

臨床遺伝学部門 Department of Clinical Genetics

当部門は遺伝病を中心に、ヒトの代謝的個体差の全スペクトルを生化学的及び分子遺伝学的に深く研究することを通し、広く臨床医学において臨床遺伝学の担うべき役割を追究している。現在は主に臨床神経遺伝学と薬理遺伝学の領域で研究を進めている。

人事異動としては、平成4年3月31日付で研究生の中島 匡が退学した。また同年9月30日付で助手の真下昌己が国立大阪病院皮膚科に転出した。なお平成5年1月1日付で岡田全司（現在大阪大学医学部第三内科助手）の助教授就任が内定している。

A. 家族性アミロイドポリニューロパチー（FAP）の臨床神経遺伝学的研究

アミロイド前駆物質である変異トランスサイレチン（TTR）がアミロイドに変換され、固有の臓器親和性をもってFAPの発症にいたる機構はまだ解明されていない。我々はこれを分子病理学的に明らかにするため、先に当部門で開発し、簡便迅速・微量化した血漿からの変異TTR単離法を用い、無症候性のもも含めた変異TTRのスクリーニングを行っている。現在4種類の変異TTRの一次構造を検索中である。

B. 高オルニチン血症・高アンモニア血症・ホモシトルリン尿症（HHH症）の病因に関する研究

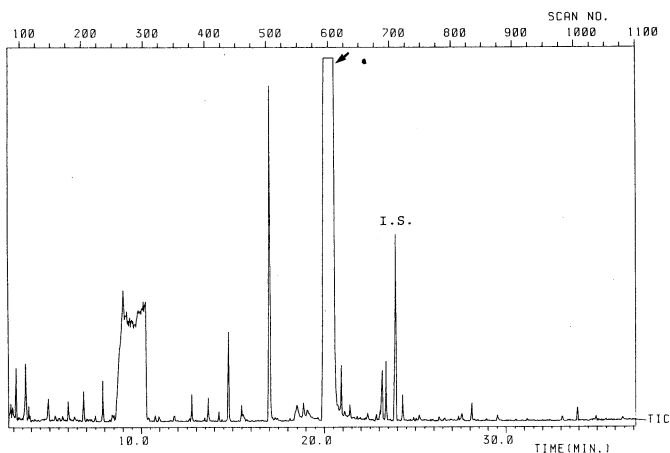
HHH症は脳性麻痺を来たす常染色体性劣性の先天性代謝異常症である。その本態は肝細胞のミトコンドリア内膜にあるオルニチン転送蛋白の変異によるオルニチンの転送障害と考えられている。我々は自験例の病因を遺伝子レベルで解明することを最終目標として、ラットのオルニチン転送蛋白の生化学的性状の検討とアフィニティラベル法による精製を進めてきた。

一方ごく最近 Indiveri らによりラットのオルニチン転送蛋白が単離された。その生化的性状は我々が先に観察した所見と一致していたため、今年度は彼らの方法に準じ、ミトプラストから分子量33.5KDのオルニチン転送蛋白を単離し、そのN末端の一次構造を決定した。その結果、3カ所未決定であるが12残基の配列が明らかになり、この配列からミックストプライマーを合成した。現在これらのプライマーとオリゴ (dT)₁₈ または λgt10 に特異的なプライマーを対にしてラット肝臓のcDNA または λgt10 に組込んだラット肝臓cDNA ライブラリーを鋳型としてPCRを行い、オルニチン転送蛋白のcDNAの単離を試みている。

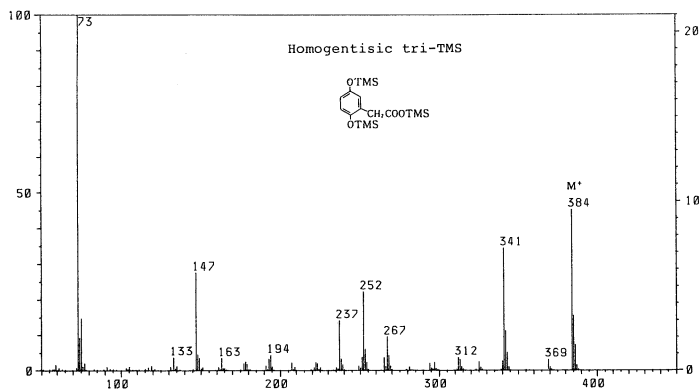
C. マススペクトロメトリーによる先天性代謝異常症の化学診断

我々は最近設置されたマススペクトロメーター（日立M-2000A）を用い、大分県下の病院・

医療施設で診断困難な神経症候を呈する患者の尿の多成分一斉分析 (metabolic profiling) を行い、有機酸代謝異常症を中心にした先天性代謝異常症の化学診断を実施している。この研究は大分県の遺伝病の実態を明らかにし、その病因を遺伝子レベルで解明して、遺伝子治療へ向かうプロジェクトの重要な1段階となるものである。これまでにアルカプトン尿症 (図 C. 1)、尿に大量の乳酸と4-ヒドロキシフェニル乳酸を排泄する超未熟児例などを診断した。



a. 尿中有機酸の代謝プロフィール。保持時間20分に異常ピーク (✓) がみられる。I.S.; 内部標準。



b. aの異常ピークのマスマスペクトル。ホモゲンチジン酸と同定された。

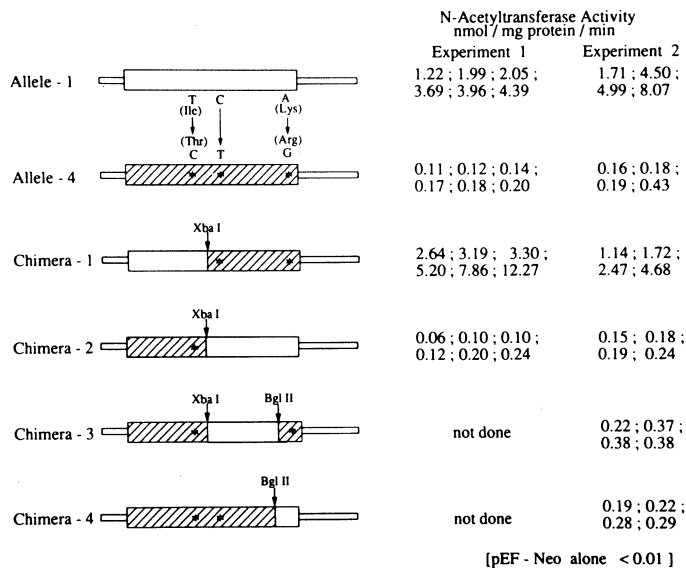
図 C. 1 マスマスペクトロメトリー (GC/MS) により化学診断されたアルカプトン尿症の1例。

D. N-アセチル化多型の臨床分子遺伝学的研究

N-アセチル化多型は芳香族アミンやヒドラジンをN-アセチル化する肝臓N-アセチルトランスフェラーゼ (NAT 2) の遺伝的多型に起因する薬理遺伝形質である。この多型 (迅速型, 中間型及び遅延型) は広汎な薬剤の治療効果や副作用に係わることが古くから知られており, 最近では xenobiotics を対象にする環境生態遺伝学的観点から種々の疾患との関連性が注目されている。しかしながら煩雑で信頼度に問題のある表現型タイピング法しかないことが, その臨床研究の進展を著しく妨げていた。我々は本多型の分子機構を明らかにし, 簡便迅速な遺伝子型タイピング法を開発した (本誌第6号, 1991年で報告)。

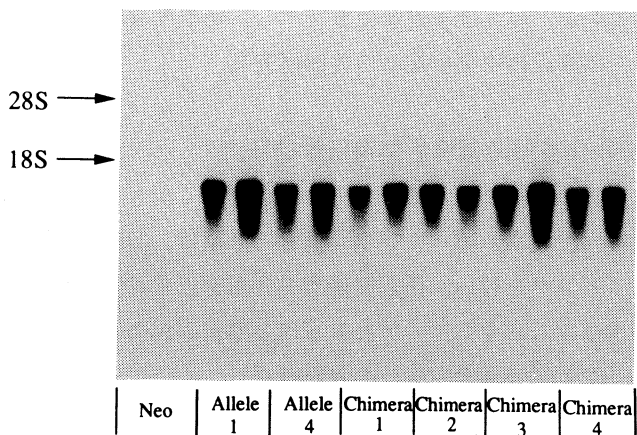
D. a. N-アセチル化多型の分子機構

我々は昨年度の研究で NAT 2 の第 4 の対立遺伝子 (対立遺伝子 4) を発見した。対立遺伝子 4 には 1 つのサイレント変異 (nt.481 T → C) と 2 つのミスセンス変異 (nt.341 T → C, nt.803 A → G) が認められた。そこでこれらの変異が夫々機能的にどのような影響をもつかを明らかにするため, 図 D. 1 のように対立遺伝子 1 (野生型) と 4 のキメラ DNA を構築し, pEF321 発現ベクターに挿入し, CHO 細胞で発現させた。そして夫々の酵素活性を測定した結果, nt.341 T → C 変異 (114 Ile → Thr のアミノ酸置換をひきおこすと考えられる。) が単独で NAT 2 低活性をもたらすことがわかった (図 D. 1)。ノーザンブロット分析では対立遺伝子 4 の RNA

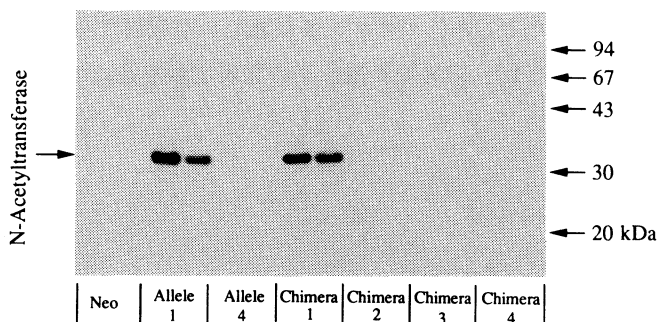


図D. 1. N-アセチルトランスフェラーゼの対立遺伝子 1, 4 及びそのキメラ DNA の CHO 細胞における発現。

のサイズや量に異常は認められなかった (図 D. 2)。しかし免疫ブロット分析では対立遺伝子 1 とキメラ-1 で同じ分子量の免疫反応性蛋白が認められただけで、その他の場合は殆んど検出されなかった (図 D. 3)。したがって nt.341 の変異が酸素蛋白の翻訳障害か蛋白分子の不安定性をひき起こすと考えられる (東京都神経研との共同研究)。



図D. 2 対立遺伝子 1, 4 及びキメラ DNA をトランスフェクションした CHO 細胞のノーザンブロット分析



図D. 3 対立遺伝子 1, 4 及びキメラ DNA をトランスフェクションした CHO 細胞の N-アセチルトランスフェラーゼ蛋白の免疫ブロット分析

D. b. 薬理遺伝学に基づく個別薬物療法の試み

現在の薬物療法は患者の代謝的個性を無視した画一的なものである。しかし将来は医師が個々の患者の薬剤に対する反応性を簡便な方法で予知し、副作用を回避しつつ所期の治療効果を挙げる最適の用量や用法を処方できるようでなければならない。このような個別薬物療法のモデルとして、我々はN-アセチル化多型の遺伝子型タイピング法を応用し、結核のイソニアジド療法の再検討を行っている。昨年度予備研究を終了し、今年度は厳密なガイドラインを設けて研究を継続している（国療近畿中央病院との共同研究）。

D. c. N-アセチル化多型の環境生態遺伝学的研究

環境生態遺伝学は疾患の宿主要因と環境要因の接点を衝く新しい研究領域である。本年度は代表的な中枢神経変性疾患であるパーキンソン病をとり挙げ、99症例を対象に、N-アセチル化多型の遺伝子型タイピングを行い、推定表現型の分布を正常対照者群のそれと比較した。しかし両者に有意の差異はみられず、N-アセチル化多型が本症の発症に関与している可能性は否定的であった（順天堂大学脳神経内科との共同研究）。

E. 家族性ブチリルコリンエステラーゼ（BChE）欠損症の遺伝子解析

本症は外科手術の際、筋弛緩剤のサクシニルコリンにより遷延性無呼吸をおこす臨床的に重要な薬理遺伝形質である。我々は大分県在住の本症の1家系のBChE遺伝子の解析を行っている。昨年度報告したように、発端者（40才、女性）は365Gly→Argのアミノ酸置換が推定されるミスセンス変異のホモ接合体であった。その後この発端者は539Ala→Thrのアミノ酸置換をもつK-variantのホモ接合体であることが明らかになった。また発端者の子供3人は上記両変異のヘテロ接合体であるが、血清BChE活性が正常の1/5しかなく、他の変異の存在が予想された。その塩基配列を決定したところ、エクソン2に新しい点変異T→A（330Leu→Ileが推定される）が発見された（図E. 1）。現在変異遺伝子の発現実験を進めている（野口病院との共同研究）。

Direct sequencing of BChE exon 2 in IV-1

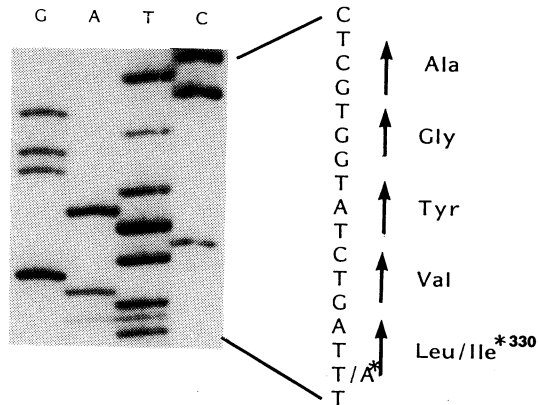


図 E. 1 家族性ブチリルコリンエステラーゼ (BChE) 欠損症の発端者の子供 (IV-1) にみいだされた新しい点変異.

F. O⁶-メチルグアニン-DNA メチルトランスフェラーゼ (MGMT) の遺伝的多型性に関する研究

DNA 修復酵素の MGMT は環境中の化学物質による発癌の抑制に関与すると考えられている。またその活性にはかなり個人差のあることが知られている。我々は環境生態遺伝学的観点から、ヒトの MGMT 遺伝子を PCR-SSCP でマスキングし、MGMT の遺伝的多型について検討している (生化学部門との共同研究)。

G. 全身型甲状腺ホルモン不応症の遺伝子解析

我々は昨年度本症の 1 家系について甲状腺ホルモン受容体 $c\text{-erbA } \beta$ の遺伝子解析を行い、甲状腺ホルモン結合ドメインに対応する部位に nt.1650C→A の新しいミスセンス変異を同定した。現在この変異遺伝子の発現実験と T₃ binding assay を行っている (野口病院との共同研究)。

H. 低ラドン温泉地域における癌死亡率

最近ラドン温泉として知られる鳥取県三朝温泉地区では癌死亡率の低いことが御船らにより報告された。そこで我々は低ラドン温泉として知られる別府温泉地区における癌死亡率調査を

行い、両者を比較することにより、ラドン温泉地域における低い癌死亡率が α 放射能によるものか、それとも温泉効果によるものかを明らかにすることにした。国勢調査資料及び死亡小票をもとに癌標準化死亡比 (SMR) 及び癌死の相対危険度を計算した結果、別府市及びその特に温泉の多い地区 (鉄輪及び亀川) の癌死の危険度は、近隣の対照地区に比し低いとは云えないと結論された (本学医学部公衆衛生学教室との共同研究)。

業 績 目 録

原著論文

1. Mashimo, M., Suzuki, T., Abe, M., and Deguchi, T. 1992.
Molecular genotyping of N-acetylation polymorphism to predict phenotype.
Hum. Genet., 90, 134-143.
2. Abe, M., Deguchi, T., and Suzuki, T.
The structure and characteristics of a fourth allele of polymorphic N-acetyltransferase gene found in the Japanese population.
Biochem. Biophys. Res. Commun. in press.
3. Abe, M., Suzuki, T., and Deguchi, T.
An improved method for genotyping of N-acetyltransferase polymorphism by polymerase chain reaction.
Jpn. J. Hum. Genet. in press.
4. Hayashi, A., Wada, Y., Suzuki, T., and Shimizu, A.
Studies on familial hypotransferrinemia: Unique clinical course and molecular pathology.
Am. J. Hum. Genet. in press.
5. Shibuta, K., Abe, M., and Suzuki, T.
A novel detection method for K-variant of butyrylcholinesterase based on PCR-Primer Introduced Restriction Analysis (PCR-PIRA).
J. Med. Genet. submitted for publication.
6. 平松良二, 安部眞佐子, 鈴木友和, 佐々木雅弘, 和気徳夫, 三宮邦裕, 三吉野産治. 1992.
Polymerase Chain Reaction (PCR) を用いた Duchenne 型及び Becker 型筋ジストロフィーの遺伝子診断とその出生前診断への応用.
大分医学, 10, 256-260.
7. 真下昌己, 安部眞佐子, 鈴木友和. 1992.
乾癬の発症要因としての N-アセチル化多型の検討.

- 大分医学, 11, 47-49.
8. Nishimura, M., Noda, S., Nojima, H., Hori, Y.
Suppressive effects of oral administration of 1α (OH) D_3 on the development of egg granulomas in mice infected with *Schistosoma mansoni*.
Acta Dermatol. in press.
9. 西村正幸, 木村秀人, 駒田信二, 伊藤宏士, 高野廣英, 宮野辰彦, 波多野裕敏. 1993.
Azelastrine Hydrochloride(アゼプラチン[®]) の掻痒性皮膚疾患に対する臨床効果—アゼプラチン[®]とステロイド外用剤の併用療法の有用性について—
西日皮膚 55, 355-360.
10. Urabe, K., Yasumoto, S., Nishimura, M., and Hori, Y.
Kaposi's varicelliform eruption complicating psoriatic erythroderma under PUVA-therapy—Detection of herpes simplex virus type 1 DNA by polymerase chain reaction. *Eur. J. Dermatol.* in press.
11. Nishimura, M., Kwon, K.S., Shibuta, K., Yoshikawa, Y., Oh, C.-K., Suzuki, T., Chung, T.-A., and Hori, Y.
An improved method for DNA diagnosis of leprosy using formaldehyde-fixed paraffin-embedded skin biopsies. *Mod. Pathol.* subjected for publication.

総 説

1. 鈴木友和. 1992.
起立性低血圧の治療法.
臨床科学, 28, 264-266.
2. 真下昌己, 鈴木友和, 安部眞佐子.
ヒトのN-アセチル化多型のDNA診断法の開発とその臨床薬理的応用.
臨床薬理の進歩, 印刷中.
3. 鈴木友和. 1992.
臨床遺伝学からみた治療学の将来.
別府市医師会報, 23, 41-47.
4. Nishimura, M., Hori, Y., Nishiyama, S., Nakamizo, Y.
Total 1α , 24(R) dihydroxyvitamin D_3 for the treatment of psoriasis—Review of the literature—
Eur. J. Dermatol. in press.
5. 西村正幸, 塩川左斗志. 1993.
リウマチ結節.

- 大分医学, 11, 100-101.
6. 西村正幸. 1993.
斑状強皮症 (モルフェア)
大分医学, 11, 102-103.
7. 西村正幸, 本村 孝.
Schönlein-Henoch 紫斑.
大分医学, 印刷中.
8. 西村正幸, 1993.
黒毛舌.
大分医学, 印刷中.

著 書

1. Suzuki, T.
Autonomic failure in familial amyloidotic polyneuropathy : treatment with L-threo-DOPS.
In Norabayashi, H. and Mizuno, Y. (eds)
Norepinephrine deficiency, pp.151-162, The Parthenon Publishing Group, Lancs and New York. in press.
2. 鈴木友和. 1992.
血中カテコールアミン変動一体位変換試験.
自律神経機能検査, 第1版 (日本自律神経学会編), pp.270-273, 文光堂, 東京.

学会発表

1. Shibuta, K., Nakashima, T., Abe, M., and Suzuki, T. (1992, 6/1-6/6).
Association between N-acetylation polymorphism and colorectal cancer.
First IUBMB Conference Biochemistry of Diseases, Nagoya.
2. Suzuki, T., Abe, M., Mashimo, M., and Deguchi, T. (1992, 6/1-6/6).
Molecular mechanism of N-acetylation polymorphism and the development of a rapid genotyping method to predict phenotype.
First IUBMB Conference Biochemistry of Diseases, Nagoya.
3. Abe, M., Suzuki, T., and Noguchi, S., (1992, 6/1-6/6).
Genetic analysis of butyrylcholinesterase deficiency found in Japanese.
First IUBMB Conference Biochemistry of Diseases, Nagoya.
4. Suzuki, T., Abe, M., Mashimo, M., and Deguchi, T. (1992, 10/8-10/10).

- Molecular analysis of N-acetyltransferase polymorphism.
First China-Japan Human Genetics Symposium, Beijing.
5. Shibuta, K., Nakashima, T., Abe, M., Mashimo, M., and Suzuki, T. (1992, 10/8-10/10).
Association between N-acetyltransferase polymorphism and colorectal cancer.
First China-Japan Human Genetics Symposium, Beijing.
 6. 鈴木友和, 真下昌己, 鈴木康代, 上田英之助, 横田総一郎, 富野郁子, 平賀 通, 前倉亮治 (1992, 4/2-4/4).
N-アセチル化多型に関する研究 I. 簡便な遺伝子型タイピング法の開発とそのINH療法への応用.
第89回日本内科学会講演会, 東京.
 7. 真下昌己, 安部眞佐子, 鈴木友和, 出口武夫 (1992, 4/10-12).
N-アセチル化多型の遺伝子型タイピングの開発とこれを用いた乾癬の発症要因に関する研究.
第91回日本皮膚科学会学術大会, 千葉.
 8. 安部眞佐子, 鈴木康代, 鈴木友和, 脇坂明美, 佐々木秀直 (1992, 5/20-5/22).
N-アセチル化多型と脊髄小脳変性症との関連について.
第33回日本神経学会総会, 鹿児島.
 9. 渋谷健二, 鈴木友和, 秋吉 毅, 杉町圭蔵 (1992, 9/29-10/1).
結腸・直腸癌とN-アセチル化多型との関連性について.
第51回日本癌学会総会, 大阪.
 10. 安部眞佐子, 鈴木友和, 出口武夫 (1992, 10/9-10/12).
日本人に見出された多型性N-アセチルトランスフェラーゼの4番目の対立遺伝子.
第65回日本生化学会大会, 福岡.
 11. 平松良二, 安部眞佐子, 鈴木友和 (1992, 10/9-10/12).
全身型甲状腺ホルモン不応症の一家系におけるトリヨードサイロニン受容体の遺伝子解析.
第65回日本生化学会大会, 福岡.
 12. 渋谷健二, 中島 匡, 安部眞佐子, 真下昌己, 鈴木友和 (1992, 10/29-10/31).
N-アセチル化多型の生態遺伝学的研究, I, 結腸・直腸癌との関連性について.
日本人類遺伝学会第37回大会, つくば.
 13. 安部眞佐子, 渋谷健二, 鈴木友和, 野口志郎 (1992, 10/29-10/31).
家族性血清ブチリルコリンエステラーゼ欠損症の遺伝子解析.
日本人類遺伝学会第37回大会, つくば.
 14. Nishimura, M. (1992, 8/1)
Specific identification of mycobacterium leprae by the polymerase chain reaction.

The 1st Pusan-Kyushu Dermatology Joint Meeting, Pusan.

15. 西村正幸 (1992, 11/15).

サルコイドーシスの3例.

第53回日本皮膚科学会大会地方会, 大分市.

講演

1. 鈴木友和 (1992. 9. 8)

体質と東西医学の考え方.

(財) 生存科学研究所医薬問題研究会, 東京.

2. 鈴木友和 (1992. 10. 17)

臨床遺伝学からみた内科治療学の将来.

愛媛大学医学部第一内科開講十九周年記念講演会特別講演, 愛媛大学医学部臨床
第3講義室.

3. 鈴木友和 (1992. 7. 10)

Xenobiotics に対する反応性と難病.

厚生省特定疾患難病の宿主要因調査研究班主催公開シンポジウム「難病の分子遺伝学—その今日的意義—」, 別府市.

厚生省研究班報告書

1. 鈴木友和, 安部眞佐子, 渋谷健二, 中島 匡, 鈴木康代, 脇坂朋美, 佐々木秀直. 1992.

N-アセチル化多型の臨床分子遺伝学的研究 第2報.

厚生省特定疾患難病の宿主要因調査研究班 (班長 鈴木友和) 平成3年度研究報告書,
pp.81-85.

2. 安部眞佐子, 鈴木友和. 1992.

HHH症候群の分子遺伝学的研究—オルニチン転送蛋白のラベリング—

厚生省特定疾患難病の宿主要因調査研究班 (班長 鈴木友和) 平成3年度研究報告書,
pp.110-114.

生医研臨床遺伝セミナー

第4回 講師 今村 孝教授 (国立遺伝学研究所総合遺伝研究系)

「遺伝子地図と臨床への応用」

(1992. 6. 13)

第5回 講師 柳原武彦教授 (大阪大学医学部神経内科)

「錐体外路症候を伴う遺伝性代謝疾患」

(1992. 11. 14)