

## 分子遺伝学的方法によるPrader-Willi症候群の早期診断法 開発に関する研究

(分担研究：遺伝性疾患の発症予防に関する研究)

新川詔夫、亀井勉\*

### 要約：

PWS 確実例および疑似例より核DNAを抽出し、クローン化DNA、p3-21とPMLをプローブとし、サザン解析を行った。del(15)をもつPWS確実例は全例p3-21およびPMLにそれぞれ対応する2.2kb断片と6.6kb断片の1コピーを、2例のt(15;15)は2コピーを、疑似例は1コピーおよび2コピーを有するものの双方があった。従って、このプローブはdel(15)の患者の早期診断には有用である。AluIでのRFLPsはdel(15)の変異が父配偶子で起きたことを示した。

見出し語：Prader-Willi症候群、染色体欠失、遺伝子欠失、サザン解析

研究目的：PWSにはその臨床像の多様性及び核型の多様性、即ち大多数に検出されるdel(15q)、種々の転座、inv dup(15p)、inv(15)、あるいは正常核型が知られていて、染色体欠失の有無と表現型の差の関係は必ずしも明らかではない。従ってそのetiologyも不明である。我々は、PWSの早期診断法確立を目的として患者のDNA分析を行ってきたが、今回はDNA欠失と染色体欠失あるいは核型との関係を明らかにするため、種々の核型のPWS 確実症例及びPWS疑似例についてDNA分析を行った。また、RFLPを用いた欠失の親起源も同時に検討した。

研究方法：各患者とその両親及び正常人のEBV株化リンバ芽球から核DNAを抽出し、制限酵素 HindIIIで切断し、0.8%アガロースゲルにて電気泳動し、ニトロセルロース膜にtransferさせた。Flow cytometryで分離したinv dup(15)よりクローン化したDNA配列p3-21, PMLを<sup>32</sup>Pでラベルしてプローブとし、hybridizationを行った。この両者はいずれも15q11-q13にmapされる。遺伝子量測定の対照として、prealbuminのcDNAをプローブとして同時hybridizeした。各患者については高精度分染法による核型分析も併せて行い、染色体欠失が検出された患者ではその両親で上記と同様にして欠失の

\*長崎大学医学部原研遺伝 (Dept. of Hum. Genet., Nagasaki Univ. Sch. Med.)

有無を確認し、さらにRFLPの検索を行って欠失染色体の親起源の同定を試みた。

研究結果：全ての被検者において、p3-21で2.2kb、PML 34で6.4kbの断片を得た。核型分析にて15q11-q13の腕内欠失を認めた患者では全て両断片とも1コピーの濃度となった。核型分析で15q11-q13の欠失を含むと思われた不均衡(15:15)転座の2例では、両断片共2コピーの濃度であった。さらに臨床的に疑似例や非確実例で、且つ核型分析でも欠失が明らかでない患者では、濃度は1コピーないし2コピーのいずれかであった。

患者の両親はいずれも2コピー濃度と確認され、AluIにて検出したRFLP(1.50kbと0.86kbおよび0.64kbのバンド)を用いた結果、欠失染色体はいずれも父親由来であると同定もしくは推定される結果となった。

考察：del(15)の患者では全て1コピー濃度となったことから、これら2つのDNA配列は15q11-q13の欠失内部にあることが明らかであり、欠失の有無は分子遺伝学的により明らかに確認され得る。即ち、このような症例では新生児期あるいは乳児期での早期診断が可能である。(15:15)転座の2例では、細胞遺伝学的に欠失が存在していたにもかかわらず2コピーであったことから以下の2つの可能性が考えられる。(1)これらのDNA配列(プローブ)はDNA欠失部位と近接連鎖しているが、欠失の外にある。(2)細胞遺伝学的に欠失が認められた部位が他

の染色体に挿入されている可能性がある。

PWS疑似例や非確実例の結果から、これらでは欠失の有無と長さは一定していないと思われる。即ち欠失領域の相違が臨床像の多様性を示していると考えられる。核型分析で欠失の有無が確認できない例では特に、以上のような分子遺伝学的方法が欠失の確認のための有力な手段となるとと思われる。

15番欠失染色体はいずれも父親由来と同定もしくは推定され、これは染色体上のheteromorphismを用いた親起源同定の結果と矛盾しない。

以上のような本症のDNA配列の欠失の有無の確認は、出生時における早期診断と重症度の推定、および最近報告されている家族例においては出生前診断にも有用であるとかんがえられる。今後、より有用なDNA配列を用いた分子遺伝学的な解析により、本症はさらに明確な診断が可能となろう。

## 文献

- 1) Nikawa N., Ishikiriya S.: Clinical and cytogenetic studies of the Prader-Willi syndrome: Evidence of phenotype-karyotype correlation. Hum Genet 69:22-27, 1985.
- 2) Donlon TA, Lalande M, Wyman A, Bruns G, Lett SA: Isolation of molecular probes associated with the chromosome 15 instability in Prader-Willi syndrome. PNS 83: 4408-4412, 1986.

## Abstract

Early diagnosis of Prader-Willi syndrome(PWS)  
with molecular-genetic technique.

Norio Niikawa and Tsutomu Kamei\*

A total of 16 patients with confirmed PWS or with suspected PWS were studied cytogenetically and molecular-genetically. Southern hybridizations using p3-21 and PML as probes which were isolated from inv dup(15) revealed that patients with del(15q) all had one copy of 2.2 kb fragment and one copy of 6.4 kb fragment, each corresponding to p3-21 and PML, respectively. However, 2 patients with t(15;15) accompanied with a small chromosome deletion had no DNA deletion. Patients with suspected PWS had either one copy or two copies of such fragments. These findings indicated that the two probes are usefull for an early diagnosis of PWS, but cannot always be used for the diagnosis, because these probes do not locate within the PWS gene but are closely linked to the gene.



## 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



要約:PWS 確実例および疑似例より核 DNA を抽出し、クローン化 ODNA、p3-21 と PML をプローブとし、サザン解析を行った。del(15)をもつ PWS 確実例は全例 p3-21 および PML にそれぞれ対応する 2.2kb 断片と 6.6kb 断片の 1 コピーを、2 例の t(15;15)は 2 コピーを、疑似例は 1 コピーおよび 2 コピーを有するものの双方があった。従って、このプローブは del(15)の患者の早期診断には有用である。AluI での RFLPs は del(15)の変異が父配偶子で起きたことを示した。