

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：先天性難聴に対する保存臍帯を用いた胎内先天性風疹ウイルス感染検索方法の新規開発
2. 研究開発代表者：国立研究開発法人 国立成育医療研究センター耳鼻咽喉科 守本倫子
3. 研究開発の成果

**背景：**先天性風疹症候群（CRS）の90%以上に難聴を伴うとされ、特に妊娠5ヵ月以降の感染では難聴のみを呈することが知られている。風疹感染は30%は不顕性感染とされているため、妊娠中に罹患に気づかれず、出生直後も難聴のみを呈する潜在的な CRS 児が存在する可能性が指摘されている。妊娠中の経胎盤感染は出生直後なら尿検査などで診断可能である。しかし時間が経過してからの診断は困難なことが少なくない。本研究では出生から時間が経過してしまった先天性 CRS 症候群を疑う症例に対し、臍帯で母胎ウイルス感染を証明する方法を確立することを目的とした。

**目標：**申請者らは、保存された乾燥臍帯に着目し、RNA を抽出することにより、RNA ウイルスである風疹ウイルスの特異的遺伝子を同定することに成功した。そこで、本研究開発においては

- 1) 本手法を発展させ、乾燥臍帯から高い抽出効率を保ちながら短時間で確実に RNA の抽出が行えるような技術開発
  - 2) 得られた RNA 中の風疹ウイルス RNA を増幅し、風疹ウイルス遺伝子の型識別が確実にできるような技術開発
- を行うことを目的とした。

また、これらの技術を用いて

- 3) 原因不明とされている先天性難聴児の中から潜在性の CRS 児を検索すること
- 4) CRS の臨床像を明らかにし、難聴の予後や将来の社会活動の可能性などについて明らかにすることを目的とした。

### 成果：

#### 1) 保存臍帯から風疹ウイルスの分離同定技術の開発

保存臍帯のホモジナイズ、RNA 抽出、精製、評価方法を確立した。また、国立感染症研究所発行の病原体検出マニュアルの記載を参考に、含有量が極微量の風疹ウイルス特異的遺伝子の検出に対応した、**real-time RT-PCR** 法及び **conventional RT-nested PCR** 法による検出法を開発した。これらの方法をもとに、保存臍帯中の風疹ウイルス RNA を測定した。手技としては概ね確立したと考えられるため、今後は検査手法の精度評価を目的に検体の測定を行い、開発した風疹ウイルス RNA を検出する手法の感度・特異度を評価する。

#### 2) 難聴児に対する臍帯を用いた風疹ウイルス感染検索

先天性風疹症候群（CRS）児の難聴は進行性であるため、難聴が発見されたときには風疹ウイルスの検出が不可能である。そこで、臍帯を用いて妊娠中の風疹ウイルス感染の有無を診断し、原因が明らかではなかった先天性難聴児における潜在性の CRS の出生頻度を明らかにする。現在検査した数検体ではまだ潜在性の CRS は発見できていない。

#### 3) CRS 児の実態調査

22 例の CRS 症例から回答があり、運動・認知・感覚の遅れ、難聴と視覚障害により手指の感覚の過敏性や微細な運動発達遅滞が CRS 児のコミュニケーション能力に影響を与えていることがうかがわれた。また人工内耳の活用も積極的に検討する余地があることが示唆された。CRS であることが明らかとなった場合、他の原因による難聴児とは運動や知覚面での障害があることも念頭におき、児の特性にあわせた治療介入方法を検討する必要がある。