

201117017A

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

先天性サイトメガロウイルス感染症対策のための妊婦教育の効果
の検討、妊婦・新生児スクリーニング体制の構築及び感染新生児
の発症リスク同定に関する研究

平成 23 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 山 田 秀 人

平成 24(2012)年 3 月

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

先天性サイトメガロウイルス感染症対策のための妊婦教育の効果
の検討、妊婦・新生児スクリーニング体制の構築及び感染新生児
の発症リスク同定に関する研究

平成 23 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 山 田 秀 人

平成 24(2012)年 3 月

目 次

I. 序文	3
II. 研究班構成員名簿	7
III. 総括研究報告	11
研究代表者 神戸大学大学院医学研究科 外科系講座産科婦人科学分野 山田 秀人	
IV. 分担研究報告	
1. サイトメガロウイルス母子感染対策のための妊婦教育効果の検討、ならびに妊婦スクリーニング体制の構築	25
神戸大学大学院医学研究科 外科系講座産科婦人科学分野 山田 秀人 他	
2. 妊婦の血清学的スクリーニング体制の構築に向けた抗体測定標準化に関する研究 社会福祉法人愛泉会日南病院疾病制御研究所	34
峰松 俊夫	
3. 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ューニングパイロット 調査の進捗状況および妊婦のサイトメガロウイルス抗体価調査	40
旭川医科大学小児科 古谷野 伸 他	
4. 先天性サイトメガロウイルス感染児の発達フォローアップに関する研究	45
杏林大学医学部小児科 岡 明	
5. 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及び発症のリスク因子の 解析：検査の実施と遺伝子型解析	49
国立感染症研究所ウイルス感染第1部 井上 直樹	
6. 先天性感染児の発症に関与する免疫学的要因の解析	56
独立行政法人国立成育医療研究センター研究所 中村 浩幸	

V. 会議記録

平成 23 年度第 1 回研究報告会	67
平成 23 年度第 2 回研究報告会	84

VI. 研究成果の刊行に関する一覧表	105
--------------------------	-----

VII. 研究成果の刊行物・別刷	111
------------------------	-----

I. 序 文

序 文

平成 20～22 年度の前研究班、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」(研究代表者 故藤枝憲二先生、古谷野伸先生) によって、日本における濾紙尿を用いた新生児 CMV スクリーニング体制の構築、ならびに先天性 CMV 感染児コホート集団の確定など、大きな成果が得られました。

平成 23 年度から新規に始まった本研究班、同事業「先天性サイトメガロウイルス感染症対策のための妊婦教育の効果の検討、妊婦・新生児スクリーニング体制の構築及び感染新生児の発症リスク同定に関する研究」では、前研究班による研究成果を一層発展させ、先天性 CMV 感染に関する臨床指針の確立に寄与する成果を上げることを目指します。具体的には、妊婦 CMV スクリーニング体制の構築、感染予防の妊婦教育・啓発プログラムの策定、新生児 CMV スクリーニングの普及および効率化、感染児の障害発症リスクの同定および障害発症減少のための早期介入・治療指針の確立を目標として、研究を開始しました。

日本において将来、先天性 CMV 感染の出生児数が減少すること、新生児マススクリーニング体制のもとでエビデンスに基づいた新生児治療・管理が実践され、感染児予後が改善されることを期待しています。このことは、CMV 母子感染による医療経済的負担が軽減し、一つの社会的医療基盤が確立することに繋がります。

平成 23 年度の成果として、妊婦は CMV 母子感染に関する知識が乏しい現状が明らかになりました。感染予防に関する妊婦教育啓発プログラムの作成と普及により、母子感染を減少させる効果が期待できます。超音波検査、IgG、IgM、IgG avidity 測定、PCR 検査を用いた妊婦スクリーニングは、CMV 初感染妊婦を同定する有用な方法である可能性が示されました。また、症候性の先天性 CMV 感染児に抗ウイルス薬治療を行うことにより、障害発症を抑制できる可能性が日本で初めて示されました。CMV 感染と発症のリスク因子として、TLR2 遺伝子多型、CMV 特異的細胞性免疫応答異常が同定されました。

我が国の先天性 CMV 感染に関する医療体制を確立できるように、本研究班は努力をしていく所存であります。研究班の目標に向かって継続してご尽力いただきました研究分担者ならびに研究協力者の皆様に心から感謝申し上げます。

多くのご助言とご支援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皆様には厚くお礼申し上げます。

平成 24 年 3 月

研究代表者 山田 秀人

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	山田 秀人	神戸大学大学院医学研究科 外科系講座 産科婦人科学分野	教 授
研究分担者	峰松 俊夫	社会福祉法人愛泉会日南病院疾病制御研究所	所 長
	古谷野 伸	旭川医科大学小児科	講 師
	岡 明	杏林大学医学部小児科	教 授
	井上 直樹	国立感染症研究所ウイルス感染第1部	室 長
	中村 浩幸	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	室 長
事務局担当	森岡 一朗	神戸大学医学部附属病院 周産母子センター 〒650-0017 神戸市中央区楠町7-5-1 TEL:078-382-6000 FAX:078-382-5756	助 教
経理事務担当	辻井 博文	神戸大学医学部 管理課経理係 〒650-0017 神戸市中央区楠町7-5-1 TEL:078-382-5100 FAX:078-382-5160	係 長

Ⅲ. 総括研究報告書

先天性サイトメガロウイルス感染症対策のための妊婦教育の効果の検討、妊婦・新生児
スクリーニング体制の構築及び感染新生児の発症リスク同定に関する研究

研究代表者 山田 秀人
神戸大学大学院医学研究科外科系講座産科婦人科学分野

【研究要旨】

1. 妊婦 CMV スクリーニング体制構築および妊婦教育の効果の検討

我が国の妊婦がサイトメガロウイルス（CMV）母子感染に関する知識が極めて乏しい現状が明らかになりつつある。感染予防に関する妊婦教育啓発プログラムを作成し普及させることにより、母子感染を抑制する効果を期待できる。

超音波検査、IgG, IgM, IgG avidity 測定、PCR 検査を用いた妊婦スクリーニングは、CMV 初感染妊婦を効率よく同定するために有用な方法である可能性がある。

2. 新生児 CMV スクリーニング体制の構築および効率化の検討

濾紙尿を用いた新生児スクリーニングは、CCMVI 児の同定に有用であった。費用対効果の算出等、実地臨床へ応用していくための効率化の検討がこれからの課題である。

3. 感染児の発症リスクの解析・同定

尿 CMV スクリーニング検査で陽性と診断された新生児のうち、1 歳以上フォローアップできた 62 例の長期予後を調査し解析した結果、無症候性、症候性感染児の死亡・後障害の発生率は各々9%、63%であった。症候性感染児においては、抗ウイルス薬治療により、後障害を減らせる可能性が示された。

CMV 感染や発症のリスク因子として、TLR2 遺伝子多型、CMV 特異的細胞性免疫応答異常が同定された。遅発性発症と新生児期頭部 MRI 検査における白質の信号変化との関連について解析を進めている。

研究分担者

峰松俊夫 社会福祉法人愛泉会日南病院
疾病制御研究所・所長
古谷野伸 旭川医科大学小児科・講師
岡 明 杏林大学医学部小児科・教授
井上直樹 国立感染症研究所
ウイルス 1 部・室長
中村浩幸 独立行政法人国立成育医療
センター研究所
母児感染研究部・室長

A. 研究目的

サイトメガロウイルス（CMV）感染は、健常人に重篤な疾病を起さない。しかし、妊婦の CMV 感染は胎児に子宮内感染を起こし、一部の先天性 CMV 感染児は出生時に神経学的障害など重篤な症状を呈する。これに加え、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。これらの遅発性障害は、胎内感染の早期診断が可能であれば言語・認識能力形成等の早期介入によって、機能的回復を図ることができる。また、抗ウイ

ルス薬による予後の改善が内外で報告されつつある。しかし、聴覚障害に限ってみても、現行の新生児聴覚検査では先天性 CMV 感染に伴う難聴の半数以上が検出できない。

本研究を申請する研究代表者と分担者は、平成 20～22 年度本研究事業（研究代表者藤枝憲二、3 年目より古谷野 伸）の中核を担い、先天性 CMV 感染児を同定する新生児スクリーニング体制の構築を目指して以下のことを明らかにした。

- 1) スクリーニングをした約 2 万 2000 人の新生児中、68 名 (0.31%) が先天性 CMV 感染であった。
- 2) 感染児の 2 割が新生児期に明確な臨床所見を示し、加えて 1 割が頭部画像にのみ異常が見られた。したがって、新生児 1000 人当たり 1 人が先天性 CMV 感染に伴う症候性児であった。同定された全感染児は、コホートとしてフォローアップを行い、遅発性後遺症の発生リスクについて検討を継続している。
- 3) 症候性児の治療プロトコール(案)を策定し、これに基づき抗ウイルス薬治療をスクリーニング同定児以外も含めて 20 人以上に行った。ほとんどの症例で重大な副反応を伴うことなく、一定の治療効果が見られた。
- 4) 主要感染ルートは、自分の子（同胞）が尿・唾液などに排泄するウイルスが母親（妊婦）に初感染したものと推察された。
- 5) 先天性感染児の症状と出生体重の間に相関があった。

本研究では、これらの成果を発展させ、以下の解析を目的とした。

1. 妊婦 CMV スクリーニング体制の構築および妊婦教育の効果の検討

- 1) 妊婦の意識調査を行い、これを元に妊婦に対する感染予防の教育・啓発プログ

ラムを策定する(山田・古谷野)。

- 2) CMV 初感染の妊婦を血清学的スクリーニングで効率的に絞り込む方法を確立する(山田・峰松)。

- 3) 新生児スクリーニングにおいて、この絞り込みの方法の有効性を検証する(山田・古谷野・井上)。

2. 新生児 CMV スクリーニング体制の構築および効率化の検討

これまでの研究によって、経産および低出生体重が先天性 CMV 感染リスクであることが明らかになった。これら要因をもつ新生児を中心に CMV スクリーニングを別途行うことで、スクリーニングの費用対効果が高まるのかを検討するとともに、効率的に先天性感染児のコホートの拡大を図る(井上)。

3. 感染児の発症リスクの解析・同定

平成 22 年度末までに同定された新生児約 75 人に、23 年度以降に本申請研究に基づいた新生児スクリーニングにより同定された児数を加えて、約 80 人の先天性 CMV 感染児のコホートが形成される。このコホートを基盤に、臨床像の評価(山田・古谷野)、発達フォローアップや神経学的予後の中枢神経画像解析(岡)、CMV 特異的 CD8+T 細胞等の免疫学的要因の解析(中村)、ウイルス量やウイルスゲノム型の解析(井上)などを行う。これらの解析をもとに、症候性か否かを規定する要因、遅発性障害発症に関与する要因を明らかにする。

出生時症候性の児については、平成 20～22 年度に本申請グループが策定したプロトコールに従って抗ウイルス薬治療を行う。実用的な CMV ワクチンがない現状で、妊婦の教育、妊婦スクリーニングおよび新生児スクリーニングを有機的に組合せ展開することによって、先天性 CMV 感染の発生頻度と重症度を低下させ、か

つ後障害減少のための早期治療・介入を可能にすることを旨とする。

B. 研究方法

1. 妊婦 CMV スクリーニング体制構築および妊婦教育の効果の検討

日本人妊婦における CMV 母子感染に関する知識調査 (山田) :

神戸大学医学部附属病院に通院する妊婦および妊娠希望女性を対象に、妊娠中の初感染が胎児に影響を及ぼす可能性のある感染症や CMV の感染経路等について、アンケート調査を行った。CMV の知識レベルを風疹と比較した。

CMV IgM 陽性妊婦における先天性 CMV 感染 (CCMVI) の発生予知因子の同定 (山田) :

CMV IgM 陽性ないしボーダーラインを呈した妊婦を対象に、超音波異常所見や母体 CMV IgM、CMV IgG、IgG avidity index (AI) 値、および CMV PCR 検査結果などを因子とし、CCMVI 発生に関わる予知因子の解析を行った。

妊婦の血清学的スクリーニング体制の構築に向けた抗体測定標準化 (峰松) :

母体の IgM 抗体が陽性かつ児の CMV 感染の有無が確認できた妊婦の血清を用いて CMV IgG の AI 値を Enzygnost 社製あるいはデンカ生研社の ELISA キットの抗原プレートを用いて測定した。算出された AI 値を比較し相関を調べた。

妊婦 CMV スクリーニング (山田・古谷野) :

神戸大学病院では、妊娠 16-18 週に母体血 CMV IgG、IgG AI を測定した。AI ≤ 45% の場合、IgM、アンチゲネミア、PCR (頸管粘液、尿、血液) を調べた。IgG 陰性妊婦には感染予防啓発を行い、妊娠 36 週に IgG を再検した。旭川医科大学病院では、妊娠判明時に CMV IgG を測定した。

2. 新生児 CMV スクリーニング体制の構築および効率化の検討

新生児 CMV スクリーニング体制の構築および効率化 (井上) :

神戸大学病院および旭川医科大学病院で、初感染を起こす可能性がある妊婦 (妊娠初期 IgG 陰性)、ないし同胞から感染するリスクがある経産妊婦から出生した新生児を含む全新生児を対象に、濾紙尿検体を採取した。CMV DNA の検出は濾紙片をそのままリアルタイム PCR 法で検出した。

3. 感染児の発症リスクの解析・同定

感染児のコホート調査 (山田・古谷野) :

CCMVI 児を同定した旭川医大・神戸大・杏林大・国立成育医療センター・福島医大・長崎大・藤田保健衛生大において、1 歳以上フォローアップできた 62 症例の出生時の症候・抗ウイルス療法・発達遅延・難聴・その他の異常の有無につき調査し解析した。

発達フォローアップと中枢神経画像による神経学的予後解析 (岡) :

CCMVI と診断された 13 症例につき、頭部超音波および頭部 MRI 検査による詳細な解析を行い、フォローアップでの発達評価を行った。

Toll-like receptor (TLR) 遺伝子群の多型解析 (井上) :

CCMVI 児 87 症例を対象に、TLR 遺伝子の目的とする多型を含む DNA 断片をクローニングし、塩基配列を確認した。多型配列を含む領域のリアルタイム PCR 増幅により genotype を決定し、日本人一般の多型頻度と比較した。

CMV 特異的 CD8+T 細胞等の免疫応答 (中村) :

CCMVI 児より採取した末梢血よりゲノム DNA を抽出し、HLA タイピングを行った。

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を染色し、フローサイトメーターによりCMV特異的CD8+T細胞を検出した。さらに、CMV抗原刺激に対するCMV特異的CD8+T細胞の増殖能を解析する目的で、CMV蛋白質pp65を用いて刺激し、培養後、再度MHC tetramerを用いてCMV特異的CD8+T細胞の検出を行った。

(倫理面への配慮)

CMVの新生児尿スクリーニング実施に伴う臨床検体採取について、本研究参加施設の倫理委員会の承認を得て行った。臨床検体の採取にあたっては、新生児を対象とするため、両親の同意のもとに人権に配慮して行った。担当医以外が個人を特定できないようにすべての検査は匿名化して行った。CMV感染が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、抗ウイルス薬治療が必要と判断される重症の場合には、通常の医療行為として、両親の同意を得るとともに、倫理委員会の承認を得て、治療に万全を期した。

妊婦スクリーニング実施に伴う臨床検体採取については、神戸大学で倫理委員会の承認が得られており、その他の施設も必要に応じて倫理委員会の承認を得た。妊婦で先天性感染が疑われる場合には、通常の医療行為として、本人の同意の下に、羊水穿刺などによる検査を行うとともに、治療が必要と判断される重症の場合には、倫理委員会の承認を得て通常の医療行為として、治療に万全を期した。

CCMVI児の生体試料を用いる検査・解析においては、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。検体採取は、研究目的を十分

説明した上で、書面での同意に基づいて行い、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. 妊婦CMVスクリーニング体制構築および妊婦教育の効果の検討

妊婦121人において、CMV母子感染に関する知識レベルを調査した。その結果、我が国の妊婦におけるCMV母子感染に関する知識や予防に対する意識の程度は、風疹のそれらに比して有意に低いことが明らかとなった(山田)。

CMVIgM陽性妊婦において、CCMVI発生因子について解析した。出生前の胎児超音波異常および血清IgG avidity低値が、CCMVI発生の独立した予知因子であることが明らかとなった。また、頸管粘液CMV PCR陽性率がCCMVIで有意に高いことが判明した(山田)。

日本国内で普及しているデンカ生研のキットでのAI測定法が、Enzygnostキットと同様に妊婦の感染時期の推定に有用か否かを調べた。両キットで得られたAI値に、良好な相関関係が得られた(峰松)。

神戸大学病院において、750妊婦でCMV IgGスクリーニングを実施し、555人(74%)が抗体陽性(195人、26%が陰性であった)であり、30人(全体の4.0%)が $AI \leq 45\%$ であった。15人(2.0%)は $AI \leq 35\%$ で、うち2人がIgM陽性かつ血液CMV-PCR陰性、1人がIgM陰性かつ血液CMV-PCR陽性であり、妊娠中にCMV IgGが陽転化した4人(陽転化率2.1%)を合わせた7人(0.93%)が初感染であった(山田)。旭川医科大学病院で344妊婦を調べた結果、抗体陰性者は95人、弱陽性者は6人となり、CMV感染のリスクを有する妊婦は101人(29.4%)であった(古谷野)。

2. 新生児 CMV スクリーニング体制の構築および効率化の検討

旭川医大及び神戸大とその関連施設を中心に濾紙尿検体が収集された。本年度分として、計 2042 検体をスクリーニングした。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のは、7 検体 (0.34%) であった (井上)。

3. 感染児の発症リスクの解析・同定

尿 CMV スクリーニングで陽性が判明し CCMVI と診断された児のうち、1 歳以上のフォローアップがなされた 62 例の長期予後を調査し解析した。無症候性、症候性感染児の死亡・後障害の発生率は各々 9%、63% であった。抗ウイルス薬治療を行わなかった症候性感染児の 86% が死亡・後障害であったのに対し、抗ウイルス薬治療を行った症候性感染児では、死亡・後障害は 44% であった (山田・古谷野・岡)。

CCMVI が確認された 13 例について頭部画像所見について詳細に解析した結果、頭部超音波検査にて 7 例で上衣下嚢胞の所見が認められ、頭部 MRI 検査がなされた 12 例中 6 例で大脳白質の信号変化の所見を認めた。併せて 13 例 9 例で頭部画像所見があった。頭部 MRI 検査での画像所見陽性例では、全例 (100%) で、新生児期の血漿で CMVDNA が検出された (岡)。

TLR2、TLR4、TLR9 の多型を検討した。先天性感染児では、日本人一般人口に比べ、TLR2 の SNP rs3804100 における CC 遺伝子型が有意に多く、同遺伝子 SNP rs1898830 の AG 遺伝子型が先天性 CMV 感染児では少ない傾向にあった。一方、TLR4 や TLR9 では、こうした差は認められなかった (井上)。

CCMVI 児 5 例について、CMV pp65 特異的 CD8+ T 細胞の検出・定量を行った。その結果、3 例において、CMV pp65 ペプチド抗原刺激により pp65 特異的 CD8+ T 細

胞が増殖反応を示した。また、CCMVI 児 2 例で CMV 特異的 CD8+ T 細胞応答の経時変化について解析した結果、pp65 抗原刺激に対する CMV 特異的 CD8+ T 細胞の増殖応答が変化していた (中村)。

D. 考察

1. 妊婦 CMV スクリーニング体制構築および妊婦教育の効果の検討

妊婦の母子感染に関する知識レベルの調査で、CMV は風疹よりも知識レベルが低いのみならず、妊娠中の初感染で胎児に影響を与える微生物の中で最も認知度が低いことが明らかになった。このことは、知識不足によって今後さらに妊娠中の CMV 初感染が拡大することが危惧され、注意を要する。逆に、CMV 母子感染予防に関する妊婦教育啓発プログラムを作成し普及させることにより、CMV 母子感染を抑制する効果を期待できる。

CMVIgM 陽性妊婦の CCMVI 発生予知因子の検討では、胎児超音波異常と CMV IgG avidity 低値が、CCMVI 発生の独立したリスク因子であることが判明した。超音波検査は重症例の検出率は高いものの、軽症例ではその感度は低い。そこで、IgG avidity 値に着目すると、CCMVI 児を出生した母体の妊娠中の IgG avidity 値は、感染児を出生しなかった母体より有意に低値であった。このことから、従来から報告のある胎児超音波検査に、母体血 IgG avidity 測定を組み合わせることによって、効率よく CMV 初感染妊婦および CCMVI 児を絞り込むことができることが明らかとなった。

CMV IgG avidity の測定には、世界的には Enzygnost 社製 ELISA キットが利用されているが、我が国においてはデンカ生研社製 ELISA キットの方が利用されている。

また、デンカ生研社製 ELISA キットのほうが安価でコスト的には優れている。そのため、日本国内で AI 測定法を普及させるためには、デンカ生研社製のキットの利用も再検討する必要がある。そこで、すでにデンカ生研社製 ELISA キットを用いて抗 CMV IgG 抗体 AI を測定されている血清で AI 測定的相关を検討した。その結果、AI 測定結果には良好な相関関係があることが認められた。また、初感染と既感染を区別する Enzygnost キットでの判定基準値と 35%は、デンカ生研キットではおよそ 45%であると判断された。このことは、Enzygnost 社製およびデンカ生研社製のキットが、ともに AI 測定の臨床応用が可能であることを示唆した。

旭川医科大学での妊婦の CMV IgG 抗体検査では、今までの日本からの報告と同様に、陽性率は約 70%であった。妊娠中の母体の CMV 初感染による CCMVI が、より重症（症候性）になる確率が高いことが知られている。約 30%の抗体陰性妊婦の初感染防止の重要性が再確認された。CMV 初感染ハイリスクの妊婦に対する感染予防の啓発が今後さらに重要となるであろう。神戸大学病院では、妊婦の CMV IgG や IgM だけでなく、IgG avidity 45%以下を cut-off と設定したスクリーニングを行い、妊娠中の CMV 初感染による CCMVI 例をすべて同定することができた。母体の末梢血・尿・頸管粘液の CMV PCR 検査を行った結果、CCMVI 例で頸管粘液 PCR 陽性、IgG 陽転化例では尿および頸管粘液の PCR が陽性であり、初感染診断の一助となる可能性が示された。

2. 新生児 CMV スクリーニング体制の構築および効率化の検討

初感染を起こす可能性がある妊婦（妊娠初期 IgG 陰性）ないし同胞から感染するリスクがある経産妊婦から出生した新

生児を含む約 2000 人の尿スクリーニングを施行した。今後、このスクリーニングを継続しながら、全新生児とハイリスク児に絞り込んだスクリーニングで費用対効果を算出し、効率化を検討していく必要がある。

3. 感染児の発症リスクの解析・同定

1 歳以上フォローを行った無症候性例の解析を行うと、正常発達を遂げていたのは 91%で、9%に異常があった。この頻度は、欧米より報告されている比率と概ね変わらない。しかし、発達遅滞の病態は、遅発性難聴に加えて、軽度発達障害に分類される自閉症や注意欠陥多動性障害が含まれるという知見を得た。このことは、胎児 CMV 感染対策・予防により、自閉症や注意欠陥多動性障害の発生を抑制できる可能性を示している。抗ウイルス薬療法をしなかった無治療の症候性 CCMVI 児は 86%が死亡、ないし後遺症を残し、我が国においても欧米からの報告同様に予後不良であった。一方、抗ウイルス療法を行った症候性児では、後遺症が 44%に減少した。症候性児の重症度は様々であるため、単純に比較はできないが、抗ウイルス薬治療を行うことにより、障害発生を抑制できる可能性を日本で初めて示した。

CCMVI 児のうち、頭部画像検査で何らかの所見を認める児は、高率に新生児期の児血漿中に CMV DNA が同定された。このことは、ウイルス負荷が高いことを示唆する。しかし、この頭部 MRI 検査での白質の信号変化は、器質的な変化である強い脱髄等の所見ではなく、感染に伴った何らかの可逆性の変化である可能性もある。この異常は、脳性麻痺や重度の知的障害が認められる例はなかったため、今後、高次脳機能や情緒面での発達についてさらに検討が必要である。

先天性感染児では、自然免疫に関与する TLR2 遺伝子多型が多いことを見出した。出生時症候性か否か、遅発性障害の有無、出生時および遅発性いずれかの臨床症状の有無など、各カテゴリー間での比較も行ったが、TLR2 遺伝子多型に有意な差は認められなかった。したがって、TLR2 遺伝子多型は発症のリスク因子ではなく、感染のリスク因子である可能性がある。

症候性 CCMVI 児および無症候性 CCMVI 児において、pp65 ペプチド抗原刺激に対して増殖応答を示す pp65 特異的 CD8+ T 細胞が存在する可能性を見出した。症候性児においては、pp65 抗原刺激に対する CMV 特異的 CD8+ T 細胞の増殖応答が、経時変化し増強する可能性がある。無症候性児については、同様の経時変化は同定されなかったため、症候性児にみられた pp65 特異的 CD8+ T 細胞の経時変化が、CCMVI 児の発育にともなう変化であるのか、または CCMVI 児の病態や予後と関連があるのかについて今後検討し、明らかにしていく予定である。

E. 結論

1. 我が国の妊婦は、CMV 母子感染に関する知識が極めて乏しい現状が明らかになりつつある。感染予防に関する妊婦教育啓発プログラムを作成し普及させることにより、母子感染を抑制する効果を期待できる。

2. 超音波検査、IgG, IgM, IgG avidity 測定、PCR 検査を用いた妊婦スクリーニングは、CMV 初感染妊婦を効率よく同定するために有用な方法である可能性がある。

3. 濾紙尿を用いた新生児スクリーニングは、CCMVI 児の同定に有用であった。症候性 CCMVI 児に抗ウイルス薬治療を行うことにより、障害発生を抑制できる可能性が日本で初めて示された。

4. CMV 感染や発症のリスク因子として、TLR2 遺伝子多型、CMV 特異的細胞性免疫応答異常が同定された。遅発性発症と新生児期頭部 MRI 検査における白質の信号変化との関連について解析を進めている。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yamada H, Nishikawa A, Yamamoto T, Mizue Y, Yamada T, Morizane M, Tairaku S, Nishihira J. Prospective study of congenital toxoplasmosis screening with use of IgG avidity and multiplex-nested PCR methods. *J Clin Microbiol.* 49: 2552-2556, 2011
- 2) Koyano S, Inoue N, Oka A, Moriuchi H, Asano K, Ito Y, Yamada H, Yoshikawa T, Suzutani T, for the Japanese Congenital Cytomegalovirus Study Group. Screening for Congenital Cytomegalovirus Infection Using Newborn Urine Samples Collected on Filter Paper: Feasibility and Outcomes from a Multi-centre Study. *BMJ Open.* 1: e000118, 2011
- 3) 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 Chem.* 17: 538-540, 2011
- 4) Imadome K, Yajima M, Arai A, Nakazawa A, Kawano F, Ichikawa S, Shimizu N, Yamamoto N, Morio T, Ohga S, Nakamura H, Ito M, Miura O, Komano J, Fujiwara S. Novel mouse xenograft models reveal a critical role of

- CD4+ T cells in the proliferation of EBV-infected T and NK cells. *PLoS Pathog.* 7: e1002326, 2011
- 5) Nagamori T, Koyano S, Asai Y, Nohara F, Okamoto T, Nagaya K, Hayashi T, Miura Y, Tsuda N, Iseki K, Azuma H. Sequential changes in pathophysiology of systemic inflammatory response in a disseminated neonatal herpes simplex virus (HSV) infection. *J Clin Virol.* 53: 265-267, 2012
 - 6) Ikuta K, Ishioka K, Sato Y, Imamura Y, Asano K, Koyano S, Inoue N, Suzutani T. A novel real-time PCR method for the determination and quantification of the two cytomegalovirus (CMV) gH-subtypes in clinical samples. *J Clin Microbiol.* 50: 499-501, 2012
 - 7) Yamada S, Taniguchi R, Kosugi I, Inoue N. Cytomegalovirus, *In:* (Eds) Singh SK & Ruzek D. "Neuroviral Infection" Taylor & Francis CRC Press. *In press*
 - 8) Taniguchi R, Koyano S, Suzutani T, Goishi K, Ito Y, Morioka I, Oka A, Nakamura H, Yamada H, Igarashi T, Inoue N. Polymorphisms in Toll-like receptor 2 are associated with congenital cytomegalovirus infection. *Submitted*
 - 9) 山田秀人, 森岡一朗, 森實真由美, 園山綾子, 谷村憲司. 先天性サイトメガロウイルス感染. 臨床細胞分子遺伝 16: 8-15, 2011
 - 10) 園山綾子, 谷村憲司, 平久進也, 蝦名康彦, 森岡一朗, 大橋正伸, 船越徹, 古谷野伸, 井上直樹, 峰松俊夫, 山田秀人. サイトメガロウイルス感染における妊婦および新生児スクリーニングの成果. 兵庫県母性衛生学会雑誌 20: 47-50, 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, 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
 - 12) 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: 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: 181-188, 2011
 - 13) 蝦名康彦, 谷村憲司, 山田秀人. 胎児の血液異常-パルボウイルス感染. 周産期医学 41: 1081-1085, 2011
 - 14) 山田秀人, 谷村憲司, 森岡一朗, 森實真由美, 園山綾子, 平久進也, 蝦名康彦, 井上直樹, 古谷野伸, 峰松俊夫. 周産期感染におけるカウンセリング-トキソプラズマとサイトメガロウイルス. 産婦人科の実際 60: 1309-1321, 2011
 - 15) 峰松俊夫: 移植後感染症における抗体検査法と免疫グロブリン療法. 日本輸血細胞治療学会誌 57: 231, 2011
 - 16) 佐藤雅之, 岡秀治, 坪田朋佳, 新宅茂樹, 堀井百祐, 中村英記, 真鍋博美, 平野至規, 室野晃一, 古谷野伸, 高橋弘典. 高度な無気肺を合併した気管支粘液栓症の1例. 小児科 53: 1-2, 2012

- 17) 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について. 日本マスキリーニング学会誌 21: 9-14, 2011
2. 学会発表
- 1) Tanimura K, Sonoyama A, Morizane M, Morioka I, Matsuo M, Yamada H: Fetal therapy with use of hyperimmunoglobulin in symptomatic congenital cytomegalovirus infection. The 1st European Conference of Microbiology & Immunology, May 12th-14th, 2011. Budapest, Hungary
- 2) Tairaku S, Tanimura K, Sonoyama A, Yamada H: A prospective study of congenital toxoplasmosis screening with use of IgG avidity and multiplex-nested PCR methods. The 1st European Conference of Microbiology and Immunology, May 12th-14th, 2011. Budapest, Hungary
- 3) Sonoyama A, Tanimura K, Morizane M, Morioka I, Tairaku S, Ohashi M, Funakoshi T, Koyano S, Inoue N, Minematsu T, Yamada H. Cytomegalovirus infection screening in mothers and neonates. The 1st European Conference of Microbiology & Immunology, May 12th-14th, 2011. Budapest, Hungary
- 4) Liao H, Lee JH, Inoue N, Miyado K, Fujiwara S, Nakamura H. Characterization of human cytomegalovirus UL136 gene product. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, September 6th-10th, 2011. Sapporo
- 5) Kiao H, Lee J-H, Inoue N, Miyado K, Fujiwara S, Nakamura H. Characterization of human cytomegalovirus UL136 gene product. XV International Congress of Virology. September 11th-16th, 2011. Sapporo
- 6) Ikuta K, Ishioka K, Imamura T, Asano K, Yoshikawa T, Moriuchi H, Fujiwara S, Kubo T, Koyano S, Inoue N, Suzutani T. A genotypic and serologic study of cytomegalovirus (CMV) reinfection in mothers and neonates with congenital CMV infection in Japan. XV International Congress of Virology. September 11th-16th, 2011. Sapporo
- 7) Moriuchi M, Koyano S, Inoue N, Moriuchi H. Neonatal mass-screening on congenital cytomegalovirus infection in Nagasaki, Japan: a pilot study. XV International Congress of Virology. September 11th-16th, 2011. Sapporo
- 8) 森岡一朗, 松尾希世美, 横田知之, 藤岡一路, 森川 悟, 三輪明弘, 柴田暁男, 横山直樹, 園山綾子, 谷村憲司, 大橋正伸, 山田秀人, 松尾雅文. 先天性サイトメガロウイルス感染症に対する病像に応じたバルガンシクロビル投与量の設定: 短期的臨床効果の検討. 第4回周産期新生児感染症研究会, 2011年3月26日, 神戸

- 9) 園山綾子, 谷村憲司, 森岡一朗, 大橋正伸, 船越 徹, 古谷野伸, 井上直樹, 峰松俊夫, 山田秀人. サイトメガロウイルス感染における妊婦および新生児スクリーニングの成果. 第4回周産期新生児感染症研究会, 2011年3月26日, 神戸
- 10) 松尾希世美, 森岡一朗, 香田 翼, 山本暢之, 横田知之, 藤岡一路, 森川 悟, 三輪明弘, 柴田暁男, 早川晶, 横山直樹, 山田秀人, 松尾雅文. バルガンシクロビル内服治療により聴性脳幹反応異常が改善した先天性サイトメガロウイルス感染症の2例. 第253回日本小児科学会兵庫県地方会, 2011年5月21日, 神戸
- 11) 山田秀人. 周産期におけるサイトメガロウイルス感染対策. 第29回日本産婦人科感染症研究会レクチャー(スポンサードレクチャー), 2011年6月4日, 倉敷
- 12) 園山綾子, 谷村憲司, 森岡一朗, 大橋正伸, 船越 徹, 古谷野伸, 井上直樹, 峰松俊夫, 山田秀人. サイトメガロウイルス感染における妊婦および新生児スクリーニングの成果. 第23回兵庫県母性衛生学会, 2011年6月4日, 神戸
- 13) 山田秀人. 母子感染の対策: トキソプラズマとCMV. 平成23年度第1回滋賀県産科婦人科医会総会・学術講演会(特別講演), 2011年6月12日, 大津
- 14) 生田和史, 石岡賢, 佐藤友香, 石橋啓, 浅野仁覚, 今村孝, 藤原成悦, 久保隆彦, 中井英剛, 吉川哲史, 森内浩幸, 古谷野伸, 井上直樹, 錫谷達夫: アルタイムPCR法によるサイトメガロウイルスの型別定量判別. 第26回ヘルペスウイルス研究会, 2011年6月24日, 大阪
- 15) 山田秀人. 母子感染の対策-トキソプラズマとCMV. 三田市民病院研修医委員会講演会(特別講演), 2011年6月29日, 三田
- 16) 森岡一朗, 香田 翼, 松尾希世美, 横田知之, 藤岡一路, 森川 悟, 三輪明弘, 柴田暁男, 横山直樹, 園山綾子, 谷村憲司, 山田秀人, 松尾雅文. 症候性先天性サイトメガロウイルス感染症に対するバルガンシクロビル治療効果の前方視的検討. 第47回日本周産期新生児医学会, 2011年7月10-12日, 札幌
- 17) 谷村憲司, 園山綾子, 森實真由美, 森岡一朗, 山崎峰夫, 松尾雅文, 山田秀人. 症候性先天性サイトメガロウイルス感染症の胎児治療に関する検討. 第47回日本周産期新生児医学会, 2011年7月10-12日, 札幌
- 18) 園山綾子, 谷村憲司, 森岡一朗, 大橋正伸, 船越 徹, 峰松俊夫, 山田秀人. サイトメガロウイルス妊婦・新生児スクリーニングの前方視的検討. 第47回日本周産期新生児医学会, 2011年7月10-12日, 札幌
- 19) 山田秀人. オーバービュー: CMV母子感染に関わる厚生労働省班研究の成果. 第8回免疫グロブリン胎児医療研究会, 2011年7月11日, 札幌
- 20) 谷村憲司, 山田秀人. 症候性先天性

サイトメガロウイルス感染症の胎児治療に関する検討. 第 8 回免疫グロブリン胎児医療研究会, 2011 年 7 月 11 日, 札幌

- 21) 園山綾子, 山田秀人. サイトメガロウイルス初感染に対して予防的免疫グロブリン投与を行った3症例. 第8回免疫グロブリン胎児医療研究会, 2011年7月11日, 札幌
- 22) 谷村憲司, 園山綾子, 森實真由美, 森岡一朗, 陌間亮一, 森田宏紀, 山崎峰夫, 山田秀人. 症候性先天性サイトメガロウイルス感染症の胎児治療に関する検討. 第 51 回日本先天異常学会, 2011 年 7 月 22-24 日, 東京
- 23) 松尾希世美, 横田知之, 藤岡一路, 森川 悟, 三輪明弘, 柴田暁男, 森岡一朗, 横山直樹, 山田秀人, 松尾雅文. 先天性 CMV 感染症に対する病像に応じたバルガンシクロビル投与量の設定: 短期的臨床効果の検討. 第 114 回日本小児科学会, 2011 年 8 月 12-14 日, 東京
- 24) 古谷野伸. 日本における先天性サイトメガロウイルス (CMV) 感染の実態とその治療. ヘルペス感染症研究会, 2011 年 8 月 19 日, 札幌
- 25) 園山綾子, 森實真由美, 大橋正伸, 船越 徹, 峰松俊夫, 山田秀人. サイトメガロウイルス母子スクリーニングによる四段階の感染対策. 第 63 回日本産科婦人科学会学術講演会, 2011 年 8 月 29 日, 大阪
- 26) 谷村憲司, 山田秀人. 妊娠中の水痘初感染により子宮内胎児死亡に至った 1 例. 第 5 回周産期新生児感染症研究会, 2011 年 9 月 3 日, 神戸
- 27) 井上直樹. 「わが国における先天性サイトメガロウイルス (CMV) 感染の現状と今後の対策の方向性」, シンポジウム「わが国におけるウイルス母子感染の現状と今後の展望」. 第81回日本感染症学会西日本地方会学術集会, 2011年10月6-8日, 北九州
- 28) 古谷野伸. 先天性サイトメガロウイルス感染マスキューニングの試み. 第 38 回日本マスキューニング学会, 2011 年 10 月 28-29 日, 福井
- 29) 松尾希世美, 森岡一朗, 香田 翼, 横田知之, 藤岡一路, 森川 悟, 三輪明弘, 柴田暁男, 横山直樹, 山田秀人, 飯島一誠. 先天性サイトメガロウイルス感染症における脳室拡大と聴性脳幹反応異常の関連. 第 56 回日本未熟児新生児学会, 2011 年 11 月 13-15 日, 東京
- 30) 山田秀人. 母子感染予防の重要性. 第 5 回三木小野合同病診連携カンファレンス (特別講演), 2011 年 11 月 16 日, 三木
- 31) 山田秀人. 習慣流産における NK 細胞と免疫グロブリン療法. 第 56 回日本生殖医学会学術講演会 (シンポジウム), 2011 年 12 月 8 日, 横浜
- 32) 山田秀人. 母子感染の対策トキソプラズマと CMV. 第 567 回宮城産科婦人科学集談会, 第 3 回宮城女性医学懇話会 (特別講演), 2011 年 12 月 10 日, 仙台