

非ケトーシス型高グリシン血症の出生前診断： 酵素診断並びにDNA診断の比較

多田啓也¹ 呉 繁夫²

要約：非ケトーシス型高グリシン血症(NKH)は重篤な中枢神経障害を呈する遺伝疾患であり、有効な治療はない。したがって出生前診断の要望は大きい、これまで信頼し得る出生前診断法はなかった。我々は胎盤絨毛にグリシン開裂酵素(GCS)が存在することを見出し、妊娠早期に絨毛を採取しGCS活性を測定することにより本症を診断する方法を確立した。さらに点変異(S564I)が明らかな本症家系において絨毛を用いる簡便なDNA診断法が有用であることを示した。

見出し語：非ケトーシス型高グリシン血症，出生前診断，絨毛診断，DNA診断

はじめに

非ケトーシス型高グリシン血症(NKH)は常染色体劣性の遺伝形式を示す先天代謝異常症であり、体液(血液・髄液)中グリシンの著明な増量の特徴とする。特に北欧ではフェニルケトン尿症に匹敵する頻度の遺伝病として注目されている。本症は臨床症状により2型に分けられる。新生児型は本症の大部分を占め、新生児期に著明な中枢神経症状(意識障害、痙攣、筋緊張低下、無呼吸発作等)で発症し数週間以内に死亡するか、生存し得ても重度の中枢神経障害を呈する神経難病である¹⁻³⁾。遅発型は新生児期は無症状に経過し、その後乳幼児期ないしそれ以後に徐々に精神・運動

機能の発達障害が出現する。

本症には現在有効な治療法は知られていない。したがって胎児診断の要望は大きい、本症の欠損酵素であるグリシン開裂酵素(GCS)は正常の羊水培養細胞には活性を見出し得ないので、羊水診断はこれまで不可能であった。

I. 胎盤絨毛組織のGCS活性測定による出生前診断

1987年吾々は胎盤絨毛に生理的にGCS活性が発現していることを見出し、絨毛細胞のGCS活性の測定による本症の出生前診断の可能性を示唆した。その後NKHのハイリスク妊婦(前の子供がNKHであった母の次回妊娠)20例について出生前

東北大学医学部小児科学教室¹，病態代謝学教室²

診断を依頼され、妊娠8～16週に採取した胎盤絨毛細胞を用いてGCS活性の測定を行なった。結果は図1に示す如くで、5例(◆印)に於てGCS活性は殆んど認められず、胎児は患児であろうと診断した。その結果、両親の希望により妊娠13週～15週時に妊娠中絶が行われ、中絶胎児の肝のGCS活性の欠損が確認された。残り15例(◇)の絨毛のGCS活性は正常範囲にあり、妊娠を継続し全例健康児(血清グリシン値正常)を出産している。これらの成績は胎盤絨毛細胞のGCS活性を測定することにより本症の出生前診断が可能であることを示すものである。

II. 絨毛組織のDNA診断による出生前診断法

フィンランドに於てNKHの頻度は12,000人に1人と非常に高いことが知られている。同地方におけるNKH患者の遺伝子解析を行なった結果、P蛋白遺伝子エクソン内にセリンからイソロイシンへのアミノ酸変異(S564I)を伴う点変異が高頻度に見出された。血縁関係のない10名のNKH患者のalleleの70%に此の変異が認められた。

次にこの変異を検出する簡便な方法を確立した。1塩基置換の検出はPCR産物を制限酵素で消化する方法を用いた。本来この部位には制限酵素の認識部位が存在しないためPCRプライマーの塩基配列を1塩基変更し認識部位がPCR産物中に生ずるよう工夫を加えた。その結果、正常アレル由来のPCR産物はRsaIにより消化され、異常アレル由来の産物はSspIにより消化される。

両親共S564I変異のヘテロ接合体であり、第1子がNKH患者でS564I変異のホモ接合体であることが証明されている2家系(フィンランド)につ

いて妊娠12週時に採取された胎盤絨毛を用いて上記方法によりDNA変異検索を行なった。同時に両親及び前の子(NKH患者)の末梢血よりDNAを抽出し検索に供した。第1の家系では、絨毛細胞はS564I変異のホモ接合体であり胎児はNKHに罹患していると判定された。同時に測定した絨毛中のGCS活性も欠損しておりDNA検索の結果と一致した。第2の家系では胎児はS564Iのヘテロ患者と判定された。

このように家系の変異が明らかな場合にはDNA診断は簡便で信頼度が高いと考えられた。

文 献

- 1) Tada K, Hayasaka K: Nonketotic hyperglycinemia: clinical and biochemical aspects. *Eur J Pediatr* 146:221-227, 1987.
- 2) Tada K: Nonketotic hyperglycinemia: clinical and metabolic aspects. *Enzyme* 38:27-35, 1987.
- 3) 多田啓也: 遺伝性疾患「高グリシン血症」の病因解析と出生前診断への応用。日本臨床 46:1865-1877, 1988.
- 4) Hayasaka, K., Tada, K. et al.: Feasibility of prenatal diagnosis of nonketotic hyperglycinemia: existence of the glycine cleavage system in placenta. *J. Pediatr.*, 110:124-126, 1987.
- 5) Hayasaka, K., Tada, K. et al.: Prenatal diagnosis of nonketotic hyperglycinemia. *J. Ped.* 116:444-445, 1990.

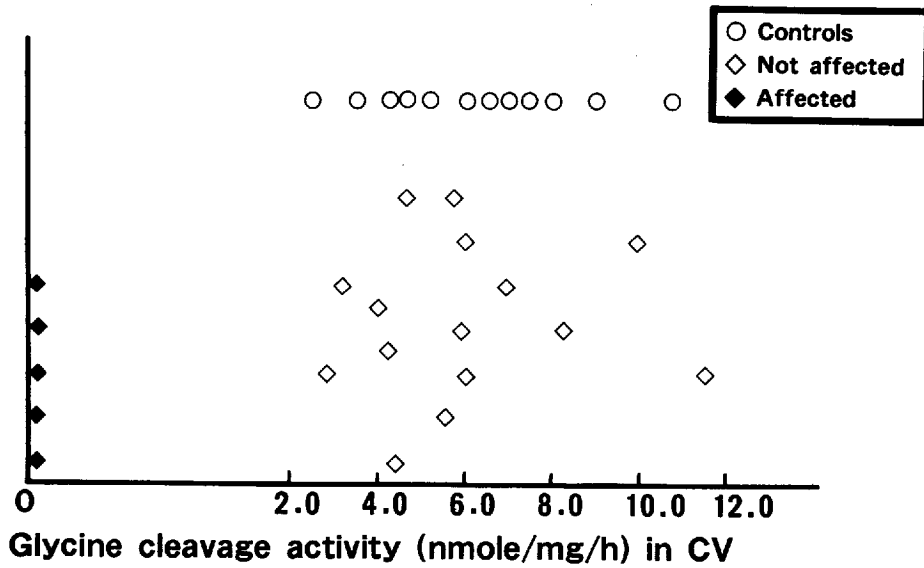


図1 胎盤絨毛のグリシン開裂酵素活性測定による非ケトーシス型高グリシン血症の胎児診断

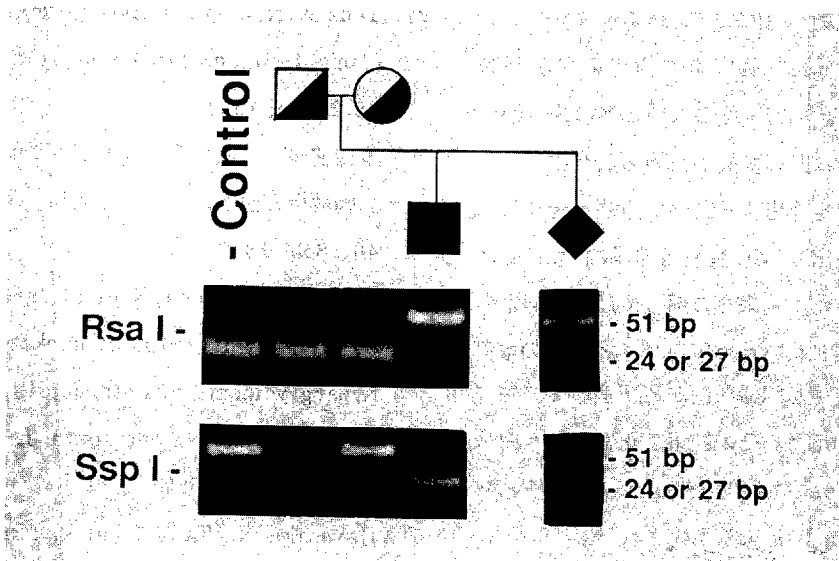


図2 胎盤絨毛のDNA分析による非ケトーシス型高グリシン血症の胎児診断



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:非ケトーシス型高グリシン血症(NKH)は重篤な中枢神経障害を呈する遺伝疾患であり、有効な治療法はない。したがって出生前診断の要望は大きいですが、これまで信頼し得る出生前診断法はなかった。我々は胎盤絨毛にグリシン開裂酵素(GCS)が存在することを見出し、妊娠早期に絨毛を採取し GCS 活性を測定することにより本症を診断する方法を確立した。さらに点変異(S564I)が明らかな本症家系において絨毛を用いる簡便な DNA 診断法が有用であることを示した。