

目で見る出生前胎児診断

関沢 明彦

昭和大学医学部産婦人科学講座教授

はじめに

1997年、母体血漿中に胎児由来の cell-free DNA (cfDNA) が循環していることが報告された¹⁾。以降、ポリメラーゼ連鎖反応 (polymerase chain reaction ; PCR) 法により母体がもたない遺伝子を母体血漿中 cfDNA に増幅し、胎児遺伝子を同定することによる胎児診断が行われていた²⁾⁻⁴⁾。そして、この方法を工夫することで胎児染色体数の異常を検出する研究が試みられたものの、解決できない状況が続いた。そこに2008年、次世代シーケンサー (next generation sequencer ; NGS) を用いた胎児染色体検査が報告されたことで⁵⁾、その可能性が確認できるやいなや、この分野の研究は一気に加速し、2010年10月に米国で無侵襲的出生前遺伝学的検査 (non-invasive prenatal genetic testing ; NIPT) として臨床応用されるに至った⁶⁾⁷⁾。そして現在、わが国においても2013年4月から臨床研究として検査が行われている。

I. 母体血漿中胎児 cfDNA の由来

母体血は胎盤の絨毛間腔を循環するが、そこで広い面積で絨毛と接し、母児間での酸素交換や物質交換を行っている。絨毛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ている。この絨毛から剥脱した絨毛細胞が母体血中に入り込み、胎児 cfDNA の主要な由来となっている (図1)。もともと、母体血漿中 cfDNA のなかの胎児由来成分は PCR 法などを用いて3~8%程度と推定されていた。これは PCR 法では100~200bp と一定の長さのある DNA 断片を標的に定量していたためである。しかし、NGS ではさらに短く断片化された DNA をも解析可能なため、胎児由来成分は妊娠10週以降25週までの時期に10~15%にも及び、これまでに考えられていた

より高濃度であり、また、半減期も16分と短く前回の妊娠の影響を受けないため、母体血漿中 cfDNA を用いた胎児診断は高い精度で可能である。しかし、胎児 cfDNA の由来が胎盤であることのデメリットもある。それは、低頻度ながら存在する胎盤性モザイクを検出することである。また、Vanishing Twin や母体の腫瘍性疾患、母体の染色体モザイクの場合などにも検査異常が出る可能性がある。

II. 新しい出生前遺伝学的検査：母体血胎児染色体検査 (NIPT)

1. 母体血胎児染色体検査法の開発

新しい DNA 解析法として NGS が開発されたことで、massively parallel sequencing (MPS) 法による母体血漿中 cfDNA を用いた無侵襲的出生前染色体検査が報告された⁵⁾。この方法で、母体血漿中 cfDNA を胎児の染色体数の異常の検査に応用できることが示されたことを契機に、この分野の研究が一気に注目を集め、急速に進展した。そして、MPS 法以外の方法についての研究も進み①母体血中胎児 cfDNA の由来が胎盤であるという特徴を利用して胎盤特異的 DNA メチル化を解析する方法、②21番染色体上の一塩基多型 (single nucleotide polymorphism ; SNPs) を解析する方法などが次々に開発され、臨床応用されるに至った。

2. MPS 法を用いた母体血胎児染色体検査法の原理

2008年、図2に示すように NGS を用いて、母体血漿中の cfDNA 断片を網羅的にシーケンスし、個々の DNA 断片の由来をヒトゲノム情報と照合して確認し、21番染色体由来の断片の量的な変化を評価することで染色体の数的異常を診断す