

日本人正常集団のPAH遺伝子における RFLPsと日本人PKU家系の遺伝子解析

(分担研究：遺伝性疾患の発症予防に関する研究)

荒木 清,* 松尾宣武,* 玉井伸哉*
工藤 純,** 清水信義**

要約：(1)日本人正常集団10例のPAH遺伝子におけるRFLP頻度(*Msp* I, *Eco*R I, *Bgl* II, *Pvu* II, *Eco*RV)は、欧米人に比し明らかな差が認められた。(2)*Bgl* II, *Pvu* II, *Eco*RVの3種の制限酵素を用いた日本人PKU家系における出生前診断のinformativeな診断率は65%であった。(3)日本人PKU2家系において、欧米の報告には認められないPAH遺伝子のRFLP haplotypeが見られた。

以上より、日本人PKU遺伝子変異の異質性が示唆された。

見出し語：フェニルケトン尿症(PKU), PAH遺伝子, RFLP(s)

I. はじめに

日本人正常集団10例、及び古典的PKU1家系のPAH遺伝子におけるRFLP(restriction fragment length polymorphism)解析の成績を報告する。

II. 対 象

(a)日本人正常集団；家系内にPKUを認めない、出身地の異なる男女計10例。

(b)古典的PKU家系；父35歳，母31歳，血族結婚なし。姉4歳，表現型正常。患児1歳9か月女児。

III 方 法

末梢血10mlから白血球を分離し，DNAを精製

した。DNA 5 μ g を15単位の各種制限酵素(*Msp* I, *Eco*R I, *Bgl* II, *Pvu* II, *Eco*RV, *Sph* I, *Bam*HI, *Hin*d III, *Pst* I, *Taq* I)で処理した後，³²Pでラベルしたfull length human PAH c DNAをプローブとしてSouthern解析を行った。

IV. 結果, 考按

(a)日本人正常集団；白人正常集団20例のWooらの報告¹⁾と同様に，5つの制限酵素(*Msp* I, *Eco*R I, *Bgl* II, *Pvu* II, *Eco*RV)により6種のRFLP_sが検出された(図1)。しかし，Wooらの報告と異なり，*Msp* I, *Eco*R Iでは，対立遺伝子の頻度には明らかな差が認められた(表1)。

日本人PKUの家系分析においては，人種間のR

* 慶應義塾大学医学部小児科， ** 同分子生物 (Departments of Pediatrics and Molecular Biology, School of Medicine, Keio University.)

FRLPの出現頻度の差を考慮し、Woo らとは異なる制限酵素の組み合わせを用いることが必要である。

以上5種の制限酵素のうち、RFLPの出現頻度の高い制限酵素3種(*Bgl* II, *Pvu* II, *Eco* RV)を用いて日本のPKU家系の出生前診断を試みる場合、RFLPが疾患遺伝子と連鎖している前提のもとで、診断可能率(informative)は理論上約65%である。

(b)古典的PKU家系

今回用いた10種の制限酵素では、保因者診断、出生前診断に完全に有用な両親がヘテロ、患児がホモを示すRFLPは検出されなかった。唯一RFLPが見られた*Eco* RIでは、父が16 kbのホモ、母、姉、患児が16 kb/9 kbのヘテロで、本家系の姉を保因者と診断することが可能であった(図2)。本家系のPAH遺伝子におけるRFLP haplotypeを、Woo らがデンマーク人のPKU家系を対象に7つの制限酵素を用い分類した12種のhaplotype²⁾と比較すると、母の変異対立遺伝子はhaplotype 4に相当するが、父の変異対立遺伝子、父と母の正常対立遺伝子はidenticalで、Woo らの報告には認められないものであった(表2)。昨年度の班会議で報告した、兄が軽症PKU、妹が持続性高フェニルアラニン血症の家系³⁾のRFLP haplotypeは、父、母の変異対立遺伝子はhaplotype 1に、母の正常対立遺伝子はhaplotype 4に相当するが、父の正常対立遺伝子はWoo らの報告には認められないタイプであった。

今回の研究により、DNA多型に基づき、日本人PKU家系の保因者診断、出生前診断を行うことが可能となった。しかし、欧米人と日本人のP

AH遺伝子haplotypeの差、即ちPAH遺伝子変異の人種差が示唆されたため、今後多数のPKU家系の連鎖解析により、日本人PKUに特有のRFLP haplotype分類を確立し、より多数の家系に対して適用しうる出生前診断、保因者診断のstrategyを確立する予定である。

V. 文 献

- 1) Lidski. A. S. et al ; Am. J. Hum. Genet. 37, 619, 1985
- 2) Chakraborty. R. et al ; Hum. Genet. 76, 40, 1987
- 3) 荒木 清 他 ; 厚生省心身障害研究, 小児期の主な健康障害要因に関する研究班, 昭和62年度研究報告書 p345-347。

日本人正常集団のPAH遺伝子におけるRFLP (PvuII)

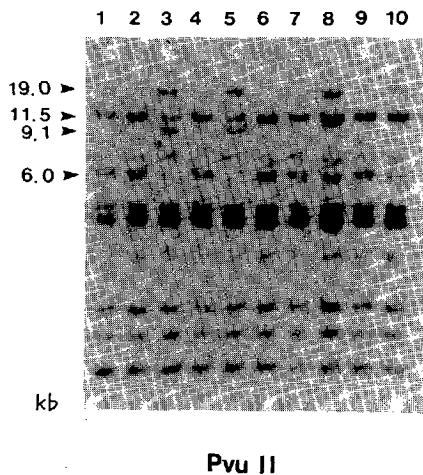


図 1

日本人正常集団 PAH 遺伝子における RFLPs とその頻度

制限酵素	fragment size (kb)	allele frequency (Woo)
<i>Msp</i> I	23.0	18/20 = 0.90 (0.38)
	19.0	2/20 = 0.10 (0.62)
<i>Eco</i> R I	16.0	4/20 = 0.20 (0.59)
	9.0	16/20 = 0.80 (0.41)
<i>Bgl</i> II	3.6	14/20 = 0.70 (0.59)
	1.7	6/20 = 0.30 (0.41)
<i>Pvu</i> II a	19.0	6/20 = 0.30 (0.44)
	6.0	14/20 = 0.70 (0.56)
<i>Pvu</i> II b	11.5	18/20 = 0.90 (0.69)
	9.1	2/20 = 0.10 (0.31)
<i>Eco</i> R V	30.0	7/20 = 0.35 (0.47)
	25.0	13/20 = 0.65 (0.53)

表 1

PKU家系, *Eco*RIで見られたRFLP

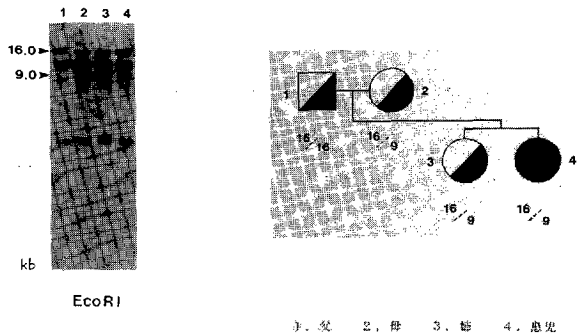


図 2

PKU 家系の PAH 遺伝子の RFLP haplotype (kb)

		<i>Bgl</i> II	<i>Pvu</i> II a	<i>Pvu</i> II b	<i>Eco</i> RI	<i>Msp</i> I	<i>Eco</i> R V	<i>Sph</i> I
父	Normal F	3.6	6.0	11.5	16.0	23.0	25.0	7.0
	Mutant F	3.6	6.0	11.5	16.0	23.0	25.0	7.0
母	Normal M	3.6	6.0	11.5	16.0	23.0	25.0	7.0
	Mutant M	3.6	6.0	11.5	9.0	23.0	25.0	7.0
姉	Normal F	3.6	6.0	11.5	16.0	23.0	25.0	7.0
	Mutant M	3.6	6.0	11.5	9.0	23.0	25.0	7.0
患児	Mutant F	3.6	6.0	11.5	16.0	23.0	25.0	7.0
	Mutant M	3.6	6.0	11.5	9.0	23.0	25.0	7.0

表 2



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:(1)日本人正常集団 10 例の PAH 遺伝子における RFLP 頻度 (MapI, EcoRI, Bgl
, PvuII, EcoRV) は, 欧米人に比し明らかな差が認められた。(2) BglII, PvuII, EcoRV の 3 種
の制限酵素を用いた日本人 PKU 家系における出生前診断の informative な診断率は 65% で
あった。(3) 日本人 PKU2 家系において, 欧米の報告には認められない PAH 遺伝子の RFLP
haplotype が見られた。

以上より, 日本人 PKU 遺伝子変異の異質性が示唆された。