

## 周産期委員会報告

### 非侵襲性出生前遺伝学的検査(Non-Invasive Prenatal genetic Testing: NIPT)の実施時の留意点

出生前検査には倫理・社会的な課題もあり、その実施にはさまざまな意見がある。特に母体血を用いる非侵襲性出生前遺伝学的検査(Non-Invasive Prenatal genetic Testing: NIPT)にはその非侵襲性と疾患の検出精度の高さからスクリーニング検査としてより慎重な対応が求められる。そこで、本邦では2013年からNIPTが臨床研究として開始され、適切な遺伝カウンセリングが提供できる施設に限定して検査が行われてきた。このNIPTで技術的に検出可能な対象は当初は21トリソミーだけであったが、18トリソミーと13トリソミーを加えた3種類の染色体トリソミーとなり、次第に性染色体異数性、特定の染色体微細欠失症候群、全染色体ゲノム領域の微細変化や一部の単一遺伝子疾患へと広がってきている。また、当初は染色体トリソミーのハイリスク妊婦が対象であったが、その後一般の妊婦や双胎妊娠などにも拡大している。

このような中で、本邦の今後の出生前検査の在り方について厚生労働省は厚生科学審議会科学技術部会内に「NIPT等の出生前検査に関する専門委員会」を設置して議論を行い、2021年5月にその結果を報告書にまとめた(1)。この報告書では、出生前検査の目的を「出生前検査は、胎児の状況を正確に把握し、将来の予測をたて、妊婦及びそのパートナーの家族形成の在り方等に係わる意思決定の支援を目的とする」と明記した。そのうえで、「妊婦等が、出生前検査がどのようなものであるかについて正しく理解した上で、これを受検するかどうか、受検するとした場合にどの検査を選択するのが適切かについて熟慮の上、判断ができるよう妊娠・出産・育児に関する包括的な支援の一環として、妊婦等に対し、出生前検査に関する情報提供を行うべきである」との新たな方向性を示した(1)。

この専門委員会報告書をもとに2021年11月に日本医学会に出生前検査認証制度等運営委員会が設置され、2022年2月には「NIPT等の出生前検査に関する情報提供及び施設(医療機関・検査分析機関)認証の指針」が発出され(2)、これをもとに本邦のNIPTを中心とした出生前検査の実施体制が整備されていくことになった。

本留意点は上記の専門委員会報告書と運営委員会の指針のもとで、今後、実際に出生前検査、特に、NIPTを行う際に留意すべき事項を整理したものであり、日本産科婦人科学会周産期委員会内の「周産期における遺伝に関する小委員会」で原案を作成し、周産期委員会、臨床倫理監理委員会における審議を経て、理事会の承認の下で公表する。

## 検査の実施施設

### 推奨

1. NIPTは出生前検査認証制度等運営委員会の認証を受けた施設で実施する。
2. NIPT実施施設は、「NIPT等の出生前検査に関する情報提供及び施設(医療機関・検査分析機関)認証の指針」を遵守する。

### 解説

出生前遺伝学的検査を行う際には、日本産科婦人科学会の「出生前に行われる遺伝学的検査および診断に関する見解」(3)、日本医学会出生前検査認証制度等運営委員会の「NIPT等の出生前検査に関する情報提供及び施設(医療機関・検査分析機関)認証の指針」(2)を遵守する。

検査実施施設では出生前検査についての遺伝カウンセリングを希望する妊婦や児の染色体疾患などに不安を持つ妊婦に対して専門外来を設置して遺伝カウンセリングを提供する。遺伝カウンセリングでは出生前検査について十分に理解して、自らの意思で判断して行動できるように支援やケアを実施する必要がある。また、妊婦が中立的な立場から、または、小児科医の立場からの情報提供を希望する場合には出生前コンサルト小児科医に紹介する必要がある、出生前コンサルト小児科医との連携体制を構築する。さらに、必要に応じて各地域行政の母子保健担当者とも連携してサポートできるような体制の構築も求められている。

## 検査対象(適応)

### 推奨

1. 3種の染色体トリソミーを対象とするNIPTを検討する妊婦に対しては、適切な遺伝カウンセリングを通じて、出生前検査に関する十分な情報提供を行う。十分な理解を得た上で、検査の希望があれば NIPT が選択肢として提示される。
2. 3種の染色体トリソミー以外を対象とする検査については分析的妥当性や臨床的妥当性が十分に確立されていないため、その医学的意義を評価する必要がある。同時に倫理的・社会的影響等についても考慮して慎重に対応する必要があり、まずは臨床研究としての実施が推奨される。

### 解説

#### 1. 3種の染色体トリソミーを対象疾患とする NIPT が提示される場合

NIPT を含む非確定的検査は、本来対象を限定せずに実施して高リスク妊婦を抽出する検査である。しかし、NIPT が国内に導入された 2013 年当時は、NIPT の有用性は 3 種の染色体トリソミーについての高リスク妊婦に限定したエビデンスしか存在しなかった(4-6)。そのため、本邦においても諸外国と同様にこの考え方に基づき、2013 年に日本産科婦人科学会によって公表された「母体血を用いた新しい出生前遺伝学的検査に関する指針」(7)によって、日本産科婦人科学会の「出生前に行われる遺伝学的検査および診断に関する見解」(3)の中にある「侵襲的な検査や新たな分子遺伝学的技術を用いた検査の実施要件」に準じ、検査対象は 3 種の染色体トリソミーについての高リスク妊婦<sup>\*</sup>に設定された。しかし、その後の諸外国における知見の蓄積によって現在では中・低リスク群を含めた一般集団に対してもその有用性が確認されている(8-10)。このことを受け、米国産科婦人科学会/母体胎児学会(ACOG/SMFM)は、2020 年に公表した Practice Bulletin において 3 種の染色体トリソミーを対象とした NIPT を母体年齢や背景リスクにかかわらず全ての妊婦に対して妊娠初期に提案することを推奨した(11)。わが国においても「NIPT 等の出生前検査に関する情報提供及び施設(医療機関・検査分析機関)認証の指針」(2)において、これまでも対象であった高リスク妊婦<sup>\*</sup>に加えて、対象疾患の発生頻度についての十分な情報提供を含む適切な遺伝カウンセリングを実施して十分に理解を得た上で、児の染色体トリソミーに対する不安が解消されず検査を希望する妊婦に対しても、NIPT が選択肢として提示されることとなった。

<sup>\*</sup>NIPT が受検の選択肢となる高リスク妊婦

1. 高年齢の妊婦
2. 母体血清マーカー検査で、胎児が染色体数的異常を有する可能性が示唆された妊婦
3. 染色体数的異常を有する児を妊娠した既往のある妊婦
4. 両親のいずれかが均衡型ロバートソン転座を有していて、胎児が 13 トリソミーまたは 21 トリソミーとなる可

能性が示唆される妊婦

5. 胎児超音波検査で、胎児が染色体数的異常を有する可能性が示唆された妊婦

## 2. トリソミー以外を対象とした NIPT の臨床研究に対する考え方

諸外国において NIPT の検査対象は拡大している。米国では 2015 年に 7Mb 以上のゲノム領域の量的変化を 95%以上の感度で検出するという Whole-genome NIPT が臨床応用された(12)。また、オランダでは 2017 年から国のプログラムとして 1st ラインの検査に Whole-genome NIPT を位置付けて検査が行われている(13)。また、NIPT の対象は微細欠失・重複だけではなく単一遺伝子にも向けられている。NIPT の黎明期には、母体血中に存在しない遺伝子のバリエーションを PCR ベースで検出することによる単一遺伝子疾患を対象とした研究が主流であったが、現在では次世代シーケンサーを使用することで対象遺伝子座における一塩基多型(SNP)などの利用で両アレルを区別して X 連鎖あるいは常染色体潜性(劣性)遺伝性疾患を検出することも可能となった(14)。既に諸外国においては複数の遺伝子について臨床検査としての解析サービスが始まっている(15-17)。このようにわが国で一般診療として実施されている 3 種の染色体トリソミー以外の特定の微細欠失・重複や Whole-genome 上での微細欠失・重複、および単一遺伝子疾患を対象とした検査など、検査対象は確実に広がっている。

しかし、これらの疾患をもつ児の出生頻度は 3 種の染色体トリソミーに比べて格段に低いことから実際の検査における陽性的中率は 3 種の染色体トリソミーに比較して相当低いことを考慮する必要がある。ACOG や SMFM は微細欠失・重複や単一遺伝子疾患を対象とする NIPT については、その精度について十分なデータによって検証されていないことからスクリーニングとしての実施は推奨しないとしている(11, 18)。また、検出される疾患は多様であり、表現型の推定が困難なことも多く、十分な情報に基づく自律的な意思決定は容易ではない。さらに、出生頻度が低い疾患であっても偽陽性は一定頻度で出現し、多くの疾患を対象とすることで検査全体での陽性率は上昇することになる。本検査の目的の一つは不必要な侵襲的検査を削減することにあるが、対象疾患を増やすことで偽陽性が増加し、結果的に侵襲的検査が増加することにもなりかねない。また、これら検査を実施する場合においては、異常所見が見つかった場合に確定検査する方法が確保されている必要があり、特に、単一遺伝子疾患において留意する必要がある。

一方、性染色体疾患や性別のように検査精度の問題よりもむしろ検査対象とすべきかどうかについて倫理的に問われる場合もある。また、オランダやベルギーにおいては Whole-genome NIPT を実施しているが、性染色体の検査結果は開示されていない。

わが国では、厚生科学審議会が発出した「NIPT 等の出生前検査に関する専門委員会報告書」に、「NIPT は、13トリソミー、18トリソミー、21トリソミーの 3 種類以外の疾患については、分析的妥当性や臨床的妥当性が現時点では十分に確立されていない。新たな検査法や検査対象疾患の拡大については、まずは臨床研究などの形で評価し、医学的意義のみならず倫理的・社会的影響等についても考慮して検討を行い、臨床応用にあたっては慎重な対応が必要である」と記載されており(1)、この報告書に基づいた対応が求められ、臨床応用の前に研究データの蓄積や社会的な議論が必要である。

上述のような問題点が指摘されているにも関わらず、わが国では、認証を受けていない施設において多種類の疾患を対象とする NIPT が実施されている現状があり、また、適切な遺伝カウンセリングが行われていない中で検査が行われているとすると極めて不適切である。国内においても上記のような問題点について科学的に検証したうえで個々の課題を解決していく必要がある。

## 産科医療機関における初期対応

### 推奨

1. 妊婦健診において妊婦から出生前検査や不安な気持ちについて相談された場合、遺伝カウンセリングマインドをもって非指示的に初期対応する。
2. NIPT を希望する場合やより専門的に相談が必要な場合、専門対応としての遺伝カウンセリングを実施する。自施設で対応できない場合には対応可能な施設に紹介する。

### 解説

通常の妊婦健診において、妊婦から出生前検査についての相談があった場合や不安な気持ちについて相談された場合、遺伝カウンセリングマインド<sup>※</sup>をもって初期対応することが求められる。この初期対応においては妊婦に指示的な意見を述べることを慎み、妊婦の不安について傾聴と共感の姿勢で対応することが良いとされており、多くの妊婦においてこの対応を通して不安の多くが解消されると考えられる。しかし、初期対応における出生前検査に関する医師の言葉がその後の妊婦の判断に大きく影響することが多いことも知られており、非指示的で適切な言葉の選択が求められる。

初期対応において NIPT を希望する場合やより専門的に相談が必要な場合には、専門対応として遺伝カウンセリングにつなぐ必要がある。自施設で対応できないときは、地域の遺伝カウンセリングや出生前検査に対応する医療機関(NIPT の認証医療機関を含む)につなぐ必要がある。前項に記載されているような出生前検査の受検が選択肢となるような状況の妊婦にとっても必ずしも受検が必要なわけではない一方、その状況にない妊婦であっても NIPT の受検を検討する場合もあり、妊婦の不安について傾聴する中で妊婦の希望を確認して、必要に応じて遺伝カウンセリングにつなぐことが重要である。

<sup>※</sup>妊婦の不安をくみ取りながらしっかりと受け止め、非指示的な態度で妊婦の自律的な決定プロセスに寄り添う姿勢

## NIPT についての情報提供（専門対応）

### 推奨

1. 検査前遺伝カウンセリングにおいて出生前検査の方法や検査により分かること、分からないことについての情報提供が必要であり、受検者が理解すべき情報には以下の内容が含まれる。
  - a. 遺伝子や染色体の変化に基づく疾患は、例外的なものではなく、人の多様性として理解され、尊重される必要のあること
  - b. 生まれてくる子どもは誰でも先天性疾患などによる障がいをもつ可能性があり、それは個性の一側面であり、本人が幸か不幸かということの間にはほとんど関連のないこと
  - c. 検査の対象となる染色体疾患(13 番、18 番、21 番の染色体の数的異常)に関する最新の情報(自然史を含む)
  - d. 検査の特徴、すなわち検査対象疾患が染色体疾患の中で上記の 3 種の染色体トリソミーのみに限られることや、確定のためには羊水検査などの確定的検査(侵襲的検査)が必要なこと
  - e. 検査の結果の解釈についての説明、すなわち陽性、陰性、判定保留のそれぞれの意味
  - f. 母体血での検査であるが、出生前検査であり、検査の内容を十分に理解するとともに、特に望まない

結果であった際のことを事前に十分に考えたうえで受検する必要があること

- g. 検査を受けても受けなくても妊婦とそのパートナーの選択は最大限尊重され、医療者や自治体の担当者による継続的な支援が行われること

## 2. 検査後の情報提供においては以下に留意する。

- a. 陰性、陽性、判定保留などの結果について伝え、その結果の解釈をわかりやすく説明すること
- b. 陰性の結果は、100%正しいわけではなく偽陰性が存在すること、および、対象となる疾患以外の先天性疾患を持つ児の生まれる可能性が否定できないこと
- c. 判定保留の結果の場合、その要因を考慮してその後の対応を考える必要のあること
- d. 陽性の結果は、確定的なものでなく、偽陽性が存在するために確定的検査によって確認する必要のあること
- e. 検査の結果を受けてその後どのような選択肢をとった場合においても妊婦とそのパートナーの選択は最大限尊重され、医療者や自治体の担当者による継続的な支援が行われること

## 解説

### 1. NIPT で検出される情報

現在、母体血漿中 cell-free DNA(cfDNA)を用いて胎児染色体異常の検査法は主に3つの方法があり、最も頻用されているのが Shotgun-massively parallel sequencing (s-MPS)法である。

s-MPS 法は、母体血中の cfDNA 断片(胎児由来の cfDNA と母体由来の cfDNA の両方)を MPS 法で網羅的に解析する方法である。次世代シーケンサーの遺伝子解析技術を用い、母体血漿中から多数の DNA 断片の塩基配列を読み込み、その結果をヒトゲノム情報と照合することで、1断片ずつその由来となる染色体を決めて、その断片数を染色体毎にカウントしていく。その DNA 断片は個別にそれが母由来か胎児由来かの区別はできないが、21トリソミーの場合、21番染色体由来の DNA 断片量の胎児由来成分は、理論的に胎児が正常核型の場合に比較して1.5倍に増加する。実際に母体血を分析した場合、母体血漿中の21番染色体由来の DNA 断片の割合は、胎児が正常核型の場合には1.3%であるところ、胎児が21トリソミーの場合には1.42%に増加することになる。このわずかな違いを利用して胎児のトリソミーを検出する(19)。18トリソミーや13トリソミーも同じ原理で検出される。

target-MPS 法は、21番、18番、13番染色体等の特定の領域を選択的に増幅し、その領域の DNA 断片の相対比率を、正常核型の胎児の場合と比較することによって胎児がその染色体を3本有するか2本有するかを検出する方法である(20)。

3つ目の方法は、Single-Nucleotide Polymorphism (SNP)を用いて検出する方法である。まず、母体血漿中 cfDNA をもとに21番、18番、13番、X、Y染色体を中心とする多くの SNP 配列を含む領域を Multiplex-PCR で増幅させた後、次世代シーケンサーで解析し、各 SNP の量的な変化をもとに児の染色体疾患を検出する(20)。それぞれの SNP を含む PCR 産物は、胎児がモノソミー、ダイソミー、もしくはトリソミーであるという仮説に基づき評価される。染色体上のどの位置に存在する SNP であるかということ、染色体の組み換えのある可能性を考慮した後に、正常核型、異数体(13番、18番、21番染色体の異数性)、三倍体、または片親ダイソミーの可能性について、ベイズの定理に基づいた最大尤度比として算出する。SNP 法は判定保留例が多いことが欠点であったが、解析する SNP の分析数を減らす改良を加えることで改善されてきた。すなわち、Uninformative な SNP を排除する事で、感度や特異度が上昇すると共に、判定不能を減少させ、現在ではより精度が高くなっている(21)。

これらの方法を用いた、21トリソミー、18トリソミー、13トリソミーの検査精度に関して、systematic review と meta-analysis の結果が報告されている(10)。21トリソミーは41報告、18トリソミーは37報告、13トリソミーは30報告を分析した結果、感度は、21トリソミーでは99.3%(95%CI 98.9% - 99.6%)、18トリソミーは97.4%(95.8% - 98.4%)、13トリソミーは97.4%(86.1% - 99.6%)であり、特異度はいずれも99.9%(99.9% - 100%)であった。しかしながら、検査精度が高いといってもNIPT陽性例には偽陽性があるので、確定診断に用いてはならない。日本でのデータも報告されており、参考となる(22-24)。検査会社は、これらの方法に改良を加えた方法で解析を行っている。通常1つの検査方法しか実行しないため、担当医師はこれらのどの方法を用いて検査が行われているのか確認する必要がある。

双胎妊娠の際もこの3種の染色体トリソミーに対するNIPTが使用できる。日本でも小規模な臨床研究の結果が報告されている(25)。三胎以上のNIPTに関してはデータが乏しく、国際的な学会のposition statementにおいても推奨はされていない(26)。

## 2. 検査前の情報提供

検査前には、推奨に記載の内容について妊婦に理解をえるように情報提供する必要がある。NIPTは妊婦の希望に基づいて行う検査であり、検査の目的、方法、対象となる疾患の情報を伝えることはもちろんのこと、検査の精度(感度、特異度、偽陰性、偽陽性、陽性的中率、陰性的中率、患者がもつ固有の対象染色体疾患を持つ可能性など)、検査の限界、偶発的所見が見つかる可能性について説明する。さらに、もし陽性の結果が出た場合の対応についても予め考えておくことが重要である。NIPTの検査前に確定的検査である絨毛検査や羊水検査についても、その方法やどういった事がわかるのか、検査による流産率などを説明する。特に、NIPTを受けるかどうかの判断をする場合には、検査の感度と陽性的中率の違いについて説明する。NIPTで陽性となっても、胎児が実際に当該染色体疾患である可能性は、感度とは異なり99%以上ではないことも説明する必要がある。その他に、NIPTの検査結果に影響を与える要因として、胎盤限局性モザイク(confined placental mosaicism: CPM)、胎児モザイク、Vanishing twin、母体の染色体疾患や腫瘍性疾患、薬剤投与(ヘパリン投与など)、自己免疫疾患などの母体合併症、母体の高度肥満などがあり、これらの可能性についても配慮が必要である。

胎児超音波検査において一つ以上の形態異常のある場合には、ACOGでは非確定的検査ではなく、羊水細胞をもちいたマイクロアレイ検査を推奨している(27)。NIPTにおいて胎児形態異常がある場合には陽性率が高いことが知られており、そのことも情報共有する必要がある。

双胎妊娠においても検査が可能であり、ACOGにおいてもレベルBながら有用性を評価している(11)。レベルAで推奨されていない要因として、双胎妊娠での18トリソミーや13トリソミーの検査報告が限定的であることがある。また、検査において判定保留となる確率が若干上昇するとともに、単胎妊娠に比べて検査の感度、特異度がわずかに低下する(28)。また、2絨毛膜2羊膜性双胎で検査結果が陽性の場合、どちらの児が染色体疾患であるか、NIPTだけでは判別し得ないこと(両児ともに染色体疾患の可能性、一方の児のみ染色体疾患の可能性)、また、検査の結果から1児が染色体疾患であることが判明した場合に、その児のみを選択的に妊娠中断することの困難さについても検査前に説明が必要である。双胎妊娠で検査結果が陽性の場合、2絨毛膜性2羊膜性(DD)双胎では2卵性双胎のことが多く、確認検査では2児双方の羊水検査が推奨される一方、1絨毛膜性2羊膜性(MD)双胎の場合には、1児のみの検査が選択されることもある。しかし、MD双胎でも5-10%は遺伝学的に2卵性であるとの報告もあり(29, 30)、確認のための確定的検査の実施にあたっては、その点の再検討も必要である。

NIPT 受検前後での心理的なケアを含めた丁寧な遺伝カウンセリングが妊婦の自立的な意思決定にとって重要である。このステップを欠くことは、その後の妊娠生活、中絶後の心理的な負担、および検査を行ったこと自体に対しての否定的な感情にもつながる可能性が報告されている(31, 32)。

### 3. 検査後の情報提供

NIPT で陰性や胎児染色体疾患の可能性は高くないという結果が得られた場合、当該染色体疾患の可能性は非常に低いことを意味する(陰性的中率は 99.9%以上)。しかし、この検査で得られた結果は当該染色体疾患でない可能性が高いことを示しているにすぎず、わずかながら偽陰性の可能性があり、さらに、他の原因による先天性疾患の可能性を評価するものではないことを伝える必要がある。

NIPT で判定保留(0.3-3%程度)となった場合、再検査を考慮するが、その原因によっては再検査を行っても再度、判定保留となる場合がある。判定保留となる最も多い原因は、胎児分画(胎児/胎盤由来)の cfDNA の割合(胎児ゲノム率:Fetal Fraction)が低い場合である。胎児分画の cfDNA は、妊娠 5 週以降から検出されるようになり、ほとんどの場合に妊娠 9 週までに母体血で同定できる(33)。胎児ゲノム率は、妊娠 10 週から 20 週ころには緩やかに(週に 0.1 パーセント)増加し、その後、分娩の時期まで急速に(週に 1 パーセント)増加する(34)。胎児ゲノム率が低い原因としては、検査週数が適切でない場合、適切でないサンプル収集、母体の肥満、胎児に染色体疾患がある場合などがある。他にもヘパリンの投与中に採血を行った場合には DNA 断片化の影響で判定保留となる場合がある(35)。また、母体腫瘍性疾患によって複数の染色体異数性が同定されることで判定保留となることもある。判定保留の結果が出た場合には、その原因に応じてその後の対応を判断する必要がある。

NIPT が陽性の場合、それぞれの染色体疾患に対する陽性的中率は 100%でないので、その結果を確認するためには確定的検査(侵襲的検査)が必要であり、双胎妊娠でも同様である。ただし、妊娠継続を決めている場合、確定的検査を行わない選択肢もある。

偽陽性が発生する理由として CPM がある。CPM は妊娠初期の絨毛検査では 1-2%存在する可能性がある(36)。したがって、NIPT後の確定的検査においては胎児の染色体を反映する羊水検査が第一選択になるが、妊娠週数によっては絨毛検査が選択されることもある。確定的検査を行う場合には、検査において判明することや合併症などについて改めて情報提供する必要がある。この他に偽陽性が発生する理由として、vanishing twin、母体の微細欠失・重複を含む染色体疾患やモザイクの場合等がある(37)。

このように、NIPT の結果と羊水検査などや出生後の確定的検査の結果が一致しないことで偽陽性または偽陰性と判定されることがある。本来、胎児と胎盤は単一の受精卵に由来するため、遺伝的に同一であるが、CPMなどで起こる胎盤と胎児の違いは、時に NIPT の結果と実際の胎児の核型との不一致の主な原因となる。NIPT の結果は検査分析的には正しい(例、胎盤の遺伝型を正しく評価している)が、臨床的には正しくない(例、検出された結果が必ずしも胎児の情報と一致していない)ことがあると認識することが重要である。この臨床的感度/特異性は、分析的感度/特異性よりも重要であり、実際に臨床成績として報告されているものは「臨床的感度/特異度」である(38)。このように NIPT は、その検査結果が陽性もしくは陰性であっても確定的な診断にはならないことは丁寧に説明し、理解を得る必要がある。

さらに NIPT の結果、目的とした染色体異常以外の染色体異常や母体の腫瘍性疾患など、本来の検査目的ではない偶発的所見あるいは二次的所見が発見されることがある。これらは当初の検査目的ではなく、医療者

にとっても予期しない結果といえる。これらの結果をどう伝えるかは今後の検討課題であるが、検査前にこれらの可能性について説明すべき事項でもある。

## 参考文献

1. 厚生科学審議会科学技術部会. NIPT などの出生前検査に関する専門委員会報告書 2021 <https://www.mhlw.go.jp/content/000783387.pdf>.
2. 出生前検査認証制度等運営委員会. NIPT 等の出生前検査に関する情報提供及び施設（医療機関・検査分析機関）認証の指針 2022 [https://jams.med.or.jp/news/061\\_2\\_2.pdf](https://jams.med.or.jp/news/061_2_2.pdf).
3. 日本産科婦人科学会. 出生前に行われる遺伝学的検査および診断に関する見解 [http://www.jsog.or.jp/modules/statement/index.php?content\\_id=332013](http://www.jsog.or.jp/modules/statement/index.php?content_id=332013)
4. American College of O, Gynecologists Committee on G. Committee Opinion No. 545: Noninvasive prenatal testing for fetal aneuploidy. *Obstet Gynecol.* 2012;120(6):1532-4.
5. Benn P, Borell A, Chiu R, Cuckle H, Dugoff L, Faas B, et al. Position statement from the Aneuploidy Screening Committee on behalf of the Board of the International Society for Prenatal Diagnosis. *Prenat Diagn.* 2013;33(7):622-9.
6. Benn P, Borrell A, Cuckle H, Dugoff L, Gross S, Johnson JA, et al. Prenatal Detection of Down Syndrome using Massively Parallel Sequencing (MPS): a rapid response statement from a committee on behalf of the Board of the International Society for Prenatal Diagnosis, 24 October 2011. *Prenat Diagn.* 2012;32(1):1-2.
7. 日本産科婦人科学会. 母体血を用いた新しい出生前遺伝学的検査に関する指針 2013 [http://www.jsog.or.jp/news/pdf/NIPT\\_shishin.pdf](http://www.jsog.or.jp/news/pdf/NIPT_shishin.pdf).
8. Fairbrother G, Johnson S, Musci TJ, Song K. Clinical experience of noninvasive prenatal testing with cell-free DNA for fetal trisomies 21, 18, and 13, in a general screening population. *Prenat Diagn.* 2013;33(6):580-3.
9. Petersen AK, Cheung SW, Smith JL, Bi W, Ward PA, Peacock S, et al. Positive predictive value estimates for cell-free noninvasive prenatal screening from data of a large referral genetic diagnostic laboratory. *Am J Obstet Gynecol.* 2017;217(6):691 e1- e6.
10. Taylor-Phillips S, Freeman K, Geppert J, Agbebiyi A, Uthman OA, Madan J, et al. Accuracy of non-invasive prenatal testing using cell-free DNA for detection of Down, Edwards and Patau syndromes: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open.* 2016;6(1):e010002.
11. ACOG Practice Bulletin. Screening for Fetal Chromosomal Abnormalities: ACOG Practice Bulletin Number 226. *Obstet Gynecol.* 2020;136(4):e48-e69.
12. Rafalko J, Soster E, Caldwell S, Almasri E, Westover T, Weinblatt V, et al. Genome-wide cell-free DNA screening: a focus on copy-number variants. *Genetics in Medicine* 2021 Oct;23(10):1847-1853.
13. van der Meij KRM, de Groot-van Mooren M, Carbo EWS, Pieters MJ, Rodenburg W, Siermans EA, et al. Uptake of fetal aneuploidy screening after the introduction of the non-invasive prenatal test: A national population-based register study. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2021;100(7):1265-72.
14. Skrzypek H, Hui L. Noninvasive prenatal testing for fetal aneuploidy and single gene disorders. *Best Pract*



Res Clin Obstet Gynaecol. 2017;42:26-38.

15. GeneSafe. The evolution of non invasive prenatal screening. [https://www.genesafe.it/Default\\_ENG.aspx](https://www.genesafe.it/Default_ENG.aspx).
16. Genetics B. Introducing PreSeek, the first clinical noninvasive prenatal multigene sequencing screen. <https://www.baylorgenetics.com/preseek/>
17. Natera I. Announces Launch of Vistara Single-Gene Mutation NIPT 2017 <https://www.natera.com/company/news/natera-inc-announces-launch-of-vistara-single-gene-mutation-nipt/>.
18. ACOG Practice Advisory. Cell-free DNA to Screen for Single-Gene Disorders 2019 <https://www.acog.org/clinical/clinical-guidance/practice-advisory/articles/2019/02/cell-free-dna-to-screen-for-single-gene-disorders>.
19. Chiu RW, Chan KC, Gao Y, Lau VY, Zheng W, Leung TY, et al. Noninvasive prenatal diagnosis of fetal chromosomal aneuploidy by massively parallel genomic sequencing of DNA in maternal plasma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(51):20458-63.
20. Norton ME, Brar H, Weiss J, Karimi A, Laurent LC, Caughey AB, et al. Non-Invasive Chromosomal Evaluation (NICE) Study: results of a multicenter prospective cohort study for detection of fetal trisomy 21 and trisomy 18. *Am J Obstet Gynecol*. 2012;207(2):137 e1-8.
21. Ryan A, Hunkapiller N, Banjevic M, Vankayalapati N, Fong N, Jinnett KN, et al. Validation of an Enhanced Version of a Single-Nucleotide Polymorphism-Based Noninvasive Prenatal Test for Detection of Fetal Aneuploidies. *Fetal Diagn Ther*. 2016;40(3):219-23.
22. Sago H, Sekizawa A. Nationwide demonstration project of next-generation sequencing of cell-free DNA in maternal plasma in Japan: 1-year experience. *Prenat Diagn*. 2015;35(4):331-6.
23. Samura O, Sekizawa A, Suzumori N, Sasaki A, Wada S, Hamanoue H, et al. Current status of non-invasive prenatal testing in Japan. *J Obstet Gynaecol Res*. 2017;43(8):1245-55.
24. Sasaki Y, Yamada T, Tanaka S, Sekizawa A, Hirose T, Suzumori N, et al. Evaluation of the clinical performance of noninvasive prenatal testing at a Japanese laboratory. *J Obstet Gynaecol Res*. 2021;47(10):3437-46.
25. Takeda E, Suzumori N, Kumagai K, Inuzuka S, Oseto K, Ohigashi Y, et al. Performance and outcomes of noninvasive prenatal testing for twin pregnancies in Japan. *J Obstet Gynaecol Res*. 2018;44(10):1909-14.
26. Palomaki GE, Chiu R, Pertile MD, Sistierra EA, Yaron Y, Vermeesch JR, et al. International Society for Prenatal Diagnosis Position Statement: cell free (cf)DNA screening for Down syndrome in multiple pregnancies. *Prenat Diagn*. 2021;41(10):1222-32.
27. ACOG Committee Opinion. Committee Opinion No.682: Microarrays and Next-Generation Sequencing Technology: The Use of Advanced Genetic Diagnostic Tools in Obstetrics and Gynecology. *Obstet Gynecol*. 2016;128(6):e262-e8.
28. Galeva S, Gil MM, Konstantinidou L, Akolekar R, Nicolaides KH. First-trimester screening for trisomies by cfDNA testing of maternal blood in singleton and twin pregnancies: factors affecting test failure. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2019;53(6):804-9.
29. Wojas A, Martin KA, Koyen Malashevich A, Hashimoto K, Parmar S, White R, et al. Clinician-reported

Chorionicity and Zygosity Assignment using single-nucleotide polymorphism-based cell-free DNA Lessons learned from 55,344 Twin Pregnancies. *Prenat Diagn.* 2022.

30. Dziennik A, Preis K, Swiatkowska-Freund M, Rebala K. Potential of DNA zygosity tests for non-invasive evaluation of risk of complications in twin pregnancies. *Ginekol Pol.* 2021.
31. Hirose T, Shirato N, Izumi M, Miyagami K, Sekizawa A. Postpartum questionnaire survey of women who tested negative in a non-invasive prenatal testing: examining negative emotions towards the test. *J Hum Genet.* 2021;66(6):579-84.
32. Yotsumoto J, Sekizawa A, Suzumori N, Yamada T, Samura O, Nishiyama M, et al. A survey on awareness of genetic counseling for non-invasive prenatal testing: the first year experience in Japan. *J Hum Genet.* 2016;61(12):995-1001.
33. Guibert J, Benachi A, Grebille AG, Ernault P, Zorn JR, Costa JM. Kinetics of SRY gene appearance in maternal serum: detection by real time PCR in early pregnancy after assisted reproductive technique. *Hum Reprod.* 2003;18(8):1733-6.
34. Wang E, Batey A, Struble C, Musci T, Song K, Oliphant A. Gestational age and maternal weight effects on fetal cell-free DNA in maternal plasma. *Prenat Diagn.* 2013;33(7):662-6.
35. Nakamura N, Sasaki A, Mikami M, Nishiyama M, Akaishi R, Wada S, et al. Nonreportable rates and cell-free DNA profiles in noninvasive prenatal testing among women with heparin treatment. *Prenat Diagn.* 2020;40(7):838-45.
36. Grati FR, Bajaj K, Malvestiti F, Agrati C, Grimi B, Malvestiti B, et al. The type of feto-placental aneuploidy detected by cfDNA testing may influence the choice of confirmatory diagnostic procedure. *Prenat Diagn.* 2015;35(10):994-8.
37. Samura O, Okamoto A. Causes of aberrant non-invasive prenatal testing for aneuploidy: A systematic review. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2020;59(1):16-20.
38. Palomaki GE, Kloza EM, O'Brien BM, Eklund EE, Lambert-Messerlian GM. The clinical utility of DNA-based screening for fetal aneuploidy by primary obstetrical care providers in the general pregnancy population. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics.* 2017;19(7):778-86.