

30代 1経妊1経産

既往歴:なし アレルギー:なし

助産院にて妊婦健診。CMV 抗体スクリーニング施行せず。

妊娠 30 週当院での妊婦健診にて両側脳室拡大を認めた(図3)。

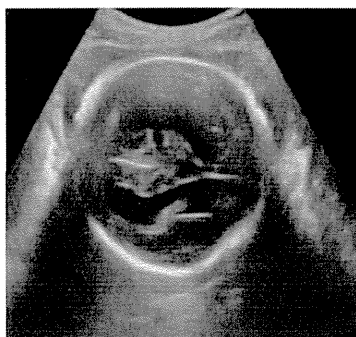


図3 症例2の妊娠30週時の超音波断層像。脳室拡大を認める

妊娠 30 週での CMV IgG 21.4、IgM 4.72 とともに陽性。

妊娠 39 週に自然陣発し経膈分娩に至った。

正常経膈分娩 2618g 男児 Apgar (1 分) 8 点 (5 分) 9 点

尿中 CMV-DNA 陽性。先天性 CMV 感染症と診断。

生後 4 日の CT で脳室周囲の軽度石灰化および脳室の拡大を認めた(図4)

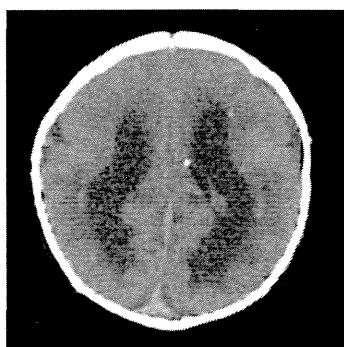


図4 生後4日のCT
脳室周囲の軽度石灰化および脳室の拡大を認める。

ガンシクロビル投与。

生後 5 日目の ABR で難聴指摘なし。

生後 7 ヶ月で痙性麻痺および運動発達遅滞。

D. 考察

症候性の CMV 感染は 1099 例の妊娠初期スクリーニング検査から 1 例発症した。この症例は妊娠初期 CMV-IgG、IgM ともに陽性であり妊娠中期も同様の結果であった。妊娠初期 CMV-IgG、IgM ともに陽性例は 1099 例の妊婦中 84 例 (7.6%) に認められたが、出生時点での症候性感染は本症例 1 例のみであった。この症例は妊娠 24 週に初めて超音波異常を検出されたことから、CMV 抗体値による症候性感染例のハイリスク群同定は、必ずしも容易ではないと推察された。初期スクリーニング検査は行っていなかった症例から 1 例の先天性 CMV 感染が発生した。この症例の妊娠 30 週の CMV IgG 21.4、IgM 4.72 とともに陽性であった。IgG、IgM ともに陽性例は CMV のハイリスク群として認識する必要がある。

E. 結論

CMV-IgG avidity 検査を導入すると CMV スクリーニングの精度があがることが期待される。特に、avidity 検査を必ず行う必要がある症例は IgG、IgM ともに陽性の症例であることが再認識された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1). Kanayama T et al : Measurement of material cerebral tissue hemoglobin on near infrared time-resolved spectroscopy in the peripartum period. J Obstet Gynaecol Res : Dec16,2014

- 2). Kanayama T et al : Amlodipine Passage into Breast Milk in Lactating Woman with Pregnancy-Induced Hypertension and Its Estimation of infant Risk for Breastfeeding. J Hum Lact : Dec1,2014
 - 3). Kanayama T et al : Examiner's finger-mounted fetal tissue oximetry. J Biomed Opt : Jun;19(6), 2014
 - 4). Kanayama T et al : Amniotic fluid embolism induces uterine anaphylaxis and atony following cervical laceration. Gynaecol Obstet Invest : 78(1), 2014
 - 5). Kanayama T et al : Amniotic fluid embolism: pathophysiology and new strategies for management. J Obstet Gynaecol Res : Jun;40(6), 1507-17, 2014
 - 6). Kanayama T et al : C1 esterase inhibitor activity in amniotic fluid embolism. Crit Care Med : Jun;42(6), 1392-6, 2014
 - 7). Kanayama T et al : Annual report of Subcommittee for Examination of Causes of Maternal Death and their Prevention in Perinatology Committee, Japan Society of Obstetrics and Gynecology,2013. J Obstet Gynaecol Res : Feb;40(2), 336-7, 2014
 - 8). Kanayama T et al : Predictor of mortality in patients with amniotic fluid embolism. J Obstet Gynaecol Res : Apr;40(4), 941-5, 2014
 - 9). Kanayama T et al : Comparison between placental gene expression of 11β -hydroxysteroid dehydrogenases and infantile growth at 10 month of age. J Obstet Gynaecol Res : Feb40(2),2014
 - 10). 金山 尚裕 : 母体出血対策 出血をきたす疾患－治療のコツ－子宮型羊水塞栓症. 周産期医学 : 44(5), 621-624,2014
 - 11). 金山 尚裕 他 : 周産期胎盤の診断病理 羊水塞栓症, 病理と臨床 : 32(5), 530-534, 2014
 - 12). 金山 尚裕 : 女性のうつ, 産科と婦人科 : 81(9), 1, 2014
 - 13). 金山 尚裕 : 産科 DIC, 成人病と習慣病 : 44(8), 953-957, 2014
 - 14). 金山 尚裕 永井良三 他 : 12 切迫流産. 産婦人科研修ノート. 診断と治療社 2014 360-362
2. 学会発表
該当なし
- G. 知的財産権の出願・登録状況
該当無し。

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
金山 尚裕	12 切迫流産	永井良三 他	産婦人科研 修ノート	診断と治療社	東京都	2014	360-362

雑誌

発表者名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
金山 尚裕	母体出血対策 出血をきたす疾患一 治療のコツー子宮型羊水塞栓症	周産期医学	44(5)	621-624	2014
金山 尚裕 他	周産期胎盤の診断病理 羊水塞栓症	病理と臨床	32(5)	530-534	
金山 尚裕	女性のうつ	産科と婦人科	81(9)	1	2014
金山 尚裕	産科 DIC	成人病と生活 習慣病	44(8)	953-957	2014
Kanayama T et al	Measurement of material cerebral tissue hemoglobin on near infrared time-resolved spectroscopy in the peripartum period.	J Obstet Gynaecol Res	Dec16		2014
Kanayama T et al	Amlodipine Passage into Breast Milk in Lactating Woman with Pregnancy-Induced Hypertension and Its Estimation of infant Risk for Breastfeeding.	J Hum Lact.	Dec 1		2014
Kanayama T et al	Examiner's finger-mounted fetal tissue oximetry.	J Biomed Opt.	Jun;19(6)		2014
Kanayama T et al	Amniotic fluid embolism induces uterine anaphylaxis and atony following cervical laceration.	Gynecol Obstet Invest	78(1)		2014
Kanayama T et al	Amniotic fluid embolism: pathophysiology and new strategies for management.	J Obstet Gynaecol Res	Jun:40(6)	1507-17	2014
Kanayama T et al	C1 esterase inhibitor activity in amniotic fluid embolism.	Crit Care Med	Jun:42(6)	1392-6	2014
Kanayama T et al	Annual report of Subcommittee for Examination of Causes of Maternal Death and their Prevention in Perinatology Committee, Japan Society of Obstetrics and Gynecology,2013	J Obstet Gynaecol Res	Feb:40(2)	336-7	2014
Kanayama T et al	Predictor of mortality in patients with amniotic fluid embolism.	J Obstet Gynaecol Res	Apr:40(4)	941-5	2014

Kanayama T et al	Comparison between placental gene expression of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenases and infantile growth at 10 month of age.	J Obstet Gynaecol Res	Feb:40(2)	465-72	2014
------------------	--	-----------------------	-----------	--------	------

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
研究協力者 永松 健 東京大学医学部附属病院・女性診療科 講師

研究要旨

昨年度に引き続き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を行い、CMV、TOX の先天性母児感染の把握に必要なデータ保存体制の確立を進めた。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 1180 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 77%であった。血清 IgM の陽性者が 5.2%存在したが Avidity 検査により妊娠中の感染が疑われたのは 11 例で IgM 陽性者中の 18%であり、その中で新生児尿 PCR 陽性例は 2 例であった。TOX については IgM 陽性が 1.3%であり、IgM 陽性者中の Avidity 低値は 20%であった。症候性感染例は現在まで認めていない。母体血清 IgM による母児感染スクリーニングでは CMV、TOX ともに偽陽性率が高く母児感染のリスク評価としては正確性が乏しい。Avidity 検査の有用性についてはさらに症例の蓄積による検討が必要である。

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

1)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。

2)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。

3)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

1)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。

2)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。

3)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 2015 年 3 月末までの時点で、1080 名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

3 月末までの段階で、IgG 陰性者 251 名(21%)、IgM 陽性者 62 名(5.2%)であり、妊娠 12 週前後での IgG、IgM によるスクリーニング検査から判断される未感染群約 21%、既往感染群約 74%、感染疑い群約 5%となった。妊娠期間中の

IgG 陽転化症例は認めなかった。IgM 陽性の感染疑い例については Avidity を測定したところ、62名中 11名 (18%) が低値であった。そのうち 8名が分娩に至っており、その中の 2名 (25%) で新生児尿 PCR 陽性が確認された。また、新生児尿 PCR は陰性であったが胎盤病理所見で脱落膜内に CMV 感染を示す封入体像を認めた 1例が存在した。またそれらの Avidity 値と初回採血時 IgG 値の関係との間には相関関係は認めなかった。一方で IgM 値と Avidity 値の間には有意な負の相関を認めた。(r=0.44, p=0.0009) しかし、症候性感染となった症例には比較的低い IgM 値でありながら Avidity が低い例が存在していた。

IgM 陽性例で初回検査から 2 週以降に再度抗体価を検査した値(ペア血清の変化)について初回の検査値の変化と Avidity の間には相関関係は認められなかった。

妊娠初期に IgG 陰性であった未感染妊婦について後期採血で 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

2015 年末までの段階で、感染疑い群である IgM 陽性者は 3 名(0.3%)確認された。その妊婦の血清の Avidity 測定依頼を行い 3 例 (0.3%) で low avidity の判定であった。そのうち 2 例では妊娠中にアセチルスピラマイシンの内服が行われ、出生児における網膜検査、脳の CT を含めたフォローアップ検査では現在まで異常を認めていない。

D. 考察

CMV、TOX の IgG、IgM 抗体測定を妊婦健診の初期スクリーニングに導入して現在まで約 1 年 6 か月が経過した。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 77% 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 の妊娠初期における IgM 陽性例は約 5% と頻度が高いが最終的に新生児尿 PCR 陽性となった症例は 2 例であり、胎盤病理でのみ CMV 感染が示唆された 1 例を加えた合計 3 例が子宮内

への CMV 感染確認例となった。これは IgM 陽性で現在までに分娩が終了した症例中の約 6% であり、IgM 陽性のみで母児感染を診断することは困難であることを確認した。一方で胎児・胎盤内に CMV が確認されたそれら 3 例はいずれも Avidity 低値の 11 例に含まれていた。これは Avidity によるリスク評価の有用性を示唆している。また、IgM と Avidity の間には負の相関が確認されていることから、IgM 値が陽性である場合にその値が高いほど妊娠中の母体感染である可能性が高いことが示唆された。

妊娠中の IgG 陽転化症例は現在まで認めておらず、これは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による影響も考えられる。

TOX については、IgM 陽性者 15 名中 Avidity 低値 3 名 (20%) であったが、児の症候性感染例を認めていない。そのため、現行の前方視的に行っているスクリーニング検査において IgM 検査、Avidity 検査の優劣についての評価を行うことの困難が予想される。そのため今後、過去の症候性感染例の後方視的検討によるアプローチが必要である。

E. 結論

妊娠初期 IgG、IgM 値による CMV のスクリーニングを行い、2 次的精査として Avidity 検査を行った。血清 CMV IgM 測定のみでは児の感染リスクの評価は困難であり、Avidity 検査の必要性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1). Nagamatsu T, Kamei Y, Yamashita T, Fujii T, Kozuma S: Placental abnormalities detected by ultrasonography in a case of confined placental mosaicism for trisomy 2 with severe fetal growth restriction. J Obstet Gynaecol Res 2014 Jan;40(1):279-83.

- 2). Taguchi A, Kawana K, Tomio K, Yamashita A, Isobe Y, Nagasaka K, Koga K, Inoue T, Nishida H, Kojima S, Adachi K, Matsumoto Y, Arimoto T, Wada-Hiraike O, Oda K, Kang JX, Arai H, Arita M, Osuga Y, Fujii T. Matrix Metalloproteinase (MMP)-9 in Cancer-Associated Fibroblasts (CAFs) Is Suppressed by Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids In Vitro and In Vivo. *PLoS One*. 2014 Feb 27;9(2):e89605.
- 3). Taguchi A, Wada-Hiraike O, Kawana K, Koga K, Yamashita A, Shirane A, Urata Y, Kozuma S, Osuga Y, Fujii T. Resveratrol suppresses inflammatory responses in endometrial stromal cells derived from endometriosis: A possible role of the sirtuin 1 pathway. *J Obstet Gynaecol Res*. 2014 Mar;40(3):770-8.
- 4). Ikeda Y, Oda K, Kawana K, Aoki D, Osuga Y, Fujii T. Cyclin-dependent kinase 4/6-specific activities as a biomarker for prognosis and chemosensitivity in endometrial cancer. *Obstet Gynecol*. 2014 May;123 Suppl 1:92S.
- 5). Ichinose M, Kamei Y, Iriyama T, Imada S, Seyama T, Toshimitsu M, Asou H, Yamamoto M, Fujii T. Hypothermia attenuates apoptosis and protects contact between myelin basic protein-expressing oligodendroglial-lineage cells and neurons against hypoxia-ischemia. *J Neurosci Res*. 2014 Oct;92(10):1270-85.
- 6). Toshimitsu M, Nagamatsu T, Nagasaka T, Iwasawa-Kawai Y, Komatsu A, Yamashita T, Osuga Y, Fujii T. Increased risk of pregnancy-induced hypertension and operative delivery after conception induced by in vitro fertilization / intracytoplasmic sperm injection in women aged 40 years and older. *Fertil Steril*. 2014 Oct;102(4):1065-1070.e1.
- 7). Inoue T, Oda K, Arimoto T, Samejima T, Takazawa Y, Maeda D, Fukayama M, Kawana K, Osuga Y, Fujii T. Xanthogranulomatous inflammation of the perimetrium with infiltration into the uterine myometrium in a postmenopausal woman: a case report. *BMC Womens Health*. 2014 Jul 15;14:82.
- 8). Kawana K, Adachi K, Kojima S, Taguchi A, Tomio K, Yamashita A, Nishida H, Nagasaka K, Arimoto T, Yokoyama T, Wada-Hiraike O, Oda K, Sewaki T, Osuga Y, Fujii T. Oral vaccination against HPV E7 for treatment of cervical intraepithelial neoplasia grade 3 (CIN3) elicits E7-specific mucosal immunity in the cervix of CIN3 patients. *Vaccine*. 2014 Oct 29;32(47):6233-9.
- 9). Oda K, Ikeda Y, Maeda D, Arimoto T, Kawana K, Fukayama M, Osuga Y, Fujii T. Huge pyogenic cervical cyst with endometriosis, developing 13 years after myomectomy at the lower uterine segment: a case report. *BMC Womens Health*. 2014 Sep 3;14:104.
- 10). Taguchi A, Nagasaka K, Kawana K, Hashimoto K, Kusumoto-Matsuo R, Plessy C, Thomas M, Nakamura H, Bonetti A, Oda K, Kukimoto I, Carninci P, Banks L, Osuga Y, Fujii T. Characterization of novel transcripts of human papillomavirus type 16 using CAGE technology. *J Virol*. 2014 Dec 10. pii: JVI.03433-14. [Epub ahead of print]

- 11). Nagasaka K, Kawana K, Tomio K, Tsuruga T, Mori-Uchino M, Miura S, Tanikawa M, Miyamoto Y, Ikeda Y, Sone K, Adachi K, Matsumoto Y, Arimoto T, Oda K, Osuga Y, Fujii T. Positive peritoneal cytology at interval surgery is a poor prognostic factor in patients with stage T3c advanced ovarian carcinoma: A retrospective study. *J Obstet Gynaecol Res*. 2014 Nov 25. doi: 10.1111/jog.12616. [Epub ahead of print]
- 12). Itaoka N, Nagamatsu T, Schust DJ, Ichikawa M, Sayama S, Iwasawa-Kawai Y, Kawana K, Yamashita T, Osuga Y, Fujii T. Cervical Expression of Elafin and SLPI in Pregnancy and Their Association With Preterm Labor. *Am J Reprod Immunol*. 2015 Jan 5. doi: 10.1111/aji.12354. [Epub ahead of print]
- G. 知的財産権の出願・登録状況
該当無し。

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 確定診断のための液体尿を用いた CMV 核酸検査を体外診断用医薬品化するために、1)共同研究企業が PMDA と行った事前相談ならびに対面助言に関する内容の準備の支援、2)各施設より送付されてくるリスク新生児より採取した尿濾紙検体の検査実施による感染児の同定、また、3)尿検体の保存条件・期間が検査結果に影響しないことの確認などを行い、CMV 核酸検査法の体外診断用医薬品申請のために準備を順調に進めた。CMV スクリーニング検査法については、検査法としての諸条件の検討をさらに行った。昨年度確定した新濾紙はスクリーニング法には適するが、濾紙から DNA を溶出する 2 次検査においては、加熱溶出で感度が低下するため核酸精製用試薬を用いた方法を用いる方が良いことを明らかにした。さらに、CMV 及びトキソプラズマに対する IgG avidity 検査法について体外診断用医薬品化を進める共同研究企業の PMDA 事前相談内容の準備などを、核酸検査の経験をもとに支援した。また、抗原検査法開発の一環として、CMV 粒子が細胞表面に結合した場合に活性化することが知られる ISG54 遺伝子のプロモーターを持ち、活性化によりルシフェラーゼが発現する細胞クローンを作製した。

A 研究目的

先天性 CMV 感染に伴う障害は、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コマーシャル化し、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) 抗原検査法の基礎になる新たな検査法の開発を進める。

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。

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 プローブ、50ng サケ精子 DNA 加えた 25 μ l 反応液を用いて、50°C 2 分と 95°C 10 分の初期ステップ、95°C 30 秒 60°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(先行研究班での濾紙の場合)、もしくはそのまま(本研究班での新濾紙の場合)、鋳型としてリアルタイム PCR 反応に供する。新濾紙は、ADVANTEC 社と開発した特注品である。

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 プローブ、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°C 2 分と 95°C 15 分の初期ステッ

プ、95°C 15 秒 58°C 30 秒及び 72 °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. 尿濾紙を用いた 2 次検査

先行研究班での濾紙の場合には、濾紙より 3 ミリ径の濾紙片 4 枚をパンチにて打ち抜き、1ml の水で洗浄後、100ng サケ精子 DNA 加えた 50 μ l の水に濾紙片を移し、98°C 30 分処理後、溶出した DNA を回収して、リアルタイム PCR 反応に供した。

一方、本研究班の新濾紙の場合には、QIAamp DNA mini kit (QIAGEN)を用いて、DNA を濾紙より精製した。

(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、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(キアゲン、シノテスト、栄研化学)と薬事担当者も交え会議を重ねてきたが、PMDA との事前相談を各社が行う必要性が出てきた時点で、1 社(栄研化学)は準備が間に合わないとして、この作業から離脱したため、残り 2 社で以下の作業を進めた。

1) 臨床性能試験のデザインについて、PMDA の考え方を聞くために、シノテスト社は事前相談 2 回、対面助言 1 回を実施し、キアゲン社は、戦略相談 1 回、事前相談 1 回を実施した。そのために必要な諸資料の準備などを支援した。PMDA より指導を受けた主な事項は、適切な検体管理・医療施設と企業間の契約・前向き研究におけるリスク項目基準の選定と統一的運用・基準法ならびに保存検体の扱いについてであった。こうした指摘をもとに各施設と企業との契約・倫理委員会関係

書類の更新をお願いした。なお、キアゲン社については、PMDAの一部指摘事項への対応に米国より検査試薬・資料を取り寄せて社内で確認する作業を実施しているため、PMDAとのプロトコール確認のための2回目の相談ならびに対面助言は、来年度早々になる予定である。

2) PMDAの意見をもとに、リスク新生児500-1000人をスクリーニングし、可能な限り30名程度の感染児を新たに同定する前向き研究を実施することとし、東大、富山大、神戸大、長崎大、宮崎大で尿濾紙検体の収集を行い、すでに尿濾紙スクリーニング法が技術移転された神戸大・長崎大を除く3大学とその関連施設から当研究室に送付されてくる尿濾紙を用いて、到着後2日以内にCMVの核酸検査結果を出した。3月13日現在で、80検体中6検体(7.5%)でCMV陽性を確認した。この検査結果をもとに、担当施設が臨床性能試験に用いる液体尿を、親権者の同意をとって採取している。

3) 企業の核酸検査法との比較する標準法が、リアルタイムPCR法でよいのか、感度や簡便さに劣るが歴史的に標準法とされてきたウイルス分離法が要求されるのかが、対面助言でPMDAの正式見解を聞くまでは明らかでなかったため、当初、上記の前向き検査で陽性となった全施設の検体について、ウイルス分離を行った。東大関係2検体、神戸大学2検体についてウイルス分離できることを示した。また、藤田保健衛生大において治療中の2検体もウイルス分離を行い、臨床性能試験の「保存検体」に当たる検体として利用できるようにした。

4) 前向き研究で臨床性能試験に必要な数の感染児からの尿が確保できない事態が発生した場合、これまでの研究班のスクリーニング調査研究において採取した保存尿を、臨床性能試験への利用目的への同意をとって使用することとなるが、その際の検体保存条件の検査結果への影響の有無についてデータを用意しておくようにPMDAから指摘されたため、3種類の異なる陽性検体について4℃、-20℃、-80℃の3条件で長期に保存し、保存の影響を検討した。その結果、いずれの

条件でも1年弱の保存で陽性陰性の結果が変化することはなく、また、-20℃、-80℃に保存する限りにおいては定量的にも変化がなかった。4℃保存条件では、検体のひとつで、量が1/3程度に減少することが観察された。

5) CMV及びトキソプラズマに対するIgG avidity検査法の体外診断用医薬品化を進める共同研究企業のPMDA事前相談などの資料作成などにおいて、核酸検査のPMDAとの対応内容をもとに企業ならびに血清学検査関係の分担研究者とともに合計5回の会議を行い、内容の調整を図った。すでに1社は事前相談を実施し、もう1社も今年度内に事前相談を行う予定になっている。

2. 先天性CMV感染スクリーニングを目的とした尿濾紙核酸検査法の研究

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、コマーシャル化の障壁として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、昨年度に濾紙選定の再検討を行い、基材を変更するとともに食品添加物として登録された着色料で着色した新たな濾紙の試作品を完成させた。実際の新生児に使用する前に、保存材料20種類を用いて、この濾紙によるCMV検出感度と非特異反応を検討したが、これまでの濾紙に相当する感度・特異性が得られた。打ち抜いた濾紙をそのままリアルタイムPCRした場合に比して、濾紙からDNAを溶出した場合、感度が3倍程度よくなる。このため、コピー数が少ない検体で、陽性が疑われる検体については、従来は、濾紙からDNAを溶出し、溶出したDNAを用いて、リアルタイムPCRを行う方法を2次検査に利用してきた。このDNA溶出法を新濾紙についても検討したが、加熱法での回収率が悪かった。しかし、DNA精製試薬を用いれば問題が無いことが明らかになった。

現在、コマーシャル化のために共同研究2社での解析を進める一方、前項に述べた臨床試験用検体新生児での尿採取に使用して濾紙の大きさ

や厚みなど扱いやすさの点で現場としての利便性の最終検討がされている。

3. 抗原検査法開発の基礎検討

CMV 感染の場合、血液中のウイルス量は少ないため、尿や唾液を用いてウイルス同定をすることになるが、感度という点から考えると、現実的には核酸検査が最も優れていると考えられる。しかし、何らかの理由で、PCR 法におけるコンタミネーションなどが問題となる場合に、ウイルス分離や抗原検出法が必要になる。ウイルス分離は時間がかかることや検体採取から検査までに時間を要するとウイルスが失活する問題がある。一方、CMV の体液中のウイルス量を考えると他のウイルスで開発されているようなイムノクロマト法による迅速診断には無理があると思われる。そこで、1-2 日間でウイルス抗原を迅速に検出するような系として、ウイルス粒子が細胞表面に結合すると発現が誘導されるインターフェロン誘導遺伝子 54 (ISG54) に着目し、ISG54 プロモーターによりルシフェラーゼが発現される遺伝子構築を有するレポーター細胞株を作製することにした。まず、転写開始点から上流 876bp の領域を ISG54 プロモーターとしてクローニングし、一過性遺伝子発現系を用いて、CMV 添加に伴い活性化が起こることを確認した。次に、5'端ないし 3'端から順次プロモーターを欠失させた結果、転写開始点上流 17bp から 86bp の領域で十分な CMV 反応性があることがわかった。そこで、この約 70bp のプロモーター領域を持つレポータープラスミドを neo 耐性プラスミドとともに U373MG 細胞に導入し、約 50 の G418 耐性クローンを樹立しその中から反応性の良いものを選んだ。現在、この株を用いて CMV を添加した場合の感度や特異性を検討している。

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、PMDA との事前相談で指摘された事項を整理して臨床研究を進めることが重要と思われた。通常 300 人に 1 人 (0.3%) が先天性 CMV 感染率であるが、リスク新生児のみをスクリーニングすることで約 10 倍程度濃縮された 3% 程度の陽性率となると予想していたが、これまでの

陽性率はその倍程度であり、濃縮効果が確認された。当研究室から技術移転した 2 大学での陽性同定者を加えて約半年で 10 検体程度が入手できていることから、目標検体数にたどり着いて到達すると思われるが、現在までに検査された検体の絶対数は当初の予定数よりも少ないため、さらに多くの検体収集ができる体制を構築し、目標達成を確かなものにする必要があると思われる。

2. 新生児 CMV スクリーニングについては、2 次検査法で DNA 精製を要することが明らかとなったが、基本的には液体尿と同様な方法での精製であるため若干経費はかかるが大きな問題にならないと思われる。この結果、スクリーニング法については最終的に商業化できる目処がつつあり、臨床現場からのコメントを求めて、検査会社において早期に実施できるようにしたい。現在進行している前向き研究の結果を解析しつつ、NICU など特定の施設での調査を実施し、先天性感染のみならず、未熟児における CMV 感染症例にも適用可能か検討してみる価値があると思われる。

3. CMV による活性化に必要な ISG54 プロモーター領域が思いのほか狭い領域にマップされたため、今後 CMV による活性化の機序の研究に本研究の結果は寄与すると思われる。

E. 結論

- 1) 確定診断のための CMV 核酸検査について、臨床性能試験のための作業が順調に進行している。
- 2) CMV スクリーニング検査法の商業化の目処ができつつある。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kobayashi Y, Morioka I, Koda T, Nakamachi Y, Okazaki Y, Noguchi Y, Ogi M, Chikahira M, Tanimura K, Ebina Y, Funakoshi T, Ohashi M, Iijima K, Inoue N, Kawano S, Yamada H. Low total IgM values and high cytomegalovirus loads in the blood of newborns with symptomatic

- congenital cytomegalovirus infection. J Perinatal Med *In press*
- 2) Ebina Y, Minematsu T, Sonoyama A, Morioka I, Inoue N, Tairaku S, Nagamata S, Tanimura K, Morizane M, Deguchi M, Yamada H. The IgG avidity value for the prediction of congenital cytomegalovirus infection in a prospective cohort study. J Perinatal Med 42:755-9, 2014.
 - 3) Sakao-Suzuki M, Kawasaki H, Akamatsu T, Meguro S, Miyajima H, Iwashita T, Tsutsui Y, Inoue N, Kosughi I. Aberrant fetal macrophage/ microglial reactions to cytomegalovirus infection. Ann Clin Transl Neurol 1:570-88, 2014.
 - 4) Yamada S, Fukuchi S, Hashimoto K, Fukui Y, Tsuda M, Kataoka M, Katano H, Inoue N. Guinea pig cytomegalovirus GP129/131/133, homologs of human cytomegalovirus UL128/130/ 131A, are required for viral entry into monocytes and macrophages. J Gen. Virol 95: 1376-1382, 2014.
 - 5) Pereira L, Petitt 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 Infec Dis 209: 1573-84, 2014.
 - 6) Ishibashi K, Tokumoto T, Shirakawa H, Oguro T, Yanagida T, Takahashi N, Nomiya M, Haga N, Aikawa K, Tanabe K, Inoue N, Kojima Y, Suzutani T. The presence of antibodies against the AD2 epitope of cytomegalovirus glycoprotein B is associated with acute rejection after renal transplantation. Microbiol Immunol 58:72-5, 2014.
- 3) Ebina Y, Minematsu T, Sonoyama A, Morioka I, Inoue N, Tairaku S, Nagamata S, Tanimura K, Morizane M, Deguchi M, Yamada H. The IgG avidity value for the prediction of congenital cytomegalovirus infection in a prospective cohort study. 同上.
 - 4) Liao H, Lee J-H, Kondo R, Katata M, Imadome K, Miyado K, Inoue N, Fujiwara S, Nakamura H. The highly conserved human cytomegalovirus *UL136* ORF generates multiple Golgi -localizing protein isoforms through differential translation initiation. 同上.
 - 5) Kosughi I , Sakao-Suzuki M, Inoue N, Kawasaki H, Miyajima H, Iwashita T, Tsutsui Y. Aberrant macrophage/microglial reactions in the fetal cerebrum induced by cytomegalovirus infection. 同上.
 - 6) 井上直樹: 2つのヘルペスウイルスによる感染症に対する感染制御の違い:ワクチンの有るVZVと無いCMV. 大阪小児感染症研究会, 大阪, 2014年10月

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

2. 学会発表

- 1) Taniguchi R, Koyano S, Suzutani T, Goishi K, Ito Y, Morioka I, Nakamura H, Yamada H, Oka A, Inoue N. A single nucleotide polymorphism in the NKG2D gene is associated with clinical outcome of congenital cytomegalovirus infection at birth. The 39th International Herpesvirus Workshop, Kobe, July 2014.
- 2) Yamada S, Fukuchi S, Hashimoto K, Katano H, Sato Y, Inoue N. Establishment of an *ex vivo* culturing method for guinea pig placental tissues and analysis of virus spread in the tissues. 同上.

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
Sakao-Suzuki M, Kawasaki H, Akamatsu T, Meguro S, Miyajima H, Iwashita T, Tsutsui Y, <u>Inoue N</u> , Kosughi I.	Aberrant fetal macrophage/microglial reactions to cytomegalovirus infection.	Ann Clin Transl Neurol	1	570-88	2014
Pereira L, Pettit 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.	Idiopathic intrauterine growth restriction caused by cytomegalovirus infection and associated placental pathology.	J Infect Dis	209	1573-84	2014

他の研究分担者の先生の研究室が責任著者となっている共著論文、ならびに直接本研究事業と関与しないと判断されかねないものは記載していません。

分担研究報告書

妊婦血清におけるトキソプラズマ感染の評価

- Avidity 測定の標準化・臨床有用性の研究 -

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	講師

[研究要旨]

先天性トキソプラズマ (Toxoplasma; Toxo) 感染症は水頭症、網脈絡膜炎などを主徴とする。出生後すぐには症状が現れない場合も多い。日本では年間 1,000~10,000 人の妊婦が妊娠中に初感染を起こし、130~1,300 人の新生児が先天性トキソプラズマ感染症を発症していると推定されている。胎児に極めて重篤な感染症を引き起こすにもかかわらず、全妊婦に対するスクリーニング検査は行われていない。既存 IgM 検査試薬を用いた場合、疑陽性が多く妊娠中の初感染かどうかの判定は困難である。本研究では IgG Avidity を測定し、初感染時期を特定する。数社開発のキットによる結果の比較を行い、標準化することで一般検査としての拡充を目指している。保存血清 21 例について 2 社製キットを用いてトキソプラズマ IgG avidity を測定し、比較検討を行った。14 検体 (67%) では判定が一致したが、4 検体 (19%) では一方のキットで判定保留となり、3 検体 (14%) では判定結果の相違が認められた。各社により測定原理や判定基準が異なるため、検査キットとしての一般化に際しては検査結果の標準化が求められる。

A. 研究目的

Toxo は原虫の一種であり、哺乳類・鳥類・爬虫類（一部）に感染する。ヒトへの感染はネコ糞便・土壌・野菜・生肉等を経口摂取することで成立する。健常人においては無症状もしくはリンパ節腫脹等の症状しか示さないため、感染が重大視されることは極めて少ない。しかし TORCH 症候群の病原体の 1 つであり、妊娠中の初感染は胎児への高率な垂直感染の後、水頭症・網脈絡膜炎・精神発達遅滞などを引き起こす。

初感染か否かを判別する Toxo IgM 抗体検査は一部の妊婦においてしか実施され

ていないのが現状である。しかも Toxo IgM 陽性が 1 年以上続く例も存在し、妊娠中の初感染かどうか判定するには不十分である。感染直後には低値である IgG の結合能力 (IgG Avidity) は経時的に増強する。IgG Avidity の測定により初感染時期を正確に同定することが出来れば、より適切な抗原虫薬 (アセチルスピラマイシン) の投与、感染リスク時の特定並びに感染児のフォローアップが容易となることが期待される。IgG Avidity 検査試薬は数社で研究用に開発・販売されている。スクリーニング検査に用いるには各社キット間の標準化が必要である。

B. 研究方法

1. 先天性 Toxo 感染児血清

帝京大学附属病院（川名尚客員教授）より提供された保存検体 21 例を用いた。検体は既に養育者よりインフォームドコンセントを取得済みである。

2. 2社キットによる Toxo IgG Avidity の測定

Toxo IgG Avidity 測定には、Platelia Toxo IgG Avidity (Bio-Rad 社) と Architect Toxo IgG Avidity (Abbott 社) の 2 キットを用いた。Bio-Rad 社製キットは Toxo 抗原と反応した抗体を尿素含有洗浄液で処理後、残存した高結合能な抗体を測定する「尿素洗浄法」である。Abbott 社製キットは最初に抗原と結合した高結合能な抗体を除去し、残存した低結合能な抗体を測定する「競合法」である。全 Toxo IgG における高結合能を有する抗体の比率は Avidity index (%) で表される。判定基準は、Bio-Rad 社製キットでは～40%が低値 (L: low)、40～50%が判定保留 (G: grayzone)、50%～が高値 (H: high) である。Abbott 社製キットでは～50%が低値 (L: low)、50～60%が判定保留 (G: grayzone)、60%～が高値 (H: high) と判定される。

C. 研究結果

保存血清 21 例について検討を行った。両キット間で結果が一致したのは 14 例であり、内訳は低値 8 例、高値 6 例であった。一方のキットで判定保留となるのは 4 例であり、内訳は G (Bio-Rad) -L (Abbott) と L (Bio-Rad) -G (Abbott) が 1 例ずつ、G

(Bio-Rad) -H (Abbott) が 2 例であった。3 例では L (Bio-Rad) -H (Abbott) となり、2 キット間で判定が異なった。

D. 考察

Bio-Rad 社製と Abbott 社製キットでは測定原理が異なるが、21 例中 14 例 (67%) では判定結果の一致が認められた。4 例 (19%) では一方のキットで判定保留となっており、キット標準化に伴って判定基準を再考出来れば、各社キットの grayzone を狭くすることが出来るかもしれない。Bio-Rad 社製キットに比して Abbott 社製キットでは測定値が大きく算出される傾向にあるが、判定基準も 10%大きく設定してあるため問題は無いと考えられる。3 例 (14%) については判定結果が一致しなかった。欧州医薬品庁 (EMA) 認可済みである VIDAS Toxoplasma IgG Avidity (SysmexbioMerieux 社) を用いた再考も必要である。

E. 結論

先天性トキソプラズマ感染における保存血清 21 検体について、Bio-Rad 社製と Abbott 社製キットを用いてトキソプラズマ IgG Avidity を測定した。14 例 (67%) では判定結果が一致し、4 例 (19%) では一方のキットで判定保留、3 例 (14%) では判定結果が一致しなかった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表
なし

2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

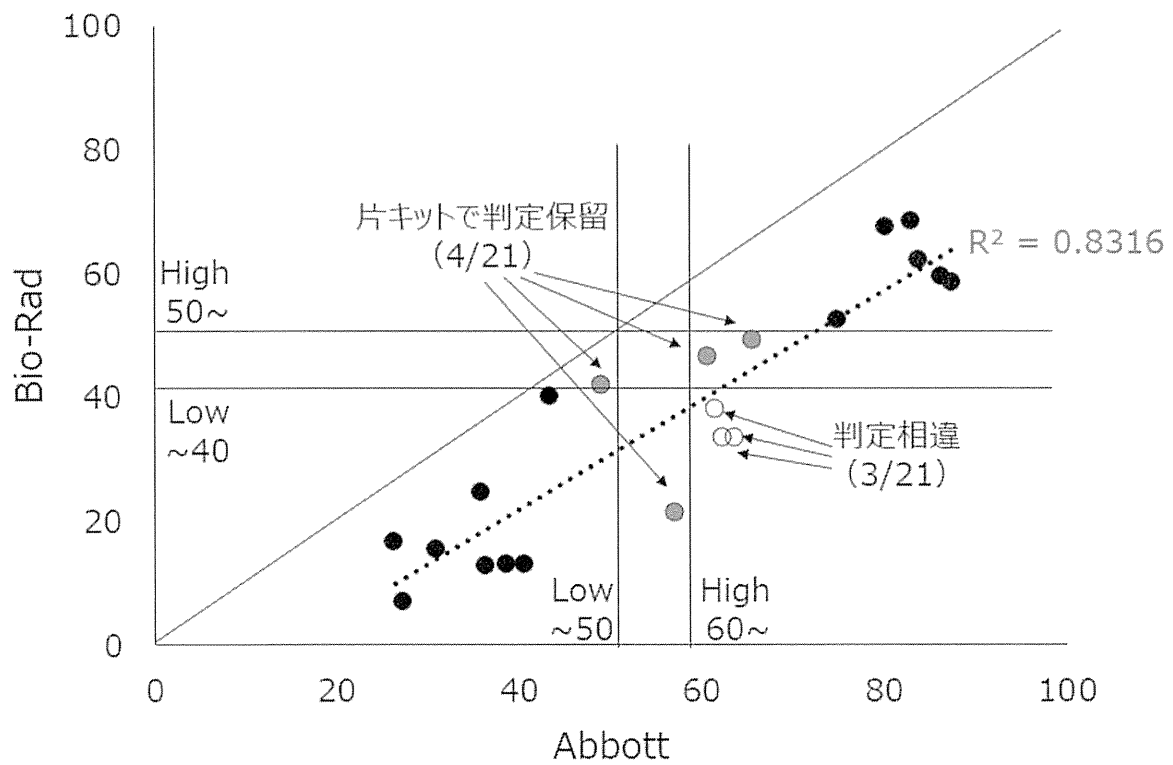


表 1. 先天性トキソプラズマ感染における IgG avidity 検出

2 社キットの比較

血清学的スクリーニング体制の構築に向けた現時点における抗体測定の問題点

研究分担者 峰松俊夫 愛泉会日南病院疾病制御研究所長

研究要旨

先天性サイトメガロウイルスおよびトキソプラズマ感染症において、その診断基本は胎児および新生児の所見診断と病原体診断である。しかし、病原体診断においては、検体採取における倫理的問題、検査に要する時間、検査施設のバイオセーフティレベル、分離培養検査と核酸検出診断での意義の違いなどの問題点がある。したがって、現在もなお母体や児の病原体に対する宿主反応、すなわち免疫反応の有無を指標とした血清学的診断が感染症診断において重要な役割を担っている。血清学的検査法の特長について把握したうえで、より確実な先天性感染症の血清学的診断を行うことが必要である。

A 研究目的

サイトメガロウイルス(CMV)は身近なありふれたウイルスである。妊婦を含む正常な宿主においてはCMVが感染しても発症することは稀である。しかし、易感染性宿主である胎児ではしばしばCMV感染症を引き起こす。しかも妊婦がCMV初感染の場合に胎内感染が起こると、妊婦が既感染の場合と比較して、より高頻度により重症の先天性CMV感染症児が出生する。したがって、妊婦が初感染なのか既感染なのか、CMV感染状態を知ることが先天性CMV感染症対策として重要である。

妊婦のCMV感染状態の診断にはウイルス学的診断と血清学的診断が行われるが、一般的に血清学的診断が行われることが多い。本邦成人の約7割以上はCMV既感染であるため、CMV感染症の血清診断は慎重に行う必要がある。抗体陽転とともにIgM抗体を証明すれば初感染とみなしうるが、本邦のCMV感染症においてそのような例は稀である。また、抗CMVIgM抗体は初感染、再感染、回帰感染のいずれでも検出されうるものの、感染症の経過中に抗CMV IgM抗体が

全く検出されない例も多い。一方、抗CMV IgG抗体の検索においては、抗体価の有意上昇の判定にペアー血清の同時測定が必要である。そのため、IgG抗体の一回測定ではCMV感染症の補助的診断としての意義を持つに過ぎない。

近年、CMV感染の初期にはCMV抗原に対して低結合力(low-avidity)のIgG抗体が産生され、感染の経過にしたがって、しだいに高結合力(high-avidity)IgG抗体が産生されることが知られるようになった(Blackburn N. K. et al. : J. Med. Virol. 33:6-9, 1991)。つまり、IgG抗体のavidityを測定することで、妊婦が初感染なのか既感染だったのかの推定が可能とされた。前述のように妊婦の感染時期を推定することは先天性CMV感染症の成り行きを考慮する上で重要な情報である。

本研究でCMV IgG抗体 avidity indexを測定するうちにさまざまな問題点が明らかとなった。今回はそれらの問題点を取り上げることを研究目標とした。

B. 研究方法