

常染色体優性多発性嚢胞腎患者の分子遺伝学的検討

著者	紺井 一郎
著者別表示	Koni Ichiro
雑誌名	平成10(1998)年度 科学研究費補助金 基盤研究(C) 研究成果報告書
巻	1997-1998
ページ	13p.
発行年	1999-03
URL	http://doi.org/10.24517/00057030



常染色体優性多発性嚢胞腎患者の 分子遺伝学的検討

研究課題番号 09671158

平成9年度～平成10年度科学研究費補助金 (基盤研究(C)(2))

研究成果報告書

平成11年3月

研究代表者 紺井一郎
(金沢大学医学部附属病院助手)

KAKEN
1998
55

はしがき

平成9年度～平成10年度科学研究費補助金(基盤研究(C)(2))を用いて、「常染色体優性多発性嚢胞腎患者の分子遺伝学的検討」を行った。以下にその成果の内容を記載する。

研究組織

研究代表者：紺 井 一 郎(金沢大学医学部附属病院助手)

研究経費

平成9年度	2000千円
平成10年度	700千円
計	2700千円

研究発表

(1) 学会誌等

1. Masami Matsumura, Hideki Nomura, Ichiro Koni and Hiroshi Mabuchi. Angiotensin-converting enzyme inhibitors are associated with need for increased recombinant human erythropoietin maintenance doses in hemodialysis patients. *Nephron* 77:164-168, 1997.
2. Mitsuhiro Kawano, Shinichiro Tsunoda, Ichiro Koni, Hiroshi Mabuchi, Akihiro Yachie and Hidetoshi Seki. Decreased expression of 20-kD homologous restriction factor (HRF20, CD59) on T lymphocyte in Epstein-Barr virus (EBV)-induced infectious mononucleosis. *Clin Exp Immunol* 108:260-265, 1997.
1. 紺井一郎, 荒木英雄, 川野充弘 : 発作性夜間血色素尿症における腎障害. 日本臨床別冊腎臓症候群(下巻):354-356, 1997.
4. Shoichiro Daimon and Ichiro Koni. Glomerular enlargement in the progression of mesangial proliferative glomerulonephritis. *Clin Nephrol* 49:145-152, 1998.
5. Tadashi Konoshita, Kumi Okamoto, Ichiro Koni, Hiroshi Mabuchi and Kanazawa Renal Disease Study Group. Clinical characteristics of polycystic kidney disease with end-stage renal disease. *Clin Nephrol* 50:113-117, 1998.
6. Masami Matsumura, Syuichi Hatakeyama, Ichiro Koni and Hiroshi Mabuchi. Effect of L-carnitine and palmitoyl-L-carnitine on erythroid colony formation in fetal mouse liver cell culture. *Am J Nephrol* 18:355-358, 1998.
7. Mitsuhiro Kawano, Hiroaki Muramoto, Masayo Yamada, Masahiro Minamoto, Hideo Araki, Ichiro Koni, Hiroshi Mabuchi and Akitaka Nonomura. Fetal cardiac beta 2 -microglobulin amyloidosis in patients on long-term hemodialysis. *Am J Kid Dis* 31: 1 - 5 , 1998:E 4 .
8. Shoichiro Daimon, Yoko Mizuno, Susumu Fujii, Keiichi Mukai, Hiroyuki Hanakawa, Orio Otsuki, Shuichiro Yasuhara, Tsutomu Saga and Ichiro Koni. Infective endocarditis-induced crescentic glomerulonephritis dramatically improved by plasmapheresis. *Am J Kid Dis* 32:309-313, 1998.
9. 紺井一郎, 片野健一, 松本洋, 此下忠志, 馬瀨 宏 : 痛風を合併した多発性囊胞腎の1例. 医薬の門研究会記録・特別号 :71-72, 1998.
10. 紺井一郎, 松村正巳 : 腎性貧血. 日本臨床別冊血液症候群 I :401-404, 1998.

(2) 口頭発表

1. Tadashi Konoshita, Hisao Mutoh, Yasukatsu Michishita, Ichiro Koni and Hiroshi Mabuchi. Angiotensin converting enzyme gene polymorphism is involved in the reactive secretion of renin to captopril in chronic renal diseases. 14th International Congress of Nephrology, 1997, May, 25-29.
2. Ichiro Koni, Hiroshi Matsumoto, Tadashi Konoshita, Mitsuhiro Kawano and Hiroshi Mabuchi. Nephropathies of rheumatoid arthritis (RA) :analysis of factors in the progression of end-stage renal failure. 14th International Congress of Nephrology, 1997, May, 25-29.
3. 武藤寿生, 道下泰克, 此下忠志, 紺井一郎, 馬瀨 宏, 金沢臨床腎臓病研究会 : 腎機能障害の進

展にともなう一日血圧および心肥大の検討。第40回日本腎臓学会総会, 1997, May, 14-16.

4. 道下泰克, 武藤寿生, 此下忠志, 紺井一郎, 馬淵 宏: I g A腎症患者の初回腎生検所見と予後の関係およびそれに及ぼすACE遺伝子多型の影響。第40回日本腎臓学会総会, 1997, May, 14-16.
5. 此下忠志, 片野健一, 武藤寿生, 角田慎一郎, 松本 洋, 道下泰克, 岡本久美, 紺井一郎, 馬淵 宏: 腎疾患患者のレニン分泌能に関連する因子について。第40回日本腎臓学会総会, 1997, May, 14-16.
6. 荒木英雄, 宮崎良一, 松田哲久, 角田慎一郎, 川野充弘, 紺井一郎, 馬淵 宏, 須藤弘之, 杉本英弘, 下条文武: 透析患者の胃粘膜病変における Helicobacter pylori 感染の検討。第40回日本腎臓学会総会, 1997, May, 14-16.
7. 川野充弘, 村本弘昭, 武藤寿生, 紺井一郎, 馬淵 宏: CAPD排液中の活性化好中球の検討。第40回日本腎臓学会総会, 1997, May, 14-16.
8. 道下泰克, 野村英樹, 此下忠志, 紺井一郎, 馬淵 宏, 宮崎良一, 村本弘昭: 透析患者におけるアンジオテンシン変換酵素遺伝子多型の検討。第42回日本透析医学会総会, 1997, July, 18-20.
9. Ichiro Koni, Tadashi Konoshita, Yasukatsu Michishita, Hideki Nomura, Hiroshi Mabuchi, Hiroshi Matsumoto, Mitsuhiro Kawano, Hiroaki Muramoto and Ryoichi Miyazaki. Does angiotensin converting enzyme gene polymorphism influence the development of cardiac events in hemodialysis patients? 35th Congress of European Dialysis and Transplant Association, 1998, June, 6 - 9 .
10. Tadashi Konoshita, Tamehito Onoe, Susumu Kitajima, kenichi Katano, Hisao Mutoh, Hiroshi Matsumoto, Ichiro Koni and Hiroshi Mabuchi. Hyper-responsiveness to captopril test in chronic renal disease with special reference to ACE gene polymorphism. 35th Congress of European Dialysis and Transplant Association, 1998, June, 6-9.
11. Hisao Mutoh, Tadashi Konoshita, Tamehito Onoe, Susumu Kitajima, Hiroshi Matsumoto, Ichiro Koni and Hiroshi Mabuchi. A missense mutation, A156T, in the alpha-galactosidase A gene causes typical Fabry's disease. 35th Congress of European Dialysis and Transplant Association, 1998, June, 6-9.
12. 紺井一郎, 此下忠志, 川野充弘, 松本 洋, 武藤寿生, 片野健一, 北島 進, 小野江為人, 森瀬敏夫, 馬淵 宏: I g A腎症における予後不良例の臨床病理学的検討。第41回日本腎臓学会総会, 1998, May, 11-12.
13. 荒木英雄, 宮崎良一, 松田哲久, 杉本英弘, 下条文武, 川野充弘, 此下忠志, 紺井一郎, 馬淵 宏: 透析患者の胃炎における血清学的 parameter と組織所見の関連について - Helicobacter pylori 感染の影響 - 第41回日本腎臓学会総会, 1998, May, 11-12.
14. 此下忠志, 紺井一郎, 金沢腎疾患研究会: 多発性嚢胞腎の腎機能予後とレニン-アンジオテンシン系遺伝子。第41回日本腎臓学会総会, 1998, May, 11-12.
15. 北島 進, 紺井一郎, 荒木英雄, 馬淵 宏, 竹田正廣, 佐藤 隆, 神谷康夫, 松村正巳: 持続外来腹膜透析患者における血清カルニチンの検討。第43回日本透析医学会総会, 1998, May, 29-31.
16. 川野充弘, 村本弘昭, 中島昭勝, 紺井一郎, 馬淵 弘: 長期透析患者剖検例における心アミロイドーシスの検討。第43回日本透析医学会総会, 1998, May, 29-31.

(3) 出版物

I 研究目的

常染色体優性多発性嚢胞腎 (ADPKD) は、全世界的に最も頻度の高い遺伝性疾患の一つである¹⁾。ADPKD の患者においては、腎臓、肝臓その他の臓器に嚢胞が多発し、過半数の患者が末期腎不全に至り、透析療法あるいは腎移植の適応となる。また、脳動脈瘤、大動脈瘤の破裂や、弁膜症などの合併の頻度も高い。したがって、ADPKD を全身性の疾患と捉える考え方が一般的となっている。

我々はこれまでに、当院及び関連病院に通院中の ADPKD 患者約130名の臨床的検討を行い、学会・論文等で発表してきた²⁾。その結果、全透析患者において ADPKD を原疾患とする患者の占める割合が 5.1% と、ほぼ欧米からの報告と近似していることを確認した。また平均の透析導入時年齢も 52.4 歳であり、こちらも欧米からの報告と大きな差異はない。合併症の中ではやはり脳動脈瘤、大動脈瘤が危険度の高いものとして認識された。

ADPKD の連鎖解析は、従来ポジショナルクローニングの手法として行われてきた歴史がある。Reeders らが³⁾1985年に ADPKD の染色体上の責任領域を第16番染色体短腕にマッピングして以降、当初は主に Southern 解析を用いた制限酵素断片長多型で連鎖解析が行われていた³⁾。1991年に Harris らが初めてこの領域に SM7 および SM5B の 2 種のマイクロサテライトマーカーを見出し、以降特に SM7 が中心に用いられるようになった⁴⁾。さらに1994年、Somlo らによって第2の責任領域が第4番染色体長腕にマッピングされた⁵⁾⁶⁾。

第2の領域のマッピングに先立ち、Parfrey らは第一の領域 (*PKD1*) への連鎖が証明された家系に属する患者群と、連鎖が否定された家系に属する患者群を比較して、遺伝子型-表現型関係分析を行った。この解析により、*PKD1* 群と非 *PKD1* 群では、臨床的に腎機能障害の進行、腎死に到る年齢、合併症の出現等に差がある事がわかっている⁷⁾。

さて、第一の領域 (16 p 13.3) に存在する ADPKD の原因遺伝子 *PKD1*、および第二の領域 (4 q 21-23) に存在する原因遺伝子 *PKD2* は、近年相次いでクローニングされた⁸⁾⁻¹¹⁾。*PKD1* は蛋白への翻訳領域だけでも 12 kb という非常に大きな遺伝子であり、さらにその相補的 DNA の 5' 側 3 分の 2 は、同じ 16 番染色体短腕上に複数のコピーが存在するという大変複雑なゲノム構造をとっている。このため 3' 側の 3 分の 1 を除き、*PKD1* の変異解析は困難を極め、現段階では 5' 側 3 分の 2 内の変異を高感度に同定する方法は事実上存在しない。したがって、*PKD1* に異常がある家系を同定する目的で直接変異解析を行うことは現実的ではなく、連鎖解析を選択すべきと考えられる。

PKD2 遺伝子の翻訳領域は約 2.9 kb で、変異解析に大きな障害となる構造は存在しないが、前述の Parfrey らの報告によれば、非 *PKD1* の家系は多くても ADPKD 全体の 4% 以下とされている。このため、*PKD2* 遺伝子の変異解析を行う上では、こちらも連鎖解析により *PKD2* への連鎖が証明された家系の患者検体に絞って行うことが効率的であることになる。

また *PKD1*、*PKD2* どちらにも連鎖しない家系が存在する事も報告されている¹²⁾⁻¹⁴⁾、確率論的には考えにくいもののこれらの家系内には 2 種以上の独立した *PKD1* ないし *PKD2* の変異が遺伝していると考えられると説明が可能であるとする報告もある¹⁵⁾。当然、非 *PKD1* 非 *PKD2* 家系に属する患者の臨床的特徴等は明らかではない。また、1998年、Nomura らにより、第10番染色体上に *PKD2* と高い相同性を持つ遺伝子 *PKDL* がクローニングされ、非 *PKD1* 非 *PKD2* ADPKD の原因遺伝子 (*PKD3*) の候補

として注目されている¹⁶⁾。何れにせよ、*PKD3*のマッピングおよびクローニングには、*PKD1*および*PKD2*との連鎖解析を行って両者への連鎖が否定される家系を見出すことが必要となる。

以上のような理由から、*PKD1*および*PKD2*がクローニングされた今日、むしろ、ADPKD家系の連鎖解析はその重要性を増していると言える。しかし、ポジショナルクローニングの一環として行われる連鎖解析で用いられるマーカーが、候補領域を少しでも狭めることを目的に疾患遺伝子により近いものが求められたのに対し、既に遺伝子のクローニングが終わった現在では、より感度と高率の良い連鎖解析法の確立が求められている。一般に連鎖解析に用いられる多型性マーカーに求められる特性として、1) 疾患遺伝子との近接性、2) 高いヘテロ接合体性、3) 簡便性が挙げられる。これらの条件を満たす多型性マーカーとしてマイクロサテライトマーカーおよび単一塩基多型(SNP)が挙げられるが、SNPについては現段階では十分にデータベース化されておらず、またマイクロアレイの作成・同定機器も未成熟であることから、マイクロサテライトマーカーが最適の選択と考えられた。

本研究では、特に従来の方法での診断率が低かった*PKD1*に焦点をあてて、連鎖解析法の確立を試みた。

II 研究方法

対 象

各マーカーのヘテロ接合体性を評価するため当地域の血縁関係のない正常者50名を対象とし、その遺伝子型を決定した。得られた100遺伝子型より、各アレルの頻度を算出し、その結果から各マーカーのヘテロ接合体性を計算した。

さらに、発端者が当院ないし関連病院において経過観察されているADPKD家系で、30歳以上で腎嚢胞の存在が確認されているメンバー、腎嚢胞が無いことが確認されているメンバーそれぞれ2名以上を有する3家系を対象としてハプロタイプ解析を行った。

方 法

Cooperative Human Linkage Center (CHLC)のデータベースより、第16番染色体の*PKD1*遺伝子上に存在するマイクロサテライトマーカー1種(UTR__05049__L33243)、*PKD1*遺伝子近傍にマップされており、白人で比較的ヘテロ接合体性が高いとされているマイクロサテライトマーカーの中から、できるだけ*PKD1*遺伝子に近いテロメア側のマーカー2種(D16S521, D16S3024)、セントロメア側のマーカー2種(D16S3027, D16S423)、これに従来より連鎖解析に用いられている*PKD1*遺伝子上の多型マーカーKG8を加えた合計6種のマーカーを検討対象とした。プライマーの塩基配列はゲノムデータベース(GDB)より抽出したものをを用いた。増幅されるバンド長などについての情報もGDBより得た。

PCRのテンプレートには末梢血白血球より分離したゲノムDNAを用いた。プライマーペアのうち一方はFAM, HEXないしTETの各蛍光標識を施した。PCRの温度条件にはタッチダウン法を採用し、全てのマーカーを同一の条件で増幅することを試みた。PCR装置にはPE Applied Biosystems社のGeneAmp PCR System Model 9600を使用した。ポリメラーゼにはTaq Gold (PE Applied Biosystems)を採用することで、化学的にホットスタートを行った。PCR産物は自動DNAフラグメント解析機ABI prism

377 (PE Applied Biosystems) および解析ソフトウェア Gene Scan を用いて解析し、遺伝子型を決定した。

ヘテロ接合体性は健常人50名より得た100遺伝子型より各アレルの出現頻度を算出し、各頻度の2乗の総和を1から減じた値として算出した。

ADPKD 家系の連鎖解析では、各家系でハプロタイプ解析も行い、*PKDI* への連鎖の有無を検討した。また、連鎖解析ソフトウェアパッケージである LINKAGE を用いて、各マーカーの各家系における LOD score 表を作成した。

III 研究結果

健常人50名における各アレルの出現頻度を表1に示す。計算された各マーカーのヘテロ接合体性は、UTR__05049__L33243で0.4489, D16S521で0.6658, D16S3024で0.8974, D16S3027で0.8305, D16S423で0.8611, KG8では0.3623であった。*PKDI* 遺伝子上に存在する UTR__05049__L33243およびKG8は、allele 数もそれぞれ3つと少なく、ヘテロ接合体性も低かった。新たに検討したマーカーのうちD16S3024, D16S3027およびD16S423は高いヘテロ接合体性を示した。

ADPKD 3家系のハプロタイプ解析の結果を図1に、LOD score 表を表2に示す。家系Iと家系Tの2家系は*PKDI* と連鎖しているものと考えられ、残る家系Nでは連鎖は否定的であり、全家系で有用な情報が得られた。

IV 考 察

検討対象マーカー選択の妥当性

今回検討の対象としたマイクロサテライトマーカーは、CHLC のデータベースから抽出した。CHLC データベースには種々の多型マーカーの染色体上の位置と、白人におけるヘテロ接合体性のデータが収録されている。マーカーのうち一部は、Genethon によって遺伝学的染色体地図上にマップされた、いわゆるフレームワークマーカーであり、マーカー同士および疾患遺伝子との位置関係がはっきりしている。本研究で用いるマーカーも、可能ならばこの中から選択するのが望ましいものと考え、この条件を満たすマーカーを12種リストアップした。これらの各マーカーについてヘテロ接合体性のデータを抽出した。次にヘテロ接合体性が0.70以上のものの中から、各マーカーがほぼ当間隔に並ぶよう、*PKDI* の遠位側に2種、近位側に2種のマーカーを選択した。

なお、日本人におけるマイクロサテライトマーカーのヘテロ接合体性のデータベースとして、中村らのデータベースがあるが、登録されているマーカーが少なく、*PKDI* 遺伝子近傍のマーカーはD16S423以外含まれていなかった。また、従来より用いられていたマイクロサテライトマーカー SM7およびSM5B は、報告されているヘテロ接合体性がそれぞれ0.627と0.20と低いことから、今回検討対象には加えなかった。

これらのマーカーと *PKDI* 遺伝子との位置関係については、米国の国立生物学情報センターの GeneMap98 に登録されている Radiation Hybrid Map のデータを参考にした。

ヘテロ接合体性の評価

連鎖解析に用いるマイクロサテライトマーカーの条件の一つとして、各個人で同一のアレルが出現

する(ホモ接合体)頻度が少ないこと、および夫婦間で同じアリルを共有する可能性が低いことが挙げられる。すなわち遺伝子型の数が多いほど、各アリルの出現頻度が均一になるほど、情報が得られる可能性が高くなる。これをマーカー毎に数値として表したものにヘテロ接合体性(HET)と、多型情報度(PIC)がある。本研究では、CHLCのデータベースにも採用されているヘテロ接合体性を各マーカー毎に算出した(表1)。

検討したマーカーのうち、D16S3024、D16S3027およびD16S423は、0.80を越える高いヘテロ接合体性を示した。したがってこれらのマーカーは日本人における連鎖解析への有用性が期待された。

実際のADPKD家系へ適応した際の有用性

実際に日本のADPKD3家系を対象とした連鎖解析でも、D16S3024およびD16S423は、家系によって単独でも高いLOD scoreを得ることができた。ハプロタイプ解析では、D16S3024、D16S3027およびD16S423のいずれも有用であった。今回3家系のうち2家系がPKDIに連鎖しているものと診断されたが、さらに多くの家系を検討する際には、D16S3027もLOD score解析においても有用なケースが出現することが期待される。

また、残る1家系においてはPKDIへの連鎖が否定された。この家系は我々の検討でPKD2に連鎖していることを既に確認している。したがって、今回検討された3家系では、全家系においてPKDIへの連鎖の有無を決定することができた。

手技全体の簡便性、再現性の評価

診断率が高いことだけでなく、簡便で再現性の良い連鎖解析法を確立することも、本研究の目的の一つである。

多くのマイクロサテライトマーカーを用いてPCRを行う場合、それぞれのマーカーでPCR条件が異なると、条件の数と同じ回数PCRを行う必要がある。今回の検討では、タッチダウン法とホットスタートを採用することで、全てのマーカーについて同じ条件のPCRを行うことが可能であった。これは大量のサンプルを処理する上では、大変重要な利点となるものと思われる。

また従来の大きなポリアクリルアミドゲルを用いた方法では、電気泳動を行った後、バンドの検出のため放射性同位元素や蛍光を用いるか、またはゲルを直接銀やエチジウムブロマイドで染色する必要があった。今回用いた方法では、電気泳動を行うと同時に、ゲル板の下端にあるセンサーで蛍光を読みとるので、バンドの検出については全て自動的に行われる。また、蛍光の種類は同時にサイズスタンダードを除いて3種類が使用でき、バンドの大きさの異なる組み合わせを併用すれば、最大20の異なるPCR産物を同一のレーンに流すことができる。従って一枚のゲル板で解析できるPCR産物は最大で480に達する。混乱を避けるため我々は1レーンに4種類のサンプルしか流していないが、それでも処理量は従来の方法よりもはるかに多い。

また、サイズスタンダードをサンプルと同じレーンに流しているため、バンドの大きさを正確に測定することが可能であり、別々の電気泳動で得たデータ同士を比較することも容易である。ただし、バンドサイズの決定にはある程度の熟練が必要であった。これはマイクロサテライトを増幅すると、TA overhungの有無による1塩基長違いのバンドや、ポリメラーゼのミスによる2塩基長違いのバンドなどが出現し、これらが本来のバンドとオーバーラップすることや、短いバンドの方がより強く増幅

され、長いバンドはシグナルが弱くなるなどの特有の傾向が存在するためである。TA overhung については、ほぼ100%に overhung がつくようなプライマーデザインを施すなど改善の余地はあるものの、ポリメラーゼはほぼ最良のものを用いており、これらを完全に除去することは困難と考えられる。

V 結 語

常染色体優性多発性嚢胞腎 (ADPKD) の高感度・高出力連鎖解析法を確立した。検討した多型マーカーは 2 塩基繰り返し配列を含むいわゆるマイクロサテライトマーカー 5 種 (D16S521, D16S3024, UTR_05049_L33243, D16S3027, D16S423) で、これらを従来用いられて来たマーカー (KG8) と比較検討した。遺伝子型の同定には、ゲノム DNA を蛍光ラベルしたプライマーを用いて PCR 法で増幅し、自動 DNA フラグメント解析装置で解析した。健常人 50 名の 100 遺伝子型を用いた検討では、D16S3024, D16S3027 および D16S423 はヘテロ接合体性が高く、従来のマーカーに比べ有用性が高いものと考えられた。また ADPKD3 家系を用いた検討でも、D16S3024 および D16S423 は実際に有用であった。

以上より、D16S3024 および D16S423 は日本人における ADPKD の連鎖解析に有用であると結論づけた。また、蛍光プライマーを用いて自動 DNA フラグメント解析装置で解析する方法は従来の方法に比較して簡便に施行でき、大量のサンプルの処理に適した方法であるものと考えられた。本法は、ADPKD の遺伝子型-表現型関係解析、変異解析、非 PKD1 非 PKD2 家系のマッピングおよび原因遺伝子のクローニングなどに際して有力な手段となり得ると推察された。

文 献

- 1) Gabow PA et al. Autosomal dominant polycystic kidney disease. *N Engl J Med* 329:332-342, 1993.
- 2) Konoshita T et al. Clinical characteristics of polycystic kidney disease with end-stage renal disease. The Kanazawa Renal Disease Study Group. *Clin Nephrol* 50:113-117, 1998.
- 3) Reeders ST et al. A highly polymorphic DNA marker linked to adult polycystic kidney disease on chromosome 16. *Nature* 317:542-544, 1985.
- 4) Harris PC et al. Rapid genetic analysis of families with polycystic kidney disease 1 by means of a microsatellite marker. *Lancet* 338:1484-1487, 1991.
- 5) Peters DJM et al. Chromosome 4 localization of a second gene for autosomal dominant polycystic kidney disease. *Nat Genet* 5:359-362, 1993.
- 6) Kimberling WJ et al. Autosomal dominant polycystic kidney disease: localization of the second gene to chromosome 4q13-q23. *Genomics* 18:467-472, 1993.
- 7) Parfrey PS et al. The diagnosis and prognosis of autosomal dominant polycystic kidney disease. *N Engl J Med* 323:1085-1090, 1990.
- 8) European Polycystic Kidney Disease Consortium. The polycystic kidney disease 1 gene encodes a 14 kb transcript and lies within a duplicated region on chromosome 16. *Cell* 77:881-894, 1994.
- 9) Hughes J et al. The polycystic kidney disease 1 (PKD1) gene encodes a novel protein with multiple cell

recognition domains. *Nat Genet* 10:151-160, 1995.

- 10) The International Polycystic Kidney Disease Consortium. Polycystic kidney disease: the complete structure of the PKD1 gene and its protein. *Cell* 81:289-298, 1995.
- 11) Mochizuki T et al. PKD2, a gene for polycystic kidney disease that encodes an integral membrane protein. *Science* 272:1339-1342, 1996.
- 12) de Almeida S et al. Autosomal dominant polycystic kidney disease: evidence for the existence of a third locus in a Portuguese family. *Hum Genet* 96:83-88, 1995.
- 13) Turco AE et al. An Italian family with autosomal dominant polycystic kidney disease unlinked to either the PKD1 or PKD2 gene. *Am J Kidney Dis* 28:759-761, 1996.
- 14) Ariza M et al. A family with a milder form of adult dominant polycystic kidney disease not linked to the PKD1 (16p) or PKD2 (4q) genes. *J Med Genet* 1997 Jul;34:587-589, 1997.
- 15) Peterson AD et al. Is there a third gene for autosomal dominant polycystic kidney disease? *Kidney Int* 54:1759-1761, 1998.
- 16) Nomura H et al. Identification of PKDL, a novel polycystic kidney disease 2-like gene whose murine homologue is detected in mice with kidney and retinal defects. *J Biol Chem* 273:25967-25973, 1998.

表 1A-C マイクロサテライトマーカーのヘテロ接合体性 (1)

表 1A

D16S3024			
Heterozygosity		0.8974	
b.p.	Allele	haplotype 数	Frequency
212	1	3	0.028
214	2	1	0.009
216	3	0	0.000
218	4	2	0.019
220	5	1	0.009
222	6	1	0.009
224	7	0	0.000
226	8	4	0.038
228	9	2	0.019
230	10	10	0.094
232	11	19	0.179
234	12	13	0.123
236	13	15	0.142
238	14	9	0.085
240	15	9	0.085
242	16	3	0.028
244	17	9	0.085
246	18	3	0.028
248	19	1	0.009

表 1B

D16S3027			
Heterozygosity		0.8305	
b.p.	Allele	haplotype 数	Frequency
264	1	1	0.010
266	2	2	0.020
268	3	8	0.082
270	4	10	0.102
272	5	26	0.265
274	6	11	0.112
276	7	21	0.214
278	8	14	0.143
280	9	5	0.051

表 1C

D16S423			
Heterozygosity		0.8611	
b.p.	Allele	haplotype 数	Frequency
118	1	4	0.032
120	2	32	0.258
122	3	6	0.048
124	4	17	0.137
126	5	3	0.024
128	6	14	0.113
130	7	12	0.097
132	8	6	0.048
134	9	16	0.129
136	10	11	0.089
138	11	3	0.024

表 1D-F マイクロサテライトマーカーのヘテロ接合体性 (2)

表 1-D

D16S521			
Heterozygosity		0.6658	
b.p.	Allele	haplotype 数	Frequency
153	1	4	0.034
155	2	59	0.500
157	3	5	0.042
159	4	0	0.000
161	5	0	0.000
163	6	0	0.000
165	7	7	0.059
167	8	11	0.093
169	9	31	0.263
171	10	1	0.008

表 1-E

UTR__05049__L33243			
Heterozygosity		0.4489	
b.p.	Allele	haplotype 数	Frequency
188	1	11	0.085
190	2	92	0.708
192	3	27	0.208

表 1-F

KG8			
Heterozygosity		0.3623	
b.p.	Allele	haplotype 数	Frequency
111	1	2	0.017
113	2	90	0.769
115	3	25	0.214

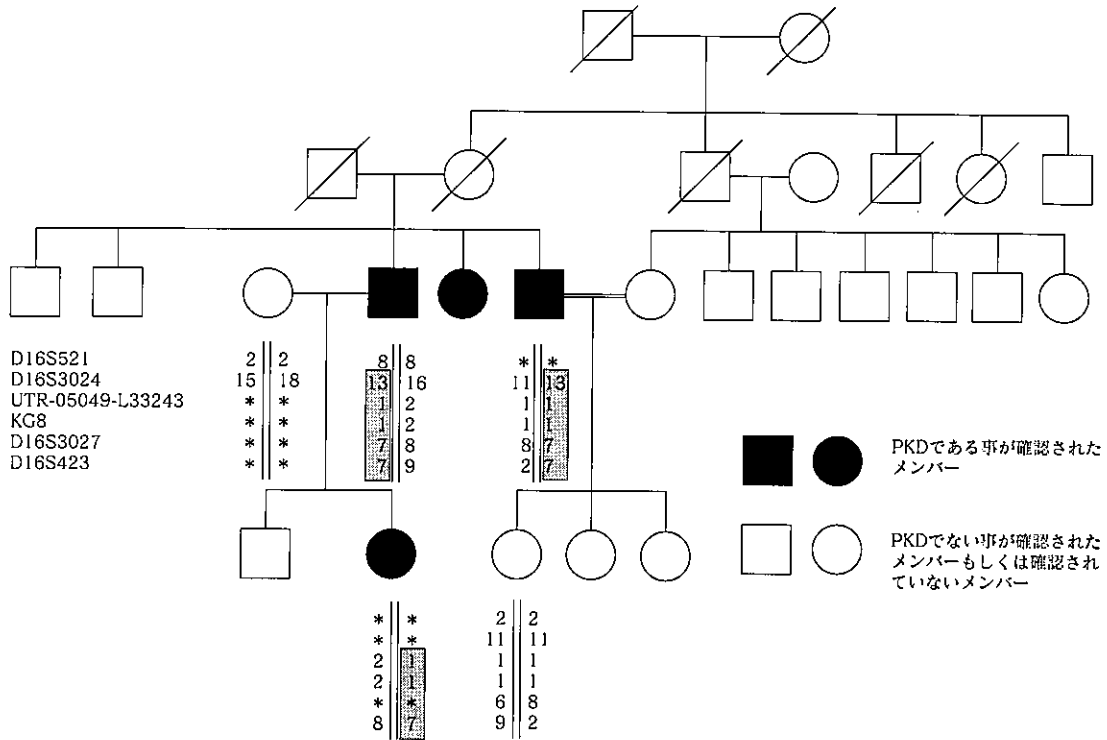


図1-A 家系Iハプロタイプ解析

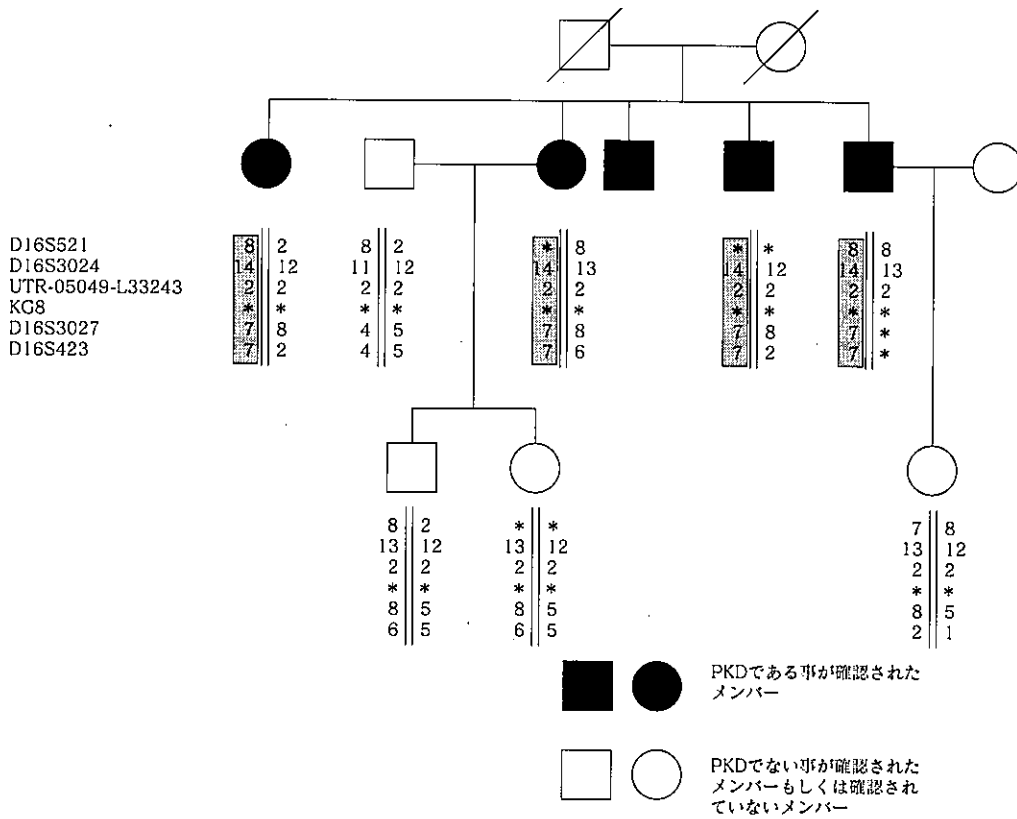


図1-B 家系Tハプロタイプ解析

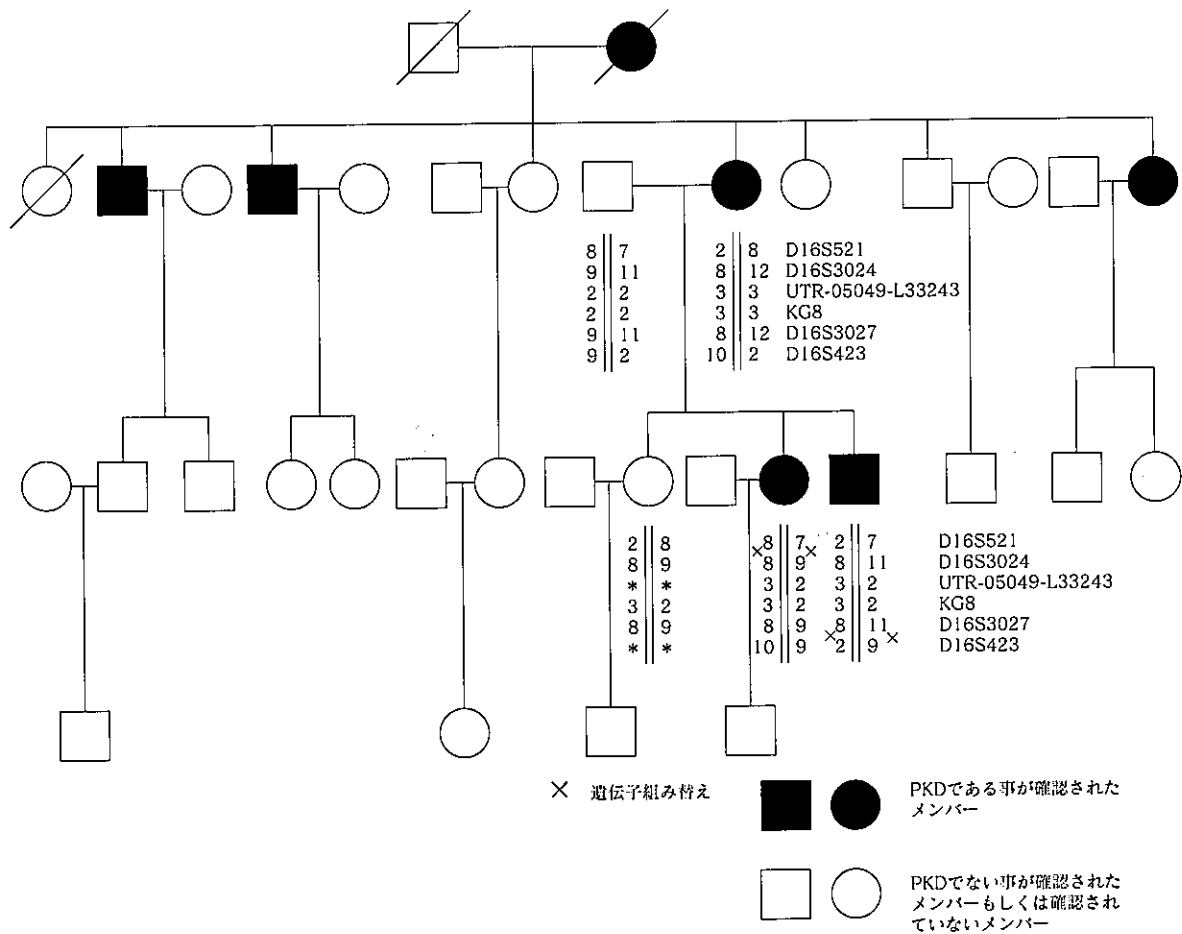


図 1-C 家系 N ハプロタイプ解析

表2 LOD score 表

Pedigree	Locus	LOD score						
		0	0.02	0.04	0.06	0.08	0.1	0.2
家系 N	D16S521	-inf					-0.44	-0.19
	D16S3024	-inf	-1.11	-0.81	-0.65	-0.53	-0.44	-0.19
	D16S3027	-0.17					-0.1	-0.05
	D16S423	-inf	-1.11	-0.81	-0.65	-0.53	-0.44	-0.19
家系 I	D16S521	-1.41					-0.42	-0.19
	D16S3024	0.18	0.16	0.14	0.12	0.1	0.09	0.03
	D16S3027	0.15	0.13	0.1	0.09	0.08	0.06	0.01
	D16S423	0.52	0.48	0.45	0.41	0.38	0.34	0.19
家系 T	D16S521	-1.21					-0.26	-0.08
	D16S3024	1.24	1.18	1.13	1.07	1.01	0.95	0.63
	D16S3027	0.9					0.67	0.44
	D16S423	1.2	1.14	1.08	1.02	0.97	0.91	0.6