

令和 5 年 5 月 23 日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2022

課題番号：18K16799

研究課題名（和文）生殖不全とhuman herpesvirus 6 & 7との関係解明

研究課題名（英文）Elucidation of the relationship between reproductive failure and human herpesvirus 6 and 7

研究代表者

長又 哲史（Nagamata, Satoshi）

神戸大学・医学研究科・助教

研究者番号：50816642

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：神戸大学医学部附属病院に通院している不育症患者から採取した子宮内膜検体を用いて、HHV-6存在の有無や不育との関連性についてreal time PCRを行い検討したが、不育症患者からHHV-6 DNAは検出されず、不育症との関連性は低いと考えられた。次に、不妊症患者、反復着床不全患者について検討を行った。不妊治療専門施設にて子宮内膜から採取されたDNAを用いてHHV-6 DNAの有無を調べたが、検出率は2.3%と非常に低く、またHHV-6 DNA陽性例においても妊娠出産が確認された。結論としては、本邦において不育症および不妊症とHHV-6の関連性は低いと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

海外のデータでは、子宮内膜HHV6と不妊症（反復着床不全）との関連性が指摘されていたが、本邦においてのデータはこれまで無かった。また不育症患者とHHV6との関連性については、これまで海外においても報告がなかった。反復着床不全および不育症の原因は不明なことも多く、挙児を希望する女性において重要な課題であった。そこで本邦における不育症患者や着床不全患者の子宮内膜等からDNAを抽出し、HHV-6 DNAの有無を検討を行った。しかしHHV-6DNAの検出率は非常に低く、またHHV-6陽性例からも妊娠出産が確認されており、不育症や不妊症との関連性は低いと考えられた。

研究成果の概要（英文）：Using endometrial specimens collected from patients with recurrent pregnancy loss attending our clinic, we performed real time PCR to investigate the presence or absence of HHV-6 and its association with recurrent pregnancy loss. However, HHV-6 DNA was not detected. The association between HHV-6 and recurrent pregnancy loss was considered to be low. Next, patients with recurrent implantation failure at a specialized infertility treatment hospital were examined. DNA collected from the endometrium and examined for the presence of HHV-6 DNA. But the detection rate was very low (2.3%), and even in HHV-6 DNA-positive cases, pregnancy and delivery were observed. In conclusion, HHV-6 is unlikely to be associated with recurrent pregnancy loss and infertility in Japan.

研究分野：産科婦人科学分野

キーワード：HHV-6 不育症 反復着床不全

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

Human herpesvirus 6 (HHV-6)はヘルペスウイルス亜科ロゼオロウイルス属に属するウイルスであり、小児期に発症する突発性発疹の原因ウイルスである。HHV-6AとHHV-6Bの2つのバリエーションが存在し、90%以上の成人の体内に潜伏感染している。潜伏感染したHHV-6は、移植患者や免疫機能不全患者において高確率に再活性化することが分かっているが、そのほとんどは無症候性である。Human herpesvirus 7 (HHV-7)は、HHV-6感染後の突発性発疹を引き起こすことが知られている。両者は、ヘルペスウイルス亜科ロゼオロウイルス属に属する近縁なウイルスである。

HHV-6と生殖の関連性としては、2014年に妊娠15週までにバラ色靴掻疹(pityriasis rosea)を発症した患者において、57%と高い確率で流産が起きていることが報告された(F. Drago et al. J Am Acad Dermatol. 2014.)。バラ色靴掻疹はHHV-6およびHHV-7の再活性化が関与している事が報告されている。そして、2016年には原因不明不妊症患者において高確率にHHV-6Aが子宮内膜で再活性化していると報告され、さらにHHV-6Aの再活性化患者において、HHV-6陰性患者と比較し子宮内膜CD56+NK細胞数の低下を認めた(R. Marci et al. PLoS ONE. 2016.)。また不妊症患者では正常妊婦に比較して妊娠初期の血中NK細胞活性は高値を呈し、CD56+NK細胞数が多いことが知られており、この現象にHHV-6などの潜伏感染していたウイルスが関わっている可能性も考えられた。しかし、これまで本邦においてHHV-6やHHV-7と不妊症、不妊症との関連性を調べた報告はなかった。

2. 研究の目的

これまで日本国内においてHHV-6およびHHV-7と不妊、不妊症との関連性を調べた報告はなく、不妊症との関連においては全世界において報告はされていない。不妊症においては、本邦で育児を希望するカップルの10-15%が不妊であると報告されているが、そのうち10-25%が原因不明の不妊である。また不妊症に関しては、2回以上の連続流産は4.2%、3回以上の流産率は0.9%の頻度で報告されているが、このうち約70%が原因不明である。不妊症や不妊症は稀な疾患ではなく、これまで原因不明とされていた不妊症や不妊症において、HHV-6やHHV-7が関連しているかどうか、本邦のデータを調査することを目的とした。

3. 研究の方法

(1)不妊症患者について

Human herpesvirus 6 (HHV6)のU67領域におけるプライマーおよびTaqManプローブを用いて、HHV6におけるTaqMan probeを用いたリアルタイムPCRの方法を確立した。この方法では、HHV-6A、HHV-6Bともに検出が可能であった。

神戸大学医学部附属病院に通院している不妊症患者、入院中の切迫早産患者、コントロール患者から採取した子宮内膜検体、脱落膜検体、羊水検体、腔分泌液検体を用いて、HHV-6存在の有無について検討した。子宮内膜検体は不妊症と診断された非妊娠患者から採取し、脱落膜検体は自然流産患者から採取した。羊水検体と腔分泌液検体は、切迫早産患者や、もしくはコントロール群として当院入院管理中の妊娠女性から採取した。各検体からDNA抽出kitを用いてDNAを抽出し、リアルタイムPCRを行いHHV-6 DNAの有無について検討した。

(2)不妊症患者について

不妊治療を専門施設(英ウィメンズクリニック)と連携し、反復着床不全の精査目的に採取された子宮内膜フローラ検体を用いた。英ウィメンズクリニックの倫理委員会を通したのち、HHV-6 real time PCRは子宮内膜フローラ検査を施行しDNAを保管していたVarinos株式会社にprimer, probeを送付して委託した。

また、英ウィメンズクリニックにて内膜フローラ提出された患者を対象に、診療記録情報を収集した。患者の妊娠分娩歴や子宮内膜フローラ結果、その後の妊娠有無や妊娠後の転帰について、HHV-6との関連性を後方視的に検討した。

4. 研究成果

(1)不妊症患者について

採取した検体の内訳は、不妊症患者の子宮内膜検体(n=24)、脱落膜検体(n=2)、羊水検体(n=8)、切迫流産およびコントロール患者からの腔分泌液検体(n=71)であった。結果としては、不妊症患者における子宮内膜検体からHHV-6 DNAは検出されなかった。HHV-6 DNAは羊水検体から1例(12.5%)、腔分泌液検体からは2例(2.8%)検出された(Table 1)。羊水検体からのHHV6ウイルスコピー数は非常に少なく、臨床的意義は少ないと考えられた。腔分泌液検体からのHHV6 DNAコピー数は十分であったが、2.8%というHHV-6DNA検出率は過去の報告(Baillargeon J, et al. J Clin Virol)と同様の割合であり、また2例とも切迫早産ではあったが、妊娠満期で出産に至り生児を獲得出来ていた。以上から、HHV-6と不妊症患者との関連

性は認められなかった。

Table 1

	Endometrial tissues (n=24)	Decidual tissues (n=2)	Amniotic fluid (n=8)	Vaginal discharge (n=71)
Age (year-old)	33.5 (22-44)	38.5 (36-41)	33 (21-34)	32.5 (19-44)
Gravida	3 (2-8)	3.5 (3-4)	1 (1-3)	2 (1-5)
Miscarriage	3 (2-7)	3.5 (3-4)		
Gestational weeks at sampling			27 (24-35)	28.5 (14-35)
Concentration of genomic DNA	89 ng/μl (14.9-3368.3 ng/μl)	431.05 ng/μl (63.6-798.5 ng/μl)	5.1 ng/μl (1.6-24.6 ng/μl)	202 ng/μl (32.4-789.3 ng/μl)
Positive result for HHV6 DNA	0 (0%)	0 (0%)	1 (12.5%)	2 (2.8%)

(1)不妊症患者について

英ウィメンズクリニックから反復着床不全の精査目的で提出された子宮内膜検体は、全 86 例であった。中央値、幅は年齢 38.5 歳 (28-47 歳)、妊娠歴 1 回 (0-9 回)、分娩歴 0 回 (0-2 回) であった。これらのうち、HHV-6DNA が検出されたのは 2 例 (2.3%) であった。そして 2 例ともその後妊娠が成立し、生児を獲得できていた。以上から、本邦では海外のデータと違い不妊症患者における子宮内膜 DNA からの HHV-6 DNA 検出率は非常に低く、また不妊や着床不全と関連づけるデータは得られなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Nagamata Satoshi, Aoshi Taiki, Kawabata Akiko, Yamagishi Yoshiaki, Nishimura Mitsuhiro, Kuwabara Soichiro, Murakami Kouki, Yamada Hideto, Mori Yasuko	4. 巻 9
2. 論文標題 Identification of CD4 and H-2Kd-restricted cytotoxic T lymphocyte epitopes on the human herpesvirus 6B glycoprotein Q1 protein	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 3911, 3919
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-40372-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Satoshi Nagamata, Masashi Deguchi, Yuki Sasagawa, Mayumi Morizane, Kenji Tanimura, Hideto Yamada
2. 発表標題 The association between human herpesvirus 6 and recurrent pregnancy loss or threatened premature delivery
3. 学会等名 第71回日本産科婦人科学会学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------