

乳児型低ホスファターゼ血症の出生前診断

(分担研究：遺伝性疾患の発症予防に関する研究)

梶井 正, 岸 文雄, 松浦伸也, 村野一郎

要約：肝型アルカリホスファターゼ cDNA を用いて、乳児型低ホスファターゼ血症患者家系の制限酵素 DNA 断片長多型による連鎖分析を行なった。制限酵素 *Bcl*I による多型と連鎖していることを見出し、これを用いて発端者の次の妊娠10週に絨毛を採取し、胎児がヘテロ接合であることを診断した。

見出し語：乳児型低ホスファターゼ血症，制限酵素 DNA 断片長多型，胎盤絨毛生検，出生前診断

研究方法：1) cDNAクローニング：肝臓から精製したアルカリホスファターゼ(以下ALPと略す)のN末端アミノ酸配列及び骨肉腫細胞株からクローニングされた骨型ALP cDNAの塩基配列(1)をもとにオリゴヌクレオチド(21mer)を化学合成した。これをプローブとしてランダムプライマーによる正常肝臓 cDNA ライブラリーをスクリーニングした。DNA塩基配列の決定はM13ファージを用いた dideoxy シーケンス法で行なった(2)。2) 制限酵素 DNA 断片長多型解析：乳児型低ホスファターゼ血症患者家系の末梢血リンパ球をEBVで株化した。発端者は剖検時の肝臓を液体窒素で凍結後、-80℃で保存。発端者の母親の妊

娠10週の胎盤絨毛を経頸管的にカテーテルで吸引採取し、顕微鏡下に母親組織を取り除いた。各組胞組織から protease K-SDS法でDNAを抽出・精製した(3)。制限酵素で完全消化したDNAを0.8%アガロースゲル電気泳動を行なったのち、³²P 標識した上記cDNAを用いてサザンブロット解析を行なった(3)。

結果：正常肝臓 cDNA ライブラリー140万個をスクリーニングした結果、10個の陽性クローンを得た。このうち3個のクローンのcDNA塩基配列を決定することにより、肝型ALP cDNAであることを確認した(4)。このcDNAをプローブとして、乳児型低ホスファターゼ血症患者の家系で制限酵

山口大学小児科 (Dep. of Pediatrics, Yamaguchi University)

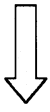
素DNA断片長多型解析を行なった。各種制限酵素を調べた結果、いくつかの多型が観察されたが、制限酵素 *Bcl*I を用いたものが最も明快で、有用だった。*Bcl*I は 3.4 kb と 4.6 kb の 2 本または 8.0 kb 単独の 2 つの対立遺伝子を同定した。この家系では、8.0 kb のホモ接合体になると乳児型低ホスファターゼ血症を発症する。さらに発端者の母親の次の妊娠では、胎盤絨毛を用いた出生前診断を行なった。湿重量 26 mg の胎盤絨毛から 20 μ g の DNA を回収した。同様な解析の結果、胎児はヘテロ接合体であり、この疾患のキャリアーと推定した。現在妊娠 22 週で妊娠継続中である。

考 察：乳児型低ホスファターゼ血症の出生前診断は、従来、胎児エコーによる骨測定や羊水細胞の ALP 活性測定といった信頼性に乏しい上に

妊娠早期には診断不能といった大きな欠点を持っていた。しかし DNA 診断法は細胞の種類を問わず、胎盤絨毛を用いて可能である。さらに血清 ALP 活性測定では不可能であったキャリアーの推定も可能である。

文 献

- 1) Weiss, M.J., *et al.* (1986) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83, 7182-7186.
- 2) Sanger, F., *et al.* (1977) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74, 5463-5467.
- 3) Maniatis, T., *et al.* (1982) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, NY.
- 4) Kishi, F., *et al.* (1989) Nucleic Acids Res. in press.



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:肝型アルカリホスファターゼ cDNA を用いて,乳児型低ホスファターゼ血症患者家系の制限酵素 DNA 断片長多型による連鎖分析を行なった。制限酵素 Bcl による多型と連鎖していることを見出し,これを用いて発端者の次の妊娠 10 週に絨毛を採取し,胎児がヘテロ接合であることを診断した。