

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

G. 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	多動傾向
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	遅発性難聴?
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

表2 新版 K 式発達検査成績

ID	年齢	姿勢・運動	認知・適応	言語・社会	全体
12034	2y3m	136	82	64	82
	3y0m	103	103	94	100
	4y0m		102	96	100
12308	1y11m	117	97	102	101
	3y0m	102	108	111	108
12542	2y0m	116	96	88	95
	3y0m	102	113	97	105
12571	2y0m	100	92	87	92
	2y11m	78	84	81	84
16503	2y0m	154	104	88	100
17486	2y0m	100	95	87	93
	平均	110.8	97.8	90.5	96.4

表3 濾紙血の感度

ID	CMV DNA コピー数	
	濾紙血	濾紙尿
13518	<5	200
18033	<5	7,010
16987	<5	50,700
12571	44	7,580
12542	52	4,700
19389	52	5,320
12999	68	960
19382	100	44,900
12034	108	5,600
17486	600	4,670
18189	882	1,030
16503	1,080	1,460

表4 CMV 62.7mRNA 測定値

Pt No.	日齢	CMV 62.7mRNA
10	17	陰性
12	17	陰性
13	8	陰性
14	15	陰性
15	18	陰性
18	15	陰性

図1 尿中 CMV DNA 量の経時的変化

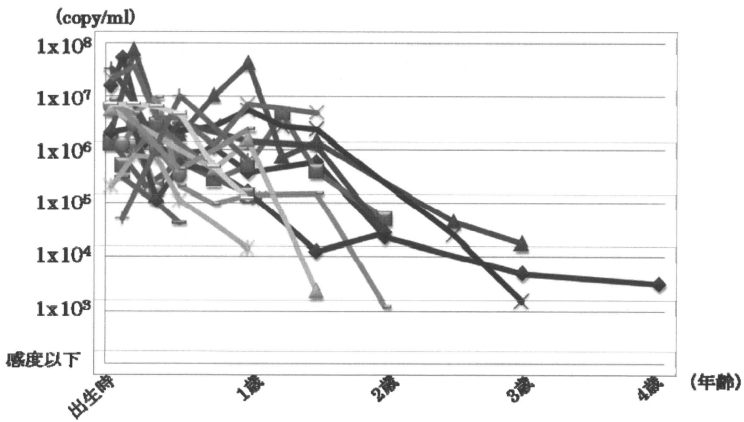
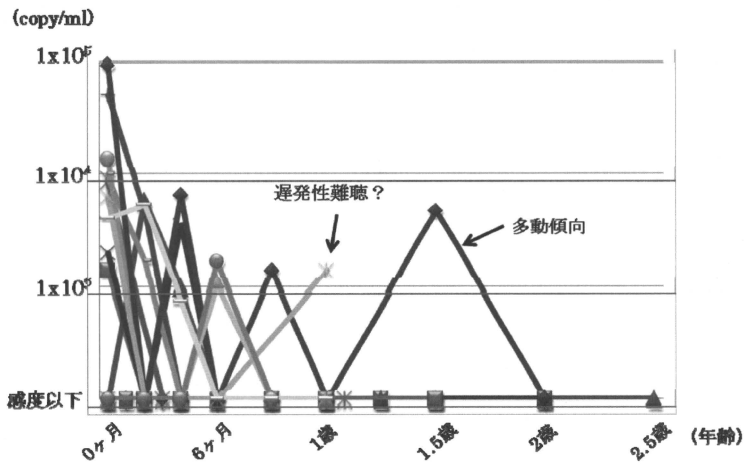


図2 血漿中 CMV DNA 量の経時的変化



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キリ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 3,230 例のうち 10 例（0.31%）に先天性 CMV 感染が証明された。このうち出生時から明らかに症候性であったものが 2 例、眼底検査で病変が検出されたものが 1 例、追跡期間（10～26 ヶ月）中に West 症候群を発症したものが 1 例であった。

また長崎県下の両側性高度感音性難聴児および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確かめるために、保存臍帯または先天代謝異常マスキリング濾紙血からの CMV DNA 検出を行ったところ、それぞれ 26 例中 3 例（12%）と 29 例中 2 例（7%）に先天性 CMV 感染が診断された。

このように前方視的マスキリングと後方視的調査を行うことによって、長崎県内には先天性 CMV 感染のために様々な障害を受けた児が少なくないことが明らかになってきた。

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キリ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（マスキリング）

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：

対象 I：長崎県立豊学校 (聴力障害のために特殊教育を必要とする生徒を収容する県内唯一の教育施設であり、聴力障害以外の知的または身体的障害がある場合には受入れていない) に在学中または卒業した児。家庭に臍帯を保存しており、かつ文書での同意が得られた場合に、臍帯の一部を提供していた。

対象 II：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。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)

前方視的マスキ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 (マスキング)

①先天性 CMV 感染の頻度：

2008 年 10 月 14 日以降 2010 年 5 月 31 日の時点までで合計 3,230 検体の検査が行われ、うち 10 例 (0.31%) が陽性であった。

②先天性 CMV 感染児の臨床像 (別表 1)：

現時点までの追跡期間は 10~26 ヶ月に及ぶ。10 例中で、出生時から症候性であったものが 2 例 (症例 2 および 10)、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。

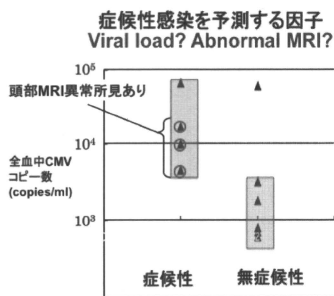
その他、低出生体重が 2 例 (症例 2 および 10)、眼底異常 (白斑病変) を認めたものが 1 例 (症例 8)、血液検査異常を示したものが 4 例 (症例 1 で一過性好中球減少、症例 2 で血小板減少、症例 4 と 5 で肝機能異常)、頭部 MRI で異常所見を呈したものが 3 例 (症例 2, 3 および 8) 認められており、現時点までで症候的または検査上全く異常を認めていないのは、3 例 (症例 6, 7 および 9) のみである。

CMV-IgM 陽性例は 4 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 か月頃の CMV load を見ると、症候性の 3 例 (症例 2, 3 および 10) で他の症例より高かった。眼底病変と頭部 MRI 異常

所見を認めた症例 8 も広義には症候性と言っているかも知れないが、上記の 3 症例に次ぐレベルにあった。症例 4 のように軽度の肝機能異常以外には問題なかった例でも高いレベルのことがあるため絶対的な指標ではないが、重症度とある程度相関すると思われる (図 1)。

図 1. 出生時からまたはその後の経過で症候性と判定された 4 例 (症例 2, 3, 6, 10) と無症候性の 6 例について、生後 1 か月頃の全血中 CMV DNA コピー数を比較した。



[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ピ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 カ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および眼科の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 カ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。

[症例 10] 2010 年 4 月 20 日生まれの女児。妊娠第 1 三半期に発熱を認め、精査の結果 CMV 初感染とわかった。39 週 4 日に経膈自然分娩で出生。Apgar score 8/9。身長 46.0 cm、体重 2496 g、頭囲 30.0 cm であり、子宮内胎児発育遅滞と判定。出生後理学的には明らかな異常を認めなかったが、右側の難聴 (ABR で 105 dB まで無反応) を認めた。頭部 MRI では明らかな異常を認めなかった。好中球減少 (500/ μ l 前後) のためにバルガンシクロピルの投与は躊躇されたが、ご両親との話し合いの上で生後 5 か月の時点でバルガンシクロピ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が、好中球数の低下を認めたために治療は断続的に 5 週間投与したところで中止した。投与中止後もリバウンドは認めていない。生後 10 か月の時点で精神運動発達は正常で、条件詮索反応検査による聴力評価では 20 dB で反応良好であった。

2) 後方視的調査（臍帯・濾紙血検査）

①感音性難聴児における先天性CMV感染のインパクト：

PCR検査に供することができた26例のうち、3例（12%）でCMV DNAが臍帯から検出され、先天性CMV感染が確定した。

3名とも今回の調査の結果が出るまでは先天性CMV感染が疑われたことはなかった。出生時に特に医学的に注意を払われることはなかったが、3例中2例は子宮内発育遅滞（IUGR）が認められており、1例では母親が妊娠中に無菌性髄膜炎に罹患している。3例とも難聴の家族歴はない。3例中2例では聴力の左右差が著しく、1例は発症に気付かれたのが10歳と非常に遅く、2例では診断がついた後もさらに聴力障害が進行した。これらの特徴はCMVの関与がなかった23例とは対照的であった（表2）。

表2. CMV関連 vs 非関連感音性難聴の比較

	CMV (N)	陽性	陰性	p 値
		(3)	(23)	
		n (%)	n (%)	
難聴の家族歴	0 (0)	9 (39)	0.261	
IUGR	2 (67)	2 (9)	0.052	
妊娠中のウイルス性疾患	1 (33)	0 (0)	0.115	
聴力の左右差 (20 dB 以上)	2 (67)	1 (4)	0.0269	
遅発性 (3歳半以降) 発症	1 (33)	0 (0)	0.115	
進行性 (10 dB 以上の増悪)	2 (67)	0 (0)	0.0092	

②広汎性発達障害児における先天性CMV感染のインパクト：

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

1) 前方視的調査（マスキング）

今回の前方視的調査（マスキング）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0.3%程度と考えられ、先進国の中では低い方にランクされる。しかし今後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。

これまでの報告では、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10例では、出生時から明らかに症候性であったものが2例、現時点までの追跡調査で遅発性に発症したものが1例であった。しかし、眼底検査や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。

また症候性の症例や遅発性に発症した症例では、生後1か月頃の血中のCMV loadが高い傾向にあった。頭部MRI所見と併せ、先天性感染児の予後を予測する上で有用なデータかも知れない。

2) 後方視的調査（臍帯・濾紙血検査）

①感音性難聴児における先天性CMV感染のインパクト：

出生時に無症候性であった先天性CMV感染児の約1割程度に遅発性に現れるとされ

る徴候のうち、最も重要なものの一つは感音性難聴である。欧米では両側高度感音性難聴の20%以上は先天性CMV感染によるものと考えられているが、本邦においては最近Ogawaら(J Infect Dis 2007;195:782)が難聴児(その多くは精神発達遅滞やてんかんなどの障害を合併している)の後方視的調査を私達と同様の手法で行い、15%に先天性CMV感染を証明している。今回私達は難聴のみで他の障害はない小児を対象としたが、ほぼ同様の結果(12%)を得たことから、この辺りの頻度が本邦の実態であるのかも知れない。

先天性CMV感染に伴った難聴の特徴として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は、今回私達が後方視的に診断した症例でも多く認められており、診断の手がかりになるものと思われる。

②広汎性発達障害児における先天性CMV感染のインパクト：

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キリーニングで見出された先天性感染の頻度(0.31%)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ると思われるが、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(マスキリーニング)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。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ikeda S, Tsuru A, Moriuchi M, Moriuchi H
Retrospective diagnosis of congenital cytomegalovirus infection using umbilical cord. *Pediatr Neurol.* 34:415-6, 2006.
- 2) 田川正人, 森内浩幸. 先天性CMV感染症の疫学. *日本臨床* 64:増刊号3:455-9, 2006.
- 3) 田川正人, 森内昌子, 森内浩幸, 田中英雄, 高橋晴雄. ガスリー濾紙血や乾燥臍帯などを用いた先天性サイトメガロウイルス感染症の後方視的診断. *日本周産期・新生児医学会雑誌* 42:789-91, 2006.
- 4) Takahashi R, Tagawa M, Sanjo M, Chiba H, Ito T, Yamada M, Nakae S, Suzuki A, Nishimura H, Naganuma M, Tominaga N, Moriuchi M, Moriuchi H. Severe Postnatal Cytomegalovirus Infection in a Very Premature Infant. *Neonatology.* 92:236-9, 2007.
- 5) 森内昌子, 森内浩幸. 母子感染するウイルスの概説. *周産期医学* 37:1493-8, 2007.
- 6) 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.
- 7) 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.
- 8) 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.
- 9) Tagawa M, Minematsu T, Masuzaki H, Ishimaru T, Moriuchi H. Seroepidemiological survey of cytomegalovirus infection among pregnant

- women in Nagasaki, Japan. *Pediatr Int* 52:459-62, 2010.
- 10) 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.
 - 11) 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.
 - 12) 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.
 - 13) Kawatani M, Nakai A, Okuno T, Kobata R, Moriuchi M, Moriuchi H, Tsukahara H, Mayumi M. Detection of cytomegalovirus in preserved umbilical cord from a boy with autistic disorder. *Pediatr Int* 52:304-7, 2010.
 - 14) 森内昌子, 森内浩幸. 話題の感染症: 母子感染するウイルス~共生か矯正か. *モダンメディア* 56:153-8, 2010.
 - 15) 森内昌子. 新時代のワクチン戦略について考える~ヘルペス・サイトメガロウイルス. *臨床検査* 54 増刊号別冊:1400-6, 2010.
 - 16) 森内浩幸. 疫病神は松明 (TORCH) を掲げて妊婦を訪れる~ネコから、パートナーから、または子どもから母親へ、そして母親から胎児へ. *小児科臨床* 63:2381-7, 2010.
 - 17) 森内浩幸, 土居美智子, 森内昌子. CMVの胎内感染 HERPES MANAGEMENT 14:7, 2010.
2. 学会発表
 - 1) Tagawa M, Moriuchi M, Takahashi H, Moriuchi H. Retrospective diagnosis of congenital cytomegalovirus infection in patients with sensorineural hearing loss using the perilymphatic fluid. Conference on Congenital CMV Infection. Orvieto, Italy. November 5-7, 2006.
 - 2) Moriuchi M, Tagawa M, Tanaka H, Moriuchi H. Retrospective diagnosis of congenital cytomegalovirus infection using preserved umbilical cords. Conference on Congenital CMV Infection. Orvieto, Italy. November 5-7, 2006.
 - 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. 2nd Congenital Cytomegalovirus Conference. Atlanta, GA, USA. November 5-7, 2008.
 - 4) Moriuchi M, Moriuchi H, Tagawa M, Tanaka H. Retrospective surveillance of congenital cytomegalovirus diseases at School for the Deaf by using umbilical cords. 2nd Congenital Cytomegalovirus Conference. Atlanta, GA, USA. November 5-7, 2008.
 - 5) 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.
 - 6) 本村秀樹, 長沼成子, 森内浩幸. ベトナムに

- 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.
- 7) 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.
- 8) 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. パ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.
- 9) 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.
- 10) Miyakawa M et al. The Incidence and Prognosis of Congenital Cytomegalovirus infection in Japan and Vietnam. Asian Society for Pediatric Research 6th Congress. Taipei, Taiwan. April 16-17, 2010.
- 11) Moriuchi H et al. A multi-center study on the treatment of congenital CMV in Japan. 3rd Congenital CMV Workshop. Paris, France. September 23-25, 2010.
- 12) Moriuchi M et al. A Retrospective Diagnosis of Congenital CMV Infection in Japan Children with Pervasive Developmental Disorders Using Dried Umbilical Cord. 3rd Congenital CMV Workshop. Paris, France. September 23-25, 2010.
- 13) 森内昌子、他. 先天性サイトメガロウイルス感染の実態調査：ベトナム出生コホートにおける検討. 第58回日本ウイルス学会. 2010年11月7-9日. 徳島.
- 14) 宮川雅美、他. サイトメガロウイルスとTTウイルスの先天性感染：ベトナムの出生コホートでの実態調査と日越の比較研究. 第84回日本感染症学会. 2010年4月5-6日. 京都.

G. 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月から平成22年7月の間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、平成20年度は出生389例中陽性例は1例、平成21年度は出生678例中陽性例は5例、本年度は出生303例中陽性例は認めなかった。よってスクリーニング開始より計1370例中陽性例は6例（0.44%）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。スクリーニング陽性児の平均胎週数は38週1日、平均出生体重は2490g。1例で軽症の血小板減少・紫斑を認めたが、その他は染色体異常の1例を除き全例無症候性であり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。また、ウイルス増殖量や重症度、予後予測因子のなどを検討するため陽性児の初回採血時の血清パイオマーカの測定も試みた。その結果、各種サイトカイン・ケモカインの測定は可能であり、今後は症候性重症児との比較が必要であると考えられた。

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」となるだけとの批判もあるが、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因の同定の重要性、将来の有効な治療法確立の可能性を考慮すると、先天性 CMV 感染スクリーニング体制を構築することは重要である。

B. 研究方法

対象は藤田保健衛生大学病院およびその関連施設において平成 20 年 10 月から平成 22 年 7 月の間に出生した全新生児で、両親の同意のもとに紙おむつ中の特殊濾紙にて新生児の尿を採取した。採取後、国立感染症研究所へ被検濾紙を送付し、濾紙片から直接リアルタイム PCR 法により CMV DNA 検出。陽性となったものには、濾紙片から DNA を抽出し陽性結果を確認した。得られた検査結果はリアルタイムに当施設へフィードバックされ、1 ヶ月検診時に主治医から検査結果が両親に報告した。

陽性児については、直ちに尿、血液、保存臍帯などからの当施設でリアルタイム PCR 法による CMV DNA 量の測定、抗体測定等ウイルス学的解析を実施するとともに、身体所見、発達評価、神経放射線学的検査、ABR による聴力検査を実施。さらに、母親の抗体測定（初感染と再感染の鑑別）や、感染経路の把握のため同胞についても種々のウイルス学的検査を実施。また初回採血時の血清を用い、各種サイトカイン（IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-12、IFN- γ 、TNF- α ）・ケモカイン（IL-8、IP-10、MCP-1、MIG、RANTES）値も測定した。

C. 研究結果

各施設を合計すると、平成 20 年度は出生 389 例中陽性例は 1 例、平成 21 年度は出生 678 例中陽性例は 5 例、本年度は出生 303 例中陽性例は認めなかった。よってスクリーニング開始から現在まで計 1370 例中陽性例は 6 例（0.44%）だった。平均在胎週数は 38 週 1、平均出生体重は 2490g。1 例で軽症の血小板減少・紫斑を認めたが、その他は染色体異常の 1 例を除き全例無症候性でありその後の発達にも問題はない。頭部 CT は施行した 5 例全例で異常なく、ABR についても生後 1 ヶ月の時点で実施した 5 例全例が正常だった。CMV IgM は 2 例で陽性。尿中平均 CMV DNA 量は 2.8×10^7 copy/ml、単核球中の平均 CMV DNA 量は 363 copy/ μ g であった。臍帯については 4 例解析し、平均 CMV DNA 量は 2.7×10^4 copy/ μ g。6 例中 4 例に同胞があり、尿中 CMV DNA 陽性の 3 例すべてが患児 CMV 株と同一株の感染であった。また各種サイトカイン・ケモカイン値は測定可能であった。結果、染色体異常児で IL-8、MCP-1 値が他の 5 例に比べ高い傾向となったが（IL-8：染色体異常児 132.35pg/ml・その他 5 例の平均 19.79pg/ml、MCP-1：染色体異常児 24.71pg/ml・その他の 5 例の平均 11.83pg/ml）、その他のバイオマーカーに大きな違いは認めなかった。

D. 考察

今年度のスクリーニング検査では、303 症例中陽性例は認めなかった。よってこれまでの結果を合計するとスクリーニング開始から平成 22 年 7 月までに計 1370 例中陽性例が 6 例（0.44%）である。これまでの我が国の疫学的データをみると、0.3~1%との報告が多いため今回のデータにそれを裏付ける成績と思われる。なお欧米では 0.6

～0.7%との報告が多いが、現時点では我々の検体数はまだ少ないため、今後さらに症例数を増やすとともに、本研究班に参加しているすべての施設の成績を総合することにより欧米とわが国との比較、さらには日本国内での地域差の有無などが明らかになると予想される。

陽性児については、確認検査でも尿から極めて高いコピー数のCMV DNAが検出され、保存臍帯からも同様にCMV DNAが検出されたことから、CMVの胎内感染を受けたことは明らかである。最近、胎内感染の証明として、患児のCMV IgM抗体検出の意義が低いことが示唆されているが、我々の症例でも血清中CMV IgM抗体陽性は6例中2例のみであった。患児の血清中CMV IgM検出の有無が病態とどのように関連があるのか、今後本研究班での多数例の蓄積により明らかにしてゆく必要がある。

幸い陽性例の患児らは、染色体異常の1例を除き身体所見ならびに種々の検査所見いずれにおいても異常はなく、最も年長児で現在2歳4カ月となるが現在まで順調に生育している。しかし前述のように、先天性CMV感染症では遅発性の難聴・精神発達遅滞などが起こり得るため、今後も成長・発達、血液検査、頭部画像検査、聴力検査を含め長期的なフォローアップが必要と思われる。

今回、6例中4例に同胞があり、その中で同胞の尿中CMV DNA陽性の3例すべてが患児CMV株と同一株の感染であった。3例とも臍帯からはウイルスDNAは検出されず兄弟の先天感染は否定的であるが母の感染源となった可能性が強く示唆される。今後、感染防止策を考える上で非常に重要な所見と思われた。さらに、陽性児の胎内感染が母親の初感染によるものか、あるいは再感

染によるものか明らかにすることも重要である。母親の血清中CMV IgG抗体のavidityを解析することにより、この問題についても解明を進める予定である。

また、初回採血時の血清においてサイトカイン・ケモカイン値は測定可能であった。染色体異常児でIL-8、MCP-1値が他の5例に比べ高い値となったが、これは初回採血日の相違が結果に影響している可能性も考えられる。というのは染色体異常児は初回採血日が生後7日であるのに対し、その他5例の平均初回採血日は生後20日である。よってウイルス増殖量や重症度、予後予測因子などをより正確に検討するため、今後は初回検体採取日や患者背景などを一致させ、また可能であれば健常児の検体も採取し比較検討する必要がある。

今後、症例数をさらに増やし頻度・疫学等を把握することが重要な課題である。また感染児が発症するリスク要因、神経学的後遺症や予後と相関検査（血清抗体価・ウイルス量・遺伝子型・CTL解析など）やフォローアップにおいて必要となる検査の種類と時期、また治療に関する指針などにおいて各施設での統一した見解を持つことも重要であると思われる。

E. 結論

新生児尿を濾紙に採取し、乾燥後中央でCMV DNA検出をスクリーニングする方法は、実際の現場での使用に際し十分実用に耐えうるシステムと思われる。このシステムで、我々の関連施設での先天性CMV感染スクリーニングを実施した結果、これまでの本邦ならびに海外の報告とほぼ同様の結果を得ることができた。今後は、妊婦への啓蒙などの介入によってどの程度頻度が落ちるか検討する必要がある。

F. 研究発表

1. 論文発表
- 1) Recombinant human monoclonal antibodies to human cytomegalovirus glycoprotein B neutralize virus in a complement-dependent manner. Ohta A, Fujita A, Murayama T, Iba Y, Kurosawa Y, Yoshikawa T, Asano Y. *Microbe Infect* 2009; 11:1029-36.
- 2) Heat denaturation increases the sensitivity of the cytomegalovirus loop-mediated isothermal amplification method Suzuki R, Ihira M, Enomoto Y, Yano H, Maruyama F, Emi N, Asano Y, Yoshikawa T. *Microbiol Immunol* 2010, 54:466-70.

2. 学会発表

- 1) 先天性サイトメガロウイルス (CMV) 感染スクリーニング検査の実施状況と陽性例の解析 中井英剛ら、第 42 回日本小児感染症学会、仙台

G. 知的財産権の出願・登録状況 該当せず

H. 共同研究者

豊川市民病院小児科
加藤伴親 (部長)、大橋正博 (医長)
刈谷豊田総合病院小児科
山田緑 (部長)

先天性CMV感染症児の頭部画像所見に関する研究

研究分担者 岡 明 杏林大学医学部小児科教授
研究協力者 五石圭司 東京大学大学院医学部小児科

研究要旨

先天性サイトメガロウイルス感染症（先天性CMV）に伴う神経系の影響を評価するためには、我々は先天性CMV感染の診断に至った患児の頭部画像検査所見を後方視的に検討し、画像所見の特徴を抽出し、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。先天性CMVにおける画像所見は極めて特徴的であり、次年度はこれを用いて先天性CMV感染が診断された児の頭部画像所見と神経学的予後の検討を行った。先天性CMVでは高率に頭部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。また、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、今後も学習障害、軽度知的障害、広汎性発達障害、注意欠陥多動症候群などの（軽度）発達障害も含めた脳高次機能障害との関連を明らかにする必要があると考えられた。スクリーニングにて先天性CMV感染が診断された10名の頭部画像所見について、ベッドサイドで可能な検査法として頭部超音波検査所見の有用性を検討したところ、高率に上衣下偽性のう胞（Subependymal Germinolysis：SEG）の所見を認め、これは胎生期のウイルス感染による同部の障害を見ているものと考えられた。頭部超音波検査は無侵襲であり、頭部MRI検査の適応を考える上で、有用なスクリーニング検査であることが示唆された。本研究班により先天性CMVでは無症候から重篤な後遺症まで幅広いスペクトラムを持つことが明らかになってきており、早期診断のための先天性CMV感染の新生児スクリーニングと、その後のフォローアップ体制の確立と治療の適応の検討が緊急の課題と考えられる。

A. 研究目的

先天性CMV感染症（先天性CMV）は先天性感染の中でも最も頻度が高い感染症で、難聴・中枢神経病変・眼底病変・肝臓病変など多彩な病態を

示す疾患である。近年、先天感染を診断することが可能になり、その重要性が改めて認識されるようになってきている。また、先天性難聴は早期に診断し療育などを開始することが重要

であり、我が国でも対応が進められているが、先天性CMVによる聴力障害に関しては、抗ウイルス治療の効果が報告されてきており、治療可能な難聴として注目を集めている。

CMV未感染の妊婦が初感染を受けると約40%の例で胎児感染がおこるとされ、このうち約10%で肝脾腫、黄疸、血小板減少性点状出血、小頭症、頭蓋内石灰化、脈絡網膜炎などのいわゆる症候性先天性CMV感染の病像を示す。これら症候性感染の60%は神経学的後遺症を残すとされている。これまでの精神運動発達予後の評価を行った報告の多くは、これら全身症状を認めた症候性感染が対象であった。

また、これまでの海外での先CMVの神経後遺症についての集団としての研究は、十分な発達の評価ができていない、MRIも含めた画像的な検索ができていない、聴力についての評価が不十分などの点で問題があった。さらに、自閉症やADHDなどの発達障害との関与についても検討されていない。

先天性CMVによる神経後遺症としては、脳性麻痺、精神遅滞、てんかん、発達障害などの病象を呈するが、そのスペクトラムおよび頻度については、今後明かにする必要がある。特に、これまでは脳性麻痺などの重篤な病像を呈する児における検討が臨床現場ではなされてきたが、発達障害などの高次機能の障害については、これまでほとんど検討されてきていない。

難聴を伴うなど発達障害をきたしうるリスクも伴っており、その正確な評価と療育に向けた対策は極めて重要である。

そうした先天性CMV児での、詳細な頭部画像所見と精神運動発達予後との関連を検討した報告は少ない。そこで我々は初年度に、新生児聴覚スクリーニングで難聴が指摘され、CMVウイルス検査にて先天性CMVと診断された児において、頭部MRI画像所見を検討し、画像評価シートを作成し、次年度はこれにもとづき頭部画像検査所見から精神運動発達予後の検討を行った。

また、最終年度は尿濾紙スクリーニングにて先天性CMVと診断された児に対する頭部画像スクリーニングについて検討した。頭部MRIは、精度は高く、大脳皮質の構造変化や大脳白質の信号変化を高感度で検出可能であり、精密検査の方法としては第一選択と考えられる。しかし、鎮静が必要であるなどの点から汎用性の点で問題が残り、今後、スクリーニング後の検査方法として全例に施行する点では問題があると考えられる。

これに対して頭部超音波検査は、ベッドサイドにて簡便にできる検査法であり、特に大泉門などの骨縫合が離開している新生児では最も侵襲の少ない検査手技である。但し、その欠点としては、観察可能な大脳側脳室周囲などの領域が限定されること、特に大脳皮質の観察が困難であること、観察者による評価に差があることなどが

挙げられる。

今回我々は先天性CMVと診断された児に対して、初診時に頭部超音波検査を施行し、その評価を行った。

B. 研究方法

①頭部MRI検査：対象は、新生児聴覚スクリーニングで難聴を指摘され埼玉県立小児医療センターの感染免疫科（大石 勉先生）・耳鼻咽喉科（坂田英明先生、安達のどか先生）を受診し、先天性CMV感染と診断された児で、神経発達の評価方法は、小児科医による神経学的診察、遠城寺式発達評価、KIDS 質問紙にて評価した。

②頭部超音波検査：東京大学医学部附属病院および山口病院（千葉県船橋市）にて新生児尿濾紙スクリーニングで先天性CMVと診断された10例について、初診時に頭部超音波検査を同一検査者により施行し、脳内病変を評価した。また、7例では同時期に頭部MRI検査を施行した。

（倫理面への配慮）本研究は該当施設の倫理委員会の承認を受けて行った。

C. 研究結果

頭部MRI所見の評価シート作成：全例のレビューから、①大脳実質容量低下および側脳室拡大②脳室周囲石灰化③側脳室後角および前角周囲の大脳白質の嚢胞様変化④深部を中心とした大脳白質の散在性病変⑤大脳白質の髄鞘化遅延⑥大脳皮質形成異常（多小脳回）⑦側脳室下角の開大⑧小脳低形成等の所見を認めた。こ

れによる評価シートを作成した。

頭部MRI検査：評価シートによるチェックで88.9%に頭部画像評価にて異常が指摘された。

1. 脳室拡大：脳実質の委縮に伴う二次的な脳室の拡大
2. 点状の石灰化
3. 大脳皮質形成異常（多小脳回）：大脳側面を中心に多くは両側性に生じていた。
4. 大脳白質のう胞様白質病変：両側の側脳室三角部付近や側頭葉前部の大脳白質に認められた。
5. 大脳白質深部白質や皮質下白質の多発性斑状病変
6. 側脳室下角拡大
7. 上衣下偽性のう胞（Subependymal Germinolysis (Pseudocyst)）

頭部画像所見と神経発達予後との関連：のう胞様白質病変、多発性斑状白質病変、側脳室下角拡大は、各50%以上と高率に認め、先天性CMV感染では、大脳白質病変の頻度が高かった。しかし、大脳白質病変を呈した例の神経発達については、正常な症例も認められ、正常から軽度～中等度を含めた正常～中等度精神運動発達について見ると、のう胞様白質病変（42%）、多発性斑状白質病変（69%）、側脳室下角拡大（50%）であった。一方、重度の精神運動発達遅滞に関連が認められたのは、大脳委縮、側脳室拡大、皮質形成異常の所見であり、著明な運動障害や重度知的発達の遅れを呈する例が多く、神経後遺症との関連が強く認められた。

頭部超音波検査：10例中7例に上衣下偽性のう胞（Subependymal Germinolysis (Pseudocyst) : SEG)の所見を認めた。1例に側脳室壁の不整を疑う所見を認めた他は、脳室拡大などの所見や大脳皮質などの変化も認められなかった。

D. 考察

これまで先天性CMVにおいて、新生児期からの頭部MRI画像については、十分に評価されていなかった。今回の研究で、新生児期からの本症における頭部画像について明かになった。

その中で先天性CMV感染における画像所見についてBoppaらは発達障害を認めた29%の症例ではCT上、正常所見であったと報告している。今回の検討でも、大脳白質病変が頭部MRI検査にて明瞭に描出されており、先天性CMV感染症の神経学的予後を検討する上では頭部CT検査ではなく頭部MRIが有用な検査といえる。

神経放射線学的にBarkovichは、重度発達遅滞、てんかん、肝脾腫、小頭症といった重度の合併症を示した先天性CMV感染症の症例に認める画像所見として大脳皮質形成異常、白質容量低下、髄鞘化遅延、小脳低形成、側脳室下角拡大を指摘している。

しかし最も高頻度の所見は大脳白質病変であった。特に、乳児期早期では側脳室三角部や側頭葉前部のう胞様白質病変を認め、その他にも多発

性斑状白質病変を伴っており、非常に特徴的な画像所見と考えられた。

また、側脳室下角部拡大も高頻度に見られる所見で、これは側頭葉前部白質の病変が先に存在し、組織の委縮が進行するとともに側脳室の下角の拡大が出現したものと考えられた。なお、水頭症による拡大と異なり、下角が特異的に拡大しており、鑑別は可能であった。

今回の研究で、診断技術の進歩により、新生児期に顕性化しない先天性CMVのスペクトラムの広がりが見らかとなってきており、今後は軽症例も含めた検討が重要であると考えられた。

大脳委縮や大脳皮質形成異常は、従来の研究でも重度症候性先天性CMV感染症における画像所見として指摘されてきた。今回の検討でも、大脳皮質形成異常や小脳低形成を認める症例は脳性麻痺・重度発達障害に関連を認められ、先天性CMV感染の臨床像のスペクトラムの中では、最重症に位置していた。

これに対して、大脳白質病変は、幼児期の発達については必ずしも精神運動発達を呈さず、一定の傾向はなかった。

また、今回の検討は幼児期早期までであり、それ以上の年長児については今後の課題である。しかし、学童期などの児で、画像所見から先天性CMV感染を疑われ、臍帯を用いて診断に至った例の中には、学習障害、軽度知的障害、広汎性発達障害、注意欠陥多動