

201219012A

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 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 山 田 秀 人

平成 25 (2013) 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..... 29  
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. 先天性サイトメガロウイルス感染症における血清診断および免疫グロブリン製剤  
の評価..... 48  
社会福祉法人愛泉会日南病院疾病制御研究所  
峰松 俊夫
3. 唾液による新生児先天性サイトメガロウイルス感染マスキリーニングへの母乳  
栄養の影響..... 56  
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..... 61  
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..... 65  
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..... 69  
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 24 年度 班会議録..... 75

VI. 研究成果の刊行に関する一覧表 ..... 95

VII. 妊婦啓発用パンフレット ..... 101

VIII. 研究班ホームページ ..... 107



# I. 序 文

## 序 文

平成 23 年～24 年度の厚生労働科学研究補助金、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」では、皆様の多大なご協力とご支援を礎とし、有用な知見を得ることができました。

新生児尿スクリーニングによる先天性感染児の同定、感染児コホート解析による障害発症リスクの同定、障害発症減少のための治療指針の評価、有用な妊婦スクリーニング法の探索と検証、妊婦教育・啓発による母子感染予防の実践と評価、全国調査による先天性感染と妊婦感染症スクリーニングの実態把握について研究を行いました。将来確立しなければならない先天性サイトメガロウイルス感染の臨床指針に貢献する成果を上げることを目指したからです。

平成 24 年度の成果として、感染児コホートの解析により、先天性感染が原因で発達障害となる可能性や抗ウイルス薬治療の障害抑制効果の可能性を初めて示すことができました。症状や障害発生の要因として、頭部画像異常、自然免疫遺伝子の多型、細胞性免疫応答が関与することを明らかにしました。免疫グロブリン製剤の中和抗体価や Avidity Index を明らかにしました。先天性感染発生の独立した出生前リスク因子として、Avidity Index 低値と胎児超音波異常を同定しました。妊婦はサイトメガロウイルス知識が乏しいため、妊婦啓発用のパンフレットを作成し、そして感染予防啓発に役立つホームページを作成し公開しました。前方視的研究によって、IgG、IgG avidity 測定による妊婦スクリーニングは初感染による先天性感染の同定に、新生児尿スクリーニングは再活性化による先天性感染の同定に有用であることを明らかにしました。全国調査によって、多くの先天性サイトメガロウイルス感染児、特に軽症症候性や無症候性の感染児が出生時に見逃されている現状を明らかにしました。

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、アンケート調査にご協力いただきました全国産科施設の皆様、ご支援いただきました学会および医会の関係各位に心から感謝申し上げます。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も厚くお礼申し上げます。

平成 25 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 一郎	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	講 師
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. 妊婦の意識調査と教育ツールの作成・開示

CMV は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。

CMV 感染予防啓発と医師のためのホームページを作成し、公開した。また、CMV 感染予防のために妊婦啓発用のパンフレットを作成した。

2. 妊婦 CMV スクリーニング体制の構築

CMV IgG, IgG avidity 測定による妊婦スクリーニングは、初感染による症候性先天性感染の同定に有用であった。

全国調査では妊婦健診において CMV とトキソプラズマの感染スクリーニングの実施率は低かった。2011 年には先天性 CMV 感染として、中絶 3 人（ほか不確定 1 人）、流産 0 人（3 人）、死産 2 人（1 人）、分娩 29 人（3 人）が報告された。先天性 CMV 感染児の多くは、出生時に診断されていない現状が明らかになった。

3. 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

再活性化による先天性感染の同定には新生児尿スクリーニングが有用であった。妊婦 CMV スクリーニングと新生児 CMV スクリーニングを合わせて行うことで、全ての先天性感染症例の同定が可能になるものと考えられた。

唾液を用いて先天性 CMV 感染スクリーニングを行う場合は、母乳による CMV の混入が起りうることを明らかにした。

4. 感染児の発症リスクの解析・同定

先天性 CMV 感染児コホートのうち、2 歳以上に渡りフォローアップできた 62 人の中長期予後を調査し解析した。無症候性のうち 11%に遅発性難聴や発達障害の異常が発生した。抗ウイルス薬治療を行った症候性感染児の正常発達率は 30%であり、障害の発生を抑制できる可能性が示された。

難聴を認めた症例では、1 歳 6 か月時のフォローアップ MRI にて白質の信号変化が指摘され、難聴を呈する場合には中枢神経系への影響が大きい可能性が示唆された。

CMV 感染感受性を示すヒト神経系細胞株で CMV 遺伝子のテトラサイクリン誘導性発現を可能にする実験系を構築した。

宿主側要因として NK 受容体 NKG2D 遺伝子多型は、症候性発生に関与することを明らかにした。

## 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 CMV 感染は子宮内で胎児感染を起こし、一部の先天性 CMV 感染児は出生時に重篤な症状および神経学的障害をきたす。加えて、出生時無症候児の一部は遅発性に難聴や精神発達遅滞等の障害を引き起す。

我が国の妊婦の CMV 抗体保有率は減少し、約 70%となっている。CMV 母子感染対策の確立と展開は、喫緊の課題と言える。先天性感染リスクのある妊婦を血清学的に効率的に絞り込む方法を確認し、また、効果的な妊婦教育啓発プログラムを策定し普及させる必要がある。

以下の調査・解析を平成 24 年度の目的とした。

### 1. 妊婦の CMV 母子感染に関する意識調査と教育ツールの作成と公開

1) 妊婦の CMV 母子感染に関する意識調査を行う (山田)。

2) 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)。

### 2. 妊婦 CMV スクリーニング体制の構築

1) CMV 初感染および先天性感染の妊婦をスクリーニングで効率的に絞り込む方法を確認する (山田、峰松、井上)。

2) 胎児感染予防・胎児治療で用いられる免疫グロブリン (Ig) 製剤の CMV 抗体価につき、検討する (峰松)。

3) 全国産科施設を対象とした妊婦感染症スクリーニングと先天性感染の実態調査を行う (山田)。

### 3. 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

1) 妊婦抗体スクリーニングと新生児尿スクリーニングの組み合わせの有用性を検討する (山田、井上、古谷野)。

2) 唾液による新しい新生児 CMV スクリーニングの可能性について検討する (古谷野)。

### 4. 感染児の発症リスクの解析・同定

1) 平成 22 年度末までに先天性感染と同定された新生児 72 人を基盤に、臨床像の評価を行う (山田)。

2) 先天性感染児の発達フォローアップや中枢神経画像解析を行う (岡)。

3) 先天性感染児における特異的 CTL 等の免疫学的要因と発現メカニズムを解析する (中村)。

4) 感染児の感染や発症のリスク因子として、自然免疫に関与する遺伝子の多型解析を行う (井上)。

## B. 研究方法

### 1. 妊婦の CMV 母子感染に関する意識調査と教育ツールの作成と公開

1) 妊婦の CMV 母子感染に関する意識調査  
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」についてのアンケート調査

を行った(山田)。

## 2) 妊婦に対する感染予防の教育・啓発プログラムの策定

研究者間で分担し、妊婦感染予防の啓発を含む CMV 母子感染に関するホームページを作成・開示した。啓発のためのパンフレットを作成した(全員)。

## 2. 妊婦 CMV スクリーニング体制の構築

### 1) CMV 初感染および先天性感染の妊婦のスクリーニング

神戸大学病院で、妊娠 16~18 週に母体血 CMV IgG、IgG Avidity Index(AI)を測定した。AI $\leq$ 45%の場合、IgM、アンチゲネミア、PCR(頸管粘液、尿、血液)、CRP、CBC、肝臓・腎臓機能を調べた。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(山田、峰松、井上)。

### 2) Ig 製剤の CMV 抗体価

胎児感染予防・胎児治療で用いられる Ig に関して、我が国で販売されている Ig のインタクト型製剤および体内でインタクト型に変化するスルホ化製剤で、中和抗体価、受け身赤血球凝集(PHA)抗体価、Enzyme-linked immnosorbent assay (ELISA)抗体価、AI を測定・評価した(峰松)。

### 3) 全国産科施設を対象とした妊婦感染症スクリーニングと先天性 CMV 感染の実態調査

アンケートによる調査方式で、全国 2,714 の妊婦健診施設において、平成 23 年 1 月~12 月の期間に経験した症例を調査の対象とした。一次アンケートの調査内容は、①施設の平成 23 年総分娩数、施設規模。②各種感染症スクリーニング実施の有無、測定方法と回数。③ CMV による人工妊娠中絶(中絶)、流産、死産、分娩の症例数とした。さらに、二次アンケートを実施し、症例の正確さ、臨床的背景、検査・診断法の問題点等を調べた

(山田)。

## 3. 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

### 1) 妊婦抗体スクリーニングと新生児尿スクリーニングの組み合わせの有用性

神戸大学病院で、妊婦抗体スクリーニングを施行された妊婦から出生した全新生児を対象に、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(山田、井上)。

### 2) 唾液による新しい新生児 CMV スクリーニング

母親から母乳を採取し、新生児から哺乳 30 分以内と哺乳直前の唾液をスワブで採取し、DNA を抽出後、CMV DNA の検出を行った(古谷野)。

## 4. 感染児の発症リスクの解析・同定

### 1) 先天性感染と同定された新生児の臨床像評価

平成 20~22 年度に先天性感染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、2 歳以上フォローアップできた症例の出生時の症候・抗ウイルス療法・発達障害・難聴・その他の異常の有無につき調査し、解析した(山田)。

### 2) 先天性感染児の発達フォローアップや中枢神経画像解析

新生児期に頭部 MRI 検査による詳細な解析を行った先天性 CMV 感染児を対象に、小児神経の専門医師による定期的な診察によるフォローアップを行い、1 歳 6 か月時に頭部 MRI 検査を施行し、評価した(岡)。

### 3) 先天性感染児における免疫学的要因と発現メカニズム解析

CMV 感染感受性を示すヒト神経系細胞株において、CMV 遺伝子のテトラサイクリン誘導性発現を可能にする実験系を構築

するために、Flp-In/TREx U373MG 細胞の樹立、免疫染色法による細胞内蛋白質の検出を行った（中村）。

#### 4) 先天性感染児における自然免疫に関与する遺伝子の多型解析

スクリーニングで同定された児 49 人、発達遅滞または難聴を主訴とし、乾燥臍帯検体によって後方視的に診断された児 20 人、出生前または出生時に先天性 CMV 感染が疑われ出生後に確定診断された児 18 人の合計 87 人の先天性 CMV 感染症児を対象に、Taqman allelic discrimination assay による NK 受容体 NKG2D 遺伝子型の解析を行い、評価した（井上）。

#### （倫理面への配慮）

すべての調査・研究においては、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。

妊婦および新生児スクリーニング、アンケート調査、先天性感染児治療については、神戸大学で倫理委員会の承認が得られており、その他の参加施設でも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。

先天性 CMV 感染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. 妊婦の意識調査と教育ツールの作成・開示

#### 1) 妊婦の CMV 母子感染に関する意識調査

妊婦 343 人に対してアンケート調査を行った。15 人（4%）は医療関係者または保育・介護施設勤務者であった。胎児に影響を及ぼす感染症として認識があったのは、TORCH の中で風疹 76%、梅毒 69%、トキソプラズマ 58%、パルボウイルス B19 28%、単純ヘルペス 27%、CMV 18% の順であった（山田）。

#### 2) 妊婦に対する感染予防の教育・啓発プログラムの策定

妊婦感染予防の啓発を含む CMV 母子感染に関するホームページを作成・開示した (<http://www.med.kobe-u.ac.jp/cm/>)。一般的な知識を得るための一般向け、および専門的な情報を得るためのドクター向けの内容構成とした。CMV やトキソプラズマ感染予防のために妊婦啓発用のパンフレットを作成した（別頁）。パンフレットはダウンロード可能である（全員）。

### 2. 妊婦 CMV スクリーニング体制の構築

#### 1) CMV 初感染および先天性感染の妊婦のスクリーニング

1154 妊婦（CMV 関連の紹介例を除く）の母体血 CMV IgG スクリーニングを実施し、847 人（73%）が抗体陽性者であり、52 人（全体の 4.5%）が IgG AI ≤ 45%

であった。AI $\leq$ 45%の 52 妊婦のうち、15 人(全体の 1.3%、陽性者の 1.8%)で妊娠早期の初感染が疑われた。このうち、1 人が症候性先天性感染(胎児発育不全)であった。

307 人(26.6%)の抗体陰性者のうち、4 人(全体の 0.35%、陰性者の 1.3%)が妊娠後期に IgG が陽性化していたため、妊娠中後期の初感染と判断した。この 4 人のうち、1 人が無症候性先天性感染であった。

新生児尿スクリーニングによって、妊娠 16~18 週 AI>45%の妊婦 2 人から無症候性先天性感染が同定され、再活性化ないし再感染よると考えられた。

全 1154 人中 4 人(0.35%)で先天性感染が確認された(山田、峰松、井上)。

## 2) Ig 製剤の CMV 抗体価

インタクト型 Ig 製剤では、抗体価が高い製品ほど AI は高く算出された。国内献血血漿をプールとする製品は剤形や製法による抗体価の差はほとんど認めなかった。(峰松)。

## 3) 全国産科施設を対象とした妊婦感染症スクリーニングと先天性 CMV 感染の実態調査

全国 2,714 の妊婦健診施設のうち、1,990 施設より回答があった(73.7%)。アンケート回収施設での平成 23 年総分娩数は約 788,673 分娩であった。

スクリーニングを「全例で実施している」と回答があったのは、風疹、梅毒、HIV、HTLV-1、HBV、HCV が 99%以上であるのに対し、トキソプラズマ 48.5%で、CMV は 4.5%であった。

CMV について、スクリーニングを行っている 90 施設では、妊娠初期 1 回のみ測定施設が圧倒的に多く、抗体陰性者の妊娠中の抗体陽性化はほとんど調べられていない現状が判明した。

CMV の先天性感染による人工妊娠中絶 5

例、流産 3 例、死産 3 例、分娩 58 例であった。CMV の先天性感染数は、妊婦スクリーニングを実施している施設からの報告数が、非実施施設からの報告数に比べて有意に多かった( $p<0.00001$ 、山田)。

一次アンケートで報告された全症例に対して、二次調査が完了した。回収した二次アンケート調査用紙、電話等による問い合わせにより症例の臨床症状および検査結果情報を収集・解析して、最終的に先天性感染あり、および不確定と判定した数を示す。母体感染は確定的だが児・胎児付属物の検査等が不適切、不十分のため先天性感染と確定できない症例を別に括弧内に不確定として表示した。2011 年には先天性 CMV 感染として、中絶 3 人(ほか不確定 1 人)、流産 0 人(3 人)、死産 2 人(1 人)、分娩 29 人(3 人)が報告された。

先天性 CMV 感染について以下にまとめる。

① 先天性感染の出生児 29 人中、症候性 25 人(86.2%)で、無症候性は 4 人(13.8%)で明らかに症候性の報告が多かった。症候性 25 人の症状の内訳は、中枢神経系症状が 3 人、中枢神経系外症状が 6 人、両方の症状が 16 人であった。中枢神経系症状だけを示す症例は症候性の 3/25 (12%)と少なく、両方の症状を示す重症例が 16/25 (64%)で多かった。症候性感染児 25 人中、症状不明の 5 人を除き、15/20 人(75%)が中~高度障害 13 人および死亡 2 人の報告であった。1 人が軽症の障害(片側難聴のみ)、4 人が障害なしであった。

② 無症候性出生児 4 人のうち、1 人は 32 週早産が契機で児 IgM 陽性が判明。残り 3 人は、新生児尿スクリーニング(1 人)ないし妊婦抗体スクリーニング(2 人)が契機で先天性感染が診断されていた。

③ 分娩後の新生児検査により初めて



CMV 先天性感染が判明したのが 10 人であった。契機は、頭蓋内病変（脳室拡大、脳内石灰化）6 人（6 人中 4 人に FGR、2 人に肝脾腫あり）、血小板減少や点状出血 3 人、新生児尿スクリーニング 1 人であった。このような症状が出生児に有る場合には、CMV 感染精査が必要である。

④ 先天性感染 34 人中、CMV 感染を疑う契機となったのは、超音波胎児異常 18 人（52.9%）、妊婦抗体スクリーニングの結果 5 人（14.7%）であった。CMV 感染を疑う契機は、超音波胎児異常の次に妊婦スクリーニングであった。超音波検査で胎児異常がある場合には、CMV 母子感染を念頭に精査を行う。

⑤ 妊婦抗体スクリーニングを施行している施設からの先天性感染数が、非実施施設からの数に比べて有意（ $p < 0.00001$ ）に多かった。

⑥ 母体 IgM 検査が実施されていない 11 人を除く 23 人中、17 人（73.9%）で母体初感染（IgM 陽性、AI 低値、IgG 陽性化など）が推定された。残り 6 人（26.1%）（IgM 陽性 AI 高値 2 人、IgM 陰性 4 人）は、再活性化や再感染によると推定した。

⑦ 先天性感染「分娩」の新生児 29 人中、尿 CMV PCR やウイルス培養が実施されていたのは 21 人（72.4%）であった。残りは他の検査で確定診断されていた。先天性感染診断のための新生児尿 CMV 検査が、27.6%で実施されていなかった。

⑧ 先天性感染出生児 29 人のうち新生児治療として、抗ウイルス薬（バルガンシクロビル、ガンシクロビル、ホスカルネット）治療ありは 17 人であった。抗ウイルス薬以外では、免疫グロブリン単独療法は 3 人いた。新生児治療として抗ウイルス薬治療が広く行われている現状が明らかとなった。

⑨ 先天性感染（ $n=34$ ）の同胞有りの率は 52.9%であった。

### 3. 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

#### 1) 妊婦抗体スクリーニングと新生児尿スクリーニングの組み合わせの有用性

神戸大学とその関連施設を中心に濾紙尿検体が収集された。平成 23、24 年度の新生児 3,944 人のうち、11 人（発生率 0.28%）が尿 CMV 陽性となり、先天性感染と診断された。そのうち 2 人は、妊婦スクリーニングでは同定できない妊娠 16～18 週の AI 45%以上の妊婦からの感染であり、再活性化ないし再感染が疑われた（山田、井上）。

#### 2) 唾液による新しい新生児 CMV スクリーニング

対象の 19 組（1 組は双胎）の母子の内、母乳 4 検体から CMV DNA が検出された。また、新生児 4 人の唾液から同様に CMV DNA が検出された。CMV 陽性となった唾液はいずれも哺乳 30 分以内に採取したもので、哺乳直前に採取した唾液からは、CMV DNA は検出されなかった。母乳および唾液両方で CMV が検出された母子の CMV DNA の塩基配列は同一であった（古谷野）。

### 4. 感染児の発症リスクの解析・同定

#### 1) 先天性感染と同定された新生児の臨床像評価

平成 20～22 年度に尿 CMV スクリーニング検査で陽性と診断された症例は 72 人〔症候性 17 人（24%）、無症候性 55 人（76%）〕であった。そのうち、2 歳以上までフォローアップできた 62 人（症候性 17 人、無症候性 45 人）を解析した。

無症候性 45 人のうち、正常発達を遂げていたのは 40 人（89%）で、5 人（11%）に異常があった。その内訳は、遅発性片側難聴が 1 人、自閉症が 1 人、注意欠陥多動性障害が 1 人、言語発達遅延が 2 人であった。

症候性 17 人のうち、抗ウイルス療法をしなかった無治療 7 人では、正常発達が 0 人 (0%)、片側難聴のみが 3 人 (43%) で、4 人 (57%) に死亡/中一高度障害を残した。一方、抗ウイルス療法を行った症候性感染児 10 人では、正常発達 3 人 (30%)、片側難聴のみが 3 人 (30%)、4 人 (40%) が死亡/中一高度障害であった。治療群に正常発達が多い傾向 ( $p=0.18$ ) があった。症候性先天性 CMV 感染児では抗ウイルス薬治療によって、障害発生率を抑制できる可能性が示された (山田)。

## 2) 先天性感染児の発達フォローアップや中枢神経画像解析

新生児期の頭部 MRI 検査で大脳白質信号変化が認められた 7 人中 5 人で 1 歳 6 か月時にフォローアップ検査が行われていた。5 人のうち 4 人では、白質の信号変化は消失していた。1 歳 6 か月時の信号異常を認めた 1 人は、新生児期に比較的広範囲の白質異常を認めた例で、1 歳 6 か月時にも側脳室下角付近の信号変化が認められていた。もう 1 人は、側脳室前角付近の限局した信号変化で、新生児期には頭部 MRI 異常を認められておらず、新規に出現した所見であった。この 1 歳 6 か月時の信号異常を認めた 2 人とも聴力障害を有する症例であった (岡)。

## 3) 先天性感染児における免疫学的要因と発現メカニズム解析

CMV 感染前後のヒト神経系細胞株 U373MG 細胞の細胞形態を比較した。その結果、CMV 感染 2 日後の U373MG 細胞において、類円形状に形態変化した U373MG 細胞が多く見られた。次に、免疫染色法による CMV 蛋白質 IE1/IE2 の同定し、CMV 感染後に IE1、UL37x1、UL38、pp65 遺伝子 mRNA が発現していることを確認した。この結果より、U373MG 細胞において、CMV 感染が成立し、CMV 遺伝子産物が発現していることが確認された。

U373MG 細胞において、テトラサイクリン誘導性に CMV 遺伝子の発現を可能にする実験系を構築した。(中村)。

## 4) 先天性感染児における自然免疫に關与する遺伝子の多型解析

NKG2D 遺伝子多型について出生時症候性か否か、遅発性障害の有無、出生時及び遅発性いずれかの臨床症状の有無などのカテゴリ間での比較を行った。その結果、出生時症候性と NKG2D 多型 rs2255336 GG 型に有意な相関を認めた (井上)。

## D. 考察

### 1. 妊婦の意識調査と教育ツールの作成・開示

#### 1) 妊婦の CMV 母子感染に関する意識調査

今回の調査によって、妊娠中の初感染で胎児に影響を与える微生物の中で CMV の認知度が最も低いことが明らかになった。知識不足により妊婦の CMV 初感染がさらに拡大することが危惧される。したがって、CMV 母子感染に関する妊婦教育啓発により、CMV 母子感染の減少効果を期待したい。我々は、CMV IgG 陰性妊婦に対して、パンフレットを用いて CMV 母子感染予防の啓発活動を行っている。一般的な診療として、CMV 母子感染予防の啓発を妊婦健診で実施する時期にきていると考える。

#### 2) 妊婦に対する感染予防の教育・啓発プログラムの策定

臨床で使用可能な CMV ワクチンがない現状において、妊婦の CMV 初感染による胎児感染を減少させるためには、風疹やせめてトキソプラズマに対する知識程度までに CMV 感染の知識や予防意識の程度を向上させる必要がある。今年度に作成したホームページがその一助となることを期待したい。

## 2. 妊婦 CMV スクリーニング体制の構築

### 1) CMV 初感染および先天性感染の妊婦のスクリーニング

母体血 CMV IgG、AI 測定によるスクリーニングを 1154 人に行い、新生児は全例で尿 CMV PCR 検査を行った。先天性感染児は 4 人 (0.35%) であった。AI によるスクリーニングは、症候性先天性感染の同定に有用であった。妊娠 16~18 週の 1 ポイントの抗体スクリーニングでは、CMV 先天感染 4 人中 1 人しか同定できないが、IgG 陰性者に対する 2 回目のスクリーニングを行うことで、初感染による先天性感染児 2 人を同定できた。新生児尿スクリーニングによって、再活性化による先天性感染児 2 人は同定できた。

IgG 陰性者 307 人に感染予防啓発を行ったが、4 人 (1.3%) で IgG が陽性化した。妊娠前から CMV 母子感染と予防法の教育・啓発を行い、意識程度を高める工夫が今後必要と考えられる。

### 2) Ig 製剤の CMV 抗体価

先天性 CMV 感染症の胎児治療において、免疫グロブリン製剤の有用性の検討が行われている。しかし、治療にはさまざまな免疫グロブリン製剤が用いられているという現状がある。各免疫グロブリン製剤は抗 CMV 抗体価が高いほど、AI は高値となった。国内献血血漿プールを原料とした製品は製法や剤状 (液状もしくは粉末) による抗体価や AI に特に大きな差異を認めなかった。よって、抗体価および AI は原料となる血漿プールの影響を反映すると考えられた。

### 3) 全国産科施設を対象とした妊婦感染症スクリーニングと先天性 CMV 感染の実態調査

他の感染症と比べて、CMV (4.5%) とトキソプラズマ (48.5%) の妊婦健診でのスクリーニング実施率が低い現状が明らかとなった。また、妊娠初期 1 回のみの測

定が圧倒的に多く、抗体陰性者の妊娠中の抗体陽性化はほとんど調べられていないため、無症候性や不顕性先天性感染児の多くが、未診断で出生し精査やフォローを受けていない可能性が高い。CMV とトキソプラズマの妊婦スクリーニング率が低く、未診断例が多い理由として、母体初感染や感染児の診断に必要な検査 (IgG AI, 核酸検査など) が標準化されておらず保険適用となっていないことがあげられる。標準化された検査・診断法と治療法の確立および早期療育支援対策、ウンセリング体制整備が早急に必要である。

二次アンケートの結果から、多くの先天性感染児、特に軽症の症候性や無症候性の先天性感染児が出生時に見逃されている現状が明らかとなった。先天性感染、特に無症候性の同定には、新生児ないし妊婦抗体スクリーニングが有用である可能性がある。超音波検査で胎児異常がある場合には、CMV 母子感染を念頭に精査を行う。

## 3. 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

### 1) 妊婦抗体スクリーニングと新生児尿スクリーニングの組み合わせの有用性

CMV IgG、AI 測定による妊婦スクリーニングは、初感染による先天性感染の同定に有用であったが、再活性化や再感染による先天性感染の同定には限界があることが明らかになった。これらの症例の同定には、新生児尿スクリーニングが有用であった。妊婦 CMV スクリーニングと新生児 CMV スクリーニングを合わせて行うことで、全ての先天性感染症例の同定が可能になるものと考えられた。

### 2) 唾液による新しい新生児 CMV スクリーニング

新生児マススクリーニングで感染児を発見し、その後嚴重な経過観察を行う事

は、症候が顕在化した時点での早期介入を可能にする。米国では唾液を用いた新生児スクリーニングが主流となっている。しかし、唾液を用いたスクリーニングの場合、CMV 既感染の母親が、一定の確立で母乳中に CMV を排泄する事実から、母乳による唾液検体への CMV 混入が懸念される。これは感染児ではないにもかかわらず、CMV DNA が検出されるため、疑陽性の原因となる。母乳中に存在する CMV が、唾液による新生児スクリーニングに少なからず影響を与えることが実証できた。

#### 4. 感染児の発症リスクの解析・同定

##### 1) 先天性感染と同定された新生児の臨床像評価

2 歳以上に渡りフォロー可能であった無症候性先天性感染児 45 人の解析では、正常発達を遂げていたのは 40 人 (89%) で、5 人 (11%) に異常が認められた。この割合は、欧米からの報告に比べて大きな差はない。しかしながら、5 人の異常の病態については、遅発性難聴以外に、発達障害に分類される自閉症、注意欠陥多動性障害および言語発達遅延を認め、新しい知見を得た。したがって、CMV 母子感染対策・予防によって、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がある。今後、自閉症や注意欠陥多動性障害などの発達障害児の乾燥臍帯の CMV PCR 検査解析などによって、先天性感染と発達障害発症との関係を明らかにしていく必要がある。

2 歳以上に渡りフォロー可能であった症候性の先天性感染児 17 人の解析では、抗ウイルス療法をしなかった無治療の症候性先天性感染児 7 人中、正常発達 0 人で、欧米からの報告同様に予後は不良であった。一方、抗ウイルス療法を行った症候性感染児 10 人中、正常発達は 3 人 (30%) であった。したがって、症候性先

天性感染児に対して抗ウイルス薬治療を行うことにより、障害の発生を抑制できる可能性が示された。

##### 2) 先天性感染児の発達フォローアップや中枢神経画像解析

新生児期の頭部 MRI 検査で大脳白質の信号変化が認められた 7 例のうち、1 歳 6 か月時で頭部 MRI 検査が施行できた 5 人のうち、1 人で新生児期から引き続いて大脳白質病変を認められた。ほか 1 人で新規に白質の信号変化が指摘された。この 2 人とも聴力障害を有する例であり、難聴例で神経系への影響が大きい可能性が示唆された。

##### 3) 先天性感染児における免疫学的要因と発現メカニズム解析

CMV 感染にともなう細胞の各種応答とその発現メカニズムを明らかにする目的で、CMV 感染感受性を示すヒト神経系細胞株において、CMV 遺伝子のテトラサイクリン誘導性発現を可能にする実験系を構築した。この実験系に CMV 遺伝子 IE2 を導入した結果、テトラサイクリンによって IE2 遺伝子産物の発現が誘導されることが確認された。本研究で構築した CMV 感染系およびテトラサイクリン誘導性 CMV 遺伝子発現系の併用による多面的な解析は、CMV 感染にともなう細胞応答、細胞応答に関与する CMV 遺伝子産物の同定および細胞応答発現メカニズム、さらに CMV 病原性発現機構を明らかにする上で効果的な手法になりうると考えられた。

##### 4) 先天性感染児における自然免疫に関与する遺伝子の多型解析

宿主側の要因として今回は、自然免疫の遺伝子のひとつである NK 受容体 NKG2D 遺伝子多型を解析した。結果、出生時の症候性と NKG2D 多型 rs2255336 GG 型に有意な相関を認めた。NKG2D は、CMV 感染によるシグナル制御に関連していることが知られていることから、多型が感染に伴

うシグナル制御影響に与える可能性が示唆された。

## E. 結論

### 1. 妊婦の意識調査と教育ツールの作成・開示

CMV は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。

CMV 感染予防啓発と医師のためのホームページを作成し、公開した。また、CMV 感染予防のために妊婦啓発用のパンフレットを作成した。

### 2. 妊婦 CMV スクリーニング体制の構築

CMV IgG, IgG AI 測定による妊婦スクリーニングは、初感染による先天性感染の同定に有用であった。

全国調査では妊婦健診において CMV とトキソプラズマの感染スクリーニングの実施率は低かった。2011 年には先天性 CMV 感染として、中絶 3 人(ほか不確定 1 人)、流産 0 人 (3 人)、死産 2 人 (1 人)、分娩 29 人 (3 人) が報告された。先天性 CMV 感染児の多くは、出生時に診断されていない現状が明らかになった。

### 3. 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

再活性化による先天性感染の同定には新生児尿スクリーニングが有用であった。妊婦 CMV スクリーニングと新生児 CMV スクリーニングを合わせて行うことで、全ての先天性感染症例の同定が可能になるものと考えられた。

唾液を用いて先天性 CMV 感染スクリーニングを行う場合は、母乳による CMV の混入が起こりうることを明らかにした。

### 4. 感染児の発症リスクの解析・同定

先天性 CMV 感染児コホートのうち、2 歳以上に渡りフォローアップできた 62 人の中長期予後を調査し解析した。無症候性のうち 11%に遅発性難聴や発達障害の異

常が発生した。抗ウイルス薬治療を行った症候性感染児の正常発達率は 30%であり、障害の発生を抑制できる可能性が示唆された。

難聴を認めた症例では、1 歳 6 か月時のフォローアップ MRI にて白質の信号変化が指摘され、難聴を呈する場合には中枢神経系への影響が大きい可能性が示唆された。

CMV 感染感受性を示すヒト神経系細胞株で CMV 遺伝子のテトラサイクリン誘導性発現を可能にする実験系を構築した。

NK 受容体 NKG2D 遺伝子多型は、宿主側要因としての細胞性免疫応答異常となることを明らかにした。

## F. 健康危険情報

特記事項なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) The Japanese Congenital Cytomegalovirus Infection Immunoglobulin Fetal Therapy Study Group; Yamada H, Morizane M, Tanimura K, Morioka I, Ebina Y, Matsuda H, Yoshida M, Wakamatsu H, Furuya K, Murotsuki J, Saito S, Kawabata I, Takahashi Y, Ueda T, Sato Y, Kamitomo M, Maruyama Y, Hirano H, Yamada T, Minakami H, Yaegashi N, Minematsu T, Matsuoka R, Banzai M, Ikenoue T. A trial of immunoglobulin fetal therapy for symptomatic congenital cytomegalovirus infection. J Reprod Immunol 95, 73-79, 2012
- 2) Sonoyama A, Ebina Y, Morioka I, Tanimura K, Morizane M, Minematsu T, Inoue N, Yamada H. Low IgG avidity



- and ultrasound fetal abnormality were predictive of congenital cytomegalovirus infection. *J Med Virol*, 84, 1928-1933, 2012
- 3) Yamada H, Takeda M, Maezawa Y, Ebina Y, Hazama R, Tanimura K, Wakui Y, Shimada S. A high dose intravenous immunoglobulin therapy for women with four or more recurrent spontaneous abortions. *ISRN Obstet Gynecol*, doi:10.5402/2012/512732, 2012
  - 4) 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
  - 5) Matsui T, Ogawa H, Yamada N, Baba Y, Suzuki Y, Nomoto M, Suzutani T, Inoue N, Omori K. Outcome of cochlear implantation in children with congenital cytomegalovirus infection or GJB2 mutation. *Acta Oto-Laryngologica*. 132, 597-602, 2012
  - 6) Koyano S, Inoue N, Nagamori T, Moriuchi H, Azuma H. Newborn screening of congenital cytomegalovirus infection using saliva can be influenced by breastfeeding. *Arch Dis Child-Fetal*. 98, F182, 2013
  - 7) Matsuo K, Morioka I, Oda M, Kobayashi Y, Nakamachi Y, Kawano S, Nagasaka M, Koda T, Yokota T, Morikawa S, Miwa A, Shibata A, Minematsu T, Inoue N, Yamada H, Iijima K. Quantitative evaluation of ventricular dilatation using computed tomography in infants with congenital cytomegalovirus infection. *Brain Dev*. In press, 2013
  - 8) 池ノ上克, 金子政時, 山田秀人, 小川 洋. 巻頭座談会: サイトメガロウイルス感染と周産期医療. *Fetal & Neonatal Medicine* 4(2), 8-16, 2012
  - 9) 山田秀人, 谷村憲司, 蝦名康彦. 母児感染の管理-トキソプラズマ, サイトメガロウイルス, パルボウイルス B19、「オフィスギネコロジー」臨床婦人科産科増刊号 66 (5) , 166-174, 2012
  - 10) 山田秀人. 専攻医教育プログラム-母子感染, 日本産科婦人科学会雑誌. 64(8), 1832-1836, 2012
  - 11) 山田秀人, 平久進也, 森岡一朗, 蝦名康彦. 母子感染の最近の動向: 妊婦感染症スクリーニングと先天性感染の一次アンケート全国調査の結果. *臨床婦人科産科* 67 (1) , 59-62, 2013
- ## 2. 学会発表
- 1) Oda M, Kitajima K, Konishi J, Iwama Y, Fujii M, Sugimura K, Morioka I, Iijima K, Tanimura K, Yamada H. Imaging of congenital cytomegalovirus infection (CCMVI). Educational exhibit. *European*

- Congress of Radiology 2012, March 1-5, 2012, Vienna, Austria.
- 2) Matsuo K, Morioka I, Oda M, Koda T, Yokota T, Fujioka K, Morikawa S, Miwa A, Shibata A, Tanimura K, Enomoto M, Kobayashi Y, Nakamachi Y, Kawano S, Yokoyama N, Yamada H, Iijima K. Ventricular dilatation is associated with abnormalities of auditory brainstem response in infants with congenital cytomegalovirus infection. Society for Pediatric Research Conference, April 28-May 1, 2012, Boston, USA.
  - 3) Iwasaki H, Oka A, Mizuno Y, et al. Detection of CNS involvement in congenital cytomegalovirus infection identified in neonatal screening: Clinical usefulness of ultrasonography as the initial assessment. 12<sup>th</sup> International Child Neurology Congress, May 27-June 1, 2012, Brisbane, Australia.
  - 4) Yamada H. Screening and prevention of congenital cytomegalovirus infection. XX World Congress of Gynecology and Obstetrics (Plenary session, invited speaker), October 7-12, 2012, Rome, Italy.
  - 5) Yamada H, for the Japanese congenital cytomegalovirus infection immunoglobulin fetal therapy study group. A trial of immunoglobulin fetal therapy for symptomatic congenital cytomegalovirus infection. Combined meeting of the 4th Congenital Cytomegalovirus Conference/the 14th International CMV/Beta Herpes Workshop, October 29 to November 2, 2012, San Francisco, USA.
  - 6) Morioka I, Koyano S, Moriuchi H, Oka A, Ito Y, Yoshikawa T, Asano K, Inoue N, Yamada H, for the Japanese Congenital Cytomegalovirus Study Group. A Follow-up Study of Japanese Infants with Congenital CMV Infection. Combined meeting of the 4th Congenital Cytomegalovirus Conference/the 14th International CMV/Beta Herpes Workshop, October 29 to November 2, 2012, San Francisco, USA.
  - 7) Morioka I, Sonoyama A, Tairaku S, Tanimura K, Ebina Y, Iijima K, Yamada H. Awareness and Knowledge of CMV Infection in Japanese Pregnant Women. Combined meeting of the 4th Congenital Cytomegalovirus Conference/the 14th International CMV/Beta Herpes Workshop, October 29 to November 2, 2012, San Francisco, USA.
  - 8) Tairaku S, Tanimura K, Ebina Y, Sonoyama A, Nagamata S, Morioka I, Yamada H. Prevalence of Serological Screening of Cytomegalovirus Infection for Pregnant Women in Japan: A Nationwide Survey. Combined meeting of the 4th Congenital Cytomegalovirus Conference/the 14th International CMV/Beta Herpes Workshop, October 29 to November 2, 2012, San Francisco, USA.