

239 母体血による無侵襲的胎児DNA 診断法の開発 —第3報—

金沢医科大学, うきた病院*, SRL (株)**
高林晴夫, 桑原惣隆, 浮田俊彦*, 伊川和美*,
山藤 薫*, 羽重田さおり**

〔目的〕 前々回の本会において、我々は母体血から有核赤血球を高率(85%)に発見し、それらをmicromanipulatorを使い選択的に回収可能であることを報告した。また前回はそれら有核赤血球の多く(91%)が、胎児由来であることを報告した。今回は発見、回収された胎児有核赤血球からPCR法、FISH法によるsingle cell analysisによりどの程度DNA情報を得ることが可能であるか検討を行なった。〔方法〕 単離した男性胎児由来有核赤血球(20個)をDYZ1領域のprimerを用いPCRを行なった。同様に単離した胎児有核赤血球(17個)をTay-Sacks病 exon11領域のprimerを用いPCRを行なった。またPappenheim染色標本上に発見された胎児有核赤血球の前処理(脱色, RNase処理, pepsin処理)を条件を換えて行なった後、X, Y染色体に対する α -satellite DNA probeを用いたtwo color FISH及び21番染色体長腕のDNA probeを用いたFISHを行なった。〔成績〕 1.男性胎児由来の単離有核赤血球のDYZ1領域のPCRの結果、全てに有効な感度を得られた。2.単離した胎児有核赤血球のTay-Sacks病 exon11領域のPCRの結果、17個中9個に有効な感度を得られた。3.Pappenheim染色標本上の胎児有核赤血球を脱色、RNase処理、pepsin処理の後、X, Y染色体のtwo color FISH及び21番染色体のFISHを行なったところ、有効なsignalを得られた。〔結論〕 胎児有核赤血球のsingle cell analysis (PCR, FISH)により有用なDNA情報が得られるようになった。我々の開発した方法を用いれば、母体血よりnon-invasiveかつrisk-freeに多くの胎児DNA情報が得られることとなり、近い将来、本法の広範な臨床的応用、普及が見込まれる。

240 Fluorescence in situ hybridization (FISH)法の出生前診断への応用—微細な染色体 構造異常の検出

名古屋市大, 埼玉県立小児医療センター遺伝科*
種村光代, 川村真奈美, 岡田節男, 鈴木 薫,
八神喜昭, 福島義光*

〔目的〕 高精度分染法を用いても判定が困難な、絨毛細胞の微細な染色体構造異常に対し、Fluorescence in situ hybridization (FISH)法による染色体分析の、出生前診断法としての有用性について検討した。

〔方法〕 46, XX, ins (1;2)(p36; q22q23)という均衡型の微細な染色体異常を保有し、3回の自然流産歴を持つ34歳の妊婦より、同意を得て、妊娠11週4日、胎盤絨毛を採取した。絨毛細胞を培養した後、通常の方法により分裂中期の染色体標本作製した。次いで、2番染色体特異的 α サテライトプローブと、2番染色体の挿入部位に含まれるコスミドプローブcCI2-603を用い、ジゴキシゲニン-FITCによるFISH法にて蛍光顕微鏡下にシグナルを検出し、通常の染色体分析法による診断結果との比較を行った。

〔成績〕 従来の染色体分析法では、絨毛培養細胞の染色体標本は、観察細胞数も限られ判定が困難であったが、FISH法を導入した場合には、コスミドプローブcCI2-603のシグナルが、1本の2番染色体上と1番染色体上にそれぞれ明瞭に確認され、胎児は母親と同じ均衡型の挿入を持っていると診断し得た。

〔結論〕 均衡型の微細な染色体構造異常を保有する母親に対して、FISHを用いた絨毛培養細胞の染色体分析による出生前診断が有用であった。このような症例は自然流産を繰り返す場合が多く、出生前診断法としてのみではなく、流産の原因検索を目的とした流産絨毛の解析にも応用しうることを明らかにした。