

血友病Aの出生前診断 I. RFLPを利用した妊娠早期の血友病A出生前診断

福井 弘, 中 宏之, 西村拓也, 松本雅彦*, 吉岡 章

要約: 血友病A保因者の妊娠早期の胎盤絨毛細胞を試料に、まず、Y染色体特異プローブ(DYZ1)にて性別診断を行い、同時に2種類の第Ⅷ因子遺伝子内RFLP, *Bel I*/intron 18と*Xba I*/intron 22を利用して9例の血友病A出生前診断を行った。9例中6例は女兒で妊娠を継続した。うち3例が保因者、3例が非保因者であった。3例は男児で、うち2例が患者で人工妊娠中絶を施行した。1例は非血友病Aで妊娠を継続した。本法には種々の制約があるものの、妊娠の早期に、かつ、ほぼ確実に出生前診断が可能であった。

見出し語: 血友病A、第Ⅷ因子遺伝子内RFLP、出生前診断、CVS

1. はじめに

血友病Aは伴性劣性遺伝病であるが故に、本人はもとよりその血族の結婚、家族計画には種々の困難な問題を伴う。従って、遺伝相談と、保因者診断、出生前診断は本症の生活管理とその指導上極めて重要である。

従来、血友病Aの出生前診断は、妊娠中期(妊娠19-21週)に直接胎児血を採取し、その第Ⅷ因子活性(FⅧ:C)および第Ⅷ因子抗原(FⅧ:Ag)を測定する方法が行われてきた。近年、分子生物学の進歩に伴い、妊娠早期(妊娠9-11週)に胎児由来の胎盤絨毛細胞を採取し(chorionic villus sampling:

CVS)、DNAを分析することにより遺伝子レベルで

の胎児診断が可能になった。

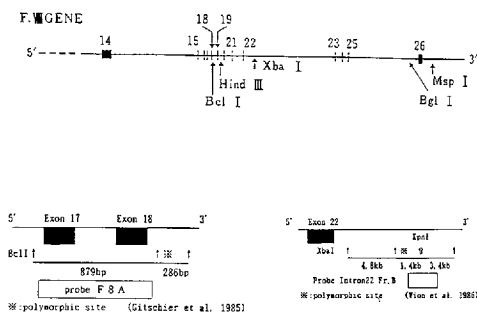
第Ⅷ因子遺伝子は、X染色体q28に存在し、26個のexonよりなり、全長186kb、そのcDNAは9kbにもおよぶものである。血友病Aを発症させたと考えられる遺伝子異常そのものは現在のところ、約10%程度しか明らかにされておらず、保因者および出生前診断にはintron内に存在するRFLPを用いているのが現状である。

第Ⅷ因子遺伝子内に存在するRFLPは5-6種類報告されているが、我々は既報のごとく有用性の高い2種類のRFLP、*Bel I*/intron 18と*Xba I*/intron 22を用いて胎児診断を行っている。

Bel I/intron 18 RFLPは、probe F8Aで、

奈良県立医科大学小児科 (Dept. of Pediatrics, Nara Medical University)

* 大阪市立母子センター産婦人科



RFLP	No. of X chromosome Alleles	Alleles	Frequency(%)	Heterozygosity(%)
Intron18	125	0.8 kb	86	25
		1.2	14	
Intron22	125	1.4	63	62
		6.2	37	

Fig. 1

1.2 kb と 0.9 kb の断片が観察される。それぞれの断片の出現頻度は、86% と 14% であり、日本人女性のヘテロ接合体出現率は 25% であった。

Xba I / intron 22 RFLP は、probe-intron 22 fr. B で、1.4 kb と 6.2 kb の断片が観察される。それぞれの断片の出現頻度は、63% と 37% であり、日本人女性のヘテロ接合体出現率は 62% であった。今回我々は、性別判定のために Y 染色体特異 probe DYZ 1 (国立小児病院小児医療研究センター、中堀 豊、中込弥男博士より供与) と上記 2 種類の第 VIII 因子遺伝子内 RFLP を利用して、妊娠初期の胎盤絨毛を試料に 8 家系 9 例の血友病 A 保因者妊婦の胎児について出生前診断を行った。

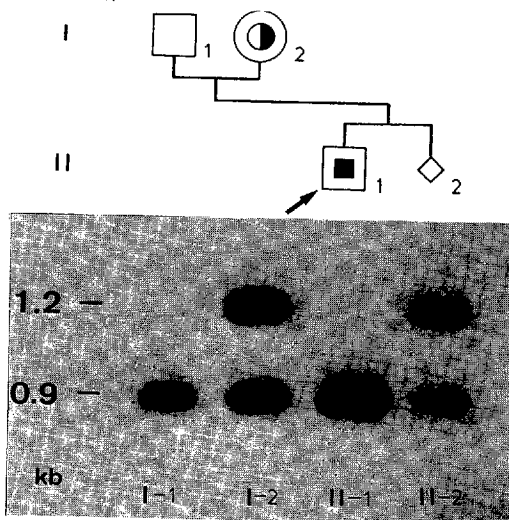
2. 方法

- 1) 胎盤絨毛細胞および患者家系内関係者の末梢血白血球より genomic DNA を抽出した。

- 2) 各種制限酵素で切断した。
- 3) アガロース電気泳動後、Southern blotting を行った。
- 4) ^{32}P で標識した各種 probe と Hybridization 後、autoradiography を行い観察した。

3. 結果

家系 I (Fig. 2): 妊婦 (I-2) は、第 1 子 (II-1) が血友病 A である疑保因者である。FVIII: C 88%、FVIII: Ag 48%、vWF: Ag 105% で凝血免疫学的に保因者と診断されている。家系を Bcl I / intron 18 RFLP で検索したところ、妊婦は 1.2 kb と 0.9 kb のヘテロ接合体を示し、第 1 子の患者は 0.9 kb を示した。よってこの家系では、異常第 VIII 因子遺伝子は、この 0.9 kb に由来するものと考えられた。胎児は、1.2 kb と 0.9 kb のヘテロ接合体を示し、女兒であること、および胎児の 0.9 kb の断片は父親に由来するものであるため、非保因者であると診断した。出生後 1 週目の血漿で FVIII: C 105%、FVIII: Ag 112%、vWF: Ag 90% と非保因者女兒であることを確認した。



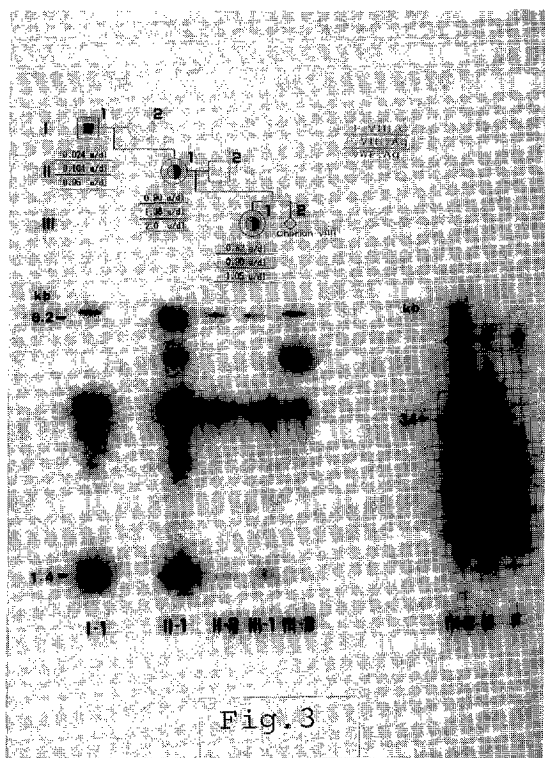


Fig. 3

家系2 (Fig. 8): 妊婦(II-1)は、血友病患者を父親に持つ確実保因者である。第1子(III-1)は女児であった。第2子(III-2)胎児について出生前診断を行った。Y染色体特異probe DYZ1にて男性特異的EcoRI 3.4 kbの断片が出現し、胎児は男児と診断した。次に、家系をXba I/intron 22 RFLPを用いて検索した。妊婦は、6.2 kbと1.4 kbのヘテロ接合体を示し、血友病A患者である父(I-1)は1.4 kbの断片を示した。よって、この家系の異常第VIII因子遺伝子は、1.4 kbに由来するものと考えられた。胎児は1.4 kbの断片を示し、血友病A患児と診断し、人工妊娠中絶が行われた。なお、第1子(III-1)は、FVIII:C 82%、FVIII:Ag 90%、vWF:Ag 105%と凝血免疫学的に非保因者と考えられたが、父由来の1.4 kbおよび母由来の1.4 kbのホモ接合体を示し保因者と診断した。

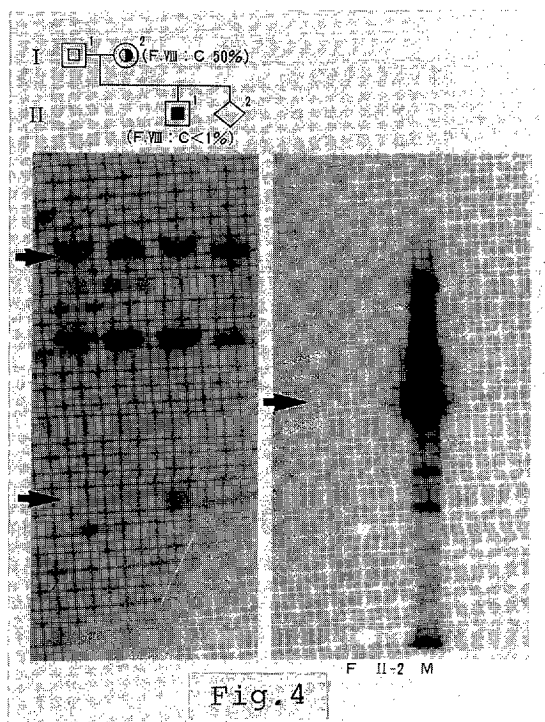
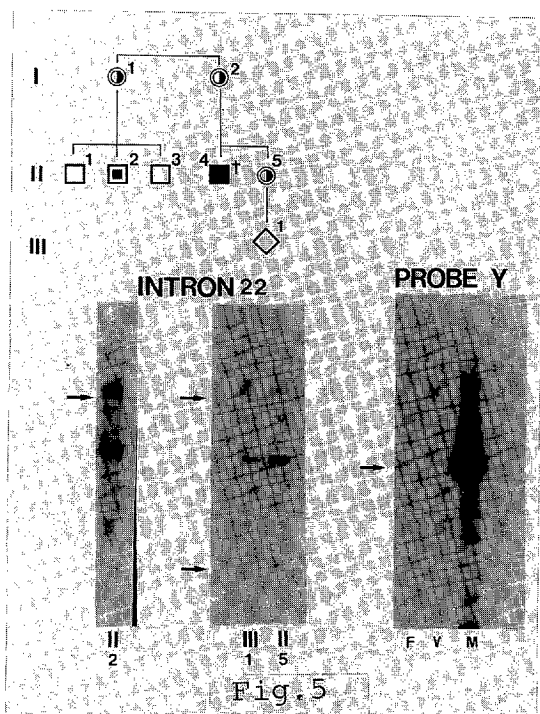


Fig. 4

家系3 (Fig. 4): 妊婦(I-2)は、血友病A患者(II-1)をもつ疑保因者である。FVIII:C 50%、vWF:Ag 105%より凝血免疫学的に保因者と診断されている。胎児(II-2)は、Y染色体特異probe DYZ1にて男性特異的EcoRI 3.4 kbの断片の出現はなく、女児と診断した。次に、家系をXba I/intron 22 RFLPを用いて検索した。妊婦(I-2)は、6.2 kbと1.4 kbのヘテロ接合体を示し、血友病A患者である第1子(II-1)は1.4 kbの断片を示した。よって、この家系における異常第VIII因子遺伝子は、1.4 kbに由来するものと考えられた。胎児(II-2)は6.2 kbのホモ接合体を示し、非保因者女児と診断した。女児を出生したが、凝血学的検索は行っていない。

家系4 (Fig. 5): 妊婦(II-5)は、すでに死亡した血友病Aの兄(II-4)と血友病Aの従兄弟(II-2)を持つ潜在保因者である。FVIII:Cは50%以下で、



凝血学的に保因者と診断されている。胎児(Ⅲ-1)は、Y染色体特異probe DYZ 1にて女兒と診断した。家系を Xba I / intron 22 RFLPにて検索すると、妊婦は 6.2 kb と 1.4 kb のヘテロ接合体を示し、血友病 A 患者(Ⅱ-2)は 6.2 kb の断片を示した。よって、この家系では異常第Ⅷ因子遺伝子は、6.2 kb に由来するものと考えられた。胎児は 1.4 kb のホモ接合体を示し、非保因者女兒と診断し、妊娠継続中である。

その他、5家系につき同様の検索を行った。胎児 9例中女兒 6例、男児 3例。女兒 6例中、保因者 3例、非保因者 3例。男児 3例中、患児 2例、正常児 1例であった。

4. まとめ

CVSを用いた血友病 A の妊娠早期出生前診断例を報告した。この方法の長所としては、(1)妊娠早期

に行うことから胎児及び母体への影響が少ない、(2)geno type の診断であるため診断が可能な家系であればほぼ確実な結果が得られる、などがあげられる。一方、短所としては、(1)診断可能条件として種々の制約がある、(第Ⅷ因子遺伝子内の RFLP を利用しているため、母親が必ず保因者であること、かつヘテロ接合体でなければならない。さらに、異常第Ⅷ因子遺伝子由来の断片サイズが判明していなければならない。)(2)診断に要する時間、技術およびコストの問題、(3)CVS の時期など診断可能な時期的制約がある、などがあげられる。

今後の方向としては、患者家系ごとの遺伝子異常の直接的解析の発展や、PCR の導入などを考えたい。

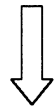
参考文献

- 1) Yoshioka A, et al: Jpn. J. Human Genet., 34: 135-141, 1989.
- 2) 西村拓也 他: 臨床遺伝研究, 11: 1-9, 1989.
- 3) 吉岡 章 他: 血液と脈血, 20: 368-373, 1989.



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:血友病 A 保因者の妊娠早期の胎盤絨毛細胞を試料に、まず、Y 染色体特異プローブ (DYZ1)にて性別診断を行い、同時に 2 種類の第 1 因子遺伝子内 RFLP, BclI/intron18 と XbaI/intron22 を利用して 9 例の血友病 A 出生前診断を行った。9 例中 6 例は女兒で妊娠を継続した。うち 3 例が保因者、3 例が非保因者であった。3 例は男児で、うち 2 例が患者で人工妊娠中絶を施行した。1 例は非血友病 A で妊娠を継続した。本法には種々の制約があるものの、妊娠の早期に、かつ、ほぼ確実に出生前診断が可能であった。