

- Human Genetics. p229, 2013.
3. Kazuaki Ohashi, Kiyonori Miura, Shuhei Abe, Akira Kinoshita, Shoko Miura, Daisuke Hamaguchi, Koh-ichiro Yoshiura and Hideaki Masuzaki: Initial viral load in cases of single human papillomavirus 16 or 52 persistent infection is associated with progression of later cytopathological findings in the uterine cervix. Proceeding of The 63th Annual meeting of American Society of Human Genetics. p252, 2013.
 4. 三浦清徳、築山尚史、森内浩幸、増崎英明：長崎県における出生年代別にみた妊婦 HTLV-1 キャリアの比較検討. 第 49 回日本周産期新生児医学会
 5. 三浦清徳、築山尚史、猪口直子、佐々木大介、上平 憲、柳原克紀、森内浩幸、吉浦孝一郎、増崎英明：HTLV-1 キャリア妊婦から出生した児における臍帯血中の HTLV-1 抗体価およびプロウイルス量に関する検討
第 6 回 HTLV-1 研究会・シンポジウム
 6. 築山尚史、三浦清徳、増崎英明：HTLV-1 キャリア妊婦から出生した児における臍帯血中の HTLV-1 抗体価およびプロウイルス量に関する検討. 第 36 回母体胎児医学会
 7. 築山尚史、三浦清徳、佐々木大介、猪口直子、土井裕子、長谷川寛雄、柳原克紀、上平憲、森内浩幸、吉浦孝一郎、増崎英明：妊婦 HTLV-1 スクリーニングシステムにおけるリアルタイム PCR 検査の有用性に関する検討. 第 65 回日本産婦人科学会学術講演会
 8. 築山尚史、三浦清徳、増崎英明：妊婦 HTLV-1 スクリーニングシステムにおけるリアルタイム PCR 検査の有用性に関する検討. 第 70 回九州連合産科婦人科学会
 9. 築山尚史、三浦清徳、森内浩幸、増崎英明：HTLV-1 キャリアの妊婦における倫理的問題点とその対応. 第 49 回日本周産期新生児医学会
 10. 淵直樹、築山尚史、吉田敦、三浦清徳、増崎英明：妊娠と分娩後における HTLV-1 プロウイルス量の推移に関する検討. 第 6 回 HTLV-1 研究会・シンポジウム
3. 研究報告
1. 増崎英明、吉浦孝一郎、三浦清徳、三浦生子 他：25 年間継続した妊婦の HTLV-I 抗体検査から得られた母子感染予防効果の検証および高精度スクリーニングシステム開発 (H23-新興一般-026) 平成 24 年度厚生労働科学研究費補助金 (新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業) 総括・分担研究報告書 P1-120, 2013
- H. 知的財産権の出願・登録状況**
なし

静岡県西部地区における過去15年間におけるサイトメガロウイルス抗体保有率の推移

研究分担者 金山尚裕 浜松医科大学産婦人科 教授

研究協力者 山下美和 浜松医療センター産婦人科 科長

研究要旨

わが国では妊婦 CMV 抗体保有率の低下が報告されており、先天性 CMV 感染症の増加が懸念されている。われわれは静岡県西部地区の産婦人科医会の協力を得て妊婦 CMV 抗体保有率の調査を 1996 年より開始した（1-2）。1996 年 6 月より 2011 年 12 月までに検査を受けた妊婦 20,508 人の CMV 抗体保有率について報告する。

研究方法：妊娠初期（20 週頃）までに同意を得られた妊婦に対して CMV IgG 抗体を EIA 法で検査した。1998 年 3 月まではベーリング社製、以降はデンカ生研製のキットを用いた。

研究結果：札幌医科大学の鎌田らの報告によると 1986 年にはわが国の CMV 抗体保有率は 98%と報告されていた。しかし今回の結果では 1996 年から 1999 年までは 77.4%、2000 年から 2002 年までは 72.8%、2003 年から 2005 年までは 69.6%、2006 年から 2008 年は 70.7%、2009 年から 2011 年までは 66.7%であり、妊婦 CMV 抗体保有率は明らかに低下していた（図 1）。

上記 20,508 人中 IgG 抗体陰性で妊娠後期に再検したのは 1443 人であった（注：妊娠初期 IgG 抗体陰性例は約 6200 例あるが、妊娠後期に採血できたのは 1443 例）。そのうち妊娠中に IgG が陽転化した人は 28 人いた。28 人のうち新生

児尿の CMVPCR が検査できたのは 23 例で PCR 陽性者は 5 人であった。

まとめると妊婦 CMV 抗体保有率は年とともに低下していることが多数例の検討から明らかになった。妊娠中に CMV に初感染した妊婦は妊娠初期に CMV IgG 抗体陰性妊婦のうち 1.9% (28 人) でであった。そのうち 23 例に新生児尿の PCR が行われ、0.3% (5 例) に感染が認められた。

考察：近年 CMV の抗体保有率が低下していることが静岡県西部地区で明らかになった。3 割以上の妊婦が妊娠中に初感染する可能性があることが示された。妊娠初期に CMV 抗体がない妊婦のうち妊娠中に CMV 感染したと思われる女性は約 2%であった。胎児感染が起こったと考えられる症例は 0.3%であったので、妊婦が初感染した場合その約 3 分の 1 に胎児感染が成立することが推測される。胎児感染を診断するのに IgG avidity 検査は有用であることが示されており、IgG 陽転化例には

avidity 検査を静岡県西部地域のサイトメガロウイルス対策事業に組み入れていく予定である。

杉村 基, 金山 尚裕, 峰松 俊夫,
楠元 和美, 金子 政時, 池ノ上 克
日本周産期・新生児医学会雑誌 42
巻 785-788, 2006

参考文献

- 1) サイトメガロウイルス (CMV) と周産期
先天性サイトメガロウイルス感染症と
IgG Avidity 山下 美和, 前田 真,

- 2) サイトメガロウイルス 山下 美和,
金山 尚裕 産科と婦人科 71 巻 Suppl.
77-81, 2004.

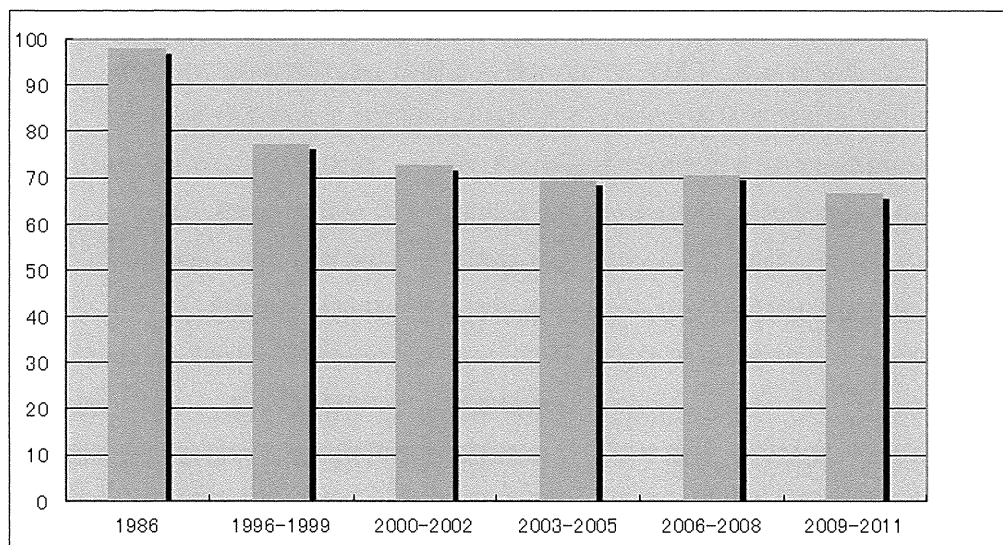


図 1 : 妊婦抗体保有率の推移 (1986 年は札幌医大鎌田らの参考値)

厚生労働科学研究費補助金 (成育疾患克服等次世代成育基盤研究事業)

分担研究報告書

サイトメガロウイルス、トキソプラズマの母子感染スクリーニングのための Avidity 検査導入を
目指した周産期施設における検査体制の確立とデータ保存 に関する研究

研究分担者 川名 敬 東京大学医学部附属病院・女性診療科 准教授

研究要旨

妊婦健診におけるサイトメガロウイルス(CMV)およびトキソプラズマ(TOX)の母児感染スクリーニング検査の導入と、そのために必要なデータ保存体制の確立を目的として分担研究を開始した。すでに体外診断の承認を受けている血清 IgG、IgM 測定キットによる母体血清中の値をもとにこれまで約 300 例に対してスクリーニングを行った。CMV について妊娠女性の IgG 陽性率は 76%であった。血清 IgM の陽性者が 5%存在したが Avidity 検査による感染時期の推定では妊娠中の感染は全例で否定的であった。そのため、臨床的対応が必要となる真の妊娠中の感染者の検出は従来の IgM を基準にする方法では困難であることが明らかとなった。TOX については IgM 陽性者は 0.3%で感染疑い例が少なく、症例を蓄積した上でのスクリーニング法の有効性の評価が必要である。

A.研究目的

サイトメガロウイルス (CMV)、トキソプラズマ (TOX) による胎内感染は胎児、出生児に重篤な全身的な臓器障害を起こす周産期医療において克服すべき重要な母子感染症である。CMV に関する新生児スクリーニング検査では約 300 人に 1 人という高い確率で先天感染が生じていることが明らかとなった。また、近年の母体の CMV 抗体保有率の低下が指摘されており、今後妊娠中の母体感染の危険性が上昇する可能性が指摘されている。TOX に関しては CMV よりも胎内感染の発生率は低いと考えられているが我が国における大規模な調査はなくその実態は不明である。

従来、妊娠中の感染の診断において CMV、TOX に対する血清学的 IgG、IgM 検査が行われてきたが、persistent IgM、偽陽性など臨

床診断の上での問題がある。一方で Avidity の測定は感染時期の推定の評価に有効性が高いことが報告されており日常臨床への導入が強く望まれているが、現在のところ未承認である。また、我が国の妊婦健診体制に CMV、TOX のスクリーニング検査を導入する場合の方法、検査時期についての根拠となるデータが乏しい。さらに先天性感染児に対する治療体制は確立されていない。

本研究ではこうした問題を解決すべく開始された“母児感染の実態把握および検査・治療に関する研究”の下で、妊婦健診におけるスクリーニング検査の導入、そのために必要なデータ保存体制の確立を目的として分担研究を行った。

B.研究方法

施設研究倫理委員会の承認の下で以下の研究を行った。東京大学医学部附属病院 女性診療科・産科の妊婦健診外来に受診する妊婦を対象に CMV、TOX のスクリーニング検査を 2014 年 10 月より開始した。スクリーニングの方法としては妊娠 12 週前後の採血により血清中の IgG、IgM の測定を全例に施行した。測定法は検査会社 SRL に依頼した上で検査キットは CMV はデンカ生研株式会社のウイルス抗体 E I A「生研」サイトメガロ IgM、IgG を使用し、TOX はバイオ・ラッドラボラトリーズ株式会社のプラテリアトキソ IgG、IgM を使用して行われた。CMV、TOX のそれぞれの結果で IgG 陰性 IgM 陰性を未感染群、IgG 陽性 IgM 陰性を既往感染群、その他の IgM 陽性例を感染疑い群として以下の対応を行った。また、母児感染研究の対象症例として血清保存、Avidity 測定などの追加的検査を行う妊婦に対しては書面による研究の同意説明を行った。

①CMV 初期スクリーニングの結果への対応

A 未感染群：

その後の妊娠中に感染が疑われた場合に感染時期を推定を目的とした Avidity 検査のため妊娠中期(20 週前後)、中後期(28 週前後)、後期(35 週前後)の時期に 10ml の採血を行い血清を保存した。後期の採血に際しては CMV の IgG、IgM の測定を再度行い IgG の陽性化した症例を妊娠期間中の母体感染と判断した。感染の可能性が高い妊婦については妊娠中の胎児超音波検査による精査を行い、出生後の児に対して東京大学医学部附属病院小児科にて先天性感染の評価、治療の必要性について診療を行う予定とした。

また、妊娠中の感染予防についての情報提供のためのパンフレットを配布した。

B 既往感染群：

妊婦に妊娠中の感染のリスクは極めて低いことを説明した。希望者には情報提供のパンフレットを配布した。

C 感染疑い群：

初回の IgG、IgM 採血後 2 週間以上経った時点で再度 CMV IgG、IgM の検査を提出して抗体価の変化を確認した。また、その際に同時に母体血清を愛染会日南病院 疾病制御研究所に送付し Avidity 測定を行った。抗体価の変化、Avidity の結果より感染の有無、感染時期に関する評価を行った。

②TOX 初期スクリーニングの結果への対応

A 未感染群：

妊娠中の感染予防についての情報提供のためのパンフレットを配布した。

B 既往感染群：

妊婦に妊娠中の感染のリスクは極めて低いことを説明した。希望者には情報提供のパンフレットを配布した。

C 感染疑い群：

初回の IgG、IgM 採血後 2 週間以上経った時点で再度 CMV IgG、IgM の検査を提出して抗体価の変化を確認した。また、その際に同時に母体血清を福島県立医科大学生微生物学教室に送付して Avidity 測定を行った。抗体価の変化、Avidity の結果より感染の有無、感染時期に関する評価を行った。感染の可能性が高いと判断した妊婦に対しては、胎児超音波による精査を行い、また薬物療法による胎内治療の選択肢を提示した。

C.研究結果

2013年10月より2014年2月末までの時点で、約300例の妊婦にスクリーニングとしてCMV、TOXのIgG、IgMの血清学的検査を施行した。

①CMVについて

2月末までの段階で、IgG陰性者71名(23.7%)、IgM陽性者15名(5%)であり、未感染群約24%、既往感染群約71%、感染疑い群5%となった。IgM陽性の感染疑い例についてはAvidityを測定して全例が40%以上の値であり、またそれらのAvidityが高い症例群では初回の検査から2週以降に再度抗体価を検査した値について初回の検査値との変化はIgG、IgM値のいずれも2倍以内であった。本研究を開始後に初回のCMVスクリーニングを施行した妊婦の大部分が妊娠継続中であり、後期採血でIgG抗体が陽転化した症例は現在のところ認めていない。

②TOXについて

2月末までの段階で、感染疑い群であるIgM陽性者は1名(0.3%)確認された。その妊婦の血清のAvidity測定依頼を行い結果は未着である。

D.考察

CMV、TOXのIgG、IgM抗体測定によるスクリーニングを妊婦健診に導入して現在まで妊婦への検査内容や結果の説明に関して診療上大きな混乱を生じることなく実施できている。パンフレットを作成してそれに基づく説明を行っていることが妊婦への理解を促進していると考えられる。

妊娠女性のCMV IgG抗体保有率は東京大学医学部附属病院において約76%であり先行研究で指摘されている近年の抗体保有率低下を裏付ける結果となった。CMVのIgM抗体検査では陽性が5%~15例に確認されたが、それらの症例のAvidity検査の結果では胎児への影響が懸念される妊娠中の感染と推定された症例は現在のところ認めていない。このことから血清中IgM値による感染例の検出は偽陽性が多くなると考えられる。このことはCMVスクリーニングについては血清IgG、IgMによる方法には問題があり、Avidity検査など新たな検査法の導入の必要性が高いと考えられる。現時点では初期にスクリーニングを行った妊婦の多くが分娩に至っておらず、妊娠中のIgG陽転化する症例の頻度やそうした症例についてAvidity測定の有効性については研究の継続が必要である。

TOXについては、これまでのところ感染が疑われるIgM陽性例は1例(0.3%)であり、研究を継続して症例を蓄積した上で評価が必要である。

E.結論

妊娠女性に対するCMV、TOXのスクリーニングを開始した。CMV抗体保有率は76%であった。血清CMV IgM測定のみでは臨床的対応が必要となる真の妊娠中の感染者の検出は困難であることが明らかとなった。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Taguchi A, Kawana K, Tomio K, Yamashita A, Isobe Y, Nagasaka K, Adachi K, Matsumoto Y, Arimoto T, Koga K, Wada-Hiraike O, Oda K, Kang JX, Arai H, Arita M, Osuga Y, Fujii T, Matrix metalloproteinase

- (MMP)-9 in the cancer-associated fibroblasts (CAFs) is suppressed by omega-3 polyunsaturated fatty acid in vitro and in vivo, *PLOS One*, in press, 2014
- 2) Taguchi A, Wada-Hiraike O, Kawana K, Koga K, Yamashita A, Shirane A, Urata Y, Kozuma S, Osuga Y, Fujii T, Activation of SIRT1 by resveratrol suppresses inflammatory responses in endometriosis, *J Obstet and Gynecol Res*, E-pub, 2013
 - 3) Yamashita A, Kawana K, Tomio K, Taguchi A, Isobe Y, Iwamoto R, Masuda K, Furuya H, Nagamatsu T, Nagasaka K, Arimoto T, Oda K, Wada-Hiraike O, Yamashita T, Taketani Y, Kang JX, Kozuma S, Arai H, Arita M, Osuga Y, Fujii T, Increased tissue levels of omega-3 polyunsaturated fatty acids prevents pathological preterm birth, *Sci Rep*, E-pub, 2013
 - 4) Tomio K, Kawana K, Taguchi A, Isobe Y, Iwamoto R, Yamashita A, Kojima S, Mori M, Nagamatsu T, Oda K, Osuga Y, Taketani Y, Kang JX, Arai H, Arita M, Kozuma S, Fujii T, Peritoneal endometriosis is suppressed by endogenous and exogenous omega-3 polyunsaturated fatty acids, *PLOS One*, 10;8(9):e73085, 2013
 - 5) Ichinose M, Fujimoto A, Osuga Y, Minaguchi T, Kawana K, Yano T, Kozuma S, The Influence of Infertility Treatment on the Prognosis of Endometrial Cancer and Atypical Complex Endometrial Hyperplasia, *Int J Gynecol Cancer*, 23: 288-293, 2013
 - 6) Kojima S, Kawana K, Tomio K, Yamashita A, Taguchi A, Nagamatsu T, Nagasaka K, Matsumoto Y, Arimoto T, Oda K, Wada-Hiraike O, Yano T, Taketani Y, Fujii T, Schust DJ, Kozuma S, The prevalence of cervical regulatory T cells in HPV-related cervical intraepithelial neoplasia (CIN) correlates inversely with spontaneous regression of CIN, *Am J Reprod Immunol*, 69: 134-141, 2013
 - 7) Sayama S, Nagamatsu T, Schust DJ, Itaoka N, Ichikawa M, Kawana K, Yamashita T, Kozuma S, Fujii T. Human decidual macrophages suppress IFN- γ production by T cells through costimulatory B7-H1:PD-1 signaling in early pregnancy. *J Reprod Immunol*, 100: 109-117, 2013
2. 学会発表
- 1) Kawana K, Immunotherapy for cervical neoplasia through HPV E7-specific mucosal immunity, The 51th Annual meeting of Japanese Society of Clinical Oncology (JSCO2013), Kyoto, 2013. 10. 25
 - 2) Kawana K, A novel approach: Immunotherapy for cervical intraepithelial neoplastic (CIN) lesions through HPV E7-specific mucosal immunity, The 12th Awaji International Forum on Infection and Immunity, 2013.9.11
 - 3) 川名 敬, HPV 感染症を見直すー基礎から臨床までー、日本性感染症学会教育講演、11月、岐阜
 - 4) 井上知子、川名 敬、田口歩、大須賀穰、藤井知行、CIN治療を目的としたE7発現型乳酸菌HPV経口ワクチンによるE7特異的粘膜免疫誘導能は合成セラミド α -GalCerと漢方薬併用経口投与により増強する。日本産科婦人科学会第65回学術講演会 2013年5月
- H. 知的財産権の出願・登録状況
特になし

CMV 核酸検査法の開発

研究分担者 井上 直樹 岐阜薬科大学生命薬学大講座感染制御学研究室・教授

研究要旨 確定診断のための CMV 核酸検査を体外診断用医薬品化するために、共同研究企業と手順等を決定し、現在性能評価試験が順調に進行している。また、CMV スクリーニング検査法の開発についても、尿を採取するための濾紙の再選定を行い、価格・安全性・簡便を改善し商業化に一步近づいた。発症リスクとして同定した NK 受容体の遺伝子多型について、その分子機序の解析を行ったが、MICA の結合や Akt のリン酸化などシグナル伝達系の上流には大きな差は見られなかった。

研究目的

先天性 CMV による障害は早期診断できれば言語・認識能力形成等の早期介入により一定の機能的回復を図ることができる。また、抗ウイルス薬による予後の改善が欧米から報告されている。しかし、聴覚障害に限ってみても、現行の新生児聴覚検査では先天性 CMV 感染に伴う難聴の半数以上が検出できない。従って、出生時に先天性 CMV 感染児をスクリーニングし、確定診断を行うことにより、抗ウイルス薬による早期治療やフォローアップによる難聴や精神発達遅滞などの後遺症発症時の早期介入することが現時点で最善の先天性 CMV 感染症対策と考えられる。

先天性 CMV 感染の同定には、尿に高力価の CMV が排泄されることを利用して、出生後 2-3 週以内に採取した尿中の CMV のウイルス分離が確立した方法として行われてきたが、分離までに時間と労力を要することから、近年核酸検査が用いられるようになってきた。しかしながら、先天性 CMV 感染疑い児の確定診断に用いる核酸検査法は、体外診断用医薬品とはなっていないため、検査センターなどでも実施されていない、もしくは研究検査とされているなど変則的な状況にある。さらに、全新生児を対象にした大規模な先天性 CMV スクリーニング検査が行われ難かった背景としては、核酸検査をもってしても、尿を液体として採取し、ここから DNA を精製するためには労力と費用が必要で

あることがあげられる。欧米では、乾燥血、いわゆるガスリー血濾紙、を用いたスクリーニングが試みられているが、血液中の CMV 量が極めて少ないためスクリーニングの感度が低い。我々は、簡便迅速かつ安価な先天性 CMV のスクリーニング法として、尿を吸収した濾紙片そのものを鋳型としてリアルタイム PCR を行う方法を開発し、その臨床的応用が可能であることをすでに示してきた。

本研究では以下のことを行う。1) 研究班と共同研究契約を締結した核酸検査試薬・機器メーカーとの共同研究として、新生児における先天性 CMV 感染の確定診断のための核酸検査法を確立し、体外診断用医薬品として申請が可能となるようにする。2) 我々が開発した尿濾紙を用いた先天性 CMV スクリーニング法を商業化し、全新生児を対象としてスクリーニングを可能とし、スクリーニングで CMV 感染が疑われた新生児について、上記の体外診断用医薬品としての核酸検査法で確定診断が行える体制を構築できるようにする。3) これまでの厚生労働科学研究班で構築された先天性 CMV 感染児のコホートを用いて、感染や発症のリスク因子として、自然免疫に関与する遺伝子群について、遺伝子多型との関連を検討し、相関がある場合、その分子機序を明らかにする。

B. 研究方法

1. ウイルス分離及び培養

ヒト 2 倍体細胞 HEL は、10%牛胎児血清 (FBS) 添加 Dulbecco's MEM (DMEM) 培地にて培養した。先天性感染の場合、1 週間以内に細胞変性効果が出てくるので、非感染細胞を適宜加えながら 2-4 回継代し、感染細胞及び培養上清をそれぞれ回収し、ストックを作成した。分離されてきたものが、CMV であることは、抗 CMV IE2 抗体 (Chemicon) を用いて免疫染色により同定した。3 回盲継代し約 3-4 週の培養を行っても、細胞変性効果が見られない場合には、CMV 陰性とした。

共同研究に用いる標準品用に、AD169 株をヒト 2 倍体細胞 HEL に MOI=0.5 で感染させ、5 日後に培養上清を調製した。感染力価は、上清の希釈系列を HEL 細胞に感染し、2 日後に抗 CMV IE2 抗体を用いて免疫染色して陽性となったフォーカス数をもとに決定した。

2. 液体尿中 CMV DNA 定量

尿検体は QIAamp Viral RNA kit (QIAGEN) を用いて DNA 精製を行った。TaqMan Universal PCR Master Mix (Applied) に CMV UL83 遺伝子を標的とした 0.2 μ M プライマーと 0.125 μ M プロブ、50ng サケ精子 DNA 加えた 25 μ l 反応液を用いて、50 $^{\circ}$ C 2 分と 95 $^{\circ}$ C 10 分の初期ステップ、95 $^{\circ}$ C 30 秒 60 $^{\circ}$ C 1 分の増幅サイクルで測定した。

3. 尿濾紙片のリアルタイム PCR

尿を含む濾紙より 3 ミリ径の濾紙片をパンチにて打ち抜く。濾紙片は、200 μ l の水洗後、もしくはそのまま、鋳型としてリアルタイム PCR 反応に供する。

Brilliant QPCR Master Mix に CMV UL83 遺伝子を標的とした 0.2 μ M プライマーと 0.125 μ M プロブ、5 μ g BSA (NEB) と 100ng サケ精子 DNA 加えた 50 μ l 反応液に、3 ミリ径の濾紙片を加え、50 $^{\circ}$ C 2 分と 95 $^{\circ}$ C 15 分の初期ステップ、95 $^{\circ}$ C 15 秒 58 $^{\circ}$ C 30 秒及び 72 $^{\circ}$ C 30 秒の増幅サイクルで、MX3000P (Stratagene) を用いて測定した。

各検査試薬・機器メーカーの検査開発に当た

っては、液体尿及び尿濾紙片について、各社の仕様条件を至適化した。

4. NKG2D の MICA 結合能の解析

遺伝子多型と先天性 CMV 感染症の出生時症候性との間に相関があった NKG2D の major 型と minor 型遺伝子を発現ベクターにクローニングした。また、NKG2D のアダプター分子 DAP10 発現プラスミドも構築した。293T 細胞にリン酸カルシウム法で NKG2D と DAP10 プラスミドを遺伝子導入後、NKG2D の細胞膜上発現を、抗 NKG2D 抗体でフローサイトメーターを用いて確認した。また、MICA の膜貫通領域を HaloTag 蛋白と置換し、MICA-HaloTag 融合蛋白を遺伝子導入した 293T 細胞の培養上清に分泌できる発現プラスミドを構築した。MICA の培養上清を、major もしくは minor 型 NKG2D と DAP10 を発現する 293T 細胞に添加し、抗 NKG2D 抗体と HaloTag 結合性蛍光リガンドを用いて、MICA と NKG2D の結合をフローサイトメーターで検討した。

5. Akt リン酸化による NKG2D 活性化の検出

DAP10 と NKG2D を 293T 細胞に transfection し、MICA も別の 293T 細胞に transfection した。その後 DAP10・NKG2D 発現細胞に MICA 発現細胞を co-culture した後、抗 Akt 抗体で免疫沈降し、pan-Akt と phospho-Akt の 2 種類の抗体でウェスタンブロッティングを行い、リン酸化された Akt の割合を求めた。

(倫理面の配慮)

本研究は、研究班に参加する各研究者の関連機関、前任地である国立感染症研究所及び岐阜薬科大学 (全関連機関での承認と同意書の提出を前提とした条件付承認) の倫理委員会の承認を受けて行われた。

C. 研究結果

1. 先天性 CMV 感染確定診断を目的とした核酸検査法の体外診断用医薬品化のための研究

CMV 核酸検査共同研究企業 3 社と薬事担当者も交え、数回の会議を行い、必要な検体や試験についての手順を決定した。その決定に基づき作業を進めている。1 月 9 日現在の進捗は以下の通り。

1) 国際共同研究により策定された WHO 標準品 (Merlin 株) を入手し、国内検査センターなどで一般的に使用されている AD169 株を大量に培養後、培養上清を多数のバイアルに分注し、WHO 標準品を用いて値付けをした。この研究班用の標準品を共同研究メーカー等にも配布し、各社の核酸検査法により予想通りの数値となるかなどの評価を進め、体外診断用医薬品としての性能試験を実施するための準備を行った。3 社中 1 社が、研究班発足後の遅れた参加であったため、完了していないが、残り 2 社分については、作業をほぼ完了させた。

2) 研究班研究分担者より送付された新生児尿検体 17 人分について、核酸検査及びウイルス分離を実施し、すべての検体の CMV 陰性を確認した。核酸精製過程を必要としない 2 社の検査法で上記尿検体が核酸増幅反応を阻害するかを検討したところ、17 検体中 1 検体で強く阻害、1 検体で弱く阻害した。尿量を減らせば問題がないことが判明したため実用的には問題がないと判断した。

3) 上記の新生児尿をプールした陰性標品、ウイルス標準品をスパイクした陽性標品を調製し、配布準備を完了した。1 月 13 日に進捗確認会議を共同研究企業と行い、手順書を確認するのを受けて、申請用性能試験(主に感度評価)を早々に実施する予定である。

4) 1-4 歳程度の 50-100 人の健常児について、CMV 血清学検査を実施するとともに、尿を採取し核酸検査法の性能評価(主に特異性)を行う予定である。標準検査は、これまでの in-house 検査法による CMV 定量法を用いて行う。現在までに 10 人分の尿しか採取できていないため、当初の旭川医大

のみであった採取施設を、急遽増やすために倫理委員会承認などの手続きを進め、早急に問題を解決できるように小児科施設が努力している。今後の予定としては、20 検体程度が集まり次第、新生児尿と健常児で検査結果に差がないことを確認すること、必要検体がそろった時点で、検体の配布と測定を一斉に実施することの手順が決まっている。

5) 性能試験が完了した時点で、保存尿検体を用いて臨床有用性の証明試験を行う。

2. CMV スクリーニング検査法の開発

我々が開発した CMV スクリーニング法を用いた新生児の検査は 2 万 5 千人以上で実施され、臨床的に有用であることが既に示されている。しかし、コマーシャル化の限界として①特殊濾紙の単価が高い、②稀に濾紙によるかぶれがある、③反応前に濾紙を水洗するステップがあるため小型卓上遠心機が必要となる、などが明らかになっている。そこで、開発の原点である濾紙選定の再検討を行った。かぶれの原因となっていたと思われる界面活性剤等の塗布がない計 20 種類の濾紙を大手濾紙メーカー 2 社から入手し、水洗浄がなくても尿濾紙片中の CMV 検出の感度が低下しないものを 2 種類同定した。先天性感染児 1 名で採尿テストを行い、かぶれや感度においては問題がないことを確認した。その過程で、濾紙に着色した方が、採尿が行われたことを確認しやすいという現場の要請があった。このため、濾紙メーカーに食品添加物として登録された着色料を用いた見本濾紙の作製を依頼し、上記 2 種類の濾紙について、それぞれ 3 色にした見本を得た。検討の結果、青色及び黄色の着色が核酸検査の検出系を阻害しないことが明らかとなった。

今後、新生児で尿採取して問題がないかを検討する予定である。

3. 先天性 CMV 感染症の感染・発症リスク解析

これまでの研究で、出生時症候性と NKG2D 多型に有意な相関を認めた。NKG2D は、CMV 感染によるシグナル制御に関連していることが知られていることから、多型が感染に伴うシグナル制御に与える影響を検討した。

まず、major 型及び minor 型の NKG2D が、リガンドである MICA との結合において差があるか検討したが、両者に差は見られなかった。

次に、NKG2D のシグナル伝達に差がないかを検討するため、シグナル伝達系の中に位置する Akt のリン酸化の多型による影響を検討したが、リン酸化に若干差が認められたという程度であった。条件をさらに検討して、有意な差であるかどうかを明らかにする予定である。また、Akt より下流への影響も考え、現在、核内での遺伝子発現を検討中である。

D. 考察

1. 体外診断用医薬品化のための研究は順調に推移しているが、CMV 感染児の検体として必要な症例数など、PMDA との事前協議を進める方が良いと思われる。

2. 新生児 CMV スクリーニングを最終的にコマーシャル化できる目処はつきつつあるが、どのような形で小規模なパイロット調査を実施するかを検討することが望ましいと思われる。

E. 結論

- 1) 確定診断のための CMV 核酸検査については、共同研究企業と手順を決定し、性能評価試験が順調に進行している。
- 2) CMV スクリーニング検査法の開発については、尿を採取するための濾紙の再選定により、コマーシャル化できる目処がつきつつある。
- 3) 発症リスクとしての NK 受容体の遺伝子多型の分子機序には、MICA の結合や Akt のリン酸化より上流のシグナルには大きな差は見られ

なかった。

F. 研究発表

1. 論文発表

Pereira L, Pettitt M, Fong A, Tsuge M, Tabata T, Fang-Hoover J, Maidji E, Zydek M, Zhou Y, Inoue N, Logahvi S, Pepkowitz S, Ogunyemi D. Idiopathic intrauterine growth restriction caused by cytomegalovirus infection and associated placental pathology. *J Infect Dis In Press*

Taniguchi R, Koyano S, Suzutani T, Goishi K, Ito Y, Morioka I, Oka A, Nakamura H, Yamada H, Igarashi T, Inoue N. Polymorphisms in Toll-like receptor 2 are associated with congenital cytomegalovirus infection. *Int J Infect Dis* 17(12): e1092-7, 2013

Matsuo K, Morioka I, Oda M, Kobayashi Y, Nakamachi Y, Kawano S, Nagasaka M, Koda T, Yokota T, Morikawa S, Miwa A, Shibata A, Minematsu T, Inoue N, Sugimura K, Yamada H, Iijima K. Quantitative evaluation of ventricular dilatation using computed tomography in infants with congenital cytomegalovirus infection. *Brain & Dev* 36(1):10-5, 2014

Ikuta K, Minematsu T, Inoue N, Kubo T, Asano K, Ishibashi K, Imamura T, Nakai H, Yoshikawa T, Moriuchi H, Fujiwara S, Koyano S, Suzutani T. Cytomegalovirus (CMV) glycoprotein H-based serological analysis in Japanese healthy pregnant women, and in neonates with congenital CMV infection and their mothers. *J Clin Virol* 58: 474-478, 2013.

Koyano S, Inoue N, Nagamori T, Moriuchi H, Azuma H. Newborn screening of congenital cytomegalovirus infection using saliva can be influenced by breast feeding. *Arch Dis Child Fetal* 98: F182, 2013.

2. 学会発表

井上直樹 基礎研究者からみた先天性 CMV 感染対策:検査法とワクチン開発の現状と方向性 シンポジウム「母子感染」第 45 回日本小児感染症学会学術集会 札幌 2013.11

谷口留美、古谷野伸、錫谷達夫、五石圭司、伊藤裕司、森岡一朗、中村浩幸、山田秀人、岡明、井上直樹 NK 細胞の標的細胞認識に関わる遺伝子多型と先天性 CMV 感染症

の相関 第45回日本小児感染症学会学術
集会 札幌 2013.11

G. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得:なし

実用新案登録:なし

その他: なし

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Pereira L, Petitt M, Fong A, Tsuge M, Tabata T, Fang-Hoover J, Maidji E, Zydek M, Zhou Y, <u>Inoue N</u> , Logahvi S, Pepkowitz S, Ogunyemi D.	Intrauterine growth restriction caused by underlying congenital cytomegalovirus infection.	J Infect Dis			印刷中
Matsuo K, Morioka I, Oda M, Kobayashi Y, Nakamachi Y, Kawano S, Nagasaka M, Koda T, Yokota T, Morikawa S, Miwa A, Shibata A, Minematsu T, <u>Inoue N</u> , Sugimura K, Yamada H, Iijima K.	Quantitative evaluation of ventricular dilatation using computed tomography in infants with congenital cytomegalovirus infection.	Brain & Dev	36	10-15	2014
Koyano S, <u>Inoue N</u> , Nagamori T, Moriuchi H, Azuma H.	Newborn screening of congenital cytomegalovirus infection using saliva can be influenced by breast feeding.	Arch Dis Child Fetal	98	F182	2013
Nakamura H, Liao H, Minami K, Toyoda M, Akutsu H, Miyagawa Y, Okita H, Kiyokawa N, Umezawa A, Imadome K, <u>Inoue N</u> , Fujiwara S.	Human cytomegalovirus induces apoptosis in neural stem/progenitor cells derived from induced pluripotent stem cells by generating mitochondrial dysfunction and endoplasmic reticulum stress.	Herpesviridae	4	2	2013
Taniguchi R, Koyano S, Suzutani T, Goishi K, Ito Y, Morioka I, Oka A, Nakamura H, Yamada H, Igarashi T, <u>Inoue N</u> .	Polymorphisms in Toll-like receptor 2 are associated with congenital cytomegalovirus infection.	Int J Infect Dis	17	e1092-7	2013

厚生労働科学研究費補助金（成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業）
分担研究報告書

母子感染の実態把握及び検査・治療に関する研究

サイトメガロウイルス血清型・DNA 型判別法を用いた先天感染例の評価

研究分担者 錫谷 達夫 福島県立医科大学微生物学講座 教授
協力研究者 生田 和史 福島県立医科大学微生物学講座 助教

[研究要旨]

先天性サイトメガロウイルス（Cytomegalovirus; CMV）感染は出産 300 例中 1 例に認められ、既知の胎内感染で最も頻度が高い。出生時に顕性感染である 1 割には小頭症などの重篤な異常が起こっている。感染児の 9 割は出生時に無症候性であり感染を認知することはないが、そのうち 5-15%では成長に伴って難聴、精神発達遅延などの症状が出現している。

妊婦において CMV 初感染が起こった場合、その 4 割で胎児に感染が認められる。先天感染は CMV 重感染によっても引き起こされることが知られているが、どの位が重感染によるものであるのかも明らかにされていない。我々は ELISA 法を用いた CMV 血清型別判定法、リアルタイム PCR 法を用いた感染児尿中 CMV 型判定法を確立し、先天性 CMV 感染が妊娠中の CMV 初感染によるのか、異型 CMV の重感染によるのか、判別を行った。先天性 CMV 感染児とその母親 18 例の CMV 感染パターン解析を行ったところ、異型 CMV の重感染によると考えられる 2 例を見出した。我々の方法で判別できる CMV の型分けの精度では初感染または再活性化が 89%、重感染が 11%であった。

A. 研究目的

CMV はヘルペスウイルスの一種であり、健常成人の約 70%に感染しているごくありふれたウイルスである。成人では多くが不顕性感染である。妊婦の初感染は 40%の胎児に感染を引き起こすが、先天性 CMV 感染の多くは出生時に無症候性であり、何らの障害もなく発育する。しかし 5-15%では成長に従って精神発達遅延、視力障害、難聴、てんかん、けいれんなどを生じる。無症候性感染の場合は児の感染に気付くことはない。乾燥臍帯中の

CMV DNA を検出することにより、先天性 CMV 感染の後方視的な疫学調査を行った結果、日本人における聴覚障害の約 15%は先天性 CMV 感染が原因であることが明らかとなった。また先天性 CMV 感染のおよそ 10%は出生時で既に顕性感染であり、小頭症や水頭症、脈絡網膜炎、聴覚障害、精神発達遅延、紫斑、血小板減少、肝脾腫、肝炎などが認められ、出生後早期に死亡する重篤な例もある。

先天性 CMV 感染は妊娠中の初感染のみならず、異なる型の CMV 株に重感染する

ことでも発生する。しかし症候性感染となる確率や重症度との関係は不明である。本研究では、先天性 CMV 感染児とその母親の CMV 感染パターンと感染児の臨床経過を解析することを目的に、母児の抗 CMV 型別抗体の測定ならびに感染児尿中の CMV 型判定を行った。

B. 研究方法

1. 先天性 CMV 感染児の特定

本学附属病院産婦人科ならびに関連病院で出生した新生児の尿は、リアルタイム PCR 法を用いた CMV スクリーニング検査に供され、先天性 CMV 感染児を診断した（国立感染症研究所ウイルス一部において実施、厚生労働科学研究費補助金（成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業）「全新生児を対象とした先天性サイトメガロウイルス (CMV) 感染スクリーニング体制の構築に向けたパイロット調査と感染児臨床像の解析エビデンスに基づく治療指針の基盤策定」に関する研究）。血液は Lympholyte H (Cedarlane Laboratories) を用いた密度勾配遠心法により血漿とリンパ球に分離し、 -80°C に保存した。先天性 CMV 感染児の血液と尿ならびに母親の血液はインフォームドコンセントを得て採取した。

2. ELISA 法による CMV 血清型の判定

CMV 血清型別判定には、CMV に対する免疫反応の主要なターゲットである糖タンパク H: glycoprotein H (gH) のエピトープを抗原とした ELISA 法を用いた。gH は CMV エンベロープ上の糖タンパクであり、ウイルスの細胞への吸着を担っている。CMV AD169 株と Towne 株のエピトープ領域

をオリゴヌクレオチド合成により作製し、pGEX-5x プラスミド (Amersham Bioscience) に組み込んだ。作製プラスミドを大腸菌にトランスフェクションし、GST 融合タンパクとしてエピトープを発現させた。発現タンパクは GST カラムを用いて精製後、96 穴プレートに固相化して ELISA 系を作成した。検体として感染児・母親の希釈血漿を使用し、検出系には HRP 標識抗ヒト IgG 抗体、ELISA POD Substrate ABST キット (Nakarai) を用いた。吸光度測定によって抗体の有無を判定した。また市販のキット・エンザイグノストサイトメガロ/IgG (または IgM) (SIEMENS) により、抗 CMV IgG、IgM 抗体の有無も検討した。IgG avidity は日南病院疾病制御研究所・峰松俊夫先生に依頼した。

3. リアルタイム PCR 法による感染 CMV 型判定

先天性 CMV 感染児の尿より QIAamp DNA Mini kit (Qiagen) を用いて DNA を抽出した。DNA、型共通な gH 領域プライマー、型特異的な TaqMan プローブを TaqMan Universal PCR Master Mix (Applied Biosciences) と混和し、StepOne plus real-time PCR system (Applied Biosciences) によりリアルタイム PCR を行うことにより、検体中の CMV DNA を型別定量検出した。TaqMan プローブの 5' 末端は AD169 型を FAM、Towne 型を VIC 標識し、3' 末端には MGB を用いた。

C. 研究結果

新生児尿のスクリーニングにおいて CMV が検出された症例のうち母児ともに血漿

の得られた 18 例を対象とした。CMV 型判定の結果は別表のとおりである（*印は顕性感染、2 例）。母親における CMV IgM は 10 例で陽性/疑陽性であり、IgG avidity 低値は 1 例であった。CMV IgG は 12 例で母児ともに AD169 型、4 例で Towne 型であり、感染児尿中の CMV 型は血清型に一致した。母児ともに両型の例（#13）と、母のみ両型で感染児は Towne 型のみの例（#14）がそれぞれ 1 例ずつ認められた。感染児尿中の CMV 型は #13 で AD169 型、#14 で Towne 型であった。尿中に両型を排泄する例は認められなかった。

D. 考察

先天性 CMV 感染において CMV IgG が母子ともに同型であるのは、新生児で母親の移行抗体が検出されているためである。#13 では母児ともに両型の CMV IgG が認められたが、感染児において出生 1 か月以降は Towne 型抗体が消失し AD169 型抗体のみが継続して検出された。児尿中には AD169 型のみが排泄されていたことから、妊娠中に AD169 型が重感染または再活性化したことが示唆される。同様に #14 では母親に両型、感染児に Towne 型のみの CMV IgG が認められ、感染児尿からは Towne 型のみが検出された。妊娠中の Towne 型重感染または再活性化と考えられる。今回の 18 例中で症候性感染は 2 例のみであり、重感染と疾患重症度との関係は解析できなかったが、頻度は小さいながらも、重感染による先天性 CMV 感染の存在が明確に証明された。

我々の方法で判別できる CMV の型分けの精度では初感染または再活性化が 89%、重感染が 11% である。また母親における CMV

IgM が陽性/疑陽性であった 10 例のうち重感染（#13）を除く 9 例では、妊娠中の CMV 初感染が疑われる。従来から言われるとおり、先天性 CMV 感染の多くは重感染でなく初感染によるものが多いと推測できる。しかし IgG avidity 低値はこのうち 1 例のみである。今回の検討は出産時の血液であり、初感染であっても既に IgM 消失や IgG avidity が高まっている可能性が否定できない。妊娠中の IgM 検査または IgG avidity 検査によって CMV 初感染を同定することができれば、先天性 CMV 感染の多くを早期に発見することができ、速やかな治療的介入が可能となることが期待される。

E. 結論

先天性 CMV 感染児 18 例について児と母親の抗体検査を行った。その結果、9 例は妊娠中の初感染である可能性（IgM 陽性または疑陽性、かつ片型感染）があり、重感染は 2 例であった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ikuta K, Minematsu T, Inoue N, Kubo T, Asano K, Ishibashi K, Ishioka K, Sato Y, Imamura T, Nakai H, Yoshikawa T, Moriuchi H, Fujiwara S, Koyano S, Suzutani T.

Serological analysis of cytomegalovirus (CMV) subtypes in Japanese healthy pregnant women, mothers and neonates with congenital

CMV infection

J Clin Virol 2013 58(2):474-478.

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

2. 学会発表

- 1) 生田和史、峰松俊夫、井上直樹、久保隆彦、浅野仁覚、石橋 啓、今村 孝、中井英剛、吉川哲史、森内浩幸、藤原成悦、古谷野伸、錫谷達夫
先天性サイトメガロウイルス感染におけるウイルス型の解析
第 439 回福島医学会学術研究集会
福島 2013. 5. 23
- 2) 生田和史、峰松俊夫、石岡 賢、佐藤友香、石橋 啓、浅野仁覚、今村 孝、藤原成悦、久保隆彦、中井英剛、吉川哲史、森内浩幸、古谷野伸、井上直樹、錫谷達夫
先天性サイトメガロウイルス感染におけるウイルス血清型・DNA 型の解析
第 67 回日本細菌学会東北支部総会
仙台 2013. 8. 30-31
- 3) 生田和史、峰松俊夫、石岡 賢、佐藤友香、石橋 啓、今村 孝、藤原成悦、久保隆彦、中井英剛、吉川哲史、森内浩幸、古谷野伸、井上直樹、錫谷達夫
サイトメガロウイルス血清型・DNA 型に基づく先天感染例の検討
第 61 回日本ウイルス学会
神戸 2013. 11. 10-12

片型感染 (AD169)

症例		IgG			IgM	IgG avidity (%)	新生児尿中のCMV型
		CMV	AD	To	CMV		
1	母親	+	+	-	+	47.7 (中)	AD
	新生児	+	+	-	-		
2*	母親	+	+	-	+	85.7 (高)	AD
	新生児	+	+	-	+		
3	母親	+	+	-	+	56.1 (高)	AD
	新生児	+	+	-	-		
4	母親	+	+	-	+	22.8 (低)	AD
	新生児	+	+	-	+/-		
5*	母親	+	+	-	+/-	81.4 (高)	AD
	新生児	+	+	-	+		
6	母親	+	+	-	+/-	77.6 (高)	AD
	新生児	+	+	-	-		
7	母親	+	+	-	+/-	80.2 (高)	AD
	新生児	+	+	-	-		
8	母親	+	+	-	-	56.6 (高)	AD
	新生児	+	+	-	+		
9	母親	+	+	-	-	74.1 (高)	AD
	新生児	+	+	-	-		
10	母親	+	+	-	+/-	41.2 (中)	AD
	新生児	+	+	-	+		
11	母親	+	-	-	-	60.2 (高)	AD
	新生児	+	-	-	-		
12	母親	+	+	-	-	63.0 (高)	AD
	新生児	+	-	-	-		

重感染 (AD169 & Towne)

13	母親	+	+	+	+/-	88.9 (高)	AD
	新生児	+	+	+	-		
14	母親	+	+	+	-	72.4 (高)	To
	新生児	+	-	+	-		

片型感染 (Towne)

15	母親	+	-	+	+/-	63.5 (中)	To
	新生児	+	-	+	+/-		
16	母親	+	-	+	-	73.8 (高)	To
	新生児	+	-	+	-		
17	母親	+	-	+	-	68.9 (高)	To
	新生児	+	-	+	+/-		
18	母親	+	-	+	-	70.7 (高)	To
	新生児	+	-	+	+		

表 1. 先天性 CMV 感染における CMV 血清型別抗体・IgM・IgG avidity の検と新生児尿中に排泄される CMV 型の判定

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ikuta K, Minematsu T, Inoue N, Kubo T, Asano K, Ishibashi K, Imamura T, Nakai H, Yoshikawa T, Moriuchi H, Fujiwara S, Koyano S, Suzutani T.	Cytomegalovirus (CMV) glycoprotein H-based serological analysis in Japanese healthy pregnant women, and in neonates with congenital CMV infection and their mothers.	J Clin Virol.	58	474-478.	2013

厚生労働科学研究費補助金（成育疾患克服等次世代育成基盤事業）
分担研究報告書

先天性CMV感染症診断サービスの構築

研究分担者 木村 宏 名古屋大学大学院医学系研究科ウイルス学 教授

研究要旨

先天性 CMV 感染実態解明のためには、感染症児レジストリ（登録制度）を確立し、前方視的に患者を長期にフォローアップすることが望ましい。また、多数の患者を登録するためには、中央診断により無償で先天性 CMV 感染症を診断するシステムを構築する必要がある。今回我々は、先天性 CMV 感染の診断法を標準化し、広く臨床医がアクセスできる先天性 CMV 感染症診断サービスの構築を試みた。本診断サービスは次年度開始される CMV 感染症児レジストリの運用と有効利用に大きく寄与するものと考えられる。

A. 研究目的

先天性・周産期感染症はいわゆる TORCH 症候群と称され、胎内感染や周産期の母子垂直・水平感染により、重篤な後遺症を残しうる疾患群である。この TORCH 症候群の中でも、わが国で最も頻度が高く、疾病負担が大きいのが先天性 CMV 感染症である。古谷野らによる前方視調査により、我が国における先天性 CMV 感染は 1 人/300 出生と頻度が高く、年間 1000 例近くの症候性患者が出生していると推測されている (Koyano S, BMC open 2011)。一方で、後方視的に行った全国調査によれば、先天性 CMV 感染症は 10 万出生あたり 9.5 人であり、出生数を元に換算すると、我が国では年間約 100 例の先天性 CMV 感染症児が診断されているに過ぎない (Torii Y, Pediatr Infect Dis J 2013)。この乖離は、極めて多数の症候性 CMV 感染症児が見逃されていることによると考えられるが、詳細は不明である。先天性 CMV 感染症の予防戦略を再構築し、標準的治療法の確立と普及を目指すためには、わが国における現在の実態を把握すること

が不可欠である。

先天性 CMV 感染実態解明のためには、感染症児レジストリ（登録制度）を確立し、前方視的に患者を長期にフォローアップすることが望ましい。患者登録に際しては、先天性 CMV 感染を確実にかつ迅速に診断する必要がある。先天性 CMV 感染診断には生後 3 週以内の尿からの CMV-DNA 検出が最も侵襲が少なくかつ信頼できる。この目的のため、PCR 法などによる核酸増幅法が用いられているが、これらの検査法は特殊な技術・機器を必要とする上に、健保不採用であるため、広く臨床で実施されるには至っていない。多数の患者をレジストリに加えるためには、中央診断により無償で先天性 CMV 感染症を診断するシステムを構築する必要がある。

今回我々は、先天性 CMV 感染症児レジストリの確立を目指して、先天性 CMV 感染の診断法を標準化し、広く臨床医がアクセスできる先天性 CMV 感染症診断サービスの構築を試みた。