

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—

研究分担者 大石 勉 埼玉県立小児保健センター保健発達部
研究協力者 荒井 孝 埼玉県立小児保健センター臨床研究室
安達 のどか 埼玉県立小児保健センター耳鼻咽喉科
坂田 英明 目白大学言語聴覚学科
小熊 英二 埼玉県立小児医療センター放射線科

【研究要旨】

【目的】先天性サイトメガロウイルス感染症（先天性 CMV 感染症）は典型的先天性 CMV 感染症（伝統的重症型：巨細胞封入体症）と非典型的先天性 CMV 感染症（基本的に伝統的重症型の症候を呈さない）の二群に分けられる。さらに非典型的先天性 CMV 感染症は感音性難聴を有する群（+群）と感音性難聴のない群（-群）に分類される。非典型的先天性 CMV 感染症で感音性難聴-群における病態を経時的にウイルス学および画像診断学的に解析する。

【方法】対象は新生児聴覚スクリーニングで尿 CMV DNA 陽性であるが難聴-の非典型的先天性 CMV 感染症 15 症例である。尿、末梢血単核球（PBMC）、血漿を経時的に採取し、CMV 量を real-time PCR 法で定量的に測定した。難聴-群における中枢神経系の CMV 感染の病理は magnetic resonance imaging (MRI) で解析した。

【結果】非典型的先天性 CMV 感染症感音性難聴-群の尿、PBMC、血漿中のウイルス量を経時的に測定した。尿 CMV 量は生後 5 日以内ではほぼ 8.9×10^6 コピー/ml であったが、1 歳では出生時のほぼ百分の 1 に減少した。生後 1 ヶ月で僅かに認められた末梢血単核球の CMV 量、平均 7 コピー/ μ g DNA（レンジ：0-90 コピー/ μ g DNA）、も加齢と共に次第に減少し 1 歳以後は消失した。血漿 CMV 量は生後 1 ヶ月で平均 70 コピー/ml（レンジ：0-4100 コピー/ml）ほどであったがその後次第に減少し、3 ヶ月以後は平均 10 コピー/ml 以下となった。非典型的先天性 CMV 感染症で感音性難聴-群の主な中枢神経所見は髄鞘化の遅延あるいは異常を示すと考えられる両側性散在性の大脳白質 MRI T2 延長である。1 歳までのフォローで、散在性大脳白質 MRI T2 延長には軽快、消退する領域と残存する領域の 2 型あることが明らかになった。

【考案・結論】非典型的先天性 CMV 感染症感音性難聴-群の尿、血漿、PBMC の CMV 量は加齢に伴い経時的に減少した。同時に 1 歳までのフォローでは両側性散在性大脳白質 MRI T2 延長所見は消退する部分を認める一方で残存する部分の存在することが明らかになった。大脳白質所見と精神運動発達障害との関連の解明には髄鞘化の完成する 1 歳 6 ヶ月以後の MRI による詳細な評価を必要とする。研究は現在進行中である。

研究目的

先天性サイトメガロウイルス感染症（先天性 CMV 感染症）は生下時に点状出血、黄疸、肝脾腫、聴力障害、小頭症、小眼球症、嗜眠/筋緊張低下、脈絡網膜炎、

低出生体重（SGA）を呈する典型的先天性 CMV 感染症（伝統的重症型：巨細胞封入体症）と明らかな伝統的重症型の症候を呈さない非典型的先天性 CMV 感染症の二群に分類される。

非典型的先天性 CMV 感染症は新生児聴覚スクリーニングで感音性難聴を有する群（+群）と感音性難聴のない群（-群）に二分される。

今回は非典型的先天性 CMV 感染症の感音性難聴一群における尿、血清、末梢血単核球（PBMC）ウイルスゲノム量を real-time PCR 法で定量的に測定し、さらに magnetic resonance imaging (MRI) で中枢神経所見を画像診断学的に解析して非典型的先天性 CMV 感染症感音性難聴一群における CMV 感染の病態を明らかにすることを試みた。尚、非典型的先天性 CMV 感染症難聴一群に対してはガンシクロビル（ganciclovir）やバルガンシクロビル（valganciclovir）等による治療はおこなわず経過を観察した。

B. 研究方法

1. 対象。非典型的先天性 CMV 感染症で感音性難聴一群（15 症例）は埼玉県内産科病院で出生し automated auditory brainstem response (AABR) による新生児聴覚スクリーニング施行時、両親/親権者から同意を得て新生児尿を採取し、CMV DNA 検査をおこない先天性 CMV 感染症と診断されたが無症候性で難聴であった新生児である（厚生労働科学研究費補助金「子ども家庭総合事業」平成 21 年度総括・分担研究報告書。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）。

2. 方法。①MRI を 4-8 週齢で施行した。先天性 CMV 感染の脳白質および皮質に及ぼす影響を画像診断学的に解析した。

②尿/PBMC/血漿から QIAamp® DNA

Blood Mini Kit (250) (QIAGEN Sciences) を使用して DNA を抽出し種々の組織における CMV ウイルス量を測定した。

CMV ゲノムは pp65 遺伝子 (locus HSPBPC; GenBank) を標的として real-time PCR 法で定量した (ABI PRISM™ 7900)。Forward primer には 5'-GCAGCCACGGGATCGTACT、reverse primer には

5'-GGCTTTTACCTCACACGAGCATT を作成して 159-bp を増幅し、TaqMan プローブとして

5'-FAM-CGCGAGACCGTGAACTGCG-TAMURA を使用した。また、この増幅部位は化学合成後プラスミド pUC 系ベクターの EcoRI/HindIII サイトにクローニングし (SYN199-3)、標準 DNA として使用した (タカラバイオ (株))。

尿、血漿中のウイルス量はコピー/ml で表記した。検出感度は 10^2 コピー/ml である。PBMC 中のウイルス量はコピー/ μ g DNA で表記した。検出感度は 1 コピー/ μ g DNA である。

③ウイルス量は幾何平均 (geometric mean) \times / \div 標準偏差 (SD) で表記した。

(倫理面への配慮)

本研究は患者の両親/親権者に対して説明書と同意書を作成して十分な説明をおこない同意を得て実施した。尚、本研究は埼玉県立小児医療センター倫理委員会の承認を得ておこなっている。

C. 研究結果

1. 非典型的先天性 CMV 感染症感音性難聴一群の尿、PBMC、血漿中の CMV 量を経時的に測定した。

既に報告したように 4-8 週齢の非典型的先天性 CMV 感染症難聴一群は+群と比べて尿、血漿、末梢血単核球ウイルス量に有意の差は認めなかった(平成 21 年度報告書)。

尿 CMV ウイルス量は生後 5 日以内では 8.9×10^6 コピー/ml 程度であったが、1 歳では出生時のほぼ百分の 1 まで減少した(図 1)。

生後 1 ヶ月で僅かに認められた末梢血単核球中の CMV 量(レンジ: 0-70 コピー/ μ g DNA)も加齢と共に次第に減少し 1 歳以後は消失した(図 2)。

血漿 CMV 量は生後 1 ヶ月で平均 70 コピー/ml(レンジ: 0-4100 コピー/ml)ほどであったがその後次第に減少し、3 ヶ月以後は平均 10 コピー/ml 以下となった。

しかしながら、1 歳以後

leukocyte-associated viremia を伴わないウイルス血症を呈した 2 症例を認めた(各々 200 および 300 コピー/ml)。

2. 非典型的先天性 CMV 感染症で感音性難聴一群の主な中枢神経所見は髄鞘化の遅延あるいは異常を示すと考えられる両側性散在性の大脳白質 MRI T2 延長である。

非典型的先天性 CMV 感染症感音性難聴一群の 1 歳までのフォローでは大脳白質の散在性 T2 延長所見は消退するものと残存するもの両方が観察された。図 3 に示す 1 例では 2 ヶ月時に前頭葉と頭頂葉に高信号を認めたが、1 歳では前頭葉の高信号領域は残存するものの頭頂葉の高信号域は消退していた。

生後 2 か月までの MRI 検査で MRI T2 延長を認め、1 歳以後 MRI 検査が可能であった 8 症例全てにおいて同様の結果が

得られた。

D. 考察

非典型的先天性 CMV 感染症難聴一群、非典型的先天性 CMV 感染症難聴+群、典型的先天性 CMV 感染症群と次第に MRI 所見は重症化することは既に報告した。しかしながら 4-8 週齢の非典型的先天性 CMV 感染症難聴一群と+群との比較では尿、血漿、末梢血単核球ウイルス量に有意の差は認めなかった。(平成 20 年度、平成 21 年度報告書)。

平成 22 年度の研究は非典型的先天性 CMV 感染症感音性難聴一群の尿と PBMC の CMV 量は全て 1 歳までは加齢と共に減少することを明らかにした。

しかしながら尿 CMV 量と重症度との関連の更なる解明には比較できる症例数の非典型的先天性 CMV 感染症難聴+群の生後 5 日以内の尿ウイルス量測定がなされねばならない。

血漿 CMV 量は 2 ヶ月時に増加傾向を示したが有意の増加はなく、その後は減少した。しかしながら 13-15 ヶ月時に再び CMV 量は増加した。成人で観察される潜伏感染 CMV の再活性化との異同は症例の蓄積による解析が必要である。

非典型的先天性 CMV 感染症感音性難聴一群の 1 歳までのフォローでは大脳白質に散在性に認められた T2 延長所見の消退と残存の両方が観察された。生後 2 か月までの MRI 検査で異常を認め、1 歳以後 MRI 検査が可能であった 8 症例全て同様の検査結果が得られた。

平成 21 年度報告書に記載したように、非典型的先天性 CMV 感染症難聴+群は非典型的先天性 CMV 感染症難聴一群と

比べて脳 MRI は明らかに重度の質的・構造的傷害を呈した。一方、非典型的の先天性 CMV 感染症難聴一群の脳 MRI では大脳半球皮質下白質に分布の程度に差はあるものの T2 延長領域のある場合 (75%) と、明らかな異常のない場合 (25%) が認められた。

つまり、髄鞘化の遅延あるいは異常な髄鞘化と考えられる両側性散在性の大脳白質 MRI T2 延長が非典型的の先天性 CMV 感染症感音性難聴一群の主要な中枢神経所見である。

非典型的の先天性 CMV 感染症難聴一群に認める白質の T2 延長領域は神経細胞が側脳室に面した脳室帯から大脳皮質への遊走後に生じた白質への CMV 感染を意味するのであろうか。あるいは CMV 感染に伴うサイトカイン産生の亢進により非特異的に髄鞘化遅延あるいは脱髄が起きた結果であろうか。先天性 CMV 感染症の病因論との関連において解決すべき重要な課題と思われる。

未検討では有るが、MRI で明らかになった脳傷害の領域的特徴と難聴発症の機序の関連も今後明らかにされねばならない。

しかし、中枢神経系の髄鞘化の完成には 1 歳 6 ヶ月を要するとされている。それ以前の撮像による先天性 CMV 感染症難聴一群の大脳半球皮質下白質 T2 延長領域の存在は正常な発達過程の一部を包含している可能性もある。大脳白質所見と精神運動発達障害との関連の解明には髄鞘化の完成する 1 歳 6 ヶ月以後の MRI による詳細な評価が今後必要である。研究は現在進行中である。

E. 結論

非典型的の先天性 CMV 感染症感音性難聴一群の尿、血漿、末梢血単核球の CMV 量は加齢に伴い経時的に減少した。即ち、急性期 CMV 感染症が軽快し、潜伏感染あるいは慢性感染症への移行が示唆された。同時に 1 歳までのフォローでは両側性散在性大脳白質 MRI T2 延長が軽快、消退する領域と持続性高信号領域が存在することが明らかになった。大脳白質所見と精神運動発達障害との関連の解明には髄鞘化の完成する 1 歳 6 ヶ月以後の MRI による詳細な評価を必要とする。

G. 研究発表

投稿準備中。

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

図1. 非典型的先天CMV感染症（難聴なし）における尿CMV量（●）の経時的推移。

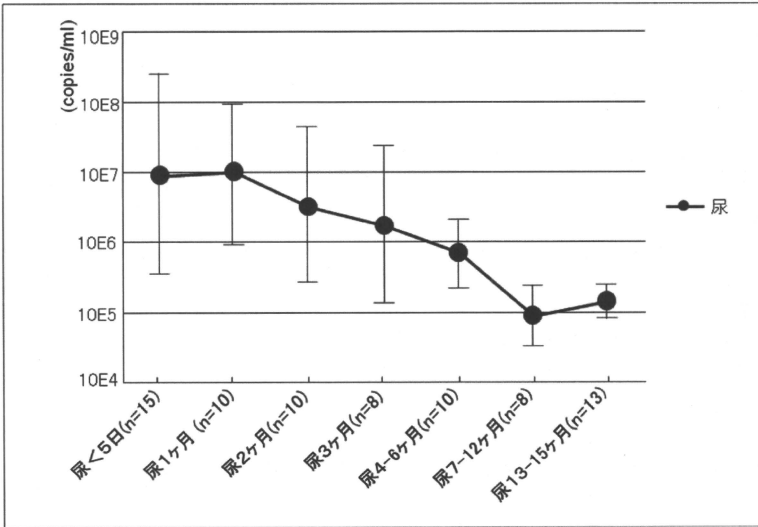


図2. 非典型的先天CMV感染症(難聴なし)における血漿CMV量(◆)、末梢血単核球CMV量(□)の経時的推移.

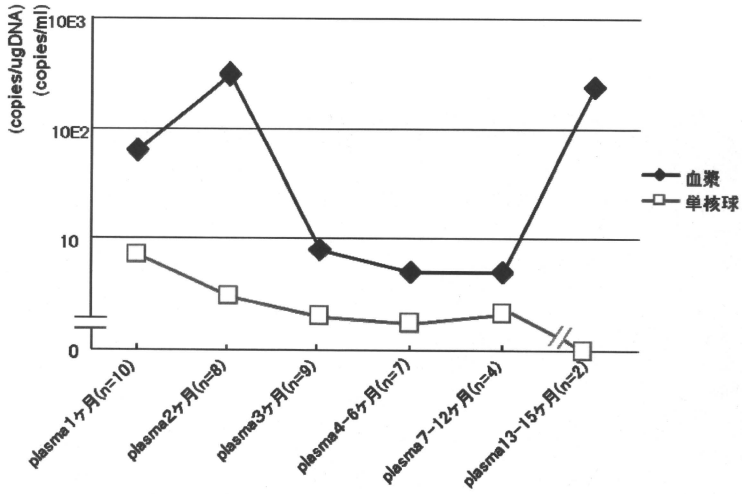
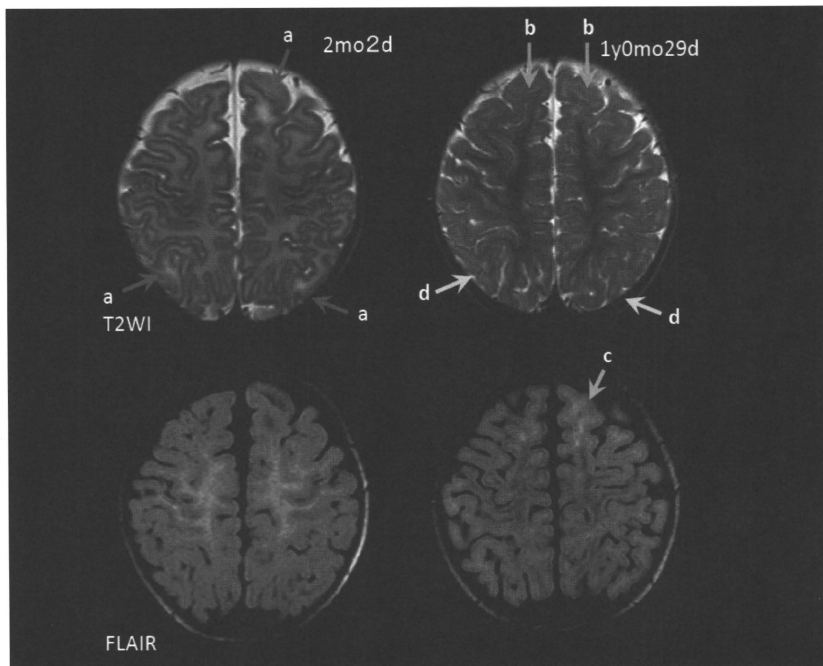


図 3. 非典型的先天CMV感染症（難聴なし）女児症例のMRI. 乳児期早期に両側の前頭頭頂葉にわずかに T2 延長領域を認める (a →). 1 歳時の検査では、前頭葉の病変が左右差を手がかりに認識できる (b →). 前頭葉の病変は FLAIR でも高信号を呈する (c →). 頭頂葉の病変は、1 歳時には指摘できなくなっている (d →).



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

研究分担者 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

【研究要旨】

無症候性先天性サイトメガロウイルス感染症児のスクリーニングを新生児早期の尿中サイトメガロウイルス DNA を PCR 法により検出することにより施行した。2009 年 2 月より 2010 年 7 月末までに国立成育医療研究センターで出生したリスクのない新生児 1677 例に対して施行した。

尿中 CMV 陽性症例は 1677 例中 5 例 (0.30% [95% C.I.: 0.13~0.70%]) であり、他の施設との差はないようであった。

母親は、 37.2 ± 3.7 歳で、妊娠中の CMV(IgG)は、それぞれ、陰性 2 名、陽性 3 名であった。5 例中 2 例は、不妊治療による妊娠であった。

5 例とも正期産児で、在胎週数は 37.2 ± 0.4 週、出生体重は $2677 \pm 182\text{g}$ ($2435\text{g} \sim 2862\text{g}$)であった。5 例中 4 例は、患児の上に兄弟をもつ症例であった。5 例中 1 例は、児の抗 CMV 抗体(IgM)は+で、2 例は±で、1 例は-であった。出生時の臨床所見は、1 例のみ心室性期外収縮を認めたが、他の 4 例は特に症状は認めなかった。その後のフォローアップでも、現段階では 5 例とも、神経症状、眼底所見、聴力に関しては、異常を認めていない。

また、当センターでのスクリーニング施行期間中の先天性サイトメガロウイルス感染症のスクリーニング受検率は、82.5%であった。

A. 研究目的

無症候性先天性サイトメガロウイルス感染症児を、生後早期にスクリーニングにて発見することは、これらの患児の聴覚予後についての把握と早期介入が可能となり、先天性サイトメガロウイルス感染による先天性聴覚障害の児の予後を改善することが期待されている。国立成育医療研究センターでは、2009 年 2 月より新生児尿中 CMV スクリーニングを開始した。2009 年 2 月から 2010 年 7 月ま

で当センターで施行したスクリーニングの施行実態とその結果について、検討した。

国立成育医療センターにおける無症候性先天性サイトメガロウイルス感染症の発生頻度を検討し、これら無症候性先天性サイトメガロウイルス感染症児のその後の臨床経過について検討する。

また、周産期センターにおける新生児早期における尿中サイトメガロウイルス

検査 (DNA-PCR) の実施に於ける施行効率について検討する。

B. 研究方法

臨床試験のプロトコールに関しては、当センターの倫理委員会の承認を得て施行した。

当センターで出生し、リスクのない新生児室で管理可能であった、新生児症例を対象とした。ただし、出生前に胎児異常が診断されていた症例や生後、新生児異常のために、NICU への入院が必要となった症例は除外した。

これらの対象症例全例を登録し、ご両親に対して、出生時に新生児科医師により説明し、文書によるインフォームドコンセントを得た。

尿の採取は、オムツの中に濾紙を挿入して行い、生後 0～1 日に、助産師あるいは、母親にて施行した。従って、母乳哺乳がほとんど確立していない時期の尿を採取する場合がほとんどであった。

採取した濾紙尿検体を、風乾し、匿名化の番号付けを行って、保管した。承諾書の取得確認ができた検体のみを、1-2 週間分ずつまとめて、国立感染症研究所へ郵送し、尿中サイトメガロウイルス DNA 検出(PCR 法)を施行した。

結果に関しては、1 ヶ月健診の時に、親に対して文書で報告した。

2009 年 2 月から 2010 年 1 月 31 日までに施行したスクリーニングの実施状況、および、その結果に関して、検討した。

C. 研究結果

[無症候性先天性サイトメガロウイルス

感染症の頻度について]

2010 年 7 月末までに、1677 例に対して尿中サイトメガロウイルス感染症スクリーニングを施行した。

尿中 CMV 陽性症例は 1677 例中 5 例であり、発生頻度は、0.30% [95% C.I.: 0.13～0.70%]であり、他の施設との差はないようであった。

[尿中 CMV(DNA-PCR)陽性児 5 症例の臨床経過について] (表 1, 2, 3, 図 1)

<家族歴>

5 例中 4 例は、患児の上に兄弟をもつ症例であった。

5 例中 2 例は、DD 双胎の片方の児であった。両組とも、採尿による再検査にても、片方の児のみが陽性であった。

<母胎および胎児期の経過>

母親は、 37.2 ± 3.7 歳 (33～42 歳) で、妊娠中の CMV(IgG)は、それぞれ、陰性 2 例、陽性 3 例であった。

また、5 例中 2 例は、不妊治療による妊娠であった。

胎児期の経過は、5 症例とも特に異常は認めていなかった。

<出生時、および生後の経過>

尿中 CMV(PCR)陽性の 5 例の在胎週数、出生体重は、 37.2 ± 0.4 週 (37～38 週)、 2677 ± 182 g (2435～2862g) で 1 例のみ 2435g の低出生体重児であったが、他は、2500g 以上であった。

出生時の臨床所見は、1 例のみ心室性期外収縮を認めたが、他の 4 例は特に症状は認めなかった。

心室性期外収縮は、日齢の経過とともに

に軽快し、その後のフォローアップでも、悪化は認めていない。

新生児期は、特に異常を認めず、通常の入院期間で退院している。新生児期の入院中に施行した OAE は、5 例とも、両側耳の聴力は正常であった。

<出生後の血液生化学・血清学的所見>

5 例中 1 例は、児の抗 CMV 抗体(IgM)は+で、2 例は±で、1 例は-であった。尿中の CMV(DNA)のコピー数は、各症例とも、徐々に低下する傾向を示した。

<退院後の経過>

その後の外来フォローアップにおいても、現段階では 5 例とも、神経所見、眼底所見、聴力に関しては、異常を認めていない。

<画像検査>

これまでの経過中に、5 例全例で頭部 CT あるは頭部 MRI を施行しているが、特に石灰化や脳室拡大などの異常所見を 5 例とも認めていない。

尚、当センターでは、新生児全症例に対して OAE と auto-ABR による聴覚スクリーニング検査を施行しているが、尿中 CMV 検査開始後の約 1 年半では先天性聴覚障害の児は発生していない。

[スクリーニング施行効率について]

2009 年 2 月 1 日から 2010 年 5 月 31 日まで(注：スクリーニング施行 19 ヶ月中の 17 ヶ月 (89.5%に相当)についてのみ解析)での登録症例数は、1758 症例の新生児で、濾紙尿検体が採取できた症例は 1687 症例(登録症例の 96.0%)であった。

うち、57 症例(採取症例の 3.4%)は、採取検体が不十分な可能性があるため、複数回の検体採取を行っていた。検体が未採取のまま退院してしまった症例は 71 例(登録症例の 4.0%)であった。

承諾書取得が確認できた症例が 1554 例(登録症例の 88.4%)であり、最終的に、承諾書取得の確認の後に国立感染症研究所へ提出できた症例は、1450 例(登録症例の 82.5%)で、測定検体数は 1523 検体(採取検体の 87.1%)であった。

同一症例から複数の検体が提出された症例は、47 例(測定症例の 3.2%)で、2 回の検体提出症例が 43 症例、3 回提出例が 3 例、4 回提出例が 1 例であった。

D. 考察

この 1 年間の当センターでの無症候性先天性サイトメガロウイルス感染症の発生頻度は、0.30%であったが、この値は、これまでの他の施設からの報告とそれほどの差異はない値であった。当センターの妊婦の特徴として、high risk 妊娠・分娩の妊婦が多く、かつ、妊婦の年齢分布は、やや高い傾向がある。また、東京都世田谷区という地域性もこの発生頻度に影響を与えるかもしれないと危惧されたが、実際は、他の地域、他の施設とほぼ同じ頻度であった。

最終的には、研究班全体研究の結果を待たなければ成らないが、信頼性の高い値が得られそうである。

また、当センターでは、偶然かもしれないが、5 例中 2 例が DD 双胎例の片方の児であった。文献的には、Yinon らの報告 (Yinon Y. et al. Prenatal diagnosis and outcome of congenital

cytomegalovirus infection in twin pregnancies. BJOG 113:295-300. 2006.) によれば、母胎が妊娠中にサイトメガロウイルスの初感染をうけたことが血清学的に証明された20組のDD 双胎において、20組中6組に新生児の先天性サイトメガロウイルス感染症が発見され、6組中5組は両方の児が感染を起こしていたが、1組は片方の児のみが陽性で他児は陰性であったとしている。妊娠中の初感染の場合には、双胎の場合のほうがやや児への感染率が高い傾向を示しており、かつ、片方の児のみ陽性となることも1/6の確立で起こりうることでありと思われた。当センターでの双胎例は子の1年で76組(152新生児)であり、双胎での発生頻度は、2/152(1.3%)で、relative risk 3.331 [95%CI: 1.126-9.849]であった。今後も、双胎例に関してのデータの蓄積も重要と思われる。

また、不妊治療例が2例あり、不妊治療が関連している可能性はもちろん低いと思われるが、今後のデータの蓄積が必要である。

現段階では、1例に出生時に心室性期外収縮の出現を認めた以外は、特に異常所見は認めておらず、1歳半から6ヶ月のフォローアップ期間中に、聴力障害の出現を認めた例はない。今後も、長期的な経過観察が必要である。

当センターでは今回、約1500例の新生児に対しての尿中MCVスクリーニングを実施したが、濾紙尿検体の採取率は、96.0%であり、承諾書の受領の確認ができた率が88.4%であった。さらに、検体の提出は、濾紙尿検体が採取できてかつ、

承諾書の受領確認ができたものとして、最終的に検体を提出できた症例は、登録症例の82.5%であった。これは、スクリーニングとして今後施行していくには、やや低い数字に留まったが、厳密なインフォームドコンセントの取得と確実な濾紙尿検体の採取(取り直しを行うなど)を満足できるレベルで行った結果である。インフォームドコンセントの説明に関しては、全分娩に新生児科医が分娩立ち会いしている当センターでは、説明に関してはほぼ全例に行われていることが予想されるが、その承諾書を回収する時に回収漏れがあったものと予想された。

現在、本邦で行われつつある他のスクリーニング検査と比較してみると、義務化されていない新生児聴覚スクリーニング検査に関しては、本邦でのスクリーニング受検率は、2006年では62%という値であった(厚生労働科学研究こども家庭総合研究事業「新生児聴覚スクリーニングの効率の実施および早期支援とその評価に関する研究」班)。ほぼ義務化に近い先天性代謝異常等検査(ガスリー検査)のスクリーニング受検率は、東京都で、2006年は93.8%であった(東京都予防医学協会年報第37号 新生児スクリーニング検査 p.121-134)。年間分娩1700前後である当センターにおいてのスクリーニング施行率としては、これらのスクリーニング率の間ぐらいに当たる値であった。

十分なインフォームドコンセントの説明をした結果と思われるが、スクリーニング陽性例に関しては、全例、積極的なフォローアップにご協力頂いている。

今後は、妊娠中に妊婦に対しての先天性サイトメガロウイルス感染症について

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が重要で、これにより、先天性サイトメガロウイルス感染症の発症を抑え、かつ、スクリーニング受検率を向上させることが可能となると思われる。

E. 結論

当センターのリスクの少ないとされた新生児における無症候性先天性サイトメガロウイルス感染症の発生頻度は、0.30% [95% C. I. : 0.13~0.70%]であった。

また、当センターにおいて1年間施行した先天性サイトメガロウイルス感染症のスクリーニング受検率は、88.4%であった。

G. 研究発表

1. 論文発表

Shoji K., Ito Y., Inoue N., et al. Is a Six-Week Course of Ganciclovir Therapy Effective for Chorioretinitis in Infants with Congenital Cytomegalovirus Infection? *The Journal of Pediatrics*, 2010; 157: 331-333.

2. 学会発表

1) 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 (会議録)

2) 塚本桂子、伊藤裕司、和田友香、花井彩江、垣内五月、難波由喜子、高橋重裕、藤永英志、中村知夫、久保隆彦：国立成育医療研究センターでの無症候性先天性サイトメガロウイルス感染症に対する新生児尿スクリーニング検査. *日本未熟児新生児学会雑誌* 22(3):618, 2010 (会議録)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定も含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
特になし

I. 研究協力者

塚本 桂子、和田 友香：国立成育医療センター 周産期診療部 新生児科

庄司 健介：国立成育医療センター 総合診療部

(表1)

結果2 陽性児の母体情報・出生時状況

症例	在胎週数(週)	出生体重(g)	母体年齢	上の同胞	その他	初期母体CMV-IgG	出生時児CMV-IgM
1	38	2862	42	+		-	±
2	37	2520	34	+	DD 双胎	+	±
3	37	2724	39	-	DD 双胎	+	-
4	37	2435	38	+		-	+
5	37	2794	33	+		+	-
平均 ±SD	37.2 ±0.4	2677 ±182	37.2 ±3.7	有 4/5		陽性3/5	陽性3/5

(表2)

結果2 陽性児の臨床経過 発達

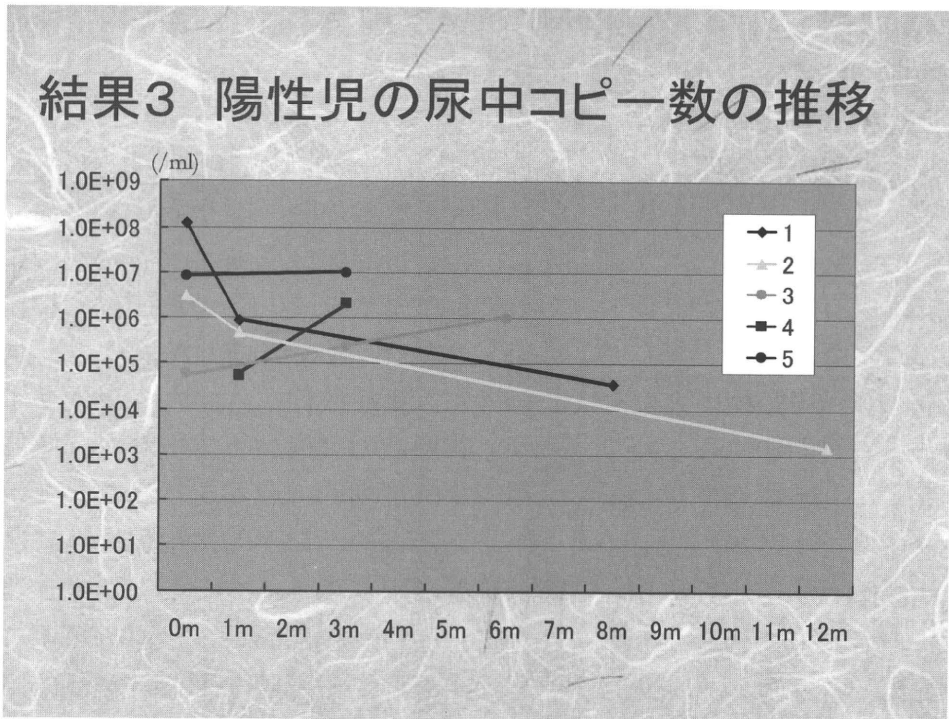
症例	観察期間	聴力検査	眼科所見	頭部CT・MRI	発達
1	12m	6m AABR 両側Pass	12m 異常なし	6m 異常なし	つかまり立ち、 伝い歩き可。 言葉まだ。
2	12m	12m DPOAE 両側Pass	12m 異常なし	5m 異常なし	つかまり立ち、 伝い歩き可。 言葉まだ。
3	10m	10m DPOAE 両側Pass	10m 異常なし	10m 異常なし	つかまり立ち可。
4	7m	7m AABR 両側Pass	6m 異常なし	0m 異常なし	寝返り可。
5	3m	1m ABR 閾値30/30dB	3m 異常なし	2m 異常なし	定額もう少し。

(表 3)

結果2 陽性児の臨床経過 発育

症例	測定時期	体重(kg)	身長(cm)	頭囲(cm)
1	12m	8.285 (-1.2SD)	73.2 (+0.8SD)	45.3 (-0.6SD)
2	12m	9.530 (0.0SD)	75.3 (+0.1SD)	45.9 (-0.2SD)
3	10m	10.035 (+1.0SD)	73.3 (+0.2SD)	47.6 (+0.16SD)
4	7m	6.730 (-2.0SD)	67.6 (0.8SD)	41.9 (-1.6SD)
5	3m	6.870 (+0.5SD)	58.6 (- 1.3SD)	40.5 (0.0SD)

(図 1)



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

研究分担者 浅野仁覚（福島県立医科大学産婦人科）

【研究要旨】

福島県内で分娩を取り扱っている基幹病院で出生した児について、家族の同意を得た上で採尿を行ないサイトメガロウイルス（CMV）スクリーニングを施行した。スクリーニングは濾紙片にて採尿を行い、リアルタイム PCR 法を用いることでサイトメガロウイルス DNA の検出を行なった。この方法により、実際には症候性感染児よりも多いと言われている無症候性感染児の検出を可能にし、今まで原因不明とされていた難聴や精神運動発達遅滞の発症の予測や早期医療介入によりその障害を克服することが可能と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、妊婦がサイトメガロウイルスに感染することで胎内感染をおこして小頭症、水頭症、胎児発育不全、肝脾腫、皮下出血（血小板減少）などの異常をきたす疾患である。サイトメガロウイルス抗体保有率も、年々低下傾向を示しており、以前は95%以上見られた抗体保有率も現在70~80%程度となり、今後ますます胎内感染が問題になる疾患の1つである。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ことを証明すれば確定する。妊娠中より胎児超音波スクリーニングで何らかの所見があり、検査出生後の（採血・採尿・頭部CTなど）より比較的容易に診断可能である。しかし、実際には無症候性感染児の方が多く、生後2年くらい経ってから症状が現れてから外来で見つけられることも多いため先天性感染と後天性感染との区別がつかず確定診断が困難であることと、分

娩時の重症な低酸素血症で生じる精神運動発達遅滞などの鑑別も困難であった。

そこで、我々は福島県内で分娩を取り扱う病院4ヶ所(福島県立医科大学附属病院、社会保険二本松病院、国立病院機構福島病院、いわき市立総合磐城共立病院)において出生した児全員に生後1週間以内に尿中サイトメガロウイルスDNAスクリーニングを行い、無症候性も含めた先天性サイトメガロウイルス感染症の実態調査を行ない、感染児については定期的に診察を行うことで疾患早期発見に努め、対症的に治療を行い、障害を可能な限り小さくすることができる。さらに、産科医療においては原因不明の精神運動発達遅滞や難聴などの神経学的障害が、分娩時の合併症によるものとサイトメガロウイルス感染による先天性疾患が原因であることを判別することで早期治療・療育が可能になる。

以上のことから、本研究は先天性サイトメガロウイルス感染症を出生後の簡便な尿

検査を行うことで福島県内の実態把握を効率的に行い、治療も含めてフォローしていくことで有効な検査方法であることを証明し、将来的には全国規模で行ない、先天性サイトメガロウイルス感染を早期発見し早期治療を行うことで、その障害を可能な限り小さくすることが大きな目的である。

B. 研究方法

1. 検体の収集

福島県内で分娩を取り扱う病院4ヶ所(福島県立医科大学附属病院、社会保険二本松病院、国立病院機構福島病院、いわき市立総合磐城共立病院)において出生した児のうち両親の同意が得られた児について紙おむつ中に特殊濾紙(2×5cm大)を挟み込み、新生児の尿を濾紙にしみ込ませることで採取する。十分に乾燥させて、専用パックに検体を乾燥剤(シリカゲル)と共に入れて密封し、国立感染研究所に送付する。濾紙には、認識番号が割り振られており、施設ごとに振り分けて担当医のみが特定できる認識番号により匿名化されたものを用いる。

2. 検査、及び解析

検査は、3mm径に打ち抜かれた濾紙片を直接用いたリアルタイムPCR法で行う。初回調査で陽性結果に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する(国立感染研究所)。

3. 結果報告

結果は、福島県立医科大学で集計され、その後、各施設の担当責任者(産婦人科部長)へ送付し、それぞれの担当医より説明を行う。陽性児であった場合は、判明した時点で担当医(産科)が外来にて結果を両親に報告し、小児科紹介を含めスケジュールを説明する。陰性児であった場合は1ヶ月検診の外来受診の際に両親に結果報告す

る。

4. 検査後のフォローアップについて

感染の再確認のため、生後3週間以内に陽性と考えられる児の採血・採尿を行いウイルスの直接分離や抗体検査(CMV-IgG・CMV-IgM)を施行する。さらに、母体の感染(抗体)の有無を調べる為の採血(妊娠中の感染であることの確認)や兄弟・姉妹(同胞)がいる場合は、感染経路を調べる為の採尿(水平感染から垂直感染の有無の調査)を行う。また、当院小児科や各協力施設の小児科で定期的(6ヶ月毎)に発達の検査や採血・採尿を行う。難聴については、当院耳鼻咽喉科や各協力施設の耳鼻咽喉科で定期的(6ヶ月毎)に聴力検査を行い、難聴が起こってくる場合は早期から適切な機能訓練、療育を行う。

(倫理面への配慮)

以上の研究方法は、全て両親や家族の同意を得た上で行なうものであり、検査結果については、すべて認識番号で取り扱い各施設のカルテ番号(ID)や氏名では取り扱わない(秘匿性を確保)。また、全て福島県立医科大学倫理委員会で承認(受付番号719)されたものである。

C. 研究結果

① 福島県立医科大学附属病院

検体数：273例中、陽性2例
Lot. 22986、Lot. 23759

② 国立福島病院

検体数：193例中、陽性0例

③ いわき市総合磐城共立病院

検体数：180例中、陽性1例
Lot. 22511

④ 社会保険二本松病院

検体数：290例中、陽性0例

①～④の合計：936 例中、陽性 3 例 (0.32%) であった。

Lot.No	Age	GW	BW	Anomaly	sib
22511	25	37w 5d	2900g	なし	2
22986	34	40w 5d	3226g	なし	1
23759	32	38w 0d	2500g	なし	0

※ Age：母体年齢

GW：妊娠週数

BW：出生体重

Anomaly：妊娠中に指摘された異常

Sib：同胞（兄・姉）の数

出生後に先天性 CMV 感染を指摘された 3 例の無症候性感染児は、現在のところ、発達・発育など問題なく経過している。

【Lot.20026】症候性患児の 1 例に対して Varganciclovir: VALIXA®投与し治療を行ったので、その経過を紹介する。

初期より近医（開業医）にて妊婦検診を受けていたが、平成〇年 8 月 X 日（妊娠 32 週 0 日）に小頭症を疑われ当科紹介となった。大横径 60.4mm（妊娠 25 週相当）、頭周囲長 248mm（-3.0SD）、母体血中 CMV-IgG（+）、CMV-IgM（-）であった。10 月 Y 日（在胎 37 週 6 日）選択的帝王切開（骨盤位）にて出生。2338g アプガースコア 4 点→7 点。臍動脈血 pH 7.309。頭周囲長 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。CMV スクリーニング検査にて CMV 陽性が判明し、直接採取尿からも CMV が分離され先天性サイトメガロ感染

症の診断となった。同胞（姉）からは、サイトメガロウイルスは検出されなかった。初期の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。耳鼻咽喉科および小児科と協議の上、Varganciclovir: VALIXA®内服治療を考慮し両親と協議をおこなった。両親とも治療希望強く、生後 5 ヶ月より当院小児科管理の入院として VALIXA®投与（16mg/kg/回×2 回×6 週間）を行なうこととした。海外での治療経験はあるものの、日本では保険適応がないことより、当大学の倫理委員会に治療内容を申請、受理されたことを確認して投薬をおこなった。生後 7 ヶ月に VALIXA®投与終了し、血中サイトメガロウイルス量は、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。定頸も認めないため、生後 11 ヶ月より療育トレーニング開始。1 歳時の MRI では脳溝の拡張を認め、1 歳 2 ヶ月頃よりてんかん発作（強直性痙攣）が出現。フェノバルビタール（フェノバル®）3mg/kg 内服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。また、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が、片側のみの難聴傾向であり、治療の効果があつたと考える。現在は、発語が認められるようになり、癲癇発作予防にフェノバルビタール（フェノバル®）は内服継続されており、週 1 回、療育センターでリハビリ中である。

※ 身障者 1 級で申請中

D. 考察

先天性サイトメガロウイルス感染症は、ウイルス感染した胎児のうち 5～10%が小頭症、水頭症、胎児発育不全、肝脾腫、皮下出血（血小板減少）を発症するが、その多くは無症候性であり、生後 2 年以内に精

神発達障害や運動障害、感音声難聴を発症することが分かっている。また、産科的には胎内感染児の約 40%に non-reassuring fetus status pattern を示したという報告 (Kaneko M, et al. Am J Obstet&Gynecol, 191; 1257; 2004) もあることから、分娩時の asphyxia との鑑別が重要と言われている。しかし、サイトメガロウイルスは、極めて広く存在するウイルスであり母乳や同胞との共同生活で抗体保有率は 1 年で飛躍的に上昇する。従って、生後数年たったの発症では、先天性感染の診断は困難であった。特に、無症候性感染児は、出生直後に何らかの症状を示すことがなく新生児聴覚スクリーニングも正常パターンを示すことがほとんどであり診断自体が困難であった。無症候性児の場合、多くが後方視的に診断され、臍帯片よりサイトメガロウイルス DNA を検出する方法が取られているが、診断はつくものの、サイトメガロウイルスによる運動・神経障害、難聴、精神発達障害は、拡大してしまっている状態であることが殆どであった。

そこで、出生児全員にスクリーニングを行なうことで、症候性児だけでなく無症候性児も検出し定期的にフォローアップすることで精神・運動発達障害や難聴の発症を早期に捉えて対処することで、サイトメガロウイルスによる障害を可能な限り小さくすることが可能であることが予想される。

2010 年度の研究結果で示したように 1 年間で 936 例中 3 例 (0.32%) の陽性児を検出した。わが国では、全妊娠の 0.4% 前後に胎内感染がみられると言われているが、今年度は無症候性 3 例のみであった。症候性感染を疑った児は散見されたが、いずれもスクリーニングでは陰性であった。PCR の検出率は、過去のデータ (羊水) では、特

異性 63%、陽性的中率 29% と低く出されており、Sensitivity についての再検討も必要なのかもしれない。また、今年度のデータも新生児室管理の児を対象にしており、新生児集中治療室 (NICU) に収容される児 (サイトメガロウイルス感染のハイリスク群) を対象としていないために数字が低く出ている可能性もあると考えた。NICU に収容された児についてもスクリーニングができるか検討したが、他患児への感染防止策などの確立が困難であり、見送られた。現在、経過観察中の症候性患児は、当初サイトメガロウイルスの可能性を低く見ていた経緯もあり、たとえ症候性であっても、原因不明の運動・精神発達障害の新たな可能性としてサイトメガロウイルスの可能性が示唆された。現段階 (2 年 6 ヶ月のフォローアップ) では、症候性感染児は、2 歳過ぎて表情 (喜ぶと手足を動かす等) も行うようになってきた。VALIXA® 経口投与で難聴は一時軽快したものの、ウイルス量の増加とともに難聴傾向が出現したが、難聴は片側のみで悪化は止まり、治療の効果が出てきた可能性を示唆している。今年検出された無症候性の 3 例とも発育・発達の遅れや聴覚検査では異常を認めていないが今後注意が必要である。

E. 結論

全出生児の採尿によるサイトメガロウイルス スクリーニングでサイトメガロウイルス感染児 (無症候性) を十分検出することができた。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感染率を知ることができ、小児科・耳鼻咽喉科とタイアップすることで、様々な神経学的症状の発症する時期の同定・メカニズムなどを効率的に明らかにしていくことが可能であるこ

と考えられる。

G. 研究発表

(論文発表)

1. 浅野仁覚、藤森敬也「先天性サイトメガロウイルス感染症のスクリーニング」産婦人科治療 Vol.101 no.5 . p555-p562. 2011/11

(学会発表)

1. 浅野仁覚：「本県における先天性サイトメガロウイルス感染スクリーニングについて」第62回日本産科婦人科学会総会 2010年4月25日 東京都 国際フォーラム
2. 今村孝：「進行性難聴を呈した先天性サイトメガロウイルス感染児に対してバルガンシクロビル投与を行なった乳児例」第46回日本周産期・新生児学会 2010年7月11日 兵庫県 神戸国際会議場、神戸国際展示場、神戸ポートピアホテル

H. 知的財産の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業）
分担研究報告書

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

分担課題：妊婦・新生児 CMV スクリーニングならびに先天性 CMV 感染胎児・新生児医療の
成績

研究分担者	山田 秀人	神戸大学大学院医学研究科 教授 (外科系講座 産科婦人科学分野)
研究協力者	峰松 俊夫 森實真由美 谷村 憲司 森岡 一朗 園山 綾子	愛泉会日南病院疾病制御研究所 所長 神戸大学医学研究科 助教 神戸大学医学部附属病院 助教 神戸大学医学部附属病院 助教 神戸大学医学研究科 大学院

【研究要旨】

神戸大学と関連施設において 2765 新生児のろ紙尿 CMV DNA スクリーニングを実施し、10 人に陽性を認めた。先天性 CMV 感染（CCMVI）発生率は 0.36%であった。

神戸大学で CMV 関連の紹介例を除いて 413 妊婦の CMV 抗体（IgG）スクリーニングを実施し、316 人（77%）が抗体陽性者であり、12 人（全体の 2.9%）が IgG avidity \leq 45%であった。7 人（1.7%）は avidity \leq 35%で、うち 2 人が IgM 陽性かつ血液 PCR 陰性、1 人が IgM 陰性かつ血液 PCR 陽性で、残り 4 人は IgM と血液 PCR は陰性であった。したがって、413 妊婦中 3 人（0.7%）で初感染（avidity \leq 35%、IgM 陽性ないし血液 PCR 陽性）が強く示唆された。一方、97 人の抗体陰性者のうち 1 人で妊娠中の IgG 陽転化が認められた。4/413 妊婦（1.0%）で妊娠中の CMV 初感染が起こっていることが判明した。この 4 人中 2 人で先天性 CMV 感染（症候性 1 人、無症候性 1 人）が確認された。

神戸大学で CCMVI の新生児・乳児 13 人に IVIg、GCV ないし VGCV の治療を行った。ABR 異常の回復が 2/6 例。ABR が正常のままが 2/6 例、ABR 異常の悪化なしが 1/6 例であった。治療によって、聴覚異常の改善効果が期待される。

A. 研究目的

母子感染、特に TORCH 症候群の中で、サイトメガロウイルス（CMV）は最も高頻度に胎内感染を起こし、かつ乳幼児に神経学的な後障害を残す疾患として極めて重要である。CMV 抗体陰性の妊婦のうち、妊娠中に 1~4%が初感染を起こし、うち 33~40%が胎児感染にいたる。胎児感染例の 10~15%が症候性に、85~90%が無症候性で出生する。症候性の先天性 CMV 感染（CCMVI）の 90%が、また無症候性 CCMVI では 10~15%が精神遅滞、運動障害、難聴などの障害を後に発症する。症候性の症状としては、頻度順に低出生体重、肝脾腫・肝機能異常、小頭症・水頭症・脳内石灰化、紫斑・血小板減少、貧血・黄疸、網膜症・白内障などがあげられる。

1) 現在まで、有用な妊婦 CMV スクリーニング法は確立されていない。妊婦血清学的 CMV スクリーニングと新生児ろ紙尿 CMV DNA スクリーニングを組み合わせることで、妊婦スクリーニングの有用性を調べた。

2) CCMVI 新生児の治療指針を作成、それに基づいて、前方視的に CCMVI 新生児の医療介入を行い、その有用性を検証した。

B. 研究方法

1) ①神戸大学および関連施設で倫理委員会の承認を受け、同意を取得して、新生児ろ紙尿 CMV DNA スクリーニングを行った。CCMVI の頻度を調べた。

②神戸大学において、同意を得て妊娠 16~18