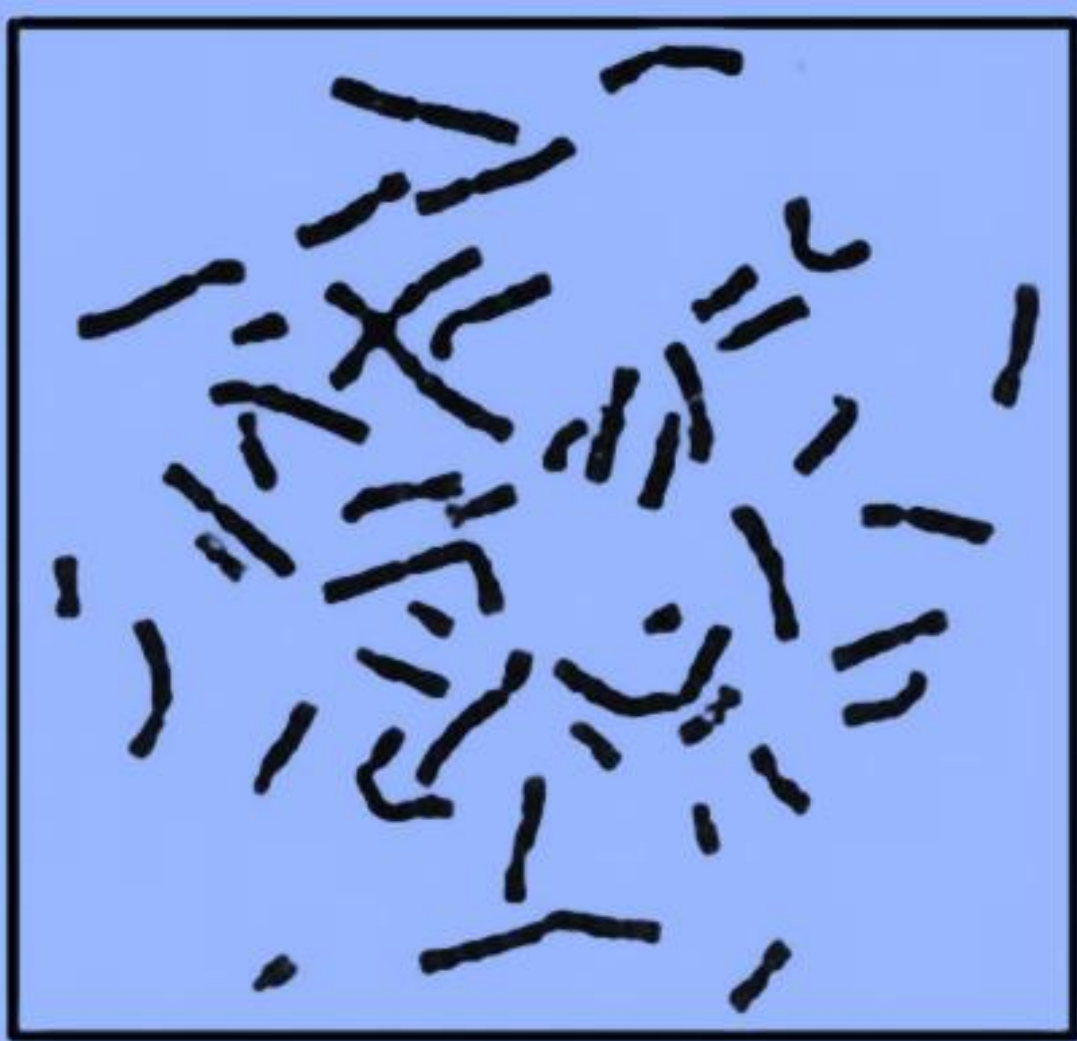


臨床遺伝学と染色体異常



1. 遺伝子疾患
2. ゲノム検査の進め方
3. 染色体異常を見つけたら

遺伝子疾患とは

- 親から子に伝わる遺伝情報の様々なバリエーションにもとづく疾患
- 家族性発症がある場合がある
 - 常染色体顕性遺伝病
 - 常染色体潜性遺伝病
 - X連鎖顕性遺伝病
 - X連鎖潜性遺伝病
 - Y連鎖遺伝病

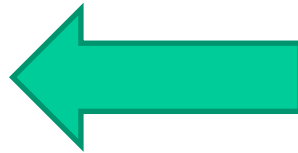
メンデル遺伝病

 - 多因子(遺伝)病
 - CNVによる疾患
 - 非遺伝性疾患

多因子疾患
染色体異常症
母体感作, 感染症
- 家族内発症がない場合もある: 散发例, 孤発例

遺伝子疾患診療の意義

- 臨床所見から診断が容易な疾患の遺伝的素因を明らかにする:
- 臨床所見から診断が困難な疾患を遺伝的素因の解析をもとに診断する:



遺伝子疾患の臨床アプローチ

- 個人の医学的情報: 病歴と理学所見, 臨床検査所見など
- 血縁者の医学的情報: 家族歴

診断プロセス

記憶あるいは知識としての情報との照合

ガイドラインとの照合 教科書記載との照合

データベースとの照合

文献との照合

Phenotype (表現型) のアセスメント

ゲノム情報からのアプローチ

- 個人のゲノム情報 + 血縁者のゲノム情報

ターゲット検査	網羅的検査
	染色体G-banding
Single site FISH (including telomere FISH)	Multicolor FISH
	Microarray CGH/SNIP
Single gene/group of genes Sequencing	Exome Sequencing
	Whole genome sequencing

Genotype (遺伝子型) のアセスメント

ゲノム検査の適応

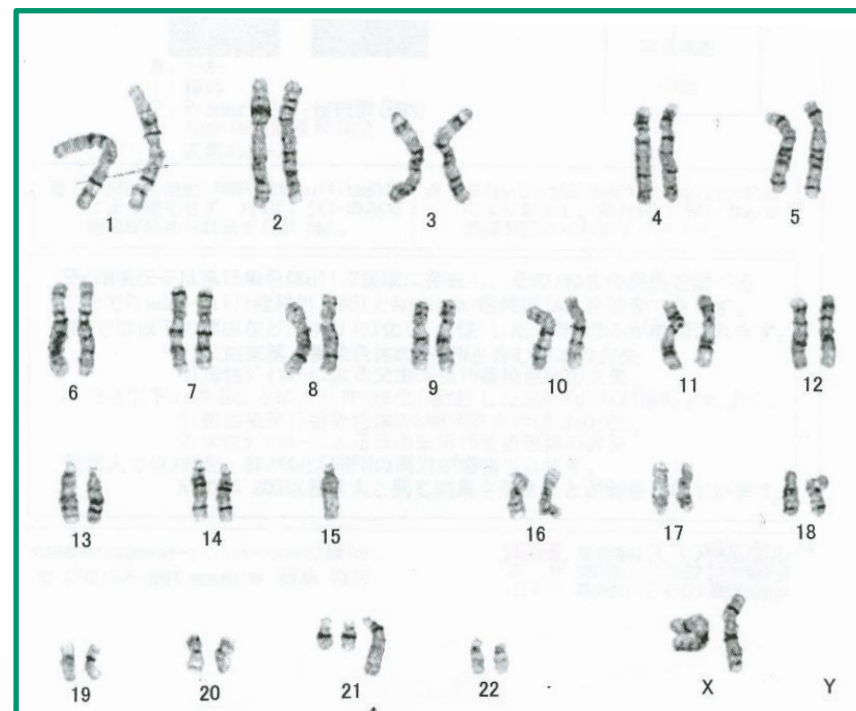
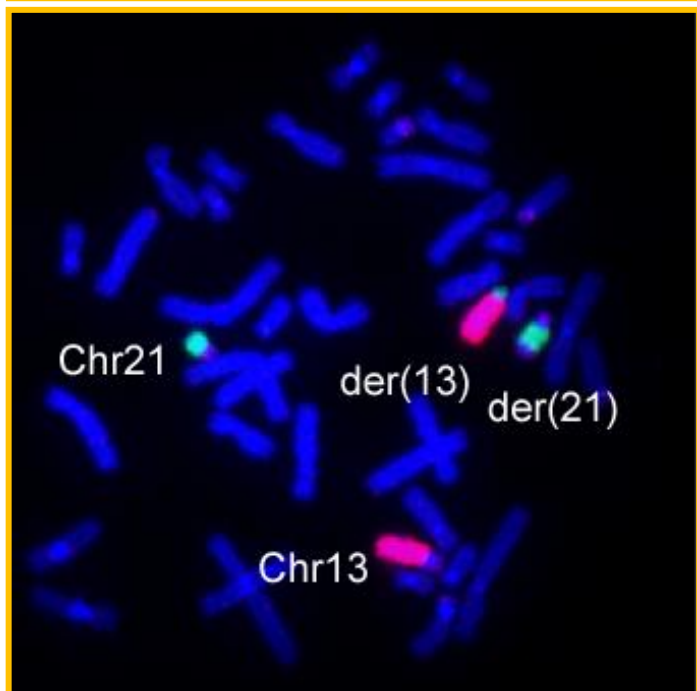
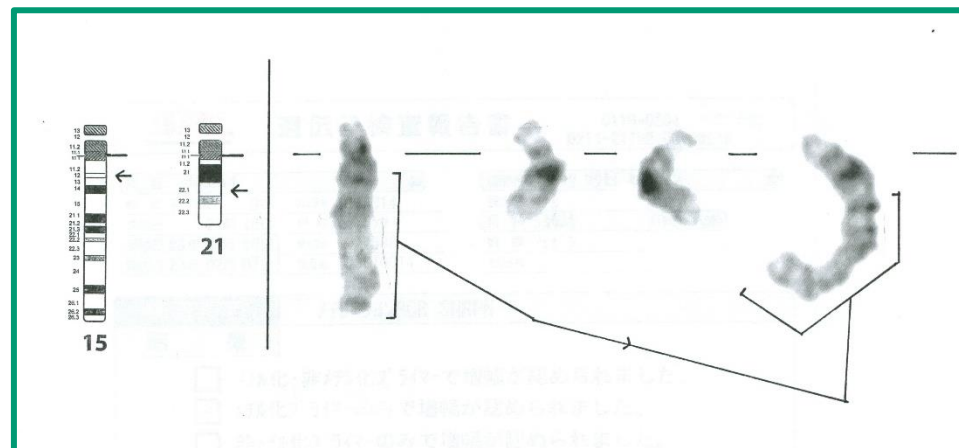
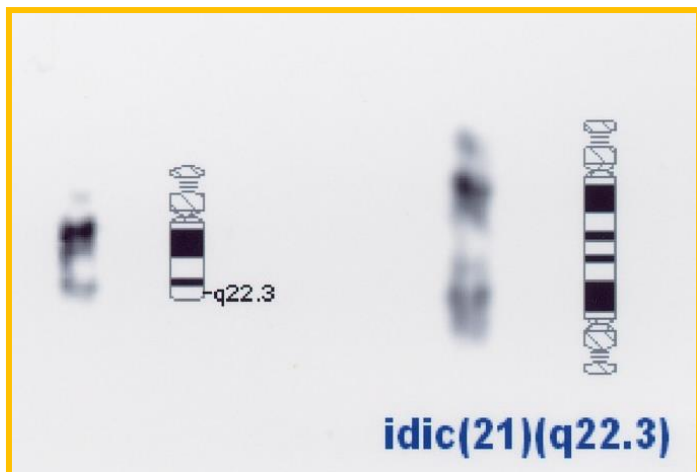
- 1 先天多発異常/成長発達の障害のある児**
- 2 死産および新生児死亡**
- 3 生殖障害(不妊症 不育症)**
- 4 新生物**
- 5 リスクのある妊娠・胎児**

ゲノム検査の適応

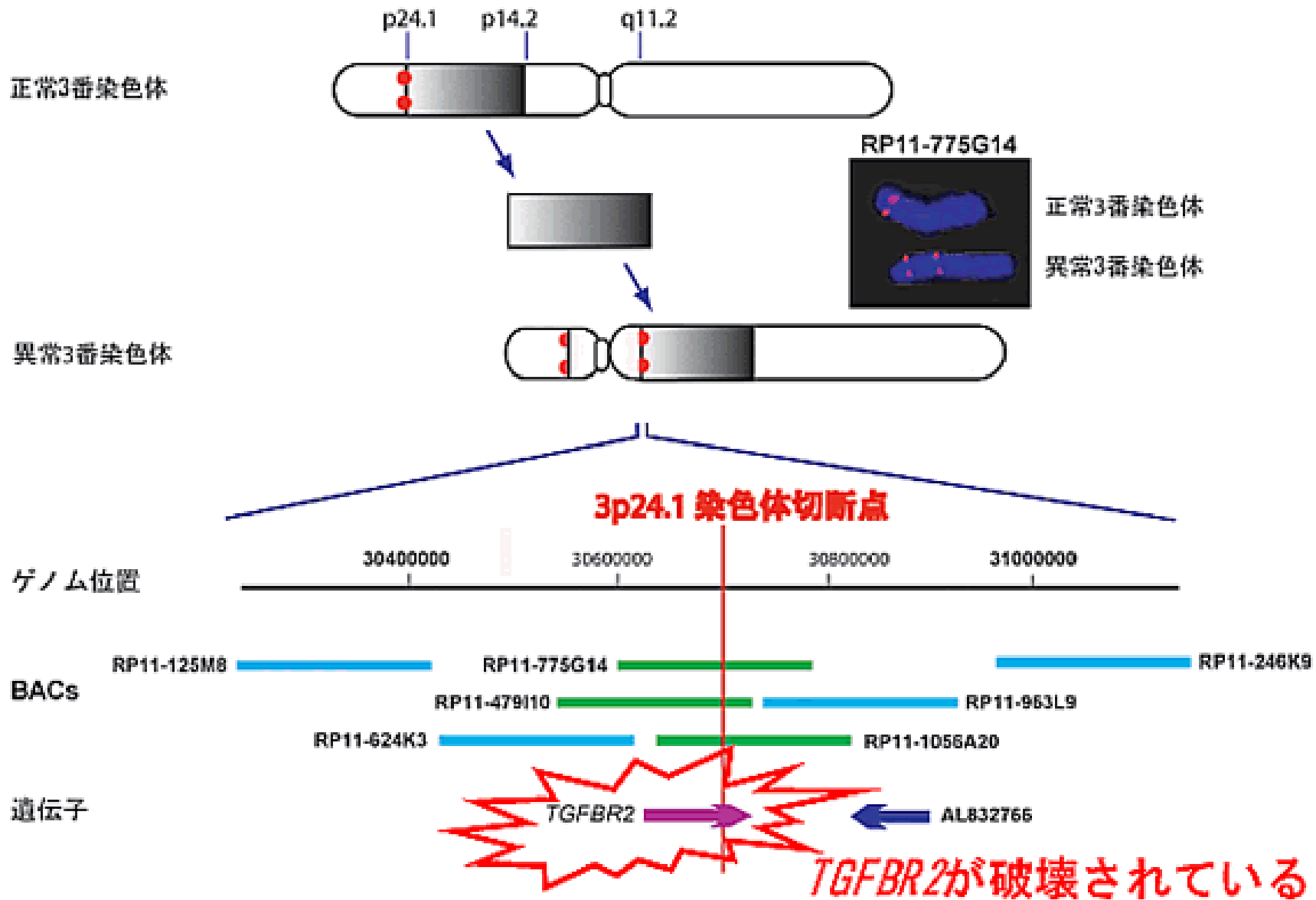
1 先天多発異常/成長発達の障害のある児

- 既知の染色体異常症が疑われる患者
Down症候群でも、全トリソミー型と、モザイク型、転座型がある。
- 既知の先天多発奇形症候群あるいは遺伝性疾患を疑う患者
多くの遺伝疾患の遺伝子座が転座症例の解析から発見される。
- 臨床診断が困難な成長・発達の障害や先天多発異常をしめす患者:MCA/MR (multiple congenital anomalies/mental retardation) MCA/DD (developmental disability)
臨床所見から珍しい染色体異常症を診断するのは困難。
サブテロメアの欠失症候群などは通常のG分染では鑑別困難。
数多くの希少疾患の臨床診断は困難

ゲノム検査の適応：1-a 既知の染色体異常症が疑われる患者



ゲノム検査の適応：1-b 既知の先天多発奇形症候群あるいは 遺伝性疾患を疑う患者



ゲノム検査の適応：1-c 診断がつかないMCA/MR



丸い顔
眼間開離
瞼裂斜下



前頭眉間の突出
両眼開離
低く広い鼻梁
短い人中
への字の口

ゲノム検査の順序：まずはG-banding

- 1 最初はG-bandingによる染色体検査
- 2 G-bandingで正常核型でもゲノムの異常がないとは言えない。

微細な構造異常は見落とされる
端部の構造異常は見落とされる
構造異常の切断点の判断は難しい
低頻度モザイクは見落とされる

- 3 G-bandingで異常がなければ
 - ➡ 診断鑑別のためのターゲット検査
 - FISH検査
 - 遺伝子検査
 - ➡ スクリーニング検査としてマイクロアレイ

症例 1 Miller-Dieker 症候群

母体歴: 34歳

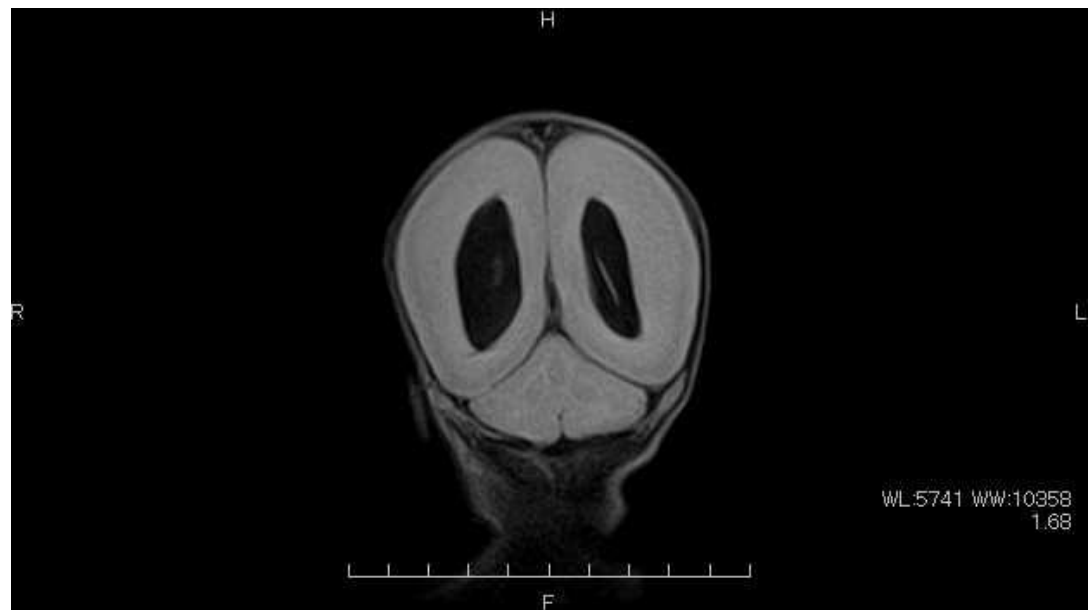
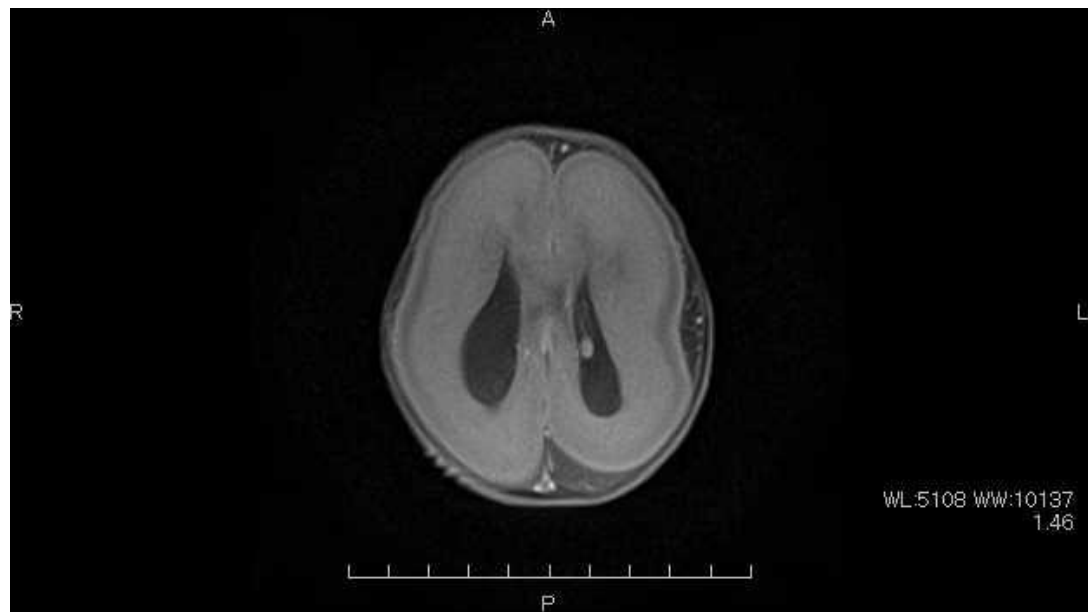
1経妊1経産(第1子正常)

31週 超音波: 滑脳症疑い

33週 切迫早産管理入院

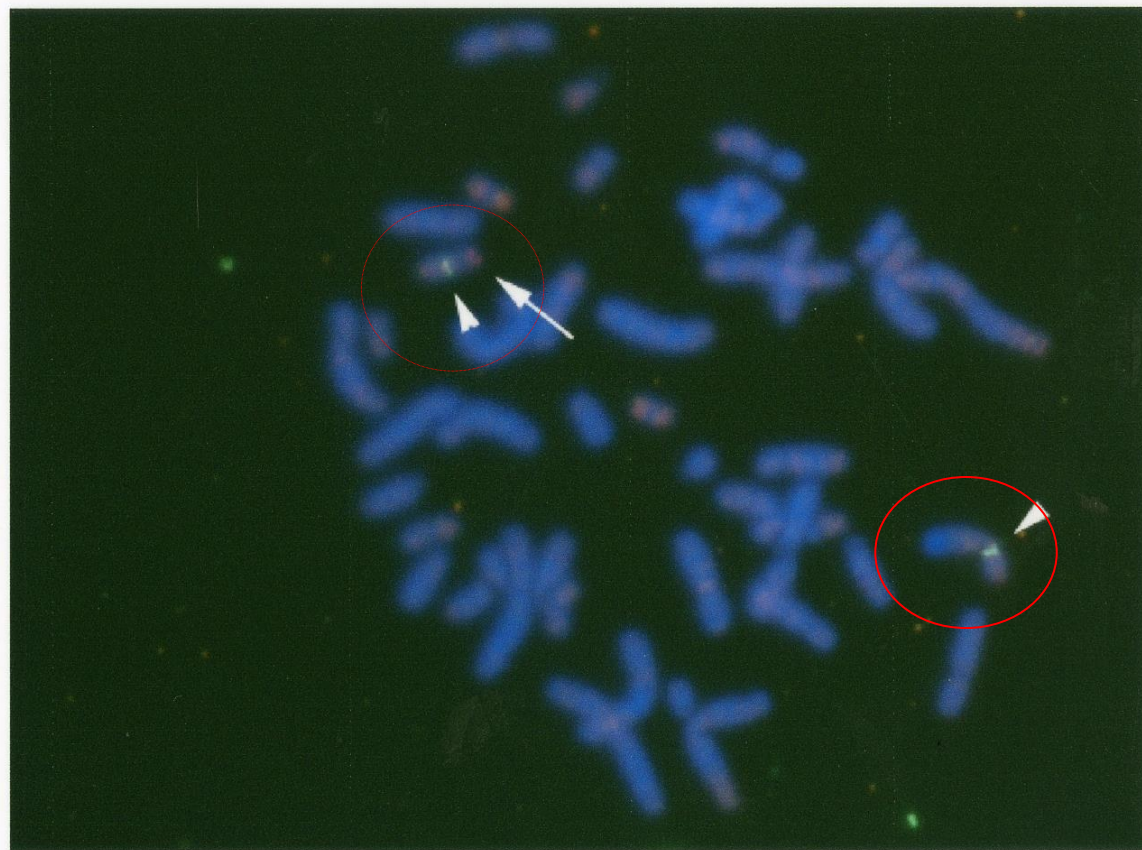
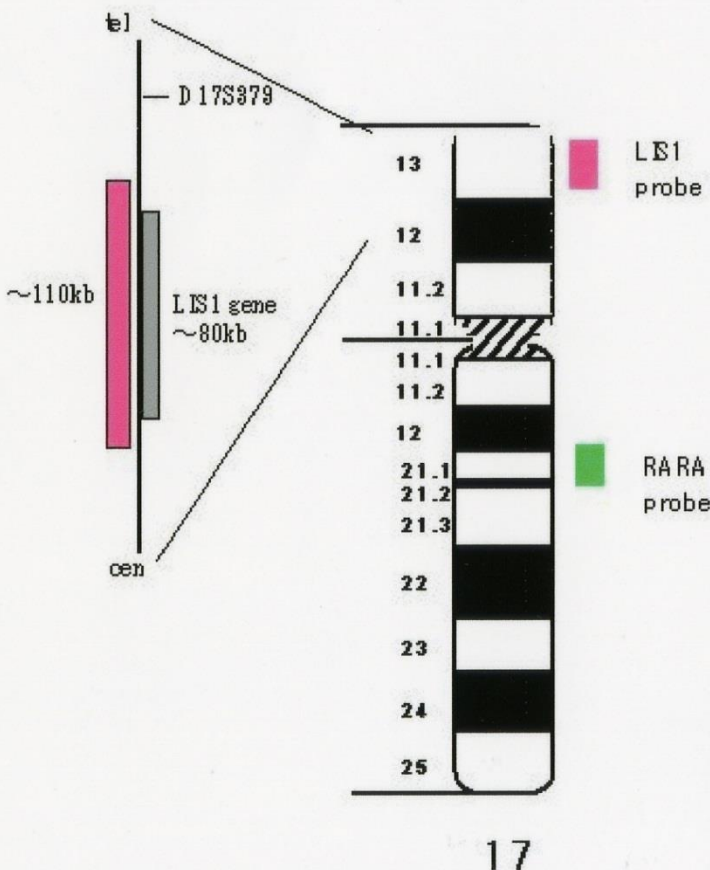
35週 MRI: 滑脳症所見

36週 分娩進行し帝王切開



症例 1 染色体検査 FISH法

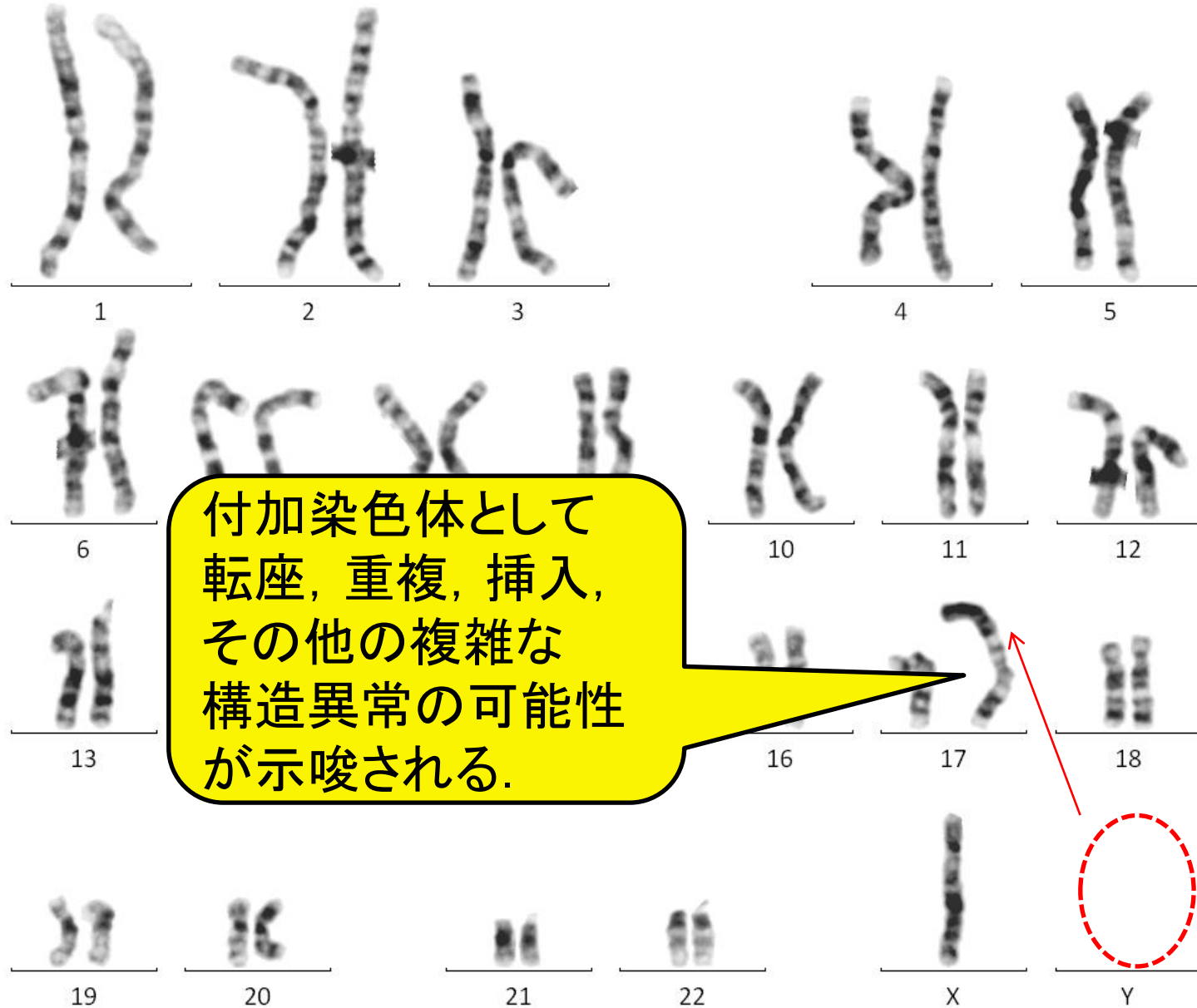
17番染色体地図



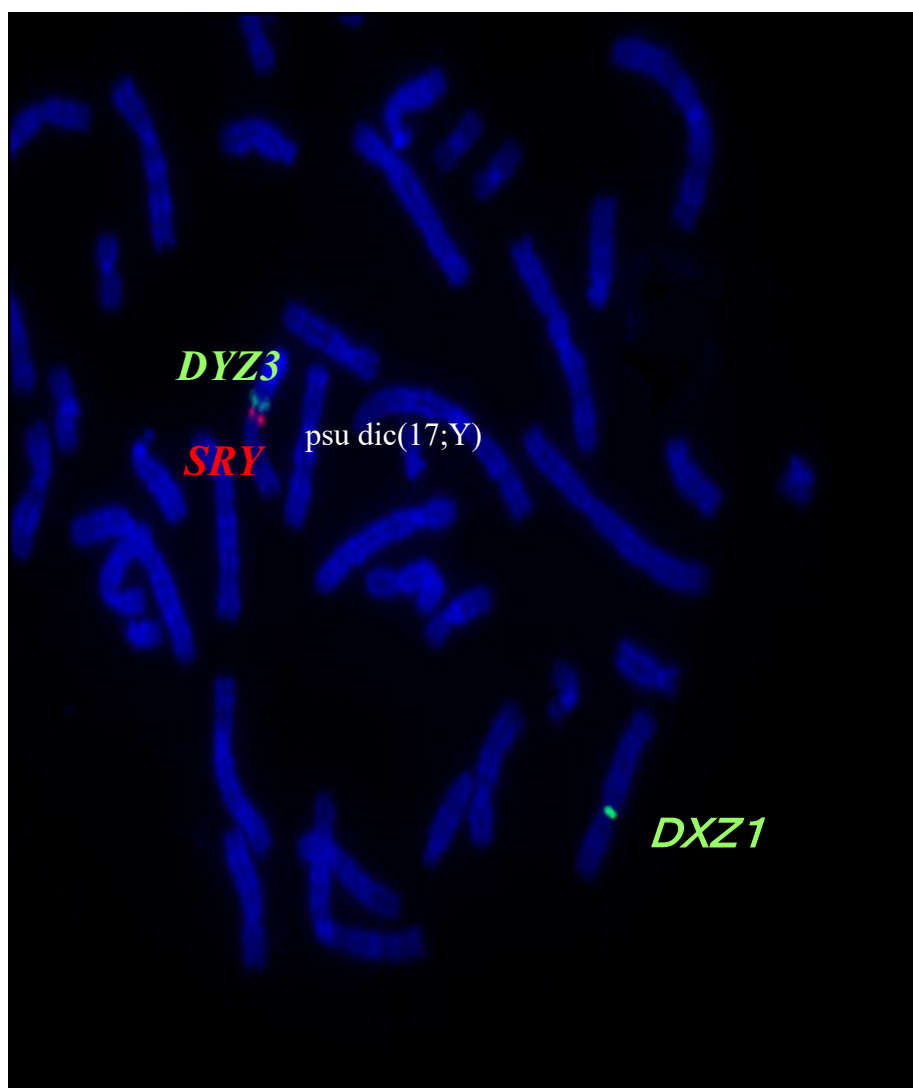
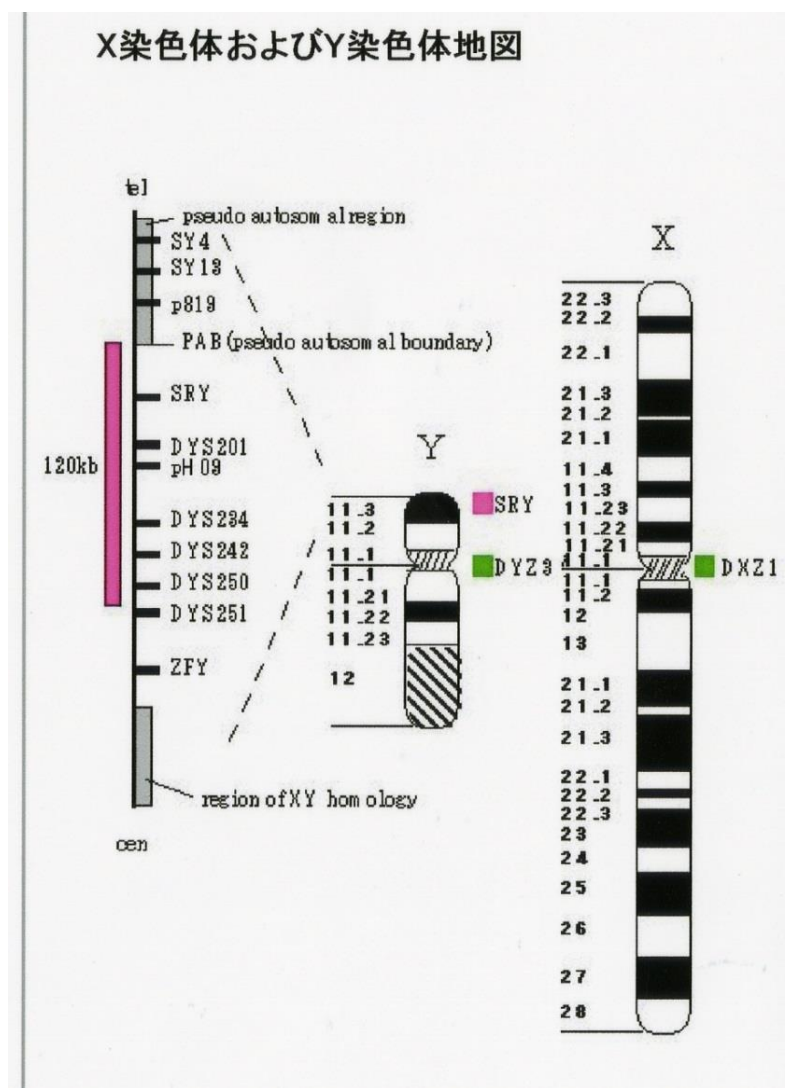
← : LIS1(17p13.3) probe のシグナル(赤色)
▶ : RARA(17q21.1) control probeのシグナル(緑色)

LIS1(17p13.3)(Miller-Dieker syndrome責任領域)の欠失

症例 1 G-Band解析 45,X,add(17)(p13)

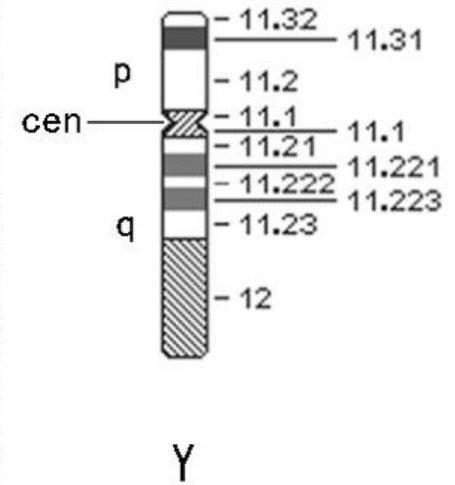
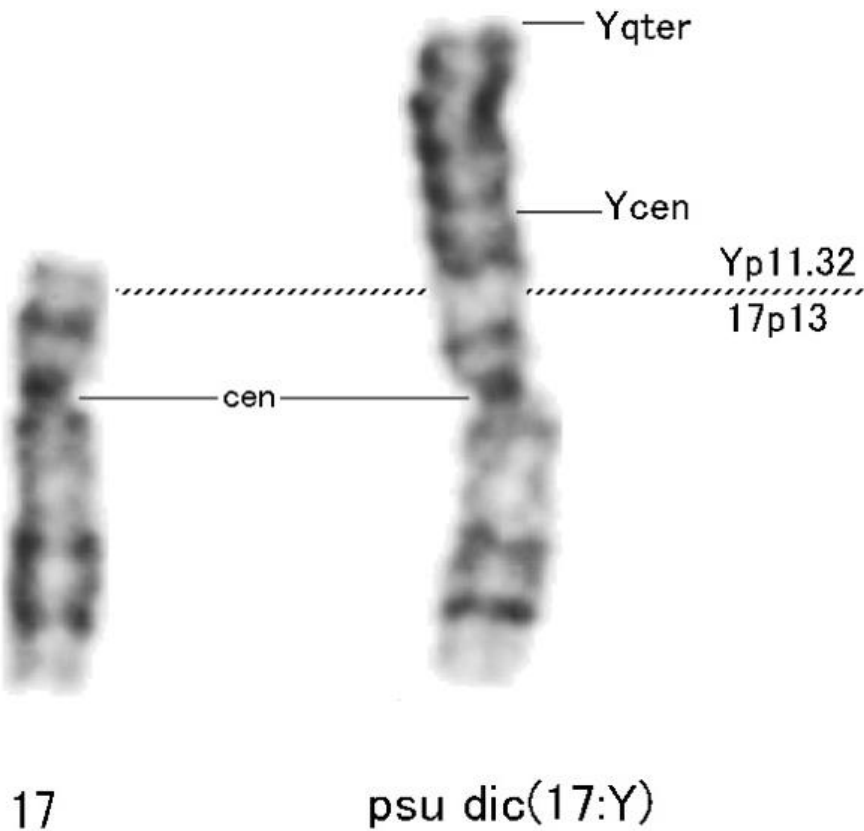
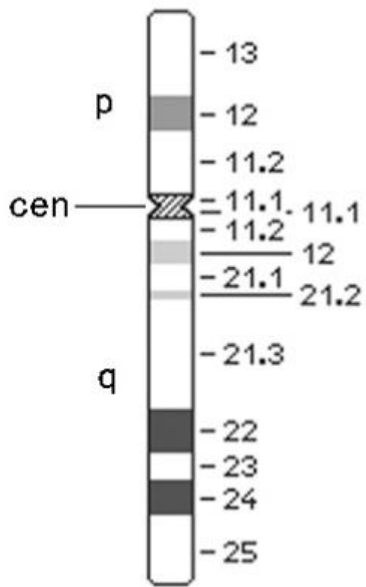


症例 1 FISH法によるSRY遺伝子の証明



全てのdic染色体上に、SRY(Yp11.3)及びDYZ3probeに由来のシグナルを検出
 Y染色体セントロメアは不活化され、派生染色体はpsu dic(17;Y)と考えられた

症例 1 最終核型を決める



G-Band

45,X,psudic(Y;17)(p11.3;p13)

ゲノム検査の順序：次にターゲット検査

1 疑わしい疾患の診断鑑別のためのターゲット検査

FISH検査：正常なら欠失は否定できる

遺伝子検査：バリエーションの扱いと評価
異常がなくても否定はできない

2 遺伝子検査でバリエーションが同定されたら

顕性疾患なのか潜性疾患なのか

ナンセンス/フレームシフト変異か

既報変異か

de novo変異か

集団での頻度は

タンパク予想プログラム

ACMGガイドライン

遺伝子検査でバリエーションが同定されたら

- 1 PVS (pathogenic very strong)**
ナンセンス変異やフレームシフト挿入欠失変異
- 2 PS (pathogenic strong)**
両親では認められない突然変異であった場合
- 3 PM (pathogenic moderate)**
変異が重篤な先天性疾患を認めないヒトの集団では観察されない場合
- 4 PP (pathogenic supportive)**
変異が複数のコンピュータプログラムで有害と予測されるミスセンス変異
- 5** 上記ratingのコンビネーションで遺伝子変異の病原性を判断するシステム

染色体異常が見つかったら

1 数的異常の場合

Trisomy 21, 18, 13,
45,X 47,XXY 47,XYY poly X
marker染色体
モザイク

2 構造異常の場合

均衡型：逆位，相互転座，ロバートソン転座
不均衡型：環状染色体，欠失，不均衡転座，
marker染色体

➤ 確認のためマルチカラーFISH

モザイクの注意事項

- 1 染色体モザイクとは個体本人の細胞に由来する異なる核型を持った細胞が併存する状態。キメラと区別される
- 2 Trisomy 8, 9, 13, 18, 21, 22, marker染色体, 並びに性染色体異常のモザイクが一般的
- 3 常染色体のMonosomyのモザイクは生産児には認めない
- 4 異常核型が20%以上あれば表現型に影響するとされる。通常20細胞カウントで十分
- 5 小さい染色体のモノソミーモザイクは検査過程のアーチファクトの可能性がある
- 6 血液検査では分裂を重ねるので実質のモザイク比率が反映されがたい

症例 2 多発異常症候群

【症例】 4歳 男児

【家族歴・妊娠歴】 特記すべきことなし

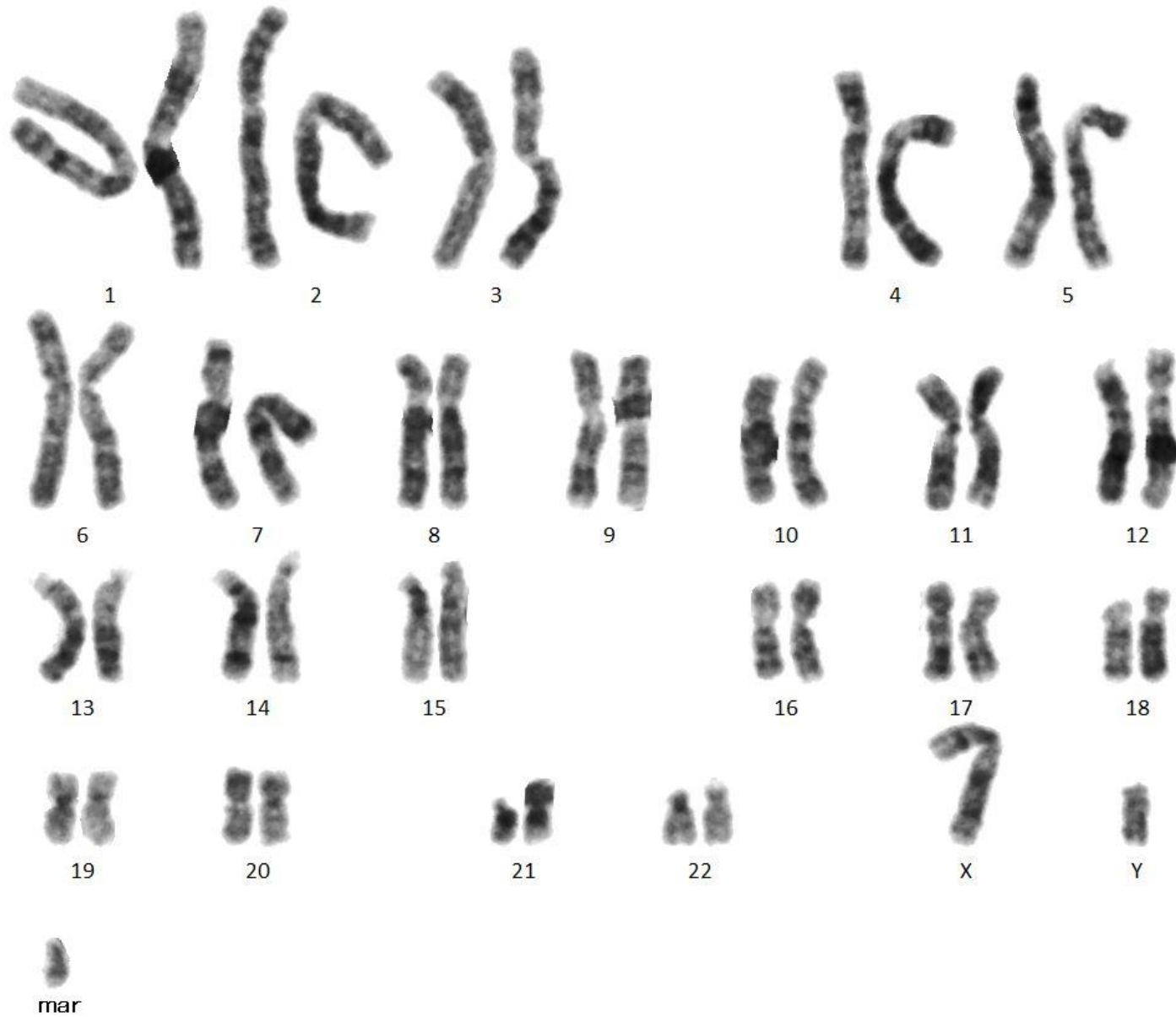
【出生歴】 36週0日 2320 g, 経膈分娩, Apgar score 8/9

【所見】

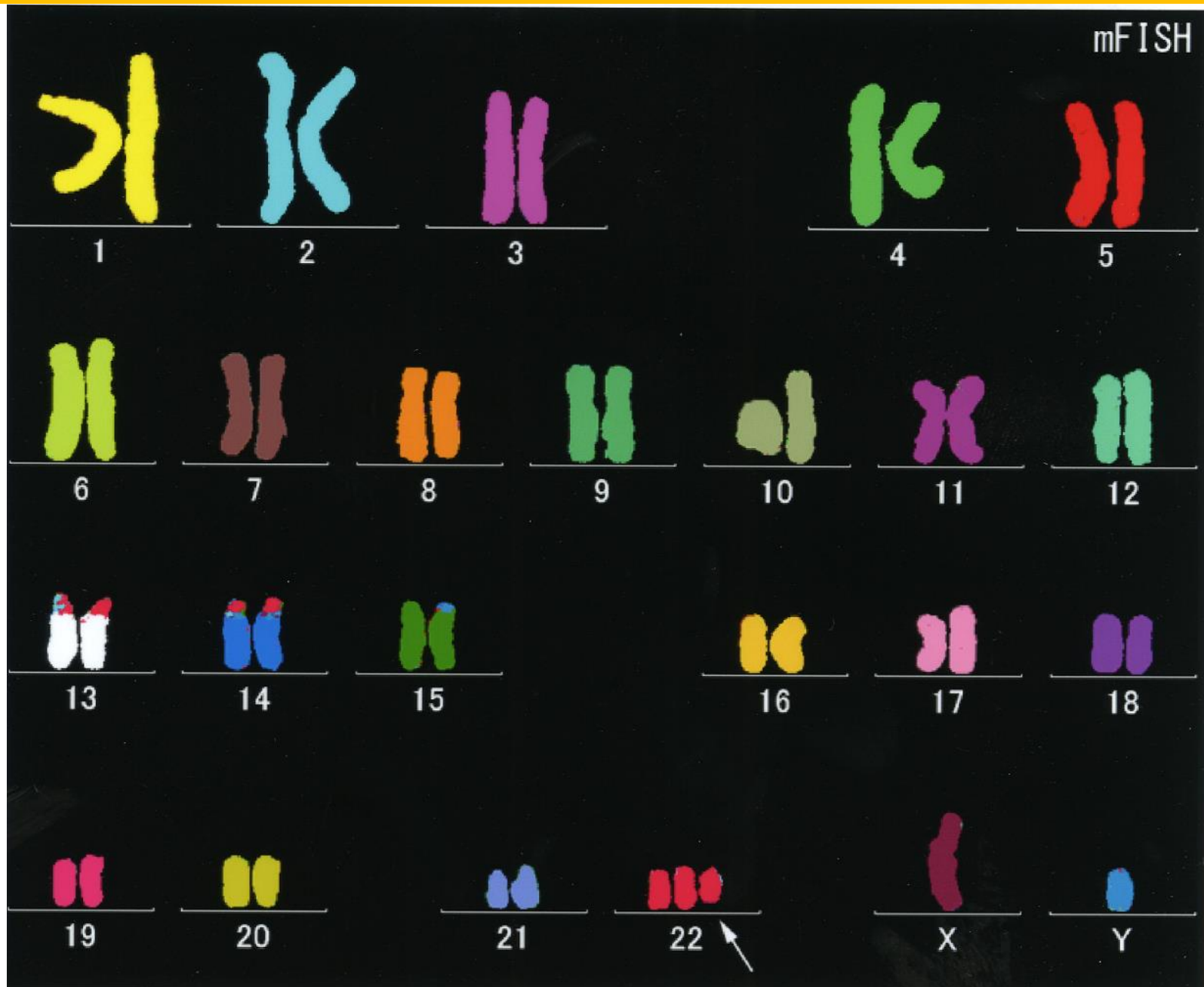
- ① 中間位鎖肛、直腸球部尿道瘻
日齢1に仙骨会陰式肛門形成術施行
- ② 喉頭軟化症
- ③ 右腎欠損症, 左膀胱尿管逆流
- ④ 気管支喘息
- ⑤ DQ 80-85
- ⑥ 身長 -0.8SD
- ⑦ 食事時に流涙 外転・内転不可
- ⑧ 耳前瘻孔

症例 2

G-banding 47,XY,+mar de novo



病例 2 multicolor FISH 47,XY,+der(22)



症例 2 Cat eye syndrome

cat eye syndrome

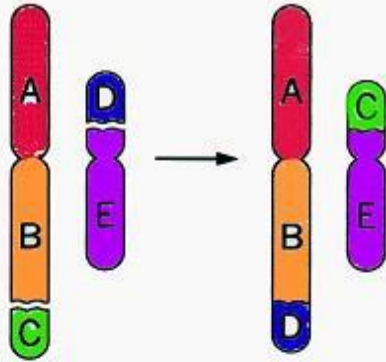
- 頻度: 5万~15万人に1人
- 成因: 22q11.2の重複
- 診断: FISH法によるマーカー染色体の同定

症状	頻度
耳介前瘻孔または副耳	70~80%
虹彩欠損	50~60%
先天性心疾患	約40%
鎖肛	約60%
腎奇形 (腎無形成, 水腎症, 膀胱尿管逆流)	20~30%

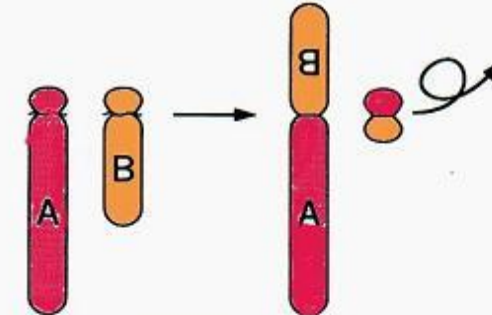
マルチカラー-FISHでわかること

- 1 マーカー染色体の由来
- 2 付加染色体における過剰部分の由来
色によって由来染色体がわかる
由来染色体のどの部位かは不明
- 3 欠失の有無はわからない
- 4 UPDはわからない
- 5 過剰部分が小さいと検出できないことがある
- 6 付加染色体に他の染色体由来断片を示す色の変化がない場合：
付加部分が小さいか、
同じ染色体の重複、欠失、逆位などの可能性
- 7 モザイクでもOK

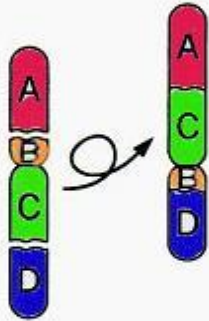
染色体の構造異常



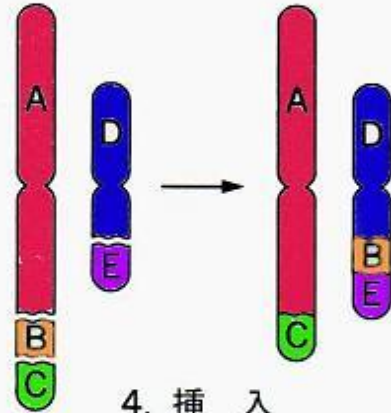
1. 転座



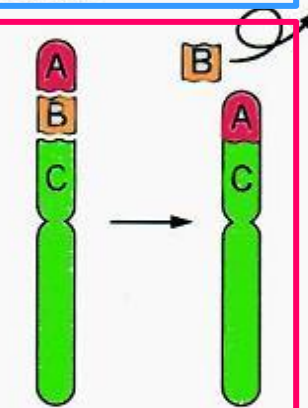
2. Robertson型転座



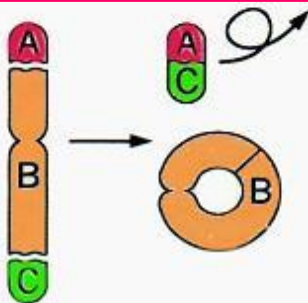
3. 逆位



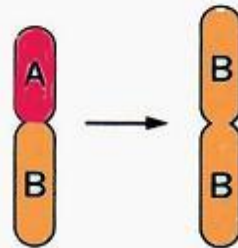
4. 挿入



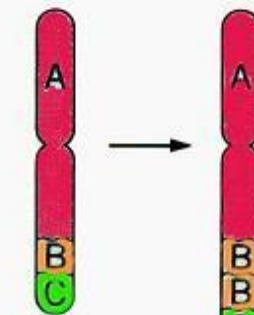
5. 欠失



6. 環状染色体



7. 同腕染色体



8. 重複

染色体の
主な構造異常

均衡型
転座
逆位
挿入

不均衡型
欠失
環状染色体
同腕染色体
重複
不均衡転座

沼部博直博士の
承諾を得て掲載

FISHの次はマイクロアレイ

- 1 CNVを鋭敏に検出する。
プローブの無い部分はわからない
モザイクだと感度が落ちる
ごく小さい範囲は見逃すことがある
転座や逆位などの切断点は同定不能
重複か挿入か, 順方向か逆方向化は不可知
- 2 SNPアレイの併設でLOHを検出できる
- 3 CNVの範囲と含まれる遺伝子を特定できる

マイクロアレイの適応は

- 1 G-bandingで不均衡型構造異常が示されたとき
- 2 G-bandingで均衡型構造異常が示されたとき
- 3 G-bandingで異常が示されないとき
- 4 微小欠失症候群等あるいはその類縁疾患を疑うとき
- 5 原因不明のMCA/MR, MCA/DD

マイクロアレイの結果判定

- 1 既存のCNV症候群と合致するか
- 2 CNVは多型と理解できるものか
- 3 CNVの範囲に感受性のある遺伝子があるか
pLIスコア TSスコアなど
- 4 CNV領域のLog 2 値は信頼できるか
- 5 あいまいさを容認すること
- 6 現在の表現型を説明しないが将来発症する原因を見落としていないか
- 7 LOHの場合 UPDが考えられるか
- 8 LOHの場合 領域にある遺伝子に劣性ホモ発症で説明のできるものはあるか

マイクロアレイの結果の確認

- 1 疾患特異的ユニークプローブによるFISHでの欠失確認
- 2 サブテロメアプローブを用いて不均衡転座の確認

症例3 多発異常症候群の1歳女児

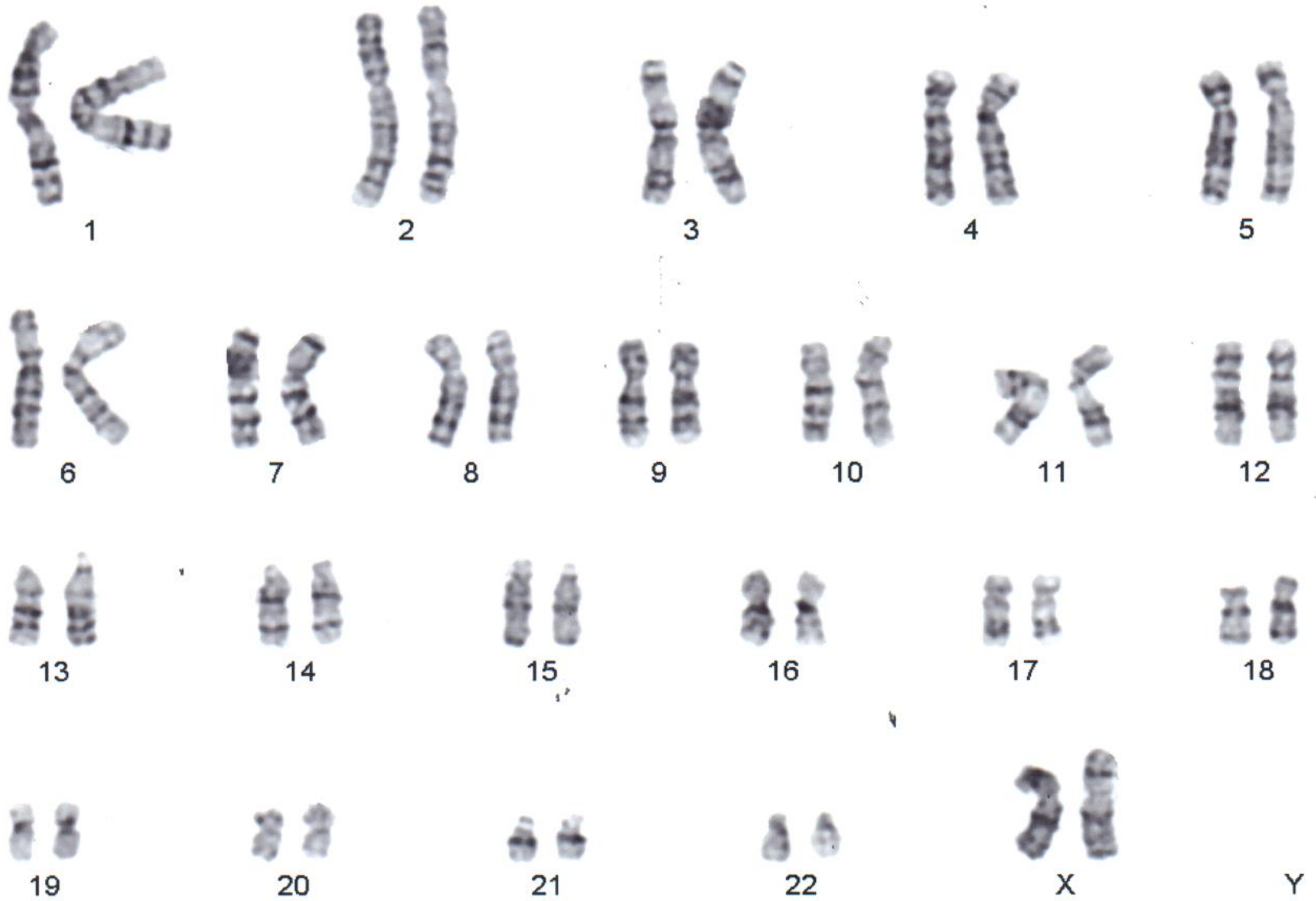
羊水穿刺:染色体検査異常なし

妊娠34週3日 1396g, 40.0cm

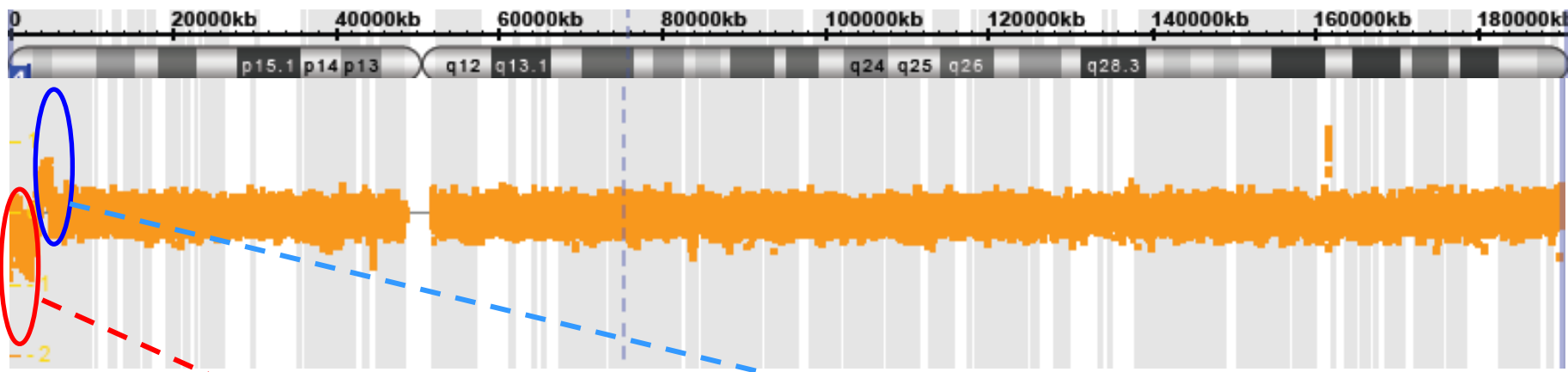
所見

1. 成長障害
1歳3ヶ月 身長 66cm(-4.0SD),体重 5650g
2. 精神・運動発達遅滞
1歳3ヶ月 寝返り可能、
自座不能、発語なし
3. けいれん発作の反復(10.カ月～)
4. 広い前額, 両眼開離, 瞼裂斜下,
聳立耳介

症例 3 遺伝学的検査-1 G-banding

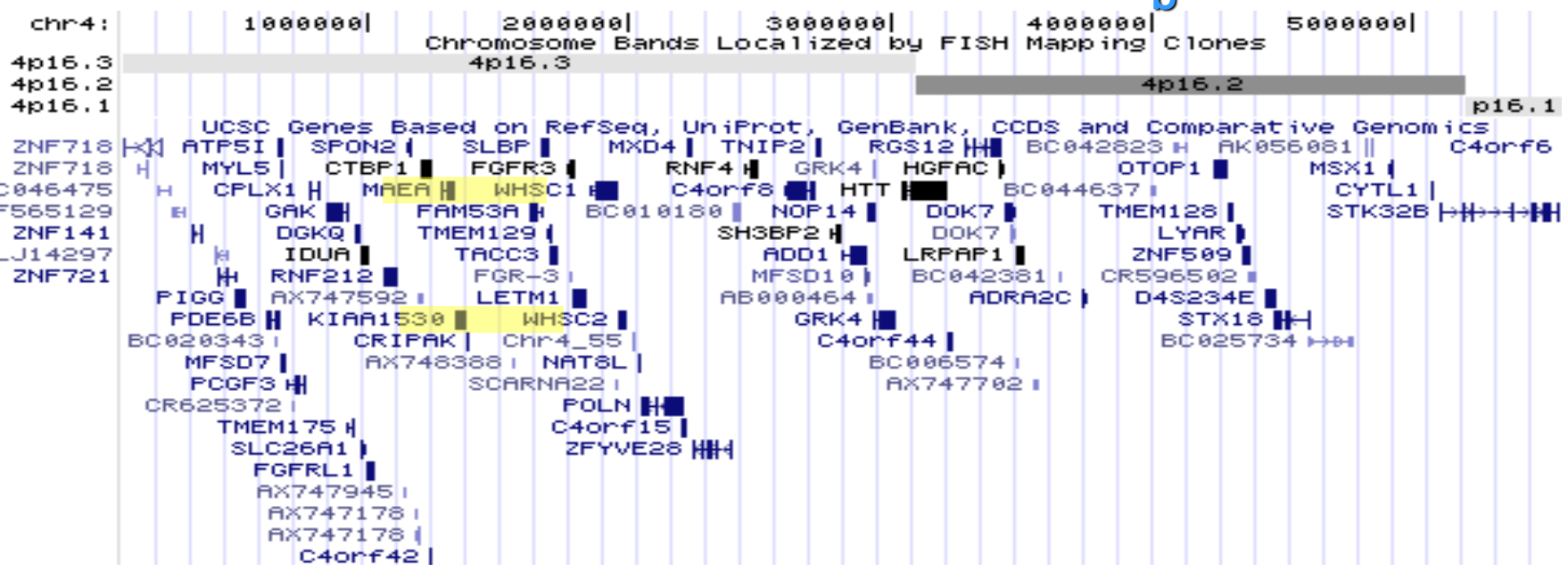


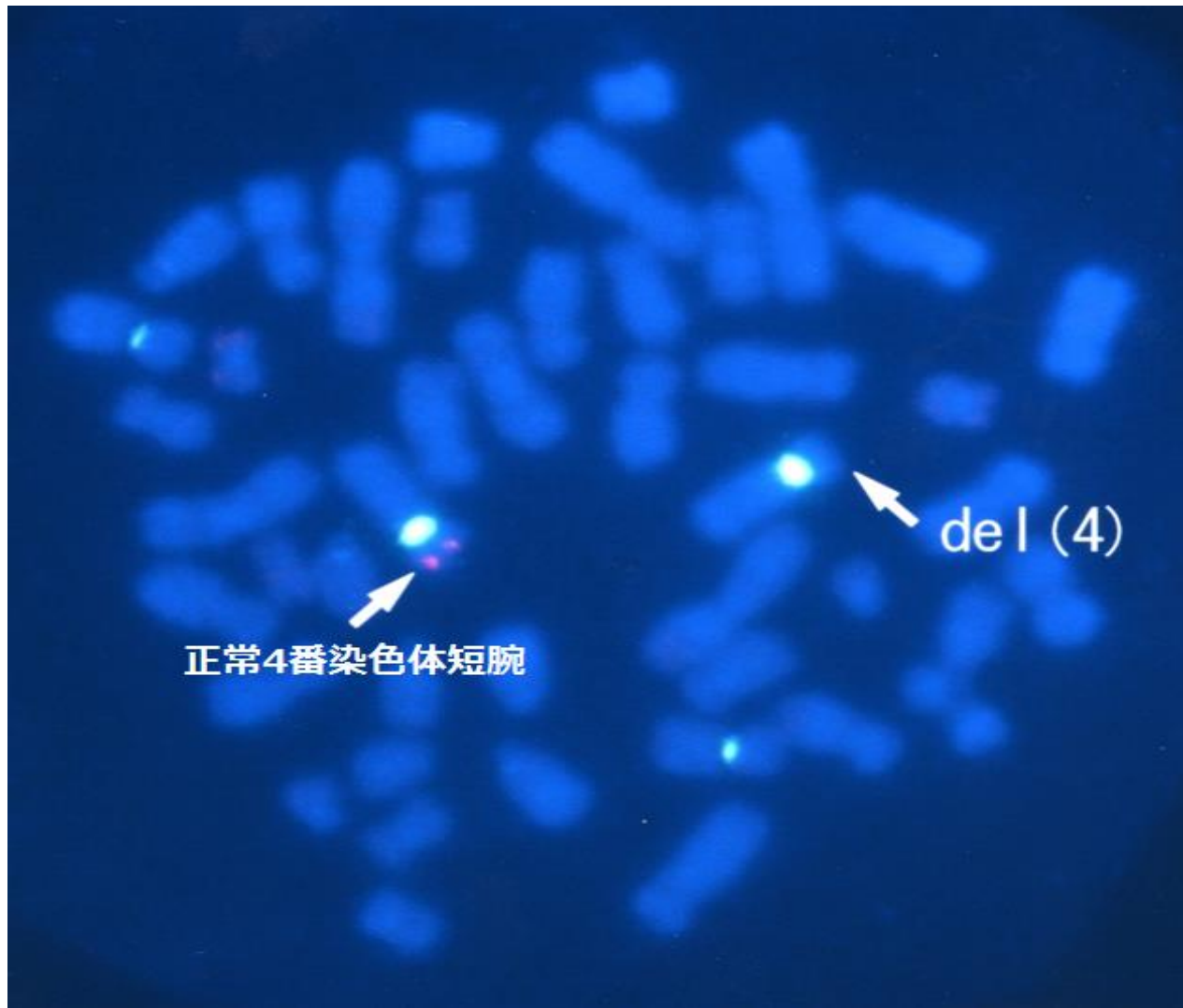
症例 3 遺伝学的検査-2 マイクロアレイ



欠失領域 3.9Mb

重複領域 1.4M





プローブ(ピンク色のシグナル): WHSCR(4p16.3)

ここまで来て 診断の確定ができれば

- 1 本人・両親に説明
- 2 構造異常の保因者の可能性のある両親には検査のメリット・デメリットを説明し、自己決定を促す。
 - 自身あるいはパートナーが保因者であることを知ることはストレス
 - 保因者とわかれば、その血縁者に知らせるべきか悩む
 - 保因者でないとわかれば、次子のリスクは低く見積もられ安心

均衡型構造異常を持つ親から不均衡型構造異常の子が発生する確率

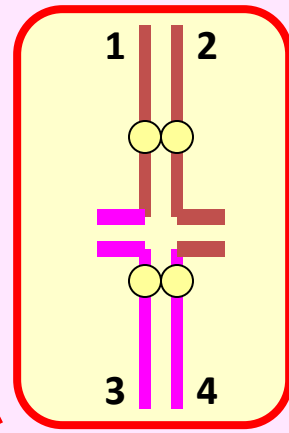
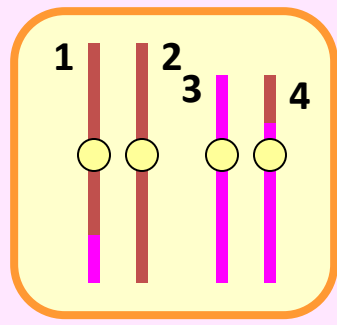
(染色体異常を見つけたら: 梶井正)

親の均衡型構造異常	子が不均衡型となる確率 (%)
複雑な構造異常・挿入	50
均衡型相互転座	
前児が不均衡型転座	20~25
前児が軽度の不均衡型転座	50
母がrob(D;21) 転座	10 ~ 15
腕間逆位	10 ~ 15
父がrob(D;21) 転座	1.5 ~ 5
反復流産の親の相互転座	1.5 ~ 5
rob(13;14)	1 ~ 2
腕内逆位	1 ~ 2

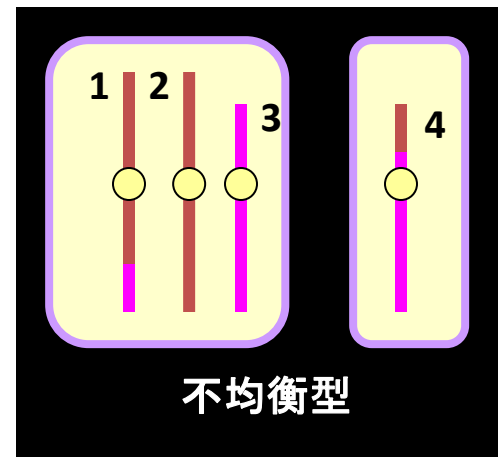
羊水分析のデータ Daniel et al. (1989)

相互転座保因者から不均衡転座が形成されるメカニズム 2

相互転座保因者

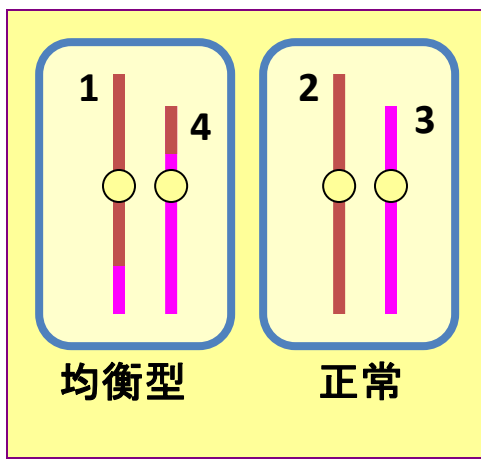


3:1分離

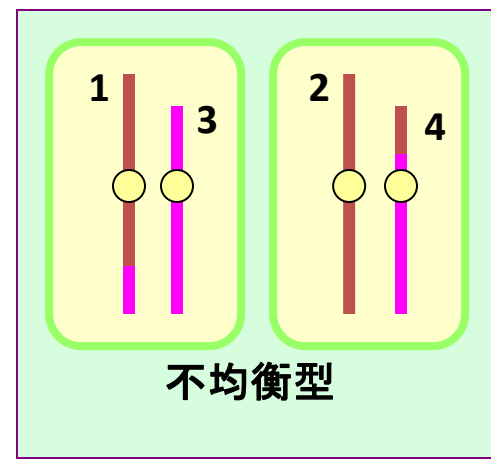


その配偶子

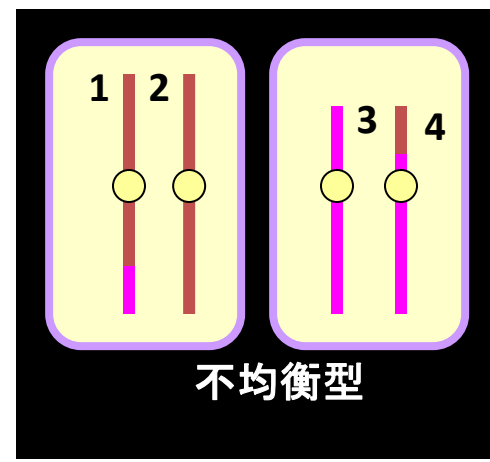
交互分離



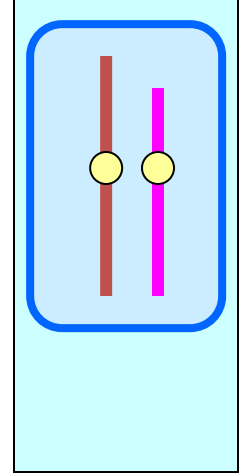
隣接 I 型分離



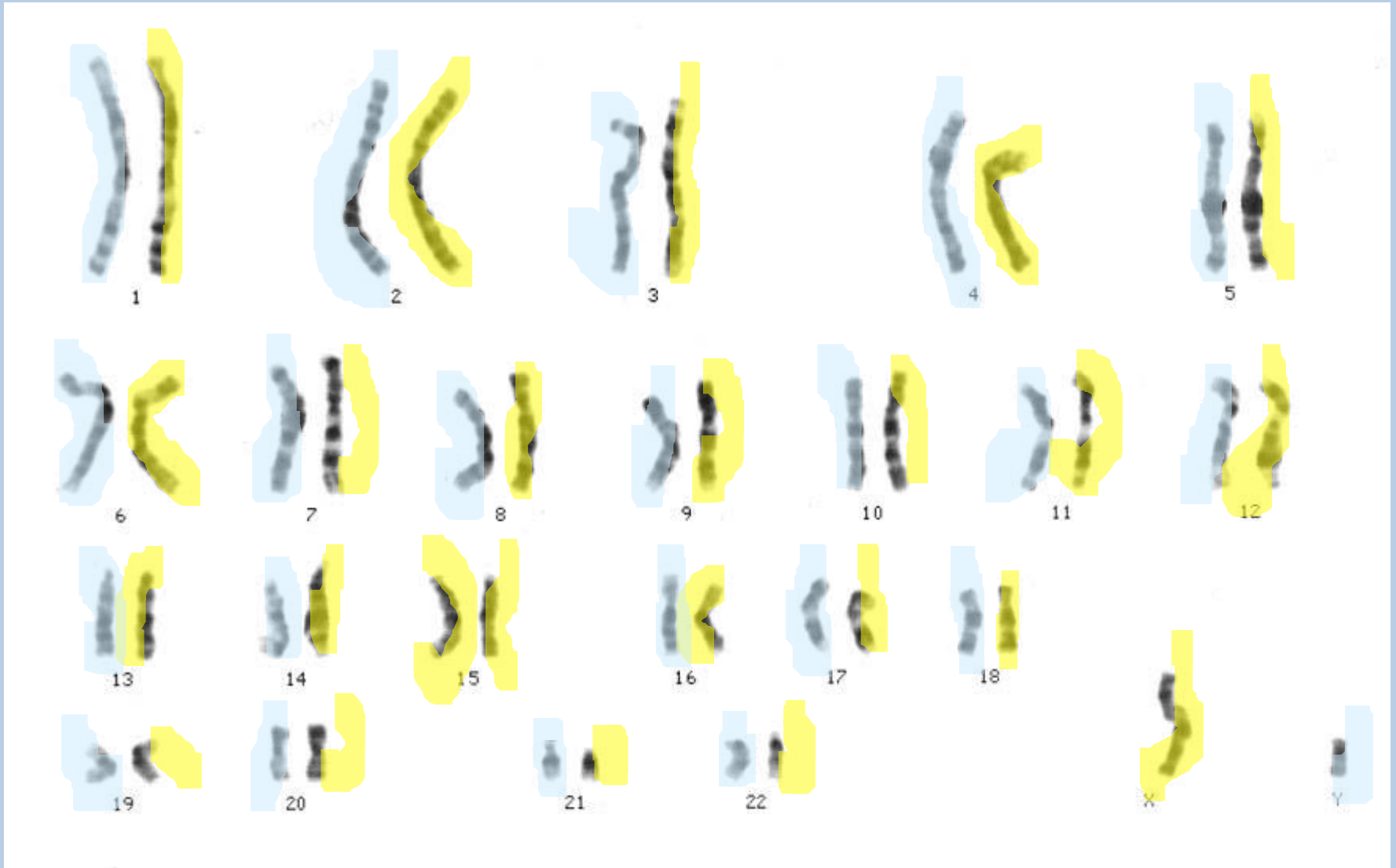
隣接 II 型分離



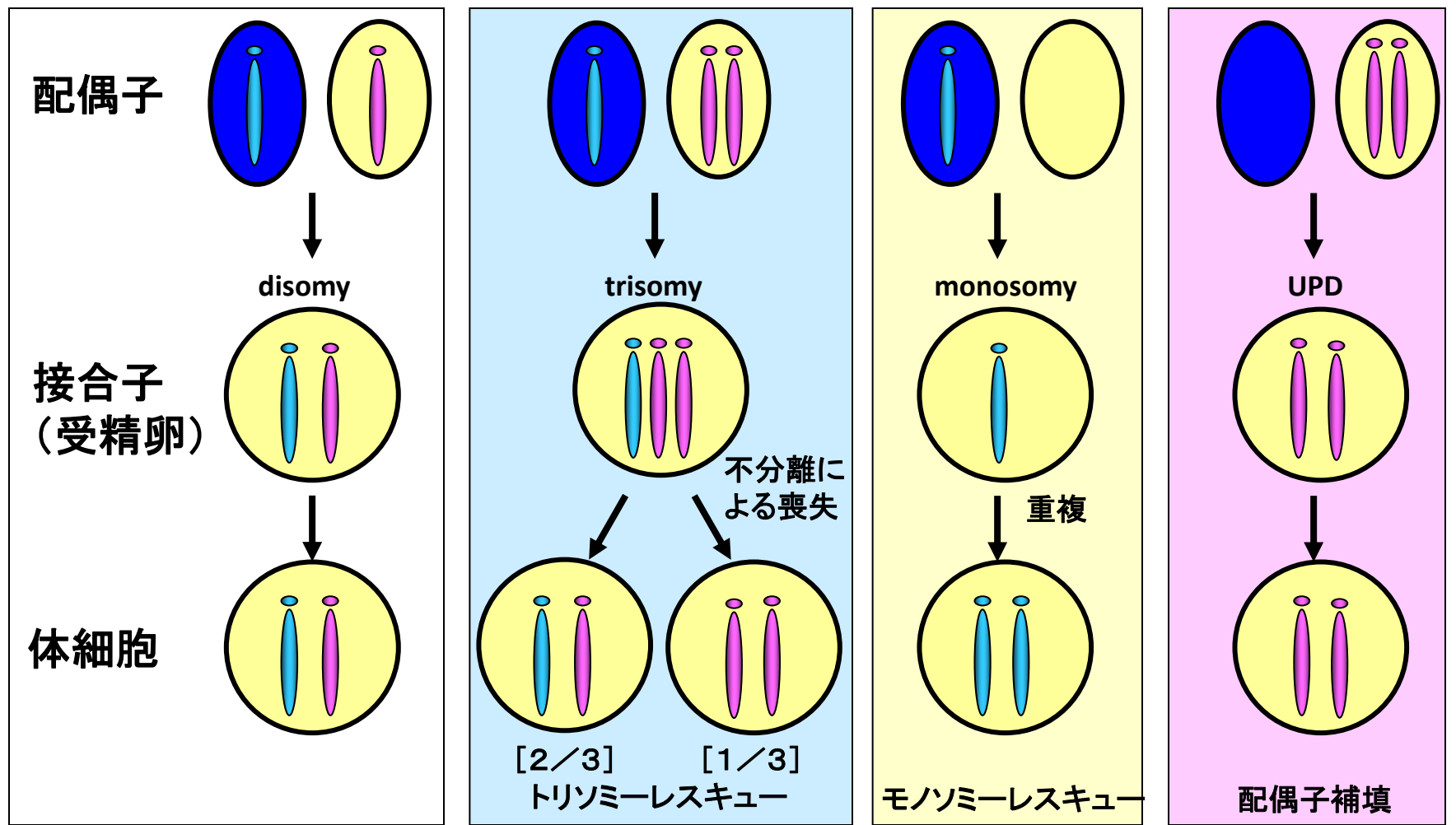
受精する正常配偶子



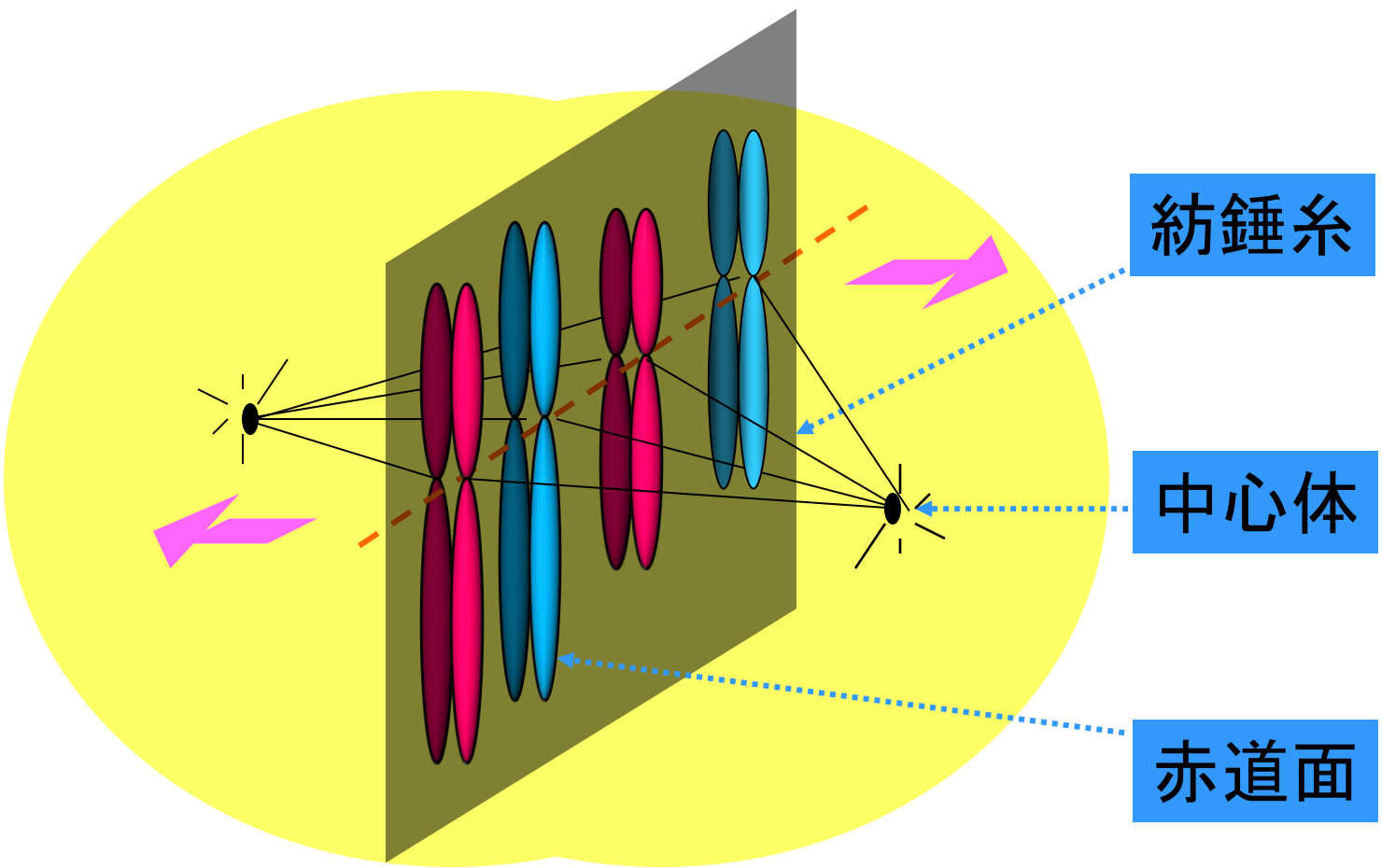
UPDとLOHを理解しよう



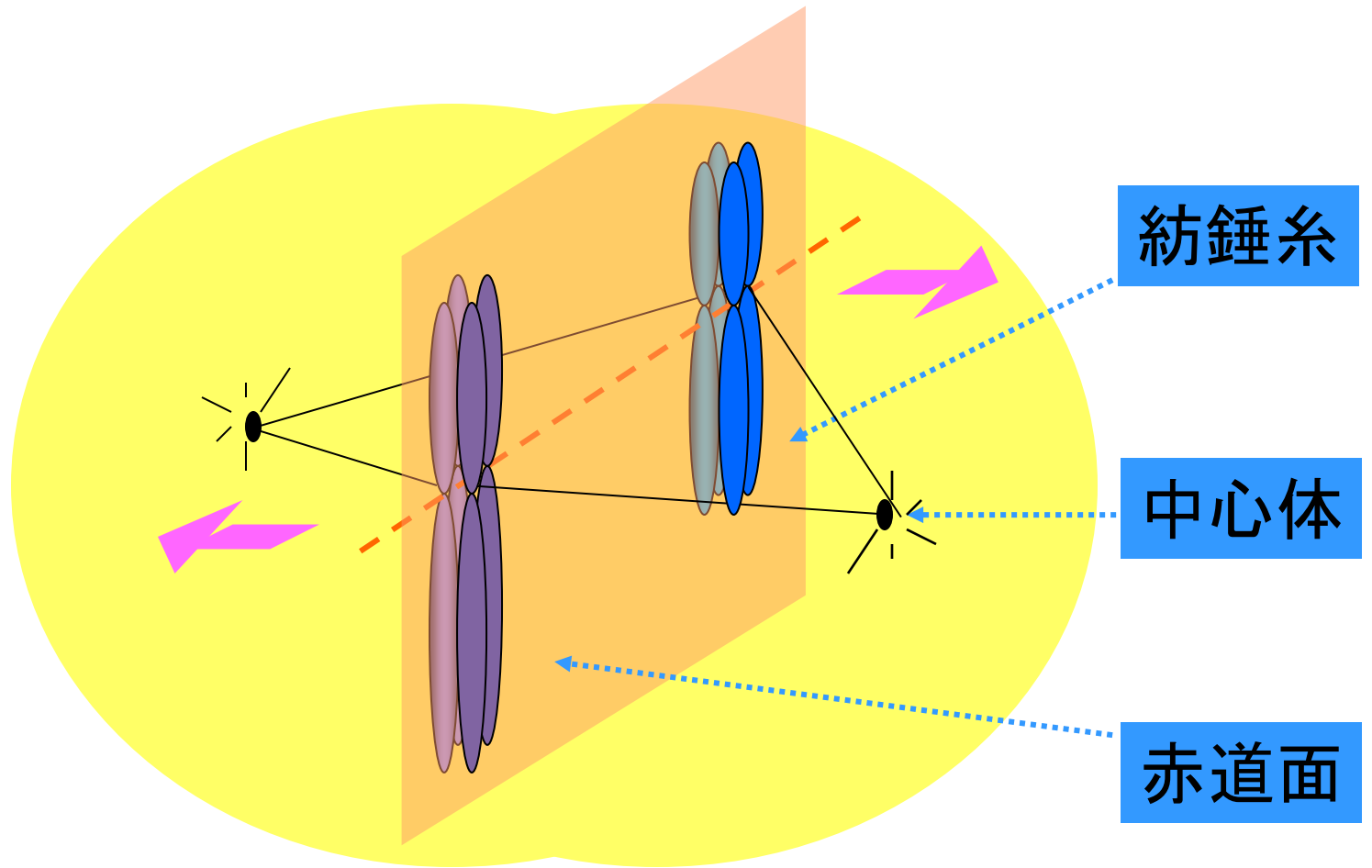
UPD成立の機構



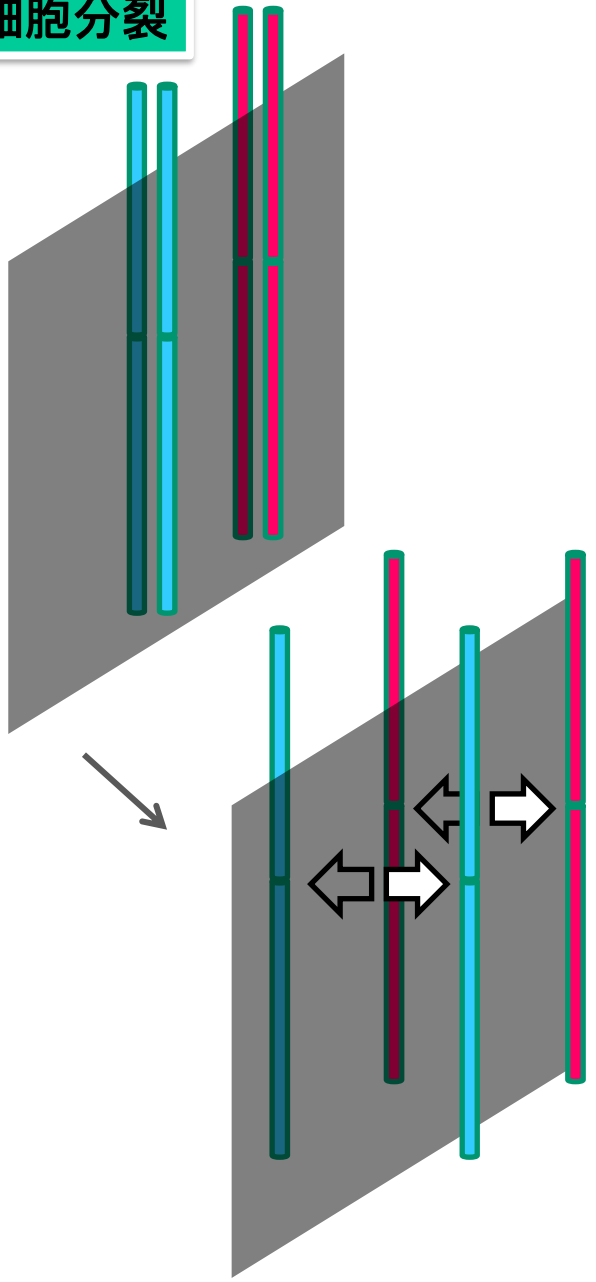
体細胞分裂時の染色体分離



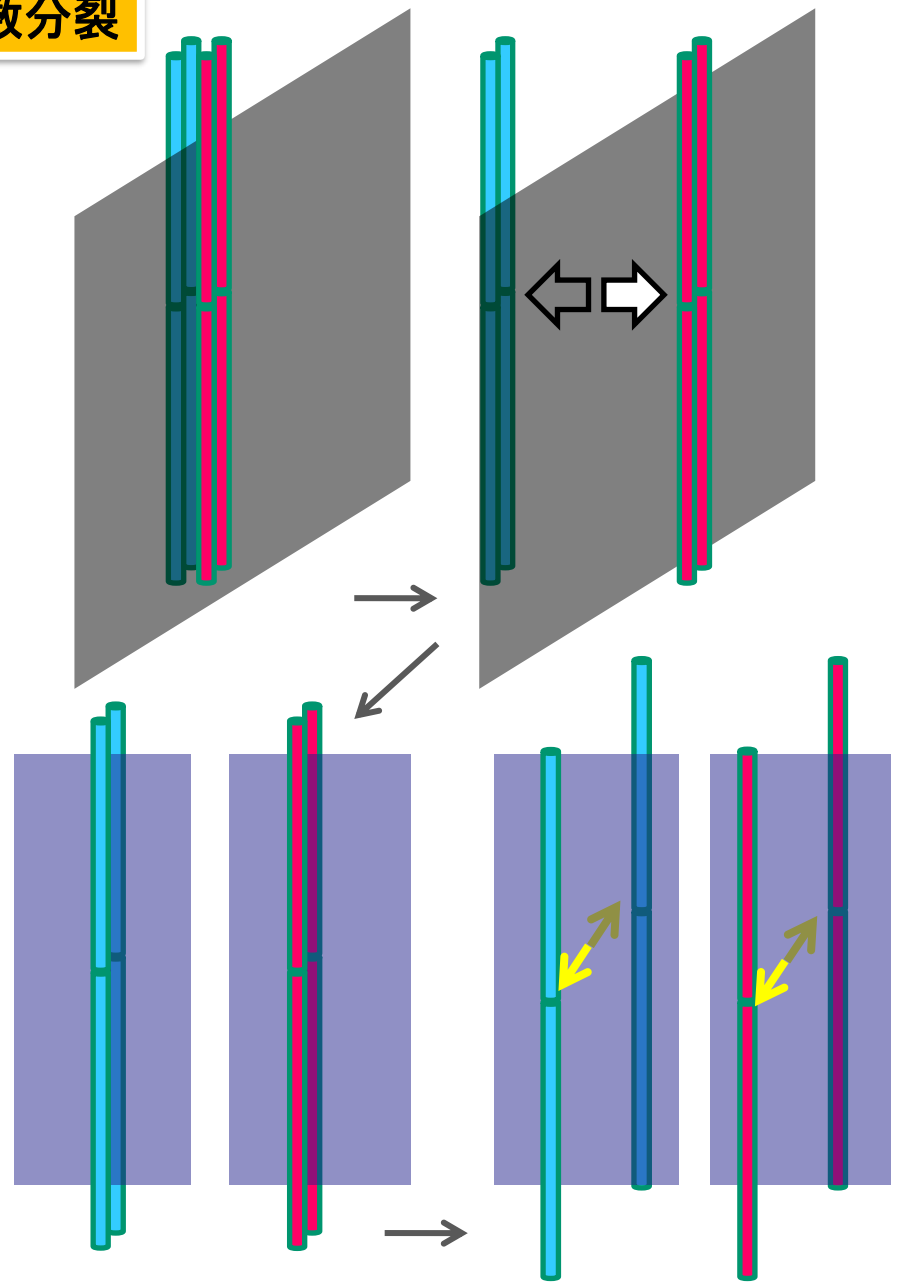
第一減数分裂の染色体の分離



体細胞分裂



減数分裂

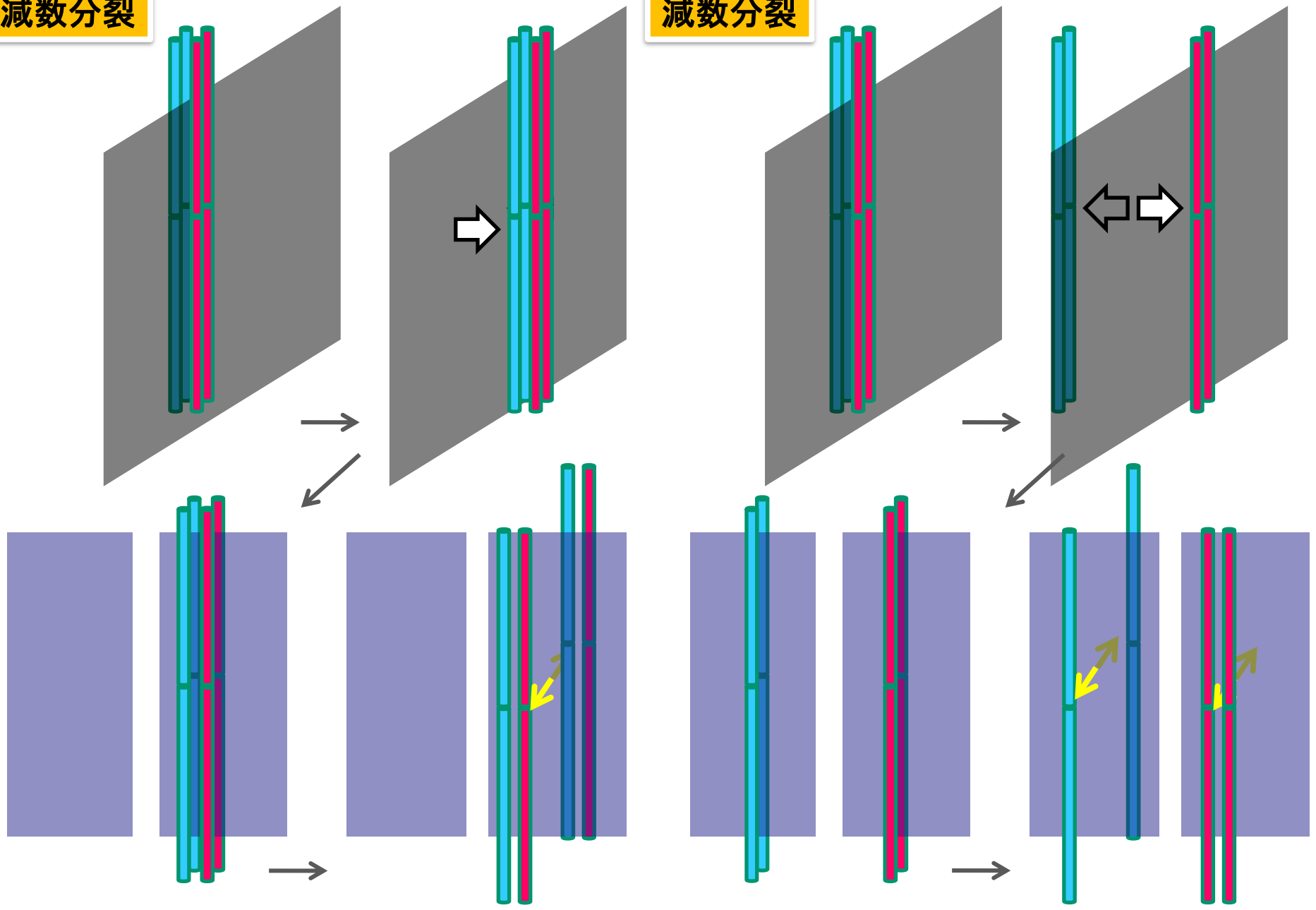


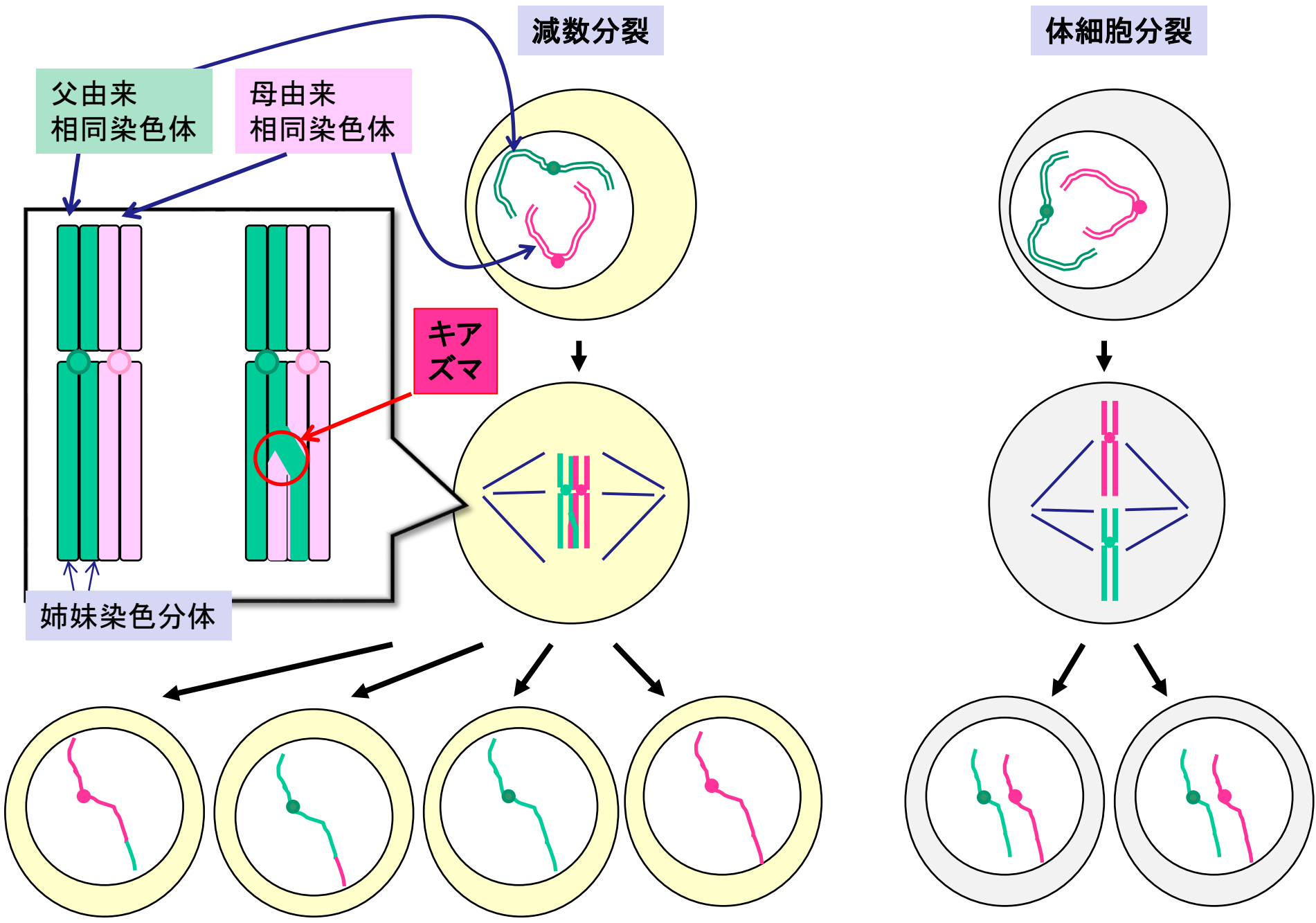
細胞分裂の際の染色分体の分離

EG2-6

減数分裂

減数分裂

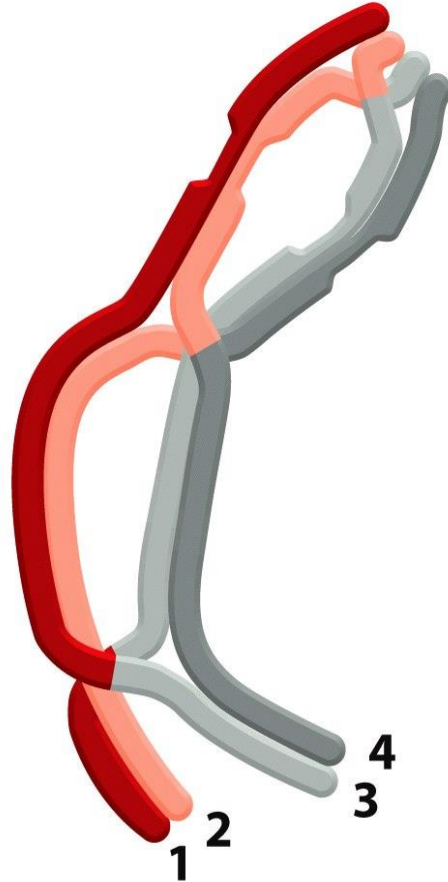




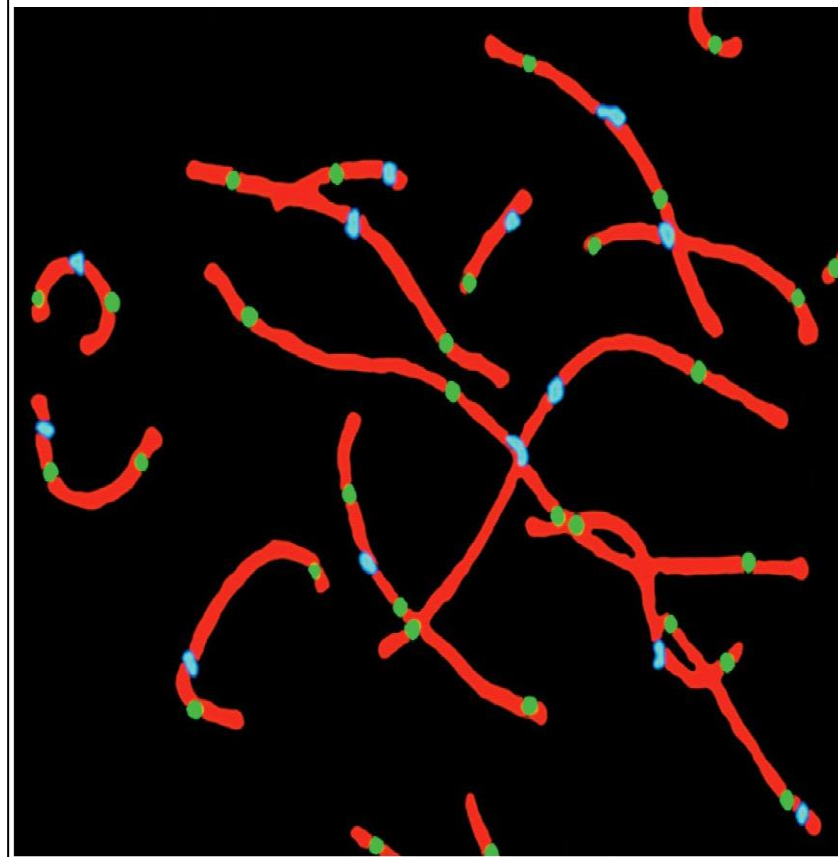
On average, between two and three crossovers occur between each pair of human homologs



(A)



(B)



10 μ m

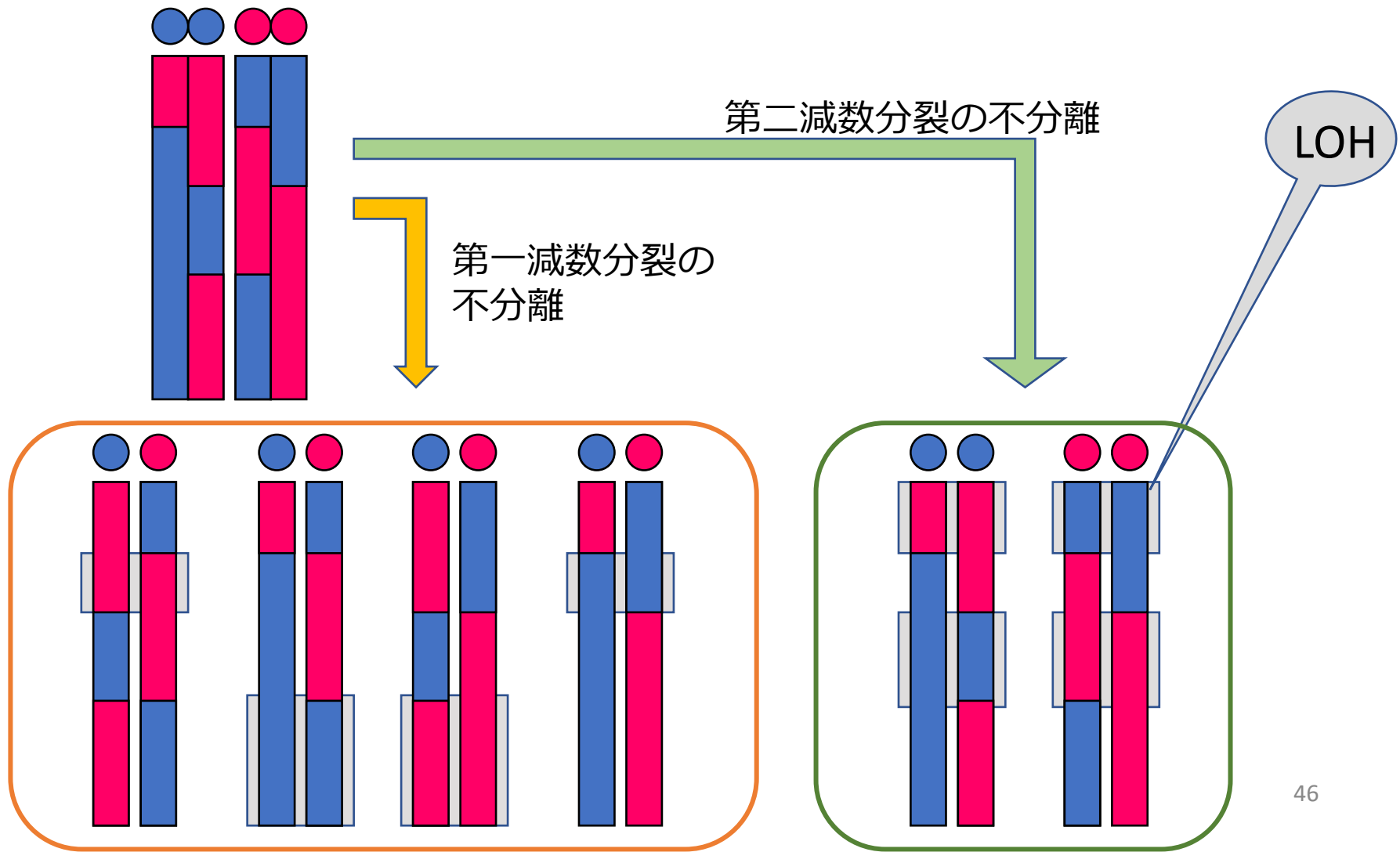
Figure 21-10 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Figure 21-14 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

UPDとLOH マイクロアレイの読みとくために

ヒトは前還元

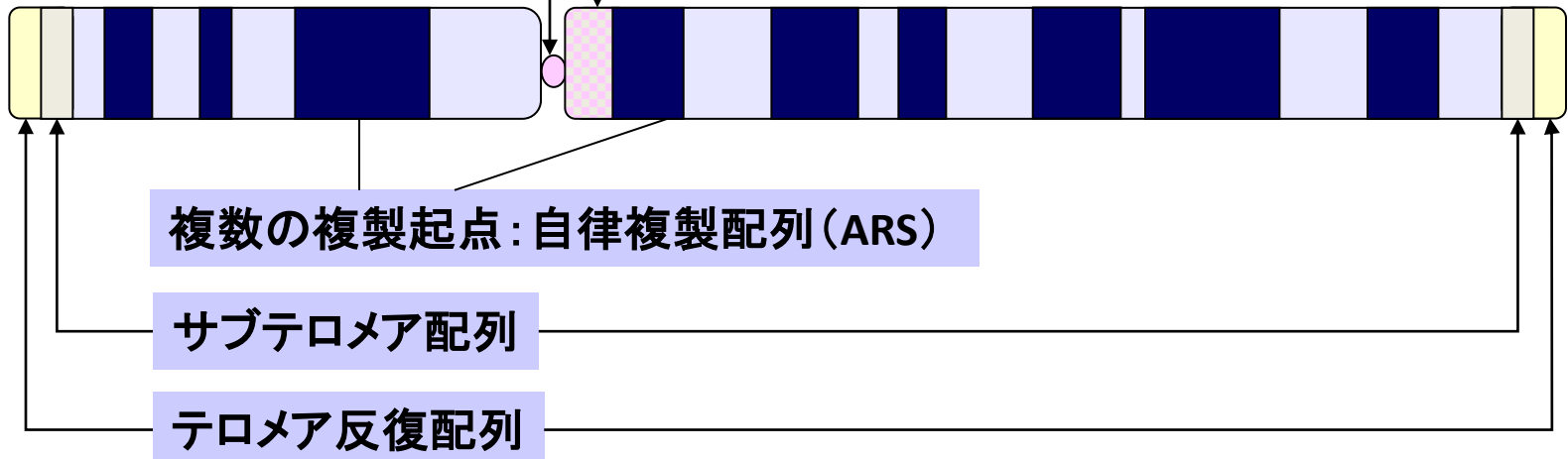
交叉組み換えは染色体当たり2-3回



染色体の構成要素

セントロメア: α サテライトのDNA171塩基配列の反復 300-5,000 kb

構成的ヘテロクロマチン領域: 1q12, 9q12, 16q11



サブテロメア 細胞分裂期にはセントロメア局在しているシュゴシンタンパク質が、間期になるとサブテロメアにリクルートされ、knob構造の形成、サブテロメア遺伝子群の転写抑制、サブテロメア領域のDNA複製タイミングの維持に、重要な役割を果たしている

染色体の部分欠失と疾患-I

染色体異常	疾患名	重症度	頻度
5p部分欠失	5p-症候群	重症	1/20,000-50,000
4p部分欠失	4p-症候群	重症	1/20,000-50,000
15q部分欠失	Prader-Willi 症候群	中等症	1/ 10,000 - 15,000
15q部分欠失	Angelman 症候群	重症	1/12,000-20,000
7q部分欠失	Williams症候群	中等症	1/20,000
22q11部分欠失症候群		中等症	1/3,000-6,000

染色体の部分欠失と疾患-II

欠失領域	疾患名	症状
1p36	1p36 欠失症候群	重度精神遅滞, けいれん, 難聴, 特異顔貌
5q35	(欠失型)Sotos 症候群	過成長*, 大頭症, 巧緻運動障害, 特異顔貌
8q24.1	Langer-Giedion 症候群	疎な毛髪, 洋梨鼻, 多発性外骨腫
9q34	9q34 欠失症候群	眉毛癒合, 突き出た下顎, 筋緊張低下
11p13	WAGR 症候群	Wilms 腫瘍, 無虹彩, 性器・尿路異形成
16p13.3	Rubinstein-Taybi 症候群	幅広い母指趾, 特異顔貌, 精神遅滞
17p11.2	Smith-Magenis 症候群	特異顔貌, 行動異常
17p13.3	Miller-Dieker 症候群	滑脳症, けいれん, 額の深い皺
20p11.2	Alagille 症候群	胆汁うっ滞, 肺動脈狭窄, 後部胎生環,
22p13.3	22p13.3欠失症候群	精神遅滞, 感覚鈍麻, 大きく肉厚の手, 2-3合趾

染色体部分欠失症と診断用FISHプローブ

欠失領域	疾患名	代表的責任遺伝子	プローブ用クローン
1p36	1p36 欠失症候群		D1Z2, 1pTel
4p16.1	4p-症候群		D4S96
5p15.2	5p-症候群		D5S23
5q35	(欠失型)Sotos 症候群	<i>NSD1</i>	NSD1 (66 %)
7q11.23	Williams 症候群	<i>ELN, LIMK1</i>	ELN
8q24.1	Langer-Giedion 症候群	<i>EXT1</i>	EXT1
9q34	9q34 欠失症候群		9qTel
11p13	WAGR 症候群	<i>PAX6, WT1</i>	PAX6, WT1
15q11.2	Prader-Willi 症候群		SNRPN (70 %)
15q11.2	Angelman 症候群	<i>UBE3A</i>	GABRB3 (70 %)
16p13.3	Rubinstein-Taybi 症候群	<i>CREBBP</i>	CREBBP (10 %)
17p11.2	Smith-Magenis 症候群	<i>SMS</i>	SMS
17p13.3	Miller-Dieker 症候群	<i>LIS1</i>	LIS1
20p11.2	Alagille 症候群	<i>JAG1</i>	JAG1 (5-7 %)
22p11.2	22p11.2 症候群	<i>TBX1</i>	TUPLE1
22p13.3	22p13.3欠失症候群	<i>ProSAP2</i>	ARSA, 21qTel

サブテロメア微細構造異常症

1. 概要

サブテロメア微細構造異常症は、染色体末端部サブテロメア領域の微細なゲノム構造異常(欠失あるいは重複)を原因とする先天異常症候群で、多発奇形・精神遅滞の症状を呈する。一般的に多発奇形・精神遅滞の原因の殆どは不明だが、5～10%はサブテロメア微細構造異常に起因する。本症は比較的高い発生頻度を呈しながら、実態・発生頻度や合併症管理・治療指針が殆ど明らかにされていない疾患である。疾患としては、領域ごとにまとめることができ、代表的なものとして1q44欠失症候群、6p25欠失症候群、9q34欠失症候群、22q13.3欠失症候群などがあげられる。

2. 疫学

原因不明の多発奇形・精神遅滞症例の5～10%はサブテロメア微細構造異常症と考えられている。精神遅滞が一般集団の1～3%に見られ、特に重度精神遅滞は約0.3%存在すると考えられていることから、サブテロメア微細構造異常症は一般集団においては3,000～4,000出生に1例と考えられる。この値は、小児病院遺伝外来受診症例から推定した値とほぼ一致している。

まとめ

- 先天多発異常症候群, 遺伝性疾患にたいしては積極的にゲノム検査を行う.
- 臨床診断は, 医師の知識, ガイドライン, データベース等を参考に慎重に行う
- ゲノム検査は有用な診断支援ツールである.
- まずはG-bandingによる染色体検査が基本である.
- その上で, ターゲットプローブFISH, ターゲット遺伝子解析に進む.
- 一方, 染色体異常があれば, 必要に応じて, マルチカラーFISH, なければマイクロアレイ染色体検査を考慮する.