

## 21-水酸化酵素欠損症の出生前DNA診断

新川 詔夫 (長崎大学原研遺伝)

### 〔研究目的〕

本症はステロイドホルモン生合成障害疾患の中で最も頻度の高い常染色体劣性遺伝性の疾患である。このうち塩類喪失型 21-水酸化酵素欠損症に女兒が罹患すると、外性器の男性化が起り生後の治療は困難である。しかし、最近罹患女兒胎児を胎内から(妊娠第 12 週から)デキサメサゾンで治療を試み男性化を防いだ報告がある(Evans ら, 1985)。従って、本症に於て治療開始時期前に診断することは胎内治療に直接結び付くことから重要である。

21-水酸化酵素(21-OH)遺伝子は第 6 染色体上の第 4 補体(C<sub>4</sub>)遺伝子に密接連鎖している。我々は出生前診断・治療を最終目標として、多数の 21-水酸化酵素欠損症患者に対する 21-OH 遺伝子の cDNA を用いた DNA 診断の研究を行ってきた。今回はそのうちの 1 家族の胎児の出生前診断について報告する。

### 〔研究方法〕

発端者は典型的塩類喪失型の 21-水酸化酵素欠損症である。母は妊娠 9 週であった。発端者・両親・血縁者の血液 10~20 ml より、また妊娠 9 週に採取した胎盤絨毛よりフェノール法にて核 DNA を抽出した。同時に行った絨毛培養と染色体分析により胎児の核型は 46, XX であった。各被検者の核 DNA 10  $\mu$ g を制限酵素 TaqI で切断し、0.8% アガロースゲル上で電気泳動し、次いで DNA 断片をニトロセルロースフィルターに移行させた。クローン化 DNA pC 21/3 C (P.C.White 博士より笹月教授を通じて入手) を <sup>32</sup>P でラベルしてプローブ DNA とした。pC 21/3 C は 21-OH B 遺伝子の cDNA である。Hybridization は 50% formamide, 5 XSSC, 1 XDenhardt 液, 20 mM sodium phosphate, 100 mg/ml 変性大腸菌 DNA 中, 42°C で行った。Blot を 2 XSSC, 0.1% SDS 室温で 2 回洗浄し、更に 0.1 XSSC, 0.1% SDS で洗浄した。オートラジオグラフィーはサクラ JX-X 線フィルムで行った。

### 〔研究結果〕

正常対象の TaqI 切断核 DNA は 3.7 kb, 3.2 kb, 2.4 kb, 2.3 kb の 4 本の切断片に分離した。このうち、3.7 kb と 2.3 kb 断片が真の 21-OH B 遺伝子由来で、3.2 kb と 2.4 kb 断片は偽遺伝子 (21-OH A 遺伝子) である (White ら 1985)。今回診断した家族の両親の核 DNA は対象と同じ 4 断片をもっていた。発端者の Taq I 切断片は 3.2 kb と 2.4 kb の 2 種のみであり、21-OH B 遺伝子の欠失と診断した。胎児の核 DNA は 4 断片を有していたから、この女児は 21-OH B 遺伝子の欠失ホモ接合体ではないと診断した (図 1)。

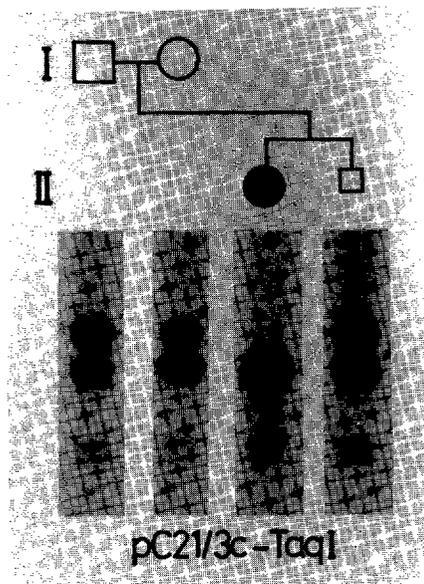


図 1 21-水酸化酵素欠損症

### 〔考察〕

この胎児は欠失ホモ接合体ではないが、欠失ヘテロ接合体か正常ホモ接合体なのかは決定できなかった。なぜならば、共にヘテロ接合体であるはずの両親の 21-OH B 遺伝子に相当する断片のオートラジオグラムの濃度が 1 コピーと証明できなかったからである。母の 3.7 kb と 2.3 kb 断片濃度は理論値 1 コピー相当であったが、父のそれは正常対象の 2 コピーと区別できなかった。従って父が真の父でない可能性を除けば、Southern blot 法では本疾患の保因者診断は困難であることを意味する。

本症の胎盤絨毛を用いた DNA 診断の利点は妊娠の極く早期に診断できることである。DNA 診断を 2 週間以内に施行すれば、デキサメサゾン胎内治療開始の妊娠第 12 週に充分間に合う。これに対して出生前診断の他の方法、HLA ハプロタイプを利用する方法は通常

は培養羊水細胞にて、また 17-hydroxyprogesterone 定量法では羊水にて行っている。羊水穿刺は通常 15-20 週に施行するから、時期的には遅い。

単一遺伝子疾患の遂伝子変異は(1)遺伝子欠失と(2)塩基置換あるいは他の機構による遺伝子の不活性に分けられる。一方、Southern hybridization 法を用いた単一遺伝子疾患の診断は一般的に遺伝子欠失、或は DNA 多型との連鎖を証明することで行われる。しかし、21-OH B or A 遺伝子の多型特に制限酵素断片長多型 (RFLP) は現在まで知られていない。従って、水酸化酵素欠損症では欠失を証明することによる診断に限られている。遺伝子欠失を示す患者は全体の 10% を占めると推定されている。近い将来、点突然変異による患者の診断は、変異特異性の合成オリゴヌクレオチッドを利用することによって可能になるであろう。

#### 〔文 献〕

- 1) Evans MI, Chrousos GP, Mann DW, Larsen JW, Green I, McCluskey J, Loriaux DL, Fletcher JC, Koons G, Overpeck J, Schulman JD: Pharmacologic suppression of the fetal adrenal gland in utero. Attempted prevention of abnormal external genital masculinization in suspected congenital adrenal hyperplasia. JAMA 253: 1015-1020, 1985.
- 2) White PC, Grossberger D, Onufer BJ, Chaplin DD, New MI, Dupon B, Strominger JL: Two genes encoding steroid 21-hydroxylase are located near the genes encoding the fourth component of complement in man. PNS 82: 1089-1093, 1985.



## 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



〔研究目的〕

本症はステロイドホルモン生合成障害疾患の中で最も頻度の高い常染色体劣性遺伝性の疾患である。このうち塩類喪失型 21 - 水酸化酵素欠損症に女兒が罹患すると、外性器の男性化が起こり生後の治療は困難である。しかし、最近罹患女兒胎児を胎内から(妊娠第 12 週から)デキサメサゾンで治療を試み男性化を防いだ報告がある(Evans ら, 1985)。従って、本症に於て治療開始時期前に診断することは胎内治療に直接結び付くことから重要である。

21 - 水酸化酵素(21-OH)遺伝子は第6染色体上の第4補体(C4)遺伝子に密接連鎖している。我々は出生前診断・治療を最終目標として、多数の 21 - 水酸化酵素欠損症患者に対する 21-OH 遺伝子の cDNA を用いた DNA 診断の研究を行ってきた。今回はそのうちの 1 家族の胎児の出生前診断について報告する。