

201410021A

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

(成育疾患克服等総合研究事業)

母子感染の実態把握及び検査・治療に関する研究

平成 26 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 藤井 知行

平成 27(2015)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
(成育疾患克服等総合研究事業)

母子感染の実態把握及び検査・治療に関する研究

平成 26 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 藤井 知行

平成27(2015)年 3月

目 次

I. 総括研究報告

- 母子感染の実態把握及び検査・治療に関する研究 ----- 1
藤井知行

II. 分担研究報告

1. 先天性トキソプラズマ感染の予知に最適な IgG avidity 値 ----- 31
山田秀人
2. 富山大学産科婦人科におけるサイトメガロウイルスIgM陽性例
ならびにトキソプラズマIgM陽性例に対するAvidity検査 ----- 41
齋藤滋
3. 母子感染の実態把握及び検査・治療に関する研究 ----- 45
鮫島浩
4. 長崎市における妊娠初期のトキソプラズマ・サイトメガロウイルス
抗体保有率の調査（中間報告） ----- 49
森内浩幸
増崎英明
5. 当院における妊娠初期 CMV 抗体スクリーニングの内訳と症候性
CMV 感染との関連 ----- 54
金山尚裕
6. サイトメガロウイルス、トキソプラズマの母子感染スクリー
ニングのための Avidity 検査導入を目指した周産期施設における
検査体制の確立とデータ保存 に関する研究 ----- 60
川名 敬
7. CMV 核酸検査法の開発 ----- 65
井上直樹

8.	妊婦血清におけるトキソプラズマ感染の評価 - Avidity 測定の標準化・臨床有用性の研究 -	71
	錫谷達夫	
9.	血清学的スクリーニング体制の構築に向けた現時点における 抗体測定の問題点	75
	峰松俊夫	
10.	先天性CMV感染症診断サービスの構築と普及	83
	木村宏	
11.	先天性CMV感染症児2例に対するバルガンシクロビルの 6か月間投与の診療経験	87
	吉川哲史	
12.	母子感染患者のフォローアップとレジストリに関する研究	91
	岡明	
13.	北海道地区で診断された先天性サイトメガロウイルス感染 児の臨床経過	97
	古谷野伸	
14.	母子感染の実態把握及び検査・治療に関する研究	103
	小林廉毅	
15.	新生児尿スクリーニングと抗ウイルス薬治療導入後の症候性 先天性サイトメガロウイルス感染児の後遺症発生率	110
	森岡一朗	
	山田秀人	
III.	研究成果の刊行に関する一覧表	121
IV.	研究成果の刊行物・別刷	127

I. 総括研究報告

母子感染の実態把握及び検査・治療に関する研究

研究代表者 藤井 知行 東京大学医学部附属病院 女性診療科・産科 教授

【研究要旨】

CMV とトキソプラズマの母子感染についての包括的な医療体制の基盤となる医療技術の開発、特に CMV の感染児尿 DNA 診断法の確立と妊婦での血清学的なハイリスク診断である Avidity 検査法の有用性の検証と標準的診断薬としての開発、また、母子感染リスク評価法およびフォロー体制の確立を研究の目的とする。平成 26 年度は 25 年度に引き続き、計画通りに進捗した。(1)CMV 感染症の DNA 診断技術の体外診断用医薬品化に向けた開発については、参加企業を募集し 2 社と共同研究契約を締結し、検査法の諸条件の再検討を行った。また、PMDA と相談し、リスク新生児の前向き試験導入を決定、臨床性能試験実施計画を確定した。現在、前向き試験を実施中である。先天性 CMV 感染疑い症例の DNA 診断については、HP を作成し、相談受け付けを開始、Central Laboratory で検査を開始した。(2)妊婦診断開発については、CMV は 2 社、トキソプラズマは 3 社が参画し PMDA との対応に参加している。保存検体を用いて検査キットの標準化を実施、CMV については現在 6 施設で前向き研究として、抗 CMV IgG 陰性妊婦を対象に、妊娠経過中に IgG 陽転が確認された初感染の妊婦血清の収集を進めている。陽転した母体の血清を使って Avidity 検査の臨床性能試験を行う予定である。トキソプラズマについては、5 施設で前向き研究として、抗トキソプラズマ IgM 陽性妊婦を対象に血清の収集を進めている。また、一般医療機関の依頼にて CMV・トキソプラズマ初感染疑い例の Avidity 検査を行い初感染のリスクについて評価を行っている。(3)治療薬開発・コホート調査については、先天性感染児レジストリの様式、項目などを整理し、ホームページ(HP)に掲示した。また、先天性 CMV 感染の新生児スクリーニング検査で診断されたコホート群の経過を観察中である。また、分担研究者施設で、経口抗ウイルス剤による治療でのウイルス学的および聴覚に関する有効性について解析した。(4)CMV とトキソプラズマの母子感染の国内相談体制については、妊婦から相談を受けた医師のための指針を作成し、国内の全産婦人科医師に配布した。また感染予防に向けた妊婦への予防啓発パンフレットを研究班としてまとめ、印刷業者を決定した。(5)各研究者が、本班研究目的達成のための基礎研究、臨床的研究を行った。

研究分担者氏名・所属研究機関名及び所属研究機関における職名

研究分担者

山田 秀人・
神戸大学大学院医学系研究科・教授

齋藤 滋・
富山大学大学院医学薬学研究部・教授

鮫島 浩・
宮崎大学医学部・教授

増崎 英明・

長崎大学大学院医師薬学総合研究科・教授

金山 尚裕・

浜松医科大学・教授

川名 敬・

東京大学医学部附属病院・准教授

井上 直樹・

岐阜薬科大学・教授

錫谷 達夫・

福島県立医科大学・教授

木村 宏・

名古屋大学大学院医学系研究科・教授

峰松 俊夫・

愛泉会日南病院疾病制御研究所・所長

森内 浩幸・

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科感染病態免疫学・教授

吉川 哲史・

藤田保健衛生大学医学部・教授

岡 明・

東京大学医学部附属病院・教授

古谷野 伸・

神奈川県立保健福祉大学・教授

小林 廉毅・

東京大学大学院医学系研究科・教授

森岡 一朗・

神戸大学附属病院周産母子センター・教授

研究協力者

川名 尚

帝京大学溝口病院・教授

小島 俊行

三井記念病院・部長

山口 暁

成和会山口病院・院長

A. 研究目的

妊婦のウイルスや原虫の感染は胎盤を通じて胎児への移行することがあり、児にTORCH症候群等の様な重篤な全身感染症を来す。母子感染症による後遺症としては中枢神経系、聴覚系、視覚系など多岐に渡るが、こうした後遺症は早期介入・治療により予後改善が可能であることが示されてきており、今後、予防、診断、治療の包括的な母子感染医療体制の構築が求められている。

母子感染については研究レベルで新たな診断や治療技術が開発されてきているが、我が国の臨床医療技術としては導入されておらず、医療現場での混乱を来している。特に頻度が高いCMVについては、厚生労働科学研究として行われた新生児スクリーニング調査によって、我が国で現在300人に1人という高い率で発生していることが分かった(Koyano S, et al 2011)。しかし我が国では妊婦の血清学的なハイリスク診断技術であるAvidity検査は未承認であり、また、新生児の確定診断である尿DNA診断技術についても未承認となっている。また先天性CMV感染児の治療については、海外では難聴などの症候性の児に対する抗ウイルス治療の治験が積極的に行われており、我が国でも施設単位での投与が行われている

が実態は不明である。一方、トキソプラズマ感染は、頻度はより低いものの、その実態は不明である。すでに海外では薬剤による治療が一般化している現状があるが、国内での販売がなく未解決の問題である。さらに、我が国では妊婦での血清学的なハイリスク診断技術である Avidity 検査は未承認である。こうした現状の問題点を解決するために、本研究では、CMV とトキソプラズマの母子感染についての包括的な医療体制の基盤となる医療技術の開発を行う。妊婦での母子感染リスク評価法とフォロー体制を確立するために、妊婦での血清学的なハイリスク診断である Avidity 検査法の有用性を検証し標準的診断薬としての開発を行うとともに、感染児の診断法についても CMV の尿 DNA 診断の確立を目指す。また、実態把握の強化と基盤情報を集積しエビデンスに基づく将来の治療を可能とするために、感染児のレジストリ制度を構築し、治療等についても国内で協力し相談が可能な体制作りを行う。

平成 25 年度は、新生児 CMV 診断開発およびハイリスク妊婦診断の血清学的 Avidity 検査法について、各研究施設での研究倫理承認を終了し、検査法開発に参加する共同研究企業の選定を行い、その結果、新生児 CMV 診断開発 3 社、血清学的 Avidity 検査法 4 社の計 7 社と東京大学の間で共同研究契約を結んだ。新生児 CMV 診断については、検査法の Validation の第一段階を終了させた。新生児 CMV 診断の中央検査体制およびレジストリは開始準備を終了した。感染陽性患児については、研究班として地域を分担して班員が対応について相談を行う体制を作成した。血清学的 Avidity 検査法については、班員各施設での感染者の

保存検体について調査を行い、その提供を受け、検査法・検査キットの検定比較を行う準備を終了した。CMV の Avidity 検査については、IgG 陽転が確認された初感染の妊婦血清を用いた前向き研究を、トキソプラズマの Avidity 検査については IgM 陽性が確認された妊婦血清を用いた前向き研究を、それぞれ開始した。また、感染疑い妊婦の血清学的 Avidity 検査による母子感染リスク診断を開始した。

平成 26 年度は、平成 25 年度の研究を継続し、CMV とトキソプラズマの母子感染についての包括的な医療体制の基盤となる医療技術の開発、特に CMV の感染児尿 DNA 診断法の確立と妊婦での血清学的なハイリスク診断である Avidity 検査法の有用性の検証と標準的診断薬としての開発、また、母子感染リスク評価法およびフォロー体制の確立を研究の目的とした。

B. 研究方法

(1) 新生児CMV診断開発と中央検査体制（井上・古谷野・木村・岡・小林）

①CMV感染症のDNA診断技術の体外診断用医薬品化に向けた開発

PMDAと研究者（藤井、岡、井上）との事前相談を受け、改めて参加企業を決定し、各企業による事前相談、対面相談を受け、臨床研究計画を確定し、各研究者施設と共同研究契約を締結、研究を開始した。検査法の諸条件の再検討を行い、リスク新生児の前向き試験を開始した。対象は、感染児、対照群児（母親（IgM陽性等）、胎児（FGR等）、出生児（血小板減少等）があり先天感染が疑われるが非感染例）および健常児である。

②先天性CMV感染疑い症例のDNA診断
研究班として相談を受け Central Laboratoryが検査を行い、診断可能な体制を作り、相談受付を開始した。

(2) 妊婦診断開発と中央検査体制 (錫谷・峰松・井上 / 山田・齋藤・鮫島・増崎、金山・川名敬・小林・川名尚・小島・山口)

①CMV の Avidity 検査開発

PMDA と研究者 (藤井、岡、井上) との事前相談を受け、改めて参加企業を決定した。検査法としての諸条件の検討をさらに行った。また、妊娠経過中に IgG 陽転が確認された初感染の妊婦血清を用いて、検査法・検査キットの検定比較・統計解析を行い、Avidity 検査の臨床的有用性等の評価を行うため、前向き研究として、臨床検体収集を開始した。また参加企業が、臨床性能試験実施のための事前相談を PMDA と行った。

②トキソプラズマの Avidity 検査開発

PMDA と研究者 (藤井、岡、井上) との事前相談を受け、改めて参加企業を決定した。感染者の保存検体を使用し、検査キットの標準化を開始した。また、妊娠経過中に IgM 陽性が確認された初感染の妊婦血清を用いて、検査法・検査キットの検定比較・統計解析を行い、Avidity 検査の臨床的有用性等の評価を行うため、前向き研究として、臨床検体収集を開始した。また参加企業が、臨床性能試験実施のための事前相談を PMDA と行った。

③感染疑い妊婦の中央検査体制

研究班として相談を受けた症例に対し、Central Laboratoryが検査を行った。

(3) 感染児レジストリ・治療薬開発・

コホート調査 (岡・森内・森岡・古谷野・木村・小林)

①感染児レジストリ、および先天性 CMV 感染コホートの予後調査

先天性感染児のレジストリを開始し、また先天性 CMV 感染の新生児スクリーニング検査で診断されたコホート群の経過を観察した

②治療薬開発

平成 25 年 12 月に米国での治療の第 3 相臨床試験 (NCT00466817) にて経口抗ウイルス薬の長期投与の有効性を支持する結果報告があったことを受け、海外の学会等にて最新の情報を収集した。分担研究者施設での経口抗ウイルス剤による治療でのウイルス学のおよび聴覚に関する有効性について解析した。

(4) CMV とトキソプラズマの母子感染の国内相談体制 (藤井・小島・山田・森内・吉川・他)

①相談指針の作成

感染の可能性がある妊婦に情報提供を行なう指針を作成した。

②感染予防に向けた妊婦への予防啓発

母子感染予防についての一般向けパンフレットを作成した

(5) CMV とトキソプラズマの母子感染の基礎的、臨床的研究 (各研究者)

本班研究目的達成のための基礎研究、臨床的研究を、各研究者が行った。

(倫理面への配慮)

本研究はヘルシンキ宣言に基づく倫理的原則を遵守し、個人情報管理に万全を期して実施した。検査法の研究開発ならびに研究班としての検査施行、コホート群でフォローアップについては、文書による説明および同意書などにつ

いて、当該医療機関の倫理委員会での審査承認を受けて行った。また、研究の公開、個人情報の保護など臨床研究に関する倫理指針を遵守している。また患者の匿名化により患者に不利益が及ぶ可能性を排除した。患者の人権擁護、個人情報の保護、データベースの機密性等については特に注意を払いこれを保証している。また研究者の利益相反管理の申出を、研究者の所属医療機関での利益相反委員会あるいは倫理委員会に対して行った。

C. 研究結果

(1) 新生児CMV診断開発と中央検査体制

①CMV感染症のDNA診断技術の体外診断用医薬品化に向けた開発

i) 共同研究企業の再選定

PMDAと研究者の事前相談を受け、共同研究企業の再選定を行った結果、シノテストとキアゲンの2社が参画することになった。

ii) 検査法の諸条件の検討 (井上)

CMVスクリーニング検査法について、検査法としての諸条件の検討をさらに行った。昨年度確定した新濾紙はスクリーニング法には適するが、濾紙からDNAを溶出する2次検査においては、加熱溶出で感度が低下するため核酸精製用試薬を用いた方法を用いる方がよいことを明らかにした。

CMVスクリーニング法を用いた新生児の検査は2万5千人以上で実施され、臨床的に有用であることが既に示されている。しかし、商業化の障壁として①特殊濾紙の単価が高い、②稀に濾紙によるかぶれがある、③反応前に濾紙を水洗するステップがあるため小型卓上遠

心機が必要となる、などが明らかになっている。そこで、濾紙選定の再検討を行い、基材を変更するとともに食品添加物として登録された着色料で着色した新たな濾紙の試作品を完成させた。実際の新生児に使用する前に、保存材料20種類を用いて、この濾紙によるCMV検出感度と非特異反応を検討したが、これまでの濾紙に相当する感度・特異性が得られた。打ち抜いた濾紙をそのままリアルタイムPCRした場合に比して、濾紙からDNAを溶出した場合、感度が3倍程度よくなる。このため、コピー数が少ない検体で、陽性が疑われる検体については、従来は、濾紙からDNAを溶出し、溶出したDNAを用いて、リアルタイムPCRを行う方法を2次検査に利用してきた。このDNA溶出法を新濾紙についても検討したが、加熱法での回収率が悪かった。しかし、DNA精製試薬を用いれば問題が無いことが明らかになった。

現在、商業化のために共同研究2社での解析を進める一方、前項に述べた臨床試験用検体新生児での尿採取に使用して濾紙の大きさや厚みなど扱いやすさの点で現場としての利便性の最終検討がされている。

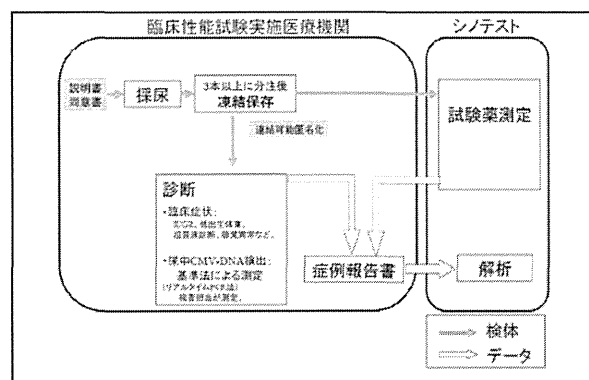
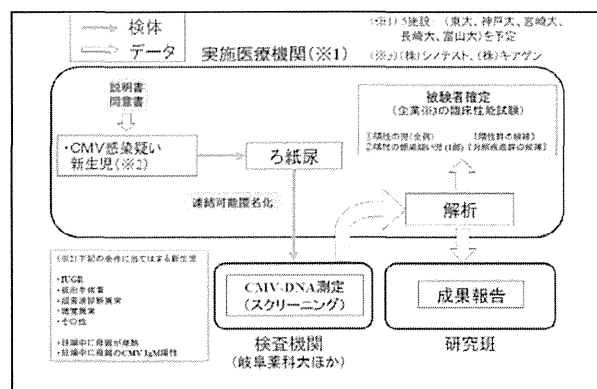
iii) リスク新生児の前向き試験

PMDAの意見をもとに、リスク新生児500-1000人をスクリーニングし、可能な限り30名程度の感染児を新たに同定する前向き研究を実施することとし、東大、富山大、神戸大、長崎大、宮崎大で尿濾紙検体の収集を行い、すでに尿濾紙スクリーニング法が技術移転された神戸大・長崎大を除く3大学とその関連施設から当研究室に送付されてくる尿濾紙を用いて、到着後2日以内にCMVの核酸検査結果を出した。3月13日現在で、

80検体中6検体（7.5%）でCMV陽性を確認した。この検査結果をもとに、担当施設が臨床性能試験に用いる液体尿を、親権者の同意をとって採取している。

また、対照群児（母親（IgM陽性等）、胎児（FGR等）、出生児（血小板減少等）があり先天感染が疑われるが非感染例）について、目標70例のところ、すでに58例を登録した。現在、健常児50例を目標に登録作業を進めている。

【臨床試験フロー図】



②先天性CMV感染疑い症例のDNA診断サービス（木村）

先天性 CMV 感染症診断法として広く実施されている核酸診断法は健康保険適応がない。よって核酸診断を実施せず、診断に至らない患者が多数存在することが問題となっている。核酸診断法の保

険収載までの当面の検査の受け皿として、何らかの中央検査体制が必要である。そこで「先天性 CMV 感染診断サービス」としてウェブベースの依頼で無料の検査を行い、依頼主治医に結果報告するシステムを構築した。平成 26 年 9 月に先天性 CMV 感染症診断サービスを Central Laboratory（名古屋大）で開始し、日本小児感染症学会 HP、新生児医療連絡会 HP およびレター、MFICU 連絡協議会 ML、日本産科婦人科学会 HP、日本周産期新生児医学会 HP で周知した。

【先天性 CMV・トキソプラズマ感染症 HP】

先天性感染症 (CMV・トキソプラズマ)

先天性CMV感染診断サービス 診断サービス Q&A 先天性感染症患者レジストリ

先天性CMV感染診断のための検査を無償で行います

貴方国における先天性CMV感染は14/3000出生と報告が低いものの、多くは非診断です。産後診断のためには、胎血のサポートと感染経路シナジ（産時胎血）の確認が不可欠と考えます。厚生労働省研究班（福井県）では、先天性CMV感染の早期把握を目指し、無償でCMV-DNA検出を実施します。

対象となる患者さんの要件: 以下の(A)~(C)を全て満たすこと

- (A) 生後3歳以内の尿が採取可能な尿は保存されていること
(尿を血液と可、カスリ一紙、保存凍結不可)
- (B) 尿の血清CMV-IgG/IgMを測定しており、そのいずれかまたは両方が陽性であること
- (C) 以下の(1)~(4)のいずれかを満たすこと。
 - (1) 胎動異常の異常所見がある
 - (2) 小頭症 (-1.5 SD以下)
 - (3) 肝臓値 (ALT 100 IU/L以上) かγ-GTP 血が減少 (1.5倍以下)
 - (4) AABR若しくはAABRに異常所見がある

先天性CMV感染診断サービスの流れ

- (1) 申込書と同意書を記載し、申込書をCMV感染診断センター(052-744-1974)にFAXで送付してください。(申込書、同意書は各施設で用意をお願いします)。申込書、同意書の記載に不備がある場合は検査できませんので、ご了承ください。
- (2) 胎動異常等が検査要請の可否を判断します。要請と判断された場合は、送付方法をFAXで主治医に連絡します。
- (3) 検査完了後、7~10日以内に結果し、FAXで各施設に結果を報告します。

【検査申し込み書式】

厚生労働省研究班(協弁班) 先天性CMV感染症診断 解析事務局管内
FAX番号 032-744-2874

**** 先天性CMV感染症診断 申込書 ****

施設名 _____ 所属名 _____
 施設住所 _____
 主治医名 _____
 FAX番号 _____ (検査受諾の可否・結果をお伝えします)
 電話番号 _____ (申込書に不備があったときお問い合わせ)

患者情報 (正確性は必須です、記載漏れの場合受理できないことがあります)
 母姓姓 姓 _____ 同姓産 同胞の数 _____ 人 出産時年齢 _____ 歳
 ILU (姓・名・姓) _____ 胎児エコー器具 _____)
 妊娠中のCMV感染症 (姓・無・不明) 有の場合 (初感染・再感染・不明)
 初感染の判定根拠 (_____)
 生年月 年 _____ 月 _____ 日 (姓・名) Appgar score 1分 _____ 点/5分 _____ 点
 在胎週数 _____ 週 _____ 日 出生体重 _____ kg 身長 _____ cm 頭圍 _____ cm
 日齢 _____ 日 (申請時の日齢)
 先天性CMV感染症を疑う根拠
 CMV-IgM結果 種 (_____) 方法 (_____)
 CMV-IgG結果 種 (_____) 方法 (_____)
 その他のウイルス学的検査結果 (_____)
 顕微鏡検査 (例: 右尿沈、脳室拡大、脳萎縮、皮膚形成異常、白質病変変化等)
 姓・無 方法 (_____) 所見 (_____)
 小頭径 (<1.5SD以下) 姓・無 (_____) SD)
 肝障害 (ALT >100U/L) 姓・無 (ALT _____) U/L)
 血小板減少 (<15万/mm³) 姓・無 種 (_____) /mm³)
 A&R assay test 検査 referの場合 (右側・左側・両側)
 A&R異常あり・A&R異常なし・未検 所見 (_____)

検査調整 姓・無 (同意が無い場合は検査受理できません)
検体 原則として全尿を提出して頂きます。全尿1mLを採取。冷蔵(4℃)保存してご送付。
 尿(全尿) 姓・無 採取 年 _____ 月 _____ 日、午後 _____ 時 _____ 分 (送・受取) 保存方法(冷蔵・凍結)
 生後3日を過ぎており、特に保存検体がない場合のみ全血(2~3mL)を提出も受け付けます。
 全血 量 (_____ mL) 採取 年 _____ 月 _____ 日、午後 _____ 時 _____ 分 保存方法(冷蔵・凍結)
 凍結専用(あれば) _____

以上、相違ありません。 署名 _____

を4387例に実施、IgM陽性は387例(8.8%)であった。内avidity検査を229例に実施、low avidityは37例(16.2%)であった。妊娠初診の段階で、妊婦の1.4%が妊娠初期あるいは妊娠直前の初感染を起こしていることが推定された。なお、これまでに妊娠中のIgG陽転が確認されたのは3例であり、陽転率は従来報告されている陽転率1-1.5%より、かなり低かった。これは、本研究班において、IgG陰性者に対し、医療倫理から、妊娠中の感染予防法の指導を行っている結果と考えられ、感染予防法の有効性が示された。また、IgM陽性の妊婦のうち、希望者に新生児の尿スクリーニング検査を行い、7例の先天感染児を確認した。IgG妊娠中陽転者ではなく、妊娠初期のIgM陽性者から出生している者が多くいること、一方IgM陽性でもほとんどの妊婦からはCMV先天感染児が出生していないことから、IgMおよびIgG陽性者に対するAvidity検査の重要性が示された。

(2) 妊婦診断開発と中央検査体制

PMDAと研究者の事前相談を受け、共同研究企業の再選定を行った結果、CMVについては、アボット、デンカの2社が、トキソプラズマについてはこの2社にバイオラッドを加えた3社が参画することになり、研究者と共同研究契約を締結している。

①CMVのAvidity検査開発

現在6施設で前向き研究として、CMVに対するIgG陰性妊婦を対象に妊娠経過中にIgG陽転が確認された初感染の妊婦血清の収集を進めている。陽転した母体の血清を使ってAvidity検査の臨床性能試験を行う予定である。

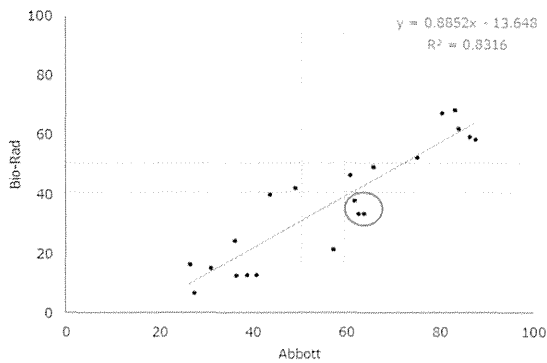
妊娠初期IgG検査を5989例に実施し、IgG陰性は1775例(29.6%)、内1317例が妊娠中IgGフォローの対象となった。また、これまでの前向き試験の対象とはならないが、各施設で診療上の検査としてIgM検査

また、臨床性能試験実施のため、企業2社とPMDAとが事前相談した。

②トキソプラズマのAvidity検査開発

保存検体を、分担研究者より集め、参加各社の検査法・検査キットの標準化を実施した。

[トキソプラズマ Avidity 2社キット比較]



また、現在5施設で前向き研究として、トキソプラズマに対するIgM陽性妊婦を対象に妊婦血清の収集を進め、Avidity検査の臨床性能試験を行う予定である。妊娠初期IgM検査を1930例に実施し、IgM陽性者52例(2.7%)を登録した。内30例にAvidity検査を実施し、low avidityは4例(13.3%)であった。

臨床性能試験実施のため、企業3社とPMDAとが事前相談した。

③感染疑い妊婦の中央検査体制

CMV・トキソプ初感染疑い例のAvidity検査を行い初感染のリスクについて評価を行っている。各臨床施設において、結果の説明については十分な情報提供と相談等配慮を行っている。

CMV Avidity検査(日南病院)については、IgG、IgMともに陽性の858例に対し検査を行い、low Avidityは96例(11.2%)であった。

(3) 感染児レジストリ・治療薬開発・コホート調査

①感染児レジストリ

先天性感染児のレジストリは様式、項目などを整理し、先天性感染症事務局(東大病院小児科内)HPにレジストリについて掲示した。

[先天性CMV・トキソプラズマ レジストリHP]

先天性感染症(CMV・トキソプラズマ)患者レジストリへの登録について

本研究では、先天性CMV感染症、先天性トキソプラズマ感染症の早期把握を目的として、患者レジストリを運営しております。患者登録のご協力をお願いします。

先天性感染症患者レジストリ事務局から郵送されてきたレジストリ登録用紙を返送するとともに、下記のExcelファイル(CMV用・トキソプラズマ用がそれぞれ分けています)をダウンロードして、患者情報を登録してください。
そのファイルを、先天性感染症レジストリ事務局までメールに添付して送付をお願いします。

先天性感染症レジストリ事務局

メールアドレス cmvtoxop-group@umin.ac.jp

メールの題名を「先天性感染症レジストリ登録」としてください。

レジストリ内容については、古谷野班での研究成果を踏まえて、先天性CMVについては下記の情報を収集することとした。

先天性CMV レジストリ項目

- ・ 個人情報：氏名、性別、住所、電話番号、
 - ・ フォローアップ施設：担当施設、病院ID
 - ・ 紹介施設：紹介施設、紹介医師、紹介医師Email、施設住所、電話番号
 - ・ 出生情報：生年月日、アプガースコア、出生週数、出生時体重・身長・頭囲
 - ・ 妊娠経過等：母妊娠歴、同胞数、出産時年齢、子宮内発育不全(時期)、胎児エコー所見、妊娠中CMV感染(判定根拠)
 - ・ 新生児期：CMV血清IgM、IgG、頭部画像異常、小頭症(SD)、肝障害(ALT数値)、血小板減少
 - ・ aABR(日付、結果)
 - ・ ABR(日付、年齢、結果、左右dB)
 - ・ 眼底検査(検査日時、所見)
 - ・ ウイルス量(日付、血液、尿)、肝機能(血液ALT、日付)
 - ・ 頭部画像(検査日付、年齢、画像種類、画像結果*、画像結果コメント)
- * 石灰化、脳室拡大、脳萎縮、形成異常、白質変化、上衣下偽性嚢胞、そ

の他

- ・ 治療
- ・ 発達検査（検査日付、暦年齢、検査種類、I-DQ、検査コメント）
- ・ 情緒行動評価：CBCL（検査日付、年齢、コメント）

先天性トキソプラズマについては、CMVと同様に中枢神経系の評価が重要であるが、加えて網膜所見が進行することがあり、その点を十分に評価できるように修正した。

先天性トキソ レジストリ項目

- ・ 個人情報：氏名、性別、住所、電話番号、
 - ・ フォローアップ施設：担当施設、病院ID
 - ・ 紹介施設：紹介施設、紹介医師、紹介医師Email、施設住所、電話番号
 - ・ 出生情報：生年月日、アプガースコア、出生週数、出生時体重・身長・頭囲
 - ・ 妊娠経過等：母妊娠歴、同胞数、出産時年齢、子宮内発育不全（時期）、胎児エコー所見、妊娠中トキソ感染（判定根拠）、治療
 - ・ 新生児期：トキソ血清 IgM、IgG、頭部画像異常、小頭症（SD）、肝障害（ALT 数値）、血小板減少
 - ・ 眼底検査（検査日時、所見）
 - ・ 血液検査経過：トキソ IgM、igG、ALT
 - ・ 治療
 - ・ 頭部画像（検査日付、年齢、画像種類、画像結果*、画像結果コメント）
- * 石灰化、脳室拡大、脳萎縮、形成異常、白質変化、上衣下偽性嚢胞、その他
- ・ 発達検査（検査日付、暦年齢、検査種類、IQ-DQ、検査コメント）
 - ・ 情緒行動評価：CBCL（検査日付、年齢、コメント）

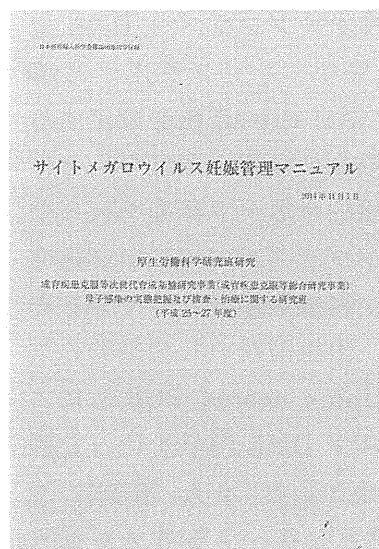
分担研究者施設（神戸大（森岡）、藤田保健衛生大（吉川））での経口抗ウイルス剤による治療でのウイルス学的および聴覚に関する有効性について解析した。

③先天性 CMV 感染コホートの予後調査
先天性 CMV 感染の新生児スクリーニング検査で診断されたコホート群の経過を観察中である。

（4）CMV とトキソプラズマの母子感染の国内相談体制：

①相談指針の作成

妊婦から相談を受けた医師のための指針を作成し、日本産科婦人科学会雑誌に同封し、国内の全産婦人科医師約 17000 名に 2014 年 12 月に配布した。パンフレット中に相談窓口となる分担研究者の連絡先を記載した。本件は、その内容も含め、読売新聞、並びに日経新聞で報道され、共同通信により全国に配信された。



②感染予防に向けた妊婦への予防啓発
感染予防に向けた妊婦への予防啓発パンフレットを研究班としてまとめ、業者を決定した。次年度、印刷予定である。

②治療薬開発



(5) 分担研究施設における CMV とトキソプラズマの母子感染の基礎的、臨床的研究：

①先天性トキソプラズマ感染の予知に最適な IgG avidity 値 (山田)

先天性トキソプラズマ感染のハイリスクである羊水中トキソプラズマ DNA 陽性の予測に有用なトキソプラズマ IgG avidity index (AI) cut-off 値を設定するため、倫理委員会の承認・同意のもと、9 年間的前方視的コホート研究を行った。母体血清トキソプラズマ IgM が疑陽性～陽性のため、初感染診断目的で AI を測定し、かつ、出生前ないし分娩時の羊水検体で multiplex nested PCR 法によるトキソプラズマ DNA 解析を行った妊婦 139 人を対象とした。9 人 (6.5%) で羊水 PCR 陽性となり、うち 3 人が先天性感染であった。ROC 解析を用い、羊水トキソプラズマ DNA 陽性に対する AI cut-off 値を設定し、診断効率を調べた。羊水 PCR 陽性 9 人の AI 中央値 13% (範囲 4-29%) は、陰性 130 人の AI 39% (4-89%) に比べて有意 ($p < 0.0001$) に低かった。ROC 解析 ($AUC = 0.90$) によって、羊水 PCR 陽性の予測に最適な

cut-off 値は、25%未満であることが分かった (感度 78%、特異度 82%、陽性的中率 (PPV) 23%、陰性的中率 (NPV) 98%、正診率 81%)。また、先天性感染 3 人に対する AI 25%未満の診断効率は、感度 100%、特異度 79%、PPV 10%、NPV 100%、正診率 80%であった。さらに、羊水トキソプラズマ DNA 陽性に対する感度を 100%にするには、AI cut-off 値 30%が適切であった。以上のことより、先天性トキソプラズマ感染を予測する AI cut-off 値は 25-30%未満が最適であることが明らかとなった。

②富山大学産科婦人科におけるサイトメガロウイルス IgM 陽性例ならびにトキソプラズマ IgM 陽性例に対する Avidity 検査 (斎藤)

サイトメガロウイルス (CMV) の感染既往のない妊婦が 30%以上に増加しており、これらの CMV-IgG 抗体陰性妊婦から出生した児の 300 人に 1 人に CMV 母子感染が生じているという報告もある。また先天性トキソプラズマ感染も増加してきている。そこで、妊娠初期に CMV とトキソプラズマの IgG 抗体、IgM 抗体をスクリーニング目的に測定した。CMV-IgM 抗体陽性者が 21/341 例 (6.2%) であった。そのうち 12 例で Avidity Index を測定した。1 例で Avidity Index 30%であったが先天感染は確認されなかった。1 例で Avidity Index は 73.5% と高値であったが、新生児尿中 CMV 陽性であった。CMV-IgM と IgG 共に陰性例は 115/341 例 (33.7%) であった。これらの妊婦には CMV 感染予防法を示したパンフレットを渡し、教育した。その結果、妊娠中に CMV 抗体が陽転化した例はなかった。トキソプラズマの妊娠成立前後の感染を疑う症例は 1 例で、トキソプラズマ抗体価が PHA 法で 20,480 倍、IgM 1.8 と陽性であったが、

Avidity Indexは69.3%で妊娠前の感染と判断し経過観察した。児への感染は確認されなかった。

③母子感染の実態把握及び検査・治療に関する研究（鮫島浩）

妊婦血清診断の分担研究を行い、以下の成果を得た。

1. 後方視的検討（CMVのみ対象）

倫理委員会での承認を得て、愛泉会病院の保存検体が使用可能となった。愛泉会病院の峰松先生が担当し、研究に必要な症例について患者の同意の後、測定する予定である。

2. 前方視的検討

当院では H25 年 11 月 12 日付の倫理委員会承認(承認番号 2013-100)を得た。H25 年 12 月 25 日の病院運営審議会、患者負担(CMV-IgG, IgM)に関する料金設定を承認した。検体の保存場所の確保、冷凍・冷蔵保存場所の確保、検体搬送体制を確認、確立した。

H26 年 2 月から当院外来の妊婦を対象に当研究について説明を開始し同意の得られた妊婦を対象に採血を行っている。

H26 年 12 月 31 日までに、妊娠初期検査を行った 91 名の妊婦のうちトキソプラズマ抗体(IgG, IgM)のうち IgG 陽性が 4 例、IgM 陽性は 0 例であった。

一方サイトメガロウイルス抗体は 83 症例で検査を行い、そのうち IgG 陰性の妊婦が 22 例であった。研究への同意は 16 例であり妊娠中、定期的に追加採血、血漿の保存を行っている。IgM 陽性は 1 例であったが、Avidity の検査の結果、陰性であった。また CMV 新生児尿検査は 2 例で行い全例陰性であった。

④長崎市における妊娠初期のトキソプラズマ・サイトメガロウイルス抗体保有率の調査（中間報告）（増崎、森内）

トキソプラズマ(TOX)やサイトメガロウイルス(CMV)の感染リスクは、食習慣を含めた生活様式の影響を強く受けるため、地域によって抗体保有率が異なることが報告されている。我々は、長崎市および長崎県産婦人科医会の協力を得て、長崎市より妊婦健康診査受診票を交付された妊婦を対象に TOX、CMV 抗体保有率の調査を 2014 年 8 月から開始した。中間報告として、2015 年 2 月までに検査結果を回収できた 1850 人抗体保有率を検討したところ、TOX 抗体保有率(2.1%)は低く、CMV 抗体保有率(78.2%)は高い傾向が見られた。これまでのところ、妊婦への説明や診療における大きな混乱を生じることなく実施できている。

⑤浜松医科大学における妊娠初期 CMV 抗体スクリーニングの内訳と症候性 CMV 感染との関連（金山）

浜松医科大学における 1099 例の妊娠初期抗体スクリーニングと児の症候性サイトメガロウイルス感染との関連を検討した。妊娠初期抗体スクリーニング例の 30%が IgG、IgM とともに陰性であった。この中から妊娠中に IgG が陽転化したものはなかった。IgG±、IgM 陽性例は 3 例あったがいずれも新生児への感染は認めなかった。IgG、IgM とともに陽性であったものは 7.6%でありこの中から 1 例(1.2%)症候性 CNV 感染が発生した。妊娠初期の抗体スクリーニング検査のみでは症候性感染に対して精度は低く、avidity 検査の導入が期待される。

⑥サイトメガロウイルス、トキソプラズマの母子感染スクリーニングのための Avidity 検査導入を目指した周産期施設における検査体制の確立とデータ保存

に関する研究（川名敬）

昨年度に引き続き妊婦健診におけるサイトメガロウイルス (CMV) およびトキソプラズマ (TOX) の母児感染スクリーニング検査を行い、CMV、TOX の先天性母児感染の把握に必要なデータ保存体制の確立を進めた。すでに体外診断の承認を受けている血清 IgG、IgM 測定キットによる母体血清中の値をもとにこれまで約 1180 例に対してスクリーニングを行った。CMV について妊娠女性の IgG 陽性率は 77% であった。血清 IgM の陽性者が 5.2% 存在したが Avidity 検査により妊娠中の感染が疑われたのは 11 例で IgM 陽性者中の 18% であり、その中で新生児尿 PCR 陽性例は 2 例であった。TOX については IgM 陽性が 1.3% であり、IgM 陽性者中の Avidity 低値は 20% であった。症候性感染例は現在まで認めていない。母体血清 IgM による母児感染スクリーニングでは CMV、TOX とともに偽陽性率が高く母児感染のリスク評価としては正確性が乏しい。Avidity 検査の有用性についてはさらに症例の蓄積による検討が必要である。

⑦CMV 核酸検査法の開発（井上）

確定診断のための液体尿を用いた CMV 核酸検査を体外診断用医薬品化するために、1) 共同研究企業が PMDA と行った事前相談ならびに対面助言に関する内容の準備の支援、2) 各施設より送付されてくるリスク新生児より採取した尿濾紙検体の検査実施による感染児の同定、また、3) 尿検体の保存条件・期間が検査結果に影響しないことの確認などを行い、CMV 核酸検査法の体外診断用医薬品申請のために準備を順調に進めた。CMV スクリーニング検査法については、検査法としての諸条件の検討をさらに行った。昨年度確定した新濾紙はスクリーニング

法には適するが、濾紙から DNA を溶出する 2 次検査においては、加熱溶出で感度が低下するため核酸精製用試薬を用いた方法を用いる方が良いことを明らかにした。さらに、CMV 及びトキソプラズマに対する IgG avidity 検査法について体外診断用医薬品化を進める共同研究企業の PMDA 事前相談内容の準備などを、核酸検査の経験をもとに支援した。また、抗原検査法開発の一環として、CMV 粒子が細胞表面に結合した場合に活性化することが知られる ISG54 遺伝子のプロモーターを持ち、活性化によりルシフェラーゼが発現する細胞クローンを作製した。

⑧妊婦血清におけるトキソプラズマ感染の評価 - Avidity 測定の標準化・臨床有用性の研究 - （錫谷）

先天性トキソプラズマ (Toxoplasma; Toxo) 感染症は水頭症、網脈絡膜炎などを主徴とする。出生後すぐには症状が現れない場合も多い。日本では年間 1,000 ~ 10,000 人の妊婦が妊娠中に初感染を起こし、130 ~ 1,300 人の新生児が先天性トキソプラズマ感染症を発症していると推定されている。胎児に極めて重篤な感染症を引き起こすにもかかわらず、全妊婦に対するスクリーニング検査は行われていない。既存 IgM 検査試薬を用いた場合、疑陽性が多く妊娠中の初感染かどうかの判定は困難である。本研究では IgG Avidity を測定し、初感染時期を特定する。数社開発のキットによる結果の比較を行い、標準化することで一般検査としての拡充を目指している。保存血清 21 例について 2 社製キットを用いてトキソプラズマ IgG avidity を測定し、比較検討を行った。14 検体 (67%) では判定が一致したが、4 検体 (19%) では一方の

キットで判定保留となり、3検体(14%)では判定結果の相違が認められた。各社により測定原理や判定基準が異なるため、検査キットとしての一般化に際しては検査結果の標準化が求められる。

⑨先天性 CMV 感染症診断サービスの構築と普及(木村)

先天性 CMV 感染症診断法として広く実施されている核酸診断法は健康保険適応がない。よって核酸診断を実施せず、診断に至らない患者が多数存在することが問題となっている。核酸診断法の保険収載までの当面の検査の受け皿として、何らかの中央検査体制が必要である。そこで「先天性 CMV 感染診断サービス」としてウェブベースの依頼で無料の検査を行い、依頼主治医に結果報告するシステムを構築した。平成 26 年 9 月に先天性 CMV 感染症診断サービスを開始し、各学会に HP を通して広報するなどその周知に努めた。本診断サービスは、同時期に開始した CMV 感染症児レジストリの運用と有効利用に大きく寄与するものと考えられる。

⑩血清学的スクリーニング体制の構築に向けた現時点における抗体測定の問題点(峰松)

先天性サイトメガロウイルスおよびトキソプラズマ感染症において、その診断基本は胎児および新生児の所見診断と病原体診断である。しかし、病原体診断においては、検体採取における倫理的問題、検査に要する時間、検査施設のバイオセーフティレベル、分離培養検査と核酸検出診断での意義の違いなどの問題点がある。したがって、現在もなお母体や児の病原体に対する宿主反応、すなわち免疫反応の有無を指標とした血清学的診断が感染症診断において重要な役割を担って

いる。血清学的検査法の特徴について把握したうえで、より確実な先天性感染症の血清学的診断を行うことが必要である。**⑪先天性 CMV 感染症児 2 例に対するバルガンシクロビルの 6 か月間投与の診療経験(吉川)**

サイトメガロウイルス(Cytomegalovirus: CMV)についての、診断、治療に関する技術開発ならびに実際の臨床応用に向けた橋渡し研究を行うことを目的として、関連施設ならびに中部地区の先天性 CMV 感染例に関する相談を担当した。その中で、当施設にて 2 例の先天性 CMV 感染症児を経験し、インフォームドコンセントを得たのち、6 か月間のバルガンシクロビル(VGCV)治療を実施した。特に問題となる副作用もなく、治療を終了した。今後ウイルス学的な詳細な解析を実施予定である。

⑫母子感染患者のフォローアップとレジストリに関する研究(岡)

本研究班では、母子感染の中でも頻度が高く臨床的にも問題である先天性サイトメガロウイルス感染症(先天性 CMV)と先天性トキソプラズマ感染症(先天性トキソ)について、診断法を確立するとともに、診断を行った児を中心としてレジストリを立ち上げてコホートとしてその臨床経過を観察することを目指している。当施設では母体が血清学的にサイトメガロウイルス感染を疑われるハイリスク妊娠の新生児に尿核酸検査を施行し、これまで前向き研究として 6 例の先天性 CMV と診断をした。また、ホームページに研究班として先天性 CMV 感染疑いのある児の尿核酸検査を受けるシステムを開始した。感染陽性例については、診断時に同意を得てレジストリへの登録を行い、標準的なフォローアッププロトコ

ールを提示するとともに、分担研究者による十分な情報提供を行うための体制を整え研究班として活動を開始した。先天性CMV感染児に対する抗ウイルス治療が、難聴だけでなく発達にも有効である治験結果が米国にて発表され、今後、診断から治療に向けた研究開発がさらに重要課題であると考えられた。

⑬北海道地区で診断された先天性サイトメガロウイルス感染児の臨床経過（古谷野）

先天性サイトメガロウイルス（CMV）感染は出生時に症状がある場合と、出生時に無症候だが経過を診ているうちに発達障害や難聴が明らかになってくる場合がある。従って出生時無症候でも嚴重な経過観察を行い、症状出現時には速やかな医療介入を行う必要がある。新生児に対する先天性CMV感染スクリーニングを行う大きな理由の一つは、この速やかな医療介入を可能にするためである。2008年から行われた新生児スクリーニングで北海道では18名の先天感染児が同定され、その他にもスクリーニング以外で発見された感染児4名を加えたコホートが形成されている。本報告書では合計22名の経過をまとめ報告する。旭川医科大学病院および研究協力病院小児科で経過観察されていた先天性CMV感染児の臨床経過を収集し解析した。22名の感染児の内、3年以上の経過観察を行うことが出来ずに脱落した感染児は3名で、後発障害発生の有無は確認できない。出生時に無症候であったが後に難聴が出現した感染児1名及び注意欠陥多動性障害（ADHD）と診断された感染児1名、出生時にすでに難聴が認められた感染児1名は定期的な外来受診を続けている。4歳までで言語発達の遅れを認めた感染児

が1名いるが、4歳以降外来受診が途絶えてしまい、その後の言語発達に関しては不明である。また胎児期の脳エコー所見で脳室拡大が認められた2名の先天性CMV感染症児にはバルガンシクロビル6週間投与の治療が行われている。このうち1名は5か月で頷定が認められず、発達の遅れが明らかとなってきている。出生時無症候で3歳以上まで経過観察した後発障害なしと判定した感染児は11名であった。外来経過観察から脱落した無症候性感染児3名を除く無症候性児17名のうち、遅発性難聴1名、ADHD1名、言語発達遅滞1名が発症したことになる。難聴児には明らかな難聴をきたす他の疾患が明らかではないため、強く先天性CMV感染の関与が示唆される。しかしADHDおよび言語発達遅滞と診断された感染児に関しては、先天性CMV感染が直接的に発症に関与したとするには根拠が薄い。先天性CMV感染が発達障害の原因になりうる可能性は十分にあるが、先天感染児のグループと非感染児のグループで発達障害の有病率に差が出るか否かの検討を行っていかねば、その関係性を明らかにすることはできないであろう。今後さらに先天性CMV感染症児のコホートを集積し、その臨床経過を詳細に解析していく必要があると考えられる。

⑭母子感染の実態把握及び検査・治療に関する研究（小林）

妊娠中のサイトメガロウイルスの初感染は症状に乏しい場合もあり、従来のIgG、IgMの抗体検査のみでは初感染かどうかの判断が難しい。抗体の親和性に関する検査であるIgG avidityは、初感染と既感染の区別に有効であると考えられているが、児への感染を予測する検査

性能に関しては、まだ不明な点が多い。本研究の目的は、IgG avidity の検査性能に関するシステマティックレビューを行い、既存の知見を集積することである。レビューの結果、11 件の論文が評価対象となった。いずれの論文も診断に関する臨床試験の基準 (STARD 声明) の観点からは不十分な報告であり、感度・特異度の報告もほとんどされていなかった。妊娠中の初感染に関する感度・特異度は、妊婦以外の者を対象にした場合と同様に高い検査性能を示したが、出生児の感染または症状に関する感度・特異度はほとんど報告されていなかった。妊娠中に初感染を発症した場合でも児に感染する頻度は高くないため、より大規模での調査によるさらなる知見の積み重ねが必要と考えられた。

⑮ 新生児尿スクリーニングと抗ウイルス薬治療導入後の症候性先天性サイトメガロウイルス感染児の後遺症発生率 (森岡、山田)

全新生児を対象に出生直後の尿でサイトメガロウイルス (CMV) スクリーニングを行い、先天性感染児を早期診断し、症候性先天性 CMV 感染児に対し早期治療を行うことにより重篤な後遺症の発生率を軽減できるかどうかを前方視的に評価することを目的とした。2009 年から全出生新生児に尿 CMV-DNA スクリーニングを導入した。スクリーニング陽性児のうち症候性と診断した児は 6 週間のバルガンシクロビルによる治療を行った。生後 6 か月以降まで追跡した児の神経学的予後を評価し、正常発達、軽度後遺症、重度後遺症に分類した。計 6348 人の新生児に尿 CMV スクリーニングを行い、32 人 (0.50%) で陽性を同定した。そのうち 16 人 (50%) が症候性感染児であ

った。12 人に抗ウイルス薬治療を行った (治療開始日齢の中央値 : 13 日)。予後は、重度後遺症が 4 人 (33%)、軽度後遺症が 3 人 (25%)、正常発達が 5 人 (42%) であった。新生児尿 CMV スクリーニングと早期の抗ウイルス薬治療を組み合わせることで、症候性感染児の正常発達例を増加させ後遺症の発生を軽減できる可能性がある。

D. 考察

平成 26 年度は計画通りに進捗した。CMV 先天感染児の尿核酸診断法については、参加企業の PMDA 対面相談が終了し、前方視試験を開始、順調に症例が集まっている。妊婦血清検査においては、前方視試験が進行し、登録症例が集積している。しかし、CMV については当初予想していたほど妊娠中 IgG 陽転が認められず、同時に実施している感染予防法の有効性が証明された形となった。Avidity の体外診断薬化については参加企業の事前相談が終了している。また、先天感染児の相当数が妊娠初期 IgM 陽性症例から発生していること、しかし IgM 陽性症例の多くは Avidity が高値で心配の要らないことが明らかとなり、新生児尿検査が必要な症例の抽出や妊婦の不安除去に Avidity 検査が有用であることが示された。先天感染児の診断サービス、先天感染ハイリスク妊婦の avidity 診断サービスも順調に開始できている。平成 26 年度は、産科医師を対象とした CMV の相談指針を作成し、国内の全ての産婦人科医師に配布した。このことは、多くの新聞に報道されることとなり、本研究課題の社会における重要性、注目度の高さが改めて証明されることとなった。

平成 27 年度は、PMDA と相談しなが