

X染色体における隣接遺伝子症候群に関する研究

第一編 Steroid sulfatase deficiency を伴う隣接遺伝子症候群

西 村 真 一 郎

広島大学医学部小児科学教室 (主任: 上田一博教授)

受付 平成1年9月9日

受理 平成1年11月8日

6例の steroid sulfatase (STS) 欠損症患者において、X染色体短腕の遺伝子欠損の範囲を同定した。4例は魚鱗癬単独例であり、2例は魚鱗癬以外に他の症状を合併する例である。合併例のうち1例は chondrodysplasia punctata を伴う Conradi 症候群であり、もう1例は Conradi 症候群に似た表現型を示す、46, Y, -X, +der(X) t(X; Y) (p22; q11) の染色体異常症であった。サザンブロッティングによる解析では、STS の cDNA をプローブとした場合、6例全例でX染色体上の STS 遺伝子の欠損が認められた。STS 遺伝子の近傍に存在する遺伝子断片による検索では、魚鱗癬単独例では他の遺伝子欠損を認めなかったが、症候群を合併する例では2例ともに STS 遺伝子に隣接した遺伝子の欠損も認め、共通して欠損した遺伝子座は、STS 遺伝子 (pSTS76), DXS89 (pTAK10a), DXS31 (M1A) であった。以上の結果より、日本人症例においても遺伝子欠損が STS 欠損症の主要な原因となっていることが考えられ、さらに遺伝子欠損範囲の程度が多様な症状の発現に強く関与していることが示唆され、STS 欠損症を伴う症候群は隣接遺伝子症候群として考えることができる。

Key words : 隣接遺伝子症候群, Steroid sulfatase deficiency, サザンブロット法

X連鎖劣性の遺伝形式を持つ steroid sulfatase (STS) 欠損症は魚鱗癬を特徴とする先天性代謝異常症であり²⁵⁾、魚鱗癬単独例とともに Kallmann 症候群⁴⁾、Conradi 症候群⁹⁾、Rud 症候群²⁾などの種々の症候群を合併することが知られている (症候群合併例)。近年、STS の cDNA がクローニングされ、その遺伝子座が Xp22.3 にマップされるとともに²⁶⁾、STS 欠損症では STS 遺伝子の欠失が主要な原因であることが報告されてきた^{5, 6, 8, 11, 26)}。また、STS欠損症を伴う種々の症候群では、その原因が隣接して存在する数種の

異なった遺伝子の欠失 (隣接遺伝子症候群) によることが推定されている²³⁾が、実証されていなかった。

今回、著者は魚鱗癬単独例4例と症候群合併例2例の計6例の STS 欠損症においてその遺伝子欠損の範囲を同定した。日本人症例においても STS 遺伝子の欠失が STS 欠損症の主要な原因であった。また、症候群合併例は STS 遺伝子座に隣接する数種の遺伝子の欠失を示し、隣接遺伝子症候群の範疇に入るとの結果を得たので報告する。

Alphabetical list of abbreviations in the text

- CDP : chondrodysplasia punctata
DMD : Duchenne muscular dystrophy
MR : mental retardation
RFLP : restriction fragment length polymorphism
STS : steroid sulfatase
Xcen : centromere of X chromosome
Xpter : terminal end of short arm (p) of X chromosome

Table 1. Clinical findings of six patients with STS deficiency

Cases No.	Sex	Age	Ichthyosis	Short Stature	Shortening of the extremities	Nasal hypoplasia	CDP	MR	Karyotype
1	Male	3 year	+	-	-	-	nd	-	nd
2	Male	4 year	+	-	-	-	nd	-	nd
3	Male	6 year	+	-	-	-	nd	-	nd
4	Male	7 year	+	-	-	-	nd	-	nd
5	Male	9 year	+	+	+	+	+	-	46,XY
6	Male	2 year	+	+	+	+	nd	+	46, Y, -X, + der(X)t(K;Y)(p22;Q11)

Abbreviations: CDP, Chondrodysplasia punctata; MR, Mental retardation; nd, not done.



Fig. 1. High-resolution GTG-banded sex chromosomes of Case 6. His karyotype was 46, Y, -X, +der(X) t(X;Y)(p22;q11). Arrow indicates a break point of the translocation (Xp22, 33).

材料と方法

1) 対象

魚鱗癬を伴い、酵素学的検索により STS 欠損症と診断された 6 名の男児を対象とした¹⁶⁾。STS 欠損症 6 症例の臨床像を Table 1 に示す。症例 1 から 4 は魚鱗癬単独例である。症例 5 は魚鱗癬以外に低身長、四肢短縮、鞍鼻、chondrodysplasia punctata (CDP) を伴い Conradi 症候群と考えられた。染色体核型は 46, XY の正常核型を示し、高精度分析による検索でも X 染色体短腕の欠失は認められなかった。症例 6 は、46, Y, -X, +der(X) t(X;Y) (p22; q11) の核型を

Table 2. Steroid sulfatase (STS) activity in mononuclear leukocytes¹⁸⁾

	STS activity (pmol DHEAS/h/mg protein)*		
	Patient	Father	Mother
Case 1	0	nd	100
Case 2	0	184	148
Case 3	0	141	30
Case 4	0	nd	61
Case 5	0	nd	110
Case 6	0	nd	188
Control**			
Male	176.8 ± 57.6		
Female	257.9 ± 138.5		

* STS activity was determined by the method of Shapiro, and expressed as product of dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS)²⁴⁾.

** Results were expressed as the mean ± SD from 5 normal male subjects and 5 normal female subjects.

Abbreviation; nd, not done.

示し、低身長、四肢短縮、鞍鼻、知能低下を認めたが、幼少時の検索がなされていないため CDP の有無は不明であった¹⁹⁾。ethidium bromide による高精度分析²⁰⁾の結果を Fig. 1 に示す。

STS 活性の測定は白血球の単核球層を用い、Shapiro らの方法²⁴⁾に準じて行なわれ、Table 2 に示すように全例が検出感度以下であった¹⁸⁾。

2) サザンブロッティング

各症例のヘパリン血 10~15 ml を採取後、その白血球分画より DNA を抽出した¹⁵⁾。この DNA 10 μg を、検索に適した制限酵素により完全に消化し、その後 0.8% アガロースゲル電気泳動により分画して、ナ

イロンフィルターにプロットした¹²⁾。プローブは Xp に存在する DNA断片 (次節参) を ³²P でラベルし, 5×SSC (20×SSC: 3M NaCl, 0.3M trisodium citrate), 50% ホルムアミド, 5× Denhardt's, 20 mM リン酸ナトリウム (pH 6.5), 100 μg/ml サケ精子 DNA, 10% デキストランサルフェートの溶液中で, フィルターと共に 42°C・一昼夜ハイブリダイゼーションを行なった。その後, 2×SSC, 0.1% SDS で15分間2回, 0.2×SSC, 0.1% SDS で15分間1回の洗浄を 65°C で行い, オートラジオグラフィーにて種々の遺伝子の欠損の有無を検討した。

3) プローブ

Table 3 に示すように Xp21-Xpter に存在する10種類の DNA 断片をプローブとして使用した。pD2¹⁶⁾, pXUT23³⁾, 782³⁾, dic56²¹⁾, pTAK10a¹⁾ は X 染色体に特異的な塩基配列である。pSTS76²⁸⁾, M1A¹⁴⁾ も X 染色体に特異的な塩基配列であるが, Y 染色体上にも相同性のある塩基配列が存在する。pSG1⁷⁾, pDP411a²²⁾ そして pDP230²²⁾ はいわゆる pseudoautosomal region¹⁷⁾ に存在し, X, Y 両染色体上にコードされている。

pD2 は Japanese Cancer Research Resources Bank を通じ, pDP230, pDP411a, pSG1, dic56, 782, pXUT23 は American Type Culture Collection を通じて供与を受けた。M1A は Dr. J-L Mandel より, pTAK10a は Dr. T. A. Kruse より, pSTS76 は Dr.

P. H. Yen より供与を受けた。プローブの ³²P によるラベルは, Multi-primeTM (Amersham) を用いた。

結 果

6 症例のサザンプロットの結果を Table 3 に示す。pSTS76 をプローブとした場合, 6 症例全てで X 染色体上にコードされた STS 遺伝子は存在せず, Fig. 2 の矢印に示される 20kb の Y 染色体上の偽遺伝子 (Pseudogene) のバンドのみが認められた。魚鱗癬単独例の症例 1, 2, 3, 4 では, 他の 9 個の全てのプローブに対するバンドが存在し, STS 遺伝子近傍の欠損は認められなかった。症候群合併例の症例 5, 6 では, 2 症例ともにそのゲノム DNA に M1A と pTAK10a が認識する塩基配列を欠いていた (Fig. 3)。さらに, 症例 6 は dic56 に対するバンドの欠損も認められた (Fig. 4)。プローブ 782, pXUT23 そして pD2 を使用した場合, 2 症例ともコントロールと同様のバンドが存在した。また, pSG1 と pDP411a でも 2 症例ともコントロールと同じ塩基長のバンドが認められた。

pDP230 をプローブとして制限酵素 EcoRI で消化した際に症例 5 はコントロールと同じ塩基長のバンドを示したが, 症例 6 では restriction fragment length polymorphism (RFLP) を生じ, 患児のゲノム DNA において母親由来の X 染色体上に存在する pDP230 の塩基配列に対応するバンドの欠損があった (Fig. 5)。

Table 3. Southern blot analysis of DNA from patients with steroid sulfatase deficiency using the cloned segments of the region Xp21-Xpter as probes

locus	Probes	Case 1	Case 2	Case 3	Case 4	Case 5	Case 6
DXS20	pDP230 ^{c)}	+	+	+	+	+	(-X ₁ +Y)*
DXS28	pDP411a ^{c)}	+	+	+	+	+	+
MIC2	pSG1 ^{c)}	+	+	+	+	+	+
DXS31	M1A ^{b)}	+	+	+	+	-	-
DXS89	pTAK10a ^{a)}	+	+	+	+	-	-
STS	pSTS76 ^{b)}	-	-	-	-	-	-
DXS143	dic56 ^{a)}	+	+	±	+	+	-
DXS85	782 ^{a)}	+	+	+	+	+	+
DXS16	pXUT23 ^{a)}	+	+	+	+	+	+
DXS43	pD2 ^{a)}	+	+	+	+	+	+

*:An allelic deletion of a pDP230 locus on the X chromosome.

:+, Presence of DNA sequence; -, absence of DNA sequence.

a):X chromosome specific probe

b):X chromosome specific, Y chromosome homologous probe

c):X, Y chromosome specific probe

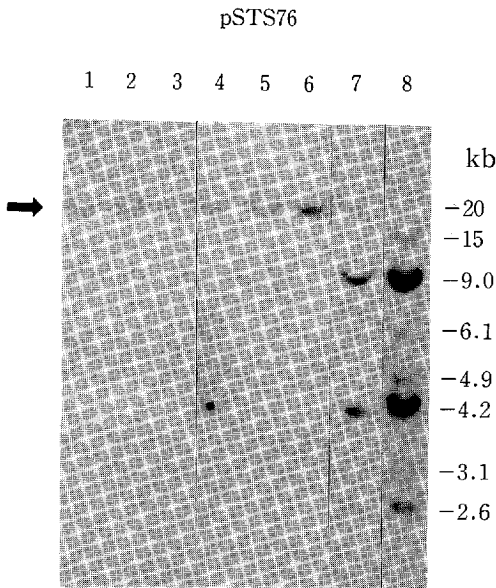


Fig. 2. Analysis for deletions of STS gene. EcoRI digested DNAs from patients were hybridized with pSTS76 probe. Lane 1-6; case 1-6, lane 7; normal male, lane 8; normal female. Arrow indicates a 20 kb fragment hybridized with Y chromosome-encoded pseudogene. Case 1-6 show the signal for Y encoded-pseudogene only.

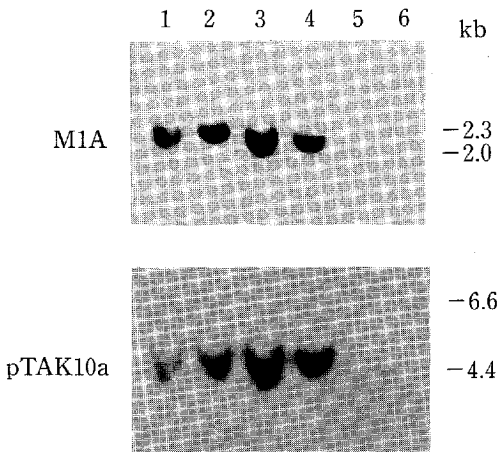


Fig. 3. DNA analysis with M1A and pTAK10a. DNAs from patients were digested by HindIII and hybridized with M1A and pTAK10a probes. No band was detected in case 5 and case 6: lane 1-6; case 1-6.

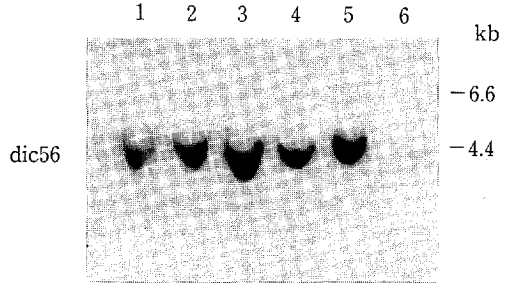


Fig. 4. DNA analysis with dic56. HindIII digested DNAs were hybridized with dic56 probe. Case 6 has no band: lane 1-6; case 1-6.

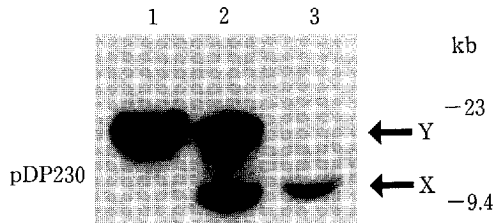


Fig. 5. A southern hybridization of pDP230 probe with EcoRI digested DNAs from the family of case 6. Lane 1; patient, lane 2; father, lane 3; mother. X; X chromosome-encoded segment. Y; Y chromosome-encoded segment.

考 察

本研究では、6例の STS 欠損症患者のゲノム DNA で全例に STS 遺伝子の欠失を認め、日本人症例においても遺伝子欠損が STS 欠損症の主要な原因であることを明らかにした。さらに、症候群合併例では、STS 遺伝子に隣接した遺伝子の欠損も認め (Fig. 6)、複数の遺伝子欠損が多様な症状の発現に関与しているものと考えられた。

以前より、STS の遺伝子座が X-Y recombination の生じやすい pseudoautosomal region の近傍に存在することは知られていた²⁸⁾。また、最近 Y 染色体長腕に STS の偽遺伝子が存在することが報告されている²⁹⁾。これらの結果から、X-Y 交換の結果 STS の遺伝子座の欠損が生ずる可能性が示唆されている。実際、STS 欠損症の症例において STS 遺伝子の欠損を示した報告は多く^{5,6,8,11,28)}、我々の結果も同様であった。遺伝子欠損が STS 欠損症の主要な原因と考えられる。しかし、これまで STS 欠損症を含む症候群が隣接した遺伝子の欠損によるという報告はない。

今回検討した症候群合併例中、症例 5 は高精度染色

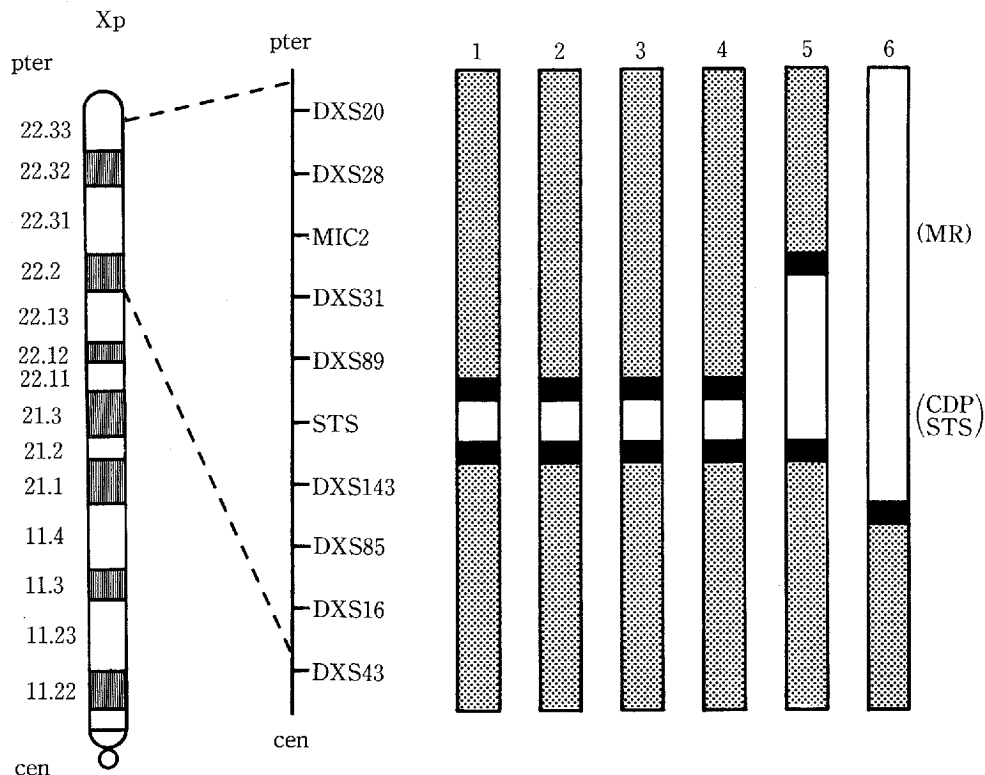


Fig. 6. Location and order of DNA segments used as probes in this study, and ranges of DNA deletions in X chromosome in the six patients. Open bars indicate deletions of DNA segments; shaded bars show the segments where DNA exist; and closed bars mean those undetermined.

体分析で染色体欠失が見つかっておらず、遺伝子解析により STS 遺伝子座 (pSTS76), DXS89 (pTAK10a) そして DXS31 (M1A) の interstitial deletion が判明した。症例 6 の場合、その染色体核型 46, Y, -X, +der(X) t(X; Y)(p22; q11) より患児では X 染色体短腕末端 (Xpter) の欠失が考えられる。遺伝子解析の結果は、転座の切断点より pter 側と考えられる DXS143 から DXS31 までのプローブでバンドの欠損が生じていたが、pseudoautosomal region に存在する MIC2 (pSG1), DXS28 (pDP411a), そして DXS20 (pDP230) ではバンドは存在していた。これらのバンドは Y 染色体上の相同性のある塩基配列を反映していると考えられ、DXS20 では RFLP により X 染色体上の塩基配列の欠損が照明された (Fig. 5)。すなわち、症例 6 の遺伝子欠損の範囲は DXS143 (dic56) から Xpter までの広範な欠損と考えられた。

以上より、この 2 症例の共通の欠損範囲は STS 遺伝子座 (pSTS76), DXS89 (pTAK10a) そして DXS31 (M1A) であった (table 3, Fig. 6)。また、全例におい

て STS 活性は検出感度以下であり、その臨床的特徴の差異を残存した STS 活性の差により説明することは出来なかった。これらの結果から STS 欠損症においても遺伝子欠損の範囲が種々の症状を決定する原因であることが示唆された。さらに共通の遺伝子欠損が低身長、四肢短縮、鞍鼻そしておそらくは CDP を生じさせたものと考えられる。

1984年に Curry ら⁹⁾は高精度分析により Xp22.32 の染色体欠失を伴い、魚鱗癬と CDP を呈した 2 家系の男児例を報告し、CDP の遺伝子座を Xp22.32 にマップしており、このことも今回の結果と一致している。また、知能低下が症例 5 になく、症例 6 には認められるため、症例 6 においては DXS31 (M1A) より遠位端の遺伝子欠損が精神発達遅延に関係しているかもしれない。これらの結果から、STS 遺伝子を含んだ隣接した遺伝子の欠損により種々の症候群が生ずるという仮説が導きだされる。少なくとも STS 欠損症に伴う症候群の一部は Schmickel の提唱する隣接遺伝子症候群²³⁾の範疇に入るものと考えられた。

これまでに, hybridoma を用いた分析や家系調査などによる, STS 遺伝子座を含めた Xp21-Xpter の各遺伝子断片の遺伝子座の配列の報告はあるが²⁰⁾, 未だ確定的なものはない。Wirth ら²⁶⁾ は, その配列を Xcen-DXS9-DXS143-STS/DXS16-DXS89-Xpter とし, Yates ら²⁷⁾ は, Xcen-DXS43-DXS85-DXS143-STS/DXS237-XG-Xpter としている。また, Ahrens ら¹⁾ は, DXS89 が pseudo-autosomal region の近傍にあることを報告しており, 我々の検討でも症候群合併例の2例で STS 遺伝子座とともに DXS89 の欠損を認めた。今回の症例の遺伝子欠損パターンとこれまでの報告から, 本実験で用いた Xp21 から Xpter に存在する遺伝子断片の配列は次のように考えられた: Xcen-DXS43-DXS16-DXS85-DXS143-STS-DXS89/DXS31-MIC2-DXS28-DXS20-Xpter (Fig. 6)。

近年, DMD (Duchenne muscular dystrophy) や慢性肉芽腫症をはじめとしてX染色体上の遺伝子がクローニングされ, その病因が解明されつつある。今回の検討では, STS 欠損症においてX染色体の遺伝子欠損範囲の多様性が症状の多様性に関与している所見を得たが, 今後はX染色体の詳細な遺伝子地図の作成や CDP などの遺伝子のクローニングのためにも, これらの症例での研究の集積が必要と思われる。

謝 辞

本稿を終わるに臨み本論文の御指導, 御校閲を賜った広島大学医学部小児科学教室・上田一博教授に深甚なる謝意を表します。また, 本研究遂行にあたり, 直接御指導いただいた同教室の増田裕行先生, 多くの御助言, 御協力を戴いた佐倉伸夫先生, 松本隆彦先生に感謝の意を表します。貴重な検体(症例6)をいただきました熊本大学医学部発達小児科学教室・松本知明先生, 症例6の高精度染色体分析を施行していただいた長崎大学医学部附属原爆後障害研究施設先天異常部門・原田直樹先生, プローブを御供与戴いた Dr. T. A. Kruse, Dr. P. H. Yen, Dr. J-L. Mandel および Japanese Cancer Research Resources Bank に感謝します。

参 考 文 献

- Ahrens, P., Albertsen, H., Vestergaard, R., Bolund, L. and Kruse, T.A. 1985. Anonymous X-chromosomal probes revealing DNA polymorphisms one of which is a deletion of more than 3kb. *Cytogenet. Cell. Genet.* 40: 567.
- Andria, G., Ballabio, A., Parenti, G., Di Maio, S. and Piccirillo, A. 1984. Steroid sulphatase deficiency is present in patients with the syndrome 'ichthyosis and male hypogonadism' and with 'Rud syndrome'. *J. Inher. Metab. Dis.* 7(Suppl. 2):159-160.
- Bakker, E., Hofker, M. H., Goor, N., Mandel, J. L., Wrogemann, K., Davies, K. E., Kunkel, L. M., Willard, H. F., Fenton, W. A., Sandkuyl, L., Majool-Krakauer, D., Essen, A. J. v., Jahoda, M. G. J., Sachs E. S., van Ommen, G.J.B. and Pearson, P.L. 1985. Prenatal diagnosis and carrier detection of Duchenne muscular dystrophy with closely linked RFLPs. *Lancet* 1:655-658.
- Ballabio, A., Sevestio, G., Carrozzo, R., Parenti, G., Piccirillo, A., Persico, M. and Andria, G. 1987. Deletions of the steroid sulphatase gene in "classical" X-linked ichthyosis and in X-linked ichthyosis associated with Kallmann syndrome. *Hum. Genet.* 77: 338-341.
- Ballabio, A., Parenti, G., Carrozzo, T., Sebastio, G., Andria, G., Buckle, V., Fraser, N., Craig, I., Rocchi, M., Romeo, G., Jobsis, A.C. and Persico, M.G. 1987. Isolation and characterization of a steroid sulfatase cDNA clone: genomic deletions in patients with X-chromosome-linked ichthyosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:4519-4523.
- Bonifas, J. M., Morley, B. J., Oakey, R. E., Kan, Y.W. and Epstein, E.H. Jr. 1987. Cloning of a cDNA for steroid sulfatase: Frequent occurrence of gene deletions in patients with recessive X-chromosome-linked ichthyosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84: 9248-9251.
- Buckle, V., Mondello, C., Darlind, S., Craig, I.W. and Goodfellow, P.N. 1985. Homologous expressed genes in the human sex chromosome pairing region. *Nature* 317: 739-741.
- Conary, J. T., Lorkowski, G., Schmidt, B., Pohlmann, R., Nagel, G., Meyer, H. E., Krentler, C., Cully, J., Hasilik, A. and von Figura, K. 1987. Genetic heterogeneity of steroid sulfatase deficiency revealed with cDNA for human steroid sulfatase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 144:1010-1017.
- Curry, C. J. R., Magenis, R. E., Brown, M., Lanman, J. T. Jr, Tsai, J., O'Laigue,

- P., Goodfellow, P., Mohandas, T., Bergner, E.A. and Shapiro, L.J. 1984. Inherited chondrodysplasia punctata due to a deletion of the terminal short arm of an X chromosome. *N. Engl. J. Med.* 311: 1010-1015.
10. Drayna, D. and White, R. 1985. The genetic linkage map of the human X chromosome. *Science* 230:753-758.
11. Gillard, E. F., Affara, N. A., Yates, J. R. W., Goudie, D. R., Lambert, J., Aitken, D.A. and Ferguson-Smith, M. A. 1987. Deletion of a DNA sequence in eight of nine families with X-linked ichthyosis (steroid sulphatase deficiency). *Nucleic Acids Res.* 15:3977-3985.
12. 羽田 明, 續 照久 1987. サザンプロット法による遺伝性疾患のDNA診断. *実験医学* 5: 1035-1040.
13. Hofker, M. H., Wapenaar, M. C., Goor, N., Bakker, E., van Ommen, G.J.B. and Pearson, P.L. 1985. Isolation of probes detecting restriction fragment length polymorphisms from X chromosome-specific libraries: Potential use for diagnosis of Duchenne muscular dystrophy. *Hum. Genet.* 70:148-156.
14. Koenig, M., Camerino, G., Heilig, R. and Mandel, J.L. 1984. A DNA fragment from the human X chromosome short arm which detects a partially homologous sequence on the Y chromosomes long arm. *Nucleic Acids Res.* 12:4097-4109.
15. Kunkel, L. M., Smith, K. D., Boyer, S. H., Borgaonkar, D. S., Wachtel, S. S., Miller, O. J., Breg, W. R., Jones, Jr. W. and Rary, M. 1977. Analysis of human Y-chromosome-specific reiterated DNA in chromosome variants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 74:1245-1249.
16. Kunkel, L. M., Tantravahi, U., Eisenhard, M. and Latt, S.A. 1982. Regional localization on the human X of DNA segments cloned from flow sorted chromosomes. *Nucleic Acids Res.* 10: 1557-1578.
17. Levilliers, J., Quack, B., Weissenbach, J. and Petit, C. 1989. Exchange of terminal portions of X- and Y-chromosomal short arms in human XY females. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:2296-2300.
18. 松本隆彦ら (論文作成中)
19. 松本知明ら (論文作成中)
20. Matsumoto, T., Kondoh, T., Yoshimoto, M., Fujieda, K., Matsuura, N., Matsuda, I., Miike, T., Yano, K., Okuno, A., Aoki, Y., Murano, I., Toyota, S., Ohnishi, S. and Niikawa, N. 1988. Complex glycerol kinase deficiency: Molecular-genetic, cytogenetic, and clinical studies of five Japanese patients. *Am. J. Med. Genet.* 31:603-616.
21. Middlesworth, W., Bertelson, C. and Kunkel, L.M. 1985. An RFLP detecting single copy X-chromosome fragment, dic56, from Xp22-Xpter. *Nucleic Acids Res.* 13:5723.
22. Page, D. C., Bieker, K., Brown, L. G., Hinton, S., Leppert, M., Lalouel, M., Nystrom-Lahti, M., Chapelle, A. L. and White, R. 1987. Linkage, physical mapping and DNA sequence analysis of pseudoautosomal loci on the human X and Y chromosomes. *Genomics* 1:243-256.
23. Schmickel, R.D. 1986. Contiguous gene syndromes: A component of recognizable syndromes. *J. Pediatr.* 109:231-241.
24. Shapiro, L. J., Cousins, L., Fluharty, A. L., Stevens, R.L. and Kihara, H. 1977. Steroid sulfatase deficiency. *Pediatr. Res.* 11: 894-897.
25. Shapiro, L. J., Weiss, R., Buxman, M. M., Vidgoff, J., Dimond, R. L., Roller, J.A. and Wells, R.S. 1978. Enzymatic basis of typical X-linked ichthyosis. *Lancet* 2: 756-757.
26. Wirth, B., Herrmann, F. H., Neugebauer, M., Wulff, K., Kruse, T., Ropers, H.H. and Gal, A. 1987. Fine mapping of the STS gene and the distal Xp. *Cytogenet. Cell. Genet.* 46:718.(abstr)
27. Yates, J. R. W., Goudie, D. R., Gillard, E. F., Aitken, D. A., Affara, N. A., Clayton, J. F., Tippett, P.A. and Ferguson-Smith, M.A. 1988. Linkage of steroid sulphatase to distal Xp markers. *Cytogenet. Cell. Genet.* 46:724. (abstr)
28. Yen, P. H., Allen, E., Marsh, B., Mohandas, T., Wang, N., Taggart, R.T. and Shapiro, L.J. 1987. Cloning and expression of steroid sulfatase cDNA and the frequent occurrence of deletions in STS deficiency: Implications for X-Y interchange. *Cell* 49: 443-454.
29. Yen, P. H., Marsh, B., Allen, E., Tsai, S. P., Ellison, J., Connolly, L., Neiswanger, K. and Shapiro, L.J. 1988. The human X-linked steroid sulfatase gene and a Y-encoded pseudogene: Evidence for an inversion of the Y chromosome during primate evolution. *Cell* 55:1123-1135.

Contiguous Gene Syndrome Due to X-Chromosome Deletion

Part I: Contiguous Gene Syndrome Associated with Steroid Sulfatase Deficiency

Shin-ichiro NISHIMURA

Department of Pediatrics, Hiroshima University School of Medicine
(Director: Prof. Kazuhiro UEDA)

We have studied 6 unrelated males affected by steroid sulfatase (STS) deficiency. Four patients had isolated ichthyosis, one patient had ichthyosis associated with chondrodysplasia punctata (Conradi syndrome) and the remaining patient whose karyotype was 46, Y, -X, +der(X) t(X,Y)(p22;q11) represented a phenotype similar to Conradi syndrome. DNAs from these patients were analyzed by Southern blotting using 10 cloned fragments mapped in the Xp21-Xpter region in order to investigate gene deletions. Four patients with isolated ichthyosis only lacked a fragment of STS gene and two patients with complex symptoms had contiguous gene deletions including STS locus with the fragments commonly absent in both patients being STS locus (pSTS76), DXS89(pTAK10a) and DXS31(M1A). These data suggest that the observed wide spectrum of clinical manifestations of STS deficiency results from contiguous gene deletions.

X染色体における隣接遺伝子症候群に関する研究 第二編 Glycerol kinase deficiency を伴う隣接遺伝子症候群

西 村 真 一 郎

広島大学医学部小児科学教室 (主任: 上田一博教授)

受付 平成1年9月9日
受理 平成1年11月8日

白血球 glycerol kinase 活性の低下と congenital adrenal hypoplasia (AHC) を認める complex glycerol kinase deficiency (CGKD) 4例において, X染色体短腕の遺伝子欠損の範囲を同定した。Duchenne muscular dystrophy (DMD) 様ミオパチーは1例に認め, 他の1例は臨床症状はないが, 筋生検により非特異的ミオパチーの組織所見が得られた。残りの2例は同胞例であり, 筋症状がないため筋生検は施行されていない。Xp21 に存在する遺伝子断片をプローブとしたサザンブロット法による解析では, DMD 様ミオパチー合併例で DMD 遺伝子の一部の欠損を認め, 非特異的ミオパチー合併例では DMD 遺伝子座近傍の DXS67 (pB24), DXS28(C7), DXS68 (L1-4) の遺伝子欠損が存在した。同胞例は, 遺伝子欠損を証明できなかった。これらの結果より, GKD と AHC の遺伝子座は Xcen-(DMD)-(GKD/AHC)-DXS68-Xpter となった。また, CGKD においては DMD 様ミオパチーを含めた症状発現の多様性が染色体欠損範囲の多様性に関連していることが示唆された。

Key words: 隣接遺伝子症候群, Glycerol kinase deficiency, サザンブロット法

高精度分染法の導入以来, 微細な染色体異常の存在が判明し, 従来不明であった先天性異常症の原因の多くが染色体欠失に起因することが明らかとなってきた。1986年, Schmickel により提唱された隣接遺伝子症候群 (contiguous gene syndrome) は, 染色体異常を示した部位に複数の遺伝子が隣接して存在し, 染色体異常 (主として染色体欠失) のため当該遺伝子群が欠落して生ずる症候群である¹⁶⁾。現在までに, 微細な染色体異常に由来する10内外の疾患が報告され, その一部は遺伝子レベルでの検討もなされている¹¹⁾。

complex glycerol kinase deficiency (CGKD) も隣接遺伝子症候群のひとつと考えられ, これは glycerol kinase deficiency (GKD), congenital adrenal hypoplasia (AHC), mental retardation および Duchenne muscular dystrophy (DMD) 様ミオパチーを呈するX連鎖劣性遺伝疾患である⁵⁾。CGKD の患者では染色体分析でしばしばX染色体 p21 付近の欠失を認め, 遺伝子レベルでのX染色体 p21 の欠損例の報告もあることにより GKD と AHC の遺伝子座は Xp21.2 にマップされている⁵⁾。しかし, 未だ

Alphabetical list of abbreviations in the text

- AHC : congenital adrenal hypoplasia
BMD : Becker muscular dystrophy
CGKD : complex glycerol kinase deficiency
CPK : creatin phosphokinase
DMD : Duchenne muscular dystrophy
GKD : glycerol kinase deficiency
MR : mental retardation
Xcen : centromere of X chromosome
Xpter : terminal end of short arm (p) of X chromosome

glycerol kinase (GK) 遺伝子自体の cDNA クローニングはなされていない。また最近, DMD 遺伝子座が GKD と AHC の遺伝子座の近傍に存在することが明らかとなり, CGKD に合併する DMD 様ミオパチーへの DMD 遺伝子の関与も判明しつつある³⁾。

今回, 我々は DMD 様ミオパチー合併例・非合併例を含む CGKD4 例において, DMD 遺伝子を含めた Xp21 に存在する遺伝子断片をプローブとしてサザンブロッティング法により, その遺伝子欠損の範囲を同定し, 症状発現との関係について検討したので報告する。

材料と方法

1) 対象

白血球 glycerol kinase 活性の検索により, GKD と診断された男児 4 例を対象とした。CGKD4 例の臨床像を Table 1 に示す。症例 1 は, 4 歳時に嘔吐・意識障害などの副腎機能不全症状で発症し, 血中 Na, Cl 低値, K 軽度高値, 血中 ACTH 異常高値, 尿中および血中 glycerol 異常高値などの検査所見より GKD が疑われた。白血球の glycerol kinase 活性は, 約 5% と著明に低値であり, GKD と診断された。血中 creatin phosphokinase (CPK) の上昇はなかったが, 筋生検では一部繊維の硝子化を認め, 非特異的ミオパチーの所見を呈していた。現在, 言語発達の遅延が認められている。また, 染色体核型は 46, XY で, 高精度分析でも Xp の欠損部位は認められなかった⁹⁾。症例 2 も, 5 歳時に副腎機能不全症状にて発症し, 白血球 glycerol kinase 活性の低値より GKD と診断された。軽度の精神発達遅延がある。症例 3 は症例 2 の同胞例で, 出生前より母体尿中エストリオールの低値が指摘されており, GKD が疑われていた。生後の検索で, 白血球 glycerol kinase 活性の低下が認

められた。2 歳現在では精神発達遅延は認められてない。症例 2, 3 ともに CPK は正常であり筋生検はなされていない。また, 高精度分析によっても染色体上 Xp の欠損はなかった。症例 4 は, 生後 3 週間で色素沈着と体重増加不良のため入院した。入院時の検査所見は, 血中 Na, Cl 低値, K 高値, 血中 ACTH 高値, 血中 CPK 異常高値, 尿中および血中 glycerol 異常高値を示した。白血球 glycerol kinase 活性は対照の約 1% であり GKD と診断された。4 カ月時の筋生検では, 筋ジストロフィーを示唆する所見を得た。染色体上 Xp の欠損は認められなかった。

2) サザンブロッティング

各症例よりヘパリン血 10~15 ml を採取後, その白血球分画より DNA を抽出した¹²⁾。さらに DNA 10 μ g を検索に適した制限酵素により完全消化し, 0.8% アガロースゲル電気泳動により分画して, サザンブロッティング法⁷⁾によりナイロンフィルターに DNA を移しとった。ハイブリダイゼーションは Xp に存在する DNA 断片を³²P でラベルしプローブとして, 5 \times SSC (20 \times SSC: 3M NaCl, 0.3M trisodium citrate), 50%ホルムアミド, 5 \times Denhardt's, 20mM リン酸ナトリウム (pH6.5), 100 μ g/ml サケ精子 DNA, 10%デキストランサルフェートの溶液中で, 42 $^{\circ}$ C \cdot 1 昼夜行なった。その後, 洗浄を 2 \times SSC, 0.1% SDS で 15 分間 2 回, 0.2 \times SSC, 0.1% SDS で 15 分間 1 回の 65 $^{\circ}$ C で行い, オートラジオグラフィーにて種々の遺伝子の欠損の有無を検討した。

3) プローブ

今回の検討では, Xp21 に存在する 14 種類の DNA 断片 (Table 2) をプローブとして使用した。pD2, p99-6, pB24, C7, L1-4, J66-HI, p20, J-Bir, 754 は X-染色体に特異的なゲノム DNA である¹⁴⁾。cDMD シリーズは, Koenig ら¹⁰⁾によりクローニングされた

Table 1. Clinical findings of four patients with CGKD

Cases No.	Sex	Age	GK activity*	CPK activity (IC/l)	Histology of muscle	ACTH (pg/ml)	MR
1	Male	8 year	0.239	50	NM	1,600	+
2	Male	7 year	0.132	63	nd	656	±
3	Male	2 year	0.032	75	nd	570	-
4	Male	9 month	0.087	7,490	MD	320	-

* Glycerol kinase activity in leukocytes shown as nmol/h/mg protein.

Normal GK activity was 4.125 \pm 1.817 nmol/h/mg protein (mean \pm SD).

Abbreviations: CGKD, complex glycerol kinase deficiency; MR, mental retardation; MD, muscular dystrophy; NM, non-specific myopathy; nd, not done. CPK, creatin phosphokinase

DMD 遺伝子の cDNA をサブクローニングしたもので、対応する mRNA の 5' 末端から順に cDMD1, 2, …, 14 となっている。これらの遺伝子座の染色体上の配列順は、これまでの報告より^{5,6,14)} Table 2, Fig. 3 のように考えられ、上から順に X 染色体短腕の terminal end (Xpter) から centromere (Xcen) に配列してある。pD2, p99-6 は Japanese Cancer Research Resources Bank から、cDMD シリーズ、pB24, 754 は American Type Culture Collection から供与を受けた。C7 は Dr. J-L Mandel より、J-Bir, L1-4 は Dr. L. M. Kunkel より、p20, J66-HI は Dr. E. Bakker より供与を受けた。プローブの³²P によるラベルは、Multiprime™ (Amersham) を用いた。

結 果

4 症例のサザンプロットの結果を Table 2 に示す。症例 1 は筋生検では非特異的ミオパチーを示すものの臨床的に DMD 様ミオパチー症状がないが、そのゲノム DNA は、B24, C7, L1-4 をプローブとした場合にバンドの欠失が認められた (Fig. 1; a, b, c)。しかし cDMD 11, 12a, 12b-14 などの DMD 遺伝子を含めた他のプローブでは遺伝子の欠損はなかった (Fig. 2; a, b, c)。DMD 様ミオパチーを伴わない同胞例の症例 2・3 は、今回用いた全てのプローブに対してバンドが存在していた (Fig. 1, 2)。しかし、筋生検像・臨床像ともに DMD 様ミオパチーを呈する症例 4 においては、DMD 遺伝子である cDMD11, 12a,

12b-14 の範囲での遺伝子の完全欠損が認められた (Fig. 2; a, b, c)。さらに、近傍の cDMD9-10 や cDMD10 に対応したゲノム DNA である J66-HI (DXS268) をプローブとした場合には、遺伝子の欠損は認められず、遺伝子欠損の Xcen 側の切断点は cDMD10 と cDMD11 の間のイントロン領域と考えられた。DMD 遺伝子座より Xpter 側の pB24 (DXS67), C7 (DXS28), L1-4 (DXS68) をプローブとした場合、いずれもバンドの欠損はなかった (Fig. 1; a, b, c)。よって Fig. 3 の 4 に示すように症例 4 の染色体欠損領域は cDMD10 近傍から DXS68 の近傍までと考えられる。

考 察

今回検討した 4 例では、サザンプロット法により 2 例に Xp21 の部分に遺伝子欠損を認め (Fig. 3), その内 DMD 様ミオパチー合併例の症例 4 では欠損範囲が DMD 遺伝子座に達していた。また、筋生検上非特異的ミオパチーを伴う症例 1 の場合、DMD 遺伝子座の欠損は認めないもののごく近傍の遺伝子である DXS67 (pB24), DXS28 (C7), DXS68 (L1-4) の欠損が存在していた。これらのことは、染色体欠損の範囲に多様性はあるものの CGKD に伴う DMD 様ミオパチーの症状発現には DMD 遺伝子が深く関与していることを示している。

またこれまでの報告では、mental retardation (MR) を伴わない CGKD4 例で Xp21 の遺伝子の欠

Table 2. Southern blot analysis of DNA from patients with CGKD using the cloned segments of the region Xp21 as probes

Locus	Probes	Case 1	Case 2	Case 3	Case 4
DXS43	pD2	+	+	+	+
DXS41	p99-6	+	+	+	+
DXS67	pB24	-	+	+	+
DXS28	C7	-	+	+	+
DXS68	L1-4	-	+	+	+
DMD	cDMD12b-14	+	+	+	-
DMD	cDMD12a	+	+	+	-
DMD	cDMD11	+	+	+	-
DXS268	J66-HI	+	+	+	+
DMD	cDMD9-10	+	+	+	+
DMD	cDMD8	+	+	+	+
DXS269	p20	+	+	+	+
DXS270	J-Bir	+	+	+	+
DXS84	754	+	+	+	+

: +, Presence of DNA sequence; -, absence of sequence.

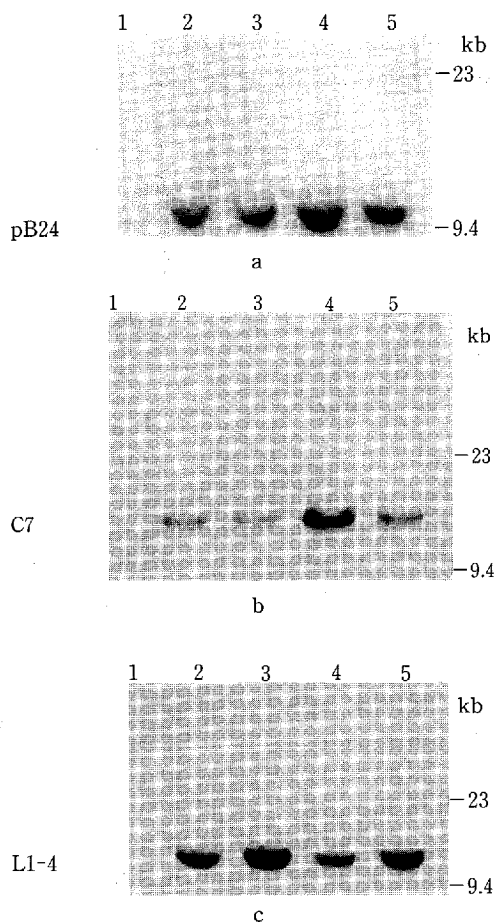


Fig. 1. Southern blot analysis of DNAs from patients with complex glycerol kinase deficiency.: lanes 1-4; Cases 1-4, lane 5; normal male. (a): Pst I digested DNAs were hybridized with pB24 probe. (b): EcoR I digested DNAs were hybridized with C7 probe. (c): EcoRI digested DNAs were hybridized with L1-4 probe. Case 1 had no bands with each probe.

損が証明されておらず^{3,14)}, GKD, AHC 遺伝子座の近傍に存在する遺伝子の欠損が MR の発現に深く関与していると考えられている。今回の症例では、遺伝子欠損の証明できなかった症例 2, 3 に比べ、推定される GKD, AHC 遺伝子座より Xpter 側の遺伝子欠損を認める症例 1 で知能低下の程度はより強かった。さらに GKD, AHC 遺伝子座より Xcen 側の DMD 遺伝子座の欠損を伴う症例 4 においては MR は明らかでなく、一般に DMD 遺伝子の欠損が認められる DMD 症例でも MR の合併は少ない。これらの症例

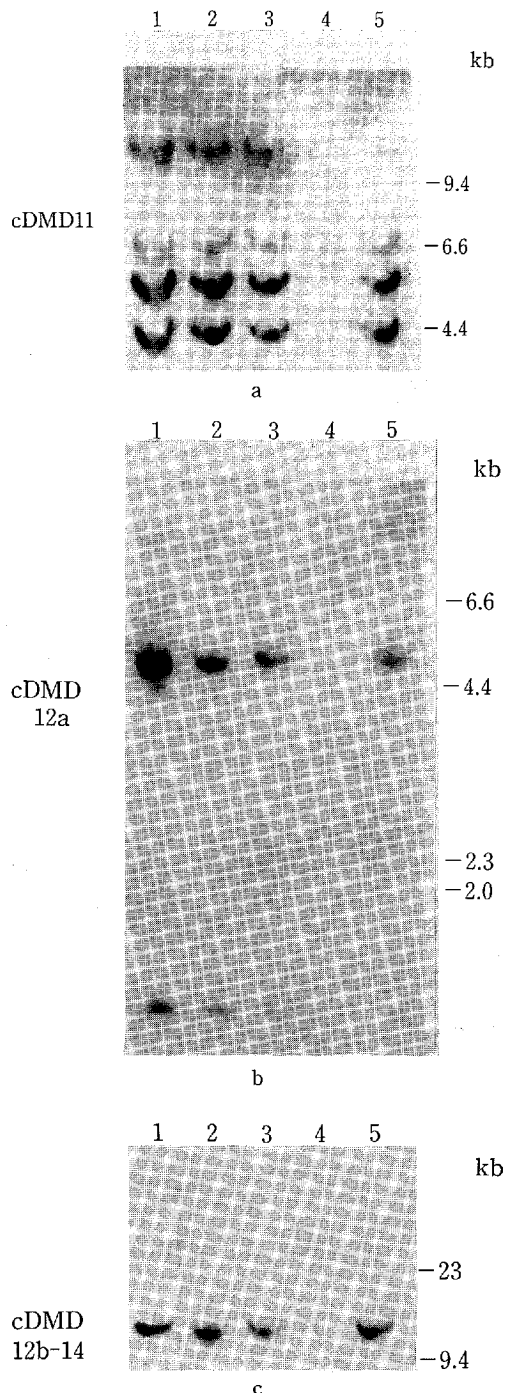


Fig. 2. Analysis for deletions of DMD genes.: lanes 1-4; Cases 1-4, lane 5; normal male. (a): Pvu II digested DNAs were hybridized with cDMD 11 probe. (b): Msp I digested DNAs were hybridized with cDMD 12a probe. (c): EcoRI digested DNAs were hybridized with cDMD 12b-14 probe. No signals were observed with cDMD 11, 12a and 12b-14 in Case 4.

から、CGKD に合併する MR の症状発現には GKD, AHC 遺伝子座より Xpter 側の遺伝子欠損が重要であることが示唆される。以上より、CGKD 症例における症状発現の多様性は、その遺伝子欠損範囲の多様性に起因すると考えられる。

1987年の Francke の報告以来、CGKD での遺伝子欠損に関する報告が増えつつある^{1,13,14}。当初は、GKD と AHC の遺伝子座は DXS68 (L1-4) と DXS270 (J-Bir) との間に存在すると考えられた⁵。しかし、その後 DMD 遺伝子の cDNA クローニングによりその cDNA の全塩基配列が決定され、DMD 患児で欠損していた遺伝子断片である DXS270 は DMD 遺伝子内に存在することが明らかとなった⁶。また、DMD 様ミオパチー合併の CGKD 症例は DMD 遺伝子座内の欠損を認めるが、非合併例は DMD 遺伝子座内の欠損を認めないとの報告や³,

AHC 単独例では GKD と AHC の合併例に比べて Xcen 側の遺伝子の欠損範囲が小さいとの報告^{4,17} などより、現在では GKD と AHC の遺伝子座は次のように考えられている：Xcen-(DMD)-(GKD)-(AHC)-DXS68-DXS28-Xpter⁴。今回、遺伝子の欠損を認めた 2 例も欠損範囲が重複する可能性のある部分は DMD 遺伝子座と DXS68 の間であり (Fig. 3)、この配列順に一致している。最近では、pulse field gel electrophoresis により遺伝子欠損の範囲を同定しようとする試みもなされており、一部の症例では欠損範囲同定の報告もある^{2,4}。しかし、今回の検討では glycerol kinase 自体の遺伝子を使用していないため、これらの遺伝子欠損が glycerol kinase 以外の遺伝子の調節・制御の異常から間接的に GKD を生じさせた可能性も否定できない。さらに、現時点では DMD 遺伝子座と DXS68 の間の塩基長も不明であり、現在

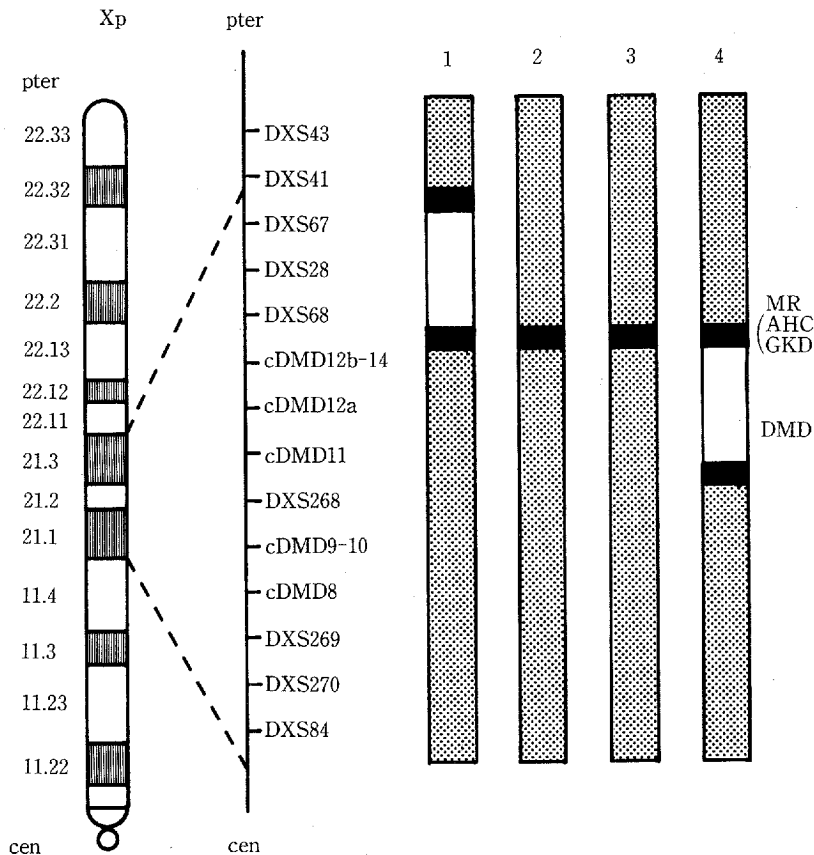


Fig. 3. Location and order of DNA segments used as probes in this study, and ranges of DNA deletions in X chromosome in the four patients. Open bars indicate deletions of DNA segments; shaded bars show the segments where DNA exist; and closed bars mean those undetermined.

使用されているプローブでは欠損の証明が困難な症例も存在することより, すべての CGKD 症例が隣接した遺伝子の欠損によるのかどうかは, glycerol kinase 自体の遺伝子座の決定とともに今後の課題である。

Koenig らによりクローニングされた DMD 遺伝子の cDNA (cDMD1-14) は全長 14 Kb であり¹⁰⁾, その後 dystrophin という蛋白をコードしていることが判明した⁸⁾。この cDNA を用いた遺伝子解析により, DMD および Becker muscular dystrophy (BMD) の約60%に遺伝子の欠損を証明でき, その内の90%は cDMD1-2a, 7あるいは8で傑出できるという⁶⁾。また, cDND12-14 の欠損は DMD や BMD では非常に希であり, 遺伝子の欠損範囲と重症度との相関はなかった⁶⁾。ところが, DMD 様ミオパチーを伴う CGKD では欠損部位は GKD や AHC の遺伝子座の近傍と考えられる cDMD14 より Xcen 側の cDMD1 の方向に向かって広がり¹⁵⁾, その欠損範囲は重症度と相関しているとの報告がなされた³⁾。このことは, 同じ DMD 遺伝子の異常に起因しても, DMD や BMD と CGKD に伴う DMD 様ミオパチーでは遺伝子レベルにおける多様性が存在し, CGKD に伴う DMD 様ミオパチーは隣接した遺伝子の欠損の結果であることを示唆している。しかし一方で, DMD 様ミオパチーを合併した CGKD 例の中でも近傍の DXS68 までの欠損は存在しても, cDMD14 の領域に欠損が認められない症例も存在する¹⁴⁾。この症例が, DMD 遺伝子の point mutation や遺伝子発現の調節・制御の異常によるものかどうかは現在のところ不明である。

本研究では, CGKD4 例で遺伝子欠損の範囲を同定し, 症状の多様性が遺伝子座の欠損範囲の多様性に関与する所見を得た。しかし, 現在の方法では遺伝子欠損の見つからない例の原因の究明や DMD 遺伝子の発現との関係, さらには GKD や AHC の遺伝子そのもののクローニングのためにも今後これらの症例での詳細な検討が必要であると考えられる。

謝 辞

本稿を終るに臨み本論文の御指導, 御校閲を賜った広島大学医学部小児科学教室・上田一博教授に深甚なる謝意を表します。また, 本研究遂行にあたり, 直接御指導いただいた同教室の増田裕行先生, 多くの御助言, 御協力を戴いた佐倉伸夫先生, 松本隆彦先生に感謝の意を表します。貴重な検体(症例4)をいただきました大垣市民病院小児科・安田寛二先生, プローブを御供与戴いた Dr. E. Bakker, Dr. L. M. Kunkel, Dr. J-L. Mandel および Japanes Cancer Research

Resources Bank に深謝します。

参 考 文 献

1. Borresen, A. L., Hellerud, C., Moller, P., Sovik, O. and Berg, K. 1987. Prenatal diagnosis of glycerol kinase deficiency associated with a DNA deletion on the short arm of the X-chromosome. *Clin. Genet.* 32:254-259.
2. Chelly, J., Marlhens, F., Dutrillaux, B., Van Ommen, G. J., Lambert, M., Haioun, B., Boissinot, G., Fardeau, M. and Kaplah, J. C. 1988. Deletion proximal to DXS68 locus (L1 probe site) in a boy with Duchenne muscular dystrophy, glycerol kinase deficiency, and adrenal hypoplasia. *Hum. Genet.* 78:222-227.
3. Darras, B. T. and Francke, U. 1988. Myopathy in complex glycerol kinase deficiency patients is due to 3' deletions of the dystrophin gene. *Am. J. Hum. Genet.* 43:126-130.
4. Davies, K. E., Patterson, M. N., Kenwrick, S. J., Bell, M. V., Sloan, H. R., Westman, J. A., Elsas II, L. J. and Mahan, J. 1988. Fine mapping of glycerol kinase deficiency and congenital adrenal hypoplasia within Xp21 on the short arm of the human X chromosome. *Am. J. Med. Genet.* 29:557-564.
5. Francke, U., Harper, J. F., Darras, B. T., Cowan, J. M., McCabe, E. R. B., Kohlschutter, A., Seltzer, W. K., Saito, F., Goto, J., Harpey, J-P. and Wise, J. E. 1987. Congenital adrenal hypoplasia, myopathy, and glycerol kinase deficiency: Molecular evidence for deletion. *Am. J. Hum. Genet.* 40:212-227.
6. Liechti-Gallati, S., Koenig, M., Kunkel, L. M., Frey, D., Boltshauser, E., Schneider, V., Braga, S. and Moser, H. 1989. Molecular deletion patterns in Duchenne and Becker type muscular dystrophy. *Hum. Genet.* 81:343-348.
7. 羽田 明, 續 照久 1987. サザンプロット法による遺伝性疾患の DNA 診断. *実験医学* 5: 1035-1040.
8. Hoffman, E. P., Brown, Jr., R. H. and Kunkel, L. M. 1987. Dystrophin: The product of the Duchenne muscular dystrophy locus. *Cell* 51:919-928.
9. 河原信彦, 田辺明男, 佐藤 貴, 佐倉伸夫, 山口清次, 安田寛二 1987. 副腎皮質機能不全および

- 言語発達遅延を示して、尿有機酸分析で診断されたグリセロールキナーゼ欠損症の1例。代謝 25 : 69-75.
10. **Koenig, M., Hoffman, E. P., Bertelson, C. J., Monaco, A. P., Feener, C. and Kunkel, L. M.** 1987. Complete cloning of the Duchenne muscular dystrophy (DMD) cDNA and preliminary genomic organization of the DMD gene in normal and affected individuals. *Cell* 50:509-517.
 11. 近藤達郎, 新川詔夫 1988. 染色体異常の新しい知見. *小児科* 29 : 823-835.
 12. **Kunkel, L. M., Smith, K. D., Boyer, S. H., Borgaonkar, D. S., Wachtel, S. S., Miller, O. J., Breg, W. R., Jones, W. Jr. and Rary, M.** 1977. Analysis of human Y-chromosome-specific reiterated DNA in chromosome variants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 74:1245-1249.
 13. **Marlhens, F., Chelly, J., Kaplan, J. C., Lefrancois, D., Harpey, J. P. and Dutrillaux, B.** 1987. Familial deletion of Xp21.2 with glycerol kinase deficiency and congenital adrenal hypoplasia. *Hum. Genet.* 77:379-383.
 14. **Matsumoto, T., Kondoh, T., Yoshimoto, M., Fujieda, K., Matsuura, N., Matsuda, I., Mikke, T., Yano, K., Okuno, A., Aoki, Y., Murano, I., Toyota, S., Ohnishi, S. and Niikawa, N.** 1988. Complex glycerol kinase deficiency: Molecular-genetic, cytogenetic, and clinical studies of five Japanese patients. *Am. J. Med. Genet.* 31:603-616.
 15. **McCabe, E. R. B., Towbin, J., Chamberlain, J., Baumbach, L., Witkowski, J., van Ommen, G. J. B., Koenig, M., Kunkel, L. M. and Seltzer, W. K.** 1989. Complementary DNA probes for the Duchenne muscular dystrophy locus demonstrate a previously undetectable deletion in a patient with dystrophic myopathy, glycerol kinase deficiency, and congenital adrenal hypoplasia. *J. Clin. Invest.* 83:95-99.
 16. **Schmickel, R. D.** 1986. Contiguous gene syndromes: A component of recognizable syndromes. *J. Pediatr.* 109:231-241.
 17. **Yates, J. R. W., Gillard, E. F., Cooke, A., Colgan, J. M., Evans, T. J. and Ferguson-Smith, M. A.** 1987. A deletion of Xp21 maps congenital adrenal hypoplasia distal to glycerol kinase deficiency. *Cytogenet. Cell Genet.* 46:723-724.

Contiguous Gene Syndrome Due to X-Chromosome Deletion

Part II: Contiguous Gene Syndrome Associated with Glycerol Kinase Deficiency

Shin-ichiro NISHIMURA

Department of Pediatrics, Hiroshima University School of Medicine
(Director: Prof. Kazuhiro UEDA)

Four cases with complex glycerol kinase deficiency were studied to detect gene deletions of X chromosome. They all had congenital adrenal hypoplasia (AHC). By Southern blot analysis, using fourteen DNA fragments of Xp21 region as probes, the case with Duchenne muscular dystrophy (DMD)-like myopathy showed the deletion of the DMD gene, cDMD11, cDMD12a, cDMD12b-14. DXS67 (pB24), DXS28 (C7), DXS68 (L1-4) loci, which were near a DMD locus, were deleted in genomic DNA from the case with non specific myopathy and mental retardation (MR). No gene deletion was demonstrated in the other two cases. Both patients associated with myopathy had deletions of loci including or near a DMD locus. The gene deletion extended to more terminal end of short arm (p) was present in DNA from the patient with MR. These results suggest that the loci of glycerol kinase deficiency (GKD) and AHC may be mapped between DXS68 and a DMD locus; Xcen-(DMD)-(GKD/AHC)-DXS68-Xpter, and that the heterogeneity of symptoms, including GKD, AHC, DMD-like myopathy and MR may be correlated with the extents of gene deletions.