

無侵襲的出生前遺伝学的検査 (Non-Invasive Prenatal Genetic Testing:NIPT):母体血胎児染色体検査について



昭和大学医学部産婦人科准教授 関沢 明彦

はじめに

無侵襲的出生前遺伝学的検査 (NIPT) は、母体血漿中の cell-free DNA (cfDNA) を利用して胎児の遺伝学的な検査を行うものです。2011年10月に米国で母体血を用いた胎児染色体検査が開始され、我が国でも、2012年秋に臨床研究として開始されます。そこで、この検査の原理や特徴などについて解説いたします。

問 母体血漿中 cfDNA はどこ由来ですか。

答 胎盤の絨毛間腔には母体血が循環しています。絨毛間腔には絨毛が浮遊し、広い面積で母体血と接し、母児間での酸素交換や物質交換を行っています。胎児側の組織である絨毛の表面は絨毛細胞で覆われ、その細胞は新陳代謝を繰り返し、絨毛間腔へと剥脱するとともに、その細胞に由来する DNA が母体血中に流入するため胎児 cfDNA の大部分は絨毛細胞由来です。

問 母体血 cfDNA 検査の歴史を教えてください。

答 1997年、母体血漿中に胎児由来の cfDNA が循環していることが最初に報告されました。母体は女性ですので、母体血漿中から抽出した DNA 中に Y 染色体に特異的な遺伝子を認めればそれは胎児由来 DNA ということになり、胎児性別診断に利用できます。この方法で、妊娠7週以降、性別診断はほぼ確実に診断可能で、我が国でも、臨床研究として重篤な X 連鎖性疾患の保因者の妊婦でこの性別診断が行われています。その他、RhD 陰性妊婦の血漿中に RhD 遺伝子を検出することで胎児 RhD 血液型を診断する検査も欧米では行われています。また、父親由来の単一遺伝子病の遺伝子診断にも利用できることが報告されています。これらの検査は、母体が持たない遺伝子を PCR 法で増幅し、母体血漿中に同定するという比較的単純な検査でした。そこに、DNA 断片の塩基配列を超高速に大量解読する次世代シーケンサー装置が開発され、それを cfDNA の解析に利用することで、母体血を用いた新しい胎児染色体検査法が開発されました。

問 母体血胎児染色体検査の原理を教えてください。

答 母体血漿中には cfDNA が循環しており、妊娠10週以降では約15%が胎児由来です。各染色体に由来する DNA 断片濃度は、もともとの各染色体の大きさに依存しますので、全染色体由来 DNA 断片中の1番染色体由来の DNA 断片は約8%になり、21番染色体は1.3%になります。

母体血胎児染色体検査では、次世代シーケンサーという最新の遺伝子解析技術を用い、母体血漿中から

1,000万個以上の DNA 断片の塩基配列を読み込み、その結果をヒトゲノム情報と照合することで、1断片ずつその由来となる染色体を決めて、その断片数を染色体毎にカウントしていきます。DNA 断片は個別にそれが母由来か胎児由来かは分かりません。21番染色体由来の DNA 断片量の胎児由来成分は、理論的に胎児が正常核型の場合に比較し、21-トリソミーの場合には1.5倍に増加します。実際に母体血を分析した場合、母体血漿中の21番染色体由来の DNA 断片の割合は、胎児が正常核型の場合には1.3%であるところ、胎児が21-トリソミーの場合には1.42%に増加することになります。その DNA 断片濃度の変化を数値化して識別するために Z-score が用いられています。Z-score とは個々のデータが平均値から標準偏差何個分離れているかを数値化して評価する方法で、この検査では Z-score が3以上の場合に、胎児をトリソミーと診断しています。

問 検査精度について教えてください。

答 母体血胎児染色体検査の臨床応用を前に、米国をはじめとする世界中の27施設で大規模な臨床試験が行われました。①高年妊婦、②染色体異常児を出産した既往歴や家族歴がある、③超音波検査や血清マーカー検査で胎児の染色体異常の可能性が高いと判断された、のいずれかを満たし、羊水染色体検査を受ける妊婦4,664人が対象でした。羊水検査の結果286例で染色体異常を認め、1,702例の正常核型コントロールとともに計1,988例を対象として遺伝子解析が行われました。その結果、1,988例中検査不成功は17例0.9%であり、1,971例について分析が行われました。21-トリソミーは212例中210例で検出され、感度は99.1%、特異度は99.9% (1,687/1,688) でした。また、18-トリソミー、13-トリソミーの感度も100% (59/59)、91.7% (11/12) と高い精度でした。しかし、高精度といっても、偽陰性、偽陽性が低率ながらあります。さらに、高年妊婦の中でも比較的若年者を対象にすると、21-トリソミーの陽性的中率は80%程度に低下します。そのため、本検査が陽性の場合には羊水検査による診断確定が必要です。一方、陰性的中率は99.9%と高く、スクリーニング検査として優れています。

問 この検査の特色を教えてください。

答 この検査の優れている点は、無侵襲に、妊娠10週から、高い精度の胎児染色体異常の検出が可能という点です。しかし、診断できるのは21-トリソミー、

表1 羊水染色体検査と母体血胎児染色体検査との比較

特徴	羊水染色体検査 (G-band)	母体血胎児染色体検査 (MPS法)
		流産リスク1/300 染色体数異常の診断が可能 妊娠15週以降に検査可能
21-トリソミー 検出率	100%	99.1%
診断可能な異常	全染色体の数的異常 転座・染色体部分欠失・重複などの構造 異常(バンドレベルの変化)・モザイク 家系内で変異同定されている遺伝子異常	21-トリソミー・18-トリソミー・13-トリソ ミーのみ (上記3種類の染色体異常は、羊水染色体検査 で認める染色体異常の50-60%に相当する)
検査の限界	染色体微細構造異常	偽陽性・偽陰性が低率ながら存在 胎盤由来 DNA 解析:胎盤性モザイク
将来の可能性	マイクロアレイの併用により染色体量の過 不足を診断 (CGH アレイに準ず) 遺伝性疾患の診断	全染色体の数的異常 染色体微小構造異常 (CGH アレイに準ず) 遺伝性疾患の診断
費用	10-15万円	20万円程度

18-トリソミー、13-トリソミーの3種類のみで、それは羊水検査などで分かる染色体異常全体の50~60%程度です。また、胎児 cDNA は絨毛由来であるため、胎盤性モザイク(胎児と胎盤で染色体核型が異なる異常で、絨毛検査では1%程度に認める)の影響をうける可能性もあります。表1に羊水検査とこの検査の違いをまとめています。

問 検査の対象はどのような妊婦になるのですか。

答 この検査での精度の検証は、染色体異常のハイリスク妊婦を対象に行われており、ローリスクの妊婦での検証データはありません。そのため、母体血胎児染色体検査を受けることができる対象は上記試験と同様のハイリスク妊婦になります。

問 どうして臨床研究として開始するのですか。

答 母体血胎児染色体検査の日本への導入が不可欠な状況にあります。日本における出生前診断は、母体血清マーカー検査の導入時に大きな社会問題となり、いまだに社会的なコンセンサスは確立されていない状況にあります。この状況で、不十分な遺伝カウンセリング体制の下で検査が開始されると、再度、大きな混乱を生むことが懸念されます。

また、患者団体から「出生前検査・診断がマススクリーニングとして一般化することや、安易に行われること」への懸念、「現状の産科診療においては、ダウン症についての中立的なカウンセリングが行われていない」、などの意見がありました。また、小児科臨床遺伝の専門家からは「疾患を有する児の生後のフォローの経験がない産婦人科医のみの遺伝カウンセリングは内容の中立性が担保できない」などの厳しい声が聴かれます。

そこで、臨床研究として検査を先行導入し、遺伝カウンセリングのあり方や適切な検査提供体制などについて検討し、その成果を今後の検査体制構築に生かしていくことが、結果的に国内への適切適正な検査導入に繋がると考え、臨床遺伝専門医の有志が集まって臨床研究を開始することにしました。研究では、この検査を行うに当たっての遺伝カウンセリングの方法や内

容について検討されるとともに、この検査についての問題点を抽出する予定で、その結果や検査開始後の社会的な反応、妊婦さんからの要望、患者団体の声などが、研究終了後の本検査

の提供体制に反映されることになると考えています。

問 遺伝カウンセリングとはどのようなものですか。

答 妊婦さんは「検査や染色体異常症について詳しいことを知りたい」という気持ちを持っています。遺伝カウンセリングには、妊婦さんを支援するために、遺伝医学的知識とともに、心理学的対応技術や生命倫理に関する知識や理解、また家族関係に相対する調整能力が必要とされます。

また、遺伝カウンセリングでは、何よりも患者自身による意思決定が尊重されます。それを支援するために、倫理的な中立性をもち、かつカウンセリングの技能をもって遺伝カウンセリングを行う、高度な専門性が求められています。検査前後に十分かつ適切な情報提供を行い、妊婦自身の自律的な判断の下で検査を行うことが重要です。遺伝カウンセリングは、指示的に行うものではなく、相互のコミュニケーションの中で患者の自律的な判断をサポートして一緒に考えるプロセスです。

問 従来の胎児染色体異常のスクリーニング検査とどうちがうのですか。

答 母体血清マーカー検査や胎児後頭部浮腫 (NT) 検査は、胎児染色体異常のスクリーニング検査として開発されてきた歴史があります。そのため、検査を受けた妊婦さんの5%が陽性となる水準で(偽陽性率5%)、異常の何パーセントを検出できるか(検出率)を指標に、良いパフォーマンスを出すように改良が繰り返されてきました。実際の検出率は、偽陽性率5%水準で、クアトロ検査は81%、NT単独では70%程度と報告されています。

これに対し、この母体血胎児染色体検査は、極めて検出率が高く、偽陽性率も低く、従来のスクリーニングの概念とは一線を画すものと考えられます(表2)。

表2 21-トリソミーの検出率の比較

	母体血胎児染色体検査	クアトロ検査	NT
検出率	99.1%	81%	70%
偽陽性	0.1%	5%	5%