

小型過剰マーカー染色体

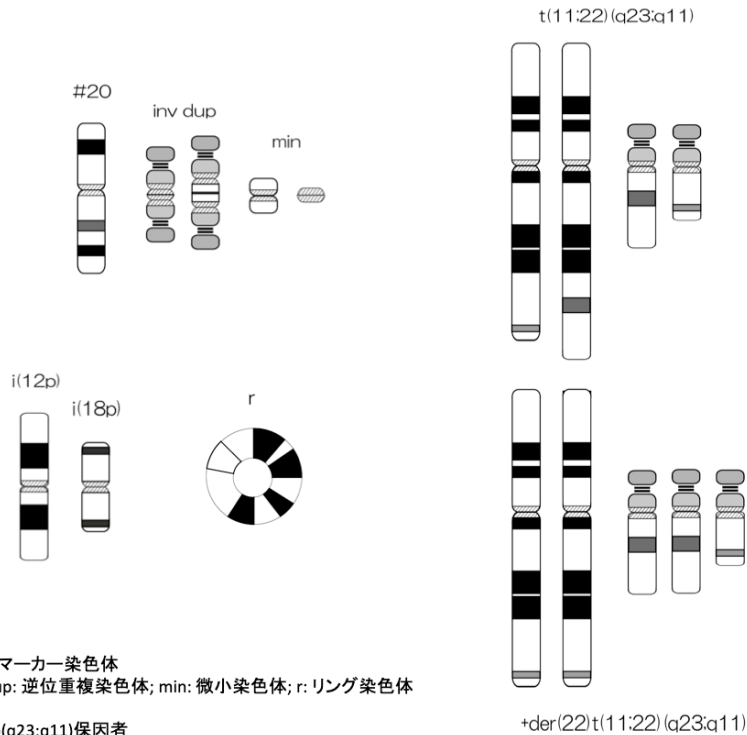


図1

左: 小型過剰マーカー染色体

inv dup: 逆位重複染色体; min: 微小染色体; r: リング染色体

右上: t(11;22)(q23;q11)保因者

右下: t(11;22)(q23;q11)保因者の減数分裂時の3:1分離に起因する派生22番の過剰(エマヌエル症候群)

Liehr et al., 2004 を改変引用

1. 定義

小型過剰マーカー染色体 (small supernumerary marker chromosomes: sSMCs) は accessory chromosomes と呼び、20 番染色体よりも小型で通常の方法だけでは同定が困難なものを指します。

2. 検出頻度

新生児では 0.044%，出生前染色体検査では 0.075% です。出生前検査例のうち、超音波異常を伴う胎児では 0.204% に高まります。発達障害の患者では 0.288%，不妊患者では 0.125% (男性のみなら 0.165%，女性のみなら 0.022%) の頻度で検出されます。全体の半数以上が de novo です

(Liehr et al., 2004; Liehr and Weise, 2007; Liehr, 2021) .

3. 表現型への影響

70%が端部着糸染色体 (13, 14, 15, 21, 22 番) 由来であり、10%がリング染色体です。また半数以上が正常核型細胞とのモザイクです。de novo 例の約 70%では表現型異常は見られず、臨床的な問題はありません。出生前診断で de novo sSMC 例が表現型異常を伴う率は 26%であり、専門家による胎児超音波検査の結果が正常であれば、18%に減ります (Graf et al., 2006) . sSMC が表現型に影響するかどうかは、実際には包含されるユークロマチン DNA, モザイク頻度, そして

sSMC と相同な染色体における片親性ダイソミー (Uniparental Disomy: UPD) の有無によります (Starke et al., 2003) . 特に出生前検査で sSMC を検出した際には, 同定を進める前に両親の染色体分析を行い, 遺伝性の有無を確認するのが合理的です. 片親に均衡型相互転座が見られた場合には, その減数分裂で 3:1 分離によって sSMC ができることがあり, その代表が t(11;22)由来の

der(22)です. また片親保因者の全ての細胞に sSMC が見られれば, 児の表現型に影響しないことが考えられ, sSMC の由来同定は不要となります. 保因者親がモザイクの場合は, 親に異常がみられない場合でも, 児への影響がないとは言えないため, 詳しい解析による同定が必要になります. また稀に見られる UPD の合併にも注意が必要です.

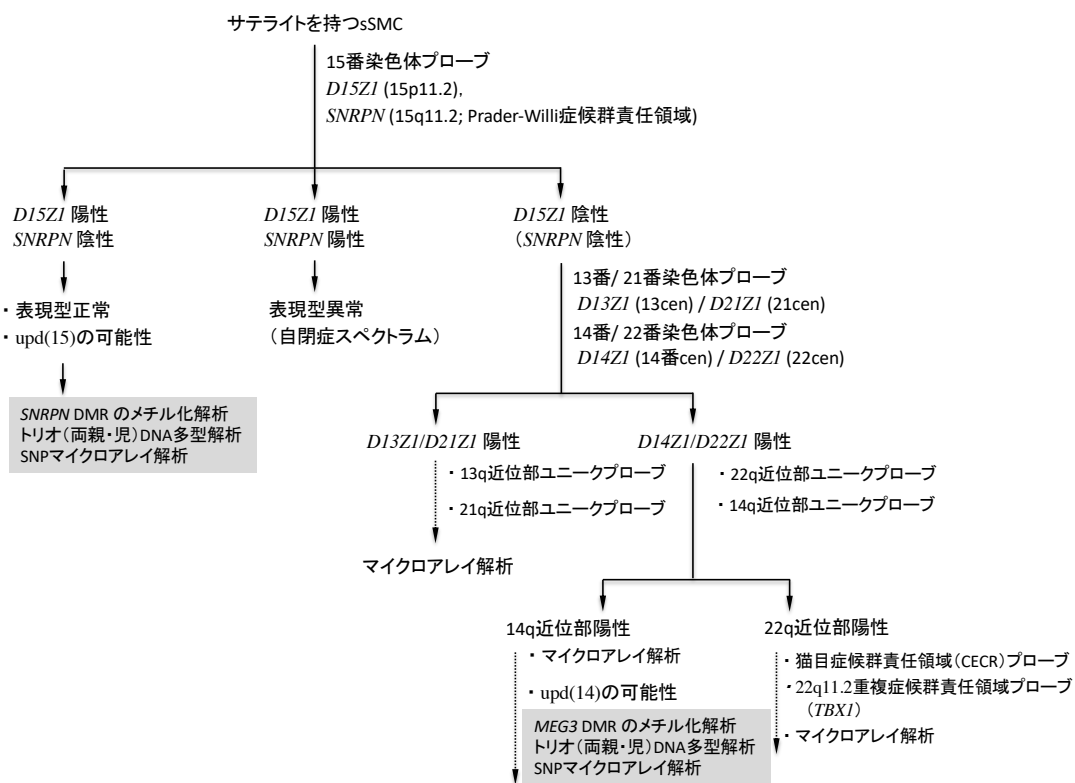


図2. サテライトを持つsSMCの同定方法

4. 由来の同定方法

1) 分染法

最初にC-分染法やAlu I消化分染法でsSMCのユークロマチンの有無を確かめます. ユークロマチンの存在が確認できれば, SKY法やM-FISH法で由来が同定できる可能性があります

まず, 同時にsSMCがサテライトを持つかどうか, 両端にサテライトを有するかどうかを分析します. G-バンドではトリプシン処理で染色体が膨化し, サテライトの有無が判別し難くなることもあるため, 分染しないギムザ単染色, 若しくはN-分染法で確かめます.

サテライトが一端だけにあるものを satellited (sat) sSMC, 両端にあるものを bisatellited (bisat) sSMC と呼び, bisat sSMC のうち対称形のもは inv dup であり, その代表が inv dup(15) です. 国際規約 (ISCN) による正式な記載は idic(15) や psu idic(15) であり, 切断点を記載すると idic(15)(q11) または idic(15)(pter→q11::q11→pter) のように表記されます. inv dup(15) は由来が同定された sSMC の 30.5%, サテライトを有する sSMC の半数を占めます.

2) 分子遺伝学的検査法 (FISH, メチル化特異的 PCR, マイクロアレイ解析)

多くの染色体検査室で FISH 分析が可能なので, 残りのカルノア固定細胞を利用し, 図 2 の要領で同定を進めるのが良いと思われます. sat sSMC, bisat sSMC では 15 番染色体由来かどうかを優先して調べるために *SNRPN* 等の Prader-Willi/Angelman 症候群責任領域プローブによる FISH 分析を行います.

15 番由来で *SNRPN* 領域プローブの過剰シグナルが検出されれば, 自閉症傾向を伴う表現型異常の合併と診断されます. 15 番由来で *SNRPN* を含まない場合には, 2 本の正常 15 番染色体が UPD である可能性があります. 確定診断には培養細胞や再度採取した検体から抽出した DNA を用いて, *SNRPN* DMR のメチル化特異的 PCR 法を実施するのが有効です. また SNP マイクロアレイによる解析で 10Mb 以上のサイズのコピー数不変ヘテロ接合性の消失 (Copy Neutral LOH), または Runs of Homozygosity (ROH) / Absence of Heterozygosity (AOH) 領域を検出することで UPD の有無が確認できます.

15 番由来ではない場合には, 13/21 番および 14/22 番染色体のセントロメアプローブの FISH で由来の同定を進めますが, ユークロマチン, 即ちゲノム重複範囲と包含される遺伝子を直接同定するためにはマイクロアレイ解析が最も有効です. DECIPHER

(<https://www.deciphergenomics.org/>) や ClinGen

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/dovar/clingen/>) 等のオンラインデータベースを参照することにより, 同様のコピー数バリエーション (CNV) を持つケースの表現型情報等も入手できます. 14 番染色体由来と同定, あるいは 14 番由来であること否定ができない場合には UPD の可能性を考慮する必要があります. upd(14) の同定にはトリオ (両親と患者・児の) DNA 多型解析, *MEG3* DMR のメチル化解析, SNP マイクロアレイ解析等が必要です.

後述する症候群性の sSMC に関しては, 臨床症状を参考にして適切に FISH プローブを選択し, 同定を進めるのが良いでしょう.

出生前検査でサテライトを持たない sSMC を検出した場合には, インプリンティング異常により臨床的に問題となる 6, 7, 11, 20 番染色体の UPD が同時に存在する可能性を考慮し, セントロメアプローブの FISH で由来の同定を進めるのが良いと思われます.

その他の sSMC に関しては, 最もセントロメアに近い領域のユニーク配列クローン化 DNA を FISH プローブ化して同定する試みがなされているものの, 検査室での対応は難しいかもしれません. 前述したように, 高密度 CGH マイクロアレイや SNP マイクロアレイによる

解析が有効であり、20%以上の細胞に sSMC が存在していればモザイクの検出も可能です。

コピー数に加えてゲノムシーケンシングによる塩基配列レベルの解析を追加して sSMC の詳細な構造解析を行った研究の結果、トリソミー受精卵の細胞分裂過程において、過剰な染色体に後期遅延(anaphase lag)が生じて微小核を形成し、染色体破砕(chromothripsis)を受けて生じた染色体断片が末端結合することにより sSMC が形成されることが分かってきました。このように複数～多数の切断点で構成されるものが、非頻発性 sSMC のうちの相当数を占めていることが推定されています (Kurtas et al., 2018) .

5. 特殊型

1) inv dup(15)

15q11-q14 領域には相同性の高い配列ブロックが複数存在し、減数分裂時に誤った組み換えを起こすことで高頻度に再構成が生じることが知られています。母親の減数分裂時に生じることが多く、SNRPN等の Prader-Willi/Angelman 症候群責任領域のプローブで過剰シグナルが検出されれば、知的障害・痙攣・小頭・筋緊張低下・低身長・自閉症様の性格を呈します。15番由来で SNRPN を含まない場合について、即ちこの領域 15q11.2 recurrent region (BP1-BP2) の縦列重複で発達遅滞や知的障害を合併する例が見つかったという報告が複数ありましたが、精密な症例対照研究や専門家による詳しい分析の結果、最近この領域のゲノム重複による表現型の影響は否定されています (Jonch et al., 2019; ClinGen Dosage Sensitivity Curation

Page_15q11.2 recurrent region

(BP1-BP2) (includes NIPA1) . また稀に2本の正常15番染色体がUPDであることがあり、出生後と出生前例の経験的リスクは、それぞれ1.7%と5%程度です (Kotzot, 2002; Kotzot, 2008) . upd(15)mat の合併では Prader-Willi 症候群を、upd(15)pat の合併では Angelman 症候群に罹患します【03o 片親性ダイソミーと遺伝子刷り込みをご参照ください】 .

2) Pallister-Killian 症候群

正常/過剰イソ 12p モザイク核型で重度の知的障害、粗な顔貌、色素形成異常(伊藤白斑)、眼間開離、長い人中を特徴とする症候群です。モザイクテトラソミー12p であり、sSMC 例の10.6%を占めます。末梢血リンパ球培養による染色体分析では過剰イソ 12p を有する細胞系列を検出できないことが多く、頬粘膜細胞の間期核 FISH や皮膚繊維芽細胞の培養と染色体分析による同定が必要です。

3) 猫の目症候群 (cat eye syndrome) /22q 部分テトラソミー

22q11.2 を切断点とする bisat sSMC であり、大半は正常核型細胞とのモザイクです。sSMC 例の7.1%を占め、虹彩欠損・眼間開離・鎖肛・耳介前瘻孔・心奇形を呈します。多くのケースの染色体切断点は、22q11.2 欠失症候群/22q11.2 重複症候群の近位側切断点に一致します。責任領域 (CECR) プローブによる FISH やマイクロアレイ解析での同定が必要です。

4) 22番由来の複合型 sSMC

複数の染色体で構成される sSMC を複合型 (complex) sSMC と呼び、由来が同定された sSMC のうちの8.4%を占めます (Liehr et al.,

2013) . 最も高頻度なものが Emanuel 症候群 (重度精神遅滞・小頭症・成長障害・前耳介小突起・前耳介洞・口蓋裂または高アーチ状口蓋・小顎・腎奇形・心奇形) であり, 親の $t(11;22)(q23;q11)$ に由来する $47,+der(22)t(11;22)(q23;q11)$ です【03ca 過剰派生 22 番染色体症候群 (Emanuel 症候群) をご参照ください】. 複合型 sSMC 中では 82%を占め, 全 SMC 中でも 10.1%を占めます. この $der(22)$ は G-バンドでほぼ同定が可能ですが, 両親の染色体検査結果, あるいは患者・児の表現型を参考にして確定する必要があります (図 1 右下) . 次に多いのが, $der(22)t(8;22)$ 症候群であり, 片親の $t(8;22)(q24.13;q11.2)$ に由来します (Sheridan et al., 2010) . 複合型 sSMC の 2.6%を占め, 患者は中等度知的障害, 軽度発達遅滞, 耳の奇形を呈します. $der(22)t(11;22)$ を除外するためにサブテロメア 8q プローブによる FISH で確実に同定するのが良いと思われます.

5) テトラソミー18p 症候群

18 番由来の sSMC の多くが過剰イソ 18p であり, 全 sSMC 例のうち 6.0%を占めます. モザイク・非モザイクともに多く, 中等度～重度精神遅滞・成長障害・小頭症・耳介奇形・斜視を呈します. G-バンドでほぼ同定が可能ですが, サブテロメア 18p プローブによる FISH で確定します.

6) ネオセントロメアを持つ sSMC

セントロメア配列を持たない sSMC がセントロメア機能を獲得して安定化した報告が増えつつあり, sSMC の 1~3%を占めると推定されます (Liehr et al., 2004; Marshall et al., 2008) . このようなセントロメアをネオセン

トロメア (neocentromere) と呼びます. 染色体の末端に近いところで切断し, 鏡像で折り返して重複した形 (inv dup) を取るものが大半で, リングもあります. 15q 遠位部, 3q 遠位部, 8p 遠位部, 13q 中間部, Yq 近位部が多く報告されています.

文献・オンライン資料

Liehr T, Claussen U, Starke H: Small supernumerary marker chromosomes (sSMC) in humans. *Cytogenet Genome Res.* 107:55-67, 2004.

Liehr T, Weise A: Frequency of small supernumerary marker chromosome in prenatal, newborn, developmentally retarded and infertility diagnostics. *Int J Mol Med.* 19:719-731, 2007.

Liehr T. 2021. Small supernumerary marker chromosomes. <http://cs-tl.de/DB/CA/sSMC/0-Start.html>

Graf MD, Christ L, Mascarello JT et al.: Redefining the risks of prenatally ascertained supernumerary marker chromosomes: a collaborative study. *J Med Genet.* 43:660-4, 2006.

Starke H, Nietzel A, Weise A et al.: Small supernumerary marker chromosomes (sSMC): genotype-phenotype correlation

- and classification. Hum Genet. 114: 51-67, 2003.
- Kurtas NE, Xumerle L, Leonardelli L et al. : Small supernumerary marker chromosomes: a legacy of trisomy rescue? Human Mutation. 40: 193-200, 2019.
- Jönch AE, Douard E, Moreau C et al. : Estimating the effect size of the 15Q11,2 BP1-BP2 deletion and its contribution to neurodevelopmental symptoms: recommendations for practice. J Med Genet. 56: 701-10, 2019.
- ClinGen Dosage Sensitivity Curation Page.
https://dosage.clinicalgenome.org/clinical_genome_region.cgi?id=ISCA-37448
- Kotzot D: Supernumerary marker chromosomes (SMC) and uniparental disomy (UPD): coincidence or consequence? J Med genet. 39: 775-8, 2002.
- Kotzot D: Prenatal testing for uniparental disomy: indications and clinical relevance. Ultrasound Obstst Gynecol. 31: 100-5, 2008.
- Liehr T, Cirkovic S, Guc-Scekic M, et al. : Complex supernumerary marker chromosomes - an update. Mol Cytogenet 6:46, 2013.
- Sheridan MB, Kato T, Heldman-Englert C et al. : A palindrome-mediated recurrent translocation with 3:1 meiotic nondisjunction: the t(8:22)(q24.13;q11.21). Am J Hum Genet. 87:209-218, 2010.
- Marshall OJ, Chueh AC, Wong LH, Choo KH. Neocentromeres: new insights into centromere structure, disease development, and karyotype evolution. Am J Hum Genet. 82: 261-82, 2008.
- 梶井 [2008.11.5 : 改訂]
WG [2017.2.1 : 改訂]
WG [2021.10.20 : 改訂]