

遺伝医療・ゲノム医療

生殖医療と周産期医療の最前線

京都大学医学部附属病院遺伝子診療部
／倫理支援部特定准教授

山田 崇弘

はじめに

遺伝医療・ゲノム医療の発展により生殖医療と周産期医療分野においてもさまざまなニーズへ向けて遺伝学的検査は多様化している。その中で本稿では近年注目されている出生前診断と着床前診断について現況とその進歩について概説する。

1 出生前診断

本邦において分娩時35歳以上の高年妊婦は20年で約2.5倍に増加し、出生前遺伝学的検査受検者も非確定的検査では母体血清マーカーと無侵襲的出生前遺伝学的検査 (Non-invasive prenatal testing: NIPT) を合わせて年間約5万件、確定的検査では羊水検査と絨毛検査を合わせて年間約2万件と、ここ10年で約2.4倍に増加したと推定されている。諸外国と比較して、国内の受検率は低いものの、高年妊娠の増加とNIPTへの注目もあり、近年は増加が見られている。出生前診断においては時間的な制約と限られた情報の中で、両親が意思決定できるよう支援を行うことが求められ、遺伝カウンセリングの重要性がますます高まっている。現在国内で行われている出生前遺伝学的検査としては出生前染色体検査を考慮した場合には確定検査として羊水染色体検査と絨毛染色体検査が、そして非確定検査として母体血清マーカー、妊娠初期超音波スクリーニング(母体血清との組み合わせ検査を含む)、NIPTがある。また、特異的な単一遺伝子疾患を対象とした出生前遺伝子検査は羊水検査あるいは絨毛検査によって採取されたサンプルをもとに実施されている。しかし、今後はそれらにとどまらず、高解像度かつ網羅的な遺伝情報へのアクセスが可能となってきたゲノム医療としての時代背景から、新たな遺伝学的検査手法も開発されてきた。ここでは国内においてはまだ一般的には行われていない新たな検査手法を中心に紹介する。

1. マイクロアレイや次世代シーケンサーを用いた出生前診断

出生前診断に用いられるマイクロアレイは通常ゲノムマイクロアレイといわれるアレイCGHあるいはSNPアレイのことを指す。全染色体領域を細かくわけてそれぞれの領域の量の増減(コピー数変化)を正確に検出できる高解像度の染色体検査であり、通常の染色体検査では検出不可能な微細な構造異常を網羅的に検出可能な検査である。また、細胞培養が不要で、検査はDNAを得ることができれば解析が可能であることから培養不能検体からも結果が得られることやデジタルデータとして結果が得られるため核型分析のように結果を得るための専門的技術が不要であるというメリットもある。さらにSNPアレイでは、量的変化のみならず欠失と考えられる場合にもloss of heterozygosity (LOH)を同時に確認できることやコピー数の変化がない場合にもuniparental disomy (UPD)を検出可能であり、より有用性が高い。しかし一方では高価であること、均衡型転座や逆位など検出不能な構造異常があることや意義について解釈困難なコピー数変化が検出された場合の対応などより高度な専門知識とより高度な遺伝カウンセリングを要するという問題がある。また、近年では次世代シーケンサー (Next generation sequencer: NGS) が用いられることもある。NGSはこれまでのサンガー法によるシーケンサーと比較して桁違いに短時間で大量の塩基配列を読み取ることが可能であり、全ゲノムや全エクソームの情報を得ることが可能な強力な手法である。後述するNIPTもNGS技術の応用により実現した。

近年、小児の精神発達遅滞、発達障害、多発奇形に対してその効率や得られる情報量から、これまで第一選択として行われていた染色体核型分析に代わってマイクロアレイ検査を第一選択とする動きが出てきた。さらに、この流れの中で当然のように出生前診断にもマイクロアレイ検査を応用していくことが考えられてきた。2009年のThe American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG)のcommittee opinionでは胎児形態異常のある症例で、かつ従来の染色体検査が正常核型の場合の追加検索と培養不可能な先天奇形のある胎児死亡の原因検索に対してマイクロアレイは使用し得るとされた。さらに2016年12月には上述の小児に対するのと同様に染色体核型分析に代わってマイクロアレイ検査を第一選択としても良い旨の声明がACOGのcommittee opinionで出された。この中では以下の内容がrecommendationとしてまとめられている。1. 染色体マイクロアレイはDNAの増加減少を全ゲノムに渡って検出できる方法であり、染色体数異常から微細欠失まで検出可能である。2. マイクロアレイ検査で見つかるほとんどの変異は高年妊娠と関係ないので年齢を問わずに考慮される。3. 超音波で形態異常があり、侵襲的検査をする場

合に染色体核型分析に代わってマイクロアレイ検査が勧められる。4. 形態異常がない時にマイクロアレイ検査も染色体核型分析も行い得る。5. IUIDや死産の場合に更に原因検索を希望する場合、胎児検体(羊水、胎盤、流産物)を用いた染色体マイクロアレイ検査は勧められる。6. 遺伝カウンセリングを臨床遺伝が専門の産婦人科医や他の専門職から事前事後に受けることは必須である。マイクロアレイ検査でみつかる可能性のある問題、解釈不能の場合、nonpaternityや近親婚がみつかる可能性、成人発症の疾患がみつかる可能性についてのインフォームドコンセントなしに受けるべきではない。さらにACOGのcommittee opinionには7つ目としてNGSを用いた出生前診断についても記載があり、現状では全ゲノムや全エクソーム検査を出生前検査のルーチンとして用いる事は十分な研究結果が出ていない現時点では推奨されないとしている。この考え方は2018年のInternational Society for Prenatal Diagnosis (ISPD), The Society for Maternal Fetal Medicine (SMFM), The Perinatal Quality Foundation (PQF) のJoint Statementにも共通して記載されている。

特に国内の出生前診断においてはNIPT開始以降急速に整備は進んできてはいるものの全国どの地域においても検査の前後に十分な遺伝カウンセリング体制が整えられているとは言えず、NGSはもとより、マイクロアレイ検査も現時点では第一選択となり得る環境はできていないと思われる。

2. 無侵襲的出生前遺伝学的検査

2011年に米国で胎児常染色体異数性の非確定検査としての臨床応用が開始され世界中に広がったNIPTであるが、いまやその対象は性染色体異数性、特定の構造異常、そして全ゲノムの網羅的構造異常に広がった。さらに、単一遺伝子疾患へと進み、すでに非確定検査の枠を超え診断(Non-invasive prenatal diagnosis: NIPD)へと進んできている。母体血中cell-free 胎児DNAを用いた出生前遺伝学的検査の黎明期には主に母体血中に存在しない遺伝子変異を検出することによる単一遺伝子疾患を対象とした研究が多く、性別診断やRhD血液型判定やDe novoあるいは父親が罹患者である常染色体優性遺伝性疾患などを対象として行われてきた。しかし、大量のDNA断片を効率的に解析することが可能なNGSの発展で状況は大きく変わり、より一般的な疾患である染色体異数性の検出が可能となり臨床応用へ進むこととなった。また、対象疾患の頻度が単一遺伝子疾患と比較して非常に高いことや高年妊娠へのスクリーニングが一般的な欧米においてニーズが高いこともあり急速に普及した。その後も技術は発展し、ゲノムワイドに微小なコピー数異常をも検出可能となり、さらには単一遺伝子疾患に関し

ても再び注目されることになってきた。これまで検出可能であったのは上記のような「母体由来DNAと容易に区別可能な変異」のみであったが複合ヘテロ接合の常染色体劣性遺伝性疾患を対象にして母体血中に父親が保因する変異が検出されないことで非罹患を診断することやその遺伝子の座位における一塩基多型(single nucleotide variant: SNV)を利用したハプロタイプで両アレルを区別し、変異アレルの量の差を元にX連鎖遺伝や常染色体劣性遺伝形式の疾患を診断することが可能となってきた。既に海外においては複数の遺伝子について商業ベースで解析するサービスの提供が始まっている。

3. 網羅的キャリアスクリーニング

近年、これから子供を持つカップルがそれぞれのゲノム情報をあらかじめ得ることで常染色体劣性遺伝性疾患の原因となる遺伝子変異をヘテロ接合に持っていること(保因者であること)を知り、その疾患を持つ子供が生まれるリスクを知るという網羅的キャリアスクリーニングというものが出現した。米国において既に2013年頃から商業ベースで行われている。昨年5月には国内においても某企業が開始する計画を発表したが、最終的に日本人類遺伝学会他9学会・団体の商業主義への批判とその意義や問題点の検討が不十分であるといった懸念表明を受けて撤回された。これについて2013年にAmerica College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) やACOGは、その運用について慎重に行うべきとの声明を発表している。

II 着床前診断

着床前診断(Preimplantation genetic diagnosis: PGD)は、体外受精で得られた妊娠前の胚の遺伝情報を診断する技術である。近年はその内容ごとに分類され、単一遺伝子疾患を対象とした場合(Preimplantation genetic testing for monogenic/single gene defects: PGT-M)、染色体構造異常に対する場合(Preimplantation genetic testing for structural rearrangement: PGT-SR)、元は着床前スクリーニング(Preimplantation genetic screening: PGS)と言われていた染色体異数性に対する場合(Preimplantation genetic testing for aneuploidy: PGT-A)に分類されるようになった。日本産科婦人科学会の「着床前診断に関する見解」が2018年6月に改定されたが、主たる変更点として、以前は「臨床研究」としていたものが、「医療行為」と位置づけられたことがある。そこで臨床研究でなくなることで施設内の倫理委員会の承認を受ける前に、日本産科婦人科学会での審査が可能となるというように申請・認可までのプロセスが変わり、承認までの時間も短縮する可能性がある。適応はこれまでと同様に重篤な遺伝性疾患児を出産する可能性の

ある遺伝子変異ならびに染色体異常を保因する場合 (PGT-M, PGT-SR)、および均衡型染色体構造異常に起因すると考えられる習慣流産 (反復流産を含む) (PGT-SR) に限られる。一方、PGT-Aについてはこれまで国内では認められていなかったが、日本産科婦人科学会によるパイロット研究が終了し、今後は臨床研究として行われる可能性がある。

PGDでは胚生検を行い微量なサンプルから診断を行うが、その胚生検法が以前の3日目胚生検から胚盤胞生検に変わってきている。その理由として生検の胚への影響の低さ、妊娠率の高さ、モザイクによる影響の少なさなどが挙げられている。また、検査手法も近年は大きく変わってきた。特にPGT-SRでは以前は単一細胞を使用して蛍光*in situ* hybridization (FISH) 法で行われていたが、技術的な困難さやモザイクへの影響を考慮し、胚盤胞生検由来のサンプルを用いたArray comparative genomic hybridization (Array CGH) 法が行われるようになり、さらにNGSを用いるように変わってきた。

遺伝子・染色体の解析はこれまで実施施設内で行うことが多かったが、その負担は大きく、ごく限られた施設でしか行い得ず、患者アクセスの問題も大きかった。しかし、近年は外部の解析の専門家と連携することで委託が可能となり多くの施設で実施が可能となってきた。これまでは必ずしも精度管理や遺伝カウンセリング体制が十分ではない海外の会社に委託するようなケースもあったが、国内で藤田医科大学を中心としたJapan PGD Consortium (JAPCO) (<http://www.fujita-hu.ac.jp/~japco/>) のように安定した実施体制整備が

進んできている。

おわりに

生殖医療と周産期医療におけるゲノム医療の発展は急速である。通常先進的な医療技術は人の健康や幸福に資することを目的に開発される。しかし、それは時に諸刃の剣ともなる。独善的な考えではなく多様な意見を認め、生命倫理的観点からの判断が非常に重要である。CRISPR/Cas 9 システムを用いた高精度なゲノム編集技術が実現し、生殖医療への応用も近いと思われていたが、昨年中国において指針違反により実際に行われた可能性がある。最前線における技術の発展を常に見据えながら立ち止まってその是非について慎重に検討する姿勢を保ち続けなければならない。

参考文献

1. 佐々木愛子, 左合治彦. 日本における出生前検査の現状. 日本遺伝カウンセリング学会誌 39:97-101, 2018.
2. 関沢明彦, 佐村 修, 四元淳子. 周産期遺伝カウンセリングマニュアル 改訂2版, 101-116, 中外医学社, 2017.
3. 中岡義晴. 着床前診断. 小児科 59:1613-1621, 2018.
4. 日本産科婦人科学会会告. 「着床前診断」に関する見解. 日産婦誌 70:1584-1594, 2018.
5. Cyranoski D, Ledford H. Genome-edited baby claim provokes international outcry. Nature 2018; doi:10.1038/d41586-018-07545-0. <https://www.nature.com/articles/d41586-018-07545-0>