

厚生労働科学研究費補助金
感覚器障害研究事業

先天性サイトメガロウイルス感染症による聴覚障害の
実態調査並びに発症予防を目指した基礎的研究

平成 16 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 大森 孝一

平成 17 (2005) 年 3 月

厚生労働科学研究費補助金
感覚器障害研究事業

先天性サイトメガロウイルス感染症による聴覚障害の
実態調査並びに発症予防を目指した基礎的研究

平成 16 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 大森 孝一

平成 17 (2005) 年 3 月

班 員 名 簿

区 分	氏 名	所 属	職 名
主任研究者	大森 孝一	福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科学講座	教授
分担研究者	藤枝 憲二	旭川医科大学小児科学講座	教授
	錫谷 達夫	福島県立医科大学医学部微生物学講座	教授
	筒井 祥博	浜松医科大学病理学第二講座	教授
	竹腰 正隆	東海大学医学部基礎医学系分子生命科学	講師
	井上 直樹	国立感染症研究所ウイルス1部	室長
	片野 晴隆	国立感染症研究所感染病理部	室長
	小川 洋	福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科学講座	講師
	馬場 陽子	福島県総合療育センター 福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科学講座	部長 兼務講師
研究協力者	古谷野 伸	旭川医科大学附属病院小児科	助手
	石橋 啓	福島県立医科大学医学部微生物学講座	助手
	呉宮 永子	福島県立医科大学医学部微生物学講座	博士研究員
	小杉伊三夫	浜松医科大学病理学第二講座	助教授
	李 立	浜松医科大学病理学第二講座	大学院生
	野澤 直樹	国立感染症研究所ウイルス1部	研究員
	倉田 毅	国立感染症研究所	所長
	佐多徹太郎	国立感染症研究所感染病理部	部長
	佐藤 由子	国立感染症研究所感染病理部	研究官
	佐藤 尚恵	公立藤田総合病院耳鼻咽喉科 福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科学講座	医員 大学院研究生
	岡野 渉	福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科学講座	大学院研究生

目次

班員名簿

I. 総括研究報告書

- 先天性サイトメガロウイルス感染症による聴覚障害の実態調査並びに発症予防を
目指した基礎的研究 大森 孝一 1

II. 分担研究報告

1. 臍帯を用いた後方視的先天性サイトメガロウイルス感染症診断法の確立に関する研究
藤枝 憲二 5
2. 臍帯を用いた先天性 CMV 感染症診断の実際と聴覚障害の解析
馬場 陽子 8
3. 先天性サイトメガロ感染症児の聴力像
馬場 陽子 12
4. 福島県における新生児聴覚スクリーニングと精密聴力検査
馬場 陽子 16
5. 先天性サイトメガロウイルス感染による障害発症機構の解析に関する研究
井上 直樹 19
6. サイトメガロウイルス血清型の解析
錫谷 達夫 24
7. 抗体療法の開発に関する研究
竹腰 正隆 29
8. 先天性サイトメガロウイルス感染症による難聴発生機序の動物実験モデルに関する研究
筒井 祥博 33
9. 小動物における ABR 検査の実際
小川 洋 37
10. モルモットサイトメガロウイルスを用いた実験的ウイルス性内耳障害
片野 晴隆 39

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 43

IV. 研究成果の刊行物・別刷 46

先天性サイトメガロウイルス感染症による聴覚障害の 実態調査並びに発症予防を目指した基礎的研究

主任研究者 大森孝一（福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科）

研究要旨

胎児期のサイトメガロウイルス（Cytomegalovirus; CMV）感染（先天性 CMV 感染症）は全出生児 250～300 人に 1 人起こる頻度の高い感染症であり、不顕性感染者の約 8%は、生後も持続するウイルス増殖により幼児期に進行性の聴覚障害を発症することが解ってきた。これらのデータから推計すると全出生児の 3000～4000 人に 1 人は先天性 CMV 感染症による聴覚障害が発症すると考えられる。従って、1,000～2,000 の出生に 1 人いるといわれる新生児・幼児の聴覚障害の約 30%が先天性 CMV 感染症によるものと予想される。本研究では、「新生児・幼児の聴覚障害者を約 30%減少させる」ことを最終目標に、先天性 CMV 感染がどの様に聴覚障害を起こすかという基礎的な研究から、多数の臨床症例の解析、幼児に適応可能な抗 CMV 抗体療法の開発などを共同研究によって総合的に進める。

研究初年度である本年度は 1) 臍帯に感染している CMV を PCR 法で検出することで、先天性 CMV 感染症を retrospective に確定診断する方法を確立した。この方法により、聴覚障害をもつ患児 11 名の臍帯において 2 名の CMV 感染症を確認した。2) 新生児聴覚スクリーニングにおいて自動 ABR 検査を施行された約 2,800 名のうち要精検となった乳児 6 名の精密聴力検査の結果、4 名の難聴者を確定診断した。3) 新生児の尿から先天性 CMV 感染症を非侵襲的に、感度良くスクリーニングする方法を確立した。4) ウイルスの血清型別に患者がもつ抗 CMV 抗体を分別して測定できる ELISA 系を作製した。5) 中和活性を有するヒト型抗 CMV モノクローナル抗体を数株樹立した。6) マウスの動物実験系で、CMV 感染が神経回路の形成やシナプス可塑性の障害を引き起こすことを明らかにした。

今後はこれらの研究結果を基盤とし、聴覚障害者のうち先天性 CMV 感染症の頻度や臨床的特徴の調査を進め、先天性 CMV 感染による聴力障害のメカニズムを明らかにし、先天性 CMV 感染による聴力障害の発症予防まで発展させたい。

A. 研究目的

（目的と必要性）胎児期のサイトメガロウイルス（Cytomegalovirus; CMV）感染（先天性 CMV 感染症）は全出生児 250～300 人に 1 人起こる頻度の高い感染症である。その約 5%は奇形など重篤な症状を示すが、残り約 95%は不顕性感染のため疾患との関連が不明確であった。ところが最近の欧米での研究から、不顕性感染者の約 8%は、生後も持続するウイルス増殖により幼児期に進行性の聴覚障害（感音性難聴）を発症することが解ってきた。これらのデータから計算すると 3000～4000 人に一人は先天性 CMV 感染による聴覚障害が発症していると推計される。従って、1,000～2,000 の出生に 1 人いるといわれる新生児・幼児の聴覚障害の約 30%は先天性 CMV 感染症が原因と予想することができる。この頻度は本邦で実施されている新生児マス・スクリーニングのうち、発見率が最も高いクレチン症の 4,600 人に 1 人という割合に匹敵するものである。

先天性 CMV 感染症による聴覚障害者の多くは出生時には異常がなく、現行の新生児聴覚検査では発見で

きず、聴覚障害がある程度進行してから発見される可能性が高い。したがって、現行の新生児聴覚スクリーニングに加えて先天性 CMV 感染症による聴覚障害を視野にいたスクリーニング法を検討する必要がある。さらに聴覚障害が進行する前に先天性 CMV 感染症による聴覚障害発症の可能性の高い症例を発見することができれば、聴覚障害の重篤化が阻止できる可能性がある。

本研究の目的は先天性 CMV 感染症による聴覚障害の疫学、発症病理、発症予防に繋がる治療法やマス・スクリーニング法の開発などを総合的に研究し、先天性 CMV 感染症による聴覚障害に対する予防対策を立案することにある。また、聴覚障害の原因が遺伝性疾患ではなく感染症によることを早期に明らかにすることは、ハビリテーションの方向性決定や患者両親の精神的苦痛に対する適切な援助に必要である。

B. 研究方法

I. 臨床研究

(1)聴覚障害患者の臨床的な解析： 福島県内で聴覚

障害を指摘された新生児・幼児患者は、ほぼ全例福島医大耳鼻科とその関連病院を受診している。聴性行動反応検査(BOA)と条件詮索反射聴力検査(COR)にて聴力閾値を測定し、他覚的聴力検査である聴性脳幹反応検査(ABR)と最新の聴性定常状態誘発反応(ASSR)検査にて周波数ごとの聴力閾値を測定する。このうち、保護者のインフォームドコンセントを得られた患児につき、

①臍帯をPCR法で調べ、先天性CMV感染を確定診断する。

②既に先天性CMV感染症の診断がなされている症例で、聴力像とその経時的変化を解析する。聴覚障害に進展する先天性CMV感染症の危険因子を明らかにする。

(2)新生児聴覚スクリーニング及び精密聴力検査：

①平成16年より福島県新生児聴覚検査事業が始まり、産科施設にて自動ABRを用いた新生児の聴覚スクリーニングが行われるようになった。要精密検査となった乳児につき、精密聴力検査を行う。

II. 基礎研究

(1)先天性CMV感染マス・スクリーニングの開発：

CMVの先天感染は、生後1週以内の新生児尿からCMVを検出して診断できる。そこでろ紙にしみこませた新生児尿からCMV・DNAをPCR法にて検出する方法や、2次検査として、CMVの細胞への吸着によるリポーター遺伝子活性化を利用した迅速なウイルス検査方法を確立する(感染研・ウイルス1部)。

(2)CMV血清型の解析：異なる抗原性を持つCMVの重感染率を知ることは、先天性CMV感染発生率を予測するうえで必要である。そこで、日本人から分離されたCMV株を解析し、ウイルスの多様性を明らかにする。また、聴覚障害を来し易い株が存在するか否かを解析する(福島医大・微生物、感染研・ウイルス1部)。

(3)ヒト型抗CMVモノクローナル抗体の樹立：CMVに中和活性を示すヒト型モノクローナル抗体を解析するとともに、さらに多数の抗体を作製し、全てのCMV株に対応できる抗体を樹立する(東海大医学部・基礎医学系)。

(4)CMV感染による聴覚障害発生機序の解明：マウスの実験系を用い、先天性CMV感染症の聴覚障害機序を解析する(浜松医大・病理、感染研・ウイルス1部、感染病理、福島医大・微生物、耳鼻科)。

(倫理面の配慮)

臍帯を用いる研究においては福島医大、旭川医大倫理委員会の承認の上、ヘルシンキ宣言に則り人権擁護上の配慮を行い、対象者に対する不利益、危険性の排除に対する十分な配慮をはかり、研究計画に対する説明と同意を得られた上で研究を実施する。

動物実験に関しては浜松医科大学、国立感染症研究所、福島県立医科大学にて承認の上、各施設の動物実験ガイドラインに沿って行う。

C. 研究結果

I. 臨床研究

(1)聴覚障害患者の臨床的な解析：先天性CMV感染の有無について臍帯に感染しているCMVをPCR法で検出することで、先天性CMV感染症をretrospectiveに確定診断する方法を確立した(Koyano et al. *Pediatric Infect. Dis. J.* 23:481-2, 2004)。この方法での、聴覚障害児のCMV感染の有無と臨床経過の調査を福島県立医科大学並びに旭川医科大学の倫理委員会から承認を受け、開始した。聴覚障害児11名の臍帯を検査したところ2名のCMV感染が確認された。

CMV感染による聴覚障害児で聴力像を追えた報告例は未だ7例と少ない。本邦では福島県総合療育センターで長期的に聴力の経過を追跡しているCMV感染症児4例について聴力像とその経時的変化につき報告した。

(2)新生児の聴覚スクリーニング：約2,800名に自動ABR検査を行い、要精検となった乳児6名に対しABR、ASSR、CORによる精密聴力検査の結果、4名の難聴者を確定診断した(福島医大)。

II. 基礎研究

(1)新生児の尿から先天性CMV感染を非侵襲的に、感度良くスクリーニングする方法を確立した(感染研・ウイルス1部)。

(2)血清型別抗CMV抗体価測定用ELISA系の開発：ウイルスの血清型別に患者がもつ抗CMV抗体を分別して測定できるELISA系を作製した(福島医大・微生物学講座)。

(3)ヒト型抗CMVモノクローナル抗体の作製：中和活性を有するヒト型抗CMVモノクローナル抗体を数株樹立した(東海大医学部・基礎医学系)。

(4)先天性CMV感染症の発症機序：マウスの動物実験系で、CMV感染が神経回路の形成やシナプス可塑性の障害を引き起こすことを明らかにした(浜松医大)。動物における他覚的聴力測定システムを構築した(福島医大)。先天性CMV感染のモデルとして、ウイルスが経胎盤感染するモルモットの系を用い、緑色蛍光タンパクを発現するウイルス株の作製にとりかかった(感染研)。

D. 考察

先天性CMV感染症による聴覚障害は1,000~2,000の出生に1人いるといわれる新生児・幼児の聴覚障害の約30%と予想される。新生児・幼児の聴覚障害は早期に発見し、療育を開始することが必要で本邦では新生児聴覚スクリーニングが早期発見のために施行されるようになってきた。しかしながら、先天性CMV感

染による聴覚障害の多くは進行性の聴覚障害であり、新生児聴覚スクリーニングでは異常がなく、障害が進行してから発見される可能性が高いとされている。従って、先天性 CMV 感染症そのものを診断するスクリーニング法の開発と早期発見ができれば、早期の抗ウイルス療法や早期の療育を行うことが可能となることから、聴覚障害および言語障害の重篤化を阻止できるものと考えられる。

本研究における血清型別抗 CMV 抗体測定用 ELISA 系の開発およびヒト型抗モノクローナル抗体の開発により、ウイルスの血清型に応じて先天性 CMV 感染症による聴覚障害を予防できる可能性がある。また、先天性 CMV 感染症により聴覚障害を起こす動物実験系を確立できれば、聴覚障害のメカニズムを明らかにできるとともに、各種予防法・治療法の有効性を評価できる。

以上のように本研究により、先天性 CMV 感染症による聴覚障害の疫学、発症病理、発症予防につながる治療法やマス・スクリーニング法の開発などを総合的に研究することにより、先天性 CMV 感染症による聴覚障害の予防対策を立案することが可能になるものと考えられる。

E. 結論

本研究では、「新生児・幼児の聴覚障害者を約 30% 減少させる」ことを最終目標に、先天性 CMV 感染症がどのように聴覚障害を起こすかという基礎的な研究から、多数の臨床症例の解析、幼児に適応可能な抗 CMV 抗体療法の開発などを共同研究によって総合的に進めてきた。研究初年度である平成 16 年度は 1) 臍帯に感染している CMV を PCR 法で検出することで、先天性 CMV 感染症を retrospective に確定診断する方法を確立した。聴覚障害児 11 名の臍帯を検査したところ 2 名の CMV 感染が確認された。2) 新生児聴覚スクリーニングにおいて自動 ABR 検査を約 2300 名に行ったところ、5 名が要精検となり、精密聴力検査の結果、3 名の難聴者を確定診断した。3) 新生児の尿から先天性 CMV 感染を非侵襲的に、感度良くスクリーニングする方法を確立した。4) ウイルスの血清型別に患者がもつ抗 CMV 抗体を分別して測定できる ELISA 系を作製した。5) 中和活性を有するヒト型抗 CMV モノクローナル抗体を数株樹立した。6) マウスの動物実験系で、CMV 感染が神経回路の形成やシナプス可塑性の障害を引き起こすことを明らかにした。

平成 17 年度は、現在耳鼻咽喉科に通院している聴覚障害児と新生児聴覚検査で新たに異常を指摘された患児について先天性 CMV 感染症の有無を診断し、聴力を中心とした臨床経過を解析する。平成 16 年度の研究で確立した新生児の先天性 CMV 感染マス・スクリーニング法を広く臨床応用し、福島県と北海道の一部で、

先天性 CMV 感染の診断と聴覚のフォローアップを行う。これらの成果から先天性 CMV 感染症による聴覚障害の疫学や臨床像が明らかになり、厚生労働行政に役立つ基礎データを提供できるものと期待できる。さらに基礎研究として迅速なウイルス検出法の開発、日本人から分離された CMV 血清型の解析、ヒト型抗 CMV モノクローナル抗体の作製を行い、さらに経胎盤感染するモルモットの系を用い、他覚的聴力検査である聴性脳幹反応を解析し、聴覚障害をきたす動物実験系を確立することにより、先天性 CMV 感染症による聴覚障害の発症病理を解明し、予防対策を立案することが可能になると思われる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Takebayashi S, Nakagawa T, Kojima K, Kim TS, Kita T, Dong Y, Endo T, Iguchi F, Naito Y, Omori K, Ito J : Expression of β -catenin in developing auditory epithelia of mice. Acta Otolaryngol(Stockh) 124, Suppl 551, 18-21, 2004
- 2) Kim TS, Nakagawa T, Lee JE, Fujino K, Iguchi F, Endo T, Naito Y, Omori K, Lefebvre PP, Ito J : Induction of cell proliferation and β -catenin expression in rat utricles *in vitro*. Acta Otolaryngol(Stockh) 124, Suppl 551, 22-25, 2004
- 3) Fujino K, Kim TS, Nishida AT, Nakagawa T, Omori K, Naito Y, Ito J : Transplantation of neural stem cells into explants of rat inner ear. Acta Otolaryngol(Stockh) 124, Suppl 551, 31-33, 2004
- 4) Kim TS, Kojima K, Nishida AT, Tashiro K, Lee JE, Fujino K, Nakagawa T, Naito Y, Omori K, Lefebvre P, Ito J : Expression of calretinin by fetal otocyst cells after transplantation into damaged rat utricle explants. Acta Otolaryngol(Stockh) 124, Suppl 551, 34-38, 2004
- 5) Iguchi F, Nakagawa T, Tateya I, Endo T, Kim TS, Dong Y, Kita T, Kojima K, Naito Y, Omori K, Ito J : Surgical techniques for cell transplantation into the mouse cochlea. Acta Otolaryngol(Stockh) 124, Suppl 551, 43-47, 2004
- 6) Tamura T, Nakagawa T, Iguchi F, Tateya I, Endo T, Kim TS, Dong Y, Kita T, Kojima K, Naito Y, Omori K, Ito J : Transplantation of neural stem cells into the modiolus of mouse cochleae injured by cisplatin. Acta Otolaryngol(Stockh) 124, Suppl 551, 65-68, 2004
- 7) 村上正文、大森孝一：福島県新生児聴覚検査事業の試行について. 福島県医師会報 66(2), 133-135, 2004

- 8) 馬場陽子、佐藤尚恵、大森孝一：精神運動発達遅滞を伴った先天性サイトメガロウイルス感染症幼児の聴力像。Audiology Japan 47(5), 375-376, 2004
- 9) 松井隆道、大谷 巖、小川 洋、鈴木聡明：
13 トリソミー症候群の側頭骨病理—2 症例の報告と文献的考察—。Otolaryngology Japan 14(2), 201-205, 2004
- 10) 大谷 巖、馬場陽子、鈴木聡明、桑畑直史、大森孝一：第 18 番染色体短腕欠損症候群症例の側頭骨病理。Otolaryngology Japan 14(5), 665-667, 2004
- 11) 小澤喜久子、小川 洋、大森孝一：アブミ骨陥入が認められた外リンパ嚢例—マルチスライス CT の有用性—。耳鼻咽喉科臨床 97(5), 399-404, 2004
- 12) Kaneko H, Mori S, Suzuki O, Iida T, Shigeta S, Abe M, Ohno S, Aoki K, Suzutani T: The cotton rat model for adenovirus ocular infection: antiviral activity of cidofovir. Antivir Res 61, 63-66, 2004
- 13) Yokota S, Yokosawa N, Okabayashi T, Suzutani T, Miura S, Jimbow K, Fujii N : Induction of suppressor of cytokine signaling-3 by herpes simplex virus type 1 contributes to inhibition of the interferon signaling pathway. J Virol 78(12), 6282-6286, 2004
- 14) Kimura K, Ishioka K, Hashimoto K, Mori S, Suzutani T, Bowlin TL, Shigeta S : Isolation and characterization of NMSO3-resistant mutants of respiratory syncytial virus. Antivir Res 61, 165-171, 2004
- 15) Hashimoto K, Graham BS, Ho SB, Adler KB, Collins RD, Olson SJ, Zhou W, Suzutani T, Jones PW, Goleniewska K, O'Neal JF, Peebles, Jr RS: Respiratory syncytial virus in allergic lung inflammation increases Muc5ac and Gob-5. Am J Respir Crit Care Med 170, 306-312, 2004
- 16) Hashimoto K, Graham BS, Geraci MW, FitzGerald GA, Egan K, Zhou W, Goleniewska K, O'Neal JF, Morrow JD, Durbin RK, Wright PF, Collins RD, Suzutani T, Peebles, Jr RS : Signaling through the prostaglandin I₂ receptor IP protects against respiratory syncytial virus-induced illness. J Virol 78(19), 10303-10309, 2004
- 17) Koyano S, Araki A, Hirano Y, Fujieda K, Suzutani T, Yagyu K, Muroto K, Inoue N : Retrospective diagnosis of congenital cytomegalovirus infection using dried umbilical cords. Pediatr Infect Dis J 23(5), 481-482, 2004
- 18) Li RY, Kosugi I, Tsutsui Y : Activation of murine cytomegalovirus immediate-early promoter in mouse brain after transplantation of the neural stem cells. Acta Neuropathol 107, 406-412, 2004
- 19) 筒井祥博：サイトメガロウイルス感染症における神経病原性の発生機序。日本病理学会会誌 93(2), 59-77, 2004
- 20) Tachibana H, Takekoshi M, Cheng XJ, Nakata Y, Takeuchi T, Ihara S : Bacterial expression of a human monoclonal antibody-alkaline phosphatase conjugate specific for *Entamoeba histolytica*. Clin Diagn Lab Immunol 11(1), 216-218, 2004
- 21) Yano A, Maeda F, Takekoshi M : Transgenic tobacco cells producing the human monoclonal antibody to hepatitis B virus surface antigen. J Med Virol 73, 208-215, 2004
- 22) Yano A, Takekoshi M : Transgenic plant-derived pharmaceuticals—the practical approach? Expert Opin Biol Ther 4(10), 1565-1568, 2004
- 23) Katano H, Pesnicak L, Cohen JI : Simvastatin induces apoptosis of Epstein-Barr Virus (EBV)-transformed lymphoblastoid cell lines and delays development of EBV lymphomas. Proc Natl Acad Sci USA 101(14), 4960-4965, 2004
- 24) Katano H, Ali MA, Patera AC, Catalfamo M, Jaffe ES, Kimura H, Dale JK, Straus SE, Cohen JI : Chronic active Epstein-Barr virus infection associated with mutations in perforin that impair its maturation. Blood 103(4), 1244-1252, 2004
- 25) 古谷野 伸：臍の緒を利用した診断技術。北海道小児科医会編「こどもクリニック」北海道医師会、札幌、148-149、2004
2. 学会発表
なし
3. 報道
1) 先天性聴覚障害発見治療へ研究。福島民報新聞。2004年(平成16年)11月25日(木曜日)日刊
2) 新生児の聴覚検査、県中でスタート。読売新聞福島地域版。2004年(平成16年)3月13日(土曜日)日刊
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

臍帯を用いた後方視的先天性サイトメガロウイルス感染症診断法の確立に関する研究

分担研究者 藤枝 憲二（旭川医科大学小児科）

研究協力者 古谷野 伸（旭川医科大学小児科）

研究要旨

先天性サイトメガロウイルス感染症の後方視的診断を可能にするために、保存臍帯を用いた診断法の確立を試みた。同感染症と診断されている患者の臍帯から nested PCR 法を用いることによりサイトメガロウイルス DNA の検出に成功した。本法は 20copy の DNA が存在すれば検出可能であった。この診断法は今まで原因不明の難聴や精神運動発達遅滞と診断されていた患者の確定診断を可能とし、同感染症の真の臨床像を明らかにしていくために有効な手段になりうると考えられる。

A 研究目的

先天性サイトメガロウイルス感染症は胎児がサイトメガロウイルスに子宮内感染し、精神運動発達遅滞、難聴、血小板減少、肝機能障害などの異常をきたす疾患である。診断は生後3週間以内に新生児にサイトメガロウイルスが感染している事を証明すれば確定する。出生直後より何らかの症状がある場合の診断は比較的容易だが、出生直後に全く症状がなく生後3週間を経過してしまった場合は、その後に本疾患を疑っても後天感染との区別が付かないため確定診断が不可能であった。

そこで我々は日本では産科病院から出産の記念に日常的に贈られる臍帯に着目した。臍帯は出生時の赤ちゃんの状態をそのまま保存していると考えられ、もし臍帯よりサイトメガロウイルス遺伝子が検出されれば、先天感染の証明になると考えたのである。この診断法が確立されれば、今まで原因不明とされた精神運動発達遅滞や難聴の方々の中に含まれると考えられる本疾患患者の確定診断が可能となり、先天性サイトメガロウイルス感染症の真の有病率や臨床像などを後方視的に明らかにする事が可能となる。

以上のアイデアに基づき、本研究は先天性サイトメガロウイルス感染症の我が国での実態把握を効率的に行い、有効な予防法、治療法を確立していくことを大きな目的とする。

B 研究方法

1. 検体の収集

すでに先天性サイトメガロウイルス感染症の診断がついているお子さんの臍帯の一部を提供していただく。また対象群として生来健康な方の臍帯も収集する。ご提供頂いた臍帯は紫外線で処理したはさみを用い25mg程度を切断・分割し、残りはご家族にお返りする。

2. 臍帯からのDNAの抽出

臍帯約25mgからDNA抽出キット（QIAamp DNA Mini Kit, QIAGEN）用いてDNAを抽出、保存する。抽出方法はキットのプロトコールにしたがう。

3. サイトメガロウイルス遺伝子の同定

臍帯から得られたDNA（500ng）をテンプレートとして、nested PCR法を用いてサイトメガロウイルス遺伝子（糖タンパクB）の検出を試みる。用いるプライマーは以下の通りである。

1st round: 5' - ATCGCGATCCATGGAATCCAGGATCTGGT-3', 5' - TTCCTCGAGGTTTCAGACGTTCTCTT - 3'
2nd round: 5' - GGAAACGTGTCCGTCCTT -3', 5' - GAAACGCGCGCAATCGG -3'

また反応条件は

1st-round: 94 C—30秒、63 C—30秒、72 C—1分を30サイクル。

2nd-round: 94 C—30秒、58 C—30秒、72 C—30秒を30サイクル。

で行った。

得られたPCR産物はアガロースゲルを用いた電気泳動でバンドを確認後、その塩基配列を蛍光キャピラリーシーケンサーで解析し、サイトメガロウイルス遺伝子であることを確認する。

4. PCR法の感度

今回行うnested PCR法の感度を求めるため、プラスミド（pcDNA3）にサイトメガロウイルス糖タンパクBの遺伝子部分（UL55）をクローニングしテンプレートDNA（pcDNA3-gB4）とした。pcDNA3-gB4を 10^6 copy/tubeより希釈し、その検出限界を求めた。

（倫理面への配慮）

本実験は臍帯よりDNAを抽出するが、ヒトの遺伝子を扱うものではない。しかしながら臍帯という貴重な記念品を一部ではあるが提供して頂く点を考慮し、実

際の臍帯提供者の治療には直接結びつかないなどを明記した臍帯提供の同意書を作成し、提供者から同意を得る。尚、本研究は旭川医科大学倫理委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

1. 患者紹介

2002年3月出生の男児。40週2日で胎児仮死のため緊急帝王切開で出生した。出生体重は2524g、アプガースコアは8点/1分であった。生後すぐに新生児感染症が疑われ、髄液検査を含む検査が行われた。白血球数の増加、CRP値の上昇があり抗生剤が投与された。その後は順調に経過し退院となっている。

4ヶ月時に体重増加不良と筋緊張の亢進があり頭部CTを撮影したところ左側頭葉の欠損、脳内石灰化を認めため、先天性サイトメガロウイルス感染症が疑われた。新生児期に採取されていた髄液が保存されていたため、髄液中のサイトメガロウイルスDNAの検出を試みたところ、 2.0×10^2 copy/ml のサイトメガロウイルスDNAが検出された。この結果より先天性サイトメガロウイルス感染症の診断が確定した。

本患児のご両親より同意をいただき、保存臍帯の一部を提供して頂いた。またコントロールとして生来健康な小児、2名よりやはり同意を得た後に臍帯の一部を提供して頂いた。

2. PCR結果 (図1)

先天性サイトメガロウイルス感染症患児より提供頂いた臍帯から抽出したDNAから、375bpのバンドが検出された(レーン5、矢印)。しかし健康小児2名の臍帯からは検出されなかった(レーン3、4)。レーン1はマーカー、レーン2はDNAを入れていない陰性コントロールである。

3. 塩基配列の確認

検出されたバンドの塩基配列をキャピラリーシークエンサーで解析したところ、バンドがサイトメガロウイルスDNAのUL55の塩基配列である事を確認した。

4. PCR法の感度 (図2)

pcDNA3-gB4を 10^6 copy/tube (図2、A、レーン7)から希釈していき、それぞれ 10^5 、 10^4 、 10^3 、 10^2 、 10 copy/tube (図2、A、レーン6、5、4、3、2)をテンプレートDNAとしてnested PCRを行ったところ、 10^2 (図2、A、レーン3)まで、検出可能であった。 10 copy では検出できなかった(図2、A、レーン2)。図2、A、レーン8は陰性コントロール、レーン1はマーカーである。

次に 10^2 よりさらに細かく希釈倍率を下げて同様の実験を行った。それぞれ100、80、60、40、20、10 copy/tube (図2、B、レーン7、6、5、4、3、2)をテンプレートDNAとしてPCRを行ったところ、20 copy/tube (図2、B、レーン3)までは検出可能であった。

やはり10 copyでは検出できなかった(図2、B、レーン2)。図2、B、レーン8は陰性コントロール、レーン1はマーカーである。

D. 考察

先天性サイトメガロウイルス感染症の診断は生後3週間以内の新生児にサイトメガロウイルスが感染していることを証明する必要がある。これまで多くの研究がなされているが、出生した新生児を対象として前方視的に行われたものである。現在報告されている同感染症の頻度からすると、1万人の新生児を対象としても不顕性感染を含めておおよそ100人弱の感染が見つかり、顕性感染はそのうちの1割弱となる。1万人を対象としても10人弱の顕性感染患者しか発見できないため、きわめて効率の悪い研究となっていた。また新生児期に症状がなく、生後3週間以上経過した後に何らかの症状が現れる場合も不顕性感染患者の1割程度いると推定されており、このような患者の診断自体が不可能であった。

以上の問題点を解決する方法として、多くの日本人が産科病院から出産の記念に贈られている臍の緒を利用することが可能かを検証するため今回の研究を行った。臍帯が利用できればたとえ患者が現在20歳になっていたとしても後方視的に診断が可能となる。したがって疑っていても確定診断が出来なかった患者の診断を付けることで、効率的に先天性サイトメガロウイルス感染症例を集めることが可能となり、その臨床像を把握するには極めて有効な手段となる。

今回我々は結果で示したとおり、すでに診断の確定している男児の臍帯よりサイトメガロウイルスDNAを検出することに成功した(図1)。また健康小児の臍帯からは検出されなかったことから、原因不明の難聴や精神運動発達遅滞患者の臍帯を検査することで本感染症の診断を後方視的に付けていくことが可能なが判明した。原因不明の難聴や精神運動発達遅滞患者の診断を確定させること自体が有益であると考えられるが、さらにその臨床像を検討することで、聴力や神経学的予後を左右するのはどのような因子なのか、治療を積極的に行うべき症例をどのように選択していくべきかなどの疑問に解答が得られるのではないかと期待される。

今回確立した検査法では、20copy のDNAが存在すれば検出出来ることがわかった(図2)。一般的なnested PCR法とほぼ同等の感度と思われる。しかしながら、この事実は20copy を超えるサイトメガロウイルスDNAを含む母胎血の混入による偽陽性や臍帯中のウイルス量が少ないための偽陰性の可能性が十分にあり得ることを示している。今後さらに症例数を増やし感度、特異度を検討していく必要があると考えられる。

E. 結論

保存臍帯を用いた先天性サイトメガロウイルス感染症の後方視的診断法を確立した。この方法により先天性サイトメガロウイルス感染症の真の有病率や臨床像などを効率的に明らかにしていく事が可能になると考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

(論文発表)

1. Shin Koyano, Akiko Araki, Yoshiki Hirano, Kenji Fujieda, Tatsuo Suzutani, Kazuyori Yagyū, Koichi Muro, Naoki Inoue. Retrospective Diagnosis of Congenital Cytomegalovirus Infection Using Dried Umbilical Cords. The Pediatric Infectious Disease Journal (2004) 23: 481-482.

(学会発表)

1. 古谷野伸、藤枝憲二:「臍帯を用いた後方視的先天性サイトメガロウイルス感染症の診断」第7回 北海道ウイルス感染症セミナーの会 2004年9月11日 札幌
2. 古谷野伸、藤枝憲二:「先天性サイトメガロウイルス感染症の実態把握と早期介入」第7回 北海道出生前診断研究会 2004年11月20日 札幌

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

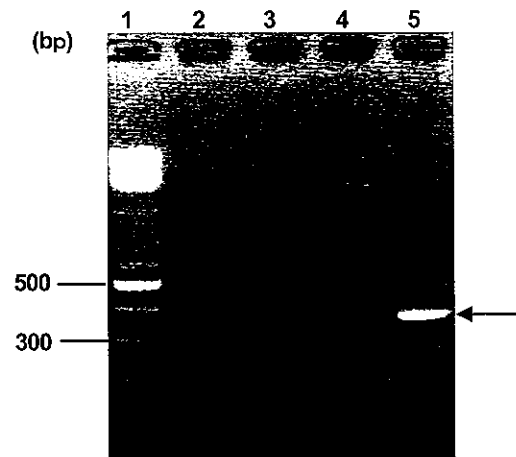


図1

1: マーカー、2: DNAなし、3,4: 健康小児の臍帯から抽出したDNA、5: 患者臍帯からの抽出DNA (←)

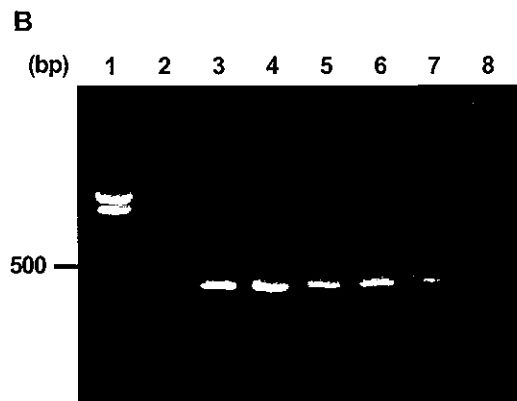
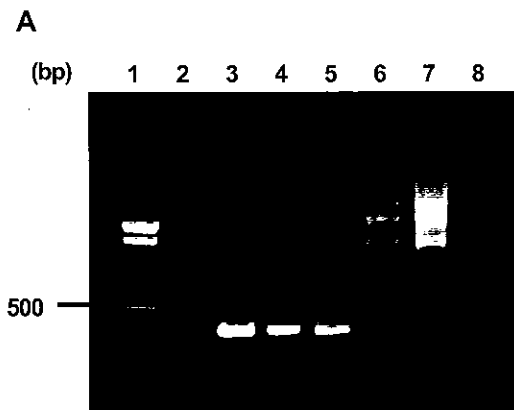


図2

A
1: マーカー、2: DNA量 10 (copy/tube)、3: 10^0 、4: 10^3 、5: 10^4 、6: 10^5 、7: 10^6 、8: DNAなし

B
1: マーカー、2: DNA量 10 (copy/tube)、3: 20、4: 40、5: 60、6: 80、7: 100、8: DNAなし

臍帯を用いた先天性 CMV 感染症診断の実際と聴覚障害の解析

分担研究者 馬場陽子（福島県総合療育センター、福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科）

主任研究者 大森孝一（福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科）

分担研究者 小川 洋（福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科）

分担研究者 錫谷達夫（福島県立医科大学医学部微生物学）

研究要旨

福島県総合療育センターに通院中の難聴幼児 11 例の臍帯を調べたところ、そのうちの 2 症例に PCR 法によってサイトメガロウィルス（CMV）を証明できた。この 2 例の臨床経過と聴力像について報告した。2 例とも中等度の精神発達遅滞があり、頭部 CT で異常所見をみとめた。聴力は 1 例が両耳 100dB、もう 1 例は COR で両耳 120dB 以上であった。

A. 研究目的

先天性 CMV 感染症は 300 人に 1 人の割合で出生し、その 5% は顕性感染でありさらにその 40% 程度に難聴が認められるとの報告がある。また不顕性感染の 10% に難聴が認められることを考え合わせると従来原因不明とされてきた乳幼児の難聴のおよそ 30% は先天性 CMV 感染症が原因であると推測される。そこで難聴児の何割に先天性 CMV 感染症があるかを調べるために、難聴児の臍帯の一部を採取し、福島医大微生物学教室において PCR 法を用い検査を行った。

B. 研究方法

図 1 に臍帯検査の流れを示す。福島県総合療育センター耳鼻咽喉科、福島医大耳鼻咽喉科難聴外来に通院している難聴患児の臍帯を図 2 のようにメスで約 200mg、5 mm 程度を切り取り提供していただき、福島医大微生物学教室にて PCR 法により CMV の DNA が存在するかどうかを調べた。今回平成 16 年 11 月から 1 月までに 11 例の検体提供者がありそのうちの 2 症例の臍帯から CMV の DNA が検出されたため、その 2 症例の現病歴をまとめ、聴力像などにつき検討した。聴力の検討には条件付け詮索反応検査（COR）または遊戯聴力検査と他覚的聴力検査として聴性脳幹反応検査と聴性定常状態反応検査を行った。聴力評価後必要に応じて当センターにて経過観察や療育指導を行うこととした。

（倫理面の配慮）

協力者には研究の内容を充分説明し、協力の意思を得るとともに、結果の取り扱いに細心の注意を払った。なお、この研究については福島県立医科大学倫理委員会の審査と許可を受けた。

C. 研究結果

(1)PCR 法の結果

図 3 のごとく CMV 陽性の 2 症例についてははっきりと白色のバンドが観察できた。

(2)CMV 陽性の症例の解析

症例 1 H.Y 平成 12 年 8 月 2 日生。4 歳、女児。現病歴：在胎 35 週で子宮内胎児発育不全と診断され、切迫早産のため 36 週で入院、37 週 1 日で自然分娩 1816 g、Apg9→9 で出生した。出生時、低出生体重児、胎便吸引症候群、低血糖症、低カルシウム血症、過粘度症候群、血小板減少症の診断で NICU に入院、輸血、抗生剤点滴などの加療を受けた。日令 23 日に症状改善したため退院した。入院中の検査で IgM が正常値であったことから CMV 感染は否定されていた。平成 13 年 9 月（1 歳 1 ヶ月）、運動発達の遅れがあり精査、訓練目的に当センターを受診、理学療法開始された。この時施行された頭部 CT で両側シルビウス裂の拡大と両側脳室近傍微小石灰化が認められた。1 歳 2 ヶ月での津守稲毛式発達検査での発達指数は 55 であり、中等度の発達遅滞と診断された。12 ヶ月ごろまでは軟語があったがその後なくなり難聴が疑われ、1 歳 8 ヶ月時に聴性脳幹反応検査施行された。両側とも V 波閾値 105dB であり高度難聴疑われたが COR 検査の結果があいまいな状態であった。側頭骨 CT、MRI では奇形などの異常所見はなかった。その後、通院が途絶え、3 歳 10 ヶ月時に再受診。COR、ABR の再検査と ASSR（聴性定常状態反応検査）を行った。COR：92.5dB（4 分法）、ABR V 波閾値：右 110dB 無反応、左 100dB、ASSR での推定聴力：右 100dB 以上、左 92.5dB であった。平成 16 年 6 月（2 歳 2 ヶ月）より聴能訓練開始した。訓練開始後、5 ヶ月経過した時点で遊戯聴力検査が可能となり、平均聴力レベ

ル：右 111.3dB、左 98.8dBであった。平成 17 年 2 月現在の聴力は右 117.5 dB、左 103.8dB であり、大きな変化はない状態である。

症例 2 K.M 平成 11 年 9 月 27 日生。5 歳、女兒。現病歴：40 週 2344 g、吸引分娩、Apg8→9 にて出生。子宮内胎児発育不全、新生児不整脈があり保育器に 5 日間収容されたが大きな問題はなかったため退院。その後運動発達に問題があり 8 ヶ月時に当センターへ紹介となり、平成 12 年 7 月より理学療法開始された。2 歳 0 ヶ月時の津守稲毛式発達検査では発達指数は 47 であり、中等度の発達遅滞と診断された。平成 13 年 6 月肺炎で入院後より音への反応が悪くなり、言葉が出なくなったとの訴えあり、聴力の精査のため平成 13 年 12 月 ABR を施行。結果は両側 100dB 無反応であった。COR でもすべての周波数で 100dB 以上の結果であったが知的障害の所見もあり聴力の正確な評価は困難であった。頭部 CT では脳室周囲に low density area、MRI では皮質下白質に異常信号みられた。経過観察は継続していたが 4 歳 7 ヶ月時点でも正確な聴力の評価、補聴器の装用は困難であった。平成 16 年 6 月 ABR の再評価、ASSR (GSI 社製 Audera) をおこなった。ABR は両側 100dB 無反応で ASSR の推定聴力も両耳とも 120dB 以上の結果であった。4 歳 11 ヶ月頃からようやく補聴器装用するようになり、5 歳 1 ヶ月ごろから補聴器の装用効果が確認できるようになった。5 歳 5 ヶ月現在経過観察と訓練を継続中であるが最近 1 年間については難聴が進行している様子はみられていない。

D. 考察

今回経験した 2 症例は精神運動発達遅滞をともなった高度難聴児である。症例 1 は子宮内胎児発育遅延、低出生体重、血小板減少症など先天性 CMV 感染症を疑う所見はあったものの出生直後の IgM が陰生であったため先天性 CMV 感染症は否定されていた。症例 2 は子宮内胎児発育不全はあったが出生後、大きな問題がなかったため血清学的な診断はなされていない。また 2 症例とも運動発達の遅れを主訴に小児科を受診しているが受診後の頭部画像診断で症例 1 は脳質周囲の石灰化を認めており、先天性 CMV 感染症に合致する所見である。聴力については両症例とも家族の話からは進行性難聴が強く疑われるが、レトロスペクティブにみると当科受診時にはすでに 100dB を超える高度難聴の状態と推測される状態であり、進行してゆく過程は経過を追えなかった。

ASSR は今回この 2 症例を両側高度感音難聴で

あると診断するための決め手となった。

当科で使用した ASSR (Auditory Steady-State Evoked Response ; 聴性定常状態誘発反応) は Grason—Stadler 社製の Audera である。ASSR は連続的あるいは定常的な音響刺激によって誘発される脳反応で、ASSR を誘発するために用いられる刺激はオーディオメーターの周波数 250~8000Hz の変調音である。変調音が ASSR を誘発している場合は位相が固定した脳反応が測定される。ASSR の解析はそれぞれのサンプルに対して、純音変調周波数に対する脳波の振幅および位相を定量化し、局座標のベクトルとして示し、ベクトルの位相解析には、Phase Coherence Squared (PC²) が用いられる。ASSR の反応閾値からメルボルン大学での研究結果を基礎とするアルゴリズムを利用し、純音オーディオグラムを推定する。メルボルン大学での研究では ASSR 閾値が純音の閾値に対して 90%以上の高い相関関係を持つこと、特に中等度、高度難聴者においては 95%以上の相関関係があることが報告されている。今回当科で経験した 2 症例は発達遅滞のために COR や遊戯聴力検査の評価に信頼性がもてない状況が長期間あったが Audera では 250 ヘルツから 1 オクターブごとに 4000Hz まで評価することができ、高度難聴の診断を確定する上で非常に有用であった。仮に出生時にこの 2 症例が先天性 CMV 感染症であると診断が確定していれば ABR や ASSR で定期的に評価することにより難聴の早期診断に結びついたであろうと考えられた。

E. 結論

難聴児 11 例の臍帯を PCR 法にて検索したところ 2 例に CMV の DNA が検出され先天性 CMV 感染症の可能性が示唆された。

上記 2 症例は難聴以外にも子宮内胎児発育遅延、精神運動発達遅滞も見られており、頭部 CT 所見で脳の変化もあることから先天性 CMV 感染症である可能性が高いと考えられた。

この 2 症例の難聴は診断が確定した時点では 2 例とも 100dB 以上の高度難聴であったが、現病歴から進行性難聴の可能性が考えられた。

ASSR は精神運動発達遅滞がある難聴児の聴力の評価に有用であった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産の出願・登録状況

なし

聴覚障害児の実態調査

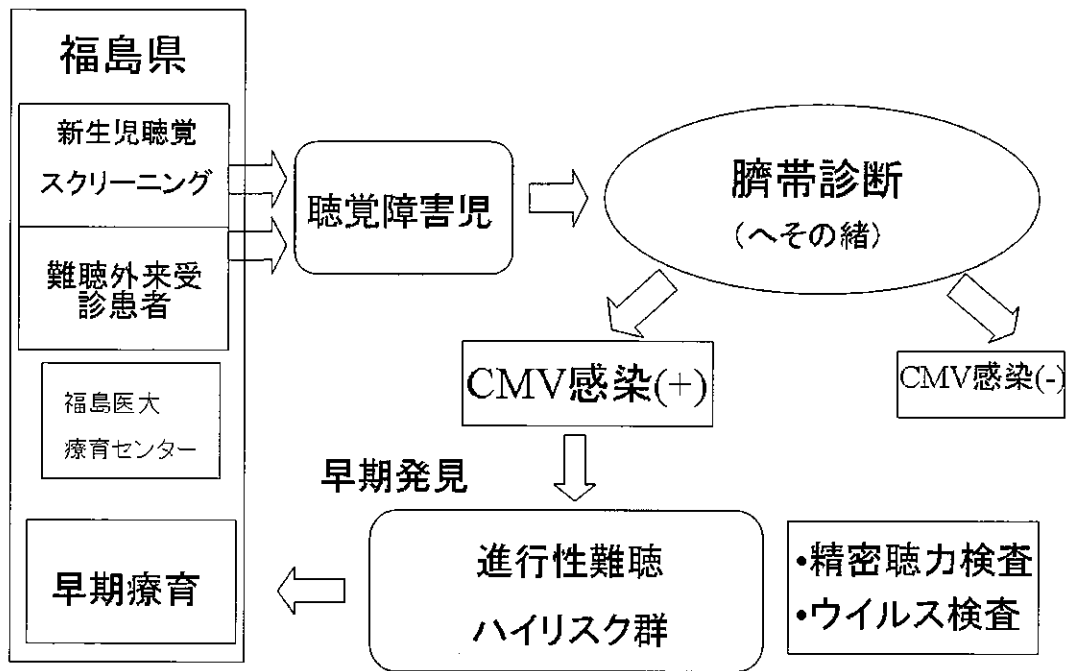


図1. 福島県における聴覚障害児の実態調査の流れ

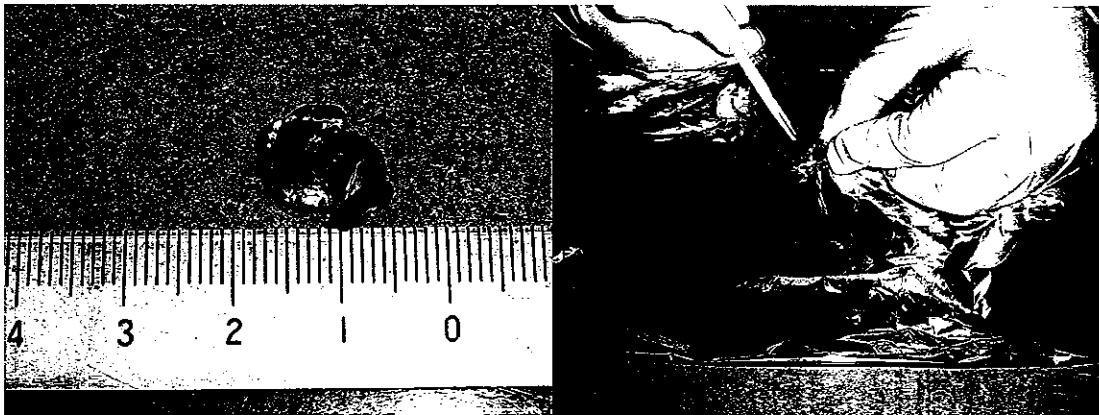


図2. 保存されていた臍帯およびメスによる臍帯の切り出し。メスは滅菌されたディスプレイザブルのものを用い、アルミ箔の上で操作している。

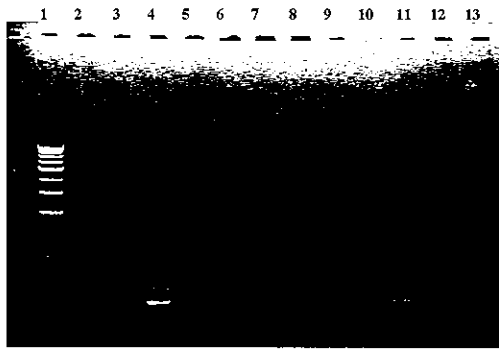


図3 臍帯からのCMV ウイルス DNA の検出
 レーン1:分子量マーカー。レーン12:サイトメガロウイルスの陽性コントロール。レーン13:陰性コントロール。レーン2からレーン11までが臍帯を解析した結果であり、レーン4、レーン11の臍帯においてサイトメガロウイルス陽性のDNAバンドが検出されている。

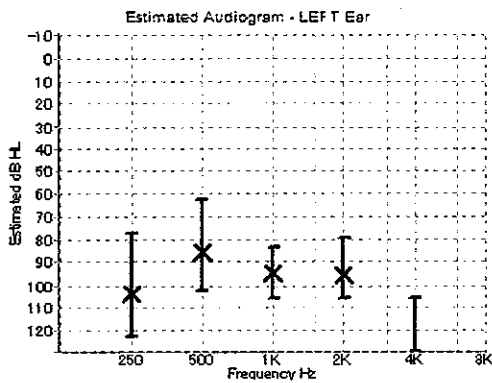


図4-A 左耳 ASSR 結果 (症例1)

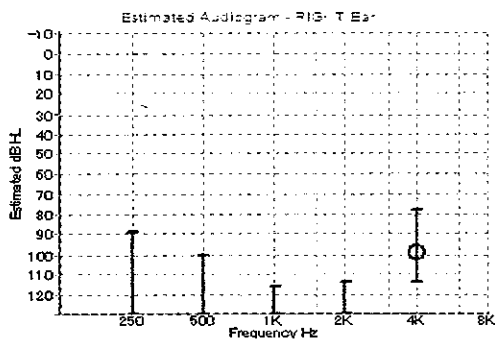


図4-B 右耳 ASSR 結果 (症例1)

症例1 H.Y 遊戯聴力検査 ● 右耳 × 左耳 (マスキングなし)

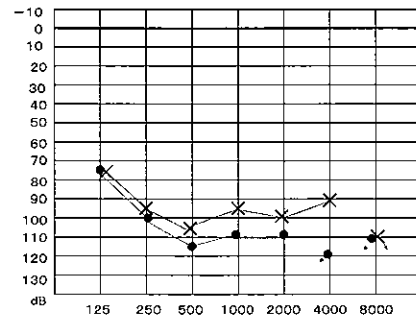


図4-C 遊戯聴力検査結果 (症例1)

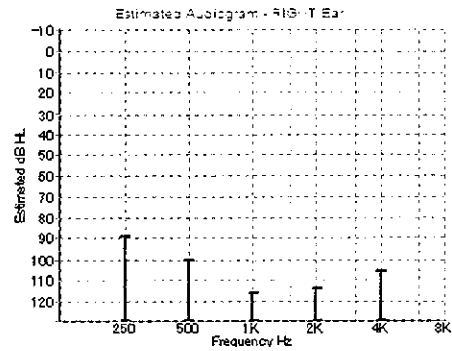


図4-D 右耳 ASSR 結果 (症例2)

症例2 K.M △ 条件付け聴素反応検査

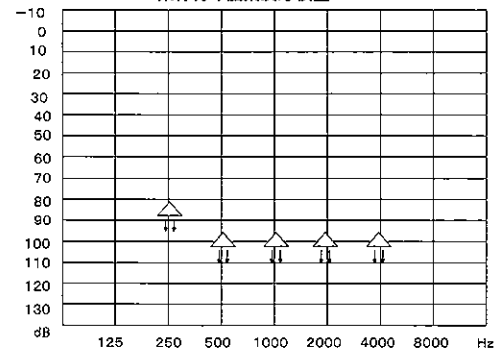


図4-E COR 結果 (症例2)

先天性サイトメガロ感染症児の聴力像

分担研究者 馬場陽子（福島県総合療育センター、福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科）
研究協力者 佐藤尚恵（公立藤田総合病院）

研究要旨

先天性サイトメガロウイルス感染症児（先天性 CMV 感染症児）の約 10 パーセントに難聴が発症するといわれているにもかかわらず、本邦では先天性 CMV 感染症児の聴力像についての詳細な報告は少なく 7 例であった。福島県総合療育センターでは平成 5 年 7 月から平成 17 年 1 月までに 4 症例の先天性サイトメガロ感染症児につき経過観察を行うことが可能であったためその聴力像について報告した。症例 1 は右 33.8 dB、左 scale out、症例 2 は COR にて 20dB、症例 3 は COR にて 52.5dB、症例 4 は COR にて 58dB であるが ABR の閾値から左は 90dB 程度と考えられた。4 症例の聴力像に特定の傾向はなかった。また現在までのところ進行も見られなかった。

A. 研究目的

先天性 CMV 感染症は ～ 人に 1 人の割合で出生し、その 5 % は顕性感染でありさらにその 40 % 程度に難聴が認められるとの報告がある。また不顕性感染の約 8 % に難聴が認められることを考え合わせると従来原因不明とされてきた乳幼児の難聴のおよそ 30 % は先天性 CMV 感染症が原因であると推測される。しかし、本邦では先天性 CMV 感染症児の経過についての報告が少ない。福島県総合療育センターで経過観察を受けている先天性 CMV 感染症児の聴力像について解析した。

B. 研究方法

平成 5 年 7 月から平成 17 年 1 月までの 11 年 6 ヶ月間に福島県総合療育センター耳鼻咽喉科を受診した先天性 CMV 感染症の 4 症例についてその病歴と聴力の経過を報告する。

C. 研究結果

〈症例 1〉 平成 4 年 10 月 6 日生、10 歳、女児。診断：先天性 CMV 感染症、脳性麻痺、精神発達遅滞、両感音難聴、網脈絡膜炎。現病歴：33 週、1982 g、Apg 7 → 9 にて出生。呼吸障害あり、18 日間酸素の投与を受けた。日令 25 日、網脈絡膜炎と診断された。血液検査にて IgM153、CMV IgM 抗体 (+)、尿中 CMV (+) により先天性 CMV 感染症と診断され日令 41～54 日にガンシクロビルを使用した。脳波では multifocal spike を認め、CT では脳内に石灰化を認めた。生後 2 月で退院した。生後 9 ヶ月（修正 7 ヶ月）で定額せ

ず、運動発達遅滞の訓練目的当センターを紹介され受診し、理学療法開始された。2 歳 4 ヶ月時の津守稲毛式発達検査では発達指数 66 であり中等度の知的障害を認めていた。6 歳 6 ヶ月で普通小学校に入学、入学後の学校検診で難聴を指摘され、精査のため当科を受診した。聴性脳幹反応検査（ABR）では左は 100dB 無反応、右は V 波閾値 50 dB で、遊戯聴力検査による純音聴力は平均聴力レベル右 33.8dB、左 110dB 以上であった。6 歳 10 ヶ月より右耳に補聴器の装用を開始した。10 歳 9 ヶ月まで定期的に受診していたが聴力の変化は認めなかった。

〈症例 2〉 平成 10 年 2 月 9 日生 6 歳 女児。診断：先天性 CMV 感染症、脳性麻痺、精神発達遅滞、遠視性乱視、内斜視。現病歴：32 週頃に子宮内胎児発育遅延を指摘されていた。40 週、2050 g、Apg 7 → 9 にて出生。小頭症、呼吸障害あり NICU に入院、酸素投与、経管栄養が 2 週間行われた。頭部 CT にて脳内に散在性に石灰化を認めた。検査では、咽頭ぬぐい液にて CMV (+) より、血清 CMV 特異的 IgM 抗体 (-) であったが先天性 CMV 感染症と診断された。日令 30 日で退院。4 ヶ月にて定額せず理学療法等目的に当センター紹介となった。2 歳 4 ヶ月時の津守稲毛式発達検査で発達指数 11 と最重度の精神運動発達遅滞を認めた。聴力については 7 ヶ月時に ABR 施行され V 波閾値右 50dB、左 60dB であったが、聴性行動反応検査では 500～4000Hz においてすべて 20dB で反応が得られた。1 歳 0 ヶ月、5 歳 9 ヶ月時に再検査を行ったが聴力に変化はなかつ

た。

〈症例3〉 平成12年10月27日生。4歳 女児。診断：先天性CMV感染症、脳性麻痺、精神発達遅滞、てんかん、両感音難聴 現病歴：在院7ヵ月で水頭症と診断されていた。40週、2504gにて出生。出生時の頭部CTにて脳室拡大、脳室周囲石灰化（+）、検査では血液尿中のCMV（+）より、血清CMV特異的IgM（-）であったが先天性CMV感染症と診断された。4ヵ月にて定額なく、理学療法とてんかんのコントロール目的に投下を紹介され受診、訓練、治療開始となる。津守稲毛式発達検査では3歳9ヵ月で発達指数7であり最重度の精神運動発達遅滞を認めた。聴力については8ヵ月時にABR行われ両耳100dB無反応であり、聴性行動反応検査では平均聴力レベル60dBの難聴を認めた。8ヵ月より補聴器の装用を開始した。その後2歳10ヵ月まで定期的に聴力の経過を観察したがほぼ変化なく経過した。

〈症例4〉 平成14年10月16日生、2歳 女児。診断：先天性CMV感染症、脳性麻痺、精神発達遅滞、てんかん、両感音難聴、視神経萎縮 現病歴：38週、2940g、Apg8→10にて出生。頭部CTにて短頭、脳室拡大、脳室上衣に石灰化、小脳低形成。検査ではCMV特異的IgM（+）、尿中、血中CMV（+）にて先天性CMV感染症と診断された。転居のため1歳1ヵ月より当センターにて理学療法、てんかんに対する治療などを行っている。2歳9ヵ月津守稲毛式発達検査で発達指数10であり最重度の精神運動発達遅滞を認めている。聴力については8ヵ月にABRが施行されており右100dB無反応、左□波閾値80dBで聴性行動反応検査では70dBの結果が得られている。2歳9ヵ月より補聴器の装用を開始、3歳2ヵ月時点で聴力に変化は認められていない。

図1に症例1～症例4までの聴力像を示す。

D. 考察

本邦での過去の報告例は今回渉猟しえた限りでは7症例（表1）であった。当科で経験した症例（表2）はすべて精神発達遅滞を伴う顕性感染であった。過去の報告例では難聴の進行を認めたものが7例中6例あったが、当科で経験した症例で難聴の進行を認めたものはなかった。過去の報告例はすべて100dB以上の最重

度難聴であるが、当科で経験した症例の聴力は20dB～70dBであり両側とも最重度の難聴を認めたものはいなかった。また当科の症例では2例に聴力の左右差を認めた。過去の報告例7例と自験例4例の聴力像から先天性CMV感染症の聴力像については特に決まった傾向はないことがわかった。

E. まとめ

長期的に聴力を追跡できた先天性CMV感染症4症例について、聴力像とその経時的変化を報告した。

F. 研究発表

1. 学会発表

馬場陽子、佐藤尚恵、大森孝一：精神運動発達遅滞を伴った先天性サイトメガロウイルス感染症児の聴力像。第49回日本聴覚医学会、2004.10

G. 健康危険情報

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

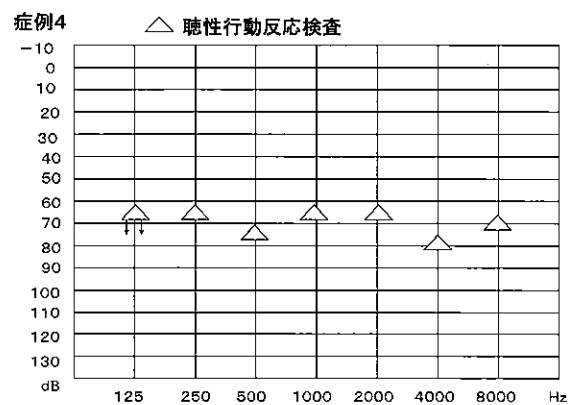
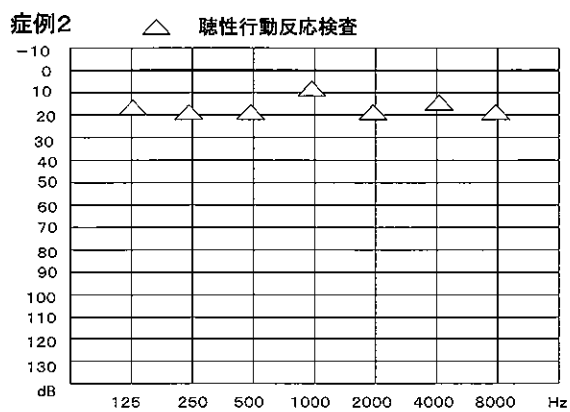
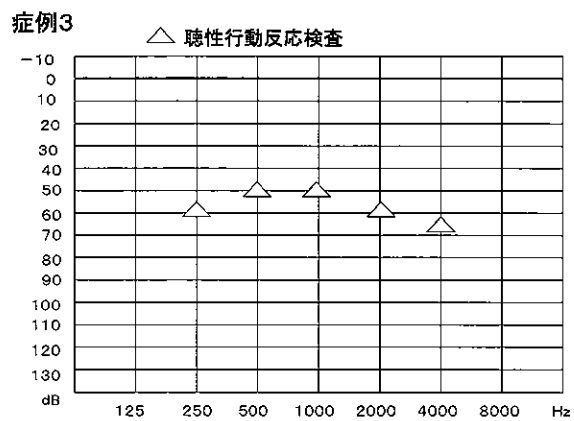
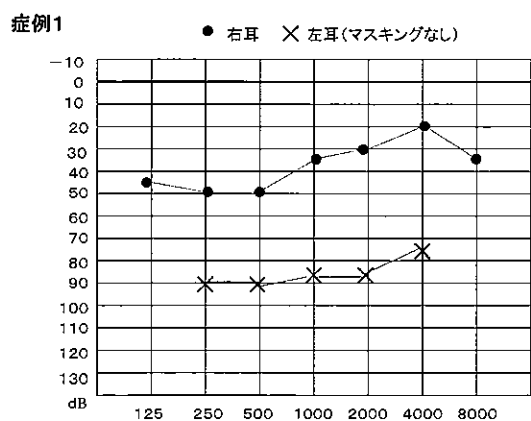


図1 症例1から症例4の聴力像

表1 本邦での報告例

症例	難聴以外症状	聴力	難聴の進行	報告者
1. 女 7 y 8 m	精神運動発達 遅滞	117dB (良聴耳)	なし	池原ら (1996)
2. 男 4 y 4 m	精神運動発達 遅滞 口唇口 蓋裂	100dB以上 (スピーカー法)	あり	荒井ら (1997)
3. 女 4 y 0 m	なし	右 130 dB 左 130 dB	あり	荒井ら (1997)
4. 男 6 y 2 m	血小板減少症	右 105 dB 左 130dB以上	あり	荒井ら (1997)
5. 女 5 y 6 m	血小板減少症	右 130dB以上 左 130dB以上	あり	荒井ら (1997)
6. 女 2 y 7 m	血小板減少症	ABR115dB無反 応 (両側)	あり	荒井ら (1997)
7. 女 10 y 5 m	てんかん CP	右 114dB以上 左 110dB以上	なし	森ら (2003)

表2 自験例

症例	難聴以外の症状	聴力	難聴の進行
1. 女 10 y 9 m	脳性麻痺 精神発達遅滞 網脈絡膜炎	右 38.8 dB 左 100dB以上	なし
2. 女 5 y 9 m	脳性麻痺 精神発達遅滞 遠視性乱視 内斜視	20 dB (COR)	なし
3. 女 2 y 10 m	脳性麻痺 精神発達遅滞 てんかん	60 dB (COR)	なし
4. 女 3 y 2 m	脳性麻痺 精神発達遅滞 てんかん 視神経萎縮	70 dB (COR) ABR左v波 80 dB 右 100dB無反応	なし

福島県における新生児聴覚スクリーニングと精密聴力検査

分担研究者 馬場陽子（福島県総合療育センター、福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科）

主任研究者 大森孝一（福島県立医科大学医学部耳鼻咽喉科）

研究要旨

福島県は平成16年1月から県中地区の11産科医療機関にて新生児聴覚スクリーニングが開始された。平成16年12月までの1年間に2814人が自動聴性脳幹反応検査（AABR）によるスクリーニングを受けた。その結果初回（1回目）スクリーニングでrefer（要検査）となったものは26人、確認検査（2回目）でreferとなったものは11人、生後一ヵ月時に行った再確認検査（3回目）でreferとなったものは6人であった。要精密検査となった6例のうち2例は正常聴力、4例が片側難聴と診断された。

A. 研究目的

先天性難聴の発症は1000から2000人に1人であるがハイリスク児以外の早期発見は困難であった。しかし、新生児期にAABRを行うことで先天性難聴児の早期発見、早期療育が可能となった。特に早期発見をすることで新生児期からの経過観察が可能になり、進行性難聴の病態解明の一助になると思われる。福島県は平成16年1月より新生児聴覚スクリーニングを開始した。本稿ではこの1年間における福島県での新生児聴覚スクリーニングの方法と精密聴力検査の結果について報告する。

B. 研究方法

1. 福島県新生児聴覚検査開始までの流れ

厚生省は聴覚障害の早期発見・早期治療を図るため、新生児聴覚検査の有効性や実施方法・体制などを検討することを目的とし、平成12年10月から「新生児聴覚検査事業」を試行的事業として開始した。福島県は平成15年6月から福島県新生児聴覚検査事業検討会（同会会長：主任研究者 大森孝一）を開催し、実施に当たっての検討をすすめてきた。その結果、新生児聴覚スクリーニング検査の実施に当たっては、OAE（耳音響放射）は偽陽性率が高いため検査機器としてはAABR（自動聴性脳幹反応検査）のみを採用し、検査だけでなく、その後の精密聴覚検査と療育体制を全体として整備する必要があり、また保護者への確実なフォロー体制が必要とされることから、地域内に適

切な精密聴覚検査機関、療育機関が整備されている「県中（郡山）地域」を当初の対象地域とし、平成16年1月から試行的に開始した。

（倫理面の配慮）

本スクリーニングは十分な説明のもと保護者の同意の得られた新生児に対して行われた。

2. 検査方法とその特長

自動聴性脳幹反応検査（Automated Auditory Brainstem Response）は自然睡眠下の新生児に刺激音（700～5000Hzのクリック音）を聞かせて、脳幹から出る微弱な反応波を検出し、正常な波形とパターンマッチング法で比較することにより、自動的に「パス（pass）」または「要検査（refer）」の判定を行う検査である。特長として①在胎週数34から36週以後なら安定した検査値を得る ②内耳から脳幹までの聴覚経路全般を検査 ③外耳（屈曲、耳垢）や中耳（羊水残存）の影響を受けにくい ④閾値測定レベルは35dB（ささやき声程度） ⑤環境騒音の影響は受けにくく、「比較的静かな部屋」で測定可能 ⑥検査所要時間は概ね10分以内 ⑦検査の敏感度は、ほぼ100%、特異度は約99.2%であることが挙げられている。

（検査の実施時期）

新生児の場合、出生直後には中耳にまだ液体が貯留していることが多く、これが空気に置き換わるには数時間から数日間を要するので、出生直後には偽陽性率が高くなる。このため、検査の実施時期については次のとおりとする。