

〔A〕

1. 受精卵の遺伝子診断

鹿児島大学医学部
産婦人科教授
永田 行博

座長：北海道大学医学部
産婦人科教授
藤本征一郎

はじめに

周産期医学が進歩し、周産期死亡率は著しく低下した。1993年のそれは5.0と世界でもっとも低い周産期死亡率である。また、周産期死亡率の低下は少産少子時代を招来し、晩婚化と高齢出産の増加と相まって出生前診断の重要性をますます増している。しかし、これらの診断から得られる結果によっては、有効な治療法がないために人工妊娠中絶が選択されることがある。

着床前遺伝子診断

このような出生前診断の矛盾を解決するために、着床する前の受精卵を用いて遺伝子診断する方法（着床前遺伝子診断）が考案された。この診断法の臨床応用は、1989年にイギリスの Handyside et al. が伴性劣性遺伝性疾患に性別診断法を応用して、女兒を出産させたのが最初である。

〔Ⅰ. 着床前遺伝子診断の原理〕

受精卵（胚）から一部の細胞（割球）を生検し、遺伝子診断する。生検された胚は診断結果が得られるまで培養を継続し、遺伝性疾患を発症する可能性のない胚（キャリア胚を含む）のみを子宮に移植して、健常な児を得ようとするものである。

〔Ⅱ. 診断の方法〕

この診断法には、3種類の生殖医療技術が必要である。

1. 体外受精・胚移植法

生検には、体外受精によって得られた受精卵が供される。また、診断終了後には遺伝性疾患を発症しないと診断された胚が子宮に戻される（胚移植）。

2. 胚生検法

4細胞期胚あるいは8細胞期胚が生検に用いられる。2細胞期胚では生検後の生存性に問題があり、16細胞期以降の胚では生検が技術的に難しい。

胚生検法は次の三つの方法に要約される。

- 1)細胞核摘出法（Enucleation）
- 2)細胞吸引法（Aspiration）
- 3)押し出し法（Extrusion）

これらのうちで Extrusion 法は透明帯に開けた小口から1割球を内圧で押し出す方法であり、もっとも優れている。しかし、三法のいずれでも生検に要する時間は30秒以内で可能である。

3. 遺伝子診断法

PCR 法あるいは FISH 法が用いられる。

- 1)PCR 法（ポリメラーゼ連鎖反応）：特定の DNA 領域を挟んだ2種類の primer と基質ヌクレオチドおよび耐熱性 DNA 合成酵素を用い DNA 合成を繰り返す。特定の

DNA 領域を数十万倍に増幅する。この方法の確立で、1 割球からの DNA 診断が可能になった。

2) FISH 法 (Fluorescence In Situ Hybridization) : DNA を抽出することなく診断が可能である。ある目的とする DNA 配列(検体の DNA)と相補的な DNA probe を hybridize させ、そして DNA probe を蛍光色素で検出する。われわれはこの方法による性別診断には DXZ 1 および DYZ 1 の DNA probe を用いており、hybridization 時間を5分間に短縮することで1時間以内に診断結果を得る方法 (Super-rapid FISH 法) を確立した。

〔Ⅲ. 適応疾患 (表1)〕

着床前遺伝子診断の適応は出生前診断の適応に準じて行われる。基本的には、昭和61年11月日本産科婦人科学会会告「パーコールを用いてのXY精子選別法の臨床応用に対する見解」で示された進行性筋ジストロフィー (Duchenne 型) など重篤な伴性劣性遺伝性疾患、および昭和63年1月会告「先天異常の胎児診断、特に妊娠初期絨毛検査に関する見解」の中の重篤で DNA 診断が可能な遺伝性疾患の保因者などが、着床前遺伝子診断の適応となる。そして、遺伝子診断を行うには、家族内に発端者(患者)がいることを条件に、表1に示した疾患が対象になる。

(表1) 着床前遺伝子診断の対象および疾患

1. 家族内に発端者(患者)がいること
2. 重篤な遺伝性疾患であり、
(1) 単一遺伝子欠損で、塩基配列が判明している疾患
または、
(2) 伴性劣性遺伝性疾患

着床前遺伝子診断の問題点

この診断法の臨床応用にあたって、医学的および倫理的な面から問題が指摘される。

〔Ⅰ. 医学的な問題点〕

1. 安全性

胚生検後の胚が正常に発育し、正常な児が生まれるか否か、その安全性は重要である。われわれの検討した生検後のマウスおよびヒト胚の胚盤胞への発達率や着床率、出生率、あるいは奇形の発生や次世代への影響などではとくに異常はみられなかった。

また、欧米でのヒトの出産例からも、発育の異常や奇形発生については特別に言及されていない。しかし、ヒトの症例数はまだ少ないことから、安全性については今後も慎重に追跡していくことが必要である。

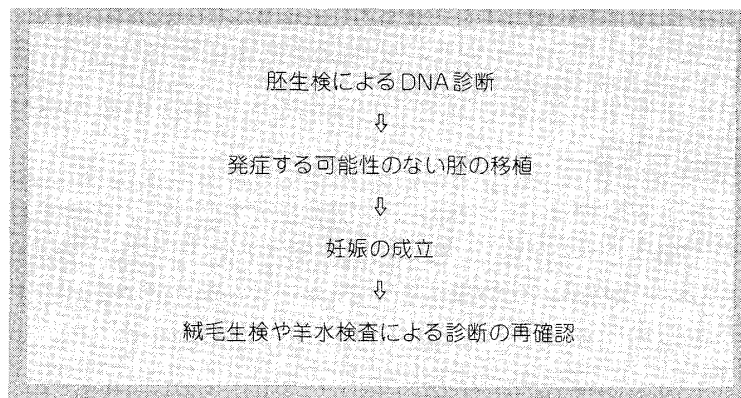
2. 診断の精度

着床前遺伝子診断は最終的に100%の精度が要求される。しかし、1 個の細胞から DNA を抽出・増幅して診断すること、診断の繰り返しが可能ないことから、高い精度管理が要求される。また、胚移植までの時間的な制約が診断に必要な時間をも制限している。

欧米では性別診断、疾患診断とも95%以上の高い診断率が報告されている。われわれの性別診断の成績も90%以上の診断率であり、診断できない胚は移植しないから、最終的に

誤診した胚を子宮に移植する可能性は0.25%であった。しかし、精度が100%に近いとしても、妊娠成立後に診断の正しさを再確認することが望まれる(表2)。

(表2) 着床前遺伝子診断における診断の確認



性別診断のみに限定すれば、性染色体数の異常が検出できることや診断に要する時間が短いことから、PCR法よりもFISH法がより有用である。

3. 異常と診断された受精卵の取り扱い

異常と診断された受精卵は凍結保存を原則とするが、当該夫婦が希望すれば棄却も可能であろう。次のような点にも注意する。

- 1)ヘテロ接合体胚の取り扱い：劣性遺伝性疾患ではホモ接合体は発症するが、ヘテロ接合体はキャリアになっても発症しないことから、その受精卵は子宮に移植する。
- 2)性別診断における46,XY胚の取り扱い：伴性劣性遺伝性疾患に性別診断を用いる場合には、46,XY胚の1/2は発症する可能性はないが、子宮に移植せず、凍結保存する。疾患診断であればこのような問題は生じない。
- 3)性染色体数異常胚の取り扱い：FISH法を用いると性染色体数の異常(45,XO, 47,XXX, 47,XXYなど)が診断できる。これらは性腺に異常をきたすが重篤な遺伝性疾患には当たらないことから、どのように取り扱うかは、さらに検討する必要がある。しかし、染色体異常胚は低妊娠率の原因になるとして、積極的に排除する考えもある。

〔Ⅱ. 倫理的な問題点〕

遺伝子診断は希望する夫婦の完全な理解と合意(Informed consent)に基づいて実施されることから、プライバシーが保護され、100%の遺伝子診断の正確さが保証されるならば、とくに不利益ならびに危険性はないと考えられる。しかも、適応を厳格にするならば、対象者も限定されることから社会的にも許容される範囲にあるといえよう。

イギリスやアメリカではこの診断法にはまったく制限はない。フランスでは実施施設や対象疾患に制限があるが、診断は認められている。しかし、わが国では出生前診断の導入時に、「胎児診断はヒトを差別するものである」とする一部の人の十分な理解が得られていなかったことから、この着床前遺伝子診断の臨床応用にあたっては同様な問題が提起されている。

1. 遺伝子診断は障害者の差別になるのか

着床前遺伝子診断と障害者の差別は全く異なる範疇に属しており、互いが対立関係にあるものではない。したがって、遺伝子診断そのものは障害者の差別にはならないといえよう。

2. 適応の拡大の懸念

この診断法が進歩すれば、その適応が拡大されることが懸念される。日本人類遺伝学会

が「遺伝カウンセリング・出生前診断に関するガイドライン」の中で、「クライアントが診断検査の施行を要求しても、医師が社会的、倫理的規範に照らして、もしくは自己の信条として同意できない場合はそれを拒否することができる」と述べている。これはクライアント側からの遺伝子診断の適応拡大への歯止めと考えてよいであろう。しかし、施行者である医療者側の適応拡大に対してどのような倫理的規範を求めるかがもっと重要であり、今後この点に関しての検討が必要であろう。

遺伝子診断の今後

遺伝子診断は、出生前診断あるいは着床前診断にかかわらず、今後ますます一般的な診断法になっていくであろう。しかし、もっとも懸念されることは、適応が際限なく拡大されることであり、ついには個々人の遺伝子スクリーニングにまで及ぶことであろう。したがって、このような問題に対して、場当たりの、なし崩しの排して、早急に多くの人々の意見を集約していくことが今後の課題であろう。

もっとも、将来これらの疾患の遺伝子治療が完成し、出生後の対応が可能になれば、出生前診断や着床前診断は不必要な診断法になる可能性もある。

《参考文献》

- 1) 竹内一浩, 永田行博. 着床前遺伝子診断の現況と将来. 医学のあゆみ 1995; 172: 244—247
- 2) Handyside AH, Pattinson JK, Penketh RJA, Delhanty JDA, Winston RML, Tudendenham EGD. Biopsy of human preimplantation embryos and sexing by DNA amplification. Lancet 1989; 1: 347—349