

- 2) 生田和史、石岡賢、佐藤友香、金子久俊、古谷野伸、井上直樹、錫谷達夫 リアルタイムPCR法を用いたサイトメガロウイルスの型別定量判定法 第58回日本ウイルス学会 徳島 2010.11.7-9
- 3) Kazufumi Ikuta, Kimisato Asano, Shin Koyano, Naoki Inoue, Kei Ishibashi and Tatsuo Suzutani. Strain-specific cytomegalovirus (CMV) seroepidemiology in mothers and neonates with congenital CMV infection. 14th International Conference on Immunobiology and Prophylaxis of Human Herpesvirus Infection. 神戸、2009.
- 4) 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. 東京、2009.

3. 特別講演

- 1) 錫谷達夫. 先天性サイトメガロウイルス感染症と聴覚障害. 第11回熊本ウイルス感染症研究会 2008年10月16日 熊本市
- 2) 錫谷達夫. 先天性サイトメガロウイルス感染による聴覚障害 第20回岡山耳鼻咽喉科感染免疫研究会 2009年2月19日 岡山市
- 3) 錫谷達夫. 先天性サイトメガロウイルス感染による聴覚障害. 第71回耳鼻咽喉科臨床学会 2009年7月2日 旭川市
- 4) 錫谷達夫. 聴覚言語障害とウイルス感染. 第54回日本音声言語医学会総会 2009年10月16日 福島市

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

CMV感染例		IgG			IgM	尿中 CMV型
		CMV	AD	To	CMV	
13518	母親	+	+	-	+	
	新生児	+	+	-	-	AD
19389	母親	+	+	-	+/-	
	新生児	+	+	-	+	AD
20040	母親	+	+	-	+	
	新生児	+	+	-	-	AD
31694	母親	+	+	-	+	
	新生児	+	+	-	+/-	AD
20026	母親	+	+	-	+/-	
	新生児	+	+	-	+	AD
82718	母親	+	+	-	+/-	
	新生児	+	+	-	-	AD
83641	母親	+	+	-	+/-	
	新生児	+	+	-	-	AD
20270	母親	+	+	-	-	
	新生児	+	+	-	+	AD
21558	母親	+	+	-	-	
	新生児	+	+	-	-	AD
22383	母親	+	+	+	+/-	
	新生児	+	+	+	-	AD
71306	母親	+	+	+	-	
	新生児	+	-	+	-	To
19382	母親	+	-	+	+/-	
	新生児	+	-	+	+/-	To
20117	母親	+	-	+	-	
	新生児	+	-	+	-	To
18189	母親	+	-	+	-	
	新生児	+	-	+	+/-	To
63205	母親	+	-	+	-	
	新生児	+	-	+	-	To
72072	母親	+	-	+	-	
	新生児	+	-	+	+	To

表1. 先天性CMV感染におけるCMV血清型別抗体の検出と
新生児尿中に排泄されるCMV型の判定

	血中IgG抗体	尿中CMV型
AD169型	9 (56%)	10 (63%)
両型	1 (6%)	0
Towne型	6 (38%)	6 (38%)

表2. 先天性CMV感染児におけるCMV血清型別抗体と尿中に排泄されるCMV型の割合

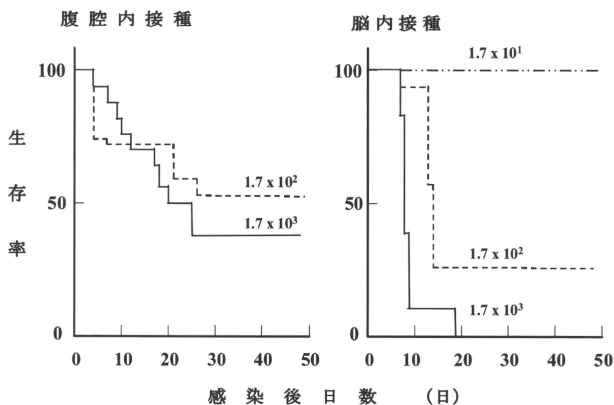


図1. マウスサイトメガロウイルスの病原性

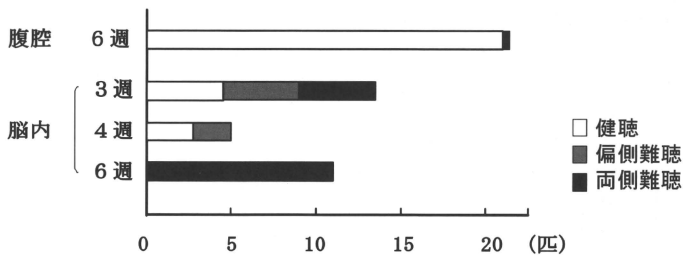


図2. サイトメガロウイルス感染による聴覚障害

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：先天性感染児の臨床像に関する免疫学的要因の検討

研究分担者：藤原成悦 独立行政法人国立成育医療研究センター研究所母児感染研究部

研究要旨

先天性 CMV 感染症児における CMV 特異的免疫応答の特徴については不明な点が多い。また、先天性 CMV 感染児にみられる臨床経過の差異と CMV 特異的免疫応答との関連性についても未だ不明である。本研究は、先天性 CMV 感染児における CMV 特異的免疫応答の特徴を明らかにするとともに、先天性 CMV 感染児における病態と CMV 特異的免疫応答との関連性を明らかにすることを目的とする。

MHC tetramer を用いた CMV 特異的 T 細胞の検出・定量、CMV 抗原刺激による IFN- γ 産生細胞の検出・定量法を用いて、先天性 CMV 感染児 13 例、後天性 CMV 感染児 4 例、健常成人 1 例における CMV 特異的細胞性免疫応答を解析した。その結果、先天性 CMV 感染児において CMV ペプチド抗原を認識し、CMV ペプチド抗原に応答し細胞増殖能および IFN- γ 産生能などの機能性を保持する CMV 特異的 T 細胞が検出可能であることが示唆された。また、先天性 CMV 感染児の免疫応答は、後天性 CMV 感染児との比較において明らかな差異は認めなかったものの、健常成人に比較して低いレベルにある可能性が示唆された。

A. 研究目的

Cytomegalovirus (CMV) に対する宿主免疫応答、特に CMV 特異的細胞性免疫応答は、CMV 感染制御に重要な役割を果たしていると考えられ、先天性 CMV 感染症においても発症機構や病態形成に密接に関連すると推測される。本研究は、新生児スクリーニングによって同定された先天性 CMV 感染児について、CMV 特異的細胞性免疫応答の特徴を明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

HLA-A および HLA-B 領域の PCR 増幅後、ダイレクトシーケンスによる HLA タイピング、MHC tetramer を用いた CMV 抗原 pp65 特異的 CD8 陽性 T 細胞の検出・定量法、CMV 抗原 pp65 刺激による IFN- γ 産生 T 細胞の検出・定量法(図 1、2、3)を確立した。先天性 CMV 感染児 13 症例について CMV 特異的 T 細胞応答の解析を行った。対照として、後天性 CMV 感染児 4 例

および健康成人1例のPBMCを用いて同様の解析を行った。

1) MHC tetramerを用いた CMV 特異的免疫細胞の検出・定量

先天性 CMV 感染児 13 症例、後天性 CMV 感染児 4 症例、および健康成人 1 例について、末梢血より genomic DNA を抽出し、HLA-A および HLA-B 遺伝子の一部を PCR 法により増幅した後、ダイレクトシーケンス法により HLA タイピングを行った。HLA-A*2402, HLA-A*0201 などの HLA タイプを有する先天感染児 9 症例については、MHC クラス I 分子および CMVpp65 (65kDa lower matrix phosphoprotein) 由来ペプチドを 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 陽性 T 細胞を検出した(図 1, 2)。次に、CMVpp65 由来ペプチド抗原刺激に対する CMV 特異的 CD8 陽性 T 細胞の増殖能を解析する目的で、pp65 ペプチド抗原を用いて PBMC を刺激し、1 週間培養した後、MHC tetramer を用いて CMV 特異的 CD8 陽性 T 細胞を検出した。対照実験として、HIV gag 蛋白質由来のペプチド抗原を用いて同様の実験を行った(図 1, 2)。

2) CMV 抗原刺激による IFN- γ 産生 T 細胞の検出・定量

CMV ペプチド抗原刺激に対する CMV 特異的 T 細胞の IFN- γ 産生能を明らかにする目的で、CMV 特異的 T 細胞の主要な標的蛋白質 pp65 または 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 産生 CD8 陽性 T 細胞あるいは CD4 陽性 T 細胞をフローサイトメーターで検出した。

対照として、HIV gag 蛋白質由来のペプチド抗原を用いて同様の実験を行った(図 3)。(倫理面への配慮)

本研究は、各研究者が所属する機関および関連機関の倫理委員会の承認を得て行われた。研究目的を十分説明した上で、書面での同意に基づいて検体採取を行い、採取された検体はコード番号化することで連結可能匿名化が行われた。

C. 研究結果

1) MHC tetramer を用いた CMV 特異的免疫細胞の検出・定量

HLA タイピングの結果をもとに、MHC tetramer を用いて pp65 ペプチド抗原を認識する CD8 陽性 T 細胞の検出を行った。9 例中 7 例において pp65 特異的 CD8 陽性 T 細胞が検出された (CD8 陽性細胞の 0.1~0.6%) (表 1)。次に、pp65 由来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、pp65 特異的 CD8 陽性 T 細胞の検出を行った(図 4)。その結果、9 例中 6 例で pp65 特異的 T 細胞の増加し (0.2~1.1%)、2 例で減少した (0~0.2%) (表 1)。残り 1 例については、ペプチド抗原の有無にかかわらず、pp65 特異的 T 細胞は検出されなかった。また、後天性 CMV 感染児と診断された 4 症例および健康成人 1 例についても同様の解析を行った(表 2)。その結果、後天性 CMV 感染児 4 症例のいずれにおいても pp65 特異的 CD8 陽性 T 細胞は検出されなかった。pp65 ペプチド抗原刺激に対する CMV 特異的 T 細胞の増殖については、4 例中 1 例で pp65 特異的 T 細胞の増加 (0.2%) を認めた(図 6)。残り 3 例については、pp65 ペプチド抗原刺激後も pp65 特異的 CD8 陽

性 T 細胞は検出されなかった(図 6)。健康成人の PBMC を用いた対照実験では、pp65 特異的 CD8 陽性 T 細胞を pp65 ペプチド抗原刺激前に 0.1% 検出し、刺激後には 4.5% に増加した(図 4)。

2) CMV 抗原刺激による IFN- γ 産生 T 細胞の検出・定量

先天性 CMV 感染児 13 例、後天性感染児 4 例、健康成人 1 例由来の PBMC を pp65 または IE-1 由来のペプチド抗原で刺激した後、IFN- γ を産生する CD8 あるいは CD4 陽性 T 細胞をフローサイトメーターで検出した。その結果、pp65 ペプチド抗原で刺激した場合、先天感染児において IFN- γ を産生する CD8 陽性 T 細胞および CD4 陽性 T 細胞は、それぞれ 0~0.5%、0~0.4% の割合で検出され、後天感染児においては、IFN- γ を産生する CD8 陽性 T 細胞および CD4 陽性 T 細胞はそれぞれ 0~0.5%、0~0.2% の割合で検出された。健康成人では、IFN- γ を産生する CD8 陽性 T 細胞および CD4 陽性 T 細胞はそれぞれ 1.2%、0.5% であった。一方、IE-1 ペプチド抗原で刺激した場合、IFN- γ を産生する CD8 陽性 T 細胞および CD4 陽性 T 細胞は、それぞれ 0~0.5%、0~0.5% の割合で検出された。後天感染児では、IFN- γ を産生する CD8 陽性 T 細胞および CD4 陽性 T 細胞は、それぞれ 0~2.1%、0~0.2% の割合で検出された。健康成人では、IFN- γ を産生する CD8 陽性 T 細胞および CD4 陽性 T 細胞の割合はそれぞれ 4.5%、0.1% であった(表 1、2 および図 5、7)。

D. 考察

これまでの研究結果により、先天性 CMV 感染児において CMVpp65 抗原特異的 CD8

陽性 T 細胞が検出可能であること、および CMV ペプチド抗原(pp65 または IE-1)刺激に対して細胞増殖能および IFN- γ 産生能を示す T 細胞が検出可能であることが示された。このことから、先天性 CMV 感染児において、CMV 抗原に対して機能性を保持する CMV 特異的 T 細胞が存在する可能性が示唆された。一方、先天性 CMV 感染児の CMV 特異的免疫応答は、健康成人の免疫応答と比較して低いレベルにあることを示唆するデータが得られた。また、後天性 CMV 感染児 4 例における CMV 特異的免疫応答は、先天感染児と同様に健康成人と比較して低いレベルにあることを示唆するデータが得られた。このことから、先天感染児の CMV 特異的免疫応答が健康成人に比較して低レベルにあるという特徴は、先天感染児および後天感染児に共通する特徴である可能性も考えられた。

興味深いことに、2 歳の先天感染児(難聴あり)および 2 歳 5 ヶ月の後天感染児は、1 歳未満の他の感染児に比べて CMV 特異的免疫応答がやや高い傾向を示した(図 4、5a、7a)。このことは、乳幼児の成長に伴って CMV 特異的免疫応答が増強していくことを示唆するとも考えられる。今後は、先天性および後天性 CMV 感染児の成長にともなう CMV 特異的免疫応答の追跡調査を行うことによって、CMV 特異的免疫応答の特徴がさらに明らかになると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1. Nakamura H, Liao H, Henmi C,

Imadome K, Yajima M, and Fujiwara S. Cellular immunological responses to CMV in congenitally CMV-infected infants. 14th International

Conference on Immunobiology and Prophylaxis of Human Herpesvirus Infections. Kobe, Japan, October 6-8, 2009.

2. Nakamura H, Liao H, Henmi C, Imadome K, Yajima M, Fujiwara S, Koyano S, Yoshikawa T, Moriuchi H, Suzutani T, Asano K, Oh'ishi T, Itoh Y, Taiji H, Inoue N, Fujieda K, for the Japanese Congenital Cytomegalovirus Study Group. Cellular immunological responses to CMV in congenitally CMV-infected infants identified by a pilot newborn CMV screening study in Japan. 3rd Congenital Cytomegalovirus Conference. September 23, 2010.
3. 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。
4. 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 25-27 日、東京。
5. 廖 華南、Jung-Hyun Lee、井上直樹、宮戸健二、藤原成悦、中村浩幸。ヒトサイトメガロウイルス UL136 領域に

見出された新規遺伝子産物。第 58 回日本ウイルス学会学術集会。2010 年 11 月 7-9 日、徳島。

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

図 1

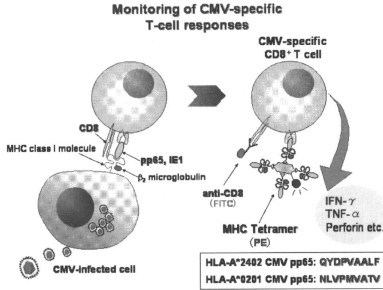


表 1

CMV特異的細胞性免疫応答(先天性CMV感染児)

Case	Symptom	Age	HLA type	MHC tetramer		#IFN-γ producing cells (upper row: CD8+; lower row: CD4+)		
				pp65-unstimulated	pp65-stimulated	HIV gag	pp65	IE1
1	AS	6m	A*2402	0.1%	0.6%	0.0%	0.2%	0.8%
2	AS	6m	A*0206	0.0%	0.2%	0.3%	0.3%	0.1%
3	AS	2m	A*2402	0.1%	0.5%	0.0%	0.4%	0.1%
4	AS	2m	A*0201	0.0%	0.0%	0.0%	0.3%	0.8%
5	AS	3m	A*0201	0.3%	0.4%	0.3%	0.3%	0.1%
6	AS	1m	A*0201	0.4%	0.0%	0.3%	0.3%	0.1%
7	AS	A*0201	0.1%	0.5%	0.3%	0.2%	0.9%	
8	AS	A*2402	0.0%	0.2%	0.3%	0.3%	0.2%	
9	AS	NT	NT	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
10	AS	A*1101	NT	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
11	AS	4m	NT	NT	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
12	AS	A*2419	NT	NT	0.1%	0.2%	0.1%	0.1%
13	難聴	2y	A*0206	0.1%	1.1%	0.1%	0.2%	0.3%

AS, asymptomatic; NT, not tested.

図 2

MHC-peptide tetramer staining

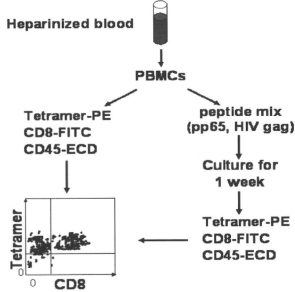


表 2

CMV特異的細胞性免疫応答(後天性CMV感染児および健康成人)

Case	Age	HLA type	MHC tetramer		#IFN-γ producing cells (upper row: CD8+; lower row: CD4+)		
			pp65-unstimulated	pp65-stimulated	HIV gag	pp65	IE1
1		A*2402	0.0%	0.2%	0.0%	0.3%	0.0%
2	11m	A*2402	0.0%	0.0%	0.1%	0.0%	0.1%
3	2y5m	B*1501	0.0%	0.0%	0.1%	0.5%	2.1%
4	4m	A*0201	0.0%	0.0%	0.0%	0.1%	0.1%
5	健康成人	A*0201	0.1%	4.5%	0.2%	0.5%	0.1%

図 3

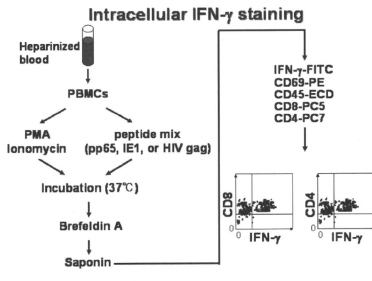


図 4

MHC TetramerによるCMV特異的CD8+ T細胞の検出(先天性CMV感染児および健康成人)

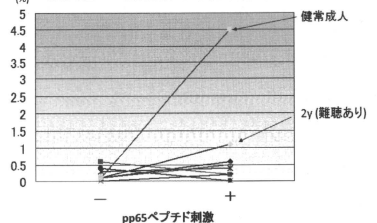


図 5

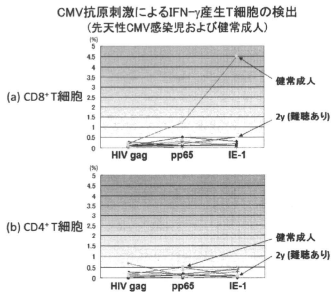


図 6

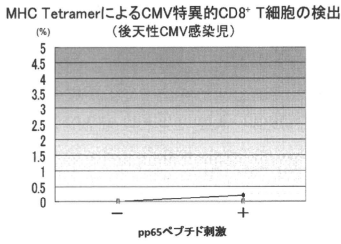
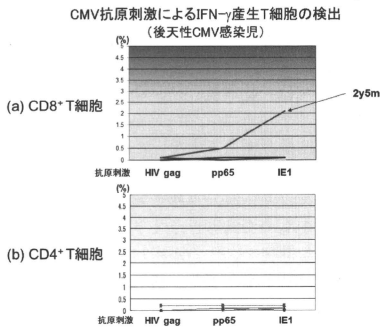


図 7



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

研究分担者 井上 直樹 国立感染症研究所ウイルス1部長

研究要旨

この3年間の研究班において、研究班全体として取り組む先天性サイトメガロウイルス（CMV）スクリーニングのパイロット調査の検査を一元的に担当した。検査には、我々が開発した迅速簡便な尿濾紙片を直接鋳型とするリアルタイム PCR 法を用いた。3年間で2万人以上を検査するという当初のスクリーニング目標を達成し、それ以前の約2千人と合わせ23,757人を検査した。最終的に先天性感染73例を同定したことから、我国の先天性CMV感染頻度は、約300人にひとり（0.31%）であった。感染児のガスリー濾紙（乾燥血）検体と尿濾紙検体を用いた場合の感度の比較を行い、ガスリー濾紙法では25%程度が偽陰性となる可能性があることを示した。尿濾紙法によるCMV検査に要した実費は一人当たり750円程度であった。実費に諸般の経費を足してコマースベースで全新生児スクリーニングを実施することは技術的に可能であることが明らかになったが、限られた本研究事業補助金で2万人以上をスクリーニングすることは検査を担当した当研究室にとって過度の負担となった。今後はパートナーシップを利用した調査が望ましいと思われる。今回の調査において、明らかになったことは以下の通りである。1)感染頻度に地域差はない。2)NICUなどを有する施設では、市中産科医院と比べ2倍程度高い頻度で先天性感染が見られ、リスクがある妊婦がこうした施設に照会されている結果と思われた。3)母親の年齢や新生児の性別・在胎週数は、感染児群と非感染児群で差は見られなかった。4)感染児群で低出生体重児の割合が有意に多かった。5)同胞が存在する児が有意に多かった。疫学的に同胞の存在が多いこの事実と一致して、感染児とその同胞のCMV株がほとんどの場合一致することを見出した。従って、年長児が妊婦に対する感染源である可能性が高いと考察され、妊婦に対する教育・啓発とワクチン開発の必要性が強く認識された。感染児のフォロー・抗ウイルス薬効果の評価・耐性株の出現の検討などを目的として他の研究分担・協力者から送付された合計1,030検体についてCMV定量などの検査を3年間で行った。

A. 研究目的

CMVは幼小児期に自然感染により症状のない不顕性感染を成立させ生涯その宿主に潜伏する。健康人にあつては何ら問題のないCMV感染ではあるが、妊婦に初感染が起こると胎盤を通して胎児へ感染し（先天性感染）、流産や出生児の発達障害の原因となることが知られている。マススクリーニングにより、出生時に先天性CMV感染児を同定することで、抗ウイルス薬による早期治療やフォローアップによる聴覚や精神発達遅滞などの後遺症発症に対する早期介入など必要な対策を実施することが可能となると考えられる。しかしながら、出生後2-3週以内に採取した尿を用いて先天性CMV感染を検出する従来の方法は、尿の収集・保存、尿からのウイルス分離やPCRなどに要

する膨大な労力と費用のために、大規模なスクリーニングに適さないと考えられてきた。そのため、欧米では、乾燥血、いわゆるガスリー濾紙、を用いたスクリーニングが試みられているが、血液中のCMV量が極めて少ないためスクリーニングの感度が問題となっている。我々は、簡便迅速かつ安価なスクリーニング法として、尿を吸収した濾紙片そのものを鋳型としてリアルタイムPCRを行う方法を開発し、その臨床的応用が可能であることをすでに示してきた。研究班では、この方法を採用し、3年間で約2万人のパイロット調査を行い、全新生児を対象としたCMVスクリーニング体制の構築が可能かを検討した。そのため、他の研究分担者の関連施設において採取される濾紙尿を当研究室において一元的に検査し、その結果を各

研究分担者に報告し感染児のフォローを可能にした。疫学的基本情報、ウイルス学的知見の蓄積により、感染リスク・ルートや神経学的障害の発症リスクを明らかにすることを目的として研究を実施した。

B. 研究方法

1) 臨床検体

各研究分担者の関連施設で採取された尿濾紙検体をスクリーニングに用いた。また、スクリーニング対象となった新生児の性別・在胎週数・出生体重・同胞の有無及び母親の年齢について情報提供を各施設から受けた。

スクリーニング陽性児の確認検査や抗ウイルス薬のウイルス学的効果判定のために、尿・血液・髄液などの臨床材料から DNA を精製した。尿検体には QIAamp Viral RNA kit (QIAGEN) を、乾燥臍帯及び血液検体には QIAamp DNA Mini kit (QIAGEN) をそれぞれ用いて DNA 精製を行った。そのほか、高度難聴など先天性 CMV 感染が疑われる児のレトロスペクティブな検査に乾燥臍帯を用いた。

2) リアルタイム PCR による CMV の検出・定量

尿を含む特殊濾紙より 3 ミリ径の濾紙片をパンチにて打ち抜き、200 μ l の水で洗浄後、濾紙片を直接リアルタイム PCR 反応液に加えて行った。2 次検査では、3 ミリ径の濾紙片を数枚打ち抜き、1ml の水で洗浄後、100ng のサケ精子 DNA を含む 50 μ l の水を加え、30 分間 98°C で処理し、溶出してきた DNA を回収した。

3) ウイルス分離

ヒト 2 倍体線維芽細胞もしくはテロメラゼ遺伝子により不死化されたヒト線維芽細胞 hTERT-BJ1 に尿検体を接種し培養した。先天性感染の場合、1 週間以内に細胞変性効果が出てくるので、非感染細胞を適宜加えながら 2-4 回継代し、感染細胞及び培養上清をそれぞれ回収しストックを作成した。回収したストックウイルスを hTERT-BJ1 細胞に感染 3 日後、抗 CMV IE2 抗体 (Chemicon) を用いて免疫染色し、CMV であることを確認した。細胞変性効果が接種した細胞で観察されない場合には 1 週間に 1 回程度の頻度で 1:2 に細胞を数回継代した。1 ヶ月程度継代しても細胞変性効果が見られない時には、ウイルス分離不可とした。

4) CMV 遺伝子型の解析

リアルタイム PCR により求めたコピー数をもとに、各反応約 100 コピーの CMV DNA を鋳型として nested PCR により目的領域を増幅し、目的 DNA 断片を精製後、塩基配列を決定した。

(倫理面の配慮)

本研究は、研究班に参加する各研究者の関連機関及び国立感染症研究所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。

C. 研究結果

1. 新生児の尿スクリーニング結果

長崎大・藤田保健衛生大・東大・成育医療センター・福島医大・神戸大・旭川医大とその関連施設を中心に検体が収集され、当研究室で一元的に検査を行った。検査した検体数、追加検体による確認まで含め最終的に先天性 CMV 感染を確定した数を【表 1】に示す。総計 23,757 検体をスクリーニングし、一次検査において陽性であり、二次検査においても陽性が確認された件数は、75 例であった。このうち、6 例が 2 次検査で反応当り 9⁹90 コピー、即ち、元の尿で 1ml 当り 3x10⁴-10⁶ コピー程度であった。その 4 例が、追加の尿検体においても陽性で、予想された程度の低値の CMV 量であった。その 3 例ではウイルス分離も可能であった。最終的に 2 例のみがスクリーニング偽陽性で、73 例が先天性感染と確認された。従って、先天性感染の頻度が 0.31% であることが明らかになった。地域間での先天性 CMV 感染頻度は、統計学的な有意差を認めなかった。

2. 施設タイプによる先天性 CMV 感染頻度の違い

市中産科医院や市民病院 (タイプ 1) と県立病院・国立病院・大学病院など比較的大規模病院や NICU 施設を持つ病院 (タイプ 2) に大きく分けて、先天性 CMV 感染頻度を比較した。【表 2】に示すように、タイプ 1 の施設に比べ、タイプ 2 施設での頻度が 2 倍程度高いことが明らかになった。

3. 新生児基本情報からみた先天性感染児の特徴

25 施設中 18 施設から報告されたスクリーニングの対象となった新生児に関する基礎情報をもとに、先天性 CMV 感染児の特徴を解析した。【表 3】に示すように、母親の年齢、児の性別・在胎週数

は、非感染児と感染児群間で有意な差は認められなかった。出生体重を単純に比較すると両群で差は認められないものの、2500g以下の低体重出生や在胎週数からみて平均体重より1.5標準偏差(SD)以下の児の割合をみると、両群間に有意な差があった。出生時症候性の児における低体重は、より顕著であった。最も重要な特徴は、先天性CMV感染児が同胞(年長児)を有する頻度が有意に高いことであった。

4. 遺伝子配列解析による感染経路の検討

感染児73例中44例に年長同胞がいるが、そのうち感染児34例より検体を得た。25例の尿に遺伝子解析に十分なCMV量が存在した。また、スクリーニング以外で入手された3ペアも加え、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28ペアで解析することでウイルス株の同一性を解析した。その結果、【表4】に示すように、4ペアを除き残りの24ペア間でCMV株が同一であった。これらの結果は、先天性感染が同胞から妊婦へ感染した結果と考えられた。

5. ガスリー濾紙(乾燥血)法と尿濾紙法の感度比較

本スクリーニング調査で同定された感染児のうち、旭川医大(古谷野)で同定された感染児12例のガスリー濾紙(乾燥血)検体の送付を受け、我々の尿濾紙法との感度の比較を行ったところ、ガスリー濾紙では25%程度が偽陰性となる可能性があることが明らかになった(詳細は、22年度報告書参照)。

6. 症候性とウイルス量との相関

出生時に明確な症候性、軽度の症状、無症候性の3分類で、血中及び尿中のウイルス量を比較し、血中ウイルス量については症候性児で有意に高値を示した(詳細は、22年度報告書参照)。

7. 抗ウイルス治療などに伴うCMV量のモニター

スクリーニングなどで同定し難聴や網膜炎のために治療を行った東大・神戸大・成育医療センターの症例のほか、顕性感染のため治療を行った横浜市大、東京医大、岩手県立病院の症例など抗ウイルス薬治療を行った15例について、ウイルス分離とウイルスDNA量の経時的変化を解析した。難聴など先天性感染を疑うような症例の確定診断などにも相当の精力を注いで協力した。3年間

で、班員及びその協力研究者から送付された検体は、尿検体349、血液検体263(血漿・血球に検査するため、検査検体としては526)、乾燥臍帯及び乾燥血検体128、母乳・髄液・羊水などその他の検体30、総計1030検体であった。また、薬剤耐性マーカー試験を3症例について行ったが、いずれも耐性ではなかった。

D. 考察

1. スクリーニングの意義

300人に1人の先天性感染児が同定され、その5人に1人が症候性であった。この頻度は、ダウン症候群に匹敵し、マススクリーニングが実施されている他の代謝異常疾病より遥かに高い頻度であった。研究班として明らかにしたように、頭部画像解析によってしか明らかにならない異常を有する感染児が10%程度いることや軽微な症状であるために感染との関連が意識されなかった症例もあること、今後長期のフォローから神経学的後遺症が明らかになることなどを勘案すると、全新生児CMVスクリーニング体制の必要性は明白である。

2. 検査に要した日数・費用

検体受領後から検査結果報告までに要した日数は、平均1.2日で、4日を越えたケースは全体の3.2%であった【図1】。日数を要したケースは、金曜午後に検体が到着し月曜が休日の場合、5月の連休、1次検査で極めて弱く陽性で2次検査で最終的に陰性と判定されたものなどが主な理由であった。

1次スクリーニングに要した1検体当りの費用の内訳は以下の通りである。スクリーニング用特殊濾紙200円、プローブ・プライマー・マスターミックスなどのリアルタイム用試薬と反応プレート200円、検査を直接担当するパートタイム職員の人件費100円、その他(機器メンテナンス、濾紙などの郵送費など)100円で計600円が最も効率が良い場合でなる。しかしながら、各施設に送付した濾紙が、すべて有効には使われず、実際に回収されたものが、平均70%程度(施設によっては、50%程度)であり、費用がかさむ原因となった。さらに、1次検査で陽性が疑われた場合の検査や、2次検査陽性児からの追加検体のリアルタイムPCRでの検査・ウイルス分離などの費用が発生した。全体として計算すると1検体当たり750円程度であった。コマーシャルベースに移行する際

上記の費用計算に含まれていないため加算すべきものとして、全体の監督者の人件費とリアルタイムPCR使用に対するロイヤリティがある。それでもなお、現実的な費用の徴取で、かつ採算が取れる検査体制を構築することは可能であると考えられた。

3. スクリーニングにおける今後の課題

尿濾紙法によるスクリーニングが、優れていることは明確となったが、従来考えられたよりも10-100分の1程度と低い尿中CMV量の先天性感染症例が、5%程度見いだされたため、その要因と結果判定の閾値設定の明確化が必要であると考えられた。

また、特殊濾紙が誤って長時間直接皮膚に接触すると炎症が発生することから、濾紙のサイズを小さくすることや超未熟児などに適用しないことが今後求められる。

当研究室は研究班の検査センター的役割を担ってきたが、膨大なスクリーニング検体に加え、研究分担・協力者からの検査依頼もあり、完全にリソースが不足した。3年間に配分された研究費は、実際に必要な経費の半分以下であり、差額は実質的に当研究室の持ち出しとなった。今後、同様な調査研究を行うに当っては、予算措置と対応した現実的な目標設定や目的を明確にした厳格な検査依頼体制が必要不可欠である。

4. 先天性感染のリスクとしての子供

感染児と同胞兄弟間で、28例中24例が同一ウイルス株に感染していた事実は、家族内感染がCMVの主要な感染ルートであることを示している。母親の血清学検査が最終的には必要であるが、疫学的な同胞の存在に対するバイアスとウイルス株の遺伝子検査の結果は、多くの場合、同胞の尿などの体液を起源として、母親から第2子に先天性感染が起こったと考察される。このことは、妊娠可能年齢女性のCMV既感染率が低下傾向にある昨今、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、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子妊娠時の初感染が回避できないと想定される。従って、先天性CMV感染を防ぐには、こうしたリスクを妊婦に周知する教育・啓発と初感染を防ぐためのCMVワクチンの開発・実用化が急務と考えられる。

E. 結論

1. ガスリー濾紙(乾燥血)を用いたスクリーニングよりも、尿濾紙法の感度が優れていた。また、尿濾紙法によるスクリーニングは、費用も一人当たり750円であり、方法も簡便であることから、全新生児を対象にできる可能性が高い。
2. 尿濾紙法を用いて、23,757人の新生児の先天性CMV感染を一元的に検査した結果、我国の先天性CMV感染頻度は約300人にひとり(0.31%)であることが明らかになった。
3. NICUなどを有する施設では、市中産科医院と比べ2倍程度高い感染頻度である。
4. 感染児群で低出生体重児の割合が有意に多かった。
5. 感染児には有意に同胞が存在したことと一致し、同胞が感染児と同一のCMV株を排泄していることから、妊婦に対する感染源である可能性が高く、妊婦の啓発とワクチン開発の必要性が強く認識された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yan H, Koyano S, Inami Y, Yamamoto Y, Suzutani T, Mizuguchi M, Ushijima H, Kurane I, Inoue N. Genetic linkage among cytomegalovirus glycoprotein N (gN) and gO genes, with evidence for recombination from congenitally and postnatally infected Japanese infants. *J. Gen. Virol.* 89:2275-2279, 2008.
- 2) Koyano S, Inoue N, Nagamori T, Yan H, Asanuma H, Yagyū 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:e93-5, 2009.
- 3) 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.
- 4) Nagamori T, Koyano S, Inoue N, Yamada H, Oshima M, Minematsu T, Fujieda K. A symptomatic congenital cytomegalovirus infection occurred by viral reactivation more than 2 years after an abortion due to the same strain. *J. Clin. Virol.* 49:134-136, 2010.
- 5) 古谷野伸, 井上直樹, 長森恒久他「先天性サイトメガロウイルス感染マスキングの意義」平成22年度北海道小児保健研究会会誌、36-40, 2010.
- 6) 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.
- 7) 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*
 - 8) 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.*
 - 9) 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. *Transplant Infect. Dis. In press*
 - 10) 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 「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、102:131-138、2011
 - 11) 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「サイトメガロウイルス」特集:母児感染が問題となる感染症、周産期医学 印刷中
 - 12) 井上直樹 各論 4-3章 先天性サイトメガロウイルス感染症の診断と疫学、川名尚・小島俊行編「母子感染」金原出版、印刷中
 - 13) 古谷野伸, 井上直樹, 長森恒久, 藤枝憲二「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について」マスキリーニング学会誌 印刷中
2. 学会発表
- 1) 顔海念, 古谷野伸, 稲見有希, 山本由美子, 錫谷達夫, 水口雅史, 牛島廣, 倉根一郎, 井上直樹 「サイトメガロウイルス gN, gO 及び gH 遺伝子間の連鎖と相同組換え」第 23 回ヘルペスウイルス研究会、鳥取、2008 年 6 月
 - 2) 井上直樹 シンポジウム講演「サイトメガロウイルスの新生児マスキリーニング・レトロスペクティブ診断・遺伝子型解析」第 44 回日本周産期新生児医学会学術集会、横浜、2008 年 6 月
 - 3) 古谷野伸, 井上直樹, 長森恒久 「新生児期以降に発達障害が顕在化した出生時無症候性先天性サイトメガロウイルス感染の検討」第 56 回日本ウイルス学会学術集会、岡山、2008 年 10 月
 - 4) S Koyano, N Inoue, H Yan, H Asanuma, K Yagyū, M Osaki, C Seiwa, K Fujieda. Late-onset developmental delay due to congenital cytomegalovirus infection, asymptomatic in neonate. 2008 Congenital Cytomegalovirus Conference. 2008 年 11 月
 - 5) N Inoue Roundtable Presentations for 'Neonatal screening'. (招待講演) 2008 Congenital Cytomegalovirus Conference. 2008 年 11 月
 - 6) N Inoue. Newborn CMV screening and genotyping of congenital cases. (招待講演) 12th International CMV & Betaherpesvirus Workshop, Boston, USA, May 2009.
 - 7) S Yamada, N Nozawa, H Katano, Y Fukui, M. Tsuda, Y. Tsutsui, I. Kurane, N Inoue. Characterization of the guinea pig CMV genome locus that encodes homologs of human CMV major immediate-early genes, UL128, and UL130. 34th International Herpesvirus Workshop, Ithaca NY, USA, July 2009.
 - 8) S Yamada, M Kato, H Katano, Y Fukui, M Tsuda, Y Tsutsui, N Nozawa, I Kurane, N Inoue. Characterization of guinea pig CMV GP129 and GP131, orthologs of HCMV UL128 and UL130, which are essential for efficient viral growth in vivo but not in vitro. 14th International Conference on Immunobiology and Prophylaxis of Human Herpesvirus Infections. Kobe, Oct. 2009.
 - 9) T Nagamori, S Koyano, N Inoue, H Yamada, M Oshima, K Fujieda. 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, Oct. 2009.
 - 10) M Ikuta, K Asano, S Koyano, N Inoue, K Ishibashi, T Suzutani. Strain-specific cytomegalovirus (CMV) seroepidemiology in mothers and neonates with congenital CMV infection. 14th International Conference on Immunobiology and Prophylaxis of Human Herpesvirus Infections. Kobe, Oct. 2009.
 - 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、東京、2009 年 11 月
 - 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 57 回日本小児科学会東京都地方会講話会、東京、2009 年 12 月
 - 13) Inoue N, Koyano S, Yoshikawa T, Itoh Y, Moriuchi H, Asano K, Yamada H, Suzutani T, Fujieda K, for the Japanese Congenital Cytomegalovirus Study

Group. CMV strains identified in urine specimens of almost all congenitally-infected newborns were identical to those of their siblings, suggesting siblings as the major risk factor for congenital infection in Japan. 2010 Congenital Cytomegalovirus Conference, Paris, 2010.

- 14) Koyano S, Inoue N, Oka A, Moriuchi H, Asano K, Yamada H, Itoh Y, Yoshikawa T, Fujieda K, for the Japanese Congenital Cytomegalovirus Study Group. Multi-center study on congenital CMV in Japan. 2010 Congenital Cytomegalovirus Conference, Paris, 2010.
- 15) Nakamura H, Liao H, Henmi C, Imadome K, Yajima M, Fujiwara S, Koyano S, Yoshikawa T, Moriuchi H, Suzutani T, Asano K, Ohishi T, Itoh Y, Taiji H, Inoue N, Fujieda K, for the Japanese Congenital Cytomegalovirus Study Group. Cellular immunological responses to CMV in congenitally CMV-infected infants identified by a pilot newborn CMV screening study in Japan. 2010 Congenital Cytomegalovirus Conference, Paris, 2010.
- 16) Moriuchi H, Morioka I, Yamada H, Imamura T,

Asano K, Oka A, Itoh Y, Yoshikawa T, Koyano S, Inoue N, Fujieda K, for the Japanese Congenital Cytomegalovirus Study Group. A Multi-center study on the treatment of congenital CMV in Japan. 2010 Congenital Cytomegalovirus Conference, Paris, 2010.

- 17) 廖華南, Jung-Hyun Lee, 井上直樹, 宮戸健二, 藤原成悦, 中村浩幸. ヒトサイトメガロウイルス UL136 領域に見出された新規遺伝子産物、第 58 回日本ウイルス学会学術集会、2010 年 11 月
- 18) 生田和史、石岡賢、佐藤友香、金子久俊、古谷野伸、井上直樹、錫谷達夫. リアルタイム PCR 法を用いたサイトメガロウイルスの型別定量判別法、第 58 回日本ウイルス学会学術集会、2010 年 11 月

G. 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

表 1 スクリーニング検査結果

施設(数) 担当研究分担者		旭川(3) 古谷野	札幌(1) 山田	福島(4) 浅野	成育(1) 伊藤	東大(1) 岡	千葉(1) 岡	藤田(3) 吉川	神戸(3) 山田	長崎(6) 森内	全体
スクリーニング数 [先天性感染児数]	20年度以前	2,037 [8]									2,037 [8]
	20年度	1,583 [5]	139 [0]	622 [4]	212 [0]	138 [1]	439 [1]	377 [1]		1,019 [3]	4,529 [15]
	21年度	1,570 [7]	224 [0]	1,528 [2]	1,081 [4]	857 [4]	1,973 [2]	769 [5]	807 [3]	2,187 [6]	10,996 [33]
	22年度 (2月18日現在)	670 [0]	69 [0]	824 [3]	443 [1]	740 [0]	1,653 [5]	224 [0]	1,537 [7]	32 [1]	6,192 [17]
	総数	5,860 [20]	432 [0]	2,974 [9]	1,741 [5]	1,735 [5]	4,065 [8]	1,370 [6]	2,344 [10]	3,238 [10]	23,759 [73]
先天性CMV感染頻度(%)		0.34	0.00	0.30	0.29	0.50	0.20	0.44	0.43	0.31	0.31

表 2 施設タイプによる先天性感染頻度の違い

	全施設 n=23,759	タイプ1 n=14,642	タイプ2 n=6,630
先天性感染児数	73	35	38
先天性感染頻度	0.31%	0.22%	0.50%

表3 新生児の基本情報にみた先天性感染児の特徴

	スクリーニングされた 非感染児		先天性感染児	有意差 p
	n=20,646 [§]	n=71		
母親年齢 平均±標準偏差(才)	31.3 ± 4.8	29.7 ± 5.9	なし	
在胎週数 平均±標準偏差	39w1.9d ± 1w2.1d	38w3.2d ± 2w6.4d	なし	
出生体重 平均±標準偏差(g)	3002.8 ± 386.3	2743.0 ± 466.5	なし	
低体重出生2500以下	7.4%	23.9%	<0.001	
在胎週数から見て低体重(SGA)*	5.3%	18.3%	<0.001	
同胞(年長)の存在	48.3%	62.0%	0.021	

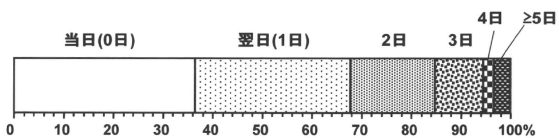
*-1.5SD以下

§情報のあった17施設分

表4 遺伝子型解析による感染経路の検討

No.	ID	地域	感染児のゲノムタイプ			株	同胞のゲノムタイプ		
			gN	UL144	UL146		gN	UL144	UL146
1	12034	北海道	1	B	12	同一	1	B	12
2	12542	北海道	2	A	13	同一	2	A	13
3	12571	北海道	3a	A	9	同一	3a	A	9
4	18189	北海道	4a	B	1	同一	4a	B	1
5	19382	北海道	4a	C	12	同一	4a	C	12
6	10744	北海道	4b	B	1	同一	4b	B	1
7	12999	北海道	4b	C	11	同一	4b	C	11
8	C097	北海道	4c	B	9	同一	4c	B	9
9	22511	福島	1	A	11	同一	1	A	11
10	20270	福島	3a	C	12	同一	3a	C	12
11	22986	福島	4b	B	12	同一	4b	B	12
12	31694	首都圏	2	B	na	同一	2	na	na
13	32368	首都圏	4a	A	8	同一	4a	A	8
14	92488	首都圏	4a	A	11	同一	4a	A	na
15	31982	首都圏	4b	A	9	同一	4b	A	9
16	71035	愛知	1	A	7	同一	1	A	7
17	70462	愛知	1	C	12	同一	1	C	12
18	72072	愛知	3b	C	11	同一	3b	C	11
19	40175	兵庫	2	B	5	同一	2	B	na
20	40346	兵庫	3a	A	9	同一	3a	A	9
21	40051	兵庫	4a	A	11	同一	4a	A	11
22	Y34	神奈川	2	A	7	同一	2	A	7
23	Y60	神奈川	4a	B	7	同一	4a	B	7
24	Y42	神奈川	4c	A	11	同一	4c	A	11
25	22383	福島	2	B	6	異なる	3a	A	9
26	32826	首都圏	4c	A	7	異なる	3b	B	13
27	83436	長崎	1	B	12	異なる	1	A	1
28	83641	長崎	3a	A	1	異なる	2	B	12
29	16503	北海道	3a	B	6	低コピー			
30	19389	北海道	4a	A	8	低コピー			
31	20040	福島	3a	C	12	低コピー			
32	21558	福島	3a	na	9	低コピー			
33	20026	福島	4c	B	11	低コピー			
34	20117	福島	na	na	na	低コピー			
35	71306	愛知	3b	B	5	低コピー			
36	43070	兵庫	3a	A	7	低コピー			
37	82718	長崎	2	B	9	低コピー			

図1 検体受領から結果報告までの日数



V. 診療ガイドライン

(小児感染免疫 Vol. 22, No. 4, 385-389, 2010)

■ ■ ■ 特別寄稿

先天性 CMV 感染治療プロトコール

森内 浩 幸¹⁾

はじめに

わが国における先天性 CMV 感染の実態と重要性が、本学会研究教育委員会による TORCH09 先天性・周産期感染症の実態調査（委員会メンバーについては脚注 1 を参照）、そして厚生労働省研究班による先天性 CMV 感染研究事業（班員については脚注 2 を参照）によって解明されつつある。研究班の解析によると、わが国では約 300 人の出生当たり 1 人が先天性 CMV 感染児であり、その約 2 割は厳格な臨床所見の基準からみて症候性であり、さらに 1 割が頭部画像に明確な異常を認める。したがって、出生 1,000 人に 1 人が先天性 CMV 感染により何らかの異常を示している。無症候性感染の場合でも遅発性の障害が出現する頻度は約 1 割程度とみられており、Down 症候群に匹敵する健康被害と社会経済的負担をもたらしていると推測されている (Koyano, et al: submitted for publication)。

早期診断に続く早期治療が感染児の予後を改善させることが、海外の研究により聴力¹⁾および精神運動発達²⁾の面で示されている。しかし、ガンシクロビル (GCV) やそのプロドラッグであるバルカンシクロビル (VGCV) はまだ先天性 CMV 感染症への保険適用が下りていないため、その使用にあたっては症例ごとに十分に検討し臨床デー

タを集積していくことが肝要である。

本稿では国内における先天性 CMV 感染児の治療管理を適正に導き、かつ効果や安全性をきちんと評価し将来の保険収載に向けて有用なデータが得られることを目指して、研究班で検討した治療プロトコールを紹介する。

I. 初回治療プロトコール

本プロトコールは、文献 1, 3) の研究プロトコールを元に作成したものであるが、研究としての側面以上に診療面での活用を意図したため、随所に改訂を加えている。例えば、文献 1, 3) では他の抗ウイルス薬や免疫グロブリンを使用した場合や HIV キャリア妊婦からの出生を除外規定に含めていたが、本プロトコールではそれは問わないことにしている。

1. 対象

症候性先天性 CMV 感染児で、① 治療開始時点で原則として生後 30 日以内、② 治療開始時点の体重が 1,200 g 以上、③ 治療開始時点での修正在胎週数 32 週以上。

除外項目 ① VGCV の投与に関しては、薬物の吸収に支障をきたすような消化管障害の存在または既往（例えば壊死性腸炎）、② クレアチニン > 1.5 mg/mL または CCr < 10 mL/min/1.73 m²、③ VGCV または GCV による治療の実施が困難とな

1) 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」に関する研究班・先天性 CMV 感染児に対する抗ウイルス療法検討ワーキンググループ（担当：森内浩幸）

*本稿は上記研究班の成果の一つを発表するものであり、日本小児感染症学会が本稿に述べられたプロトコールを推奨しているということではない。