

羊水細胞の染色体分析結果(令和元年度)

高森 亮輔 湊山 亜未 九曜 雅子

Chromosome Analysis of Amniotic Fluid Cells (Apr. 2019-Mar. 2020)

Ryosuke TAKAMORI, Ami MINATOYAMA, and Masako KUYO

目的：当所では、富山県の総合母子保健対策の一環として昭和48年度から血液の染色体検査を開始し、昭和49年度からは羊水の染色体検査を実施している。出生前診断領域の一翼を担う羊水検査は、染色体異常に起因する何らかの異常が存在するか否かを、核型分析により検索し、進行中の妊娠の継続や中断の決定、出生後のケアや治療の方向付けのための判断資料を医療機関に提供することを目的として実施されている。これまでの45年間で、2,830件の検体を対象として検査を実施してきたが、令和元年度に受け付けた羊水検体60件について、検査状況および結果の概略を報告する。

材料と方法：羊水細胞の培養は、既報[1]および当所の方法[2]に基づいておこなった。詳細については、既報[3]に従った。

染色体標本の作製方法については、培養に供した1検体あたり2枚のシャーレそれぞれについて、標本作製した。

Gバンド視覚化のためのトリプシン処理およびギムザ染色は、トリプシンによる標本消化効果を高めるため、標本作製日の翌日以降に行った。

核型分析には、Meta System社の染色体核型解析システムIkaros (Ver. 5.0)を使用した。

データ集計については、一般的に35歳以上での出産が想定される場合を高齢妊娠と定義する

[4]が、本報では検査依頼受け付け時点で35歳以上の場合を高齢妊娠とした。

また、妊娠週数については、主治医による検査依頼書への記載が、たとえば「16週5日」であっても「16週」となっているケースが散見されるなど「何日」部分が省略される場合が多いことから、その記載がある場合でも「何日」部分についてはすべて切り捨ててデータを取りまとめた。

結果：令和元年度は、県内医療機関より計60件の羊水検体についての染色体核型分析検査依頼を受け付けた。

依頼医療機関数は7施設であった。その内訳は、総合病院5施設、産科医院2施設であった。

妊娠週数別の依頼件数を表1に示した。16週での依頼が33件で最も多く、全体の55.0%を占めた。次いで17週16件、15週7件、18週2件で

あり、検査時期に適している15週～17週での依頼の合計56件は全体の93.3%を占めた。最短は15週、最長は31週であった。

母体年齢別の検査依頼件数を表2に示した。39歳での依頼が8件で最も多く、最低年齢は24歳、最高年齢は46歳であった。本報で定義した高齢妊娠である35歳以上での検査依頼件数は45件で、全体の75.0%であった。

検査依頼理由別件数および異常核型判定結果を表3に示した。高齢妊娠および、これにその他の

表1. 妊娠週数別検査依頼件数

週数	15	16	17	18	...	20	...	31	合計
件数	7	33	16	2		1		1	60

表2. 母体年齢別検査依頼件数および年齢区分別割合

年齢	24	25	26	29	30	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	44	45	46	合計
件数	1	1	1	2	1	4	3	2	2	2	7	5	8	7	7	2	1	2	2	60
15(25.0%)										45(75.0%)										

表3. 検査依頼理由別件数および以上核型判定結果

依頼理由	受付数	異常数	核型
35歳以上	45	4	
高齢妊娠	34	1	47,XY,+18
NT肥厚	5	1	47,XY,+18
前児染色体異常	2	0	
QTで染色体異常疑い	1	0	
TMで染色体異常疑い	1	1	47,XX,+21
羊水過多症	1	1	47,XY,+21
身内に染色体異常あり	1	0	
35歳未満	15	1	
NT肥厚	4	1	45,X
本人希望	4	0	
QTで染色体異常疑い	3	0	
身内に染色体異常あり	1	0	
胞状奇胎	1	0	
胎児浮腫	1	0	
前児染色体異常	1	0	
計	60	5	

NT:nuchal translucency(後頸部低エコー域)

QT:quatro (marker) test(母体血清4成分による対象疾患罹患確率スクリーニング検査)

TM:triple marker (test)(母体血清3成分による対象疾患罹患確率スクリーニング検査)

表4. 培養日数別標本作製件数

培養日数	8	9	10	11	12	13	14	15	16	19	合計	平均日数
1回目	4	5	7	15	9	7	10	1	1	1	60	11.7±2.1
2回目	1	4	5	11	11	8	11	5	3	1	60	12.5±2.1

表5. 検査全行程所要日数別件数

日数	9	10	11	12	13	14	15	16	17	19	20	計
件数	1	2	1	4	3	16	14	9	5	3	2	60

依頼理由が付随したものは、表2でも示したとおり45件で、全体の75.0%であった。

母体が35歳未満でも、超音波検査等で、胎児に何らかの染色体異常や形態異常が疑われたことによる依頼は15件で、全体の25.0%であった。

染色体核型異常を認めたのは全検体60件中5件(8.3%)であった。高齢妊娠での検査依頼45件のうち4件(8.9%)に異常を認めた。

近年、胎児の染色体異常を疑うきっかけとして大きな割合を占めているNuchal Translucency (NT:後頸部低エコー域)肥厚の記載のある依頼は9件(35歳以上5件, 35歳未満4件)あり、2

件(22.2%)に異常を認めた。

母体血液を用いたクアトロテスト(QT)の結果から胎児異常の疑いがもたれた依頼が4件(35歳以上1件, 35歳未満3件)あり、異常は認められなかった。トリプルマーカータスト(TM)の結果から胎児異常の疑いがもたれた依頼が1件(35歳以上1件, 35歳未満0件)あり、1件(100.0%)に異常を認めた。

令和元年度に判定した異常核型5件の内訳は、常染色体の数的異常4件(21トリソミー症候群2件, 18トリソミー症候群2件)、性染色体の異常1件であった。

染色体標本作製までに要した培養日数別の件数を、表4に示した。1検体あたり2回標本作製を行っており、1回目の標本作製のピークは培養11日目であり、10～14日目の5日間の総数は48件(80.0%)であった。2回目の標本作製のピークは培養11, 12, 14日目であり、10～14日目の5日間の総数は、46件(76.7%)であった。平均培養日数は、標本作製1回目が 11.7 ± 2.1 日、2回目が 12.5 ± 2.1 日であった。

検体受入から、培養、標本作製、顕微鏡下での観察、写真撮影、核型分析を経て検査成績報告書を作成し、これを医療機関あてに送付するまでの全作業工程所要日数別の件数を、表5に示した。最短で9日、最長で20日、平均は 14.8 ± 2.2 日であった。

考察：令和元年度の検査依頼件数60件は、平成30年度の65件から5件減少した。

県内の出生数は年々微減傾向にあり、妊娠数自体も微減傾向にあると推測される。

出生前診断を目的とする羊水検査は、羊水採取に際しての安全面、培養に必要な細胞数の確保、母体への負荷や精神的なストレスの低減等の観点から、妊娠16週前後での実施が最適であるとされているが、当所で受け付けた検査依頼も、16週のみで約半数、これに前後1週ずつを加えた15週から17週までの3週で、9割以上を占めた。

母体年齢別の検査依頼件数については、高齢妊娠での依頼が7割を占めていた。

受付検体60件のすべてについて検査を完了し、5件に異常を見出したが、35歳以上45件中の異常核型判定件数は4件(8.9%)、35歳未満15件中の異常核型判定件数は1件(6.7%)であった。

35歳以上での検査依頼45件のうち、高齢妊娠のみを依頼理由としたのは34件であり、それ以外の11件ではNT肥厚や母体血液検査による胎児染色体異常疑い等の依頼理由が加わっていた。異常核型を認めたケースは、高齢妊娠のみで1件、NT肥厚、母体血液検査による胎児染色体異常疑い、羊水過多症が付随したケースでそれぞれ1件ずつであった。一般的に高齢妊娠において胎児の染色体異常の発生頻度が高まるとされるが、検体は限られるが、高齢妊娠に加えて、それ以外の依頼理由が付随することで異常核型検出の発生頻度が格段に高まると考えられた。

NTに関して、学会のガイドラインには、「NT肥厚と胎児形態異常とは関連がある(NT肥厚

が確認された児では染色体異常や心形態異常頻度が高い)」と明記されているが、正確な判定には、測定された状況が重要であることも記されている[5]。NT測定は妊娠11週0日から13週6日の間に実施するよう推奨されているが、NT肥厚を主訴とした9検体のうち、5検体は測定週日の記載がなく、記載のあった4検体は、推奨された期間内に測定が行われていた。依頼理由としてのNT肥厚と染色体異常との相関について考察するためには、より詳細なデータの収集とさらなるデータの蓄積が必要と思われる。

異常核型5件の内訳は、21トリソミー症候群2件、18トリソミー症候群2件、性染色体の異常1件であった。

検体受入れから染色体標本作製までに要した培養日数のピークは、標本作製1回目が11日、2回目が11, 12, 14日であった。全検体の平均培養日数は1回目が11.7日、2回目が12.5日で、平成28年度から30年度までの3年分のデータ(1回目:11.2日, 11.9日, 10.9日, 2回目:11.6日, 12.0日, 11.2日)と比較すると2回目の平均培養日数が最も高値であった。

当所では、染色体核型分析の対象となっている羊水、血液、流産胎児絨毛のいずれについても、検体受入れ日から3週間以内に検査結果を依頼者のもとへ届けられるように、日程を調整しながら作業を進めている。羊水検体60件の全工程所要日数の平均は、 14.8 ± 2.2 日であった。過去3年間については、平成28年度 14.5 ± 2.3 日、平成29年度 15.6 ± 2.1 日、平成30年度 14.3 ± 2.4 日となっていた。培養日数が平成30年度より増加したが、全工程の平均所要日数では過去3年間の平均的な値に収めることができた。これは、担当者が作業に習熟したためではないかと推察される。また、平成27年度より、染色体核型分析システムIkarosを用いたパソコン画面上での核型分析による作業工程の簡略・省力化を実現したことも要因と考えられる。

検体受領から3週間以内の結果報告を実現できなかったケースは、皆無であった。

標本作製までの平均培養日数を検体別に比較すると、血液は基本的に3日、流産胎児絨毛ではおよそ10日程度要する。令和元年度の羊水の培養日数は、1回目11.7日、2回目が12.5日となり、流産胎児絨毛より2日程度長かった。

検体の種類に関わらず、検査結果の正確性こそ

が最重要であるが、血液や流産胎児組織とは大きく異なり、羊水検査に関しては判定結果が妊娠の継続の可否をも左右しかねないために、母体保護ならびに倫理的な観点からも、その迅速性が厳に問われている。そのため、検体受入れから培養、染色体標本作製、そして結果報告までに要する日数を1日でも短縮することは、この業務に携わる者にとっての重要な課題である。表4でも示したように、培養日数が短い検体と長い検体では、7日以上もの差があることも、経験上、歴然たる事実である。羊水量や細胞濃度、培養開始時点でのシャーレへの播種生細胞数と培養日数との相関の有無を明確にすることが、出生前診断において重要な役割を担う染色体検査業務における、今後の課題であろう。

文 献

1. 鈴森薫 (1996). 臨床染色体診断法, 260 - 263. 金原出版
2. 本田幸子, 品川保弘, 林美貴子, 他. (2010). 富山衛研年報, 33, 54
3. 品川保弘, 高森亮輔, 西永真理, 他. (2015). 富山衛研年報, 38, 43 - 44
4. 日本産科婦人科学会 (2007). 日産婦誌, 59, 7, N-224
5. 公益社団法人日本産科婦人科学会・公益社団法人日本産婦人科医会 (2017). 産婦人科診療ガイドライン-産科編 2017, 101