

山田秀人, 免疫グロブリン胎児医療研究会 (2010): 免疫グロブリンを用いた症候性先天性サイトメガロウイルス感染症の胎児治療. 産婦人科の実際 59 (9), 1363-1373.

東 寛, 高梨美乃子, 神前昌敏, 佐藤博行, 石丸文彦, 山田秀人 (2010): 1996年から2009年における妊婦のサイトメガロウイルス抗体保有率の推移について. 日本周産期・新生児医学会雑誌 46 (4), 1273-1279

山田秀人, 免疫グロブリン胎児医療研究会 (2010): 先天性サイトメガロウイルス感染症に対する免疫グロブリン療法. 「よくある合併症妊娠とその対策」. 産婦人科治療 100 (2), 211-219.

山田秀人 (2010): 先天性感染症に対する新たな出生前医療. 奈良県産婦人科医学会誌, 51, 11-13.

山田秀人, 西川 鑑, 山本智宏, 水江由佳, 西平 順, 森實真由美, 園山綾子, 平久進也, 森岡一朗, 峰松俊夫 (2010): 先天性トキソプラズマ, サイトメガロウイルス感染症に対する出生前医療. 産婦人科治療 101 (5), 563-568

山田秀人, 免疫グロブリン胎児医療研究会 (2010): 胎内治療の現況-サイトメガロウイルス感染. 母子保健情報 61, 33-39.

山田秀人, 森岡一朗, 森實真由美, 園山綾子, 谷村憲司, 松尾希世美, 松尾雅文, 峰松俊夫, 古谷野 伸, 井上直樹 (2011): 先天性サイトメガロウイルス感染症の胎児・新生児治療. 産婦人科治療 102 (2), 131-138.

山田秀人, 森岡一朗, 森實真由美, 園山綾子,

谷村憲司, 松尾希世美, 松尾雅文, 峰松俊夫, 井上直樹, 古谷野 伸 (2011): 母児感染が問題となる感染症, サイトメガロウイルス. 周産期医学 41 (2), 181-188

山田秀人 (2010): 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, ヘルペス感染症研究会編, 東京, 44-46.

山田秀人, 森實真由美, 園山綾子, 森岡一朗, 松尾雅文, 東 寛, 峰松俊夫, 井上直樹, 古谷野 伸 (2010): 妊婦のサイトメガロウイルス感染. 周産期医学, 周産期診療指針2010, 周産期医学編集委員会編, 東京医学社, 東京, 259-263.

天野真理子, 森岡一朗, 森實真由美, 森本規之, 藤岡一路, 柴田暁男, 横山直樹, 荒川創一, 牧野晶子, 新矢恭子, 松尾雅文, 山田秀人 (2011): パンデミックインフルエンザA (H1N1) 2009を発症中に分娩に至った妊婦2症例における経胎盤感染の検討. 日本周産期・新生児医学会雑誌 in press

## 2. 学会発表

山田秀人 (2009) 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), 7月2日, 神戸

山田秀人 (2009) 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

山田秀人 (2009) 先天性胎児感染症に対する新たな出生前医療の展開. 神戸市産婦人科医学会研修会 (特別講演), 8月1日, 神戸

山田秀人 (2009) 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), 8月21-22日, 札幌

山田秀人 (2009) 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, 9月16日, 神戸

山田秀人 (2009) 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), 10月17日, 神戸

山田秀人 (2009) 先天性胎児感染症の新たな出生前医療の展開. 第299回岡山山四水会(特別講演), 10月28日, 岡山

山田秀人 (2009) 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イ, 10月31日, 神戸

山田秀人 (2009) 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), 11月20日, 函館

山田秀人, 免疫グロブリン胎児医療研究会 (2008) 先天性サイトメガロウイルス感染症に対する免疫グロブリン療法. 第60回日本産科婦人科学会学術講演会(クリニカルカンファレンス), 4月12-15日, 横浜

山田秀人, 出口圭三, 南真志穂, 涌井之雄, 峰松俊夫, 水上尚典 (2008) 免疫グロブリンによるCMV予防研究の結果. 第4回免疫グロブリン胎児医療研究会, 4月14日, 横浜

山田秀人 (2008) 先天性ウイルス・トキソプラ

ズマ感染症に対する新たな出生前医療. 第30回和歌山周産期医学研究会(特別講演), 9月6日, 和歌山

山田秀人 (2009) 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), 12月12日, 姫路

山田秀人 (2010) 先天性胎児感染症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), 1月26日, 長崎

山田秀人 (2010) 先天性感染胎児医療の新展開. 第2回西別府病院遺伝医学セミナー(特別講演), 2月8日, 別府

山田秀人 (2010) 先天性胎児感染症に対する新たな出生前医療. 京都府医師会母体保護法指定医師必須研修会(特別講演), 2月20日, 京都

山田秀人 (2010) 先天性感染症に対する新たな出生前医療. 帯広十勝産婦人科医会学術講演会(特別講演), 4月16日, 帯広

山田秀人 (2010) 先天性感染症に対する新たな出生前医療. 平成22年度奈良県産婦人科医会学術講演会(招請講演), 5月22日, 奈良

山田秀人 (2010) 先天性感染症に対する新たな出生前医療. 道東地区(釧路地区)産婦人科医会研修会(特別講演), 6月11日, 釧路

山田秀人 (2010) IgG avidity と multiplex nested PCR を用いたトキソプラズマ妊婦スクリーニング. 第3回周産期新生児感染症研究会(特別講演), 7月31日, 神戸

山田秀人 (2010) 先天性感染症に対する新たな出生前医療. 第8回北海道周産期談話会 (特別講演), 8月7日, 札幌

山田秀人 (2010) 先天性感染症に対する新たな出生前医療. 第199回鹿児島三水会 (特別講演), 8月25日, 鹿児島

山田秀人 (2010) 先天性サイトメガロウイルス感染症に対する免疫グロブリン療法. 第33回日本母体胎児医学会学術集会 (シンポジウム), 8月29日, 東京

山田秀人 (2010) 先天性感染症に対する新たな出生前医療の展開. 福井県産婦人科医学会第70回夏期臨床研修会 (特別講演), 9月5日, 福井

山田秀人 (2010) 先天性感染症に対する新たな出生前医療. 第281回青森県臨床産婦人科医学会 (特別講演), 9月11日, 八戸

山田秀人 (2010) 先天性感染症に対する新たな出生前医療. 国立循環器病研究センター講演会 (招請講演), 9月30日, 大阪

山田秀人 (2010) 先天性感染症に対する新たな出生前医療の展開. 道東地区 (北見網走地区) 産婦人科医学会学術講演会 (特別講演), 10月9日, 北見

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

総合研究報告書

「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」

研究分担者：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  
研究協力者：大石由利子 旭川医科大学産科婦人科

**研究要旨**

我が国の難聴の原因として CMV 母子感染が推定され、新生児難聴に占めるサイトメガロウイルス母子感染の頻度が予想以上に高率であることが判明し、その対策が望まれている。また、これまで初感染のみがリスク群と思われていたが、国立成育医療研究センターの母子感染例でも型の異なるサイトメガロウイルス感染(再感染)が児に異常を起こすことも判明し、臨床現場は混乱している。

妊娠初期にサイトメガロウイルス抗体保有の有無を確認するか否かについてもこれまで否定的であった。母子感染のハイリスク群である抗体陰性妊婦率は、以前は我が国では 1 割以下であったが、国立成育医療研究センターでも開設された 2002 年には約 1/4 が 2010 年は約 1/3 まで増加した。母子感染例の解析から上のお子さんからの感染が重要であることが明らかになり、研究班全体の成果からも実証された。

そこで、日本産科婦人科学会産科診療ガイドライン 2011 年改定評価委員会と作成委員会に働きかけ、解説に藤枝班の成績、0.33%の先天性 CMV 感染率、同胞から母親が感染し、先天性感染児出生に至る症例が多いことから、年長児を持つ抗体陰性のハイリスク妊婦への注意喚起の説明の必要性を記載した。このガイドラインは産科診療にあたるほぼ全ての医師が参考にするので、今後は CMV 母子感染予防効果が期待される。

**A. 研究の目的**

サイトメガロウイルス(以下 CMV と略す)はトヘルペスウイルス科ベータヘルペス亜科に属するウイルスで ICTV 名では HHV-5 と呼ばれる。ヘルペスウイルスの特徴として潜伏持続感染するがホストである人には通常は重篤な症状を起こすことは少なく、新生児、術後患者あるいは HIV などの免疫能低下状態では心筋炎、脳炎、肝炎、肺炎などの重篤な症候を呈することもある。初感染では発疹を伴う感冒様症状のこともあるが、無症状の不顕性感染のことも多い。

これまで周産期で問題となると理解されていたのは妊婦が初感染した胎児に少数ではあるが小頭症、水頭症、脳内石灰化などの中枢神経障害、胎児水腫、FGR、肝脾腫、血小板減少などの重篤な症状を誘起することであったが、最近出生時には無症候性であっても生後数年で聴力障害を起こすことが指摘され注目されている。米国では先天性疾患の中で

胎児 CMV 感染症が風疹、二分脊椎、ダウン症などのこれまで話題となった疾患以上に経済的負担を起こす疾患としてすでに認識され、ワクチン開発を含めその対策が検討されている。

しかし、重篤な先天感染の知識はあっても不顕性感染で難聴となる知識を有する産科医、小児科医は日本ではまだ少ない。我が国では以前は妊婦であっても高い CMV 抗体を保有していたために母子感染で問題となることは少なかった。しかし、妊婦の CMV 抗体保有率が低下している報告が散見され、欧米のように半分が未抗体保有妊婦になるのではないかと、それにより CMV 母子感染が増加するのではないかと危惧されている。

難聴児の「臍の緒」の検索から CMV 母子感染が難聴の原因と推定される割合が欧米では約 1/3 と言われている。我が国でも同様の報告が出され CMV 母子感染予防の重要性が指摘されている。しかし、どのような

ストラテジーで母子感染を予防すれば良いかについての検討は少ない。

妊娠中の初感染にターゲットを絞れば CMV 抗体陰性妊婦をスクリーニングでハイリスク群を抽出できるが、株の異なる CMV 感染での先天性 CMV 感染児の報告もある。また、CMV 抗体陰性妊婦を CMV 感染から予防できる確実な方法は確立されていない。したがって、日本産科婦人科学会産科診療ガイドライン 2008 年版には「1. 児予後改善のための母体 CMV 抗体スクリーニング検査の有用性は確立されていないと認識する。(C)」と記載されている。

産科医にとって CMV 感染は胎内で発生する重症感染児にのみ興味があるといっても過言ではなく、母子感染による難聴児の予防、妊娠中の CMV 感染について積極的管理を実施している施設は少ない。そこで、開設以来妊婦全例に CMV 抗体検査を実施している国立成育医療研究センターにおける妊婦の CMV 抗体保有率と母子感染例を検討し、今後の CMV 母子感染予防策を立案し、CMV 母子感染による児の予後を改善するストラテジーを提示し、検証することを目的とした。

## B. 研究方法

### ①妊婦 CMV 抗体の保有率の推移

2002 年から 2010 年の間に国立成育医療研究センターで妊娠・分娩管理し、初期検査で CMV 抗体測定の同意を得た妊婦 14, 122 例を対象として、妊娠初期に CMV-IgG 抗体 (EIA 法) を測定した。カットオフインデックス: 2 未満を陰性、2-4 未満を±、4 以上を陽性とした。

### ②CMV 母子感染の解析

2009年2月より2010年1月に国立成育医療センター産科で管理した妊婦より妊娠初期と、福島の2回にわたり約5mlの採血をおこなない、福島県立医科大学で抗CMV抗体の検出とCMV gH蛋白質に対するサブタイプ特異的抗体の検出を行う。

これらの解析から、妊娠中のCMV初感染および異なるサブタイプに属するCMVの再感染を明らかにする。該当症例の先天性感染が母親の初感染、再感染、再活性化のいずれによるものであるかを推測する。

③日本産科婦人科学会産科診療ガイドライン 2011 年への記載

2008 年に発刊された日本産科婦人科学会産科診療ガイドラインが改定、増補となることが決定している。日本産科婦人科学会産科診療ガイドライン評価委員会委員である分担研究者は藤枝班で集計した成績、報告書を基に日本産科婦人科学会産科診療ガイドライン作成委員会、評価委員会で議論し、委員のコンセンサスの得られた情報について記載した。

## C. 研究結果

### ①妊婦 CMV 抗体の保有率の推移 (図 1)

2002 年より、検査を受けた妊婦数は其々、899 人、1349 人、1551 人、1582 人、1614 人、1635 人、1868 人、1829 人、1795 人と漸増していた。14122 人で CMV 抗体陽性妊婦は 9325 人、±は 213 人 (1.5%)、陰性妊婦は 4584 人 (32.5%) であった。

CMV 抗体陰性妊婦率を年次推移でみると、2002 年より其々、26.4%、29.4%、31.5%、29.3%、32.5%、35.7%、33.9%、34.4%、34.9%と漸増傾向にあった。

### ②CMV 母子感染例の解析

<症例1> 41歳 1経妊1経産、前回妊娠：ICSI妊娠、FGR、骨盤位のため帝王切開にて分娩、臍帯辺縁付着であった。37週6日1778g 現在3歳

今回妊娠経過：ICSI妊娠、子宮筋腫合併、妊娠以外は妊娠分娩経過に特に問題なし、既往帝王切開の適応で38週5日選択的帝王切開にて分娩、2862g 男児 Ap9/10、新生児経過：出生時特に異常なく、日令2にPVCが見つかり、精査したが全身状態は良好であり、循環動態に特に異常ないため退院の上followとなった。退院後の日齢14に児のサイトメガロスクリーニング結果が陽性であることが判明。児の発育に現時点では異常なし、妊娠12週 CMV-IgG 2.0(-) 陰性、出産後19日 CMV-IgG 15.4(+), CMV-IgM 2.04(+)

<症例2> 33歳 2経妊2経産、既往歴：24歳パニック障害、30歳甲状腺機能亢進症前回妊娠時投棄なし、妊娠分娩歴：27歳 39週1日 2680gの女児 経膈分娩、30歳 38

週5日 2955gの女児 経膈分娩、妊娠初期に一過性甲状腺機能亢進あり (TRAb陰性)  
今回妊娠：自然妊娠の2絨毛膜2羊膜性双胎、妊娠初期：悪阻と甲状腺機能精査のため入院管理、甲状腺機能亢進症に対し、MMI15mg、KI5mg内服、妊娠24週 MMI15mg、KI5mgへ減量、妊娠26週 KI中止、児の発育は順調

分娩経過：37週1日 分娩誘発、経過に問題なく経膈分娩、第1子 2100g 女児 Ap 9/9、第2子 2520g 男児 Ap9/9  
新生児経過：母の合併症のため児は入院管理となったが、全身状態は落ち着いていた。日齢14 第2子のサイトメガロスクリーニング結果が陽性であることが判明。第1子は陰性であった両児共発育に現時点では異常なし

妊娠8週 CMV-IgG 18.8(+)陽性、出産後34日 CMV-IgG 23.6(+), CMV-IgM 0.43(-)

③日本産科婦人科学会産科診療ガイドライン 2011年への記載

日本産科婦人科学会産科診療ガイドライン 2008年のCQ609「サイトメガロウイルス感染については」のAnswerとしては以下が掲載されていた。

1. 児予後改善のための母体 CMV 抗体スクリーニング検査の有用性は確立されていないと認識する。(C)

2. 超音波検査で 胎児発育不全、脳室拡大、小頭症、脳室周囲の高輝度エコー、腹水、肝脾腫等を認めた場合、胎児感染を疑ってもよい。(C)

3. 母体 CMV 抗体検査を行った場合の解釈については以下を参考にする。(B)

1) 妊娠初期母体 CMV IgG 陰性であったものが、妊娠中に IgG 陽性になった場合、妊娠中初感染と判断する。

2) 妊娠中期母体 CMV IgG 陽性(妊娠以前の感染)でも母子感染は起こりうるが、その頻度と胎児への影響は初感染に比し少ない。

3) 母体 CMV IgM 陽性的場合、最近の感染を疑うが IgM 陽性が長期間持続する現象(persistent IgM)が知られているので注意する。

4. 「胎児治療については現時点で確立されたものはない」と説明する。(B)

5. CMV 感染胎児は分娩時に心拍パターン異常を示しやすいので注意する。(C)

6. 臍帯血 CMV IgM 陽性、もしくは生後2週以内の新生児尿から CMV が同定された場合、胎児感染が起こったものと判断する。(B)

7. 胎内感染児については聴覚の長期フォローアップを専門医に依頼する。(B)

すなわち、児の予後改善のための抗体スクリーニングの有用性は認めておらず、母子感染予防に関する記載は Answer だけではなく解説文にも触れられていなかった。

2年間の藤枝班の各研究者の結果から、母子感染に関して以下のことが明らかとなった。

1) 先天性 CMV 感染の頻度

16,842例の新生児尿 CMV スクリーニングで55例に検出され、頻度は0.33%であった。

2) 先天性 CMV 感染児の特徴

出生時の症候性感染児は14例/54例(25.9%)、画像所見を加えると21例/54例(38.9%)と高率であった。

PCRで判明した感染児の出生時CMV IgM抗体は24例/42例(57.1%)が陰性であり、CMV IgM抗体は先天性CMV感染の診断には不十分であった。

35例/52例(67.3%)の同胞が存在した。

3) 感染経路

感染児の母親の半数以上が初感染であった。感染児の同胞14例中13例(92.9%)の尿中に同一CMV株が遺伝子型解析で証明された。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た。したがって、先天性感染のリスクとして同胞の年長児から妊婦への可能性が高い。

そこで、この研究報告書を基に2回の評価委員会、作成委員会のCQ609担当者、ガイドライン委員長と分担研究者で議論を重ね、Answerについて今回は変更しない。しかし、多数例の我が国初めての研究成果であり、先天性CMV感染についてと母子感染予防の啓蒙については解説に記載することとなり、以下の文章が新たに追加された。「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 (2010 年 3 月) によれば、16,842 名を対象とした新生児尿検査において 55 名 (0.33%) の先天性 CMV 感染が確認された。感染児の特徴として、40% (21/54) が症候性、血中 IgM 抗体は 57% (24/42) が陰性、7% (35/52) に同胞がおり同胞の尿検査可能であった 14 例中 13 例において遺伝子解析により同胞の CMV と先天性感染児の CMV が同一であることが証明された。これらは同胞から母親が感染し、先天性感染児出生に至る症例が多いことを示唆している。このことから、年長児を持つ抗体陰性のハイリスク妊婦への注意喚起の説明が望まれる。本邦では、従来 90% 以上といわれていた抗体保有率が、最近では妊娠可能年齢女性で 70% 台、あるいはそれ以下に減少していることが報告されており、妊娠中初感染の危険が高まっている。特に若い女性では抗体保有率が低いので先天性 CMV 感染児出産の危険が高い。」

## D. 考察

分担研究者は 20 年前から妊婦 CMV IgG 抗体を妊娠初期に測定してきた。それ以前の報告では 95% 以上の妊婦が CMV IgG 抗体を保有されるといわれていたが、すでに 15% に妊婦が抗体を保有せず、国立成育医療研究センターでのこの 10 年間をみても抗体保有率はさらに低下し約 1/3 が抗体未保有妊婦となった。確かに当院での母子感染例の検討では株の異なる CMV 感染なら抗体保有者でもリスク群となり得るが、抗体を全く保有していない妊婦は日本で主に存在する 2 株 (AD169 型、Towne 型) に対してもハイリスク群となることから、日常一般臨床で検査できる CMV 抗体未保有妊婦を検出することは重要と考えられる。

確かに、CMV 感染を完全に妊婦に予防させるエビデンスは確立されていないが、CMV 感染者の唾液、尿中に CMV ウイルスが大量に存在していることは事実である。放射線

被曝の常識であるが、そこに放射線物質があることを周知、認識することが被曝防止の最も大切な初動対策となる。そうであれば、CMV 母子感染のハイリスク妊婦を抽出し、CMV ウイルスの存在する危険性についてその妊婦がまず知ること、最大限の予防策を講じることは大切なはずである。

藤枝班の大規模全国調査から、先天性 CMV を出産した母親は経産婦が多く、型の検索が可能であった同胞の検索から CMV 感染した同胞→妊婦→母子感染が大多数であり、重要な母子感染ルートと考えられる。したがって、上の子を持つ CMV 抗体未保有妊婦には CMV 母子感染のリスクと上の子の尿、唾液への注意と手洗いの励行 (特に食事前) を十分に説明する必要がある。

これらのことを産科医、妊婦などに広く周知、実行させるにはどうしたら良いのか。日本産科婦人科学会は 2008 年に日本産科婦人科学会産科診療ガイドラインを公表した。このことは日本の産科医療に衝撃の変革をもたらした。掲載された推奨だけではなく、解説の内容についても広く知られることとなった。さらに、掲載された医療行為の実行率が格段に上昇した。このガイドラインには CMV 母子感染に関しては、胎児感染、母子感染の診断には触れられているが、予防法、治療法、リスク回避の注意喚起などについては述べられておらず、妊婦の CMV 抗体スクリーニングについても否定的であった。そこで、分担研究者はガイドライン評価委員の立場から作成委員会、ガイドライン委員長にこの班の成果についてエビデンスを呈示し、何度も議論を重ね、作成委員会のコンセンサスの得られた内容について解説に挿入した。この案については広くパブリックコメントを求め最終決定された。

その内容は、本邦では、従来 90% 以上といわれていた抗体保有率が 70% あるいはそれ以下に減少していることが報告されており、妊娠中初感染の危険が高まっている。特に若い女性では抗体保有率が低いので先天性 CMV 感染児出産の危険が高い。また、我が国では 0.33% の先天性 CMV 感染率であり、その約 4 割が症候性であり、血中

IgM 抗体は先天性の診断には不十分であった。母子感染は同胞から母親が感染し先天性感染児出生に至る症例が多いことから、年長児を持つ抗体陰性のハイリスク妊婦への注意喚起の説明が望まれる。であり、初めて妊婦での抗体スクリーニングの有用性と抗体陰性妊婦への上の子からの感染の注意喚起などが記載された。今後は産科医だけではなく妊婦にもこれらの情報が伝達されることが期待される。

#### **E. 結論**

CMV ワクチンが開発されていない現在、我々産科医にとっては現状でのエビデンスに従って CMV 母子感染予防のために出来ることを求められるはずである。我々の研究班の成績から、CMV 抗体陰性妊婦を抽出し、感染源に対する注意喚起の不安を与えないようにして注意深く情報提供することしかない。特に上の子を持つ経産婦には注意が必要であろう。

#### **F. 研究発表**

なし

#### **G. 知的財産権の出願・登録状況**

予定なし



(図 1)

	2002年	2003年	2004年	2005年	2006年	2007年	2008年	2009年	2010年
総数	899	1349	1551	1582	1614	1635	1868	1829	1795
(-)	237	397	489	463	524	583	634	630	627
(±)	5	13	25	28	36	21	36	21	28
(+)	657	939	1037	1091	1054	1031	1198	1178	1140
	26.4	29.4	31.5	29.3	32.5	35.7	33.9	34.4	34.9

## 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

研究分担者 泰地 秀信 国立成育医療研究センター耳鼻咽喉科医長

### 研究要旨

新生児聴覚スクリーニングで pass となっていたため、言語発達遅滞があるにもかかわらず難聴の発見が遅れた先天性 CMV 感染症の例があった。また先天性の症候性 CMV 感染症に GCV を投与し、一側の聴力の著明な改善をみた例があった。これらの点から先天性 CMV 感染マスキングの普及が期待された。聴覚フォローアップを行うプログラムを作成し、濾紙尿による先天性 CMV 感染スクリーニングで陽性となった例に実施した

### A. 研究目的

先天性サイトメガロウイルス (CMV) 感染症は 15% 程度に感音難聴を伴うといわれており、年間 100 名以上が見込まれている。先天性 CMV 感染に伴う難聴は半数以上が出生時無症候とした報告があり、現行の新生児聴覚スクリーニングでは半数以上が検出できないことになる。我々は国立感染症研究所の協力を得て、進行性あるいは遅発性の高度感音難聴児において乾燥臍帯より CMV-PCR を検出し、先天性 CMV 感染の有無を検討しているが、乾燥臍帯から CMV が検出された例について検討した。また先天性サイトメガロウイルス感染マスキングあるいは出生前の羊水や MRI により先天性 CMV 感染が疑われ、診断が確定した例の聴覚所見について検討した。また難聴に対するガンシクロビルの効果を検証した。

### B. 研究方法

1. 国立成育医療研究センター耳鼻咽喉科を受診した先天性感音難聴および進

行性感音難聴で、保護者から CMV 抗体検査と保存臍帯供与の同意が得られた児を対象とした。40 例中 3 例で乾燥臍帯から CMV-DNA が検出され、先天性 CMV 感染症と診断されたので、聴覚や精神運動発達の検査や CT・MRI などの脳画像解析を行い、また経過について検討した。

2. 先天性 CMV 感染に対する治療的介入として、ガンシクロビル (GCV) の難聴に対する有効性が報告されている。症候性の先天性 CMV 感染症で早期に GCV の投与を行った 3 例につき聴覚所見を検討した。

3. 国立成育医療研究センターにおいて、濾紙尿を直接サンプルとする先天性サイトメガロウイルス感染マスキングを行い、尿中 CMV が陽性であった新生児の 4 例について難聴の有無を調べフォローを行った。

（倫理面への配慮）

ヘルシンキ宣言および疫学研究に関する倫理指針（平成 19 年文部科学省・厚生労働省告示第 1 号）、臨床研究に関する倫理指針（平成 20 年厚生労働省告示第 415

号)を遵守した。行政機関個人情報保護法(平成17年4月1日)に従い、個人情報の取り扱いについては十分な注意をもって行った。また実施に当たっては施設の倫理委員会の承認および対象者よりインフォームドコンセントを文書で得て実施した。

### C. 研究結果

1. 先天性難聴あるいは進行性・遅発性難聴において40例に乾燥臍帯から精製したDNAからPCRにてCMV DNAの検出を行ったが、3例が先天性CMV感染症と診断された。

症例1は初診時から両側難聴(ABR閾値が両側80dBnHL)があり、その後難聴が進行してASSR検査で両耳ともすべての周波数でスケールアウトとなった例である。保存臍帯の検査では $3.8E+03$ CMVコピー/ $\mu$ g DNAと陽性で、先天性CMV感染症による進行性難聴と診断された。2歳5ヵ月で人工内耳埋込術を行い、装用閾値25~30dBとなった。その後の言語発達は良好で、手話から音声への移行が徐々になされた。

症例2は初診が1歳8ヵ月で、そのときASSRで両側110dB以上と重度難聴が認められた。来院まで聴力検査は受けていないため、難聴の発症時期は不明である。発達障害がみられたが、頭部MRIでは異常はない。少しずつ補聴器装用ができるようになったので3歳0ヵ月で人工内耳埋込術を行い音反応は良好になった。ただしまだ言語獲得までには至っていない。

症例3は3歳2ヵ月で、言語発達遅滞を主訴に受診された。新生児聴覚スクリーニング(Auto ABR)では両耳passで、筋緊張低下、運動発達遅滞があり小児神

経科にてフォローされていた。初診時、鼓膜所見は異常なかったが、DPOAEは両側無反応で、CORでは60dB程度であった。ABR閾値は右60dBnHL、左無反応。ASSRでは閾値は右500-1000Hzが70dBHL、左は全周波数でscale outであった。保存臍帯の検査を行ったところ、 $1.83+E3$ CMVコピー/ $\mu$ g DNAで、先天性CMV感染症と診断された。頭部CTでは両側の脳白質に広範囲な低吸収域があり、また右基底核に点状の石灰化がみられた。MRIではCTと同様に頭頂後頭葉および前頭葉の白質に斑状の高信号域が認められた。

2. 出生前の羊水やMRIにより先天性CMV感染が疑われ、出生時の尿検査により先天性の症候性CMV感染症と診断された児が3例あった。いずれも出生後早期にガンシクロビル(GCV)の投与を行った。

1例についてはABRは左閾値が日齢6で80dBnHLであったものが、徐々に改善し日齢81には30dBnHLと正常化した。右については、ABRは105dBnHL無反応で、こちらは改善しなかった。本例はGCVを12週間投与した後に、パルガンシクロビルを6ヵ月投与した。投与終了後、半年後にABR検査を行ったが、左の閾値は40dBnHLで、有効な聴力が保たれていた。1例は出生時より聴力障害はなく、その後も聴力は正常であるが、まだ6ヵ月前で今後難聴が発症する可能性があるため厳重なフォローを行う予定である。1例は生直後の検査で一側性難聴がみられ、ABR閾値は右無反応、左30dBnHLであった。本例は治療後も聴力の改善はみられていない。

3. 濾紙尿を直接サンプルとする先天性CMV感染マスキリングを行った。尿中CMVが陽性であった4例について、

DPOAE および ABR による聴覚スクリーニングを行ったところ、いずれも聴力障害はみられなかった。このように進行性・遅発性難聴を生じる可能性のある基礎疾患がある場合について定期的に聴力の評価を行うプログラムを作成し、6 ヶ月、1 歳、2 歳、3 歳、5～6 歳に聴覚フォローアップを行うこととした。その後も引き続き聴力のフォローを行っていて、1 歳～1 歳 6 ヶ月となったが現在のところいずれにも難聴は出現していない。また神経症状など所見も認められていない。

## D. 考察

サイトメガロウイルス (CMV) はヘルペスウイルスの一種であり、先天性難聴の原因として知られている。先天性 CMV 感染症では、数ヶ月～数年してから難聴が発症するものがあるため、現行の新生児聴覚検査では検出できないことがある。また先天性 CMV 感染に伴う難聴は生後 4 ヶ月までは抗ウイルス薬 (ガンシクロビル) が難聴に対して有効な可能性がある。そのため全新生児を対象とした先天性 CMV 感染スクリーニングの意義は大きい。

1. 両側高度難聴児において、保存臍帯での検査から 3 例が先天性 CMV 感染と診断された。1 例は早期 (4 ヶ月) から療育を開始しており、補聴器から人工内耳、また手話から音声への移行がスムーズに行われた。1 例は初診が 1 歳 8 ヶ月であり、また来院も不規則で聴能訓練が遅れたが、少しずつ補聴器装用ができるようになったので 3 歳 0 ヶ月で人工内耳埋込術を行い音反応は良好になった。先天性 CMV 感染では重度の精神運動発達遅滞を伴うものから、ほとんど遅滞がないものまでさまざまであり、発達障害があ

る場合の人工内耳適応については議論がある。ただし近年は発達障害児における人工内耳の有用性が徐々に明らかになっている。1 例は新生児聴覚スクリーニングで pass となっていたため、言語発達遅滞があるにもかかわらず難聴が疑われておらず、3 歳 2 ヶ月での受診となった。通常、スクリーニングが pass の児は精密検査を受けることはなく、その後に定期的な検査を受けることはない。そのため遅発性難聴ではスクリーニングが pass であったことが影響して難聴の発見がより遅れる例があり、新生児聴覚スクリーニングの問題点として指摘されている。先天性 CMV 感染に伴う遅発性難聴では難聴の発見と療育開始が遅れることが多いため、先天性 CMV 感染スクリーニングの意義は高いものと思われた。

2. 先天性の症候性 CMV 感染症で出生後早期に GCV 投与 (6mg/kg×2×6W) を行った例が 3 例あり、うち 1 例に両側性難聴、1 例に一側性難聴がみられた。1 例は聴力正常であった。両側性難聴の例については一側の聴力改善がみられ、治療終了後 2 年近く経過したが有効な聴力が保たれている。長期にみた治療の有効性はまだ明らかになっていないので、引き続きフォローが必要であるが、本例のように早期治療が難聴に有効な例があるということも先天性 CMV 感染スクリーニングの有用性を示している。

3. 先天性 CMV 感染マスキューニングで陽性となった 4 例について聴覚フォローアップ・プログラム (6 ヶ月、1 歳、2 歳、3 歳、5～6 歳で検査) にてフォローを行っている。当院の症例はまだ十分なフォロー期間はないが難聴は発症していない。

## E. 結論

1. 新生児聴覚スクリーニングで pass となっていたため、言語発達遅滞があるにもかかわらず難聴の発見が遅れた先天性 CMV 感染症の例があった。また先天性の症候性 CMV 感染症に GCV を投与し、一側の聴力の著明な改善をみた例があった。先天性 CMV 感染マスキングの普及が期待されるものと考えられた。

2. 先天性 CMV 感染症において定期的に聴力の評価を行うプログラムを作成した(6 ヶ月、1 歳、2 歳、3 歳、5~6 歳)。濾紙尿を直接サンプルとする先天性 CMV 感染スクリーニングにて 4 例の陽性者がみられたが、現在のところ聴力障害は出現していない。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) 泰地秀信：純音聴力検査とマスキング. JOHNS 24: 709-713, 2008
- 2) 泰地秀信：乳幼児難聴の取り扱いについて. 日本耳鼻咽喉科学会第 22 回専門医講習会テキスト p112-116, 2008
- 3) 泰地秀信：小児急性中耳炎診療ガイドライン 2006 年版. 今日の治療指針 2009, 山口徹ほか編, 医学書院 p1683-1686, 2009
- 4) 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
- 5) 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

- 6) 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
  - 7) 泰地秀信：小児急性中耳炎診療ガイドライン 2009 年版. 今日の治療指針 2010, 山口徹ほか編, 医学書院 p1831-1835, 2010
  - 8) 泰地秀信、守本倫子、松永達雄：Auditory neuropathy spectrum disorder の乳幼児例における ASSR 閾値. Audiology Japan 53: 76-83, 2010
  - 9) 泰地秀信：耳音響放射. 耳鼻咽喉科・頭頸部外科 82 (5「耳鼻咽喉科・頭頸部外科の検査法マニュアル」): 49-55, 2010
  - 10) 泰地秀信：中耳奇形. よくわかる聴覚障害-難聴と耳鳴のすべて-, 小川郁編, 永井書店 p124-129, 2010
  - 11) 泰地秀信：中耳炎、副鼻腔炎. ナースのための小児感染症-予防と対策-, 国立成育医療研究センター編, 中山書店 p63-67, 2010
  - 12) 泰地秀信：小児の伝音難聴はどうやって診断するのか? JOHNS 26: 1023-1027, 2010
  - 13) 泰地秀信：小児急性中耳炎診療ガイドライン 2009 年版. 今日の治療指針 2011, 山口徹ほか編, 医学書院 p1893-1897, 2011
- ### 2. 学会発表
- 1) 泰地秀信：新生児聴覚スクリーニングで pass となった先天性難聴についての検討. 日本小児耳鼻咽喉科学会, 2008. 6. 21 (鹿児島)

- 2) 泰地秀信：福祉医療と関連法規．日本耳鼻咽喉科学会・補聴器相談医更新のための講習会，2008. 6. 28（東京）
- 3) 泰地秀信、守本倫子、南修司郎：Auditory neuropathy の乳幼児における聴性定常反応 (ASSR)．第 53 回日本聴覚医学会，2008. 10. 3（東京）
- 4) 松永達雄、守本倫子、泰地秀信：小児難聴に対する系統的遺伝子解析の第一次解析の検討．第 53 回日本聴覚医学会，2008. 10. 3（東京）
- 5) 泰地秀信：難治性顔面痛では何を考えるか？ 第 36 回日本頭痛学会シンポジウム，2008. 11. 15（東京）
- 6) 泰地秀信：幼小児難聴の精密検査．日本耳鼻咽喉科学会第 22 回専門医講習会，2008. 11. 16（東京）
- 7) 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，2009. 1. 18（東京）
- 8) 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. 5. 16（東京）
- 9) 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. 10. 22（横浜）
- 10) 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. 11. 14（東京）
- 11) 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. 1. 17（東京）
- 12) 泰地秀信、守本倫子、本村朋子：Auditory neuropathy spectrum disorder 例における ASSR 閾値．第 111 回日本耳鼻咽喉科学会，2010. 5. 20（仙台）
- 13) 中原奈々、泰地秀信、守本倫子、本村朋子、小川郁：蝸牛神経低形成の小児例における純音聴力検査と ABR の比較検討．第 111 回日本耳鼻咽喉科学会，2010. 5. 21（仙台）
- 14) 大原卓哉、本村朋子、守本倫子、泰地秀信：OTOF 遺伝子変異を認める Auditory neuropathy spectrum disorder の乳幼児例における人工内耳装用効果．第 55 回日本聴覚医学会，2010. 11. 11（奈良）
- 15) 泰地秀信、守本倫子、本村朋子、大原卓哉：DP Growth 検査による内耳機能の評価．第 55 回日本聴覚医学会，2010. 11. 12（奈良）

## G. 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  
なし

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

研究分担者	錫谷 達夫	福島県立医科大学微生物学講座	教授
	浅野 仁覚	福島県立医科大学産婦人科学講座	助教
研究協力者	生田 和史	福島県立医科大学微生物学講座	助教
	今村 孝	福島県立医科大学小児科学講座	助教

### 研究要旨

サイトメガロウイルス（Cytomegalovirus; CMV）の初感染が妊婦で起こった際には、胎児へ感染の危険性があり、胎児は約40%の頻度で先天性CMV感染となる。感染児の約90%は出生時に無症候性であるが、その5-15%では成長に従って難聴、精神発達遅延などの症状が認められる。一方、その10%の顕性感染例では出生時に小頭症などの異常が認められる。

先天性CMV感染はCMVの重感染によっても引き起こされることが知られているが、どの程度の障害を引き起こすのか、その詳細は不明である。また、300の出産に1例起こる先天性CMV感染のどの位がこの重感染によるものであるのかも明らかにされていない。我々はELISA法によるCMV血清型別判定、リアルタイムPCR法による感染児尿中CMV型判定により、先天性CMV感染が妊娠中のCMV初感染によるのか、異型CMVの重感染によるのかを判別する手技を確立した。本研究では、この方法を用いて先天性CMV感染児とその母親16例のCMV感染パターン解析を試みた。その結果、異型CMVの重感染によると考えられる2例を見出し、我々の方法で判別できるCMVの型分けの精度では初感染または再活性化が87.5%、重感染が12.5%であった。

また、なぜ先天性CMV感染が聴覚障害を引き起こすのかを明らかにするためにマウスモデルを作成し、解析した。

### A. 研究目的

CMVはヘルペスウイルスの一種であり、成人に感染している普遍的なウイルスである。その感染は成人では不顕性であることがほとんどであるが、妊婦における初感染では胎児に重大な影響を及ぼすことがある。先天性CMV感染のおよそ10%は顕性感染であり、小頭症や水頭症、脈絡網膜炎、聴覚障害、精神発達遅延、紫

斑、血小板減少、肝脾腫、肝炎などが認められ、出生後早期に死亡する重篤な例もある。先天性CMV感染の多くは無症候性であり、感染児の多くは障害なく発育するが、そのうち約10%では後に精神発達遅延、視力障害、難聴、てんかん、けいれんなどを生じる。乾燥臍帯を用いた先天性CMV感染の後方視的な疫学調査より、日本人における聴覚障害の約15%は

先天性 CMV 感染が原因であることが明らかとなった。CMV は既知の胎内感染では最も頻度が高い病原微生物である。先天性 CMV 感染が無症候性にとどまらず症候性感染症となる原因については、胎内感染の成立時期や感染が拡大しやすい妊婦の初感染が推定されている。一方、異なる型の CMV 株に重感染することでも先天性感染が発生することは明らかにされているが、症候性感染となる確率や重症度との関係は不明である。

そこで本研究では、先天性 CMV 感染児とその母親の CMV 感染パターンと感染児の臨床経過を解析することを目的に、母親の抗 CMV 型別抗体の測定ならびに感染児尿中の CMV 型判定を行った。

また、先天性 CMV 感染が聴覚障害の原因となる機序は全く明らかにされていない。しかし、聴覚障害に至る経路の検体はヒトからは取れない。そこで、詳細な発症機序を明らかにするため、マウス CMV を用いてマウスの聴覚障害発症モデルの作成を行った。

## B. 研究方法

### 1. 先天性 CMV 感染児の特定

本学附属病院産婦人科ならびに関連病院で出生した新生児の尿は、国立感染症研究所ウイルス一部においてリアルタイム PCR 法を用いた CMV スクリーニング検査に供され、先天性 CMV 感染児を診断した。先天性 CMV 感染児の血液と尿ならびに母親の血液はインフォームドコンセントを得て採取した。血液は Lympholyte H (Cedarlane Laboratories) を用いた密度勾配遠心法により血漿とリンパ球に分離し、 $-80^{\circ}\text{C}$  に保

存した。

### 2. ELISA 法による CMV 血清型の判定

CMV 血清型別判定には、CMV に対する免疫反応の主要なターゲットである glycoprotein H (gH) のエピトープを抗原とした ELISA 法を用いた。gH は CMV エンベロープ上の糖タンパクであり、ウイルスの細胞への吸着を担っている。CMV AD169 株と Towne 株のエピトープ領域をオリゴヌクレオチド合成により作製し、pGEX-5x プラスミド (Amersham Bioscience) に組み込んだ。作製プラスミドを大腸菌にトランスフェクションし、GST 融合タンパクとしてエピトープを発現させた。発現タンパクは GST カラムを用いて精製後、96 穴プレートに固相化して ELISA 系を作成した。検体として感染児・母親の希釈血漿を使用し、検出系には HRP 標識抗ヒト IgG 抗体、ELISA POD Substrate ABST キット (Nakarai) を用いた。吸光度測定によって抗体の有無を判定した。また市販のキット・エンザイグノストサイトメガロ/IgG (または IgM) (SIEMENS) により、抗 CMV IgG、IgM 抗体の有無も検討した。

### 3. ダイレクトシーケンス法、リアルタイム PCR 法による感染 CMV 型判定

先天性 CMV 感染児の尿より QIAamp DNA Mini kit (Qiagen) を用いて DNA を抽出し、Expand High Fidelity PCR System (Roche) を用いた PCR 法により CMV gH 領域を増幅した。PCR 産物を MinElute PCR purification kit (Qiagen) で精製し、DYEnamic ET terminator Cycle Sequencing kit (GE Healthcare) でラベリング反応を



行った後、ABI PRISM 3100 DNA sequencer (Applied Biosystems) により塩基配列の決定を行った。決定された塩基配列はデータベース上の塩基配列：CMV AD169 株 (GenBank accession # NC001347) CMV Towne 株 (GenBank accession # FJ616285) とのホモロジー検索により、型別判定を行った。

またリアルタイム PCR 法により CMV gH 領域を増幅し、AD169 型を FAM、Towne 型を Vic 標識した TaqMan プローブで定量的に型別検出した。

#### 4. 細胞とウイルス

マウス CMV (MCMV) Smith 株は浜松医科大学・筒井祥博博士より分与を受けた。ウイルスの培養は理化学研究所細胞バンクより提供を受けた Balb 3T3 細胞によって行った。Balb 3T3 細胞は 10% 牛血清加 Dulbecco modified Eagle minimum essential medium (D-MEM/NCS10) で培養した。この細胞に MCMV を感染させ、CPE が 100% となった時に培地を回収し、3000 rpm 10 分遠心した。その上清をウイルス液として分注し、 $-80^{\circ}\text{C}$  に保存した。

#### 5. マウスの感染実験

実験には出生後 24 時間以内の Balb/c マウスをオス、メス区別せずに用いた。ウイルスのタイターは血清を添加しない D-MEM で調整し、マウスの脳内あるいは腹腔内にマイクロシリンジと 2 段針を用いて  $3\ \mu\text{l}$  接種した。脳内接種は右耳と頭頂部を結んだ線上行った。接種後 1 日以内に死亡したマウスは感染による死亡とは考えられないため、実験からは除外した。

2 日目以降 6 週まで毎日生死を観察し、生存曲線を描いた。

#### 6. マウスの聴覚検査

ウイルス接種後 3 週、4 週、6 週の時点で聴覚検査を行った。

聴覚検査は電磁波の影響を最小限に止めるために金網でシールドされた聴力検査室で行った。生理食塩水 19.1 ml にセロクター 0.1ml、ネンブター 3ml 加えた麻酔薬をマウスの腹腔に体重 100g あたり 0.6ml 投与して麻酔を施した。ABR 検査は Tucker Davis 社製の機器を用い、両側耳介付着部に針電極を、腹部に接地電極を刺入した。刺激音発生装置 (Powerlab; ADInstruments 社製) とスピーカー (Tucker Davis 社製) を用い、20,000 Hz の tone burst を音刺激として与えた。この刺激に対する ABR を計測し、聴覚を測定した。

(倫理面への配慮)

動物実験は文部科学省の指針を基盤とした福島県立医科大学動物実験指針を遵守し、動物実験指針の承諾を得て行った。

### C. 研究結果

#### 1. 先天性 CMV 感染症例の解析

新生児尿のスクリーニングにおいて CMV が検出された症例のうち母児ともに血漿の得られた 16 例を対象とした。CMV 型判定の結果は別表のとおりである。母親における CMV IgM は 3 例で陽性、6 例で疑陽性であった。CMV IgG は 9 例で母児ともに AD169 型、5 例で Towne 型であり、感染児尿中の CMV 型は血清型に一致した。母児ともに両

型の例 (22383) と、母のみ両型で感染児は Towne 型のみの例 (71306) がそれぞれ 1 例ずつ認められた。感染児尿中の CMV 型は 22383 で AD169 型、71306 で Towne 型であった。全例において、感染児尿中の CMV 型はダイレクトシークエンス法とリアルタイム法で相違なく、両型を排泄する例は認められなかった。

## 2. マウス CMV 聴覚障害モデル

### 1) Smith 株の新生 Balb/c マウスに対する病原性

マウスの感染実験を行うに当たって、培養細胞で増殖させた Smith 株の病原性を明らかにする必要から、生後 24 時間以内のマウスにウイルスを脳内接種または腹腔内接種し、生存曲線を求めた (図 1)。腹腔接種では  $1.7 \times 10^3$  で約 40% の、 $1.7 \times 10^2$  で 50% のマウスが生き残り、感染 3 週頃までに死ぬものはほとんど死亡した。一方、脳内接種では腹腔内接種のほぼ 10 分の 1 のウイルス量でマウスは死亡し、 $1.7 \times 10^2$  での生存率が約 35%、であった。また死亡するものの多くは感染 1~2 週で死亡した。

### 2) マウスの聴覚検査

およそ半数のマウスが死滅するウイルス量を接種し、生き残ったマウスの聴覚を継時的に検査した。つまり、腹腔投与は  $1.7 \times 10^3$  pfu/mouse、脳内接種は  $1.7 \times 10^2$  pfu/mouse である。生後 2 週まではマウスが小さすぎて検査が行えなかった。3 週以降の聴覚障害の程度と頻度は図 2 のとおりである。腹腔内接種では 23 匹中 1 匹にのみ感染後 6 週の検査で両側性の高度難聴が認められた。一方、脳内接種の系では

3 週目の段階で 1/3 が両側性の、1/3 が片側性の難聴があり、残り 1/3 は健聴であった。この難聴は進行し、6 週までに全例両側性の高度難聴となった。

## D. 考察

### 臨床例の解析

先天性 CMV 感染において CMV IgG が母子ともに同型であるのは、新生児で母親の移行抗体が検出されているためである。母親における CMV IgM が陽性/疑陽性であった 9 例では、妊娠中の CMV 初感染が疑われる。IgM が検出されなかった例では CMV 初感染なのか、再活性化が起こっていたのか不明である。

22383 では母児ともに両型の CMV IgG が認められた。感染児尿中には AD169 型のみが排泄されていたことから、妊娠中に AD169 型が重感染または再活性化したことが示唆される。同様に 71306 では母親に両型、感染児に Towne 型のみの CMV IgG が認められ、感染児尿からは Towne 型のみが検出された。妊娠中の Towne 型重感染または再活性化と考えられる。どちらの例においても、一方の CMV 型のみが選択的に再活性化するとは考えにくいことから、妊娠中に異型 CMV に重感染した可能性が高いのではないかと推測される。

感染児尿中の CMV 型、母児の CMV 血清型を総合的に検討することにより、先天性 CMV 感染が初感染によるのか、異型 CMV の重感染に起因するのかが明らかとなった。つまり妊娠中の重感染の可能性が高い症例 (22383、71306) が 16 例中 2 例 (12.5%) で、1 つの型の初感染または再活性化が 16 例中 14 例 (87.5%) である。また CMV 型

別リアルタイム PCR 法により、たとえ両型の CMV IgG を保有する例においても、感染尿尿中には AD169 型か Towne 型どちらか一方の CMV しか検出されないことが分かった。つまり胎児への CMV 感染は片型のみであることが示唆される。今回の 16 例中で症候性感染は 20026 のみであり、重感染と疾患重症度との関係は解析できなかったが、頻度は小さいながらも、重感染による先天性 CMV 感染の存在が明確に証明された。

### 動物モデル

これまで、MCMV やモルモットの CMV を用いた感染実験系で聴覚障害を作るモデルは報告されている。ただ、100% の確率で聴覚障害を引き起こす実験系は本研究が初めてであり、今後の研究に有用なモデルになると期待される。

CMV はマクロファージやリンパ球など血液の細胞に感染することから、血管条から蝸牛回到ウイルスが侵入し、有毛細胞など聴覚に關する末梢の部位を障害して聴覚障害を引き起こすのではないかと考えられてきた。ところが、モルモットの経胎盤感染の系を用いた研究で、感染した胎児の病理組織ではウイルスは前庭回や螺旋神経節に存在することが明らかとなった。前庭回を満たす液が髄液であることを考えると、髄膜脳炎を起こしたウイルスが内耳に入ることが強く示唆される。マウスのサイトメガロウイルスを腹腔に接種後、LPS で脳炎を起こすと、炎症部位にウイルスが集まり、聴覚障害を引き起こすことを証明した小杉らの研究結果も髄液から内耳へのウイルスの波及を支持するものである。

先天性 CMV 感染による聴覚障害が人工内耳で治療できることは臨床例で明らかとなっている。動物実験でウイルスの感染部位が螺旋神経節であるとの結果が示されているが、もし螺旋神経節でウイルスが神経細胞の機能を完全に障害した場合、人工内耳は無効なはずである。人工内耳が有効な螺旋神経節の障害がいかなる障害であるのかは興味深い課題である。今後、本研究で作成したマウスの感染系を用いて明らかにしていきたい。

### E. 結論

先天性 CMV 感染児 16 例について児と母親の抗体検査を行った。その結果、9 例は妊娠中の初感染である可能性 (IgM 陽性 3 例、疑陽性 6 例) があり、重感染は 2 例であった。

マウス CMV を使って高率に聴覚障害を発症するモデルを作成できた。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

- 1) Ihibashi 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. Lack of antibodies against the antigen domain 2 epitope of cytomegalovirus (CMV) glycoprotein B (gB) is associated with CMV disease after renal transplantation in recipients having the same glycoprotein H serotypes as their donors. *Transplant Infect Dis (In press)*

- 2) Imamura T, Suzutani T, Ogawa H, Asano K, Nomoto M, Matsui T, 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. *Pediatrics International* (in press)
- 3) 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
- 4) Ishibashi K, Tokumoto T, Shirakawa H, Hashimoto K, Kushida N, Yanagida T, Shishido K, Aikawa K, Yamaguchi O, Toma H, Tanabe K, Suzutani T. Strain-specific seroepidemiology and reinfection of cytomegalovirus. *Microbes Infect* 10:1363-1369, 2008
- 5) Yan H, Koyano S, Inami Y, Yamamoto Y, Suzutani S, Mizuguchi M, Ushijima H, Kurane I, Inoue N. Genetic linkage among human cytomegalovirus glycoprotein N (gN) and gO genes, with evidence for recombination from congenitally and post-natally infected Japanese infants. *J Gen Virol* 89:2275-2279, 2008.
- 6) Fukushima E, Ishibashi K, Kaneko H, Nishimura H, Inoue N, Tokumoto T, Tanabe K, Ishioka K, Ogawa H, Suzutani T. *J Virol Methods* 151: 55-60, 2008.
- 7) Yan H, Koyano S, Inami Y, Yamamoto Y, Suzutani T, Mizuguchi M, Ushijima H, Kurane I, Inoue N. Genetic variations in the gB, UL144 and UL149 genes of human cytomegalovirus strains collected from congenitally and postnatally infected Japanese children. *Arch Virol* 153: 667-674, 2008.
- 8) 錫谷達夫. サイトメガロウイルス. *JOHNS* 26, 1763-1766, 2010.
- 9) 錫谷達夫. ヘルペスウイルス感染症に有効な抗ウイルス薬. *化学療法の領域* 26, 2022-2026, 2010.
- 10) 錫谷達夫. 抗ヘルペス薬耐性化機構と病原性. *医薬ジャーナル* 46, 785-790, 2010
- 11) 錫谷達夫. 先天性CMV感染と聴覚障害. *HERPES MANAGEMENT* 13, 6, 2009.
- 12) 錫谷達夫. 先天性サイトメガロウイルス感染による難聴. *医学のあゆみ* 227:1086-1087, 2008.
- 13) 錫谷達夫. 先天性サイトメガロウイルス感染と難聴. *耳鼻咽喉科学会専門医通信*. 96: 14-15, 2008.
- 14) 錫谷達夫. 先天性サイトメガロウイルス感染と聴覚障害. 第14回ヘルペス感染症フォーラム 95-98, 2008.
2. 学会発表
- 1) 生田和史、今村孝、浅野仁覚、古谷野伸、藤原成悦、中井英剛、吉川哲史、森内浩幸、井上直樹、錫谷達夫  
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  
第25回ヘルペスウイルス研究会 浜松  
2010. 5. 27-29