

P3-20 クラインフェルター症候群夫婦に対する遺伝カウンセリングについて先端医学研究所発生生殖部門¹, 兵庫医大², 京都大医学研究科³霞 弘之¹, 中西健太郎², 福岡 実³, 原田佳世子², 武信尚史², 堀内 功², 田中宏幸², 澤井英明³, 小森慎二², 香山浩二²

以前ならば生児を獲得することが困難であった夫婦が ART を施行することによって生児を得ることが可能となってきた。今では、体外受精児及び ICSI 児の占める割合は全出生数の内約 1.5% になっており、実に 61 人に 1 人の割合となる。不妊の 5 割近くは男性因子が原因と言われている。夫がクラインフェルター症候群である場合は、一般に 3 割から 5 割が無精子症であり、妊娠を諦めるか他の donor による AID の選択しかない。それ以外の 5 割から 7 割は自然妊娠の期待できない重症乏精子症を示すと言われている。今回患者は、TESE 後に精子が認められ、精子を凍結保存した後に産婦人科を受診した 20 代の夫婦である。日本不妊学会（日本生殖医学会）の会告に従い遺伝カウンセリングを行なった。夫婦は妊娠を決断した。ICSI を施行し双胎妊娠が成立した。妊娠成立後出生前診療外来にて再度遺伝カウンセリングを行なった。夫婦は、羊水検査の施行を希望しなかった。双胎妊娠であり経膈分娩にて二人の成児を得たので夫婦と共にいった遺伝カウンセリングを中心に報告する。

P3-21 着床前診断を施行した筋硬直性ジストロフィーの 2 症例

名古屋市立大

佐藤 剛, 服部幸雄, 杉浦真弓

筋硬直性ジストロフィーは、筋強直症候群の 1 つであり、本邦の有病率は人口 10 万人当たり 5 人程度で成人では最も頻度の高い筋ジストロフィー症である。遺伝形式は常染色体優性で、19 番染色体に myotonin protein kinase 遺伝子 (DMPK) が存在し、その 3' 非翻訳領域の CTG 配列のリピート回数の過剰な増加が本疾患の原因である。表現促進現象を有し、軽症の母親から重症な先天型の罹患児が生まれることも稀ではなく、欧米では着床前診断 (PGD) の対象として 1990 年代前半よりその報告がある。我々は、日本産科婦人科学会より 2 組の夫婦に対する本症の PGD 施行の認可を受けており、これまで 5 周期の PGD を施行したため、その経過について報告する。当施設での、PGD のプロトコールは以下の通りである。ICSI 後 3 日目に胚生検を行い、得られた割球に対し CTG リピート領域を標的とした nested PCR を施行。PCR 産物の fragment 解析を行い、両親の正常リピート数の allele を 1 つずつ有する割球が生検された胚を非罹患胚と診断し、ICSI 後 5 日目に子宮内に移植した。【症例 1】妻が罹患患者。本症先天型の兄の死産歴あり。他施設での遺伝カウンセリングの後、着床前診断を希望し当施設受診。4 周期の PGD を施行、計 39 個の胚で解析を行い、35 胚 (90%) で診断可能、15 胚 (43%) が非罹患胚と診断された。3 周期において計 8 個の胚を移植し、1 周期で児心拍が陽性となるも妊娠継続には至らなかった。【症例 2】妻が罹患患者。本症先天型の兄の出産歴あり。他施設での遺伝カウンセリングの後、着床前診断を希望し当施設受診。1 周期の PGD を施行、8 個の卵子を回収、2 胚で解析を行うもいずれも罹患胚の診断で、胚移植には至らなかった。

P3-22 Allelic discrimination real time PCR 法による着床前診断における heterozygote carrier 細胞の不安定性とその対応慶應大¹, 川崎市立川崎病院², けいゆう病院³, 埼玉社会保険病院⁴, 済生会横浜市東部病院⁵, 国家公務員共済組合連合会立川病院⁶佐藤 卓¹, 末岡 浩¹, 櫻井友義¹, 村越行高², 渡邊広是³, 田島博人⁴, 中林 章⁵, 大澤淑子⁶, 橋場剛士¹, 浅田弘法¹, 青木大輔¹, 吉村泰典¹

【目的】着床前遺伝子診断 (PGD) の基本技術には nested PCR 法であり、対象遺伝子の増幅後、シーケンシングを行う。Allelic discrimination real time PCR 法 (Taqman PCR 法) は、迅速かつ点変異の識別が可能であり、PGD に有効性が高いが、1st PCR の条件設定により carrier 1 cell 由来遺伝子を Wild Type あるいは Mutation と診断する事象を経験している。安定した診断系を構築することを目的とした。【方法】Duchenne 型筋ジストロフィーの変異遺伝子型で、1) exon 69 内の一塩基欠失型と 2) exon 11 内の一塩基挿入型を対象とする PGD の予備検査を行った。1) の 1st PCR の Taq ポリメラーゼに AmpliTaq Gold を用い、denaturing は 95℃・9 分に設定した。2nd PCR に Taqman 法を用い、蛍光強度を測定した。2) の 1st PCR の Taq ポリメラーゼに Platinum Taq DNA polymerase を使用し、denaturing は 94℃・2 分に設定した。追試として 2) の denaturing を 94℃・4 分、97℃・2 分、非特異的増幅の防止をねらい DMSO 添付の上 94℃・2 分に設定した 3 群について、carrier 1 cell 由来遺伝子の蛍光強度を測定した。【成績】1) において、carrier 1 cell 由来遺伝子の正診率は 87.5% であった。2) において、carrier 1 cell 由来遺伝子の正診率は 45.4% であったが、追試の 3 群のいずれにおいても、正診率は 87.5% であった。【結論】TaqMan 法による PGD の実施において、Taq ポリメラーゼおよび denaturing の条件設定の変更によって、carrier 1 cell 由来遺伝子の正診率の改善を認めた。実際の PGD は、2 割球生検の診断が一致したものを胚移植するため、診断を誤る確率を下げる事が出来るが、対象が優性遺伝病である際には一層の注意を要し、現時点ではシーケンシングによる確認が必須であるといえる。