

## 新潟ゲノム医学研究会

日時 平成13年6月30日  
13:30~17:00  
場所 新潟大学医学部附属病院  
MINCS 新棟棟3階

## 一般演題

## 1) 口唇・口蓋裂における19q13.2領域のマイクロサテライト多型を用いた連鎖解析について

藤田 一・永田 昌毅  
小野 和宏・高木 律男

新潟大学大学院  
歯学総合研究科  
口腔生命科学専攻  
口腔健康科学講座  
顎顔面口腔外科学分野

【緒言】日本人の唇裂・唇顎口蓋裂(CL/P)および口蓋裂(CP)多発家系を対象に、19番染色体上のBCL3遺伝子および近傍の遺伝子座について連鎖解析を行い、本疾患との関連性について検討した。【対象と方法】新潟大学歯学部附属病院口腔外科顎顔面外科診療室を受診したCL/PおよびCP患者の家系調査を詳細に行い、少なくとも親子で本疾患の発症を認めたCL/P群9家系60名(患者20名,非患者40名),CP群2家系12名(患者5名,非患者7名)を対象とした。なお、合併奇形を有する症例は除外した。本研究の施行には、新潟大学歯学部倫理委員会の審査と承認を受け、対象家系には研究の主旨を十分に説明して得た上で末梢血採血を行った。ゲノムDNAを抽出後、19q13.2領域に存在するD19S178, BCL3, 007/008, AC1/AC2の4つのマイクロサテライトマーカーを用いてPCR増幅し、ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行って銀染色法にて各アレルを検出し、遺伝子型を判定した。連鎖解析に輸入が必要な各遺伝子座の多型情報については、健常日本人50名について同様に分析し、アレル数およびアレル頻度、ヘテロ接合度を求めた。次いで、各家系の情報、遺伝子型を入力し、常染色体優性遺伝モデルとしてLINKAGE packageのMLINKおよびFASTLINKにて二点連鎖解析を行い、各組換え率におけるLODスコアを求めた。【結果と考察】CL/P群において、affected-onlyモデルの場合では、全てのマーカー部位において原因遺伝子の存在が否定された。一方、浸透率0.8, 0.6, 0.3の場合では、D19S178, 007/008, AC1/AC2の両側約1cM以内に原因遺伝子の存在が否定されたが、

BCL3では、浸透率0.999, 組換え率0で最大LODスコア0.206を示し、連鎖否定とも連鎖ありとも判定できず、原因遺伝子の存在は不確定であった。CP群では、affected-onlyモデル、浸透率0.8, 0.6, 0.3のいずれにおいても、全てのマーカー部位において両側約1~2cM以内に原因遺伝子の存在が否定された。

## 2) 肝細胞癌発癌予知因子としてのゲノム不安定性の定量的評価

川合 弘一・須田 剛士(新潟大学)  
青柳 豊(第三内科)

【目的】ウイルス性慢性肝炎における肝細胞癌の発癌は、肝での持続的な慢性炎症による遺伝子異常の蓄積が原因であると推察されているが、現在のところ発癌の危険性を示す良い指標はない。そこで我々は、マイクロサテライト領域におけるヘテロ接合性の喪失(LOH)と複製エラー(RER)の出現頻度の測定によるゲノム不安定性の定量的評価が発癌の予知因子として有用であるか、また対照として従来の報告にある慢性炎症を伴った非癌肝組織ではなく末梢血リンパ球(PBL)を用いることの有用性、について検討した。

【対象と方法】肝細胞癌患者15例の癌部(HCC)と周囲非癌部(SL), および非担癌ウイルス性慢性肝炎患者13例の肝組織(NC)を対象に、各患者から得たPBLを対照として、18種のマイクロサテライトマーカー(D1S204, D2S123, D3S1768, D4S1625, D6S1009, D7S1793, D8S1106, D9S266, D10S1208, D11S1392, D12S375, D14S53, D15S165, D16S748, D19S601, D21S1437, D22S683, DXS1217)を用いPCRで増幅した後、LOHとRERの頻度を算出した。肝細胞癌症例の病原肝炎ウイルスはB型6例, C型9例, 背景肝組織像は慢性肝炎7例, 肝硬変8例で、NCはB型4例, C型9例, 慢性肝炎12例, 肝硬変1例であった。またSL及びNCにおいて、慢性肝炎の組織学的進展度の指標であるHistological Activity Index(HAI) scoreとLOH, RERの頻度との相関について検討した。

【結果】1) HCC: SL: NCでのLOHの総計は、32/203: 15/203: 4/173(LOH/informative markers), 各症例のLOHの頻度は、15.5 ± 11.6%: 7.6 ± 9.1%: 2.4 ± 3.9%(平均±標準偏差)で、HCCで有意に高頻度であった(P=0.005, P=0.0003)。2) HCCでのRERの頻度は6.7 ± 8.5%で、NCの1.3 ± 2.4

%に比べ有意に高かったが (P=0.03), LOH に比べ頻度は低かった. 3) SL での LOH と RER の頻度は NC より高い傾向にあった. 4) SL の LOH, RER は全て同一症例の HCC でも認められた. 5) B 型肝細胞癌の LOH の頻度は, C 型に比べ有意に高かった (P=0.03). 6) SL 及び NC において, HAI score と LOH, RER の間に有意な相関は認められなかった. 7) 対照を PBL の代わりに SL とした場合, HCC の LOH と RER の頻度は有意に減少した (P=0.02, P=0.03).

【考案】 1) - 4) の結果より, 肝細胞癌の発癌過程において, LOH と RER の頻度は慢性肝炎の進行に伴い増加していたが, RER の頻度は低く発癌への関与は少ないと考えられた. 特に B 型肝細胞癌の LOH の頻度は高く, C 型と発癌メカニズムが異なることを示唆する結果と推察された. 慢性肝炎の組織学的進展度は発癌の危険性を示す一つの指標であるが, LOH の頻度との間に相関は認められず, LOH の頻度は独立した発癌予知因子であると考えられた. PBL を対照に用いることにより, 癌部のみならず非癌部でも LOH, RER が生じており, また癌部でこれまで報告のない領域にも LOH を高頻度に認めた. さらに 7) の結果から明らかのように, 非癌部を対照として用いた場合には癌部の LOH と RER を過小評価してしまうため, PBL を対照として用い, より正確に LOH, RER を判定する必要がある.

【結論】 肝細胞癌発癌過程においては特に LOH タイプのゲノム不安定化が生じており, LOH の出現頻度が発癌の危険性を示す新たな指標となる可能性が示唆された.

3) 先天性聴覚障害モデルマウス (waltzer mouse niigata) のポジショナルクローニング

若林 雄一・木南 凌	(新潟大学 第1生化)
和田 匡史・八木 美歌	(同)
高橋 姿	(耳鼻咽喉科)
牛木 辰男	(同 第3解剖)

新しい聴覚障害モデル (waltzer mouse niigata) の positional cloning を行ってきた経緯を述べる. 亜種間戻し交配個体1648頭を作製し, 連鎖解析, 物理地図の作成を行うことにより, 非組換え領域を約200Kb に絞り込んだ. この領域の BAC クローンのランダム

塩基配列決定によりカドヘリン様遺伝子 (最終的には Cdh23 遺伝子) を含む DNA 断片が認められ, この遺伝子が1つの有力な候補と考えられた. 一方, 平行して行われたアレレルテストで, 他の聴覚障害モデルマウス (v-2J) と同じ原因遺伝子をもつ可能性が示唆された. 今年の1月になり, その v-2J モデルの原因遺伝子として Cdh 23 が同定, 報告された. 我々のモデルでもやはり Cdh 23 の cDNA, genomic DNA で変異を確認され, それを報告した. Cdh23 による有毛細胞の不動毛形成不全から聴覚障害が生じると考えられた. ちなみに, この遺伝子はヒト Usher1 D 症候群で変異が見られる.

4) 眼球運動失行と低アルブミン血症を伴う早発型失調症 (EAOH) の疾患遺伝子の同定

伊達 英俊・小野寺 理	(新潟大学脳研究所 神経内科)
五十嵐修一・河内 泉	
田中 一・小池 亮子	(国立精神・神経センター 国府台病院神経内科)
辻 省次	
湯浅 龍彦	(国立療養所 熊本南病院)
植川 和利	(国立療養所 厚俣病院)
福原 信義	(国立療養所厚俣病院 神経内科)
弘井 正	(細木病院)
高橋 竜哉・長友 秀樹	(神奈川総合リハビリテー ションセンター)
岩淵 潔	
関島 良樹	(信州大学 第三内科)
斎藤加代子	(東京女子医大 小児)
滝山 嘉久	(自治医科大学 神経内科)
西澤 正豊	(国際医療福祉大学)
粟屋 豊	(聖母病院)
酒井 徹雄	(国立療養所筑後病院)
菅野 純夫	(東京大学医科学研究所 ゲノム構造解析分野)

我々は低アルブミン血症を伴う早発型脊髄小脳変性 (以下 EOAHA) を, 低アルブミン血症とフリードライヒ失調症 (以下 FRDA) 類似の神経症状を示す, 常染色体劣性遺伝形式をとる単一の疾患と考え報告してきた. その臨床像は失調, 眼振, 筋萎縮・筋力低下, 末梢神経障害, 深部腱反射低下・消失, 足変形を呈し, FRDA に類似する. EOAHA に特徴的な点として, 著明な低アルブミン血症 (平均 2.4 g/dl) を呈すること, 画像所見上著明な小脳萎縮を認める点が挙げられる. その遺伝子座については今まで明らかにされてはいなかった. 本年 Koenig らにより劣性遺伝形式をとる失調症 ataxia-oculomotor apraxia (AOA) の 9p13 への有意な連