

図2 母親年齢別出生児数の変化

表1 マイクロサテライト解析結果による upd(15)mat の分類

| 座位 | 位置 | 解析結果 | |
|----------|------|---|------------------------------|
| D15S541 | 11.2 | ヘテロダイソミー アイソダイソミー アイソダイソミー | |
| D15S542 | 11.7 | | |
| D15S1035 | 11.2 | | |
| D15G1 | 11.2 | ヘテロダイソミー 1座位以上で または ヘテロダイソミー アイソダイソミー | |
| D15S1034 | 11.1 | | |
| D15S1037 | 11.2 | | |
| D15S1038 | 11.2 | UPD by TR/GC (Meiosis 1) | |
| D15S1039 | 11.2 | | UPD by TR/GC (Meiosis 2) |
| D15S1040 | 11.2 | | |
| D15S1041 | 11.1 | | |
| D15S642 | 12.0 | | |

(Robinson WP, et al. : Maternal meiosis I non-disjunction of chromosome 15 : dependence of the maternal age effect on level of recombination. *Hum Mol Genet* 7 : 1011-1019, 1998)

ligation-dependent probe amplification) 法を行い、PWS-IC を含む微小欠失が認められたものを「IC 微小欠失群」、認められなかったものを「エビ変異群」とした。

さらに、マイクロサテライト解析結果により、upd(15)mat を下記のサブタイプに分類した(表1)。

①動原体近傍の3座位(D15S541, D15S542, D15S1035)のうち1座位以上でヘテロダイソミーが認められた場合、第1減数分裂不分離後の

TR または GC による upd(15)mat (「TR/GC [M1] 群」)とした。これは図1に示すように、第1減数分裂不分離が生じると、動原体周辺がヘテロダイソミー状態になるためである(なお、遠位部は組み換えが奇数回であればアイソダイソミーとなり、偶数回であればヘテロダイソミーとなるため、これを指標にすることはできない)。

②動原体近傍の3座位がアイソダイソミーを示し、それ以外の1座位以上でヘテロダイソミーが認められた場合、第2減数分裂不分離後の TR

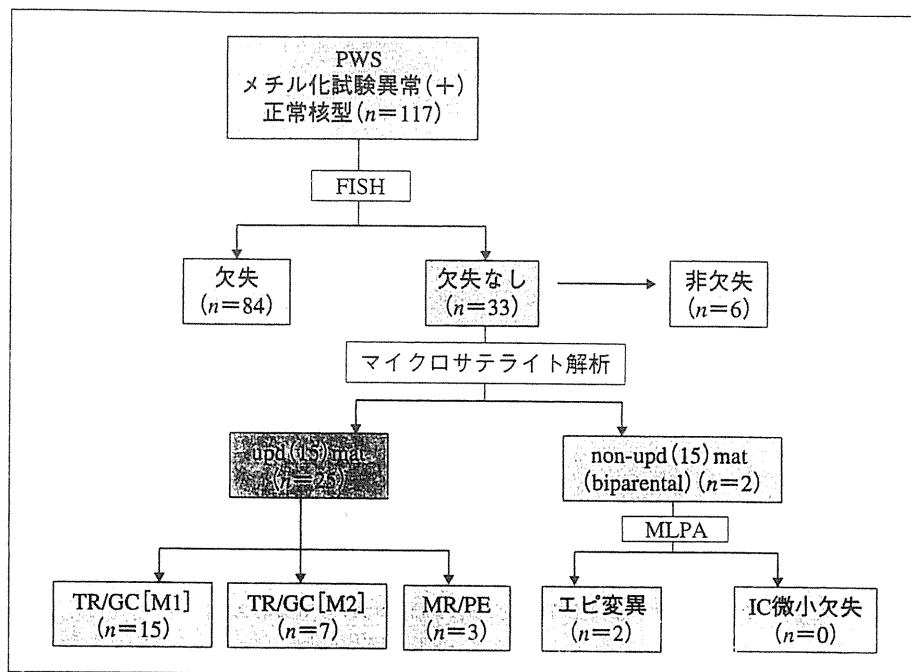


図3 日本人 PWS 117 名の分子遺伝学的解析結果

または GC による upd(15)mat (「TR/GC [M2] 群」とした。これは図 1 に示すように、第 2 減数分裂不分離が生じると、動原体周辺がアイソダイソミー状態になるためである (なお、遠位部は組み換えが奇数回であればヘテロダイソミーとなり、偶数回であればアイソダイソミーとなるため、③に示す MR との鑑別には中部から遠位部にヘテロダイソミーが存在するか否かが重要である)。

③有意な情報の得られたすべての座位でアイソダイソミーが認められた場合、MR または PE による upd(15)mat (「MR/PE 群」とした。これは図 1 に示すように、MR ではすべての座位がアイソダイソミーとなり、PE では体細胞分裂過程における姉妹染色分体間の組み換えがない限りすべての座位がアイソダイソミーとなるためである (なお、正常細胞とのモザイクの存在や部分的アイソダイソミーの存在は PE に特徴的である)。

ここで、TR と GC を区別することは不可能であるが、いずれも 2 倍体の卵子により介在される点で共通しており、高齢出産の影響は同等であると考えられる。一方、MR と PE は卵形成過程には異常がみられない現象であり、高齢出産の影響を受けない。

解析の結果、84 名の「欠失群」、15 名の「TR/GC [M1] 群」、7 名の「TR/GC [M2] 群」、3 名の「MR/PE 群」、2 名の「エピソード群」が同定された (図 3)。また、FISH 解析で欠失が認められなかった症例のうち、6 名で両親によるマイクロサテライト解析の同意を得られなかったため、この 6 症例を「非欠失群」と分類した。PE を示唆するような部分的なアイソダイソミーや正常細胞とのモザイクを呈した症例は同定されなかった。

b. 出産年齢と病因

図 4-a に、各発症原因別の患者出生時における両親の年齢の分布を示す。「TR/GC [M1] 群」における患者出生時母親年齢はすべて 35 歳以上 (中央値 37 歳、範囲 35~45 歳) であり、「欠失群」の母親年齢 (中央値 30 歳、範囲 19~42 歳) に比較して有意に高齢であった ($p=1.0 \times 10^{-7}$)。また、一般集団において高齢出産傾向が顕著となった 2003 年以降に出生した PWS 患者の患者出生時母親年齢は、2002 年以前出生群のそれと比し有意に上昇しており ($p=0.00017$)、PWS 患者集団においても 2003 年以降の高齢出産傾向は明らかであった (表 2)。

次に、2002 年以前と 2003 年以降に出生した患

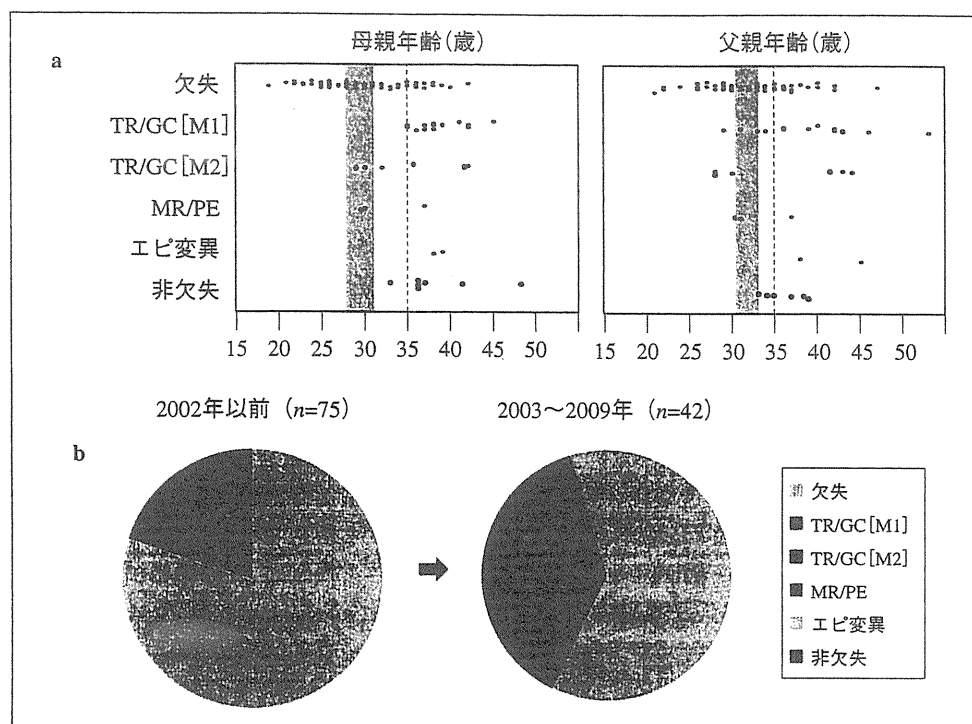


図4 各群の両親年齢，相対的頻度の比較

a：各発症原因別の患者出生時の両親年齢の分布を示した。図中のグレーのバーで示された範囲は1970～2008年に出生した児の両親年齢の平均値である

b：2002年以前と2003年以降に出生した患者群におけるPWS病因の相対的頻度の比較

表2 患者出生時の両親年齢

| 発症原因 | 平均年齢 | 2002年以前 | 2003年以降 |
|------|------|------------------|--------------------|
| | | 出生群 | 出生群 |
| 母親年齢 | 平均値 | 30 ^{*1} | 35 ^{*1} |
| | 範囲 | 19～48 | 23～45 |
| | 人数 | 75 | 42 |
| 父親年齢 | 平均値 | 33 ^{*2} | 34.5 ^{*2} |
| | 範囲 | 21～47 | 22～53 |
| | 人数 | 72 | 42 |

*1: $p=0.00017$, *2: $p=0.12$

者群において，各発症原因の相対的頻度を比較した(図4-b)。2002年以前に出生した患者75名中，「欠失群」が60名，「TR/GC [M1] 群」が3名，「TR/GC [M2] 群」が5名，「MR/PE 群」が1名，「非欠失群」が6名であった。一方，2003年以降に出生した患者42名では，「欠失群」が24名，「TR/GC [M1] 群」が12名，「TR/GC [M2] 群」が2名，「MR/PE 群」が2名，「エピ変異群」が2名であり，2003年以降出生群において「TR/

GC [M1] 群」の相対的頻度は有意に上昇していた($p=1.8 \times 10^{-7}$)。2002年以前出生群に含まれる6名の「非欠失群」の患者すべてが「TR/GC [M1] 群」であったと仮定しても，2003年前後において「TR/GC [M1] 群」の相対的頻度は有意に増加していた($p=0.025$)。

上記の解析結果は，患者出生時の母親の高年齢が「TR/GC [M1] 群」による $\text{upd}(15)\text{mat}$ 発症のリスク因子であることを示唆するものである。なお，男性の加齢に伴い精子内の染色体の微小欠失や数異常が生じる可能性が示唆されていることから⁸⁾，父親の高年齢が染色体の微小欠失を有する精子や nullisomic sperm の形成を介して欠失あるいは GC や MR による $\text{upd}(15)\text{mat}$ の発症リスクとなる可能性がある。しかし PWS 患者集団において，2002年以前出生群と2003年以降出生群の間で患者出生時父親年齢の違いは認められず(表2)，「欠失群」や「MR/PE 群」の相対的頻度も変化していなかった(図4-b)。また，GC の過程における nullisomic sperm と disomic oocyte の

同時発生は非常にまれであり、「TR/GC [M1] 群」の中で GC を介した upd(15)mat の頻度は低いと推測される。したがって、この解析結果からは、PWS 病因の変化における父親年齢の関与は大きくないと考えられる。

◎おわりに

高齢出産に伴う PWS 病因の相対的比率の変化について述べた。PWS 病因の相対的比率に変化を及ぼしうる高齢出産以外の因子として、環境因子なども考慮する必要がある。女性の加齢に伴って、環境物質に対する曝露期間が長くなることで卵子の減数分裂の異常が起こりやすくなる可能性が示唆されている⁹⁾。また、父親の hydrocarbon に対する曝露が PWS 発症のリスク因子であるという報告も存在する¹⁰⁾。これらの因子単独で PWS 発症原因の相対的頻度の変化を説明することは難しいが、高齢出産以外の因子が PWS 発症に与える影響については今後の検討課題である。

参考文献

1) Shaffer LG, *et al.*: American college of medical genetics statement on diagnostic testing for uniparental disomy. *Genet Med* 3 : 206-211, 2001

2) Jones KT : Meiosis in oocytes : predisposition to aneuploidy and its increased incidence with age. *Hum Reprod Update* 14 : 143-158, 2008

3) Cassidy SB, *et al.* : Comparison of phenotype between patients with Prader-Willi syndrome due to deletion 15q and uniparental disomy 15. *Am J Med Genet* 68 : 433-440, 1997

4) Ginsburg C, *et al.* : The comparison of uniparental disomy to congenital development defects in children born to mothers at advanced childbearing age. *Am J Med Genet* 95 : 454-460, 2000

5) Whittington JE, *et al.* : Changing rates of genetic subtypes of Prader-Willi syndrome in the UK. *Eur J Hum Genet* 15 : 127-130, 2007

6) Matsubara K, *et al.* : Maternal age effect on the development of Prader-Willi syndrome resulting from upd(15)mat through meiosis I errors. *J Hum Genet* 56 : 566-571, 2011

7) Robinson WP, *et al.* : Maternal meiosis I non-disjunction of chromosome 15 : dependence of the maternal age effect on level of recombination. *Hum Mol Genet* 7 : 1011-1019, 1998

8) Slotter E, *et al.* : Effects of male age on the frequencies of germinal and heritable chromosomal abnormalities in humans and rodents. *Fertil Steril* 81 : 925-943, 2004

9) Pacchierotti F, *et al.* : Gender effects on the incidence of aneuploidy in mammalian germ cells. *Environ Res* 104 : 46-69, 2007

10) Cassidy S, *et al.* : Occupational hydrocarbon exposure among fathers of Prader-Willi syndrome patients with or without deletions of 15q. *Am J Hum Genet* 44 : 806-810, 1989

IX 最近のトピックス

2 Prader-Willi 症候群と生殖補助医療

国立成育医療研究センター研究所分子内分泌研究部 松原圭子
 浜松医科大学医学部小児科 緒方 勤

1 生殖補助医療

a. 生殖補助医療のあゆみ

1978年, Edwards と Steptoe による世界初の体外受精 (in vitro fertilization: IVF)・胚移植 (embryo transfer: ET) による子どもの誕生以来, 生殖補助医療 (assisted reproductive technologies: ART) は目覚ましい進歩を遂げ, 1992年代はじめには Palermo らが, 男性不妊に対する卵細胞質内精子注入法 (intracytoplasmic sperm injection: ICSI) による妊娠・出産に成功した。その後も, 精子採取法の開発, 胚培養・胚凍結技術の進歩, 卵巣刺激方法の個別化などにより ART の成功率は向上し, ART 出生児数は世界的に増加しつつある¹⁾。

b. ART の定義

ART には, IVF, ICSI, 配偶子卵管内移植 (gamete intra-fallopian transfer: GIFT), 接合子卵管内移植 (zygote intra-fallopian transfer: ZIFT), tubular embryo transfer, 配偶子/胚凍結保存, 卵子/胚提供, 代理懐胎などが含まれる。一方, 配偶者および非配偶者間人工授精 (artificial insemination with husbands' semen: AIH, artificial insemination with donor's semen: AID) や排卵誘発剤使用のみ (controlled ovarian stimulation: COS) は含まれない²⁾。

c. 日本における ART の普及

母親の出産年齢は徐々に上昇し, 2008年には35歳以上の母親による出生児数が全出生児の約20%を占めるようになった(図1)³⁻⁵⁾。また, 1983年の鈴木らによるIVF出生児, 1994年の片寄らによるICSI出生児の誕生以降, わが国におけ

る ART 出生児は飛躍的に増加し, ART 出生児の頻度は1997年には全出生児の約0.8%であったのに対し, 2008年には全出生児の約1.9%となった。

2 ART とゲノム刷り込み疾患発症の関連

ゲノム刷り込み疾患を発症させる機序として, 刷り込み領域の構造異常(重複や欠失), 刷り込み遺伝子内変異, 片親性ダイソミー (uniparental disomy: UPD), エピ変異の四つがある。このうち ART との関連が示唆されているのは, UPD とエピ変異である。

a. ART と UPD

UPD とは, 相同染色体のすべて, あるいは一部をともに片親から由来する状態である。刷り込み領域を含む UPD は刷り込み遺伝子の発現異常を招き, 刷り込み疾患発症の原因となる。

Prader-Willi 症候群 (PWS) における 15 番染色体母性 UPD [maternal uniparental disomy 15: upd (15)mat] では, 一对の 15 番染色体が母親からのみ受け継がれる。15 番染色体 q11-13 領域にはいくつかの父性発現刷り込み遺伝子が存在し, これらの発現喪失により PWS 表現型が発症すると考えられている。また, 重度精神遅滞, 難治性てんかん, 失調歩行, 笑い発作, 特異的顔貌などを呈する Angelman 症候群 (AS) の約 7%では, 15 番染色体父性片親性ダイソミー [paternal uniparental disomy 15: upd (15)pat] が認められる。upd (15)pat では一对の 15 番染色体がともに父親から受け継がれており, 15q11-13 領域に存在する母性発現刷り込み遺伝子である *UBE3A* の脳内にお

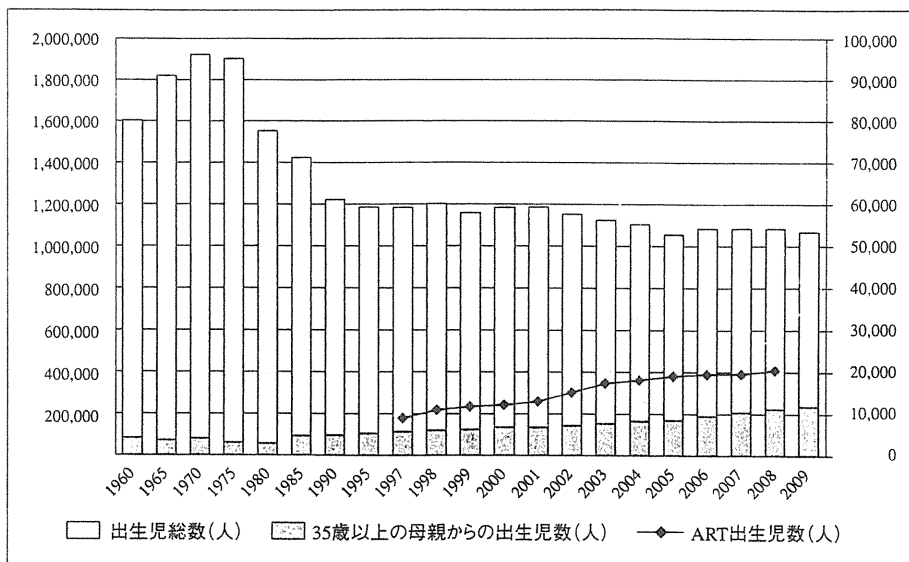


図1 わが国における高齢出産傾向と ART 出生児の増加

(日本産婦人科学会：ART 臨床実施成績 (2005～2008 年分)，日本産婦人科学会倫理委員会：倫理委員会・登録・調査小委員会報告，厚生労働省：人口動態調査をもとに作成)

ける発現低下により AS の臨床症状が引き起こされると考えられている⁶⁾(UBE3A は脳においてのみ刷り込みを受ける)。

女性の高齢出産は，Down 症候群の発症率から知られるように，第 1 減数分裂における不分離発症のリスク因子である。そして，減数分裂の不分離から生じたダイソミー卵子は trisomy rescue や gamete complementation を介した母性 UPD の，モノソミー卵子は monosomy rescue を介した父性 UPD の発症リスク因子であると考えられる [UPD の発症機序については「高齢出産に伴う Prader-Willi 症候群病因の変化」(p.133) を参照]。ART は通常，高年齢の夫婦を対象としているため，ART の手技それ自体ではなく，高齢出産という因子が UPD を介した刷り込み疾患発症に影響を及ぼす可能性がある (PWS では upd (15) mat 発症の増加に関与する)。一方で，排卵誘発剤投与量の異なる 2 群で IVF 後胚の異数性を検討した randomized controlled trial によると，排卵誘発剤投与量の少ない群で異数性を有する胚の頻度が低かった⁷⁾。この結果は，排卵誘発剤投与により異数性を有する卵子の形成を介した UPD の発症が惹起される可能性を示唆するものである。しかし，その後の追試は行われておらず，排卵誘発剤使用と UPD 発症の関連についての最終的な結論

は得られていない。

b. ART とエピ変異

刷り込み領域には通常，父親由来と母親由来で異なるメチル化状態を示すメチル化可変領域 (differentially methylated region : DMR) が存在する。DMR のメチル化状態は親由来特異的に決定され，この DMR のメチル化状態 (メチル化，非メチル化) により，刷り込み遺伝子の親由来特異的発現パターンが制御されている。生殖細胞系列における親由来特異的 DMR のメチル化状態は，胎生期の始原生殖細胞で一度消去されたのち，胎児の性に応じたメチル化パターンが確立する⁸⁾。配偶子に由来し，初期胚に起こる大規模な脱メチル化を免れる DMR は primary DMR とよばれ，primary DMR の親由来メチル化パターンは胚発生の全過程において維持される (図 2-a)。一方，初期胚において受精後の脱メチル化を受けた部位は，発生の過程で新たな分化を開始するのに必要な再メチル化を受ける (図 2-b)。このとき，胚外組織のメチル化の程度は，胚組織のメチル化の程度と比較し低メチル化の傾向にあることが知られている。

エピ変異とは，この DMR が異常な高メチル化あるいは低メチル化を示す状態と定義される。このエピ変異は刷り込み遺伝子の発現に影響を及ぼ

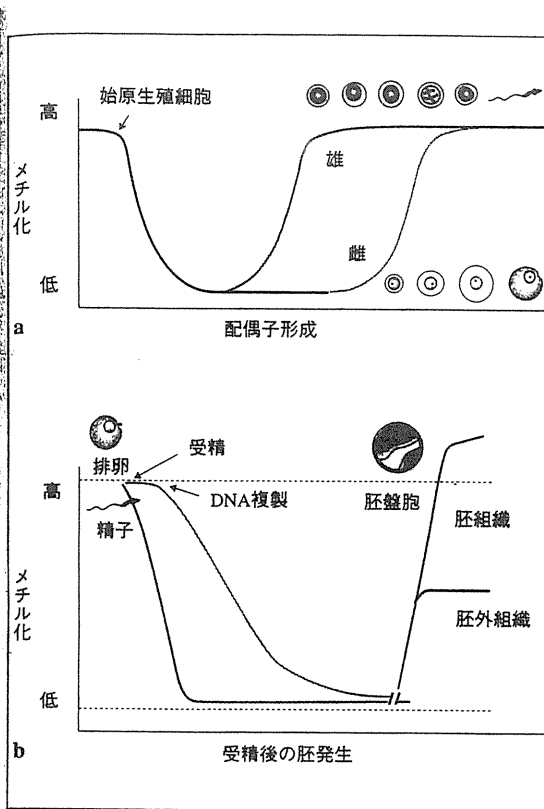


図2 生殖細胞系列と初期胚におけるメチル化の変化

(Reik W, et al.: Epigenetic reprogramming in mammalian development. *Science* 293: 1089-1093, 2001 より引用, 一部改変)

し、ダイソミーと同様の症状を生じ、刷り込み疾患の発症原因となる。これに関し、Cox らにより、ART がエピ変異を介した Beckwith-Wiedemann 症候群 (BWS) 発症リスクとなりうることが報告された⁹⁾。BWS とは、過成長、巨舌、臍ヘルニアを 3 主徴とする先天異常で、5~10%に胎児性腫瘍を合併する疾患である。BWS の 50~60%は、11 番染色体上の刷り込み領域の異常により発症する。中でも、Kv-DMR の低メチル化による BWS 発症リスクは、ART により 4~9 倍増加することが示された^{10~14)}。また同様に、15q11-13 領域内の刷り込み遺伝子である *UBE3A* の異常に起因する AS⁺においても、ART により責任領域の DMR の低メチル化が約 6 倍増加することが報告された^{9,15,16)}。さらに、複数の DMR でメチル化異常が認められる maternal hypomethylation 症候群症例が ART 出生児 3 例で同定され、これらの症例の存在からも ART とメチル化異常の関連が示唆さ

れる¹⁷⁾。しかし、その後の ART 出生児を対象としたフォローアップ研究において、ART と刷り込み疾患発症の関連は必ずしも認められず、これらの関連について最終的な結論は得られていない。

ART がエピ変異を介して刷り込み疾患を発症させる機序には不明な点が多いが、以下の因子の関与が推測されている¹⁸⁾。

第一は、不妊傾向それ自体である。不妊体質と配偶子のメチル化異常や刷り込み疾患発症との関連は、不妊傾向のある夫婦で ART の有無にかかわらず AS の発症リスクが高いこと¹⁹⁾、乏精子症患者の一部で精子のメチル化異常が存在し、ART による生産分娩率が低いこと²⁰⁾から示唆される。

第二は、排卵誘発剤の使用である。排卵誘発により成熟促進された卵子やそれを用いて作製された初期胚において、複数の DMR のメチル化異常が認められたことから²¹⁾、排卵誘発剤投与により卵子や胚にメチル化異常が起こり、刷り込み疾患が引き起こされる可能性は否定できない。卵子のメチル化パターン確立には長時間を要するが (図 2-a)、排卵誘発により、このメチル化の確立が不十分に終わる可能性がある。

第三は、物理的操作である。IVF/ICSI/ET 操作により卵子や胚に物理的な障害が及び、細胞内の構造異常やゲノム刷り込み機構の障害が引き起こされる可能性が示唆されている²²⁾。

第四は、卵子や胚の体外培養である。動物実験から、体外培養された卵子や胚においてメチル化が正常に維持されない可能性が示唆されている^{23,24)}。ART における体外培養の過程で、正常な DNA メチル化の獲得が障害され、刷り込みの異常が引き起こされる可能性がある。

3 PWS と ART

a. 海外の報告

Sutcliffe らの解析した PWS 163 例中、2 例の ICSI 症例および 7 例の fertility drug (詳細不明) 使用後症例が含まれており、発症原因解析が施行された 2 例で欠失が認められた¹⁴⁾。オランダの PWS 患者 86 例のうち、2 例の ART 症例、1 例の AIH、1 例の排卵誘発剤使用症例が含まれており、このうち 3 例で欠失が認められた²⁵⁾。また、デン

表 1 ART により出生した PWS 症例

| | 性別 | 出生年 | ART | 発症原因 | 父親年齢 (歳) | 母親年齢 (歳) |
|------|----|------|------|------------|----------|----------|
| Pt 1 | F | 1998 | ICSI | TR/GC [M2] | 44 | 42 |
| Pt 2 | F | 1998 | ICSI | 欠失 | 42 | 38 |
| Pt 3 | M | 2004 | IVF | TR/GC [M1] | 42 | 41 |
| Pt 4 | M | 2007 | ICSI | TR/GC [M1] | 42 | 39 |
| Pt 5 | F | 2007 | ICSI | TR/GC [M1] | 53 | 45 |
| Pt 6 | M | 2007 | ICSI | 欠失 | 37 | 36 |
| Pt 7 | M | 2008 | ICSI | TR/GC [M1] | 40 | 38 |

TR/GC [M1]: 第 1 減数分裂不分離後 trisomy rescue または gamete complementation による upd(15)mat 症例

TR/GC [M2]: 第 2 減数分裂不分離後 trisomy rescue または gamete complementation による upd(15)mat 症例

マークで実施された prospective study では, ART 出生児 6,052 例中, PWS 患者は認められず, 逆に自然妊娠による出生児 442,349 例中 3 例の PWS 患者が見出され, この研究からは ART と PWS 発症の関連は見出されなかった²⁶⁾. このように, ART と PWS 発症の関連の有無についてはいまだ明確な結論が得られていないのが現状である.

b. 日本人 PWS と ART

日本産婦人科学会による ART 臨床実施データ (<http://plaza.umin.ac.jp/~jsog-art/>) が存在する 1997~2008 年に出生し, 獨協医科大学越谷病院小児科で経過観察されている PWS 集団と一般集団における ART 出生児頻度を比較した. PWS 患者 74 例中 ART により出生した患者は 7 例 (9.5%) であったのに対し (表 1), 一般集団では同じ期間に出生した児の 1.4% が ART 出生児であり, この頻度は有意に異なった (表 2).

次に, PWS 患者の発症原因を分子遺伝学的解析により分類し, PWS 発症原因の相対的頻度を比較した [解析法および詳細な分類法については「高齢出産に伴う Prader-Willi 症候群病因の変化」(p.133) を参照]. ART 出生 PWS 患者 7 例中, 父親由来刷り込み領域の欠失患者が 2 例 (28.6%) で, 第 1 減数分裂不分離後の trisomy rescue または gamete complementation を介した upd(15)mat

表 2 ART 出生児数の比較

| | IVF/ICSI | 自然妊娠 | 頻度 |
|--------------------|----------|------------|-------|
| PWS(1997~2008 年出生) | 7 | 67 | 9.5%* |
| 一般(1997~2008 年出生) | 187,198 | 1,3470,859 | 1.4%* |

*: $p=2.2 \times 10^{-9}$

表 3 TR/GC [M1] の相対頻度の比較

a: PWS 患者全体

| | 母親年齢(歳) 中央値(範囲) | TR/GC [M1] | others |
|-------------------|-------------------------|------------------|--------|
| ART(1997~2008 年) | 39(36~45)* ¹ | 4* ² | 3 |
| 自然妊娠(1997~2008 年) | 32(19~42)* ¹ | 11* ² | 56 |

b: 35 歳以上の母親から出生した PWS 患者

| | 母親年齢(歳) 中央値(範囲) | TR/GC [M1] | others |
|-------------------|---------------------------|------------------|--------|
| ART(1997~2008 年) | 39(36~45)* ³ | 4* ⁴ | 2 |
| 自然妊娠(1997~2008 年) | 37.5(35~42)* ³ | 12* ⁴ | 14 |

*¹: $p=0.0008$, *²: $p=0.028$, *³: $p=0.1$, *⁴: $p=0.39$

(TR/GC [M1]) 症例が 4 例 (57.1%) で認められた (表 1). ART により出生した AS や BWS 症例の多くで認められるエピソードは, 解析を行った PWS 患者集団では同定されなかった. ART 出生 PWS 患者群の upd(15)mat (TR/GC [M1]) の相対的頻度は, 自然妊娠で出生した PWS 群のそれと比較し有意に高頻度であった (表 3-a). しかし, ART 出生群の患者出生時の母親年齢が自然妊娠群の患者出生児母親年齢より高年齢であり, 高齢出産が upd(15)mat (TR/GC [M1]) 発症のリスク因子であることから [「高齢出産に伴う Prader-Willi 症候群病因の変化」(p.133) を参照], 出生時の母親年齢を適合させて検討した結果, TR/GC [M1] の相対的頻度は, ART 出生 PWS 患者群と 35 歳以上の母親から自然妊娠で出生した PWS 群患者 TR/GC [M1] の間で同等であった (表 3-b).

PWS 患者集団において ART 出生児の頻度が高かったことは, ART およびその関連因子 (不妊傾向, 環境因子など) が総和として PWS 発症のリスク因子となる可能性を示唆するものである. 一方, ART 出生 PWS 患者群において認められた upd(15)mat (TR/GC [M1]) の相対的頻度の高値には, ART そのものより, ART 関連因子である

高齢出産や不妊傾向、環境因子などが影響を及ぼしていると考えられる。

◎おわりに

ART と刷り込み疾患発症の関連について述べた。ART 出生児において、一部の刷り込み疾患の発症頻度が高いという報告は存在する。しかし、これらの研究では ART 以外の交絡因子（患者出生時母親年齢、環境因子、不妊傾向など）は考慮されていない。したがって今後、ART と刷り込み疾患の関連性を検討するためには、これらの交絡因子を加味した研究計画を立案することが重要である。

文献

- 1) 森 崇英, 他: 図説 ART マニュアル. 改訂第 2 版, 永井書店, 1-6, 2005
- 2) Zegers-Hochschild F, *et al.*: International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) revised glossary of ART terminology, 2009. *Fertil Steril* 92: 1520-1524, 2009
- 3) 日本産婦人科学会: ART 臨床実施成績 (2005~2008 年分), URL: <http://plaza.umin.ac.jp/~jsog-art/data.htm>
- 4) 日本産婦人科学会倫理委員会: 倫理委員会・登録・調査小委員会報告, URL: <http://www.jsog.or.jp/activity/report.html>
- 5) 厚生労働省: 人口動態調査, URL: <http://www.mhlw.go.jp/toukei/list/81-1.html>
- 6) Van Buggenhout G, *et al.*: Angelman Syndrome. *Eur J Hum Genet* 17: 1367-1373, 2009
- 7) Barrt E, *et al.*: Milder ovarian stimulation for in-vitro fertilization reduces aneuploidy in the human preimplantation embryo: a randomized controlled trial. *Hum Reprod* 22: 980-988, 2007
- 8) Reik W, *et al.*: Epigenetic reprogramming in mammalian development. *Science* 293: 1089-1093, 2001
- 9) Cox GF, *et al.*: Intracytoplasmic sperm injection may increase the risk of imprinting defects. *Am J Hum Genet* 71: 162-164, 2002
- 10) DeBaun MR, *et al.*: Association of in vitro fertilization with Beckwith-Wiedemann syndrome and epigenetic alterations of LIT1 and H19. *Am J Hum Genet* 72: 156-160, 2003
- 11) Gicquel C, *et al.*: In vitro fertilization may increase the risk of Beckwith-Wiedemann syndrome related to the abnormal imprinting of the *KCN1OT* gene. *Am J Hum Genet* 72: 1338-1341, 2003
- 12) Maher ER, *et al.*: Beckwith-Wiedemann syndrome and assisted reproduction technology (ART). *J Med Genet* 40: 62-64, 2003
- 13) Halliday J, *et al.*: Beckwith-Wiedemann syndrome and IVF: a case-control study. *Am J Hum Genet* 75: 526-528, 2004
- 14) Sutcliffe AG, *et al.*: Assisted reproductive therapies and imprinting disorders-a preliminary British survey. *Hum Reprod* 21: 1009-1011, 2006
- 15) Orstavik KH, *et al.*: Another case of imprinting defect in a girl with Angelman syndrome who was conceived by intracytoplasmic semen injection. *Am J Hum Genet* 72: 218-219, 2003
- 16) Ludwig M, *et al.*: Increased prevalence of imprinting defects in patients with Angelman syndrome born to subfertile couples. *J Med Genet* 42: 289-291, 2005
- 17) Katari S, *et al.*: DNA methylation and gene expression differences in children conceived *in vitro* or *in vivo*. *Hum Mol Genet* 18: 3769-3778, 2009
- 18) Amor DJ, *et al.*: A review of known imprinting syndromes and their association with assisted reproduction technologies. *Hum Reprod* 23: 2826-2834, 2008
- 19) Ludwig M, *et al.*: Increased prevalence of imprinting defects in patients with Angelman syndrome born to subfertile couples. *J Med Genet* 42: 289-291, 2005
- 20) Kobayashi H, *et al.*: Aberrant DNA methylation of imprinted loci in sperm from oligospermic patients. *Hum Mol Genet* 16: 2542-2551, 2007
- 21) Market-Velker BA, *et al.*: Dual effects of superovulation: loss of maternal and paternal imprinted methylation in a dose-dependent manner. *Hum Mol Genet* 19: 36-51, 2010
- 22) Rivera RM, *et al.*: Manipulations of mouse embryos prior to implantation result in aberrant expression of imprinted genes on day 9.5 of development. *Hum Mol Genet* 17: 1-14, 2008
- 23) Doherty AS, *et al.*: Differential effects of culture on imprinted H19 expression in the preimplantation mouse embryo. *Biol Reprod* 62: 1526-1535, 2000
- 24) Fauque P, *et al.*: Assisted reproductive technology affects developmental kinetics, H19 imprinting control region methylation and H19 gene expression in individual mouse embryos. *BMC Dev Biol* 7: 116, 2007
- 25) Doornbos ME, *et al.*: Infertility, assisted reproduction technologies and imprinting disturbances: a Dutch study. *Hum Reprod* 22: 2476-2480, 2007
- 26) Lidgaard O, *et al.*: Imprinting diseases and IVF: Danish National IVF cohort study. *Hum Reprod* 20: 950-954, 2005

