



周産期の遺伝子検査

右田王介[†]

IRYO Vol. 70 No. 11 (468-472) 2016

【キーワード】 遺伝, 網羅的解析技術, 出生前検査

はじめに

ヒトが患う疾患の多くは遺伝とかがわりがある。最近の網羅的遺伝子配列解析技術は、さまざまな疾患や状態での分子遺伝的な検査を可能にし、通常考えられていなかった多種多様な状況に応用されるようになった。このような遺伝学的検査は疾患の診断・治療・予防に貢献する一方で、非医療現場での遺伝子検査や、治療法のない疾患の発症前診断など社会的あるいは倫理的な反響も呼び起こしている。本項では、周産期分野に用いられつつある新しい遺伝解析、遺伝学的検査などに焦点をあて、とくに出生前検査とその将来について述べたい。

周産期における遺伝疾患

遺伝学的解析手法が臨床的な遺伝学的検査として、保険診療にも収載され利用されるようになった。周産期の領域においても、遺伝学的検査が疾患の診断・治療・予防そして遺伝カウンセリングに貢献すると考えられている。しかし周産期にかかわる遺伝性疾患は疾患の最重症から最軽症まで幅広い可能性がある(図1)。通常は問題にならない「軽症」の代謝疾患が出生、妊娠、出産というような特別な状

態で症状を現すかもしれないし、妊婦本人には特別な症状がないものの胎児の発育に影響がでるかもしれない。たとえば、*MTHFR* 遺伝子産物は、メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素であり葉酸の代謝にかかわる酵素であるが、妊婦本人の健康状態に影響が小さい遺伝子配列変化が胎児の神経管閉鎖不全のリスクを高めることが知られている¹⁾²⁾。また、出産にいたらなかった胎児は、同じ疾患の小児や成人患者にみられない最重症ともいべき重篤な症状が示されていたのかもしれない。このような極端な状況では、既知の疾患概念では診断の確定にいたらず原因不明とされる場合もあると考えられる。もちろん、トリソミー型の染色体異常のように新生児の外観から、比較的容易に(といっても診断されない場合もあるが)診断が可能な遺伝性疾患もある。

遺伝子検査のパラダイムシフト

遺伝学的な検査手法による確定は診断の補助となるものの、臨床的診断が困難な場合には、検査の実施が困難でありその意義は限定的であった。しかし、次世代シーケンサー(Next generation sequencing: NGS)やマイクロアレイ法といった新しい手法によって、遺伝学的検査のパラダイムシフトがおこり状

聖マリアンナ医科大学 遺伝診療部/同小児科 [†]医師
著者連絡先: 右田王介 聖マリアンナ医科大学 遺伝診療部/同小児科 〒216-8511 神奈川県川崎市宮前区菅生2-16-1
e-mail: migita@marianna-u.ac.jp

(平成28年8月16日受付, 平成28年11月11日受理)

Genomic Technologies in Prenatal Diagnosis
Ohsuke Migita, St. Marianna University School of Medicine

(Received Aug. 16, 2016, Accepted Nov. 11, 2016)

Key Words: genetics/inheritance, comprehensive genetic testing, prenatal test

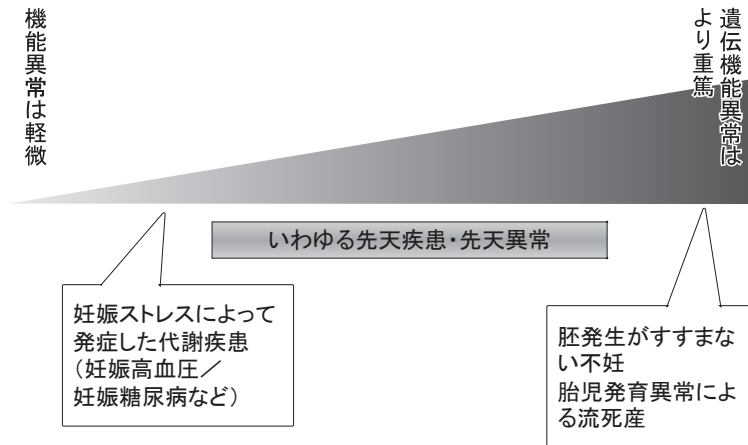


図1 出産期での疾患のイメージ

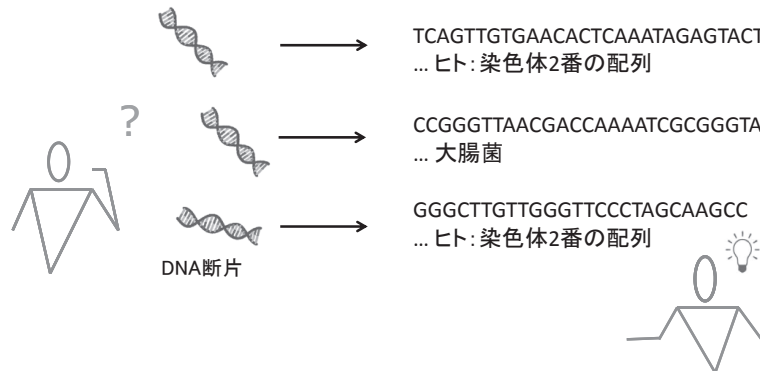


図2 NGS による解析で得られる情報のイメージ

況が覆されつつある。これらの検査手法は従来のような臨床診断をもとにした遺伝子検査と異なり、疾患を特定しない網羅的な遺伝子解析が可能である。さらに同時並列に大量の遺伝子配列を決定づけることが可能な特徴から、これまで遺伝子検査が考えられなかった新しい応用も行われるようになってきている。NGSは、原理としてDNA断片を直接解析するので血液のみならず唾液に含まれる断片化した遊離DNAを用いても遺伝子解析が可能である³⁾。このような「非侵襲的」検体からの検討が可能であるため医療機関の受診なしに直接消費者に遺伝子検査を提供することができる。すでにさまざまな企業がこのような検査を提供しているが、検査の限界とともに、得られた遺伝情報の取り扱いについて不透明である⁴⁾。本稿ではNGSとその応用として社会的にインパクトを与えた出生前診断⁵⁾⁶⁾を中心に概観したい。

次世代シーケンサーの原理

検鏡を主とした染色体分染法や、臨床的診断から少数の候補遺伝子について配列を解析する遺伝子検査では得られる解像度や遺伝情報量は決して高くなかった。NGSは、これまでのサンガー法と対比し新しい遺伝子配列の解析技術として「次世代」と名付けられた手法である。NGSは、DNAの逐次的な伸長反応を行い、その伸長を蛍光や電位の変化として検出することで塩基配列決定を行う技術がベースにあり、並列的に多量の塩基配列決定を行う。いわゆる遺伝子検査だけでなく、どのようなDNA分子を対象に配列決定をするかによって検査の目的や意味は異なる。また、多数の遺伝子を解析できることからこれまで診断が困難であった遺伝性疾患の診断支援、あるいは未知の病因遺伝子探索への応用も精力的にすすめられている。図2に示すように、これまで得られたDNAがなにかわからなかったものが、

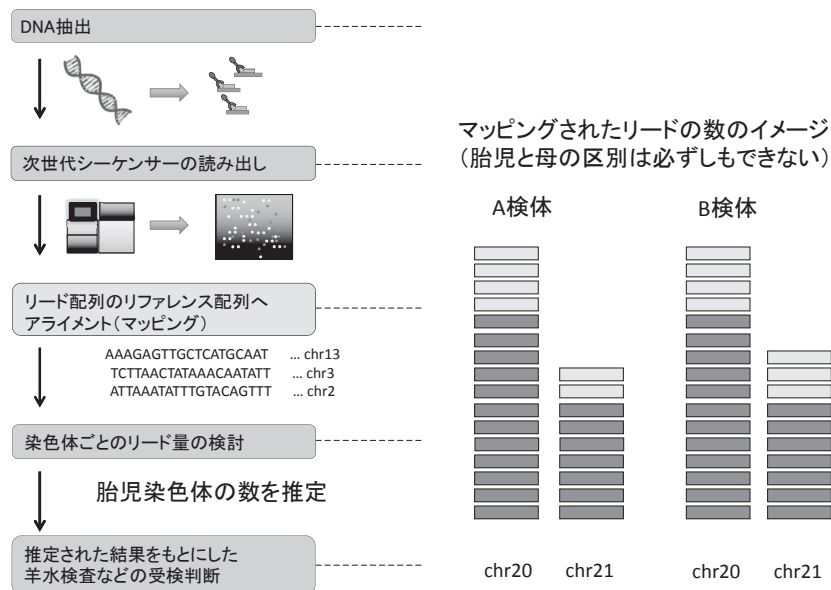


図3 NGSによるNIPTの基本原則

表1 胎児染色体異常についての出生前診断

	侵襲的	非侵襲的
非確定的		超音波所見(NT肥厚など) 母体血清マーカー コンパインドテスト 母体血中遊離DNAによるNIPT
確定的	絨毛検査 羊水検査	

配列を順次解読し、そこに存在するDNA配列の意味がわかるようになったのである。試料に含まれるすべてのDNAを検討すれば、そこにいる(いた)生物集団を検討すること(メタゲノムあるいはマイクロバイーム解析)も可能であるし⁷⁾⁸⁾、濃縮にmRNAをターゲットにしたり(トランスクリプトーム)、DNAのメチル化や特異的修飾を受けたヒストンに結合しているDNAを定量的網羅的に検出する(エピゲノム解析)⁹⁾などにも応用されている。将来、周産期分野では、新生児期の感染症、早産や妊娠高血圧といった妊娠母体の異常、あるいは胎児の発育異常などさまざまな問題の検討への応用が期待されている。

非侵襲的出生前診断(non-invasive prenatal testing: NIPT)

胎児の健康状態を知ることは、周産期の医療にお

いて非常に重要である。古典的には、子宮底長の計測やトラウベによる心音の確認などがあり、より現代的には超音波による形態観察や胎児心拍モニター(超音波ドップラー)などさまざまな手法が考えられてきた。胎児の遺伝学的診断はそのようなものひとつとしても捉えられる。

胎児の染色体を観察するには、胎児の細胞が必要である。胎児細胞は、羊水や絨毛から採取されてきたが、これらの検体採取にともなう胎児の侵襲性からより安全な検体が模索されてきた。いわゆる「母体血清マーカー」検査であったり、母体血液に含まれる胎児由来の遺伝物質に着目した手法である(表1)。母体血清マーカー検査は、最近では超音波検査による胎児の形態的な計測と組み合わせた手法も開発されている。一方、胎児の遺伝物質の確保として母体血に含まれる胎児由来赤芽球を選別し、染色体分析をする手法が試みられてきたが実用化にはいたっていない。しかし、細胞外にある血漿中の浮遊DNA(Cell-free DNA)を使った手法⁵⁾が染色体の数的異常の診断あるいは欠失や重複といった構造異常の診断について実用化され、羊水や絨毛検査の胎児に侵襲的検査に対し、非侵襲的出生前診断(non-invasive prenatal testing: NIPT)の代表的検査として有名となった。図3にその解析フローのイメージを示すがNGSを使った母体血中 cell-free DNAによるNIPTは、わが国では報道などにより「新型出生前診断」という呼び名が広まったように思われる。

表2 検査の感度と陽性的中率

A

		疾患 あり(人) なし(人)		計
検査	陽性	99	1	100
	陰性	1	99	100
計		100	100	200

陽性的中率 99%
陰性的中率 99%

ただし、Aは受検者の50%が罹患者であるとき。
もし罹患者が1/1000で発生する疾患であるなら
罹患者あり100人に対して、罹患者のないひとが
10万人いることになるので...

感度 99% 特異度 99%



B

		疾患 あり(人) なし(人)		計
検査	陽性	1	1,000	1,001
	陰性	99	99,000	99,099
計		100	100,000	100,100

陽性的中率 0.1%
陰性的中率 99.9%

Bで示されるように、同じ感度・特異度でも
結果が正しい割合は大きく異なるものとなる。

感度 99% 特異度 99%

母体血中 Cell-free DNA による胎児染色体分析の問題点

「新型出生前診断」は、その有用性として感度あるいは特異度は99%に近いか超えるとされている。しかし、この手法は、胎児細胞の染色体を直接検討せず胎児と母体に由来する破碎されたDNA断片を定量的に解析した胎児の染色体量の推定であり確実な結果は提供されない。また、感度特異度から受ける印象と異なり、被験者中で実際の患者の割合が非常に低いことが検査結果の正しさに大きな影響を与える。このことは陽性的中率と陰性的中率とで考えると実感を得やすい(表2)。被験者中での患者割合が低ければ、検査陽性の結果が正しくない可能性が高くなっていくことが理解されよう。もちろん羊水検査といった侵襲的検査の結果でも結果は完全とはいえないが、高い陽性的中率がありこのような検査との組み合わせが必要となる。

そもそも出生前診断とは、妊婦と胎児の健康のために始まった検査である。Cell-free DNAによるNIPTといった技術は重篤な疾患にかかるリスクがあるが実際には正常な胎児について妊婦あるいはご夫婦の不安を除き、あるいは絨毛検査や羊水検査といった胎児への侵襲的な検査から胎児を守るために開発がすすんだ側面もある。しかし、染色体異常が出生前診断で明らかになれば胎児の中絶につながる可能性があり、このような技術は胎児にとっての健康管理はそもそもどうあるべきであったのか?とい

う矛盾につきあたる。NIPTと羊水検査により胎児の染色体異常が明らかになった例のほとんどが中絶を選択しているとの統計もあるが、わが国の法体制では胎児の疾患を理由にした中絶は認められておらず、このような検査はそもそも認められないのではないかとする意見もある。すでに臨床的には実用化されている検査ではあるが、これらの諸問題を広く議論し、その検査にいたる過程で情報提供を行う体制を充実させることは一層必要であると考えられる。

Cell-free DNAによるNIPTは、胎児の遺伝子検査としての応用も検討されている。たとえば、性別診断や血液型不適合妊娠に関する胎児の血液型判定などを検討した多数の報告がある。妊娠中、あるいは生後すぐに治療が必要な胎児や新生児の疾患では、このような手法で診断率があがれば適切な治療、ひいては救命率の上昇や健康に過ごせる子どもが増えることも期待される。技術の進展とともに十分な議論を踏まえながら今後も検討が必要である。

著者の利益相反：本論文発表内容に関連して申告なし。

[文献]

- 1) Steegers-Theunissen RPM, Boers GH, Trijbels FJM et al. Maternal hyperhomocysteinemia: A risk factor for neural-tube defects? Metabolism 1994; 43: 1475-80.
- 2) Kondo A, Fukuda H, Matsuo T et al. C677T mutation

- in methylenetetrahydrofolate reductase gene and neural tube defects: Should Japanese women undergo gene screening before pregnancy? *Gongenit Anom (Kyoto)* 2014 ; 54 : 30-4
- 3) Metzker ML. Sequencing technologies-the next generation. *Nat Rev Genet* 2010 ; 1 : 31-46.
 - 4) 高田史男. 【遺伝子医療の現状とゲノム医療の近未来】 遺伝子医療・ゲノム医療を支える社会基盤 遺伝子検査ビジネスの現状と問題点. *医のあゆみ* 2014 ; 250 : 441-6 .
 - 5) Lo Y, Corbetta N, Chamberlain PF et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet* 1997 ; 350 : 485-7 .
 - 6) Sago H, Sekizawa A, Japan NIPT consortium. Nationwide demonstration project of next-generation sequencing of cell-free DNA in maternal plasma in Japan : 1 -year experience. *Prenat Diagn* 2015 ; 35 : 331-6 .
 - 7) Kim MJ, Romero R, Gervasi MT et al. Widespread microbial invasion of the chorioamniotic membranes is a consequence and not a cause of intra-amniotic infection. *Lab Invest* 2009 ; 89 : 924-36.
 - 8) Han Y, Shen T, Chung P et al. Uncultivated bacteria as etiologic agents of intra-amniotic inflammation leading to preterm birth. *J Clin Microbiol* 2009 ; 47 : 38-47.
 - 9) Tsui DW, Lam YM, Lee WS et al. Systematic identification of placental epigenetic signatures for the non-invasive prenatal detection of Edwards syndrome. *PLoS One* 2010 ; 5 : e15069.