

妊婦における抗パルボウイルス抗体保有状況

東北大学医学部産科婦人科学教室

*宮城県保険環境センター

**東北大学医学部細菌学教室

八重樫伸生 岡村 州博 浜崎 洋一
矢嶋 聡 白石 広行* 菅村 和夫**

Prevalence of anti-human Parvovirus Antibody in Pregnant Women

Nobuo YAEGASHI, Kunihiro OKAMURA, Youichi HAMAZAKI,

Akira YAJIMA, Hiroyuki SHIRAIISHI* and Kazuo SUGAMURA**

Department of Obstetrics and Gynecology, Tohoku University School of Medicine, Sendai

**Miyagi Prefectural Institute of Public Health, Sendai*

***Department of Microbiology, Tohoku University School of Medicine, Sendai*

概要 ヒト・パルボウイルス (B19) は伝染性紅斑の原因ウイルスとして知られているが、近年胎内感染により胎児水腫を惹き起こすことが報告され注目されている。しかし本邦では妊婦の B19 抗体保有率などに関しては報告がない。われわれはすでに報告した間接蛍光抗体法を用いて本邦における一般人の抗体保有状況、正常妊婦の抗体保有率、初期流産した妊婦や非免疫性胎児水腫 (NIHF) 例の抗体陽性率について検討した。

16～64歳までの一般人(献血者)の抗 B19・IgG 抗体陽性率は47%であつたが、21～30歳で22%、31～40歳で44%、41～50歳で65%、51～60歳で76%と年齢と共に上昇した。正常妊婦329名では抗 B19・IgG 抗体陽性率が33%であつたが、一般人と同様に21～30歳で26%、31～40歳で44%と年代で有意差が認められた。すなわち20代の妊婦で約3/4、30代の妊婦で約1/2が抗 B19 抗体陰性で妊娠中に B19 感染の危険があるといえる。

初期流産23例中 IgG 抗体陽性は9例 (39.1%) であつた。妊婦で6例の IgM 陽性例が見つかったが、1例が人工妊娠中絶、1例が自然流産、4例が自然分娩で胎児水腫となつた症例はなかつた。また NIHF 24例で IgG 抗体陽性が4例あつたが IgM 陽性例や IgG 抗体価が上昇したり陽転した症例はなかつた。今回の調査では B19 感染と NIHF の因果関係を証明できた症例はなかつたが今後さらに症例を集め検討する必要がある。

Synopsis Human parvovirus B19 (B19) has been shown to be associated with erythema infectiosum. Recently, it was reported that when a pregnant woman is infected with B19, the fetus in her uterus sometimes becomes hydropic and results in a stillbirth. But no epidemiologic study of pregnant women in Japan has been performed yet. We have established an in vitro propagation system of B19 virions and an assay system for detecting anti-B19 antibody by indirect immunofluorescence (IF) staining. We examined the positive rate of anti-B19 antibody among 337 normal blood donors, 329 normal pregnant women, 23 early aborted women and 24 non-immune hydrops fetalis cases by IF staining.

The positive rate for anti-B19 IgG among normal blood donors increased with age. It was 22% aged 21 to 30, 44% aged 31 to 40, 65% aged 41 to 50, and 76% aged 51 to 60, respectively. Anti-B19 IgG was detected in 33% of 329 of normal pregnant women. The anti-B19 IgG positive rate was 26% in pregnant women in their twenties and 44% in those in their thirties. There was a significant difference between the two generations. The results show that more than half the women in their twenties and thirties risk B19-infection during pregnancy.

Nine of twenty-three early aborted women were positive for anti-B19 antibody. Among six pregnant women who were positive for anti-B19 IgM, four delivered normal babies and the others aborted artificially or spontaneously. Anti-B19 IgG and IgM of twenty four non-immune hydrops fetalis (NIHF) were examined and four cases were found to be anti-B19 IgG positive. However, we did not obtain evidence that

B19 was responsible for these NIHF cases. We need to further study the relation between B19 infection and NIHF.

Key words: Human parvovirus B19 • Pregnancy • Antibody • Immunofluorescence staining

緒 言

ヒト・パルボウイルス (B19) は1975年に発見された DNA ウイルスで, 小児の伝染性紅斑の原因ウイルスとして広く知られている³⁾¹³⁾. また遺伝性溶血性貧血患者に起こる aplastic crisis⁶⁾, 成人の感染で起こる風邪様症状³⁾, 紫斑病¹²⁾, 多発性関節炎¹⁴⁾などとの関連も報告されている. 一方, 産科領域では妊娠中に B19に感染した場合胎児水腫となつて死産したという症例がすでに多数報告されており⁵⁾⁷⁾⁸⁾, B19ウイルスの胎内感染が注目されている. しかし B19感染を診断するためのウイルス抗原が非常に不足しているため, 本邦における妊婦の抗体保有率のような疫学的な調査はほとんどなされていないのが現状である.

われわれはすでに B19ウイルスの in vitro 増殖系を確立し, さらにその感染細胞を用いた間接蛍光抗体法により抗 B19抗体の検査法を報告した¹⁵⁾. この検査法により一般人の抗体保有状況, 正常妊婦の抗体保有率, 流産した妊婦の抗体陽性率, さらに胎児水腫症例の抗体陽性率などを検討した.

研究方法

間接蛍光抗体法はわれわれがすでに報告した方法¹⁵⁾にしたがつて行つた. すなわち, 肝造血期の胎児肝赤芽球系前駆細胞にウイルスを感染させ4日目に回収した. なお胎児肝組織は胎齢16~22週の中絶胎児より両親の承諾のもとに採取した. またそれに先立ち本学倫理委員会の承認も得た. 回収した細胞をスライドグラスに固定したのち検体(血清)を37℃で30分間反応させた. 血清は PBS (phosphate-buffered saline) で20倍に希釈して使用した. 次に FITC 標識抗ヒト IgG (BML, 名古屋) または IgM (BML, 名古屋) と37℃で30分間反応させた後, 蛍光顕微鏡で観察した. われわれが作製した抗パルボウイルス単クローン抗体¹⁶⁾を用いた間接蛍光抗体法では, ウイルスを感染させた細胞の約5%がその核および細胞質周辺に特異的蛍光を発することが観察され, 被検血清でも同様

な特異的蛍光が観察された場合に抗体陽性と判定した.

一般正常人の血清は1988年9月に採血した宮城県内の献血者から集めた. 各年齢層の検体数は16~20歳が69, 21~30歳が63, 31~40歳が66, 41~50歳が63, 51~60歳が66, 61~64歳が10で, 合計337名を検査した. 各年齢の男女数がほぼ同数となるようにした.

正常妊婦の血清は東北大学産科婦人科で妊娠初期より妊婦検診を受けた妊婦で正常児を出産した妊婦329名の血清を使用した. 1986年11月から1987年4月までの期間に採血した. 20歳以下と41歳以上は非常に症例数が少なく, 一般人との年齢別の抗体保有率を比較するため妊婦の年齢は21~40歳までの症例に限定した. 採血は妊娠初期に行い遠心分離後血清を検査まで-80℃に保存した.

初期流産妊婦血清は流産処置のため入院した時点で採血した. また妊娠中に子供が伝染性紅斑に罹患し妊婦本人にも紅斑など B19感染を疑わせる症状が発現した2名についても同様に検査した.

非免疫性胎児水腫 (non-immune hydrops fetalis, NIHF) の診断は超音波断層法により胎児の皮下浮腫, 腹水, 胸水のうち一つないしそれ以上が存在することを診断基準とした. そのうち原因として染色体異常, 多発奇形, 重症心奇形, 重篤な不整脈, 肉眼的な胎盤や臍帯の異常などが存在する症例を除外した24例を対象とした. NIHF と診断された週数は16~19週が2例, 20~23週が6例, 24~27週が7例, 28~31週が7例, 32~35週が2例であつた. また児の予後は死産9例, 新生児期死亡5例で生後4週以上生存は10例 (そのうち4例は胎児腹水のみ) であつた. 診断がついた日から数日以内の母体血を全例採取し, さらに可能な症例ではその数日から数週間後の母体血と臍帯静脈穿刺により胎児血を採取した. 24例から合計43の血清を回収し間接蛍光抗体法で B19抗体を検査した. さらにそれら血清を B19の DNA プローブを用いた dot blot hybridization 法にかけ,

B19ウイルス DNA の検出を試みた. dot blot hybridization 法はすでに報告した方法¹⁵⁾で施行した.

研究成績

1. 一般正常人の抗体保有状況

各年齢別の抗 B19・IgG 抗体保有率を調べると年齢の上昇に伴って IgG 抗体保有率も上昇していた(図1). すなわち16~20歳で23%, 21~30歳で22%と低値であったが, 31~40歳で44%, 41~50歳で65%, 51~60歳で76%, 61~64歳で80%まで上昇した. 一般献血者全体の IgG 抗体保有率は47%で男女間で差はなかった. また IgM 抗体陽性例はなかった.

2. 正常妊婦における IgG 抗体保有率

正常妊婦全体の抗体保有率は33%であったが, 一般正常人と同様に年齢により差があった. すなわち21~30歳までは26%であるのに対し, 31~40歳では44%と有意に上昇した(カイ二乗検定, $p < 0.01$). しかし一般人の各年齢層の IgG 抗体保有率と比較して差がなかった.

3. 初期流産の IgG 抗体保有率

初期流産妊婦23例で IgG 抗体保有者は9例(39.1%)であった.

4. 妊婦の IgM 抗体陽性例の検討

検査を施行した妊婦354名中妊娠中に IgM 抗体陽性の妊婦が6例発見された. 2例は妊娠中に子供が伝染性紅斑に罹患し本人も四肢の紅斑, 関節痛などの症状が発現し B19感染が強く疑われた.

そのうち1例は妊娠20週前後の感染と推定されたが妊娠経過に異常なく正常児を出産した. しかし児の採血はされなかった. 他の1例は妊娠初期の感染で他の理由で人工妊娠中絶した. また初期流産23例中1例が IgM 陽性であったが, 子宮内容物が保存されていなかったため B19・DNA の証明はできなかった. 正常妊婦の中から2例の IgM 陽性者が見つかったが2例とも妊娠中に B19感染を疑わせる症状がなく胎児の発育にもとくに問題はなかった.

5. NIHF における抗 B19抗体の検討

NIHF 24例(43血清)について B19抗体検査を施行した. 血清の内訳は NIHF の診断がついた日から数日以内に採取した母体血清が24, 初回血清の採血の数日から数週間後に採血したペア血清が8, 胎児血清が11であった. 初回に採血した母体血清24例中 IgG 抗体陽性が4例あったが, IgM 抗体陽性例はなかった. そのうち胎児血を採取できた2例では母体血と同様に IgG 陽性であった. しかし IgM 陽性例はなく, またペア血清で IgG 抗体が陽転したり IgG 抗体価が上昇したりした症例もなかった. さらにすべての血清を dot blot hybridization 法で検査したが B19・DNA は検出されなかった.

考 案

近年, 妊婦が B19に初感染すると胎児水腫が惹き起こされ死産する症例が報告されている⁵⁾⁷⁾⁸⁾. B19はヒト赤芽球系前駆細胞を標的細胞とすることが知られており¹⁷⁾, B19が胎児水腫を惹き起こす原因としては, 胎児期の造血の盛んな臓器に B19が感染することにより赤芽球系前駆細胞を広範に破壊し重症貧血から心不全を起こすためと推定されている⁴⁾. われわれは肝造血期にある胎児肝組織より分離した赤芽球系細胞の初代培養系を用いて B19の感染実験を行い, B19がそれらの細胞に実際に感染し盛んに増殖することをすでに確認している¹⁵⁾. すなわち, 胎児には B19の感染増殖に必要な細胞が十分存在し, B19ウイルスが胎児血中に侵入した場合にはそれらの細胞に感染しその結果として感染細胞(赤芽球系細胞)が破壊されると予測される. その結果胎児は重篤な貧血に

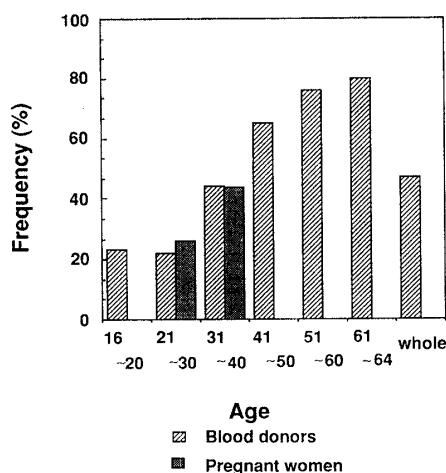


図1 Prevalence of anti-B19 IgG

陥つて心不全を惹き起こし、ついには胎児水腫が惹き起こされるのであろうとわれわれは推測している。

B19感染は成人に感染した場合は風疹感染と同様に一般に一過性で症状も軽いことが多く、無症候性のこともある³⁾。また、顕性再感染は現在のところ明らかではなく、前述のように一般成人で年齢上昇と共に抗体保有率が上昇し60歳以上では80%にも達することから終生免疫ではないかと推測される。したがって上記のような妊娠中のB19感染の危険性を考えた場合、まず第1に明らかにされなければならないのが妊婦側のB19に対する感受性の有無、すなわちB19に対する特異抗体保有の有無であろう。しかし本邦において妊婦の抗体保有状況は報告されていない。また本邦における一般成人の抗体保有率については免疫電気泳動法によるものが報告されており¹⁾、それによると一般成人の約35%が抗体陽性と推定された。しかしわれわれが開発した間接蛍光抗体法によると一般成人では従来の報告よりはるかに多く約半数(47%)が抗体を保有していることが判明した。このような抗体保有率の差は一つには、伝染性紅斑には周期的あるいは地域的な流行があるために¹³⁾、それぞれの血清を集めた年や地域によつて差がでたとも考えられる。しかしわれわれが免疫電気泳動法と間接蛍光抗体法で同一検体の抗体価を検査した場合前者で陰性であつても後者で陽性となる例があり、測定法による感度の違いも関与しているといえよう。また年齢上昇と共に次第に抗体保有率が上昇するということはB19の初感染年齢が小児期から老年期までに及び好発年齢というものがないことを示していると考えられる。しかも20代までは抗体陽性者が20%程度しかないとからB19は小児期に感染して伝染性紅斑として発症するばかりでなく、むしろ成人してから感染する頻度が高いといえる。さらに妊婦での抗体保有率は21~30歳で26%、31~40歳で44%で各年齢層の一般成人とはほぼ同様の結果であつた。すなわち21~30歳では約3/4、31~40歳では約1/2が抗体陰性であり妊娠中にB19に感染し胎児水腫を起こす危険性があるといえよう。

しかし今回の調査で妊娠中にIgM抗体が陽性であつた6例ではとくに妊娠分娩の異常(1例は人工妊娠中絶)はなかつた。また24例で抗体を調べたが妊娠中にB19に感染した疑いのある症例は1例もなかつた。これはNIHFの検体ではB19・DNAも検出されず、今回調査したNIHFの症例でB19感染がその直接の原因と思われるものはなかつた。

Porter et al.¹⁰⁾はNIHFの胎児50例をin situ hybridization法で調べ4例(8%)でB19・DNAが検出されたと報告している。またSchwartz et al.¹¹⁾は妊娠中にIgM抗体が検出された42例中3例が中絶し、残り39例中29例が正常児を出産し、10例(26%)がNIHFになつたと報告している。これらの報告からは妊娠中のB19感染の高い危険率が考えられる。しかし一方でイギリスで行われたIgM陽性妊婦174例のprospectiveな調査⁹⁾ではB19が原因と考えられる胎児死亡は10%未満と推測されている。さらに妊婦の抗体保有率を考慮すれば、例えば妊婦のいる家庭で家族の誰かがB19顕性感染を起こした場合でも、それが妊婦に感染ししかも胎児死亡を惹き起こす確率はわずか2.5%未満と推定している。

このようにB19が胎児に及ぼす影響に関してはまだ未解決のままである。しかしB19感染がNIHFを起こし死産する症例が存在することは明らかであり、われわれが今回調査したNIHF24例ではB19感染がその直接の原因と思われる例はなかつたがさらに症例を増やして検討する必要がある。また妊婦やその家族がB19に感染した場合などには抗体測定を行うと共に妊娠経過を注意深く観察していく必要があろう。

文 献

1. 布上 薫：伝染性紅斑の病原ウイルス。皮膚病臨床, 6: 1056, 1984.
2. Anderson, M.J.: Human parvovirus infections. J. Virol. Methods, 17: 175, 1987.
3. Anderson, M.J. and Pattison, J.R.: The human parvovirus, brief review. Arch. Virol., 82: 137, 1984.
4. Anderson, L.J. and Hurwitz, E.S.: Human parvovirus B19 and pregnancy. Clinic. Perinatol., 15: 273, 1988.

5. Brown, T., Anand, A., Ritchie, L.D., Clewley, J. P. and Reid, T.M.S. : Intrauterine parvovirus infection associated with hydrops fetalis. *Lancet*, 2 : 1033, 1984.
6. Chorba, T., Coccia, P., Holman, R.C., Tattersall, P., Anderson, L.J., Sudman, J., Young, N.S., Kurczynski, E., Saarrinen, U.M., Moir, R., Lawrence, D.N., Jason, J.M. and Evatt, B. : The role of parvovirus B19 in aplastic crisis and erythema infectiosum (fifth disease). *J. Infect. Dis.*, 154 : 383, 1986.
7. Kinney, J.S., Anderson, L.J., Farrar, J., Strikas, R.A., Kumar, M.L., Kliegman, R.M., Sever, J. L., Hurwitz, E.S. and Sikes, R.K. : Risk of adverse outcomes of pregnancy after human parvovirus B19 infection. *J. Infect. Dis.*, 157 : 663, 1988.
8. Knott, P.D., Welply, G.A.C. and Anderson, M. J. : Serologically proved intrauterine infection with parvovirus. *Br. Med. J.*, 289 : 1660, 1984.
9. PHLS Working Party on Fifth Disease : Study of human parvovirus (B19) infection in pregnancy. *Comm. Dis. Rep.*, 87/20 : 3, 1987.
10. Porter, H.J., Khong, T.Y., Evans, M.F., Chan, V.T.W. and Fleming, K.A. : Parvovirus as a cause of hydrops fetalis: Detection by in situ DNA hybridisation. *J. Clin. Pathol.*, 41 : 381, 1988.
11. Schwartz, T.F., Roggendorf, M., Hottentrager, B., Deinhardt, F., Enders, G., Gloning, K.P., Schramm, T. and Hansmann, M. : Human parvovirus B19 infection in pregnancy. *Lancet*, 2 : 566, 1988.
12. Shiraishi, H., Umetsu, K., Yamamoto, H., Hatakeyama, Y., Yaegashi, N. and Sugamura, K. : Human parvovirus (HPV/B19) infection with purpura. *Microbiol. Immunol.*, 33 : 369, 1989.
13. Shiraishi, H., Wong, D., Purcell, R.H., Shirachi, R., Kumasaka, T. and Numazaki, Y. : Anti-body to parvovirus in outbreak of erythema infectiosum in Japan. *Lancet*, 1 : 982, 1985.
14. White, D.G., Woolf, A.D., Mortimer, P.P., Cohen, B.J., Blake, D.R. and Bacon, P.A. : Human parvovirus arthropathy. *Lancet*, 1 : 419, 1985.
15. Yaegashi, N., Shiraishi, H., Takeshita, T., Nakamura, M., Yajima, A. and Sugamura, K. : Propagation of human parvovirus B19 in the primary culture of erythroid lineage cells derived from fetal liver. *J. Virol.*, 63 : 2442, 1989.
16. Yaegashi, N., Tada, K., Shiraishi, H., Ishii, T., Nagata, K. and Sugamura, K. : Characterization of monoclonal antibodies against human parvovirus B19. *Microbiol. Immunol.*, 33 : 561, 1989.
17. Young, N., Harrison, M., Moore, J., Mortimer, P. and Humphries, R.K. : Direct demonstration of the human parvovirus in erythroid progenitor cells infected in vitro. *J. Clin. Invest.*, 74 : 2024, 1984.

(No. 6702 平1・10・17受付)