

200822021A

厚生労働科学研究費補助金
子ども家庭総合研究事業

全新生児を対象とした先天性サイトメガロウイルス（CMV）感染
スクリーニング体制の構築に向けたパイロット調査と感染児臨床像
の解析エビデンスに基づく治療指針の基盤策定

平成 20 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 藤 枝 憲 二

平成 21 年 3 月

目 次

I. 序文	1
II. 研究班構成員名簿	3
III. 総括研究報告書	5

研究代表者
旭川医科大学小児科

藤枝 憲二

IV. 分担研究報告書

1. 先天性サイトメガロウイルス（CMV）感染スクリーニングから判明した症候性先天性CMV感染症同胞例の臨床像と母体CMV特異的免疫機能の評価
旭川医科大学小児科
藤枝 憲二、古谷野 伸、長森 恒久
17
2. 保存臍帯を用いて診断した新生児期以降に発達障害が顕在化した出生児無症候性先天性サイトメガロウイルス感染症の臨床像の解析
旭川医科大学小児科
古谷野 伸
24
3. 長崎県における先天性サイトメガロウイルス感染症の実態に関する研究
長崎大学大学院医歯薬学総合研究科小児科
森内 浩幸
長崎大学大学院医歯薬学総合研究科産婦人科
増崎 英明
長崎大学大学院医歯薬学総合研究科感染免疫学
森内 昌子
31

4. 全新生児を対象とした先天性サイトメガロウイルス (CMV) 感染スクリーニング体制の構築に向けたパイロット調査と感染児臨床像の解析エビデンスに基づく治療方針の基盤策定 35
藤田保健衛生大学医学部小児科
吉川 哲史
5. 先天性サイトメガロウイルス感染症による神経後遺症に関する研究
— 新生児スクリーニングのための神経画像評価法シートの作成
. 38
東京大学大学院医学系研究科小児科
岡 明
6. 先天性サイトメガロウイルス感染症における難聴の治療 42
埼玉県立小児医療センター保健発達部
大石 勉
7. 高度医療センターにおけるCMVスクリーニング体制構築と先天性CMV感染児の臨床像解析 51
国立成育医療センター周産期診療部新生児科
伊藤 裕司
8. 福島県におけるサイトメガロウイルス (CMV) スクリーニング体制構築と先天性感染児の臨床像解析に関する研究 60
福島県立医科大学産婦人科
佐藤 章、浅野 仁覚
9. 妊婦CMV IgMスクリーニングとIgG avidity測定による初感染妊婦同定の試みに関する研究 64
北海道大学大学院医学研究科
生殖発達医学講座産科生殖医学分野
山田 秀人
愛泉会日南病院 疾患制御研究所
蜂松 俊夫
北海道大学医学研究科
古田伊都子

10. 成育医療センターにおけるCMV母子感染対策の研究に関する研究
 68
 国立成育医療センター周産期診療部
 久保 隆彦、大石由利子
11. 非症候性CMV先天性感染による遅発性難聴の診断に関する研究
 71
 国立成育医療センター耳鼻咽喉科
 泰地 秀信
12. 先天性サイトメガロウイルス感染症と聴力障害の経過 79
 目白大学言語聴覚学科
 坂田 英明
 埼玉県立小児医療センター耳鼻咽喉科
 安達のどか
 埼玉県立小児医療センター検査部
 荒井 孝
 愛和病院小児科
 藤田 英寿
13. サイトメガロウイルス感染による聴覚障害マウスモデルの作成
 84
 福島県立医科大学微生物学講座
 錫谷 達夫、生田 和史
14. 先天性感染児の臨床像に関与する免疫学的要因の検討 89
 国立成育医療センター研究所母児感染研究部
 藤原 成悦
15. 先天性サイトメガロウイルス感染スクリーニング検査の実施と
 遺伝子型解析 94
 国立感染症研究所ウイルス1部
 井上 直樹

V. 診療ガイドライン

1. 先天性CMV感染児への初回治療プロトコル案 103
2. 先天性CMV感染児への追加治療プロトコル案 107

VI. 会議記録

1. 平成20年度第一回研究報告会プログラム 109
2. 平成20年度第二回研究報告会プログラム 111

VII. 研究成果の刊行に関する一覧表 115

I. 序 文

I. 序 文

先天性サイトメガロウイルス (CMV) 感染は 200 人に 1 人の割合で発生し、その約 1 割が重篤な症状を呈する。さらに出生時無症候児の一部が難聴・精神発達遅滞等の障害を遅発性に引き起す。難聴に関しては、早期検出のため各都道府県で新生児聴覚検査の普及が進められつつあるが、先天性 CMV 感染に伴う難聴の半数以上は遅発性のため検出できない。先天性 CMV 感染に伴う難聴が高度難聴の 20%程度を占めること、それらの障害が遅発性に発生する可能性がある事を考慮すると、新生児における先天性 CMV 感染同定は早期の療育的介入を可能にし、教育的・社会的予後を大きく改善すると考えられる。簡易な方法で診断が可能な「発症前に予想しうる障害」に対する積極的な対応として、CMV 先天感染のスクリーニング体制を構築することが本研究の大きな目的である。我国では、こうしたスクリーニング体制構築をめざした検討はなく、行政・研究機関・医療現場が一体となった取り組みが求められる。

2008 年 4 月より本研究班は先天性 CMV 感染のマススクリーニング体制の構築のための基礎データを収集するとともに、得られたデータより遅発型の発症予想を含めたエビデンスに基づく治療の基準や指針を策定することを目指して研究を開始した。まだ研究は端緒についたばかりではあるが、すでに 6000 名程度の新生児のスクリーニングを行い新たな知見を得つつある。次年度以降のさらなる発展が期待される場所である。

新しくスタートさせていただいた研究班の目標に向かってご尽力いただきました研究分担者並びに研究協力者の方々に心から感謝申し上げますとともに、多くのご助言を賜りました厚生労働省雇用均等・児童家庭局母子保健課の方々に厚く御礼申し上げます。

平成 21 年 3 月

研究代表者 藤枝 憲二

II. 研究班構成員名簿

研究班構成員名簿

区 分	研究者名	所属機関	職 名
研究代表者	藤枝 憲二	旭川医科大学小児科	教 授
研究分担者	佐藤 章	福島県立医科大学産婦人科	教 授
	森内 浩幸	長崎大学大学院医歯薬学総合研究科小児科	教 授
	錫谷 達夫	福島県立医科大学微生物学講座	教 授
	吉川 哲史	藤田保健衛生大学医学部小児科	准教授
	山田 秀人	北海道大学大学院医学研究科生殖発達医学講座 産科生殖医学分野	准教授
	伊藤 裕司	国立成育医療センター周産期診療部新生児科	医 長
	久保 隆彦	国立成育医療センター周産期診療部産科	医 長
	泰地 秀信	国立成育医療センター耳鼻咽喉科	医 長
	藤原 成悦	国立成育医療センター研究所母児感染研究部	部 長
	井上 直樹	国立感染症研究所ウイルス第1部	室 長
	岡 明	東京大学大学院医学系研究科小児科	准教授
	大石 勉	埼玉県立小児医療センター保健発達部	部 長
	坂田 英明	目白大学言語聴覚学科	教 授
古谷野 伸	旭川医科大学小児科	助 教	
事務局担当	古谷野 伸	旭川医科大学小児科 〒078-8510 旭川市緑が丘東2条1丁目1-1 T E L 0166-68-2481 F A X 0166-68-2489	助 教
経理事務担当	高橋 秀吉	旭川医大総務部会計課出納係 〒078-8510 旭川市緑が丘東2条1丁目1-1 T E L 0166-68-2154 F A X 0166-66-1300	係 長

Ⅲ. 総括研究報告書

全新生児を対象とした先天性サイトメガロウイルス（CMV）感染スクリーニング体制
の構築に向けたパイロット調査と感染児臨床像の解析エビデンスに基づく治療指針
の基盤策定

研究代表者 藤枝 憲二 旭川医科大学小児科

【研究要旨】

- 1) 先天性CMV感染のスクリーニング体制構築を目指したパイロット調査を、各施設の倫理委員会で承認を得て開始し、約6000人の新生児を検査した。先天性感染の頻度は、約250人にひとりと予想通り高く、その1/4が何らかの症状を出生後ある期間内に呈していた。従って、1000人に1新生児が先天性CMV感染により影響を受けており、ダウン症と同程度の深刻な問題であることが示された。
- 2) 同定された感染児の解析から、IgM検査は先天性CMV感染児の同定には不十分であること、先天性感染のリスクとして年長児から妊婦への感染の可能性があることが明らかになった。
- 3) スクリーニングもしくは臨床症状から同定された症候性児について、必要に応じて抗ウイルス薬による治療を行い、VGCVの長期投与の効果などについて知見を蓄積するとともに、症候性児に対する治療ガイドラインをまとめた。
- 4) 後遺症のリスク因子などを明らかにするために、画像所見の特徴を抽出し今後の前方視研究のための所見シートを作成するとともに、テトラマーなどを用いたCMV特異的免疫応答能の検査法を確立した。
- 5) 乾燥臍帯を用いた後方視的研究から、難聴や精神発達障害に先天性CMV感染が大きく影響していることが確認された。
- 6) 妊婦の1/3が抗体陰性であり、初感染リスクがある。実際、1%以上の妊婦に初感染が発生していた。

研究分担者

佐藤 章 福島医大産婦人科・教授
森内浩幸 長崎大院医歯薬学総合研究科・教授
錫谷達夫 福島医大微生物・教授
坂田英明 目白大耳鼻科・教授
岡 明 東大小児科・准教授
吉川哲史 藤田保健衛生大学小児科・准教授
山田秀人 北大産婦人科・准教授
伊藤裕司 成育医療センター新生児科・医長
久保隆彦 同 産婦人科・医長
泰地秀信 同 耳鼻咽喉科・医長
藤原成悦 同 研究所母児感染研究部・部長
大石 勉 埼玉小児医療センター・部長
井上直樹 感染研ウイルス1部・室長
古谷野伸 旭川医大小児科・助教

A. 研究目的

先進国における先天性中枢神経系障害の原因として、先天性CMV感染はダウン症候群と並び最多のものと推測されている。全出生児の100～500人に1人が胎内でCMVの感染を受け、その約1割が出生時に重篤な症状を呈すると推定され、さらに出生時無症候児の一部が難聴・精神発達遅滞等の障害を遅発性に引き起すと考えられている。一般的に、難聴・精神発達遅滞等の障害の早期診断は早期の療育的介入を可能にし、教育的・社会的予後を大きく改善することが近年明らかと

なっている。例えば、難聴の早期診断により、早くから聾教育を受けることが可能となり、児の特性にあった形で早期からコミュニケーションスキルを獲得させることが可能となり、有効な意思伝達または理解の手段に本人も気づかない事から来る二次的な問題行動を未然に防ぐことが出来る。また、知的障害を予測し、きめ細かい発達フォローを受けることで、児の知的レベルや認知の特性にあった早期療養を適切に提供する事が可能となる。難聴の早期検出のため、各県で新生児聴覚検査の普及が進められつつあるが、先天性CMV感染に伴う難聴の半数以上は検出できない。先天性CMV感染に伴う難聴が高度難聴の20%程度を占めることや、精神発達遅滞の検査を全乳児について行うことが不可能なことを鑑みる時、新生児における先天性CMV感染同定の必要性は明白である。現時点では、先天性CMV感染を予防するワクチンなどの手段はなく、また、治療法も確立されておらず対症療法を中心としているため、スクリーニングが感染児家族に対する「むやみなストレス」となるだけとの批判もあるが、上に述べた早期介入のメリット、感染児が発症するリスク要因の明確化による絞込み、将来における有効で安全な治療法の確立の可能性を考慮するとき、簡易な方法で診断が可能な「発症前に予想しうる障害」に対する積極的な対応のためにはCMVスクリーニング体制を構築することが重要である。

先天性CMV感染症対策の必要性は、米国アカデミーのInstitute of Medicineレポート(1999)やワクチン政策を決定するNational Vaccine Advisory Committeeによる総説(Clin Infect Dis, 2004)に明確にされている。米国では母子保健局が

取りまとめた勧告に基づき、スクリーニング体制確立のために多額の研究費を投じて公募研究が推進されている。イタリアなどEUの一部の国では、濾紙に採取された乾燥血液(ガスリー血)を用いてパイロット調査が進行している。我国においては、こうしたスクリーニング体制構築をめざした対応はなく、行政・国研・大学・医療現場が一体となった取り組みが求められる。そこで、本研究班は、本年度を初年度として3ヵ年計画で、(1)約2万人の出生児について先天性CMV感染のスクリーニングを行い、先天性感染の頻度を明らかにするとともに、(2)同定された感染児などでコホートを形成し長期にフォローすることで、後遺症を含めた臨床像を明らかにし、(3)画像解析・免疫学的解析・ウイルス学的解析により感染・後遺症発生のリスク因子などを明らかにする。さらに、(4)必要に応じて抗ウイルス薬などによる治療を行い、エビデンスをもとに治療の基準や指針を策定していく事を目的としている。

B. 研究方法

1) 臨床検体

パイロット調査の目的を説明し両親の同意のもとに紙おむつ中で特殊濾紙に新生児の尿を採集した。濾紙検体は、施設ごとの認識番号及び担当医のみが連結可能な個人番号により匿名化し、感染研において一元的に検査を実施した。方法としては、3ミリ径に打ち抜いた濾紙片を直接用いるリアルタイムPCR法を用いた。この一次検査において陽性となったものについては、濾紙片からDNAを溶出して陽性結果を確認した。すべての結果を各施設に連絡し、各施設においては担当医が陰性結果の場合必要に応じて1ヶ月検診の

際に両親に結果報告した。陽性児については、早期に両親と面談し、尿・保存濾紙血・臍帯など可能な検体を用いて陽性結果の確認を行なった。

さらに、同意に基づき、下記対象者より目的に応じた臨床材料を得た。(a)スクリーニング陽性児：免疫応答及びウイルス量の出生後の変化の解析などを目的として血液・尿を採取、(b)陽性児同胞：ウイルスの感染経路の解析を目的として尿を採取、(c)陽性児母親：感染が初感染か再感染かなどを血清学的に検査することを目的として血液を採取、(d)高度難聴・精神発達遅滞など先天性CMV感染が疑われる小児：確定診断を目的とした乾燥臍帯の提供、(e)出生後自然感染(後天性感染)を受けたと思われる健常小児：遺伝子型解析の対照として尿を採取、(f)健常成人：リンパ球増殖試験の対照として血液を採取。

2) 臨床評価

発達障害は遠城寺式・乳幼児分析的発達検査表、新版K式発達検査、Wechsler Intelligence Scale for Children Third Edition (WISC-III)を用いて評価した。聴力評価は聴性脳幹反応(ABR)を用いた。また、頭部MRI・CTなどの画像解析を行った。

3) CMV 特異的免疫機能の評価

刺激抗原としてHCMV精製抗原もしくはpp65またはIE-1ペプチドを使用しIFN- γ を産生する細胞数を求めた。また、 ^3H -メチルチミジン取り込みを用いたリンパ球増殖試験を行った。

PCR産物を用いてHLA遺伝子の塩基配列の一部を決定してHLAタイプを決定した。この情報をもとにMHCクラスI/CMVペプチドを4量体化したMHCテトラマーを製し、末梢血単核球を染色しフローサイトメーターによりCMV特異的免疫細胞の検出を行った。

4) 血清学的検査

CMV IgG及びIgM検査は一般的な方法により各施設で実施した。またCMV avidityは、研究協力者(峰松)が実施し、avidity低値を初感染と規定した。

5) CMV DNAの定量

一般的なリアルタイムPCR法を用いた。乾燥臍帯DNAを解析する際には、CMV DNAの定量に加えて、細胞遺伝子の定量も行った。

6) CMV 遺伝子型解析

詳細は、研究分担者(感染研 井上)の報告を参照。

(倫理面の配慮)

本研究は、研究班に参加する各研究者の所属する機関及び関連機関の倫理委員会の承認を受けて行われた。研究の目的をよく説明し、保護者の書面での同意に基づき検体を採取し、検体をコード番号化することで連結可能匿名化を図り、適切に行われた。陽性と判定された新生児の両親にはカウンセリングを実施できる体制を整え、正確な情報を提供し、無用な不安・ストレスの解消に努めた。

C. 研究結果

1. スクリーニングの進捗状況

倫理委員会の承認時期に応じて開始が遅れた施設もあったが、最終的に長崎大(森内)・藤田保健衛生大(吉川)・東大(岡)・成育医療センター(伊藤)・福島医大(佐藤)・北大(山田)・旭川医大(古谷野)とその関連医療機関において検体が収集され、感染研(井上)で一元的に検査が行われた。各施設での検体収集状況を表1に示す。3月6日までに総計5,974検体をスクリーニングし、陽性が確認された検体数は、19件であった。スクリーニングを待たずして臨床症状から先天性CMV感染が3例で疑われ、いずれも確定診断がなされた。従って、総計22例の先天性CMV感染症例が同定されたこととなり、先天

性CMV感染の頻度は0.37%であった。相当数の検体が検査された施設間で陽性率に4倍程度の差があったが、統計学的解析を行うに足る検体数には至っていない。なお、2035検体（うち8例は感染児）は、旭川医大で昨年度までに収集し、感染研で検査したものである。

表2にスクリーニングで陽性となった新生児のうち、情報が整理できている20例について全般的な特徴をまとめた。まず、第1に、出生時に明確な症候性であった3例に低体重などのリスク児を加えると20例中5例が何らかの先天性CMV感染による影響を出生時に呈していた。第2に、CMVに対するIgM検査では、15例中9例が陰性であることから、IgM検査は先天性CMV感染児の同定には不十分であることがわかった。第3に、20例中12例が第1子ではなく同胞がいる。

2. 妊婦におけるCMV感染の状況

新生児のスクリーニング結果との比較を目的として、妊婦でのCMV感染実態を2つの側面から調査した。

- 1) 成育医療センター(久保)はCMV特異的IgG抗体保有率を4306人の妊婦について検討し、確実な陰性者が1386人で全体の32.2%であった。このことから、初感染がおこれば先天性CMV感染児を出生するリスクが高い妊婦が、3人に1人は存在することが明らかになった。
- 2) 北大(山田)は妊婦1014人についてCMV IgM検査を行ったところ、30人(3.0%)がIgM陽性で、10人(1.0%)がグレーゾーンであった。この40人中同意が得られた39人についてIgG avidityを測定し、14人(36%)が本当の初感染であり、64%は偽陽性やpersistent IgMであることが判明した。初感染母体における尿ないし頸管のCMV DNA陽性率は、慢性感染母体に比べ、有意($p < 0.01$)に高かった。幸いにして、初感染の14人からの出生児に先天性CMV感染はなか

った。この結果から、1.4%と高率に妊婦の初感染が発生していることが明らかになった。

3. 先天性CMV感染児の臨床像解析と治療

- 1) スクリーニングもしくは臨床症状から同定された症候性児について、必要に応じてガンシクロビル(GCV)などによる抗ウイルス薬による治療を行い、画像(CT, MRI)・血液(末梢血、生化学)・聴覚(ABRなど)・発達(遠城寺式乳幼児分析的発達検査法など)等の各検査により臨床経過をまとめた。その代表的な1例として、成育医療センター新生児科(伊藤)で経験し、同耳鼻科(泰地)・感染研(井上)など研究分担者の協力を得て総治療期間6ヶ月にわたる長期の抗ウイルス薬投与の効果がモニターされた症例の経過を図1に示した。この症例では、小頭症、点状出血、肝脾腫等から先天性感染症を疑ったがCMV IgM陰性であった。しかしながら、血清及び尿中のCMV DNAが陽性と判明し先天性CMV感染を確定した。日齢7から活動性網脈絡膜炎を発症し、難聴も認められた。短期のGCV投与後、網脈絡膜炎が再燃したが、長期投与により網膜炎や聴力障害の改善を図ることができた。長期投与に伴う副作用は観察されなかった。なお、GCV静注による入院継続などのためQOLが低下することを防ぐため12週より経口薬であるvalganciclovir(VGCV)の投与を選択した。VGCVに関しては、米国でも先天性CMV感染症への適用のための臨床治験が進行中であり慎重にエビデンスを収集して投与した。埼玉小児医療センター(大石)においても長期投与の効果が同様に見られた。
- 2) 長崎大(森内)・旭川医大(古谷野)など小児科の班員を中心に、症候性児に対する治療ガイドラインをまとめた。その骨子は以下の通りである。

〈導入療法〉

【対象】症候性先天性CMV感染児で、(a)治療開始時点で原則として生後30日以内、(b)治療開始時点の体重が1,200g以上、(c)妊娠週数32週以上。除外項目(a) val ganciclovir (VGCV)の投与に関しては、消化管障害の存在または既往、(b)クレアチニン $>1.5\text{mg/mL}$ または $\text{CCr} < 10\text{mL/min/1.73 m}^2$ 、(c)治療実施が困難となるような他の重症疾患を有する場合。

【治療方法】VGCV経口投与(授乳後) $16\text{mg/kg/回} \times 2\text{回/日} \times 6\text{週}$ 、またはGCV点滴静注 $6\text{mg/kg/回} \times 2\text{回/日} \times 6\text{週}$

【効果及び副作用評価】血液及び髄液中ウイルス定量、必要に応じてウイルスの薬剤感受性試験、GCV血中濃度、聴力検査、眼底検査、発達評価、脳画像評価などをもとに総合的に効果を判定。副作用については、CBC/diff, ALT, 総ビリルビン、尿酸、クレアチニンなどを測定する。

〈追加治療〉

【対象】導入治療を行った児で、(a)治療終了後に臨床的再増悪がみられた場合、(b)治療終了時点でなお血液中から 1×10^4 コピー/ml 以上のウイルスDNAを検出、または髄液から検出限界以上のウイルスDNAを検出した場合、または(c)治療終了後2週間までにリバウンドして血液中から 1×10^4 コピー/ml 以上のウイルスDNAを検出、または髄液から検出限界以上のウイルスDNAを検出した場合に考慮する。

【治療方法】VGCV経口投与(授乳後) $16\text{mg/kg/回} \times 2\text{回/日} \times 6\text{週間}$

【効果及び副作用評価】導入治療と同じ。

- 3) スクリーニングにより同定された出生時不顕性感染児については、臨床像解析のための研究への協力を両親に依頼し、その同意の下に症候性感染症児と同様の検査を行うとともに、血液・尿

などの検体を随時採取し、CMVコピー数および血液中の抗CMV抗体の変動をモニターしている。比較的長期にフォローしている顕性2例不顕性9例の解析からは、出生後の時間経過のなかで、血漿中のウイルスDNAが速やかに消失していく一方、血球中には時として陽性細胞が出現すること、尿中のウイルス量は出生直後血中の1000倍以上で比較的長期に高値が持続することが明らかになってきた。

- 4) スクリーニングで第2子に先天性CMV感染が同定された症例の中に特異なケースが1例あった(旭川医大藤枝ほか)。健全な第1子後、2回目の妊娠時に重度の子宮内発育遅延に伴い人工流産となり、3回目の妊娠中により無症候で出生した児に先天性感染が判明したものである。この事例は、①ABRで難聴が明らかになった。②ウイルス遺伝子解析から、第1子、人工流産となった胎児及び第2子のCMV株が同一と判明した。③母体IgG avidity検査より、2回目妊娠時に初感染したとの結果を得た。④母体T細胞中のCMV特異的IFN- γ 分泌CD4/CD8陽性細胞数及びCMV特異的リンパ球増殖能はCMV IgG抗体陽性健康成人に比較して問題ないレベルにあった。従って、母体内での持続感染により、もしくは潜伏感染からの再活性化により、先天性感染が発生したと考えられる。
- 5) 各先天性感染症例についての詳細は、福島医大(佐藤)・藤田保健衛生大(吉川)・長崎大(森内)の各分担報告書に記載されている。

4. 先天性感染及び後遺症発生のリスク因子の検討

- 1) 年長同胞が確認された12例中6例について感染児とCMV遺伝子配列が比較され、すべてのペアで配列の完全な一致

が見られた(感染研井上)。このことから、自然感染した乳幼児が排泄する尿や唾液が妊婦の初感染のリスクとなっているのではないかと疑われる。

- 2) 先天性感染児におけるCMV特異的免疫応答を解析することを目的として、HLA タイピング、MHC テトラマーを用いた特異的免疫細胞の検出・定量、CMV抗原刺激によるIFN- γ 産生細胞の検出・定量に関する実験方法を確立した(成育医療センター藤原)。CMV抗原を認識する免疫細胞の存在、抗原応答による細胞増殖能およびIFN- γ 産生能などの機能が、解析した感染児4例すべてにおいて認められた。
- 3) 先天性CMV感染に伴う神経系の影響を評価するためには、正確な画像診断と神経発達の評価が重要である。今年度は、これまでに新生児難聴スクリーニング検査にて先天性CMV感染を同定した13名の患児の頭部MRI検査所見、及びそのうちの5名で施行された頭部CT検査所見を後方視的に検討し、画像所見の特徴を抽出した。例えば、大脳皮質形成異常は全例で見られ、脳性麻痺の臨床像を呈し、最も重篤な予後と関連していた。こうした結果に基づき、今後の前方視研究に使用するための所見シートの作成を行った(東大・岡)。先天性CMV感染における画像所見は極めて特徴的であり、ポイントを絞って評価をすることが可能であり、その上で神経発達の予後などとの関連を検討していくことが重要であると考えられた。

5. 乾燥臍帯を用いた後方視的調査

難聴や精神発達障害など神経学的障害における先天性CMV感染の寄与とその臨床的特徴を、乾燥臍帯を用いて後方視的に解析した。

- 1) 長崎大(森内)では、対象として難聴のみで他の障害はない小児26例を選び、

その3例(12%)に先天性CMV感染を見出した。以前から指摘されている遅発性、進行性、左右不均衡などの特徴が、この3例に認められた。

- 2) 成育医療センター(泰地)でも、先天性難聴あるいは進行性・遅発性難聴の12例に臍帯検査を行い、2例(17%)がCMV陽性であった。いずれも両側重度難聴で、一例の経過は不明であるが、一例は進行性難聴であった。
- 3) 旭川医大(古谷野)では、原因不明の発達障害児20名について検討し、5名に先天性CMV感染が明らかとなった。5名の発達障害児はすべて新生児期に先天性感染を疑われておらず、1年以内に発達障害が顕在化していた。

D. 考察

倫理委員会承認後スクリーニングは順調に進んでおり、本年度末までに総計7000人(内2000人は本年度以前の分)の新生児をスクリーニング検査できる予定である。約250人に1人の頻度で先天性感染児が同定され、その4人に1人が症候性であった。即ち、1000人に1人というダウン症候群並みの頻度で先天性感染が発生していることから、全新生児CMVスクリーニング体制の必要性があらためて明確になっている。

今後のスクリーニングでは、1)正常分娩を扱う産科開業医の協力のもとに行っている場合、何らかの異常があるために開業医の元を離れる症例に含まれる可能性のある先天性CMV感染児をどう取りこぼさないようにするか、2)NICUなど明らかに高リスク群の新生児をどのように仕分けして評価していくか、などを考慮しつつスクリーニング結果の解析を進めていく必要がある。

長崎大(森内)が気づいたように一見無症候性児も、ウイルス血症が存在していた間に原因不明の好中球減少があったなど、詳しい検索を行うと何らかの異常を

見出す可能性もあり、スクリーニング陽性児について、より細やかな臨床像の解析を行う必要があると思われる。

スクリーニングの順調な進行に伴い早期に一定数の感染児コホートが形成されることが期待できる。これらの感染児の経時的フォローによる臨床像の解析結果と、a) 所見シートを用いたより効率的な画像解析、b) CMV 特異的免疫応答などの解析、c) ウイルス量やウイルス遺伝子型などとの相関が来年度以降明確にされてくることが期待できる。

妊娠可能年齢女性のCMV既感染率が2/3に低下していること、1%以上の妊婦で初感染が発生していることが明らかとなった。妊婦における初感染の同定には、IgM検査にIgG avidity検査を組み合わせることが有効であることが明らかになった。一方、初感染母体から出生した児に先天性感染がなかったことは、妊娠初期感染があっても検査を行った妊娠18-20週時にはすでに母体IgMが陰性化している可能性や、妊娠中期以降の母体初感染は同定することができないなどの技術的問題点と関連しているかもしれない。今後、妊娠中の初感染を効率的に同定する方法を確立する必要があると考えられる。

感染児と同胞兄弟間で感染しているウイルス株が同一であることは、家族内感染がCMVの主要な感染ルートであることを示している。従って、第1子妊娠時にCMVの暴露による初感染を回避する方策を講じても、第1子が自然感染し数年にわたって大量のCMVを尿に排泄するため第2子妊娠時の初感染が回避できないと想定される。先天性CMV感染がダウン症候群以上の頻度であること、妊婦の初感染リスクの増大、妊娠中の血清学的検査の不十分さなどを総合的に考慮すると、先天性CMV感染を防ぐにはCMVワクチンの開発・実用化が急務と考えられる。

E. 結論

1) スクリーニングにより250人に1人の頻度でCMV感染児が同定されている。

- 2) 妊婦の1/3が抗体陰性であり、初感染リスクがある。実際、1%以上の妊婦に初感染が発生していた。
- 3) 先天性感染のリスクとして年長児から妊婦への感染の可能性がある。
- 4) CMV IgMは先天性CMV感染児の同定には不適である。
- 5) 免疫応答の解析法や画像解析の所見シートを確立し、後遺症のリスク因子解析に着手した。
- 6) 顕性感染児の治療データを集積するとともに、症候性感染児への統一治療プロトコールを作成した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Koyano S, Inoue N, Nagamori T, Yan H, Asanuma H, Yagyu K, Osaki M, Seiwa C, Fujieda K. Dried umbilical cords in the retrospective diagnosis of congenital cytomegalovirus infection as a cause of developmental delays. *Clin Infect Dis.* (in press)
- 2) Yan H, Koyano S, Inami Y, Yamamoto Y, Suzutani T, Mizuguchi M, Ushijima H, Kurane I, Inoue N. Genetic linkage among human cytomegalovirus glycoprotein N (gN) and gO genes, with evidence for recombination from congenitally and post-natally infected Japanese infants. *J Gen ViroL.* 89: 2275-2279 (2008)
- 3) Yan H, Koyano S, Inami Y, Yamamoto Y, Suzutani T, Mizuguchi M, Ushijima H, Kurane I, Inoue N. Genetic linkage among human cytomegalovirus glycoprotein N (gN) and gO genes, with evidence for recombination from

- congenitally and post-natally infected Japanese infants. *Arch Virol.* 153: 667-674(2008)
- 4) Ishibashi K, Tokumoto T, Shirakawa H, Hashimoto K, Kushida N, Yanagida T, Shishido K, Aikawa K, Yamaguchi O, Toma H, Tanabe K, Suzutani T. Strain-specific seroepidemiology and reinfection of cytomegalovirus. *Microbes Infect* 10: 1363-1369, (2008)
- 5) Fukushima E, Ishibashi K, Kaneko H, Nishimura H, Inoue N, Tokumoto T, Tanabe K, Ishioka K, Ogawa H, Suzutani T. Identification of a highly conserved region in the human cytomegalovirus glycoprotein H gene and design of molecular diagnostic methods targeting the region. *J Virol Methods* 151: 55-60 (2008)
- 6) Nishikawa A, Yamada H, Yamamoto T, Mizue Y, Akashi Y, Hayashi T, Nihei t, Nishiwaki M, Nishihira J. A case of congenital toxoplasmosis whose mother demonstrated serum low IgG avidity and positive tests for multiple-nested PCR in the amniotic fluid. *J Obstet Gynaecol Res* (in press)
- 7) 錫谷達夫. 先天性サイトメガロウイルス感染による難聴. *医学のあゆみ* 227:1086-1087, 2008.
- 8) 錫谷達夫. 先天性サイトメガロウイルス感染と難聴. *耳鼻咽喉科学会専門医通信.* 96: 14-15, 2008.
- 9) 錫谷達夫. 先天性サイトメガロウイルス感染と聴覚障害. 第14回ヘルペス感染症フォーラム 95-98, 2008.
- 10) 久保隆彦. サイトメガロウイルス、産科と婦人科、75: 1596-1599, 2008.
- 11) 山田秀人. TORCH 症候群 18. 産科感染症の管理と治療 D. 産科疾患の診断・治療・管理 (研修コーナー) *日産婦誌* 60(6) : N132-136, 2008.
- 12) 山田秀人. 免疫グロブリン胎児医療研究会, 先天性サイトメガロウイルス感染症に対する免疫グロブリン療法. *日産婦誌* 60(9) : N288-295, 2008
- 13) 山田秀人. 免疫グロブリン胎児医療研究会, 先天性サイトメガロウイルス感染症と免疫グロブリン療法. *産婦人科治療* 97(5) : 485-493, 2008.
- 14) 山田秀人, 北海道トキソプラズマ研究会, 免疫グロブリン胎児医療研究会, 胎児医療の現状と将来—母子感染治療と予防における新たな試み, 周産期診療プラクティス, 産婦人科治療第96巻増刊号, 松浦三男編, 永井書店, 大阪, 23-30, 2008.
- 15) 森内昌子, 森内浩幸. ウイルス性母子感染症. *化学療法の領域* 24:1506-11, 2008.
- 16) 田川正人, 森内昌子, 森内浩幸. 小児耳鼻咽喉科疾患治療の最前線: サイトメガロ難聴. *小児科診療* 71:1711-6, 2008.
- 17) 泰地秀信. 純音聴力検査とマスキング. *JOHNS* 24: 709-713, 2008.
- 18) 泰地秀信, 守本倫子, 南修司郎: 新生児聴覚スクリーニング偽陰性例に

についての検討. 小児耳鼻咽喉科 (in press)

- 19) 泰地秀信. 乳幼児難聴の取り扱いについて. 日本耳鼻咽喉科学会第 22 回専門医講習会テキスト p112-116, 2008.
2. 学会発表
 - 1) Koyano S, Inoue N, Yan H, Asanuma H, Yagyu K, Osaki M, Seiwa C, Fujieda K. Late-onset developmental delay due to congenital cytomegalovirus infection, asymptomatic in neonate. 2008 Congenital Cytomegalovirus Conference, November 5-7, 2008. Atlanta.
 - 2) Inoue N. Invited talk at Roundtable Presentations for 'Neonatal screening' 2008 Congenital Cytomegalovirus Conference, November 5-7, 2008. Atlanta.
 - 3) Moriuchi H, Moriuchi M, Egashira M, Masuzaki H, Yasuhi I, Aoki M, Tagawa M, Ohsawa K, Sato H. Prospective surveillance of congenital hydrocephalus in Nagasaki, Japan: Impact of cytomegalovirus infection. 2008 Congenital Cytomegalovirus Conference, November 5-7, 2008. Atlanta.
 - 4) Moriuchi M, Moriuchi H, Tagawa M, Tanaka H. Retrospective surveillance of congenital cytomegalovirus diseases at School for the Deaf by using umbilical cords. 2008 Congenital Cytomegalovirus Conference, November 5-7, 2008. Atlanta.
 - 5) 古谷野伸, 井上直樹, 長森恒久: 新生児期以降に発達障害が顕在化した出生時無症候性先天性サイトメガロウイルス感染症の解析, 第 56 回日本ウイルス学会, 平成 20 年 10 月 26-28 日, 岡山
 - 6) 顔海念, 古谷野伸, 稲見有希, 山本由美子, 錫谷達夫, 水口雅史, 牛島廣, 倉根一郎, 井上直樹: サイトメガロウイルス gN, gO 及び gH 遺伝子間の連鎖と相同組換え, 第 23 回ヘルペスウイルス研究会, 2008 年 6 月, 鳥取
 - 7) 井上直樹 シンポジウム講演「サイトメガロウイルスの新生児マスキリーニング・レトロスペクティブ診断・遺伝子型解析」第 44 回日本周産期新生児医学会学術集会, 2008 年 6 月, 横浜
 - 8) 山田秀人, 免疫グロブリン胎児医療研究会: 先天性サイトメガロウイルス感染症に対する免疫グロブリン療法, 第 60 回日本産科婦人科学会学術講演会 (クリニカルカンファレンス), 2008 年 4 月 12-15 日, 横浜
 - 9) 山田秀人, 出口圭三, 南真志穂, 涌井之雄, 峰松俊夫, 水上尚典: 免疫グロブリンによる CCMVI 予防研究の結果, 第 4 回免疫グロブリン胎児医療研究会, 2008 年 4 月 14 日, 横浜
 - 10) 山田秀人: 先天性ウイルス・トキソプラズマ感染症に対する新たな出生前医療, 第 30 回和歌山周産期医学研究会 (特別講演), 2008 年 9 月 6 日, 和歌山
 - 11) 錫谷達夫: 先天性サイトメガロウイルス

- ス感染症と聴覚障害、第11回熊本ウイルス感染症研究会、2008年10月16日、熊本
- 12) 錫谷達夫：先天性サイトメガロウイルス感染による聴覚障害、第20回岡山耳鼻咽喉科感染免疫研究会 2009年2月19日、岡山
- 13) 泰地秀信：新生児聴覚スクリーニングで pass となった先天性難聴についての検討。日本小児耳鼻咽喉科学会、2008年6月21日、鹿児島
- 14) 泰地秀信：福祉医療と関連法規。日本耳鼻咽喉科学会・補聴器相談医更新のための講習会、2008年6月28日、東京
- 15) 泰地秀信、守本倫子、南修司郎：Auditory neuropathy の乳幼児における聴性定常反応 (ASSR)、第53回日本聴覚医学会、2008年10月3日、東京
- 16) 松永達雄、守本倫子、泰地秀信：小児難聴に対する系統的遺伝子解析の第一次解析の検討、第53回日本聴覚医学会、2008年10月3日、東京
- 17) 泰地秀信：幼小児難聴の精密検査。日本耳鼻咽喉科学会、第22回専門医講習会、2008年11月16日、東京
- 18) 泰地秀信：福祉医療と相談。日本耳鼻咽喉科学会補聴器相談医講習会、2009年1月18日、東京
- 19) 内田寛、田村英一郎、大宜見力、田中理砂、大石勉：両側頬部腫瘍を呈したサイトメガロウイルス (CMV) 感染症の一例、第45回埼玉県医学会総会、2008年1月27日、埼玉
- 20) 内田寛、田村英一郎、本間なずな、大宜見力、田中理砂、内田寛、大石勉：ガンシクロビル投与により発達遅滞が改善した先天性サイトメガロウイルス感染症の一例、第57回日本感染症学会東日本地方会学術集会、2008年10月23日、埼玉
- 21) 田中学、浜野晋一郎、大石勉：先天性サイトメガロウイルス感染症の診断確定までの経過と問題点、第46回埼玉県医学会総会、2009年2月22日、埼玉

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