

着床前胚染色体異数体検査における胚診断指針

はじめに

着床前胚染色体異数性検査(preimplantation genetic testing for aneuploidy; PGT-A)は、生殖医療技術およびゲノム解析技術の著しい進歩によって可能となった医療技術である。この技術は不妊症および不育症を克服するための治療において、必要に応じて選択的に用いられる補助医療技術の1つであり、世界的に広く応用されている技術である。

日本産科婦人科学会の特別臨床研究により PGT-A の臨床的有用性を検討した結果、流産率を改善させることが明らかになっている。しかしながら、PGT-A は染色体異常のない胚を確認する技術であり、胚の選別に用いられることから、単に医療技術の側面だけではなく、生命倫理の側面にも配慮した高い規律性と倫理観をもった技術の運用が求められる。そのため PGT-A の特性を十分理解し、倫理面にも配慮した上で適切に実施することが可能となるような胚診断の指針が必要である。

この観点から、日本産科婦人科学会は、「不妊症および不育症を対象とした着床前遺伝学的検査に関する見解」、「不妊症および不育症を対象とした着床前胚染色体異数性検査(PGT-A)に関する細則」、「不妊症および不育症を対象とした着床前胚染色体異数性検査(PGT-A)に関する細則」を公表し、PGT-A の医療への応用に際して適切な方向性を示した。

そこで、日本産科婦人科学会倫理委員会は、見解および細則に基づいて、胚診断指針を作成した。本指針は、日本産科婦人科学会指導のもと、適切な胚診断を行うことにより、本邦での PGT-A の実施に際して統一的な運用ができることを目指したものであり、PGT-A を実施する際には、本指針を遵守することを求めるものである。

なお、PGT-A に関する研究の発展や使用する器機・試薬等の進歩により、この指針は適宜見直されるものである。

1. データの見方

PGT-A は胚(受精卵)の異数性の有無を明らかにする目的で行われるが、日本産科婦人科学会による特別臨床研究において、マイクロアレイもしくはショートリードの次世代シーケンサーによる低カバレッジシーケンスにより得られたデータでは、各技術間で精度の差は認められなかった。そのため、いずれかの技術により得られる染色体のコピー数の最終評価は、基本的に同じ解釈方法で行う。

各解析機器によるアルゴリズムで得られた正倍数性すなわち 2 コピーの値が決定され、その値と比較することにより 3 コピー(トリソミー)以上や 1 コピー(モノソミー)以下と判定された染色体や染色体領域があれば異数性と定義する。

2. 判定基準

判定 A: すべての常染色体が正倍数性である胚

判定 B: すべての常染色体が正倍数性であるとも異数性であるとも言えない胚(多くは常染色体の異数性あるいは構造異常を有する細胞と常染色体が正倍数性細胞とのモザイクである胚を指すが、アーチファクトと区別できない場合も含まれる)

判定 C: 常染色体の異数性もしくは構造異常を有する胚

判定 D: 解析結果の判定が不能な胚

これらは、あくまで、移植の可否を考えるにあたり参考にするための判定であり、実際に胚を移植するかしないかに関しては、患者とそのパートナー(以下、カップル)と担当医師との話し合いの中で、カップルが自律的に意思決定する。

3. 常染色体異数性

3-1)C 判定とされる非モザイク型の常染色体異数体(トリソミーやモノソミー)は、妊娠の不

成立や流産の可能性が高い。

3-2)一部の常染色体トリソミー(13番、18番、21番)に関しては、妊娠が成立・継続し、出産まで生存する可能性がある。

4. 常染色体構造異常

4-1)C 判定とされるコピー数の異常を伴う非モザイク型の常染色体構造異常(部分トリソミー、部分モノソミー)は、妊娠の不成立や流産の可能性が高い。

4-2)C 判定とされるものの、一部のコピー数の異常を伴う非モザイク型の常染色体構造異常は妊娠が成立・継続し、出産まで生存する可能性があるため、遺伝カウンセリングにおいて、その表現型を説明することが求められる。

4-3)同じカップルの胚から共通した領域の構造異常が繰り返し認められる場合(正常多型を除く)は、カップルのいずれかに均衡型構造異常(転座、逆位)が存在することが多い。とくに末端部の部分トリソミーと部分モノソミーとが共存する場合は、可能性が高い。その場合は、カップルの G 分染法による染色体検査を行うことが望ましい。カップルのいずれかに均衡型構造異常(転座、逆位)が検出された場合は、血縁者への影響もあり、遺伝カウンセリングの対象となる。

5. 性染色体

性染色体に異常がない場合には性染色体に関する情報の開示は行わないこととする。性染色体の異数性や構造異常が認められる場合においても、常染色体に異数性がみとめられなければ A 判定として報告される。ただし、ただし、そのような胚では、全ての染色体に異常を認めない胚に比べ妊娠の不成立や流産の可能性が高い場合や出生後に産に至った場合表現型を伴う可能性がある。その際、カップルには遺伝カウンセリングとしてカップルに性染色体の結果の解釈と予想される表現型を説明する必要があることが求められる。その情報提供の過程において性染色体異常の結果データ開示は、遺伝カウンセリング上必要と判断されるが場合にのみ開示が許容される。

6. モザイク

胚盤胞から 5 細胞をバイオプシーした場合に、そのうち 1 個の細胞にだけ染色体異数性があれば、20%の異数性モザイクとされるため、異数性モザイクは理論的には 20%から 80%の間に収まる。そのため、染色体コピー数変化がトリソミーやモノソミーとされる変化の概ね 20%未満のものは報告しない。部分トリソミーや部分モノソミー等の構造異常に起因する異数体に関しても同じ扱いとする。

B 判定の多くは、このような正倍数性細胞と異数性細胞が混在しているモザイク胚である。モザイク胚は、移植あたりの妊娠率が低く、流産率が高いとされているが、生児が得られる場合もある。しかしながら、モザイクと判定された胚の中にも低頻度モザイクから高頻度モザイクまでモザイク率は様々であり、モザイク変化が単一染色体のみに認められるものから、複数の染色体に認められるものまで多様であることから、それらの胚の移植後の予後予測は容易ではない。カップルに対してそのような情報提供を行った上で、移植を実施するかどうか、カップルが自律的に意思決定する。モザイク胚を移植すると、妊娠の不成立、流産の可能性もあるが、妊娠が継続した場合、混在した異数体細胞は淘汰によりその割合が生検時よりも減少している。結果として染色体異常がなく出生することが十分に期待できるが、モザイク型染色体異常を持った状態で出生し、モザイク頻度によっては表現型を伴う可能性もありうることを必ず伝えておく必要がある。胎盤だけに異数性細胞が残る場合もある。

2022年2月1日 日本産科婦人科学会倫理委員会承認

※倫理委員会は 2022年6月25日に臨床倫理監理委員会へと名称変更となりました

胚診断の指針 Q&A

1. PGT-A の結果は正しく胚の状態を反映しているのでしょうか？

PGT-A で診断する異数性は、主に精子や卵子を産生する減数分裂由来、すなわち受精した1細胞の受精卵由来の染色体異数性であり、その多くは女性の加齢依存性に頻度が増える異数性です。一方で、減数分裂由来の異数性に比べると頻度は低いですが、初期胚の体細胞分裂で発生する異数性があり、正倍数性細胞と異数性細胞のモザイクとして存在し、加齢非依存性とされています。

胚盤胞生検においては栄養外胚葉細胞を採取しますが、栄養外胚葉細胞は主に胎盤に分化する細胞であり、胎児に分化する内細胞塊とは異なる細胞系列です。PGT-A においては生検で採取した栄養外胚葉細胞の染色体データで、生検せずに残っている胎児側の染色体のデータを予測しています。減数分裂由来の異数性に関しては、栄養外胚葉細胞と内細胞塊とで一致するはずであり、PGT-A で100%に近い診断精度があると予想されます。一方で、体細胞分裂由来の異数性の場合、モザイク頻度が栄養外胚葉細胞と内細胞塊とで異なる場合があります。モザイク異数性においては胎児になる内細胞塊では異数性細胞が淘汰されやすく、栄養外胚葉細胞は淘汰を受けにくいので、生検細胞で見られたモザイク異数性が胎児側では見られないことはよく起こります。まれに逆の場合もあります。

2. PGT-A におけるモザイク胚の検査精度はどの程度ですか？

PGT-A において胚盤胞生検をおこなう5日胚が約100細胞からなり、そこからランダムに5細胞を採取して診断すると仮定してください。仮にモザイク率50%の場合であっても、5細胞生検では計算上3%の確率で見落とすこととなります。モザイク率20%の場合は33%で見落とします。採取する栄養外胚葉細胞の位置によってモザイク率のデータが異なることもよく見られます。そういう意味では、診断精度がさほど高くない不確実なデータから胚全体のモザイク率を推測せざるを得ないものであると考えておく必要があります。

3. モザイク異数性の移植で健常児を得たという報告が数多く見られます。積極的に行うよう遺伝カウンセリングしても良いのでしょうか？

異数性細胞は、正倍数性細胞と比較して生存に不利であることが多く、胎児発生の過程で細胞レベルで淘汰を受けます。モザイク率が高いと、淘汰による正常化が間に合わず、異数性胚と同様に妊娠の不成立や流産となる場合もあるでしょう。ただ、妊娠が継続した場合、混在した異数性細胞は淘汰によりさらにその割合は減少しますので、最終的には、染色体正常児として出生することが十分に期待できます。また、モザイク型染色体異常を持った状態で出生し、健常児として生まれる場合もありますが、モザイク率によっては表現型を伴う可能性もありません。そういう意味では、モザイク胚の移植を考えるにあたりモザイク率は最も有用な予測因子だといえます。

しかしながら、そもそも遺伝カウンセリングというのは中立的な立場で非指示的な情報提供を行い、カップルが自律的に意思決定する過程に寄り添う医療行為です。担当医師の価値観に誘導することがないよう、細心の注意を払う必要があります。

4. 低頻度異数性モザイクをもって生まれた子が染色体の病気にならないのでしょうか？

確かに先天異常の表現型を呈した染色体異常モザイクを有する児の症例報告はありますので、可能性はゼロではありません。ただし、症例報告された染色体異常は、先天異常の表現型を呈したから染色体検査を行ったというバイアスがかかったデータであることも知っておく必要があります。全く健康な人に別の目的で染色体検査をしたら染色体異数性モザイクが見つかったという事例もあります。20%以下の異数性モザイクは表現型に影響しないともいわれて

います。ただ、楽観的なことだけではなく、理論的にはなんらかの表現型がoccurすることを必ずお伝えしておく必要があります。

5. 染色体の番号によって胚移植の優先度に違いはありますか？

多くの常染色体異数性は妊娠の不成立、もしくは流産に至ります。生まれてくる可能性のある13番、18番、21番のトリソミーに関しても、実際にはその大半が妊娠中に胎児死亡となります。そのような胎児としての淘汰を乗り越えた胎児は出生することができます。ただ、共通して知的障害や運動機能障害を持つ児が多く、また、先天性心疾患を伴うことが多いです。これらの児が生まれたときの症状についてはお伝えしておく必要があります。トリソミーモザイクで症状がある場合は、その軽症型の表現型が起これると考えられます。

6. 異数体を示す染色体の本数の影響はどうでしょうか？

複数の染色体が異数性モザイクとなっている場合は、1本だけが異数性となっている場合と比較して、正倍数性の細胞が少ない可能性が高く、妊娠の不成立や流産に至る可能性が高いと考えられます。移植の優先度は低くなります。

7. 胎盤限局性モザイクとは何ですか？

モザイク胚の場合、淘汰により異数性細胞が正常化しますが、胎児になる組織においては必要な遺伝子の種類が多く、そのため異数性細胞が淘汰されやすいです。一方で、胎盤組織においては細胞は淘汰を受けにくいいため、妊娠経過の中で胎盤だけに異数性細胞が残る場合があります。胎盤限局性モザイクといいます。染色体の種類によっては(2,7,16番)は胎児発育遅延を生じやすいといわれており、移植においては注意が必要です。

8. 片親性ダイソミーとは何ですか？

異数性モザイクは初期胚の体細胞分裂における染色体分配のエラーによって発生しますが、(1)もともと正倍数性の受精卵に分配エラーが生じ異数性が発生し、正常細胞とのモザイクとなったものと、(2)もともと異数性のある受精卵にその染色体の分配エラーが生じ正常化し、もとの異数性細胞とのモザイクとなったものとの2種類が存在します。その後者の場合に、片親性ダイソミーが発生する可能性があり、インプリンティング病の発生や、劣性(潜性)変異の顕在化などにより表現型が生じることがあります。実際には異数性モザイク胚移植で片親性ダイソミーの出生の報告はなく、頻度は低いと思われませんが、ご夫婦への説明が必要です。

9. 異数性モザイクを示す胚の移植を考えるにあたり常染色体異数性モザイクでトリソミーやモノソミーの優先度に違いはありますか？

モノソミーの方が細胞の生存に重要な遺伝子がハプロ不全になることで、細胞レベルで致死的であることが多く、移植後に淘汰を受け、正常化しやすいと考えられます。よって、単純にはトリソミー・モザイクよりもモノソミー・モザイクの移植が優先されます。ただし、体細胞レベルでの染色体の分配エラーには不分離と後期遅滞の2種類があり、不分離の場合は娘細胞にモノソミーとトリソミーが同時に発生します。そのため、モノソミー・モザイクが検出された場合には、同じ染色体のトリソミー細胞が背景に存在が検出された場合には、同じ染色体のトリソミー細胞が背景に存在することを念頭においておく必要があります。異数性モザイク胚の移植を考えるにあたり注意を要します。

10. セグメンタル・モザイシズムとは何ですか？

PGT-A においては染色体微細欠失・重複のような部分トリソミーやモノソミーも検出されます。その多くは妊娠の不成立、もしくは流産に至りますので、C 判定としています。さらには、そのモザイクも検出されることがあり、セグメンタル・モザイシズムと呼んでいます。その扱いに関しては、一般の異数性モザイクと同じ考え方があてはめることが可能だと思えます。海外

の大規模な臨床研究データで、モザイクの方が部分トリソミーやモノソミーよりも移植成績は良いとされています。セグメンタル・モザイシズムは、ノイズ(後述)を見ているだけの可能性もあります。新生児の染色体疾患としても、部分トリソミーやモノソミーのモザイク例の報告は少なく、表現型のリスクも少ないものと予想されます。

11. B 判定の中には、検査のノイズによって本来は A 判定になるべきところが B 判定となっている胚があると聞きました。なぜそのようなことが起きるのでしょうか？また、どのように対応すれば良いですか？

検査データの基線のぶれをノイズと呼んでいます。ノイズは染色体のコピー数とは無関係であり、生検細胞数や細胞の性質の違い、夾雑物の混入、輸送・保存状態などの様々な複合的な因子に起因します。ノイズを含むデータには特徴があり、モザイクとはある程度は区別が可能です。本来は A 判定になるべき胚と予想される場合は、移植の対象と考えられます。ただし、ノイズの中に、セグメンタル・モザイシズムと呼ばれる微細欠失・重複のモザイクが隠れていることがあるかもしれません。異数性モザイク胚の移植の場合と同様に、妊娠が成立後の十分なフォローアップが重要です。ご心配が強い場合は、出生前診断を含めた専門家による遺伝カウンセリングが推奨されます。

12. 性染色体の異数体や構造異常は移植可能なのでしょうか？

性染色体の異数体や構造異常は、妊娠が成立し、流産が回避できる可能性が高いため、A 判定としています。実際には種々の表現型をきたすような性染色体の変化のタイプもあるため、移植前に説明しておく必要があります。45,X は Turner 症候群患者で認められる核型であり、流産する確率が高い女児ですが、出産に至れば新生児期は順調に育ちます。低身長、性腺機能低下、不妊症などが生じる可能性があります。47,XXY は Klinefelter 症候群患者で認められる核型で、基本的に男児ですが、妊娠中や新生児期は順調に育ちます。やはり性腺機能低下、不妊症などが生じる可能性があります。その2つのタイプに比べて、47,XXX や 47,XXY は特定の表現型を示さないとされています。

13. D 判定、すなわち判定不能胚はなぜおきるのでしょうか？また、どのように対応すれば良いですか？

質の良い生検細胞がうまく採取できなかったり、全ゲノム増幅を行う元のゲノム DNA の品質が悪かったり、夾雑物の混入のために全ゲノム増幅がうまくいかなかった場合に生じると予想されるが、実際には原因はわからないことが多いです。前述のノイズの程度が強くて D 判定となる場合もあります。

再生検することで、多くの場合はデータが改善するとされていますが、再生検の侵襲性による胚へのダメージは避けられません。また、再生検しても再び D 判定となる場合はおそらく胚自体の生存度に原因があり、移植不適と考えられます。一方で、再生検をせず、PGT-A を行わなかった状況と同じと考え、そのまま移植するという選択も可能です。もちろん、確実性を求めるご夫婦の場合には、移植対象とせずに、再度の採卵に進めることもあり得ると思います。

14. 倍数体について、判定できた方が良いでしょうか？

自然妊娠における流産物の染色体検査の中で、3倍体などの倍数体が検出される率は高く、PGT-A で倍数体を除外したいという要望はよく聞かれます。PGT-A では性染色体が XXY や XYY であるような3倍体の検出は可能ですが、唯一、XXX のタイプの3倍体は XX の正2倍体と同じデータになり区別できません。ただし、自然妊娠における3倍体の多くが2精子受精に起因しますが、PGT-A においては顕微授精を行うことが多いこと、さらには、受精の確認で前核の数を観察するため多くの3倍体が移植対象とされていないこと、などがあり、自然妊娠と比較して頻度が低いというデータがあります。(先進医療でこのようなオプションを追加することは難しいと思います。)

15. PGT-A 後の胚移植で妊娠した場合、出生前検査は行った方が良いでしょうか？

PGT-A は流産率を減らす効果があることが明らかになっており、流産を回避するために行われます。したがって妊娠が成立したということは、PGT-A の成果が得られたものと考えられます。しかも一般に出生前検査を受けられるご夫婦が心配しておられる染色体の変化は、すでに PGT-A によって一定の確率で除外されていると考えられるため、自然流産の時期を乗り越えれば、出生前診断としての胎児染色体検査を行う意義は少なくなっていると考えられます。

それでも出生前検査を希望されるカップルは、PGT-A の目的を超え、胎児が健康に生まれてくるかどうか、別の心配をしていることとなります。移植した胚の PGT-A のデータによっては、G分染法で観察する細胞数を増やして低頻度モザイクの有無を分析することを希望される場合もありますが、低頻度モザイクは胎児の表現型に影響しないことが多いと考えられています。また、移植胚によっては SNP アレイによる片親性ダイソミーの有無の検討が考慮される場合がありますが、海外の大規模な研究データでは異数性モザイク胚の移植で片親性ダイソミーの発生は報告されていません。そういう意味では、PGT-A を経て妊娠が成立したあとは、通常の妊婦健診において超音波検査等で胎児の発育状況を確認し、万が一胎児がなんらかの異常所見を示した場合には出生前検査も検討するという一般的な対応で十分と考えます。不安が強いご夫婦に対しては、別途出生前遺伝カウンセリングをお勧めします。

16. PGT-SR を行いましたが、C判定の不均衡型転座で転座セグメントが一方しか検出されていません。A判定胚は不均衡型転座に関して大丈夫なのでしょうか？

原則的に、転座セグメントの一方が同定されれば、不均衡型転座の検出は問題ないと判断します。PGT-SR の実施においては事前に均衡型転座保因者のG分染の結果を検出感度という面から遺伝学的に十分検討しておく必要があります。場合によっては、流産物や不均衡型転座の前児のサンプルを用いた事前セットアップが必要になります。

17. 反復不成立体外受精・胚移植(ART)不成功例を対象とした PGT-A で不均衡型転座が疑われる所見が得られた場合、どうすれば良いでしょうか？

2種類の染色体の末端部の部分トリソミーと部分モノソミーという形で見つかることが多く、複数の胚で共通する所見がみられたら強く疑います。夫婦のいずれかが均衡型転座の保因者である可能性が高いため、検査後の遺伝カウンセリングが重要になります。確定検査は夫婦の染色体検査を行います。ご夫婦にとって PGT-A を行うことに関しては大きな変わりはないのですが、同胞など血縁者が同じ均衡型転座を保因する可能性があり、注意が必要です。血縁者に伝える場合は、夫婦のいずれが保因者であるかを開示する必要があります。しかし、一方で転座の由来を開示しないという選択肢もあることを説明する必要もあり、その場合は、結果開示の時に「夫婦のいずれかが保因者である」という伝え方をします。また、転座が反復不成立の原因であることがわかると、流産を回避するための医療技術である PGT-SR に対する理解も深まると考えられます。転座を例に説明しましたが、染色体逆位が同様に PGT-A において同じ染色体の末端部の部分トリソミーと部分モノソミー、すなわち逆位組換え体という形で見つかることがあります。

2022年2月1日 日本産科婦人科学会倫理委員会承認
※倫理委員会は2022年6月25日に臨床倫理監理委員会へと名称変更となりました