

第62回日本小児保健協会学術集会 シンポジウム 5

非侵襲的出生前検査 (NIPT)

日本における NIPT の現状

三浦 清徳, 増崎 英明 (長崎大学産婦人科)

要 旨

母体血による胎児染色体検査 (non-invasive prenatal testing: NIPT) は, 2013年4月より日本においても臨床研究として開始された。染色体異常には, 数的異常(トリソミーやモノソミーなど)と構造異常(転座, 欠失など)とがあり, 個々の染色体異常の発生メカニズムや症状はさまざまである。また, 胎児染色体異常の出生前診断法には, その検査自体で診断可能な確定的検査(絨毛検査, 羊水検査など)とハイリスクなのか否かを推定する非確定的検査(母体血清マーカー検査, NIPT など)とがある。したがって, 胎児染色体異常の出生前診断を希望する妊婦は, 臨床遺伝専門医による遺伝カウンセリングを受けて, 事前にそれぞれの検査の意義について理解し, 何をどこまで知りたいのかよく考える必要がある。そして, NIPT の地域への導入に際しては, 社会の混乱や不安を煽ることがないように, 市民や医療者を対象とした市民公開講座や講演会などの取り組みも大切である。また, NIPT コンソーシアムで行った1年間の NIPT 実施状況調査の結果とその妊娠転帰について紹介した。

I. はじめに

母体血を用いた胎児染色体検査 (Non-Invasive Prenatal Testing: NIPT) は, 本邦においても, 2013年4月より, 臨床研究として開始された。染色体異常の出生前診断には, 確定的検査と非確定的検査とがあり, NIPT は後者に分類される¹⁾。非確定的検査は疾患リスクが高いのか否かを推定する検査であり, その陽

性適中率は染色体数異常のハイリスク妊婦で高く, ローリスク妊婦では低いことを理解する必要がある。妊婦とその家族は, NIPT の実施前に検査の意義について理解しておく必要があり, 遺伝カウンセリングの重要性が認識されている。本稿では, まず胎児染色体異常の出生前診断について概説し, 次いで NIPT 開始に際しての長崎大学の取り組みならびに日本における NIPT の実施状況とその妊娠転帰について紹介する。

II. 胎児染色体異常の出生前遺伝学的検査について

1. 胎児染色体異常と遺伝カウンセリング

ヒト染色体の正常核型は, 女児であれば46,XX, 男児であれば46,XY であり, その他の核型はすべて染色体異常である。染色体異常には, 数的異常(トリソミーやモノソミーなど)と構造異常(転座, 欠失など)とがあり, 個々の染色体異常の発生メカニズムや症状はさまざまである(図1)^{2,3)}。妊婦とその家族は, 検査

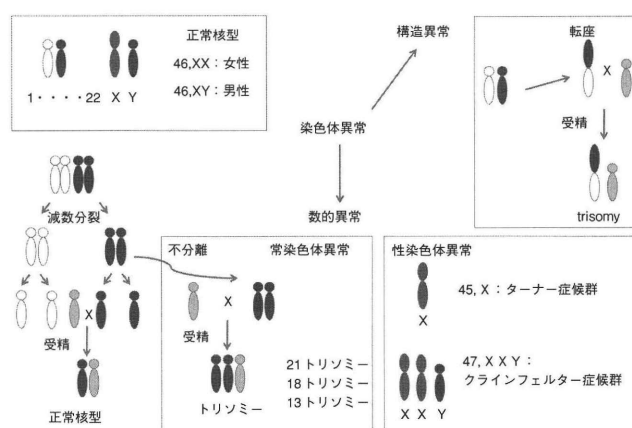


図1 染色体異常の発症機序 (文献2,3)より引用)

表1 胎児染色体検査に用いられる検査法とその特徴

検査法	目的	検査時期	検査感度
超音波検査 (NT)	非確定的検査	妊娠11～13週	60～70%
母体血清マーカー検査		妊娠15週以降	60～70%
母体血を用いた胎児染色体検査 (NIPT)		妊娠10週以降	99.9%
絨毛検査	確定的検査	妊娠11～13週	100%
羊水検査		妊娠15週以降	100%
臍帯血検査		妊娠18週以降	100%

文献1)より引用

前の遺伝カウンセリングを通じて、染色体異常の何をどこまで知りたいのか考える必要がある。

2. 確定的検査と非確定的検査

染色体異常の出生前診断法には、その検査自体で診断を確定することができる検査（確定的検査）と染色体異常のハイリスク群なのか否かを推定する検査（非確定的検査）とがある（表1）¹⁾。このことは、検査を行う医療者ならびに検査を受ける妊婦はともに認識する必要がある。

日本における胎児染色体異常の確定的検査では、羊水検査が最も広く実施されている。罹患児なのか否かはほぼ100%診断を確定することが可能であり、染色体異常については数的異常も構造異常もほぼ全て検出することができる。しかし、羊水検査による破水の危険性は1/100、流産のそれは1/200～400であり、母児にとって侵襲的な検査である。

一方、NIPT、超音波検査による nuchal translucency (NT) などのソフトマーカーの計測ならびに母体血清マーカー検査は、非侵襲的検査である。しかし、それらの結果は、陽性あるいは陰性と判定され、疾患リスクを推定する検査なので、非確定的検査に分類される。つまり、陽性と判定された場合、胎児は罹患児である可能性が高いが、正常児である可能性もあり、いずれか明確にするには妊婦は確定的検査を受ける必要がある。一方、陰性と判定された場合、胎児は正常児である可能性が高いが、罹患児であることを否定するものではない。陰性と判定されてもお不安を感じると考える妊婦は、非確定的検査でなく、最初から確定的検査を受けるのか否かについて検討するかもしれない。

3. 感度・特異度と陽性適中率・陰性適中率

遺伝カウンセリングでクライアントに検査法の精度

について話す時、カウンセリングを行う医療者は、感度・特異度ならびに陽性適中率・陰性適中率について理解する必要がある¹⁻⁴⁾。感度は、罹患集団に対して検査を行った時、陽性を示す割合（真の陽性率）である。一方、特異度は、特定の病気に罹患していない集団に対して検査を行った時、陰性を示す割合（真の陰性率）である。いずれも検査の信頼性を評価する指標である。しかし、妊婦とその家族が知りたい検査精度は、検査結果が陽性の時、本当に自分が妊娠している胎児が罹患している可能性（陽性適中率）、あるいは陰性の時、妊娠している胎児が特定の病気に罹患していない可能性（陰性適中率）である。罹患者の割合が高い集団では陽性適中率は高いが、それが低い集団では陽性適中率は低くなる。したがって、出生前診断において、非確定的検査の陽性適中率は、妊婦にとって最終的に非確定的検査を受けるか否か判断する重要な情報の一つになる。

4. 従来の非確定的検査の問題点

日本では、NIPT 導入前から、胎児染色体異常の非確定的検査として、胎児超音波検査による NT 計測や母体血清マーカー検査、あるいは両者を組み合わせた検査などが行われていた。しかし、これらの非確定的検査では、妊婦が検査前の遺伝カウンセリングを実施されることなく検査を受けている事例が確認され問題になっていた。そのような妊婦の中には、陽性の結果が出た時に、それは胎児染色体異常を意味していると誤解して、確定的検査を受けずに人工妊娠中絶を選択してしまうケースも知られている。遺伝カウンセリングを受けていないがために、非確定的検査の結果を誤解して人工妊娠中絶される例は絶対に避けなければならない。また、第2三半期に行う母体血清マーカー検査を遺伝カウンセリングなしに実施され、陽性例の妊婦が妊娠18週前後に専門外来に紹介されてくことも経験される。そのような事例では、遺伝カウンセリングの後に、確定的検査（羊水検査）について十分に考える時間がない状況で、侵襲的検査を受けるのか否か自己決定しなければならない。妊婦とその家族の悩みは、とても深刻であると推察される。

35歳の妊婦を対象とした時、NT 検査や母体血清マーカー検査の陰性適中率は99%以上であるが、陽性適中率は20%未満と推定される。妊婦が検査前に臨床遺伝の専門家による遺伝カウンセリングを受けていれ

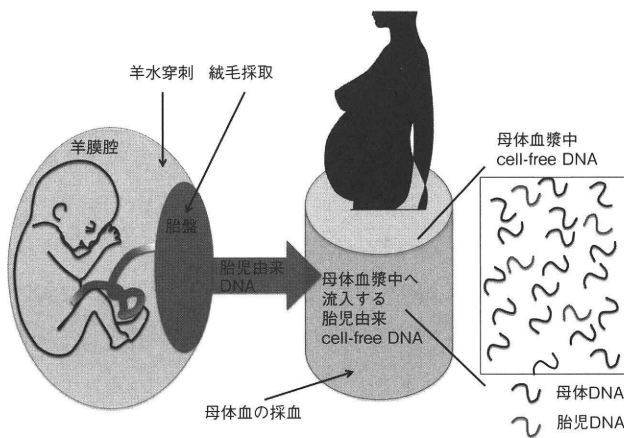


図2 母体血漿中へ流入する胎児 DNA (文献3) より引用)

ば、非確定的検査を受けた妊婦の誤解や混乱は避けられると思われる。出生前検査では、妊婦とその家族は、胎児のために、何をどこまで、いつ、どのような検査法で知りたいのか、自己決定しなければならない。そのためには、臨床遺伝の専門家による検査前の遺伝カウンセリングが果たす役割は大きいと考えられる。

Ⅲ. NIPT について

1. 母体血中 cell-free DNA とは

母体血漿中には、大部分の母体由来 cell-free DNA に加えて、胎児由来 cell-free DNA も流入している(図2)。その主な供給源の一つは胎盤であり⁵⁾、妊娠7週には母体血漿中へ流入する cell-free fetal DNA を検出することができる^{6,7)}。血漿中の cell-free DNA に占める胎児由来 DNA の割合は約3~6%であり、分娩後2時間以内に速やかに母体循環から消失する⁶⁾。母体血漿中の cell-free DNA のうち、胎児由来のものは、ほぼ全てが300bp以下に断片化されている⁶⁾。一方、母親由来の cell-free DNA のうち、300bp以下に断片化されているものは、約50%未満と報告されている。すなわち、cell-free DNA の断片長が300bp未満の cell-free DNA のみをターゲットにすると、母体成分に占める胎児成分の割合は10%にまで濃縮される。

2. NIPT の特徴

i) 解析原理

NIPT の原理は、1) 次世代シーケンス法で母体血漿中に流入する断片化された cell-free DNA を解析し、2) バイオインフォマティクス解析によりそれぞれの遺伝子配列を染色体上にマッピングしてリード

数を算出する、3) そしてリード数を比較する massively parallel sequencing (MPS) 法を用いている^{1~4)}。正常コントロール群を基準として Z スコアを算出し、測定値が基準内であれば陰性、基準値以上であれば陽性と判定される。また、Z スコアが基準値より大きく外れる時は、その原因が胎児の染色体異常に起因するものなのか否か判定保留と評価される。

ii) 検査時期

出生前診断において、表1に示す検査法のいずれを選択するのかについては、診断の対象となる疾患ならびに妊婦の妊娠週数も考慮される¹⁾。NIPT は、妊娠10週から実施可能である。一方、NT 計測は妊娠11~13週、母体血清マーカー検査は妊娠15週以降に実施される。また、絨毛検査は妊娠11~14週、羊水検査は妊娠15~16週以降に実施されることが望ましい。したがって、NIPT は、絨毛採取や羊水穿刺などの侵襲的検査、さらには NT や母体血清マーカー検査などの非確定的検査よりも早期に実施することができる。

iii) 陽性適中率と陰性適中率

35歳の妊婦が NIPT を受けて陽性と判定された時の陽性適中率は約80%、陰性適中率は99.9%である。NIPT の陽性適中率は、NT 検査や母体血清マーカー検査のそれと比較して高い(表1)¹⁾。

iv) 対象疾患

日本における NIPT の対象疾患は、21トリソミー、18トリソミー、および13トリソミーに限定されている^{1,8~10)}。したがって、予めそれ以外の染色体異常(モザイク例や不均衡型転座例も含む)の可能性が推定される場合には、本検査の対象とはならない。本検査は認定された施設で実施され、その施設認定・登録は、日本医学会臨床部会運営委員会「遺伝子・健康・社会」検討委員会「母体血を用いた出生前遺伝学的検査」施設認定・登録部会で行われる^{8~10)}。また、日本産科婦人科学会倫理委員会および母体血を用いた出生前遺伝学的検査に関する検討委員会により策定された「母体血を用いた新しい出生前遺伝学的検査に関する指針」を順守して行われる^{8~10)}。

一方、NT 検査の対象疾患は21トリソミー、母体血清マーカー検査(クアトロテスト)のそれは21トリソミー、18トリソミー、ならびに開放性神経管奇形(二分脊椎、無頭蓋症、無脳症)である。

したがって、NIPT は新しい検査であるが、すべての胎児染色体疾患を診断可能な検査ではない。非確定

表2 母体血を用いた胎児染色体検査の対象となるハイリスク妊婦

1. 胎児超音波検査で胎児が染色体数異常を有する可能性が示唆された者
2. 母体血清マーカー検査で、染色体数異常を有する可能性を示唆された者
3. 染色体数異常を有する児を妊娠した既往のある者
4. 高齢妊娠
5. 両親のいずれかが均衡型ロバートソン転座を有していて、胎児が13トリソミーまたは21トリソミーとなる可能性が示唆される者

文献1,9)より引用

的検査のうち、開放性神経管奇形のリスクは母体血清マーカー検査でしか推定できないが、13トリソミーのリスクはNIPTでしか推定できない。これらは遺伝カウンセリングを通じて、それぞれの検査の特徴を妊婦とその家族へ説明して、理解させる必要がある。

v) 検査対象の妊婦

NIPTは、罹患の危険性を推測するための非確定的検査であり、染色体異常のハイリスク妊婦を対象にした場合の陽性適中率は高いが、ローリスク妊婦を対象にした場合のそれは低い¹⁾。したがって、本検査は、主に高齢妊婦など胎児染色体異常のハイリスク妊婦(表2)に対して有用性が高い検査である^{1,9,10)}。

vi) 結果の解釈

35歳の妊婦が本検査を受けて結果が陽性と判定された場合、80%は罹患児で20%は正常児である。よって、診断の確定には、羊水検査(あるいは絨毛検査)による侵襲的検査が必要になる^{1~4)}。一方、陰性は99.9%の確率で正常児であることを意味するが、1/1,000の確率で異常児のリスクがあり、これは一般女性が21トリソミーの胎児を妊娠するリスクと同じである。したがって、陰性は必ずしも正常児であることを保証するものではない^{1~4)}。非確定的検査で判定保留とされた場合、妊娠週数に応じて妊婦は非確定的検査の再検査を受けるのか、確定的検査を受けるのか、あるいは検査をあきらめるのか選択しなくてはならない。したがって、本検査は夫婦が熟慮のうえで判断・選択するものであり、妊婦に対して通常の妊婦健診で安易に勧めたり、指示的に説明すべきではない^{1,9,10)}。また、妊婦がNIPTの陽性という結果を誤解して人工妊娠中絶を受けることがないように、検査前の臨床遺伝の専門家による遺伝カウンセリングは必須である^{1,9,10)}。

IV. 長崎大学病院におけるNIPTの検査体制

NIPTの開始に向けた長崎大学の取り組み

私どもは、出生前診断に対して不安や悩みを抱える妊婦を支援するために、NIPTを希望する妊婦に対する遺伝カウンセリングと検査の実施体制を整備した^{2~4)}。

i) 社会への啓発

NIPTの開始に伴う社会の混乱が生じないように、ニュースや新聞などマスコミを通じて、本検査は全ての妊婦が受ける検査ではないことの啓発を行った。また、一般市民に対して、わが国における出生前診断を取り巻く問題について広く理解してもらうために、遺伝医療、倫理、そして法律の専門家による市民公開講座を企画した。一方、医療者(医師、保健師、助産師)に対して、長崎県内の各地域で講演会を開催し、出生前診断とNIPTを希望する妊婦が来院した場合の対応について啓発を行った。このような取り組みは、NIPTを長崎において混乱なく開始し得た大きな要因と思われる。

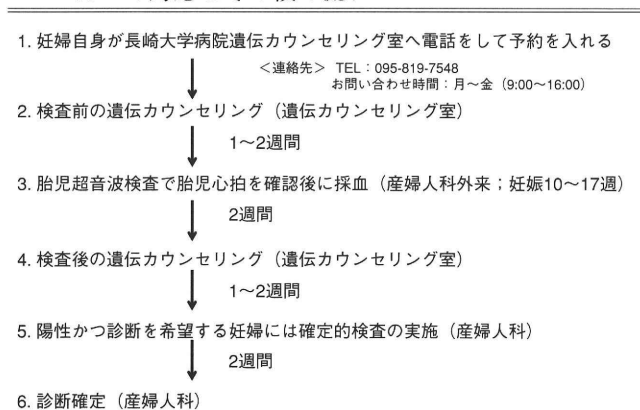
ii) 遺伝カウンセリングの予約システム

長崎県内の各地域の医療施設に対して、NIPTを希望する妊婦が来院した場合には、紹介状の必要はなく、妊婦に長崎大学病院遺伝カウンセリング室へ直接電話をして予約を取らせるようお願いしている。その理由の一つは、医師が紹介状を用意する時に、本検査について妊婦に説明するのが必要なくなることが挙げられる。一方、胎児先天異常を認める例などは、超音波検査による診察が必要なため、紹介状を用意して妊婦を産婦人科外来へ来院させるようお願いしている。

iii) カウンセリングと検査の実施体制

染色体異常に関する情報提供には、産婦人科医に加えて小児科医による説明も必須である。長崎大学におけるNIPTの遺伝カウンセリング体制は、産婦人科専門医かつ臨床遺伝専門医5名、小児科専門医かつ臨床遺伝専門医1名、分子遺伝学の専門で臨床遺伝専門医1名、認定遺伝カウンセラー1名が対応している。火曜日ならびに水曜日午後の計8枠のみで、予約時間に夫婦で遺伝カウンセリング室まで来院してもらい、臨床遺伝専門医が遺伝カウンセリングを行う。そして、臨床遺伝専門医による遺伝カウンセリングが終了した後、検査に対する妊婦の理解を確認しフォローするため、認定遺伝カウンセラーが別室でカウンセリングを

表3 長崎大学病院における NIPT を希望する妊婦さんへの対応とその後の流れ



実施している。出生前診断は、全ての妊婦に必ずしも必要な検査ではない。遺伝カウンセリングを通じて、妊婦と夫が胎児と検査についてよく考える期間を設けて、夫婦に検査の実施について選択してもらうことが重要である。長崎大学病院では、遺伝カウンセリングの実施から NIPT の予約までに 1～2 週間の期間を設けている (表3)。そして、検査を希望する妊婦は、週2回午後の予約枠に予約を取って採血のために再度来院してもらう。長崎大学病院では検査の実施前に、必ず超音波検査で胎児心拍の有無を確認するため、採血は産婦人科外来で行っている。そして、2週間後に夫婦に遺伝カウンセリング室まで来院してもらい、結果説明と検査後の遺伝カウンセリングを行っている。

NIPT を希望する妊婦に対する遺伝カウンセリングの受付と実施は遺伝カウンセリング室、本検査の実施は産婦人科外来に分けることで、産婦人科スタッフへの業務の負担増加や医療現場の混乱をさけることができたと考える。また、NIPT で陽性の場合には、羊水検査による確定診断まで 6～8 週間を要するため (表3)、妊娠週数と検査の実施時期を考慮した夫婦への情報提供も重要である。

V. 日本における NIPT の実施状況とその妊娠転帰

私どもの施設は、NIPT コンソーシアムに参加して、NIPT に関する遺伝カウンセリングの実施とその評価を行っている。2013年4月～2014年3月までの期間における NIPT 実施状況を把握し、その転帰を含めた実態について紹介する¹¹⁾。

NIPT を受検した7,740例のうち、陽性141例 (1.82%)、陰性7,581例 (97.95%)、判定保留18例 (0.23%) であった (図3)。判定保留18例のうち、16例が NIPT 再検

査を受検し、陽性1例、陰性13例、判定保留2例であった。陽性142例のうち、21トリソミー79例、18トリソミー50例および13トリソミー13例であった。

21トリソミー陽性の79例のうち、子宮内胎児死亡3例、人工妊娠中絶を受けた3例を除く73例が確定検査を受けて、70例 (陽性適中率:95.9%) が21トリソミーと診断された (図4)。21トリソミーと診断された70例の妊娠転帰は、69例が人工妊娠中絶を選択し、1例が妊娠を継続した。18トリソミー陽性の50例のうち、子宮内胎児死亡8例を除く42例が確定検査を受けて、34例 (陽性適中率:81.1%) が18トリソミーと診断された (図4)。18トリソミーと診断された34例の妊娠転帰は、33例が人工妊娠中絶を選択し、1例が子宮内胎児死亡であった。13トリソミー陽性の13例のうち、子宮内胎児死亡2例を除く11例が確定検査を受けて、9例 (陽性適中率:81.8%) が13トリソミーと診断された (図4)。13トリソミーと診断された9例の妊娠

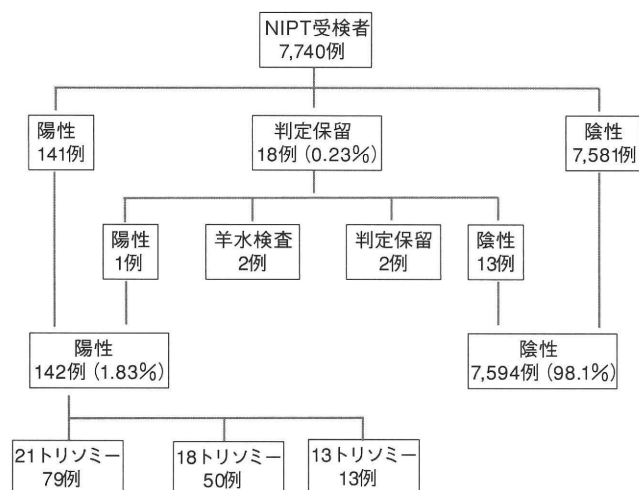


図3 1年間に NIPT コンソーシアムで実施した NIPT 検査の状況 (文献11) より引用)

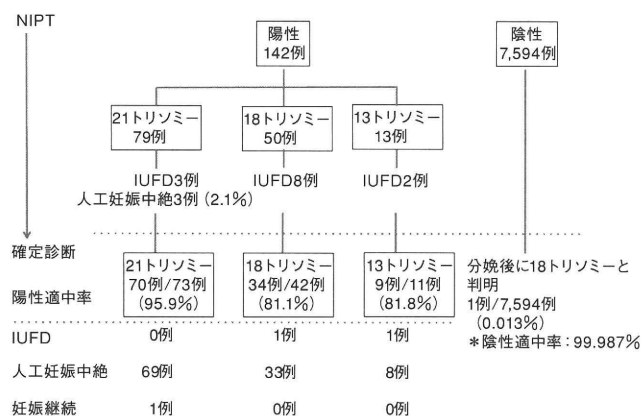


図4 NIPT 受検者の妊娠転帰 (文献11) より引用)

転帰は、8例が人工妊娠中絶を選択し、1例が子宮内胎児死亡であった。また、NIPT 陰性7,594例のうち、1例が分娩後に18トリソミーと診断され、陰性適中率は99.987%であった。

日本における NIPT 検査の陽性適中率ならびに陰性適中率は、欧米におけるそれらと同様に、いずれも高い適中率であることが確認された。遺伝カウンセリングを受けて NIPT 検査の意義について理解していたにもかかわらず、21トリソミー陽性79例のうち、3例が確定検査を受けないで人工妊娠中絶を選択していた。また、私どもの施設でも NIPT に関する遺伝カウンセリングを受けて良かったという意見が大多数を占める一方で、NIPT 検査の結果が陰性であっても出生前診断を受けたことによる罪悪感などに悩む妊婦の存在も確認され、NIPT 後のフォローアップも重要であると認識された。私どもは、臨床研究として NIPT に関する遺伝カウンセリングの実施状況と妊娠転帰を把握し評価することで、一般社会ならびに医師・遺伝カウンセラーへ向けて出生前診断についての情報提供を行い、適切な周産期の遺伝カウンセリング体制構築に寄与したいと考えている。

VI. おわりに

本稿は、平成27年6月20日に長崎ブリックホールで開催された第62回日本小児保健協会学術集会シンポジウム5での発表内容をもとに記述した。NIPT は非侵襲的検査であり、妊娠10週から実施可能である。そのため、従来の侵襲的検査と比較して、妊婦は比較的安易に本検査を希望する傾向にある。しかし、NIPT は出生前診断法の一つであり、高齢妊婦であっても必ずしも全ての妊婦が必要とする検査ではない。遺伝カウンセリングを通じて、妊婦が出生前診断に求めるものは何なのか、医療者はよく話を聞くことが大切である。NIPT 検査の地域への導入に際しては、社会の混乱が生じないように、市民ならびに医療者への啓発活動が大切である。また、日本社会に適切な周産期遺伝カウンセリング体制を構築していくには、引き続き NIPT の実施状況と妊娠転帰を把握し、問題点を検討していく姿勢が求められるであろう。

謝 辞

発表の機会を下さいました会頭の森内浩幸先生、なら

びに座長の松本 正先生、増崎英明先生に深甚なる謝意を表します。

文 献

- 1) 日本産科婦人科学会 / 日本産婦人科医会. 産婦人科診療ガイドライン産科編 2014. 2014 : 99-102.
- 2) 三浦清徳, 増崎英明. 胎児染色体異常の母体血による出生前診断. 九州連合産科婦人科学会誌 2013 ; 64 : 23-29.
- 3) 三浦清徳, 増崎英明. 母体血を用いた胎児診断. 日本産婦人科・新生児血液学会誌 2014 ; 23 (2) : 9-18.
- 4) 三浦清徳, 増崎英明. 「診療ガイドライン産科編2014改訂と追加のポイント」出生前診断としての染色体検査・遺伝子検査の実施上の留意点. 臨床婦人科産科 2014 ; 68 (8) : 763-770.
- 5) Masuzaki H, et al. Detection of cell free placental DNA in maternal plasma : direct evidence from three cases of confined placental mosaicism. Journal of Medical Genetics 2004 ; 41 (4) : 289-292.
- 6) Lo YM, Chiu RW. Prenatal diagnosis : progress through plasma nucleic acids. Nat Rev Genet 2007 ; 8 : 71-77.
- 7) Miura K, et al. Clinical application of fetal sex determination using cell-free fetal DNA in pregnant carriers of X-linked genetic disorders. Journal of Human Genetics 2011 ; 56 : 296-299.
- 8) 日本産科婦人科学会. 出生前に行われる検査および診断に関する見解. 平成25年6月.
- 9) 日本産科婦人科学会倫理委員会・母体血を用いた新しい出生前遺伝学的検査に関する検討委員会. 母体血を用いた新しい出生前遺伝学的検査に関する指針. 平成25年3月.
- 10) 「母体血を用いた新しい出生前遺伝学的検査」についての共同声明 (社団法人日本医師会 会長横倉義武, 日本医学会 会長高久史麿, 公益社団法人日本産科婦人科学会 理事長小西郁生, 公益社団法人日本産婦人科医会 会長木下勝之, 一般社団法人日本人類遺伝学会 理事長福嶋義光). 平成25年3月9日.
- 11) Sago H, et al. Nationwide demonstration project of next-generation sequencing of cell-free DNA in maternal plasma in Japan : 1-year experience. Prenat Diagn 2015 ; 35 : 331-336.

〔Summary〕

In Japan, non-invasive prenatal testing (NIPT) has been started as of April 2013. Chromosomal abnormality, which includes aneuploidy and structural chromosome aberrations, has several mechanisms of origin and various phenotypes. Prenatal diagnostic tests to detect chromosomal abnormality have screening tests (e.g. maternal serum marker test and NIPT) and diagnostic tests (e.g. amniocentesis and chorionic villus sampling). Therefore, before prenatal genetic tests will be performed, pregnant women and/or their family should understand the significance of each test. To realize this

matter, in any cases of prenatal diagnosis, genetic counseling should be performed before the test. When NIPT was started in Nagasaki Japan, the lectures for citizens or medical staff were held not to fan social uneasiness regarding NIPT. We also reported the 1-year experience of a nationwide demonstration project to introduce NIPT of aneuploidy from maternal plasma and discuss how to implement this program in Japan.

〔Key words〕

cell-free DNA, maternal plasma, prenatal diagnosis, diagnostic test, screening test