

- ガロウイルス感染診断の感度について、第4回 道北感染症セミナー、2009年9月、旭川
11. 井上直樹、古谷野伸、山田壮一、錫谷達夫、倉根一郎：ゲノムタイプ解析から予想されるヒトサイトメガロウイルス株間での高頻度な相同組換え：第57回日本ウイルス学会学術集会、2009年11月、東京
 12. 井上直樹：「出生直後の自動 ABR で発見された先天性サイトメガロウイルス感染症の1例」（演者：中島準也 先生）に対する指定発言、第570回日本小児科学会東京都地方会講話会、2009年12月、東京
 13. 井上直樹：CMV 胎内感染の制御：先天性CMV 感染の実態把握とその対策に向けて 第16回ヘルペス感染症フォーラム（パネルディスカッション）、2009年8月、札幌
 14. 山田秀人：先天性サイトメガロウイルス感染症の予防と治療。第1回周産期新生児感染症研究会（特別講演）、神戸、2009年7月
 15. 山田秀人：先天性胎児感染症に対する新たな出生前医療の展開。第150回日本産科婦人科学会秋田地方部会学術講演会（特別講演）、7月26日、秋田
 16. 山田秀人：先天性胎児感染症に対する新たな出生前医療の展開。神戸市産婦人科医会研修会（特別講演）、2009年8月、神戸
 17. 山田秀人：CMV 胎内感染の制御：治療。第16回ヘルペス感染症フォーラム（パネルディスカッション）、2009年8月、札幌
 18. 山田秀人：先天性サイトメガロウイルス感染症。神戸パースコホート研究講演会、2009年9月、神戸
 19. 山田秀人：先天性胎児感染症に対する新たな出生前医療。済生会兵庫県病院講演会（特別講演）、2009年10月、神戸
 20. 山田秀人：先天性胎児感染症の新たな出生前医療の展開。第299回岡山四水会（特別講演）、2009年10月、岡山
 21. 山田秀人：産科婦人科学分野の現状と今後-先天性胎児感染症の新たな出生前医療の展開。第4回神戸大学医学部医学科ホームカミングデー、2009年10月、神戸
 22. 山田秀人：先天性感染胎児医療の新展開。道南産科小児科合同研究会（特別講演）、2009年11月、函館
 23. 山田秀人：先天性感染症に対する新たな管理と胎児医療。第110回播州産婦人科セミナー講演会（特別講演）、2009年12月、姫路
 24. 山田秀人：先天性胎児感染に対する新たな出生前医療。第33回長崎大学産婦人科セミナー講演会（特別講演）、2010年1月、長崎
 25. 浅野仁覚：先天性サイトメガロウイルス感染スクリーニング体制におけるパイロット調査の現状 第8回福島県周産期医療研修会 2010年2月、福島
 26. 泰地秀信、守本倫子、南修司郎：全新生児に対する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の聴覚フォローアップ体制。第110回日本耳鼻咽喉科学会、2009年5月、東京
 27. 泰地秀信、守本倫子：突発性難聴の疑いにて来院され、原因が確定された小児20例の検討。第54回日本聴覚医学会、2009年10月、横浜
 28. 中原奈々、泰地秀信、守本倫子、本村朋子：純音聴力と ABR 閾値に乖離のみられる蝸牛神経障害についての検討 第186回日耳鼻東京都地方部会、2009年11月、東京
 29. 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、2010年1月、東京
 30. 岡明：先天性サイトメガロウイルス感染による難聴と脳障害 第112回日本小児科学会学術集会 2009年4月、奈良
 31. 安達正時、岡明、大石勉：先天性サイトメガロウイルス感染症の神経学的所見と画像

所見 第112回日本小児科学会学術集会
2009年4月、奈良

32. 岡明、鈴木啓二、管波佑介、近藤敦、高橋秀弘、正木宏、鈴木理永、田村正徳：実験的絨毛羊膜炎による脳室周囲白質軟化症のラットモデル 第45回日本周産期・新生児医学会学術集会 2009年7月、名古屋
33. 生田和史、小川洋、新井義文、小杉伊三夫、大森孝一、錫谷達夫：サイトメガロウイルス感染モデルマウスを用いた聴覚障害の解析。第57回日本ウイルス学会 2009年10月、東京
34. 本村秀樹、長沼成子、森内浩幸：ベトナムにおける先天性感染のインパクト：パイロット研究。第112回日本小児科学会。2009年4月、奈良。
35. 森内浩幸：CMV胎内感染の制御：診断 第16回ヘルペス感染症フォーラム（パネルディスカッション）、2009年8月、札幌
36. 坂本綾子、森内浩幸：広汎性発達障害児における先天性サイトメガロウイルス感染の後方視的診断。第14回日本神経感染症学会。2009年10月、宇都宮。
37. 武田敬子、宮川雅美、土居美智子、中嶋一寿、江頭昌典、森内浩幸：バルガンシクロビルによる抗ウイルス療法を行った先天性サイトメガロウイルス(CMV)感染症の1例。第41回日本小児感染症学会。2009年11月、福井
38. 土居美智子、森内浩幸：全新生児を対象とした先天性サイトメガロウイルス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：長崎県における中間成績報告。第54回日本未熟児新生児学会。2009年11月、横浜。
39. 中村浩幸、廖華南、逸見千寿香、今留謙一、矢島美彩子、藤原成悦：先天性CMV感染児におけるCMV特異的免疫応答の解析。第24回ヘルペスウイルス研究会。2009年7月2-4日、裾野
40. 中村浩幸、廖華南、逸見千寿香、今留謙一、

矢島美彩子、藤原成悦：先天性CMV感染児におけるCMV特異的T細胞応答。第57回日本ウイルス学会学術集会。2009年10月、東京

41. 大石勉、荒井孝、田中理砂、安達のどか、坂田英明：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。第50回日本臨床ウイルス学会。2009年6月、高知。

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

IV. 分担研究報告書

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～

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 古谷野 伸 旭川医科大学小児科 講師
研究協力者 長森 恒久 旭川医科大学小児科

【研究要旨】

【目的】 母体サイトメガロウイルス（CMV）特異的免疫機能は先天性 CMV 感染に対し抑制的に作用すると考えられるが、その妊娠中の変容は明らかではない。既報では CMV 特異的免疫で妊娠女性群と非妊娠女性群の間に有意差は無いとされているが、同一個体での経時的変化についての報告はない。我々は妊娠が母体 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 特異的免疫機能の妊娠前、妊娠中、出産後の経時的な推移を評価した。

【方法】 対象は 1 名、31 歳で妊娠中の異常なく在胎 41 週 3400g で健常児を出生した女性である。方法は CMV 特異的 IFN- γ 産生 T 細胞の頻度と CMV 特異的リンパ球増殖反応、以上 2 つの評価法で妊娠前、妊娠前期、中期、後期と出産後 1 か月、2 か月後の CMV 特異的免疫能を経時的に評価した。

【結果】 CMV 陽性健常成人 19 名のばらつきの範囲内で 2 つの評価法のいずれも妊娠中に低下し、出産後 2 か月で妊娠前の状態に回復した。

【考察】 既報の結果と異なり、やはり CMV 特異的免疫機能は妊娠の影響を受けて細胞性免疫応答の程度が弱まる事が確認された。これを基礎的知見として、妊娠による CMV 特異的免疫機能の抑制に個体差があるか、あるいは今回の知見と既報の結果の乖離を規定する因子は何かを今後検討したい。

A. 研究目的

先天性サイトメガロウイルス（CMV）感染症は未感染母体の初感染のみならず、既感染母体の反復感染からも発生しうる。しかし疫学的に母体感染から胎児への移行率や先天感染が成立した場合の症候感染の率は、既感染母体からの場合いずれも低い。また、母体の初感染において CMV 特異的リンパ球増殖反応の立ち上がりは母体のみの感染で終わる群と胎児に移行する群を規定しうる事が報告されている。このように母体 CMV 特異的免疫機能は先天性 CMV 感染に対して抑制的に機能する。

一方で妊娠においては Hemi-allograft

としての胎児を母体の免疫反応から守るため、IFN- γ 産生から細胞障害性 T 細胞が活性化する、いわゆる Th1 細胞性免疫応答が抑制される事を中心に母体免疫の様々な変容が起こる事が知られている。

しかし先天性 CMV 感染に係り母体 CMV 特異的免疫機能の評価した複数の報告で、妊娠女性群と非妊娠女性群とを横断的に比較した場合、総じて有意差は無い。この事実は、妊娠中に免疫能が抑制される知見と矛盾しており、その理由を説明しうる機序は明らかになっていない。そこで我々は妊娠が CMV 特異的免疫機能に及ぼす影響を詳細に解析する事を目的として、まず健常女性のパイロットケースにおける

妊娠前、妊娠中、出産後の経時的な推移を評価した。

B. 研究方法

対象はパイロットケースである 31 歳女性で、妊娠中、出産時の異常なく在胎 41 週 3400g で健常児を出生した。CMV 特異的免疫機能の解析は CMV 陽性健常成人 19 名の結果をコントロールにおいて行ない、非妊娠時から妊娠前期(14 週及び 15 週)、中期(20 週、21 週)、後期(36 週、37 週)、出産後 1 か月と 2 か月にわたり経時的に以下 2 つの方法で評価した。

i) CMV 特異的 IFN- γ 分泌細胞の頻度
CMV 抗原での刺激下に IFN- γ をターゲットに細胞内サイトカイン染色を行い、フローサイトメトリーで CMV 特異的 IFN- γ 分泌細胞の CD4 及び CD8 陽性 T 細胞における割合を求めた。

ii) CMV 特異的リンパ球増殖反応
CMV 抗原での刺激下に、 ^3H -methylthymidine 取り込み量の測定によって評価した。インデックスとして Cell division index(CDI)= (抗原を入れた検体の cpm) / (抗原を入れていない検体の cpm) を用い、CMV 陰性の健常成人の値のばらつきから (0.32 から 1.35 に分布) CDI>1.5 を反応陽性と判定した。

(倫理面への配慮)

すべての検体および臨床データは対象者の同意を得て収集・解析を行った。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

i) CMV 特異的 IFN- γ 分泌細胞の頻度
CD4⁺T 細胞において CMV 陽性健常成人の結果は平均 4.64%、最低値 1.64%、最高値 11.00% であったが、パイロットケー

スは非妊娠時 4.82%、妊娠前期、中期、後期はそれぞれ平均値で 2.29, 2.21, 1.23% であり、出産後 1 か月と 2 か月はそれぞれ平均で 2.93, 3.59% だった。CD8⁺T 細胞においては CMV 陽性健常成人の結果が平均 3.39%、最低値 1.05%、最高値 10.57% で、パイロットケースは非妊娠時 4.01%、妊娠前期、中期、後期はそれぞれ平均 2.47, 1.19, 1.79% であり、出産後 1 か月と 2 か月はそれぞれ平均で 4.20, 3.65% だった。(図 1)

ii) CMV 特異的リンパ球増殖反応

CMV 陽性健常成人 19 名における CDI の平均値は 1.75 であり、増殖反応陽性は 16 名中 10 名(62.5%)であった。(図 2) パイロットケースは非妊娠時平均 2.07 で反応陽性、妊娠前期、中期、後期はそれぞれ平均で 1.04, 48, 0.995 であり、出産後 1 か月と 2 か月はそれぞれ平均 1.08, 2.06 であり、妊娠中は反応陰性になり妊娠 2 か月で陽性となった。(図 2)

パイロット研究であり統計学的評価は困難であるが、2 つの評価方法のいずれにおいても非妊娠時から妊娠中にかけて低下し、出産後早期に回復する傾向が認められた。

D. 考案

妊娠中の免疫機能の変容はプロゲステロンの作用が中心的に機能して起こるものと考えられる。プロゲステロンは Th0 から Th2 への分化を促進する。直接作用とプロゲステロンの作用で増成する絨毛膜細胞からの IL-4 分泌を介した作用が考えられる。結果的にいわゆる Th1/Th2 バランスは Th2 に傾き免疫グロブリン産生能は上昇する一方で細胞性免疫は抑制される。CMV 特異的細胞性免疫においても同様であると思われるが、既報の CMV 特異的 IFN- γ 産生 T 細胞の割合や感染後の CMV 特異的リンパ球増殖反応を解析した多数の報告で妊娠女性群と非妊娠女性群間で有意差は無

かった。これらの解析方法は Th1 から細胞性免疫の機能を評価するものであり、前述した妊娠中の免疫変容と矛盾した所見である。これら是对応しない 2 群間の横断的解析であり、我々は一個人の経時的变化を追ってみた。結果としてやはり妊娠によって細胞性免疫は抑制される結果であった。既報の妊娠、非妊娠女性群間での比較には何らかのバイアスが含まれているものと思われる。考えられるものとしては、①妊娠が細胞性免疫に及ぼす影響の個体差、②各個人の潜伏感染株(特異的免疫の対象となる株)とアッセイでの刺激抗原株(CMV-AD169 株)間での抗原性の違いから来る結果のずれ、等が挙げられる。今回のパイロットケースの解析をふまえ、今後さらに、妊娠がサイトメガロウイルス特異的免疫能に与える影響を解析したい。

E. 結論

- ①CMV 特異的免疫機能を同一個体で経時的に解析を行ないその経過を見た。
- ②このパイロットケースでは妊娠で細胞性免疫が抑制された。
- ③対象が 1 名のデータのため、さらに本知見を裏付けるための詳細な研究が必要である

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*. 48 93-5, 2009.

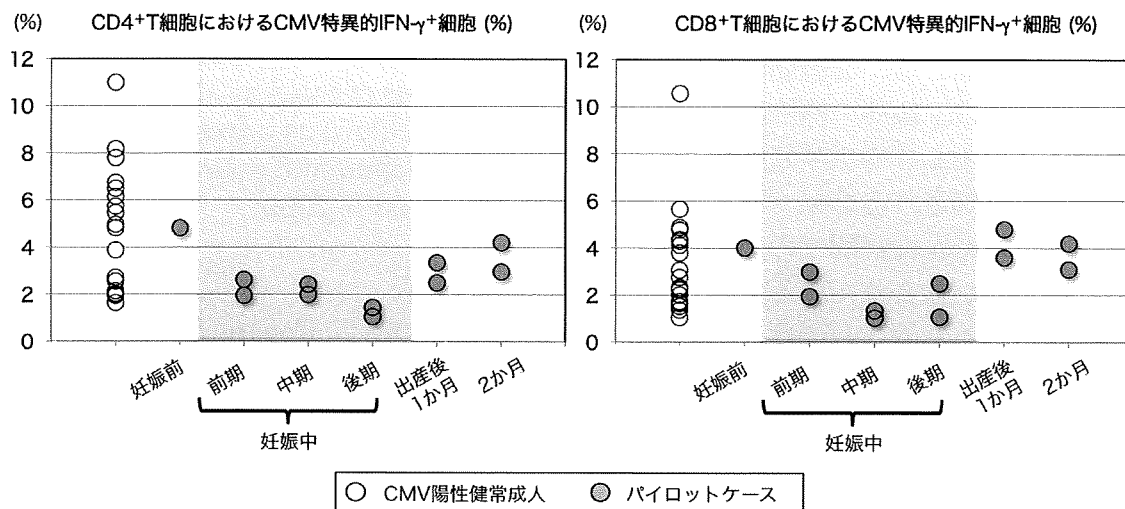
2. 学会発表

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. 14th International Conference on Immunobiology and Prophylaxis of Human Herpesvirus Infections. Kobe, JAPAN. October 6-8, 2009.
2. 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、平成 21 年 8 月 21-22 日、札幌
3. 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、平成 21 年 11 月 14-15 日、福井

H. 知的財産権の出願・登録状況

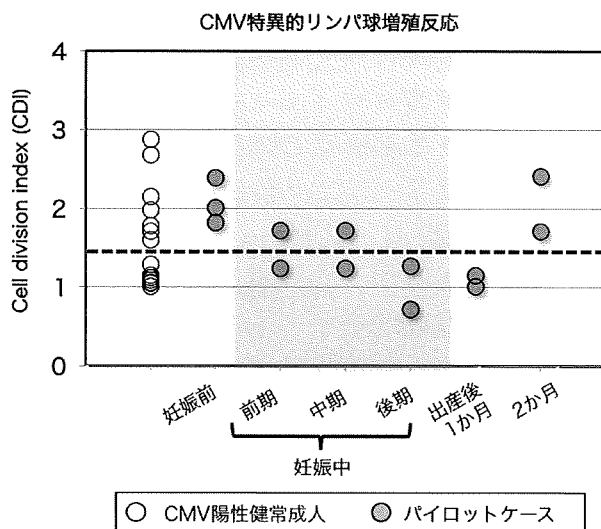
なし

(図1) CMV 特異的 IFN- γ 分泌細胞の頻度



パイロットケースの結果では、CD4 陽性、CD8 陽性 T 細胞における CMV 特異的 interferon (IFN)- γ 産生細胞の頻度は妊娠中に抑制され、出産後早期に出産前と同等の値となった。

(図2) CMV 特異的リンパ球増殖反応



パイロットケースの Cell division index (CDI)は、妊娠前には反応陽性であったものが妊娠後期にかけて反応陰性となり、妊娠後2か月で再び陽転化した。

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

研究分担者 古谷野 伸 旭川医科大学小児科 講師
研究代表者 藤枝 憲二 旭川医科大学小児科 教授

【研究要旨】

【目的】 先天性サイトメガロウイルス（CMV）感染症は聴覚障害などの神経学的後遺症を起こす頻度が最も高い先天感染であるにもかかわらず、系統だった対策が全くとられていない疾患である。そこで本研究では先天性 CMV 感染の臨床像全体を明らかにし、有効な対策を講じる第一歩とするためのマスキリーニングパイロット調査を北海道地区で行った。

【方法】 北海道内の研究協力病院で本研究に参加の同意が得られた新生児 5132 名にマスキリーニングを実施した。陽性者には生後 3 週間以内の確認検査を行い、先天感染の確定診断を行った。診断確定後は、定期的な外来経過観察を行い、その臨床像を解析した。

【結果】 新生児 5132 名をマスキリーニングし、陽性者は 18 名で先天性 CMV 感染の発生頻度は 0.35%であった。そのうち典型的な症状を呈した患児は難聴児が 1 名であった。また CMV 感染との因果関係は不明だが先天性期外収縮の患者が含まれていた。残る 16 名は現在まで異常ない無症候性児であった。症状の有無にかかわらず血液中のウイルスは生後 1 年でほぼ消失するが、尿中には長期にウイルスが排出されていた。

【考察】 先天性 CMV 感染症マスキリーニングパイロット調査を行い、その陽性率は 0.35%であった。この頻度は既報の数値とほぼ一致しており、現在の北海道内の状況を正確に反映していると考えられた。そのうち明らかな症候性児は 1 名で、難聴に対して適切な対応がなされており、マスキリーニングで陽性者を早期に同定することは非常に意義深いと考えられた。

A. 研究目的

先天性サイトメガロウイルス（CMV）感染症は最も多い先天感染のひとつであり、その頻度は全出生児のうちの 0.3%から 2.4%といわれている。そのうちのほぼ 10%の感染児が出生時に点状出血、黄疸、肝脾腫、小頭症などの症状を伴っている症候性感染児で

ある。一方、残り 90%の先天性感染児は無症候性であるが、無症候性感染児の 10%程度に CMV 感染を原因とする聴覚障害や発達障害が遅発性に起こってくる。

先天性 CMV 感染症によって起こる神経症状には精神遅滞、自閉症、学習障害、脳性麻痺、てんかんなどが含ま

れる。このような神経学的ダメージは動物モデルで不可逆的な事が証明されており、先天性 CMV 感染症は子どもの健康に対して重大な影響を与える疾患ということが出来る。

このように小児の保健上、重大な疾患でありながら、先天性 CMV 感染症には確立された予防法、治療法がなく、その対策は皆無の状態といわざるを得ない。そこで本研究班では、先天性 CMV 感染の臨床像全体を明らかにし、有効な対策を講じるための第一歩としてマスキングパイロット調査を開始した。

B. 研究方法

<対象>

対象は北海道内の研究協力病院で出生し、本研究の趣旨を説明した上でスクリーニングの参加に同意をいただいた、新生児 5132 名である。

<スクリーニング法>

出生後数日以内におしめに濾紙を挟み、濾紙に尿をしみこませた。濾紙は風乾した後、国立感染症研究所に郵送し、一元的に PCR による CMV DNA の検出を行った。PCR は濾紙を 1 回水洗し、直接 PCR の検体とする簡便な方法 (Inoue N. & Koyano S. *Pediatr Infect Dis J.* 2008) で行った。

陽性者に対しては 3 週間以内に、血液、尿自体を再検査し確定診断を行った。3 週間を経過した場合は、保存臍帯を検体として (Koyano S. et al. *Pediatr Infect Dis J.* 2004)、確定診断をおこなった。

<感染児のフォロー>

1. 発達

感染児は定期的に外来受診してもらい、発達をフォローした。発達検査は遠城寺式発達検査や新版 K 式発達検査を利用した。

2. 血液・尿検査

感染児の血中・尿中ウイルス量を目的に real-time PCR 法で測定した。また必要に応じて、末梢血検査、肝機能検査などを行った。

3. 画像検査

感染が判明した時点で、頭部 CT 検査を行い、頭蓋内病変、特に石灰化がないかを確認した。

4. 聴力検査

生後 6 ヶ月および 1 歳時に聴性脳幹反応 (ABR) による聴力検査を行った。

<感染ルートの解明>

陽性者が第二子以降の場合、上の兄弟の尿を提供してもらい、尿中 CMV を同定した。同定できた場合は、先天感染児のウイルスと glycoprotein N, UL144 の遺伝子配列をダイレクトシークエンス法で決定し、両者を比較した。

(倫理面への配慮)

すべての検体および臨床データは患者家族に文書で同意を得て収集・解析を行った。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. 感染児の臨床像 (表 1)

スクリーニングは同意を得た 5132

名に行い、そのうち 20 名が陽性であった。そのうち 2 名は確定診断で感染が否定され、18 名が先天感染児であることが判明した。陽性率は 0.35%であった。

先天感染児 18 名のうち、症候性児は難聴・先天眼振を呈した児が一例 (Pt 5)、先天性不整脈を呈した児 (Pt 13) が一例であった。難聴児は出生時の聴覚スクリーニングで要再検の判定を受け、その後 ABR で左の高度難聴、右の中等度難聴が明らかとなった。難聴の進行はなく、補聴器を使用しなくても言語発達は良好である。また期外収縮の患児は、心室性期外収縮の頻度が 30%と多く、外来で嚴重に経過観察されているが、生後 6 ヶ月になり、急激に期外収縮の頻度が減少してきている。

また低出生体重児が 2 名出生しているが、現在までに発達に異常はない。それ以外の 14 名は全く現在まで症状はなく、無症候性感染児である。

18 名のうち、生後頭部 CT を行う事が出来たのは難聴児を含めた 14 名で、そのすべてに石灰化などの異常はなかった。

また ABR を生後数ヶ月以降に行っているが、現在までに 14 名に行われており、Pt. 5 のみに難聴が認められているが、その他の感染児に異常はなかった。

出生時の CMV-IgM 抗体は調べた 14 名中、7 名が陰性であった。

2. ウイルス量の経時的変化

尿中ウイルス量 (図 1) は新生児期に 10^6 から 10^8 copy/ml 程度と非常に多く、その後は緩やかに減少していく。

しかし生後 2 年経過しても 10^4 /ml 程度は検出され続けた。

血漿ウイルス量 (図 2) は新生児期であっても 10^3 から、多くても 10^5 copy/ml 程度と尿中ウイルス量に比較すると 1/1000 程度であった。新生児期の血漿中ウイルス量が感度以下であった感染児は 16 名中 6 名であった。またウイルスはほぼ 1 年で検出限界以下となり、尿中にいつまでもウイルスが排泄される事実とは対称的であった。

また症候性児と無症候性児のウイルス量の比較は、症候性児が少ないため、現時点では解析不能であった。

3. 兄弟間のウイルス遺伝子型

陽性者が第二子以降であった頻度は 18 名中 10 名であり、そのうち上の兄弟の尿から CMV が検出された 6 組の CMV DNA を比較したところ、glycoprotein B, N, UL144 の遺伝子すべてが一致し、兄弟は同一 CMV に感染していることが明らかとなった。

D. 考察

本研究で先天性 CMV 感染マスキリングのパイロット調査を開始した。現在まで、以下の様な点が明らかになった。

①北海道での感染率は 0.35%であり、この数値は既報のデータとほぼ一致している。現在の状況をきちんと反映していると考えられる。

②20 名の陽性者の内、確認検査で感染が否定された児が 2 名おり、偽陽性率

は 10%となった。偽陽性となった原因は、偽陽性者 2 名の検体輸送の際に、感染者の検体からコンタミネーションが起こったと考えられる。検体の取り扱いや輸送には、十分な配慮が必要である。

③感染児 18 名中、症状があった児は 2 名で、症候性率は 11%であった。しかし難聴という典型的な症状を呈した児は 1 名で、残り 1 名は先天性期外収縮の児である。不整脈の原因が先天性 CMV 感染とは断定できないが、今後同様の患者が発生しないかに注目する必要がある。

④尿中ウイルス量と血中ウイルス量の比較では、尿中のウイルス量が圧倒的に多く、スクリーニングの感度を考慮すると、尿を検体とすることに大きな利点があると考えられる。ただし、感度が良好なために、前述のようなコンタミネーションによる疑陽性の確立も上がるため、その対策は今後の検討課題である。またウイルス量の経時的変化を見てみると、尿中には生後 2.5 年を経過してもウイルスの排泄は続いていることがわかる。従って乳児期の尿中 CMV が陰性の場合、それで先天性 CMV 感染が否定できるだろう。また血漿中のウイルス量は症候性児も含めて生後 1 年で、ほぼ全員（1 名を除き）検出感度以下になることが明らかとなった。ウイルス量の推移で神経学的な予後を推測することは、現段階では難しいと考えられる。

⑤出生児の CMV-IgM 抗体は陽性率が

低く、スクリーニングとして利用することは不適切である。先天性 CMV 感染を疑ったとき、CMV-IgM が陰性だからといって先天感染を否定する事は出来ないという事を認識しなければならない。

⑥先天感染児と兄弟に感染していたウイルスの比較が出来た 6 組すべてで、ウイルスの遺伝子型が一致していた。上の兄弟の尿から母親に感染が成立し、それが先天感染を誘発するという感染ルートの存在が重要であると考えられる。

現在まで判明した先天感染児からは、出生時に無症候で、やがて後発性に症状が出現してきた例がない。従って、後発障害のリスク因子を同定するという目的は未解決である。この点については、さらにスクリーニングの例数を増やしていく必要があると考えられる。

E. 結論

北海道における先天性 CMV 感染の発生率は 0.35%であった。そのうちの症候性児 2 名を含めた全員に、嚴重な経過観察がなされている。症候性児への適切な医療の提供、また後発障害の早期発見、早期介入のために先天性 CMV 感染マススクリーニングが必要である事をさらに明確にしていきたい。

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, Yagy 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.学会発表

- 1) Nagamori T, Koyano S, Inoue N, Yamada H, Ohshima M, Fujieda K. A congenital cytomegalovirus case occurred by viral reactivation more than 2 years after an abortion due to the same strain. 14th International Conference on Immunobiology and Prophylaxis of Human Herpesvirus Infection. October 6-8, 2009. Kobe, Japan.
- 2) 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、平成21年8月21-22日、札幌
- 3) 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、平成21年11月14-15日、福井

- 4) 古谷野伸:保存臍帯による先天性サイトメガロウイルス感染診断の感度について、第4回道北感染症セミナー、平成21年9月18日、旭川
- ## H. 知的財産権の出願・登録状況
- なし

表1 先天性 CMV 感染児の臨床像

Pt. No.	母体年齢	在胎週数	出生体重 (g)	出生時症候	血漿 CMV (copy/ml)	CMV IgM	兄弟	頭部 CT	神経学的症状
1	20	41w 2d	3,488	なし	$<1 \times 10^3$	NA	第2子	正常	なし
2	21	39w 0d	3,362	なし	1.4×10^3	+	第1子	正常	なし
3	30	39w 6d	2,884	なし	$<1 \times 10^3$	+	第2子	正常	なし
4	23	40w 4d	3,228	なし	2.0×10^3	-	第2子	正常	なし
5	31	38w 6d	2,880	難聴・眼振	8.9×10^3	+	第2子	正常	難聴・眼振
6	29	37w 4d	2,848	なし	1.4×10^4	-	第2子	正常	なし
7	33	40w 0d	2,796	なし	1.3×10^4	+	第4子	正常	なし
8	36	39w 4d	2,934	なし	9.8×10^3	-	第1子	正常	なし
9	26	39w 3d	3,040	なし	$<1 \times 10^{3*}$	-	第1子	NA	なし
10	22	40w 4d	2,758	なし	9.3×10^4	-	第1子	正常	なし
11	21	41w 3d	3,104	なし	$<1 \times 10^{3*}$	NA	第1子	NA	なし
12	27	40w 1d	3,384	なし	$<1 \times 10^3$	+	第1子	正常	なし
13	26	41w 1d	2,868	期外収縮	$<1 \times 10^3$	-	第2子	正常	なし
14	35	38w 4d	3,342	なし	6.6×10^3	+	第2子	正常	なし
15	17	39w2d	2,366	低出生体重	$<1 \times 10^3$	-	第1子	正常	なし
16	23	38w 程度	2,406	低出生体重	NA	NA	第2子	NA	なし
17	21	39w3d	2,795	なし	NA	NA	第1子	NA	なし
18	30	39w4d	2568	なし	4.2×10^3	+	第2子	正常	なし

図1 血漿中 CMV DNA 量の経時的変化

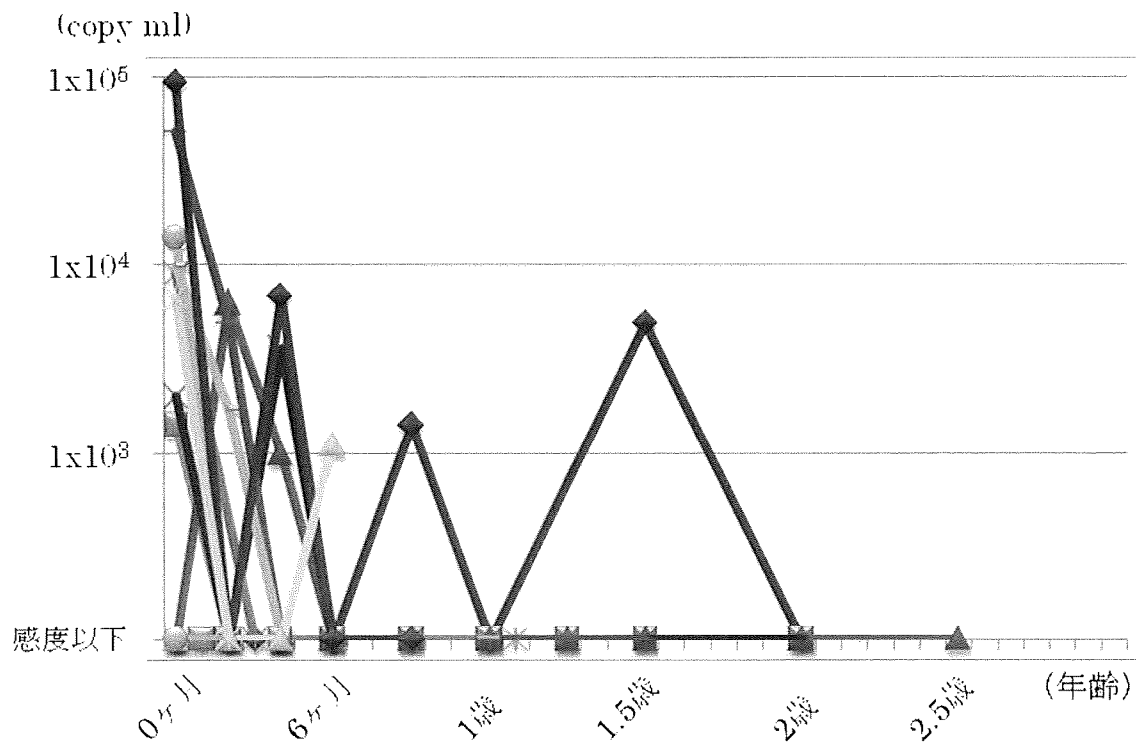
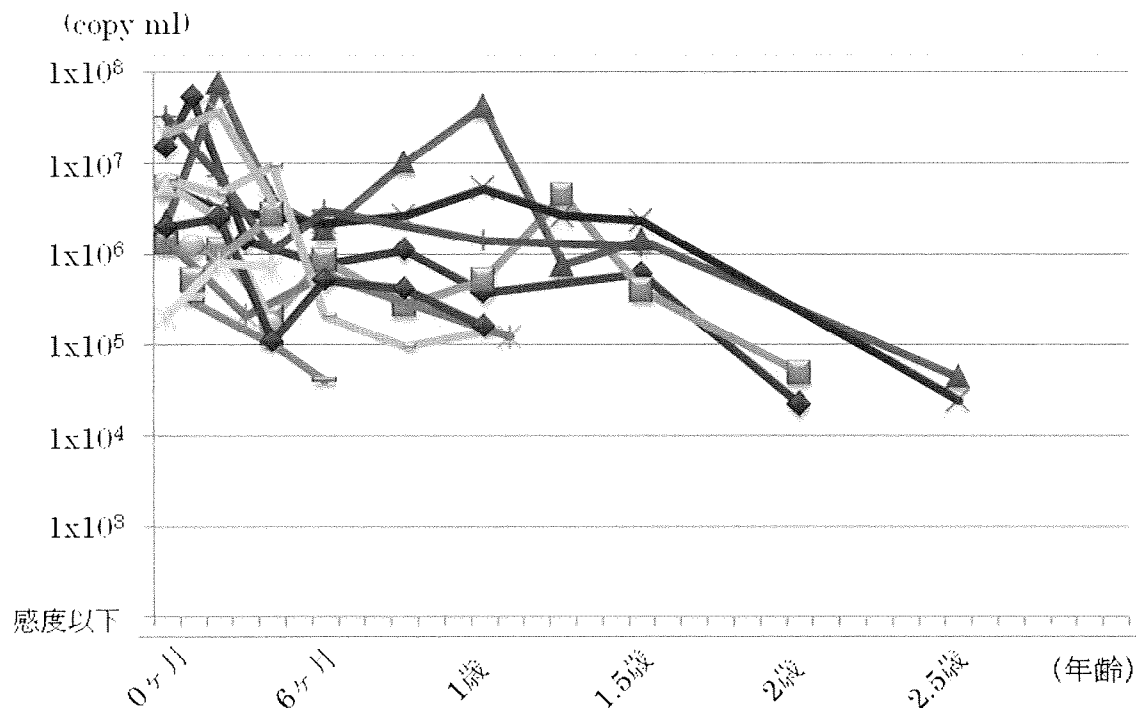


図2 尿中 CMV DNA 量の経時的変化



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

研究分担者 森内 浩幸 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・小児科
研究協力者 増崎 英明 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・産科婦人科
森内 昌子 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・感染免疫学

【研究要旨】

長崎県下の産科開業医の協力を得て、そこで出生した全ての新生児を対象とした前方視的なマススクリーニングを行って先天性 CMV 感染の頻度とその臨床像を明らかにすることを試みたところ、これまで検索された 3,131 例のうち 8 例 (0.26%) に先天性 CMV 感染が証明された。出生時から症候性であったものが一例、追跡期間 (2~14 ヶ月) 中に West 症候群を発症したものが一例であった。

また長崎県内で広汎性発達障害として外来・通園フォロー中の小児を対象に、保存臍帯または先天代謝異常マススクリーニング濾紙血からの CMV DNA 検出を行うことで、広汎性発達障害児における先天性 CMV 感染の関与を後方視的に調査したところ、32 例中 2 例 (6%) で先天性 CMV 感染が証明された。

A. 研究目的

多くの先進国では、先天性中枢神経系障害の原因として、先天性サイトメガロウイルス (CMV) 感染は Down 症候群に次ぐインパクトを持つと考えられているが、その疫学は社会経済的要因に大きな影響を受け地域差が顕著である。その重要性が認識されないでいる最大の要因は先天性感染児の存在が見過ごされているからであり、見過ごされている理由は感染児が出生時には無症候であるか症候性であっても非特異的であるために先天性感染の診断を下せる生後数週間の時期を過ぎてしまうからである。

従って、先天性 CMV 感染の実態を明らかにするためには、大規模な前方視的なマススクリーニングを行って全新生児

の中での先天性 CMV 感染の頻度とその臨床像を明らかにすること (前方視的調査) や何らかの中枢神経系障害を有する小児において先天性 CMV 感染の関与を臍帯や先天代謝スクリーニング濾紙血検体などの材料を用いた後方視的診断法によって明らかにすること (後方視的調査) が有用であり、本研究では長崎県においてその両者を実施して、この地域における実態を解明することを目指した。

B. 研究方法

1) 前方視的調査 (マススクリーニング)

① 検体の収集:

長崎市とその近郊の 6 箇所の産科医院または病院と長崎大学医学部歯学部附属病院産科で出産された新生児で、保護者

の同意を得ることができた全ての例を対象として、Nozawa ら(J Clin Microbiol 2007;45:1305)の手法に基づいて濾紙片に尿を採取した。

②スクリーニング検査および確定検査：

採取した尿は国立感染症研究所ウイルス第一部に搬送し、real-time PCR を用いたスクリーニング検査を受けた。陽性の場合には生後 3 週以内に改めて尿と血液を採取し、長崎大学大学院医歯薬学総合研究科感染免疫学講座にて確認の real-time PCR を行うとともに、新鮮尿を国立感染症研究所ウイルス第一部に搬送しウイルス分離を行って、確定診断をした。

2) 後方視的調査(臍帯・濾紙血検査)

① 研究対象者：

長崎市とその近郊の医療・療育機関で広汎性発達障害と診断を受け、外来・通園フォロー中の患児を対象とする。保護者からの同意を得た上で、臍帯の一部または先天代謝異常スクリーニング濾紙血を取り寄せた。

② DNA 抽出と real-time PCR：

臍帯からの DNA 抽出は前述の方法に依った。濾紙血からの DNA 抽出は QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN)を用いマニュアル通りに行った。CMV DNA の検出には Tanaka ら(J Med Virol 2000;60:455)の方法に従って real-time PCR を行った。

(倫理面への配慮)

前方視的マススクリーニングも後方視的調査も長崎大学医学部倫理委員会で審査され承認を受けている。研究協力者に

は口頭と文書で説明し、文書で同意を得ている。

C. 研究結果

1) 前方視的調査(マススクリーニング)

①先天性 CMV 感染の頻度：

2008 年 10 月 14 日以降 2010 年 2 月 26 日の時点までで合計 3,131 検体の検査が行われ、うち 8 例(0.26%)が陽性であった。

②先天性 CMV 感染児の臨床像(表)：

現時点までの追跡期間は 2~14 ヶ月に及ぶ。8 例中で、出生時から症候性であったものが 1 例(症例 2)、そして生後 6 ヶ月頃に West 症候群を発症した遅発性症候性感染例が 1 例(症例 3)認められている(後述)。

その他、子宮内発育遅延(IUGR)を認めたものが 2 例(症例 2 および 6)、血液検査異常を示したものが 4 例(症例 1 で一過性好中球減少、症例 2 で血小板減少、症例 4 と 5 で肝機能異常)、頭部 MRI で異常所見を呈したものが 3 例(前述の症例 2 と 3 に加え、最も新しく見つかった症例 8)認められており、現時点までで症候的にまたは検査上全く異常を認めていないのは、1 例(症例 7)のみである。

CMV-IgM 陽性例は 3 例、弱陽性が 1 例で、残り 4 例は陰性であった。この検査のみでは先天性感染を見落とす可能性が高いことが確認された。

生後 1 ヶ月頃の CMV load を見ると、症候性の 2 例(症例 2 と 3)で他の症例より高い傾向にあるが、最も高値であった症例 4 は軽度の肝機能異常はあるものの症候性ではなく、絶対的な指標ではなかった。

[症例 2] 2009 年 1 月 2 日生まれの男児。34 週時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。Apgar score 8/8。身長 43.5 cm、体重 2080 g、頭囲 29.5 cm 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 日の時点でバルガンシクロビルの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。

[症例 3] 2009 年 3 月 10 日生まれの男児。妊娠分娩歴に特記すべきことなく、38 週 3 日に反復帝王切開で仮死なく出生。診察や血液検査や耳鼻科のおよび眼科的検査でも異常を認めなかったが、頭部 MRI では前頭葉と側頭葉の脳溝形成遅延や前頭葉深部白質に点状の異常信号域を認めていた。生後 6 ヶ月頃までは発達も順調であったが、その後あまり笑わなくなり spasm 様の動きをみせるようになり、やがて点頭発作を起こすようになった。脳波上は周期的なヒプスアリスミアを認め、West 症候群と診断された。抗痙攣薬投与開始後、痙攣は概ねコントロールできるようになり、発達の catch-up も見られるようになった。

2) 後方視的調査 (臍帯・濾紙血検査)

現時点までで濾紙血検体 19 例と臍帯検体 13 例 (合計 32 例) が収集され、そのうち 29 例について DNA 抽出後 real-time PCR を実施した。このうち 2 例 (7%) で CMV-DNA が陽性であり、1 例は自閉症、もう 1 例は高機能広汎性発達障害と診断された児であった。上述のように長崎市とその近郊における先天性 CMV 感染の頻度は 0.26%であったので、この数字は統計学的に有意に高いと考えられた。

D. 考察

今回の前方視的調査 (マススクリーニング) により、長崎市とその近郊における先天性 CMV 感染の頻度は 0.2~0.3%程度と考えられ、先進国の中では低い方にランクされる。以前に我々が長崎県内で実施した妊婦の CMV 血清疫学調査では、抗体保有率が 87%と先進諸国のみならず国内の他の地域と比べても高値であり、その結果妊娠中の初感染のリスクがそれほど高くないことが推測される。今後長崎でも妊婦の既感染率が減ってくると、先天性感染の頻度が高くなるかも知れない。

先天性 CMV 感染のうち、出生時から症候性であるのは約 1 割で、その後遅発性に発症するものがさらに約 1 割程度出てくると考えられている。今回我々が見出した 8 例では、出生時から症候性であるものが 1 例、現時点までの追跡調査で遅発性に発症したものが 1 例であり、概ねその傾向を取っている。しかし、血液検査や頭部画像検査を施行すると何らかの異常が見出されるケースが少なくない。

特に頭部 MRI で軽微ながら異常所見を呈していた症例がその後 West 症候群を発症したことは興味深く、何らかの検査異常を認めた場合のフォローの重要性を示唆している。

以前に我々は、長崎県内の高度両側性感音性難聴の小児の後方視的調査により、約 12% の症例で先天性 CMV 感染が診断されたことを報告した。今回は広汎性発達障害と診断された児について調査し、まだ症例数は少ないながらマススクリーニングで見出された先天性感染の頻度 (0.26%) と比べ、高い頻度 (29 例中 2 例; 7%) で先天性 CMV 感染を診断した。広汎性発達障害の病因はおそらく多様であり、一部の症例において先天性 CMV 感染が何らかの形で関与していることが示唆された。

E. 結論

前方視的調査 (マススクリーニング) は、先天性 CMV 感染の頻度を正確に捉えるために大きな威力を発揮した。十分な数の先天性感染児を追跡調査することができれば、自然歴についても明らかにすることができる。

一方で後方視的調査では、特定の健康被害を有する小児を対象に、先天性 CMV 感染がその病因としてどのくらい関与するのかを推定することに有用であり、前方視的調査と相補的に先天性 CMV 感染が及ぼすインパクトを示すことが期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tagawa M, Minematsu T, Masuzaki H, Ishimaru T, Moriuchi H. Seroepidemiological survey of cytomegalovirus infection among pregnant women in Nagasaki, Japan. *Pediatr Int* (Epub ahead of print).
- 2) 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.
- 3) 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.
- 4) 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.
- 5) 森内浩幸. 中枢神経障害患者における先天性 CMV 感染の後方視的診断. *NEUROINFECTION* 13(1):52-56, 2008.

2. 学会発表

- 1) Motomura H et al. Estimated impacts of congenital infections on children in Khanh Hoa Province, Vietnam: a pilot study. *Asian Society for Pediatric Research 5th Congress*. Hangzhou, China May

3-6, 2009.

- 2) 本村秀樹、長沼成子、森内浩幸.
ベトナムにおける先天性感染のインパクト:パイロット研究. 第112回日本小児科学会. 2009年4月17-19日. 奈良.
- 3) 坂本綾子、森内浩幸. 広汎性発達障害児における先天性サイトメガロウイルス感染の後方視的診断. 第14回日本神経感染症学会. 2009年10月16-17日. 宇都宮.
- 4) 武田 敬子 宮川 雅美 土居 美智子 中嶋 一寿 江頭 昌典 森内 浩幸. バルガンシクロビルによる抗ウイルス療法を行った先天性サイトメガロウイルス(CMV)感染症の1例. 第41回日本小児感染症学会. 2009年11月14-15日. 福井.
- 5) 土居美智子、森内浩幸. 全新生児を対象とした先天性サイトメガロウイルス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:長崎県における中間成績報告. 第54回日本未熟児新生児学会. 2009年11月29日~12月1日. 横浜.

H. 知的所有権の取得状況

該当なし

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

研究分担者 吉川哲史 藤田保健衛生大学医学部小児科

【研究要旨】

藤田保健衛生大学病院およびその関連施設で平成 20 年 10 月 1 日以降に出生した全新生児を対象として、おむつ中に挿入した濾紙で尿を採取、乾燥後国立感染症研究所へ輸送、直接 PCR 法により CMV DNA を検出、陽性例については当施設で種々の臨床検体についてリアルタイム PCR 法でウイルス DNA 量を解析するとともに詳細な臨床的観察を行った。各施設を合計すると、昨年度は出生 389 例中陽性例が 1 例、本年度は出生 678 例中 5 例の陽性例を認めた。よってスクリーニング開始から現在まで計 1067 例中陽性例は 6 例（0.56%）であり、本集団での発生頻度は過去の報告と同等であった。平均在胎週数は 38 週 1、平均出生体重は 2490g。全例出生時の身体所見、1 ヶ月検診時の血液検査所見に異常はなく、その後の発達にも問題はない。また 6 例中 4 例に同胞があり、尿中 CMV DNA 陽性例の 3 例すべてが患児 CMV 株と同一株の感染であった。したがって同胞から母への感染ルートが示唆されるケースが多く、感染防止策を考える上で重要な所見と思われた。

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主要な原因と推測される。日本でも全出生児の 200 人に 1 人が胎内感染し、その約 1 割が重篤な症状を呈すると考えられている。さらに出生時無症候の児の一部が、後に難聴・精神発達遅滞等の障害を起すことも重大な問題である。一般的に、このような障害の早期診断は早期の療育的介入を可能にし、患児の教育的・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。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 感染に伴う遅発性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、現在の乳幼児健診システムでは遅発性難聴や精神発達遅滞を早期に発見することが不可能なことから、新生児における先天性 CMV 感染スクリーニングの重要性は高い。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」となるだけの批判もあるが、先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