Japan Society of Obstetrics and Gynecology

日本産科婦人科学会雑誌　27巻6号　464～468頁　1975年（昭50）6月

臍帯による性染色体異常スクリーニングの試み

Studies on the Screening Method of the Sex Chromosomal Abnormalities by Umbilical Smears

新潟大学医学部産科婦人科学教室（主任：竹内正七教授）
大野　剛　Takeshi OHNO　高内則男　Norio TAKAUCHI
本多達雄　Tatsuo HONDA

概要　性染色体異常は染色体検査により出生直後でも診断可能であるが，新生児期には臨床症状が少なく大部分は臨床症状のあらわれる思春期以後になつてようやく診断される．これを新生児期に発見するためには，新生児すべてに対しスクリーニングを行なうことが必要である．著者らは分娩時に得られる臍帯を用いて新生児の性染色体異常をスクリーニングする方法を検討し，実用的であることを確かめたのでここに報告する．

1．スクリーニング方法の概略は，臍帯の塗抹標本を2枚作製し固定染色後，性染色質検査によりX染色体数を，F小体（fluorescent body）検査によりY染色体数を算定することにある．

2．この検査においては塗抹標本の作製が最もむずかしかつたが，臍帯の粘液質の除去と塗抹方法につき検討し，臍帯上皮の組織片の塗抹を可能にした．

3．臍帯の細胞は口腔粘膜細胞にくらべ大きく性染色質およびF小体観察が容易であり，細菌混入の少ないことも判定を容易としており，陽性頻度も高い．

4．検体採取，検査方法，判定のいずれも容易であり，大量スクリーニング方法として実用的な方法といえる．

5．当教室で出産した482例につきスクリーニングを試みたが，性染色体異常症例は発見されなかつた．

緒　言

性染色体異常は先天異常のうちでも治療の困難な疾患の一つである．その発生頻度が比較的高いにもかかわらず治療は勿論のこと早期発見にもあまり努力がはらわれていない．根本的な治療は困難としても生活指導や対症的治療のためにもその発見は早いにこしたことはない．性染色体異常の診断は出生直後より可能であるが，乳幼児期には臨床症状を示さないため発見がむずかしく大部分は思春期以後になつてようやく発見される．本来ならば性染色体異常は新生児期に発見されるべきと考えるが，そのためには新生児に対しスクリーニングを行うことが望ましい．

著者らはX染色体異常およびY染色体異常の発見を目的とし，しかも簡便で大量スクリーニング可能な方法として，分娩時の臍帯を用いた方法を検討した．

実験方法

1．スクリーニング方法の検討

分娩時の臍帯の一部を材料とし，性染色質(sex chromatin) およびF小体 (fluorescent body) の有無から性染色体構成を推定し，性染色体異常をスクリーニングする方法の確立をはかるべく，次の項目について検討した．

1）臍帯よりの塗抹標本の作製について
2）塗抹標本作製時期の検討
3）固定染色法
4）判定方法

2．スクリーニングの試み

すでに診断の確定した性染色体異常例につき本検査法が実用的であること確かめ，当教室で出産した482例のスクリーニングを行なつた．

NII-Electronic Library Service

Japan Society of Obstetrics and Gynecology

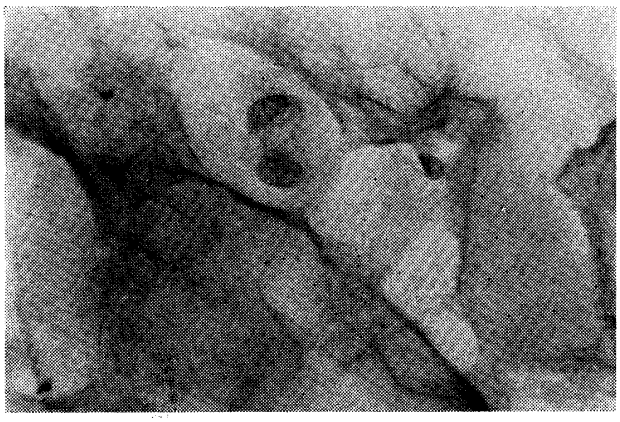
結　果

1．スクリーニング方法の検討

1）臍帯よりの塗抹標本の作製

臍帯に付着する粘液様物質は検査に必要な十分な細胞の塗抹を困難にしているが（写真1），その

写真1　臍帯の塗抹標本（主として粘液質）1％ cresyl echt viole 染色



除去はガーゼまたは上質紙で軽く拭くことで十分可能であつた．臍帯切断面は血液流出や粘液質のため塗抹に適当ではなく，臍帯周囲の臍帯上皮部分が塗抹に適すると考えられた．しかしこの部分をスライドガラスに押しつけ塗抹しても十分な細胞数を得ることは困難であつた．そこで単に塗抹する方法をあきらめ，逆にスライドガラスの切断面の鋭い角を利用し，この部分を刃物代りに臍帯表面を軽くこすりけずりとるように試みると，多数の細胞塊をけずりとることができた（写真2）．これを鑷子などでスライドガラス面に広く塗抹す

写真2　スライドガラスによる臍帯表面の擦過

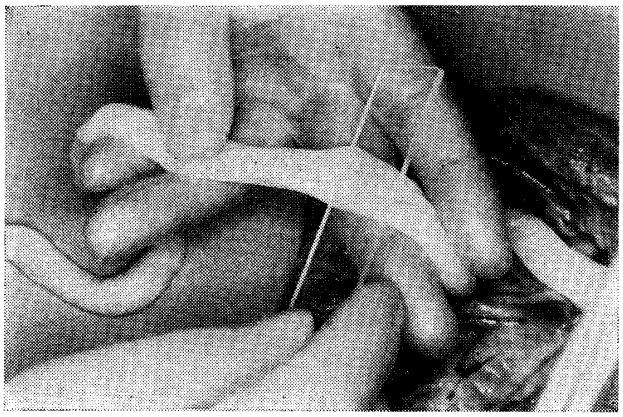


写真3　スライドガラスへの塗抹

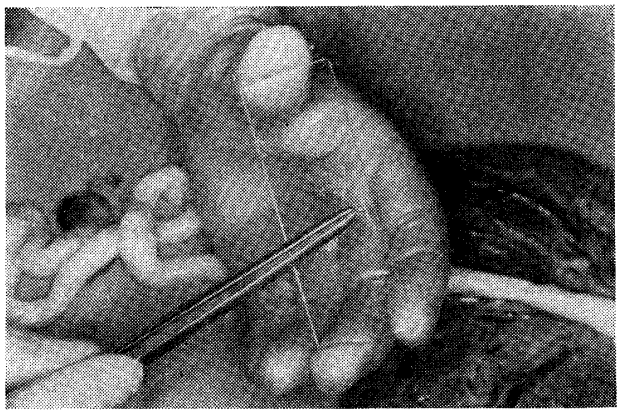
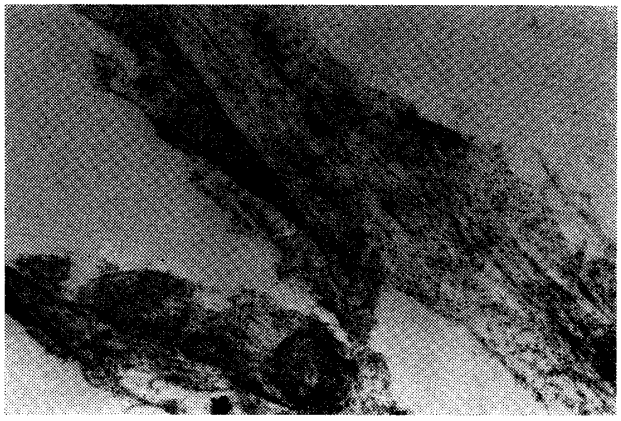


写真4　臍帯上皮組織片の塗抹標本（1％ cresyl echt violet 染色）



ることにより（写真3）細胞数の多いきれいな塗抹標本を作ることができた（写真4）．すなわち，これらは細胞のみでなく，臍帯上皮が組織片として膜状に塗抹されており，細胞変形の少ない検査に適した標本といえる．

2）塗抹標本作製時期の検討

新鮮な標本を人ちがいせずに得るためにも分娩時または分娩直後に塗抹標本を作製するのが理想的であるが，本法によりこのいずれの場合でも標本作製が可能であつた．すなわち検査に必要な道具はスライドガラス，ガーゼ，鑷子であり，スライドガラス以外は分娩セットに入つており，特別に準備する必要はなく，時間も1分もあれば十分である．無菌的操作を必要としないため，分娩終了後胎児付属物の計測を行なう時が最も採取しやすいと考える．また，分娩時に臍帯の一部（約5cm）を保存しておき，検査室で標本を作製するこ

NII-Electronic Library Service

Japan Society of Obstetrics and Gynecology

とも可能であり，この場合には標本ムラが少ない．

生食水に入れ冷蔵庫保存した場合7日間保存したものでも検査は十分可能であるが，5日目位から細胞変性や細菌増殖が多くなり，性染色質陽性頻度も低下する．室温保存や空気中にさらしておいたものでも数日間は検査可能であつた．

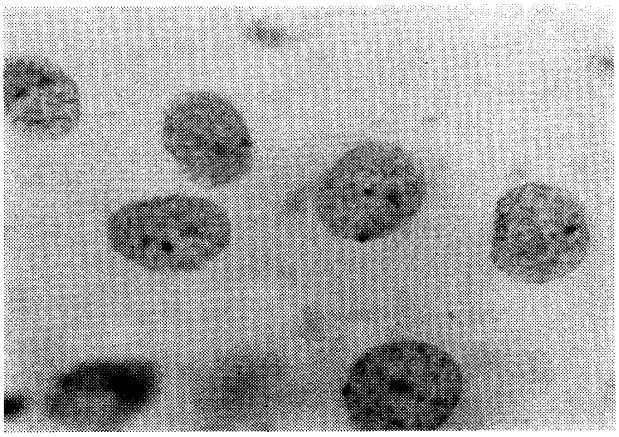
3）固定染色方法

性染色質，F小体に共通した固定法を検討したが95％エタノールまたはメタノールで十分でありエタノール・エーテル液やカルノア液も大差なく使用できた．固定時間も1時間～数日間位までと時間的制限も少なく使用し得た．

またスプレー式の cytospray は高価ではあるが，短時間に乾燥し標本整理には便利であり染色性も良好であつた．cytospray はとくに遠方からの標本輸送も可能であり，検査センターにおける大量スクリーニングも可能といえる．

性染色質標本の染色は，著者らが従来用いていた1％クレシールエヒトバイオレット染色によつたが，口腔粘膜の場合に劣らず鮮明な性染色質を検出することができた（写真5）．ヘマトキシリン

写真5　臍帯上皮の性染色質（1％ cresyl echt violet 染色）



エオジン染色やパパニコロー染色は簡便さ，鮮明度ともクレシールエヒトバイオレットに劣つた．

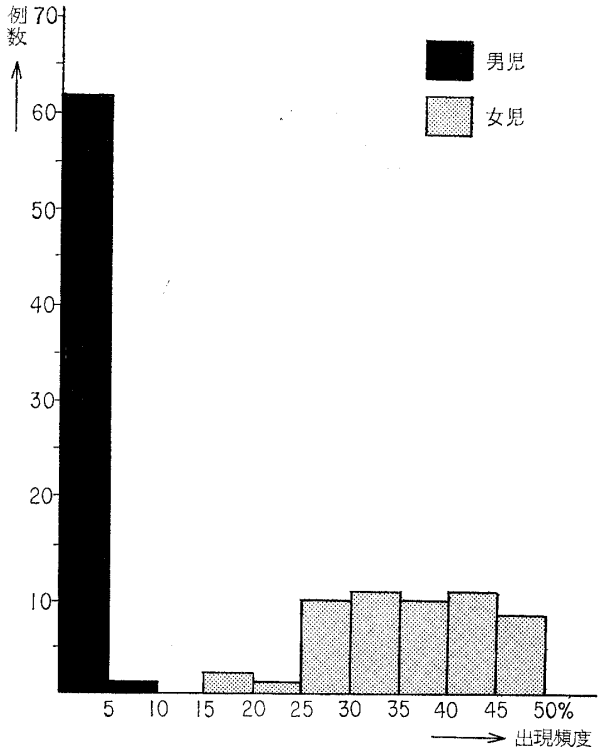
F小体標本の染色は，著者らが従来用いていた Greensher（1971）の方法にしたがつたが，明瞭なF小体を検出することができ，特別の工夫を必要としなかつた（写真6）．

写真6　臍帯上皮のF小体（キナクリン螢光染色）

4）判定方法

buccal smear を対照とした正常新生児 120例における臍帯の性染色質出現頻度は女児で25～50％，男児で5％以下であり（図1），口腔粘膜の出現頻度より男女差は著明で判定は容易であつた．すなわち5％以下はX，25％以上はXX（性染色質1個の場合），5～25％は再検，を判定基準とした．

図1　性染色質の出現頻度（臍帯上皮）120例



NII-Electronic Library Service

Japan Society of Obstetrics and Gynecology

F小体の判定も性染色質の場合同様に出現頻度を求めることが望ましいが，現在のところ顕微鏡の性能や螢光時間の関係で困難なため，観察し得た細胞中に明らかなF小体を認めたものを陽性とした．その出現頻度については目下検討中である．

性染色質およびF小体いずれの場合も細胞が口腔粘膜細胞に比して大きく性染色質，F小体とも明瞭で判定容易であり，さらに細菌混入のないことが判定上非常に有利である．

2．スクリーニングの試み

すでに染色体検査により診断の確定しているターナー症候群（45—×）の2例（18歳と14歳）について buccal smear ではあるが模擬的にスクリーニングを試みたところ，性染色質は陰性でX，F小体も陰性でY染色体（—）と判定され染色体構成は45—Xと推定された．したがつて本スクリーニング方法により性染色体異常の発見は可能であるといえる．

次に当教室において分娩した 482例についてスクリーニングを試みたが，性染色質・F小体・外性器の各所見よりチェックされた症例は4例であつた（表1）．これらに対し再検査，染色体検査，

表1　性染色体異常を疑われた症例（482例中）

症例	性	性染色質	F-body	染色体	備　考
1	♂	—	—	46-XY	Fbody 螢光しない
2	♂	—	—	46-XY	
3	♂	+	+		性染色質標本のとりちがい
4	♀	—	—		

標本の再判定を行なつたところ，No. 3およびNo. 4は性染色質標本の番号ちがい（スライドガラスと番号の不一致）とわかり，あとの2例はF小体の検査不足であり，出現頻度を求める方法をとれば十分ふせげたものと思われた．以上の 482例中には性染色体異常例は発見できなかつた．

考　案

性染色体異常の臨床症状の主なものは，発育異常（とくに長身や短身），形態異常，無月経や不妊，精神知能異常などで，大部分は思春期以降に著明となる．したがつて臨床症状のない新生児で性染色体異常を発見しようとすれば，新生児全例に染色体検査が必要となるが，現実には困難である．そこでこれにかわる簡単なスクリーニング方法が望まれる．ところで，性染色質（sex chromatin）を検査することにより Lyon の仮説よりX染色体数が推定でき（Lyon, 1961），またF小体（fluorescent body）よりY染色体数が推定できる（George, 1970；Greensher, 1971）．したがつて性染色質およびF小体を検査することにより性染色体構成を推定でき，性染色体異常をスクリーニングできる．

性染色質およびF小体検査には通常口腔粘膜細胞（buccal smear）が用いられるが，新生児の場合には分娩時の胎児付属物や臍帯血も検体となり得る．事実 Pantelakis（1970）の羊膜，Greensher（1970）の Whalton 膠様質を用いた報告がある．著者らも分娩時の臍帯を検体としてスクリーニングを試みたが，buccal smear にくらべ多くの利点が考えられた．すなわち，1）新生児に感染症や外傷をおこす心配がなく，2）細菌混入による誤診を防ぎ，3）流早産胎児は勿診 buccal smear をとりにくい異常児でも検体を確実に入手でき，さらに検討した結果，4）細胞が大型で判定しやすく，5）性染色質出現頻度の男女差が著るしく判定に迷う例が少ない，など非常に実用的である．

性染色体異常の発生頻度は先天代謝異常などにくらべ高頻度であり，文献的に概算すると約0.27％（新生児 370名に1名）と推定され，スクリーニングを行なう意義は大きいと考える（表2）．

スクリーニングを行なうに際しては，その方法が1）検体を容易に確実に入手できる，2）検査方法が簡単，安価である，3）判定が容易で確実である，4）スクリーニングされた症例の確定診断が可能である，などの条件を満足しなければならぬが，著者らの方法は，1）臍帯は分娩時に容易に確実に入手でき，2）検査は簡単で安価，3）判定も容易（F小体に関しては若干の検討を必要

NII-Electronic Library Service

Japan Society of Obstetrics and Gynecology

表2 主な性染色体異常の発生頻度

性染色体異常	報告者	出現頻度
XYY	Brown (1968)	5/3496-M (0.14%)
	Sergovich (1969)	4/1066-M (0.38%)
	Lubo & Ruddle (1970)	3/2222-M (0.14%)
	平均	12/6784 (0.14%)
XXY	Pantelakis (1970)	8/10412 (0.15%)
XXX	Pantelakis (1970)	3/5030-F (0.06%)
Turner	Pantelakis (1970)	2/5030-F (0.04%)
平均		1/370 (0.27%)

と考えるが)，4) 染色体検査で確定診断可能と，条件に合つていると考える．本方法の確立上問題となつた点は臍帯の塗抹標本作製法であつたが，前述の如く，粘液質を十分に除去することとスライドガラスの切断角をナイフがわりに用いて臍帯上皮の組織片を採取することで解決しえた．さらにつけくわえるなら，臍帯上皮のごく表面の壊死細胞のみを集めることなく，その下の変性の少ない細胞群を組織片として得るように注意すると良い標本ができる．

スクリーニングの意味からすれば，先天代謝異常におけるスクリーニング同様，検査センターにおける一括スクリーニングが望まれるが，本方法は固定に cytospray を用いることでそれを可能にし得る．

結語

著者らは分娩時の臍帯スメアを用いて性染質とF小体を検査し性染色体異常を発見するスクリーニング方法を検討し，実用的であることを明らかにし，現在までのスクリーニング結果を報告した．

終りにあたり，御指導御校閲いただきました竹内正七教授に深謝いたします．

文献

George, K.P. (1970): Nature, 226, 80.
Greensher, A., Gersh, R., Peakman, D. and Robinson, A. (1971): J. Pediat., 79, 2, 305.
Lyon, M.F. (1961): Nature, 190, 372.
Pantelakis, S.N., Chryssostomidon, O.M., Alexiou, D., Valaes, T. and Doxiadis, S.A. (1970): Arch. Dis. Child, 45, 87.

(No. 2891 昭50・3・12受付)

NII-Electronic Library Service