

## 乳児型低ホスファターゼ症の遺伝子解析と 出生前診断の検討

奥山虎之\*, 松尾宣武\*, 工藤 純\*\*, 清水信義\*\*

要約：家系内に近親婚のない乳児型低ホスファターゼ症2家系について、組織非特異型アルカリホスファターゼ(TNSALP)遺伝子上のRFLP(制限酵素*BclI*)を用いて連鎖解析を行った。両家系の両親のRFLPはともにホモ接合体のため、出生前診断への適用は不可能であった。

見出し語：乳児型低ホスファターゼ症，連鎖解析，RFLP，出生前診断

### I. はじめに

乳児型低ホスファターゼ症は、TNSALPの欠損による化骨障害を特徴とする常染色体性劣性遺伝病である。本症の疾患変異部位は、TNSALP遺伝子内に存在することが推測されているが、同遺伝子内での変異部位は1例を除いて同定されていない。今回、われわれは、日本人本症2家系について、RFLPによる連鎖解析を試みた。

### II. 対象および方法

家系1：患児は、多呼吸、チアノーゼ、特徴的な骨レ線像、血清ALP低値(14 IU/ℓ)から、3か月時に本症と診断された。互いに血縁関係のない両

親は、血清ALP低値(父27 IU/ℓ, 母37 IU/ℓ)から保因者と推測される。

家系2：第1子はすでに本症により出生直後に死亡している。互いに血縁関係のない両親の血清ALP低値(父38 IU/ℓ, 母44 IU/ℓ)。第2子は妊娠時に羊水ALP活性および胎児超音波検査により出生前診断を試みたが、診断不能であった<sup>1)</sup>。本児は、出生直後から呼吸困難、チアノーゼを認め、血清ALP値は測定感度以下、特徴的な骨レ線像を呈し、本症患者と診断された。上記2家系(図1)、6例の末梢血白血球からDNAを抽出・精製、制限酵素*BclI*処理後、TNSALP cDNAをプローブとしてサザンブロット解析を行った。

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

## Ⅱ. 成績

制限酵素 *Bcl*I で 7.4 kb/4.3 kb の RFLP が検出された。家系 1 では患児が 7.4/4.3 kb のヘテロ接合体、母が 4.3 kb、父が 7.4 kb のホモ接合体であった。家系 2 では第 1 子はすでに死亡し解析不能、第 2 子(患児)は 7.4/4.3 kb のヘテロ接合体、母は 7.4 kb、父は 4.3 kb のホモ接合体であった(図 2)。

## Ⅳ. 考察

乳児型低ホスファターゼ症の遺伝子解析は、1986 年 Weiss らにより TNSALP cDNA が単離<sup>2)</sup>されて以来、カナダ人家系を中心に進められ以下の 2 点が明らかにされた。

(1) 本症は TNSALP 遺伝子の異常による。1988 年 Weiss らは TNSALP 遺伝子第 7 エクソン上の missense mutation を有する遺伝子のホモ接合体により本症が発症することを報告した<sup>3)</sup>。Chodirker らはカナダ人 6 家系について 1 番染色体短腕上で TNSALP 遺伝子に隣接する Rh 血液型遺伝子と本疾患との間に密接な連鎖が存在することを報告した<sup>4)</sup>。

(2) TNSALP 遺伝子内の疾患変異部位には多様性がある。Weiss らは、検討した 14 家系中上記家系以外には、第 7 エクソンの missense mutation が存在しないことを報告した<sup>3)</sup>。

RFLP により出生前診断を試みる場合、疾患変異遺伝子と RFLP との連鎖が前提となる。*Bcl*I の RFLP と疾患変異遺伝子との連鎖を明らかにした報告はないが、本症の疾患変異部位が TNSALP 遺伝子内に存在すると推測されることから、*Bcl*I の RFLP と疾患変異遺伝子が連鎖している可能性

が高い。従って、疾患変異部位が 1 家系を除いて同定されていない現段階においては、TNSALP 遺伝子内の多型を用いる連鎖解析が最も有用な出生前診断法と考えられる。

現在、cDNA をプローブとして検出できる TNSALP 遺伝子上の RFLP は、*Bcl*I による RFLP 1 種類のみが報告されている<sup>6)</sup>。*Bcl*I の RFLP は対立遺伝子頻度 0.55 : 0.45 でヘテロ出現率は高いが、この RFLP 1 種のみでは、出生前診断可能率は 43% にすぎず<sup>5)</sup>、今回検討した 2 家系はいずれも両親が RFLP のホモ接合体のため出生前診断への適用は不可能であった。

本症の出生前診断の適用範囲を拡大するためには、同遺伝子内の新たな多型の検出が必要である。TNSALP 遺伝子上の RFLP については、*Bcl*I の RFLP の他には、Weiss らの正常白人 19 人での検討<sup>6)</sup>(制限酵素 *Pvu*II, *Hind*II, *Bam*HI)でも、我々の正常日本人 10 人での検討<sup>5)</sup>(*Taq*I, *Eco*RV, *Pvu*II, *Pst*I)でも新たな RFLP は検出されていない。

1989 年 Orita らは、より迅速かつ高感度な多型検出法として Polymerase Chain Reaction Single Strand Conformation Polymorphism (PCR-SSCP) 解析法を開発<sup>7)</sup>した。われわれは、この解析法を本症出生前診断に適用することを現在検討中である。

## V. 文献

- 1) 石井 徹 他：低ホスファターゼ症の出生前診断について：日本先天代謝異常学会雑誌 1：132, 1986.

2) Weiss MJ, et al : Isolation and characterization of a cDNA encoding a human liver/bone/kidney type alkaline phosphatase. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83:7182, 1986.

3) Weiss MJ, et al : A missense mutation in human liver/bone/kidney alkaline phosphatase gene causing a lethal form of hypophosphatasia. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:7666, 1988.

4) Chodirker BN, et al : Infantile hypophosphatasia-linkage with the RH locus. Genomics 1:280, 1987.

5) 奥山虎之他 : 乳児型低ホスファターゼ症の出生前診断 : 日本先天代謝異常学会雑誌 5 : 138, 1989.

6) Weiss MJ, et al : A high-frequency RFLP at human liver/bone/kidney-type alkaline phosphatase locus : Nucleic Acids Res. 15:860, 1987.

7) Orita M, et al : Rapid and sensitive detection of point mutation and DNA polymorphisms using the polymerase chain reaction. Genomics 5:874, 1989.

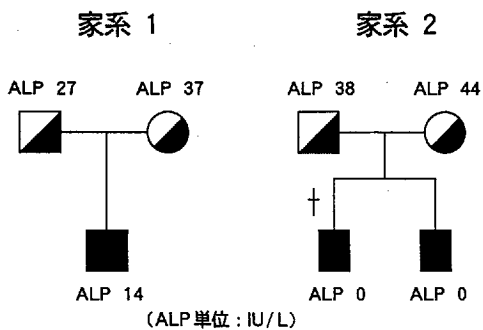


図 1

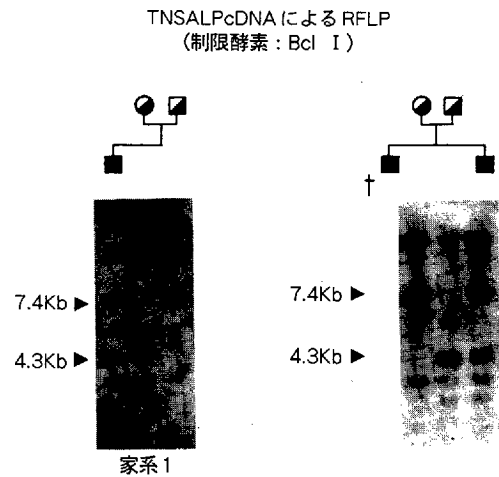


図 2



## 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:家系内に近親婚のない乳児型低ホスファターゼ症2家系について,組織非特異型アルカリホスファターゼ(TNSALP)遺伝子上のRFLP(制限酵素 Bc )を用いて連鎖解析を行った。両家系の両親のRFLPはともにホモ接合体のため,出生前診断への適用は不可能であった。