

P-910 母体血漿中の胎児由来 DNA の存在頻度：断片長による相違

鹿兒島大

池田敏郎, 三谷 穰, 半垣由美子, 永田行博

【目的】胎児由来の free DNA が母体血漿中に存在することが報告され我々の検討でも間違いのない事実である。今回我々は、母体血漿中の DNase により胎児 DNA は分解されていくため、短い断片長の DNA がより多く存在するという仮説を立て検討を行った。【方法】男児を妊娠している30～39週の妊婦血漿(9名)を検体とし、QIAGEN 社の QIAamp DNA Blood kit を用いて DNA を抽出した。定量 PCR 装置は Roche 社の LightCycler を用いた。母体由来 DNA 量を推定するために beta-globin (アンプリコンサイズ110bp および196bp: SYBR Green 法)をターゲットとしたプライマーを作成した。胎児由来 DNA 量を推定するために Y 染色体上に1 copy のみ存在する SRY (アンプリコンサイズ114bp および186bp: Probe hybridization 法)をターゲットにプライマーおよびプローブを独自に作成した。この4領域を検討することによって、110bp 前後と190bp 前後で DNA copy 数および胎児由来 DNA の存在割合を検討した。【成績】母体血漿中に存在する beta-globin に対する SRY の頻度は114bp で19.6%, 186bp で9.8%であった。また beta-globin 全体でも110bp が196bp に対し1.5倍多く検出された。【結論】今回の検討では、短い断片長の DNA がより多く存在している可能性が、示唆された。今後、母体血漿中の胎児由来 DNA を用いた出生前遺伝子診断が行われていくと思われるが、できる限り短いアンプリコンサイズで PCR プライマーを作成した方が感度、特異度の面で有利となる可能性がある。

P-911 妊娠中毒症、胎児発育不全における母体血漿中胎児 DNA 濃度昭和大学¹, 昭和大藤が丘病院²杉籐祐美¹, 関沢明彦¹, 岩崎万里子¹, 神保正利¹, 齋藤 裕², 岡井 崇¹

【目的】妊婦血漿中には胎児由来 DNA が循環しているが、その濃度の妊娠中毒症(PE)や胎児発育不全(FGR)における変化についての詳細は報告されていない。そこで今回、PE、FGR における母体血漿中の胎児由来 DNA 量の変化を明らかにする目的で検討を行った。【方法】当院倫理委員会承認と患者同意とを得、妊婦(男児妊娠)より末梢血を採取し血漿分離後、凍結保存した。PE 群: 9例(median: 35週, range: 29-36), FGR 群 9 例(33週, 30-35)及び正常群20例(34.5週, 29-36)を対象とし血漿1.5 ml より DNA を抽出し、胎児 DNA 量は Y 染色体特異的な DYS14 遺伝子の DNA 量を、総 DNA 量は b-globin の DNA を LightCycler で定量的に分析した。統計解析は、妊娠週数の影響を除くため Multiple of Median に変換し、Kolmogorov-Smirnov test で正規分布していることを確認し、ANOVA and Bonferroni's post hoc test にて群間の比較を行った。【成績】母体血漿中胎児 DNA 濃度は PE、FGR、正常群でそれぞれ median 486(183-1060), 141(range: 37-482), 191(47-462) genome-equivalents/ml(GE)であり、PE 群の胎児 DNA 量は正常群の2.12倍増加しており、FGR、正常群に比し、有意に高濃度であった($p<0.001$)。総 DNA 濃度もそれぞれ2590(1731-20472), 2088(398-14,146), 1208(215-6480) GE であり、PE 群が他群に比し、有意に高濃度であった($p<0.05$)。【結論】PE における胎児 DNA 量の増加は、母児境界にあたる絨毛の細胞傷害などに起因していると考えられる。総 DNA 量の増加は、PE で起こる血管内皮障害が関与している可能性がある。FGR で胎児 DNA 量に変化がみられなかったことから、PE と PE を合併しない FGR では胎盤の絨毛障害の点で異なると考えられた。

★P-912 臍帯血中に存在する母体由来 DNA に関する検討

長崎大

三浦生子, 増崎英明, 三浦清徳, 中山大介, 石丸忠之

【目的】最近、米国のグループが複数の DNA 多型マーカーを用いて、臍帯血中に母体 DNA が存在することを報告した。しかし、DNA 多型マーカーの多型頻度は人種間で異なるため、日本人での有用性は不明である。今回、彼らが用いた DNA 多型マーカーセットの日本人における有用性を検討した。【方法】当科で正常児を分娩した母児38症例を対象とした。十分なインフォームドコンセントを得て、分娩直後の臍帯血および産後一ヶ月の母体血より DNA を抽出し、これらを一組とした。米国のグループと同じ多型マーカーセット(D21S11, D21S1411, D21S1412, D18S386, D18S535, MBP-A, MBP-B, D13S631, D13S634)を用いて、ABI377オートシーケンサーで遺伝子型を決定し、各組の臍帯血と母体血の遺伝子型を比較した。【成績】米国の報告では、臍帯血 DNA および母体血 DNA とで共有していないアレルを100%の症例で検出できた。しかし、今回の日本人を対象とした検討で、共有していないアレルを検出できたのは70%(23/38)であった。また、実際に共有していない母体由来のアレルを臍帯血中で検出できたのは、米国の報告が75%であったのに対し13%(3/23)にすぎなかった。【結論】臍帯血中に母体由来の DNA が存在することを確認した。しかし、その検出頻度に関しては米国の報告と大きな相違を認めた。また、日本人で臍帯血 DNA および母体血 DNA とで共有していないアレルを検出するためには、米国のグループが使用した多型マーカーセットとは異なる、新たなマーカーセットを検討する必要がある。