

相互転座 $t(4;5)(p15.1;p14.2)$ を保有する家系に関する研究

片平智行¹⁾²⁾ 長岡宏一³⁾
千代豪昭⁴⁾ 金田次弘⁵⁾

要旨 以前, われわれは相互転座 $t(4;5)(p15.1;p14.2)$ 由来の染色体異常が多発奇形の原因となった症例を報告した. 今回はこの症例の血縁者4例の染色体解析の追加と家系構成員への聞き取り調査を行い, 正確な家系図の作成を試みた.

染色体解析の結果, 本家系構成員の中から新たに3例の均衡型相互転座 $t(4;5)(p15.1;p14.2)$ 保有者が判明した. また聞き取り調査の結果, この家系に6例の流産および死産と生後1日で死亡した児が2例あることが判明した. すなわち, この家系には正常出産でかつ臨床上の異常をとまなうことなく受け継がれていく相互転座 $t(4;5)(p15.1;p14.2)$ が存在し, その上この相互転座が3世代以上にわたり保存され, 相互転座に起因した可能性が否定できない流産と死産と多発奇形が頻回におこっていた.

本症例のような相互転座をはじめとする微細な染色体異常を検出するためには, 形態学的な染色体解析技術のみならず FISH (fluorescence *in situ* hybridization) 法による DNA レベルの病理診断法を組み合わせた適切な検査の施行が有効である. さらに既応歴の調査および家系図の作成が重要であることも再確認した.

(キーワード: 出生前診断, 染色体異常, 相互転座, 均衡型相互転座)

Lineage Which Holds Reciprocal Translocation $t(4;5)(p15.1;p14.2)$

Tomoyuki Katahira¹⁾²⁾, Kouichi Nagaoka³⁾,
Hideaki Chiyo⁴⁾ and Tuguhiko Kaneda⁵⁾

Abstract We previously reported a case of the possibility of a death coming right after birth was the result of unbalanced karyotypes associated with trisomy resulting from reciprocal translocation. Now, with the addition of chromosomal analysis of four blood relatives and interviews conducted with blood relatives, we have attempted to trace an accurate family pedigree. The chromosomal analysis revealed three new examples of carriers of reciprocal translocation (balanced type). Interview results revealed that there have been 6 instances of miscarriage and 2 instances of still-born birth or death within one day of birth in this family. From these findings, the existence of inherited reciprocal translocation, and that it does not occur as a result of any clinical error or mistake, is evident. This reciprocal translocation has been passed on over 3 generations, occurring with great frequency.

(Key Words: prenatal diagnosis, chromosome abnormality, reciprocal translocation, balanced translocation)

独立行政法人国立病院機構・名古屋病院医療センター ¹⁾産婦人科, ²⁾薬剤科, ³⁾臨床研究センター

²⁾ブラザー病院 産婦人科

⁴⁾お茶の水女子大学大学院人間文化研究科・遺伝カウンセリングコース

別刷請求先: 片平 智行 ブラザー病院 産婦人科

〒467-0851 名古屋市瑞穂区塩入町11番地 8号

(平成17年11月21日受付)

(平成18年2月18日受理)

緒 言

われわれは前の論文で相互転座 $t(4;5)$ (p15.1; p14.2) 由来の染色体異常が多発奇形の原因であった症例を報告した¹⁾。この症例は本論文では、Fig. 1のⅣ-2にあたり、妊娠16週の羊水の染色体分析の結果、胎児は46,XX,t(4;5) (p15.1;p14.2)の不均衡型相互転座を有しており、多発奇形をともない生後2日で死亡した。この染色体異常は通常のギムザ染色では異常の判別が難しかったが、G-バンドパターンがわずかに異なっていたので、相互転座の存在が識別できた。また、No. 5染色体の whole painting probe を用いた FISH 解析では、一方の No. 5 染色体は全体が染まったが、他方の No. 5 染色体は短腕の一部が染色されず、代わりに No. 4 染色体の短腕の一部がこの probe で染色された。この結果からも相互転座 $t(4;5)$ が確認された。さらにこの胎児の母親は正常核型であったが、父親は不均衡型相互転座 $t(4;5)$ (p15.1;p14.2) を有していた。したがって胎児の転座染色体は父親に由来することが判明した。この胎児の核型は、46,XX,t(4;5) (p15.1;p14.2) pat. ish t(4;5) (p15.1;p14.2) (wcp5+;wcp5+) と確定した。そこで今回、同家系構成員について3例の染色体解析の追加聴き取り調査を行い、正確な家系図の作成を試みた。

方 法

染色体異常が疑われる出産の既往がある家系構成員の夫婦については、遺伝カウンセリングのなかで出生前診断²⁾³⁾について言及し、夫婦が希望した場合にのみ出生前診断を施行した。一般に、染色体異常部分がかわめて微小なものや転座部分が互いに類似のバンドパターン⁴⁾⁷⁾を示す相互転座などは識別しにくい⁷⁾¹⁰⁾。このような症例に対応するため、染色体分析においては数的異常だけでなく構造異常の分析に適応しうる明瞭な標本作製技術も要求される。異常が疑われる場合は、各種分染法やDNAプローブを用いたFISH法¹¹⁾¹³⁾を用いた精査分析を選択することもある。また、アーティファクト(培養に起因した異常)の確認に羊水の再穿刺や臍帯血による検査を患者同意の上で実施する必要もある。これらの精査を行うためにも、出生前診断に先立った夫婦に対するカウンセリングにおける検査の説明は非常に重要である。

血縁者3例の染色体解析は、インフォームドコンセントを得た後、ヘパリン採血の末梢血によって行った。遠心分離して得たパフィーコート部分を20%FBS (Fetal Bovine Serum) を含むRPMI1640培地(日研生物)を

用いプラスチック培養フラスコでPHA添加後72時間培養を行った。培養3日後に細胞をカルノア固定し、5-6枚のスライドガラスに固定細胞を展開し染色体標本作製した。これらの標本はGTG法にて分析した。なお、聴き取り調査は研究者本人が被検者と面接し、研究の目的を説明させていただき、個人情報の保護を確約した上で、本人の同意が得られた場合に限り、既往歴、家族歴を聴取した。

結 果

1) 染色体解析

血縁者が不均衡型相互転座 $t(4;5)$ (p15.1;p14.2) を保有していた情報をもとに、われわれは Fig. 1 に示すⅡ-8、Ⅲ-6、Ⅲ-8、Ⅲ-9 に関して、GTG法によりG-バンドパターンを分析し、染色体解析を実施した。その結果、G-バンドパターンがわずかに異なっていることから、Ⅱ-8、Ⅲ-6、Ⅲ-8 に相互転座の存在が確認され、その切断点は、4p15.1と5p14.2であった(Figs. 2, 3, 4)。すなわち、Ⅱ-8、Ⅲ-6、Ⅲ-8 も不均衡型相互転座 $t(4;5)$ (p15.1;p14.2) を有していることが判明した。一方、Ⅲ-9 は、正常な核型であった(Fig. 5)。

2) 聴き取り調査

Ⅱ-8の第1子(Ⅲ-13)は妊娠3ヵ月で流産、第2子(Ⅲ-14)は羊水過多症の上、生後1ヵ月で死亡、第5子(Ⅲ-17)は生後1日で死亡したことが明らかとなった。また、第3子(Ⅲ-15)および第4子(Ⅲ-16)に関しては不均衡型相互転座保有者であるか不明であるが、臨床上明らかな問題点はなかった。さらに、Ⅱ-7の第1、7、8、9子(Ⅲ-4,10,11,12)はそれぞれ妊娠3、3、4、3ヵ月で流産、第4子(Ⅲ-7)は生後1日で死亡していることが明らかとなった。また、GTG法による染色体解析の結果、Ⅱ-7の第3、5子(Ⅲ-6,8)は臨床上明らかな問題点のない不均衡型相互転座 $t(4;5)$ (p15.1;p14.2) 保有者であり、第6子(Ⅲ-9)に関しては正常な核型であったことが確認された。しかし、世代Ⅱに関する流産、死産等の情報を得ることはできなかった。Ⅱ-7、Ⅲ-8から家系に関する聴き取り調査を実施し、これらの調査結果に矛盾点のないことを確認した。

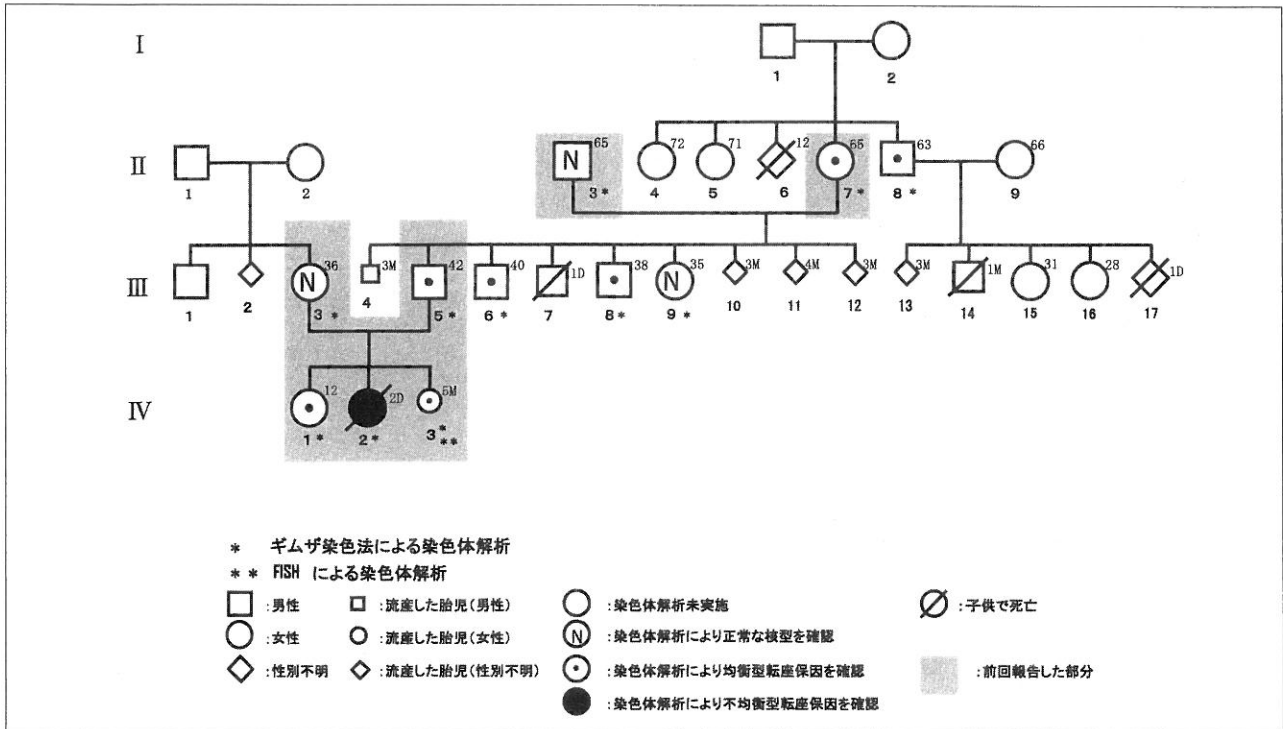


Fig. 1 Pedigree showing the distribution of balanced and imbalanced 4;5 translocation carriers.

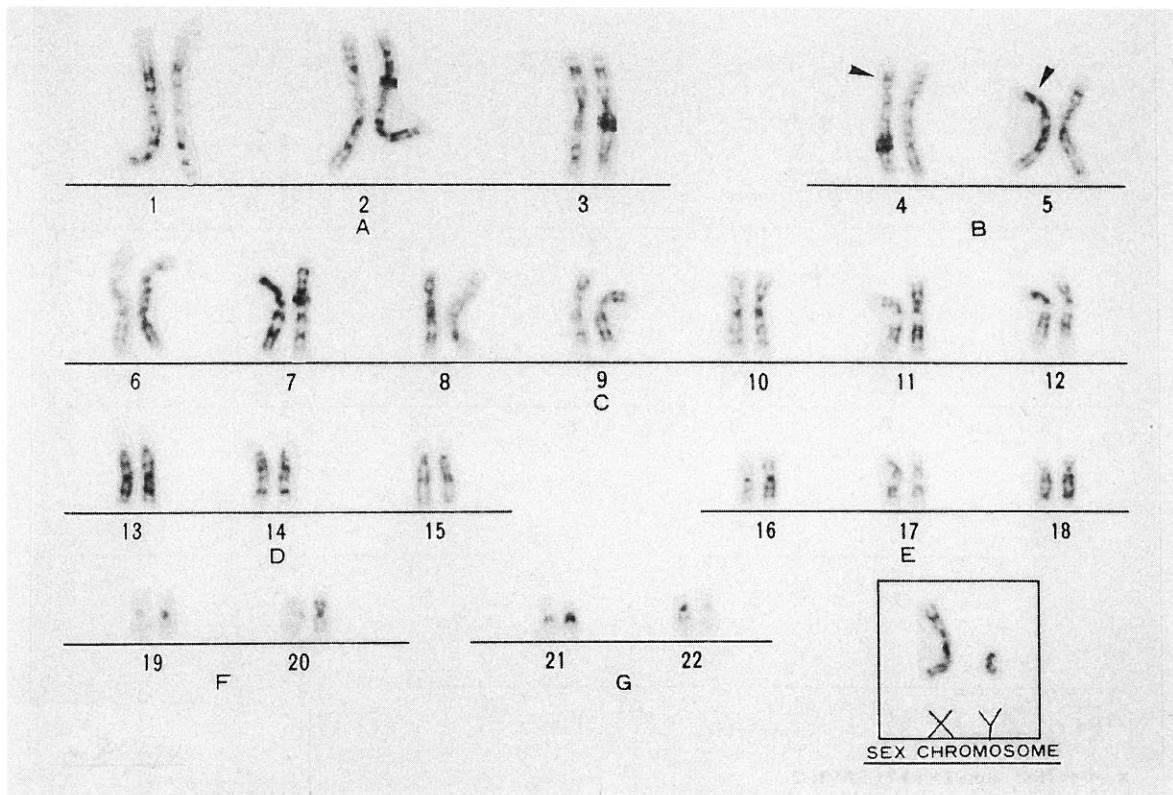


Fig. 2 G-banded partial karyotypes of II-8.

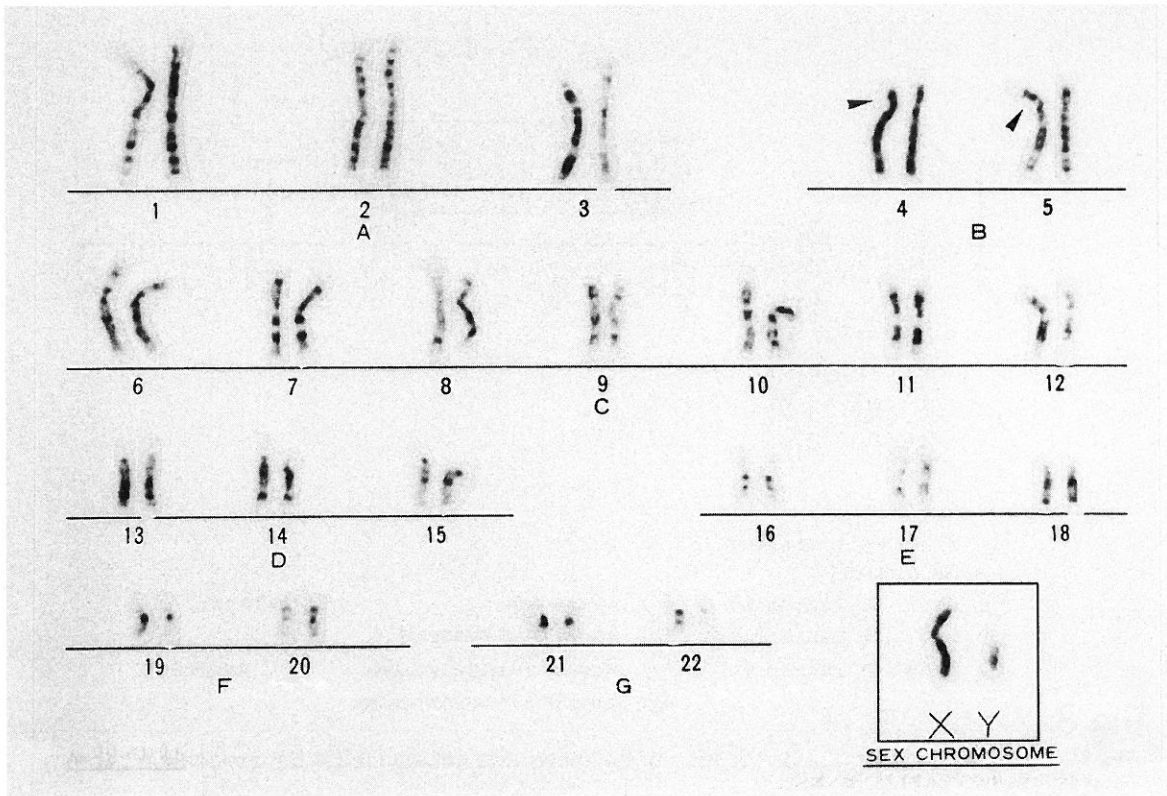


Fig. 3 G-banded partial karyotypes of III-6.

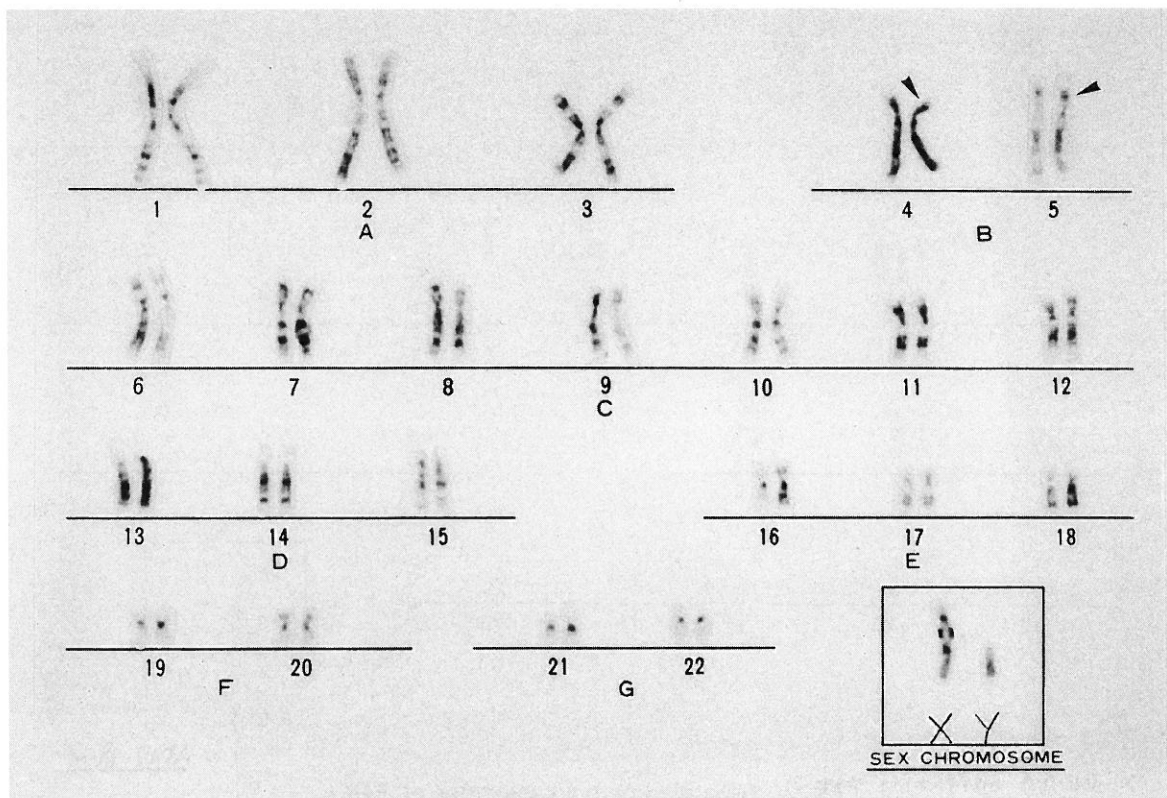


Fig. 4 G-banded partial karyotypes of III-8.

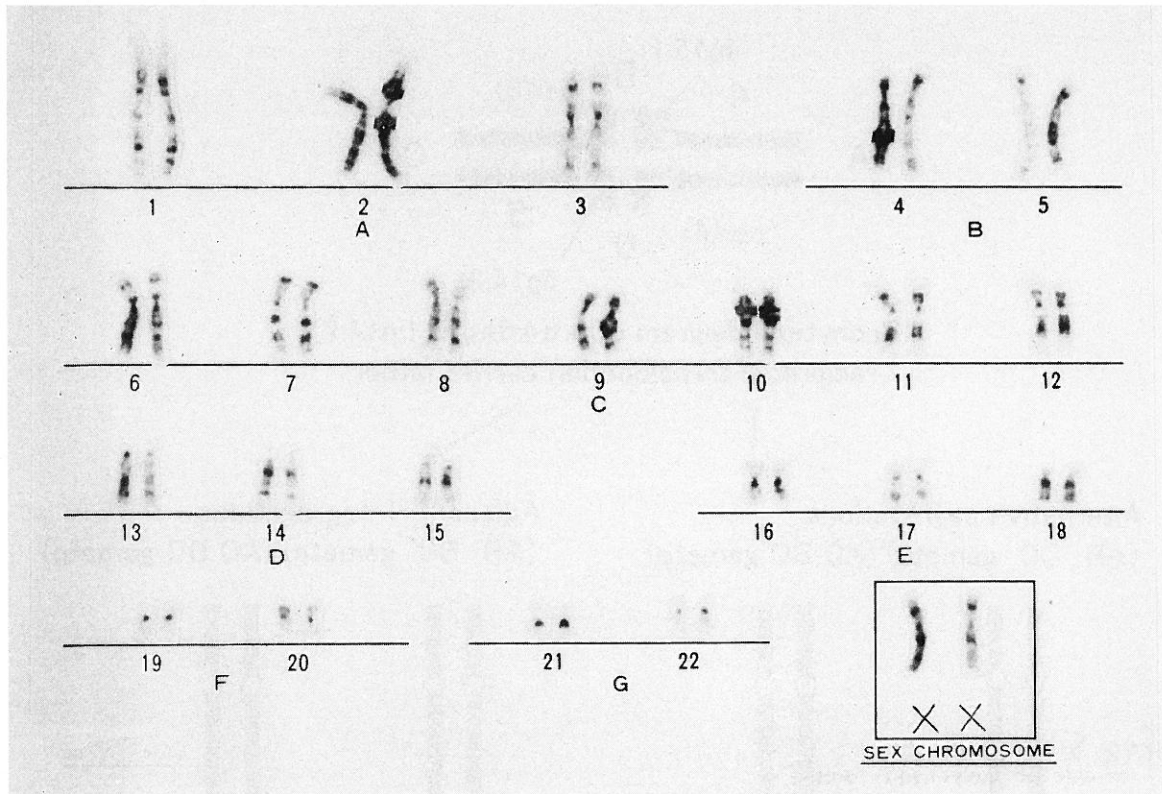


Fig. 5 G-banded partial karyotypes of III-9.

考 察

われわれは、多発奇形を有し生後2日で死亡した女兒に、父親の均衡型相互転座 $t(4;5)(p15.1;p14.2)$ に由来した不均衡型相互転座が存在したという情報をもとに、保因者である父親の血縁者における染色体解析を実施し、正常核型とは識別しにくい均衡型相互転座を容易に確認することができた。さらに、血縁者の聴き取り調査を行い、正確な家系図 (Fig. 1) を作成できた。この結果、相互転座 $t(4;5)(p15.1;p14.2)$ が3世代以上にわたり保存され、この家系においても相互転座に起因したと考えられる流産と死産と多発奇形が頻繁におこっていたことが明らかになった¹⁴⁾⁻¹⁸⁾。また、 $dup\ 5\ p+/del\ 4\ p-$ を有する不均衡型染色体異常の場合は多発奇形をともない、生後2日で死亡したが、これに対し均衡型相互転座 $t(4;5)(p15.1;p14.2)$ の場合には、形態学的に表現型の異常をともなっていなかった (Fig. 6)。この研究で、配偶子形成の過程から隣接II型やその他の染色体異常の存在も推定できるが、今回の調査からはその存在は証明できなかった。しかし、それらの染色体異常の存在がこの家系における流産の原因の一つになっているのではないと思われる。この家系図

と既歴が明らかになれば、多発奇形をともない死亡した女兒に対して適切な診断告知やカウンセリングが提供できたものと考えられる。このことから、既歴、家族歴、さらには家系図の作成が出生前診断をはじめとする染色体解析結果の分析を行う上で重要であると思われる。

近年の細胞遺伝学研究成果により、ヒトの配偶子形成過程で多くの染色体突然変異が発生していることが明らかになった。これらの変異染色体をもった配偶子の一部は受精し、発生途上の淘汰を免れたものがいわゆる染色体異常症として生まれてくることになる。変異染色体のうち、形態学的に染色体物質の過不足をともなわない相互転座でも構造遺伝子の変化や隣接効果、あるいは遺伝子調節などエピジェネティクスの不具合から胚の異常発生の原因になることが考えられるが、一部のものはいわゆる均衡型転座として表現型異常をともなわない染色体保因者として生まれてくることが知られている。これらの染色体保因者は自らが染色体異常を持った子供を生むリスクが高いだけでなく、配偶子に相互転座を伝えるため、何世代にもわたって染色体保因者が続く原因となる。一般的に相互転座をもった染色体保因者は結婚の障害や拳児数が少ないなど生殖適応度 (reproductive fit-

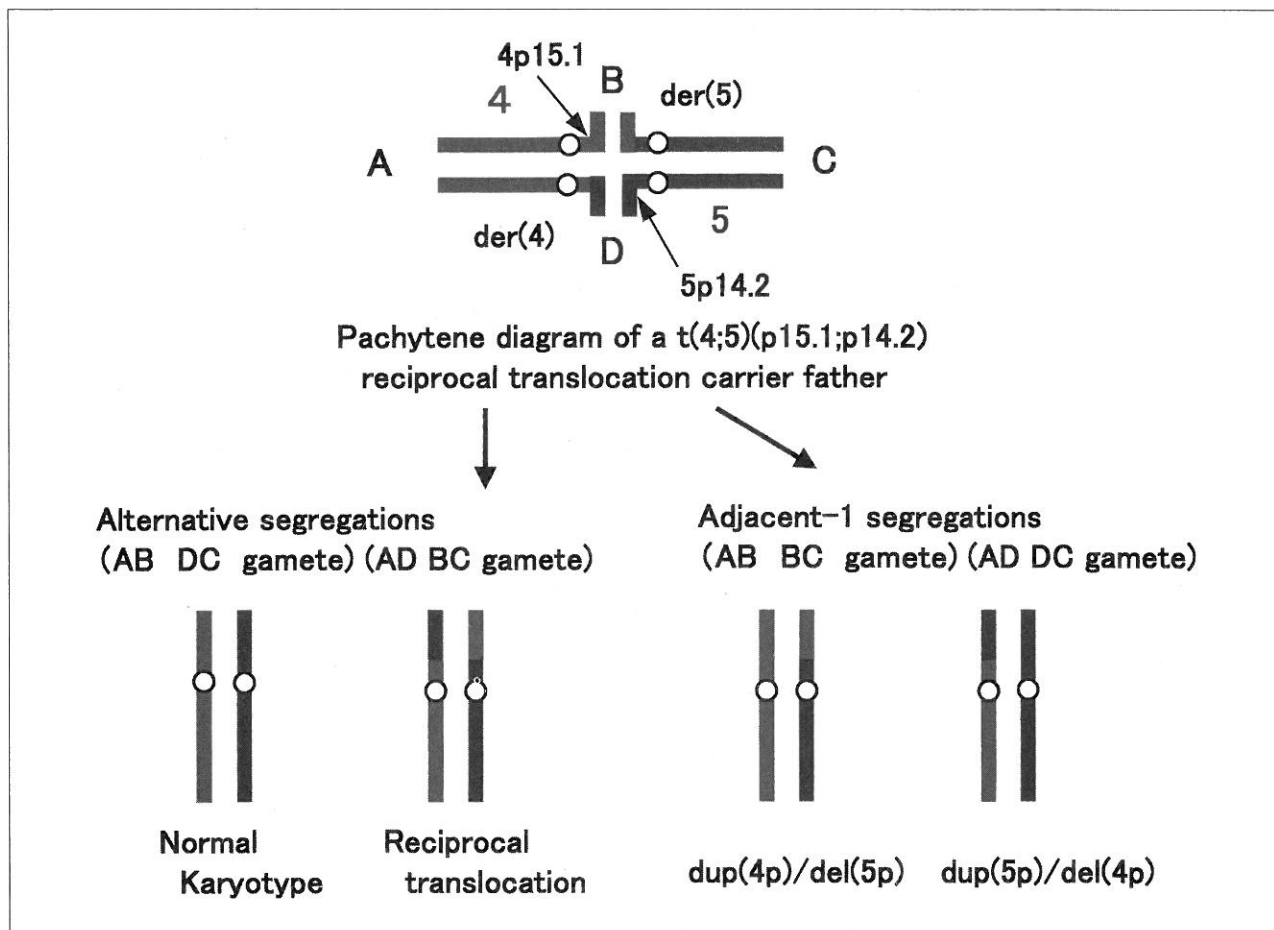


Fig. 6 Karyotypes of offsprings which are fertilized by normal gametes with various gametes derived by segregation in reciprocal translocation carrier father. Unbalanced gametes would be derived by adjacent-2 segregation or 3:1 segregation which are omitted from the figure.

ness) が低い場合、相互転座でも遺伝子レベルの変異と同様に世代を重ねる間に消滅し、新生突然変異が加わることで人類集団では一定の平衡を保持していると考えられる。本症例のように表現型の異常が重篤な場合、正常表現型で生まれてくる個体のおよそ半数は転座保因者と考えられるが、このような家系が実際に何世代くらい継続するのか、信頼できる家系調査報告は少ない。習慣性流産を繰り返す夫婦の数%以上に転座保因者が発見されることは不妊治療の現場では常識になっているが、本研究はこれらの転座保因者の遺伝の実態に関するエビデンスを提供するものとする。しかし、わが国では平成17年に個人情報保護法が施行され、患者のプライバシー保護の立場から遺伝学的な家系調査の実施がきわめて困難になっている。今回、われわれが行ったような研究方法は今後は実施が不可能ではないかと考えている。

ごく最近、ドゥシャンヌ型筋ジストロフィーに関して受精前診断の実施が、日本産科婦人科学会の倫理委員会

で承認された。引き続き習慣性流産も対象にした受精前診断の審査、承認の可能性も取り沙汰されているが、この受精前診断は倫理上大きな問題を抱えているので慎重で、かつ公開性の高い審査を通して今後の方向性を決定するのが妥当であると思われる。

まとめ

出生前診断等の染色体解析において、ほぼ長さの等しい染色体断片の移動に基づく相互転座は通常のGTG法では判別に困難を極める。それゆえに whole painting probe を用いた FISH 解析は困難さを技術的に克服する上で非常に有効な手段となる。一方で、血縁者の相互転座の有無等の染色体情報や先天異常児の妊娠歴等の情報も染色体解析結果を分析する際に非常に有効となる。実際、今回実施した3名の染色体検査に関しては通常のGTG法で解析することが可能であった。また、何らかの異常をともなった出産児、両親に加え3名の染色体解

析と聴き取り調査の実施で家系図を作成することができた。その結果、3世代以上にわたり相互転座t(4;5)(p15.1;p14.2)が保存されてきたことが判明した。正確な既応歴、家族歴を聴取し、家系図を作成することは、染色体検査の解析を行う上で欠かすことができない。

謝 辞

染色体解析およびFISH法についてご協力いただいた塩野義製薬株式会社 清水喜一氏に感謝する。および論文作成に尽力いただいた山崎由美子氏に深謝する。

文 献

- 1) 片平智行：G-バンドおよびFISH法により出生前診断し得た均衡型相互転座t(4;5)(p15.1;p14.2)の1例。医療 52：376-380, 1998
- 2) 神保利春：出生前診断の現状と意義。看護 18：423, 1995
- 3) Suzumori K, Okada S, Adachi R et al: Comparison of chorionic villus sampling and amniocentesis: current status of prenatal diagnosis in Japan. Prenat Diagn 14：479, 1994
- 4) 福嶋義光, 涌井敬子：染色体診断法の実際, In: 臨床染色体診断法, (古庄敏行他編) 金原出版, 東京, 207, 1996
- 5) 鈴森 薫：羊水細胞, In: 臨床染色体診断法, (古庄敏行他編) 金原出版, 東京, 260, 1996
- 6) 藤田弘子：4番染色体, 5番染色体, In: 新染色体異常アトラス, (阿部達生, 藤田弘子編) 南江堂, 東京, 149, 163, 1997
- 7) Meltzer PS, Guan X-Y, Burgess A et al : Rapid generation of region specific probes by chromosome microdissection and their application. Nat Genet 1 : 24, 1992
- 8) N. I. H. and Inst. Mol. Med. Collaboration : A complete set of human telomeric probes and their clinical application. Nat Genet 14 : 86, 1996
- 9) Bryndort T, Kirchhoff M, Rose H et al : Comparative genomic hybridization in clinical cytogenetics. Am J Hum Genet 57 : 1211, 1995
- 10) Thompson JS, Thompson MW : Genetics in Medicine, 1, W. B. Saunders Co, Philadelphia, London, Toronto, 1980
- 11) 松原謙一, 吉川 寛 (監修) : FISH 実験プロトコール, 秀潤社, 東京, 1, 1994
- 12) Blennow E, Bui TH, Kristoffersson U et al: Swedish survey on extra structurally abnormal chromosomes in 39 105 consecutive prenatal diagnosis : Prevalence and characterization by fluorescence *in situ* hybridization. Prenat Diagn 14 : 1019, 1994
- 13) Lim CK, Jun JH, Min DM et al : Efficacy and clinical outcome of preimplantation genetic diagnosis using FISH for couples of reciprocal and Robertsonian translocations: the Korean experience. Prenat Diagn 24 : 556-561, 2004
- 14) 山下純英：均衡型転座保因者夫婦における染色体不均衡児出産のリスクの検討。日小児会誌 107：905-912, 2003
- 15) Liu JY, Wang XR, Zeng XL et al : Molecular cytogenetic characterization of a familial balanced reciprocal translocation t(11;18)(q13.3;q23) associated with pregnancy wastage. Cytogenet Genome Res 103 : 8-13, 2003
- 16) Shaffer LG, Spikes AS, Macha M et al : Identification of a subtle chromosomal translocation in a family with recurrent miscarriages and a child with multiple congenital anomalies. J Reproductive Med 41 : 367-371, 1996
- 17) Sugiura-Ogasawara M, Ozaki Y, Sato T et al : Poor prognosis of recurrent aborters with either maternal or paternal reciprocal translocations. Fertility Sterility 81 : 367-373, 2004
- 18) Munne S, Sandalinas M, Escudero T et al : Outcome of preimplantation genetic diagnosis of translocations. Fertility Sterility 73(6) : 1209-1218, 2000