

201317031A

厚生労働科学研究費補助金 障害者対策総合研究事業
(感覚器障害分野)

先天性サイトメガロウイルス感染症に
よる難聴のマス・スクリーニング
および治療法に関する研究

平成25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 岩崎 聡

平成26(2014)年 3月

目 次

I. 先天性サイトメガロウイルス感染症のマススクリーニングシステムの 構築および発症予防に関する研究 研究者名簿 -----	1
II. 総括研究報告 先天性サイトメガロウイルス感染症のマススクリーニングシステムの 構築および発症予防に関する研究 -----	5
岩崎 聡	
III. 分担研究報告	
1. 先天性サイトメガロウイルス感染症のマススクリーニングおよび 治療法に関する研究 -----	19
小池 健一	
2. 先天性サイトメガロウイルス感染症のマススクリーニングおよび 治療法に関する研究 -----	23
小川 洋	
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----	27
V. 研究成果の刊行物・別刷 -----	31

I. 先天性サイトメガロウイルス感染症の
マスキューニングシステムの構築
および発症予防に関する研究

研究者名簿

平成 24 年度 厚生労働科学研究費補助金 障害者対策総合研究事業
(感覚器障害分野)

先天性サイトメガロウイルス感染症のマススクリーニングシステムの構築
および発症予防に関する研究

区 分	氏 名	所 属	職 名
研究代表者	岩崎 聡	信州大学医学部附属病院人工聴覚器学講座	教 授
研究分担者	宇佐美真一	信州大学医学部耳鼻咽喉科	教授
	塩沢 丹里	信州大学医学部産科婦人科	教授
	小池 健一	信州大学医学部小児科	教授
	小川 洋	福島県立医科大学附属会津医療センター 耳鼻咽喉科	教授
	工 穰	信州大学医学部耳鼻咽喉科	准教授
	茂木 英明	信州大学医学部耳鼻咽喉科	助教
研究協力者	矢野 卓也	信州大学医学部耳鼻咽喉科	医員
	西尾 信哉	信州大学医学部耳鼻咽喉科	助教
	大平 哲史	信州大学医学部産科婦人科	助教
	稲葉 雄二	信州大学医学部小児科	准教授

Ⅱ. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金
障害者対策総合研究事業（感覚器障害分野）
総括研究報告書

先天性サイトメガロウイルス感染症のマススクリーニングシステムの構築
および発症予防に関する研究

研究代表者 岩崎 聡 （信州大学医学部附属病院人工聴覚器学講座・教授）

研究要旨

先天サイトメガロウイルス感染は、全出生児の0.5～2.5%に認められる比較的頻度の高い先天ウイルス感染症のひとつであり、感染児のうち10%は神経学的な発育障害、網脈絡膜炎、先天性感音難聴を呈する。残りの約90%は無症候性であり出生時には無症状であるが、その中の35%は遅発性の中等度～高度難聴を発症すると報告されている。特に、遅発性・進行性の種々の症状に関しては、ガンシクロビルや特異抗体を用いた発症予防、進行予防が可能であることが報告されており、先天サイトメガロウイルス感染早期発見のためのマス・スクリーニングシステムの構築と、早期発見後の予防医療の確立により、症状の重篤化を予防することが可能であると期待される。本研究では先天性サイトメガロウイルス感染症を早期発見するためのマス・スクリーニングに適した検査システムの開発を目的として検討をおこなった。マス・スクリーニングとしてDNA検査を行うためには、簡便にサンプル採取が可能で、長期間保存可能なシステムが必要となるため、先天性代謝異常スクリーニングとして実施されるガスリーカードへの採血時に、DNAを高品質で長期間保存可能なFTAカードに同時にスポットする採取法を採用した。また、長野県内の4産科施設との共同研究により1411例の解析を実施した。その結果6例（0.4%）よりCMVが検出された。また、難聴患者に占める先天CMV感染症の割合を明らかにする事を目的に難聴患者の保存臍帯を用いた検査を実施した所、311例中28例（9%）にCMVが見出された。一般のスクリーニングの頻度である0.4%と比較して22倍い高頻度で検出された事からも難聴の主要な原因の一つになっていることが改めて示された。

研究分担者氏名・所属機関名・職名 医学部産科婦人科学講座・教授）
宇佐美真一 （信州大学医学部耳鼻咽喉 小池 健一（信州大学医学部小児科学講
科学講座・教授）、塩沢 丹里（信州大学 座・教授）、小川 洋（福島県立医科大学

附属会津医療センター耳鼻咽喉科・教授)、
工 穰 (信州大学医学部耳鼻咽喉科学講
座・准教授)、茂木 英明 (信州大学医学
部耳鼻咽喉科・助教)

研究協力者

矢野卓也 (信州大学医学部耳鼻咽喉科・
医員)、西尾 信哉 (信州大学医学部耳
鼻咽喉科・助教)、大平哲史 (信州大学医
学部産科婦人科学講座・助教)、稲葉雄二
(信州大学医学部小児科学講座・准教授)

A. 研究目的

先天サイトメガロウイルス感染は、全出
生児の 0.5~2.5%に認められる比較的頻
度の高い先天ウイルス感染のひとつであ
り、感染児のうち 10%は神経学的な発育
障害、網脈絡膜炎、先天性感音難聴を呈
する。一方、残りの約 90%は無症候性で
出生時には無症状であるが、その中の
35%は遅発性の中等度~高度難聴を発症
すると報告されている。

特に、遅発性・進行性の種々の症状に
関しては、ガンシクロビルや特異抗体を
用いた発症予防、進行予防が可能である
ことが報告されており、先天サイトメガ
ロウイルス感染の早期発見のためのマ
ス・スクリーニングシステムの構築と、
早期発見後の予防医療の確立により、症
状の重篤化を予防することが期待される。
本研究では先天性サイトメガロウイルス
感染症を早期発見するためのマス・スク
リーニングに適したシステムの開発およ

びその有効性を明らかにすることを目的
として検討をおこなった。

また、反対方向のアプローチとして、
難聴患者に占める先天 CMV 感染症の割
合を明らかにすることを目的に、保存臍
帯を用いた CMV DNA 検査を実施し、そ
の頻度に関して検討を行った。さらに、
また、併せて本邦における妊娠中再感染
のリスクに関して検討を行うため、本邦
におけるサイトメガロウイルスの株を決
定するために、抗原部位であるグリコプ
ロテイン B (gB)遺伝子の配列決定を行っ
た。

B. 研究方法

1) FTA カードを用いた先天性 CMV 感 染症のマス・スクリーニング検査手法の 確立およびマス・スクリーニング

本研究の目的である newborn 児を対象と
したマス・スクリーニングを行うために
は、多数の検体を効率よく検査可能な非
常に高いスループットの検査系を確立す
る必要がある。

本年度は前年度までに確立した FTA カ
ードを用いたマス・スクリーニング系を
用いて、長野県をモデルにマス・スクリ
ーニングのパイロット研究を行った。マ
ス・スクリーニングとして DNA 検査を行
うためには、簡便にサンプル採取が可能
で、長期間保存可能なシステムが必要と
なるため、先天性代謝異常スクリーニン
グとして実施されるガスリーカードへの
採血時に、DNA を高品質で長期間保存可

能な FTA カードに同時にスポットする方法を用いて検討を行った。

信州大学医学部附属病院、松本市民病院、諏訪赤十字病院、丸の内病院の 4 施設において、新出生児の両親を対象に説明用パンフレットを用いて十分に説明を行った後に書面で同意を取得し、先天性代謝異常症スクリーニング検査（ガスリー検査）を行う際に、併せて FTA カードにも血液検体を採取した。FTA カードは室温にて 30 分間乾燥後、測定を行うまでは室温で保管可能である。測定時に 1.2mm 径のマイクロパンチを用いて血液検体をくりぬいた後に FTA wash buffer で洗浄を行い、TE buffer で再度洗浄を行う。洗浄後の FTA カードをそのまま鋳型に用いた Taq Man 法を用いた定量 PCR 法によりサイトメガロウイルス US14 遺伝子の測定を行った（前年度までの検討より 5% 程度の偽陰性があるため、4 重測定を行い見逃しを減らすよう配慮した）。また、鋳型 DNA の定量コントロールとして、ヒトゲノム上の *GJB2* 遺伝子の定量も実施した。定量 PCR 解析には Applied Biosystems 社の Step One Plus を用いた。

2) 保存臍帯を用いた先天性 CMV 感染症検査

本研究では新出生児に対するマス・スクリーニング検査の前向きコホートを行うとともに、実際に難聴患者に占める先天性 CMV 感染症の割合およびその臨床的特徴を明らかにする事を目的に後ろ向きコ

ホートも計画した。

通常、先天 CMV 感染症の検査としては、新生児尿中に含まれる CMV DNA 検査が用いられるが、生後 2 週間以上経過した症例では、先天感染なのか、出生後初感染なのかを区別することが困難であるため、尿サンプルや血液サンプルでは難聴の確定診断がなされる生後 6 ヶ月ごろに判断することはできない。このような症例を対象に先天 CMV 感染症の診断を行うためにはレトロスペクティブに先天性感染の有無を区別可能な検査手法が必要である。本研究ではレトロスペクティブな検査手法として保存乾燥臍帯を用いた先天 CMV ウイルスの解析を実施した。一側性難聴患者および両側性難聴患者の合計 311 例（あるいはその保護者）に対し研究に関する十分な説明の上、書面で同意を取得し保存臍帯試料および臨床情報の収集を行った。

保存臍帯は Nuclear Free 滅菌水中で 4 時間静置してふやかした後はさみを用いて細断し、QIAGEN 社 DNeasy Blood and Tissue Kit を用いて、組織からの DNA 抽出プロトコールに従って DNA の抽出を行った。

抽出された DNA の濃度を正確に測定するために、Invitrogen 社の Quant it dsDNA broad range kit を用いてインターカレーター法による dsDNA の定量を行った。蛍光強度の計測には Invitrogen 社の Qubit fluor mater を用いた。

CMV の検出には、TaqMan 法を用いた

定量 PCR を行った。TaqMan 法の測定に用いるプローブは比較的保存性の高いサイトメガロウイルスの US14 遺伝子座に設計した。反応性のコントロールとしてはヒトゲノム上の *GJB2* 遺伝子部位に設計した TaqMan Probe により DNA 量のコントロールとした。定量リアルタイム PCR 測定には、Applied biosystems 社の Step One Plus を用いた。判断には症候群性の先天 CMV 感染症症例の保存臍帯 4 サンプルを陽性コントロールとして用い、健常児 7 例の保存臍帯を陰性コントロールとして用いた。

3) マスクリーニング後の診察フローチャートの作成およびフォローアップ

従来行われてきた先天サイトメガロウイルス感染症に関する検討では、症候群性の CMV 児あるいは難聴児など症状を有する児が対象であったため、病状に併せた適切な医学的介入のフローが明確であったが、マス・スクリーニングにより全出生児を対象に検討が実施されるため、CMV 陽性であることが診断された児に対するフォローアップ手法に関しては未だ定まっていない状況である。

そこで、本研究では前年度までに小児科および耳鼻咽喉科を主体に確立したスクリーニング検査陽性症例に対するフォローアッププランに従い、マス・スクリーニング後の陽性例に対するフォローアップを実施した。また、陽性例に対しては、定期的に血中 CMV 濃度の測定を行

い、コピー数の変化に関しても検討を行った。

(倫理面への配慮)

被験者に対して十分な説明を行ったうえ、書面で同意を取得して、サンプルを採取した。また、サンプル採取に際しては匿名化を行い個人情報の保護に配慮した。

C. 研究結果

1) FTA カードを用いた先天性 CMV 感染症マススクリーニング検査に関する検討

一般的に先天 CMV 感染症児の血液中の CMV は尿中に排出される CMV と比較して 100 倍程度少ない事が報告されており、また、乾燥血液サンプル (ろ紙 DBS) を用いた場合には、DNA 抽出の効率が悪いことよりさらに 1/5 程度の感度となる事が報告されている。しかし、マス・スクリーニングの手法としては、全新出生児が受診する先天性代謝異常のマス・スクリーニングの際に、併せて血液検体を採取できるため採取時の手間や収集率に関しては効率的であることが期待される。本研究では、上記の問題点を一部解決することを目的に、ガスリーろ紙より高品質な DNA サンプルが簡便に得られる FTA カードを用いるマス・スクリーニングシステムを開発した。また、確立した FTA カードを用いたハイスループットのマス・スクリーニング系がうまく機能することを確認することを目的に長野県内をモデルにパイロット研究として、信州

大学医学部附属病院、松本市民病院、諏訪赤十字病院、丸の内病院の4施設の産科、小児科、耳鼻咽喉科の連携によりマス・スクリーニングとその後のフォローアップを開始した。

現在までに1422検体の解析を完了しており、うち6例で陽性との結果が得られている(0.4%)。しかしながら、1) ウイルス検査では極微量のコンタミネーションでも検出され問題となるケースが存在する、2) FTAカードによる検出系では定量性が低いことが知られており、コピー数と臨床像の相関解析が困難であることより、FTAカードで陽性となったケースに関しては、保存臍帯を用いた再検査を行い正確なコピー数を確認する流れとした。実際にFTAカードで陽性と判断された6例のうち保存臍帯サンプルの得られた3例について再検査を行った所、3例で保存臍帯でも陽性であることが確認され、スクリーニング検査として有効であることが確認された。

2) 保存臍帯を用いた先天性CMV感染症検査

難聴患者に占める先天CMV感染症の割合およびその臨床的特徴を明らかにする事を目的に保存乾燥臍帯を用いた先天CMVウイルスの解析を実施した。本年度は一側性難聴患者および両側性難聴患者を対象に昨年度までに収集していた試料に本年度新たに収集した試料を加え合計311例より保存臍帯の提供を受けて、

CMV DNAの検出を試みた結果28例(9.0%)よりCMV DNAを検出した。詳細に見て行くと、両側性難聴群では8.7%、一側性難聴群では9.1%よりCMV DNAが検出された。また、同じ両側性難聴でも、難聴の程度が高度以上の群では14.3%と頻度が高いことが明らかとなった。一方、一側性の高度難聴以上の群では9.6%と全体と比較して検出率に大きな差は認められなかった。

3) マスクリーニング後の診察フローチャートの作成およびフォローアップ

本研究では、マス・スクリーニングにより全出生児を対象に検討が実施されるため、CMV陽性であることが診断された児に対するフォローアップ手法に関して、小児科および耳鼻咽喉科を主体にフォローアッププランの検討を行い、マスクリーニング後の陽性例に対する介入の流れを定めた。

スクリーニング検査によって検出された陽性児について、必要な事項としては1) 臨床経過の追跡調査(血液、画像、電気生理学的検査と、経時的な発達検査を行い、神経学的予後について詳細に解析するとともに臨床的な交絡因子と神経学的予後についての関連を検討する。) 2) 治療的介入効果の評価(治療に関するプロトコールと効果判定方法を策定し解析する。)の2つを定めた。また、協力医療機関を含め長野県内の各施設で共通して実施する必要があるため、陽性例に

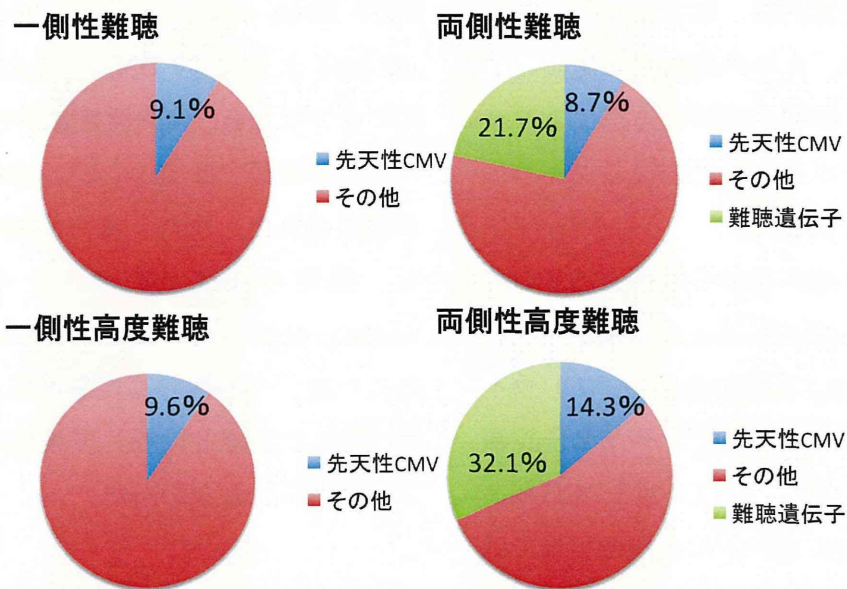


図1 難聴患者に占める先天 CMV 感染症の割合 (岩崎ら 2014)

難聴患者における先天性の一側性難聴患者の割合を明らかにする事を目的に、311 例の保存臍帯を用いた先天 CMV 感染症の検査を実施した。その結果、一側性難聴、両側性難聴のいずれのケースにおいても約 9%に先天 CMV 感染が認められた。また、重症度に関しては、両側高度難聴の場合にやや先天 CMV 感染症児の割合が多い事が明らかとなった。

対する診断のフローチャートと生後 1、4、7ヶ月および1歳～5歳における検査項目をまとめ、各施設において説明を実施した。また、症候群性・非症候群性も含め CMV 陽性例に関しては、実際にフォローアップにプランを活用し、その有効性と問題点に関して更なる検討を行っている。また、先天 CMV 感染による種々の症状を抑制する事を目的に、ガンシクロビルによる治療が小児科を中心に行われており、その有効性を確認する事を目的に、血液中の CMV のコピー数の測定も併せて実施している。その結果 CMV が 2,000 コピー/ul 程度であったものが、2週間後に約 200 コピー/ul、4週間後に 15 コピー/ul と大幅に減少している事を

確認できており、モニタリングに有用であることが改めて確認された。

また、当施設で人工内耳埋込術を実施した先天 CMV 感染症による難聴児を対象に、PET を用いた脳機能イメージング解析を実施した。症例は2例とも両側性の中等度難聴で補聴器を装着していたが、難聴が増悪して人工内耳となった例である。この2例を対象に、中枢症状が無いことを確認するとともに、聴覚活用度合いを明らかとする事を目的に読唇(読唇)課題を負荷した際の脳機能イメージング解析を実施した。その結果、FDG-PET では極端な低代謝領域は認めず、形態のみならず機質的にも脳機能障害が無いことが確認された。また、読唇刺激負荷を

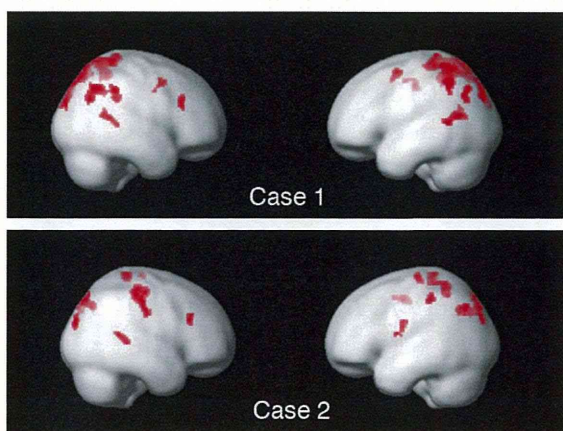


図2 先天 CMV 感染による小児難聴症例の読唇課題実施時の脳機能イメージング (Moteki et al., 2014)

両側性、進行性の難聴を呈した先天性 CMV 感染による難聴症例の人工内耳装用前に実施した読唇課題実施時の脳機能イメージングの結果（健常コントロールとの差分領域）を示す。

健常コントロールと比較して、極端な低代謝領域が無いことが分かる。また、視覚刺激にも関わらず、上側頭回（ウェルニッケ野）で活性化が認められるパターンとなっていた。この代謝パターンは先天の重度難聴者に多く認められるものであり、難聴が比較的早期より進行していた可能性を示唆するものであった。

行った際には、視覚刺激にも関わらず2例とも上側頭回（ウェルニッケ野）に活性化領域を認めた。この特徴は、先天の重度難聴児で視覚刺激を活用する児に共通してみられる特徴であり、本症例においても難聴が比較的早期より進行していた可能性を示唆するものである。なお、2例とも人工内耳装用が5歳5ヶ月、4歳9ヶ月と比較的遅かったこともあり、装用後の成績は WISCIII の VIQ でそれぞれ 84 点、56 点であった。今後さらに症例を重ねて検討を行う必要がある。

D. 考察

本研究では、スループットに優れたマス・スクリーニング法として、FTA カードと定量 PCR 法を組み合わせた検出システムを開発するとともに、その感度・特異度を明らかにした。過去の報告と同様に、FTA カードを用いた場合には、血液から DNA を抽出した場合と比較して、検出感度が 1/4～1/5 程度に低下することが確認されたため、4 重測定を行うことにより偽陰性を減らした。特に本年度は前年度までに確立された検出系を用いて、1422 例の FTA を用いた解析を行った結果、6 名より CMV DNA を検出した(0.4%)。これらの児のうち 3 名に関しては、保存臍帯を用いた再検査を行い、保存臍帯においても陽性であることを確認した。また、前年度までに作成したフォローアッププランに基づきフォローアップ中である。今後さらに多数の症例を検討することで、本邦における罹患者頻度を明らかにすることが可能であると期待される。また、難聴患者に占める先天 CMV 感染症の割合を明らかにする事を目的に、311 例の保存臍帯より抽出した DNA を用いて同様の解析を行った。その結果、28 名（9.0%）の難聴児の保存臍帯より CMV DNA を検出した。よって、本邦における先天 CMV 感染症による難聴患者の割合は、難聴患者全体の 10%程度という結果を裏付けることができた。先天性サイトメガロウイルス感染症による難聴の特徴としては、従来 of 報告と同様、非常にバ

ラエティに富んでおり、一側・両側性の難聴が有り、進行性・遅発性のケースもあることが明らかと成ってきたため、マスキリーニングによるハイリスク児のピックアップの重要性が改めて示唆された。

E. 結論

本研究により、定量性およびスループットに優れた定量 PCR 法による検出システムを構築するとともに、その感度および特異度に関して明らかにした。また、FTA カードを用いたマスキリーニングとして 1422 名の新生児のスクリーニング検査を実施する事が出来た。さらにまた、難聴患者における先天 CMV 感染症児の割合が約 10%程度であることを見出した。今後更に多数の症例を解析することで、本邦における罹患者頻度が明らかとなることが期待される。

F. 研究発表

論文発表

[1] 岩崎聡、古舘佐起子、西尾信也、矢野卓也、茂木英明、工 穰、宇佐美真一：一側性難聴児における先天性サイトメガロウイルス感染症の関与. *Otol JPN* 23 (5) : 848-853. 2013

[2] Iwasaki S, Sano H, Nishio S, Takumi Y, Okamoto M, Usami S, Ogawa K. Hearing handicap in adults with unilateral deafness and bilateral

hearing loss. *Otol Neurotol* 34(4): 644-649. 2013

[3] Iwasaki S, Usami S. Hearing loss in children with congenital cytomegalovirus infection. *INTECHchapter1*: 1-15. 2013

[4] Moteki H, Suzuki M, Naito Y, Fujiwara K, Oguchi K, Nishio S, Iwasaki S, Usami S. Evaluation of cortical processing of language by use of positron emission tomography in hearing loss children with congenital cytomegalovirus infection. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 78(2): 285-289. 2013

[5] Van de Heyning P. Adunka O. Arauz S. L. Atlas M. Baumgartner W. D. Brill, S. Bruce, I. Buchman C. Caversaccio M. Dillon M. Eikelboom R. Eskilsson G. Gavilan J. Godey B. Green K. Gstoettner W. Hagen R. Han, D. Iwasaki S. Kameswaran M. Karltorp E. Kleine Punte A. Kompis M. Kuthubutheen, J. Kuzovkov, V. Lassaletta L. Li Y. Lorens A. Manikoth M. Martin J. Mlynski R. Mueller J. O'Driscoll M. Parnes L. Pillsbury H. Prentiss S. Pulibalathingal S. Raine C. H. Rajan G. Rajeswaran R.

Riechelmann H. Rivas A. Rivas J. A.	なし
Senn P. Skarzynski P. H. Sprinzl G.	3.その他
Staecker H. Stephan K. Sugarova S.	なし
Usami S. Wolf-Magele A. Yanov Y.	
Zernotti M. E. Zimmerman, K. Zorowka	
P. Skarzynski H. Standards of practice in the field of hearing implants.	
Cochlear Implants Int 14 (2): 1-5. 2013	

学会発表

[1] Iwasaki S, Furutate S, Nishio S,
Yano T, Moteki H, Usami S.
Cytomegalovirus DNA diagnosis using
preserved umbilical cord in hearing
impaired children. 9th Molecular
Biology of Hearing and Deafness
Conference. 2013.6.22-25. Stanford
University

[2] 矢野卓也、岩崎聡、西尾信哉、工 穰、
茂木英明、宇佐美真一：先天性サイトメガ
ロウイルス感染に対するマススクリーニ
ングシステム確立. 第 58 回 日本聴覚医
学会・学術講演会 2013.10.24-25. 松本

[3] 岩佐陽一郎、西尾信哉、矢野卓也、岩
崎聡、宇佐美真一：先天性 CMV 感染症と
一側性難聴の検討. 第 23 回 日本耳科学
会 2013.11.24-26. 宮崎

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

Ⅲ. 分担研究報告

先天性サイトメガロウイルス感染症による難聴のマス・スクリーニング および治療法に関する研究

研究分担者 小池 健一 信州大学教授

研究要旨

先天性サイトメガロウイルス (CCMV) 感染症については、その検出方法、神経学的予後、治療方法などが未解明である。これらを明らかにするために、多施設での共同研究体制を構築し、スクリーニング検査によって検出された陽性者について、その神経学的検査と予後について詳細に検討するためのプロトコールを作成した。本年度はその計画に従って陽性者のフォローアップが開始された。今後、さらに症例を増やして、神経学的予後と治療的介入による効果について解明する予定である。

A. 研究目的

先天性サイトメガロウイルス (CCMV) 感染症の検出方法を確立し、それら患者における神経学的予後について、様々な交絡因子とともに解析しそれを明らかにする。さらに、治療方法とその効果を検討し、本疾患のガイドライン策定に寄与することを目的とする。

B. 研究方法

スクリーニング検査によって検出された陽性者について、血液、画像、電気生理学的検査と、経時的な発達検査を行い、神経学的予後について詳細に解析する。臨床的な交絡因子と神経学的予後についての関連を検討する。さらに、治療に関するプロトコールと効果判定方法を策定し、解析する。また、病態に合わせて神経障害マーカーや免疫学的マーカーを検討する。以上の検

査・評価基準と治療方法は12の関連施設で共同研究体制をとり、統一基準の下で行い、データベース化して解析する。

(倫理面への配慮)

本研究は全て、信州大学倫理委員会の承認を受けて行っている。観察研究部分と、治療にかかる介入研究部分と、それぞれ保護者に対して十分な説明の下、インフォームドコンセントを得て進めている。研究で得られたデータは全て匿名化し、小児医学講座内で厳重に管理している。

C. 研究結果

平成24年度に研究プロトコールを作成し、共同研究体制の構築を行った。図1にその概要を示す。本年度は、さらに共同研究施設を増やして検討を進めた。現時点で3施設 1030名の解析中、陽性者は1名 (0.1%) であ

長野県CCMVプロジェクトの概要

目的: CCMVの疫学、母体情報との関連、
微細神経兆候の検索、治療方法の確立、予後の解析
早産児における病態解析

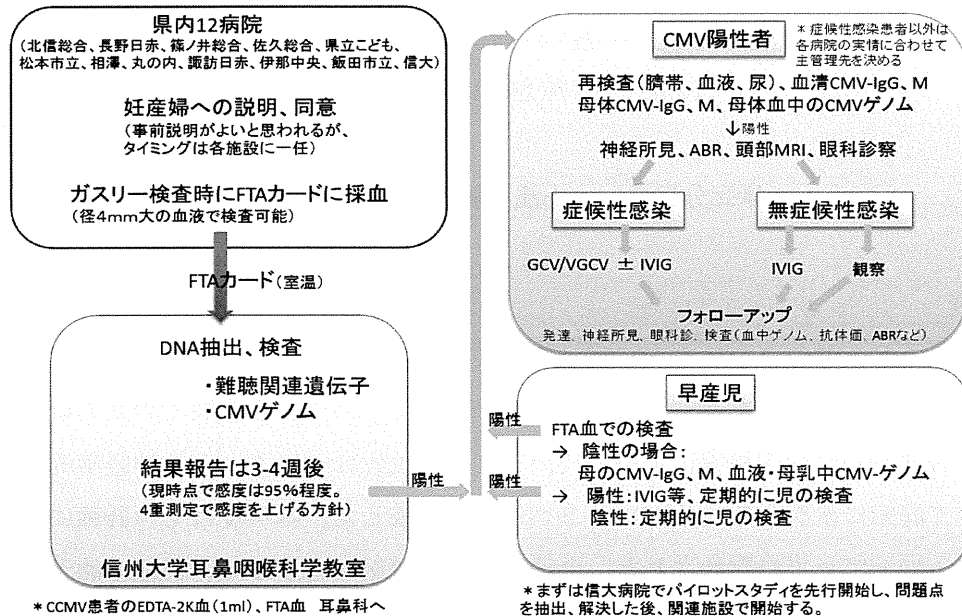


図1. 研究の概要の説明図

った。神経学的診察や頭部MRIの結果から無症候性感染であると判定し、現在6か月間のフォローアップ中である。昨年策定したプロトコルを表1, 2に示すが、不具合なく、今後症例の蓄積が望まれる。

D. 考察

CCMV感染は多くの場合無症候性に経過すると言われてきた。しかし詳細な観察の中で、進行性の難聴や知的障害を伴わない発達障害児の報告が増加している。しかしその頻度や神経学的予後を規定する因子などの詳細は不明で、治療に関しても統一した見解はない。一方、若年女性におけるCMV抗体保有率は低下していると言われており、この問題は本邦における喫緊の課題である。今回、多施設共同研究体制の下、協力施設が増加し、症例が集積されつつある。また、陽性者のフォローアップも開始され、今後

さらに多数例の検討の下で、この問題に対する回答が得られるものと考えられる。

E. 結論

多施設共同研究体制の下で、共通の評価、治療プロトコルを策定したことによって、今後、本疾患における神経学的予後の改善に貢献する知見が得られるものと考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

本林光雄、稲葉雄二、小池健一、他: 当院における先天性サイトメガロウイルス感染児の診療経験と今後の課題. 第5回日本小児科学会長野地方会(平成25年6月23日、長野市)

表 1. 評価プロトコール

①一次評価		
	診断の確定	CMV-PCR 再検（血液、尿、臍帯）、血清 CMV-IgG・M
②二次評価		
	症候性・無症候性の鑑別、病型の決定、母体の評価	
	周産期情報	SGA、早産
	一般身体所見	肝脾腫、黄疸、貧血、呼吸器症状、点状出血、紫斑
	神経学的診察	小頭症、不活発、筋緊張低下、哺乳不良、痙攣
	眼科診察	脈絡網膜炎、白内障
	血液検査	ALT、PLT、D-Bil、Hb
	髄液検査	細胞数、CMV-PCR、蛋白、糖
	ABR	聴力閾値、脳幹機能
	頭部 CT	脳内石灰化
	頭部 MRI	脳萎縮、脳室拡大、上衣下仮性嚢胞、大脳白質病変、大脳皮質形成異常、小脳低形成（萎縮）、髄鞘化遅延、水頭症
	母体の評価	血中 CMV-IgG・M、血中 CMV-PCR
<病型分類>	無症候性	異常所見なし
	症候性脳所見型	脳室拡大、脳内石灰化、網脈絡膜炎、ABR 異常など、脳所見のみ
	症候性全身型	脳所見に加え肝障害、出血斑、血小板減少、眼科的異常などを伴う
③フォローアップ		
	無症候性感染	表 3 に従い、発育・発達、血液検査、ABR、画像検査でフォローする
	症候性感染	表 3 に従い、発育・発達、血液検査、ABR、画像検査でフォローする

表 2. 治療プロトコール

症候性	全身型	IVIG	300mg/kg/回 2～3 時間かけて点滴静注 治療開始 1 週目と 2 週目に 1 回ずつ、計 2 回
		VGCV	16mg/kg/回 1 日 2 回内服 6 週間（調剤方法は別添資料を参照）
		GCV	内服困難例、全身状態不良例などでは、VGCV のかわりに GCV を使用しても構わない：6mg/kg/回 1 日 2 回点滴静注 6 週間
	脳所見型	IVIG	全身型と同様
		VGCV	8mg/kg/回 1 日 2 回内服 6 週間
		GCV	全身型と同様
無症候性		無治療または IVIG（全身型と同様）	

表 3. フォローアッププラン

暦齢	神経 診察	血液 検査	尿検査	聴力検 査	KIDS/新版 K 式/WISC	眼科診	頭部 MRI
1か月齢	○	○	○	○		○	○
4か月齢	○	○	○				
7か月齢	○	○	○	○	○		
1歳	○	○	○	○		○	
2歳	○	○	○	○	○		○
3歳	○	○	○	○	○		
4歳	○	○	○	○	○		
5歳	○	○	○	○	○		

先天性サイトメガロウイルスによる難聴のマス・スクリーニング および治療法に関する研究

研究分担者 小川 洋 福島県立医科大学教授

研究要旨

マウスサイトメガロウイルスを出生直後のマウスに脳内接種をすることにより高率に聴覚障害をきたすマウスCMV感染モデルの作製を試み、感染部位の観察を行った。このマウスの実験系では生後6週までの期間におよそ80%という高率に聴覚障害を引き起こすことができた。これらのマウスの側頭骨病理標本においてHE染色では巨細胞は確認できず、形態学的な変化は軽度であり、MCMV IE3による免疫染色においてラセン神経節、外リンパ腔、髄膜に感染細胞が確認された。

A. 研究目的

ヒトサイトメガロウイルスの先天感染による聴覚障害は先天性難聴の原因として頻度が高いものの、聴覚障害を引き起こすメカニズムに関しては不明な点が多い。聴覚障害を引き起こすメカニズムを解明するためには感染動物モデルを用いて機能的、形態的な研究を行うことが重要である。従来、先天性感染モデルとしてモルモットを用いた実験系や、内耳感染モデルとしてマウスやラットを用いた系の報告がなされてきた。サイトメガロウイルス (CMV) は種特異性が高く、ヒトCMVはヒトに、モルモットCMVはモルモット、マウスCMVはマウスにしか感染しない。ウイルス感染が示されたモデルにおいても聴覚障害を必ずしも引き起こすとは限らず、高率に聴覚障害をきたすモデルの作製が期待されていた。今回われわれは、マウスCMVにより高率に聴覚障害をきたすマウスCMV感染モデルの作

製を試み、感染部位の観察を行った。

B. 研究方法

1.感染モデルの作製

マウス C を Balb/3T3 細胞上で増殖させ、上清をウイルス液として回収し、 1.7×10^2 pfu (plaque formation unit) の濃度のウイルス量を生後 24 時間以内のマウス (Balb/c) 右脳室に 27G の針を用いて接種した。対象としてマウス腹腔内に同様のウイルス量を接種した。このウイルス量は腹腔内投与においてほぼ 50% のマウスが死亡する量である。

2.ABR (auditory brain stem response) の計測

マウスはネンブタール 3ml + セロクター 2% 注射液 0.9ml + 生理食塩水 16.9ml で調整した麻酔液を 0.006ml/g で腹腔内投与による麻酔を施したのち、検査側耳後部、