられる。

(6) 遺伝的異質性の可能性

CAH はすでに述べたように、臨床的に二つの型が存在し、普通同一家系内に両型が出現することがないため本症遺伝子に多様性が存在すると推定される。すなわち、①この両型は 2 個の別々の遺伝子座の遺伝子によってそれぞれ支配され、共に HLA と密に連鎖している場合 (non-allelic 説と仮りに呼ぶ) と、②同一遺伝子座の別々の 2 個の突然変異遺伝子により支配されている場合 (allelic 説)、あるいは③同一遺伝子座の同一の突然変異遺伝子によって支配されているが、back ground genes の差によって病型が異なってくる場合 (back ground genes 説) などが考えられ、これからの問題として残されている。

(7) 出生前診断

21-hydroxylase 欠損症をすでに出産した母親が新たに妊娠した場合に、胎児が健康であるか、あるいは本症を発症するか否かの出生前診断が、本症と HLA との密な連鎖の故に、非常に高い確率をもって行なうことが理論的に可能となった。すなわち、羊水中の胎児由来の線維芽細胞を培養して増やし、これによる抗 HLA 抗体の吸収により胎児の HLA タイプを明らかにすることにより本症を発症するか、保因者か、あるいは完全に健常であるかを高い確率で推定することができる。

そこで、予備実験として HLA タイプ既知の者の皮膚から線維芽細胞を培養により集め、これを用いた抗 HLA 抗体吸収法により、HLA のタイピング法を確立することを行なった。

〔B〕 21-hydroxylase 欠損症 (CAH) をモデルとした、先天異常のモニタリングシステム確立

CAH の発症をモニターしようとする場合すでに述べたように

(1) CAH は単純劣性遺伝性疾患であるにもかかわらず発症者における性比は、男1：女1.86で女に多い結果が得られている。これはおそらく、女兒における仮性半陰陽としての診断の容易さに基づくものと考えられ、診断方法(スクリーニング方法)の検討を必要とする。マス・スクリーニング法の可能性として、現在、沍紙に吸い取った一滴の末梢血を用いて、正確に診断する方法が検討されている。

(2)臨床像が異なる二型が存在するが、HLA との連鎖は共に認められ、HLA の特定の対立遺伝子との連鎖不平衡によっても両者を区別することはできなかったことから、allelic 説、non-allelic説、および back ground gene 説を提唱した。ここでは一応、同一突然遺伝子による同一疾患という back ground gene 説にのっってスクリーニングせざるを得ないが、今後、是非解決しなければならない問題である。

(3)モニタリング対象集団

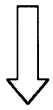
先天異常のモニタリングを行なうに際してその疾患が次のような条件を満たす場合には、全新生児について検査することが可能である。すなわち①その疾患は、発症すると重篤で、有効な治療法がないが、出産直後に診断し、適切な処置を構じることにより発症を完全に防ぐことができるか、予後に決定的な影響を与えうる。②診断法が正確でかつ簡便であり、高度の技術や経験を要しない。③診断に要する費用が廉価である。④発生頻度が極端に稀ではない。⑤その検査が新生児に何ら負担を与えない。

これに対し、これらの条件を満たさない疾患については、本邦における発症状況をできるだけかたよりなく反映させるように集団を選択し、モニターせざるを得ない。

この場合に、どのような大きさの集団を、どのような基準で選ぶかということが重要な問題となってくる。

ここで問題にしている CAH は、大ざっぱに、50,000出生当り1人の割で発症すると仮定すると、少なくとも、200,000以上のスクリーニングを行なわねば、有用な情報を得ることは不可能である。①それでは年間200,000以上の集団をスクリーニングするような CAH の診断法の開発が可能であるかどうか、さらに将来にわたっては、その方法は全出生児を対象としうるまでに改良可能であるか。

②さらにどのような集団を、どのような基準で選ぶことが、全出生児における CAH の発症状況を正しく反映させることができるか。この二点を次年度以降の最重要課題とする。



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



緒言

21-hydroxylase 欠損症による先天性副腎過形成症(congenital adrenal hyperplasia:CAH)は,常染色体性単純劣性遺伝病である。臨床的には単純男性化型および食塩喪失型の二型が存在し,単純男性化型の女性では,女性仮性半陰陽を呈し,男性にあっても二次性徴早期発現,骨端線の早期閉鎖,小人症を呈する。

食塩喪失型では,生後一週以降に異常な体重減少,嘔吐,下痢,脱水症状にひきつづき循環不全,ショック状態におちいり死亡することがある。ころが出生直後に診断し直ちに治療を開始すれば,生命予後,あるいは身長予後に著しい改善をもたらすことができる疾患である。

本症の発生頻度(対出生数)は人種により著しく異なるが,これまでの報告では,エスキモー500:1,スイスで5,000:1,米国40,000~67,000:1,本邦ではおよそ45,000:1と考えられている。

ここでは,日本人における CAH 患者 25 名を含む 20 家系について遺伝的解析(性差,分離比,連鎖,連鎖不平衡,遺伝的異質性など)を行ない,CAH における遺伝学的問題点を明らかにし,CAH の発生をモニターする上で,これらの問題点が有する意義を明らかにすることにより,広く先天異常のモニタリングシステムの確立のために解決すべき問題点を探る。さらに CAH の発生モニターのための診断法,対照集団,患児を持つ母が新たな妊娠をした場合の出生前診断についても検討を加える。