

出生前検査における染色体マイクロアレイ検査の利用上の留意点

遺伝子解析技術は過去数十年で劇的に進歩し、出生前検査においても症例の蓄積を経てその検査結果で示される変化(バリエーション)の理解も深まった。一方、超音波診断装置の進歩に伴い胎児期に微細な形態変化が検出されるようになり、疾患の検出精度が大きく向上するとともにその診断時期も早期化している。このような状況にあって、胎児の超音波検査による形態評価の結果から胎児の全ゲノムの網羅的な解析が行われることも多くなっている。

出生前検査の領域で、胎児の全ゲノムの網羅的な解析を行う遺伝学的解析技術には、染色体マイクロアレイ(Chromosomal microarray: CMA)を用いる方法と次世代シーケンサ(next generation sequencing: NGS)を用いる方法がある。CMA検査は、主にヒトゲノム全域にわたってDNA量の増減を調べる方法であり、この方法によって染色体の数的異常や従来の染色体核型分析(G-band法)では検出できないほどの小さな構造異常の検出が可能であり、わが国においても臨床検査として実施する医療機関が増えている。そこで、出生前検査においてCMA検査を利用する際の留意点をまとめることで、本検査が周産期医療の中で適正に活用されることをサポートする目的で本報告を作成した。

なお、CMA検査には染色体領域の量的変化に加えて一塩基多型(Single nucleotide polymorphism: SNP)を同時に検出するSNPアレイ法と対照DNAと比較することで量的変化のみを検出するArray comparative genomic hybridization (aCGH)法がある。現在、わが国で出生前検査に利用されているのは主にSNPアレイ法であることから、ここではSNPアレイ法について記載する。また、この報告は日本産科婦人科学会周産期委員会内の「周産期における遺伝に関する小委員会」で原案を作成し、周産期委員会における審議を経て、理事会の承認の下に委員会報告として公表した。

検査対象(適応)

推奨

1. 胎児に形態異常を認める場合、または、遺伝学的なリスクをもち羊水検査などの遺伝学的検査を行う場合、染色体核型分析に加えて、あるいは代わりにCMA検査の実施を考慮する。
2. 子宮内胎児死亡や死産において児の遺伝学的検査を行う場合にもCMA検査の利用を考慮する。

解説

1. 出生前検査におけるCMA検査の適応

出生前遺伝学的検査で胎児の染色体疾患を検査する場合、染色体核型分析が主に利用される。その結果で不均衡型の染色体転座を認めた場合には切断点を特定して不均衡領域を明確にする必要が生ずる。また、過剰マーカー染色体や由来不明の付加染色体を認めた場合にはその由来を同定する必要があり、追加検査としてCMA検査が利用される。加えて、染色体核型分析では5~10Mb以上の領域に及ぶゲノムの変化があるときに欠失/重複が検出できるが、CMA検査では50~200Kb以上とより細

かな染色体微小領域の量的変化である copy number variants (CNVs)の検出が可能であり、解像度が高いことからより多くの遺伝情報を得ることができる(1)。さらに、未培養検体からの解析が可能のため、細胞培養を必要とする染色体核型分析よりも迅速に結果が得られ、かつ細胞培養の不成功によって結果が得られない、ということがないため検査成功率が高く、原因となる異常の検出率の上昇も期待できる。一方、均衡型染色体転座の検出ができないこと、不均衡型の染色体異常が検出された場合においても構造異常の種類を同定できないことなど、染色体核型分析で可能で CMA 検査で検出できないこともある。しかし、均衡型染色体転座は切断点が重要な遺伝子にかかっている場合などを除いて原則として胎児の表現型に影響を及ぼさないことから出生前検査における重要性は高くないことを考慮すると、CMA 検査を染色体核型分析に代えて利用することも可能である。

臨床的には米国国立子どもの健康と人間発達研究所 (National Institute of Child Health and Human Development: NICHD) で出生前検査としての CMA 検査の有用性が検討された(2)。この研究では 4,406 人を対象とする大規模なコホート研究として、CMA 検査と従来の染色体核型分析の有用性について比較検討された。その結果、従来の染色体核型分析で検出された臨床的に重要な数的異常と不均衡型転座のすべてが CMA 検査で同定された。さらに、超音波検査で形態異常が検出された症例において、6.0%で核型分析では確認できない臨床的に有意な変化が CMA 検査によって検出された。また、母体が高年齢の場合および染色体異常のスクリーニング検査でリスク上昇を指摘された場合において CMA 検査を用いることで、核型分析では確認できない変化がそれぞれ 1.7%、1.6%に検出された(2)。また、胎児形態異常を対象にした別の検討においても、染色体核型正常であって NT 肥厚や cystic hygroma を含む単一の形態異常のある児の 5.6%、2つ以上の形態異常をもつ児の 9.5%、さらに、胎児発育不全児の 2.6%に CMA 検査で追加的な異常所見が検出された(3)。このような報告をもとに、米国産婦人科学会(ACOG)では胎児に一つ以上の形態異常を認める場合には CMA 検査を推奨しており、CMA 検査を染色体核型分析に置き換わりうる検査として位置づけている。さらに、形態異常を認めない胎児であっても侵襲的な出生前検査を行う場合においては、CMA 検査は染色体核型分析と同様な選択肢になるとも述べている(4)。

このように、CMA 検査の有用性が明確になってきたこと、CNVs と児の予後についての臨床データが蓄積してきたことにより、わが国においても出生前検査において CMA 検査が利用されることが増えてきている。そこで、わが国においても胎児に形態異常を認める場合、または、遺伝学的なリスクをもち羊水検査などの遺伝学的検査を行う場合、染色体核型分析に加えて、あるいは代わりに CMA 検査を選択肢とすることが考慮される。なお、ここでいう胎児形態異常には心疾患、脳の異常、口唇裂、および複数の先天異常が含まれる。また、従来、染色体核型分析が実施されている胎児発育不全や胎児水腫、cystic hygroma、NT 肥厚なども含まれる。単発的な形態異常においては染色体核型分析で認める変化に加えて CNVs を認める確率が高いことが知られており、特に腎臓および心臓の形態異常ではそれぞれ 15.0%、10.6%に CNVs を認めることが報告されている(5)。

一方、超音波検査で明らかな形態異常を認めない場合でも、両親のどちらかが均衡型染色体転座を保有しているなど、遺伝学的なリスクをもつ場合には CMA 検査の利用が検討される。なお、標準的な染色体核型分析では検出されないにもかかわらず、CMA 検査で検出されるほとんどの変化は母体の年齢とは関係なく、おおよそ 0.4%に起こる。したがって、CMA 検査の利用に年齢を考慮する必要はないとされる(6)。また、超音波検査の所見から通常の染色体数的異常の可能性が高いと考えられる

場合には染色体核型分析が選択される。あるいは CMA 検査に先立って間期核 FISH (Fluorescent in situ hybridization) による染色体数的異常の確認が行われる場合もある(7,8)。また、形態異常のパターンから浸透率の高い特定の遺伝性疾患が示唆される場合には特異的な遺伝学的検査が考慮される。

2. 子宮内胎児死亡や死産での CMA 検査の利用

妊娠 20 週以降の子宮内胎児死亡・死産の頻度は米国ではおおよそ 1/160 と報告されている(9)。その原因を解析することは再発リスクの評価や妊婦の胎児死亡についての理解の促進、出産できなかったことに対する罪の意識の緩和などに有用である(10)。妊娠 20 週以降の子宮内胎児死亡・死産において、染色体核型分析によって異常が指摘されるのは 6-13%であり、正常発育児では 4.6%である一方、形態異常児や発育不全児では 20%を超える(11)。染色体異常の中で多いのは 21 トリソミー(31%)、Xモノソミー(22%)、18 トリソミー(22%)、13 トリソミー(8%)とされる(11)。

子宮内胎児死亡・死産の場合、従来の染色体核型分析では胎児組織(羊水、胎盤、または流産物)の培養が不成功に終わることで診断率が低下するという技術的な課題がある。しかし CMA 検査では胎児組織の未培養検体から DNA を直接分離して解析することができるため、結果を得られる可能性は格段に向上する(12)。また、CMA 検査では組織培養を要さないことからより迅速に結果が得られるだけでなく、より細かな CNVs が検出される。さらに、SNP アレイ法では母体細胞の混入を検出できるメリットもある(13)。妊娠 16 週以降の子宮内胎児死亡・死産を対象とした検討において、核型分析で異常所見を検出できるのは 5.8%であるのに対し、CMA 検査では染色体数的異常を含む pathogenic な CNVs が 8.3%と有意に多く検出される。また、陣痛発来前の子宮内胎児死亡に限定すると、核型分析と CMA 検査で異常所見を検出する確率はそれぞれ 6.5%と 8.8%、形態異常を伴う場合には 19.4%と 29.9%であり、CMA 検査でともに有意に高値を示す(12)。

妊娠初期の流産で確認される染色体異常の大部分は、従来の染色体核型分析で検出可能な染色体数的異常であり、妊娠週数が早いものほど染色体数的異常の占める割合は高い。しかし、CMA 検査によって同定される染色体数的異常以外の変化については胎児死亡の妊娠週数との間に傾向は認めず、染色体核型正常な症例の 6.9%に CNVs が検出される(10)。このことから ACOG においても子宮内胎児死亡・死産の場合、遺伝学的検査として CMA 検査の利用が推奨されている(9)。

検査の実施体制

推奨

1. 出生前検査としての CMA 検査は、検査前後のカウンセリングを提供できる体制下で実施する。カウンセリングは臨床遺伝専門医資格を有する産婦人科医、あるいは結果の臨床的な解釈について十分な専門知識をもつ産婦人科専門医が臨床遺伝専門医と連携して行う。
 - a. 遺伝学的検査の結果の評価には、超音波検査による形態的な表現型を考慮することも重要であり、周産期(母体・胎児)専門医や超音波専門医(産婦人科)との連携が推奨される。
 - b. 検査結果として判明する疾患についての妊婦の理解を促進するために、当該疾患(群)についての診療を担当する小児科専門医や疾患専門医との連携が推奨される。
2. 子宮内胎児死亡・死産例に対しての CMA 検査は、その結果が次回妊娠にも影響を与える可能性があることから十分な専門知識をもつ臨床遺伝専門医などとの連携の下で実施する。

解説

1. 出生前検査における検査体制

遺伝学的検査を行う際には日本産科婦人科学会の「出生前に行われる遺伝学的検査および診断に関する見解」(14)を遵守しなければならない。特に出生前検査としてのCMA検査結果の中には臨床的な解釈が難しい場合があるので、検査前後のカウンセリングが提供できる体制下で実施する。ここでは遺伝性疾患の患者あるいはその可能性をもつものや、その家族に対して自らの意思で検査後の対応を決定し行動できるように、臨床遺伝学的診断や医学的判断に基づく適切な情報提供を通して支援が必要である。

CMA検査の結果は多種多様であり、その意義づけや解釈が難しいことも多く含まれる。遺伝学的検査の結果の評価にあたっては、超音波検査による形態的な表現型を考慮することも重要であるので、胎児の形態異常の詳細な評価に精通した周産期（母体・胎児）専門医や超音波専門医（産婦人科）との連携が推奨される。また、CMA検査で判明した疾患について妊婦の理解を促進するために、当該疾患（群）についての診療を担当する小児科専門医や疾患の専門医を含む多職種連携でのケアが推奨される(15)。また、当該疾患の専門医が施設内にいない場合には、対応可能な施設との連携も推奨される(15)。

2. 子宮内胎児死亡・死産における検査体制

子宮内胎児死亡・死産例に対してのCMA検査の結果により、さらなる検査が必要となることがある。検出された結果が*de novo*の変化か、親から引き継いだ変化かを調べるのが重要な場合には両親の検査が必要である(4,7,8)。さらに、得られた結果が、真に子宮内胎児死亡・死産の原因になったのかどうか、その結果が次回の妊娠に影響するかどうかについても評価が必要になる。また、結果によっては他の家系員にも影響を与える可能性があることから、臨床遺伝専門医などとの連携が重要となる。

検査についての情報提供

推奨

1. 出生前CMA検査によって得られる結果には、本来の目的とは関連しない所見や疾患との関連が明らかでないバリエーションが見つかることがあることから、検査前後に検査について詳細な情報提供が必要である。
2. 検査前に提供する情報には以下の内容が含まれる。
 - a. 検査には特徴と限界があること
 - b. 本来の目的とは関連しない所見が見つかる場合があること
3. 検査後の情報提供においては以下に留意する。
 - a. 検査前に確認された開示すべき結果の範囲内であること
 - b. 従来の核型検査や他の標的診断検査と同様に、CMA検査では検出できない他の遺伝的異常の可能性があること
 - c. 本来の目的とは関連しない所見のうち、出生後ただちに児の利益となりうるものについては報告を検討すること

解説

1. 出生前検査で検出される情報

出生前 CMA 検査においては、本来の目的とは関連しない所見や疾患との関連が明らかでないバリエーションが見つかることがある。検査本来の目的とは関連しない所見としては、①予見可能な偶発的所見 (Incidental findings, anticipatable)、②予見不可能な偶発的所見 (Incidental findings, unanticipatable)、③二次的所見 (Secondary findings)がある(4, 7, 8, 16-18)。①には近親婚などの血族関係や非父性などの所見、②には対処可能 (アクションナブル) ではない臨床的有用性の確立していない成人発症疾患など、③には臨床的に胎児の健康管理上で有益性があり、積極的に検出を試みることで、開示が推奨される所見が該当する。この二次的所見(16, 17, 19)には成人発症疾患や常染色体劣性遺伝形式や X 連鎖性遺伝形式疾患の非発症保因者診断は含まれない。ただし、胎児の成人後の健康管理上有用な所見は診療録に保存し、適切な時期に本人 (胎児) の同意のもとで開示が可能である旨を夫婦に伝える。このように開示する内容の決定にあたっては検査前後に検査について詳細な情報提供が必要であり、妊婦やパートナーと十分話し合うことが求められる(15)。そして、その意思が確実に反映されるように検査前後に情報提供した内容、および妊婦やパートナーなどの意見は診療録に記載する。(4, 7, 8, 16-18)

2. 検査前に提供が必要な情報

出生前 CMA 検査によって得られる結果にはさまざまな種類や潜在的な曖昧さがあるため、検査前のインフォームドコンセントは明確かつ徹底したものにする必要がある(7)。このインフォームドコンセントの内容は診療録に記載する(7)。

説明内容の中には CMA 検査や染色体核型分析といった使用する検査法の特徴と限界についての内容が含まれる(4, 7, 8)。CMA 検査では、通常染色体核型分析によって同定される均衡型構造異常を除くほぼすべての異常が同定され、さらに追加的に特定の遺伝性疾患が見出される場合があるが、すべての遺伝性疾患を検出できるわけではないことに留意する(4, 7, 8)。

CMA 検査では検査によって本来の目的とは関連しない所見が見つかることがあり、そのことについては検査前に説明する。すなわち、疾患の原因となる遺伝学的変化か否かが明らかでない意義不明な変化 (variants of uncertain significance: VUS) が見つかる可能性のあることや、さまざまな表現型または浸透率をもつ CNVs が見つかる可能性がある(4, 7)。また、①同一の CNV であっても臨床症状の幅が広く、軽度から重度までさまざまな表現型を示すことがあり、その予後予測は困難であること(4, 7)、②検査本来の目的とは関連しない所見や VUS を開示対象とするかについては、実施施設としての開示方針を決定し、検査前にその方針について説明して同意を得ておくこと(7)、③本来の目的とは関連しない所見や VUS の結果の意義を理解するために、両親の検査が必要となりうること、について説明が必要である(4, 7)。

SNP アレイでは片親性ダイソミー (UPD) の検出が可能である。インプリンティングに関連する染色体 (すなわち、6、7、11、14、15 番) における UPD の可能性については、父親性 UPD か母親性 UPD かで症状・重症度・予後が異なることを考慮して、結果の開示は慎重に対応する必要がある(7)。

出生前検査に用いる CNV のサイズに閾値を適用することによって、両親の不安に繋がる可能性の

ある報告を減少させることも可能である。参考までに、カナダ産婦人科学会（SOGC）と医学遺伝学会（CCMG）の共同ガイドライン(7)では CNV の大きさについての報告基準を、欠失で 500Kb、重複で 1Mb に設定している。

3. 検査後に提供が必要な情報

診療録に記載された検査前に確認された開示すべき結果の範囲を再確認し、夫婦の自律的な意思に基づいて結果を開示することが求められる(7, 15)。その際には、従来の染色体核型分析や他の標的診断検査と同様に、CMA 検査では検出できない他の遺伝学的異常の可能性についても言及する(7)。

本来の目的とは関連しない所見のうち、小児期に医学的にアクションナブルな浸透率の高い疾患に関する二次的所見については出生後ただちに児の利益となりうるため、報告を検討する(7)。VUS が検出された場合、夫婦の自律的な意思に基づいて遺伝型や表現型に関連する最新のデータベースに基づいた情報提供を行う。

参考文献

1. Levy B, Wapner R. Prenatal diagnosis by chromosomal microarray analysis. *Fertil Steril*. 2018;109(2):201-12.
2. Wapner RJ, Martin CL, Levy B, Ballif BC, Eng CM, Zachary JM, et al. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. *N Engl J Med*. 2012;367(23):2175-84.
3. Shaffer LG, Rosenfeld JA, Dabell MP, Coppinger J, Bandholz AM, Ellison JW, et al. Detection rates of clinically significant genomic alterations by microarray analysis for specific anomalies detected by ultrasound. *Prenat Diagn*. 2012;32(10):986-95.
4. Committee on Genetics, the Society for Maternal-Fetal M. Committee Opinion No.682: Microarrays and Next-Generation Sequencing Technology: The Use of Advanced Genetic Diagnostic Tools in Obstetrics and Gynecology. *Obstet Gynecol*. 2016;128(6):e262-e8.
5. Donnelly JC, Platt LD, Rebarber A, Zachary J, Grobman WA, Wapner RJ. Association of copy number variants with specific ultrasonographically detected fetal anomalies. *Obstet Gynecol*. 2014;124(1):83-90.
6. Srebniak MI, Joosten M, Knapen M, Arends LR, Polak M, van Veen S, et al. Frequency of submicroscopic chromosomal aberrations in pregnancies without increased risk for structural chromosomal aberrations: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2018;51(4):445-52.
7. Armour CM, Dougan SD, Brock JA, Chari R, Chodirker BN, DeBie I, et al. Practice guideline: joint CCMG-SOGC recommendations for the use of chromosomal microarray analysis for prenatal diagnosis and assessment of fetal loss in Canada. *J Med Genet*. 2018;55(4):215-21.
8. Dugoff L, Norton ME, Kuller JA. The use of chromosomal microarray for prenatal diagnosis. *Am J Obstet Gynecol*. 2016;215(4):B2-9.
9. ACOG Practice Bulletin No. 102: management of stillbirth. *Obstet Gynecol*. 2020;135(3):e110-e32.
10. Rosenfeld JA, Tucker ME, Escobar LF, Neill NJ, Torchia BS, McDaniel LD, et al. Diagnostic utility of microarray testing in pregnancy loss. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2015;46(4):478-86.
11. Korteweg FJ, Bouman K, Erwich JJ, Timmer A, Veeger NJ, Ravise JM, et al. Cytogenetic analysis after

- evaluation of 750 fetal deaths: proposal for diagnostic workup. *Obstet Gynecol.* 2008;111(4):865-74.
12. Reddy UM, Page GP, Saade GR, Silver RM, Thorsten VR, Parker CB, et al. Karyotype versus microarray testing for genetic abnormalities after stillbirth. *N Engl J Med.* 2012;367(23):2185-93.
 13. Sahoo T, Dzidic N, Strecker MN, Commander S, Travis MK, Doherty C, et al. Comprehensive genetic analysis of pregnancy loss by chromosomal microarrays: outcomes, benefits, and challenges. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics.* 2017;19(1):83-9.
 14. 日本産科婦人科学会. 出生前に行われる遺伝学的検査および診断に関する見解. 2013.
 15. 第18回全国遺伝子医療部門連絡会議報告書. 成進社印刷, 松本市, p109-119,p154-161,2021.
 16. ゲノム医療における情報伝達プロセスに関する提言 その2:次世代シーケンサーを用いた生殖細胞系列網羅的遺伝学的検査における具体的方針【改定版】 http://sph.med.kyoto-u.ac.jp/gccrc/pdf/a10_teigen_sono2_20191212.pdf2019 [
 17. ゲノム医療における情報伝達プロセスに関する提言 その1:がん遺伝子パネル検査を中心に【改定第2版】 http://sph.med.kyoto-u.ac.jp/gccrc/pdf/a10_teigen_sono1_20191211.pdf2019 [
 18. Presidential Commission for the Study of Bioethical Issues. *Anticipate and Communicate: Ethical Management of Incidental and Secondary Findings in the Clinical, Research, and Direct-to-Consumer Contexts.* 2013.
 19. Kalia SS, Adelman K, Bale SJ, Chung WK, Eng C, Evans JP, et al. Recommendations for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing, 2016 update (ACMG SF v2.0): a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics.* 2017;19(2):249-55.