

(78)

氏名(生年月日)	ヤマ ウチ 山 内 あ け み
本 籍	
学 位 の 種 類	博士 (医学)
学位授与の番号	乙第1424号
学位授与の日付	平成6年1月21日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当 (博士の学位論文提出者)
学位論文題目	Duchenne型 (DMD) および Becker型 (BMD) 筋ジストロフィー家系の保 因者診断に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 福山 幸夫 (副査) 教授 丸山 勝一, 二瓶 宏

論 文 内 容 の 要 旨

目的

Duchenne型, Becker型筋ジストロフィー (DMD/BMD)の保因者診断は, 臨床的, 社会的に極めて重要である。従来は家系分析, 血清CK値による保因者診断が行われてきたが, 確度は低かった。本症の遺伝子の解明により, 分子遺伝学的手法が保因者診断に応用され始めた。cDNAプローブを用いたSouthern blot法によるDMD遺伝子変異の検索を行い, かつ家系分析, 血清CK値測定を組み合わせ, わが国における本症保因者の包括的診断の限界を追及した。

対象と方法

DMD 26家系とBMD 5家系, 計31家系の母親について, 家系分析, 血清CK値測定, cDNAプローブを用いたSouthern blot法によるDMD遺伝子変異の検出を施行した。Southern blot法の結果は, 母親が発端者と同じjunction fragmentを示す場合, 及びdensitometer scanningで母親の遺伝子にも部分欠失を証明した場合に保因者と判定した。発端者31例中19例(67.8%)でDMD遺伝子の部分欠失を認めた。1家系ではnested PCR法及びpulse field gel electrophoresis (PFGE)法による分析も合わせて行い, 保因者診断の結果を確認した。

結果

家系分析のみでは, 31例中5例(16.1%), 家系分析に血清CK値測定による判定を加えると14例(45.2%), さらにcDNAプローブを用いたSouthern blot法を加えると24例(77.4%)において保因者を同

定し得た。DNA分析のみによる保因者診断は発端者に欠失を同定できれば可能であり, その診断率は31例中19例(61.3%)であった。特に家系上母親はpossible carrier, 血清CK値正常であり, 従来の方法では保因者と確定できない5家系において, その発端者と母親とに同一のDMD遺伝子の部分欠失を証明し, これらの母親を保因者と判定し得た。また, 他の5家系では母親に遺伝子欠失を認めず, 従って発端者のDMD遺伝子の部分欠失は新生突然変異であり, 母親は非保因者と判定した。一方, 7家系(22.6%)では, 母親が発端者か非保因者かの判定は不能であった。Southern blot法により, 母親と姉が発端者, 妹が非保因者であることを証明した1家系の家族6名全員にnested PCR法を施行し, 保因者診断の結果と同様の結果を得た。

考察と結論

従来, 臨床遺伝学に行われてきた保因者診断法と, Southern blot法を用いたDNA分析による保因者診断法を合わせて検討することにより, 保因者診断は77.4%の例で可能であった。母親に遺伝子欠失を認めず, 発端者における新生突然変異と考えられた5例ではgermline mosaicismによった可能性も考えられる。家系分析, 血清CK値, cDNAプローブを用いたSouthern blot法の三者によっても保因者診断不能な7/31家系(22.6%)では, RFLPの検索が役立つと考えられる。また, 1家系でnested PCR法によるmRNAの解析およびPFGE法による高分子DNAの

検索を行い、cDNA-プローブを用いた Southern blot 性を確認した。
法の結果と同様の結果であったことから、本法の有用

論文審査の要旨

Duchenne 型または Becker 型筋ジストロフィーにおけるジストロフィン遺伝子の発現異常が解明されて以来、本症の保因者診断の確度は飛躍的に向上したが、実際には、発端者の遺伝子異常検出率が低い(約60%)こと、分子遺伝学的解析に要する所用時間や技術的困難性など、種々の制約がある。

本研究では、DMD/BMD 31家系の母親について、cDNA プローブを用いた Southern blot 法によって DMD 遺伝子変異の検出を行い、61%の例でその部分欠失を認めた。これに家系分析、血清クレアチンキナーゼ活性測定の方法を組み合わせ、保因者診断率を77.4%に向上せしめた。これは本邦における本症保因者診断の極限を追求したものであり、学術上価値ある研究である。

主論文公表誌

Duchenne 型 (DMD) および Becker 型 (BMD) 筋ジストロフィー家系の保因者診断に関する研究
東京女子医科大学雑誌 第63巻 第10号
1104-1121頁 (平成5年10月25日発行)
山内あけみ

副論文公表誌

- 1) 腸重積症により発見された Burkitt lymphoma の1例と日本の Burkitt lymphoma 58小児報告例に関する考察. 小児診療 52 (2) : 276-280 (1989) 田中(山内)あけみ, 芦田悦子, 猪子香代, 大澤真木子, 田口信行, 馬淵原吾, 織畑秀夫, 藤盛孝博, 平山 彰
- 2) “-D-”による母子間血液型不適合溶血性疾患の1例. 周産期医 17 (11) : 1771-1774 (1987) 田中(山内)あけみ, 熊谷忠志, 松岡高史, 森田優治, 内川 誠
- 3) 両側下肢肥大を伴った多動性精神遅滞児に見られたミオキミー多汗症候群の1例. 東女医大誌 62 (11) : 1422-1430 (1992) 山内あけみ, 林 北見, 斎藤加代子, 泉 達郎, 大澤真木子, 宍倉啓子, 鈴木暘子, 福山幸夫
- 4) Dystrophin の cDNA プローブを用いた Duchenne 型進行性筋ジストロフィー症家系の遺

伝子診断. 脳と発達 21 : 361-368 (1989) 斎藤加代子, 田中(山内)あけみ, 原田隆代, 池谷紀代子, 福山幸夫, 荒畑喜一, 杉田秀夫, 大澤真木子, 宍倉啓子, 鈴木暘子

- 5) ジストロフィンと筋ジストロフィー. 小児内科 23 (11) : 1791-1798 (1991) 斎藤加代子, 池谷紀代子, 山内あけみ, 福山幸夫
- 6) Duchenne 型筋ジストロフィーの polymerase chain reaction 法を用いた出生前診断. 東女医大誌 62 (11) : 1137-1144 (1992) 斎藤加代子, 原田隆代, 山内あけみ, 池谷紀代子, 森田玲子, 佐久間泉, 福山幸夫
- 7) Becker 型筋ジストロフィー3例の分子遺伝学的, 免疫細胞化学的検討. 東女医大誌 62 (11) : 1145-1154 (1992) 池谷紀代子, 斎藤加代子, 山内あけみ, 小峰 聡, 近藤恵里, 池中晴美, 大澤真木子, 三島真弓, 原田隆代, 高橋里恵子, 福山幸夫
- 8) 小児神経筋疾患におけるジストロフィン遺伝子の臨床的有用性. 脳と発達 25 : 328-334 (1993) 池谷紀代子, 斎藤加代子, 山内あけみ, 近藤恵里, 小峰 聡, 池中晴美, 三島真弓, 高橋里恵子, 原田隆代, 福山幸夫