

200923014A

厚生労働科学研究費補助金  
子ども家庭総合研究事業

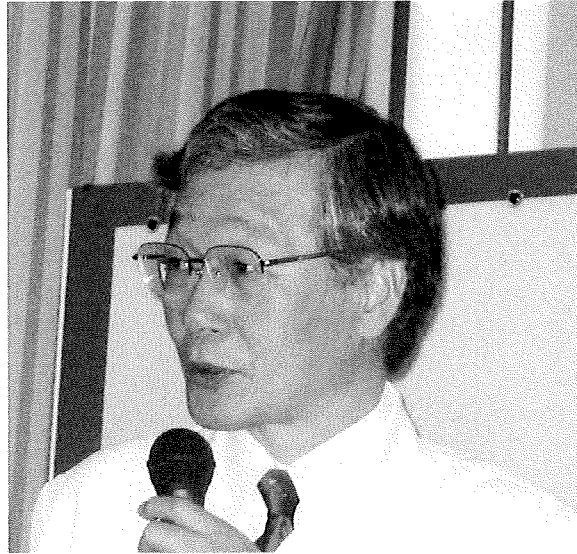
全新生児を対象とした先天性サイトメガロウイルス（CMV）感染  
スクリーニング体制の構築に向けたパイロット調査と感染児臨床像  
の解析エビデンスに基づく治療指針の基盤策定

平成 21 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 藤 枝 憲 二

平成 22 年 3 月

# 追悼



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」

研究代表者 旭川医科大学小児科

藤枝 憲二 教授

平成 22 年 3 月 19 日午前 1 時 26 分に永眠されました。

本研究班に対し多大なご尽力をいただいた御功績に感謝し、  
故人のご冥福を心よりお祈り申し上げます。

研究班 一同

# 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. サイトメガロウイルス特異的免疫機能に妊娠が及ぼす影響の経時的評価  
—パイロットケースにおける解析結果— 17  
旭川医科大学小児科  
藤枝 憲二、古谷野 伸、長森 恒久
2. 北海道における先天性サイトメガロウイルス感染マスキリーニングパイ  
ロット調査で発見された感染児の臨床像 21  
旭川医科大学小児科  
古谷野 伸、藤枝 憲二
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 28  
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
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 33  
藤田保健衛生大学医学部小児科  
吉川 哲史

5. 先天性CMV感染症児の頭部画像所見に関する研究—神経発達予後との関連  
 . . . . . 36  
 杏林大学医学部小児科  
 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  
 —非典型的先天性サイトメガロウイルス感染症の病態の検討— . . . . 44  
 埼玉県立小児医療センター保健発達部  
 大石 勉  
 埼玉県立小児医療センター臨床研究室  
 荒井 孝  
 埼玉県立小児医療センター耳鼻咽喉科  
 安達のどか  
 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放射線科  
 小熊 英二
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感染症  
 の臨床像解析 . . . . . 60  
 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 . . . . . 67  
 福島県立医科大学産婦人科  
 浅野 仁覚
9. 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  
 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  
 —先天性サイトメガロウイルス感染症胎児医療のこれまでの成績—  
 . . . . . 72  
 神戸大学大学院医学研究科  
 山田 秀人  
 愛泉会日南病院 疾患制御研究所  
 蜂松 俊夫  
 神戸大学医学研究科  
 森實真由美

- 1 0. 新生児の先天性サイトメガロウイルス感染スクリーニングと感染児フォローアップ体制構築に関するパイロット研究  
..... 77  
国立成育医療センター周産期診療部  
久保 隆彦
- 1 1. CMV先天性感染による高度感音難聴の診断および療育に関する研究  
..... 80  
国立成育医療センター耳鼻咽喉科  
泰地 秀信
- 1 2. 先天性サイトメガロウイルス感染児の母親のウイルス型別抗体検出法を用いた感染パターンの解析  
..... 84  
福島県立医科大学微生物学講座  
錫谷 達夫、生田 和史  
福島県立医科大学産婦人科学講座  
浅野 仁寛
- 1 3. 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
- 1 4. 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  
..... 95  
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ール . . . . . 105
2. 先天性CMV感染児への追加治療プロトコール . . . . . 109

## VI. 会議記録

1. 平成21年度第1回研究報告会プログラム . . . . . 111
2. 平成21年度第2回研究報告会プログラム . . . . . 115

## VII. 研究成果の刊行に関する一覧表 . . . . . 129

# I. 序 文

## I. 序 文

先天性サイトメガロウイルス（CMV）感染は先進国における先天性中枢神経系障害の原因として、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。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。先天性 CMV 感染に伴う難聴が高度難聴の 20%程度を占めるなど、社会的な影響が大きい疾患でありながら系統だった対策がほとんどとられていない現状を打破するため、本研究班は全国規模での先天性 CMV 感染マスキング導入を目指す第一歩として、2008 年 4 月より 3 年計画でマスキ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指針の策定を目指して研究を開始した。

研究班発足から 2 年間で年間 1 万人の新生児をスクリーニングする体制が構築されており、現在まで約 17,000 名のスクリーニングが実際に行われ 55 名の感染児が同定されている。そのうち症候性児に対しては本研究班で策定した治療プロトコールで加療されており、難聴に対しての効果が明確になってきている。また無症候性児を含めた感染者の詳細な解析により新たな知見が得られている。次年度は、さらに蓄積されたデータを元に本研究の総括を行い、今後の先天性 CMV 感染対策の礎となるために努力したい。

最後に、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 22 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	浅野 仁覚	福島県立医科大学産婦人科	助 教
	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	神戸大学大学院医学研究科	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	杏林大学医学部小児科	教 授
	大石 勉	埼玉県立小児医療センター保健発達部	部 長
	古谷野 伸	旭川医科大学小児科	講 師
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	講 師
経理事務担当	佐藤美喜子	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 教授

【研究要旨】

- 1) 先天性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を目的に、約17,000人の新生児を検査した。先天性感染の頻度は、約300人にひとり予想通り高く、1/4以上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、千人に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の知見を蓄積した。
- 4) 本研究班で作成した評価シートを用いて先天性感染症例の頭部画像所見と神経学的予後の検討を行った。高率に頭部MRIで異常を認め、重度の神経後遺症には大脳委縮、側脳室拡大、皮質形成異常が関連していた。大脳白質病変を高頻度に認めたが、その病的意義について今後前方視的検討が必要であることを明らかにした。
- 5) テトラマーなどを用いたCMV特異的免疫応答能の検討から、先天性CMV感染児にもCMV特異的免疫細胞が存在し、CMV特異的な細胞増殖能およびIFN- $\gamma$ 産生能などの機能が保持されているが、その応答性は健常成人と比較すると低いレベルにあることを示唆する解析結果を得た。
- 6) 妊婦の血清学的検討に加え、妊娠によるCMV特異的細胞性免疫応答の検討がなされた。

研究分担者

浅野仁覚 福島医大産婦人科・助教  
伊藤裕司 国立成育医療センター新生児科・医長  
井上直樹 国立感染症研ウイルス1部・室長  
大石 勉 埼玉小児医療センター・部長  
岡 明 杏林大学小児科・教授  
久保隆彦 国立成育医療センター産婦人科・医長  
古谷野伸 旭川医大小児科・講師  
錫谷達夫 福島医大微生物・教授  
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 同 研究所母児感染研究部・部長  
森内浩幸 長崎大院医歯薬学総合研究科・教授  
山田秀人 神戸大院医学研究科・教授  
吉川哲史 藤田保健衛生大学小児科・准教授

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きた。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いないため、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、昨年度から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) 昨年度策定した評価シートに基づく画像解析、妊婦及び感染児の免疫学的解析、血清型や遺伝子型解析、ウイルス学的解析などを系統的に行うことにより感染ルート・後遺症発生のリスク因子などを明らかにする。さらに、(4) 昨年度策定した治療ガイドライン(案)に基づき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) スクリーニングと臨床検体

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、国立感染症研究所において一元的に検査を実施した。方法の詳細は、研究分担者(感染研井上)の報告を参照。すべての結果は各施設に連絡され、陰性結果は担当医が必要に応じて1ヶ月検診の際に両親に報告した。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：リンパ球増殖試験を目的として血液を採取。

## 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）などを用いた。また、頭部 MRI・CT などの画像解析を行い、岡らを中心に昨年度研究班で策定した評価シートを用いて所見を整理した。

## 3)CMV 特異的免疫の検出・定量

先天性 CMV 感染児の HLA タイピング結果をもとに、MHC クラス I/CMV ペプチドを 4 量体化した MHC tetramer を用いて末梢血単核球（PBMC）を染色し、フローサイトメーターにより CMV 特異的 CD8 細胞を検出した。さらに、CMV 抗原刺激に対する CMV 特異的 CD8 細胞の増殖能を解析する目的で、CMV 蛋白 pp65(lower matrix phosphoprotein)由来のペプチド抗原を用いて PBMC を刺激し、IL-2 存在下で 1 週間培養した後、MHC tetramer を用いて CMV 特異的 CD8 陽性 T 細胞の検出を行った。また、CMVpp65 及び IE-1 (72 kDa major immediate early protein) 由来のペプチド抗原を用いて PBMC を刺激した後、IFN- $\gamma$  を産生する CD8 あるいは CD4 細胞をフローサイトメーターで検出した。詳細は、研究分担者（国立成育医療センター藤原）の報告を参照。

正常妊娠中の CMV 特異的リンパ球増殖を、CMV 抗原刺激下に、 $[^3\text{H}]$ -methyl thymidine の取込量測定により評価した。

インデックスとして Cell division index (CDI)=(抗原添加検体の取込)/(抗原無添加検体の取込)を用いた。CMV 陰性の健常成人の値の分布に基づき  $\text{CDI}>1.5$  を陽性と判定した。詳細は、研究代表者（旭川医大藤枝）の報告を参照。

## 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。CMV 血清型別判定には、糖蛋白 H(gH)のエピトープを GST 融合蛋白として大腸菌で発現後精製したものを抗原として ELISA 法により行った。詳細は、研究分担者（福島医大 錫谷）の報告を参照。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

UL144 や gN 遺伝子など多型が知られる遺伝子を PCR 増殖し、PCR 産物の塩基配列を比較することで感染株が同一かどうかを決定した。また、血清型との一致を gH 遺伝子の塩基配列を決定することで検討した。詳細は、研究分担者（国立感染研井上と福島医大錫谷）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

#### 1)スクリーニング結果

本年度は、長崎大(森内)・神戸大(山田)・藤田保健衛生大(吉川)・杏林大(岡)・国立成育医療センター(伊藤)・福島医大(浅野)・旭川医大(藤枝、古谷野)を中心に、総計23の関連医療機関において検体が収集され、国立感染研(井上)で一元的に検査が行われた。昨年度までに収集した5,974検体を含め今年度2月末日までに総計16,842検体をスクリーニングし、陽性が確認された検体数は、55症例であった。従って、先天性CMV感染の頻度は0.33%、即ち300人にひとりであった。本年度分に限ると、2月末までの11ヶ月間で10,278検体を検査し33検体がCMV陽性であった。各施設での検体収集状況は、研究分担者(井上)のとりまとめを参照。なお、スクリーニングを待たずして臨床症状から先天性CMV感染が疑われた5症例も、スクリーニングにおいて確定検査が行われているため陽性者数に含まれている。

#### 2)同定した先天性感染児の出生時の特徴

表1にスクリーニングで2月末までに先天性感染が確定した患児の情報を整理した。全般的特徴として3点が挙げられる。

第1に、出生時に、明確な症候性であった10例と軽度な肝機能異常など何らかの所見があったもの5例を合わせ、1/4以上(54例中14例)の感染児が、何らかの先天性感染による影響を出生時に呈していた。さらに、低出生体重や画像所見の異常などを加えると1/3以上(54例中21例)となる。

第2に、CMVに対するIgM検査では、半数以上(42例中24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、52例中35例(67%)が第1子ではな

く同胞がいる。

特記事項としては、不整脈を呈した患児が2症例いたことから、従来報告されてこなかったCMV感染との関連を今後慎重に検討する必要がある。

#### 3)先天性感染症例のフォローについて

各先天性CMV感染児の詳細は、旭川医大(古谷野)・福島医大(浅野)・成育医療センター(伊藤)・藤田保健衛生大(吉川)・長崎大(森内)などの研究分担報告書を参照されたい。

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。長崎大(森内)では、臨床的に不顕性な3症例において頭部MRI画像解析で異常所見を観察し、そのうち1例がその後West症候群を発症している。また、福島医大(浅野)では、1例において遅発性の難聴を見出した。

旭川医大(藤枝、古谷野)を中心に、比較的長期にフォローしている症例の解析からは、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。しかしながら、症候性の児のみがウイルス量が高値である、あるいは長期に陽性であるとは限らなかった。

### 2. 症候性感染児治療エビデンスの集積

研究分担及び協力者の施設において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、昨年度、長崎大(森内)・旭川医大(藤枝、古谷野)など小児科の班員を中心にまとめた治療ガイ

ドライン(案)に基づき、Ganciclovir (GCV 商品名 DENOSINE)及び Valganciclovir (VGCV 商品名 VALIXA)投与による治療を行った。ウイルス量・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)等の各検査を行い、治療効果及び安全性について検討した。詳細は、各研究分担者の報告に譲るが、福島医大・国立成育医療センター・東大・埼玉小児医療センター・長崎大などでこれまでに7症例を治療した。感染研・長崎大では、班員以外の東京医大・横浜市大・聖路加・日赤などの施設における8症例の治療に協力し、ウイルス学的検討を行った。スクリーニングで同定した代表的な2症例を下記にまとめた。

1)福島医大(研究分担者 浅野)20026:妊娠32週で小頭症疑い、母体血中CMV-IgG(+), CMV-IgM(-)。在胎37週6日に選択的帝王切開にて出生。アプガースコア4/7。出生体重2338g、頭囲29.5cm(-2.5SD)。超音波検査にて、側脳室の拡大が認められたが石灰化は認めなかった。尿からCMVが同定され先天性サイトメガロウイルス感染症と確定診断した。初期聴覚検査は正常パターンを示していたが、生後4ヶ月の聴覚検査(DPOAE)にて、左聴力低下を認めたため、VGCVを両親の希望を考慮し、生後5ヶ月より入院管理下で投与(16mg/kg/回×2回×6週間)した。生後7ヶ月に投与終了し、血中ウイルス量は、感度以下まで低下、その後の聴力検査で500~1000Hzでの聴力改善を認めた。定額を認めないため、生後11ヶ月より療育トレーニングを開始。1歳時MRIで脳溝拡張を認め、1歳2ヶ月頃よりてんかん発作(強直性痙攣)が出現。フェノバルル3mg/kgの内服を開始し経過観察中であるが、精神・運動発達は明らかに遅れてきている。最近の聴

力検査では、ウイルス量の増加とともに難聴傾向を示してきている。

2)長崎大(研究分担者 森内)89001:妊娠34週の胎児エコーで両側脳室拡大が認められ、38週0日に経膈自然分娩で出生。アプガースコア8/8。出生体重2080g、頭囲29.5cmであり、symmetrical IUGRと判定。出生後しばらくは呼吸障害が認められ酸素投与を要した。血小板数が3~8千程度に減少していた。他の血球数や肝機能は正常。右側の難聴を認め、頭部MRIでは両側脳室拡大、白質のびまん性対称性のT1W1低信号/T2W1高信号、小脳半球低形成などの異常を認めた。生後42日の時点でVGCV投与を開始したところ、ウイルス血症は速やかに消失し、尿中のウイルスも6週間の治療が終了する頃には検出限界未満になった。生後13ヶ月の時点で粗大運動を中心とした発達遅滞を認め、右側の聴力障害も続いている。

### 3. 感染及び後遺症のリスク因子の検討

1)スクリーニングで同定された感染児の同胞15例中12例の尿中に遺伝子型解析に十分なCMV DNAが検出された。これに、スクリーニング以外で入手された2ペアを加え、遺伝子型が多く型間配列も大きく異なるgNやUL144などの遺伝子の塩基配列を14ペアで解析し、1ペアを除いた13ペア間でCMV株が同一であった。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と考えられる。(国立感染研井上)

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昨年度に確立したHLAタイピング法、MHC tetramerを用いたCMV特異的T細胞の検出・定量法、CMV抗原刺激に応答してIFN- $\gamma$ を産生するCMV特異的T細胞の検出・定量法を用いて、先天性CMV感染



児10例についてCMV特異的免疫応答に関する解析を行った。その結果、先天性CMV感染児において、a) CMV抗原を認識するCMV特異的免疫細胞が存在すること、b) CMV抗原に応答し細胞増殖能およびIFN- $\gamma$ 産生能などの機能をCMV特異的免疫細胞は保持していること、c)しかしその応答性は健常成人の応答性と比較すると低いレベルにあること、などを示唆する解析結果が得られた。また、先天性CMV感染児のCMV特異的免疫応答の特徴をさらに明らかにする目的で、後天性CMV感染児におけるCMV特異的免疫応答との比較解析を開始した。(国立成育医療センター藤原)

- 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。昨年度、岡班員らを中心に作成した評価シートを用いて先天性CMV感染児の頭部画像所見と神経学的予後の検討を行った。高率に頭部MRIでの異常を認め、重度の神経後遺症には大脳委縮、側脳室拡大、皮質形成異常が関連していた。大脳白質病変を高頻度に認めたが、中等度の発達遅滞から正常までの多様な神経発達を示しており、今後もその病的意義について前方視的に検討を行う必要が示された。さらに、治療に伴う神経予後の改善と画像所見の改善の関連などや無症候性児の経時的な変化などが、今後の重要な研究課題と考えられる。(杏林大岡)。
- 4)先天性CMV感染が妊娠中のCMV初感染によるのか、異型CMV株の再感染によるのかを判別するELISAを昨年度確立し、この方法とavidity assayを用いることで、感染児の母親が、初感染・再感染・再活性化のいずれの感染パターンであったかを解析している。(福島医

大錫谷)

- 5)妊娠が母体CMV特異的免疫機能に与える影響を詳細に解析する事を目的として、健常女性におけるCMV特異的IFN- $\gamma$ 産生T細胞の頻度とCMV特異的リンパ球増殖反応を、妊娠前・妊娠中・出産後と経時的に評価した。その結果、CMV特異的免疫機能は妊娠の影響を受けて減弱する事が明らかになった。(旭川医大藤枝)

#### D. 考察

昨年度より各施設でのスクリーニングは順調に進んでいる。2年目が終了する本年度末には総計18000人(内2000人は昨年度本研究班成立以前の分)の新生児についてスクリーニング検査が完了する予定であり、当初目標を超過達成することとなる。このように、2-3年という短期間に1万人を越えて新生児CMVスクリーニングを実施した報告は、世界的に見ても米国のアラバマ大からの報告しかなく、本研究班の成果は画期的といえる。

スクリーニングの結果、約300人にひとりの頻度で先天性感染児が同定され、その4人に1人以上が出生時に何らかの症状を示すことが示された。即ち、1000人にひとりというダウン症候群並みの頻度で先天性感染に伴う障害が発生している。さらに、出生時に臨床症状として無症候性であっても、MRIなどの画像解析において異常所見が多数見いだされており(長崎大森内、杏林大岡の報告書参照)、また遅発性に難聴が発症するなど(福島医大浅野などの報告書参照)、詳しい検索を行うと感染児の3人に1人程度が何らかの異常を有することが明らかになりつつある。これらの所見を総合するとa)全新生児CMVスクリーニング体制の必要性、及びb)スクリーニング陽性児についてのより細やかな臨床像解析の必要性が、明確である。

スクリーニングの順調な進行に伴い、すでに 50 人以上の感染児コホートが形成され、最終的には 80-100 人程度のコホートとなる予定である。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に加え、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の解析、d) 血清型などによる感染様式の解析などから、感染・発症などのリスク因子が最終年度にはある程度まとまった形で整理できると期待される。しかしながら、昨年度報告した乾燥臍帯を用いた後方視的解析からわかるように、後遺症として明確な聴覚障害や発達障害に限っても、発症までに 1-3 年を要する症例が多数あり、近年明らかになりつつある学習障害、広汎性発達障害、注意欠陥多動症候群と先天性 CMV 感染との関係などを勘案すると、本研究班で形成してきている貴重なコホートを如何に継続的に維持していくかということは今後検討していく必要がある。少なくとも最初に同定した児が小学校入学、最後に同定する児が 3 歳程度までは、患児をフォローすることが強く望まれる。

感染児と同胞兄弟間で感染しているウイルス株がほとんどの症例で同一であることは、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。妊婦の CMV 特異的 IgM の血清学的検討から、少なくとも半数以上の妊婦が初感染であることが明らかになりつつある。従って、年長同胞が排泄する尿や唾液から妊婦が初感染を受けたと考えるのが自然である。残念ながら、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、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 子妊娠時の初感染を完全に回避することは難しいと考えられる。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。また、妊娠中に妊婦に対しての先天性 CMV 感染症についての情報を提供し、かつ、妊婦に対しての生活指導を行っていく体制を作っていくことも重要で、これにより、先天性感染率を抑え、かつ、スクリーニング受検率を向上させることになるとと思われる。

症候性児の抗ウイルス薬による治療は、一定の効果を示しており、長期投与に伴う副反応なども軽微である。投与基準の明確化、血液中ウイルス濃度の比較、ウイルス量モニターの簡便化、治療後のフォローなど今後さらに検討すべき課題もある。小児感染症学会のアンケートに協力し、班関係者以外の各施設で行われている症例内容を集積し、最終的に治療指針を策定しくことが求められている。

## E. 結論

- 1) 先天性 CMV 感染は約 300 人にひとりが高率に発生している。
- 2) その 1/4 以上が何らかの症状を出生後ある期間内に呈しており、ダウン症と同程度の深刻な問題であることが示された。
- 3) IgM 検査は先天性 CMV 感染児の同定には不十分である。
- 4) 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が高い。
- 5) 抗ウイルス薬の長期投与の効果などの知見を蓄積した。
- 6) 症候性児における頭部画像所見と神経学的予後の関係を明らかにした。
- 7) CMV 特異的免疫応答能は、妊娠に伴い減弱化するとともに、先天性感染児においても応答能があるものの、その反応は弱かった。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

論文発表 (英文 11 本、邦文 10 本) 及び口頭発表(国際学会 7 件、国内学会 34 件)が行われた。

### 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*. 48: e93-95. (2009)
2. Inoue N. Chapter 36 Cytomegalovirus, In Molecular Detection of human viral pathogens. (Ed) D. Liu, *Taylor & Francis CRC Press, In press*.
3. Shoji K, Ito N, Ito Y, Inoue N, Adachi S, Fujimaru T, Nakamura T, Nishina S, Azuma N, Saitoh A. Is a six-week course of ganciclovir therapy effective for chorioretinitis in infants with congenital cytomegalovirus infection? *J. Pediatr. In press*.
4. Imamura T, Suzutani T, H Ogawa H, Asano K, Momoi, N, Ikuta K, Inoue N, Hosoya M. Oral Valganciclovir Treatment for Congenital Cytomegalovirus Infection in a Five Month Old Girl with Progressive Hearing Loss. *Pediatr. Int. In press*
5. 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 multiplex-nested PCR in the amniotic fluid. *J Obstet Gynaecol Res* 35(2), 372-378. (2009)
6. Sata F, Toya S, Yamada H, Suzuki K, Saijo Y, Yamazaki A, Minakami H, Kishi R. Proinflammatory cytokine polymorphisms and the risk of preterm birth and low birth weight in a Japanese population. *Mol Hum Reprod* 15(2):121-130. (2009)
7. Shimada S, Takeda M, Nishihira J, Kaneuchi M, Sakuragi N, Minakami H, Yamada H. A high dose of intravenous immuno- globulin increases CD94 expression on natural killer cells in women with recurrent spontaneous abortion. *Am J Reprod Immunol* 62(5):301-307. (2009)
8. Abe Y, Oka A, Mizuguchi M, Igarashi T, Ishikawa S, Aburatani H, Yokoyama S, Asahara H, Nagao K, Yamada M, Miyashita T. EYA4, deleted in a case with middle interhemispheric variant of holoprosencephaly, interacts with SIX3 both physically and functionally. *Hum Mutat*. 30: E946-955. (2009)
9. Ishibashi K, Tokumoto T, Shirakawa H, Hashimoto K, Kushida N, Yanagida T, Shishido K, Aikawa K, Yamaguchi O, Toma H, Tanabe K, Suzutani T. Association between antibody response against cytomegalovirus strain-specific glycoprotein H epitopes and HLA-DR. *Microbiol Immunol* 53; 412-416. (2009)
10. Tagawa M, Minematsu T, Masuzaki H, Ishimaru T, Moriuchi H. Seroepidemiological survey of cytomegalovirus infection among pregnant women in Nagasaki, Japan. *Pediatr Int. In press*.
11. Tagawa M, Tanaka H, Moriuchi M, Moriuchi H. Retrospective diagnosis of congenital cytomegalovirus infection at a school for the deaf by using preserved dried umbilical cord. *J Pediatr* 155(5): 749-751. (2009)
12. 井上直樹 「母子感染」(川名尚、小島俊行編) 4-3 章 CMV 児の診断と疫学, 2010
13. 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ついての検討. 小児耳鼻咽喉科 30 : 47-53, 2009
14. 泰地秀信:中等度難聴確定診断のための OAE・気導 ABR と ASSR. 小児の中等度難聴ハンドブック, 加我君孝ほか編, 金原出版 p61-70, 2009
15. 泰地秀信：聴力検査. 小児耳鼻咽喉科診療指針, 日本小児耳鼻咽喉科学会編, 金原出版

p73-77, 2009

16. 岡明 : Discordant twin の神経予後 産婦人科の実際 58 : 73-79, 2009
17. 岡明 : てんかん発作と鑑別が必要な発作的運動症状、精神症状 小児内科 41, 343-346, 2009
18. 岡明 : 乳幼児期のからだの発育 体育の科学 59:302-302,2009
19. 庄司健介、伊藤直樹、高橋重裕、塚本桂子、中村知夫、伊藤裕司、林聡、左合治彦、阪井裕一 : 網脈絡膜炎を長期抗ウイルス薬投与で治療した先天性サイトメガロウイルス感染症の1例. 日本周産期・新生児医学会雑誌 45:536, 2009
20. 土居美智子、森内浩幸. 今後期待される薬物療法 新生児サイトメガロウイルス感染症の治療. 周産期医学 39(12):1746-1750, 2009.
21. 佐藤尚、永山善久、山崎肇、森内浩幸. 免疫異常のない非低出生体重児に発症した後天性サイトメガロウイルス腸炎. 日本周産期・新生児医学雑誌 45(3):32-36, 2009.

## 2. 研究発表

1. Nagamori T, Koyano S, Inoue N, Yamada H, Oshima M, Minematsu T, Fujieda K. A congenital cytomegalovirus case occurred by viral reactivation more than 2 years after an abortion due to the same strain. 14<sup>th</sup> International Conference on Immunobiology and Prophylaxis of Human Herpesvirus Infections. Kobe, JAPAN. Oct, 2009.
2. Inoue N. Newborn CMV screening and genotyping of congenital cases. (Invited lecture) 12th International CMV & Betaherpesvirus Workshop, Boston, USA, May 2009.
3. Yamada S, Nozawa N, Katano H, Fukui Y, Tsuda M, Tsutsui Y, Kurane I, Inoue N. Characterization of the guinea pig CMV genome locus that encodes homologs of human CMV major immediate-early genes, UL128, and UL130. 34th International Herpesvirus Workshop, Ithaca NY, USA, July 2009.
4. Yamada S, Kato M, Katano H, Fukui Y, Tsuda M, Tsutsui Y, Nozawa N, Kurane I, Inoue N. Characterization of guinea pig CMV GP129 and GP131, orthologs of HCMV UL128 and UL130, which are essential for efficient viral growth in vivo but not in vitro. 14th International Conference on Immunobiology and Prophylaxis of Human Herpesvirus Infections. Kobe, Oct. 2009.
5. Ikuta M, Asano K, Koyano S, Inoue N, Ishibashi K, Suzutani T. Strain-specific cytomegalovirus (CMV) sero- epidemiology in mothers and neonates with congenital CMV infection. 14th International Conference on Immunobiology and Prophylaxis of Human Herpesvirus Infections. Kobe, Oct. 2009.
6. Motomura H, Moriuchi H. et al. Estimated impacts of congenital infections on children in Khanh Hoa Province, Vietnam: a pilot study. Asian Society for Pediatric Research 5<sup>th</sup> Congress. Hangzhou, China May, 2009.
7. Nakamura H, Liao H, Henmi C, Imadome K, Yajima M, Fujiwara S. Cellular immunological responses to CMV in congenitally CMV-infected infants. 14<sup>th</sup> International Conference on Immunobiology and Prophylaxis of Human Herpesvirus Infections. Kobe, Japan, Oct, 2009.
8. 古谷野伸、藤枝憲二、厚生労働子ども家庭総合研究事業研究班 : 先天性サイトメガロウイルス感染マスキリーニング体制構築の試み、第36回日本マスキリーニング学会、2009年8月、札幌
9. 古谷野伸、藤枝憲二、厚生労働科学研究費補助金子ども家庭総合研究事業研究班 : 先天性サイトメガロウイルス感染マスキリーニングに向けたパイロット調査、第41回日本小児感染症学会、2009年11月、福井
10. 古谷野伸 : 保存臍帯による先天性サイトメ