

## 遺伝性疾患の発症予防に関する研究

(分担研究：オルニチントランスカルバミラーゼ(OTC)欠損症の  
出生前診断に関する研究)

(分担研究：遺伝性疾患の発症予防に関する研究)

松 田 一 郎 , 羽 田 明

要約： OTC DNAを解析し、出生前診断を行うことを目標とし研究を行った。その結果ヒト肝OTCの cDNA, ゲノムDNAの単離構造解析に成功し、さらに日本人女性一般集団でのRFLP(restriction fragment length polymorphism)を決め、我が国では、77%のケースでRFLPによる出生前診断は可能であろうという結論を得た。

見出し語： OTC, 出生前診断, DNA解析

### 研究方法

① ヒトの肝由来のcDNAライブラリー(random primer human liver cDNA library in  $\lambda$ gt 11 及び oligo(dT)-primed human liver cDNA library in gt 11)をラットOTC cDNAをプローブとしてスクリーニングして得た positive clone を PUC18にサブクローンして構造を決めた。

② ヒト胎盤, 胎児肝, X染色体由来の3つのゲノムDNAライブラリー(EcoRI partide digests of human placental DNA, AluI/Hae III partide digeste of human fetal liver DNA, EcoRI complete digests of Xchromo-

some)について先に得られたヒト肝cDNAをプローブにしてスクリーニングし、得られた15のクローンについて、PBR322またはPUC18にサブクローニング後、構造解析を行った。

③ 30人の正常の女性についてRFLPを検索した。末梢白血球を採取し、Kunkelらの方法でゲノムDNAを抽出し、そのDNAをそれぞれMspI, TaqI, BamHIなどにより、完全に処理し、サザンブロットを行った。

### 結 果

1. 得られた OTC cDNAクローンは OTCの全長をカバーする cDNAであり、今後の研究に

---

熊本大学小児科 (Dep. of Pediatrics, Kumamoto Univ.)

使えることが判明した。

2. 得られた OTCゲノムDNAは解析の結果、全長72kbにわたる長いもので、10のエクソンと9のイントロンからなることがわかった。

3. 得られたRFLPについては表に示した。

BamHI処理でのRFLPは、検査対象30名中で欧米からの報告と異なり、極めてRFLPに乏しいことがわかったが、それでも77%の女性が他の制限酵素処理によるハプロタイプについてヘテロであることが明らかになった。

## 考 察

OTC欠損症はX染色体連鎖疾患で尿素サイクル異常症の中で最も多い疾患である。男子は女子よりも病状が重症で予後も悪いが、女子でも男子とほぼ同数の患者が発症している。本症は早期から治療しても予後が悪いこと、また同胞の発生が多いことなどから出生前診断が望まれていたが、OTC酵素は肝、小腸粘膜にか発現しないので羊水細胞を用いての出

生前診断は不可能であった。英国ではその1つとして胎児肝生検が行われたりしたが、安全性に問題があるので普及しなかった。現在、出生前診断には胎盤絨毛を用いることが、その採取時期が妊娠9週と早期に可能のため、普及する状況にある。今回我々が得た手法は、DNA解析による診断法なので、サンプルとしては絨毛、羊水細胞いずれも使用可能であり、しかもDNA増幅(PCR)と組み合わせることで、より少量のサンプルでの保因者も診断可能となる。

## 文 献

1. Matsuda I. et al. Hyperammonemia due to mutant enzyme of ornithine transcarbamylase. *Pediatrics* 48:595-600, 1971
2. Hata A. et al. Isolation and characterization of human ornithine transcarbamylase gene. Structure of the 5'-end region. *J. Biochem.* 100:715-25, 1986

Table 1. Restriction fragment length polymorphisms (RFLPs) at human OTC locus

Restriction enzyme	<u>MspI</u>	<u>MspI</u>	<u>TaqI</u>	<u>BamHI</u>
RFLPs in Japanese	6.6kbp (0.5)	5.1kbp (0.77)	4.0kbp (0.81)	18kbp (1.0)
female	6.2kbp (0.5)	4.4kbp (0.23)	3.8kbp (0.19)	5.2kbp (0.0)
Homozygouse	(0.5)	(0.65)	(0.70)	(1.0)
RFLPs in USA	6.6kbp (0.61) <sup>a</sup>	5.1kbp (0.73) <sup>a</sup>	3.7kbp <sup>b</sup> (NS)	18kbp <sup>b</sup> (NS)
female	6.2kbp (0.39)	4.4kbp (0.27)	3.6kbp (NS)	5.2kbp (NS)
Homozygouse	(0.52)	(0.61)	(0.89)	(0.71)

a: Rozen et al. *Nature* 1985;313:815  
 b: Fox et al. *Am J Hum Genet* 1986;35:841  
 Number in parenthesis means the frequency.

NS: not shown

Table 1. Restriction fragment length polymorphisms (RFLPs) at human OTC locus

Restriction enzyme	<u>MspI</u>	<u>MspI</u>	<u>TagI</u>	<u>BamHI</u>
RFLPs in Japanese	6.6kbp (0.5)	5.1kbp (0.77)	4.0kbp (0.81)	18kbp (1.0)
female	6.2kbp (0.5)	4.4kbp (0.23)	3.8kbp (0.19)	5.2kbp (0.0)
Homozygouse	(0.5)	(0.65)	(0.70)	(1.0)
RFLPs in USA	6.6kbp (0.61) <sup>a</sup>	5.1kbp (0.73) <sup>a</sup>	3.7kbp <sup>b</sup> (NS)	18kbp <sup>b</sup> (NS)
female	6.2kbp (0.39)	4.4kbp (0.27)	3.6kbp (NS)	5.2kbp (NS)
Homozygouse	(0.52)	(0.61)	(0.89)	(0.71)

a: Rozen et al. Nature 1985;313:815

b: Fox et al. Am J Hum Genet 1986;35:841

Number in parenthesis means the frequency.

NS: not shown



## 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：OTC DHA を解析し、出生前診断を行うことを目標とし研究を行った。その結果ヒト肝 OTC の cDNA, ゲノム DMA の単離構造解析に成功し、さらに日本人女性一般集団での RFLP(restriction fragment length polymorphism)を決め、我が国では、77%のケースで RFLP による出生前診断は可能であろうという結論を得た。