

妊婦のサイトメガロウイルス感染に関する研究

矢吹朗彦, 干場勉, 朝本明弘, 西本秀明

要約: 1. 1987から1992までに石川県立中央病院産婦人科を訪れた妊婦のサイトメガロウイルス (CMV) 抗体保有率は, 80.4%であった. CMV抗体陰性の増加は, 若年層に著名であった. この傾向は, 妊娠中の初感染の増加の可能性を示唆するものである.

2. 妊娠中のCMV初感染2例をELISA法による抗体測定とPCR法を用いた遺伝子検出によって診断した. しかし, 両検査法とも実用化にはさらに検討が必要と思われた.

3. ELISAの半定量性について検討し, 検査データ評価方法として導入可能と判断した.

見出し語: サイトメガロウイルス, 妊娠, 胎内感染, ELISA

【研究方法】 地域, 年代によるCMV抗体保有率の差, CMV感染の診断, 抗体価の評価を, CF法, ELISA法, PCR法を用いて研究した.

【結果】

1) 妊婦のCMV抗体保有率の欧米化傾向?

千葉らによる札幌市でのCMV抗体保有率は, 96.0% (1986)であり, 仙台市を中心とした沼崎の報告では, 1977から1986年までの調査で99.1~93.5%と年度による変動は殆ど無い.

図1は, 当科 (金沢市) を訪れた妊婦の妊娠初期CMV-CF価である. 全抗体保有率は, 80.4%である. 中でも若年層 (10代~

20代前半) の抗体陰性者は36.3と26.7%である. このデータを昭和20年から5年ごとに並べ変えてみると, 妊婦の抗体保有率の減少傾向が明確となる (図2). 図3は, 出産回数と抗体保有率の関係を見たものである.

我々は, CF価×4を陽性として取り扱ったが, これには検者の主観がはいるためデータから除くと, さらに欧米化の傾向が伺われる. ちなみに1985年に調査した当科での妊婦CMV抗体保有率は, 90.3%であり, 同時に調査した看護学生の同率は, 84.2%であった. この時よりすでに若年者低率の傾向はあり, 年と共に若年層も含めた妊婦の抗体保有の低下は疑う余地はない.

CMV巨細胞封入体症CIDは, 妊婦の初感染で発症することが多い. 現代の性習慣の変化と性交渉開始の若年化といった状況でのCMV抗体保有率の低下は, CID発症を危惧させる.

石川県立中央病院産婦人科

しかし、CMV感染の特徴は、持続感染ウイルスの再活性化に伴う子宮内胎児感染による異常児の出生であり、この問題をより正確に把握する研究を同時に進めることが必要であろう。

2) 妊娠中のサイトメガロ初感染の診断

妊娠中のサイトメガロウイルス (CMV) の初感染は、児の巨細胞封入体症の誘因の可能性があり、妊娠中の正確な診断が必要となる。更に、胎内感染は妊娠初期に多いとされるため、風疹と同様に感染日の推定は重要となるろう。

次の2症例 (A ; 1980年, B ; 1991年症例) は、妊娠中にCF陽転した例で、ELISAを用いて抗体の推移を追跡したものである。ウイルスの同定は、HELを用いたウイルス分離と共にPCR法によりCMVゲノムの証明によった。

ELISAによるIgM, IgG抗体の検出には、デンカ生検キット (キャプチャー法) とエンザイグノスト (間接法) と自家製 (間接法) のELISAキットを用い半定量した。PCRは、pp71遺伝子領域をコードしたヤトロン社製のプライマーを用い、その産物は電気泳動後サザンハイブリダイゼーションにて検出同定した。B例では2週間隔で母体採血するとともに、2回の臍帯穿刺 (34, 37週) と分娩時の臍帯血より胎児血を得た。図4は、自家性キットを用いたA例の抗体価の推移を示す。A例でのIgM, IgG抗体は風疹に見られる免疫抗体の推移と同じ傾向を示し、妊娠初期の感染が疑われた。B例 (図5) では、CF陽転後の母体および臍帯血の全検体からCMV-IgG抗体が検出された。IgM抗体は臍帯血では全て陰性で

あったが、母体血ではキャプチャー法 (下段) では陽性、間接法 (上段) では陰性であった。図6は、妊娠37週時に行ったPCR法である。母体の尿と血液および羊水と臍帯血からウイルスゲノムが検出された。ウイルスは母体尿から分離されたが、新生児尿からは分離されなかった。この結果よりB症例では、CMVの母体初感染はあったが、胎児感染は否定された。しかし、IgM抗体の検出結果はキットで異なり、キャプチャー法は間接法に比較して、陽性期間が長く観察される傾向があった。そのためキャプチャー法では偽陽性を、間接法では偽陰性を示す恐れがある。臍帯穿刺血を用いたPCR法によるウイルスゲノムの検出は、穿刺の際の母体血の混入による偽陽性である可能性がある。結論的には、現状ではELISA, PCR法ともに臨床的実用化については検討されるべき問題を残す。

3) ELISAには半定量性があるか?

ELISAの欠点は、定量性に欠けるところにあると言われてきた。図7は、CMVと風疹血清のELISA測定値で、横軸に倍希釈法での最終陽性倍数値を、縦軸に100倍希釈での吸光度値を取ったものであり、両者の間には $P < 0.01$ で相関関係を見た。これはELISAの一点測定にも半定量性があることを示すものである。しかし、抗体価の極度に低い場合や高い場合は、適的な希釈倍数を選ばなければ、正確な相関性は得られぬ。以上ELISAの半定量は一般検査値の評価法として導入し得る可能性があり、実用性も高い。

厚生省：母子感染防止に関する研究、平成4年

図 1. 妊娠初期のCMV-CF抗体価 (87.4-92.12)

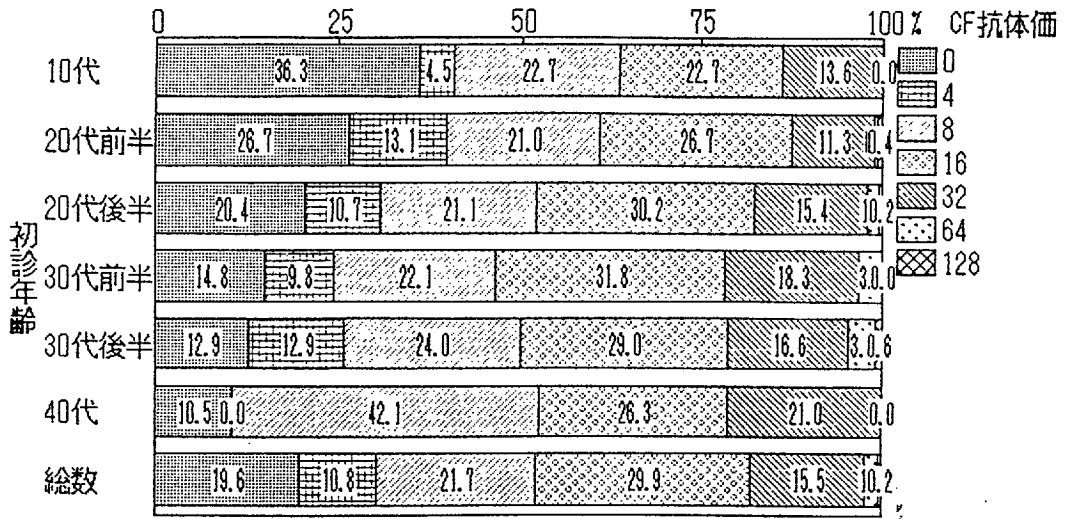


図 2. 初産妊婦の生年別のCMV-CF抗体価構成比(87.4-92.12)

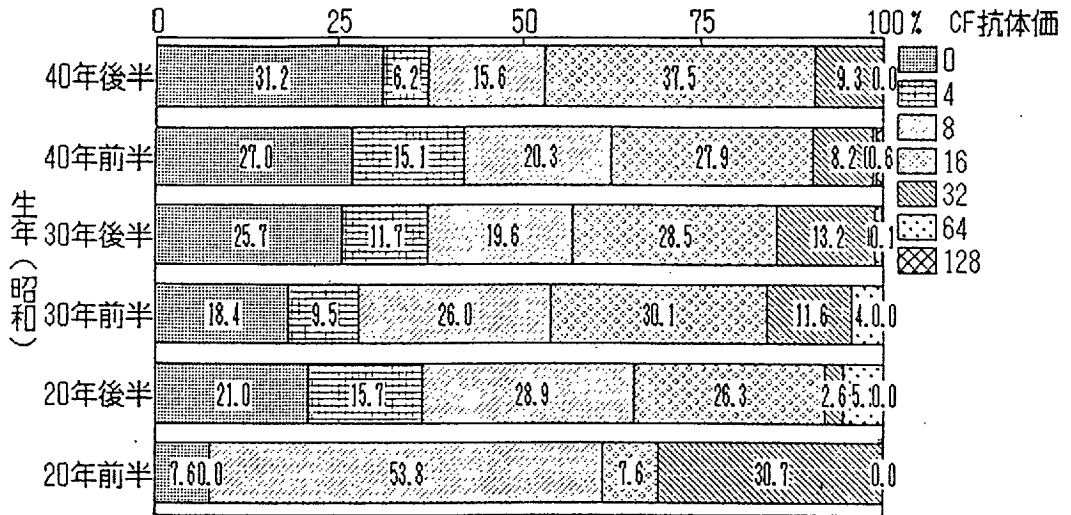


図3. 出産回数別のサイトメガロウイルスCF抗体価 (n=2,701)

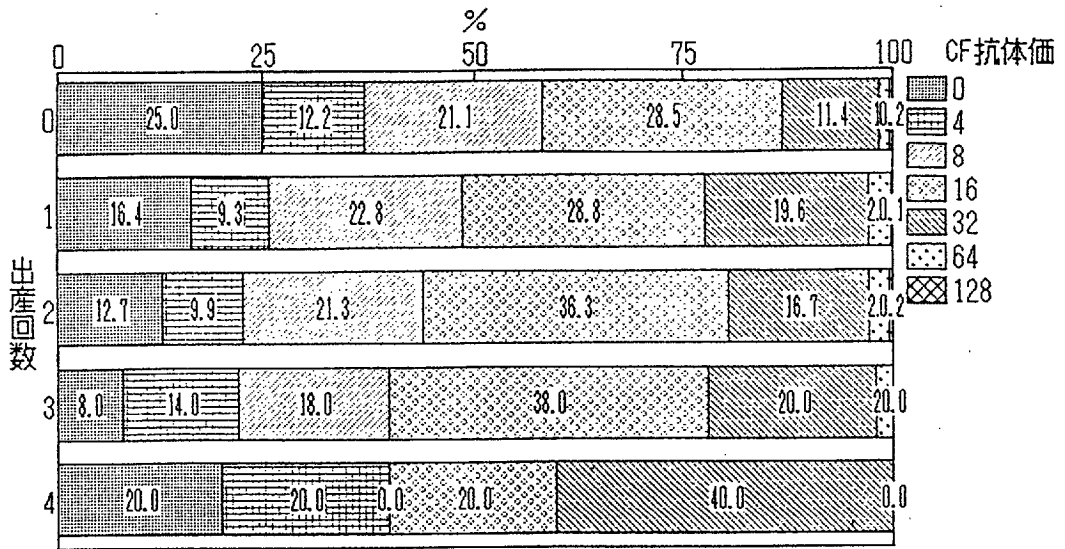
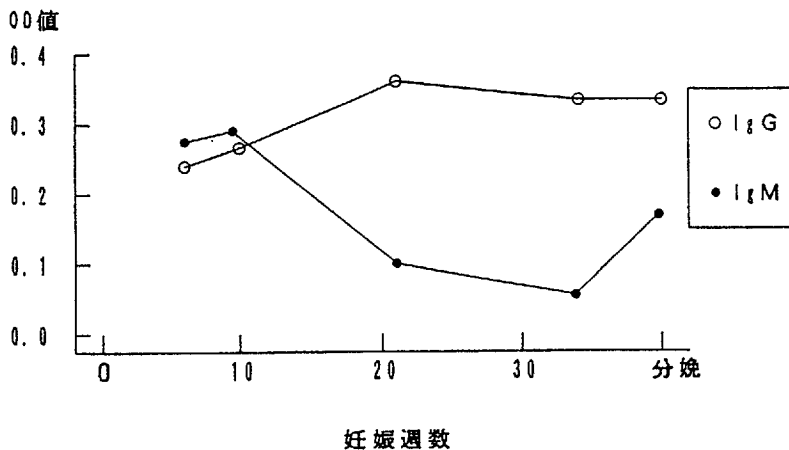


図4. サイトメガロウイルス初感染妊婦 (A例) のウイルス特異的抗体の推移



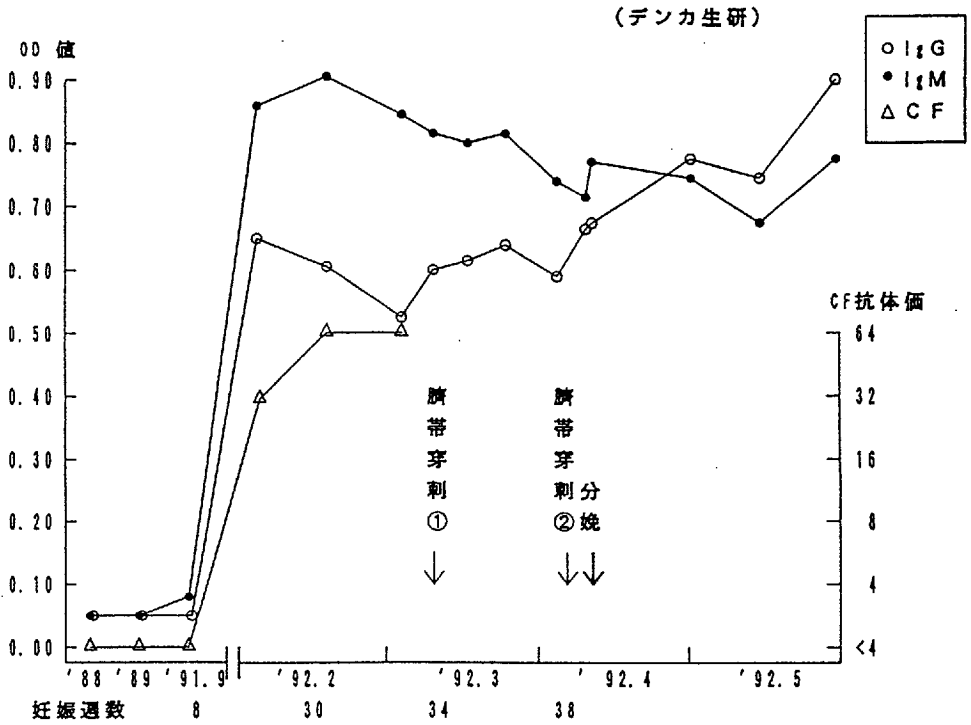
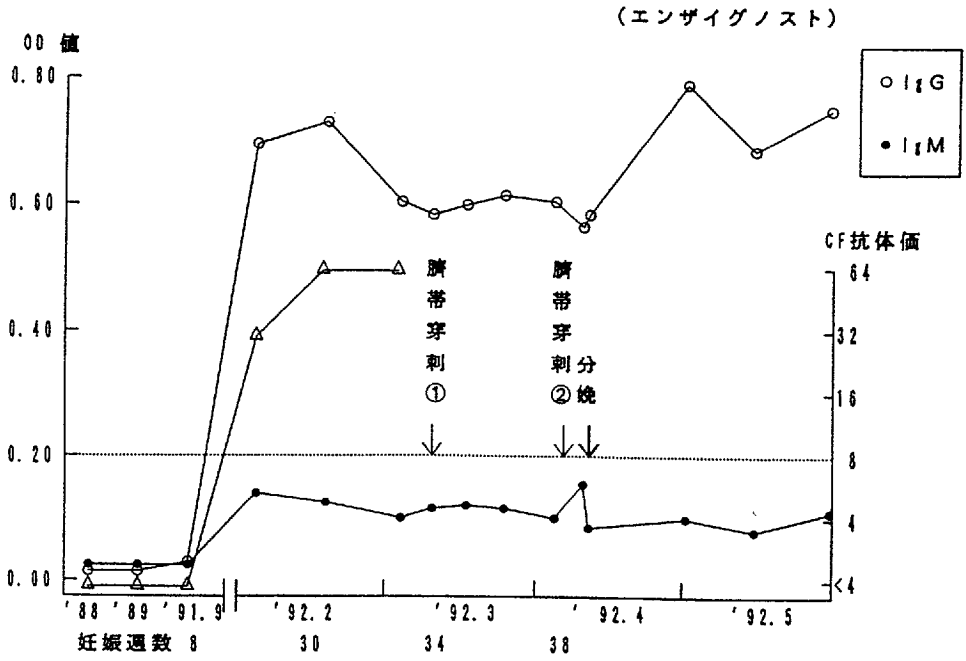
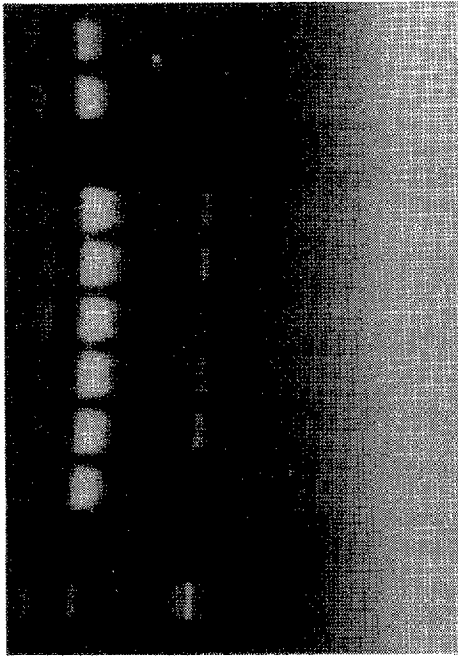


図5. サイトメガロウイルス初感染妊婦 (B例) のウイルス特異的抗体の推移



1. DW
 2. MRC-5
 3. Blank
 4. 羊水(上清)
 5. 羊水(細胞)
 6. 母体尿
 7. 母体血
 8. 臍体血
 9. 尿
 10. Blank
 11. HCMV(Positive cont.)
- Negative cont.
 3/10/92 (S.I.)

↑
316 bp

図6. 症例Bの妊娠37週における胎児及び母体検体からのサイトメガロウイルス遺伝子のPCR法による検出

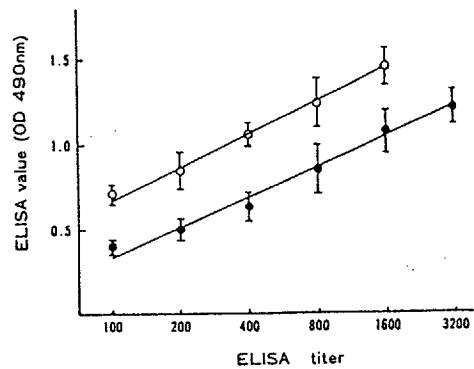
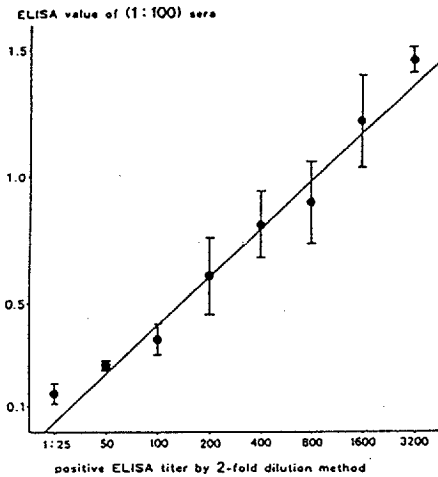


図7. ELISAによる半定量の証明横軸に倍倍希釈による最終陽性点を、縦軸に100倍希釈での吸光度を取った。両者の間には $p < 0.01$ の相関関係が成立した。左側がサイトメガロウイルス、右側が風疹患者血清、● IgG, ○ IgM

風疹抗体検査の現状に関する研究

干場 勉・矢吹朗彦

要約：妊娠中の風疹感染を証明する際に用いられる風疹H I抗体及びIgM抗体検査の現状を検討した。H I抗体検査調査では以前のような低い抗体価は見られないが、施設によりばらつきが大きい時があり、抗体価を統一化する努力が必要と考えられた。また、過去の文献的考察を含め非特異的凝集素の除去法であるカオリン、アクリノール、アセトンの3処理による初感染時の獲得抗体価にはほとんど差がなかった。さらに加齢より抗体価が低下する所見は見られなかった。IgM抗体検査ではキット差が大きく平均的症例でも発病後約半年間も陽性となるものもあれば、1か月以内に陰性となるものもあり、キットを考慮に入れた解釈が正しい診断には必須であり、臨床医に多数例の検体でのキットの成績が示す必要性があると思われた。

見出し語：風疹、H I抗体、IgM抗体

【研究方法】 1. 風疹H I抗体価検査の現状について調査するため大手検査会社5社に初感染患者血清等を送付し、そのH I抗体価を測定した。また紹介医の抗体価と当院との比較を行うとともに、問題ある臨床症例を検討した。

2. 今までのH I抗体検査を多数例に行った文献を比較し、その抗体価から特に非特異的凝集素の除去方法についての検討を行った。

3. 年齢と風疹獲得抗体価の比較を行った。

4. 風疹IgM抗体の測定の現状を見るため、大手検査会社5社に送付した初感染患者血清の測定結果を検討した。

【結果】 1. 大手検査会社5社における1992年の風疹H I抗体検査結果では初感染例、及び遠い過去の感染例の抗体価の比較を示したが、1管の上昇あるいは低下が時に見られるのみで、ほとんど各検査施設においては同じ様な抗体価を示していた(表1)。これをほとんどの施設において低い抗体価が示された1988年の結果(表2)と比較すると改善された事が良く分かる。しかし、一般の検査として提出された場合はどのような値を示すかが問題である。そこで最近の紹介医と当院との抗体価比較を行うと、表1、2とほぼ同じ様な結果であったが、2管

表1. 1992年における風疹HI抗体価検査結果

症例	発病後 日数	当院	予研	デカ 生研	A	B	Δ 1管上昇 ▽ 1管低下		
							C	D	E
1	小児期 感染?	128	-	-	128 * 256Δ	128	128	128	128
2	9	256	256	-	256	256	256	256	256
	55	256	-	-	256	256	256	256	256
3	156	128	128	128	64▽	128	128	64▽	128
4	10	1024	-	-	1024 *1024	2048Δ	1024	1024	2048Δ
5	33	256	-	256	256	256	256	256	256
	58	128	-	128	128	256Δ	128	128	128

使用血球 ヒ生 ガ生 ガ生 無回答 ガ ガ生 ガ生 ガ
 *: 他医院からの一般外注検査結果、症例1: 感染直後でない中等度抗体陽性例、症例2、3、5: HI反応が弱い症例、症例4: 平均的なHI反応の例

表2. 1988年における風疹HI抗体価検査結果

発病後日数	予研法	▽ 2管以上低下 ▽ 1管低下				
		A	B	C	D	E
前	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8
0	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8
6	1024	256▽	256▽	256▽	256▽	128▽
13	1024	256▽	256▽	512▽	256▽	128▽
24	512	256▽	256▽	256▽	256▽	128▽
39	512	256▽	256▽	256▽	256▽	128▽
53	1024	256▽	256▽	256▽	256▽	64▽
81	1024	256▽	256▽	256▽	256▽	128▽
94	512	256▽	256▽	256▽	256▽	128▽
124	512	256▽	256▽	256▽	256▽	128▽
167	512	256▽	256▽	256▽	256▽	64▽

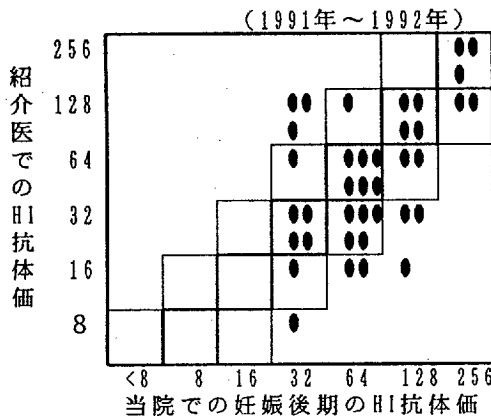


図1. 紹介医(妊娠初期)と当院(妊娠後期)のHI抗体価の比較

表3. 検査施設でHI抗体価に違いが見られた1例(1992年)

日付	某医師会	某県衛研	当院	B社	D社
5.29	2048	-	-	-	-
6.5	-	256	-	-	512
7.3	-	256	-	1024	2048
7.28	-	-	-	-	2048
8.20	-	-	256	-	-

離れたものも見うけられた(図1)。実際D社では512～2048倍、B社では1024倍、某医師会では2048倍、某県衛研は256倍で、当院の検査では256倍と2倍以上の違いを示したを症例が見られた(表3)。

2. 風疹初感染患者の抗体H I抗体価について、カオリン処理によるものでは植田らの成績(風疹H I抗体の自然歴から見た風疹血清診断のポイント、小児科診療、39:1364, 1976。)

(図2)、及び風疹抗体測定キットメーカーのデンカ生研社での成績(1988)(図3)、アクリノール処理による須藤の成績(風疹免疫検査における基本要項とその解釈における問題点。産婦人科の実際、32:585, 1983。)(図4)、またアセトン処理による当院での結果(図5)の4者には獲得抗体価においてほとんど差は見られなかった。また、カオリン処理により偽陽性が時に示されることが示された(図6)が、アクリノールやアセトンではほとんど見られず、この2者は同様の所見を示すことが示されている(血球凝集抑制反応-風疹、総合臨床、31:425, 1982。)

3. 当院での年齢と獲得H I抗体価との比較(図7)では、両者に相関は見られず、加齢とともに抗体価が低下する所見はなかった。

4. 陽性下限値を1として換算した大手検査会社5社の風疹IgM抗体の推移(図8)では、S社、M社が用いている最近のルベラIgM生研は当院で1987年に用いたものとは仕様が異なり、非常に長期間にわたって陽性を示し、また土の期間も平均的症例である症例3でも半年以上続いていた。またB社のエンザイグノストではキ

ット推奨の血清希釈倍数より高い100倍希釈の価であるが、1～4か月間の短期間に陰性化するが、反応の弱い例では1か月以内に陰性化するものも見られた。自社製のはルベラと同じ傾向であったが、再上昇が見られた。また長期間陽性を示した症例5の値(図9)はR社が3か月、B社は4か月で陰性となったが、その他のキットでは1年以上陽性を示した。

【考察】 1. 最近の検査施設のH I抗体価から見ると、ほぼどの検査施設においても調査時の検査のように注意を行えば、ほとんど同じような結果が得られるようである。しかし、一般の検査となるとやはりそのばらつきが大きい時があり、結局は試験者の主観も大きく作用しているので、いまだにH I抗体価を統一化する指導を行政面で強く進める必要性が痛感された。また、表3の結果を見ると以前の低い抗体価からの反動か、検査所によっては安易に高い抗体価がつけられているのかもしれない。

2. どの非特異的凝集素の処理方法によっても、風疹初感染時の獲得抗体価はほぼ同様であり、約1週間ほどで256倍以上の高い値を示す事が判明した。従って初感染時に128倍という低値を示す事はまれであり、表2のような各社の成績がでる事は異常な事態であったことがわかる。妊婦の検査の際には二度とこのような事がないように、各施設では正しい抗体価が示されるよう努力するべきである。

また、非特異的凝集素の除去方法で問題となるのは偽陽性の例であるが、本邦のほとんど全部の施設で用いられているカオリン処理の場合

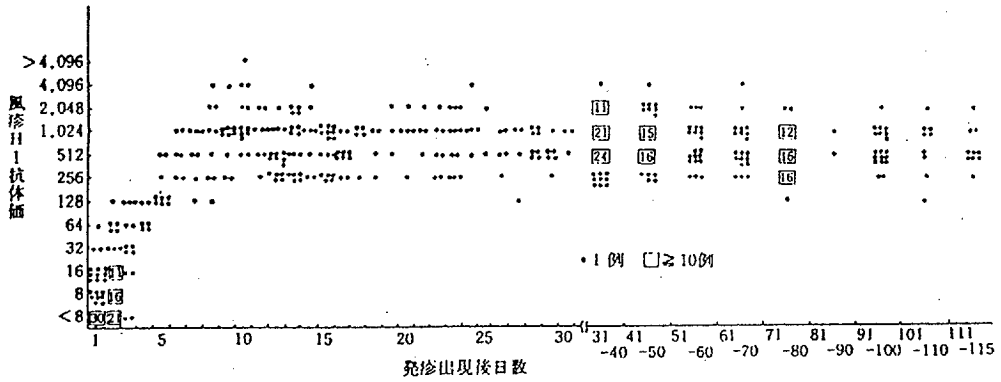


図2. 風疹罹患者後の風疹HI抗体価 (カオリン処理, 植田ら, 1976)

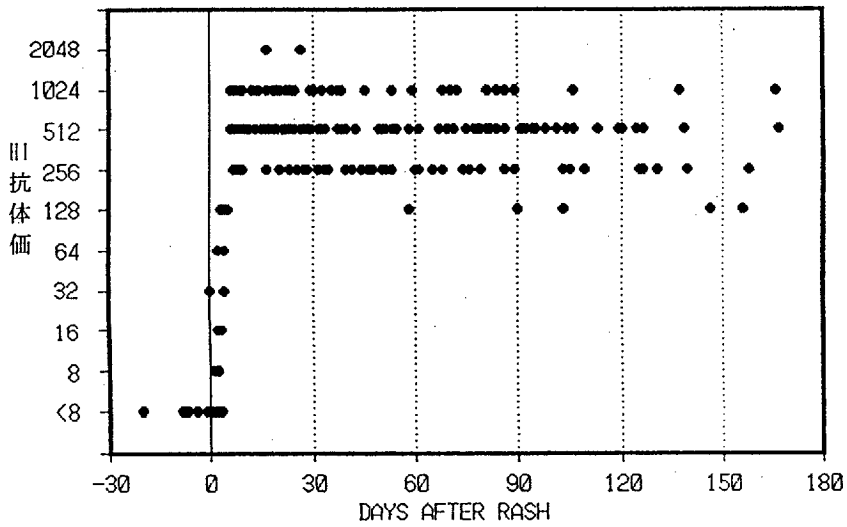


図3. 風疹罹患者後の風疹HI抗体価 (カオリン処理, デンカ生研, 1987)

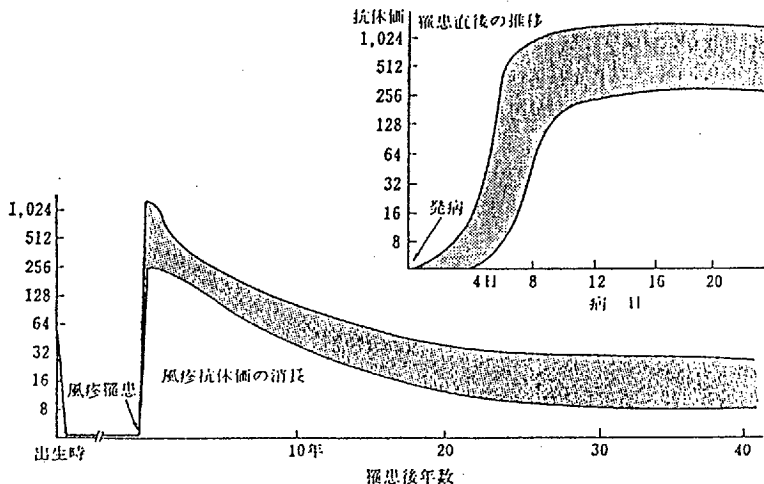


図4. 風疹HI抗体価の推移 (アクリノール処理, 須藤, 1983)

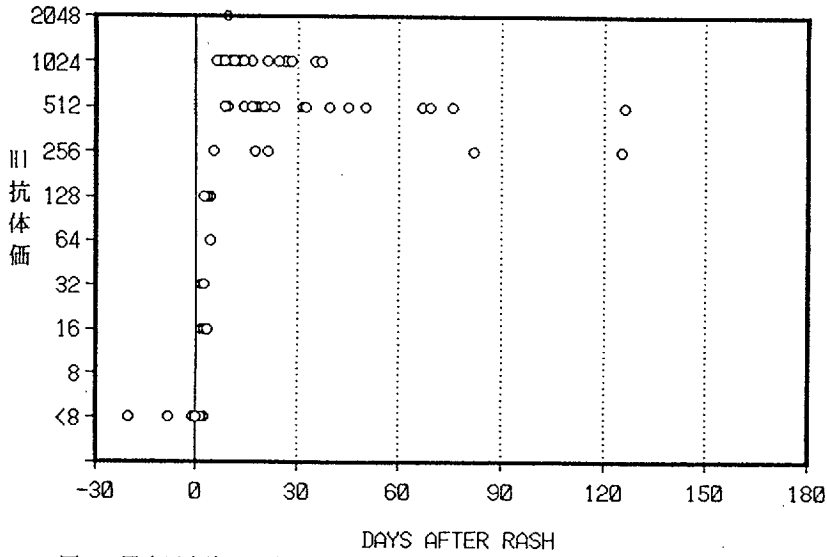


図5. 風疹罹患後の風疹HI抗体価 (アセトン処理, 当院, 1987)

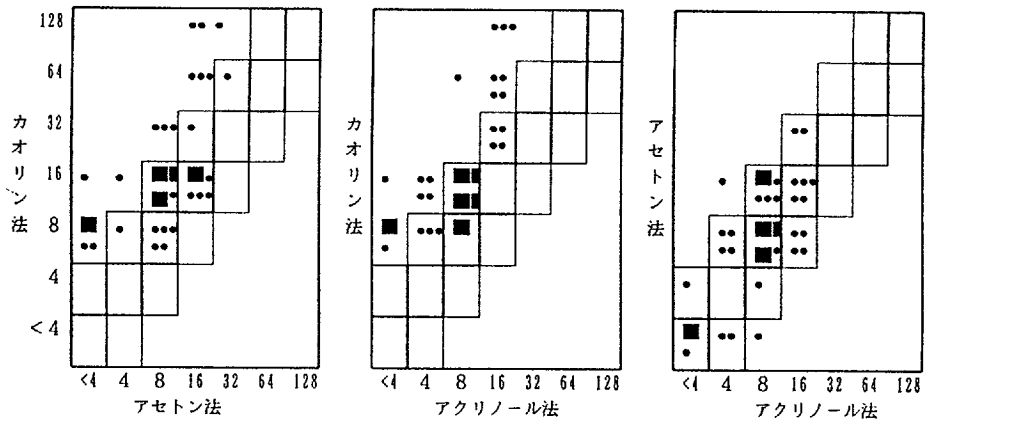


図6. 血清前処理法による風疹HI抗体検査成績の比較 (南谷, 1982)

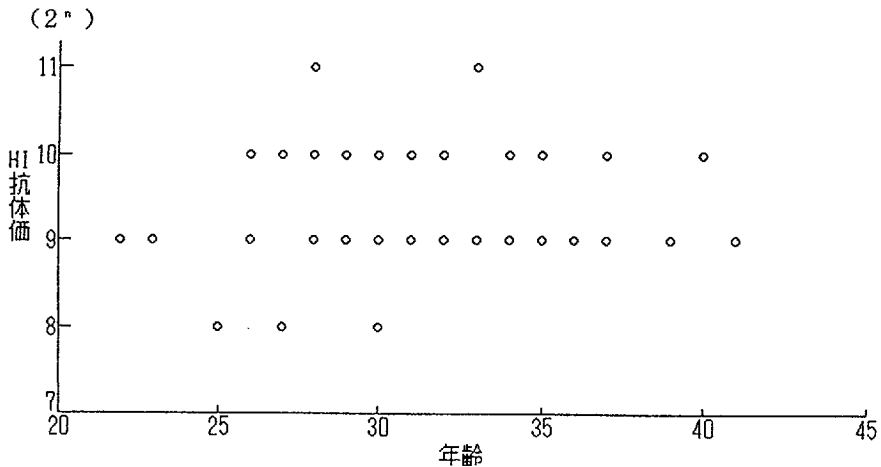


図7. 風疹初感染患者の年齢と獲得風疹HI抗体価との比較

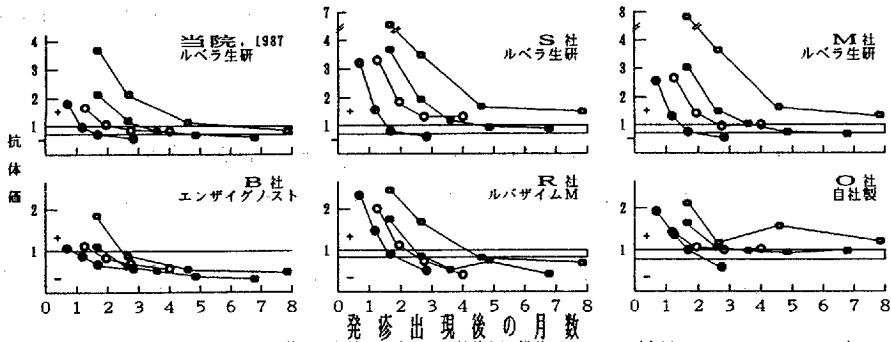


図8. 陽性下限値を1に換算した各社の風疹I g M抗体価の推移 (症例1・, 2・, 3・, 4・) □±

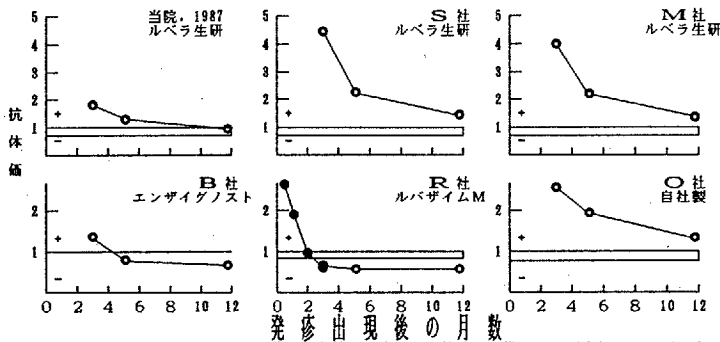


図9. 陽性下限値を1に換算した各社の風疹I g M抗体価の推移 (症例5・, 別測定・) □±

には注意を要し、その製品管理にも努力が支払われるべきである。偽陽性はELISAでのI g G抗体陽性で確認されるが、そのためにも血清保存が重要である。そしてHI抗体価の低い値のときにはその後の抗体価の推移を見るとともに、ことあるごとに機会をとらえてワクチンを接種することが勧められる。

3. 大人が風疹に罹患した場合にその値が低くなるのではないかという恐れは無いようである。これは今までの小児科領域での抗体価が大人とほぼ同値を示していることから推定される。

4. ルベラ生研は平均でも約半年は陽性から±という臨床的には危険と受け取られる結果を示すことが判明した。これでは妊娠前の感染でも妊娠後のものと誤診され、無用な中絶がな

される可能性がある。また、逆にエンザイグノストではこの検査施設が希釈倍数の高い検査法を用いているせいもあるが、早期に陰性となることが示された。1か月以内で陰性となるようでは、妊婦が妊娠してから受診までが1か月以上あることを考慮すると、感染を正しく捕らえられないという心配な面がある。すなわちI g M抗体測定による判定は、現状では測定キット差を考慮しないと全く違った解釈となることも起こり得る。多数の検体によるキットの調査結果が一般の検査報告とともに示されるように、今一度調査が望まれる。

文献

1) 干場 勉, 矢吹朗彦: 風疹. 産婦人科の実際. 40:939, 1991.



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



要約:1.1987 から 1992 までに石川県立中央病院産婦人科を訪れた妊婦のサイトメガロウイルス(CMV)抗体保有率は、80.4%であった。CMV 抗体陰性の増加は、若年層に著名であった。この傾向は、妊娠中の初感染の増加の可能性を示唆するものである。

2. 妊娠中の CMV 初感染 2 例を ELISA 法による抗体測定と PCR 法を用いた遺伝子検出によって診断した。しかし、両検査法とも実用化にはさらに検討が必要と思われた。

3. ELISA の半定量性について検討し、検査データ評価方法として導入可能と判断した。