

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 5 月 29 日現在

機関番号：33303
 研究種目：基盤研究(C) (一般)
 研究期間：2020～2022
 課題番号：20K09657
 研究課題名(和文) 相互転座保因者の遺伝カウンセリングに有用なアプリケーションの開発とその運用

 研究課題名(英文) Development and operation of helpful applications genetic counseling for reciprocal translocations

 研究代表者
 尾崎 守(OZAKI, Mamoru)

 金沢医科大学・総合医学研究所・技術員

 研究者番号：50319068
 交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は臨床遺伝専門医や認定遺伝カウンセラーが相互転座保因者の遺伝カウンセリングに必要な資料作成を短時間で完結するようなアプリケーションを作成することである。相互転座を形成する4価染色体のパキテン図の作成、不均衡型転座の子が生まれるか否か推定するDanielの三角形(Danielの評価法)の作成、Stengel-Rutkowskiらの評価法による不均衡型転座の子の生まれる確率を算出する各アプリケーションを作成した。これにより約15分程度で相互転座保因者の遺伝カウンセリングに必要な細胞遺伝学的な資料を提供することができるようになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義
 不均衡型転座の子の生まれる確率を求める評価法はStengel-Rutkowskiらの評価法が、最も利用されている。故梶井正先生が著した「不均衡型転座の子の生まれる確率」でSingle Segment Imbalanceの定義が、原著の定義とは異なり誤った確率を算出する危険性を発表し注意を喚起した。
 相互転座保因者の遺伝カウンセリングと不均衡型転座の子の生まれる確率を約15分程度で終了できる。これは担当する臨床遺伝専門医・認定遺伝カウンセラーの負担軽減に寄与することが期待される。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this research is to create an application that enables clinical geneticists and certified genetic counselors to quickly prepare materials necessary for genetic counseling of reciprocal translocation carriers. Creation of pachytene diagrams of quadvariant that form reciprocal translocations, creation of Daniel's triangle (Daniel's evaluation method) for estimating whether offspring of unbalanced translocations will be born, and the evaluation method of Stengel-Rutkowski et al. We created applications for calculating the probabilities of offspring of unbalanced translocations. It has become possible to provide cytogenetic data necessary for genetic counseling of reciprocal translocation carriers in about 15 minutes.

研究分野：臨床細胞遺伝学

キーワード：均衡型相互転座保因者 遺伝カウンセリング パキテン図 4価染色体 隣接 型分離様式 隣接2型分離様式 3:1分離様式 4価染色体

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

相互転座保因者の親から不均衡型転座が生まれる確率を Stengel-Rutkowski らの評価法で算出してきた。相互転座保因者のパキテン図は、産まれてくる不均衡型転座の子の分離様式を予想するために必須とされてきた。確率算出を依頼された臨床遺伝専門医は、クライアントに相互転座を説明する資料として、パキテン図を確率レポートに添付してきた。また簡単にパキテン図を描くためにフランスのウェブサイト HCForum を利用してきた。このウェブサイトでは、相互転座の二つの切断点を入力すると、数秒でパキテン図がモニター画面上に表示され、これを印刷してレポートに添付した。しかし、2015 年頃から HCForum にアクセスできるものの、切断点を入力する染色体模式図の該当するバンドをクリックする画面に進むことが出来なくなり、できるだけ正確なパキテン図を描くため ISCN2016 の模式図から切断点の中央から末端までの長さ（距離）とセントロメアまで長さ（距離）を物差しで計測した。その計測値を PowerPoint に入力して直線や図形を用いて、正確と考えられるパキテン図を描き、可能性のある分離様式を予想していた。これには約 30 分程度の時間がかかることから、かなり負担に感じていた。

この HCForum は 2018.12.31 で閉鎖された。

2. 研究の目的

相互転座保因者の頻度は約 1/500 ~ 1/600 といわれている。この相互転座保因者には次の世代に不均衡型転座の児が生まれ、また不均衡型転座が理由で習慣流産になることがある。自分が相互転座保因者といわれたクライアントは、遺伝カウンセリングを受けることになる。相互転座とは何か。どうして不均衡型転座がおこるのか。次に生まれてくるだろう子供が不均衡型転座児である確率は？という質問がなされるのである。本研究は相互転座保因者の遺伝カウンセリングに必要な資料を短時間で作成可能とし、不均衡型転座児の生まれる確率（リスク）を算出するために有用な情報を提供することができる。これによって遺伝カウンセリングを担当する臨床遺伝専門医と認定遺伝カウンセラーの労力を軽減するツールを開発運用することが本研究の目的である。

3. 研究の方法

(1)アプリケーションは、マイクロソフトが提供する Excel VBA(Visual Basic Application)をコードとして用いた。Windows PC マシンの利用を念頭に開発するが、mac PC マシン用にも開発する。

(2)パキテン図について：パキテン図を描くために必要な情報は、次の 6 つの情報である。仮に切断点のひとつが短腕にあった場合で、切断点バンド中央点から短腕末端までの長さ、切断点バンド中央点から動原体までの長さ、更に切断点がない長腕の長さが必要である。これに転座相手側を加えて 6 つの情報が揃えばパキテン図を描くことができる。その情報は ISCN2016 の G バンド模式図から物差しを使い計測した。染色体全長、短腕全長（動原体から短腕末端までの長さ）、長腕全長は（染色体全長 - 短腕全長）で求めた。この計測法で常染色体約 550 バンド全ての計測を行い、バンド名と対応させて Excel の表を作成しデータベースとした。

(3) %HAL : haploid autosome (autosomal) length ハプロイド常染色体長については、「22 本の常染色体を一本に並べた長さ haploid autosomal length (HAL) と呼び、転座断片の長さを HAL で割って、%で表したものを %HAL と呼ぶ。」パキテン図を描くために作成した表を %HAL に換算した新しい表（データベース）を作成した。

(4) Daniel の三角形：不均衡型転座の子が生まれてくるか、出生に至らず流産となるかを判定する簡易的であるが、有効な解析法と思われた。不均衡なる部分モノソミー、部分トリソミーは%HAL で表される。各染色体の%HAL は Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling 第5版 p558 に掲載されている。実際の不均衡領域の%HAL を求めるには、パキテン図作成に用いた切断点から末端までの長さとその染色体全長を使って求めることができる。(3)で述べた%HAL 一覧表からパキテン図同様に切断点から情報取得し、X軸を部分モノソミー、Y軸を部分トリソミーとしたグラフを作り、部分モノソミー-2%、部分トリソミー-4%を結んだ直線、一次直線 $Y = -2X + 4$ と X 軸、Y 軸で構成される三角形を Daniel の三角形とする。不均衡型相互転座の不均衡領域は座標 (X,Y) で表現できる。X:部分モノソミー、Y:部分トリソミー。これをグラフにプロットすると生まれてきた不均衡型相互転座児の96%がこの三角形の内側にプロットされる Daniel の三角形の外側にプロットされた不均衡型相互転座は生まれてくる可能性はないと考えて差し支えないと報告されている。コードは、エクセルのグラフパターンの中から分散を利用し $Y = -2X + 4$ のグラフを描き、その後、不均衡型転座の座標をプロットするコードを作成した。

(5) 確率の算出：Gardner らの「Chromosome Abnormalities And Genetic Chromosome Abnormalities」に掲載されている Stengel-Rutkowski らの確率表を改変し、切断点から不均衡セグメントに設定されている確率を検索するコードを作成した。二つの不均衡セグメントの確率を比較して Single Segment Imbalance または Double Segment Imbalance かを判断し確率を決定する。各分離様式で同様に実施して、最後に確率を合計する。

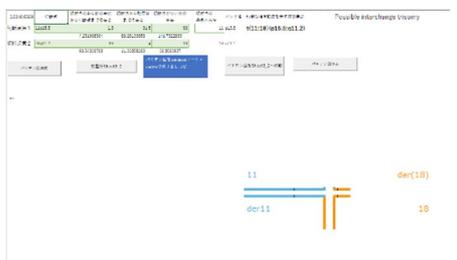
4. 研究成果

開発したアプリケーションの実際を相互転座症例 t(11;18)(p15;q11.2)でパキテン図の作成、不均衡型転座の子が産まれる確率算出過程を説明する。

(1) 切断点入力 切断点 11p15 と 18q11.2 を入力する。

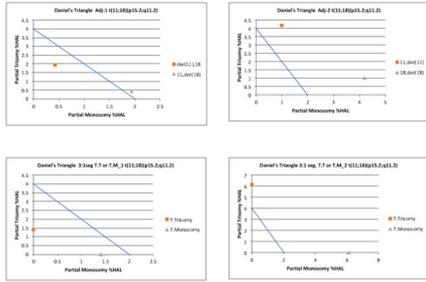
セルB2,B3のカーソルが空欄にあることを確認してください。	
切断点第1 (B2に半角入力)	11p15
切断点第2 (B3に半角入力)	18q11.2
切断点1の染色体番号	
切断点2の染色体番号	
切断点情報	
確率算出, Sheet3へ移動	

(2) 「切断点情報取得、Sheet3へ移動」をクリック、パキテン図作成準備。



(3) Sheet3 でパキテン図を作成し、Sheet3_2へパキテン図を copy and paste する。

Windows キー+sift キー+S キーを同時にクリックして、パキテン図を切り出しコピーする。Sheet3_2 で paste する。



(4) Sheet9 で各分離様式、4枚の Daniel の三角形をまとめる。

平均値が異なる2つの染色体の確率を比較する		平均値が異なる2つの染色体の確率を比較する	
切断点1	11 p15.5	平均値が異なる2つの染色体に設定された	
切断点2	18 q11.2	確率を算出する	
k(11;18)(p15.5;q11.2)			
不均平衡型	確率(%)	疾患・染色体異常の確率(%)	加算確率(%)
不均平衡セグメント1	11pter->p15.5	SSI	SSI
不均平衡セグメント2	18qter->q11.2	2.5	2.5
			確率(%)
			2.5

(5) Sheet9_2 隣接1型分離様式 Single Segment Imbalance mode で確率算出。

11番染色体	確率	still birth,neonatal death	加算した確率
11pter->p11.11	70		70
11pter->p11.12	70		70
11pter->p11.2	70		70
11pter->p12	70		70
11pter->p13	70		70
11pter->p14	<3.1	6.3	9.4
11pter->p15.1	SSI		SSI
11pter->p15.2	SSI		SSI
11pter->p15.3	SSI		SSI
11pter->p15.4	SSI		SSI
11pter->p15.5	SSI		SSI

(6) 隣接1型分離様式、11番染色体短腕用確率表。この表の切断点を検索して確率を見つける。

(7) 各分離様式の確率を合計して、最終的な確率とする。

karyotype :t(11;18)(p15.5;q11.2)		
over all probability at birth (%)	mat:	4
	pat:	2.8
	mat(%)	pat(%)
adj_1	2.5	2.5
adj_2	0	0
3:1disjunc_type1	1.3	0
3:1disjunc_type2	0	0
interchange trisomy	0.2	0.3
Total probability	4	2.8

アプリケーションによる結果は、PowerPoint ファイルとして出力される。遺伝カウンセリングの資料として提供される。

(8) 当初、パキテン図の形態と Daniel の三角形で産まれてくるであろう不均平衡型転座の分離様式が予想され確率表から確率を算出すると考えていたが、確率表から不均平衡セグメントに設

定されている確率を求めると負担が少ないように思われた。パキテン図は不要とは考えない。相互転座の4価染色体がどのような形態になっているか、おそらくクライアントである相互転座保因者は知りたいであろうと考えるからである。

参考文献

Sabine Stengel-Rutkowski, Pia Gallone, Jon Stene : Risk Estimates in Balanced Parental Reciprocal Translocations: Analysis of 1120 Pedigrees. Monographie des annales de g e n e t i q u e . Expansion scientifique francaise., Paris, 1988.

Daniel A : Structural differences in reciprocal translocations. Potential for a model of risk in Rcp .Hum Genet, 51,171-182 1979. doi: 10.1007/BF00287173.

梶井 正:「染色体異常をみつけたら」03cb「不均衡型転座の子の産まれる確率」

(<http://www.cytogen.jp/index/pdf/03-cb.pdf>)

RJM Gardner, DJ Amor : Gardner and Sutherland's Chromosome Abnormalities and

Genetic Counseling. p1-714, Oxford University Press., New York, 2018.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 尾崎 守、池田 敏郎
2. 発表標題 KMU統合アプリケーションの到達点
3. 学会等名 日本遺伝カウンセリング学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 尾崎 守、池田 敏郎、遠藤 俊明
2. 発表標題 KMU統合型アプリケーションの解析結果について（隣接1型分離様式）
3. 学会等名 日本産科婦人科遺伝診療学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 尾崎 守、池田 敏郎、遠藤 俊明
2. 発表標題 KMU統合型アプリケーションによる相互転座保因者の解析結果について
3. 学会等名 日本人類遺伝学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 尾崎守、池田敏郎、遠藤俊明、佐々木愛子、倉橋浩樹
2. 発表標題 相互転座保因者の遺伝カウンセリングに有用なアプリケーションの開発の現状について
3. 学会等名 第7回日本産科婦人科遺伝診療学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 尾崎守、池田敏郎、遠藤俊明、佐々木愛子、河村理恵、倉橋浩樹、新井田要
2. 発表標題 mac OS版KMU_統合型アプリケーションの進捗状況について
3. 学会等名 第45回日本遺伝カウンセリング学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 尾崎 守、池田 敏郎、遠藤 俊明、倉橋 浩樹、浦 大樹、硯 澄仁、岩田 由美子、高瀬 悦子、新井田 要
2. 発表標題 相互転座保因者パキテン図等の作成アプリケーションの公開について
3. 学会等名 日本遺伝カウンセリング学会第44回学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 尾崎 守、池田 敏郎、遠藤 俊明、佐々木 愛子、倉橋 浩樹、浦 大樹、新井田 要、硯 澄仁、高瀬 悦子、岩田 由美子、
2. 発表標題 相互転座保因者に関するアプリケーション公開とこれまでに寄せられた改良点について
3. 学会等名 日本人類遺伝学会第65回大会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 尾崎 守、池田 敏郎
2. 発表標題 均衡型相互転座の親から生まれる児の確率と有用なアプリケーションの開発
3. 学会等名 日本産科婦人科遺伝診療学会第6回学術集会（招待講演）
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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------