

## 日本人正常集団およびPKU4家系のPAH遺伝子 におけるRFLP解析

荒木 清\* 松尾宣武\*

工藤 純\*\* 清水信義\*\*

要約：日本人正常集団10例のRFLP頻度は、*Bgl*Ⅱ(3.6kb；0.70, 1.7kb；0.30), *Eco*RV(30kb；0.35, 25kb；0.65), *Hind*Ⅲ(4.2kb；0.30, 4.0kb；0.70)であった。以上の成績から、われわれは日本人PKU家系の出生前診断に、上記3種制限酵素のRFLPを用いる連鎖解析が現在最も実用的と結論した(出生前診断可能率65%)。

見出し語：フェニルケトン尿症(PKU), PAH 遺伝子, RFLP, 出生前診断

### I. はじめに

わが国におけるフェニルケトン尿症(PKU)の出生前診断は、いまだ実用化されていない。

われわれは、日本人正常集団および日本人PKU家系のPAH(phenylalanine hydroxylase)遺伝子におけるRFLP(restriction fragment length polymorphism)解析を行い、PKUの出生前診断について検討した。

### II. 対象および方法

正常集団10例およびPKU4家系16例。末梢血10mlからDNAを精製、DNA5 $\mu$ gを15単位の制限酵素(*Bgl*Ⅱ, *Pvu*Ⅱ, *Eco*RI, *Msp*I, *Xmn*I,

*Hind*Ⅲ, *Eco*RV)で切断後、<sup>32</sup>Pでラベルしたfull-length human PAH cDNAをプローブとしてSouthern解析を行なった。

### III. 成績

①正常集団；7種の制限酵素により8種のRFLPが検出された。各RFLP対立遺伝子頻度は白人正常集団20例(Woo)<sup>1)</sup>に比し明らかに異なった。このため各対立遺伝子のヘテロ出現率は、全て低値であった(表1)。

②PKU4家系；Wooらの分類<sup>2)</sup>のhaplotype 4および28が、正常対立遺伝子、変異対立遺伝子に共通し優位に認められた(4：44%, 28：

\*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)

38%) (表2)。

#### IV. 考 按

日本人PKU家系のPAH遺伝子のRFLP haplotype解析において、(1)欧米で最も多いhaplotype 2および3の欠如、(2)欧米で比較的まれなhaplotype 4および28の優位性が認められた。以上の成績は、白人PKUと日本人PKUの異質性を示唆するものである。北欧人のPKUは、haplotype 2および3を有する集団に特定の変異が生じ、founder effectにより広がったものと推測されるが、日本人PKUは、大部分がhaplotype 4および28を有する集団にat randomな変異が生じたものと考えられる。

欧米の研究者によるPKUの遺伝子解析の結果、PKUのgenetic heterogeneityが明らかにされている：(1)疾患変異が多種多様におよぶ(約20種の変異が報告されている)。(2)同一民族において複数の疾患変異が認められる。(3)特定のhaplotypeと疾患遺伝子の間に必ずしも連鎖不均衡が存在しない(表3)。したがって、欧米において高頻度に認められた変異を直接同定する方法や、haplotype分類を利用する方法は、わが国のPKUの出生前診断法としては適切でない。現在日本人PKUの出生前診断法として最も実用性の高い方法は、正常集団において比較的高いヘテロ出現率を示すRFLPを用い連鎖解析を行なうことである。われわれの検討の結果、*Bgl* II, *Eco* RV, *Hind* IIIの3種のRFLPを用いる出生前診断率は、理論上65%であることが明らかにされている。今後、(1)PCR法による新しいRFLPの検出および診断の迅速化、(2)RFLPがinformativeでない家系については、

患児肝針生検試料を用いたcDNA中の変異の検出、について検討する予定である。

#### V. 文 献

- 1) Lidsky. A. S. et al. : Am. J. Hum. Genet. 37, 619, 1985.
- 2) Woo. S. L. C. et al. : Am. J. Hum. Genet. 43, 781, 1989.

表1 RFLP allele frequencies in the Japanese population

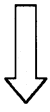
Restriction enzyme	Fragment size(kb)	Allele frequency	
		(Araki et al) Japanese	(Woo) (Caucacians)(Japanese)
MspI	23.0	18/20=0.90	(0.38) (0.870)
	19.0	2/20=0.10	(0.62) (0.130)
EcoRI	17.0	4/20=0.20	(0.59) (0.053)
	11.0	16/20=0.80	(0.41) (0.947)
BglII	3.6	14/20=0.70	(0.59) (0.800)
	1.7	6/20=0.30	(0.41) (0.200)
PvuIIa	19.0	6/20=0.30	(0.44) (0.200)
	6.0	14/20=0.70	(0.56) (0.800)
PvuIIb	11.5	18/20=0.90	(0.69) (0.857)
	9.1	2/20=0.10	(0.31) (0.143)
EcoRV	30.0	7/20=0.35	(0.47) (0.158)
	25.0	13/20=0.65	(0.53) (0.842)
HindII	4.2	6/20=0.30	(0.61) (0.231)
	4.0	14/20=0.70	(0.39) (0.769)
XmnI	9.4	2/20=0.10	(0.67) (0.095)
	6.5	18/20=0.90	(0.33) (0.905)

表2 PKU家系のPAH遺伝子のRFLP haplotype

		PAH gene	RFLP haplotype(Woo)
家系1	父	mutant	1
		normal	23
	母	mutant	1
		normal	4
家系2	父	mutant	28
		normal	28
	母	mutant	4
		normal	28
家系3	父	mutant	4 or 28
		normal	28 or 4
	母	mutant	28 or 4
		normal	4 or 28
家系4	父	mutant	4
		normal	28
	母	mutant	4
		normal	4

表3 PKUの遺伝的多様性

- (1) 同一-haplotypeを示すPAH変異遺伝子に、複数の変異が認められる。
- (2) 現在までに、約20種のPKU変異が同定されている。
- (3) 同一民族において、複数の変異が認められる。  
(中国人：現在まで4種)
- (4) 既知の複数の変異を利用し、PKUをスクリーニングしても、診断確率は低い。  
(S. Lyonnet : Am. J. Hum. Genet. 1990  
地中海沿岸諸国のPKU患児126名(252変異遺伝子)を、ヨーロッパに多いとされる6種の変異を用いスクリーニングしたところ、27%が同定されたにすぎない。)
- (5) 日本人PKUの変異解析は十分でない。昨年 Trefzらが Exon 8の欠失を報告している(国際先天代謝異常学会 1990)が、滋賀医大による日本人PKU 4例の解析では、Exon 8の欠失は認められていない(日本先天代謝異常学会 1990)。



## 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:日本人正常集団 10 例の RFLP 頻度は, Bgl (3.6kb;0.70, 1.7kb;0.30), EcoRV(30kb;0.35, 25kb;0.65), Hind (4.2kb;0.30, 4.0kb;0.70)であった。以上の成績から, われわれは日本人 PKU 家系の出生前診断に, 上記 3 種制限酵素の RFLP を用いる連鎖解析が現在最も実用的と結論した(出生前診断可能率 65%)。