

201219012B

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 23～24 年度 総合研究報告書

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. 総合研究報告	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	31
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	54
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. 北海道におけ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パイ ロット調査の結果と抗体陰性妊婦に対するサイトメガロウイルス初感染予防介入 の効果	61
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	66
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	71
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.....	77
---------------------------------	----

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 回班会議プログラム.....	85
平成 23 年度 第 2 回班会議プログラム.....	102
平成 24 年度 第 1 回班会議プログラム.....	119

VI. 妊婦啓発用パンフレット.....	139
----------------------	-----

VII. 研究班ホームページ.....	145
---------------------	-----

VIII. 報道発表の一覧表.....	191
---------------------	-----

IX. 研究成果の刊行に関する一覧表.....	195
-------------------------	-----

I. 序 文

序 文

前身班による平成 20～22 年度の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、我が国では出生児のおよそ 300 人に 1 人の割合で先天性サイトメガロウイルス感染が発生し、出生児のおよそ 1000 人に 1 人の割合で健康障害が生じていることが明らかとなりました。その大きな成果の結実を起点として、研究を一層発展させることを目標といたしました。

我々の平成 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。

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。

日本において将来、先天性サイトメガロウイルス感染児数が減少すること、エビデンスに基づいた適切な早期介入と新生児治療が実践され、感染児予後が改善されることを期待いたします。このことは、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。その実現に前身班ならびに当研究班によるこれまでの成果が貢献すると信じております。

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	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

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）
総合研究報告書

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. 新生児尿 CMV スクリーニング

- 抗ウイルス薬治療により症候性先天性 CMV 感染児の中長期的な障害を軽減させる可能性があった。

2. 先天性感染児の発症リスクの解析

- 先天性 CMV 症状発症に、頭部画像所見や免疫応答異常、自然免疫の遺伝子多型が関係することが明らかになった。

3. 妊婦スクリーニング及び感染予防教育の効果の検討

- 日本人妊婦は CMV の知識が乏しく、感染予防の教育啓発が必要であることが明らかになった。
- 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。
- 症候性先天性 CMV 感染児の同定には、IgG avidity 測定による妊婦スクリーニングは有用であった。
- 妊婦の CMV 感染予防啓発と医師のために、ホームページ等の活動を開始した。

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立し、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。

本研究班では、平成 20-22 年度本事業 (研究代表者：藤枝、3 年目古谷野) に引き続き、

1. 新生児尿 CMV スクリーニング

平成 20-22 年度に同定した先天性 CMV 感染児コホートを追跡し評価する。

尿スクリーニングを継続・評価し、新規コホート集団としてフォローする。

2. 先天性感染児の発症リスクの解析

頭部画像、特異的 CTL 等の免疫学的要因、自然免疫遺伝子型の解析を行い、症候性や遅発性障害の発生要因を明らかにする。

3. 妊婦スクリーニング及び感染予防教育の効果の検討

- 1) 妊婦の先天性感染の知識を調査する。
- 2) 全国の分娩施設を対象に、CMV 等母子感染の頻度、妊婦抗体検査についてアンケート調査を行う。
- 3) 初感染リスクが高い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し、その有効性を検証する。
- 4) 妊婦に対する感染予防の教育啓発プログラムを策定し評価する。

B. 研究方法

1. 新生児尿 CMV スクリーニング

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。なお、発達遅延・てんかん・両側難聴を中一高度障害とした。

平成 23-24 年度に新生児 3944 人を対象に濾紙尿 CMV スクリーニングを実施した。これらの先天性感染児は、妊婦スクリーニングが前提であり、臨床背景が異なるため、新規コホートとしてフォローを開始し出生時の症候や抗ウイルス療法等を調査した。

2. 先天性感染児の発症リスクの解析

1) 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

先天性 CMV 感染と診断された症例につき、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。

2) Toll-like receptor (TLR) 遺伝子・NK 受容体 NKG2D 遺伝子型多型解析

先天性 CMV 感染児 87 症例を対象に、TLR と NKG2D 遺伝子多型解析を行い、評価した。

3) CMV 特異的 CD8+T 細胞等の免疫応答

先天性 CMV 感染児より採取した末梢血より CMV 特異的 CD8+T 細胞を検出した。さらに、増殖能を解析する目的で、CMV 蛋白質 pp65 を用いて刺激し後の CMV 特異的 CD8+ T 細胞の検出を行った。

3. 妊婦スクリーニング及び感染予防教育の効果の検討

1) 妊婦の先天性感染の知識を調査

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。

2) 全国の分娩施設を対象にしたCMV等母子感染の頻度、妊婦抗体検査についてのアンケート調査

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。③CMV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。

3) 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。

4) 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

(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. 新生児尿CMVスクリーニング

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。

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。症候性は5人（45%）、無症候性は6人（55%）で、無症候性症例のうち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AI45%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。症候性症例のうち、3人に抗ウイルス療法が施行された。

2. 先天性感染児の発症リスクの解析

1) 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

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5人で1歳6か月時にフォローアップ検査が行われた。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。

2) TLR遺伝子・NK受容体NKG2D遺伝子型多型解析

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。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。

3) CMV特異的CD8+T細胞等の免疫応答

先天性CMV感染児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、先天性CMV感染児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。

3. 妊婦スクリーニング及び感染予防教育の効果の検討

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。

2) 全国の分娩施設を対象としたCMV等母子感染の頻度、妊婦抗体検査についてアンケート調査

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 回のみの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%) が中一高度障害 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) 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 \leq 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。

4) 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)。

D. 考察

1. 新生児尿 CMV スクリーニング

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。

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. 先天性感染児の発症リスクの解析

1) 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

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 5 人に 1 歳 6 か月時で頭部 MRI 検査が施行できた。そのうち、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。

2) TLR 遺伝子・NKG2D 遺伝子型多型解析

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された。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。

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。

3) CMV 特異的 CD8+T 細胞等の免疫応答

症候性先天性 CMV 感染児および無症候性先天性 CMV 感染児において、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。

3. 妊婦スクリーニング及び感染予防教育の効果の検討

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られる。

2) 全国の分娩施設を対象とした CMV 等母子感染の頻度、妊婦抗体検査についてア

アンケート調査

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、ワ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) 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。

4) 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。

E. 結論

1. 新生児尿 CMV スクリーニング

抗ウイルス薬治療により症候性先天性 CMV 感染児の中長期的な障害を軽減させる可能性があった。

2. 先天性感染児の発症リスクの解析

先天性 CMV 症状発症に、頭部画像所見や免疫応答異常、自然免疫の遺伝子多型が関係することを明らかにした。

3. 妊婦スクリーニング及び感染予防教育の効果の検討

日本人妊婦は CMV の知識が乏しく、感染予防の教育啓発が必要であることが明らかになった。

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。

症候性先天性 CMV 感染児の同定には、妊婦の IgG avidity 測定によるスクリー

ニングは有用であった。

妊婦の CMV 感染予防啓発と医師のために、ホームページ等の活動を開始した。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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 Chemo.* 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) 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
- 6) 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
- 7) 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
- 8) 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
- 9) 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
- 10) 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
- 11) 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
- 12) 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
- 13) 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
- 14) 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
- 15) 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
- 16) 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
- 17) 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
- 18) 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

- 19) 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
- 20) 佐藤雅之, 岡秀治, 古谷野伸 他. 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
- 21) 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
- 22) 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
- 23) 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, 166-174, 2012
- 24) 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, 1832-1836, 2012
- 25) 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, 59-62, 2013

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 12-14, 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 12-14, 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 12-14, 2011, Budapest, Hungary.
- 4) 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 11-16, 2011, Sapporo, Japan.
- 5) 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