

合成オリゴヌクレオチドプローブを用いた家族性 アミロイドポリニューロパチーの DNA 診断法の 開発

研究協力者 鈴木 友 和
佐古田 三 郎
比 嘉 定 吉
東 強
(大阪大学医学部第三内科)

目 的

家族性アミロイドポリニューロパチー第1型 (FAP) は常染色体性優性の遺伝形式をとる末梢神経変性疾患である¹⁾。本症は臨床的には感覚障害と広汎な自律神経障害が主体をなし、病理学的には神経をはじめとする諸組織にアミロイド沈着が証明される。発症年齢は通常20~30代で、進行性の経過をとり、全経過は約10年である。FAP は世界的に極めて稀な疾患であるが、ポルトガル、スウェーデンおよび日本に多発地帯が存在している。わが国で FAP がとくに注目されるのは、熊本県と長野県に大きな foci があり、罹患者数は合わせて数百人におよぶこと、および発症時患者はすでに結婚し、子供もあることが多く、多方面に深刻な問題を提供しているためである。

筆者らは FAP の熊本県荒尾市を中心とする focus を対象に、その遺伝学的特徴と起原に関する研究を進めている。昨年度は3家系4症例の FAP 患者の腎臓からアミロイドフィブリル蛋白を単離し、その主要成分がプレアルブミンの変異種 (30 Val→Met) であることを報告した²⁾。この所見が FAP の発生病理と如何なる関係をもつかはまだ明らかでないが、それが FAP の本態にかかわるものであることはまず疑う余地がない。

本年度はこのような蛋白レベルの成果にもとづき、組み換え DNA 技術を用いた FAP の新しい診断法を検討することにした。FAP は上述のように晩発性の遺伝疾患であるため、とくに保因者診断法の開発が重要と考えられる。

方 法

DNA のハイブリダイゼーションに用いるプローブは、FAP のアミロイドフィブリル蛋白を構成する異常プレアルブミンの一次構造をもとにして、表1に示すような2種類の19 mer oligodeoxynucleotide probes を合成した。

表1 DNA sequence of synthetic oligonucleotide probes for normal prealbumin gene and abnormal prealbumin allele

Probe	DNA sequence
P19NOR	5' AAT GTG GCC GTG CAT GTG T 3'
P19FAP	5' AAT GTG GCC ATG CAT GTG T 3'

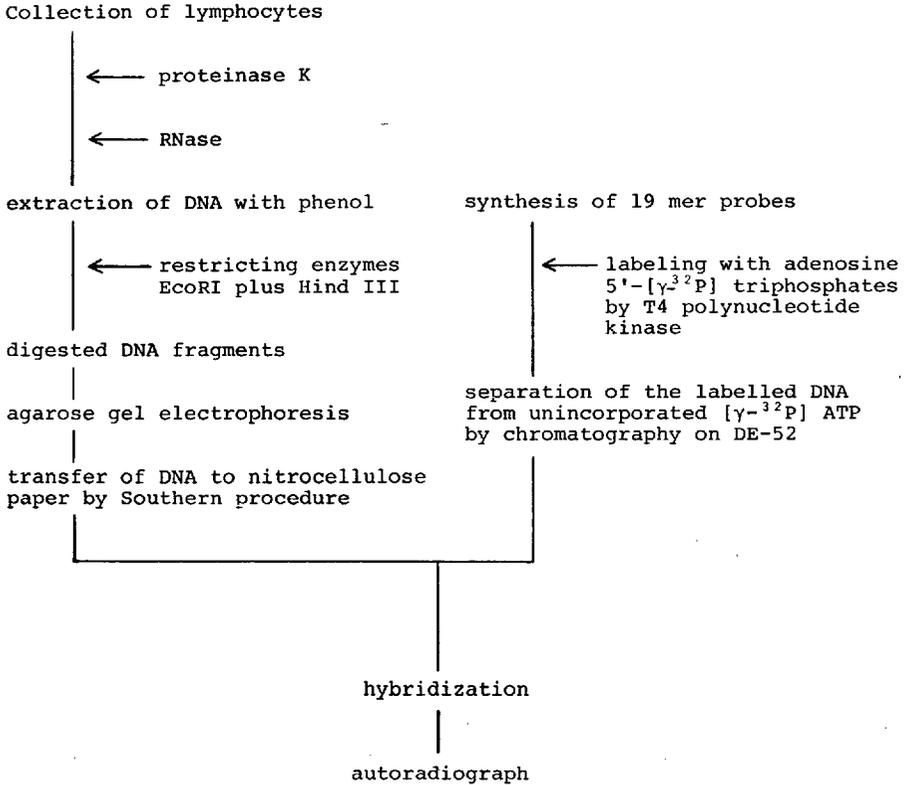


図1 Synthetic-Oligomer 法 による FAP の DNA 診断法の概略

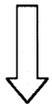
プローブの ^{32}P -labelling, 被験者の末梢血からの DNA の単離, DNA の制限エンドヌクレアーゼによる消化, DNA フラグメントの分離および分子ハイブリダイゼーションなど⁴⁾ の概略は図1に示す。

結 果 と 考 察

表1に示した2種類のプローブはユニークなDNA配列を認識するに十分な長さを有し, 分子ハイブリダイゼーションの特異性を最大にするため FAP における突然変異部位 (30 Val の codon の G→A) が中央にくるようにしてある。そして P19NOR は正常のプレアルブミン

p.23, 1984.

- 3) Ueji, M., Suzuki, T., Higa, S., Sakoda, S., Kishimoto, S., Titani, K., Takio, K., Hayashi, A., Takaba, Y. and Nakajima, A. : *Jpn. J. Human Genet.*, **29** : 311, 1984.
- 4) Maniatis, T., Fritsch, E.F. and Sambrook, J. : *Molecular Cloning A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, 1982.
- 5) Mita, S., Maeda, S., Shimada, K. and Araki, S. : *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, **124** : 558, 1984.
- 6) Sasaki, H., Sakaki, Y., Matsuo, H., Goto, I., Kuroiwa, Y., Sahashi, I., Takahashi, A., Shinoda, T., Isobe, T. and Takagi, Y. : *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, **125** : 636, 1984.
- 7) Conner, B.J., Reyes, A.A., Morin, C., Itakura, K., Teplitz, R.L. and Wallace, R.B. : *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **80** : 278, 1983.
- 8) Sakoda, S., Suzuki, T., Higa, S., Ueji, M., Kishimoto, S., Hayashi, A., Yasuda, N., Takaba, Y. and Nakajima, A. : *Clin. Genet.*, **24** : 334, 1983.



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



目的

家族性アミロイドポリニューロパチー第 1 型(FAP)は常染色体性優性の遺伝形式をとる末梢神経変性疾患である 1)。本症は臨床的には感覚障害と広汎な自律神経障害が主体をなし、病理学的には神経をはじめとする諸組織にアミロイド沈着が証明される。発症年齢は通常 20～30 代で、進行性の経過をとり、全経過は約 10 年である。FAP は世界的に極めて稀な疾患であるが、ポルトガル、スエーデンおよび日本に多発地帯が存在している。わが国で FAP がとくに注目されるのは、熊本県と長野県に大きな foci があり、罹患者数は合わせて数百人におよぶこと、および発症時患者はすでに結婚し、子供もあることが多く、多方面に深刻な問題を提示しているためである。

筆者らはFAPの熊本県荒尾市を中心とする focus を対象に、その遺伝学的特徴と起原に関する研究を進めている。昨年度は 3 家系 4 症例の FAP 患者の腎臓からアミロイドフィブリル蛋白を単離し、その主要成分がプレアルブミンの変異種(30Val Met)であることを報告した 2)。この所見が FAP の発生病理と如何なる関係をもつかはまだ明らかでないが、それが FAP の本態にかかわるものであることはまず疑う余地がない。

本年度はこのような蛋白レベルの成果にもとづき、組み換え DNA 技術を用いた FAP の新しい診断法を検討することにした。FAP は上述のように晩発性の遺伝疾患であるため、とくに保因者診断法の開発が重要と考えられる。