

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 5 日現在

機関番号：32651

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2020

課題番号：17K10194

研究課題名（和文）出生前検査における過剰マーカー染色体の由来と表現型の関係

研究課題名（英文）Relationship between the origin of chromosomes and phenotype of supernumerary marker chromosomes in prenatal testing

研究代表者

佐村 修（Samura, Osamu）

東京慈恵会医科大学・医学部・教授

研究者番号：90314757

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、出生前染色体検査で判明する過剰マーカー染色体がどの程度存在し、さらにその染色体異常が本当に表現型に影響を与える原因となっているかどうかを検討した。本研究で過剰マーカー染色体の発生機序を一部解明した。一つは両親のどちらかが染色体の均衡型転座を保因していることを報告した。もう一例は、受精時に発生した染色体の問題が、細胞分裂の途中で一部のみ修正する機構が働いて、過剰マーカー染色体を発生したものと考えられた。また、双胎妊娠における染色体異常は1絨毛膜2絨毛膜性双胎では、2絨毛膜2羊膜性性双胎と比較して少ないことを報告し、今後の遺伝カウンセリングを行える基礎資料を作成した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在、妊娠中に行われる出生前染色体検査で、予期せぬ結果を得ることがある。特に過剰マーカー染色体は、通常の46本の染色体とは異なる由来不明であることが多く、その染色体があることが胎児の表現型（心臓などの内臓の問題、児の生まれてからの成長）に与える影響するかに関してはわからないことが多い。そこで、発生機序を調べることにより、それがどの程度発生し、さらに表現型に影響を与える可能性について報告した。さらに、過剰マーカー染色体を含む双胎妊娠における染色体異常は1絨毛膜2絨毛膜性双胎では、2絨毛膜2羊膜性性双胎と比較して少ないことを報告した。これらは今後の遺伝カウンセリングを行う際の基礎資料となる。

研究成果の概要（英文）：This study examined the extent of supernumerary marker chromosomes found by prenatal chromosomal testing and whether the chromosomal abnormalities really contributed to the phenotype. In this study, we elucidated a part of the mechanism of supernumerary marker chromosome development. One reported that either of the parents carried a balanced translocation of the chromosome. In another case, it was considered that the problem of the chromosome that occurred during fertilization caused a supernumerary marker chromosome due to a mechanism that partially corrects it during cell division. In addition, we reported that the number of chromosomal abnormalities in twin pregnancies was less in monochorionic and diamniotic twins than in dichorionic and diamniotic twins, and we prepared basic data for future genetic counseling.

研究分野：周産期遺伝学

キーワード：マーカー染色体 染色体異常 モザイク 派生染色体 データベース 出生前診断 双胎 次世代シーケンサー

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

過剰マーカー染色体とは、20番染色体よりも小さい由来不明の染色体を指し、さまざまな種類がある¹。新生児2,500人に1人、出生前染色体検査で1,300人に1人程度に認めると報告²されており染色体両端部にサテライト (satellite) を持つものと片端部にサテライトのあるものに大別される。ほかにサテライトのない過剰マーカー染色体やリング状のものもある。表現型異常を伴うのはサテライトを持つ過剰マーカー染色体の場合で18%、サテライトを持たない場合で31%という報告がある³が、どのような過剰マーカー染色体が表現型異常を伴うのかはよくわかっていない。また、モザイク例が多く⁴、表現型との関連のあるなしを判断することを困難にしている。また、過剰マーカー染色体の頻度が少ないこともあり現在まで日本で多数例を集めて報告したデータは存在しない。もともと頻度が少ないため、わかっていないことが多く、遺伝性の有無・構造・由来の同定は臨床的にも重要である。

2. 研究の目的

(1) 過剰マーカー染色体とは、20番染色体よりも小さい由来不明の染色体を指し、さまざまな種類がある。出生前遺伝学的検査で認めた場合、その解釈は非常に困難である。本研究は、出生前染色体検査で判明する過剰マーカー染色体がどの程度存在し、さらにその染色体異常が本当に表現型に影響を与える原因となっているかどうかを明らかにする。

(2) 過剰マーカー染色体の発生機序を解明し、今後の遺伝カウンセリングに使用できる基礎資料を作成する。過剰マーカー染色体は、親から由来するものとDe Novoに発生するものがある。De novoに発生した過剰マーカー染色体異常がどの程度、もしくはどのような種類の表現型の問題と関連するかはわかっていない。したがって、その由来を同定することと、どのような遺伝子の過不足が生じているかを検索し、過剰マーカー染色体の由来染色体による個別の遺伝カウンセリングを可能とする。

3. 研究の方法

(1) 過剰マーカー染色体と由来の同定と、表現型の関連をみる。

マーカー染色体の核型記載はISCN2015に従って、正確に行う。過剰マーカー染色がサテライトを持ち、一端にあるときと、両端がある時に別れ、サテライトが両端にある時、対称形のもの inverted duplication と呼ぶ。その中でも多いのが15番染色体由来のものである。過剰マーカー染色体がサテライトを持つとわかった場合には、FISH法を用いて段階的に同定する。サテライトを持たない場合には、Spectral karyotyping (SKY) はすべての染色体を染め分けられるので、過剰マーカー染色体の同定をする。但し、マーカー染色体が小さいと染まらないので同定できないことがあり、その場合はSNPマイクロアレイを用いて、過剰マーカー染色体の由来を同定する。その際、過剰マーカー染色体の遺伝子量がどうなっているかが判明する。これらを用いることにより複雑な由来を有する過剰マーカー染色体の解析も行う。

(2) わが国における双胎妊娠における過剰マーカー染色体を含む染色体異常の発生頻度はこれまでに検討されていない。諸外国では、一絨毛膜二羊膜性双胎(MD双胎)は二絨毛膜二羊膜性双胎(DD双胎)と比較して染色体異常の発生頻度が低いと報告されている。今回、双胎妊娠における染色体異常の発生頻度を後方視的に調査し、DD双胎とMD双胎の染色体異常の発生頻度を比較検討した。協力施設から過剰マーカー染色体を含む双胎妊娠の染色体異常症例のデータを収集した。

4. 研究成果

(1) マーカー染色体症例の検討を行い、以下の様な結果を得た。

小さな過剰マーカー染色体 (sSMC) の症例を検討した。33歳の日本人女性、初めての自然妊娠で、妊娠30週で胎児の成長制限と胎児の構造異常のため、羊水穿刺を受けた。胎児の核型は47,XY,+marと同定された。さらに、一塩基多型アレイ分析を行い、Xq28および14q11.2でのコピー数増加が明らかになった。体重1,391gの男児が帝王切開で出産した。母親と父親の核型は、それぞれ46,X,t(X;14)(q28;q11)と46,XYであった。これらの発見は、sSMCが3対1の比率で染色体分離に由来している可能性があることを示した。この症例では、Xq28および14q11.2から派生したsSMCが、胎児の表現型に影響を与えた可能性が最も高いことをしめした⁵。

(2) マーカー染色体を認めたが、3つの出生前スクリーニング方法で結果が一致せず、追加の遺伝子解析を行った症例を報告した。

妊娠10週の41歳の日本人女性に非侵襲的出生前診断 (NIPT) を実施したところ、18トリソミーが強く疑われる陽性の結果であった。妊娠16週で羊水穿刺が行われ、結果はマーカー染色体をもつモザイクであった。核型は47,XX,+mar[16]/47,XX,+18[2]であった。超音波による胎児検査は、特に問題はなかった。妊娠終了後、追加の遺伝子解析を行い、胎盤モザイク (CPM) の存在を確認した。さらに、小さな過剰マーカー染色体 (sSMC) が胎児細胞で検出された。これは、18番染色体のセントロメアから新たに派生したものであった。SNPアレイの結果では、18番のセントロメア領域を含むヘテロ接合性の喪失を認めた (図1)。また、出生前遺伝学的検査の結果の不一致の原因が、sSMCによる非定型CPMにつながる不完全な18トリソミーのレスキューであることを強く示す結果であった。これらの発見は、ヒトの卵形成および胚形成中にマーカー染色体 (染色体異常) が形成されるメカニズムについての新たな可能性について示した⁶。

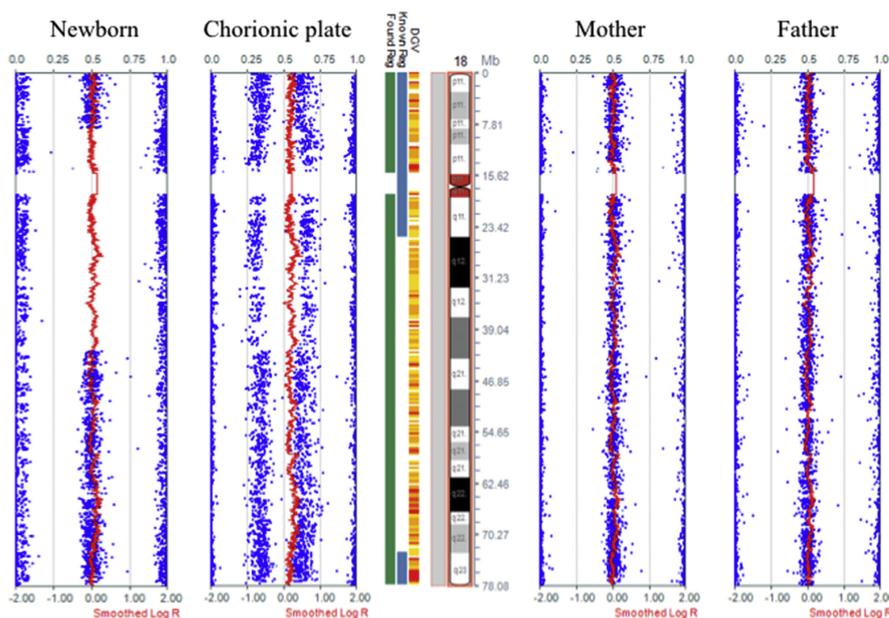


図1：児と胎盤絨毛組織と両親の18番染色体におけるSNP arrayのデータ

(3) 双胎妊娠における過剰マーカー染色体を含む染色体異常の頻度に関する検討

2016年1月から2018年12月までに全国の大学病院や周産期センターなどの49施設で分娩管理された妊娠12週以降の双胎妊娠を対象として後方視的検討を行った。調査項目は、各施設の総分娩数、双胎の分娩数、(以降双胎妊娠の)母体年齢、妊娠方法、染色体異常の数、染色体異常症例の核型、合併症、転帰とした。MM双胎、膜性不明症例、卵子提供症例、採卵時の年齢不明症例、Vanishing twin、品胎・要胎を減胎した症例は除外し、DD双胎例(D群)とMD双胎例(M群)を比較検討した。対象期間中の双胎妊娠が4,623例(49施設のその間の全分娩数を記載)で、そのうち、除外症例107例を除く4,515例を対象とした。D群は2,724例、M群は1,791例であった。両群の母体背景において年齢はD群(33.2±4.8歳)でM群(32.4±5.0歳)に比較して有意($p < 0.001$)に高年齢であったがその差は1歳未満であった。妊娠方法はM群が自然妊娠を多く認めた。一児のみ、もしくは両児とも染色体異常を認めた頻度は、D群で22例(0.8%)、M群で3例(0.2%)であり明らかにD群で高値であった。D群の染色体異常22例中、21trisomyが12例、18trisomyが3例、13trisomyが2例であった。M群は、両児ともに21trisomy、一児のみ18trisomy(一児はモザイクが示唆された)、一児のみ47,X,+2mar[8]/46,X,+mar[6]/48,X,+3mar[2]/48,XX,+2mar[1](一児は流産絨毛検査の解析不可)であった。

<引用文献>

1. Manolakos E, Kefalas K, Neroutsou R, et al. Characterization of 23 small supernumerary marker chromosomes detected at prenatal diagnosis : The value of fluorescence in situ hybridization. *Mol Med Rep.* 2010 ; 3 : 1015—22.
2. Liehr T, Weise A: Frequency of small supernumerary marker chromosomes in prenatal, newborn, developmentally retarded and infertility diagnostics. *Int J Mol Med* 19:719–731, 2007.
3. Liehr T, Karamysheva T, Merkas M, et al. Somatic mosaicism in cases with small supernumerary marker chromosomes. *Curr Genomics.* 2010 ; 11 : 432—9.
4. Graf MD, Christ L, Mascarello JT, et al. Redefining the risks of prenatally ascertained supernumerary marker chromosomes : a collaborative study. *J Med Genet.* 2006 ; 43 : 660—4.
5. Hasegawa A, Samura O, Sato T, et al. Characterization of a Small Supernumerary Marker Chromosome Derived from Xq28 and 14q11.2 Detected Prenatally. *Case Rep Obstet Gynecol.* 2018 May, 7:2875241. PMID 29854510
6. Sato T, Samura O, Matsuoka T, et al. Molecular genetic analysis reveals atypical confined placental mosaicism with a small supernumerary marker chromosome derived from chromosome 18: A clinical report of discordant results from three prenatal tests. *Eur J Med Genet.* 2019 Jun;62(6):103533. PMID 30171908

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Sato Taisuke, Samura Osamu, Matsuoka Tomona, Yoshida Masaki, Aoki Hiroaki, Migita Ohsuke, Okamoto Aikou, Hata Kenichiro	4. 巻 62
2. 論文標題 Molecular genetic analysis reveals atypical confined placental mosaicism with a small supernumerary marker chromosome derived from chromosome 18: A clinical report of discordant results from three prenatal tests	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 European Journal of Medical Genetics	6. 最初と最後の頁 103533 ~ 103533
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ejmg.2018.08.014	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hasegawa Akihiro, Samura Osamu, Sato Taisuke, Matsuoka Tomona, Ito Yuki, Kajiwara Kazuhiro, Aoki Hiroaki, Inage Yuka, Kobayashi Masahisa, Okamoto Aikou	4. 巻 2018
2. 論文標題 Characterization of a Small Supernumerary Marker Chromosome Derived from Xq28 and 14q11.2 Detected Prenatally	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Case Reports in Obstetrics and Gynecology	6. 最初と最後の頁 1 ~ 4
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1155/2018/2875241	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 佐藤琢磨, 佐村修, 佐藤泰輔, 小西晶子, 山村倫啓, 松岡知奈, 井上桃子, 吉居絵里, 宇田川治彦, 伊藤由紀, 青木宏明, 岡本愛光
2. 発表標題 NIPTで18トリソミー陽性後に羊水染色体検査でモザイクを認め遺伝カウンセリングに苦慮した一例
3. 学会等名 第41回日本遺伝カウンセリング学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小西晶子, 佐村修, 室本仁, 岡本陽子, 高橋宏典, 笠井靖代 他
2. 発表標題 双胎妊娠における染色体異常の発症頻度に関する調査研究
3. 学会等名 日本人類遺伝学会第65回大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担 者	大江 瑞恵 (Ohye Tamae) (10247661)	藤田医科大学・保健学研究科・准教授 (33916)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------