

200719028A

厚生労働科学研究費補助金  
子ども家庭総合研究事業

アレイCGH法による流死産の原因解明と  
不育症に対する治療戦略の確立

(H19-子ども-若手-009)

平成19年度 総括研究報告書

平成20（2008）年3月

主任研究者 井原 規公

## 目 次

### I. 総括研究報告

アレイCGH法による流死産の原因解明と不育症に対する治療戦略の確立	-----	1
井原 規公		

(資料 1) アレイCGH法の結果報告書

(資料 2) 研究計画書

(資料 3) 試料および情報の流れ

(資料 4) 説明/同意書

### II. 分担研究報告

1. 流死産の遺伝学的解明を目的としたアレイCGH法の開発	-----	23
井本 逸勢 小澤 伸晃		

2. 医療者に対する着床前診断に関するアンケート	-----	29
井原 規公、小澤 伸晃、左合 治彦		

(資料) 着床前診断に関するアンケート用紙

3. 不育症診療の現状の把握	-----	47
小澤 伸晃、丸山 哲夫		

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	55
---------------------	-------	----

### IV. 研究成果の刊行物・別冊

1. 不育症における遺伝学的検査と着床前診断	-----	57
第52回日本人類遺伝学会 2007. 9. 12-15		
小澤 伸晃		

2. アレイCGH法を用いた流死産原因の遺伝学的解明	-----	58
第25回日本染色体遺伝子検査学会 2007. 11. 17-18		
小澤 伸晃、左合 治彦、井本 逸勢 他		

3. Thromboprophylaxis for recurrent miscarriage patients with decreased  
coagulation factor XII ----- 59  
AOCOG 2007. 9. 21-25  
Kagami M, Maruyama T, et al
4. 臨床遺伝学—診療に必要な最新情報 【遺伝カウンセリングの実際3】 ----- 60  
臨床婦人科産科 第61巻第9号 p. 1158-1163. 2007.  
小澤 伸晃

# I . 総括研究報告

## I. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（子ども家庭総合事業）

### 総括研究報告書

アレイCGH法による流死産の原因解明と不育症に対する治療戦略の確立

(H19-子ども-若手-009)

主任研究者	井原 規公	国立成育医療センター	周産期診療部	臨床研究員
分担研究者	小澤 伸晃	国立成育医療センター	周産期診療部	医長
分担研究者	左合 治彦	国立成育医療センター	周産期診療部	医長
分担研究者	井本 逸勢	東京医科歯科大学難治疾患研究所		准教授
分担研究者	丸山 哲夫	慶應義塾大学医学部	産婦人科学教室	講師

#### 研究要旨

【目的】流死産の原因解明は、次回妊娠に向けての患者自身の動機付けとしてだけでなく、次回妊娠のための治療方針を決定する上で重要な意味を持っている。そして、その最大の原因は染色体異常であるが、従来から行われている染色体検査では絨毛細胞を培養する必要があるため、培養失敗により結果が得られなかったり、流産で高頻度に生じる自然排出症例に対しては検索が不可能であった。そこで、流死産の遺伝学原因を徹底的に解明することを目的として、流死産検体に対してアレイCGH法による遺伝学的解析を行い、その有用性を検討した。

【方法】自然流死産時の絨毛検体に対して、通常染色体検査と同時に、凍結保存しておいた絨毛検体からDNAを抽出して、東京医科歯科大学難治疾患研究所（分担研究者：井本逸勢ら）で開発されたGenome Disorder Array（既知染色体異常症の疾患関連領域ならびに各染色体サブテロメア領域を含む、550個のBACクローンを配置）を用いてアレイCGH法による遺伝学検索を行った。

【結果】計17例に対してアレイCGH法による解析を行った。17例中手術時に絨毛サンプルを回収した症例は16例で、自宅で自然排出した進行流産症例は1例であった。自然排出以外の16例は同時に染色体検査を行ったが、倍数体を除いて染色体検査による結果はアレイCGH法においても確認が可能であった（正常核型2例、異数体9例、構造異常2例）。一方、倍数体2例はアレイCGH法では確認できなかった。自然排出1例に関してもアレイCGH法による検索は可能であった。

また、微細な染色体異常が17症例中1例に認められた。

【結論】アレイCGH法は従来の染色体検査の技術的問題を補完することが可能であり、現在のところ倍数体の検索など課題はあるものの、流死産の遺伝学的原因を徹底的に追究するために有用な手法と言える。また、全染色体を網羅的に高精度で検索することにより、新たな流死産の遺伝学的メカニズムを同定することも可能であると考えられた。

## 分担研究者

小澤伸晃	国立成育医療センター周産期診療部 不育診療科 医長
左合治彦	国立成育医療センター周産期診療部 胎児診療科 医長
井本逸勢	東京医科歯科大学難治疾患研究所 准教授
丸山哲夫	慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 講師

### A. 研究目的

全妊娠の約15%は自然流産に至り、既婚婦人の4人に1人は流産の既往があると推定されており、流産自体は決して稀な疾患ではないが、妊娠年齢の高齢化が進み核家族社会といわれる現代では、流産に至った患者夫婦が受ける精神的・肉体的打撃はきわめて深刻である。長足の進歩を遂げる不妊治療により妊娠成立が可能になったとしても、その後に起きる流死産は結果的に生児獲得を妨げることになる。年間約110万件の出生件数に対して、流死産などの生殖のロスは約20万件にも及ぶと予想され、その原因の解明と流死産防止のための適切な方策を講じていくことは医療上のみならず社会的にも重要な課題である。また流死産を2回以上繰り返す不育症患者に対する診療においては、その病態が明らかでないために不必要な検査、あるいは治療が患者夫婦に強いられるケースも多く、さらにそのほとんどが自費診療で行われている現実を考えると、患者夫婦にかかる負担はきわめて重大である。

以上のような背景の下に、本研究では流死産の原因追及のためにアレイCGH法を用いて微細なゲノム異常を全染色体にわたって俯瞰的に検索し、病理学的所見などと併せて流死産の細胞遺伝学的メカニズムを明らかにして、最終的に不

育症診療を確立することを目的とする。本研究により、流死産の原因が新たに解明できる可能性も高く生殖医学への貢献は多大であり、流死産の原因が遺伝的異常である場合は不育症に対する不必要な検査や治療を回避することが可能であり、両親の微細な染色体構造異常が流死産の原因となっていた場合は、着床前診断法により流死産を予防することも可能である。また流死産物の遺伝学的異常を完全に解明することにより、現在行われている不育症診療を検証し、その診療体系を確立することが可能であり、流死産に悩む患者夫婦にとって多大な利益になると同時に生殖医療における保険診療を整備することにも繋がる。そして流死産が予防できることは結果的に出生数を増加することに帰結するため、本研究は少子化対策としても行政的価値は高い。さらに組織より抽出したDNAを用いてゲノムワイドに行われるアレイCGH法は、これまで生殖や周産期領域の臨床の場で用いられることはなかったが、本研究の成果によっては高精度の出生前診断を容易に行う診断ツールとして将来的に発展することも期待できる。

### B. 研究方法

国立成育医療センター周産期診療部や慶應義塾大学病院産婦人科ならびに研究協力施設にて流死産に至った症例を対象として、患者背景や施行された検査治療を含むプロフィールを作成し、流死産時に得られた胎盤あるいは胎児に対してアレイCGH法を用いて流死産の遺伝学的原因を追究した。

研究開始前には、国立成育医療センターの施設倫理委員会に本研究に関して申請し（分担研究者：小澤伸晃）、平成19年7月に実施の承認を得た（資料：研究計画書、試料と情報の流れ）。また同時に研究参加者に対する説明書ならび

に同意書も作成した（資料：説明書/同意書）。

流死産絨毛は子宮内容除去術施行時に回収し、病理組織検索、染色体培養のための組織を分離後、検体の一部を数箇所に分けて凍結保存した。凍結保存検体からDNAを抽出し、マイクロアレイCGH解析を行った。CGHマイクロアレイとしては、Genome-Disorder Arrayを用いて行ったが、このアレイは東京医科歯科大学難治疾患研究所ゲノム応用医学研究部門分子細胞遺伝グループ（稲澤譲治教授、分担研究者：井本逸勢）にて開発されたアレイで、既知染色体異常症の疾患関連領域ならびに各染色体サブテロメア領域を含む、550個のBACクローンが配置されている（解析限界領域サイズは0.1~0.3Mb）。

アレイCGHによる解析は、株式会社ビー・エム・エルにて行った。具体的には、抽出したゲノムDNA1.5μgを酵素処理後に、PCR purification kitを用いて精製し、Cy3-またはCy5-dCTPを用いて、labelling kitにより標識DNAを作製し、アレイスライド上にDNAprobe液を載せ、チャンバー内で48~72時間のハイブリダイゼーションを行った。洗浄後、アレイスキャナーにより蛍光強度を測定し、コンピューター解析を行った（参考：分担研究報告、流死産の遺伝学的解明を目的としたアレイCGH法の開発）。

#### （倫理面の配慮）

本研究の実施にあたってはヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針に準じて、施設倫理委員会の許可を事前を取得した。

患者夫婦に対しては、研究目的、方法、予測される成果、研究協力は強制ではないこと、同意が得られない場合にも診療上の不利益は受けられないことなどを説明し、理解の上で書面によるインフォームド・コンセントを取得できた症例のみを研究対象とした。本研究では流死産とな

った検体を用いるため患者夫婦の身体への危険性はないものの、遺伝学的異常が検出された場合には患者夫婦の心身的ストレスは多大であることが予想されるため、遺伝専門医による遺伝カウンセリングならびにサポート体制を確立して研究は進められた。

また、診療情報を記載した診療情報シートは各施設で作製し厳格に保管し、抽出したDNAを用いた検討では試料に連結可能匿名化処理を施し、情報秘守・管理体制の徹底により個人情報の漏洩を予防した。

#### C. 研究結果

自然流産検体17例に対してGenome-Disorder Arrayを用いたアレイCGH法による解析を行った。17例中手術時に絨毛サンプルを回収した症例は16例で、自宅で自然排出した進行流産症例は1例であった。

図1に17症例の内訳ならびにアレイCGHの結果を示す（資料に、症例11の実際の結果コピーを示す）。17症例中、自然排出以外の16例は同時に染色体検査を行ったが、倍数体を除く症例でアレイCGH法においても診断は可能であった（正常核型2例、異数体9例、構造異常2例）。一方、倍数体2例はアレイCGHでは確認できなかった。自然排出例に関してもアレイCGH法による検索は可能であった。また微細な染色体異常は17症例中1例に認められた。

#### D. 考察

流死産の遺伝学的原因検索としては、従来から染色体検査が行われているが、培養失敗となった場合は結果が得られなかったり、自宅で自然排出となった症例では解析ができないなどの問題点があった。今回導入したアレイCGH法による解析では、検査に必要な量のDNAが抽出さ

えできれば検索が可能であり、培養による影響は受けず、自然排出検体からの診断も可能になると考えられた。今回の症例においても自然排出を含むすべての症例で解析は可能であった。そして倍数体を除いて染色体検査の結果を確認することができた。アレイCGH法では検体のゲノム量と対照DNA量を等量にして比較するため倍数体を検索することは不可能である。今後アレイCGH法を臨床応用して行くためには、流死産検体では比較的高頻度に検出される倍数体に対する検索法をいかにすべきか考慮していく必要がある。

また、アレイCGH法では通常の染色体分析に比べて高解像度の解析が可能であるため、微細な染色体異常と流死産との関係や流死産を引き起こす遺伝子の探索も将来可能になることが期待できる。

#### E. 結論

アレイCGH法は従来の染色体検査の技術的問題を補完すると同時に、全染色体を網羅的に高解像度で検索することが可能であり、流死産の遺伝学的要因で高頻度に発生する染色体異常を正確に検出する上でも、また新たな流死産の遺伝学的メカニズムを同定するためにも有用であると考えられた。

母体要因に対して行われる不育症診療の妥当性や必要性を立証するためには、胎児側要因による流死産例を除外することが大前提であり、

今回の胎児側要因の徹底的検索は不育症診療を整備し確立するための絶対条件であると考えられた。

#### F. 健康危険情報

該当せず。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

「アレイCGH診断活用ガイドブック 12. 流死産物を試料とした解析」(医薬ジャーナル社 2008. 2. 15)

##### 2. 学会発表

「不育診療における遺伝学的検査と着床前診断」(第52回日本人類遺伝学会シンポジウム 2007. 9. 12-15)

「アレイCGH法を用いた流死産原因の遺伝学的解明」(第25回日本染色体遺伝子検査学会 2007. 11. 17-18)

#### H. 知的財産件の出願・登録状況

(予定も含む)

##### 1. 特許取得

なし。

##### 2. 実用新案登録

なし。

##### 3. その他

なし。



図1 流死産検体に対するアレイCGH法による検索

染色体核型 → アレイCGH結果

**染色体検査正常**

症例1 (流産手術検体) 46, XY → 異常認めず  
 症例2 (流産手術検体) 46, XX → 異常認めず

**染色体検査で異数性異常あり**

症例3 (流産手術検体) 45, X → X (/XX)  
 症例4 (流産手術検体) 47, XX, +7 → +7  
 症例5 (流産手術検体) 47, XX, +15 → +15  
 症例6 (流産手術検体) 47, XX, +16 → +16  
 症例7 (流産手術検体) 47, XX, +16 → +16  
 症例8 (流産手術検体) 47, XX, +17 → +17  
 症例9 (流産手術検体) 47, XX, +21 → +21  
 症例10 (流産手術検体) 47, XX, +21 → +21  
 症例11 (流産手術検体) 49, XX, +7, +21, +22 → +7, +21, +22

**染色体検査で構造異常あり**

症例12 (流産手術検体) 46, XY, add(4)(p16) → 4p16.3-16.2欠失  
 症例13 (流産手術検体) 46, XY, der(6)t(6;7)(q25.1;p21) → 6q27欠失、7p22.3過剰

**染色体検査で倍数体**

症例14 (流産手術検体) 69, XXY → 異常認めず  
 症例15 (流産手術検体) 92, XXXX → 異常認めず

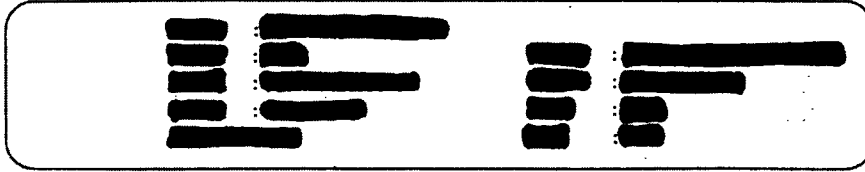
**染色体検査で異常ないものの、アレイCGH法で微細異常あり**

症例16 (流産手術検体) 46, XY → XY/XXY、15q26.3欠失

**自然排出例で染色体検査不可**

症例17 (自然排出検体) 分析なし → +22

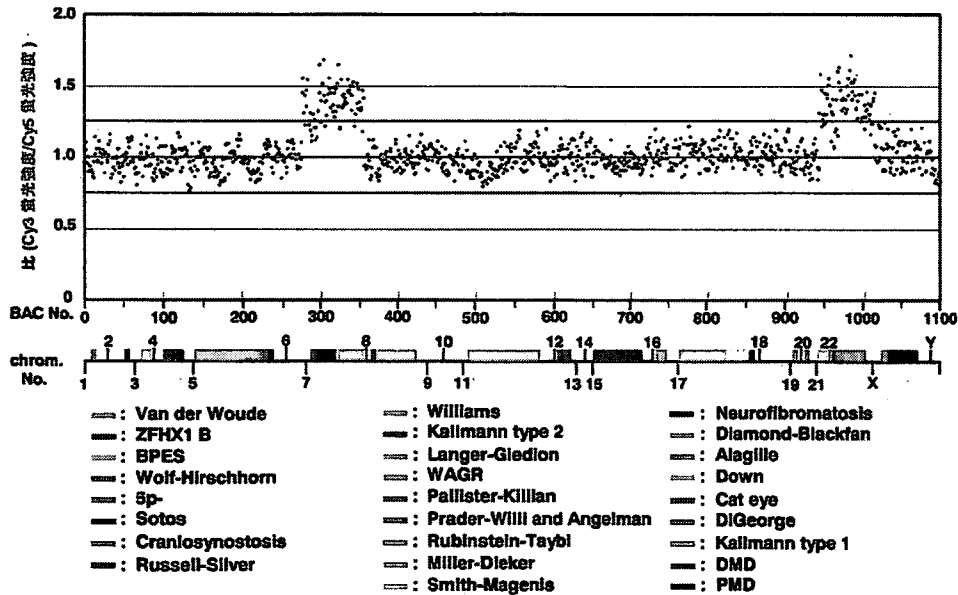
## CGHマイクロアレイ法による先天異常解析



**【結果】** 7番、21番、及び22番染色体にDNAの過剰を示すシグナルの変化が認められました。

【判定法】 Cys(患者)とCys(対象)の比が0.75以下の領域は欠失、1.25以上の領域は過剰として判定します。

【ご注意】 染色体の微細欠失や過剰などで引き起こされる多くの隣接遺伝子症候群、奇形症候群などは、その特徴的な診断所見から染色体の異常部位が推定できます。それに呼応した微細領域のコピー数異常が本検査にて検出されましたら判定は確定的ですが、非典型例では本検査の配置プローブでもコピー数異常を捉えきれないことがあります。  
(解析限界領域サイズはおおよそ0.1~0.3Mbまで)



解析結果及び主な疾患に対応したBACの位置

**【コメント】**

GDアレイは第1-22番ならびにX,Y染色体をカバーする550個のDNAクローンが配置されています。今回のゲノムアレイの解析では、7番染色体短・長腕領域に座位する31個のBACクローン、21番染色体長腕領域に座位する8個のBACクローン、及び22番染色体長腕領域に座位する24個のBACクローンの1コピー過剰を検出しました。しかし、7番と21番染色体の過剰シグナルが連続する領域内には、正常なシグナルバランスを示す狭い領域が認められることから、単純なトリソミーではなく、何らかの構造異常も伴っている可能性があります。

## 研究計画書

平成 19 年 7 月 5 日

### 1. 研究課題名

流死産に対するCGHマイクロアレイ法を用いた微細染色体異常の探索

### 2. 研究責任者

小澤伸晃 (国立成育医療センター 周産期診療部不育診療科 医長)

### 3. 研究組織

北川道弘 (国立成育医療センター 周産期診療部 部長)

左合治彦 (国立成育医療センター 周産期診療部胎児診療科 医長)

井原規公 (国立成育医療センター 周産期診療部 臨床研究員)

奥山虎之 (国立成育医療センター 特殊診療部遺伝診療科 医長)

松岡健太郎 (国立成育医療センター 臨床検査部病理検査室 医員)

井本逸勢 (東京医科歯科大学難治疾患研究所 准教授)

丸山哲夫 (慶應義塾大学病院産婦人科学教室 専任講師)

### 4. 役割分担

小澤伸晃：研究の統括、説明/同意、診療情報の収集、試料の採取、結果の解析、  
臨床データとの関連付け

北川道弘：説明/同意、試料の採取、結果の解析、臨床データとの関連付け

左合治彦：説明/同意、試料の採取、結果の解析、臨床データとの関連付け

井原規公：説明/同意、診療情報の収集、試料の採取、臨床データとの関連付け

奥山虎之：結果の解析

松岡健太郎：試料の採取、臨床データとの関連付け

井本逸勢：結果の解析

丸山哲夫：説明/同意、診療情報の収集、試料の採取、結果の解析、  
臨床データとの関連付け

### 5. 研究背景

年間約110万件の出生件数に対して、流死産などの生殖のロスは年間約20万件にも及んでおり、流死産は決して稀な疾患ではないが、妊娠年齢の高齢化が進み核家族社会といわれる現代では、流死産に至った患者夫婦が受ける精神的・肉体的打撃はきわめて深刻である。長足の進歩を遂げる不妊治療により妊娠成立が可能になったとしても、その後起きる流死産は結果的に生児獲得を妨げることになる。

そのため流死産予防のための治療戦略が確立されれば、多くの挙児希望患者が恩恵を受けることができると予想されるが、その原因解明に関する基礎的研究が立ち遅れているために、結果的に現状では不育症夫婦などに対して不必要な検査あるいは治療が強いられていることもある。

CGH法は細胞から抽出した高分子DNAをプローブとしてヒト染色体のコピー数の変化を測定するゲノム解析技術であり、近年ではマイクロアレイへ応用したCGHマイクロアレイ法が開発され、数10kb～数Mbのサブバンドレベルまでをhigh-throughputに解析することが可能となっている。現在では腫瘍における染色体異常の検索や本態不明の遺伝疾患や自閉症、精神発達遅滞などの病態解明のための強力な診断ツールとして応用されている。

## 6. 研究目的

本研究では流死産に至った症例の患者背景や施行された検査や治療法などの診療情報を含むプロフィールを作成し、流死産時に得られた流死産組織からDNAを抽出しCGHマイクロアレイ法による遺伝学的解析を行い、G分染法などの通常の検索法では検出されなかった微細染色体異常の有無を全染色体にわたって探索することを目的とする。そして最終的には流死産の遺伝学的メカニズムを解明し、不育症に対する診療体系を確立することを目指す。

## 7. 研究対象

国立成育医療センターならびに研究協力施設で原因不明の流死産に至り、流死産組織を回収できた症例を対象とする。

## 8. 被験体数の設定

流産検体の約60%では染色体異常が検出され、アレイCGH法を用いた過去の報告では染色体正常流産検体の約5%に新しい異常が検出されたとの報告がある。今回は約150～200症例を予定し、約60～80検体の染色体正常検体が含まれると予想している。

## 9. 研究期間

倫理委員会の承認から平成22年3月までの約3年間を予定している。

## 10. 研究方法

- ① 産手術あるいは分娩誘発の前に検体提供者に研究計画を説明し、書面によるインフォームド・コンセントを取得する。
- ② 検体提供者の臨床経過、検査結果、治療方法などの診療情報を記載した診療情報シートを作成する。
- ③ 流死産時に得られた胎盤組織や胎児成分の一部を、通常の病理学的検査ならびに G 分染法に用いる検体とは別に一部採取して凍結保存する。
- ④ 凍結組織を検査委託機関である株式会社ビー・エム・エルに搬送し、DNA を抽出後、東京医科歯科大学難治疾患研究所（稲澤譲治教授）指導の下に CGH マイクロアレイを用いて、遺伝学的解析を行う。実際には東京医科歯科大学難治疾患研究所で開発された MCG Genome-Disorder Array（既知の疾患座位を 561 個の BAC クローンでカバーした遺伝疾患の診断用アレイ）あるいは MCG Whole Genome Array-4500（全染色体を 4523 個の BAC クローンでカバーする高密度アレイ）を使用する予定である。
- ⑤ CGH マイクロアレイ法により得られた結果を東京医科歯科大学難治疾患研究所と協力して解析検討する。
- ⑥ 微細染色体異常の解析の過程で、正常変異かどうかの検索など胎児両親の遺伝的検索が必要となった場合は、胎児両親の同意の下に血液を採取し DNA を抽出して同様のアレイ解析を行う。また微細な相互転座が疑われる場合は、分裂中期細胞に対する FISH 法により解析を行う。
- ⑦ CGH マイクロアレイ法により得られた結果を G 分染法による染色体分析の結果と対比する。
- ⑧ CGH マイクロアレイ法ならびに G 分染法で得られた結果を病理学的検索結果や診療情報シートの臨床情報と関連させる。
- ⑨ CGH マイクロアレイ法の結果を検体提供者に開示する。

## 11. 予測される成果・研究の意義

本研究により流死産の原因が新たに同定できる可能性も高く、流死産の原因が遺伝的異常である場合は、不育症に対する不必要な検査や治療を回避することが可能であり、不育症診療体系の整備確立に繋がる。微細な染色体構造異常が流死産の原因となっていた場合は、将来的には着床前診断法により流死産を予防することも可能である。

また組織より抽出したDNAを用いてゲノムワイドに解析することが可能であるCGHマイクロアレイ法は、これまで生殖や周産期領域の臨床の場で用いられることはなかったが、本研究の成果によっては高精度の

出生前診断を容易に行う診断ツールとして将来的に応用していくことも可能である。

## 12. 研究協力者のメリット・デメリット

流死産に至った原因を特定することは、次回の妊娠に対する動機付けや治療方針の決定のために重要な意義がある。一方で、流死産時に得られた臨床検体を用いた研究であり、研究協力者の身体的危険性などのデメリットはないが、胎児両親の検索も必要となった場合は新たに採血をする必要がある。

また個人情報の漏洩などによる社会的不利益に対しては、「13. 個人情報の保護・研究成果の取扱い」に述べる手順に従い、連結可能匿名化、情報秘守・管理体制の徹底等によりその発生を防止する。遺伝子解析に対する精神的不安などの心理的不利益に対しては、希望があれば臨床遺伝専門医による遺伝カウンセリングを適宜行い対処する。

## 13. 個人情報の保護・研究成果の取扱い

診療情報シートと採取された試料には各々符号をつけて、研究責任者の下で連結可能匿名化し、患者識別対応表は個人情報管理者の下で管理保護する。診療情報シートは研究責任者がパスワードを設定したデスクトップのパソコン内に保管する。

研究の進展により特許などの知的財産権が生じても、試料提供者には帰属しない。また研究成果はプライバシーの保護に十分留意して学術論文ならびに学会発表を通して公表する予定である。

## 14. 研究終了後の試料の取扱い

本研究期間終了1年後には、保存検体や抽出したDNAは連結不可能匿名化した状態にして、国立成育医療センター内で保存する。将来さらなる研究で検索が必要となった場合は倫理委員会の承認を受けて使用を考慮する。提供者からの希望があれば研究期間ならびに研究期間終了1年以内の間であれば検体はいつでも廃棄する。

## 15. 研究協力の自由と撤回権

対象となるご夫婦に対しては、別紙の内容の説明・同意書を用意して説明を行い、理解の上で自由な意思で研究に協力するか否かを決定していただく。この説明書には研究の目的、方法、予測される成果、研究組織、本研究への協力は強制ではないこと、同意しない場合であっても診療上いかなる不利益も受けないことなどが記載されている。同意の得られた方には「研究への同意文書」に署名していただく。この同意は、研究期間ならびに研究期間終了1年以内の間であればいつでも希望により取り消すことが可能である。

## 16. 費用負担

本研究に関するすべての費用は研究費より賄われ、試料提供者の負担は一切ない。

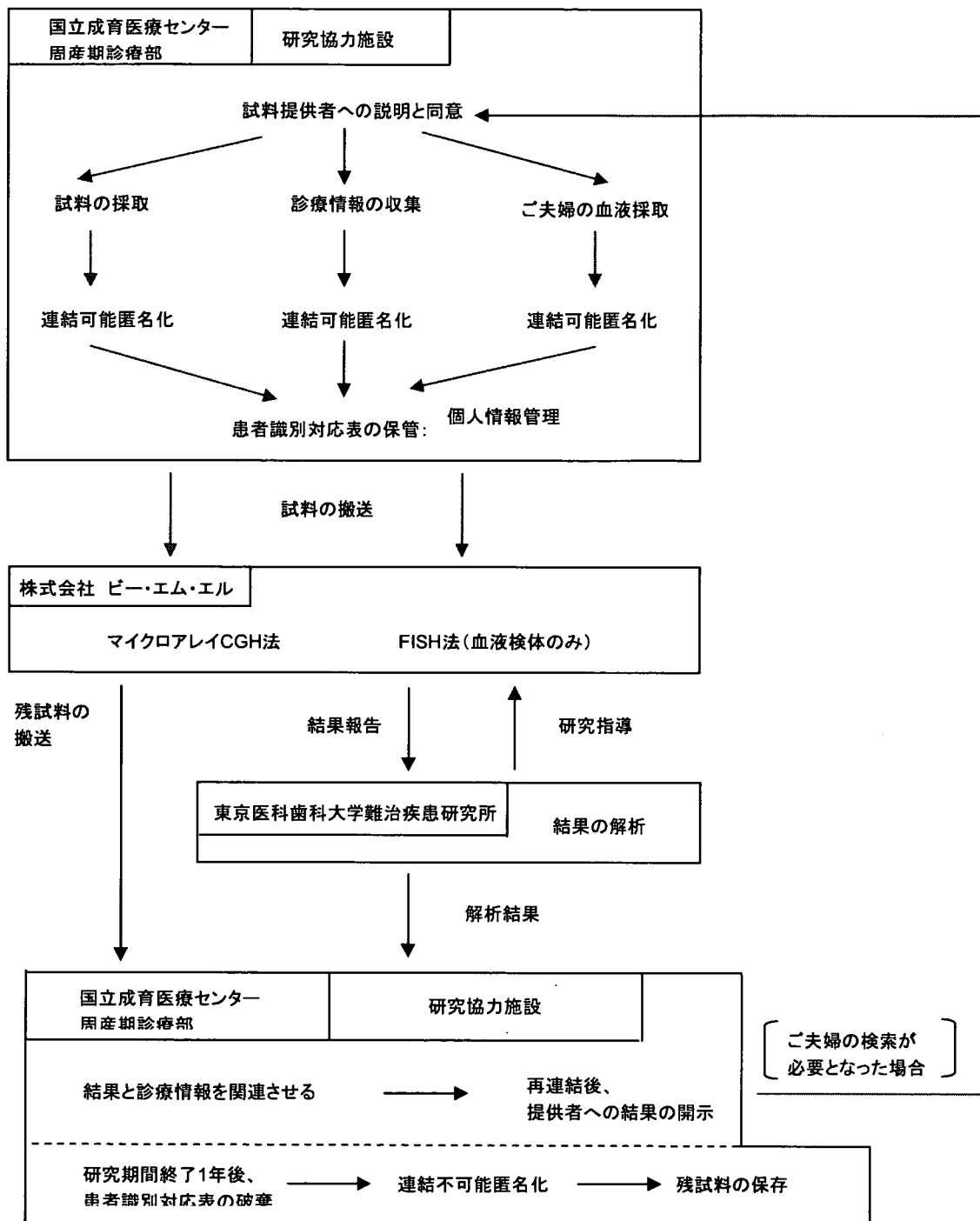
平成19年度厚生労働科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）

H19-子ども-若手-009

17. 試料及び情報の流れを示した図

18. 医療情報シート

資料3 試料および情報の流れ





#### 資料4 説明書、同意書

「流死産に対するCGHマイクロアレイ法を用いた微細染色体異常の探索」研究へのご協力のお願い

私たちは、流産や死産の原因を明らかにするために、通常の染色体検査では異常が検出されない微細な染色体異常について、CGHマイクロアレイ法という解析法を用いて探索する研究を行っています。

子どもを望むご家族にとって、流死産のもたらす精神的あるいは肉体的な負担は多大であり、私たちは医療者としてできるだけその負担を軽減できる方法を将来的に開発することを目指しています。そして、そのためには流死産となった原因を明らかにして、行われた治療法を検証していくことが重要であると考えています。これまでも病理検査や染色体検査などは行われていましたが、染色体検査は遺伝学的な流死産のメカニズムを探索する上で決して十分な検査法であるとは言えず、今回の方法を併用して行うことにより、その精度を高めるとともに、新たな流死産の原因についても見出したいと考えています。

流死産の原因が明らかになれば、将来的に何らかの治療方法の開発が可能になることも期待できます。もちろん今回の方法を用いても、すべての流死産の原因を明らかにすることができるわけではありませんが、遺伝学的な異常の有無を明らかにすることは、今後の治療方法を考えていく上でも大変重要な情報になると思われます。

具体的には、まず、あなた方にこの研究へのご協力をお願いするため、研究の内容を含め、あなた方が同意するための手続きについて説明を行います。あなた方がこの説明をよく理解でき、研究に協力して流死産時に得られた検体やあなた方ご夫婦の血液検体を提供することに同意しても良いと考える場合には、「研究への同意文書」に署名することにより同意の表明をお願い致します。

以下の説明書をお読みいただき研究の趣旨をご理解いただいた上、研究にご協力いただければ幸いです。

研究責任者 国立成育医療センター  
周産期診療部 小澤伸晃

## 今回の研究をご理解していただくために

### 1. 染色体と流死産

染色体は生物の体を作り上げている細胞の核の内部にあり、ヒトの体細胞には、両親各々から23本ずつの染色体を受け継いで、計46本の染色体が含まれています。染色体のなかにはDNAが存在し、そのDNA上には多数の遺伝子が連なっています。遺伝情報にしたがって生命は形造られ、維持され、活動することになりますので、染色体の一部に異常が存在すると、生命が脅かされたり、先天異常や様々な病気の原因となることがあります。流産や死産となった検体では、染色体の数が増えていたり、減っていたりするなどの異常が多くみられることが報告されていますが、染色体の一部の微小な領域の過不足であっても流死産の原因になることが考えられます。

### 2. 研究の目的

この研究は、微細な染色体異常と流産や死産との関係を明らかにして、流死産の遺伝学的な原因を明らかにしようとするものです。将来的には流死産を予防するための診療に役立てようと考えています。

### 3. 研究の対象

原因不明の流産や死産に至った症例を対象といたします。

### 4. 研究の期間

この研究の実施期間は2010年3月までの約3年間の予定です。

### 5. 研究組織

この研究は以下の施設が協力して行っています。

- 1) 国立成育医療センター 周産期診療部、遺伝診療科、病理検査室
- 2) 東京医科歯科大学難治疾患研究所
- 3) 慶應義塾大学医学部産婦人科学教室

### 6. 研究の概要

流産や死産の際は、通常得られた胎盤組織や胎児成分などの流死産組織を原因検索のために病理検査や染色体検査などに提出しています。今回はその一部の残余検体からDNAを抽出して、CGHマイクロアレイ法による解析をあらたに加えて、通常の染色体検査では検出できない微細な染色体異常についても探索いたします。検査結果は臨床情報とあわせて解析し、今後の診療に役立てていきたいと考えています。

## 7. 研究でご協力して頂きたいこと

今回の研究に際しては、流産手術や分娩処置の際に得られる検体の一部を提供していただくことと、外来や入院中に行われた検査や治療などの診療内容を検査結果を解析するための情報として使用させていただくことをお願いします。また、検査結果の正確な解釈のためにあなた方ご夫婦の検索が必要になった場合は、採血により血液検体の提供をお願いいたします（8. 参照）。

## 8. あなた方の検索が必要な場合

流死産組織に対するマイクロアレイ CGH 法で異常が検出されても、あなた方ご夫婦のどちらかが同様の異常を持っている場合は病的な意義はないことが考えられます。また、あなた方ご夫婦のどちらかが何らかの異常を持っていて、それによって致命的な異常が引き起こされて流死産となっている場合もあります。そのため解析結果を適切に評価するために、あなた方ご夫婦の検査が必要になる場合があります。その際は、改めてご説明いたしますが、ご同意が得られれば血液を採取して同様な方法あるいは染色体標本作製して検索させていただきます。

## 9. 研究に協力することによる利益と不利益

本研究により流死産検体で染色体の微細な異常が検出された場合には、今後の診療や家族への遺伝カウンセリング上有益な情報となる場合があります。また、本研究によって得られた成果は流死産のメカニズムを解明することに必要であると同時に、新しい知見にもとづく病気の診断や治療法の開発につながります。

一方、検体を提供していただくことを除いて、あなた方のご負担はありません。また、次に述べるような方法で機密保持を行うことにより、遺伝学的検査の結果や診療情報が外部に漏れることもありません（10. 参照）。

## 10. どの様にプライバシーは保護されるか

遺伝学的検査の研究結果は、様々な問題を引き起こす可能性があるため、他の人には漏れないように、取扱いを慎重に行う必要があります。試料である流死産組織や血液検体、診療情報は、分析する前に診療録や試料の整理簿から、住所、氏名、生年月日などを削り、代わりに新しく符号をつけます。あなた方とこの符号を結びつける対応表は、国立成育医療センターの個人情報管理者である名取道也副院長が厳重に保管します。このようにすることによって、あなた方の遺伝学的検査の結果は、分析を行う研究者にも、あなた方のものであると分からなくなります。ただし、解析の結果についてあなた方に説明する場合など

は、必要に応じて成育医療センターにおいてこの符号を元の氏名などに戻す操作を行い、結果をあなた方にお知らせすることが可能となります。

#### 11. 提供していただいた検体や検査の結果はどのように解析されるか

流死産時に得られた流死産組織から、病理検査や染色体検査のために必要な検体を採取した後で、一部を凍結して保存します。その後、その試料を検査委託機関である株式会社ビー・エム・エルに搬送し、DNAを抽出してCGHマイクロアレイ法による解析を行っていただきます。そして検査結果を共同研究機関である東京医科歯科大学難治疾患研究所と国立成育医療センターで解析し、最終的に臨床情報との関連性を国立成育医療センターで検討します。

#### 12. 研究終了後、提供していただいた検体はどう保存されるか

今回の検討で新たな知見が得られなくても、近い将来にさらなる探索の手法や候補遺伝子が発見される可能性も少なくはありません。そのような場合に備えて、ご承諾を頂ければ、提供頂いた試料を本研究期間終了1年後に個人情報（氏名、生年月日、性別、住所など）をとりのぞき、新たな符号をつけて匿名化した状態にして、以後国立成育医療センター内で保存していきたいと存じます（検体はあなた方のものと特定できなくなります）。保存を希望されない場合は、研究期間終了1年後にすべての試料は適切な方法で廃棄します。

#### 13. 研究結果はどう利用されるか

あなた方のご協力によって得られた研究の成果は、学会発表や学術雑誌およびデータベース上で公に発表されることがあります。もちろんその際に、個人が特定されることは決してありません。

#### 14. 知的財産の帰属について

研究の進展によっては特許などの知的財産権が生ずる可能性もありますが、その場合、その知的財産権は、試料やDNAをご提供いただいた方には帰属しません。

#### 15. 検査の費用について

この研究にかかわる一切の費用は研究費により支払われますので、あなた方の金銭的ご負担は全くありません。

#### 16. 解析結果の報告について