

染色体遺伝子検査の 分かりやすい説明ガイドライン



独立行政法人福祉医療機構長寿社会福祉基金（一般分）

平成18年度助成金事業

介護予防のためソーシャルワーク従事者等への
予防や判断情報伝達・知識の向上事業

日本染色体遺伝子検査学会

目次

刊行のことば	小亀圭司（日本染色体遺伝子検査学会理事長）	1	
序文	清水信義（慶応義塾大学医学部分子生物学教室教授）	2	
推薦のことば	濱田嘉徳（国立病院機構香川小児病院名誉院長）	4	
第1章 染色体遺伝子検査の技術			
1節	染色体・遺伝子とは	小亀圭司（日本染色体遺伝子検査学会理事長）	7
2節	染色体検査	清水雅代（倉敷中央病院臨床検査科）	16
3節	FISH検査	曾根美智子（国立病院機構香川小児病院臨床検査科）	22
4節	遺伝子検査	南木 融（つくば大学附属病院臨床検査部）	28
第2章 腫瘍の染色体遺伝子検査			
1節	急性白血病	清水雅代（倉敷中央病院臨床検査科）	41
2節	慢性白血病	松野一彦（北海道大学医学部保健学科）	47
3節	小児白血病	岩井艶子（国立病院機構香川小児病院小児科）	54
4節	悪性リンパ腫	佐藤悦子（雪の聖母会聖マリア病院中央臨床検査センター）	60
5節	がんの遺伝子変異	長屋清三（名古屋市立大学大学院医学研究科）	66
6節	家族性大腸がん	市川 明（栃木県立がんセンター検査部）	71
7節	多発性内分泌腫瘍症2型・家族性甲状腺髄様がん	須貝幸子（財団法人癌研究会有明病院遺伝子診断部）	82
8節	家族性乳がん	須貝幸子（財団法人癌研究会有明病院遺伝子診断部）	88
9節	固型癌における分子標的治療薬と染色体・遺伝子検査	柴田典子（愛知県がんセンター中央病院臨床検査部）	96
第3章 遺伝病や遺伝素因による病気の染色体遺伝子検査			
1節	代謝異常	伊藤道徳（国立病院機構香川小児病院小児科）	109
2節	糖尿病	横田一郎（国立病院機構香川小児病院小児科）	117
第4章 染色体遺伝子検査を受けるにあたっての考え方			
1節	インフォームドコンセントと遺伝カウンセリング	玉置知子、斉藤優子（兵庫医科大学遺伝学教室）	123
2節	法律と倫理	森山幹夫（厚生労働省国立看護大学校）	135
第5章 質問にお答えして…141			
委員名簿			
編集後記			

発刊のことば

このたび、日本染色体遺伝子検査学会の事業として「染色体遺伝子検査の分かりやすい説明ガイドライン」を刊行することができました。これは、独立行政法人福祉医療機構長寿社会福祉基金事業から助成を受け、多くの先生方のご尽力とご協力の下に発刊できたものです。関係各位に心から感謝の意を表します。

染色体遺伝子検査は、研究の進歩とあいまって急速に臨床の場でその重要性を増しつつあります。さまざまな遺伝子情報が医療に応用され、私たちの身の回りを見ても、もはやその情報から逃れられない状況になってきております。

皆様もご存知の通り、医療における意思最終決定者は患者さんです。高齢者や介護を受ける方が患者さんになった場合に、検査や診断および治療の説明を良く理解することは必要不可欠です。しかしながら、染色体遺伝子検査の説明は一般的な医療提供者にとって難しく、患者さんは大きな不安を抱えることがあります。高齢者では、その間に認知症に至ったり、認知症が進んだりする場合があります。介護の原因の一つとなっています。従って、まずは医師のみならず、看護師やソーシャルワーク従事者が、遺伝子医療にまつわる諸問題に精通していることが、強く望まれます。意思決定のための正確な情報を、患者さんに分かりやすく提供する必要があります。

本ガイドライン編集の基本理念は、高齢患者などを支援する目的のために、コ・メディカル・スタッフ、ソーシャル・ワーク従事者に理解してもらえ、染色体遺伝子検査について“分かりやすい”手引き書を作り、皆様に理解していただくことです。染色体遺伝子検査が正しく理解され、適正に使用されるために、ガイドラインは大変重要な役割を担うと考えますが、今のところこのような手引き書は、本邦では見ることはできません。我々は、微力ながらも、力を合わせて初のガイドライン作りに着手いたしました。

しかし、なにぶんにも初めての試みでもあり、満足のいくものとは言い難いかもしれませんが、皆様からの忌憚のないご意見を頂戴し版を重ねることによって、より良いものを作っていく所存です。さらに、臨床検査としての染色体遺伝子検査の精度管理や標準化をさらに推進し、安心・安全な医療を患者さんに提供できるように会員一同努力を重ねて参ります。

ここに、今回のガイドラインを執筆するにあたり、貴重な時間を割いてご協力下さいました先生方に心から深謝いたします。本事業が「介護予防のためソーシャルワーク従事者等への予防や判断情報伝達・知識の向上事業」に対する独立法人福祉医療機構「長寿社会福祉基金」の助成なしには、遂行され得なかったことを明記し、厚生労働省と機構に対し感謝の意を表します。

本ガイドラインに対する、多数の皆様からのご意見、ご指導、ご助言また評価を賜りますようお願い申し上げます。

平成19年2月20日

日本染色体遺伝子検査学会理事長
小亀 圭司

染色体遺伝子検査の展望

清水信義（慶應義塾大学医学部分子生物学教室）

近年、我が国は世界でも稀な高齢化社会を体験している。健康で元気な長寿社会は誰もが望むところであろうが、現実には加齢によって生じるさまざまな身体的な障害が老人を襲っており、大きな社会問題となっている。従って、老化の予防や障害の治療、介護のための医療技術の開発・改良と何よりも効果的な実施が求められている。このような時機に、「染色体遺伝子検査の分かりやすい説明ガイドライン」が刊行されることは、医師、看護師、検査技師などに限らず、介護の現場で活躍されているソーシャルワーカーなどの方々の、遺伝子・染色体と病気との関連に関する医学的知識の向上、介護のレベルアップに役立つものと、本ガイドラインのインパクトは大きいと期待される。具体的には、先天異常や腫瘍、代謝異常、糖尿病に注目して、病院で実施されている染色体と遺伝子に関する検査の実際を紹介している。また、検査を施す側と検査を受ける側の関係に触れる課題などを、現場に即して分かりやすく解説している。これらの検査項目は永年かかって確立されたものに限定されており、それらを実践してきたベテランが記述しているのできわめて実用的である。一方、高齢発症のアルツハイマー病やパーキンソン病、生活習慣病などに関する項目は省略されている。これらは一部で特殊検査として行なわれているが、未だ確定診断法が確立されていないために記載されていない。

ヒトの設計図とも言える「ゲノム」は30億塩基対からなるDNAであり、その塩基配列に人間の構築と生命の営みのための遺伝情報が格納されている。また、遺伝子DNAの塩基の変化によってつくられるタンパク質の働きが違ったり失われたりする。そのことが多くの病気の発症につながることも広く知られている。ヒトゲノムには現在23,000遺伝子が同定されており、そのうち約5,000が先天性疾患の原因になるといわれている。また、一生の間に孤発的に生ずる染色体や遺伝子の変異もあり、多くの癌の発症と関連することが知られている。さらに、ヒトゲノム30億の塩基配列には個人差(SNPで代表される)があり、古くからいわれる体質に相当して生活習慣病の重要な遺伝因子と考えられている。

未曾有のヒトゲノム解読の成果によって、遺伝子検査や染色体検査に関する情報や技術が格段に進歩した。FISH法による染色体の解析、PCRによる遺伝子の増幅、DNAチップによるSNP解析など枚挙に暇がない。いずれにしても、本ガイドラインで述べられているような、検査の結果が明瞭確実であり予防や治療効果が期待される技術に関しては、今後も開発改良が繰り返され、より高精度、高速、低価格になって汎用性が高まり社会貢献すると期待できる。一方、生活習慣病のような多因子疾患に関しては、遺伝子変異と発症の相関関係が現状では不十分であるため実用不可能であり、個人に合わせたオーダーメイド医療の時代の到来はほど遠いと考えられる。しかしながら、そもそも「生活習慣」で一括りにできる病気である限り、若い時から生活習慣に気配りし、病の兆しが現れたら早速改善の努力をすればよい。一方、アルツハイマー病やパーキンソン病などに関しては、若年発症の原因遺伝子の解明が急激に進展しており、その成果に基づいて高齢発症の病理や分子機構も推論できるようになりつつある。いずれは遺伝子検査の項目に組み入れられるであろう。

最近、WHOの支援で「国際バリオーム計画」立ち上げの呼びかけが始まった。「バリオーム: Variome」

とはヒト遺伝子の塩基配列レベルでの多様性 (Variation) の総体を示す新造語であり、その中には変異や SNP が含まれ、地球人類 60 億の人々の遺伝子における人種差や個人差を系統的に解析して、疾患と遺伝子多様性の相関を徹底的に追究することによって、健康と福祉の医療が画期的に亢進すると考えられている。さらに、得られた結果をデータベース化し、全世界の医療関係者が必要に応じてアクセスできるネットワークシステムを構築するという、壮大な目標を掲げた国際協力事業である。現状では、各国の行政に支援を訴える活動が開始されたにすぎないが、我が国からも一刻も早い支援が望まれる。いずれにしても、このような新しい角度からの基礎医学研究が展開されことによって、変異と疾患の相関が益々明快になり、染色体遺伝子検査の適用範囲も拡大すると期待される。繰り返して述べるが、現状でも染色体遺伝子検査によって疾患の予防や治療の方針が決まることも多く、そのような医療効果をもたらす検査に関しては、その技術をさらに磨き上げる必要もあるだろうが、今後益々その重要性が増すものと期待される。

推薦のことば

濱田嘉徳（国立病院機構香川小児病院名誉院長）

写真の原理が発見され、一般社会に普及されるまでに 100 年以上を、X 線では応用されるまでに 18 年を要している。最近では新たな科学の発見から応用までの時間が短縮され、科学の進歩には加速現象がみられる。

DNA 二重螺旋構造の発見以来、遺伝子の研究は留まるところを知らず、人間は人体の細胞の中までのぞきみるようになった。何万年も何百万年も、生物から生物に受け継がれた遺伝子の情報は解読され、科学は生物の特徴を人為的に変えることさえ可能にしてきた。遺伝子に関わる研究は動物だけでなく微生物や植物の遺伝子を組み込む様々な技術により、食の領域にも及んでいる。人類が生き物の形を思いのままに作り、クローン人間さえ誕生させようとしている昨今、未来はどのように変わるのであるだろうか。

日本の宗教哲学は長年、仏教により培われてきた。食物、文化、言語にも仏教の影響が大きい。科学において物質と生命の境界線が無くなったが、科学は自然を対象としたものであり、東洋思想では自然は“じねん”と読まれる。自然科学を学び研究するものは常に自然の哲学を持ち研究を続ける必要がある。

しかし、西洋の宗教哲学では旧約聖書の創世記にみられるように、神は六日目に人を作った。アダムのおぼろ骨から女性イブを創造し、生殖によらない生命さえ誕生している。人類が神の力に近づこうとする西洋の宗教哲学が人類に体外受精、移植の医学など留まるところを知らない生命科学の研究へと導いたのであるだろうか。

30 年前、東京で開催された国際小児科学会においては染色体異常が注目された領域の一つであった。当時小児科医は染色体異常の子供の未来を奪うかのごとく、両親に告知し、多くの子供と親たちを不幸にした。しかし今、告知を受けた子供達の中には我々が想像もつかない運動能力を発揮している子供達もいる。

日本染色体遺伝子検査学会は既に 24 回を経過し、臨床に貢献する染色体遺伝子技術と研究を目標としてきた。本研究が国民に不幸な医療情報提供であってはならない。今回の刊行は遺伝子染色体の技術だけでなく、医学、医療の分野に携わる専門家と市民との相互理解により発展するという期待も大きい。少子化と高齢化社会の真只中、染色体遺伝子検査が正しい理解と医療への貢献により、多くの人々に明るい未来が約束されることを願ってやまない。

第1章1節 染色体と遺伝子

1. はじめに

今日、“遺伝子”とか“DNA”とかいう言葉は、医学や生物学の専門用語から飛び出し、私たちの身の回りで極めて日常的な言葉として市民権を得た感があります。推理小説「イエスの遺伝子」(Michael Cordy)に登場したり、ポップソング「DNA」が流れたり、果ては「ホンダDNA」なるCMが放映されたりです。「小泉政権に代わったが、自民党の遺伝子は変わらない」という発言は、私たちの記憶から消えていないはずですが。また、「遺伝子組換え」、「遺伝子検査」、「ゲノム」といった用語が、巷に氾濫し、^{ちまた}“遺伝子”や“DNA”はすっかり一般の人たちに浸透したように思えます。

しかしながら、これらの言葉が正しく理解されているかと言え、ば、“ノー”と言わざるを得ません。高校の生物学の時間を思い出して、遺伝子やDNAと聞いただけでアレルギー反応が起る人も少なくないと思いますが、「遺伝子医療の時代」を生きる皆様に、是非、そのアレルギーを克服していただきたいと、切に願うものです。

そこで、本書の序として、「DNA」や「遺伝子」や「染色体」、さらにこれらと密接な関係のある「ゲノム」に関して、なるべく分かり易く解説を加えておきたいと思ひます。ただし、これらは切り離せない関係にありますから、どうしてもオーバーラップする箇所が出てくることは避けられないことを前もってお断りしておきます。

2. 遺伝子とは

「鳶が鷹を産む」という諺がありますが、これは生物学的にあり得ないことです。鳶と鷹は別種で、猫が虎を、チンパンジーがヒトを産めないのと同じ道理です。一見、姿形が似ていてもその生物種には固有の染色体、つまり種固有の遺伝子を持っているのです。子供の顔や姿形が親に似ているのは、親の持つ遺伝子が精子と卵子を通して子供に伝えられるからです。

遺伝子とは、「個々の遺伝形質を規定するDNA分子の一定の領域上に配列された、親から子へ、細胞から細胞へと伝えられる単位」と定義されています。これをもう少し分子生物学的表現に変えると、「生物学的情報を含んでいるDNAの特定の部分で、RNAあるいはポリペプチド分子を指令する部分」ということになります。遺伝子とはどんなものかを言い表す幾つかのフレーズを上げてみました(表1)。

表1. 遺伝子とは

- | |
|--|
| <ol style="list-style-type: none"> 1. 生き物の形質(形態や生理・機能上の特徴)を規定 2. 生き物の作り方のマニュアル 3. 全ての生物に共通した言語で記述 4. 生活史や日々の生き様も規定 5. 生命活動というドラマのシナリオ |
|--|

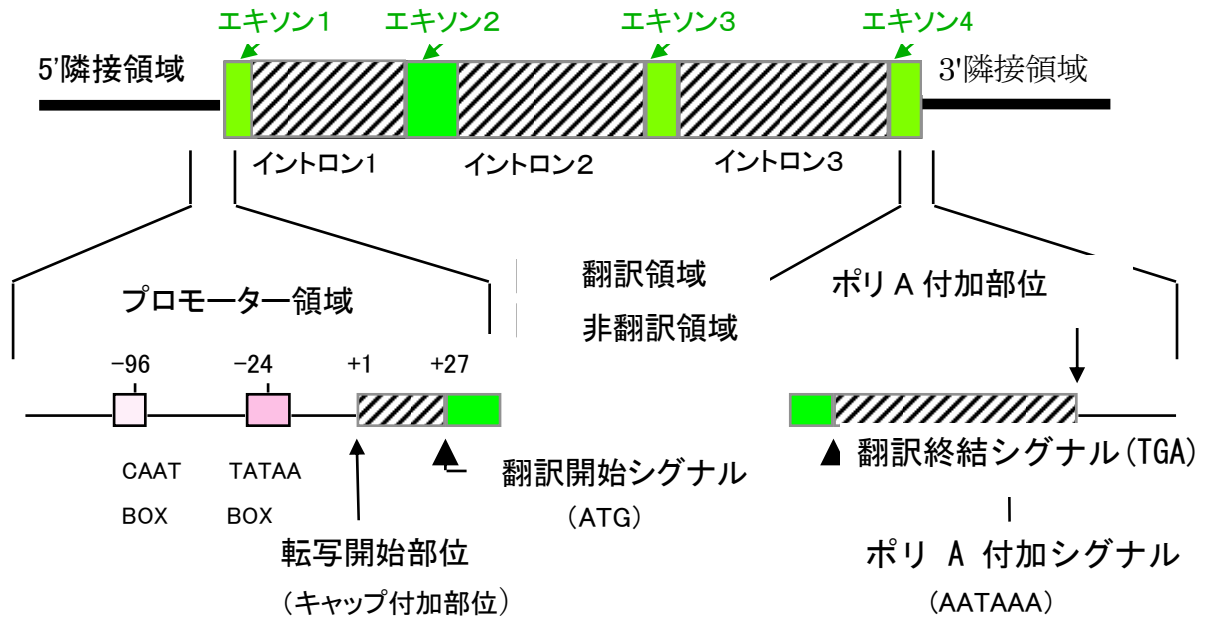


図 1 真核生物の遺伝子

遺伝子は、細胞の核の中の染色体上に直列的に局在しています。DNA に書かれた設計図を基にしてタンパク質が作られ、そのタンパク質によって形質が発現します (図 1)。

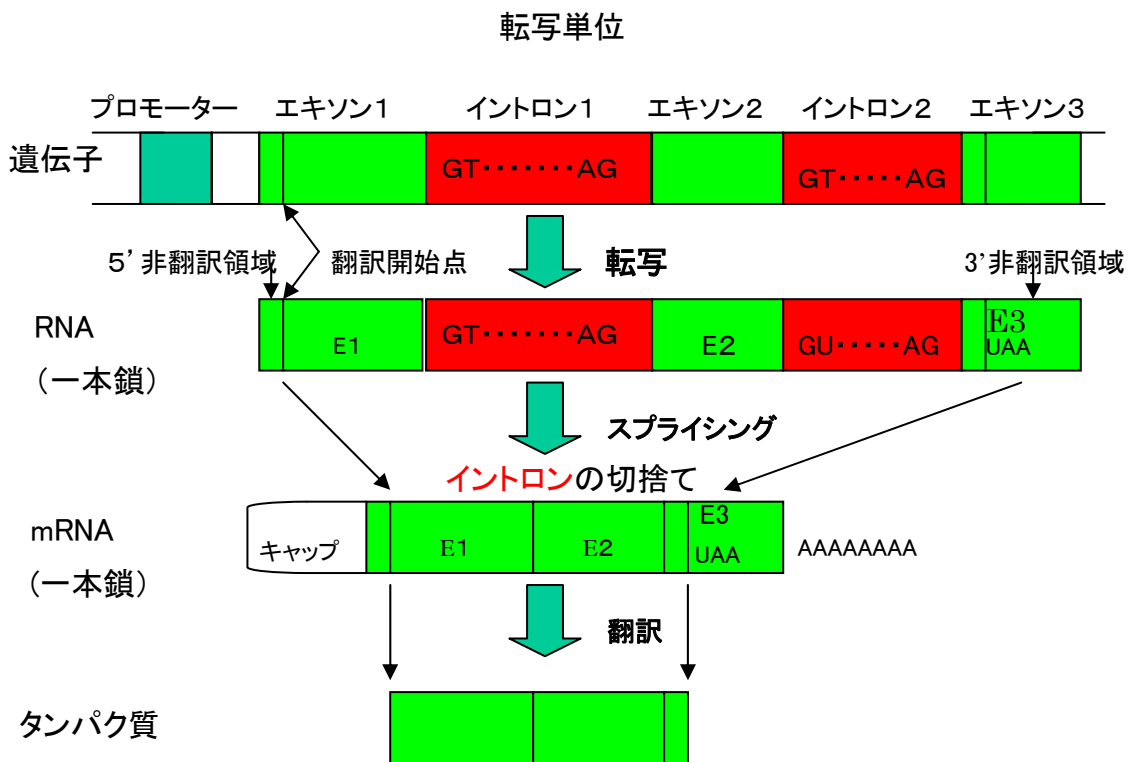


図 2 遺伝子情報の流れ

この地球上の生物は、膜で囲まれた核を持たない原核生物と、膜で囲まれた核を持つ真核生物に大別できます。真核生物の遺伝子はエキソンとイントロンと呼ばれる2つの領域から成り立っています。まず遺伝子が pre-mRNA (プレメッセンジャーRNA) に“転写”され、引き続きイントロン部分は核から細胞質へ移動する中で切り捨てられ mRNA となります。

これをスプライシングと言います。mRNA¹は細胞質のリボソームでアミノ酸（重合してペプチド）へと“翻訳”され、細胞質でさまざまな修飾を受けた後に、機能的なタンパク質に成長します(図2)。

遺伝性疾患の原因となり得る遺伝子塩基の変化を遺伝子変異と言いますが、それには、点突然変異²、欠失と挿入³、遺伝子変換⁴、反復配列数の変化⁵などがあります。

さてここで、最近では新聞でも目にする機会の多くなった遺伝子診断について簡単に触れておきます。遺伝子 (DNA) 診断は、ここ数年で飛躍的な普及を見せ、臨床の場で必要不可欠なものになりつつあります。遺伝性疾患、腫瘍性疾患、感染症などに臨床応用されています。感染症の診断への応用が最も多いのですが、悪性腫瘍、特に白血病やリンパ腫の病型分類に有力な武器となることから、この方面での検査件数も確実に増加しています。また、遺伝性疾患の遺伝子検査もヒトゲノム解析の進歩とあいまって、種々の疾患での診断法が確立されつつあります。

遺伝子診断によってその疾患が 100%診断可能だと思われがちですが、必ずしもそうではありません。それは、民族の違いにより遺伝子変異の場所が違うなどの幾つかの原因があります。

3. DNA とは

スミソニアン博物館のT. L. Erwinは、「この地球上には 3,000 万種の生物が生息している」と予測しています。この多種多様な生物はすべて細胞を基本単位とし、一般的にはDNA→RNA→タンパク質の、いわゆるセントラルドグマ(中心教義)⁶を生命活動の原則としています(前頁図2を参照)。

¹ mRNA : 核内でDNAの片方の鎖を鋳型にして作られます。DNAの情報を写し取り (転写)、その情報を細胞質のリボソームに伝達する働きをしています。

² 点突然変異 : 塩基置換とも呼ばれ、一つのヌクレオチドに起きた突然変異のこと。例えば、TTC→TCAのような変異をいいます。

³ 欠失と挿入 : 1個から数十個の塩基がなくなったり、付加したりする遺伝子変異。

⁴ 遺伝子変換 : 遺伝子間の非相長的交換。ゲノムDNA上の相同性の高い領域間で、一方の配列が他方に置き換わる現象。

⁵ 反復配列数の変化 : ゲノムDNA上に繰り返し出現する塩基配列の総称で、2塩基の繰り返しのような単純な構造のものから数kbpにおよぶものまであります。哺乳類、特にヒトでは全ゲノムDNA配列の50%以上が反復配列です。

⁶ セントラルドグマ(中心教義) : DNAの塩基配列がmRNAに写し取られ、tRNAを介してアミノ酸を結びつけてタンパク質が合成されます。このDNA→RNA→タンパク質の流れで、遺伝的な特性が伝えられる図式のこと。

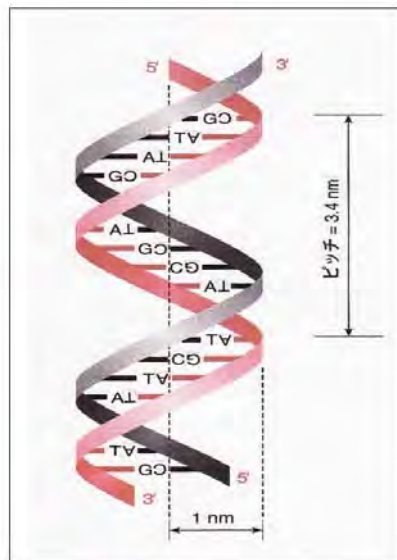


図3 二重らせん構造をしたDNA

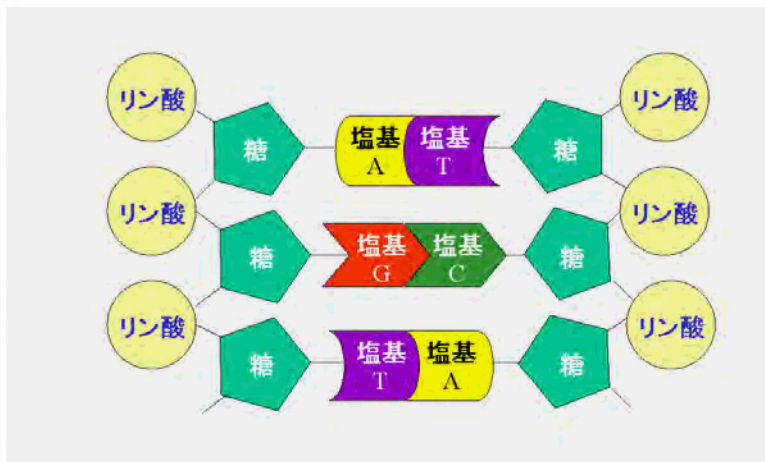


図4 DNAの基本構成と結びつき方

「生命とはタンパク質の存在様式だ」と言われますが、タンパク質は20種のアミノ酸のポリペプチド結合によってできあがっていますから、言い換えれば、「生命とはアミノ酸の存在様式だ」とも言えます。その存在様式を規定している元締めこそDNAですから、DNAが“生命の究極分子”だと言われる所以です。DNA (deoxyribonucleic acid; デオキシリボ核酸) という物質は、単に親子が似ているとか似ていないとかいう、いわゆる“遺伝に関わるもの”と“遺伝子”は同じと思われがちですが、それだけではありません。DNAは生命の根源的な働きに関与しているのです。

DNA分子はタンパク質分子同様、巨大な分子です。中心線(架空のもの)の周りを二本のテープがらせん状に取り巻き、その内側には塩基の腕が伸びて、お互いに手をつないだような構造をしています(図3)。糖(デオキシリボース)、リン酸、そして塩基から構成される「ヌクレオチド⁷」がDNAの構成単位です(図4)。

塩基配列は、アミノ酸がどのような順序でどれだけ並ぶかを規定しています。アミノ酸は4種の塩基の3つの組み合わせ(トリプレットまたはコドン)で決まります。私たちが使っている言語の単語では、何文字もの単語がありますが、遺伝情報の単語は、4文字中の3文字の組合せと決まっています。

その理由は、20種のアミノ酸を規定するのに2文字では少な過ぎ(16通り)、4文字では多過ぎる(256通り)と言うことなのです。「64通りでも多過ぎるじゃないか」と言われるのもごもっとも。「ことば」と「げんご」のように同義語として使われているもの、「ここから転写を開始しなさい」という“開始コドン”や「ここで翻訳終わり」という“終始コドン”などの単語があるからです。

⁷ ヌクレオチド*: 核酸の構成単位。塩基(DNAではA、T、G、C、RNAではTの代わりにU)に五炭糖(DNAではデオキシリボース、RNAではリボース)とリン酸が結合した分子のこと。

1本のDNAの中には、種類の違うタンパク質の遺伝情報がいくつも格納されています。そして、細胞内ではこの遺伝子の情報に基づいてタンパク質が作られるのです（図1参照）。テープレコーダーで音楽を再生することを思い浮かべて下さい。核の中にある染色体はカセットに、その中にあるDNAはテープに相当します。テープには情報（曲）が入っていて、その情報はmRNAに読み取られて核の外（細胞質）に持ち出され、小胞体⁸に付着する音楽再生器（リボソーム⁹：タンパク質合成工場）で曲を再生します。このようにして遺伝子は、転写→翻訳→発現の過程を経てその使命を果たすのです。

遺伝情報には個体から個体への情報伝達の側面と、そこに書かれたシナリオを基に個体の生命活動を維持する情報発現の側面（タンパク質合成）があります。この二つの情報の流れが、生命の起源を出発点として、生物種の進化をもたらしてきたと考えられます。

4. 染色体とは

染色体は遺伝子の運び屋だと言えますが、細胞分裂中期に凝縮し、染色性が増すために光学顕微鏡での観察が容易になります。一般的には、この時期の染色体を対象にして染色体分析が行われます。

ヒトの染色体の数が46だと分かったのは、1956年のことですから、今からほんの50年前のことなのです。その後、ダウン症、クラインフェルター症、ターナー症などの染色体異常に起因する症候群が次々に発見され、臨床遺伝学の礎を築くことになりました。染色体研究が臨床と結びつくことで、技術的改良や簡易化に拍車がかかり、さらに新しい方法が次々に編み出されていきました。それらの詳細は多くの専門書に譲りますが、その間、数度の国際会議で、ヒト染色体の命名記載法の標準化が諮られました。技術的な進歩や命名法の標準化によって、染色体検査は多様な役割を担うようになりました（第3章参照）。

ヒト染色体は22種類の常染色体とXとYの2種類の性染色体に分類されます。生殖細胞（精子と卵子）を除いて、体細胞は2倍体であり、同じ種類の常染色体を2本ずつ、性染色体を2本（女性はXとX、男性はXとY）の合計46本の染色体を持っています。生殖細胞は1倍体（半数体）で、常染色体を1本ずつ、性染色体を1本の合計23本の染色体を持っています。染色体の数や形は生物種に特有で、ヒトでは23本の染色体に3万弱の遺伝子を分担していることとなります。平均すると1本の染色体は1,300ぐらいの遺伝子を担っている計算になります。

染色体の機能としては、①個体の発達の間、遺伝物質を永続的に保持すること、②親子代々で遺伝物質を攪拌すること、の二つを挙げることができます。1970年代になって分染

⁸小胞体*：真核生物の細胞小器官の一つで、一重の生体膜に囲まれた板状あるいは網状の膜系。電子顕微鏡による観察でその存在が明らかにされました。多数のリボソームが付着した粗面小胞体と、表面にリボソームのない滑面小胞体があります。粗面小胞体ではタンパク質が合成されます。

⁹リボソーム*：細胞内小器官の一つで、タンパク質とリボソームRNA（rRNA）からできている小さな球状の粒子。あらゆる細胞内に存在するタンパク質合成の場。

法と呼ばれる染色法が次々に開発され、客観的な分類同定が可能になりました。現在、どこの検査室でも G-分染法と呼ばれる染色方法をルーチンとして染色体分析を行っていますが、形態分類による各染色体の特徴を念頭に置いておくことは大切です。この分染法によって染め分けられる濃淡の縞模様を“バンド”と呼んでいます。分裂中期染色体の 550 バンド期で見られる 1 本のバンドは平均約 6Mb の DNA に相当します。

5. 染色体異常

さて、染色体検査の役割は、形態学的解析から分子細胞遺伝学的な解析を補助的な手段として応用するようになって、益々広がりを見せています。染色体異常のタイプを表 2 に示しました。新生児における染色体異常の頻度は約 0.6% で、このうち臨床症状を伴う異常症例は約 0.3% と報告されています。均衡型と呼ばれる転座の保因者は、これまでの報告から約 0.16% 存在すると推測されています。

現在、染色体検査の結果は、ISCN (An International System for Human Cytogenetic Nomenclature) 1995 並びに ISCN 2005 に則った核型記載を行い、適当なコメントが記されて主治医に報告されます。

一般的には、光学顕微鏡で観察できるほどの大きさ (\geq 約 4Mb) の DNA に欠失や付加があった場合を染色体異常と呼んでいます。これは全身の細胞で見られる先天異常と小さな細胞集団や組織で見られる獲得 (後天) 異常に分けられます。さらに、ヒトの染色体異常は、数的異常と構造的異常に分けられます (表 2)。遺伝子異常が設計図のミスプリントだとすれば、数的染色体異常は設計図の枚数の違い、構造的染色体異常は設計図の破損に相当します。設計図にはシナリオが書かれていますので、設計図が過剰だったり、破損したりすると膨大な数の遺伝子の異常がまとまって発生します。シナリオが多過ぎても少な過ぎても支障があるのです。

6. ゲノムとは

ゲノムとはすべての遺伝子とすべての遺伝子間領域を含む、細胞のすべての DNA の内容のことです。ヒトゲノムと言えば、ヒトの遺伝情報の全て、つまりヒトをヒトにするための設計図だといえます。この言葉は、遺伝子 (gene) と染色体 (chromosome) から合成された言葉 genome なのです。ヒトの細胞にはゲノムと呼ばれる一揃えの染色体 DNA と、その他にミトコンドリア DNA が存在します。ミトコンドリア DNA は 16569 塩基対の環状 DNA で、ミトコンドリアの中に多数存在しています。

ヒトゲノムは 30 億塩基対 (10^9 bp) あり、23 分子 (1 番～22 番までの常染色体を各々 1 本と、XかYの性染色体を 1 本) の線状 DNA に分かれて染色体を形成しており、最も大きいものが 2 億 7 千 9 百万塩基対で、最も小さいものが 4 千 5 百万塩基対です。精子や卵子から DNA を抽出してその全長を推定すると、1 塩基対間の距離が 0.34nm (0.34×10^{-9} m)

表 2 染色体異常の種類とその例

数的異常	高倍数性	3 倍性 69,XXXX(3n) (流産胎児などで見られる) 4 倍性 92,XXYY(4n) (流産胎児などで見られる)
	トリソミー	47,XX,+21 21 番染色体のトリソミー(ダウン症候群) 47,XY,+8 8 番染色体のトリソミー(MDS)*
	モノソミー	45,X X 染色体のモノソミー(ターナー症候群) 45,XY,-7 7 番染色体のモノソミー(MDS)
	モザイク	47,XXY/46,XY 正常と XXY の細胞が混在(クラインフェルター症候群) 46,XX/47,XX,+21 正常と 21 トリソミーの細胞が混在(ダウン症候群)
構造異常	欠失	46,XX,del(5)(p15.2p15.3) 5 番の p15.2→p15.3 の欠失(猫鳴き症候群) 46,XY,del(5)(q13q33) 5 番長腕の q13q33 部位が欠失(MDS)
	逆位	46,XY,inv(14)(q11q32) 14 番染色体 q11→q32 部位で逆位(T-CLL)* 46,XX,inv(16)(p13;q22) 16 番染色体 p13→q22 部位で逆位(ANLL-M4)*
	重複	46,XX,dup(1)(q22q25) 1 番染色体 q22 と 25 の部分が正位で重複 46,XY,dup(4)(q35.2q31.2) 4 番染色体 q35.2 と q31.2 の部分が逆位で重複
	挿入	46,XY,ins(2)(p13q21q31) 2 番染色体の p13 部位に q21→q31 部位が挿入 46,XX,ins(5;2)(p14;q22q32) 2q22→2q32 の部分が 5p14 の部位に挿入
	相互転座	46,XY,t(9;22)(q34;q11) 9 番染色体の q24 と 22 番染色体の q11 とで転座(CML)* 46,XX,t(15;17)(q22;q11) 15 番染色体 q22 と 17 番染色体 q11 とで転座(ANLL-M3)*
	全腕転座	46,XX,t(1;3)(p10;q10) 1p が 3q と動原体で融合、さらに 1q と 3p が融合 46,XY,der(1;7)(q10;p10) 1q が 7p と動原体で融合、さらに 1p と 3q が融合
	ロバート ソン転座	45,XY,der(13;21)(q10;q10) 13/21 転座保因者 46,XX,der(13;21)(q10;q10),+21 13/21 転座型ダウン症候群
	同腕 染色体	46,X,i(X)(q10) X 長腕の同腕染色体(ターナー症候群) 46,XY,t(9;22)(q34;q11),i(17)(q10) 17 番長腕の同腕染色体(CML の BL 時)
	二動原体 染色体	45,XX,dic(13;15)(q22;q24) 13q22 と 15q24 で切断・再結合(動原体が 2 個) 46,X, dic(Y)(q12) Yq12 で姉妹染色分体間で切断・再結合(同腕二動原体染色体)
	環状 染色体	46,XX,r(2)(p21q31) 2 番染色体 p21 と q31 で切断・再結合(環状の染色体) 46,XY,r(18)(p11q23) 18 番 p11 と q23 で切断・再結合(18 リング症候群)
	マーカ ー染色体	47,XY,+mar 1 本の由来不明の構造的異常染色体が過剰 48,t(X;18)(p11;q11),+2mar t(X;18)転座とマーカ染色体を 2 本持つ

* MDS; 骨髄異形成症候群, T-CLL; T 細胞性-慢性リンパ性白血病, ANLL; 急性非リンパ性白血病, CML; 慢性骨髄性白血病

ですから $0.34 \times 10^{-9} \times 3 \times 10^9 = 1.02\text{m}$ ということになります。白血球などからDNAを抽出してつなぎ合わせると、ゲノムを2セット持っていますから実に2m近くになります。

米国を中心に、先進国がヒトゲノムを全て解読してヒトの遺伝情報を明らかにし、医学などの分野で役立てようとする国際計画が1984年に提案され、1991年からスタートしました。2000年6月26日にドラフト配列の解読を終了、2003年4月15日、日米欧他6カ国は30億個（塩基対）の塩基配列のうち解読不能の1%を除き、99.99%の精度で解読したと宣言しました。その時点では、遺伝子数は約32,000個と報告されました。しかし、このヒトゲノム解読完了後の2004年10月、より正確な構造および遺伝子組成などの特徴を解明した結果、遺伝子数は約22,000個であり、その中にはマウスやラットにはない遺伝子（免疫、臭覚、生殖関連）が含まれることや、ヒトにおいて機能を失った遺伝子も発見されました。そして2006年5月に26,800個の遺伝子の存在を想定するに至りました。2個と数えられていた遺伝子が1個と判明した例や、遺伝子に似ているが、タンパク質を作らない偽遺伝子だった例もあって、遺伝子の数の増減がありました。

ショウジョウバエの遺伝子数が約1万4000なので、「私たちはハエの倍しかないんだよな！」なんて嘆いた人も多かったのではないのでしょうか。大腸菌が4,300、その10倍もありません。いや、そういう見方をするなら、マウスは人間と同じくらいの遺伝子数を持ち、フグにしても負けず劣らずです。

農業生物資源研究所などの研究チームが、イネゲノムの解読に取り組んでいます。イネの総塩基対は3億9千万で、約4万個の遺伝子を持つと報告されています。これからすると、人間よりイネの遺伝子の方が多いことになります。我々より多くの遺伝子を持った命が田圃ですくすくと育っている、というのは何とも愉快的気がします。田圃を飛び交う昆虫や水の中の魚たちも、それほど極端に遺伝子数が変わるはずもなく、つまりはみんな同じ仲間なのです。生物の複雑さが遺伝子の数と相関しない理由は、全て解明されているわけではありません。

平成18年4月14日、文部科学省は平成18年度（第47回）科学技術週間にあたり、『一家に1枚ヒトゲノムマップ「ここまでわかった!! ヒトゲノム」』と題して、遺伝子の名前、位置、詳細などを地図にまとめたポスターを配布しています。Webサイト

(<http://www.lif.kyoto-u.ac.jp/genomemap/>) からダウンロードすることもできます。遺伝子医療は、その広がりとともに種々の問題も含んでいます。診断結果の解釈の問題、そして出生前遺伝子診断で特に問題となる倫理的・社会的な問題があります。現在、コマースベースで遺伝子検査が行われていますが、人権問題ともからんで今後議論を呼びそうです。このような状況の中で、医師はもちろんのこと、看護師、ソーシャルワーカー、検査技師などのメディカルスタッフが遺伝子医療にまつわる諸問題に精通していることが強く望まれます。

参考図書

- 1) 外村晶 編：染色体異常 ヒトの細胞遺伝学，朝倉書店，東京，1979
- 2) 古庄敏行 監修・編集：臨床染色体診断法，金原出版，東京，1996
- 3) 田中一郎：よくわかる遺伝学 染色体と遺伝子，サイエンス社，東京，1999
- 4) 阿部達生：造血器腫瘍アトラス 形態 免疫 染色体と遺伝子，日本医事新報社，東京，2000
- 5) 清水信義：ゲノムを極める，講談社，東京，2004

第1章2節 染色体検査

1. 染色体検査とは

染色体検査は、臨床検査の一つで遺伝子検査とは基本的に違います。染色体は、両親から受け継いだ多くの遺伝情報を載せたトラックのようなものです(図1)。しかし、この染色体の一つひとは細胞が分裂している時期(M期)にしか観察することができず(図2)、M期の細胞を捉えるためには体内から採取した細胞を培養する必要があります。この組織培養の技術を用いて1956年にJ.H. Tjio博士とA. Levan博士は、流産胎児の肺組織から得られた標本でヒトの染色体数が46本であることを最初に報告し、以来、染色体研究は発展してきました。ここでは、染色体検査の目的から結果の解釈までを簡単に解説していきます。

体細胞の染色体数は、46本で23本ずつ両親から受け継いでいます(図3)。染色体検査は、染色体異常の検索のために行います。染色体異常を大きく分けると、生まれながらの先天異常と一部の体細胞に現れるがん細胞や白血病細胞など腫瘍的に生じる後天性の異常があります。

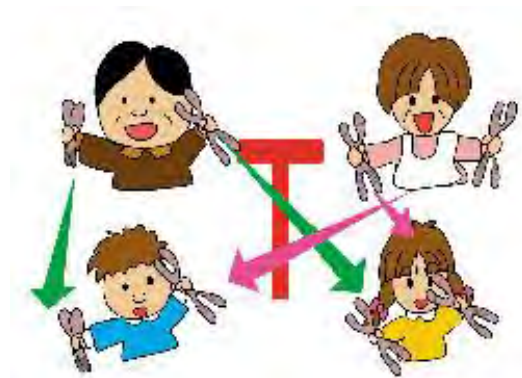


図1 両親からの遺伝

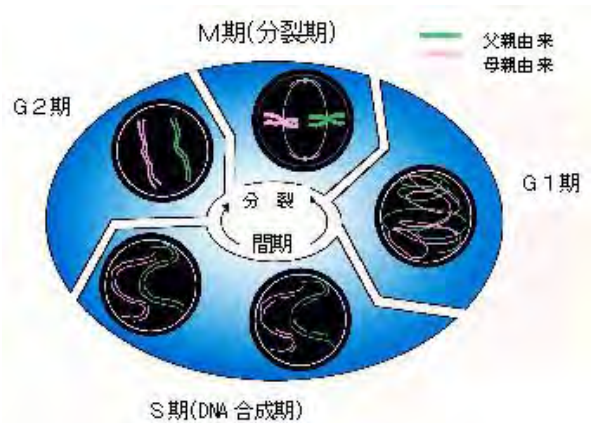


図2 細胞周期

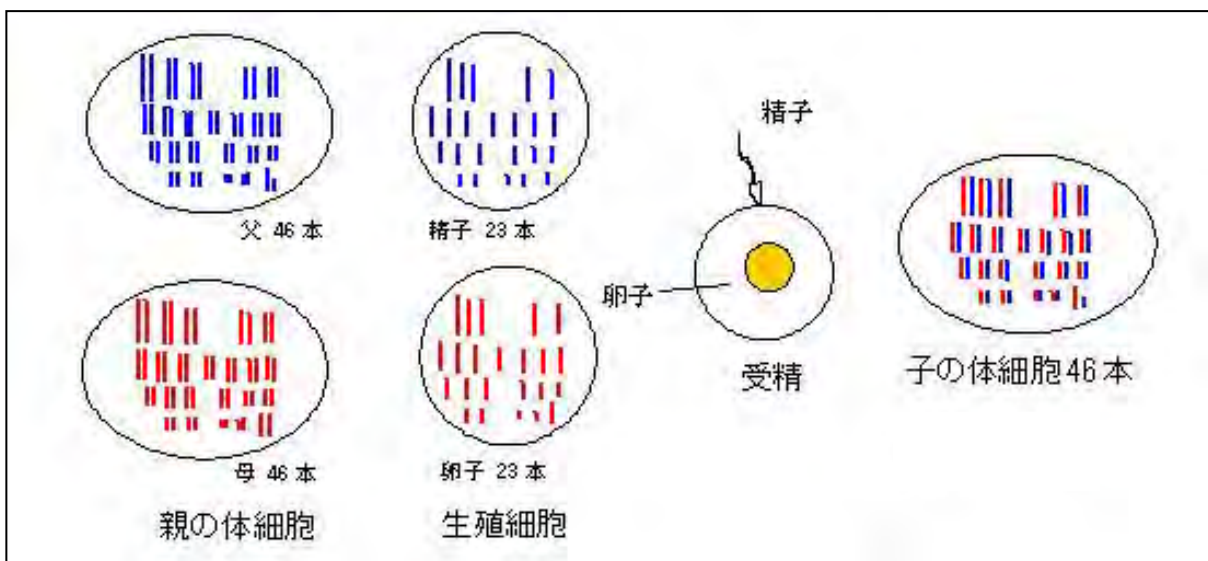


図3 細胞と染色体数

2. 染色体検査が必要な場合

1) 先天異常が疑われるとき

- (1) 多発奇形、発達遅滞、成長障害があり染色体異常が疑われるとき
- (2) 染色体異常保因者の検索

夫婦のいずれかが均衡型相互転座・Robertson 型転座・腕間逆位・腕内逆位・挿入の保因者の場合には、①不均衡型染色体異常児の出産 ②習慣性流・死産 ③不妊症やその他の家系内の異常のきっかけになる場合があります。

(3) 生殖障害の検索

男性不妊では、無精子症の 10～15%に染色体異常が認められます。そのうち 9 割以上が XXY(または XXY/XY)で、いわゆるクラインフェルター (Klinefelter) 症候群です。女性の不妊では原発性無月経症、不妊症などの原因として性染色体異常症が疑われる場合があります。通常の性別では、男性の性染色体は XY、女性は XX ですが Y 染色体の短腕にある SRY 遺伝子が性別を決め、SRY があれば男性、なければ女性とされています。

(4) 出生前診断の目的

妊娠前半(妊娠 20 週以内)の羊水細胞の染色体異常の頻度は 3～4%です。高齢妊娠(35 歳以上の出産)では、染色体が 1 本多いトリソミー型染色体異常のほか、突然変異による由来不明染色体をもつ割合が増加する傾向にあります。母体血清マーカー試験¹陽性例で羊水細胞の染色体分析を希望される場合もあります。

(5) 周産期の管理

妊娠後半の羊水細胞の染色体分析は、出生前診断ではなく、胎児や妊娠の異常が染色体異常によるものか否かを知ることが目的で行われます。羊水過多、羊水過少、子宮内胎児発育不全、胎児水腫、心奇形、横隔膜ヘルニアなどを示す場合に、染色体異常を同定することは、出産前、出産中の管理に役立ち、分娩様式を決定したり、出産後の異常に備えることができます。7～18%に異常が検出されますが、よくみられる染色体異常としては、18 トリソミー、不均衡型構造異常、13 トリソミー、数的異常モザイクなどがあります。

(6) 流・死産の原因検索

- ①流産絨毛、胎児および胎盤：流産の原因が胎児にあるかその他母体によるものなのかを検索します。
- ②反復流産または習慣性流産：2 回流産を反復した夫婦では、約 5%の割合で夫婦のいずれかに染色体異常(主に均衡型相互転座)が認められています。

2) 後天性のがんや白血病、悪性リンパ腫など腫瘍性疾患の検索

悪性腫瘍のほとんどは、染色体異常や遺伝子異常によるものとされています。また、腫瘍細胞で病気に特異的な染色体異常が認められた場合には、治療方針の決定や予後の

¹母体血清マーカー試験

妊娠 15 週前後に妊婦の血液を採り、血清中の alpha-fetoprotein (AFP)、human chorionic gonadotropin (hCG)、uncojugated estriol (uE3)率を測定し、人種、母年齢等を参考にしてトリソミー-21 胎児を妊娠している確立を計算します。

推測、残存病変のモニタリングにも役立ちます。

3. 検査と採取法

1) 末梢血

先天異常および生殖障害に関する染色体検査では、末梢血中のリンパ球を用いて分析するために静脈血を3～5ml採取します。無菌的に採取された末梢血リンパ球を細胞が分裂するように刺激剤PHA（phytohemagglutinin）を加えた培養液で72時間培養して分析するのが一般的な方法です。そのため、結果は3日～数週間かかります（受診した施設、委託業者により返却日数が異なりますのであくまでも目安です）。

2) 羊水細胞

出生前診断を目的とした胎児由来細胞の染色体分析で、一般的に妊娠14～18週頃腹壁から超音波で胎児の様子を観察しながら細い針を刺して（羊水穿刺）10～20ml採取します。羊水細胞は、末梢血よりも培養に時間がかかるため結果は10日～数週間かかります。出生前診断では、胎児に重篤な異常が発見された場合に人工中絶も考慮する妊娠22週までに診断が確定している必要があります。周産期の管理を目的とした羊水細胞の染色体分析では、週数が多くなれば細胞も増えますが死滅した細胞も多くなるので33週以上では培養の成功率が低くなります。特定の染色体異常、例えば21トリソミー（ダウン症）、18トリソミー、13トリソミー、XおよびY染色体の異常では、FISH法（後述）による迅速検査が可能です。結果は、数日以内に分かります。

3) 流・死産絨毛

妊婦の15～20%が自然流産し、そのうち50～70%が染色体異常を持ちます。流・死産の原因調査のため、胎児由来の絨毛や胎盤を分析して調べます。娩出後はすぐ検査室へ提出しますが、子宮内胎児死亡例や娩出後、長い時間が経過した場合には、培養しても増殖が見られない場合があります。

4) 骨髓血

胸骨または骨盤部分の骨に局所麻酔した後骨髓穿刺用の針を用いて骨の中から骨髓血を0.5～2ml採取します。骨髓血は分裂しやすい細胞が多いため、通常、24時間培養後に検査をします。結果は1～4週間かかります。


5) リンパ節

麻酔後組織を採取します。5×5mm以上の組織片を鉗かメスで細かく切り刻み、細胞の状態を24時間培養した後、検査を行います。結果は1～4週間かかります。

6) 腫瘍組織

リンパ節同様麻酔後組織を採取します。5×5mm以上の組織片を鉗かメスで細かく切り刻み、細胞の状態を培養します。細胞の増殖状態を顕微鏡で観察しながら、染色体検査が可能な量に増えたら処理を開始します。結果は2～8週間かかります。

4. 染色体検査の流れ

検体提出から判定までの染色体検査の流れを示します（ 4）。まず、採取した検体を

無菌的に培養します。細胞の分裂時期に合わせて紡錘糸形成阻止剤コルセミドを加えて細胞分裂を分裂中期で止めます。遠心して集めた細胞を低張処理で膨化させ、カルノア固定液で細胞を固定します。スライドに標本を作製し染色して、専門の検査技師が顕微鏡で観察します。1000倍に拡大した染色体を1細胞ずつ分析し異常を見分けていきます。その後、写真撮影し1本ずつの染色体に切り分け、並べて核型を決定します。

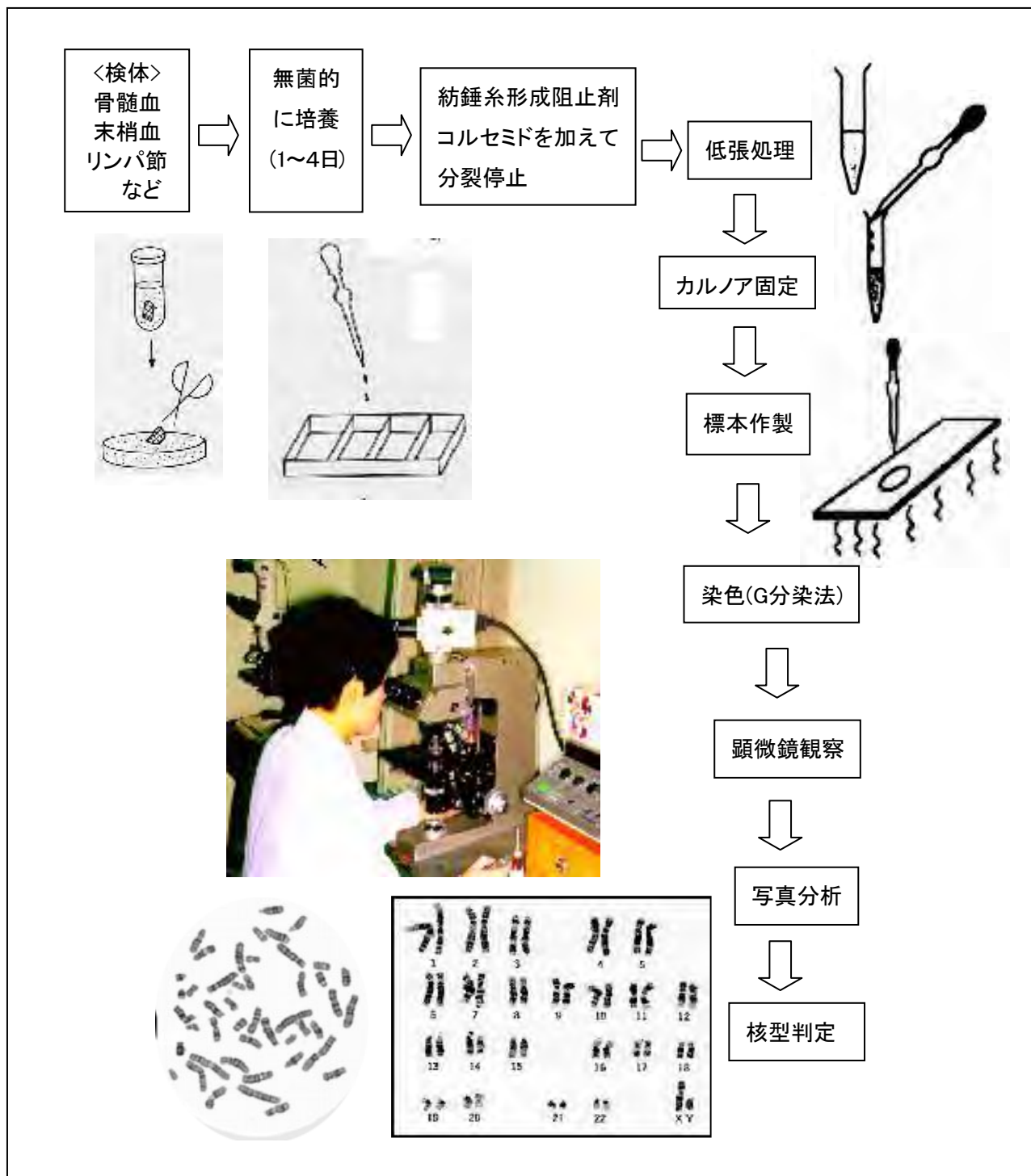


図4 染色体検査の流れ

5. 検査結果の読み方

1) 名称

動原体(セントロメア)は細胞分裂時に紡錘糸が結合する部分です。セントロメアを挟んで短い方を短腕(p)、長い方を長腕(q)と呼びます。染色体上の縞模様をバンドと呼び番号で区切られています(図5)。

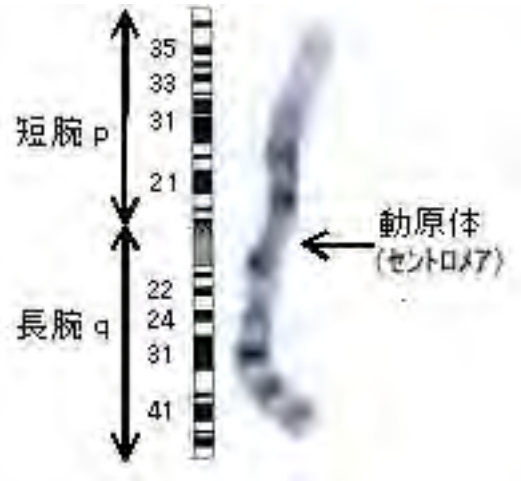


図5 染色体の名称
(1番染色体)

2) 核型の読み方

核型の表示方法を図6に例示します。最初に染色体総数を、性染色体構成はコンマ(,)を付けその後に記載します。染色体異常がある場合は、その後に続けてカンマで区切りその内容を記載します。最後の[]の中には分析した細胞数を表示します。

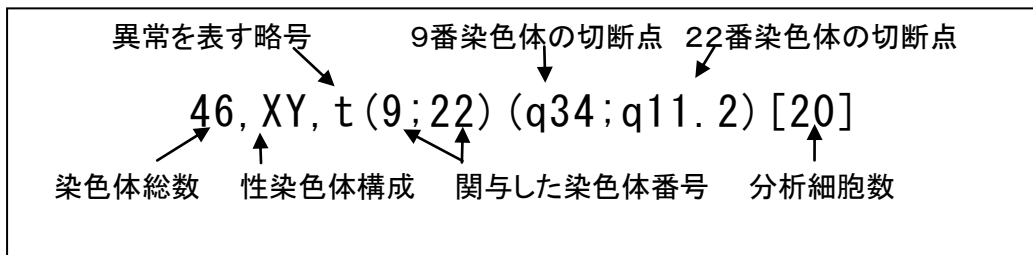


図6 核型記載法

3) 正常核型

正常ヒト型は以下のように表示されます(図7)。

46, XY 正常男性

46, XX 正常女性

4) 正常変異または染色体異形性

時には「染色体異常」という言葉で表されるかもしれませんが、inv(1)(p13q21), inv(9)(p12q13), Y染色体の変異などは、先天的に持っている人がおり、正常変異または染色体異形性と言われています。

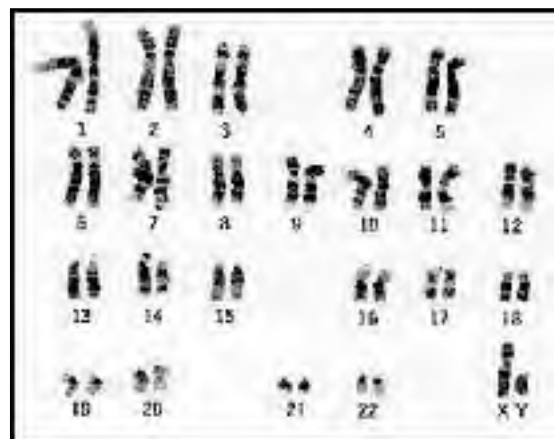


図7 正常男性核型

5) 染色体異常

染色体異常は大きく数的異常と構造異常に分けられます。数的異常は、染色体の数が増えたり減ったりします。構造異常は、染色体が切れたり、くっついたり、ひっくり返ったりして異常になります(図8)。

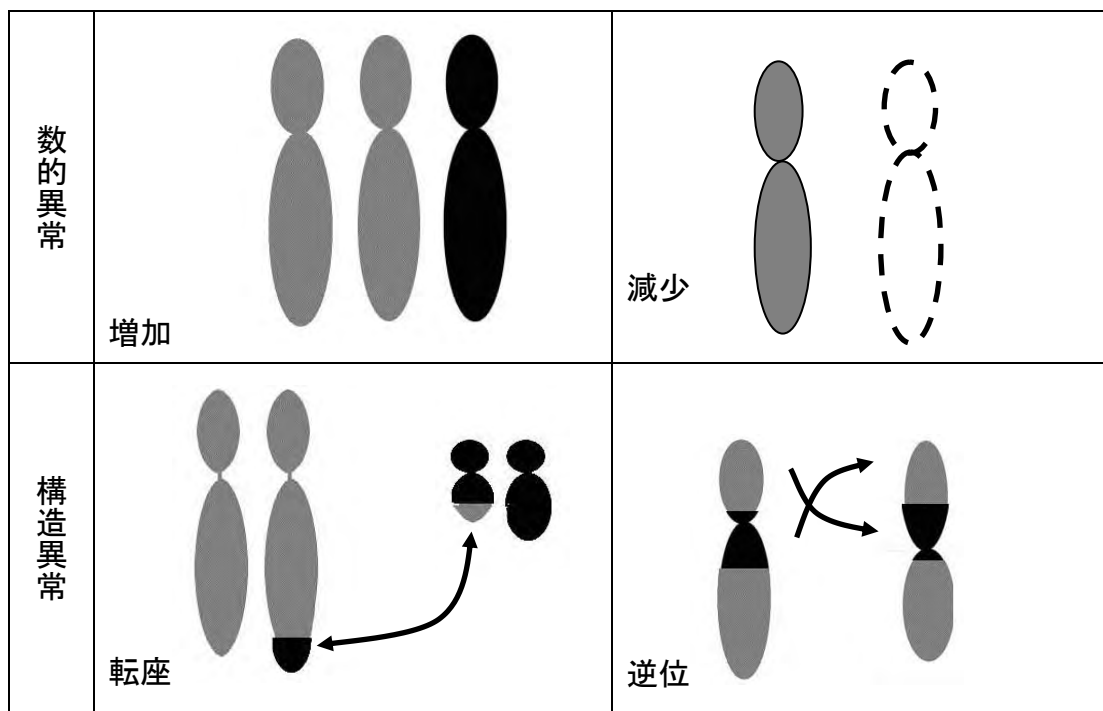


図8 染色体異常の模式図

6. 検査の問題点と今後の展望

近年、臨床医学の分野で染色体遺伝子検査が広く普及し、検査数も飛躍的に増加しています。先天性疾患では、他の臨床検査と異なり一度染色体異常と診断された場合、その事実が生涯あるいは次世代にまで受け継がれる重要な検査です。この領域の進歩は目覚しく、以前は正常とされていた症例も、新しい技術を用いることで異常を発見できるようになりました。一方、腫瘍性疾患では、原因となる染色体や遺伝子の異常が同定されることに併せ、分子標的療薬の研究開発が急速に進んでいます。いずれの分野においても、技術のみが先行し、倫理問題がおろそかにならないように、インフォームド・コンセントや遺伝カウンセリング体制が充実した施設で、被検者が納得のいく形で、診断・治療が行われることを期待しています。

第 1 章 3 節 FISH 検査

1. FISH とは

FISHは、蛍光*in situ* ハイブリダイゼーション (fluorescence *in situ* hybridization) の頭文字をとった略語で、染色体や細胞の中にあるDNAを、じかに蛍光顕微鏡で観察する方法です。細胞核にあるDNAは、**図 1** のように 2 本鎖構造をしていて、相補的に水素結合しています。この結合は切られても元のように戻ろうとする性質がありますから、この際に、予め塩基配列が分かっているDNA断片 (プローブ¹) を混ぜておくと、再び 2 本鎖に戻ろうとする時、検査対象のDNAに相補的に結合させることができます。つまり、DNAでDNAを直接標本の上で可視化して検査するものです。FISHによって、目的の染色体遺伝子の有無のほか、数、位置、異常などが分かります。

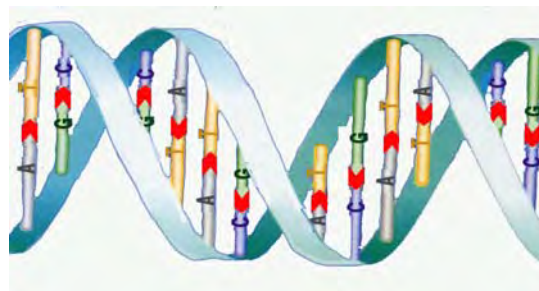


図 1 DNA の構造

赤い矢で示した部分で水素結合している。

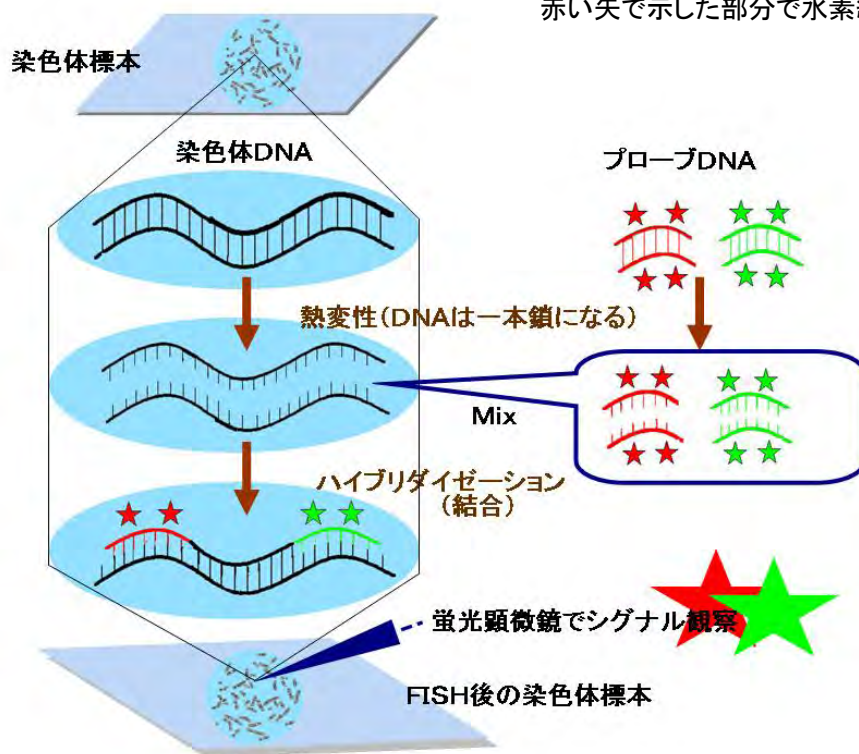


図 2 FISH 法の原理 (イメージ)

¹ プローブ

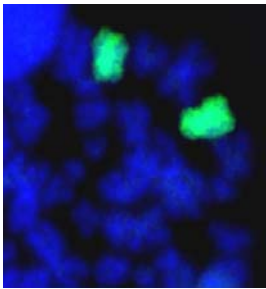
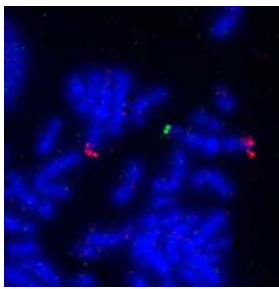
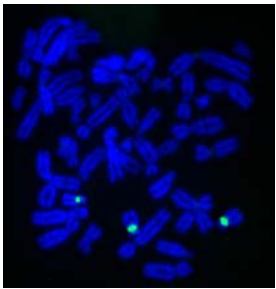
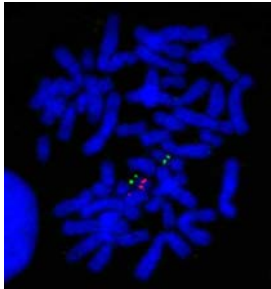
蛍光などで標識された、標的 DNA に相補的なある一定の長さの DNA。相補的とは核酸の塩基 A(アデニン)は T(チミン)に、G(グアニン)は C(シトシン)に決まって結合すること。長さは、目的によってさまざまであるが、その長さの範囲内では、標的 DNA に完全に相補的でなければならない。

2. 測定原理

プローブは、標的とするDNAの配列を用意し、あらかじめ酵素反応によって蛍光標識します。DNAの2本鎖は、高温に保つと水素結合が解離して1本鎖になります。これを熱変性と言います。1本鎖になった染色体標本DNAと、プローブDNAを混ぜ温度を徐々に下げていくと、蛍光標識プローブのDNAと検査対象のDNAが結合し雑種ができます。この結合をハイブリダイゼーション⁴と呼びます。これを蛍光顕微鏡で観察し、シグナルの数や蛍光パターンから疾患の有無や状態を判定します（図2）。

3. プローブの種類と用途

表1 プローブの種類と特徴および診断目的

種類	全染色体プローブ	テロメア ² プローブ	セントロメア ³ プローブ	遺伝子座特異的プローブ
特徴	個々の染色体に特徴的な配列のDNAばかりを集め染色体全体を着色する	テロメア領域の特徴的な配列のDNAを着色する	セントロメア領域の特徴的な繰り返し配列のDNAを着色する	遺伝子・DNA断片を含むユニーク配列だけを着色する
目的	構造異常の同定	染色体末端部を含む構造異常の同定	染色体数の検出	微細欠失症候群の同定 転座型異常の同定 構造異常の同定
疾患名	転座・挿入・欠失・などの構造異常 マーカー染色体 他	転座・逆位・欠失・などの構造異常 他	18トリソミー症候群 13トリソミー症候群 骨髄移植後の定着確認 他	DiGeorge 症候群 Prader-Willi 症候群 白血病 他
顕微鏡像				

² テロメア (Telomere)

染色体の末端小粒。染色体の長腕と短腕の末端にあり、染色体を保護していると考えられている。特徴的な反復配列からなる。

³ セントロメア (Centromere)

染色体の長腕と短腕が交差するくびれの部分。細胞分裂する際にはここに紡錘糸が結合して2極に分かれる。特徴的な繰り返し配列 (α -satellite) からなる。

⁴ ハイブリダイゼーション (hybridization)

変性によって1本鎖になったDNA同士は、温度を徐々に下げると相補的に水素結合して2本鎖を形成しようとする性質がある。これを利用して、変性前とは異なる相補的な標識プローブDNAと結合させて、標的DNAの有無や存在場所を探す。

FISH に用いるプローブは、標的 DNA に相補的な塩基配列で、通常数万から百万塩基対までの DNA 断片で作られています。ですから遺伝子変異を検出する方法としては、比較的大きな変異の検出方法といえることができます。あらかじめ蛍光標識されたものが市販されています。プローブの種類は大きく四つに分けられ、目的に応じて使い分けられます (表 1)。

FISH の中に M-FISH という方法がありますが、これは個々の染色体を、蛍光の組み合わせにより 24 色に識別して解析する方法です。5 種類の蛍光色素を標識した全染色体ペインティングプローブが使用されており、染色体を種々の組み合わせで多重標識し、専用システムで処理することによって 24 色に識別しています。各染色体の由来を短時間で正確に同定できるため、G 分染法では同定困難な構造異常染色体、マーカー染色体および複雑な転座などの解析が可能です。

4. FISH 検査の流れ

FISH 検査の流れを図 3 に示しました。検査目的により図のように方法が分かれます。

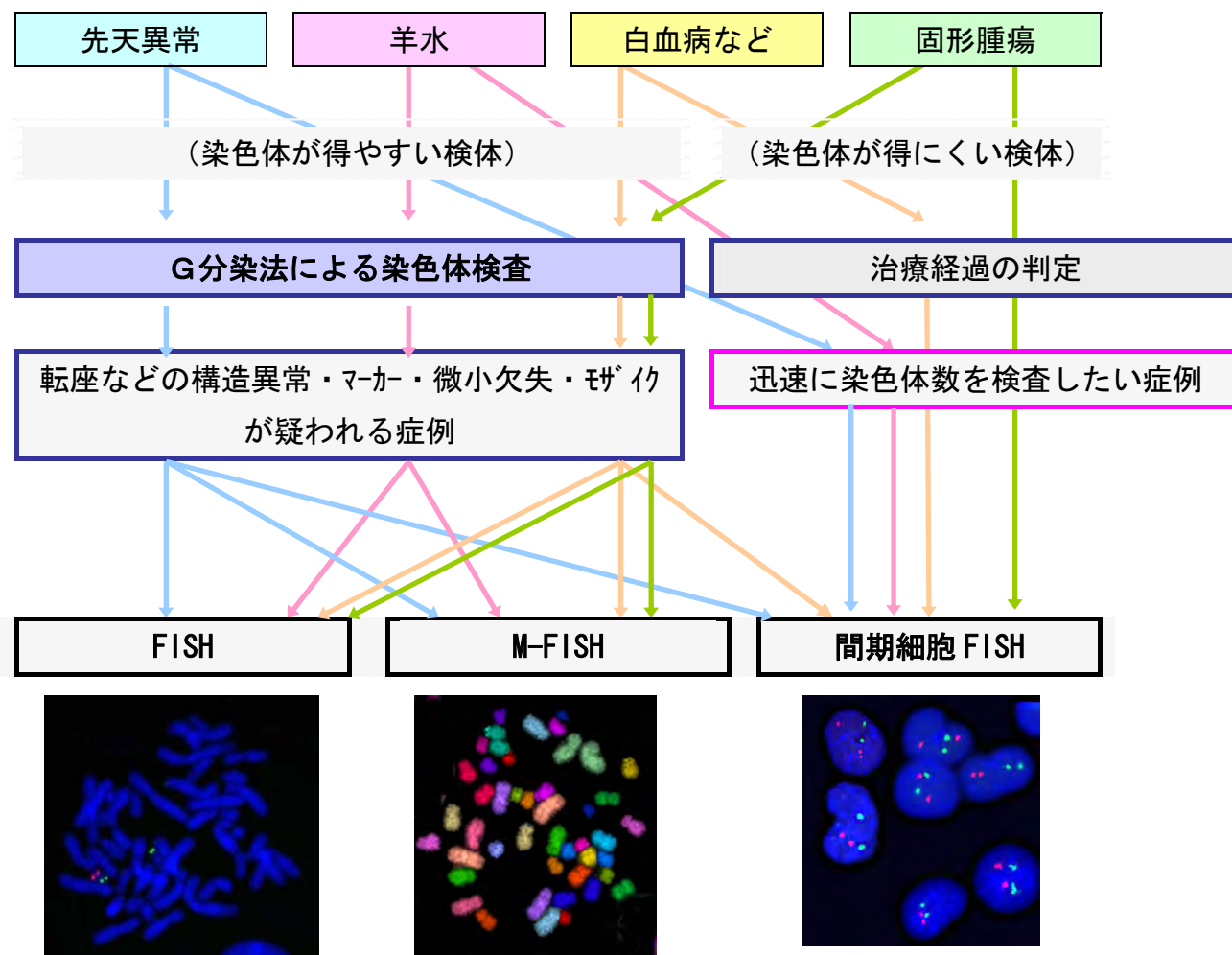


図 3 FISH 検査の流れ

5. FISH 検査の特徴

FISH は、染色体や細胞核の上で目的とする遺伝子や DNA 断片の位置を正確に検索できるので、染色体微小欠失症候群、転座や部分重複などの構造異常、数の異常の診断など染色体異常の詳細な検索に有効です。また細胞を培養して染色体を得ることなく、細胞核（間期細胞）をそのまま使用できることと、通常 2 日間程度で迅速に検査ができるのも大きな特徴です。

6. FISH 検査の目的別分類

1) 先天異常の検査

染色体のごく僅かな欠失が原因で起こる先天異常が次々と分かってきました。FISH はこのような微小欠失を診断するために用いられます。Prader-Willi 症候群、DiGeorge 症候群や Williams 症候群などでは、染色体上の小さな欠失を判定することにより診断が可能です。これらの判定には、血液を培養して得られた染色体の上で、特定遺伝子座の遺伝子の有無を判定します。他に、染色体検査で検出された転座などの構造異常染色体やマーカー染色体を詳しく調べるために用いられます。また染色体分析に比較して簡単に多数の細胞を検査できるため、間期細胞 FISH を用いたモザイクの判定も行われます。しかし FISH では、検査している遺伝子や DNA 断片以外の異常については分からないので、先に述べた通常の G 分染法が実施され、G 分染法を補完する目的で FISH 検査が行われます。ただし、迅速に染色体の数を検査したい症例では、先に間期細胞 FISH が実施され、後に G 分染法による染色体検査で確認される場合もあります。

2) 羊水検査

出生前診断では、染色体の数の異常で起こるトリソミーやモノソミー症候群を迅速診断する場合があります。これは、FISH 法で直接羊水を用いて 13 番、18 番、21 番、X および Y 染色体の数を 2 日間で迅速に判定するものです。必ず通常の染色体分析と併用して実施されます。

3) 白血病の検査

まず染色体検査が実施されます。染色体検査を補うために、必要に応じて FISH が実施されます。染色体検査で診断された遺伝子異常については、その治療効果を判定するために、間期細胞の FISH が用いられます。また、異常細胞の染色体が得にくい白血病においては、診断のために間期細胞 FISH が用いられることもあります。さらに骨髄移植を異性間で行った場合には、移植した骨髄の生着を確認するために間期細胞 FISH が用いられます。

4) 固形腫瘍の検査

疾患特異的な遺伝子が分かっている一部の固形腫瘍では、染色体検査とともに FISH が用いられます。特に染色体が得にくい固形腫瘍において、FISH の役割は重要です。

7. FISH 検査の実際

標準的な方法の概略は次の通りで、検査の流れを図4に示しました。

1) 標本の作製

- (1) 血液の場合は、そのままか、培養後に低張処理⁵をして細胞を膨張させ、カルノア液で徐々に固定します。固定した細胞液をスライドガラス上に滴下して、標本を作製します。
- (2) 羊水の場合は、培養方法は異なりますが、標本の作製方法は血液とほぼ同じです。
- (3) 組織の場合は、直ちに凍結し凍結標本を作製します。

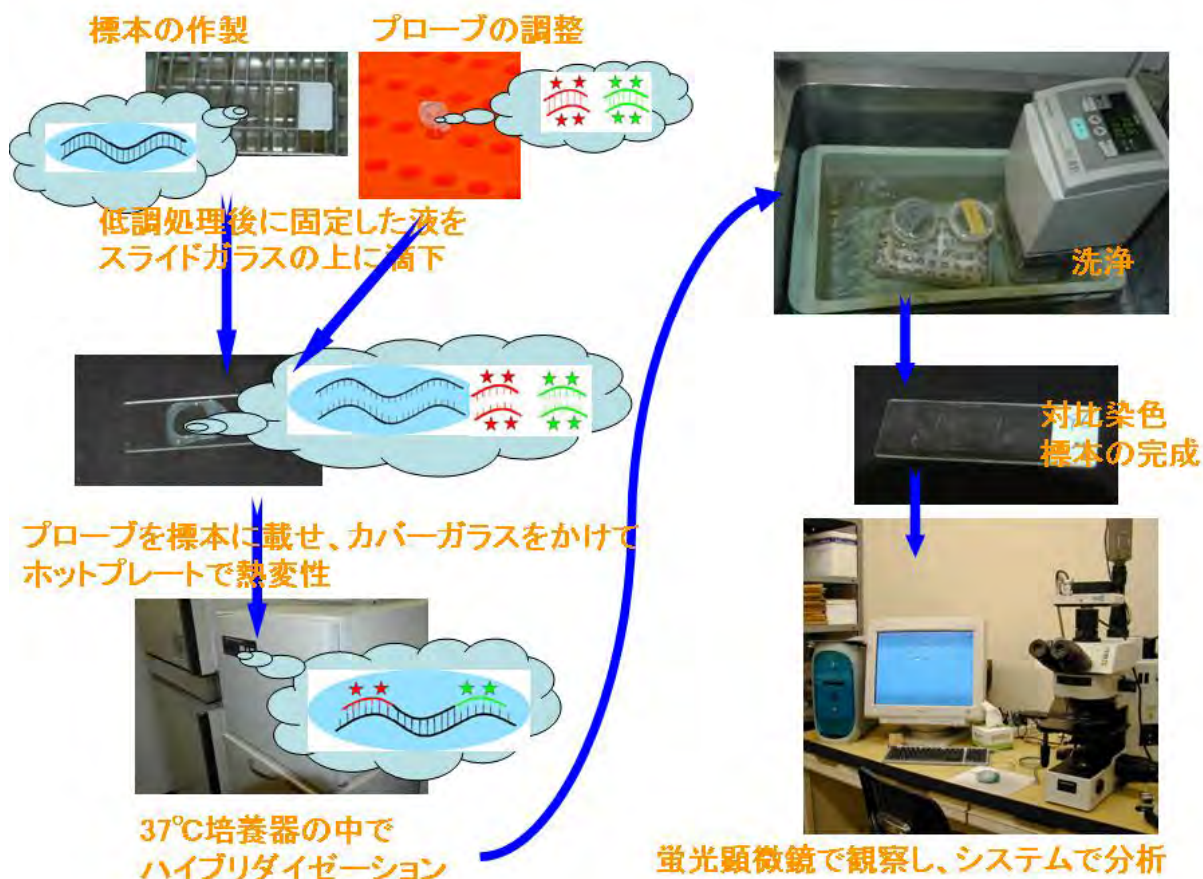


図4 FISH 検査の手順

2) ハイブリダイゼーション

- (1) ハイブリダイゼーションをしやすくするために、細胞膜を処理した後に脱水し、乾燥します。

⁵低張処理

0.075MKCl などの低い浸透圧の液中で細胞を膨張させる操作。

- (2) DNAを変性⁶するためにプローブを標本に載せ、カバーガラスをかけて75°C程度のホットプレート上に置きます。
- (3) ハイブリダイゼーションを行うために37°Cの湿潤箱に1晩程度置きます。
- (4) 洗浄は75°C程度の低塩溶液で行い、結合しなかったプローブを洗い落とします。
- (5) 標識した蛍光色素が見やすいように核をDAPIで対比染色⁷して、蛍光顕微鏡で観察します。

3) 検査に要する日数

FISH 検査は1～2日間で行えます。染色体上でFISHを行う場合には、培養の日数が余分に掛かります。

8. 検査の問題点と今後の展望

FISH 検査によって同定できることが分かっている病気では、早期に正確な診断を受けることが可能で、一部で遺伝子治療である分子標的治療薬の適応をめぐる検査も現実的なものとなってきました。現在、FISH プローブとして、先天性微小欠失症候群を検査するために約10種類、白血病などを検査するために約50種類、がんを検査するために約10種類、染色体の構成を調べるために約100種類が市販されていますが、これらによって同定できる病気の数はまだ少ないのが現状です。また、1回あたり1万円程度と試薬が高価な点も問題です。しかし迅速な遺伝子診断と治療の動きは、今後ますます広がってくるでしょう。FISH 検査の臨床応用も、ますます広がることが予想されます。

⁶変性 (denaturation)

DNA に熱やアルカリなどを加えて、2本鎖間の水素結合を切り離し、1本鎖にすること。

⁷対比染色

FISH の蛍光を観察しやすくするために、核・核酸に親和性の蛍光色素を用いて着色する。蛍光の退色を防止するための退色防止剤を含む。

