

令和 2 年 6 月 23 日現在

機関番号：11101

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16016

研究課題名（和文）母体血清中の胎児DNAを標的とする重症遺伝性皮膚疾患の画期的な出生前診断法

研究課題名（英文）A breakthrough prenatal diagnosis for severe hereditary skin disorder by fetal DNA from serum of the mother

研究代表者

是川 あゆ美（Korekawa, Ayumi）

弘前大学・医学研究科・助教

研究者番号：70436020

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：表皮水疱症劣性栄養障害型を想定し実験した。保因者の母親の妊娠時に血液検査をし droplet digital PCRで胎児のSNPを検出。正常両親から同意の上、VII型コラーゲン遺伝子解析を行い、両親のSNPを検出。その部分にTaqmanのプローブを設計しPCRを施行。また患児がVII型コラーゲンのヘテロ変異を持ち、両親が保因者であるような家系を選び、遺伝子変異に対してプローブを設計した。次に母親の妊娠時に血液採取を経時的に行い、DNAを取りdroplet digital PCRを行った。その後羊水穿刺からのDNAでの診断結果を比較し、droplet digital PCRでの結果と一致した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、母体の血清、血漿中に胎児のDNAが高濃度で含まれていることが報告され、非侵襲的な母体血による胎児DNA解析の可能性が指摘されている。母体血清中の胎児DNAを標的とする重症遺伝性皮膚疾患の画期的な出生前診断への研究を行ったことは、学術的にも意義があると思われ、また、今後進む少子高齢化社会において、産まれてくる児のひとりひとりへ細やかな対応を可能にできると思われ、社会的意義もあった。

研究成果の概要（英文）：We performed ZFX/ZFY Taqman assays for sexual determination of fetus, amplified and detected the ZFX/ZFY genes through droplet digital PCR.

Then, we advanced the experiment of SNP in the type VII collagen. We collected blood from the pregnant female carrier and tried to detect the SNP of fetus through the droplet digital PCR. Next, we got the normal parents's consent, analysed their type VII collagens, detected the SNP through the droplet digital PCR, planed the Taqman probes on the SNP and performed PCR. Aactually We collected blood from the pregnant female carrier and detect the SNP of fetus through droplet digital PCR. The results of SNP of fetus through droplet digital PCR form blood from the pregnant female carrier were consistent with those of amniocentesis.

研究分野：皮膚遺伝性疾患

キーワード：胎児 PCR

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

遺伝性皮膚疾患は、様々な遺伝子が原因となり臨床症状・重症度も多様であり、極めて重篤な臨床型を呈するものもある。例えば、過去においては、重症遺伝性疾患の患児を出産した母親が再び妊娠した際、胎児が同様の疾患を有する可能性を恐れ、墮胎するケースが大半を占めていた。各病型の原因遺伝子が同定され、出生前診断が技術的に可能となった現在においてこのような母親が出生前診断を希望することは十分理解し得る。しかしながら、現在の主流である絨毛生検や、羊水検査にて得られた DNA から遺伝子診断を行う方法は、母体や胎児へのリスク、技術的に習熟した産婦人科医が少ないこと、などが問題点としてあげられ、そう簡便な手技ではない。近年、母体の血清、血漿中に胎児の DNA が高濃度で含まれていることが報告され、非侵襲的な母体血による胎児 DNA 解析の可能性が指摘されており、実際に胎児の性別、RhD 血液型不適合、21 trisomy の診断に応用され始めている。実際に、母体の血清 DNA のなかで胎児 DNA の割合は出生前診断可能な 12 週付近で 15% にも達する。そこで、重症遺伝性皮膚疾患でも出生前診断が可能ではないかと考えた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、重症の遺伝性皮膚疾患において母体血清 DNA 中の胎児 DNA を用いることで、より簡便且つ低侵襲の画期的な出生前診断法を確立することである。

3. 研究の方法

(1) XY 染色体による性別の鑑別

まず、最初に現在行われている胎児の性別検査 (ZFX/ZFY Taqman assay) を行う。性染色体 (X 及び Y 染色体) にあるジンクフィンガータンパク質をコードする遺伝子 (ZFX/ZFY) を droplet digital PCR にて増幅し、どの程度の検出感度、特異度があるかを検討する。XFY が検出されると、胎児は男の子と判定できる。

(2) VII 型コラーゲンの SNP を用いる判定実験

両親の同意をとり、VII 型コラーゲン遺伝子の解析を行い、ヘテロの状態にある両親それぞれの SNP を検出する。その部分に Taqman のプローブを設計し、PCR 反応の有無を確認する。実際にその母親の妊娠時に血液を採取し、droplet digital PCR で胎児の SNP を検出できるか検討する。

(3) 劣性栄養障害型表皮水疱症患者での判定

劣性栄養障害型表皮水疱症家系で、患児が VII 型コラーゲンのヘテロ変異を持ち、両親がその変異の保因者であるような場合に行う。遺伝子変異に対して、Taqman のプローブを設計する。

次に、母親の妊娠時に血液を経時的に採取し、血清の DNA を取り droplet digital PCR を行う。その後、羊水穿刺から細胞を単離し、その DNA から診断し結果を比較する。

4. 研究成果

現在行われている胎児の性別検査 (ZFX/ZFY Taqman assay) を行った。性染色体にあるジンクフィンガータンパク質をコードする遺伝子を droplet digital PCR にて増幅し性別が一致することを確認した。VII 型コラーゲンの SNP を用いる判定実験をし、保因者が母親となった際の妊娠時に血液を採取し droplet digital PCR で胎児の SNP を検出した。両親の同意の上、VII 型コラ

ーゲン遺伝子解析を行い、両親の SNP を検出した。その部分に Taqman のプローブを設計し PCR 反応を行った。また、実際にその母親の妊娠時に経時的に採血し droplet digital PCR で胎児の SNP の検出をし、その後、通常の羊水穿刺診断を行いその結果と droplet digital PCR で得られた胎児の SNP が一致するか比較し、一致する結果が得られた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----