

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 障害者対策総合研究開発事業  
(英語) Research and Development Grants for Comprehensive Research for Persons with Disabilities

研究開発課題名： (日本語) 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  
(英語) Establish a new method for congenital rubella virus infection using conserved umbilical cord for congenital deafness

研究開発担当者 (日本語) 守本倫子 国立成育医療研究センター耳鼻咽喉科 医長  
所属 役職 氏名： (英語) NORIKO MORIMOTO  
Chief of Department of Otolaryngology, National Center for Child Health and Development

実施期間： 平成 28年 4月 1 日 ～ 平成 29年 3月 31 日

分担研究 (日本語) RNA 抽出方法とリアルタイム PCR 解析の技術開発  
開発課題名： (英語) Development of RNA extraction methods and real-time PCR

研究開発分担者 (日本語) 国立成育医療研究センター 感染症科 宮入 烈  
所属 役職 氏名： (英語) Isao Miyairi,  
Chief of Division of Infectious Diseases, National Center for Child Health and Development

分担研究 (日本語) 先天性難聴児における潜在性 CRS の出生頻度の検討及び CRS 難聴  
児の言語発達評価  
開発課題名： (英語) Prevalence of subclinical congenital rubella syndrome (CRS) in congenital hearing impaired children and evaluation of speech development of CRS children

研究開発分担者 (日本語) 千葉県こども病院 耳鼻咽喉科 診療部長 仲野敦子  
所属 役職 氏名: (英語) Atsuko Nakano  
Director of Division of Otorhinolaryngology Chiba Children's  
Hospital

分担研究 (日本語) 保存臍帯や他の保存検体からの効率の良い RNA 抽出法の検討、および先天性感染症患者における検体採取体制の確立  
開発課題名: (英語) Investigation for effective RNA extraction from preserved umbilical  
cord or other specimens, and establishment of sample collection  
from the patients with congenital infection

研究開発分担者 (日本語) 新潟大学 医歯学系 小児科学分野 教授 齋藤昭彦  
所属 役職 氏名: (英語) Niigata University, Medical and Dental Sciences, Pediatrics Professor,  
Akihiko Saitoh

## II. 成果の概要（総括研究報告）

和文

先天性風疹症候群（CRS）では90%以上に難聴を伴うことが知られている。しかし妊娠初期の感染の場合は心疾患や眼疾患などの典型的な症状を合併するが、妊娠5カ月以降の感染では難聴のみを呈するため、妊娠中の風疹不顕性感染や典型的な症状が認められなかった場合、出生直後に診断することは困難である。現在、本邦での先天性難聴の原因の約50%は原因不明とされている。一方、海外では、風疹が流行した年に出生した難聴児の30%にウイルス性網膜変性が認められると報告しており、本邦での原因不明先天性難聴の中に、未診断のCRS児が混在している可能性が指摘されている。妊娠中の経胎盤感染は、出生直後には診断可能であるものの、時間が経過してからの診断は不可能である。

そこで守本ら研究グループは、本邦で出産後に保存される慣習のある乾燥臍帯に着目し、①後方視的に胎内で風疹ウイルスに罹患したかどうかを確認する検査方法を確立すること、さらにその方法を用いて②原因不明難聴児の中に潜在的なCRS児がいる可能性について検討を行ってきた。また、③CRS児の難聴の実態もアンケートにより調査を行い、実際の症状を明らかにした。

宮入、齋藤らにより、DNAウイルスより不安定で断片化している風疹ウイルスRNAを乾燥臍帯より抽出し、RT-PCR法にて確実に同定する方法を確立した。その結果、実際にCRSと診断されている15症例の臍帯を用いて感度80%・特異度100%となる手技を確立することができた。偽陰性となった検体は、症状が軽くウイルスRNA含有が少ない可能性と、RNAの断片化により検出域から外れてしまった可能性、実際にはCRSではない可能性などが挙げられる。今後さらに感度を高めるための工夫と再現性を高める必要がある。

守本、仲野らは実態調査の結果より、難聴は軽度から重度まで様々で、就学も通常学級から支援学校まで多様であること、適切な療育によりコミュニケーション能力の発達が期待できることを示した。現在このプロトコルを用いて発症原因が不明な難聴児の臍帯を検索しているところであり、本手法による的確な診断がつけられることで患者の療育支援が変わる可能性があり、患者が得られるベネフィットは大きい。

英文

It is known that hearing loss is associated in more than 90% for congenital rubella syndrome (CRS). In the case of infection in early pregnancy, typical symptoms such as heart disorder or the eye disease could be seen, but in the case of infection after fifth month of pregnancy, a typical symptom are not found to present with only hearing loss, which make us difficult to diagnose just after birth. Approximately 50% of causes of congenital deafness in Japan are unidentified. Whereas it is reported that a viral retinal degeneration is found in 30% of children with hearing difficulty in the year when rubella was prevalent. Therefore, undiagnosed CRS is inferred as one of the causes of congenital deafness children. It is difficult to diagnose after long time passes whether it is infected during pregnancy.

Morimoto study group establish laboratory procedure to confirm whether the baby had a rubella virus in the womb using dried umbilical cord, and prove that a cause of hearing loss due to placental infection of the rubella virus using the technique. The actual condition of deafness of CRS children were investigated by a questionnaire and determined a real symptom.

Rubella virus is an RNA virus, so it is said to be more unstable and difficult to extract than DNA virus. Miyairi and Saito has established a method to reliably identify rubella virus RNA from dry umbilical cord by RT-PCR method. As a result, it was possible to establish a procedure with sensitivity of 80% and specificity of 100% using 15 umbilical cords actually diagnosed as CRS. The cause of false negatives is the possibility that the symptoms are light, the viral RNA content is low, and the possibility that it has deviated from the detection area due to RNA fragmentation. It will be necessary to raise invention and reproducibility to raise sensitivity more in future.

Morimoto and Nakano showed that hearing loss varies from mild to severe, from diversity from normal classes to supporting schools, and that development of communication skills can be expected by appropriate care. Currently using this protocol we are searching for umbilical cords of hearing-impaired children whose cause of onset is unknown. The provision of accurate diagnosis by this method may change patient care support, and the profit from which a patient can be obtained is more than expected.

### III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 12 件、国際誌 3 件）

1. 守本倫子. ワクチン-麻疹ウイルス、風疹ウイルス. JOHNS 2015,31,619-622
2. 守本倫子. 病原微生物検出情報. 国立感染症研究所 2015,36,7-9
3. 守本倫子. ウイルス感染の動向—風疹ウイルス. 日耳鼻 2015,118,907-910
4. 守本倫子. C 聴覚 Q9 幼小児の進行する難聴の原因は何ですか?. 今さら聞けない! 小児のみみ・はな・のど診療 I, 全日本病院出版会, 2015,69-73
5. Miyata T, Kubo T, Miyairi I, Saito A, Morimoto N. Successful detection and genotyping of rubella virus from preserved umbilical cord of patients with congenital rubella syndrome. Clinical Infectious disease, 2015,60, 605-607.
6. 守本倫子. 先天性風疹症候群. JOHNS 2014,30,1585-1588
7. 守本倫子, 鈴木法臣, 土橋奈々, 原真理子. 2012-2013 年の風疹流行に伴う先天性風疹症候群症例. Audiology Japan 2014, 57, 449-450.
8. 谷垣 伸治, 金沢 誠司, 松島 幸生, 宮入 烈, 左合 治彦. 妊娠と感染症-外来で聞かれてどう説明する? 風疹:産科と婦人科 2016. 83, 1004-1009.
9. 庄司 健介, 宮入 烈. 胎児・新生児医療における臨床検査の実際 新生児と臨床検査 感染症検査. Medical Technology 2015, 43.718-722
10. 佐地 勉, 多屋 馨子, 宮入 烈, 増谷 聡. 先天性風疹症候群と心疾患: Fetal & Neonatal Medicine. 2015, 7, 8-16
11. 宮入 烈. 先天性風疹症候群を中心とした母子感染症. 兵庫県小児科医会報 2015, 63,5-8.
12. 宮入 烈. 先天性風疹症候群 医療関連施設、退院後の感染対策や医学的フォローで注意すべきポイントとは: 感染症 2014, 44, 179-185

13. 仲野敦子、有本友季子、星野直、工藤典代。遅発性難聴を認めた先天性風疹症候群（CRS）の1例。小児耳。2016, 37, 40-44.
14. Aizawa Y, Saitoh A et.al. A Role of Maternal Antibodies in Human Parechovirus Type 3 Infection in Neonates and Young Infants. Emerg Infect Dis 2015,21,1966-1972.
15. Aizawa Y, Saitoh A, et.al. Asymptomatic Children Might Transmit Human Parechovirus Type 3 to Neonates and Young Infants. *J Clin Virol* , 2015, 70,105-108.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 妊婦の抗体獲得のみでは先天性風疹症候群は防ぎきれない、口頭、宮入 烈、第 621 回日本小児科学会東京都地方会、2015. 9月, 国内
2. 遅発性難聴を認めた先天性風疹症候群の1例, 口頭, 仲野敦子、有本友季子、金子由佳、星野直、長澤耕男、工藤典代, 第7回小児耳鼻咽喉科学会, 2015/5/8, 国内
3. 難聴を認めた先天性サイトメガロ感染症 14 症例の検討、口頭、仲野敦子、有本友季子、工藤典代、松永達雄、第60回日本聴覚医学会, 2015/10/21、国内
4. 風疹感染、口頭、守本倫子、第28回日耳鼻専門医講習会、2014/11/22、国内
5. 2012-2013年の風疹流行に伴う先天性風疹症候群症例。 守本倫子、鈴木法臣、土橋奈々、原真理子、日本聴覚医学会総会、2014/11/28、国内
6. 2012-2013年の風疹に伴う先天性風疹症候群の経過および指導について。口頭、柳澤 瞳、守本 倫子、日本聴覚医学会、2015/10/22, 国内
7. 2012-2013年の風疹流行に伴う先天性風疹症候群の実態に関する調査。 柳澤瞳、藤井可絵、吉浜圭祐、小森学、守本倫子。小児耳鼻咽喉科学会 2016/6/30, 国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 先天性難聴の原因が母胎風疹ウイルス感染による可能性はないか？ 守本倫子、宮入烈、仲野敦子、齋藤昭彦、日本医療研究開発機構戦略推進部 脳とこころの研究 第二回シンポジウム。2017/3/4、国内

(4) 特許出願

なし