

原 著

## 22q11.2 欠失症候群における欠失範囲の検索

東京女子医科大学 医学部 循環器小児科学 (指導: 中澤 誠教授)

\*慶應義塾大学 医学部 分子生物学教室

フルタニ ヨシユキ マツオカ ル ミ コ ミノシマ シンセイ キムラ ミ サ ナカザワ マコト  
古谷 喜幸・松岡瑠美子・蓑島 伸生\*・木村 美佐・中澤 誠

(受付 平成 13年 11月 15日)

## Deletion Breakpoint Analysis in 22q11.2 Deletion Syndrome

Yoshiyuki FURUTANI, Rumiko MATSUOKA, Shinsei MINOSHIMA\*,  
Misa KIMURA and Makoto NAKAZAWA

Department of Pediatric Cardiology, Tokyo Women's Medical University, School of Medicine

\*Department of Molecular Biology, Keio University, School of Medicine

Conotruncal anomaly face syndrome (CAFS), DiGeorge syndrome (DGS), and velo-cardio-facial syndrome have similar but varying phenotypic spectra, i.e., cardiac defects, abnormal facies, thymic hypoplasia, cleft palate and hypocalcemia, and share deletion of 22q11.2 as a common feature. The aim of this study was to investigate the difference in size of the deletion of the 22q11.2 region between CAFS and DGS. Fifty probands (30 CAFS probands and 20 DGS probands), with a type A1 (3 Mb) deletion were examined by fluorescent *in situ* hybridization (FISH) using 4 probes of the 22q11.2 region. In this study, we showed that CAFS and DGS which have the type A1 (3 Mb) deletion have the same deletion size and the chromosome breakpoints of CAFS and DGS occurred within two complex repeats, LCR22-2 and LCR22-4, that are 3 Mb apart and that the deletions arose from unequal meiotic recombination events. It is important to determine whether the chromosome breakpoints occur in clustered regions or at random sites of sequence homology, since elucidation of the mechanism in which the deletion generated is necessary.

## 緒 言

22q11.2 欠失症候群 (表) は, DiGeorge 症候群 (DGS), 円錐動脈幹異常顔貌症候群 (conotruncal anomaly face syndrome: CAFS), 軟口蓋心臓顔貌症候群 (velo-cardio-facial-syndrome: VCFS) を含み, 共通の染色体 22q11.2 の半接合体部分欠失を有する複合隣接遺伝子症候群であり, 新生児約 5,000 人に 1 人の割合で生まれる. 心奇形 (cardiac defects), 異常顔貌 (abnormal facies), 胸腺の低形成 (thymic hypoplasia), 口蓋裂 (cleft palate), 低カルシウム血症 (hypocalcemia) などの臨床ス

ペクトラムの頭文字をとって, Wilson ら<sup>1)</sup>により CATCH22 と呼称された. 本症候群は, 高尾ら<sup>2)</sup>が提唱した円錐動脈幹異常顔貌 [conotruncal anomaly face: CAF (眼間開離, 眼裂狭小, 小さい口, 小顎症, 鼻根部扁平, 鼻翼と鼻屋の接合点で上下に 2 分割しているように見える鼻, 扁平な頬)], 耳介下方付着と粘膜下に多く認められる鼻咽腔不全, 口蓋裂など軟口蓋奇形により生じる鼻声を共通に伴うが, CAF 以外の表現型のスペクトルは極めて広範囲であるため, 最近, 22q11.2 欠失症候群と呼称されている.

表 22q11.2 欠失症候群における先天性心血管疾患と表現型

22q11.2 欠失症候群	主な先天性心血管疾患	主な表現型	責任領域
CAFS/VCFS	Falot 四徴 心室中隔欠損 両大血管右室起始 総動脈管遺残血管輪 合併血管異常 右側大動脈弓 高位大動脈弓 主要大動脈肺動脈側副血行路 右側/左側鎖骨下動脈孤立症 右側/左側腕頭動脈分離 動脈管開存 右側/左側鎖骨下動脈起始異常 左上大静脈遺残	円錐動脈幹異常顔貌 胸腺低形成 副甲状腺低形成 易感染症 鼻咽腔不全口蓋裂(粘膜下が多い) 低カルシウム血症 知能発達障害 精神障害 鎖肛 鼠径ヘルニア 尿道下裂 脊髄異常 長い指趾 小人症, 血小板減少症	22q11.2
DGS	大動脈弓離断 Falot 四徴 心室中隔欠損 総動脈管遺残 合併血管異常 右側大動脈弓 高位大動脈弓 主要大動脈肺動脈側副血行路 右側/左側鎖骨下動脈孤立症 右側/左側腕頭動脈分離 動脈管開存 右側/左側鎖骨下動脈起始異常 左上大静脈遺残	円錐動脈幹異常顔貌 胸腺欠如 副甲状腺欠如 易感染症 鼻咽腔不全口蓋裂(粘膜下が多い) 低カルシウム血症 知能発達障害 精神障害 鎖肛 鼠径ヘルニア 尿道下裂 脊髄異常 長い指趾 小人症 血小板減少症	22q11.2

CAFS: conotruncal anomaly face syndrome 円錐動脈幹異常顔貌症候群, VCFS: velo-cardio-facial-syndrome 軟口蓋心臓顔貌症候群, DGS: DiGeorge syndrome DiGeorge 症候群.

DGS は、1965 年、内分泌・代謝・免疫医の Di-George<sup>3,4)</sup>により胸腺欠如、副甲状腺欠如、大動脈弓異常を伴った細胞免疫異常症例として報告された。DGS は、新生児、乳児期に CAFS より重篤な臨床症状を呈し、生後テタニー、チアノーゼ、胸腺陰影欠損で気付かれ、特異な顔貌があり、心血管異常は大動脈離断 (B 型) が最も多く、Falot 四徴、総動脈管遺残、大動脈弓起始異常などの合併奇形を伴う。

CAFS は、1976 年、高尾ら<sup>2)</sup>により、CAF、鼻声、心血管異常 (Falot 四徴、特に肺動脈閉鎖、右大動脈弓、鎖骨下動脈起始異常の合併、心室中隔欠損など) と胸腺の低形成、あるいは末梢リンパ球中の T 細胞の減少、副甲状腺の低形成による低カルシウム血症、軽度の知能発達障害、学習能力障害を伴う症候群として報告された。

また、1978 年、形成外科医である Shprintzen ら<sup>5)</sup>により記載された VCFS は、幼児期に鼻咽腔不全口蓋裂 (粘膜下が多い) による鼻腔吐乳、鼻

声を伴い、特異な顔貌 (円錐動脈幹異常顔貌と思われる) を示し、右大動脈弓、心室中隔欠損、Falot 四徴など、前 2 者の症候群よりも心血管異常は比較的軽い。また知能発達障害、学習能力障害があり、症例によっては精神異常の発症も目立つ。VCFS と CAFS は臨床症状が重なっており、両症候群ともほぼ全例に染色体 22q11.2 の部分欠失を認めることにより、発見者によって呼称の異なる同一症候群であると思われる<sup>6)</sup>。

1981 年、de la Chapelle ら<sup>7)</sup>により DGS の症例で染色体 22q11.2 の転座による部分欠失が証明された。その後、細胞遺伝学の進歩により、染色体分染法では検出されない微細欠失が FISH (fluorescence *in situ* hybridization) 法により検出できるようになった。この方法により、1992 年、Driscoll らと、Scambler らは、DGS<sup>8)</sup> と VCFS<sup>9,10)</sup> の患者に染色体 22q11.2 の部分欠失が認められることを明らかにした。さらに 1993 年、Burn ら<sup>11)</sup> と 1994 年、我々<sup>12)</sup> は、CAFS のほとんどの患者は、同様な

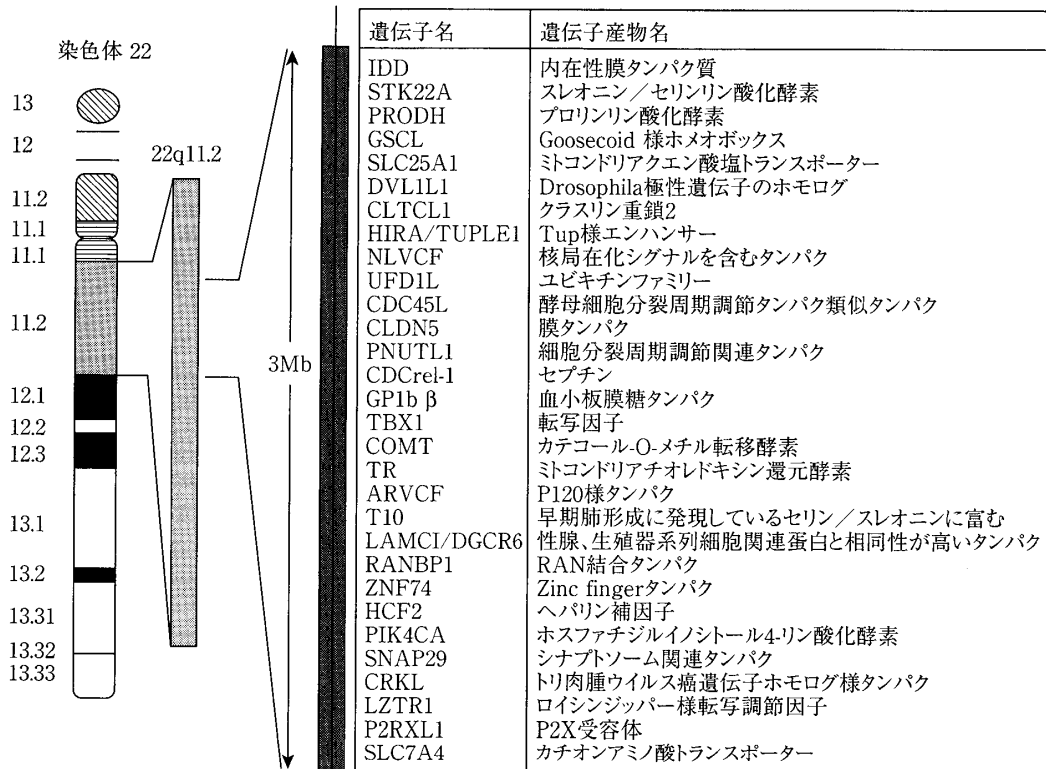


図1 22q11.2欠失症候群の欠失領域に存在する遺伝子  
22q11.2欠失症候群の約3Mbの欠失領域には、約30個の遺伝子が単離されている。

欠失を有することを報告した。

22q11.2欠失症候群の疾患遺伝子の解明は、これまでほとんど不明であった先天性心疾患の疾患遺伝子発見の大きな足がかりとなると考えられ、染色体22q11.2における欠失範囲の大きさが調べられ、臨床症状との相関が検討された<sup>6)</sup>。その結果、欠失を伴う症例の90%以上で約3Mbに及ぶ欠失が認められ、この欠失領域には、現在までに30個以上の遺伝子の存在が明らかになっている(図1)。このうち、本症候群の主症状を引き起こす候補遺伝子としては、*UFD1L* 遺伝子<sup>13)</sup>、*TBX1* 遺伝子<sup>14)~17)</sup>、*CRKL* 遺伝子<sup>18)</sup>の報告があるが、未だにその確定には至っていない。

また、DGSとCAFSの臨床症状の違いについては<sup>6)</sup>、①DGSでは、全例で胸腺欠損による易感染が認められるなどCAFSに比べ免疫低下が著しい。また心血管異常では、DGSで最も多く認められる大動脈離断(B型)がCAFSでは1例も認められないなど両症候群間において表現型の違いが認められる、②DGS、CAFSはともに性差がない

が、DGSでは、父方由来の染色体の欠失(64%)が多いのに対して、CAFSでは、母方由来の染色体の欠失(65%)が多く、欠失の由来に違いがある、③DGSでは、家族性は認められないのに対し、CAFSでは13%に家族性が認められる。DGSでは家族性が認められない理由として、本症候群の男性が家庭を持ちにくいという社会的要因に加え、DGSはCAFSに比べ生殖適応度(reproductive fitness)が低下している可能性が考えられる、等が明らかになった。

我々は、DGSはCAFSの極型であると捉え、DGSにおいて欠失を伴う症例の全例において認められ、またCAFSにおいても90%以上で認められる約3Mbに及ぶ欠失領域をもつ症例(タイプA1, 図2a参照)について、今まで同じ欠失範囲として捉えていた両者に欠失領域の大きさの違いがあるのではないかと考え、今回新たにKeio BACライブラリーをスクリーニングして得られた2つのBACクローンを含む計4つのプローブを用いてFISH法を行い、染色体22q11.2の欠失領域の

## a 円錐動脈幹異常顔貌症候群

タイプ	欠失範囲	プローブ									症例数	頻度	
		N72H9	sc 11.1a	N25	C443	sc4.1	sc 11.1b	N19-B3	N122-B5	N77-F7			
A	1 3Mb		■	■	■	■	■	■	■	■	■	148	93% (150/162)
	2 2.5Mb		■	■	■	■	■	■	■	■	■	2	
B	1 2.5Mb		■	■	■	■	■	■	■	■	■	4	3% (5/162)
	2 2Mb		■	■	■	■	■	■	■	■	■	1	
C	2Mb		■	■	■	■	■	■	■	■	■	7	4% (7/162)

## DiGeorge症候群

A	1 3Mb		■	■	■	■	■	■	■	■	■	17	100% (18/18)
	2 2.5Mb		■	■	■	■	■	■	■	■	■	1	

## b 円錐動脈幹異常顔貌症候群

タイプ	欠失領域	プローブ											症例数				
		N72H9	KB1926 E6	sc 11.1a	N25	C443	sc4.1	sc 11.1b	N19-B3	N122-B5	cHKAD 26	107D7		KB1802 C5	N77-F7		
A	3Mb			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	30

## DiGeorge症候群

A	3Mb			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	20
---	-----	--	--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

図2 染色体22q11.2欠失領域の大きさの検討

a) 欠失のタイプは、欠失範囲のテロメア側の広がり方でA, B, Cに分け、セントロメア側の広がり方で、さらに1, 2のタイプに区別している。180例における欠失領域の大きさ：■は欠失部分を示し、円錐動脈幹異常顔貌症候群 (CAFS), DiGeorge症候群 (DGS) 共にタイプA1の欠失範囲は、sc11.1aからN122-B5までである。

b) KB1926E6, KB1802C5, cHKAD26, 107D7プローブを用いた欠失領域の大きさ：CAFS, DGSは共に、cHKAD26, 107D7において欠失を認め、KB1926E6, KB1802C5に欠失は認めなかった。■は、今回新たに用いたプローブを示す。

大きさの検討を行ったので報告する。

## 対象および方法

## 1. 対象

対象は、CAFを呈し、先行研究により<sup>6)</sup>染色体22q11.2領域に約3Mbの部分欠失が認められ、欠失範囲が最もセントロメア側、テロメア側に伸びているタイプA1の患者のうち、インフォームドコンセントの得られた50例 (CAFS: 30例, DGS: 20例)を対象に行った (図2b)。今回、我々は、

CAFを伴い、胸腺欠損、副甲状腺の欠損ないし低形成、染色体22q11.2領域に半接合体部分欠失が認められる症例をDGSとして用いた。

## 2. FISH法による欠失領域の検討

## 1) プローブの作製

我々は、今までに染色体22q11.2の欠失領域について、9種類のプローブを使用しこの領域のFISH法を行ってきた (図3)。これら9種類のプローブは、それぞれ約20~150kbの大きさを持

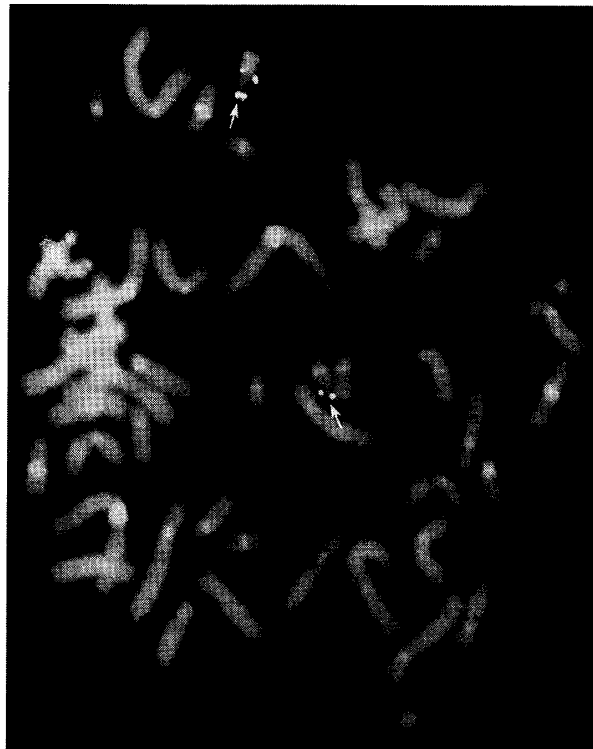
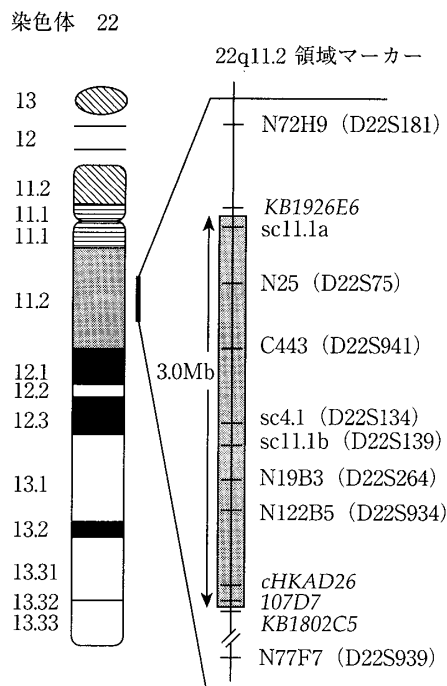


図3 22q11.2欠失症候群のFISH法に用いたプローブの位置とFISH法の実例  
13のプローブの欠失領域における位置を示した。イタリックは今回新たに用いたプローブを示す。右はFISH法の実例である。矢印はテロメアからセントロメアの方を示す。22番染色体テロメアプローブ(22q13)とN25プローブによる4つの蛍光シグナルを一方の22番染色体に認める。もう一方の染色体には、テロメアプローブの蛍光シグナルは認めるが、N25プローブの蛍光シグナルは認めない。

ち、互いに重複していない。今回FISH法に用いた新たな4種類のプローブのうち、KB1926E6, KB1802C5の2つのBACクローンは、Keio BAC LibraryよりPCRスクリーニング法を用いて得たものである。

Keio BAC Libraryとは、Asakawaら<sup>19)</sup>により構築されたヒトゲノムBAC Libraryであり、独自に改変したBACベクター(pBAC-Lac)を用いて平均挿入サイズ110kb, 10万クローンからなる第一世代、および平均160kb, 10万クローンからなる第二世代からなり、96穴プレート2,000枚に別個に保存している。これら20万クローンはヒトゲノムサイズの約7.5倍に相当し、ゲノムの約95%の領域をカバーしている(計算上は99%以上)。このKeio BAC Libraryから目的とするクローンを得る方法として、Asakawaらは、二段階からなるPCRスクリーニング法<sup>19)</sup>を確立し、20

万クローンからなるBACライブラリーから迅速に目的のクローンを同定することを可能にした。

まず、一次スクリーニングは10万個のBACクローンを9,600クローン(100プレート)ごとに10分割したスーパープールに対してPCRスクリーニングを行った。次に一次スクリーニングの結果、ポジティブシグナルの得られたスーパープールから目的のクローンを同定するため、Asakawaらが独自に開発した4次元PCRスクリーニング法を行った。PCRにはいずれもユニークな塩基配列を持つプライマーを用いた。10万クローンからのべ50回のPCRで目的のクローンを得た。

## 2) FISH法

分裂中期染色体標本スライドは、Yoshidaら<sup>20)</sup>の方法により、末梢血リンパ球またはEB virusを用い株化されたリンパ球より作製した。スライ

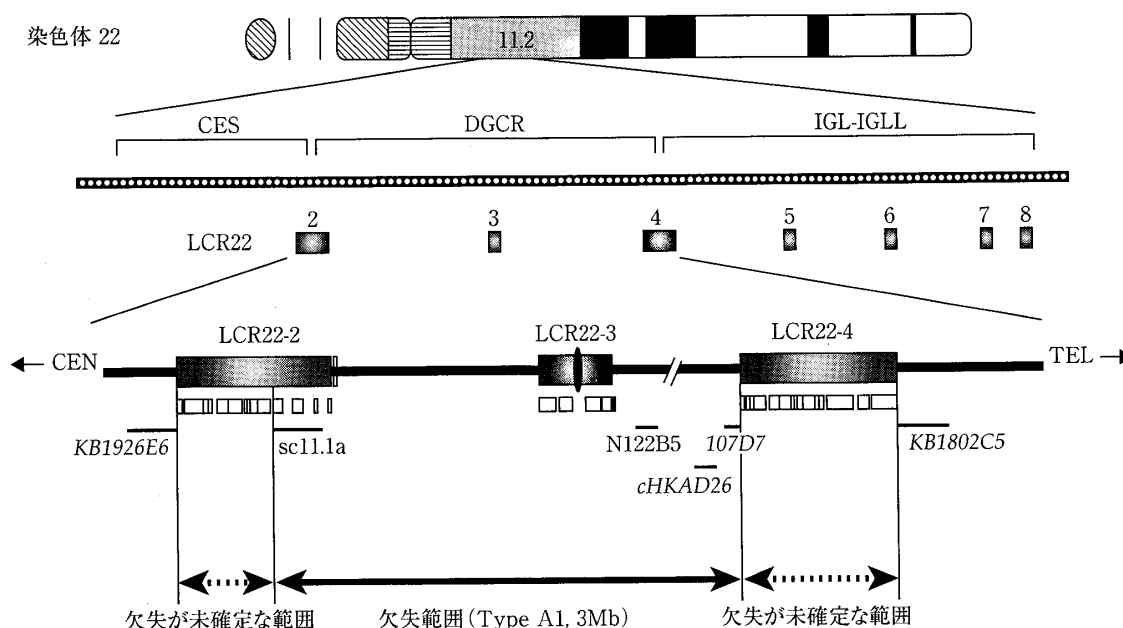


図4 22q11.2欠失症候群の欠失範囲

■はLCR22を示す。CESは、猫目症候群の責任領域、DGCRはDiGeorge症候群の責任領域、IGL-IGLLは免疫グロブリン軽鎖遺伝子座を示す。約3Mbの欠失範囲のセントロメア側、テロメア側の切断点は、それぞれLCR22-2とLCR22-4に存在することが判明した。イタリックは、今回新たに用いたプローブを示す。

ド上のDNAは70%ホルムアミド/2×SSCを用い68℃で2分間熱変性させ、氷冷した70, 90, 100%エタノール系列を用いて脱水し、風乾した。13種類のプローブN72H9 (D22S181), KB1926E6 (Keio BAC Library), sc11.1a<sup>21)</sup>, N25 (D22S75), C443 (D22S941)<sup>22)</sup>, sc4.1 (D22S134)<sup>21)</sup>, sc11.1b (D22S139)<sup>21)</sup>, N19B3 (D22S264), N122B5 (D22S934), cHKAD26 (財団法人ヒューマンサイエンス振興財団 (HSRRB)), 107D7 (Lawrence Livermore National Laboratory (LLNL)), KB1802C5 (Keio BAC Library), N77F7 (D22S939)を使用した。それぞれのプローブは、ニックトランスレーション法でビオチンまたはジゴキシゲニンで標識し、熱変性した染色体上に滴下し、37℃の湿潤箱内で16時間、ハイブリダイゼーションを行い、スライドを37℃の50%ホルムアミド/2×SSCで12分、室温で2×SSC, 1×SSC, 4×SSCでそれぞれ10分洗浄した。

シグナルの検出は、Hiraiら<sup>23)</sup>の方法を改変して行った。抗ビオチン蛍光抗体として抗ウサギIgGのFITCヒツジ抗体 (Enzo Diagnostics, NY,

USA)を用い、抗ジゴキシゲニン蛍光抗体として抗ジゴキシゲニン-ローダミンFabフラグメント (Roche Molecular Biochemicals, 東京)を用い、それぞれ4×SSC/1% BSA溶液中で37℃, 60分反応させた後、4×SSC, 4×SSC/0.05% Triton X-100, 4×SSCでそれぞれ8分、振盪しながら洗浄した。

カウンター染色として抗退色剤を含んだDAPIをグリセロール溶液に用い、蛍光シグナルの検出 (図3)には、Axioskop fluorescence 顕微鏡 (Carl Zeiss, Jena, Germany)を使用し、CCDカメラ (Photometrics, Tucson, AZ, USA), IPLab Spectrum TM (Signal Analytic Corporation, Vienna, VA, USA)のソフトを用いて画像処理を行った。FISH解析は各症例で少なくとも20の中期染色体を観察し判断した。

## 結 果

FISH法に用いた各プローブの染色体上の位置は図3に示す。

近年、「国際ヒトゲノムプロジェクト」の成果として、1999年12月、世界で初めてヒト22番染色

体の全塩基配列の決定がなされ<sup>24)</sup>, 22q11.2 欠失症候群の欠失領域についても, 塩基配列がほぼ完全に解読された. その結果, 22q11.1~q11.2 領域に, 50~500kb の 22 番染色体低頻度重複配列 (LCR22) と呼ばれるゲノム領域の重複が, 7カ所に見られることが明らかになった (図 4).

今回用いた KB1926E6 プローブは, LCR22-2 のセントロメア側に隣接し, KB1802C5 プローブは LCR22-4 のテロメア側に隣接している (図 4). 患者全例に, KB1926E6, KB1802C5 のどちらのプローブにおいても欠失は認められなかった (図 2 b). sc11.1a は欠失が認められていることより, 欠失領域の 3Mb のセントロメア側の切断点は, KB1926E6 プローブから sc11.1a までの約 200kb の領域 (LCR22-2) 内にあることが確認された. また欠失領域の 3Mb のテロメア側の切断点のより詳細な検索を行うため, 今まで欠失範囲が最もセントロメア側, テロメア側に伸びている A1 タイプを検出できる N122-B5 プローブよりもさらに約 400kb テロメア側に位置する 107D7 プローブを用いた. cHKAD26 プローブと 107D7 プローブは, LCR22-4 のセントロメア側に並んで隣接し, A1 タイプの欠失領域をもつ患者全例に欠失が認められた. KB1802C5 プローブの欠失は認められなかったことを考慮すると, 3Mb の欠失範囲のテロメア側の切断点は, LCR22-4 内に存在することが明らかになった (図 4).

今回用いた A1 タイプの欠失範囲をもつ患者 50 例 (CAFS: 30 例, DGS: 20 例) において, 欠失範囲は sc11.1a から 107D7 プローブまでの約 3 Mb であり, 今までわかっていた欠失範囲より更にテロメア側に約 400kb 広いことが明らかになった. また欠失領域の両端の切断点は, それぞれ LCR22-2, LCR22-4 の領域内に存在する (図 4) ことが明らかになったが, 約 3Mb の欠失範囲をもつ DGS, CAFS において, 今回用いたプローブでは欠失範囲の大きさの差は見られなかった.

### 考 察

今回, DGS と CAFS の約 3Mb の欠失範囲が最もセントロメア側, テロメア側に伸びている A1 タイプの欠失範囲は, 今までわかっていた欠失範

囲より更にテロメア側に約 400kb 広いことが明らかになった. 今後, さらに LCR22-2, -4 内のプローブを使用することにより欠失が未確定な範囲 (図 4) の切断点をつきとめ, また切断点の前後の塩基配列を明らかにすることにより, DGS と CAFS における欠失範囲の大きさの違いを含む遺伝子型の違いが明らかになると考えられる.

また, A1 タイプの欠失範囲をもつセントロメア側の切断点は, LCR22-2 内の KB1926E6 から sc11.1a までの約 200kb の領域に存在し, テロメア側の切断点は, LCR22-4 内の 107D7 から KB1802C5 までの約 400kb の領域に存在することが明らかになった. 欠失領域の両端の切断点が, 相互に高い相同性を持つ LCR22 内に存在することより, 欠失が生じる背景には, 染色体の組み換えに LCR22 が関与していると考えられる.

また最近のヒトゲノム研究の進展により, LCR22-2~8 は, 猫目症候群 (CES) 関連領域, 22q11.2 欠失症候群関連領域 (DGCR), 免疫グロブリン軽鎖遺伝子座 (IGL-IGLL) にまで及び, これらの 7カ所の領域には, 13 種類のゲノム重複単位が複雑に組み合わせられており, 同じ重複単位内での相同性は 97% もあり<sup>24)</sup>, 本症候群の責任領域内である 22q11.2 領域には LCR22-2, -3, -4 が集中していることが明らかになった<sup>25)</sup>.

LCR22-2 と LCR22-4 には同じ配列が反対方向を向いて近接している領域 (逆反復配列) が存在し, 特に LCR22-4 には約 50kb もの長さの逆反復配列が 2 組存在する. また LCR22-2 と LCR22-4 では 100kb 以上にわたって相同性の高い領域が存在する<sup>24)</sup>.

Baumer ら<sup>26)</sup> は, VCFS と DGS の 10 家系の grandparental haplotypes の分離分析の結果, 8 家系に染色体 22q11.2 における減数分裂時の組み換えが発生していることを明らかにした. 彼らは, 欠失領域のセントロメア側, テロメア側に近接するマーカー間の交差の発生頻度を, マーカー間における組み換え頻度の予想値と比較したところ, 染色体 22q11.2 に欠失を持つ患者において, 欠失領域の切断点における組み換えが高頻度 ( $P=2.99 \times 10^{-7}$ ) に行われていることを示した. この減数分

裂時の不均衡交差が高頻度に行われている領域が、まさに約 3Mb にわたる LCR22-2, -3, -4 であると考えられる。

欠失範囲の正確な位置すなわち切断点 (break-point) の決定は、欠失の発生する機序を調べるのに重要である。約 3Mb の A1 タイプの欠失領域の切断点が、LCR22-2, LCR22-4 内に存在することが明らかになったが、それぞれの切断点の正確な位置は明らかになっておらず、今後、アルカリ溶液等で間期核のクロマチン蛋白を変性させ、ほぐれた DNA をスライドグラス上に直線的に伸展させた DNA ファイバー標本を用いることにより、100 kb 以下のごく近接したクローンについて、多色 FISH 法を行うことで、それらのゲノム配列を視覚的に解析できる Fiber FISH 法を用いた詳細な検索が必要と考えられる。

### 結 論

円錐動脈幹異常顔貌 (CAF) を呈し、既に染色体 22q11.2 領域における欠失範囲が最もテロメア側に伸びていることが確認されている患者 50 例 (CAFS: 30 例, DGS: 20 例) を対象に KB1926 E6, KB1802C5, cHKAD26, 107D7 のプローブを用いた FISH 法による欠失領域の大きさの検討を行った。欠失範囲は sc11.1a から 107D7 プローブまでの約 3Mb であり、今までわかっていた欠失範囲より更にテロメア側に約 400kb 広いことが明らかになった。欠失領域の 3Mb のセントロメア側の切断点は、LCR22-2 内の KB1926E6 から sc11.1a までの約 200kb の領域に存在し、またテロメア側の切断点は、LCR22-4 内の 107D7 から KB1802C5 までの約 400kb の領域に存在することが明らかになったが、約 3Mb の欠失範囲をもつ DGS と CAFS において、今回用いたプローブでは欠失範囲の大きさの差は見られなかった。

今後、Fiber FISH 法を用い、さらなる詳細な切断点の確定をすることが、DGS と CAFS の異なった表現型と欠失領域の大きさとの関係や欠失の機序解明につながると思われる。

本稿を終えるにあたり、ご援助をいただいた東京女子医科大学日本心臓血圧研究所、今村伸一郎博士に深

謝致します。また御指導を賜りました慶應義塾大学分子生物学教室、清水信義教授に心より感謝致します。

なお本研究の一部は、文部科学省平成 9~13 年度学術フロンティア推進事業「分子遺伝学に基づいた先天性心疾患の成因解明・診断・予防・研究プロジェクト」、および(財)日本心臓血圧研究振興会平成 13 年度公募研究「22q11.2 欠失症候群の表現型と遺伝子型および欠失機序の解明」によって行われた。

### 文 献

- 1) **Wilson DI, Burn J, Scambler P et al:** DiGeorge syndrome: part of CATCH 22. *J Med Genet* **30**: 852-856, 1993
- 2) **木内昌子, 森 克彦, 安藤正彦ほか:** 円錐動脈幹異常児の顔貌. *小児科* **17**: 83-84, 1976
- 3) **DiGeorge AM:** Discussion on a new concept of the cellular base of immunity. *J Pediatr (Abst)* **67**: 907, 1965
- 4) **DiGeorge AM:** Congenital absence of the thymus and its immunologic consequence: concurrence with congenital hypoparathyroidism. *In Immunologic Deficiency Disease (Good RA ed)* pp 116-121, National Foundation, New York (1968)
- 5) **Shprintzen RJ, Goldberg RB, Lewin ML et al:** A new syndrome involving cleft palate, cardiac anomalies, typical facies and learning disabilities: velo-cardio-facial syndrome. *Cleft Palate J* **15**: 56-62, 1978
- 6) **Matsuoka R, Kimura M, Scambler PJ et al:** Molecular and clinical study of 183 patients with conotruncal anomaly face syndrome. *Hum Genet* **103**: 70-80, 1998
- 7) **de la Chapelle A, Herva R, Koivisto M et al:** A deletion in chromosome 22 can cause DiGeorge syndrome. *Hum Genet* **57**: 253-256, 1981
- 8) **Driscoll DA, Budarf ML, Emanuel BS:** A genetic etiology for DiGeorge syndrome: consistent deletions and microdeletions of 22q11. *Am J Hum Genet* **50**: 924-933, 1992
- 9) **Driscoll DA, Spinner NB, Budarf ML et al:** Deletions and microdeletions of 22q11.2 in velo-cardio-facial syndrome. *Am J Med Genet* **44**: 261-268, 1992
- 10) **Scambler PJ, Kelly D, Lindsay E et al:** Velo-cardio-facial syndrome associated with chromosome 22 deletions encompassing the DiGeorge locus. *Lancet* **339**: 1138-1139, 1992
- 11) **Burn J, Takao A, Wilson D et al:** Conotruncal anomaly face syndrome is associated with a deletion within chromosome 22q11. *J Med Genet* **30**:



- 822–824, 1993
- 12) **Matsuoka R, Takao A, Kimura M et al:** Confirmation that the conotruncal anomaly face syndrome is associated with a deletion within chromosome 22q11. *Am J Med Genet* **53**: 285–289, 1994
  - 13) **Yamagishi H, Grag V, Matsuoka R et al:** A molecular pathway revealing a genetic basis for human cardiac and craniofacial defects. *Science* **283**: 1158–1161, 1999
  - 14) **Lindsay EA, Vitelli F, Su H et al:** TBX1 haploinsufficiency in the DiGeorge syndrome region causes aortic arch defects in mice. *Nature* **410**: 97–101, 2001
  - 15) **Merscher S, Funke B, Epstein J et al:** TBX1 is responsible for cardiovascular defects in velo-cardio-facial/DiGeorge syndrome. *Cell* **104**: 619–629, 2001
  - 16) **Jerome LA, Papaioannou VE:** DiGeorge syndrome phenotype in mice mutant for the T-box gene, Tbx1. *Nat Genet* **27**: 286–291, 2001
  - 17) **Schinke M, Izumo S:** Deconstructing DiGeorge syndrome. *Nature* **27**: 238–240, 2001
  - 18) **Guris DL, Fantes J, Tara D et al:** Mice lacking the homologue of the human 22q11.2 gene CRKL phenocopy neurocristopathies of DiGeorge syndrome. *Nat Genet* **27**: 293–298, 2001
  - 19) **Asakawa S, Abe I, Kudoh Y et al:** Human BAC library: construction and rapid screening. *Gene* **191**: 69–79, 1997
  - 20) **Yoshida MC, Satoh H, Sasaki M et al:** Regional location of a novel yes-related proto-oncogene, syn, on human chromosome 6 at band q21. *Jpn J Cancer Res* **77**: 1059–1061, 1986
  - 21) **Halford S, Lindsay E, Nayudu M et al:** Low-copy-number repeat sequences flank the DiGeorge/velo-cardio-facial syndrome loci at 22q11. *Hum Mol Genet* **2**: 191–196, 1993
  - 22) **Morrow B, Goldberg R, Carlson C et al:** Molecular definition 22q11 deletions in velo-cardio-facial syndrome. *Am J Hum Genet* **56**: 1391–1403, 1995
  - 23) **Hirai M, Suto Y, Kanoh M:** A method for simultaneous detection of fluorescent G-bands and *in situ* hybridization signals. *Cytogenet Cell Genet* **66**: 149–151, 1994
  - 24) **Dunham I, Shimizu N, Roe BA et al:** The DNA sequence of human chromosome 22. *Nature* **402**: 489–495, 1999
  - 25) **Edelmann L, Pandita RK, Morrow BE:** Low-copy repeats mediate the common 3-Mb deletion in patients with velo-cardio-facial syndrome. *Am J Hum Genet* **64**: 1076–1086, 1999
  - 26) **Baumer A, Dutly F, Balmer D et al:** High level of unequal meiotic crossovers at the origin of the 22q11.2 and 7q11.23 deletions. *Hum Mol Genet* **7**: 887–894, 1998