

2010/8006B

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

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 20～22 年度 総合研究報告書

研究代表者 古 谷 野 伸
(前代表者 藤枝 憲二)

平成 23 年 3 月

目 次

I. 序文	1
II. 研究班構成員名簿	3
III. 総合研究報告書	5

研究代表者
旭川医科大学小児科

古谷野 伸

IV. 分担研究報告書

1. 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で
発見された感染児の臨床像の解析 27
旭川医科大学小児科
古谷野 伸、長森 恒久、藤枝 憲二
2. 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 39
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
3. 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 46
藤田保健衛生大学医学部小児科
吉川 哲史
4. 先天性CMV感染症児の頭部画像所見に関する研究 50
杏林大学医学部小児科
岡 明

東京大学医学部附属病院小児科

五石 圭司

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（まとめ）・・・57

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

浅沼 聡、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感染児の臨床像解析
..... 68

国立成育医療研究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
..... 83

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—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—
..... 88

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

神戸大学医学部附属病院

谷村 憲司、森岡 一郎

神戸大学医学研究科大学院

園山 綾子

10. CMV母子感染予防への産科医ならびに国民への啓蒙に関する研究

・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 97

国立成育医療研究センター周産期診療部

久保 隆彦

旭川医科大学産婦人科

大石由利子

11. 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

・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 103

国立成育医療研究センター耳鼻咽喉科

泰地 秀信

12. マウスを用いたサイトメガロウイルス感染による聴覚障害発症機序の解析
と先天性サイトメガロウイルス感染症例の解析

・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 108

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 仁覚

福島県立医科大学小児科学講座

今村 孝

13. 先天性感染児の臨床像に関する免疫学的要因の検討

・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 118

国立成育医療研究センター研究所母児感染研究部

藤原 成悦

14. 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

・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 124

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

先天性CMV感染児治療プロトコール	133
(小児感染免疫 Vol. 22, No. 4, 385-389, 2010)	

VI. 会議記録

1. 平成20年度第一回研究報告会プログラム	139
2. 平成20年度第二回研究報告会プログラム	141
3. 平成21年度第一回研究報告会プログラム	144
4. 平成21年度第二回研究報告会プログラム	147
5. 平成22年度第一回研究報告会プログラム	160

VII. ヒアリング配付資料

1. スクリーニング陽性者一覧	173
2. 頭部画像評価シート	175
3. 妊婦への啓発パンフレット	176
4. 朝日新聞記事 (2010年11月2日)	178

VIII. 研究成果の刊行に関する一覧表	179
--------------------------------	-----

I. 序 文

I. 序 文

厚生労働省科学研究費補助金による成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業「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作成」研究班は、旭川医科大学小児科藤枝憲二教授を研究代表者として平成 20 年度に結成されました。今年度で本研究班も 3 年目を向かえ、研究成果をまとめる時期となりました。研究半ばで藤枝教授が逝去されるという大きな不幸に直面しましたが、多くの皆様方のご努力により研究は継続され、様々な知見を得ることができました。

まずスクリーニング数は合計で 23,757 名に達しました。3 年間でこれだけの数をスクリーニングした例は世界的にもほとんどなく、我々が行った濾紙尿を用いたシステムが多くの新生児を対象とするスクリーニングを行うにあたり認容性が高いことが証明されました。25,757 名の新生児のうち先天性 CMV 感染児は 73 名でした。陽性率は 0.31% で、日本は世界的と比較して感染率が低い地域であることが判明しています。しかし感染児の中で何らかの異常が発見される児は 30%程度にのぼり、今までの報告より高率でした。これは全出生児の 1000 人にひとりに何らかの健康被害が生じる計算となり、母子保健上大きな問題であることが示されました。感染児は現在も関連施設で経過観察が続けられており、本感染症の全貌を明らかにする努力を続けております。

感染のリスク因子として、年長同胞が排泄するウイルスと感染児のウイルスが同一株である事例が多い事を明らかにし、年長同胞の存在が先天感染のリスクであることを証明しました。日本では、年長同胞が排泄するウイルスで妊娠中の母が感染し先天感染が成立するという感染ルートの遮断が必要であることが明らかとなり、CMV 未感染妊婦への啓発活動用パンフレットなどの作成も行われております。

さらに症候性感染児に対しての治療プロトコールを作成しております。これを応用し先天感染児への治療が行われました。治療効果は我々の予想以上に良好で、難聴に対しては 18 人中 8 人に聴力の改善を認めております。幸い治療を中止しなければならないような重篤な副作用は発生しませんでした。今後は長期的な効果の検証を行いながら、治療例を積み重ねる必要があると考えています。

3 年間の研究期間が終了し多くの新しい知見を得ることができましたが、先天性 CMV 感染対策を系統立てて行っていくには、まだ十分な準備ができているとは言い難い状況です。出生児無症候性児の後発障害を予測する因子の解明、さらに長期的にも効果が持続し安全性の高い治療法の開発、妊婦の CMV 抗体価測定と関連づけた効率的な新生児スクリーニングの検討など、次の研究班につなぐべき課題が残っています。本研究班で形

成された感染児 73 名のコホートを維持しながら、さらに研究を続けていく機会が得られることを願っています。

最後になりましたが、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 23 年 3 月

研究代表者 古谷野 伸

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	古谷野 伸	旭川医科大学小児科	講 師
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	教 授
	山田 秀人	神戸大学大学院医学研究科産婦人科学分野	教 授
	伊藤 裕司	国立成育医療研究センター周産期診療部新生児科	医 長
	久保 隆彦	国立成育医療研究センター周産期診療部産科	医 長
	泰地 秀信	国立成育医療研究センター耳鼻咽喉科	医 長
	藤原 成悦	国立成育医療研究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
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. 総合研究報告書

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 古谷野 伸 旭川医科大学小児科 講師
前代表者 藤枝 憲二（故人）

【研究要旨】

厚生労働省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「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」班は平成20年度に発足した。本研究班では、(1) 2万人程度の新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。(2) 同定された感染児のコホートを形成し経過観察することで、後遺症を含めた臨床像を明らかにする。(3) 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、頭部画像評価シートに基づく画像解析、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。(4) 2008年に作成したバルガンシクロビル使用を中心とした先天性CMV感染治療プロトコールに基づき必要に応じて抗ウイルス薬による治療を行い、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標として研究を行った。新生児スクリーニングは各研究分担者・協力者の努力により順調に進み、計23,757名の新生児に対して行うことが出来た。これは当初の目標を超えている。ここから得られた知見は以下の通りである。

1. 感染頻度とその臨床像

- 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、23,757人の新生児をスクリーニングした。先天感染児を73名同定し、その頻度は約300人にひとり(0.31%)であった。
- 2) 典型的な症候性児と頭部画像異常が認められた児を合計すると、1000人にひとりが先天性CMV感染により影響を受けており、ダウン症と同頻度の深刻な問題であることが示された。
- 3) 典型的な症候性児の臨床像は難聴、発達障害、脳形成異常、網脈絡膜炎、肝障害、血小板減少、紫斑などであり、従来の報告と大きな差はなかった。明らかな遅発障害は遅発性難聴患児が1名確認された。
- 4) 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った。またガスリー濾紙血を用いた検査は濾紙尿より感度が低かった。
- 5) 本研究班で得られた73名の感染児コホートを今後も維持し、長期的な臨床経過を追跡していく必要がある。

2. 感染ルートと後遺症発生のリスク因子

- 1) 先天感染のルートとして年長同胞から妊婦への感染がウイルス学的に証明され、年長同胞の存在が感染リスクであることが明らかとなった。
- 2) 症候性児のウイルス量は無症候性児のそれに比べ有意に多かった。血液中のウイルス量は遅発障害の発症に関連している可能性が示唆された。

- 3) 臨床的に無症候であっても頭部画像所見上に異常が発見される感染児の存在が明らかとなった。
 - 4) マウスCMV聴覚障害モデルの作成に成功した。今後、難聴発生の病態解明に有用な情報が得られる事が期待される。
- 3. 症候性児への治療と社会への啓発活動**
- 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、必要に応じて本研究班が作成したプロトコールでの治療を行い、その効果を確認した。
 - 2) CMV未感染妊婦に対する啓発活動の必要性が明らかとなり、パンフレットの作成や産科診療ガイドラインへの記載を働きかけた。

研究分担者

浅野仁覚 福島県立医科大学 産婦人科 助教

伊藤裕司 国立成育医療研究センター新生児科 医長

井上直樹 国立感染症研究所 ウイルス1部 室長

大石 勉 埼玉小児医療センター 保健発達部 部長

岡 明 杏林大学小児科 教授

久保隆彦 成育医療研究センター産婦人科 医長

錫谷達夫 福島県立医科大学 微生物学講座 教授

泰地秀信 国立成育医療研究センター 耳鼻咽喉科 医長

藤原成悦 国立成育医療研究センター 研究所 母児感染研究部 部長

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

山田秀人 神戸大学大学院 医学研究科 産婦人科学分野 教授

吉川哲史 藤田保健衛生大学 医学部 小児科 教授

A. 研究目的

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。諸外国の報告をまとめると、地域によって差はあるものの、おおむね全出生児の100～500人に1人が胎内でCMVの感染を受け、その約1割が出生時に症状を伴う症候性児と推定され、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、発達障害を予測し、きめ細かい経過観察を行うことで、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。

諸外国でも先天性CMV感染症対策の必

要性が検討されている。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)にその必要性が記載されている。また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、2008年度から3ヵ年計画で、(1)2万人程度の新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。(2)同定された感染児のコホートを形成し経過観察することで、後遺症を含めた臨床像を明らかにする。(3)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、頭部画像評価シートに基づく画像解析、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。(4)2008年に作成したバルガンシクロビル使用を中心とした先天性CMV感染治療プロトコールに基づき必要に応じて抗ウイルス薬による治療を行い、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標として研究を行った。

B. 研究方法

1) スクリーニングと臨床検体 (図1)

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 2008 年度に研究班で策定した頭部画像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- γ 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（国立成育医療研究センター藤原）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。

7) 先天性 CMV 感染児への治療

2008 年度に本研究班で作成した先天性 CMV 感染治療プロトコール（小児感染免疫 Vol.22, No.4 P385-389）に基づき感染児への治療を行った。

8) マウス聴覚障害モデルの作成

Balb/c マウスに Smith 株を脳内あるいは腹腔内接種し感染モデルを作成した。感染マウスの聴覚検査を実施した（福島医大錫谷）。

(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。またプロトコルを用いた治療に関しては、確立された治療法ではなく、治療効果および副作用に関して未知の部分があることを説明し、同意を得て治療を行った。動物実験は文部科学省の指針を基盤とした動物実験指針を遵守し行った。

C. 研究結果

1. スクリーニングの結果

1) スクリーニング実施状況

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)・国立成育医療研究センター(伊藤)・福島医大(浅野)・旭川医大(古谷野)を中心に6地区、計25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17,565検体を含め今年度2月末日までに総計23,757検体をスクリーニングし、陽性が確認された検体数は、73症例であった。従って、先天性CMV感染の頻度は0.31%、即ち300人にひとりであった。本年度分に限ると、2月18日までの11ヶ月弱で6,192検体を検査し17検体がCMV陽性であった。各施設での検体収集状況は、各研究分担者の報告を参照。

2) 同定した先天性感染児の臨床像および検査結果

表1にスクリーニングで1月21日までに先天性感染が確定した患児(71名)の全

情報を整理した。情報を整理し以下に記載する。

① 71名中、典型的な症候性児は17名でその比率は23.9%であった。これは全出生児のうち、先天性CMV感染で何らかの症状が出ている感染児が年間800人弱出生している計算となる。新生児期に死亡した例が1例、また明らかに神経学的後遺症を残している児が12名いた。また岡班員らを中心に作成した頭部画像評価シートを用いて感染児の頭部画像所見を検討したところ、臨床的には全く症状のない出生児無症候性児の6名に異常が発見された。特に頭部超音波検査が有用で、高率に上衣下偽性嚢胞が認められた(杏林大岡)。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ある。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。

典型的な症候性児と画像所見のみの児を合計すると、23名に何らかの異常が発見されたことになり、これは全感染児の32.4%にあたる。言い換えると全出生の1000人にひとりが先天性CMV感染により何らかの症候を持つことになる。

② 昨年よりCMVに対するIgM検査の感度が低いことを報告していたが、最終的に先天性CNV感染児のIgM陽性率は46.9%ととなり、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明確となった。

③ 感染児と非感染児の様々なパラメーターを比較したところ、母の年齢や妊娠週数、出生体重には有意な差は認められなかったが、低出生体重児およびSGA (small for gestation age) 児が有意に多かった。また特筆すべき点として感染児に上の兄弟がいる確立は62.0%であり、これは非感染児の48.8%と比較し有意に比率が高かった。また血中ウイルス量は症候性児が無症候性児に比べ有意に多かった(国立感染研井上)。

④ 感染児12名のガスリー濾紙血を入手しCMV DNAの検出を試みたところ、3

名の感染児の検体が感度以下となり、その感度は75%であった（国立感染研井上、旭川医大古谷野）。

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）・成育医療研究センター（伊藤）・藤田保健衛生大（吉川）・神戸大（山田）・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。その中で長崎大（森内）では、1ヶ月児の血中ウイルス量と症候との関連を、また旭川医大（古谷野）は6ヶ月以降の血漿中ウイルス量と後発性障害との関連を検討している。他の感染児でのさらなる検討が待たれる。

また旭川医大（古谷野）で比較的長く経過観察をされている2歳以上の感染児に対して新版K式発達検査を行ったところ、姿勢・運動の数値が有意に認知・適応、言語・社会の値に比べ高いことが明らかとなった。これは項目別の発達指数(DQ)値がアンバランスなことを示しており、このアンバランスさは発達障害の危険因子と考えられる。

4) 難聴および発達障害児の後方視的先天性CMV感染診断

旭川医大（古谷野）および長崎大（森内）で原因不明の難聴および発達障害児の臍帯あるいはガスリー濾紙血を用いて先天性CMV感染の関与を調べた。旭川医大の結果では発達障害児20名中5名に、また長崎大では広汎性発達障害児29名に2名、難聴児26名中3名にCMVが検出された。

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、長崎大（森内）・旭川医大（古谷野）など小児科の班員を中心にまとめた先天性CMV感染治療プロトコールに基づき、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、それらをまとめると、福島医大・国立成育医療研究センター・東大・埼玉小児医療センター・長崎大やその関連施設で、スクリーニングで発見された感染児以外にも含めて24例に対して治療が行われた。

その効果は血小板減少 (9名)、肝障害 (5名)、網脈絡膜炎 (3名) などの急性期の症状は、全員が治癒した。さらに難聴児18名のうち治療によって8名の聴力が改善した。ウイルス学的には24名中21名のウイルス量が減少または消失した。治療を中止しなければならないような副作用はなかったが、血球減少や肝逸脱酵素値の上昇は、それぞれ10名、3名に認められた。

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26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解析した。28組中24組でCMV株が同一であることが判明し、集団保育などで自然感染した同胞（年長児）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た。（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- γ 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13例および後天性CMV感染（自然感染）児4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、後天感染児も先天感染児と同様に成人に比べてCMV特異的免疫応答は低いレベルにあり、先天感染児の免疫応答が特に弱いという結果は得られなかった。（国立成育医療研究センター藤原）
- 3) 先天性 CMV 感染児の、正確な画像診断と神経発達の評価を行うため岡班員らを中心に作成した頭部画像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。そのなかで、臨床的には無症候性であるにもかかわらず頭部画像所見に異常を認める児がいることが明らかとなり、今後長期的にその画像所見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。（杏林大岡）
- 4) 福島医大（錫谷）では先天性 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を確立した。この方法とavidity assayを用いて感染児の母親が、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たところ、初感染または再活性化は87.5%、異なるCMV株の再感染は12.5%であった。
- 5) 妊婦の血清学的検討では413名の妊婦のうち、4名(1.0%)で妊娠中に初感染が判明し、そのうち2名（症候性1名、無症候性1名）で先天性CMV感染が確認された（神戸大山田）。本研究班では、妊婦の血清学的検討が進んでおらず、今後の検討課題である。

- 6) 感染マウスの聴力検査を行ったところ脳内接種マウスは6週間で全例両側性の高度難聴となった（福島医大錫谷）。

D. 考察

2008年に本研究班が発足し3年が経過した。新生児スクリーニング総数は23,757人（内2000人は昨年度本研究班成立以前の分）となり、当初の目標であった2万人のスクリーニングを完了することが出来た。感染児のコホートは73名となった。現在もこれらの感染児は外来での経過観察が続けられており、今後もさらなるデータが得られてくるもの期待される。

このように、3年という短期間に2万人を越えて新生児CMVスクリーニングを実施した報告は、世界的に見てもほとんどなく本研究班の成果は画期的といえる。

3年間に行った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人にひとり程度が出生時に何らかの症状を示すことが明らかとなった。また出生時に臨床症状として無症候性であっても、MRIや超音波検査などの画像解析において異常所見が見いだされており（各分担者の報告書参照）、詳しい検索を行うと感染児の3人にひとり程度が何らかの異常を有することが明らかになった。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CMV感染に伴う障害が発生している事になる。明らかとなった本感染症の頻度と医学的なインパクトを総合するとa) 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は明らかである。

3年間のスクリーニングにより73人の感染児コホートが形成された。これらの感染児の解析で、血液中、特に血漿中のウイルスは生後6ヶ月で速やかに感度以下になるが、尿中ウイルスは生後3年を経過しても排出し続ける事が明らかとなっている。尿中ウイルス量は血中の100

倍から 1000 倍存在し、スクリーニング感度の観点からは尿を用いるべきである。実際に保存されていた感染児の先天代謝異常スクリーニング用の濾紙血を用いて CMV DNA 検出を試みたところ、その感度は 75%であった。濾紙血は先天代謝異常スクリーニングを行っている現在の体制を利用できるため、その社会的利便性は極めて大きい。感度が劣り先天感染児を見逃してしまうのでは本末転倒である。現時点で我々は、やはり濾紙尿を直接 PCR の検体とする我々のスクリーニング法が、簡便かつ感度の点でも有利であると考えている。

今後の感染児の経過観察であるが、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継続的に維持していく必要がある。実際に 3 歳から多動傾向が明らかとなった感染児の報告（旭川医大古谷野）や遅発性難聴の報告（福島医大浅沼、旭川医大古谷野）もあり、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。

感染のリスク因子については、感染児に上の兄弟がいる確立が有意に非感染児より高い事が判明し、かつ感染児と同胞兄弟間で感染しているウイルス株が 28 例中 24 例で同一であることは、上の兄弟から妊娠中の母に CMV が感染し、それが先天感染につながるルートとであることを示している。現在の日本では家族内感染が CMV の主要な感染ルートである。現在妊婦の CMV 抗体保有率は 75%から 65%で年々低下傾向であった（国立成育医療研究センター久保、神戸大山田）。CMV 抗体陰性妊婦の増加と CMV 特異的 IgM の検討からも、少なくとも半数以上は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ある。これにより先天感染率を抑え、スクリーニング受検率を向上させることになると思われる。本研究班では CMV 抗体陰性妊婦用の感染予防啓発パンフレットの作成や（神戸大山田）、日本産科婦人科学会産科診療ガイドライン 2011 年改訂評価委員会と作成委員会に働きかけ、抗体陰性妊婦への注意喚起を記載する働きかけを行った（国立成育医療研究センター久保）。

症候性児の抗ウイルス薬による治療に関しては、本研究班で長崎大森内を中心に作成した先天性 CMV 感染治療プロトコルを利用して、スクリーニング以外で見つかった児も合わせて 24 名に行われた。肝障害や血小板減少などの急性症状に対する効果は 100%であり非常に有効であった。さらに特筆すべきは難聴患児 18 名の内、難聴の改善を認めた児が 8 名おり、その有効率は 44%であった。難聴はすでに不可逆的な障害を受けている可能性もあるが、先天性 CMV 感染による難聴は時に進行性であり、出生後の抗ウイルス剤治療で改善する事実は、難聴患者にとって大きな福音である。この効果が長期的に続くか否かをさらに今後検討していく必要がある。副作用に関しては、治療を中止しなければならないような重篤なものは発生しなかった。内服薬による治療を中心にしたプロトコルなので、その認容性も高いと考えている。

今回の研究で、現時点での日本におけ

る先天性 CMV 感染の実態の一部を明らかにすることが出来た。しかしまだ感染児を出生した母親の血清学データが乏しく、かつ長期的な感染児の経過観察を積み上げる必要がある。さらに先天性 CMV 感染が大きな母子保健上の問題であるという認識の元に、その全貌を明らかにして系統だった対策を立てる努力が必要である。

E. 結論

- 1) 先天性 CMV 感染は約 300 人にひとりと高率に発生している。
- 2) 典型的な症候性児と頭部画像所見のみに異常を認める児を合計すると、先天性 CMV 感染によって 1000 人にひとりに何らかの症候が発見される。
- 3) IgM 検査は先天性 CMV 感染児の同定には不十分である。
- 4) 濾紙血の先天性 CMV 感染同定の感度は 75% で濾紙尿よりも低い。
- 5) 先天感染のルートとして年長同胞から妊婦への伝播が高率に認められ、この遮断が感染率を下げる可能性がある。
- 6) 症候性感染児に治療を行い、難聴などの症状に有効であった。
- 7) 後発障害の予測因子は、まだ明らかではない。頭部画像所見や血漿中のウイルス量などさらに検討していく必要がある。
- 8) マウス CMV 聴覚障害モデルの作成に成功した。今後、難聴発生の病態解明に有用な情報が得られることが期待される。

F. 研究発表

2008 年から 2010 年の 3 年間で論文発表 76 本 (英文 25 本、邦文 51 本) 及び口頭発表 100 件 (国際学会 18 件、国内学会 82 件) が行われた。

1. 論文発表

(2010)

- 1) Nagamori T, Koyano S, Inoue N, Yamada H, Oshima M, Minematsu T, Fujieda K. Single cytomegalovirus strain associated with fetal loss and then congenital infection of a subsequent child born to the same mother. *J Clin Virol* 49: 134-136, 2010.
- 2) 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.* 157: 331-333, 2010.
- 3) Inoue N. Chapter 84 Human herpesvirus 5 (Cytomegalovirus), *In Molecular Detection of human viral pathogens.* pp.949-962 In:(Ed) D. Liu, Taylor & Francis CRC Press, 2011.
- 4) Imamura T, Suzutani T, 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. International* *In press*
- 5) Kashiwagi Y, Nakajima J, Ishida Y, Nishimata S, Kawashima H, Miyajima T, Takekuma K, Hoshika A, Inoue N. Prolonged valganciclovir therapy for congenital cytomegalovirus infection. *J. Infect. Chemo. In press.*
- 6) Ishibashi K, Tokumoto T, Shirakawa H, Hashimoto K, Ikuta K, Kushida N, Yanagida T, Shishido K, Aikawa K, Toma H, Inoue N, Yamaguchi O, Tanabe K, Suzutani T. The lack of antibodies against the AD2 epitope of cytomegalovirus (CMV) glycoprotein B (gB) is associated with CMV disease after renal transplantation in recipients having gH serotypes same as their donors.