

専攻医教育プログラム2

(第2会場: 仙台国際センター・会議棟2F 橘, 平成30年5月10日10:25~11:15)

# 出生前診断

昭和大学医学部産婦人科学講座

関沢明彦



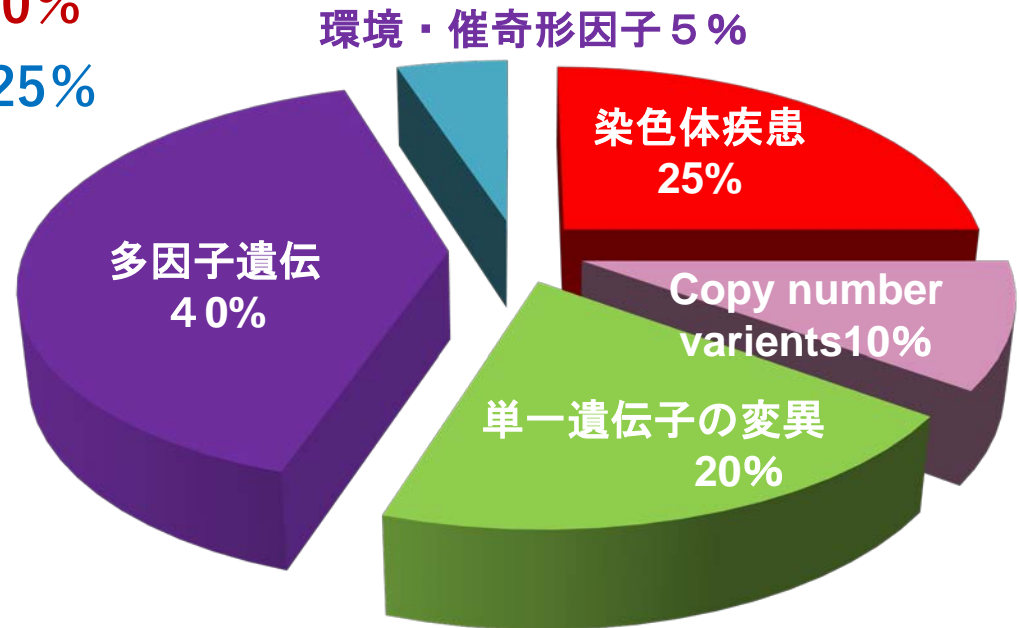
# 講演内容

1. 先天性疾患と母体年齢
2. 出生前検査の概念・倫理社会的問題点
3. 出生前検査・診断の実際について
4. 母体血胎児染色体検査(NIPT)の概要

# 先天性疾患と染色体疾患

## 先天性疾患とは？

- 先天性疾患：出生児の3.0～5.0%
- 染色体疾患：先天性疾患の約25%
- 染色体疾患の他の原因：  
単一遺伝子疾患、多因子遺伝、環境・催奇形因子など
- 妊娠中の超音波検査や出生後の評価でも判明しない場合もある



### 先天性疾患の原因内訳

Thompson & Thompson Genetics in Medicine  
8th edition (2016)より改変

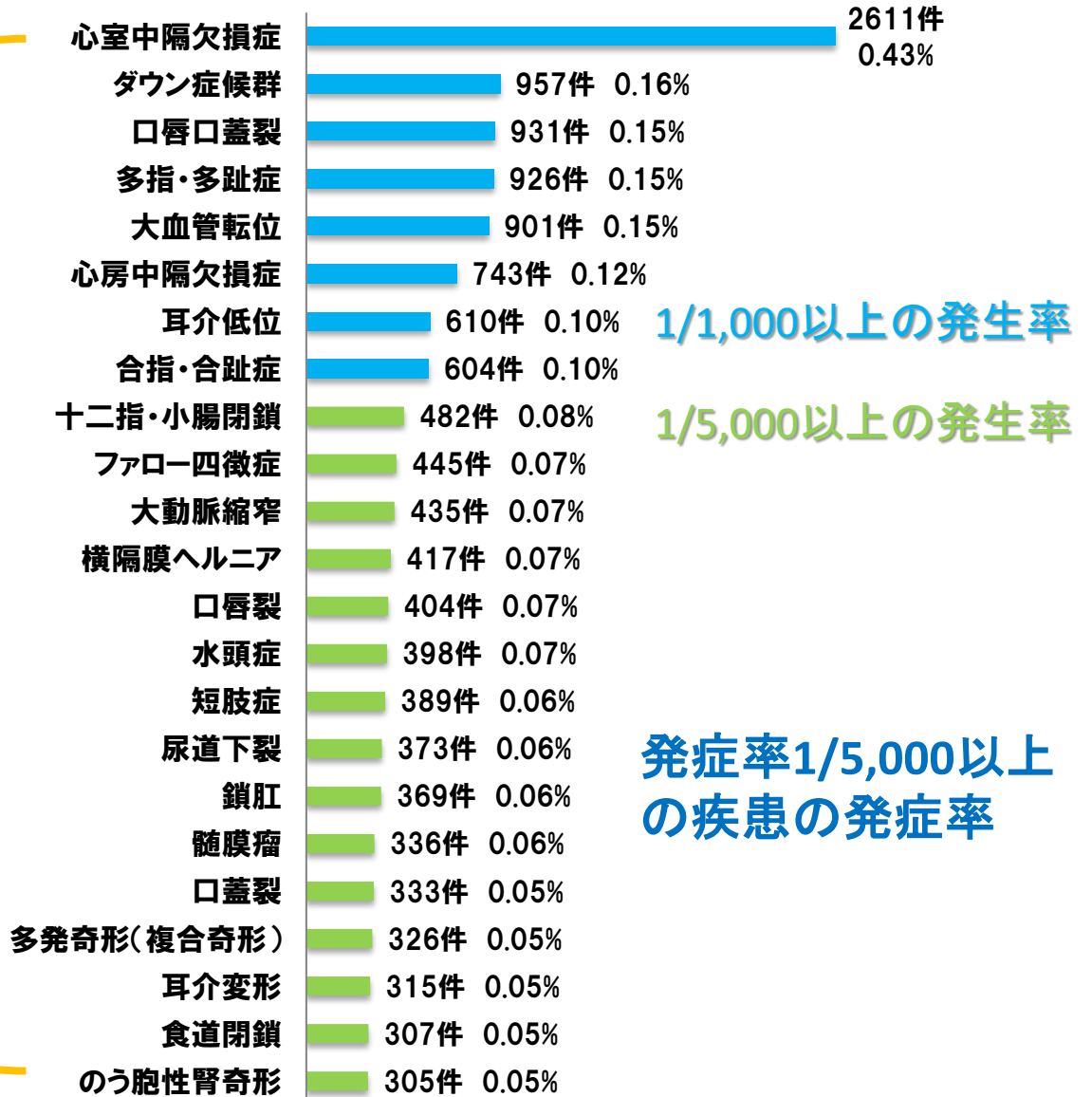
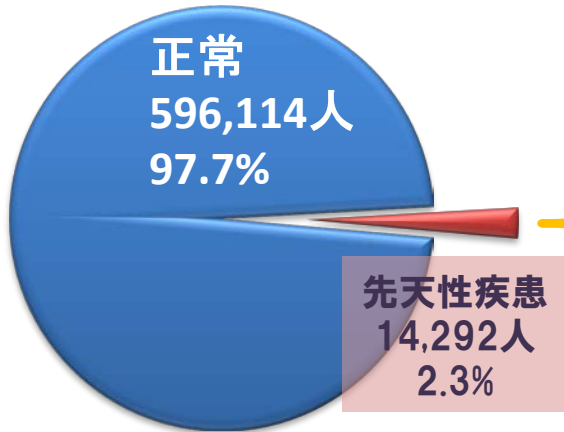
# 先天異常症(先天性疾患)の発症率

## 日本産婦人科医会の調査

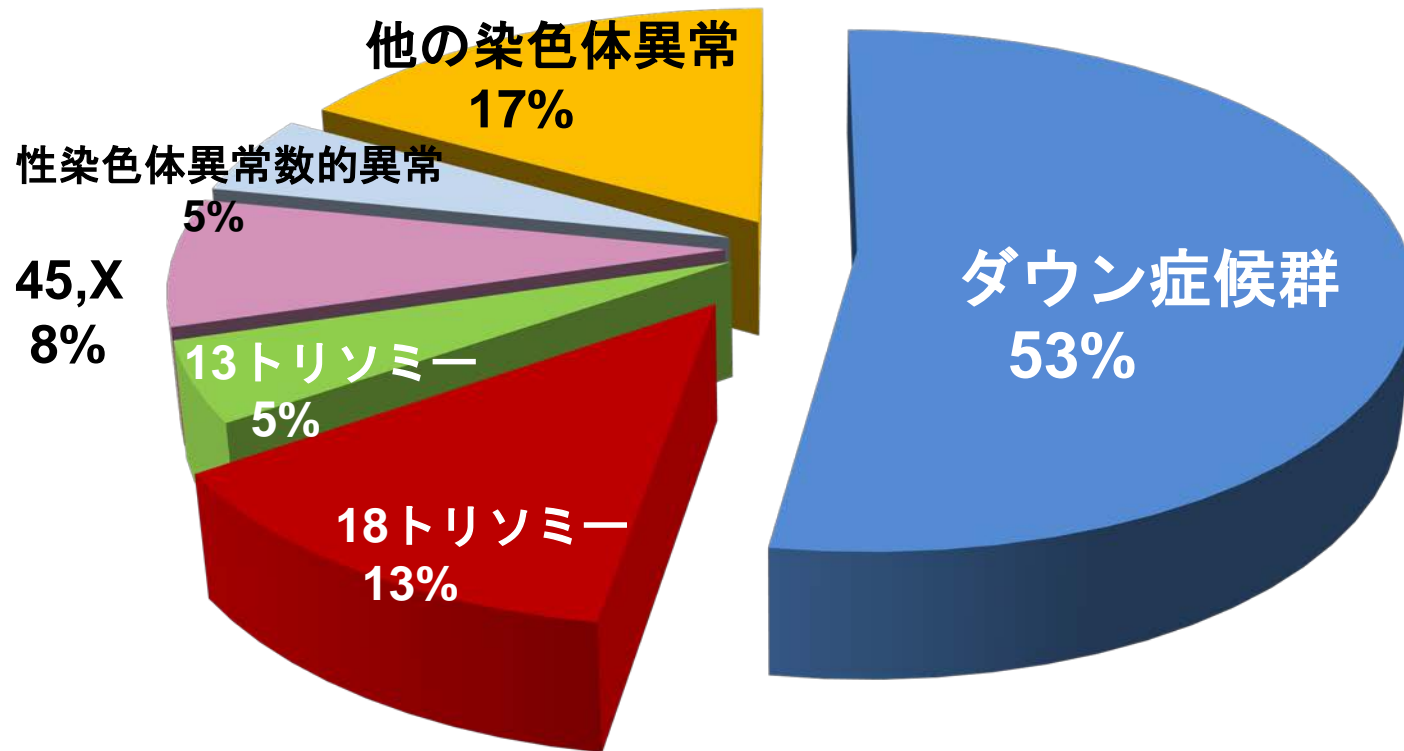
### 先天性疾患児の出生頻度

(平成21年度～平成26年度合算)

出生児数:610,406人



# 染色体疾患を持つ出生児の疾患の種類

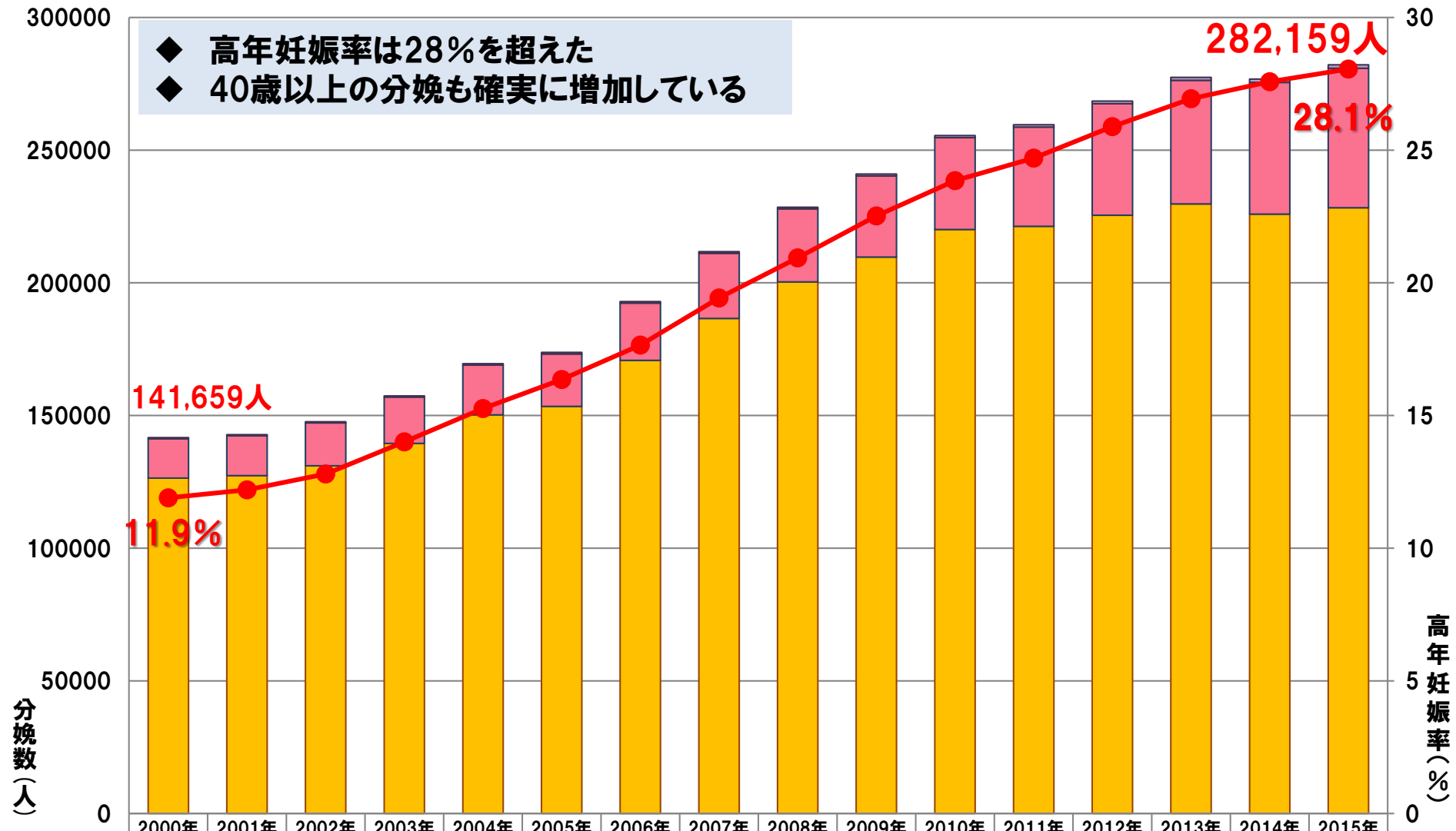


2000年から2006年にヨーロッパ11か国における240万出生についての調査研究

10323例が染色体疾患と診断され (43.8/10,000) たが、ダウン症、18トリソミー、13トリソミーの3つで染色体疾患の全体の71%(7335件)を占めた。

Wellesley, D, et al., Rare chromosome abnormalities, prevalence and prenatal diagnosis rates from population-based congenital anomaly registers in Europe (2000-2006). *Eur J of Hum Gen*, 11 January 2012.

# 35歳以上の分娩数の年次推移

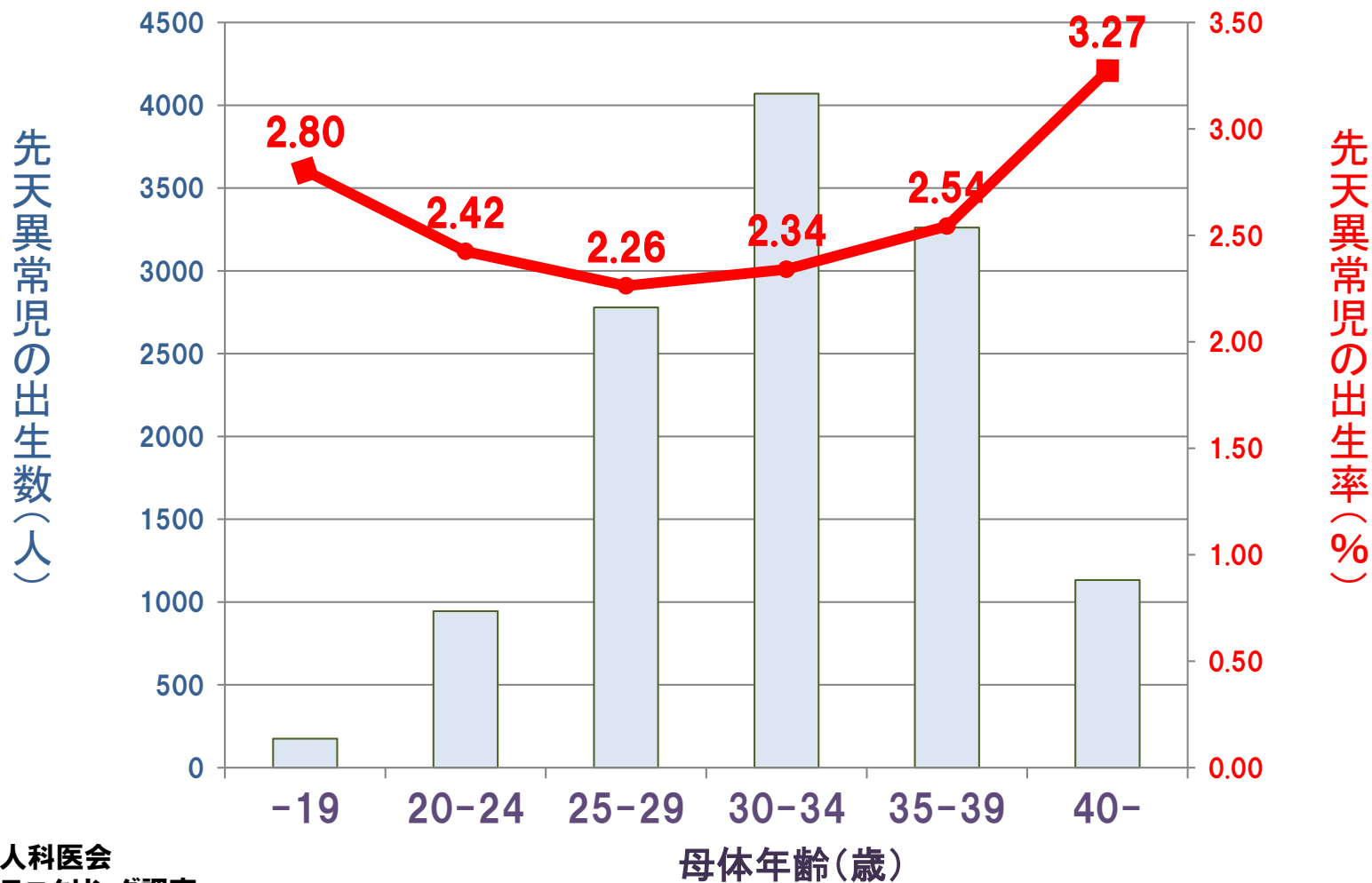


	2000年	2001年	2002年	2003年	2004年	2005年	2006年	2007年	2008年	2009年	2010年	2011年	2012年	2013年	2014年	2015年
全出生数	1190547	1170662	1153855	1123610	1110721	1062530	1092674	1089818	1091156	1070035	1071304	1050806	1037231	1029816	1003539	1005677
45-	402	402	406	421	499	598	531	609	618	704	792	843	960	1116	1272	1308
40-44	14848	15047	16200	17478	18790	19750	21608	24553	27522	30566	34609	37437	42031	46546	49606	52558
35-39	126409	127336	131040	139489	150222	153440	170775	186568	200328	209706	220101	221272	225480	229741	225889	228293
高年妊娠率	11.8986	12.1969	12.7959	14.0074	15.2613	16.3561	17.6552	19.428	20.9382	22.5204	23.8496	24.7003	25.8834	26.9371	27.5791	28.0566

# 母体年齢と先天異常児出生との関係

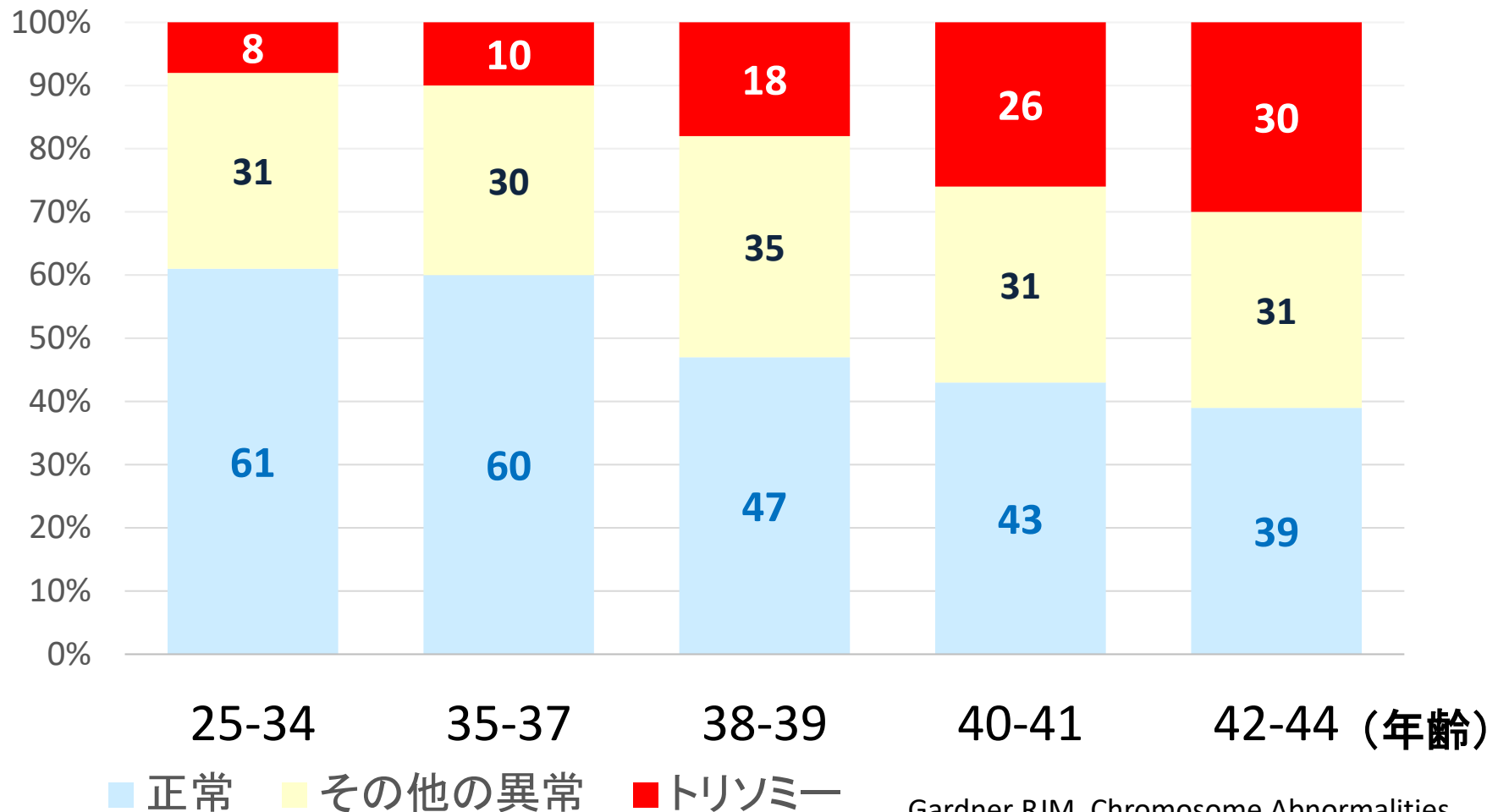
2010-14年の5年間のデータを集計

総出生数 504,754件の調査: 異常児数12,364人(2.45%)の集計



# 受精卵の染色体異常と母体の年齢

## 着床前診断での検討

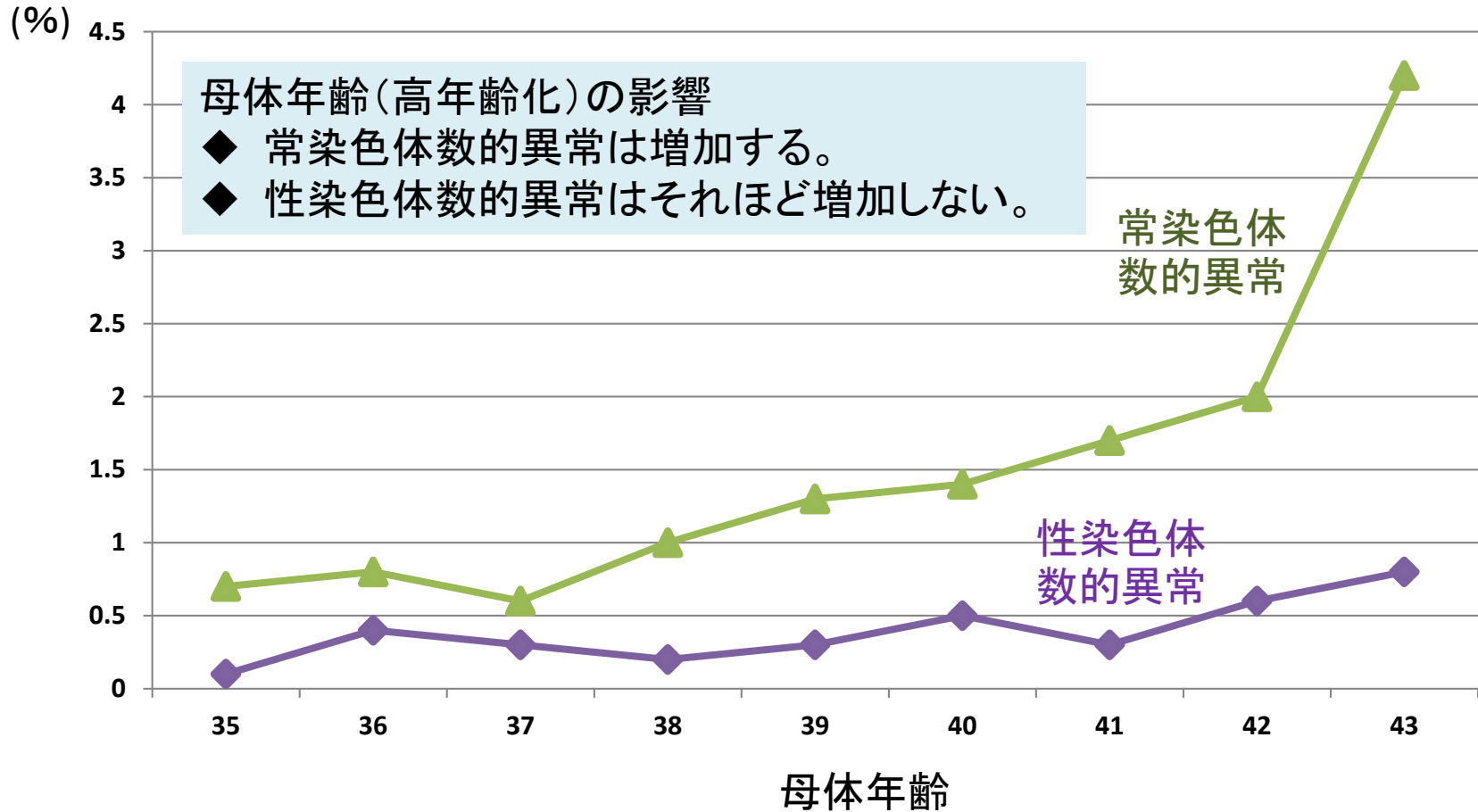


Gardner RJM. Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling 4<sup>th</sup> Edition, New York, Oxford University Press 2011より作成



# 母体年齢と染色体異常検出率

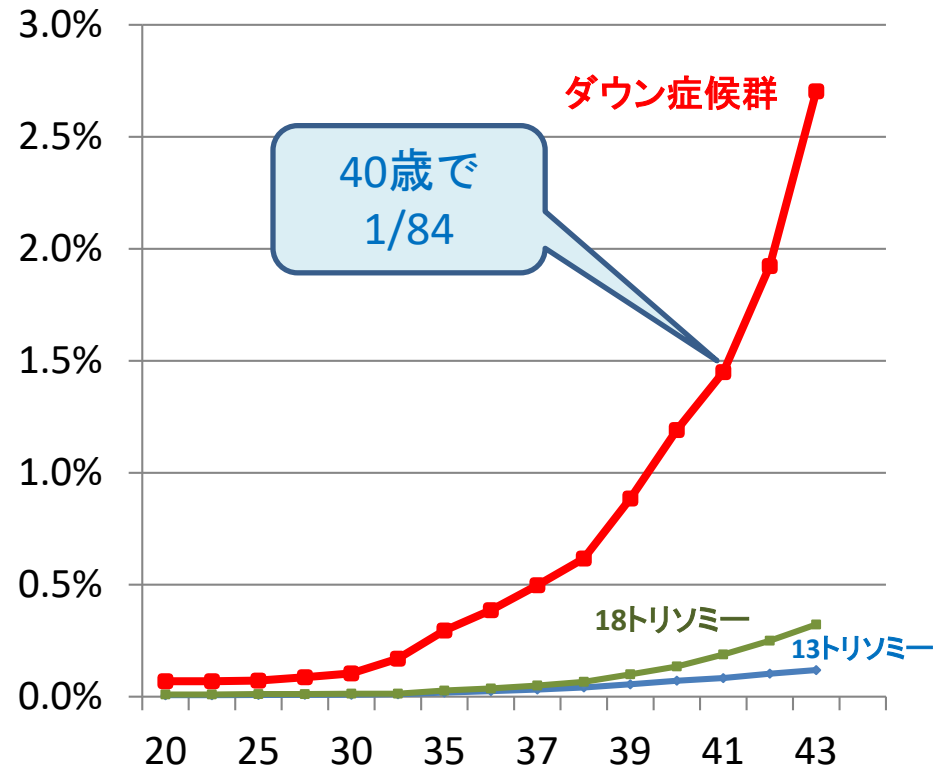
我が国の15,852件の高年妊娠での羊水検査結果の集計(2007-12)



近年の出産年齢の高年齢化に伴って増加する先天異常は、常染色体数的異常が主体

# 母体年齢と出生児の染色体疾患の発生率

母体年齢 (出産時)	ダウン 症候群	18トリソミー	13トリソミー
20	1/1441	1/10000	1/14300
25	1/1383	1/8300	1/12500
30	1/959	1/7200	1/11100
35	1/338	1/3600	1/5300
36	1/259	1/2700	1/4000
37	1/201	1/2000	1/3100
38	1/162	1/1500	1/2400
39	1/113	1/1000	1/1800
40	1/84	1/740	1/1400
41	1/69	1/530	1/1200
42	1/52	1/400	1/970
43	1/37	1/310	1/840



出産年齢の高年齢化に伴い、また、少子化に伴い  
出生前検査についての関心は非常に高まっている。

# 出生前検査・診断の概念

日本産科婦人科学会 2013年6月

「出生前に行われる遺伝学的検査および診断に関する見解」

妊娠中に胎児が何かの疾患に罹患していると思われる場合や、胎児の異常はあきらかでないが、何らかの理由で胎児が疾患を有する可能性が高くなっていると考えられる場合に、その正確な病態を知る目的で検査を行うことが基本的な出生前検査、診断の概念である

# 妊娠中の超音波検査

産婦人科診療ガイドライン 産科編 2014以降で超音波検査を分類

## ● 通常超音波検査

- 分娩予定日の決定
- 胎児数、双胎の膜性、胎盤位置
- 胎児発育の評価(胎児推定体重など)
- 胎児健康度の評価(羊水量・胎児血流など)

## ● 胎児超音波検査

- 胎児の形態的な評価
  - 致死性疾患: 無頭蓋症など
  - 胎児治療の対象となる疾患: 胎児胸水など
  - 出生後の早期治療に繋がる疾患: 横隔膜ヘルニアなど
  - 染色体異常との関連がある所見: 後頸部浮腫(NT)など
  - 外表奇形: 口唇裂などの
  - 胎児性別

どこまでを産科的に評価すべき事項か？

母体の安全のため  
周産期予後を改善するため

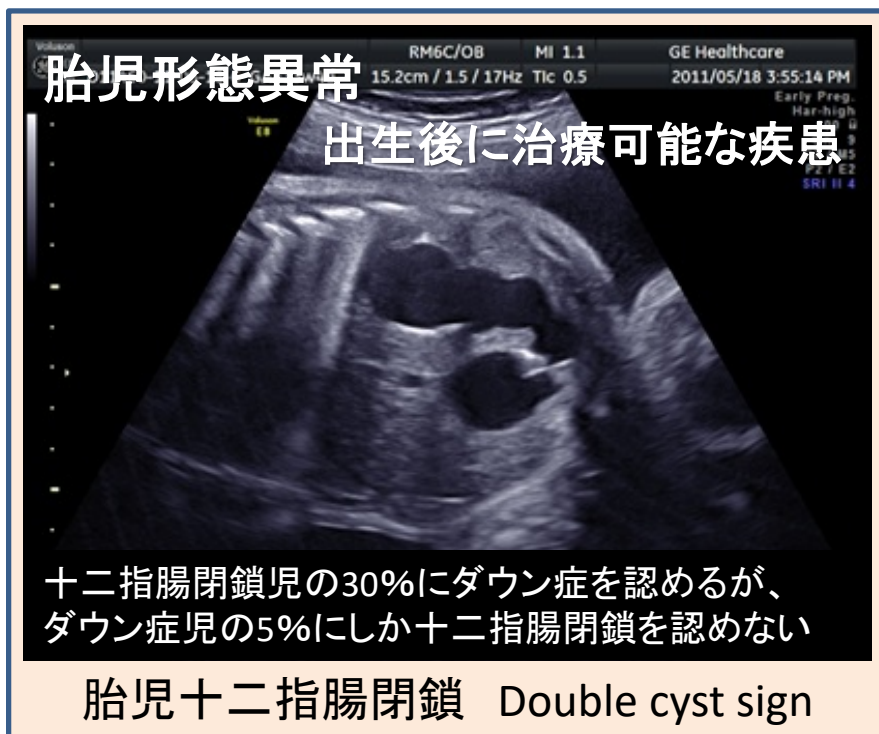
妊婦それぞれで考え方は異なる  
妊婦への事前のICが必要

大部分の妊婦は胎児形態異常を認めた場合、その詳細の告知を希望している

⇒ 致死的な疾患や染色体疾患との関連性のある所見についても説明する必要がある

# 胎児超音波検査の問題点

胎児の形態異常についてのみ告知を希望したとしても



1. 胎児超音波検査も出生前検査であり、遺伝学的検査になりうる。
2. 妊婦さん自身に、事前にどのような情報を知りたいかを確認して、妊婦さん自身の意思に基づき出生前検査についての計画を立てる必要があるが、対応に苦慮する症例も存在する。

# 母体保護法

## (医師の認定による人工妊娠中絶)

**第14条** 都道府県の区域を単位として設立された公益社団法人たる医師会の指定する医師(以下「指定医師」という。)は、次の各号の一に該当する者に対して、本人及び配偶者の同意を得て、人工妊娠中絶を行うことができる。

1. 妊娠の継続又は分娩が身体的又は経済的理由により母体の健康を著しく害するおそれのあるもの
  2. 暴行若しくは脅迫によつて又は抵抗もしくは拒絶することができない間に姦淫されて妊娠したもの
- 2 前項の同意は、配偶者が知れないとき若しくはその意思を表示することができないとき又は妊娠後に配偶者がなくなったときには本人の同意だけで足りる。

### 母体保護法に胎児条項はない

胎児に“病氣”や“障害”がある場合に人工妊娠中絶をしてもよいということは、法律の条項には記載されていない。

- 結果的に、胎児異常による中絶は、法律的には経済的理由を利用して行われている場合が多い

# 医学における生命倫理の基本原則

## ● 自律の尊重: Respect for Autonomy

- 身体と生命の質を含む“自己のもの”について、他人に危害を加えない限り、自己決定の権利を有する。
- 自身の医療的ケア、医療情報を自身でコントロールする権利を有する。
- 自己決定できる人については、本人の自由意思による決定を尊重する。
- 自己決定できない人(子ども, 精神障害者・知的障害者)については、人格を尊重し、人としての保護を与える。

## ● 善行: Beneficence

- 患者にとって良いことを行う

## ● 正義: Justice

- すべての個人が等しく公正に医療が受けられることを保証すること

## ● 無危害: Avoidance of maleficence

- 危害を与えないこと


Beauchamp & Childress, 1979

- ◆ 出生前検査は胎児が中絶の対象になりうる検査であり、生命倫理の原則の上では、議論の対象になる
- ◆ 個人のゲノム情報が漏洩されることに伴う被害の防止が必要である。
- ◆ 遺伝情報が明らかになったことで社会的な不利益が生じないような対応が必要である。

# 生殖・出生前検査についての倫理的な視点

## 女性の権利 (Reproductive Health Right)

人々が安全で満ち足りた性生活を営むことができ、生殖能力を持ち、**子どもを持つか持たないか、いつ持つか、何人持つかを決める自由をもつ**ことを意味する。(1994年、カイロ国際人口・開発会議で採択)

- 
- **一人ひとりの女性が、子どもを産むかどうかを選択する権利は保証されている。**
    - 現実、日本では年間18万件の人工妊娠中絶が行われているが、これとて一人一人の**女性が真剣に悩んだ末の決断**である
    - **胎児異常による妊娠中断は、それ以上に真剣に悩んだ末の決断**である
  - 高年妊娠、超音波で異常を指摘されるなど染色体疾患のリスク上昇を指摘された妊婦は、さまざまな情報を正確に収集して、自ら希望する検査を選択する権利がある。

## 胎児の生命権 ⇒ 胎児に人権はあるか？ (Fetus as a patient)

- 法的には胎児に人権はない＝母の付属物
  - **倫理的地位と法的地位のずれ**
  - 人となる可能性を持つ存在にどこまで地位を認めるか？



# 胎児染色体疾患も胎児治療の対象になる

児の予後改善を前提として胎児診断が行われるべきとの考えもある

胎児治療が研究され、実用の可能性も出てきている

- 胎児薬物治療

- アルツハイマー治療薬・抗酸化薬をダウン症胎仔の羊水中に投与することで、中枢神経系の発育が改善する可能性を報告 (Bianchi DW, NICHD)

- 胎児幹細胞治療

- 幹細胞をラット胎仔腹腔内に投与すると幹細胞が胎仔の脳内に生着し、神経細胞に分化して脳の形成に関与することを報告

- その他

妊娠早期の胎児診断⇒早期の胎児治療→児の臨床像の改善

# 米国での出生前検査についての倫理的議論

米国において出生前検査についての倫理的な問題は「**生命倫理的な原則を厳密に適応することで対処できる**」と結論された。

(優生学と人間社会 米本昌平ら 講談社現代新書)

## 生命倫理的な原則

十分な情報提供のもとで、検査を受けるか、受けないかを、個人が自発的に自由意思により選択した結果であること

出生前診断においては、**妊婦に必要とする情報を適確にわかりやすく伝え、患者自身が自律的に自己決定できるようにサポートすることが重要である。**

自己決定のサポート

自己決定をサポートするために重要なのが  
**遺伝カウンセリング**

# 遺伝カウンセリングとインフォームドコンセント

## 遺伝カウンセリング(Genetic Counseling)

遺伝カウンセリングとは、遺伝性疾患、あるいはその可能性を持つ当事者、家族、親族に対して生活設計上の選択を自らの意思で決定し行動できるよう臨床遺伝学的診断を行い、医学的判断に基づき適切な情報を提供し、支援する診療である。

クライアント、カウンセラー(来談者)とカウンセラー(相談対応者)が時間をかけ、十分な理解、納得を求めながら、**繰り返して行われる心理的支援を伴うプロセス**である。

## インフォームド・コンセント(Informed Consent)

医療行為などの対象者が、**治療などの内容についてよく説明を受け十分理解した上で、対象者が自らの自由意思に基づいて医療従事者と方針において合意すること**である

説明の内容としては、対象となる行為の名称・内容・期待されている結果のみではなく、代替治療、副作用や成功率、費用、予後までも含んだ正確な情報が与えられることが望まれている。

# 出生前に行われる遺伝学的検査および診断に関する見解

日本産科婦人科学会2013年6月

- ◆出生前に行われる遺伝学的検査および診断は、十分な遺伝医学の基礎的・臨床的知識のある専門職による適正な遺伝カウンセリングが提供できる体制下で実施すべきである。
- ◆実施する医師はその意義を十分理解した上で、妊婦および夫（パートナー）等にも検査の特性、得られる情報の診断的評価、さらに、遺伝医学的診断意義等について検査前によく説明し、適切な遺伝カウンセリングを行った上で、インフォームドコンセントを得て実施する。

産婦人科医は上記見解の下で、様々な出生前検査に関わっている

# 出生前遺伝学的検査の種類

## 胎児染色体検査法

### ■ 非確定的検査(非侵襲検査)

(羊水検査など侵襲検査の実施に悩む場合の検査)

- 超音波計測(初期NTなど)による染色体疾患の可能性の評価
- 母体血清マーカー検査(クアトロ検査,トリプルマーカー検査)
- コンバインド検査(NT+血清マーカー検査)
- 母体血胎児染色体検査(NIPT)

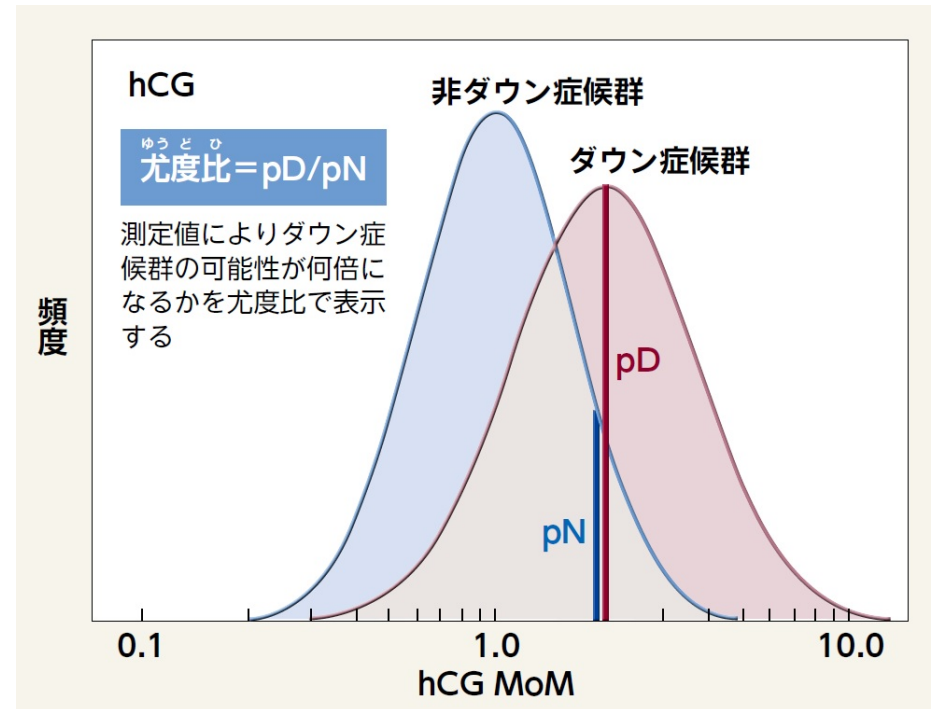
### ■ 確定的検査(侵襲検査)

- 絨毛染色体検査
- 羊水染色体検査
  - 羊水(絨毛)細胞の分析法:
    - 染色体分染法(G-banding法など)
    - FISH法
    - CGH microarray/SNP microarray

検査毎に、実施時期・わかること・限界・検査のリスク等に特徴がある。

# 非確定的出生前検査：母体血清マーカー検査

1. 非確定的・非侵襲・遺伝学的検査に分類される
2. 母体血中の生化学物質を測定する
3. 胎児染色体異常症などの可能性を評価する
4. クアトロ検査の感度は80%程度であるが、陽性的中率は5%以下と低い
5. 胎児が染色体異常などの際に母体血中で変化する物質の濃度変化に母体の年齢を加味してリスク計算される



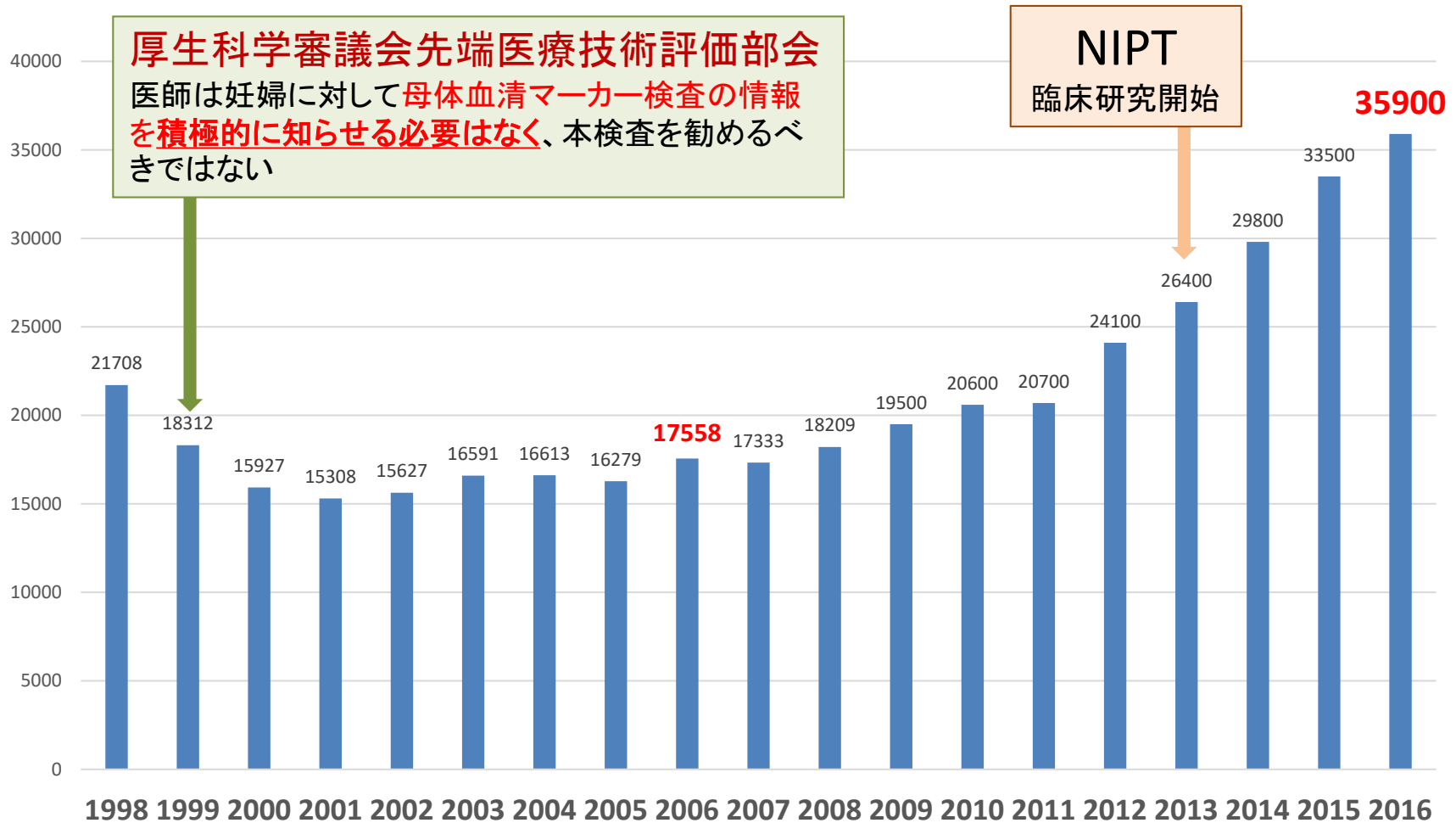
クアトロ検査	AFP	hCG	uE3	Inhibin A
神経管閉鎖不全	↑	—	—	—
ダウン症候群	↓	↑	↓	↑
18トリソミー	↓	↓	↓	—

問題点：

遺伝学的検査に分類されているが、事前に十分な説明が行われていないとの指摘がある

# 母体血清マーカー検査実施数の年次推移

## 非侵襲的出生前遺伝学的検査の実施状況



2009年以降は推定数； 国立成育医療研究センター 佐々木愛子先生提供

わが国の母体血清マーカー検査は増加傾向が持続し、10年で倍増した。



# 非確定的出生前検査：胎児後頸部浮腫

妊娠11-13週（CRL45~84mm）に胎児後頸部の皮下液体貯留NT(Nuchal translucency)を計測する



1. CRLが45-84mmで計測
2. 正中断面で計測：間脳、鼻梁がみえ、頬骨が見えない
3. できるだけ大きく拡大：胸から頭部が画面全体になる
4. 胎児は軽度屈位である



# 非確定的出生前検査：胎児後頸部浮腫

胎児後頸部の皮下液体貯留 NT (Nuchal translucency)

1. 非確定的・非侵襲・遺伝学的検査に分類される
2. 胎児NT肥厚を測定する
3. 胎児ダウン症などの可能性を評価する
4. NT 5パーセントイル以上に肥厚した児にダウン症の70%が入る(感度70%)
5. ダウン症のみではなく、その他の染色体異常、心奇形などでもNT肥厚を認める

胎児の核型	N	NT>95 <sup>th</sup> centile	Risk $\geq$ 1 in 300
正常	95,476	4,209 (4.4%)	7,907 (8.3%)
21トリソミー	326	234 (71.2%)	268 (82.2%)
18トリソミー	119	89 (74.8%)	97 (81.5%)
13トリソミー	46	33 (71.7%)	37 (80.4%)
ターナー症候群	54	47 (87.0%)	48 (88.9%)
三倍体	32	19 (59.4%)	20 (62.5%)
その他	64	41 (64.1%)	51 (79.7%)
合計	96,127	4,767 (5.0%)	8,428 (8.8%)

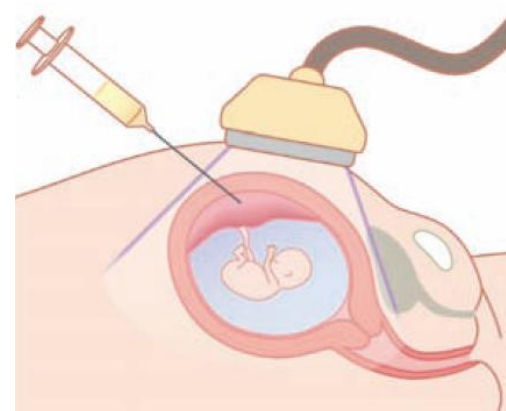
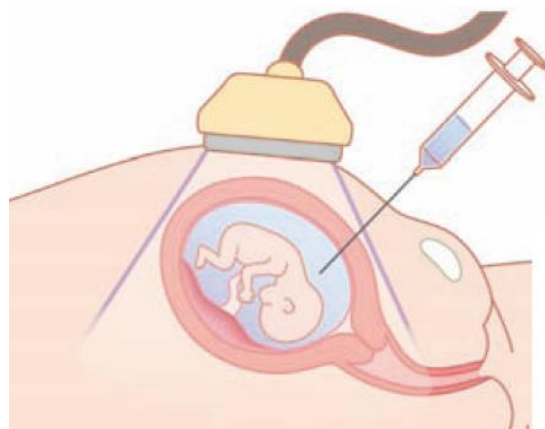
Snijders RJ, et al. Lancet. 1998; 352: 343-6

胎児後頸部の超音波計測値 (NT) と母体血清マーカー (PAPPA, hCG) を組み合わせたコンバインド検査が普及してきている。

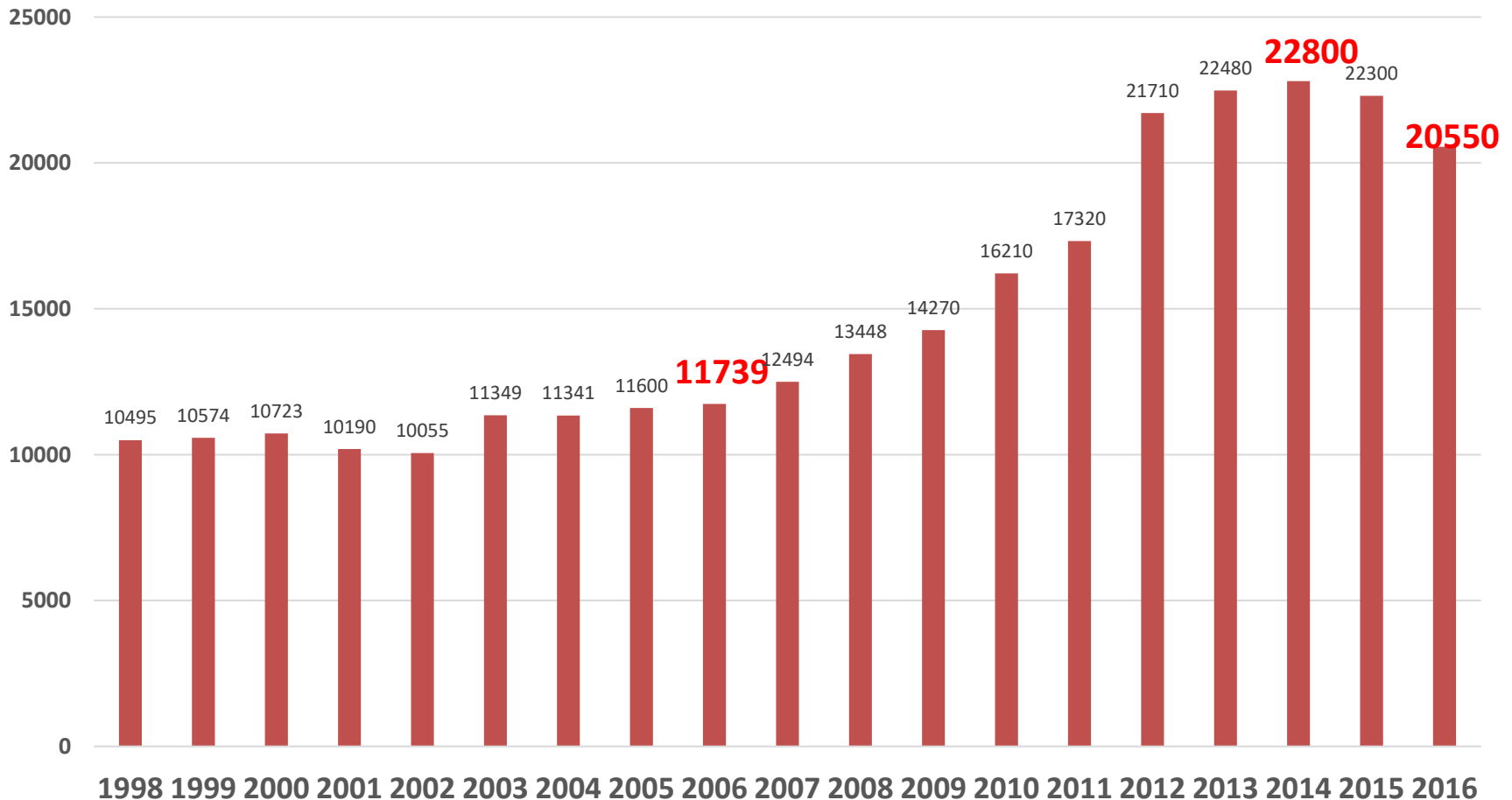
クアトロ検査と感度・陽性的中率はほぼ同等であるが、妊娠11-13週に検査可能である

# 確定的出生前検査：侵襲検査

検査の種類	羊水検査 Amniocentesis	絨毛検査 Chorionic villus sampling: CVS
検査時期	妊娠15-16週以降	妊娠11-14週
結果判明期間	2-3週	2-3週
流産率	1/300～1/500	1/100～1/300
限界	染色体検査ではモザイクや微小欠失が検出できないことも	胎盤性モザイクの可能性 児のモザイクや微小欠失が検出できないことも
検査費用	10万～15万円	10万～15万円



# 確定検査実施数の年次推移

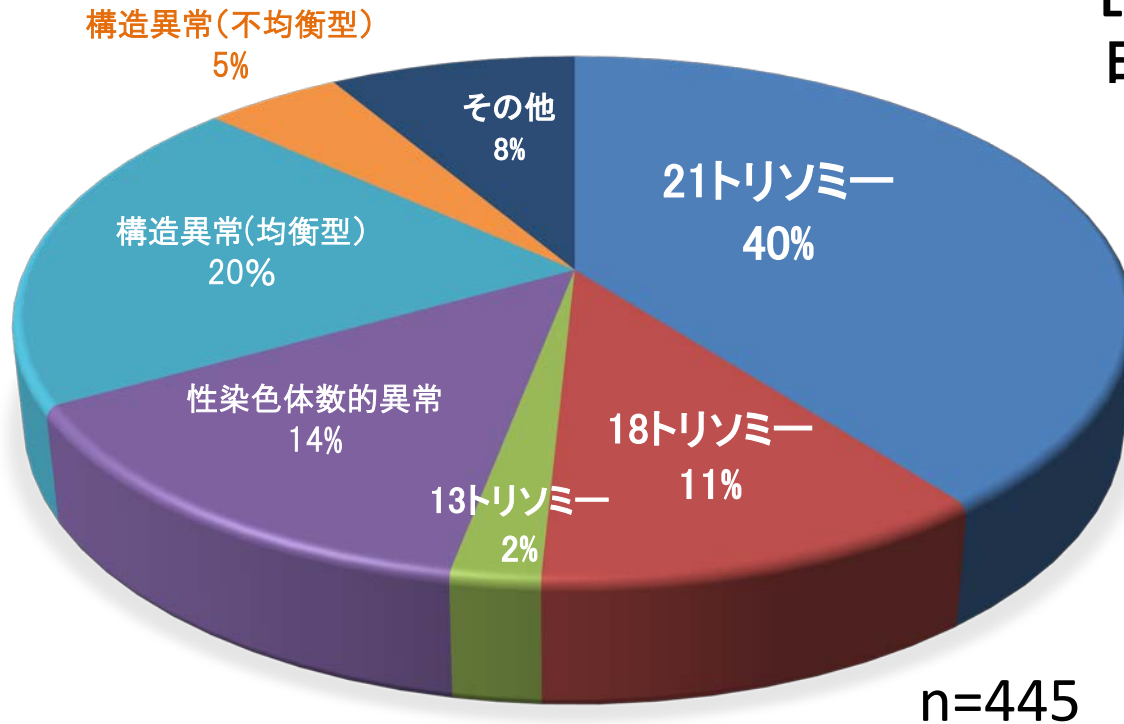


2009年以降は推定数； 国立成育医療研究センター 佐々木愛子先生提供

わが国の羊水検査などの確定検査は増加傾向にあったが、2014年以降減少に転じた。

# 高年妊娠における羊水染色体検査の結果

我が国の羊水検査15,852件中445件で染色体異常を検出(2007-12)



## その他の内訳

染色体モザイク(59例)

偽モザイク(21例)

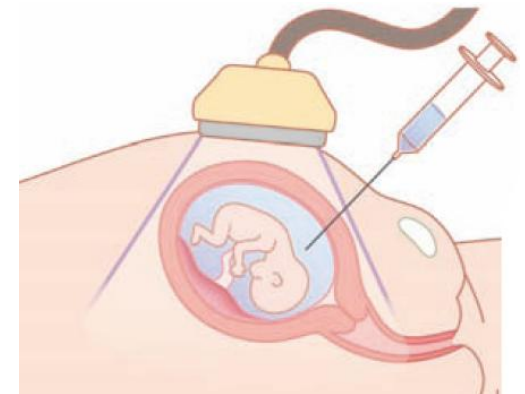
染色体異常と構造異常(16例)

3倍体(7例)

常染色体と性染色体の数的異常(2例)

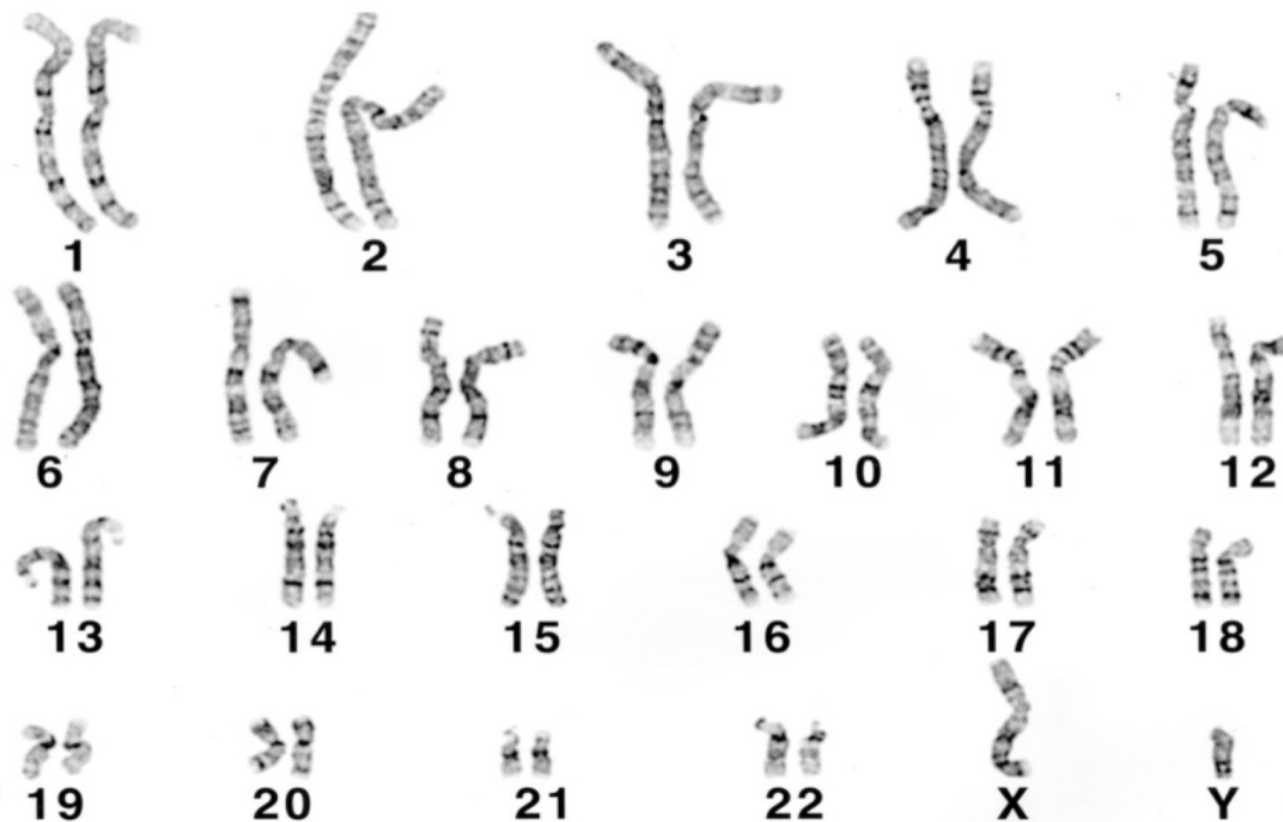
LabCorp社で2007-2012年に  
日本で実施した検査が対象

- 高年妊娠を適応として妊娠22週未満に行われた羊水染色体検査15,852例の結果
- 高年妊娠での染色体異常率は、2.8%であった。



# 染色体検査の限界

## 染色体分析: G-band法



G-band法での検出の限界は3-10Mbの染色体領域の変化  
それ以下の微小欠失・重複は検出できない

# マイクロアレイによる胎児診断

染色体分析(G-band):  
3~10MbサイズのDNAの過不足しか診断できない

マイクロアレイ: **50Kb以下の変化(微小欠失や重複)** や  
**ヘテロ接合性の消失(片親性ダイソミー)**を診断できる



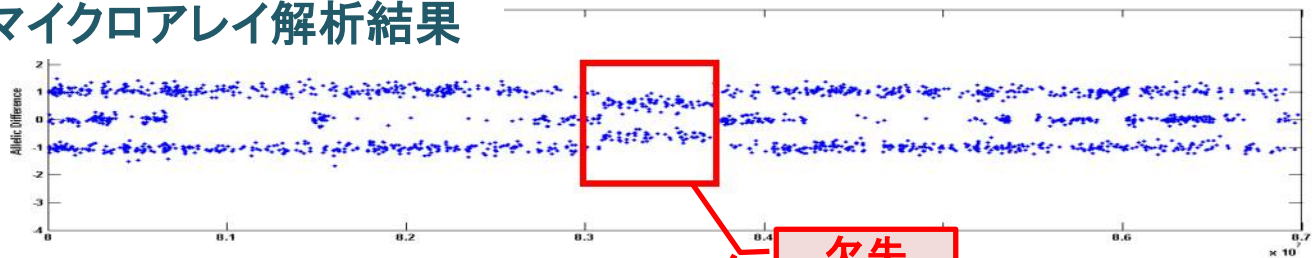
SNPマイクロアレイ

Reveal<sup>SM</sup> SNPマイクロアレイ

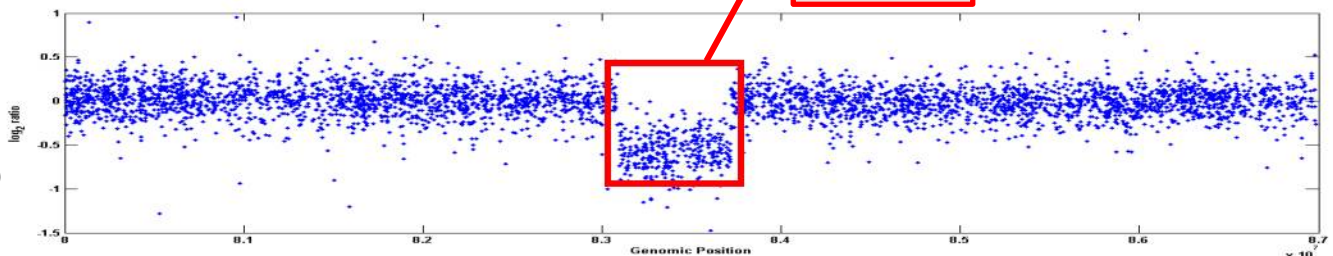
1. 総数260万個を超えるコピー数マーカータラを搭載した高密度アレイ
2. 75万個を超えるSNPプローブ
3. 190万個を超える領域特異的な非多型プローブ

## Reveal<sup>SM</sup> SNPマイクロアレイ解析結果

Allele Difference  
SNPプローブ



Log2 ratio  
領域特異的な  
非多型プローブ  
(各SNPのコピー数生データ)

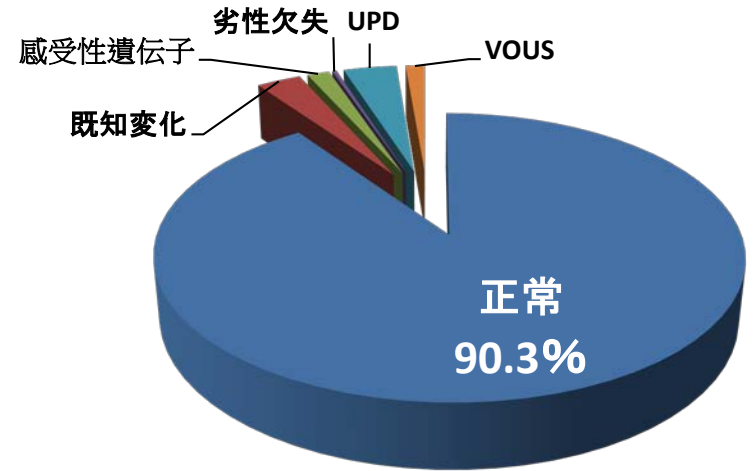




# マイクロアレイでの判明する変化

超音波での胎児異常があり、染色体核型正常であった胎児のDNA解析

- 正常[90.3%]
- 既知の病的変化/ 微細欠失/ 微細重複 [3.0%]
- 感受性遺伝子/ 領域 [1.5%]
- Recessive deletion[0.3%]
- 片親性ダイソミーならびに近親婚 [3.6%]
- 臨床的意義が不明な変化 [VOUS – 1.3%]
  - Variants of Uncertain Clinical Significance



超音波所見	症例数	コピー数変化	コピー数変化を伴わない変化 Descent/UPD	変化検出率
ソフトマーカー	161	2.5%	3.1%	5.6%
単一奇形	377	5.6%	2.7%	8.3%
多発異常	85	15.3%	12.9%	28.2%
NT肥厚	206	5.3%	2.9%	8.2%
心奇形	263	6.8%	4.9%	11.7%
脳奇形	228	9.6%	5.3%	14.9%

# 米国では胎児形態異常例でArrayを推奨



The American College of  
Obstetricians and Gynecologists  
WOMEN'S HEALTH CARE PHYSICIANS



Society for  
Maternal-Fetal Medicine

## COMMITTEE OPINION

Number 581 • December 2013

(Replaces No. 446, November 2009. Reaffirmed 2015)

(See also Practice Bulletin No. 88)

The American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Genetics  
Society for Maternal-Fetal Medicine

*This document reflects emerging clinical and scientific advances as of the date issued and is subject to change. The information should not be construed as dictating an exclusive course of treatment or procedure to be followed.*

### The Use of Chromosomal Microarray Analysis in Prenatal Diagnosis

2013年12月発出

- 胎児形態異常例における出生前検査としてマイクロアレイ検査は最も有益性の高い検査であるので、侵襲検査を行う場合には、G-band法に変えて、マイクロアレイ検査を推奨する。
- Microarrayで検出される多くの変化は母体年齢とは無関係で、この検査の利用は35歳以上に限定すべきではない。
- 臨床的に不明瞭な所見が出ることで妊婦の不安の原因になりうる。
- **遺伝カウンセリング**で検査のメリット、デメリットを説明し、十分な理解のもとで受検の判断をすることが重要である。



# 侵襲検査を受ける妊婦の選択肢 としてmicroarrayを提示すべき



Society for Maternal-Fetal Medicine  
(SMFM) Consult Series | #41  
smfm.org

## The use of chromosomal microarray for prenatal diagnosis

Society for Maternal-Fetal Medicine (SMFM); Lorraine Dugoff, MD; Mary E. Norton, MD; Jeffrey A. Kuller, MD

- ◆ 胎児形態異常がなく**高齢妊娠を理由とした羊水検査**で、染色体検査が正常であった胎児の**0.5%にmicroarrayで異常所見**が検出された。
- ◆ 胎児染色体検査でde novoの均衡型転座を検出した場合には7.9%で切断点付近の欠失や重複を、加えて1.7%ではそれ以外のlocusに欠失や重複を検出した(計9.6%)。  
(Shaffer LG, et al. Prenat Diagn 2012; 32:976)

Microarrayでは、

1. **胎児形態異常を認める場合にG-bandに比べ6-7%多くの臨床的に意義のある変化(pathogenic CNV)を検出することがある(形態異常のない児では1-1.7%)。**
2. **1.4-2.1%で臨床的意義の分からない変化(VUS)が出てくる。(SMEM. Am J Obstet Gynecol. 2016)**

⇒ 出生前の侵襲検査を受ける妊婦にはマイクロアレイを選択肢として提示すべきである

# 母体血中の胎児由来成分

Maternal Blood

Plasma

Cell-free fetal DNA

- ✓ 1997年に母体血漿中胎児DNAの存在が報告される (Lo et al, Lancet)

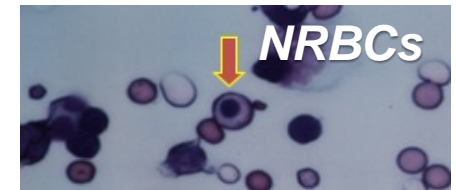


比重遠沈後

Mononuclear cells

胎児由来細胞

1. 有核赤血球
2. 絨毛細胞
3. 白血球



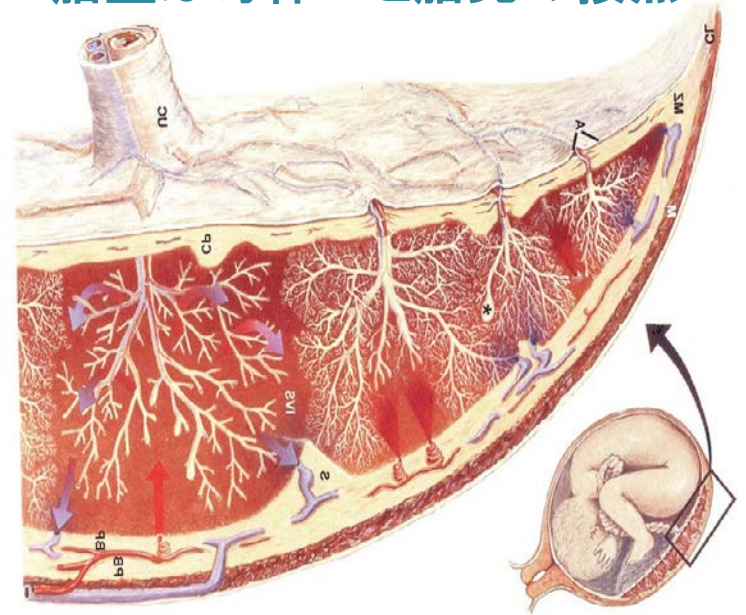
- ✓ 1969年 XYの染色体をもつ白血球を母体血液中に同定 (Walknowska et al, Lancet)
- ✓ 1991年 母体血中有核赤血球から胎児のtrisomy 21細胞を同定 (Elias et al. AJHG)

# 母体血漿中胎児cfDNAの特徴

## 出生前検査に利用するメリット

1. 母体血胎児由来cfDNAの**大部分は絨毛細胞に由来**
2. 出産2時間後には母体血中から消失
  - 半減期は16.3分 (range: 4-30)
  - 前回妊娠の影響を受けない
3. **妊娠早期から検出可能**
  - 体外受精症例で、妊娠4週から検出
4. 比較的高濃度に存在
  - PCRによる検討では3-8%と報告
  - 母体血cfDNAの**10-15%は胎児由来**
    - ◆ 母体由来cfDNA断片に比較し、胎児由来断片は短い
    - ◆ NGSで短いDNA断片についての解析が可能になったことで、胎児由来cfDNA濃度は当初の推定より高いことが判明

### 胎盤は母体血と胎児の接点



### 母体血中胎児cfDNAの由来

胎児由来の絨毛細胞がアポトーシスを起こし、絨毛間腔に剥脱する  
⇒断片化した絨毛細胞由来のDNAが母体血中を循環する

# 無侵襲的出生前遺伝学的検査

Non-Invasive Prenatal Genetic Testing: NIPT

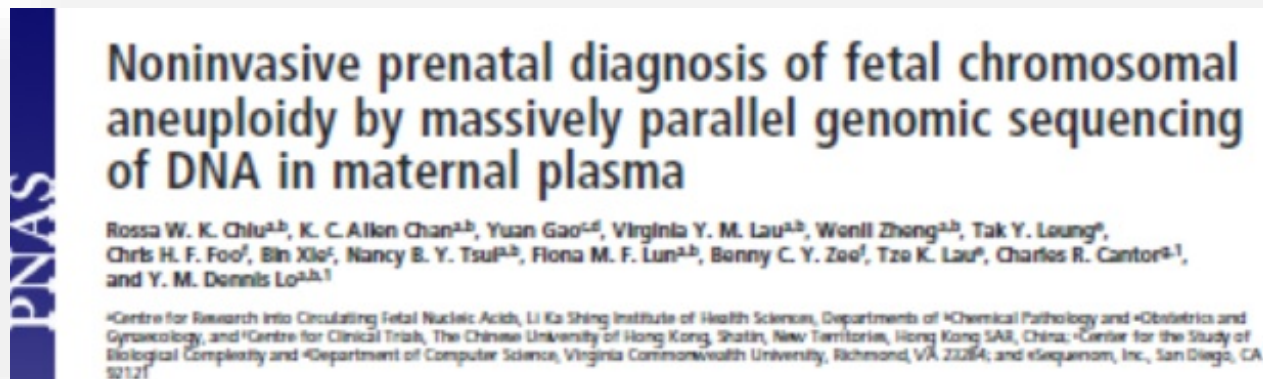
## PCR法による出生前検査

1. 胎児の性別診断
2. RhD陰性妊婦の胎児RhD血液型診断
3. 胎児単一遺伝子病の診断

## 新しい遺伝子解析法を駆使した出生前検査

### 1. 母体血胎児染色体検査

2008年、次世代シーケンサー [Massively Parallel Sequencing (MPS)法]を利用して母体血漿中のcell-free DNAを網羅的に解析し、染色体異常を検出する方法が報告



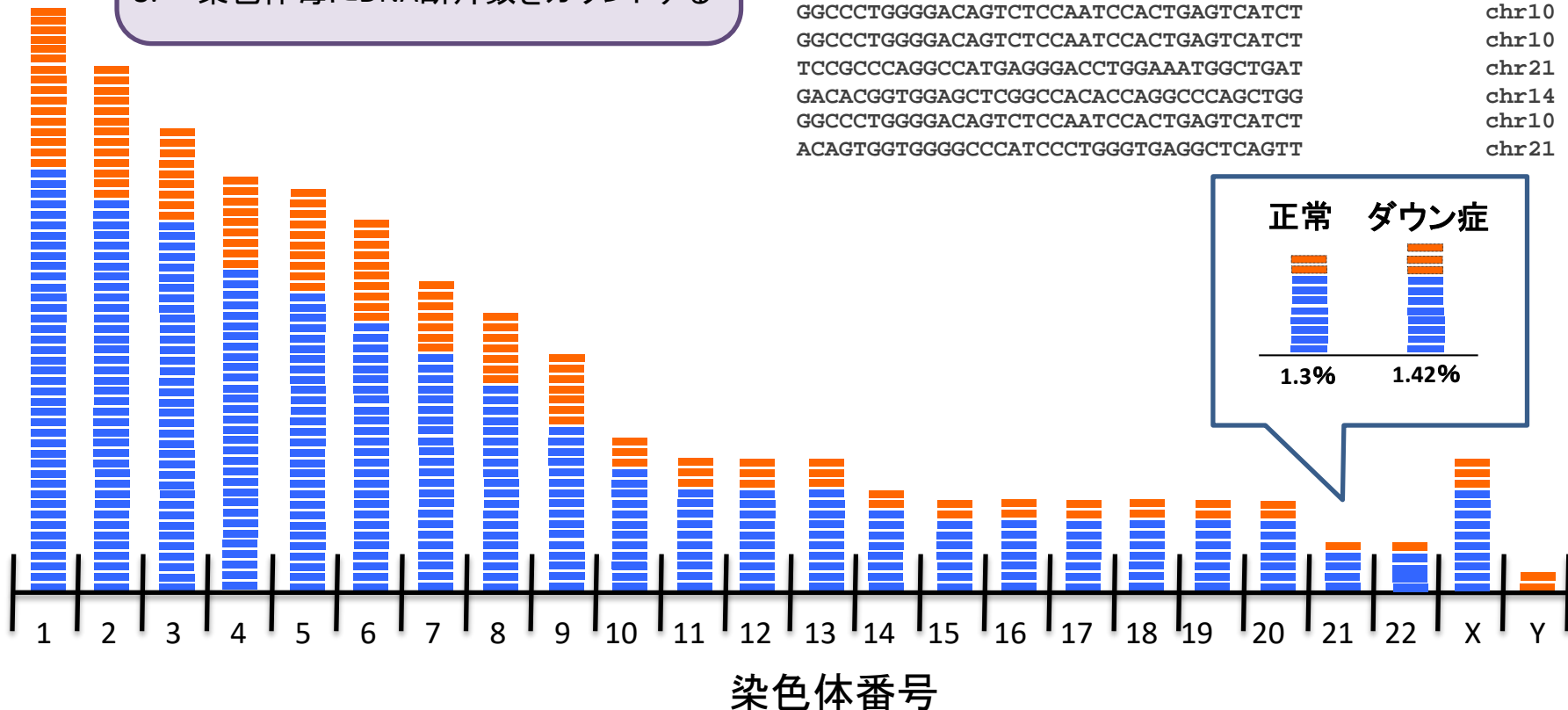
# 母体血cell-free DNAを用いた胎児染色体検査

## MPS法の検査の原理

1. DNA断片の塩基配列を解読
2. ヒトゲノム情報から由来する染色体を決定
3. 染色体毎にDNA断片数をカウントする

```

TCCGCCCAGGCCATGAGGGACCTGGAAATGGCTGAT chr21
GGCCCTGGGGACAGTCTCCAATCCACTGAGTCATCT chr10
GACACGGTGGAGCTCGGCCACACCAGGCCCAGCTGG chr14
GGCCCTGGGGACAGTCTCCAATCCACTGAGTCATCT chr10
ACAGTGGTGGGGCCCATCCCTGGGTGAGGCTCAGTT chr21
GGCCCTGGGGACAGTCTCCAATCCACTGAGTCATCT chr10
GGCCCTGGGGACAGTCTCCAATCCACTGAGTCATCT chr10
GGCCCTGGGGACAGTCTCCAATCCACTGAGTCATCT chr10
TCCGCCCAGGCCATGAGGGACCTGGAAATGGCTGAT chr21
GACACGGTGGAGCTCGGCCACACCAGGCCCAGCTGG chr14
GGCCCTGGGGACAGTCTCCAATCCACTGAGTCATCT chr10
ACAGTGGTGGGGCCCATCCCTGGGTGAGGCTCAGTT chr21
    
```

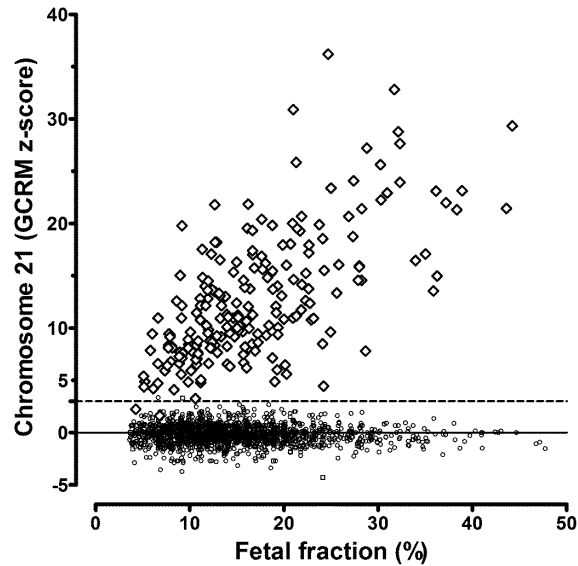


血液中の個々のDNA断片の塩基配列を読んで、その断片がどの染色体に由来しているかを識別し、各染色体由来のDNA断片の量的な割合をみることで、特定の染色体についての変化を検出します

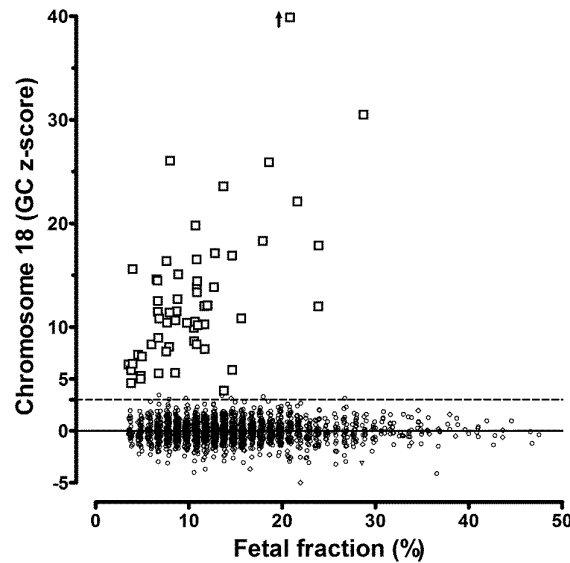
# 母体血漿中cell-free DNAを用いた 胎児染色体異常スクリーニングの精度(MPS法)

Fetal aneuploidy screening by Massively parallel genomic sequencing in maternal plasma

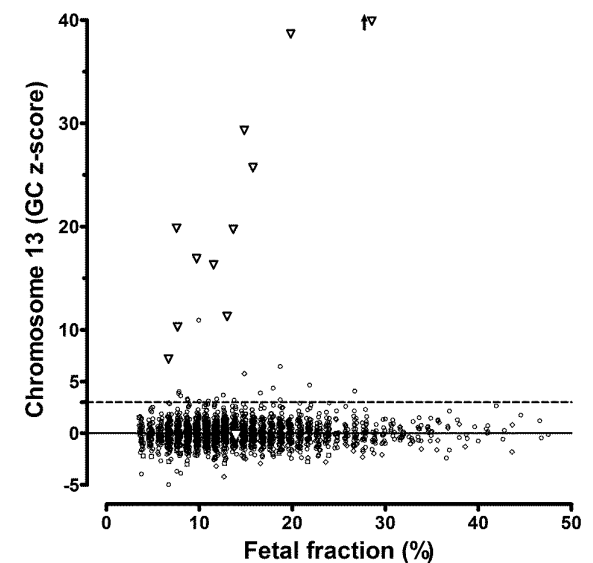
Chromosome 21



Chromosome 18



Chromosome 13



	Trisomy 21		Trisomy 18		Trisomy 13	
感度	99.1%	210/212	100%	59/59	91.7%	11/12
特異度	99.9%	1687/1688	99.7%	1683/1688	99.1%	1672/1688

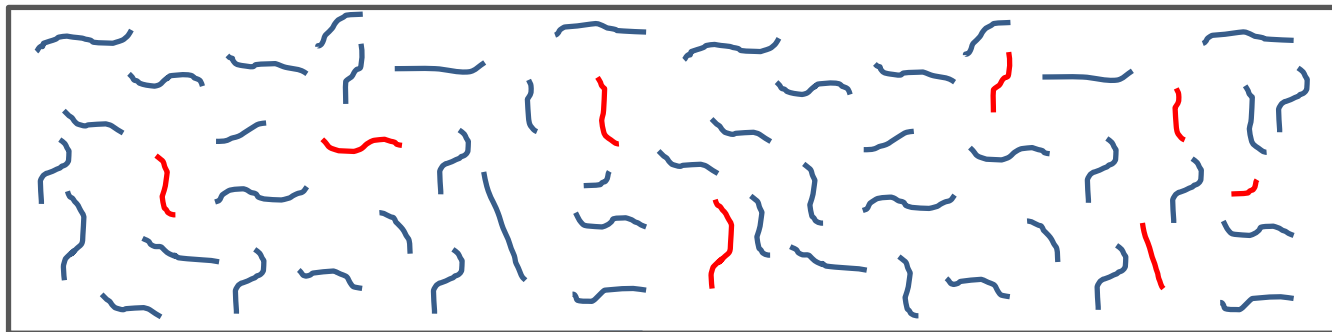
判定不能 0.9% (17/1988): 胎児DNA濃度<4%は判定不能になる



# 母体血漿中DNA解析：MPS法の応用（1）

## 染色体の数的異常の診断のイメージ図

母体血漿中  
cell-free DNA



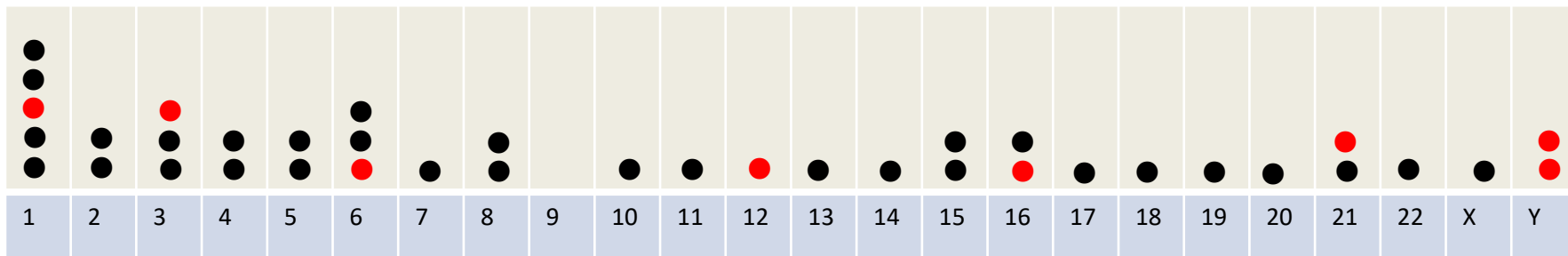
Sequencing

断片1: AGCTGCAGTTATCCGGATGGGAATTT	⇒	Chromosome 1
断片2: GCTATAGTCCGAGGGGATATGCTTATT	⇒	Chromosome 1
断片3: CAAGCTGGTCCTATGGGGAATTTGAT	⇒	Chromosome 4
断片4: AGCTGCAGTTATCCGGATGGATTGA	⇒	Chromosome 6
断片5: CAAGGTCGTCTCTAATGGGAATTTGG	⇒	Chromosome 21
断片6: ATGGCCAGTTCGTAGATGGGAATTCT	⇒	Chromosome 22

ヒトゲノム情報  
から染色体の  
由来を確定

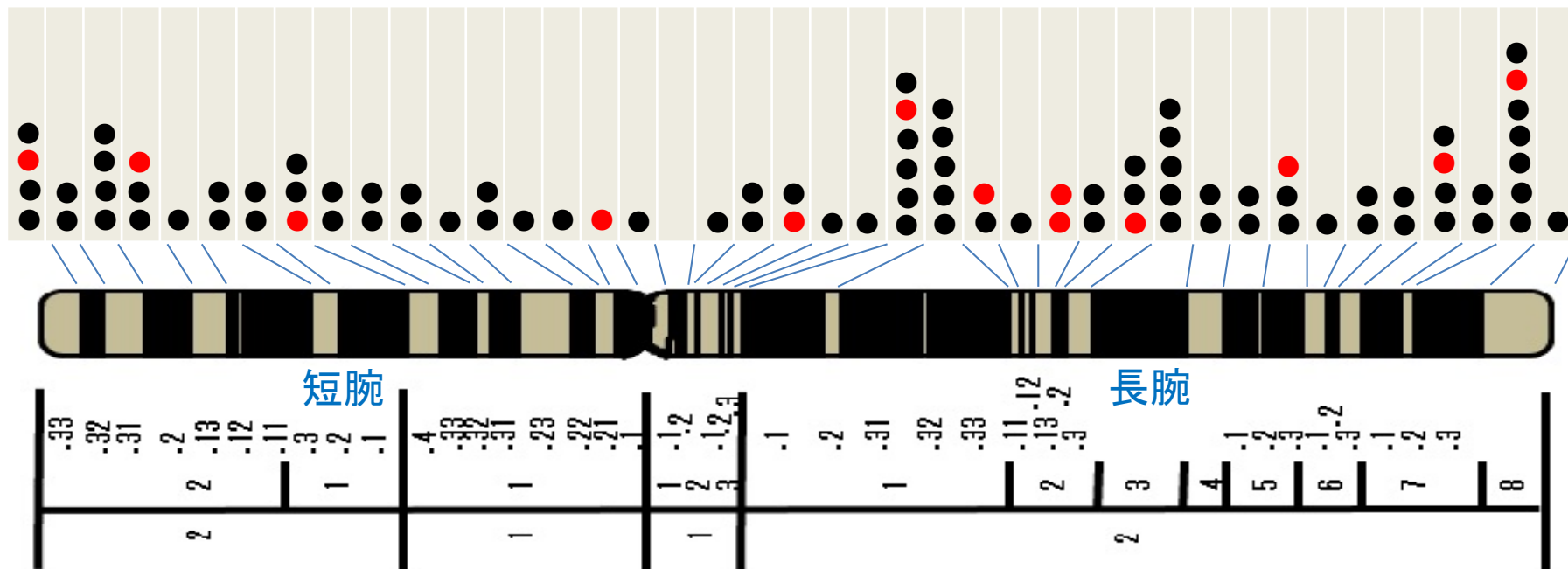
・  
・  
・ **おおよそ2000万のDNA断片をSequencingする**

DNA断片のカウント



# 母体血漿中DNA解析：MPS法の応用（1）

## 染色体バンドレベルの遺伝子過不足の診断



母体血漿中のDNA断片の分析数を増やす

- **染色体検査相当の解析度**を実現できる可能性
- 更に、解析数を増やすと**マイクロアレイ**に相応する精度が確保できる可能性



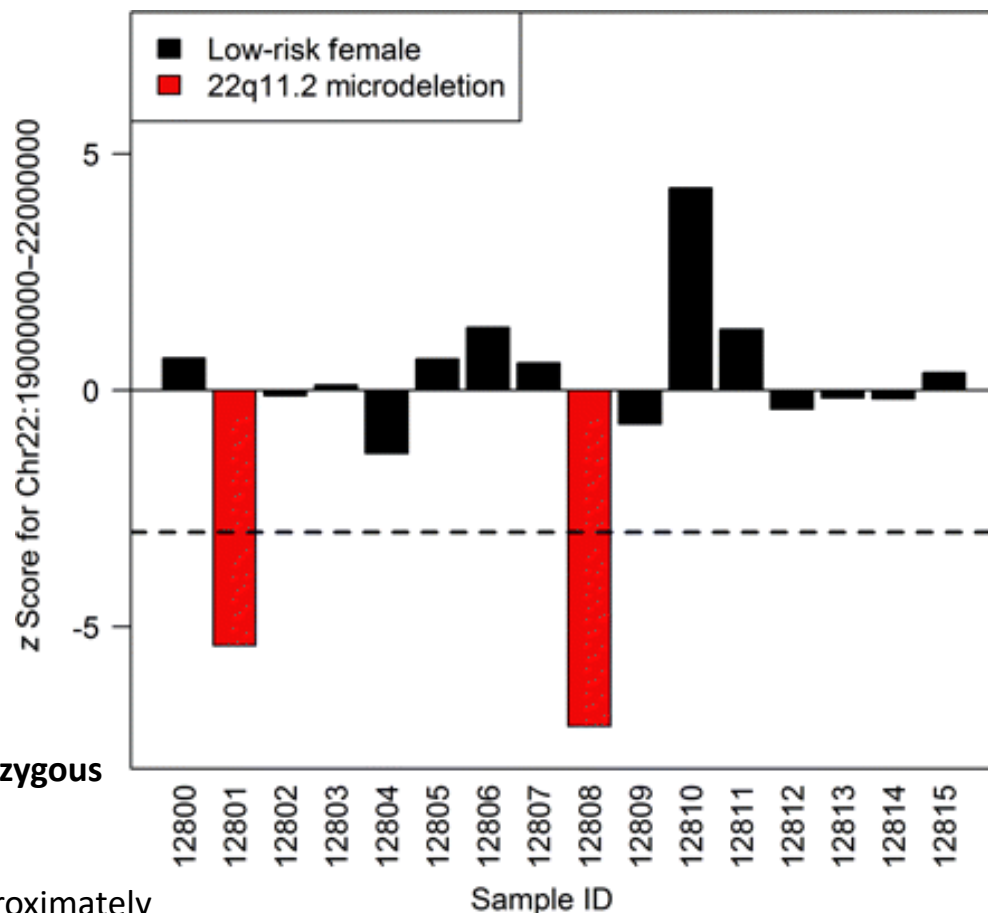
# 母体血中cell-free DNAを用いた微小欠失の診断

## 胎児22q11.2微小欠失症候群の診断

- 羊水検査で児が22q11.2微小欠失症候群と診断された2症例とコントロール14例を解析
- Cell-free DNAのシーケンスで、解析断片数を4倍にした
- **22q11.2の3Mb領域のDNA断片量: Z-score -5以下**

Chromosome 22q11.2 deletion syndrome has heterozygous deletion of approximately  $3 \times 10^6$  bp on chromosome 22.

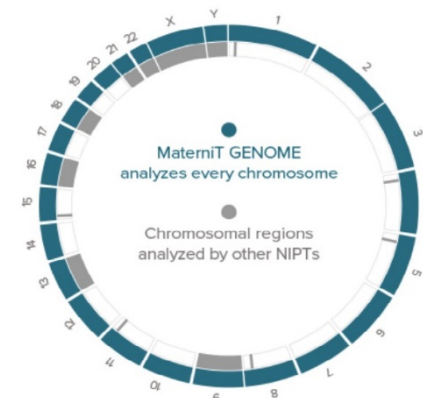
Chromosome 22q11.2 deletion syndrome affects approximately 1 in 4000 live births and is characterized by frequent heart defects, cleft palate, developmental delays, and learning disabilities.



2013年以降、臨床検査の対象になっている

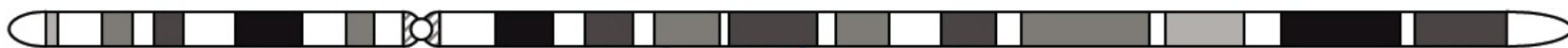
# MaterniT GENOME test

Sequenom Laboratories: 2015.10.よりサービス開始

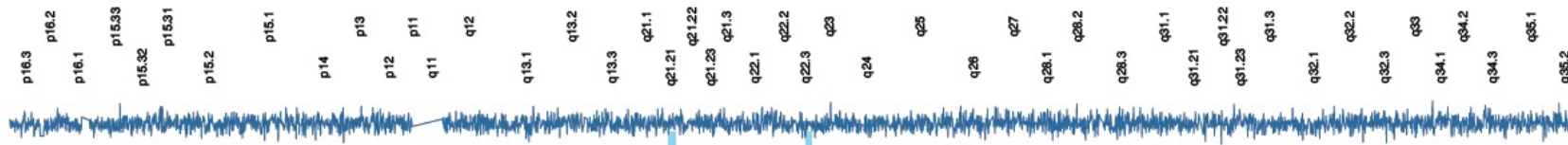


通常検査の2倍程度のDNA断片(約4000万断片)を解析する  
7Mb以上の染色体微小欠失・重複の95%以上を検出する

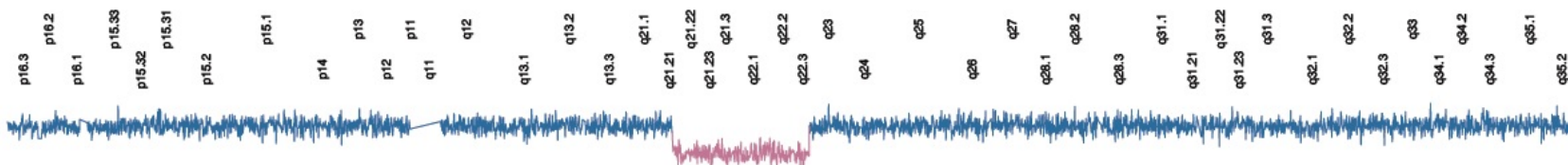
## Chromosome 4



### 母体血cell-free DNA解析結果(正常)



### 母体血cell-free DNA解析結果(症例)

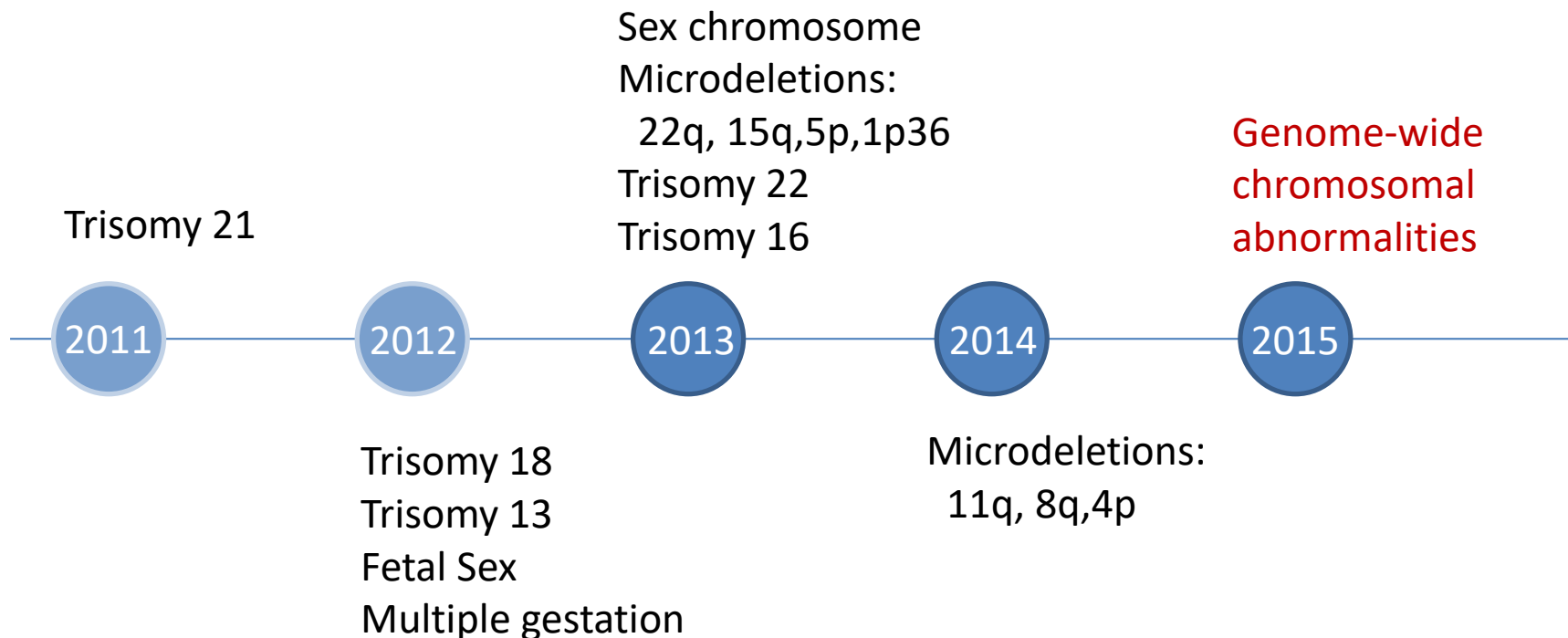


胎児の4番染色体の部分欠失  
Chr 4. 13.9Mbの欠失

国際的データベース(ISCA)と照合  
表現型: 精神発育遅滞・けいれん

# 母体血胎児染色体検査の対象疾患の拡大

## 米国内でのSequenom社の検査内容

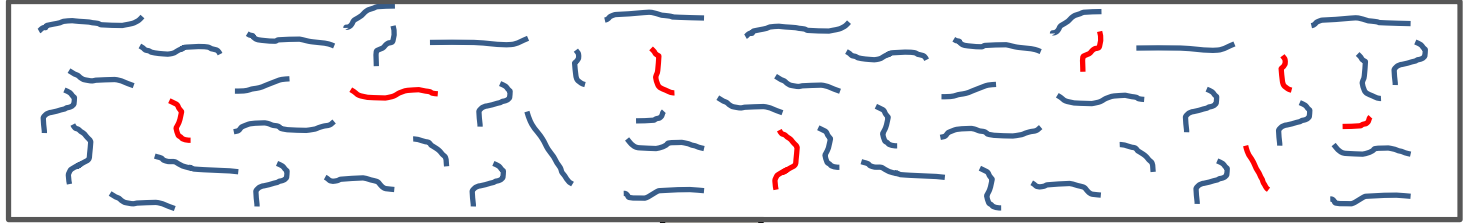


- 検査の技術的進歩は急速である。
- 希望する妊婦がその恩恵を受けられないのか？

# 母体血漿中DNAでのMPS法の応用(2)

## 胎児遺伝子診断への応用

母体血漿中  
cell-free DNA



Sequencing

標的遺伝子の配列

Wild: TGCAGTTATCCGGATGGGAATTTGCTAGCCCTAAATTTCCGCGTGCAATTGCTACATCA

Mutant: AGTTATCCGGATGGGAATTTGCAAGCCCTAAATTTCCGCGTGCAATTGCTACATCA

DNA1: ATCCGGATGGGAATTTGCTAGCCCTAAATTTCCGCGTGCAA

DNA2: GTTATCCGGATGGGAATTTGCC TAGCCCTAAA

DNA3: GGAATTTGCTAGCCCTAAATTTCCGCGTGCAATTGCTAC

DNA4: TGCTAGCCCTAAATTTCCGCGTGCAATTGCTACATCG

DNA5: TCCGGATGGGAATTTGCTAGCCCTAAATTTCC

DNA6: GTTATCCGGATGGGAATTTGCAAGCCCTAAATTTCCGCGTG

DNA7: GGGAAATTTGCTAGCCCTAAATTTCCGCGTGCAATTGCTACA

DNA8: TGGGAATTTGCTAGCCCTAAATTTCCGCGTGCA

DNA9: TCCGGATGGGAATTTGCTAGCCCTAAATTTCC

各遺伝子断片を  
sequenceしている  
ので、特定部位の  
遺伝子断片情報を  
集めることができる

遺伝性疾患を持っている場合:

- 変異遺伝子をcell-free DNA内に同定すれば、胎児に遺伝性疾患が受け継がれていることになる
- 遺伝性疾患(単一遺伝子病)への応用が技術的には可能になっている

SNP解析も可能

- 父親由来のSNPを同定することで、父性の確認にも利用できる
- 体質に関連するようなSNPの同定なども可能

# 母体血漿中DNAを用いた胎児染色体診断

## Massively parallel sequencing (MPS)法の可能性

### 母体血漿を用いて評価可能なこと

- マイクロアレイに相当する微小なDNA量の変化が評価できるようになる
- Point mutationなどのような微細なDNA変異・変化も評価可能である
  - 胎児の全遺伝子情報(whole genome)
  - 遺伝性疾患の診断(Genetic disease)
  - 父性の確認(Paternity)
  - 体質などの確認

1. 母体血胎児染色体数的異常の検出は、本法で可能な検査の一部である
2. 母体血を用いて胎児のwhole Genomeの評価が可能である

# 臨床研究の実績：検査適応と陽性率

## 平成25年4月～平成29年9月

- 検査提供会社数：7社(国内検査実施 3社)
- 受検者の背景：平均年齢38.4歳・妊娠週数13.2週

検査の適応	検査実数	(%)	検査陽性数				陽性率 (%)
			T21	T18	T13	計	
高年妊娠	48,050	94.00	453	230	73	757*	1.58
染色体疾患の出産既往	1,320	2.58	15	8	4	27	2.05
超音波マーカーでの可能性の上昇	857	1.68	74	44	9	127	14.82
母体血清マーカーでの可能性の上昇	192	0.38	3	0	1	4	2.08
その他(染色体転座など)	109	0.21	0	0	0	0	0
不明	611	-	8	9	1	18	2.95
合計	51,139		553	291	88	933*	1.82

\*多発陽性例を1例含む

平成29年12月11日までの報告データの集計

現在は認定された施設で、3種類のトリソミーのみが対象で行われている

# 検査陽性者の確定検査実施状況

全検査会社検査データ結果51,139例中の陽性例の集計(29年9月まで実施分)

	Trisomy 21	Trisomy 18	Trisomy 13	TOTAL
陽性者数	553	291	88	933*
確定検査実施数	495	206	79	781*
真陽性数	478	176	46	700
陽性者的中率	96.6%	85.4%	58.2%	89.6%
偽陽性数	17	30	33	81*
確定検査非実施数	57	85	8	150
IUFD	39	70	8	117
核型判明	9	23	3	35
核型不明	30	47	5	82
妊娠継続	5	7	0	12
研究脱落	13	8	0	21
不明	1	0	1	2

\* 多発陽性例1例を含む

平成29年12月11日現在

# 検査陽性者の妊娠転帰

全検査会社検査データ結果51,139例中の陽性例の集計(29年9月まで実施分)

	Trisomy 21	Trisomy 18	Trisomy 13	TOTAL
陽性者数	553	291	88	933*1
偽陽性数	17	30	33	81*1
妊娠継続数	13	12	1	26
IUFD*2	46	89	12	147
妊娠中断 (妊娠中断率*3)	461 (88.7%)	152 (60.1%)	41 (75.9%)	654 (79.1%)
研究脱落	15*4	8	0	23
不明	1	0	1	2

\*1 多発陽性例1例を含む

\*2 妊娠継続希望するもIUFDになった方を含む

\*3 妊娠中断率=妊娠中断数/(陽性者数-偽陽性数-研究脱落-不明)

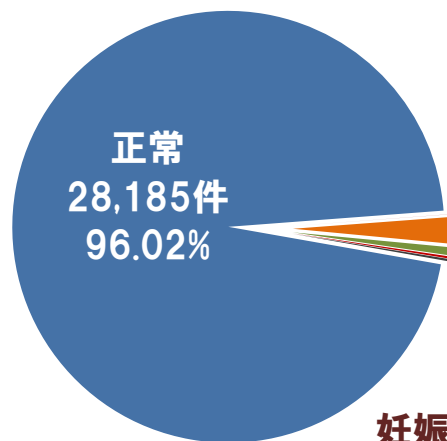
\*4 確定検査後の転帰が確認不可の症例を含む

平成29年12月11日現在



# 国内でのNIPTの実績：検査陰性者の妊娠転帰

37,751検査中の陰性例の一部29,352例の追跡調査の結果  
(H25年4月～H28年9月検査実施分)



偽陰性 0.01%  
Trisomy18 1件  
Trisomy21 2件

形態異常  
791件  
2.69%

妊娠中断  
64件 0.22%

IUI  
240件 0.82%

## 妊娠中断の理由 (n=64)

胎児水頭症・無頭蓋症	7
子宮内感染・前期破水	15
胎児水腫	7
羊水過少関連疾患	4
その他の胎児異常	17
その他	8
原因不明	6

## 形態異常の内訳 (n=791)

心奇形・心疾患	263
腎尿路生殖器系奇形	149
口唇口蓋裂・顔面裂	41
四肢奇形	43
耳介奇形	34
多発奇形*1	19
その他(鼻腔狭窄・二分脊椎など)*2	242

\*1 20番染色体異常(1例)を含む

\*2 Prader-Willi症候群(4) 45,X(1) Williams症候群(1)  
3番染色体構造異常(1) inv(9)(1) Sotos症候群(1)  
15トリソミーモザイク(1、新生児死亡) 骨形成不全(1)  
Beckwith-Wiedemann症候群(1)

## 子宮内胎児死亡(IUI)の原因 (n=240)

子宮内感染・前期破水	26
胎児発育不全	9
胎児異常*	26
その他(胎盤早期剥離・臍帯異常 ほか)	34
原因不明	145

\* Trisomy16(1例)を含む

# 出生前検査についての現状と課題

## まとめ

- ◆ 全ての妊婦に対し、出生前検査についての正確で適切な情報提供が必要である。
- ◆ 少子化の進行と出産年齢の高年齢化により、出生前検査に関心を持つ妊婦はますます増加している。
- ◆ 高年妊娠の増加や各種情報の拡散、科学技術の進歩に伴い、一般妊婦に対する遺伝カウンセリングや出生前検査の需要はさらに高まるものと思われる。
- ◆ 胎児に異常を指摘された妊婦に対し、今まで以上に積極的に遺伝カウンセラーが関与し、時間をかけた遺伝カウンセリング・心理的ケアが必要になる。

- 周産期の遺伝カウンセリングを、臨床遺伝専門医や認定遺伝カウンセラーのみが担っていくには、対象者が多く、限界がある。
- 周産期医療にかかわる医師が、基本的な臨床遺伝学の知識を身に付け、適切な情報提供や遺伝カウンセリングが提供できるような体制を整備していく必要がある。
  - 研修会への積極的な参加が推奨される