

## Adrenoleucodystrophy の遺伝子診断

DNAプローブST14-1を用いた遺伝子診断と化学診断を  
組み合わせた保因者診断の試み

(分担研究: 遺伝性疾患をもつ小児の生活管理・指導に関する研究)

遠藤 文夫, 松田 一郎

要約: Adrenoleucodystrophy(X-linked)では、正確な保因者診断あるいは発症前診断を行うことがそのtotal careを考える上で重要である。我々は、DNAプローブST14-1を用いた遺伝子診断と、血中very long fatty acidを測定する化学診断を組み合わせることにより、日本人患者家族での保因者診断が可能かどうかの検討を行った。その結果、保因者診断に成功した。

見出し語: Adrenoleucodystrophy, DNA診断, 化学診断, 保因者診断

Adrenoleucodystrophy, X-linked(以下ALD)は、臨床的には小児型, 若年型, 成人型に分けられ、小児型は最も重症で頻度が高い。この型では4~8才頃から知能低下を中心とする多彩な精神・神経症状が進行し、また副腎不全を合併し発病から数年以内にvegetative stateまで至る。生化学的にはvery long chain fatty acid(VLCFA)、特にhexacosanoic acid(C26:0), pentacosanoic acid(C25:0), tetracosanoic acid(C24:0)が血漿, 赤血球, 培養皮膚線維芽細胞, 羊水細胞などに蓄積する。しかし、一次的な代謝異常部位は不明である。

本疾患では、VLCFAの測定を行うことにより、発症前診断・保因者診断の試みが行われ、また一部では羊水細胞を使用した出生前診断の試みがなされている。VLCFAの測定は、患者の診断や保因者診断に有効であるが、保因者診断の場合、そのすべてが診断可能というわけではなく、一部には診断不能の例も存在している。

この疾患の原因遺伝子は、X染色体長腕(Xq28)にあると推定されており、様々な遺伝子プローブが遺伝子診断に用いられてきた。特に、グルコース-6-リン酸脱水素酵素, red-green color vision, DXS 52などが検討さ

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

れている。これらの検討の結果、DXS 52を用いた遺伝子診断と VLCFAの測定という化学診断を組み合わせることで、欧米の例では保因者診断が 100%近く可能になってきている。そこで、我が国の ALD患者をもつ家系でこのような保因者診断が可能かどうか、検討してみた。

#### 【対象・方法】

##### 1. 遺伝子診断

若年型ALD 2例およびその家族の末梢血からリンパ芽球様細胞を樹立・培養した。培養リンパ芽球から高分子DNAを抽出し、制限酵素TaqIあるいはMspIで切断し、アガロースゲル電気泳動で分画した。DNAはニトロセルロースフィルターに移し、ハイブリダゼーションに用いた。DNAプローブ(ST14-1)は Dr. J. L. Mandell から供与された。ランダムプライマーを用いて放射性標識した後、上述のフィルター上のDNAとハイブリダイゼーションを行い、オートラジオグラフィでシグナルを検出した。

##### 2. Very long chain fatty acid (VLCFA)の測定

血漿からFOLCH法にて全脂質を抽出し、0.5%塩酸メタノールにてメチル化したのち GC/MSにて解析した。

#### 【結果】

##### 1. DNA診断

TaqIで切断した場合、ST14-1により2つの系統の多型が検出される。1つは 6.6kbから 3.4kbまでの 8種の DNA断片が出現する多型で、断片の大きい順に1~8までの genotype

(genotype1~8)が見いだされる。今一つは、5.5kb( $\alpha$ )あるいは 4.1+1.4kb( $\beta$ )の2種のいずれかが出現するもの(genotype  $\alpha$ または  $\beta$ )である。MspIでの多型はTaqIでの多型とリンクしている。

2つの家系、Family Sと Family Oで患者(男児)、両親、患者の妹からの DNAサンプルを解析に用いた。

図1には Family Sでの DNA解析を示す。この家系では、 $\alpha$ 、 $\beta$  genotypeのうち、両親とも  $\beta$  genotypeで、5.5kbの断片がなく、4.1kbと1.4kbの断片が見られる。また、母親と妹では 4.5kbの断片が見られた。同じ DNAを MspIで切断してみると、2.0kbの断片が母親・妹で検出され、父親・患児(男児)では検出されない。母親が保因者であると仮定した場合、MspI, 2.0kbの断片は正常の alleleとリンクしていると考えられるので、MspI, 2.0kbの断片をもつ妹は、母親からは正常のX染色体(ALD遺伝子を有さない)を受け継いでいると考えられる。化学診断の結果(後述)母親は保因者と考えられるので、妹は保因者ではないと言える。妹の血漿を用いた化学診断では(表)、この児は保因者ではないと判定されている。これらの結果を総合的に判断すると、妹は保因者の可能性は極めて薄い。

次に Family Oについてみると(図2) TaqI切断で、母親では 3.4kbの断片が出現するが、父親・患児には見られない。この家系には、患児の弟も患者で母親は保因者と考えられる。そこで、ALD遺伝子は 3.4kbの断片を含まないX染色体上にあると考えられる。したがっ

て、まだ検索の終わっていない妹については、この 3.4kbの断片の有無を調べることにより遺伝子解析による保因者診断が可能になろう。化学診断の結果(表)では、この妹は保因者とされている。

## 2. 化学診断

化学診断の結果は表に示した。C26:0とC22:0の比(C26:0/C22:0)をみると、Family Sの妹は低値、患児では高値、母親ではその中間の値が見られる。

### 【考察】

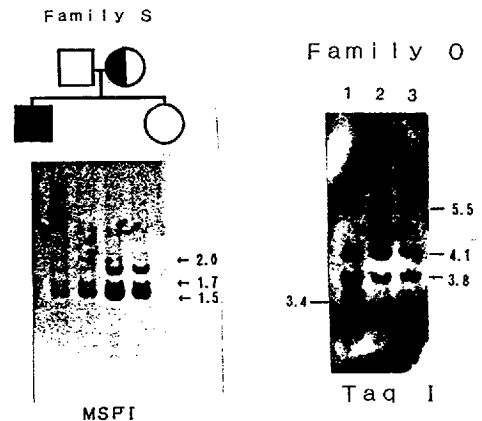
X連鎖疾患では、女性保因者がいると、その子供のうち男児の半数は患者となり、女児の半数は保因者になる。遺伝性疾患の total careを考えた場合、X連鎖疾患の保因者を正確に診断することは、様々な面で重要である。特に ALDの場合、その予後が極めて不良で、幼児期まで正常に発育・発達した男児が急激に発症し、vegetative stateに至ることの家族に与える影響は計り知れないほど大きい。また女性保因者の10~15%に何等かの神経症状が出現してくると言われている。したがって、この疾患での保因者診断の精度を高めることは、とりわけ重要であると考えられる。

VLCFAの測定による保因者診断は大きな進歩であったが、それでも85%の保因者が診断されるにすぎず、残り15%は診断できなかった。そこで、DNA診断と化学診断の組み合わせが試みられてきた。

本研究では、日本人 ALD家系でも、白人で試みられた DNA診断が可能かどうか、さらに

化学診断と組み合わせた結果はどうか検討してみた。ここで述べた2家系についてみると、DNAプローブ ST14-1で検出される多型は日本人においても診断上有用であり、かつ1家系においては保因者を新しく診断することができた。

今後は症例を重ねて保因者診断例を増し、ALDの total careに関して正確な保因者診断に基づく遺伝相談を実施していきたい。



	C24:0/C22:0	C26:0/C22:0
SISTER(O)	1. 0 1	0. 0 7
PATIENT(S)	7. 8 2	0. 3 3
MOTHER(S)	1. 2 1	0. 0 5
SISTER(S)	-- --	0. 0 1
PATIENT(N)	3. 3 7	0. 0 8



**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:Aerenoleucodystrophy(X-linked)では、正確な保因者診断あるいは発症前診断を行うことかその total care を考える上で重要である。我々は、DNA プローブ ST14-1 を用いた遺伝子診断と、血中 very long fatty acid を測定する化学診断を組み合わせることにより、日本人患者家族での保因者診断が可能かどうかの検討を行った。その結果、保因者診断に成功した。