

厚生省厚生科学研究費
ヒトゲノム・遺伝子治療研究事業

平成10年度研究報告書

ヒトゲノム解析、遺伝子診断・治療研究における
倫理的・法的・社会的側面に関する研究

(H10-ゲノム-002)

1999年 3月

主任研究者 池田 修一
(信州大学医学部第三内科)
分担研究者 吉田 邦広
久保田健夫

総括研究報告書

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・遺伝子治療研究事業）

総括研究報告書

ヒトゲノム解析、遺伝子診断・治療研究における 倫理的・法的・社会的側面に関する研究

主任研究者 池田修一（信州大学医学部教授）

遺伝性神経筋疾患に対する発症前遺伝子診断の社会的影響を知ることが目的として、本学附属病院遺伝子診療部臨床遺伝外来を受診した11名の相談者を対象にその遺伝的背景、発症前遺伝子診断を希望する理由、遺伝情報をえた経緯などを検討した。遺伝的背景は両親または同胞が疾患に罹患しており、重篤な遺伝病を身近で認識していた。発症前遺伝子診断を希望する理由は自分の将来に対する漫然とした不安感のためであり、病気に対する知識、遺伝情報は家系内の発病者または家族ではなくマスコミ報道を通じていることが多かった。遺伝病に対する正確かつ広範な情報公開が必要であり、また遺伝病に対する遺伝相談とそれに関連した発症前遺伝子診断は社会的要請事項であるとの認識を得た。

〔研究組織〕

- 池田修一（信州大学医学部教授）
- 吉田邦広（信州大学医学部講師）
- 久保田健夫（信州大学医学部助手）

またこの数年間、新聞、テレビを中心とする種々な報道機関が遺伝子診断に関連したテーマを頻回に扱うようになった。こうした社会環境の中で遺伝性神経筋疾患の発症前遺伝子診断を希望して来院する人が年々増加しており、我々はこの要望に答えざるを得ない状況にある。しかし遺伝子解析技術の飛躍的な進歩に比して、発症前遺伝子診断を代表とする個人の遺伝情報を適切に臨床応用するための倫理的ならびに社会的諸問題の検討は未だ行われていない。

A. 研究目的

近年分子生物学的手法の著しい進歩により多くの遺伝性神経筋疾患の原因遺伝子が次々と同定され、また同時にこれらの疾患の確定診断に際しては遺伝子診断が日常診療の場において多用されている。その結果、医師がこれらの疾患の患者ならびにその家系内要員に対して病状を説明する時には必ず遺伝子診断の意義を概説するようになった。

本研究では申請者らが既に数年前から実施している家族性アミロイドポリニューロパチー(FAP)を中心とする、遺伝性神経筋疾患に対する発症前遺伝子診断ならびに遺伝

相談の社会的影響を長期的経過観察から明らかにすることを目的とする。この中でも特に、I) 発症前遺伝子診断を希望するようになった動機ならびにその情報起源、II) 得られた遺伝情報を相談者個人が疾病の早期発見を含めて将来的にどのように利用しようとするのか、III) 病的遺伝子を有することが判明したことがその後相談者の家庭生活や結婚、職業選択にどのような影響を与えるかの3点を重点的に明らかにしたい。最終的には遺伝性神経筋疾患の発症前遺伝子診断ならびに遺伝相談を実施する体系を確立したい。

本年度は FAP と遺伝性筋疾患を主な対象疾患として上記の検討を行った。

B. 研究方法

信州大学医学部附属病院では平成 8 年 5 月より内部処置として遺伝子診療部を設立し、外来部門として臨床遺伝外来を開設して院内外の遺伝相談を一元化して対応している。対象者は平成 10 年度に自らの意思で FAP、遺伝性筋疾患の発症前遺伝子診断を希望して来院したクライアントである。また精神薄弱を主訴に紹介され、典型的な臨床像より Lowe 症候群と診断された 2 名ではその原因遺伝子の同定を行い、その結果を家系内メンバーの遺伝相談に応用可能かどうかを検討した。

i) FAP と遺伝性筋疾患家系のメンバーに対する発症前遺伝子診断

面接により発病者を含む家族構成、本遺伝子診断を希望する理由、本遺伝子診断が実施可能であることを知った経緯を聞く。その後両疾患について書面で詳細なインフォーム

ドコンセントを行い、また同時に DNA 検査の一般的な方法と意義についても説明して 1 回目の面接を終了した。これらの疾患に対する遺伝相談ならびに発症前遺伝子の実施の妥当性については、遺伝子診療部の定期的な全体ミーティングで検討した。この際、個人への倫理的配慮が十分保たれているかどうかを重視した。第 2 回目の面接では 1 回目の時の疑問点について回答し、DNA 保存の承諾書を得て採血を行った。DNA 診断法は FAP の原因遺伝子として最も頻度の高い Met30TTR (N 末端から 30 番目の valine が methionine に置換していることを示す) 遺伝子を PCR-RFLP で検索し、それ以外の異常は TTR 遺伝子の全 exon を direct DNA sequence することで対応した。また TTR 遺伝子の異常に対応して血清中に異常 TTR が存在するかどうかを MALDI/TOF mass spectrometry で検索した。遺伝性筋疾患の中で Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD)/Becker 型筋ジストロフィー (BMD) 疑い例では dystrophin 遺伝子の欠損の有無を Southern blot 法ならびに PCR 法で検索した。また筋緊張性ジストロフィー疑い例では myotonic kinase 遺伝子の CTG repeat 数を検索した。DNA 診断法の結果は第 3 回目の面接時に本人に直接口答で伝えた。

ii) Lowe 症候群患者の原因遺伝子の解析

Lowe 症候群と診断された患者は異なる家系に属する 1 歳と 2 歳の男児で、いずれも白内障、緑内障、精神運動発達遅滞、蛋白尿・アミノ酸尿を認め、その母親にスリットランプ検査で軽度の白内障を認めた。遺伝子解析法は患児の培養線維芽細胞から mRNA を抽出し、cDNA に変換後 PCR 法で原因遺伝子

と考えられる OCRL1 遺伝子領域を増幅し、DNA オートシーケンサーを用いて全塩基配列を決定した。その後両家系の母親を中心に保因者診断を実施した。

C. 研究結果

i) FAP に対する発症前遺伝子診断

男性 2 名、女性 5 名の 7 名が来院し、年齢は 20~42 歳であった。家族歴では 6 名が両親の一方が FAP で死亡しており、残り 1 名は母親が FAP で死亡し、また弟が最近本疾患を発病していた。発症前遺伝子診断を希望する主な理由は自分の将来に対する漫然とした不安感であり、結婚または妊娠を前提とするような明解な理由はなかった。FAP という疾患の遺伝形式、正確な病状については家族からは誰も詳細な説明を受けておらず、2 名は他の家系内メンバーが FAP の確定診断を受けた際に医師から説明を聞いた。残り 5 名のうち 3 名は新聞報道で FAP について詳しく知り、2 名はインターネットを通じて難病情報センターのホームページ上で FAP について情報を得た。7 名中 1 名は 2 回の面接後 DNA 診断を希望しないことを表明し、6 名が本検査を受けた。2 名が陽性であり、TTR 遺伝子の異常は Met30TTR であった。

ii) 遺伝性筋疾患に対する発症前遺伝子診断

男性 2 名、女性 2 名の計 4 名が来院し、年齢は 26~33 歳であった。この中の 3 名は自らの発症前遺伝子診断を希望しており、その理由は 2 名が自分の将来を心配してであり、他の 1 名は結婚に際して婚約者の家族が遺伝病の存在を非常に心配したからであった。遺伝子診断が可能であることは他院の医師からの説明、テレビ報道、新聞報道で知った

とのことであった。詳細な家族歴を聴取した結果、1 名の女性では遺伝性筋疾患の家族歴が不明瞭であることが判り、遺伝子診断は実施しなかった。2 名で筋緊張性ジストロフィーの遺伝子診断を実施し、いずれも陰性であった。残り 1 名の女性は妊娠している胎児の遺伝子診断を希望した。家族歴では 50 歳代の父親が Becker 型筋ジストロフィーと診断されている。この女性と夫を対象に 3 回遺伝相談を行い、成人発症の遺伝性筋疾患に対する子宮内胎児診断の妥当性と危惧される事項について双方で十分話し合ったが、胎児の遺伝子診断の希望が強かった。最終的には信州大学医学部倫理委員会の承認を経て羊水細胞を使って dystrophin 遺伝子の検査を行い、結果は陰性であった。後日健康な男児を無事出産したとの連絡があった。

iii) Lowe 症候群患者の遺伝子解析結果

患者 1 においては、OCRL1 遺伝子のエクソン 12 中の 1399 番目のシトシン(C)がチミン(T)に変異していた。これにより 391 番目のグルタミンが終止コドンに変化するアミノ酸変異が生じると考えられた。患者 2 においては、OCRL1 遺伝子のエクソン 15 中の 1743 番目のシトシン(C)がグアニン(G)に変異していた。これにより 505 番目のセリンがアルギンに変化するアミノ酸変異が生じると考えられた。この塩基配列結果を基に制限酵素解析法(RFLP)により両患者の母親を検索したところ、上記の異常遺伝子の保因者であることが判明した。今後これらの女性が妊娠をする際には上記の遺伝子情報を用いて十分な遺伝相談を実施することが双方で話合われた。

D. 考察

遺伝病に対する世間一般の人達の認識はとにかくその事実を隠したがることである。われわれは長年に渡って FAP 患者の診療ならびにその家系内メンバーの follow-up を続けているが、多くの家系において FAP の遺伝歴を聴取することが困難であった。その主な理由は世間体等を気にして病気の真の姿を次世代に伝えてないからであった。今回、本研究に際して FAP と遺伝性筋疾患家系のメンバーの両方から病歴を聴取したところ、FAP に比して後者の遺伝性筋疾患の方が病気の実体をより正確に認識している印象を受けた。おそらく FAP は浸透率が高い優性遺伝であるのに対し、遺伝性筋疾患の遺伝形式は伴性劣性などが含まれており、家系内メンバーの病気に対する重篤感、遺伝性に対する認識が異なるからであろうと推測される。いずれにしても FAP では病気の真の姿、遺伝様式などが次世代に正しく伝えられておらず、このことは次世代のメンバーが発病しても病気に対する知識に乏しいため、早期発見を遅らせることにつながりかねないと考えられる。

今回の研究では相談者は自分の家系に存在する遺伝病の知識をテレビ、新聞等の報道を通じて知り得ており、こうした方面における情報公開の重要性が改めて認識させられた。従来遺伝病に対する発症前遺伝子診断については、患者の差別その他で負の面が強調される傾向にあるが、われわれの過去の経験ではこうした遺伝情報をまえて知っていたために、FAP の発病を早期に患者が認識して専門的な医療を受け回復した患者がいる。発症前遺伝子診断の結果を含めて、個人の遺伝情報をどのようにその個人が利用す

るかは元来個人の判断に任せるべきである。われわれは要求されている遺伝情報を正確に伝える義務がると考えられるが、この際重要なことは個人のプライバシー保護と倫理面の妥当性を十分検討することである。また個人がこの遺伝情報を正しく理解して、その個人の将来に役立たせるためには、病気に対する正確な理解があることが前提である。われわれは今後、遺伝病に対する遺伝相談、発症前遺伝子診断を有益に遂行していくためには病気に対する十分なインフォームドコンセントを行うことが第一であると考えられた。

E. 結論

1. FAP 家系では疾患に対する正確な知識が家系内メンバーから次世代に伝授されていない。最近の世代はこうした情報を自ら知ることを強く希望しており、病気の情報公開のあり方の検討が必要である。
2. 成人発症の遺伝性筋疾患の子宮内胎児診断の希望があり、これを実施せざるをえなかったが、こうした方面のガイドラインの作成が望まれる。
3. 小児の先天性疾患の遺伝子異常を同定し、この遺伝子情報を次の妊娠に際して有用に使用することが可能となった。

F. 発表論文

- 1) Tokuda T, Kondo T, Hanaoka N, Takei Y, Kametani F, Yamada Y, Tamura Y, Yoshida M, Yamawaki N, Ikeda S: A selective transthyretin-adsorption column for the treatment of patients with familial amyloid polyneuropathy. *Amyloid: Int J Exp Clin Invest* 5: 111-116, 1998.

- 2) Sekijima S, Ikeda S, Tokuda T, Satoh S, Hidaka H, Hidaka E, Ishikawa M, Yanagisawa N: Prevalence of dementia of Alzheimer type and apolipoprotein E phenotypes in aged patients with Down's syndrome. *Eur Neurol* 39: 234-237, 1998.
 - 3) Yamamoto K, Ikeda S, Hanyu N, Takeda S, Yanagisawa N: A pedigree analysis with minimized ascertainment bias shows anticipation in Met30-transferrin related familial amyloid polyneuropathy. *J Med Genet* 35: 23-30, 1998.
 - 4) Kurogouchi F, Oguchi T, Mawatari E, Yamaura S, Hora K, Takei M, Sekijima S, Ikeda S, Kiyosawa K: A case of mitochondrial cytopathy with a typical point mutation for MELAS, presenting with severe focal-segmental glomerulosclerosis as main clinical manifestation. *Am J Nephrol* 18:551-556, 1998.
 - 5) 池田修一: FAP に対する治療. *神経内科* 48: 541-546, 1998.
 - 6) 池田修一: 家族性アミロイドポリニューロパチーの臨床像とその遺伝子診断. *Medical Technology* 26: 889-895, 1998.
 - 7) Yoshida K, Nakamura A, Yazaki M, Ikeda S, Takeda S: Insertional mutation by transposable element, L1, in the DMD gene results in X-linked dilated cardiomyopathy. *Hum Mol Genet* 7: 1129-1132, 1998.
 - 8) Yazaki M, Yoshida K, Nakamura A, Furihata K, Yonekawa M, Okabe T, Yamashita N, Ohta M, Ikeda S: A novel splicing mutation in the ceruloplasmin gene responsible for hereditary ceruloplasmin deficiency with hemosiderosis. *J Neurol Sci* 156: 30-34, 1998.
 - 9) Kubota T, Sakurai A, Arakawa K, Shimazu M, Wakui K, Furihata K, Fukushima Y: Identification of two novel mutations in the OCRL1 gene in Japanese families with Lowe syndrome. *Clin Genet* 54:199-202, 1998.
 - 10) 久保田健夫: Lowe 症候群. 診断と治療 (増刊号: 症候群辞典) 797, 1998
 - 11) 久保田健夫: Prader-Willi 症候群. 診断と治療 (増刊号: 症候群辞典) 827, 1998.
 - 12) Christian SL, Bhatt NK, Martin SA, Sutcliffe JS, Kubota T, Huang B, Mutirangura A, Chinault AC, Beaudet AL, Ledbetter DH: Integrated YAC contig map of the Prader-Willi / Angelman region on chromosome 15q11-q13 with average STS spacing of 35 kb. *Genome Res* 8:146-157, 1998.
 - 13) Das S, Kubota T, Song M, Daniel R, Berry-Kravis EM., Prior TW, Popovich B, Rosser L, Arinami T, Ledbetter DH. Methylation analysis of the fragile X syndrome by PCR. *Genetic Test* 3:151-155, 1998.
 - 14) 久保田健夫: 遺伝子講座 No.22 DNA メチレーションと新しい遺伝子研究. *信州医誌* 46:66-68, 1998.
 - 15) 久保田健夫, 福嶋義光: Rubinstien-Taybi 症候群 [目で見る骨系統疾患]. *小児内科* 30:392-394, 1998.
 - 16) 久保田健夫, 中島 民江, 関 博, 小嶋 牧子, 福嶋 義光: Direct sequencing by the Gene Rapid system: Mutation analysis of the p53. *Science Tools* 3:13-14, 1998.
- G. 知的所有権の取得状況
なし

分担研究報告書

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・遺伝子治療研究事業）

分担研究報告書

家族性アミロイドポリニューロパチーにおける発症前 遺伝子診断の意義とその社会的影響

分担研究者 池田修一（信州大学医学部教授第三内科教授）

家族性アミロイドポリニューロパチー(FAP)は常染色体優性遺伝を示す神経難病である。今年度 FAP の発症前遺伝子診断を希望して来院した人は男性 2 名、女性 5 名の計 7 名、年齢 20～42 歳であった。本遺伝子診断を希望する理由はいずれも自分の将来に対する不安であった。FAP の発症前遺伝子診断が可能であることを知った経緯は、2 名が家系内に本症患者がいてその診断の際に知識を得た。残り 5 名のうち 3 名は新聞報道で、2 名はインターネットを通じて難病情報センターから知識を得ている。家系内メンバーからはだれも FAP という疾患の正確な情報を得ておらず、遺伝病に対する正しい知識を患者本人を含む家族に伝授することが今後の重要課題であると結論された。

キーワード：家族性アミロイドポリニューロパチー、トランスサイレチン遺伝子異常、
遺伝相談、発症前遺伝子診断

A. 研究目的

家族性アミロイドポリニューロパチー(以下 FAP と略す)は多発神経炎と自律神経障害を主徴とし、進行すると心臓・腎臓などの多くの内臓器官もアミロイド沈着で障害される。大部分の患者の発症年齢は 20～40 歳代であり、平均余命は 10 年と短い。本疾患の遺伝形式は浸透率の高い常染色体優性であり、また原因遺伝子はアミロイド前駆蛋白であるトランスサイレチン(TTR)の発現を規定する遺伝子の一塩基変異である。すなわち FAP の発症機序として

は TTR 遺伝子の一塩基変異により一アミノ酸置換を伴う異常 TTR が体内（主に肝臓）で産生され、本蛋白がなんらかの機序でアミロイドに変換されて全身組織に沈着し、臓器障害を来すと考えられる。近年、polymerase chain reaction (PCR)法の導入により FAP の簡便な DNA 診断法が確立され、われわれの施設では患者さんの診断に対して本法が日常的に使用されている。さらに最近では血清中に存在する異常 TTR を正常 TTR との質量差で検出しようとする mass spectrometry を用いた質量分析法も確立され、

本法も実際の臨床の場で使用されるようになった。

FAP 家系は国内では熊本県荒尾市と長野県北西部地方に集積地を持って存在し、またこの2大集積家系とは血縁のない独立の40数家系が国内に広く分布している。長野県北西部地方のFAP家系は50数家系あり、過去に300名以上の患者が発生していたと推測される。FAPに対する治療は従来は起立性低血圧に対するL-DOPSの投与などの対症療法に終始していた。しかし1991年にスウェーデンで異常TTRの産生部位である肝臓を移植により正常肝にすることで血清中からアミロイド前駆蛋白である異常TTRが消失することが報告され、肝移植はFAPの根治療法として一躍注目されるようになった。本邦では脳死体からの肝移植が実施できないため、われわれは1993年からFAP患者に対して成人間の生体部分肝移植を開始し、過去5年間に本移植手術を11名のFAP患者に実施して良好な結果を得ている。この際、家系内メンバーの多くにFAPという疾患についてその遺伝様式を含めて十分なインフォームドコンセントを実施し、またドナーを選択するために無症状者に対するFAPのDNA診断も実施して来た。こうした状況の中で最近、FAPの家系内メンバーが本疾患の発症前遺伝子診断を自らの意思で希望して来院する機会が増えている。

そこで本研究ではこうした遺伝相談を希望する人(クライアント)の遺伝的背景、発症前遺伝子診断を希望するに至った動機ならびにその情報源を検索することを目的とした。

B. 研究方法

信州大学医学部附属病院では平成8年5月より内部処置として遺伝子診療部を設立し、外

来部門として臨床遺伝外来を開設して院内の遺伝相談を一元化して対応している。対象者は平成10年度に自らの意思でFAPの発症前遺伝子診断を希望して来院したクライアントである。

方法は面接により発病者を含む家族構成、本遺伝子診断を希望する理由、本遺伝子診断が実施可能であることを知った経緯を聞く。その後FAPについて書面で詳細なインフォームドコンセントを行い、また同時にDNA検査の一般的な方法と意義についても説明して1回目の面接を終了した。本遺伝相談ならびに発症前遺伝子の実施の妥当性については、遺伝子診療部の定期的な全体ミーティングで検討した。この際、個人への倫理的配慮が十分保たれているかどうかを重視した。第2回目の面接では1回目の時の疑問点について回答し、DNA保存の承諾書を得て採血を行った。DNA診断法はFAPの原因遺伝子として最も頻度の高いMet30TTR(N末端から30番目のvalineがmethionineに置換していることを示す)遺伝子をPCR-RFLPで検索し、それ以外の異常はTTR遺伝子の全exonをdirect DNA sequenceすることで対応した。またTTR遺伝子の異常に対応して血清中に異常TTRが存在するかどうかをMALDI/TOF mass spectrometryで検索した。DNA診断法の結果は第3回目の面接時に本人に直接口答で伝えた。

C. 研究結果

男性2名、女性5名の7名が来院し、年齢は20~42歳であった。家族歴では6名が両親の一方がFAPで死亡しており、残り1名は母親がFAPで死亡し、また弟が最近本疾患を発病していた。結婚歴の有無は20歳と42歳の男性2名と22歳の女性は未婚、残り4名の女性は

既婚者であった。本遺伝子診断を希望するようになった契機は、発病した父親が生体肝移植を受ける際に娘としてインフォームドコンセントを聞いて自分の将来が不安になったが1名、弟が肝移植を受ける際に兄としてインフォームドコンセントを受けてFAPという疾患自体はよく知っていたつもりであったが、テレビ報道で進行したFAP患者が車イス生活をしているのを見て自分の将来が急に不安となったが1名であった。残り5名のうち3名は新聞報道で自分の親が病気であったFAPを詳しく知り、2名はインターネットを通じて難病情報センターのホームページ上でFAPについて情報を得た。そして将来の人生設計を考えるために発症前遺伝子診断を希望するに至った。既婚者4女性はいずれもこれらの主旨を夫に説明し、了承を得ており、2名は夫と共に来院した。

7名中1名は2回の面接後DNA診断を希望しないことを表明し、6名が本検査を受けた。2名が陽性であり、TTR遺伝子の異常はMet30TTRであった。

D. 考察

FAPが遺伝病であることはその疾患を有する家系内ではよく知られているが、疾患の遺伝形式、予後を含めた疾患そのものに対する詳細な情報は以外と知られていない。その理由は過去においてFAPがライ病と見なされたり、また遺伝病を有するがために学校でのいじめ、婚姻の障害などの社会的迫害を受け、その結果、家族が本疾患の存在を長い間家系内の他のメンバーにひた隠しにして来た歴史があるからである。しかし現在のような情報化の時代においては、いくら家族が隠しても種々な手段で本人が真実を知ることが可能となった。

遺伝病は従来不治の病と位置付けられ、治療

法・予防法は全くないと考えられて来たが、近年、分子生物学的研究法の進歩によりこうした遺伝病の発病予知も可能も可能となった。発症前遺伝子診断を含めて、個人の遺伝情報を自らの意思で知りたいと考えるのは妥当なことであり、われわれはきちんとした体制の基で個人のプライバシー保護に十分配慮しながら、こうした遺伝学的診療を進めていかななくてはならない。

本研究で対象としたFAP家系内メンバーはいずれも両親が本疾患に罹患しているながら、家族からはその病気についてほとんど知らされていなかった。こうした状況下でFAPの本質ならびにDNA診断が可能であることの情報源となったのはテレビ、新聞などのマスコミ報道とインターネットであった。特にインターネットを通じて難病情報センターからFAPの疾患情報を入手していた例では、本人が自分の遺伝情報を積極的に知りたいという行動の表れと理解された。FAPの発症前遺伝子が被検者のその後の就職、結婚、妊娠、夫婦関係等にどのような影響を与えるかを明らかにするためには今後の長期的な経過観察を必要とする。

E. 結論

FAP患者の家系内メンバーに対する遺伝相談と発症前遺伝子診断を実施した。1年間に7名が自らの意思で発症前遺伝子診断を希望して来院したが、これらの人達はいずれも家族からはFAPについて正確な説明は受けておらず、マスコミ報道等が遺伝的知識の伝授に重要な役割を果たしていた。

F. 発表論文

- 1) Tokuda T, Kondo T, Hanaoka N, Takei Y, Kametani F, Yamada Y, Tamura Y, Yoshida

- M, Yamawaki N, Ikeda S: A selective transthyretin-adsorption column for the treatment of patients with familial amyloid polyneuropathy. *Amyloid: Int J Exp Clin Invest* 5: 111-116, 1998.
- 2) Sekijima S, Ikeda S, Tokuda T, Satoh S, Hidaka H, Hidaka E, Ishikawa M, Yanagisawa N : Prevalence of dementia of Alzheimer type and apolipoprotein E phenotypes in aged patients with Down's syndrome. *Eur Neurol* 39: 234-237, 1998.
- 3) Yamamoto K, Ikeda S, Hanyu N, Takeda S, Yanagisawa N: A pedigree analysis with minimized ascertainment bias shows anticipation in Met30-transthyretin related familial amyloid polyneuropathy. *J Med Genet* 35: 23-30, 1998.
- 4) Kurogouchi F, Oguchi T, Mawatari E, Yamaura S, Hora K, Takei M, Sekijima S, Ikeda S, Kiyosawa K: A case of mitochondrial cytopathy with a typical point mutation for MELAS, presenting with severe focal-segmental glomerulosclerosis as main clinical manifestation. *Am J Nephrol* 18:551-556, 1998.
- 5) 池田修一：FAP に対する治療. *神経内科* 48: 541-546, 1998.
- 6) 池田修一：家族性アミロイドポリニューロパチーの臨床像とその遺伝子診断. *Medical Technology* 26: 889-895, 1998.

G. 知的所有権の取得状況

なし

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・遺伝子治療研究事業）

分担研究報告書

遺伝性筋疾患における発症前遺伝子診断の意義とその社会的影響

分担研究者 吉田邦広（信州大学医学部第三内科講師）

今年度、遺伝性筋疾患の発症前遺伝子診断を希望して来院した相談者は男性2名、女性2名の計4名であり、年齢は26～33歳であった。この中の3名は自らの発症前遺伝子診断を希望しており、その理由は2名が自分の将来を心配してであり、他の1名は結婚に際して婚約者の家族が遺伝病の存在を非常に心配したからであった。遺伝子診断が可能であることは他院の医師からの説明、テレビ報道、新聞報道で知ったとのことであった。詳細な家族歴を聴取した結果、1名の女性では遺伝性筋疾患の家族歴が不明瞭であることが判り、遺伝子診断は実施しなかった。2名で筋緊張性ジストロフィーの遺伝子診断を実施したが、いずれも陰性であった。残り1名の女性は妊娠している胎児の遺伝子診断を希望した。家族歴では50歳代の父親がBecker型筋ジストロフィーと診断されている。成人発症の遺伝性疾患に対する子宮内胎児診断の妥当性が論議され、信州大学医学部倫理委員会の承認を経て羊水細胞を使ってdystrophin遺伝子の検査を行った。結果は陰性であった。成人発症の遺伝性筋疾患に対する発症前遺伝子診断、子宮内胎児診断の適切なガイドライン作りが必要であると考えられた。

キーワード：遺伝性筋疾患、筋ジストロフィー、遺伝相談、発症前遺伝子診断、子宮内胎児診断

A. 研究目的

遺伝性筋疾患は臨床的ならびに遺伝学的に種々な疾患を含んでいる。近年、分子生物学的アプローチにより個々の疾患の原因となる筋蛋白異常とそれに対応する遺伝子異常が明らかにされている。代表的疾患としてdystrophin異常症であるDuchenne型筋ジストロフィー(DMD)/Becker型筋ジストロフィー(BMD)とmyotonic kinaseの異常が推測される筋緊張性

ジストロフィーが挙げられる。これらの疾患はいずれも遺伝子診断が可能であり、本疾患を有する家系内メンバーの一部は発症前遺伝子診断を希望して当院を受診するようになった。

本研究では平成10年度にDMD/BMDならびに筋緊張性ジストロフィーの発症前遺伝子診断を希望して当院を受診した人の遺伝的背景を検索し、またその対応について報告する。

B. 研究方法

対象者は平成10年度に自らの意思で遺伝性筋疾患の発症前遺伝子診断を希望して来院したクライアントである。方法は面接により発病者を含む家族構成、本遺伝子診断を希望する理由、本遺伝子診断が実施可能であることを知った経緯を聞く。その後書面で詳細なインフォームドコンセントを行い、また同時にDNA検査の一般的な方法と意義について説明した。本遺伝相談ならびに発症前遺伝子の実施の妥当性については、遺伝子診療部の定期的な全体ミーティングで検討した。

遺伝子検査の方法はDMD/BMD疑い例ではdystrophin遺伝子の欠損の有無をSouthern blot法ならびにPCR法で検索した。また筋緊張性ジストロフィー疑い例ではmyotonic kinase遺伝子のCTG repeat数を検索した。

C. 研究結果

相談者は男性2名、女性2名の計4名であり、年齢は26～33歳であった。この中の3名は自らの発症前遺伝子診断を希望しており、その理由は2名が自分の将来を心配してであり、他の1名は結婚に際して婚約者の家族が遺伝病の存在を非常に心配したからであった。遺伝子診断が可能であることは他院の医師からの説明、テレビ報道、新聞報道で知ったとのことであった。詳細な家族歴を聴取した結果、28歳の1女性では遺伝性筋疾患の家族歴が不明瞭であることが判り、遺伝子診断は実施しなかった。2名は両親または同胞が筋緊張性ジストロフィーに罹患しており、本疾患の遺伝子診断を実施したが、いずれも陰性であった。

26歳の女性は妊娠している胎児の遺伝子診断を希望して来院した。家族歴では父親が30歳代から歩行障害が出現し、55歳時に当院で

心筋障害を伴うBMDと診断されている。子宮内胎児診断を希望する理由は生まれてくる子供がBMDとなる可能性があるならば、夫婦の生活設計を十分考えたいとのことであり、同伴の夫も同じ意見であった。BMDは伴性劣性遺伝形式をとり、その発病は成人であること、また成人発症の遺伝性疾患に対する子宮内胎児診断のガイドラインは未だ不明確であることなどを3回に渡って説明したが、夫婦揃って胎児の遺伝子診断を強く希望された。このため本検査の実施に当っては信州大学医学部倫理委員会の承認を得て、羊水細胞を使ってdystrophin遺伝子の検査を行った。父親はdystrophin遺伝子のexon45～47近傍の欠損であったが、この胎児では本遺伝子の欠損はなかった。なお胎児の性別判定は行わなかった。

D. 考察

筋ジストロフィーに代表される遺伝性筋疾患は一般に子供の時期から発症する重篤な疾患の印象が強い。しかし実際には成人発症で、進行もゆっくりであり、天寿を全うする患者も少なくない。こうした多様性に富む疾患群に対して発症前遺伝子診断を一律に実施することは倫理的側面を含めて種々な問題を生じる。

今回われわれが遺伝相談ならびに発症前遺伝子診断として対応した遺伝性筋疾患家系のクライアントは数としては少ないが、その希望理由は結婚を前提として異常遺伝子の有無を明らかにしたい、成人発症の疾患であっても子宮内胎児診断を実施して長期的な生活設計をしたいなど、社会生活と非常に密接に関連するものであった。幸い今回の例はいずれも遺伝子診断が陰性であり、クライアントのその後の結婚・出産に良好な影響をもたらす結果になったが、陽性結果がクライアントならびにその家族

に与える影響については未知の部分が多い。今後、遺伝病に対する遺伝相談、発症前遺伝子診断の社会的要請はさらに高まることが予想され、倫理的側面を重視して慎重に対応していく必要があると考えられる。

E. 結論

成人発症で比較的疾患の進行が緩やかな遺伝性筋疾患に対しても発症前遺伝子診断の社会的要請が高いと実感させられた。病気の重症度ならびに患者の社会生活上での苦難に対しては患者家族と医師団ではその感じ方に大きな差異があり、この点の解決が今後の遺伝相談上重要であると考えられた。

F. 発表論文

- 1) Yoshida K, Nakamura A, Yazaki M, Ikeda S, Takeda S: Insertional mutation by transposable element, L1, in the DMD gene results in X-linked dilated cardiomyopathy. *Hum Mol Genet* 7: 1129-1132, 1998.
- 2) Yazaki M, Yoshida K, Nakamura A, Furihata K, Yonekawa M, Okabe T, Yamashita N, Ohta M, Ikeda S: A novel splicing mutation in the ceruloplasmin gene responsible for hereditary ceruloplasmin deficiency with hemosiderosis. *J Neurol Sci* 156: 30-34, 1998.

G. 知的所有権の取得状況

なし

Lowe 症候群患者の遺伝子解析とその家系内メンバーに対する遺伝相談

分担研究者 久保田健夫（信州大学医学部衛生学教室助手）

Lowe 症候群は、白内障・重度の発達遅滞・腎障害を合併するX連鎖遺伝の先天性疾患である。近年、X染色体上の OCRL1 遺伝子が責任遺伝子であることが判明し、イノシトールリン酸系酵素の代謝異常が原因であることが明らかになった。我々は2人の患者を経験し、OCRL1 遺伝子解析を行った。その結果、症例1では保因者である母親から患者に伝達されたナンセンス変異（エクソン12；C1399T）が、症例2では祖母から母親を経由して患者に伝達されたミスセンス変異（エクソン15；C1743G）が認められ、それぞれの症例の病因になっていると考えられた。本疾患では次子が男児である場合、遺伝子変異を有し本疾患を発症する確率は50%である。上記の遺伝子情報は、両家系において、出生前診断や保因者診断に有用であると思われる。

キーワード：Lowe 症候群、OCRL-1 遺伝子、遺伝子解析、出生前診断、保因者診断

A. 研究目的

Lowe 症候群 (Lowe syndrome: oculocerebrorenal syndrome) は、1952年にLoweらによってはじめて報告された先天性白内障、精神発達遅滞、尿細管障害を主体とする先天代謝異常症である。責任遺伝子は、発症者がほぼ男児に限られることからX染色体上にあると考えられてきたが、近年連鎖解析によりその領域がXq25-26にせばめられ、X染色体・常染色体の均衡型転座を有する女児例の転座切断点の解析から、そこに位置する遺伝子(OCRL1)が見つかった。その後OCRL1遺伝子内に複数の患者で変異が同定され、この遺伝子が本疾患の責任遺伝子と決定された。本遺伝

子は、イノシトールリン脂質代謝系酵素に類似したアミノ酸配列を有し、遺伝子産物（蛋白）がイノシトールサイクル中でフォスファチジルイノシトール4,5ニリン酸-5-フォスファターゼ活性をもっていることから、本症はイノシトールリン脂質代謝異常症であることが示唆されている。

我々は、信州大学医学部附属病院遺伝子診療部臨床遺伝を受診した長野県在住の典型的なLowe症候群2名を経験し、確定診断および遺伝カウンセリングのためにOCRL1遺伝子の解析を行った。

B. 研究方法

対象は Lowe 症候群患者 2 名およびその家族とした。症例 1 は 1 歳の男児、症例 2 は 2 歳の男児で、いずれも白内障、緑内障、精神運動発達遅滞、蛋白尿・アミノ酸尿を認め、その母親にスリットランプ検査で軽度の白内障を認めた。また症例 2 では母方祖母にも白内障を認めた。

方法は、患児の線維芽細胞から mRNA を抽出し、cDNA に変換後 PCR 法で OCRL1 遺伝子領域を増幅し、DNA オートシーケンサーを用いて塩基配列を決定した。

C. 研究結果

症例 1 において、OCRL1 遺伝子のエクソン 12 中の 1399 番目のシトシン(C)がチミン(T)に変異していた。これにより 391 番目のグルタミンが終止コドンに変化するアミノ酸変異が生じると考えられた。症例 2 においては、OCRL1 遺伝子のエクソン 15 中の 1743 番目のシトシン(C)がグアニン(G)に変異していた。これにより 505 番目のセリンがアルギニンに変化するアミノ酸変異が生じると考えられた。

DNA オートシーケンサーで得られた上記の変異の情報は、異なる方法でも確認された。すなわち症例 1 では変異部位を mismatch プライマーを用いて PCR 法で増幅後、制限酵素 Rsa I で増幅断片を消化すると、患者では消化されたが、正常対照者では消化されなかった。また母親は正常者にみられた断片と消化された断片の両者が見られた。症例 2 では、変異部位をプライマーで増幅後、制限酵素 BstN I で増幅断片を消化すると、患者では消化されたが、正常対照者では消化されなかった。また母親と母方祖母は正常者にみられた断片と消化された断片の両者が見られ、非発症の母親の弟 2 名は正常対照者とおなじパターンだった。

D. 考察

われわれは Lowe 症候群 2 例においてその遺伝子変異を明らかにした。これらの変異は今までに報告のないものであった。2 症例の間でその変異部位は異なったが、症状はいずれも典型例で、きわめて類似していた。症例 1 は遺伝子変異により全 884 アミノ酸のうち 390 アミノ酸で蛋白の翻訳がストップしてしまうと考えられること、母親も保因者として同じ変異を有していたことから、この変異が疾患を発症した原因と考えられた。一方、症例 2 にみられた 505 番目のアミノ酸変異は、その位置が酵素機能に重要と思われる、異なる種間でよく保存された領域 (conserved domain) にあること、変異が保因者である母親と母方祖母にも存在し患児に伝達されていること、家系内の非発症の男性と正常対照男性 100 名に同じ変異を認めないことから、この変異が患児の病因になっていると考えられた。また上記 2 症例は長野県内の同一市内の患者であったが、変異部位が異なることから、その祖先は異なると考えられた。

上記の遺伝子変異に関する情報は両家系の遺伝カウンセリングに有用であると考えられ、速やかに各々の症例の両親に伝えられた。将来両親が希望した場合、この情報は出生前診断や保因者診断に使用される予定である。

E. 結論

Lowe 症候群 2 名の遺伝子解析を行い、2 種類の責任遺伝子変異を同定した。この結果は今後両家系の遺伝相談に有用であると考えられた。

F. 発表論文

1) Kubota T, Sakurai A, Arakawa K, Shimazu M,

Wakui K, Furihata K, Fukushima Y:
Identification of two novel mutations in the
OCRL1 gene in Japanese families with Lowe
syndrome. Clin Genet 54:199-202, 1998.

- 2) 久保田健夫: Lowe 症候群。診断と治療 (増刊号: 症候群辞典) 797, 1998
- 3) 久保田健夫: Prader-Willi 症候群。診断と治療 (増刊号: 症候群辞典) 827, 1998.
- 4) Christian SL, Bhatt NK, Martin SA, Sutcliffe JS, Kubota T, Huang B, Mutirangura A, Chinault AC, Beaudet AL, Ledbetter DH: Integrated YAC contig map of the Prader-Willi / Angelman region on chromosome 15q11-q13 with average STS spacing of 35 kb. Genome Res 8:146-157, 1998.
- 5) Das S, Kubota T, Song M, Daniel R, Berry-Kravis EM., Prior TW, Popovich B, Rosser L, Arinami T, Ledbetter DH. Methylation analysis of the fragile X syndrome by PCR. Genetic Test 3:151-155, 1998.
- 6) 久保田健夫: 遺伝子講座 No.22 DNA メチレーションと新しい遺伝子研究. 信州医誌 46:66-68, 1998.
- 7) 久保田健夫, 福嶋義光: Rubinstien-Taybi 症候群 [目で見える骨系統疾患]. 小児内科 30:392-394, 1998.
- 8) 久保田健夫, 中島 民江, 関 博, 小嶋 牧子, 福嶋 義光: Direct sequencing by the Gene Rapid system: Mutation analysis of the p53. Science Tools 3:13-14, 1998.

G. 知的所有権の取得状況

なし