

## Duchenne筋ジストロフィー症女性患者のDNA分析

(分担研究：遺伝性疾患の発症予防に関する研究)

新川詔夫<sup>1</sup>、松本正<sup>1</sup>、  
杉野茂人<sup>2</sup>

要約：女性DMDの遺伝的異質性を検討するため、DMD 遺伝子欠失の有無をDMD遺伝子cDNA及び近傍のクローン化DNAをプローブにして、臨床的にDMDと診断された女性患者3名とその家族を分子遺伝学的に分析した。結果は3名中2名に遺伝子欠失を検出しこの2名の診断はDMDであると確定した。これらの家族の筋ジストロフィー症の遺伝形式はX連鎖性と考えた。残り1名は用いたプローブに関する限り欠失がなく、且つ両親が血族婚であったので常染色体劣性遺伝の可能性が残った。

見出し語：女性Duchenne筋ジストロフィー症、遺伝子欠失、サザン解析

研究目的：Duchenne型筋ジストロフィー症（以下DMDと略）あるいはDMD類似筋ジストロフィー症が、まれではあるが女性に発症することは従来から知られており、本邦では少なくとも20数名の女性患者が存在する。その遺伝形式は、両親に血族結婚がまみられることなどから常染色体劣性遺伝説が提唱されている。しかし一部の患者にX-常染色体間に転座がみられるため、X連鎖性遺伝による患者の存在も確かである。この場合はnon-randomなX染色体不活化機構を想定しなければ説明が難しい。我々は女性DMDの遺伝的異質性を検討するため、本邦に存在する3家系について分子遺伝学的方法にて解析を行った。

研究方法：対象はDMD或はDMD様症状を有し臨床的にDMDと診断された女性患者3名及びその家族構成員である。今回DMD分析を行ったのは、家族1の男性患者と女性患者及び両親、家族2の女性患者と母親及び家族3の女性患者と女性同胞及び両親である。各女性患者及び家族1の男性患者のCPK値はいずれも3000単位以上と高く臨床的にも筋仮性肥大を認めている。家族1の女性患者の発症年齢が8才とやや遅くGower徴候もみられないことを除いて、全症例とも臨床的にDMDが疑われた。また、3家族とも患者の両親及び同胞のCPK値は正常で、臨床的には保因者を疑わせる者はいなかった。

<sup>1</sup> 長崎大学原研遺伝(Dept.of Hum. Genet.,Nagasaki Univ. Sch. Med.)<sup>2</sup> 熊本大学発達小児科(Dept.of Child Develop.,Kumamoto Univ. Sch. Med.)

これらの対象者の血液を用い、核型分析及び DMD分析をおこなった。核型分析は各家族員の末梢血白血球を3日間培養し、Ethidium bromide添加による850バンドステージの高精度分染法で行った。DNA分析は、各々の末梢血白血球より核DNAを抽出し、制限酵素PstIで切断後、サザンブローディングを行った。DMD遺伝子内の7種類のクローン化DNA(J66-HI, P20, J-Bir, ERT87-30, ERT87-15, ERT87-8, ERT87-1)とDMD遺伝子のcDNAの一部(cDMD8)また、ハイブリダイゼーションバンドのdensityを比較するための内部コントロール用にXp22.2に局在するクローン化DNAD2を、それぞれ<sup>32</sup>Pでラベルしてプローブ間でハイブリダイゼーションを行い、遺伝子が1コピー(遺伝子欠失)か2コピーであるかの遺伝子量効果をdensitometryにて検討した。つまり前記サザン法にて出現した内部コントロール用プローブD2に由来する断片と各DMD遺伝子プローブに由来する断片の濃度比をデンストメータにて測定し、この比を正常対象者と比較することにより、DMD遺伝子プローブに由来する患者DMDのコピー数を計算し、DMD遺伝子欠失の有無を検討した。

研究結果：核型分析の結果、いずれの症例にも染色体欠失を認めなかったが、家族3の患者は47,XXXの核型を示した。両親及び同胞の核型は正常であった。

DNA分析の結果は、家族1の男性患者・女性患者(1コピー)・母親(1コピー)がcDMDで、家族3の母(1コピー)及び患者はpERT87-30で、欠失が検出された。また家族3の患者(triple X)の遺伝子量は正常対象者の約1/3(0.38)であった。

この結果は3本のX染色体のうち2本に欠失があることを示唆するが、デンストメトリーの誤差の問題もあり確定はできない。以上の結果から、今回検討した3家族中2家族の女性患者に、DMD遺伝子内部のDNA欠失を認め、少なくともこの2人は女性DMDであると診断した。従って、この2家系では、遺伝形式はX連鎖性遺伝と考えられた。また今回欠失を検出しなかった家族2は、血族結婚のある家系であり、常染色体劣性遺伝も考えられるため現在検討中である。

考察：今回対象とした各女性患者は、臨床的にそれぞれDMDと診断されているが、他のタイプの筋ジストロフィーも完全に否定できなかったはずである。しかし逆に、DMD遺伝子内の欠失を発見できれば、その症例はDMDと診断できるわけである。従って、女性DMDが疑われる症例のDNA解析結果を集積することによりその遺伝形式や臨床像が明かになるであろう。

Kunkelらは、DMD男性患者の約50%にDMD遺伝子の欠失を認めると報告している。女性DMDが同じ遺伝子の異常によって発症するのであれば、約半分の症例は遺伝子欠失を検出することで診断がつくであろう。今回はDMD-cDNAの一部分のみをプローブとして用いたが、今後は家族数を増やしてcDNAの全配列をプローブとして分析し、診断できた女性DMDの臨床症状の解析より、女性DMDの臨床像の確立、診断基準作成の試み、また欠失の部位による症状の違いなどを検討していく予定である。今回の結果にもみられるように同じ遺伝子の欠失がある女性でも保因者となる場合と発症する場合がある。これは、non-randomなX染色体の不活化によ

り説明可能であるが、家族3の患者のX X Xにおける不活化との関係は興味深くメチレーションパターン等も含め今後検討の予定である。

#### 文献

- 1 Darras BT, et al. Prenatal diagnosis and detection of carriers with DNA probes in DMD. N Engl J Med 1987; 316:985-992.
- 2 H. Isaacs, M. Badenhorst. Female carriers of DMD: a dilemma. Clin Genet 1987; 31:288-296.
- 3 M. Koenig, et al. Complete cloning of the DMD cDNA and preliminary

genomic organization of the DMD gene in normal and affected individuals. Cell 1987;50:509-517.

- 4 Verellen-Dumoulin C, et al. Expression of an X-linked muscular dystrophy in a female due to translocation involving Xp21 and non-random inactivation of the normal X chromosome. Hum Genet 1984;67:115-9.
- 5 Boyd Y, et al. Muscular dystrophy in girls with X;Autosome translocation. J Med Genet 1986;23:484-490.

#### Abstract

DNA analysis on female patients with Duchenne muscular dystrophy (DMD)

Norio Niikawa, Tadashi Matsumoto, Shigeto Sugino

Three female DMD patients and their family members were studied cytogenetically and molecular-genetically using the DMD-cDNA and several X-linked cloned DNAs as hybridization probes, in order to know the genetic heterogeneity. Though all patients did not have any chromosomal deletion, but 2 of the 3 patients had a DNA deletion in the DMD gene, indicating that the muscular dystrophy of the 2 is DMD itself. No deletion was determined in the remaining patient with the probes used. This finding, together with a parental consanguinity suggested that the disease in this patient is autosomal.



## 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:女性 DMD の遺伝的異質性を検討するため、DMD 遺伝子欠失の有無を DMD 遺伝子 cDNA 及び近傍のクローン化 DNA をプローブにして、臨床的に DMD と診断された女性患者 3 名とその家族を分子遺伝学的に分析した。結果は 3 名中 2 名に遺伝子欠失を検出しこの 2 名の診断は DMD であると確定した。これらの家族の筋ジストロフィー症の遺伝形式は X 連鎖性と考えた。残り 1 名は用いたプローブに関する限り欠失がなく、且つ両親が血族婚であったので常染色体劣性遺伝の可能性が残った。