

高年令妊娠と染色体異常に関する研究

和歌山県立医科大学産科婦人科学教室

辻 清

北海道大学医学部産科婦人科学教室

一 戸 喜 兵 衛

Chromosome Studies in Induced Abortions of Older Pregnant Women

Kiyoshi TSUJI

Department of Obstetrics and Gynecology, Wakayama Medical College, Wakayama

Kihyoe ICHINOE

Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Hokkaido University, Sapporo

概要 近時、母親の高令化にともなつて先天異常児の出生頻度が加速的に増加してくる事実が次第に明らかとされてきたが、この原因を究明するため、卵巣機能の衰退の著明期である40才以後閉経までの婦人で妊娠早期に人工中絶をうけた資料、とくに胎児を対象に、その染色体上の異常について調査した。

実際には35才～48才までの高令妊婦における妊娠早期の人工中絶資料で、流産徴候を全く認めなかつた 169例の胎児組織の染色体異常の発生頻度や種類について検討し、157例(92.9%)の核型分析に成功した。

(1) 染色体核型分析をなしたこの157例中にみられた異常は7例で、その母親の年令別に発生頻度を観察すると、35～39才では1.6% (1/63例)、40～44才では3.7% (3/82例)と高くなり、閉経前にあたる45～48才にいたつては25.0% (3/12例)と甚しく高い頻度がみられた。

(2) 染色体異常の種類は何れも trisomy であり、年令別では35～44才で4例とも 21-trisomy, 45～48才で2例は18-trisomy, 1例は15-trisomyであつた。

(3) 一般に45才以上の母親からの新生児の性比は男性が高いと言われるが、今回の研究からは高令妊娠での性の傾りはみられなかつた。

以上、母親の高令化につれ染色体異常妊娠の増加が充分推測され、ことに閉経前の婦人では驚異的な高頻度となることが窺われた。

Synopsis The chromosome anomalies in the fetuses (169 cases) having no signs of abortion were examined, using samples from induced abortions at the early stage of pregnancy in women aged 35 years or above who were supposed to be at the aged stage of ovarian function. 1) Out of 157 cases subjected to analysis of karyotype successfully, 35-39 year old mothers showed anomalies as high as 1.6% (1/63 cases); 40-44 year old mothers 3.7% (3/82 cases); 45-48 year old mothers 25.0% (3/12 cases). 2) The kinds of chromosome anomalies were all trisomy. All 4 cases in women aged 35-44 years were 21-trisomy. Out of 3 cases in 45-48 years 2 cases were 18-trisomy and one was 15-trisomy. 3) It is generally accepted that the newborn from mothers aged 45 years or above have high male sex ratio, but no such a trend due to aged pregnancy was found in this study.

Thus, it is strongly suggested that chronological aging in the ovary markedly take part in chromosome anomalies. Since abnormal chromosomes are all trisomy, it is assumed that aging of the ovary may lead to a condition of early chromosome non-disjunction.

緒 言

母親の高齢化にともなつて先天異常児の出生頻度が増加し、母親の年齢が35歳以上、ことに40歳を越えると、この頻度が加速的に上昇してくる事実について、近時多くの情報が集積されつつあ

る^{1) 2) 3) 5)}。たとえば、母親の年齢と染色体異常児の出生頻度との関係に限つても、新生児にみる G-trisomy⁸⁾, E-trisomy および Klinefelter 症候群では母親の年齢が35歳以上に、また D-trisomy や Triplo-X 症候群¹⁵⁾では40歳以後にこれらの異

常児の出生頻度が顕著に高くなることが指摘されている。その原因として主に卵巣の老化、とくに卵母細胞加齢上の変化が注目されており、Klinefelter症候群¹⁰⁾¹⁶⁾のように伴性遺伝の立場から、加齢にともなう第一減数分裂の不分離現象によることが証明されているものもある。

しかしヒト母親の高齢化にともなう染色体異常妊娠の増加につき実態調査を目的に、妊娠早期より計画的検索を行つた報告は少ない。

筆者らはかかる目的に沿つて卵巣機能上から老化期に入る40歳以後の流産徴候を示さぬ妊娠早期の人工中絶資料を中心として、胎児の染色体異常の発生頻度およびその種類について調査した。

研究資料と方法

研究資料は35歳以上の高齢妊婦が母性保護の立場から妊娠12週以内までに人工中絶術を受けた際えたものである。これらは全く流産徴候を認めず、しかも胎児組織を確認できたもののみである。資料の収集地域は和歌山県、大阪府および奈良県である。

無菌的に採取した胎児組織はペニシリン(100単位/ml)を含んだ生理食塩水で血液を除去するために洗滌された。この組織をハサミで細切し培養ガラス器具内に培養液(ハム F-10+20%牛胎仔血清)とともに入れ、5%炭酸ガス恒温器内(37℃)にて3～4日間培養する(表1—1)。

次に、培養細胞が比較的多く分裂期になつていることを確認できた時点でコルセミッド(0.1μg/ml)処理を6時間行い、0.075M 塩化カリウム溶液で低張処理を45分間した後カルノワ固定液を徐々に加え充分固定し、空気乾燥法で染色体を拡げ、ギムザ染色をして標本作成をした(表1—2)。各個体でよく拡がった分裂細胞を20個以上観察し、写真撮影の上、核型分析をなしえたもののみを検討資料とした。

さらに、異常染色体を認めたものは分染法(G-バンド)により異常染色体構成位置を調べた。すなわち2×SSC(0.15M NaCl—0.015M Sodium Citrate)溶液内、60℃で60分間培養し、蒸留水で洗滌して乾燥後、0.2%トリプシン溶液内、4℃

表1 胎児組織の培養法、染色体標本作成法およびG-バンド分染法

1. 培養法		
胎児組織	↓	
細切	↓	
培養液	↓	{ハム F-10 20%, 牛胎仔血清
5%炭酸ガス恒温器内、37℃	↓	
3～4日間培養		
2. 標本作成		
(I) コルセミッド, 0.1 μg/ml		6時間
(II) 低張処理, (0.075 M KCl)		45分間
(III) カルノワ固定		1時間
(IV) 空気乾燥		
(V) ギムザ(2%)染色		30分間
3. G-バンド作成		
(I) 2×SSC, 60℃		60分間
(II) 蒸留水でリンス → 乾燥		
(III) 0.2%トリプシン(P.B.S), 4℃		1分間
(IV) メタノールでリンス → 乾燥		
(V) ギムザ(10%)染色		20分間

で1分間処理した上で、メタノールで洗滌、乾燥し、ギムザ(10%)染色液で20分間染色してG-バンド染色体標本作成を行つた(表1—3)。

研究成績

(I) 染色体異常胎児の発生頻度

収集しえた早期妊娠資料のうち前記の条件を満足しえたものは169例であったが、このうち157例(92.9%)が染色体の核型分析が可能であつた。また対象資料の妊娠週数は平均 8.5 ± 1.6 (S.D.)であつた。

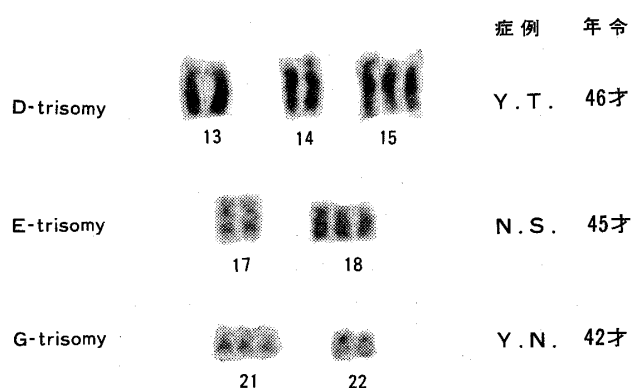
高齢妊婦の年齢層別の資料構成は、35～39歳では63例、40～44歳では82例、45～49歳では12例であつた。これらのうち染色体異常胎児の発生頻度につき年齢層別にみると、35～39歳では1.6%(1/63例)、40～44歳では3.7%(3/82例)であり、さらに閉経前にあたる45～49歳では25.0%(3/12例)と驚異的な高頻度がみられた(表2)。

(II) 染色体異常胎児の種類

染色体異常の認められた7例の種類はすべてtrisomyであつた。そのうちわけは35～44歳での4例はいずれも21-trisomyであり、45歳以上の高齢妊婦からの3例は2例が18-trisomy、1例が

表2 高令妊婦の人工流産にみられた
染色体異常の種類と頻度

母親の年齢	染 色 体 異 常	異 常 頻 度
(35～39才)		
35才	11例	} 1/63 …… 1.6%
36才	17例	
37才	10例	
38才	11例 …… (47, XX, +21)	
39才	14例	
(40～44才)		
40才	23例 …… (47, XX, +21)	} 3/82 …… 3.7%
41才	23例	
42才	17例 …… (47, XY, +21)	
43才	11例 …… (47, XY, +21)	
44才	8例	
(45～49才)		
45才	5例 …… (47, XY, +18)	} 3/12 …… 25.0%
46才	4例 …… (47, XX, +15)	
47才	1例	
48才	2例 …… (47, XX, +18)	
(計)	157例	7例 7/157 …… 4.46%

写真1 D (15), E (18) および G (21)-trisomy
のそれぞれの partial karyotype (G-バンド).

15-trisomy であつた (写真1).

(Ⅲ) 性の傾り

高齢妊婦の胎児における性の傾りの有無に関して年齢層別に検討すると、染色体上の XY と XX の比は、35~39歳では 30 : 33, 40~44歳では 42 : 40, 45~49歳では 6 : 6 で、全体を通じ母親の加齢と児の性の傾りに注目すべき関係は認め難かった。

考 案

母親の高齢化にともなう先天異常児の発生頻度の増加は、生物統計上次第に明白な事実とされつ

つある。なかでも染色体異常をもつ新生児の発生頻度と母親の aging との関係がきわめて鮮明な例として、G-trisomy⁸⁾, E-trisomy および D-trisomy の常染色体異常児や, Klinefelter 症候群, Triplo-X 症候群の性染色体異常児など¹⁵⁾が注目されている。すなわち患児の母親の年齢層における比較出生率は40歳以後急激に高まり、45歳以上ではさらに異常な高頻度を呈することが認められている。一方、また、最近多数の自然流産児に関して染色体分析を行つている Boué et al. (1976)⁷⁾ も高齢婦人の流産児において常染色体の trisomy の増加を指摘している。

しかし人工流産において高齢妊娠資料を対象に染色体異常を調べたものは、僅かに Hahnemann (1973)¹¹⁾ の40歳以上の11名、山本ら (1975)²⁰⁾ の40~46歳までの25名に関する報告があるだけで、しかもこれらは染色体分析を絨毛で行なつているという基礎的問題点も考えられる。

今回の研究では40歳以上の高齢妊婦の早期人工中絶資料を94例分析したが、35歳以上の高齢妊婦からの trisomy の発生頻度は4.46%で、一般人工流産児の常染色体 trisomy の発生頻度である安田ら (1967)⁶⁾, Tonomura et al. (1969)¹⁹⁾, Sasaki et al. (1971)¹⁸⁾, Kajii (1973)¹⁴⁾, Hahnemann (1973)¹¹⁾ および Yamamoto et al. (1975)²⁰⁾ により算定された0.53%と比較してみても8倍にもなる。さらに年齢別にみると、35~39歳の群では3倍、40~44歳の群では7倍、ことに閉経前にあたる45歳以上の群では47倍という異常なまでの高頻度を示すことが認められたことになる。また、40~44歳の群と45歳以上の群との発生頻度につき、推計学的に Yates の修正を加えると有意差のあることが ($P \leq 0.05$) 認められた。また信頼度95%での信頼限界では35~39歳の群では $0.1\% \leq P \leq 7.5\%$, 40~44歳では $1.0\% \leq P \leq 10.9\%$, 45歳以上の群では症例数が少ないため $7.2\% \leq P \leq 52.7\%$ とかなりの幅を示した。

このように高齢妊婦、ことに閉経前の婦人から驚異の高頻度で染色体異常とくに trisomy が認められることについての考え方として、卵母細胞が

出生後 dictyotene stage の状態で静止しつつ排卵までに時には50年近くも卵巣内で留まるため、染色体不分離の誘発因子、たとえば電離放射線、化学物質、ウィルス感染その他の外因子にふれる機会が chronological に多くなってくるものかと推測されている。しかし母親の年齢が40歳を越え、とくに生殖能が減衰する閉経前の短期間に、染色体異常児の発生が著しく急増するという点からすると、卵巣老化現象との関係が最も考えられる。このことはヒトに比べて甚だ短い実験動物の一生を通じてもいいうることで、著者らは雌マウス (C57 BL/6J) の生殖能が急減する卵巣機能老化期の400日齢以上で、急激な奇形仔の多発を確認している。すなわち外因子に短期間しか曝されなくとも、卵巣機能老化期には異常仔出生が多発するわけで、chronological な外因子はむしろ考え難い。また trisomy の多い点からも卵母細胞に染色体不分離のおこりやすい条件が生じていることが推測されるが、遅延排卵、遅延受精など⁴⁾¹⁷⁾の卵巣そのもののもつ因子の関与が、むしろ考えられやすい。trisomy そのものの成因に関しては加齢動物にみられる chiasma frequency の減少¹²⁾とか加齢による紡錘糸の変性など⁴⁾⁹⁾が考えられている。しかしヒトの trisomy 発生本態の研究については向後の大きな課題である。

最後に45歳以上の高齢母親では出生児の性比(♂:♀)は明らかに高くなるのが一部の研究者¹³⁾により報告されている。しかし今回のわれわれの妊娠初期における性比にみる限りでは、否定的ではないまでも積極的に支持しうる成績はえられなかった。

文 献

1. 一戸喜兵衛, 馬淵義也, 赤山紀昭, 辻 清, 佐々木謙司, 岡田雄一, 中山 崇, 矢本希夫: 母親の高令化と先天異常. 心身障害研究胎児環境研究班研究報告書(厚生省), 96, 1975.
2. 一戸喜兵衛, 馬淵義也, 赤山紀昭, 辻 清, 佐々木謙司, 岡田雄一, 中山 崇, 矢本希夫: 高年令卵巣の卵の異常. 心身障害研究胎児環境研究班研究報告書(厚生省), 87, 1975.
3. 一戸喜兵衛, 馬淵義也, 辻 清, 岡田雄一: 高年令卵巣の卵の異常. 心身障害研究胎児環境研究報告書(厚生省), 90, 1976.
4. 美甘和哉: 発生異常—細胞遺伝学的見地から. 日本医師会雑誌, 74: 891, 1975.
5. 西村秀雄: 受精〜胎芽期での科学から“奇形”を究める. 胎児科学, 35, 雄鶏社, 東京, 1975.
6. 安田峯生, 松田直信, 外村 晶: 直接法によるヒト胎芽の染色体の検索. 先天異常, 7: 157, 1967.
7. Boué, J., Boué, A. and Lazar, P.: The epidemiology of human spontaneous abortions with chromosomal anomalies. Aging Gametes, 330, Karger, Basel, 1975.
8. Collmann, R.D. and Stoller, A.: A survey of mongoloid Births in Victoria, Australia, 1042-1957. Am. J. Publ. Health, 52: 813, 1962.
9. Evans, J.H.: The nucleolus, virus infection, and trisomy in man. Nature, 214: 361, 1967.
10. Ferguson-Smith, N.A., Mack, W.S., Ellis, P.M., Dickson, M., Sanger, R. and Race, R.R.: Parental age and the source of the chromosomes in XXY Klinefelter's syndrome. Lancet, 1: 46, 1964.
11. Hahnemann, N.: Chromosome studies in induced abortions. Clinical Genetics, 4: 32, 1973.
12. Henderson, A.S. and Edwards, F.R.: Chiasma frequency and maternal age in mammals. Nature, 218: 22, 1968.
13. Hytten, F.E. and Leitch, I.: The sex ratio, in the Physiology of human pregnancy. 2nd ed., 469, Blackwell Co., London, 1971.
14. Kajii, Y.: Chromosome anomalies in induced abortions. Les accidents chromosomiques la reproduction, 57, 1973.
15. Lenz, W., Pfeiffer, A. and Tunte, W.: Chromosomenanomalien durch Uberzahl (Trisomien) und Alter der Mutter. Deut. Med. Wochschr., 91: 1262, 1966.
16. Mann, J.D., Cahan, A., Gelb, A.G., Fisher, N., Hamper, J., Trippett, P., Sanger, R. and Race, R.R.: A sex-linked blood group. Lancet, 18, 1962.
17. Mikamo, K. and Hamaguchi, H.: Chromosomal disorder caused by preovulatory overripeness of oocytes, Aging Gametes. Int. Symp., Seattle, 72, 1973. (Karger, Basel 1975)
18. Sasaki, M., Ikeuchi, T., Obara, Y., Hayata, I., Mori, M. and Kohno, S.: Chromosome studies in early embryogenesis. Am. J. Obst. Gynec., 111: 8, 1971.
19. Tonomura, A., Sasaki, M.S., Yamada, K. and Aoki, K.: Cytogenetic studies in induced abortions. Jap. J. Hum. Genet., 18: 120, 1973.
20. Yamamoto, M., Fujimori, R., Ito, T., Kamimura, K. and Watanabe, G.: Chromosome studies in 500 induced abortions. Humangenetik, 29: 9, 1975.

(No. 4242 昭52・9・12受付)