

NIPTで判定保留を示した胎盤性モザイクの2例

甲斐 一華¹⁾・児玉 美穂²⁾・正路 貴代²⁾・中前里香子²⁾
伊達健二郎²⁾・松岡 直樹³⁾・川崎 雅也³⁾・三春 範夫⁴⁾

- 1) 広島市立北部医療センター安佐市民病院 産婦人科
- 2) 広島赤十字・原爆病院 産婦人科
- 3) 川崎産婦人科
- 4) 広島赤十字・原爆病院 遺伝診療部

Placental mosaicism with pending non-invasive prenatal testing results: A report of two cases

Itsuka Kai¹⁾・Miho Kodama²⁾・Takayo Shoji²⁾・Rikako Nakamae²⁾
Kenjiro Date²⁾・Naoki Matsuoka³⁾・Masaya Kawasaki³⁾・Norio Miharuru⁴⁾

- 1) Department of Obstetrics and Gynecology, Hiroshima City North Medical Center Asa Citizens Hospital
- 2) Department of Obstetrics and Gynecology, Hiroshima Red Cross Hospital & Atomic-bomb Survivors Hospital
- 3) Kawasaki Clinic
- 4) Genetics Department, Hiroshima Red Cross Hospital & Atomic-bomb Survivors Hospital

【緒言】胎盤性モザイクは、無侵襲性出生前遺伝学的検査 (non-invasive prenatal genetic testing: NIPT) の結果に影響することが知られている。今回我々は、NIPTで2回判定保留となり、胎盤のFluorescence in situ hybridization: FISH検査にてそれぞれ13, 21トリソミーのモザイクであることが判明した2症例を経験したため報告する。【症例1】37歳、4妊3産、自然妊娠、高年妊娠のため出生前検査を希望、妊娠12週でNIPTを行い、13トリソミーの判定保留であった。NIPT再検査でも判定保留であり、羊水検査では正常核型であった。胎児超音波検査で異常所見は認めなかった。妊娠38週に既往帝切後妊娠で選択的帝王切開術となり、胎盤のFISH検査で13トリソミーのモザイクを認めた。【症例2】37歳、2妊1産、体外受精、高年妊娠のため出生前検査を希望、妊娠15週でNIPTを行い、21トリソミーの判定保留であった。NIPT再検査でも判定保留であり、羊水検査では正常核型であった。胎児超音波検査で異常所見は認めなかった。妊娠38週に経膈分娩となり、胎盤のFISH検査で21トリソミーのモザイクを認めた。【考案】NIPTの判定保留という結果が出る頻度は0.3%と言われている。その原因として胎児ゲノム率が低い場合、高頻度に染色体異常がみられる母体腫瘍、自己免疫疾患や薬剤、vanishing twinや胎盤性モザイクが挙げられる。本症例では胎盤性モザイク以外の原因には該当せず、実際に胎盤のFISH検査でモザイクであることを証明することができた。NIPTでの判定保留という結果は稀ではあるが、遭遇した場合は個々の症例に対して適切な原因検索を進める必要がある。

[Introduction] Placental mosaicism affects the results of non-invasive prenatal testing (NIPT), a prenatal genetic test used in clinical practice. We report two cases of trisomy 13, 21 placental mosaicism in women in whom the NIPT test results were pending.

[Case 1] A 37-year-old woman underwent NIPT twice; however, the results were pending for trisomy 13. Amniocentesis revealed a normal karyotype. Post-delivery placental tissue fluorescent in situ hybridization (FISH) testing revealed trisomy 13 placental mosaicism.

[Case 2] A 37-year-old woman conceived following in vitro fertilization. She underwent NIPT twice; however, the results were pending for trisomy 21. Amniocentesis revealed a normal karyotype. Post-delivery placental tissue FISH testing revealed trisomy 21 mosaicism.

[Discussion] Pending NIPT results are observed in 0.3% of all cases. This finding is attributable to a low fetal cell-free DNA rate, maternal tumors, autoimmune diseases, drugs, vanishing twin syndrome, and placental mosaicism. In the aforementioned cases, we diagnosed placental mosaicism using placental tissue FISH testing. In cases of pending NIPT results, it is necessary to carefully search in each case.

キーワード：無侵襲性出生前遺伝学的検査, 判定保留, 胎盤性モザイク, NIPT, FISH, 13トリソミー, 21トリソミー

Key words: non-invasive prenatal testing, placental mosaicism, trisomy 13, trisomy 21

緒 言

母体血胎児染色体検査 (non-invasive prenatal genetic testing: NIPT) は無侵襲的な非確定的出生前遺伝学的検査の一つであり、胎児の21・18・13トリソミーを検査の対象としている。結果は98%が陰性で、陽性が2%、ごくまれに判定保留の結果が出ることもある¹⁾。判定保留となる原因としては、胎児ゲノム率が低い場合、ヘパリン使用や自己免疫性疾患、母体腫瘍、母体のcopy number variations: CNV、児の染色体異常や胎盤の染色体異常などの影響が挙げられる。

今回我々は、NIPTで2回判定保留という結果となり、胎盤のFISH検査にてそれぞれ13トリソミーと21トリソミーの胎盤性モザイクであることが判明した2症例を経験したため報告する。

症 例 1

37歳、4妊3産、既往帝王切開分娩(2回)、そのほか既往歴はなし。

自然妊娠成立後、高年妊娠のため出生前検査を希望して、妊娠12週で当院を紹介受診した。遺伝カウンセリングを行い、非確定検査(コンバインド検査・クアトロテスト・NIPT)や確定検査(絨毛検査・羊水検査)についてそれぞれ説明し、クライアント夫婦はNIPTを希望した。受診当日にNIPTを実施したところ、結果が13トリソミーの判定保留(胎児ゲノム率9%、Zスコア6.29)であった。この結果をクライアント夫婦へ次のように説明した。今回のNIPT検査結果は判定保留という結果であった。判定保留となる原因としては、胎児ゲノム率が低い場合、母体にヘパリン使用や自己免疫性疾患、腫瘍、CNVがある場合、児や胎盤に染色体異常がある場合などが考えられるが、今回の検査では胎児ゲノム率は十分あり、母体のヘパリン使用はなく、自己免疫性疾患・母体腫瘍は認めないことから、児や胎盤の染色体異常の影響である可能性が高いと考えられる。また、検査会社よりNIPTの再検にて判定できる可能性があるとのコメントがあったことも説明した。クライアント夫婦は以上の説明を聞いたうえでNIPTの再検を希望した。妊娠14週でNIPTを再度行うも結果は13トリソミーの判定保留(胎児ゲノム率10%、Zスコア5.40)であった。検査会社より胎盤性モザイクの可能性ありとのコメントがあり、再度クライアント夫婦にNIPTの結果を次のように説明した。現時点で胎児超音波検査では明らかな異常は認めていないが、NIPTはあくまでも非確定検査である。胎児染色体異常の有無についての確定検査は羊水検査となるが、羊水検査は0.3%流産のリスクがある。羊水検査で胎児の染色体異常がないことが確認できれば、胎盤性モザイクの可能性が高くなる。胎盤性モザ

表1 (症例1) FISH検査解析所見

| | | シグナル数 | | | | |
|--------|-----|-------|----|-----|----|----|
| | | +0 | +1 | +2 | +3 | +4 |
| 13番染色体 | 胎盤① | | | 92 | 8 | |
| | 胎盤② | | | 100 | | |
| | 胎盤③ | | | 17 | 83 | |

胎盤の組織3ヶ所でFISH検査を行い、胎盤①と胎盤③の2ヶ所で13番染色体のダイソミーとトリソミーのモザイクを認めた。

イクであった場合、子宮内胎児発育不全(Fetal Growth Restriction: FGR)や子宮内胎児死亡(Intrauterine Fetal Death: IUFD)を認める可能性がある。胎児の13トリソミーモザイクを認めた場合、モザイク率が胎児の表現型にどの程度影響を及ぼすかは判断できず、今後も胎児超音波で精査していく必要がある。クライアント夫婦が羊水検査を希望したため、妊娠16週に羊水検査を実施、正常核型を確認した。胎児超音波検査でも明らかな異常所見は認めなかったため、胎盤性モザイクの可能性が高いことをクライアント夫婦へ説明した。妊娠経過は特に問題なく、紹介元の病院で妊娠38週5日に3150gの女児をApgar Score: 9/10点(1分/5分)、臍帯動脈血pH: 7.294で選択的帝王切開術にて分娩となった。出生児の核型判定は行っていないが、明らかな異常は認めなかった。胎盤の精査方法として、FISH検査、G-band法、マイクロアレイ法が考えられたが、検査会社の費用負担でできる検査がFISH検査であった。胎盤の検査費用について、FISH検査で胎盤の染色体異常が全てわかるわけではないことについてをクライアント夫婦に説明したところ、FISH検査を希望したため実施した。胎盤の3ヶ所にFISH検査を行い、そのうち2ヶ所が13トリソミーの胎盤性モザイクであることが判明した。(図1, 表1)

症 例 2

37歳、2妊1産、既往歴はなし。

体外受精で妊娠成立し、高年妊娠のため出生前検査を希望して、妊娠15週で当院を紹介受診した。遺伝カウンセリングを行い、非確定検査(クアトロテスト・NIPT検査)や確定検査(絨毛検査・羊水検査)についてそれぞれ説明し、クライアント夫婦はNIPTを希望した。受診当日にNIPTを実施したところ、結果が21トリソミーの判定保留(胎児ゲノム率12%、Zスコア4.109)であった。この結果をクライアント夫婦へ次のように説明した。今回のNIPT検査結果は判定保留という結果であった。判定保留となる原因としては、胎児ゲノム率が低

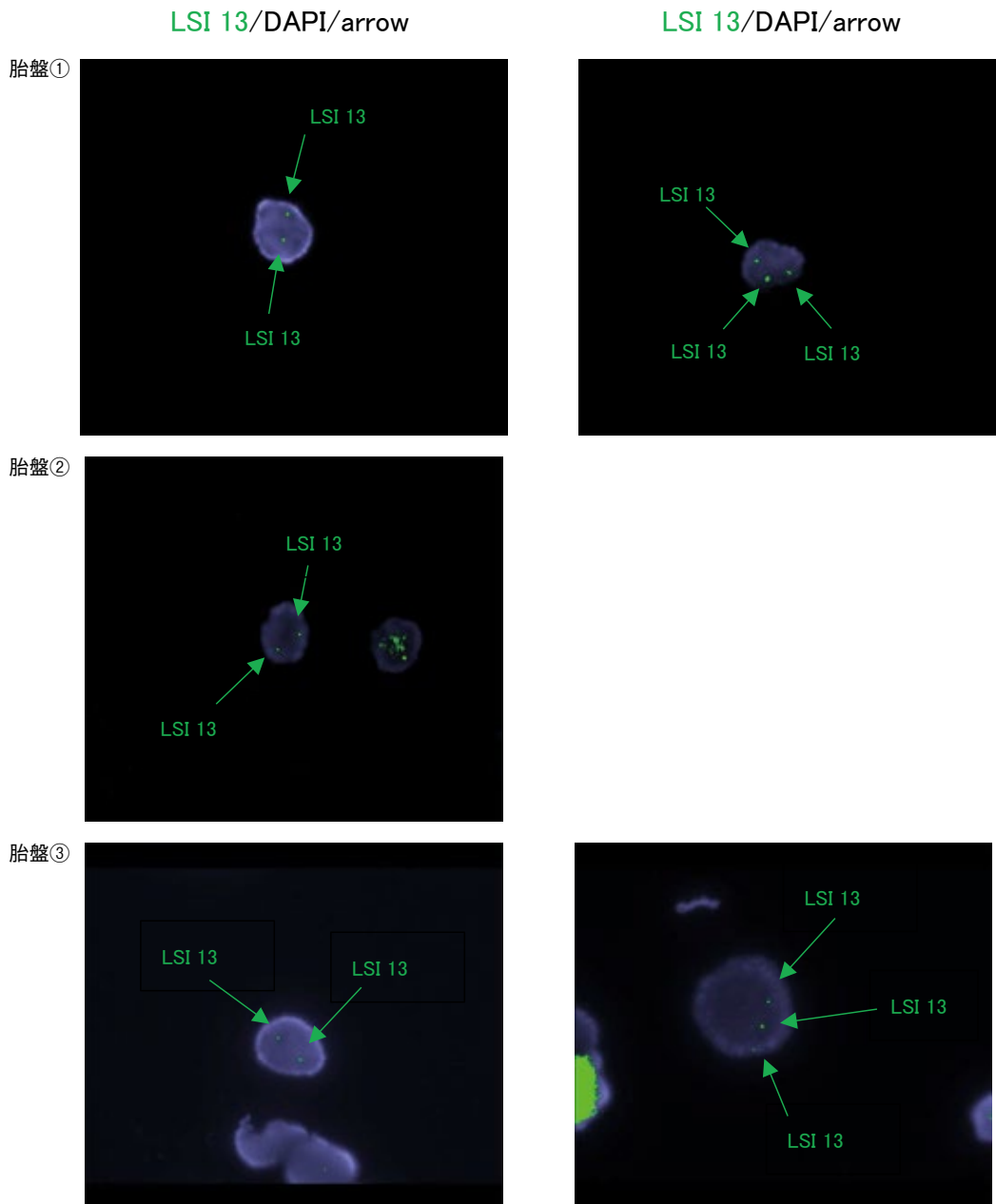


図1 〈症例1〉FISH検査所見

蛍光顕微鏡の所見：13番染色体に特異的なDNAプローブ、LSI 13を使用した。蛍光シグナル（矢印）は13番染色体を示す。核はDAPIで染色した。
胎盤の3ヶ所にFISH検査を行ったところ、そのうち2ヶ所（胎盤①と③）で2つの蛍光シグナルと3つの蛍光シグナルを認める細胞が存在し、13番染色体のダイソミーとトリソミーのモザイクと考えられた。

い場合、母体にヘパリン使用や自己免疫性疾患、腫瘍、CNVがある場合、児や胎盤に染色体異常がある場合などが挙げられる。今回の検査では胎児ゲノム率は十分あり、母体のヘパリン使用はなく、自己免疫性疾患・母体腫瘍は認めなかったことから、児の染色体異常や胎盤の染色体異常の影響である可能性が高いと考えられた。また、検査会社よりNIPTの再検にて判定できる可能性ありとのコメントがあったことも説明した。クライアント夫婦は以上の説明を聞いたうえでNIPTの再検を希望したため、妊娠16週でNIPTを再度行うも結果は21トリソ

ミーの判定保留（胎児ゲノム率13%、Zスコア4.471）であった。再度クライアント夫婦にNIPT結果について説明した。さらに、現時点での胎児超音波検査で明らかな異常は認めていないがNIPTはあくまで非確定検査である。胎児染色体異常の有無についての確定検査は羊水検査となるが、羊水検査は0.3%流産のリスクがある。また羊水検査で胎児の21トリソミーモザイクと診断した場合、モザイク率が胎児の表現型にどの程度影響を及ぼすかは判断できず、今後も胎児超音波で精査していく必要がある。胎盤性モザイクであった場合、FGRやIUFD

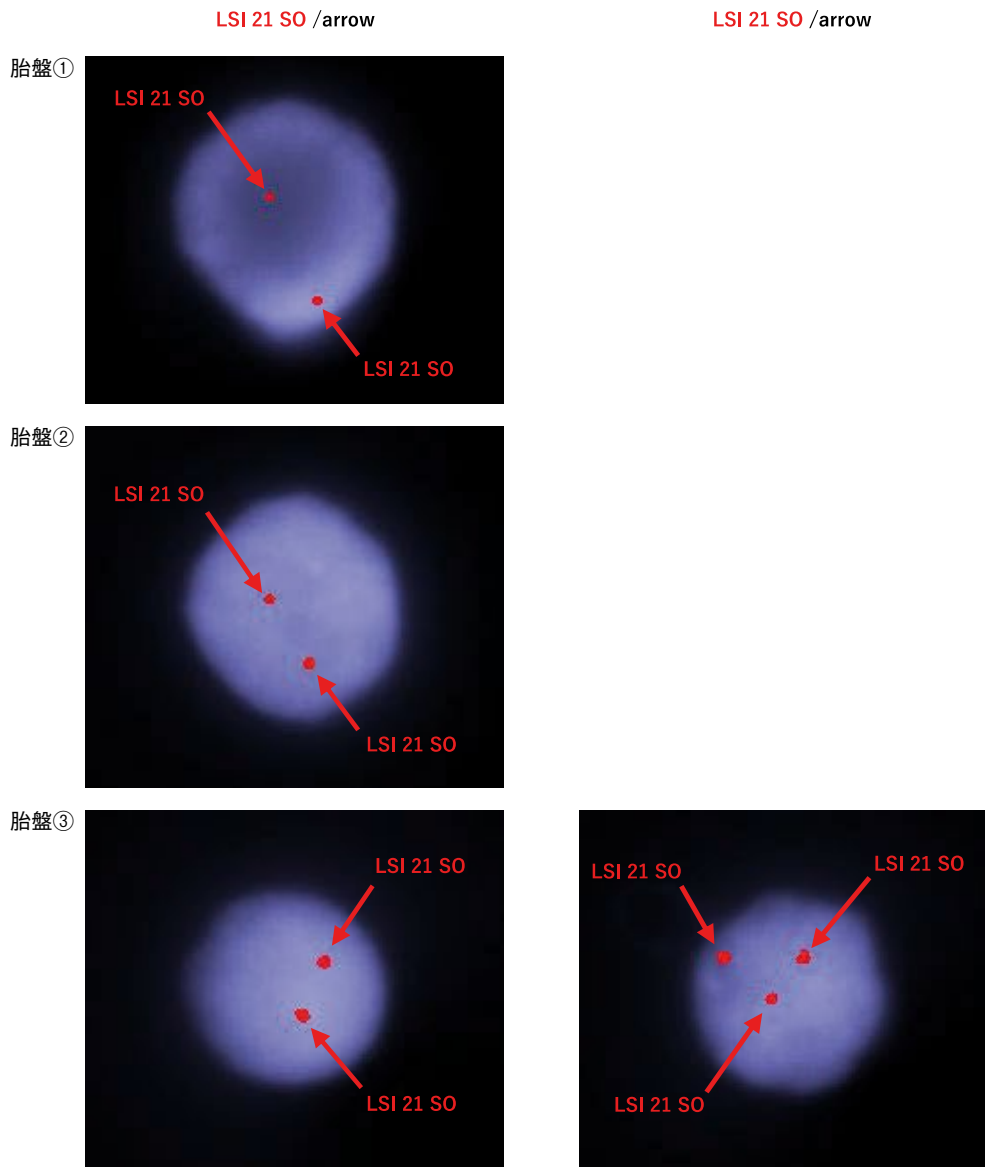


図2 〈症例2〉FISH検査所見

蛍光顕微鏡の所見：21番染色体に特異的なDNAプローブ、LSI 21を使用した。蛍光シグナル（矢印）は21番染色体を示す。核はDAPIで染色した。
胎盤の3ヶ所にFISH検査を行ったところ、そのうち1ヶ所（胎盤③）で2つの蛍光シグナルと3つの蛍光シグナルを認める細胞が存在し、21番染色体のダイソミーとトリソミーのモザイクと考えられた。

表2 〈症例2〉FISH検査解析所見

| | | シグナル数 | | | | |
|--------|-----|-------|----|-----|----|----|
| | | +0 | +1 | +2 | +3 | +4 |
| 21番染色体 | 胎盤① | | | 100 | | |
| | 胎盤② | | | 100 | | |
| | 胎盤③ | | | 29 | 71 | |

胎盤の組織3ヶ所でFISH検査を行い、胎盤③の1ヶ所で21番染色体のダイソミーとトリソミーのモザイクを認めた。

を認める可能性があることを説明した。クライアント夫婦が羊水検査を希望したため、妊娠17週に羊水検査を実施、正常核型を確認し、胎盤性モザイクの可能性あることをクライアント夫婦へ説明した。妊娠経過は問題なく、紹介元の病院で妊娠38週1日に3430gの女児をApgar Score：8/9点（1分/5分）、臍帯動脈血pH：7.287で経膈分娩した。出生児の核型判定は行っていないが、明らかな異常は認めなかった。症例1と同様の説明を行い、クライアント夫婦がFISH検査を希望したため、胎盤の3ヶ所にFISH検査を行ったところ、そのうち1ヶ所が21トリソミーの胎盤性モザイクであることが判明した。（図2、表2）

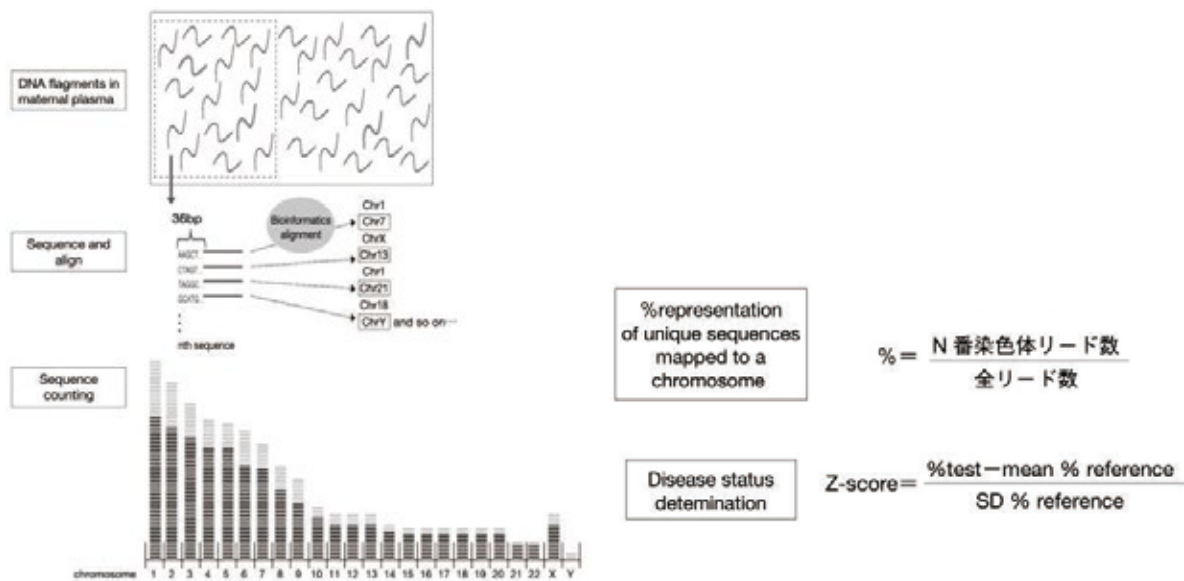


図3 s-MPS法（文献3を改変）

s-MPS法では母体血漿中の、母体由来・胎児由来のcfDNAを大量かつ同時並列に配列決定し（読み取り）、由来染色体ごとに分類（アライメント）・定量（カウント）する。染色体異数性があれば、当該染色体でのカウント数にて量的な変化が生じる。対象染色体の異数性の評価は、cfDNAの断片量が正常と比べどの程度変化しているか、Zスコアを用いて数値化し評価している。

考 案

NIPTで判定保留となる原因としては、まず胎児ゲノム率が低い場合（検査可能な範囲は胎児ゲノム率4%以上）が挙げられ、この要因は母体の肥満に伴うものが多いとされており判定保留全体の20%程度を占める。その他母体にヘパリン使用による影響や自己免疫性疾患、腫瘍やCNVがある場合が挙げられる。一方で児の染色体の微小欠失や重複によるもの、胎盤性モザイクやvanishing twin、つまり胎児・胎盤の染色体異常が推察される症例が16%を占めている²⁾。

NIPTでは、母体血漿中に存在する母体・胎児由来cell free DNA: cfDNAを使用し、胎児の染色体異数性の可能性を調べている。本症例で、GeneTech社はshotgun massively parallel sequencing (s-MPS) 法を用いた。s-MPS法では母体血漿中の、母体由来・胎児由来のcfDNAを大量かつ同時並列に配列決定し（読み取り）、由来染色体ごとに分類（アライメント）・定量（カウント）する。染色体異数性があれば、当該染色体でのカウント数にて量的な変化が生じる。対象染色体の異数性の評価は、cfDNAの断片量が正常と比べどの程度変化しているか、Zスコアを用いて数値化し評価している³⁾

（図3）。Zスコアとは個々の検体が平均値から標準偏差何個分離れているかを示している。つまり、対象染色体のcfDNAの断片量が正常と比べどの程度変化しているかを評価しており、Zスコアの数値がcut-off値以上を示した検体を「陽性」と判断し、「陽性」と「陰性」に当てはまらない数値の場合「判定保留」という結果とな

る。「陽性」のcut-off値は、21トリソミーで3、13トリソミーで3.95となっている⁴⁾。本症例は2症例とも、1回目も2回目もZスコアは「判定保留」に値するZスコアの数値であった。また症例2のみ、NIPT2回・分娩直前・分娩後と合計4回のZスコアを試験的に計測した。症例2のZスコアはNIPT2回採血時より分娩直前の方が高くなっており、分娩後に低下している（表3）。これはZスコアの数値が分娩前に最大量となり、分娩後に母体から離れたもの、つまり胎児・胎盤因子が影響していることを示唆しており、NIPT判定保留の原因が胎児・胎盤因子であることが予想される結果となっている、と検査会社からのアセスメントがあった。羊水検査で胎児染色体異常が否定されているため、胎盤因子と予想された。今回の2症例では胎盤のFISH検査の結果により、胎盤性モザイクが存在することが証明された。

胎盤性モザイクとは、胎児の染色体異常は認めないが、胎盤にのみ染色体異常を認めることである。NIPTは、母体血漿中の絨毛細胞由来のcfDNAを検出して行う検査であるため、胎盤性モザイクの場合は結果が偽陽性や判定保留となることがある。胎盤性モザイクは体細胞由来（Type I および II）と減数分裂由来（Type III）に分かれる。また発生由来別に表現すると、染色体異常が細胞栄養芽層に限局するもの（Type I：39.9%）、間葉組織（Mesenchymal core）に限局するもの（Type II：40.4%）、両方の組織に認めるもの（Type III：6.9%）がある。Type I と II は正常核型の受精卵が細胞分裂を繰り返している中で発生したトリソミーによるもので、Type III がトリソミーレスキューという現象によるもの

とされる^{5) 6) 7)}。(図4) トリソミーレスキューとは、減数分裂時に発した染色体異常の配偶子が受精してできたトリソミーの受精卵において、細胞分裂を繰り返していく段階で特定の細胞で余剰な染色体が排除され2倍体化(正常核型化)する現象である⁵⁾。

胎盤性モザイクは周産期予後という点で注意する必要がある。Type I では22%にFGRなどの周産期異常を起こし、type II ではほとんどが正常な妊娠経過であり、type III ではFGRやIUFDが一般的であると言われている⁸⁾。FGR児の中では、5パーセント以下の特発性のものの約20%に胎盤性モザイクを認めたと報告

されている⁸⁾。分娩週数の中央値は38週であるが、早産率は30.9% (妊娠32週以前: 11.7%, 妊娠32~36週: 19.2%) と報告されている⁵⁾。また、関与する染色体はType I では3, 7, 13, 18, 20, 21トリソミーが多く、Type II は2, 7, 18トリソミーが多いが5, 8, 9, 10, 12, 13, 21, 22トリソミーは少なく、Type III では15, 16, 18トリソミーの報告が多いとされている⁸⁾。出生児の表現型の異常の合併率は24%と一般頻度よりも高率であり、超音波検査による十分な精査が必要とされている³⁾。また、トリソミーレスキューにより片親由来の染色体を2本(もう一方の親由来の染色体は0本)保持

表3 症例2のZスコアの推移

| | 妊娠週数 | Zスコア (21番染色体) | 胎児ゲノム率 |
|-------|-------|------------------|--------|
| 初回採血 | 15週0日 | 4.109 | 12% |
| 再検査 | 16週3日 | 4.471 | 13% |
| 分娩前採血 | 38週0日 | 10.010 | 25% |
| 分娩後採血 | | -0.220 | 5% |

症例2のみ、NIPT 2回・分娩直前・分娩後と合計4回のZスコアを試験的に計測した。症例2のZスコアはNIPT 2回採血時より分娩直前の方が高くなっており、分娩後に低下していた。

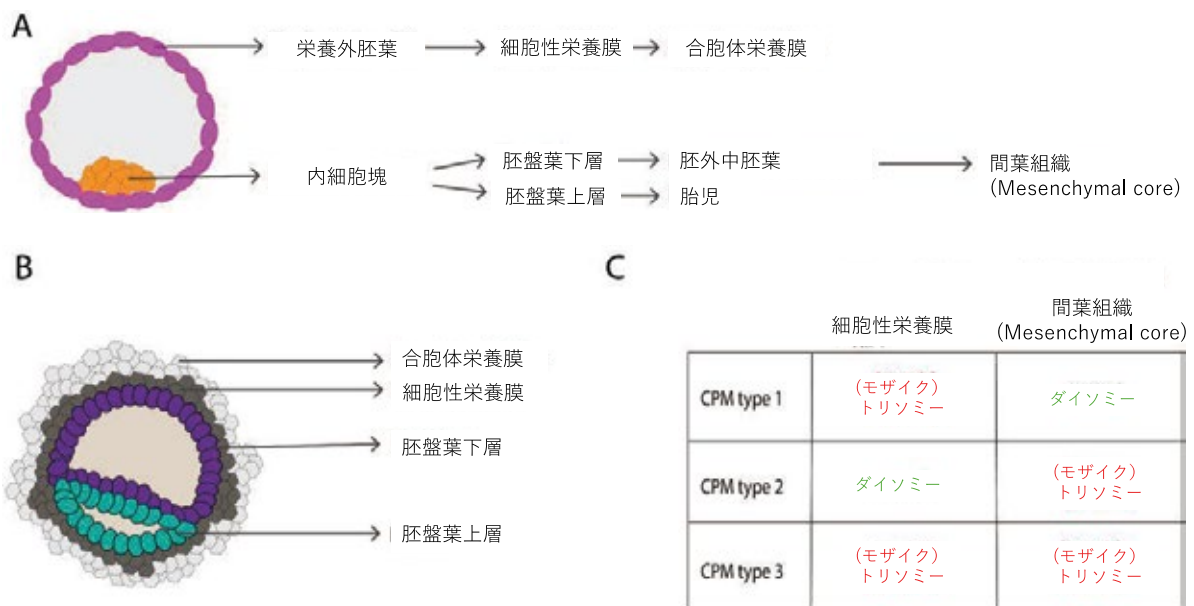


図4 胎盤性モザイクの発生(文献8を改変)

- A: 胚発生5日目の胚盤胞。この初期段階では、栄養外胚葉と内部細胞塊に分かれる。
- B: 胚発生13日目。栄養外胚葉は、胎盤の2つの組織、合胞体栄養膜と細胞栄養芽層に分化する。内細胞塊は胚盤葉上層(最終的には胎児)と胚盤葉下層(最終的には間葉組織: Mesenchymal core)に分化する。
- C: 胎盤性モザイク(confined placental mosaicism: CPM)は3つのタイプに分類でき、細胞性栄養膜のみにモザイクが局限するtype I、間葉組織: Mesenchymal coreのみにモザイクが局限するtype II、両方にモザイクが存在するtype IIIがある。

した状態となることを片親性ダイソミー (Uniparental disomy: UPD) と言う。父親または母親から受け継いだ遺伝子でしか働かない遺伝子であるインプリンティング遺伝子を多く搭載している場合、児の染色体がUPDとなってしまうと、染色体の数的異常・構造異常を認めないにも関わらず表現型に異常を認める事がある⁵⁾。

本症例は2例とも、実際に胎盤性モザイクであったものの正期産で正常体重児の分娩となり、妊娠転機は良好であった。この妊娠経過と頻度だけから考えると、どちらも正常核型の受精卵が細胞分裂を繰り返している中で発生したトリソミーでType Iであった可能性が最も高いと思われた。胎盤組織を採取する際には、採取した部位によって必ずしもモザイクと診断できるわけではないため、可能なかぎり複数部位での採取・検査が望ましい。胎盤性モザイクの成因や頻度・胎児への影響に関してはまだまだ不明な点もあり、今後もさらなる検討が必要と考えられる。今回我々が報告した2症例の特筆すべき点は、胎盤の精査まで行うことでNIPT判定保留の原因を追求し、原因を知りたがっていたクライアント夫婦が納得できた点である。

謝 辞

本論文の作成にあたり、GeneTech株式会社に多大なご協力を頂きました。ここに感謝の意を表します。

文 献

- 1) Samura O, Sekizawa A, Suzumori N, Sasak A, Wada S, Hamanoue H, Hirahara F, Sawai H, Nakamura H, Yamada T, Miura K, Masuzaki H, Nakayama S, Okai T, Kamei Y, Namba A, Murotsuki J, Tanemoto T, Fukushima A, Haino K, Tairaku S, Matsubara K, Maeda K, Kaji T, Ogawa M, Osada H, Nishizawa H, Okamoto Y, Kanagawa T, Kakigano A, Kitagawa M, Ogawa M, Izumi S, Katagiri Y, Takeshita N, Kasai Y, Naruse K, Neki R, Masuyama H, Hyodo M, Kawano Y, Ohba T, Ichizuka K, Kido Y, Fukao T, Miharuru N, Nagamatsu T, Watanabe A, Hamajima N, Hirose M, Sanui A, Shirato N, Yotsumoto J, Nishiyama M, Hirose T, Sago H. Current status of non-invasive prenatal testing in Japan. *J Obstet Gynaecol Res* 2017; 43(8): 1245-1255.
- 2) 関沢明彦. 第1章周産期分野 9. 母体血胎児染色体検査 (NIPT). *産科と婦人科* 2020; 第87巻増刊号. 東京: 診断と治療社, 2020; 46-50.
- 3) 栗城紘子, 浜之上はるか. 今月の臨床 NIPT新時代の幕開け 検査の実際と将来展望 NIPTの現状国内で提供されているNIPTの検査法の差異とは? *臨婦産* 2019; 206-215.
- 4) Jensen TJ, Zwiefelhofer T, Tim RC, Džakula Ž, Kim SK, Mazloom AR, Zhu Z, Tynan J, Lu T, McLennan G, Palomaki GE, Canick JA, Oeth P, Deciu C, Boom D, Ehrich M. High-throughput massively parallel sequencing for fetal aneuploidy detection from maternal plasma. *PLOS ONE* 2013; 8(3): e57381.
- 5) 楠田聡, 河野由美, 関沢明彦, 側島久典, 中井章人, 長谷川久弥, 宮川智幸, 宮越敬. 周産期医学必修知識 周産期医学51巻増刊号, 第9版. 東京: 東京医学社, 2021; 38-39.
- 6) Kalousek D K, Vekemans M. Confined placental mosaicism. *J Med Genet* 1996; 33(7): 529-533.
- 7) Eggenhuizen GE, Go A, Koster MPH, Baart EB, Galjaard RJ. Confined placental mosaicism and the association with pregnancy outcome and fetal growth: a review of the literature. *Human Reproduction Update* 2021; 27(5): 885-903.
- 8) Lestou V, Kalousek D. Confined placental mosaicism and intrauterine fetal growth. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1998; 79(3): F223-F226.

【連絡先】

甲斐 一華
 広島市立北部医療センター安佐市民病院産婦人科
 〒731-0293 広島市安佐北区亀山南1丁目2-1
 電話: 082-815-05211 FAX: 082-814-1791
 E-mail: ikkaikka.0513@gmail.com