

## 教育講演

## 先天異常の出生前診断—その現況と問題点—

名古屋市立大学助教授 鈴 森 薫

Prenatal Diagnosis of Congenital Anomalies  
—Present Status and Future Problems—

Kaoru SUZUMORI

Department of Obstetrics and Gynecology, Nagoya City University Medical School, Nagoya

## I. はじめに

最近、先天異常の出生前診断の普遍化、手技の高度化ぶりには目を見張るものがある。その基盤には超音波診断装置の相次ぐ改良により多彩な胎児異常が鮮明な画像として捉えることができるようになったことは言うに及ばないが、他方遺伝病の本体を細胞レベルから遺伝子レベルで迫るアプローチも見逃すことができない。今回は、超音波などの画像では診断できない遺伝病の出生前診断について新しい技法を中心に述べてみたいと思う。これらの出生前診断の原理は、胎児由来の組織・細胞を採取し胎児情報を得ることである。講演に先だつてわが国に於ける出生前診断の実態を知るためにアンケート調査を行った。調査対象は全国の大学医学部、医科大学の産婦人科・小児科、主要病院および遺伝相談施設など約500機関である。その調査結果は表1に示したが、出生前診断が医療に浸透し、かなりの施設ですでに実用段階に入ったことが明らかにされた。

我々の経験に基づき個々の出生前診断手技を整理し順次触れる。

## II. 羊水診断

羊水穿刺による出生前診断は1960年末に羊水中に浮遊する胎児由来の細胞の染色体分析や酵素活性を測定することにより染色体異常や特定の酵素の遺伝的欠損に基づく病気を診断する目的で開発され<sup>10)12)</sup>、1970年代急速に実用化され広く臨床応用されている<sup>3)13)</sup>。羊水穿刺の適応は本学会誌に掲載されている通りであり、表2のごとき妊婦が対象になる。羊水診断受診者数は年々着実に増加しており、適応別にみると近年高齢妊娠の増加が顕著で受診者増の主要因になっていることが明白にされた。この傾向は女性の社会進出に伴う結婚年齢・出産年齢の高齢化と医学知識の普及が背

表1 出生前診断の現況

診断手技	実施施設数	検査総数	昨年1年間症例数
羊水検査	84	15,638	3,022
絨毛検査	15	154	91
胎児採血	12	334	90
胎児皮膚生検	1	1	0

厚生省心身障害研究班『遺伝性疾患の発症予防班』  
遺伝相談Iグループの調査結果より

表2 妊娠中期羊水検査法

1. 夫婦のいずれかが染色体異常の保因者
2. 染色体異常児を分娩した既往を有するもの
3. 高齢妊娠
4. 重篤なX連鎖遺伝病の保因者
5. 重篤で胎児診断が可能な先天性代謝異常症の保因者
6. その他重篤な胎児異常の恐れがある場合

景にあるものと思われる。

羊水穿刺の時期は羊水量と胎児への安全性を配慮し妊娠17週前後に行っている。手技は超音波装置ガイド下、胎盤を避け胎児に針が触れないように羊水ポケットから羊水を吸引する。診断的価値の目安として結果の信頼性と安全性がポイントになるが、最近の羊水診断の成績についてみると羊水穿刺が直接原因とされる胎児死亡例はなくまた穿刺後2週間以内の流産率も0.5%以下であり、同時期における自然流産率と差異はない。さらに被検児の追跡調査でも肉体的、精神的発達面において何ら影響を与えていないことは明らかであり、羊水検査の臨床的価値は極めて高いものと思われる。

我々の行った1,514症例の羊水検査の適応と結果は表3のごとくである。X連鎖遺伝病の9例の男児を含め65例4.3%に異常が検出された。

表3 羊水検査の適応と結果

適 応		症例数	異 常	異常検出率
染 色 体	染色体異常保因者 妻	72	18	25.0%
	夫	17	2	11.8%
	染色体異常分娩既往 (ダウン症)	736 (632)	21 (17)	2.9% (2.7%)
	高齢妊娠	569 (35歳以上)	9	1.6%
	X連鎖遺伝病	18	9(男児)	50.0%
先天性代謝異常症 (17種)		43	6	14.0%
そ の 他		59	0	0%
		1,514	65	4.3%

### III. 胎児鏡

胎児を直視する目的で開発されたのが胎児鏡である。歴史的にみても1972年に Valenti が小児用の膀胱鏡で胎児の観察に成功している<sup>14)</sup>。その後器具の改良が加えられ光学的な精度もあがり良質な像が得られるようになった<sup>9)11)</sup>。しかし、胎児鏡でみえる範囲は極く僅かであり胎児の大奇形を観察することは容易でない。口径2mm 前後の胎児鏡を子宮内に刺入して行う risk は高く、よほど特殊の症例を除いては外表奇形の診断に汎用されている非侵襲性の超音波診断装置を凌駕することはないように思われる。胎児鏡には直視の他に胎児組織生検、胎児採血における補助的役割があるが超音波ガイド下で充分可能であり、客観的にみて胎児鏡の診断的意義はあまりないのではないかと感じている。

### IV. 胎児採血

日常臨床に於いて血液に確定診断的情報を求めることは少なくない。胎児でも血液検査が不可欠となる病気は多く、今後その応用範囲はかなり広がる可能性を秘めている。胎児採血の適応とその時期をみたのが表4である。風疹、サイトメガロウイルスなどの胎児感染症の specific IgM 抗体の検出<sup>6)</sup>、各種血液疾患、筋ジストロフィーの血清 CPK 活性値の測定、迅速な染色体検査が求められる場合などが適応となる。胎児採血には胎児鏡下採血法、および超音波下における臍帯穿刺法、胎児肝臓・心臓直接穿刺法がある<sup>17)</sup>。採取された血液に母体血、羊水が混入しないことが診断の精度上必須になるが、これらの採血法のうち超音波ガイド下の臍帯穿刺法が侵襲も少なく、確実に pure な胎児血を採取できる点で優れている。手技は超音波画像をみながら臍帯血管を胎盤附着部位近くで穿刺し採血する。穿刺には23g の PTC 針を使用する。

表4 胎児採血の適応

疾患名	診 断 法	実施時期
胎児感染症	specific IgM 抗体	妊娠20~22週
先天性出血性疾患	凝固因子活性	妊娠18~22週
ヘモグロビン異常症	異常 Hb の検出 赤血球の形態	妊娠18~22週
筋ジストロフィー	plasma CPK	妊娠18~22週
細胞遺伝学的診断	染色体分析	妊娠23週まで

表5 胎児血分析症例

福山型筋ジストロフィー：3症例
染色体分析
羊水診断結果の確認：2症例
超音波で発見された：2症例
胎児異常

検査に臨んで胎児血であることを確認することが必要となるが、胎児赤血球は母体赤血球に比し大きいことから血球分析装置により赤血球の直径を測り判定できる。また0.1% KOH 水溶液に採取血を数滴滴下すると胎児血であれば鮮紅色を呈し、母体血では短期間に褐色に変色するので簡単に即時的に鑑別可能である。

我々の妊娠中期の胎児採血例は7症例である(表5)。3家系の福山型筋ジストロフィーの胎児血分析結果では、血清 CPK 値が200ng/ml 以上を示した1症例は異常再発例と診断され剖検で特有の脳奇形の存在がみられたことから診断結果の誤りのないことが裏付けられた。

### V. 胎児皮膚生検

胎児皮膚生検の成功例は胎児染色体分析を目的として行われた1971年角谷らの報告にみられる<sup>9)</sup>。その後重篤な皮膚遺伝病の出生前診断のためにこの手技が試みられている。具体的な適応疾患は表6に示した胎児性魚鱗癬のような致死性の高いものが挙げられる<sup>8)</sup>。胎児性魚鱗癬の胎児診断例について紹介する。胎児皮膚生検には口径1.7mm の生検鉗子を用い、妊娠20週に超音波ガイド下にて胎児皮膚の一部を採取した。その組織所見を正常胎児と対比したのが図1である。明らかに角質層は重層増殖し、毛孔の角化を伴うなど魚鱗癬に特徴的な所見が得られた。またその胎児の皮膚にはすでに亀裂がみられ、口唇部にも特有の変化を捉えることができた。

### VI. 絨毛検査

多くの出生診断の抱える大きな問題は、妊娠中期に入らなければ実施できないことである。この時期に初

表6 胎児皮膚生検

疾患名	遺伝形式	備考
胎児性魚鱗癬	常染色体劣性	致死性
先天表皮水疱症	常染色体劣性型と優性型	多くは致死 長期生存例あり
先天魚鱗癬様紅皮症	常染色体優性	皮膚感染を繰り返し、 敗血症を併発
Sjögren-Larsson症候群	常染色体劣性	

表7 絨毛検査の適応と結果

適応	症例数	異常	検出率
染色体異常症			
染色体異常保因者 妻	12	1	8.3%
夫	1	0	0%
染色体異常分娩既往 (ダウン症候群)	19 (18)	0 (0)	0% (0%)
高齢妊娠	14	1	7.1%
先天性代謝異常症	5	2	40.0%
DNA診断	9	1	11.1%
計	60	5	8.3%

## 22週胎児皮膚 被検胎児皮膚

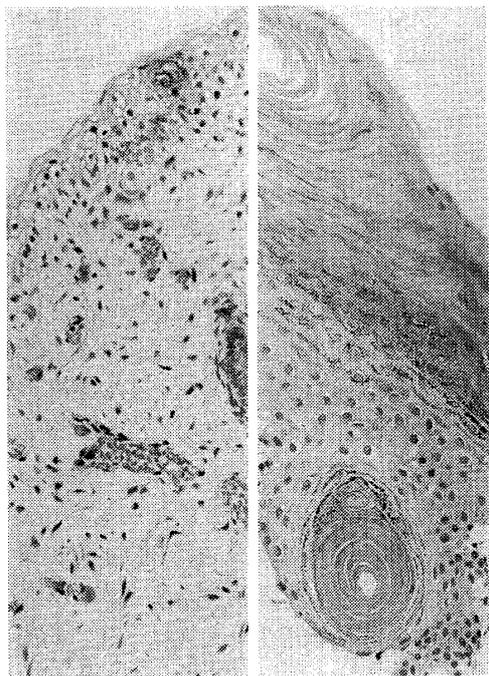


図 1

めて診断可能という事態は妊婦に長い間の待機を強いることになるばかりか診断が下される時には妊婦本人は胎動を感じ、その存在を強く意識するようになる。つまりこの時期に出生前診断されることは遺伝病予防の立場から言えば大きい進歩であるが妊婦に対してはかなり精神的苦痛を強いることになる。このような状況を考えると診断手技を更に改善することが必要と言えよう。妊娠初期に行うことのできる絨毛検査が注目されている理由はここにある。適応は羊水診断に準じているが、絨毛診断ではこれらにDNA診断が加わる。妊娠初期、胎児由来の絨毛膜が胎嚢表面を覆いつくしているが9週頃から将来胎盤を形成する繁殖絨毛膜は一層肥厚し超音波画像上識別が可能となる。絨毛は妊娠9~11週に繁殖絨毛膜から採取される。採取手技は大きく経腹壁法と経頸管法に分けられる<sup>9)</sup>。現在まだ

表8 DNA解析を目的として絨毛採取が行われた遺伝病

	症例数	胎児性別	胎児DNA解析
X連鎖型	血友病 A	3	3(女児)
	Lesch-Nyhan病	1	1(男児)
	Duchenne型筋ジストロフィー	3	2(男児) 1(女児)
常染色体劣性	先天性副腎性器症候群 (21-水酸化酵素欠損症)	2	— 正常遺伝子: 2

絨毛検査の安全性は充分評価されているわけではないので我々は対象を厳重に選択し受診者の意向を尊重して行っている。表7は絨毛検査の適応と結果の総括であるが染色体異常保因者、先天代謝異常など high risk 群の占める割合が高く、したがって異常の検出率も高い。

さて、遺伝病診断におけるインパクトの一つはDNA解析の直接応用である。表8に我々が胎児DNA解析を試みた病名とその結果を示した。ここで少し遺伝病のDNA解析の原理に話を進めてみよう。

## VII. 遺伝病のDNA解析と出生前診断

遺伝子解析にはDNA分画が必要となるが、バクテリアの持つ制限酵素の発見によりこれが可能になった。制限酵素はDNAをrandomに切断するのではなくDNAの特定の塩基配列が存在するときに切断する。今日切断部位が異なつた制限酵素が60以上報告され、市販されている。遺伝子解析には遺伝子マッピング法が必要である(図2)。胎児診断では絨毛組織から胎児DNAを抽出し特定の制限酵素で切断する。切断後DNAをアガロースゲルで電気泳動すると、DNA断片はその長さにより分画される。ゲル内のDNAをアルカリで変性し、サザン・プロット法でニトロセル

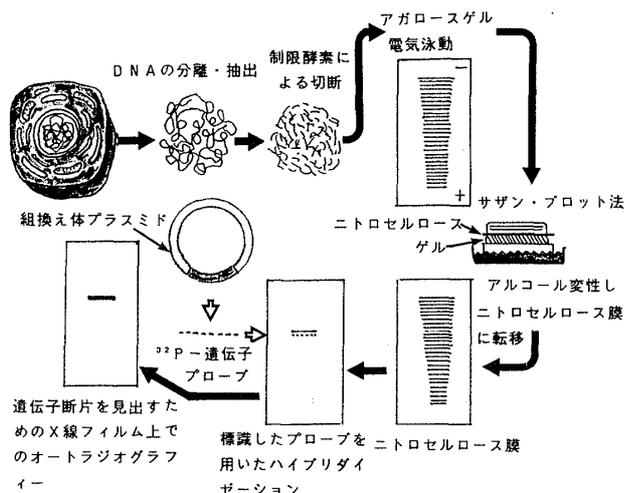


図2 遺伝子マッピング

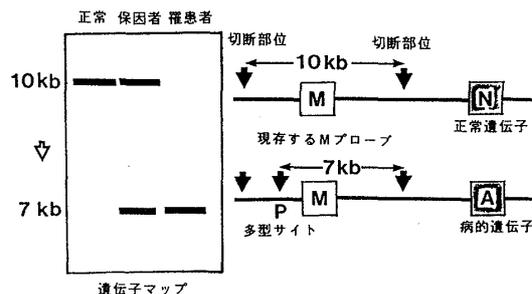


図4 DNA多型を利用した連鎖解析法

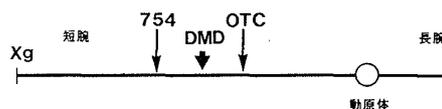


図5 筋ジストロフィー (DMD) の遺伝子座を含む X 染色体の一部

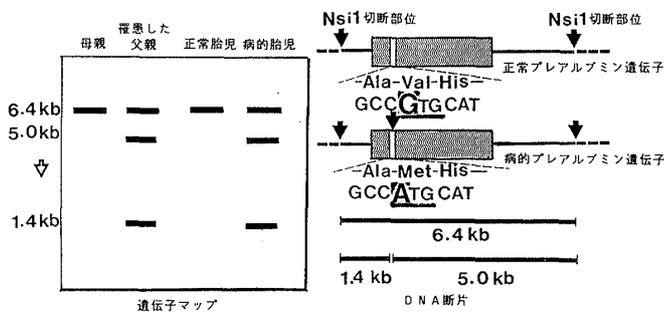


図3 変異遺伝子直接解析法

ローズ膜に転移させる。次にプラスミドなどで増幅した遺伝子をプローブとし同位元素で標識したのちハイブリダイズすると目的の遺伝子を含む DNA 断片の位置をオートラジオグラフィで決定することができる。次にこれらの technique を応用した遺伝病の解析に話を移す。

遺伝病の解析には二つの手法がある。その一つは制限酵素マッピングを行って変異遺伝子を直接確認する方法である。要諦を家族性アミロイドニューロパチーの case で説明する (図 3)。正常と変異プレアルブミン遺伝子のアミノ酸配列30位が正常では Valine, 変異では Methionine に変換している。その塩基コードは各々 GTG, ATG であるから Guanine が Adenine に変異したために発症することになる。この変異に基づいて NsiI の制限酵素で分解すると正常ではプレアルブミン遺伝子を含む 6.4kb のバンドが得られるが、患者では塩基変換部位で分解され 1.4kb, 5.0kb の 2 本のバンドが形成される。このことから胎児 DNA 解析で 1.4kb, 5.0kb のバンドが認められれば患児と診断される。このように塩基の変異が同定されている遺伝

病の種類は今の所少なくその応用は限られている。そこで考えられるのが第 2 の連鎖解析で、DNA 多型を利用する手法である。この手法は病因遺伝子が単離されていない場合に利用できるもので遺伝病の診断に広範に応用できる可能性がある。ヒトの DNA 配列の中には遺伝子の機能に何ら影響を与えないが、ある制限酵素切断部位の長さに変異が見つかることがある。この変異は単純な Mendel の遺伝形式をとるのでこの制限酵素断片長の多型性から家族内における病因遺伝子と連鎖したマーカーとして使用することができる。DNA 多型を利用した連鎖解析法を図 4 に示す。病因遺伝子 A のプローブがなく、しかし近傍の M プローブは入手できたとする。M プローブにおける DNA 多型をみると正常遺伝子 N に連鎖した DNA 断片は 10kb であり、病因遺伝子 A では多型サイト出現のため 7kb の断片が得られたと仮定する。この case では保因者の遺伝子マップは二つの断片が現れ、正常では 10kb のみ、異常例では 7kb のみのパターンが得られることになる。

連鎖解析法と直接解析法を Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) の事例で示す<sup>2)</sup>。

DMD 遺伝子は X 染色体の短腕に座位し母親が保因者であれば生まれる男子の 50% は患児となる。DMD 遺伝子のプローブは単離されていなかったため近傍の OTC および 754 の DNA 領域を連鎖解析用のプローブとした (図 5)。この家系では 754 のプローブが連鎖解析に適正であった。すなわち図 6-1 のごとく 754 プローブを PstI で分解すると正常遺伝子は 12kb のパターンと連鎖しているのに対し病因遺伝子は 20kb と連鎖していることが判明した。すなわち遺伝子マップ

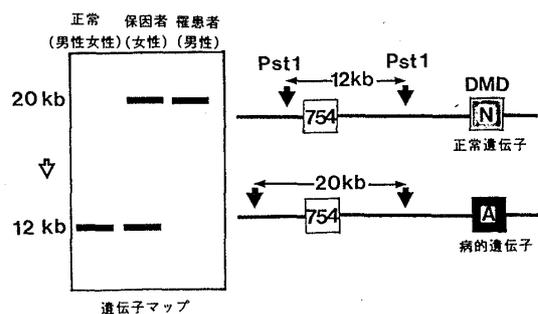


図 6-1 754プローブによる DMD 家系分析

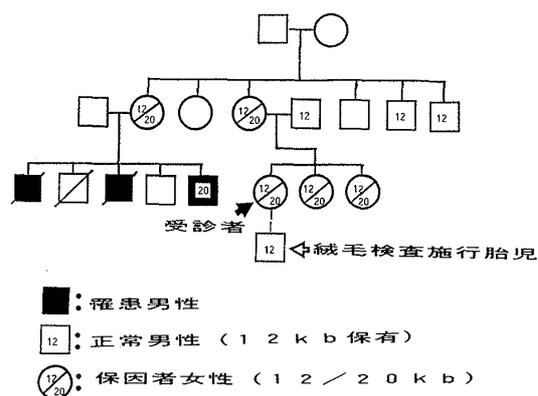


図 6-2

で正常人は12kb, 保因者女性は12kbと20kbの2本の断片,そして病的男子は20kbのみが見出されることになる。図6-2にこの家系分析と出生前診断の結果を示したが,胎児DNA解析では12kbのパターンが得られ正常男子と診断しその後分娩され健康に発育している。連鎖解析では充分に大きな家系分析から適切な連鎖関係を見出すことを必要とし時間がかかり時に複雑になる。この手法は分子構造の置換が検出できるプローブが用いられるまでの当座の解析法とみなされる。最近DMD遺伝子の一部を構成する14kbのcDNAのプローブが開発され直接解析が可能になった。図7はこのプローブを用いて診断したDMD家系である。発端者では17, 13, 5.5, 4.5kbのバンドが欠失することが明らかで,大きい家系分析は必要でなく正常,異常の診断は容易である。最近のDNA解析による遺伝病診断の進展をみるとその潜在的な能力は極めて大きいと言えよう。この手法を応用することにより出生前診断が革命的な転換期に入ったことは明白であり,今後より一層の発展が期待できる。

### VIII. おわりに

最後に出生前診断の問題点について触れる。まず出生前診断センターのネットワーク化の問題である。遺



図 7

伝病の診断手法も多様化しており,一センターでその全てを診断することは不可能である。そのためある特定の遺伝病診断のための十分な知識を得た検査施設が分散されるのもやむを得ない。診断を希望する家族にとって検査が可能か否かは切実な問題であり,あるセンターでできないという理由から放置されてしまうことは許されない。そこで施設間の相互のネットワークの編成・協力態勢が必要となってくる。このネットワーク化は早急に取り掛からねばならないだろう。次は出生前診断の本質に関わる問題である。出生前診断の臨床応用範囲の幅が広がることは間違いない。ここには数多くの危険を含んでいる。異常と診断された場合の中絶があまり厳格でなくなる傾向がありはしないかということである。病態がかなり軽症でも親があまりに完璧性を要求するが故に安易に中絶に走る恐れがあることが考えられる。このことは出生前診断従事者の一層の慎重性が要求されることとなる。もう一つの問題は遺伝病の予防の解決が出生前診断にあると誤解することである。遺伝病の予防という面からみれば出生前診断をして中絶という行為は単に次善の策に過ぎない。遺伝病の研究はその治療法の開発に向けてバランスよく進める必要がある。このような努力が将来出生前診断から胎児治療への大道を創設するものであり,その実現のための研究に微力を尽くしたいと思っている。

### 謝 辞

本講演の機会をお与え頂いた須川 信会長ならびに長年ご指導を賜りかつ座長の労をおとり頂いた神保利春教授に深甚の謝意を表します。またアンケート調査に当たりご協

力を頂いた国立小児病院・小児医療研究センター松井一郎部長に感謝申し上げるとともに各種診断にご協力を賜った研究協力者各位に厚くお礼申し上げます。

#### 文 献

1. 是沢光彦, 稲葉淳一, 岩崎寛和: 肝臓穿刺による胎児採血法. 日産婦誌, 39: 395, 1987.
2. 松本 正, 他: DNA多型(RFLP)を用いたDuchenne筋ジストロフィー症の保因者・出生前診断. 医学のあゆみ, 139: 349, 1986.
3. 鈴森 薫, 今泉克英, 八神喜昭: 羊水穿刺による遺伝性疾患の胎児診断: 13年間に行われた757症例の検討. 日新生児誌, 21: 564, 1985.
4. 角谷哲也, 他: 経腹壁胎児組織採取による出生前胎児染色体検査法. 日本人類遺伝学会誌, 16: 42, 1971.
5. 鈴森 薫: 妊娠初期絨毛採取による染色体分析. 周産期医学, 17: 1165, 1987.
6. Daffos, F., et al.: Prenatal diagnosis of congenital rubella. Lancet, 2: 1, 1984.
7. Daffos, F., Capella-Ravlovsky, M. and Forester, F.: Fetal blood sampling via the umbilical cord using a needle guided by ultrasound: Report of 66 cases. Prenat. Diag., 3: 271, 1983.
8. Golbus, M.S., et al.: Prenatal diagnosis of congenital ballous ichthyosiform erythroderma (epidermatolytic hyperkeratosis) by fetal skin biopsy. N. Eng. J. Med., 302: 93, 1980.
9. Hobbins, J.C. and Mahoney, M.J.: In utero diagnosis of hemoglobinopathies; technique for obtaining fetal blood. N. Eng. J. Med., 290: 1065, 1974.
10. Nadler, H.L.: Prenatal detection of genetic defects. J. Pediatr., 74: 132, 1969.
11. Schwartz, D.B., et al.: Fetoscope visualization in second-trimester pregnancies. Am. J. Obstet. Gynecol., 145: 51, 1983.
12. Steele, M.W. and Breg, W.R. Jr.: Chromosome analysis of human amniotic fluid cells. Lancet, 1: 383, 1966.
13. Sugawa, T., et al.: Genetic amniocentesis and follow-up study of the infants: A Japanese collaborative work. Asia-Oceania J. Obstet. Gynecol., 6: 55, 1980.
14. Valenti, C.: Endoamnioscope and fetal biopsy: A new technique. Am. J. Obstet. Gynecol., 114: 561, 1972.

#### Synopsis

Technical advances continue to expand the number of genetic disorders that can be diagnosed in utero. The current methods for prenatal diagnosis are as follows: Amniocentesis, fetoscopy, fetal blood sampling, biopsy of fetal skin, and chorionic villus sampling (CVS).

The method for growing fetal cells obtained by amniocentesis in short term culture and karyotyping has opened a new area to chromosomal anomalies. By using cultured amniotic fluid cells in larger numbers, it is also possible to diagnose many metabolic disorders.

Fetoscopy has been developed which permits the perinatologist to enter the uterus and obtain tissue sample or to actually view the fetus. However, it is very difficult to visualize the fetus directly through fetoscope. Only specific parts of the fetus can be readily identified, but a total examination of surface anatomy is rarely possible. Now ultrasonography with improved resolution can clearly define many major anatomical abnormalities without apparent risk. And also, fetal blood sampling and skin biopsy have been successfully performed under ultrasound guidance rather than under direct fetoscopic visualization.

Recently, the advent of fetal blood sampling has made it possible to diagnose genetic disorders which have hitherto been impossible to recognize in the fetus. The main applications are for the prenatal diagnosis of the fetal infection, coagulopathies, hemoglobulopathies, and muscular dystrophies.

Several severe genodermatoses result in early death or are associated with significant morbidity. Some of these disorders can be diagnosed in utero with skin biopsies. Harlequin Ichthyosis is a typical case. A positive prenatal diagnosis of Harlequin Ichthyosis was reported.

The major problem with these techniques is that they cannot be performed until the second trimester. The second trimester prenatal diagnoses mean that a woman has a long wait, and then already feels fetal movements. These situations cause a considerable degree of emotional trauma. There is clearly a need for an improved method. In the past few years, chorionic villus sampling (CVS) has been developed as an useful clinical procedure in first trimester. Simple techniques using a suction catheter or biopsy forceps directed through the uterine cervix have been developed. Transabdominal needle biopsy is also available. There are three major diagnostic uses of CVS; cytogenetic, biochemical, and fetal DNA analyses. Diagnosis of genetic diseases using DNA is a relatively recent advance. During the last few years it has been feasible to examine fetal DNA directly and to identify genetic diseases very precisely. It appears that prenatal diagnosis will be revolutionized by fetal DNA analysis.