

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）
分担研究報告書

マイクロアレイ染色体検査による先天異常症候群の診断

研究分担者 黒澤 健司
地方独立行政法人神奈川県立病院機構 神奈川県立こども医療センター遺伝科 部長

研究要旨

マイクロアレイ染色体検査が、令和4年度診療報酬改定でD006-26染色体構造変異解析として保険適用となり、先天異常症候群の診断体制がこれまで以上に充実した。一方で、実臨床で用いる際の注意事項も明らかになってきた。転座の認識、Log値の理解、cnLOH (ROH) の解釈などについて、結果解釈の支援体制の充実が確認された。

研究協力者

黒田友紀子 神奈川県立こども医療センター遺伝科 医長
齋藤洋子 神奈川県立こども医療センター遺伝科 医師

A. 研究目的

マイクロアレイ染色体検査は、令和3年10月より「アレイCGH法」として保険適用（8000点）となり、令和4年の診療報酬改定により「D006-26染色体構造変異解析」として収載された。検査実施に際しては、「診療において実施するマイクロアレイ染色体検査のガイドランス」を遵守することが明記されている。このガイドランスでは、マイクロアレイ染色体検査の基本原則、検査結果解釈の重要性、検査の限界、検査後の追加検査、検査結果の還元の仕方などが記載されている。しかし、実際の検査において、解釈や結果還元の各ステージでの具体的な課題については触れられていない。しかも、その課題は実際に取り組む医療サイドの熟練度にもよる。今回、自施設の自験例から先天異常症候群診断においてマイクロアレイ染色体検査の実施する際の注意すべき点を抽出し、検討を加えた。

B. 研究方法

対象は、研究期間に臨床検査としてマイクロアレイ染色体検査を実施した症例で、実施に当たっては文書による同意を得て行った。解析プラットフォームは、GenetiSure Dx Pstnatal Assay「アジレント」を用いた。FISH検査は、市販サブテロメアプローブないしはBAC cloneを用いた。BACクローンは、CHORI 32K plateから選択し、通常法で抽出・ラベリング後、Carl

Zeiss製蛍光顕微鏡とMetaSystems製Isisで観察をおこなった。臨床症状は診療記録からまとめた。得られた結果は、hg19に準拠したUCSC Genome Browserに従って検討した。ISCAデータ、およびDECIPHERデータなど種々のデータベースを参照して検出されたcopy number variations (CNV)の意義を検討した。症例解釈により解釈上の課題を抽出した。ガイドランスに記載ある限界としての一般事項については省略した。解釈上の注意事項は比較的経験の浅い医療者と臨床細胞遺伝学の専門家の解釈とを比較することにより抽出した。

(倫理面への配慮)

解析は施設内倫理承認のもとで行われ、解析にあたっては本人（得られない場合には代諾者）より文書による同意書を得たのちに行った。

C. 研究結果

結果解釈で比較的陥りやすい事項として以下の点が上がった。

1) データとして返却されたCNVを転座として認識することの難しさ
テキストデータで返却された場合、複数のCNVの羅列であるが、特に病的意義のあるゲノムコピー数ゲインのCNVとロスのCNVとが染色体末端を含む形で検出された場合には、転座を強く疑う必要がある。経験の浅い医療者で

は「転座」をイメージすることは比較的難しい傾向があった。マイクロアレイ染色体検査後の検査として、罹患者およびその血縁者での FISH 検査が適応となることを留意しなければいけない。また、特にゲインあるいはロスの CNV 領域に量的感受性の高い遺伝子が存在しないと、その CNV が見落とされる傾向があった。CNV 領域が比較的大きい場合には、必ずしも量依存性遺伝子が無くても、臨床症状との関連を考慮する必要があった。

2) Log 値によるゲノムコピー数の評価
経験の浅い医療者では Log 値でのコピー数評価に慣れない場合があった。この Log 値は、対象領域に関してコントロール DNA との相対的な比であるので、一般的には常染色体領域の欠失では -0.9~-1.0、重複では約 0.6 前後となる。この値が 0.4 などの時にモザイクと解釈されることがあった。実際には構造異常モザイクは比較的まれで、Structural variation の程度を考慮して判断する必要がある。

3) 片親ダイソミーで発症する疾患責任領域をもつ染色体の LOH 評価
全染色体領域が LOH (あるいは ROH) であれば、UPD と判断しやすいが、部分的あるいは分節的な LOH (ROH) の場合には、UPD と判断するにはメチル化解析が必要となる。逆に言うと、部分的 (分節的) LOH (ROH) で、UPD が見落とされることがある。Hoppman ら (2018) は、染色体末端部では 11Mb、中間部では 24.1Mb の連続した ROH があった場合には、UPD を想定すると述べている。ガイドランスには記載ない解釈上注意すべき事項であった。

D. 考察

マイクロアレイ染色体検査が保険適用となり、診療で活用されて、これまで以上に的確な診断が達成されるようになった。一方で、解釈上注意すべき事項も見えてきた。今回、マイクロアレイ染色体検査の解釈で注意すべき事項として、1) データとして返却された CNV を転座として認識することの難しさ、2) Log 値によるゲノムコピー数の評価、3) 片親ダイソミーで発症する疾患責任領域をもつ染色体の LOH 評価、の 3 点を確認した。今後、こうした解釈に関する注意事項を広く周知することが重要と思われた。方法としては、ハンズオンセミナー等でのトレーニングが妥当かもしれない。引き続きの検査結果解釈支援体制の充実が重要である。

E. 結論

先天異常症候群の診断検査としてのマイクロアレイ染色体検査が保険収載されて以降、その検査体制は確実に充実にきている。さらなる検査結果解釈の支援体制の充実が重要である。

F. 研究発表

- 論文発表
 - Kumaki T, Enomoto Y, Aida N, Goto T, Kurosawa K. Progression of cerebral and cerebellar atrophy in congenital contractures of limbs and face, hypotonia, and developmental delay. *Pediatr Int.* 2022;64(1):e14734.
 - Murakami H, Uehara T, Enomoto Y, Nishimura N, Kumaki T, Kuroda Y, Asano M, Aida N, Kosaki K, Kurosawa K. Persistent Hyperplastic Primary Vitreous with Microphthalmia and Coloboma in a Patient with Okur-Chung Neurodevelopmental Syndrome. *Mol Syndromol.* 2022;13(1):75-9.
 - 黒澤健司. 臨床検査アップデート アレイ CGH 法. *Modern Media.* 2022;68(11):470-3.
 - 黒澤健司. 難治性疾患(難病)を学ぶ ヤング・シンプソン症候群. *遺伝子医学.* 2022;12(4):85-9.
- 学会発表
 - 成戸卓也、関衛順、黒田友紀子、齋藤洋子、榎本友美、黒澤健司, KMT2D 遺伝子内のエクソン欠失による歌舞伎症候群の一例, 日本人類遺伝学会第 67 回大会, 横浜, 2022.12.14-17, 国内
 - 齋藤洋子、村上博昭、黒田友紀子、榎本友美、黒澤健司, UPD(1)により NPHP4 のホモ接合変異をきたしたネフロン勞の 1 例, 第 45 回日本小児遺伝学会, 東京, 2023.1.28-29, 国内

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

- 特許取得
なし
- 実用新案登録
なし
- その他
なし