

これからの着床前診断の検査法としての array Comparative Genomic Hybridization 法

IVF なんばクリニック

中岡義晴 森本義晴

IVF 大阪クリニック

福田愛作

近年の遺伝学的検査法の進歩はめざましく、様々な検査法が染色体分析に用いられるようになってきた。生殖医療における着床前診断(preimplantation genetic diagnosis, PGD)は、重症の遺伝性疾患、および均衡型染色体構造異常を有する習慣流産夫婦を適応として実施されている。PGD に用いる検査法には、1 から数個の非常に少ない細胞を検体として高い診断精度が要求される。

その染色体分析には、fluorescence in situ hybridization, FISH 法が広く用いられていた。染色体の特異部位に蛍光標識した DNA プローブをハイブリダイズさせることによりその部位の存在の有無を診断する検査法であり、診断に適した DNA プローブと蛍光顕微鏡があれば比較的簡便に行うことができる。また、我が国の PGD は構造異常を有する染色体のみを対象とした染色体分析であるため、FISH 法が適していた。ESHRE PGD Consortium の報告においても、2008 年に染色体異常に対して実施された PGD774 周期のほとんどが FISH 法により行われている。一方、FISH 法の診断精度は必ずしも高くないことが指摘されている。細胞質が除去されていない広がり悪い核を持つ固定標本では蛍光シグナルの検出不良や重なりが増加し、さらに DNA プローブのサイズの違いから生じるシグナル強度の差や、使用する DNA プローブ数の増加が正診率を低下させる。また胚の約 50% に存在するとされているモザイクの点からも、単一割球生検では正確に胚染色体を診断できない可能性がある。我々の施設でも FISH 法により実施した PGD での妊娠が流産となった 2 例のうち 1 例は親由来の不均衡型構造異常が原因であった。

数年前より、世界的に全ゲノム DNA の増幅をもとにした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 (aCGH) 法である。我が国でも目的とする染色体以外の染色体情報を開示しないことを前提に、その実施が認められるようになった。この方法は、染色体全体を網羅する数千から数万カ所の DNA 断片を配列したマイクロアレイを用いて、正常 DNA を対照として検体細胞から抽出したゲノム DNA の比率をコンピューター解析するものである。この方法では、FISH 法での熟練した技術を要する標本作製などの行程がなく重要な作業の多くが機械的に行われるため、診断精度にばらつきが少なくなる。細胞採取には分割胚からの単一細胞採取のみならず、DNA 増幅の正確性を上げることが可能となる胚盤胞からの複数細胞採取と、症例に応じて行うことができる。この方法の欠点としては、倍数性異常の診断ができないことがあげられる。

今回、FISH 法での PGD 成績と世界的に広まっている CGH 法について述べたい。