

FISH 診断による PGD の現状と限界

IVF なんばクリニック

中岡義晴

均衡型染色体構造異常を有する夫婦に対する着床前診断 (preimplantation genetic diagnosis, PGD)には、fluorescence in situ hybridization, FISH 法が広く用いられてきた。この方法は染色体の特異部位を蛍光標識した DNA プローブによりハイブリダイズさせることにより、その部位が存在するか否かを診断する方法である。FISH 法は診断に適した2-3種類の DNA プローブおよび蛍光顕微鏡があれば行うことができるという簡便な方法ではある一方、誤診率が**%とかなり高いことが問題となっている。DNA プローブ数が多くなるに従い、その正診率は低下する。より正確な診断を行うためには、まず細胞質のない、十分に薄く広がった核を持つ良好な固定標本作製が重要である。その標本の不出来具合が蛍光シグナルの検出不良や重なりなどによる誤診につながる。さらに、DNA プローブの種類およびサイズの違いによりシグナル強度に違いを生じ、検出感度の違いから誤診へとつながる可能性がある。正診率は各施設間で異なる可能性があるが、**らの報告では、**%であるとされている。その誤診率を減らすために、**が必要となってくる。

近年、全染色体の DNA を増幅することにより、染色体分析が行われるようになってきた。その一つが、array comparative genomic hybridization, CGH 法である。この方法は、全染色体を網羅するように数千から数万カ所の特異的遺伝子を配列したチップを用いて、検体細胞から抽出したゲノムを増幅して得られた DNA と対照の DNA をそれぞれ緑と赤に蛍光標識し、チップ上でそれぞれの遺伝子の割合を蛍光色素の強度によりコンピューター解析し染色体分析するものである。この方法は、標本作製などの人の手が必要となることなく、ほとんどが機械により行われるものであり、診断精度にばらつきが少なくなる。また、全染色体分析が可能のため、転座等の目的とする染色体以外の染色体情報も得ることができることが特徴となる。ただ、1倍体や3倍体などの倍数性異常に対しては診断ができないことが欠点となる。さらに、自前で行うためには高額な設備費用を要することが上げられること、また、細胞採取には単一細胞での DNA 増幅では正確な増幅ができずに誤診へとつながる可能性があるために、5細胞前後の複数細胞の採取が可能な胚盤胞栄養芽細胞からの細胞採取が適している。

今回、FISH 法の限界と、今後 G バンド法、FISH 法などの染色体分析に取って代わる可能性を秘めている CGH 法を中心として述べたい。