

新潟におけるサイトメガロウイルス感染症に 関する疫学的研究

豊栄病院小児科 久保田 康 夫

An Epidemiological Study on Cytomegalovirus Infection in Niigata

Yasuo KUBOTA

Toyosaka Hospital, Department of Pediatrics

A rural area (Suibara County) of Niigata Prefecture was investigated for the prevalence of cytomegalovirus (CMV) infection among the residents, particularly among the pregnant women and newborn infants, using serological and virological methods. Complement-fixation test revealed the incidence of CMV antibody in 93.9% of the cord-blood specimens. By employing a human diploid cell line, CMV were isolated from urines of infants, covering the age groups of below 2-month-old to 14-year-old with a highest isolation rate of 63.3% at 9- to 11-month-old, indicating the occurrence of perinatal infection in the same rate at least. These findings in the perinatal conditions also anticipated an ubiquitous prevalence of CMV infection among the other groups of residents and alarmed a signal for the risk of clinical hazards due to reactivation of the latent virus, provided that the individuals were subjected to a compromised state of immunity, receiving organ-transplantation for example. For the reactivation mechanisms of the latent virus in pregnancy, impairment of cellular immunity has been raised as a possibility. Pregnant women were compared with nonpregnant women for the efficiency of the peripheral lymphocytes in the blast-transformation, where the specimens of the former group gave a significantly ($p < 0.01$) reduced rate of the reaction with CMV antigen. On the reactivation of the latent virus in pregnancy, virus infection seems to be circumscribed to that of the local tissues, probably because of the pre-existing antibody in the circulation, which may be boosted by the viral antigen, that produced additionally. In fact, CMV antibody titers in the third trimester significantly ($p < 0.01$) exceeded that in the preceding trimesters. This circulating antibody may prevent or modify the intra-uterine infection of fetuses with the reactivated CMV. Interferon titers of pregnant women were also assayed in

Reprint requests to: Yasuo KUBOTA,
Department of Pediatrics, Toyosaka
Hospital, 1-2-6 Kayama, Toyosaka-
city, Niigata Pref., JAPAN.

別刷請求先: 〒950-33 新潟県豊栄市嘉山1-2-6
豊栄病院小児科 久保田康夫

the circulation to elevated as the gestation progressed, but the clinical implication of this finding remained for further exploration.

Key words: Cytomegalovirus, reactivation

サイトメガロウイルス, 再活性化, 先天性感染症

はじめに

1956年 Smith¹⁾, Rowe ら²⁾によりサイトメガロウイルス (Cytomegalovirus: CMV) が分離, 培養されるようになり, 今日までに CMV 感染症に関する多くの知見が集積されてきた。

CMV の生態学的特徴の1つとして初感染後潜伏感染に移行する。すなわち, 初感染後宿主内で活発に増殖するが, ある期間の後, 細胞性免疫, 液性免疫の成立により宿主内から消失したかのごとくなる。しかし, ウイルスは唾液腺, 胃, リンパ組織, 子宮頸管, 前立腺などに潜伏感染³⁾しており, しかもこの状態は不安定で, 宿主にかかる各種ストレスや免疫能の低下などを契機として容易に再活性化され再び活発に増殖するようになる。

最近, 骨髄, 腎移植などで拒絶反応を抑制するため, あるいは悪性腫瘍の治療目的で免疫抑制剤が使用されるが, これらの免疫抑制剤による免疫抑制状態から CMV が再活性化され, CMV 肺炎などを起こし問題になっている。

正常妊娠によっても CMV は再活性化されることが知られており, Numazaki ら⁴⁾によって提唱され, その後の追試⁵⁾⁶⁾により確認された周産期の産道感染も再活性化によるものとされており, 先天性 CMV 感染症の大多数も再活性化によるものと推定⁷⁾⁸⁾されている。再活性化に関し, 細胞性免疫能の重要性を示唆⁹⁾¹⁰⁾する報告がみられる。

CMV 感染症を考える場合に問題となるのは CMV 浸淫度が人種, 地域, 衛生状態, 経済状態などにより異なる¹¹⁾ことである。一般に本邦妊婦の CMV に対する抗体保有率は西欧諸国に比較して高いというものの, 本邦内でも居住地域により差¹²⁾がある。

仮に, 抗体保有率が潜伏感染の頻度を反映すると仮定すれば, 抗体保有状態の調査は当該地域において医療施術, あるいは生理的, 病理的变化に際して予想される CMV 再活性化の事前予測, ならびにその対策にとり有益な情報を提供することとなる筈である。抗体保有率が高いということは, 一方に再活性化による先天性感染症, 免疫抑制療法による CMV 肺炎などの危険性が高いことを意味している。すなわち, 臨床的に, 地域, 環境状

態を勘案した CMV の浸淫状態を明らかにしなければその地域での CMV 感染症を論じることは不十分である, ということになる。そこで著者は新潟県の一地域における CMV の浸淫度を知るため, 該地域在住小児, 妊婦の CMV 抗体を測定した。また, 小児については尿からの CMV を分離し感染の認識を試みた。さらに先天性感染症の原因となる再活性化は, 母体の局所的なものだけで終わるのか, あるいは全身的抗体反応を起こすような全身の感染症を起こしているのかを知る目的で, 妊婦末梢リンパ球から CMV の分離を試み, あわせて補体結合 (Complement-fixation) 抗体価を測定した。また, 妊娠時の再活性化に重要な役割を果たすと考えられている特異的 CMV 抗原に対する細胞性免疫を, 妊婦末梢リンパ球の幼若化反応により調べ, さらに, 抗ウイルス作用以外にも多面的な生物活性をもつインターフェロン (Interferon: IFN) 活性についても調べた。

対象および方法

1. 対象

昭和54年より昭和62年までの9年間に水原郷病院小児科, 産婦人科を訪れた一般小児 1295名, 正常妊婦 569名, 臍帯血 114検体を対象にした。対象例の地域居住分布は 2町2ヶ村におよび, 本院を中心に半径 10km の広域におよぶ。該地域在住人口は約 50000人で対象はその 1/25 にあたる。

2. 血清抗体価の測定

抗体価の測定は補体結合 (complement-fixation: CF) 反応を用いた。

2.1 CF 反応用抗原の作成

国立仙台病院ウイルスセンターより分与を受け継代保存していた CMV の標準株である Davis 株のフリーウイルスを Human embryonic fibroblasts (HEF) 単層培養に接種して増殖させ, 7日後全細胞が細胞変性効果 (Cytopathic effect: CPE) を示した時点でガラスビーズで剥離し, PBS(-) (Phosphate-buffered saline deficient for Ca and Mg ions) で洗い, さらに 500ml のルービンあたり 5ml の PBS(-) に再浮遊させ, 20kc/sec, 20秒間超音波処理した。これを 2000回転15分間遠心し, その上清を CF 抗原とし, 分注後使用まで -80℃ に凍

結保存した。至適抗原濃度は box titration で決定した。また、抗原対照を、未感染の HEF を同じように処理して作成した。

2.2 CF 抗体価測定法

マイクロタイター法を用い、50%溶血法¹³⁾によった。CF 抗体価4倍以上を陽性とした。

3. ウイルス分離

分離用細胞には5~20継代の HEF 単層培養細胞を用い、特有の CPF を CMV 増殖の指標とした。

3.1 尿からの分離

採尿後すみやかに滅菌試験管に移し、3000回転30分間遠心した。その上清を1検体あたり0.2ml ずつ3本の HEF 培養試験管に移し、36℃で1時間インキュベートした後 PBS(-) で洗い、維持液を2ml 加え、36℃で回転培養した。3~4日ごとに維持液を交換し、少なくとも1カ月間 CPE を観察した。

3.2 白血球からの分離

ヘパリン加注射器で採血し、これを3倍容の6%デキストラン生食で希釈した。1時間静置後その上清を採取し PBS(-) で3回洗い、非動化牛胎児血清を10%に加えた RPMI1640 培養液に再浮遊させ、非特異的 mitogen である phytohemagglutinin (PHA: Difco) を最終濃度が 10 μ l/ml になる様に加え、36℃で2日間培養、その後3本の HEF 単層培養試験管に接種し、さらに1晩インキュベート、翌日 PBS(-) で洗い維持液と交換し、少なくとも3カ月間 CPE を観察した。

4. リンパ球幼若化試験 (Lymphocyte transformation test: LTF)

4.1 刺激用抗原の作成

CF 用抗原の作成法と同じであるが、PBS(-) の代わりに 0.1M, pH9.0, グリシン緩衝液を用いた。分注後使用まで-80℃に凍結保存した。抗原対照を、未感染の HEF を同じように処理して作成した。

4.2 リンパ球の調整

ヘパリン加注射器で採血し Ficoll-Hypaque (Pharmacia) で分離した。PBS(-) で3回洗い、10%に非動化牛胎児血清を加えた RPMI1640 培養液で 200 \times 10⁴/ml になるように調整した。

4.3 本試験、至適抗原濃度の決定

MTT アッセイ¹⁴⁾を用いた。上述のごとく調整したリンパ球を 96well の平底マイクロプレート (Falcon) の 8well に 0.1ml ずつ分注し、抗原、対照をそれぞれ 4well に 0.01ml 加え、よく混和した後、炭酸ガス培養器内で7日間、37℃で培養した。その後、各 well

表 1 至適抗原濃度の決定

Dilution (log ₂)	Stimulation Index
0	1.52
1	1.46
2	1.50
3	1.60
4	1.73
5	※ 1.80
6	1.64
7	1.53
8	1.61
9	1.35
10	1.18
11	1.00
12	0.97

※至適抗原濃度

に 0.01ml の MTT 溶液 (MTT: 3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide, 同仁科学研究所, 熊本, を 1ml の PBS(-) に 5mg の割合で溶解し濾過滅菌したもの) を加え, MTT が均一になるようによく混和, 6時間 37℃ で反応させ, この後, 生成された MTT formazan を酸-イソプロパノール溶液 (イソプロパノールに HCL を 0.04N になるように加えたもの) を 0.15ml 加え, 完全に溶解するまで混和, 570nm の波長で吸光度を測定し, 刺激指数 (stimulation index: SI) を求めた。

抗原, 対照液を 2 倍階段希釈し, CMV-CF 抗体陽性者のリンパ球でそれぞれの希釈での SI を求めたところ, 表 1 のように 32 希釈での最大の SI が得られたので, 以後, 32 倍希釈の抗原, 対照を用いた。

5. IFN 測定

50%ブラック減少法で行なった。

測定用細胞には Wish, 攻撃用ウイルスには vesicular stomatitis virus (VSV) を用いた。Wish 細胞を増殖用培養液で 50 \times 10⁴/ml に調整し, その 0.1ml を 96 well 平底マイクロプレート (Falcon) の各 well に分注し, 炭酸ガス培養器内で2日間培養し, モノレイヤーとなった後培養液を捨て PBS(-) で洗い, すべての well に 0.11ml の維持用培養液を分注し, 第1列目に被検血清を 0.05ml 加えよく混和した後, そのうちの 0.05ml を次の列に移すことを繰り返すことにより half

log 希釈した。1晩37℃で炭酸ガス培養器内で培養し、翌日培養液を捨て、well あたり 50-100個のブラックとなるように維持液で調整した VSV を 0.025ml 加え1時間インキュベートした後 PBS(-) で未吸着の VSV を除去し、2%メチルセルロース加維持液を各 well に 0.1ml 加え、約1日、ブラックが数えられるようになるまで再び炭酸ガス培養器内で培養し、PBS(-) で洗ってからクリスタルバイオレット (10g のクリスタルバイオレットを 1000ml の70%メタノールで溶解したもの) 溶液で染色固定し、室温で乾燥した後ブラック数を数え、形成されたブラック数を50%抑制する被検血清の最高希釈倍数を IFN 価とした。標準 IFN として前京都府立医科大学微生物学教室、岸田綱太郎教授より分与を受けたインナースタンダードを用いた。

結 語

1. 年齢別 CMV-CF 抗体保有率 (図 1)

臍帯血の CF 抗体保有率は 93.9%であった。生後、母体からの移行抗体の減少とともに抗体保有率は減少し、生後3~5カ月で53.8%、1歳で45.7%となり、7~8歳で約36%と最低となった。その後、陽性率は再び上昇し15歳で約70%の保有率となった。

2. 年齢別 CMV-CF 抗体陽性者の幾何平均値

(表 2, 図 2)

CMV-CF 抗体の幾何平均値は臍帯血では高く 2^{5.701}

表 2 年齢別 CMV-CF 抗体陽性者の幾何平均値

Age	No. of tested	CF antibody titer mean ± SD (log ₂)
Cord blood	107	5.701 ± 1.422
0-2 M	38	3.474 ± 1.156
3-5 M	21	4.762 ± 1.411
6-8 M	32	5.313 ± 1.491
9-11M	31	5.323 ± 1.469
1Y	32	4.531 ± 1.191
2Y	23	4.957 ± 1.846
3Y	27	5.000 ± 1.544
4Y	21	4.857 ± 0.854
5Y	26	4.808 ± 1.650
6Y	17	4.647 ± 1.455
7Y	16	4.188 ± 1.328
8Y	17	4.294 ± 1.759
9Y	17	4.235 ± 1.200
10Y	28	3.929 ± 1.331
11Y	25	4.040 ± 1.020
12Y	38	4.263 ± 1.389
13Y	36	3.778 ± 1.149
14Y	27	4.444 ± 1.423
15Y	36	4.433 ± 1.104

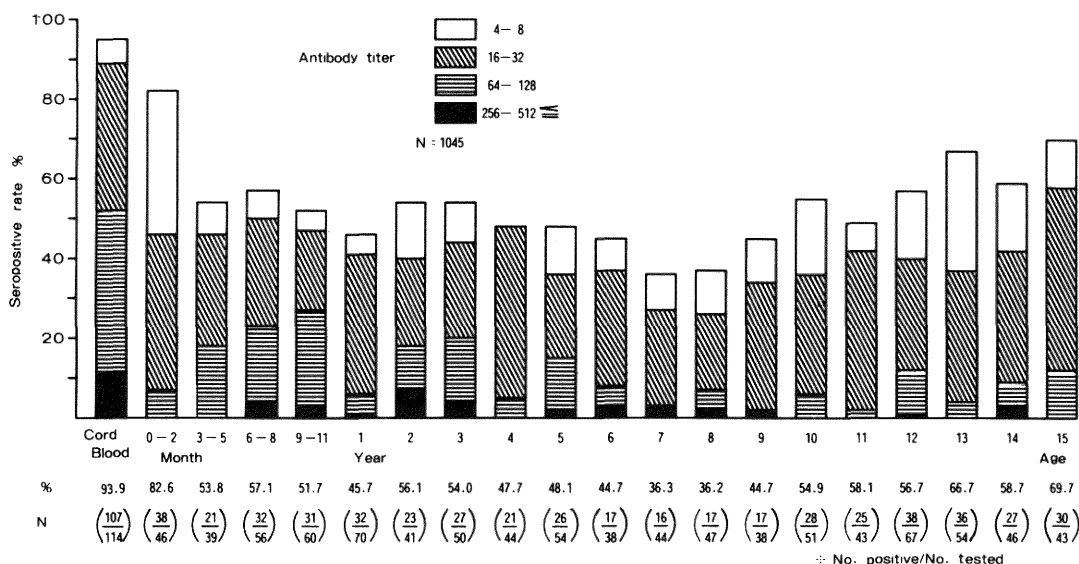


図 1 年齢別 CMV-CF 抗体保有率

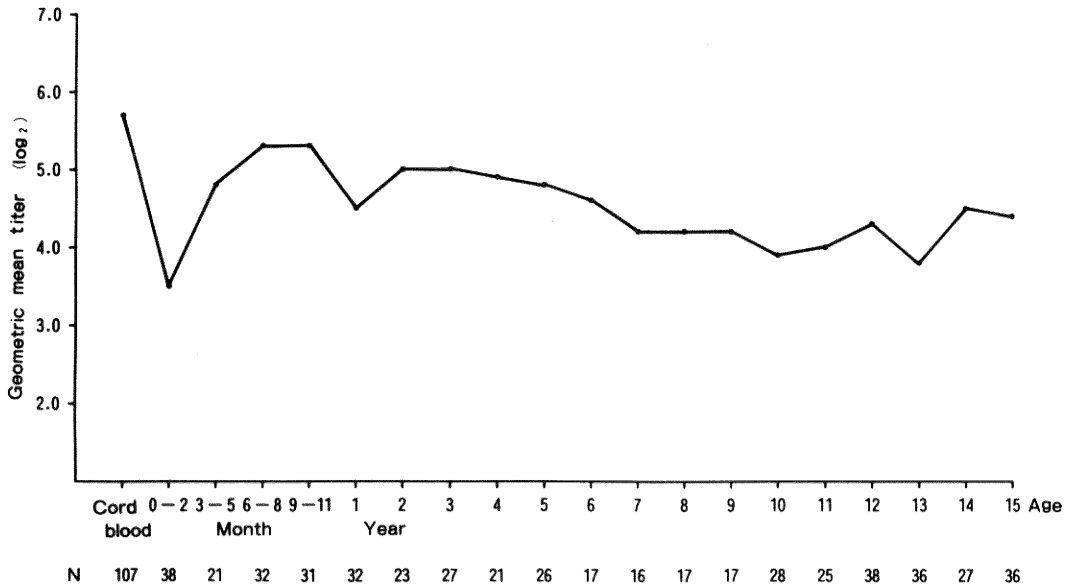


図2 年齢別 CMV-CF 抗体陽性者の幾何平均値

であったが、生後 CF 抗体陽性率の低下とともに急激に低下し、生後0～2カ月では $2^{3.474}$ となった。その後上昇し、6カ月から11カ月にかけ $2^{5.313}$ 、 $2^{5.323}$ とピークとなり、その後ゆっくりと低下、10歳ごろから再び上昇するような傾向がみられた。

3. 年齢別 CMV 分離率 (表 3, 図 3)

出生直後の新生児尿からの分離は実施しなかったが、生後2カ月までの新生児、乳児では50.0%、3～5カ月の乳児では44.0%の分離率であり、6～8カ月で62.5%、9～11カ月で63.2%とピークとなり、以後ゆっくりと低下しながら13歳までウイルス分離がみられた。2歳までは分離率が40%以下になることはなかった。

4. CMV-CF 抗体陽性妊婦の妊娠各ステージに

おける CF 抗体幾何平均値 (表 4, 図 4)

妊娠前、中、後期 (臍帯血) の各ステージにある抗体陽性妊婦の CMV-CF 抗体幾何平均値を比較すると、妊娠後期の幾何平均抗体価は $2^{5.701}$ であり、前期、中期それぞれの平均抗体価 $2^{4.750}$ 、 $2^{4.723}$ より有意 ($p < 0.01$) に高かった。

5. 妊婦末梢白血球からの CMV 分離成績

計163名の妊婦すべて陰性であった。

6. CMV-CF 抗体陽性妊婦末梢リンパ球幼若化反応 (表 5, 図 5)

非妊婦では SI が 1.777 であったが、妊娠初期で

表 3 年齢別 CMV 分離陽性率

Age	No. of tested	No. of positive	Positive rate (%)
0-2M	6	3	50.0
3-5M	25	11	44.0
6-8M	16	10	62.5
9-11M	19	12	63.2
1Y	34	16	47.1
2Y	29	14	48.3
3Y	24	7	29.2
4Y	31	10	32.3
5Y	36	15	41.7
6Y	16	3	18.8
7Y	22	3	13.6
8Y	15	1	6.7
9Y	14	1	7.1
10Y	14	2	14.3
11Y	15	1	6.7
12Y	20	2	10.0
13Y	12	2	16.7
14Y	13	0	0.0
15Y	3	0	0.0

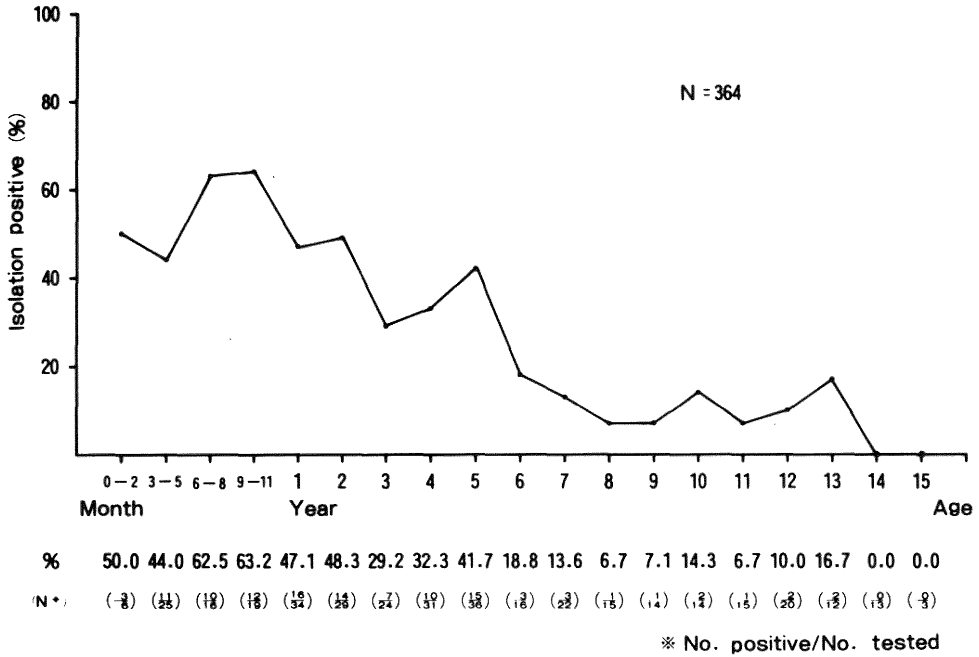


図 3 年齢別 CMV 分離陽性率

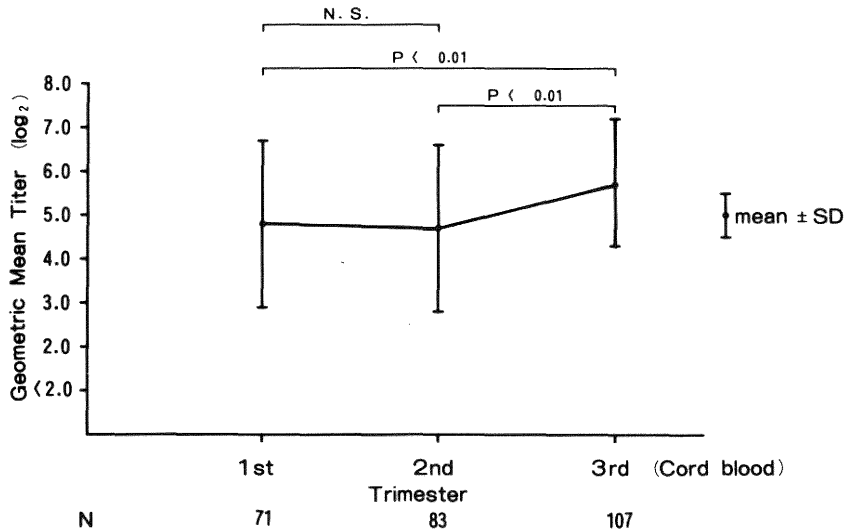


図 4 CMV-CF 抗体陽性妊婦の妊娠前, 中, 後期における CMV-CF 抗体幾何平均値

表 4 CMV-CF 抗体陽性妊婦の妊娠前, 中, 後期における CMV-CF 抗体の幾何平均値

Gestational stage	No. of tested	CF Antibody titer (log ₂ mean ± SD)
1 st trimester	71	4.750 ± 1.903 ^a
2 nd trimester	83	4.723 ± 1.902 ^b
3 rd trimester (Cord blood)	107	5.701 ± 1.422 ^{a,b}

^{a,b}: Difference significant; p < 0.01

表 5 CMV-CF 抗体陽性妊婦リンパ球の CMV 抗原に対する幼若化反応

Gestational stage	No. of tested	Stimulation index (mean ± SD)
Non-pregnant women	58	1.777 ± 0.441 ^{a,b}
1 st trimester	65	1.125 ± 0.239 ^a
2 nd trimester	67	1.471 ± 0.418 ^b

^{a,b}: Difference significant; p < 0.01

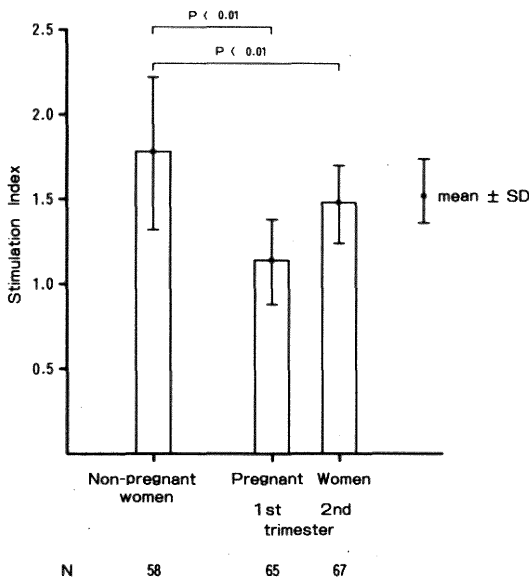


図 5 CF 抗体陽性妊婦リンパ球の CMV 抗原に対する幼若化反応

表 6 妊娠前、中期におけるインターフェロン値

Gestational stage	No. of tested	Units of interferon (log ₁₀ U/ml mean ± SD)
1 st trimester	63	0.872 ± 0.159*
2 nd trimester	57	1.511 ± 0.418*

* Difference significant; p < 0.01

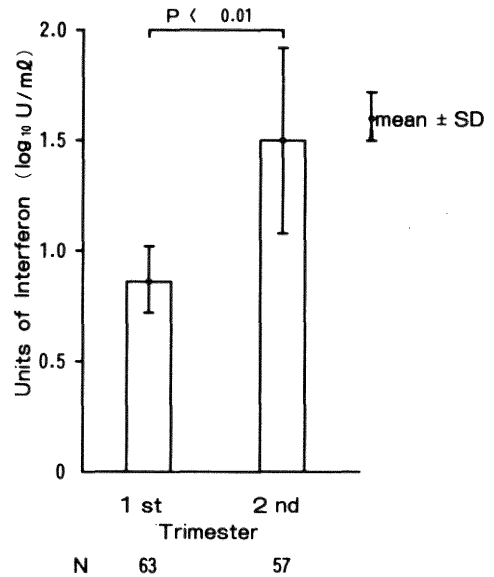


図 6 妊娠前、中期における IFN 値

は1.125, 妊娠中期では1.471であり, 妊婦では, 幼若化反応が非妊婦に比較して有意 (p<0.01) に低下していた。

7. 妊婦の IFN 活性 (表 6, 図 6)

妊娠初期では 10^{0.872}, 中期では 10^{1.511} と, 中期になると有意 (p<0.01) に高かった。

考 察

1956年 Smith¹⁾, Rowe²⁾ らによりサイトメガロウイルス (CMV) が分離, 培養されるようになり, 今日までに CMV 感染症に関する多くの知見が集積されてきた。

CMV は広く世界に分布しているが人種, 地域によって浸淫度が異なり, 社会環境, 生活状態, 経済生活程度, 人口密度, 気候状況に影響されるところが大きい。一般

的に西欧諸国で低く、アジア、アフリカ諸国で高い¹¹⁾ことが知られており、今までの報告では、本邦妊婦 CMV-CF 抗体保有率は西欧の50%以下¹¹⁾に対し、札幌では94%¹⁵⁾、仙台では96.6%¹⁶⁾、金沢では83.1%¹⁷⁾、栃木では56.4%¹⁸⁾、東京では40.6%¹⁹⁾などと報告され、同じ東京でも文教地区、葛飾地区で抗体保有率に差がある²⁰⁾。

そこで新潟（水原）地区における CMV の浸淫度を知る目的で一般小児、妊婦の CF 抗体保有率を調べ、尿からの CMV の分離を試みたが、新潟（水原）における妊婦の抗体保有率は93.9%と極めて高いことが分かった。また、母体からの移行抗体の消失すると考えられる乳児期後半になっても抗体陽性率が60%以下にならず、一旦低下するものの、生後6カ月から11カ月にかけて抗体価、分離率ともピークとなり、このとき分離率が約60%であったことなどから、乳児期後半の CF 抗体は乳児自ら産生した抗体と考えられ、妊婦の抗体保有率が同じと考えられる仙台において Numazaki ら⁴⁾が推定しているように、新潟（水原）においても少なくとも約60%の新生児は周産期に CMV の初感染を受けるものと思われた。

CMV の初感染を受けると長期間唾液、尿中に排泄されるが、分離率は徐々に低下するものの、13歳ごろまで分離された。ちなみに、Numazaki ら⁴⁾は仙台における知見として咽頭ぬぐい液からの CMV 分離率は生後月令とともに上昇し、5～9カ月では40%以上の高率を示すが10カ月以後分離率は急速に低下したと述べており、また、坂本²¹⁾は、東京における尿からの分離成績として、生後2カ月から1歳では26.8%、2～5歳では10.2%、6～13歳では6.5%の陽性率であることを報告しているが、これらの成績と比較すると当地では、1歳47.1%、2～5歳で38.3%、6～13歳で11.7%と年長児になるまでゆっくりと減少しながら高頻度で分離される、という結果であった。また、同一健康小児を追跡して分離を試みると長期にわたって分離され、Numazaki ら⁴⁾は生後3カ月、4カ月で CMV 陽性の児は、大部分が9～10カ月までウイルスを排出し続けた後、排出が止むことを示しているが、CMV が潜伏感染に移行するまでには相当な期間がかかるようである。今回の検索で周産期を少なくとも60%の児が CMV の初感染を受けることが明らかになったが、妊婦の抗体保有率が93.9%と高いことから、周産期に CMV の初感染を免れた残りの約40%の児は生後、水平感染を受けることになる。抗体陽性者の母乳から27%²²⁾、70%²³⁾の頻度で CMV が分離されるという報告があるが、本邦での報告⁴⁾では

ほとんど分離されないようである。しかし、生活の場が限られている小児では、母親、同胞が生後の水平感染源⁴⁾²⁴⁾として重要な役割を果たしていると考えられ、また、正常乳幼児から高頻度で CMV が分離されるので、これが重要な感染源となっているのかもしれない。

CMV が正常ヒトに感染してもほとんどが不顕性感染に終わり臨床的に問題となることは少ない。しかし、CMV 感染症として発症すると臨床像は複雑で、初感染かどうか、発症年齢、基礎疾患の有無、その程度などにより病像は異なってくる。初感染像として CMV 単核症、あるいは輸血後に見られる post-perfusion syndrome などが知られている。また、CMV の生物学的特徴の1つとして、初感染後潜伏感染に移行するということがあり、これが宿主側条件の変化でいつでも容易に再活性化されることから、妊娠時の再活性化が原因で先天性感染症が起きることがあり、また、悪性腫瘍の治療目的、臓器移植後の拒絶反応抑制目的で使用される免疫抑制剤により医原性免疫抑制状態となり、これに起因する再活性化からも全身性 CMV 感染症が起きることがあり問題になっている。

新生児からのウイルス分離を指標とした場合、西欧では0.5～2.0%の頻度²⁵⁾²⁶⁾²⁷⁾²⁸⁾で先天性感染症が発生していると考えられており、本邦では厚生省心身障害研究、妊婦管理研究班が先天性感染症の頻度を0.5%²⁹⁾と報告している。もしそれが初感染であるなら古くから巨細胞封入体症として知られている先天性感染症となるが、その頻度は低く、再活性化によるものがほとんど⁷⁾⁸⁾と考えられている。

抗体陽性妊婦の頸管粘液中から CMV が分離され、抗体陽性妊婦でも先天性感染症が起きる⁴⁾⁵⁾⁶⁾⁷⁾⁸⁾ ことなど、抗体の存在は CMV の感染を必ずしも完全に防御するわけではないが、抗体の存在が先天性感染症を修飾する³⁰⁾らしく、再活性化による先天性感染症では生下時不顕性のことが多い。しかし、Hanshaw ら³¹⁾は、先天性感染症が証明されるが生下時不顕性である小児を学童期になるまで追跡し、先天性感染症のない児に比較して軽度の知能障害、情緒障害、聴力障害など中枢神経系障害を残すことが多いことを示しており、生下時不顕性でも後になって問題となることがある。すなわち、当地域でも、妊婦の抗体保有率が極めて高いことから先天性感染症を受けてもその多くが生下時不顕性であることが推測され、学習能力障害児の中にこれら先天性感染症児の含まれている可能性がある。先天性感染を受けた新生児で生下時顕性であるものは10%、不顕性であるもの

は90%と推定³²⁾されている。

悪性腫瘍の治療、臓器移植で拒絶反応防止のため免疫抑制剤が投与されると正常な免疫能が抑制され、CMVが再活性化してくることがある。

臓器移植の際に起こるCMVが再活性化してくることがある。

臓器移植の際に起こるCMV感染症の重要性が認識されるようになったのは、1965年、Rifkindら³³⁾が腎移植後に死亡した患者の剖検例で移植腎には異常がなかったものの、肺に巨細胞封入体が認められたことを報告した時からである。しかも、移植を受けた患者の体内に潜伏感染しているCMVが免疫抑制療法により再活性化され、その結果CMV肺炎を起こしたことがわかった。今日、腎移植例³⁴⁾の73%にCMV感染症が起きることが知られ、また、骨髄移植例³⁵⁾では54%にCMV肺炎がみられ、これは移植後起きるすべての間質性肺炎の88%を占め、さらに、移植例の35%がこのため死亡しており、移植例でのCMV感染症対策の重要性が示唆されている。免疫抑制療法時のCMV感染症には、抗体陰性の患者が抗体陽性の供血者から初感染を受ける場合と、抗体陽性の患者に潜伏感染しているCMVが再活性化してくる結果、全身性CMV感染症を起こす場合の2つが考えられるが、前者の場合、抗体陽性の供血者を選べば感染を免れることができるとしても、後者の場合、感染を免れる方法はない。今回の成績で、新潟(水原)ではCMVの浸淫度が極めて高いことが明らかとなった。したがって、免疫抑制療法に際し、潜伏ウイルスの再活性化から重症な全身性CMV感染症の起きる危険性は極めて高いといえる。近年、ようやく抗ウイルス剤として γ -グロブリン、Acyclovir、Ara-A、IFNなどが開発されているが、依然として有効な抗CMV剤はない。臓器移植は本邦ではまだあまり積極的には行なわれていないが、今後、積極的に行なわれるようになると思われ、その際、当地でも移植の成否を大きく左右するCMV肺炎対策が重要になってくるものと思われる。

妊娠ともない母体免疫系の機能低下があり、また、局所的にも免疫抑制物質が高濃度に存在し、母児間の接点である絨毛表面で強い免疫抑制作用を有し、母体の拒絶反応に対し抑制的に働いている可能性³⁶⁾がある。総体として妊婦は各種感染症を受けやすい状態にあるといえ、CMVも再活性化されてくる。妊婦によりリンパ球サブセットが変化³⁷⁾し、生体の防御機構に変化の起きることが予想されるが、特に細胞性免疫能低下の重要性を指摘する報告があり、妊婦ではPHA³⁸⁾、PPD³⁹⁾など非

特異的抗原に対し、また、特異的CMV抗原⁹⁾¹⁰⁾に対しても細胞性免疫能が制御されているという。ウイルスの感染防御機構として細胞性免疫が重要であるのは、ウイルス抗原、あるいはウイルス関連抗原が宿主細胞膜上に表出され、これに対する特異的細胞性免疫が主として関わるウイルス感染症の時である。CMVは組織培養法で継代するとき、培養液中に感染性のあるフリーのウイルスが放出されないため感染細胞そのものを継代しなければならないことからcell-associatedなウイルスと考えられ、また、免疫能が低下している患者では、ウイルスに対する正常な血清反応がみられるにもかかわらず、CMV感染症が成立することなどから液性免疫の存在はCMV感染症に不完全であり、cell to cellに感染が拡大するCMVの感染防御機構の一つとして細胞性免疫の重要性が考えられる。CMVは細胞性免疫不全患者がかかると重篤化するウイルス感染症の一つとして、水痘一帯状ヘルペスウイルス、麻疹ウイルス、単純ヘルペスウイルス感染症などとともに知られている。今回用いた方法は、細胞性免疫検査法の一つであるLTFであり、また、血液中のすべての成分を含む全血培養法ではなかったが、液性因子を除くと有意ではないがLTF反応が上昇するという報告⁹⁾もあり、細胞性免疫能の低下で再活性化のすべてが説明できるわけではないにしても、得られた成績から、妊婦では細胞性免疫能が低下しているものと考えられた。また、細胞性免疫能は分娩後早ければ数時間、遅くとも数日以内に正常化⁹⁾¹⁰⁾する。

産道感染⁴⁾というCMVの感染様式がある。約60%の新生時は周産期にCMVの初感染を受けることがわかったが、そのほとんどはこの産道感染によるものと思われる。妊婦頸管粘液中からCMVの分離を試みると、妊婦による再活性化の結果、分離率が妊娠初期には0~2%、中期には6.6~7%、満期には12~27.8%と、妊娠月数の経過と共に増加⁴⁾⁵⁾⁶⁾することが知られており、産道感染とは分娩時、児が産道を通過する時、この再活性化され粘液中に排泄されているCMVに接触して感染を受けるという感染様式の一つである。また、頸管粘液以外にも、唾液、尿などから分離されるが、再活性化は局所だけにとどまり、分娩を境にして免疫能の正常化により再び潜伏感染に移行するのか、それとも抗体反応を惹起するような全身性感染症を起こすことがないのかを知るため、妊婦末梢白血球からCMVを分離しようとした。しかし、すべて陰性であり、viremiaを起こすような全身性感染症を証明することはできなかった。他の報告⁴⁾¹⁰⁾でも妊娠経過をとうして抗体価が有意変動

するケースは少なく、大多数の妊婦では、再活性化は局所に留まるようであり、このことから再活性化から先天性感染症が起こるとしても、viremia から先天性感染症を起こすのではなく、局所的な再活性化から胎盤を介して胎児に感染がおよぶことが推定される。また、今回得られた妊娠の各ステージにある妊婦 CMV 抗体幾何平均値を比較してみると、再活性化は局所にとどまるもののブースター効果はかかっているようで、妊娠後期の幾何平均値は前期、中期より有意に高く、前にも述べたが、この高い抗体価の存在が先天性感染症の修飾に一役かっている可能性³⁰⁾があり、再活性化から先天性感染を受けた場合には抗体の存在しない初感染と異なり、生下時顕性であることが少ないのであろう。

IFN は高等動物の細胞が、ウイルスや核酸などの刺激によって産生する蛋白質であり、細胞をウイルスに対して抵抗性にするという生物活性を持つ物質であるが、そのほかにも多面的な生物活性を持っている。今回、妊婦の IFN 活性についても検索したが、妊娠初期に比較して中期になると活性が高くなるという結果が得られた。しかし、IFN を誘起する物質には各種のものがあり、妊婦の生体内で IFN を誘起したものが何なのか特定することはできない。CMV 感染症に対する IFN の効果⁴⁰⁾⁴¹⁾については、無効、一過性に有効、大量投与すれば有効、など意見がまちまちで、今の所、はっきりとした有効性は示されていない。また、IFN は胎盤を通過して胎児に移行しにくい⁴²⁾ようであり、CMV 以外の先天性感染症であっても、一旦胎内感染が起こってしまった場合には IFN を母体に投与しても、治療効果は期待できないであろう。また、CMV 感染症に有効という報告でも、大量の IFN を長期間投与しており、今回得られた程度の IFN 活性では CMV 感染症に対し直接的な効果はないと考えられる。しかし、IFN の持つ多面的な生物活性、すなわち、抗ウイルス作用、抗腫瘍作用、免疫担当細胞に対するさまざまな作用 (natural killer 細胞活性増強作用、マクロファージ活性化作用、ADCC 活性増強作用)などを介し妊娠という生体の生理的、病理的变化に関与している可能性があるがその詳細は不明であり、今後の研究が待たれる。

結 語

新潟におけるサイトメガロウイルス感染症の実態を明らかにする目的で本研究を行ない次のことが判明した。

1. 新潟における CMV の浸淫度は極めて高く、妊婦の 93.9% は抗体陽性であり、妊娠による CMV

の再活性化から周産期に約 60% の新生児が CMV の初感染を受けていることが推測された。

2. 浸淫度が高いことから、将来、臓器移植が積極的に行なわれるようになると、潜伏感染している CMV の再活性化により移植後 CMV 感染症を起こす危険性が高くなることが予想される。
3. 特異的 CMV 抗原に対する妊娠末梢リンパ球の幼若化反応を調べ、妊婦では非妊婦に比較して有意に低下していることが明らかとなった。
4. 妊娠時の CMV の再活性化は局所にとどまり、全身性感染症を起こすことは少ないようである。しかし、妊娠後期になると CMV 抗体価が高くなり、抗体の存在は必ずしも CMV 感染症を完全に防御し得ないとしても、再活性化から先天性感染症が起きた場合、これを修飾する可能性が考えられた。
5. 妊娠によりインターフェロン活性が増強する結果が得られたが、その臨床学的意義については不明である。

稿をおえるにあたり、ご指導、ご校閲を賜わりました新潟大学医学部小児科学教室、堺薫教授、同ウイルス学教室、浜田忠弥教授に深謝いたします。

参 考 文 献

- 1) **Smith, M.G.:** Propagation in tissue culture of cytopathogenic virus from human salivary gland virus disease, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **92**: 424~430, 1956.
- 2) **Rowe, W.P., Hartley, J.W., Waterman, N.S., Turner, H.C. and Huebner, R.J.:** Cytopathogenic agent resembling human salivary gland virus recovered from tissue cultures of human adenoids, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **92**: 418~424, 1956.
- 3) 千葉峻三: ヒトサイトメガロウイルスの臨床と疫学. *ウイルス*, **31**: 111~121, 1981.
- 4) **Numazaki, Y., Yano, N., Morizuka, T., Takai, S. and Ishida, N.:** Primary infection with human cytomegalovirus: Virus isolation from healthy infants and pregnant women, *Am. J. Epidemiol.*, **91**: 410~417, 1970.
- 5) **Montgomery, R., Youngblood, L. and Mediaris, D.N., Jr.:** Recovery of cytomegalovirus from the cervix in pregnancy, *Pediatrics*, **49**: 524~531, 1972.

- 6) Reynolds, D.W., Stagno, S., Hosty, T.S., Tiller, M. and Alford, C.A.: Maternal cytomegalovirus excretion and perinatal infection, *N. Engl. J. Med.*, **289**: 1~5, 1973.
- 7) Schopfer, K., Lauber, E. and Krech, U.: Congenital cytomegalovirus infection in newborn infants of mothers infected before pregnancy, *Arch. Dis. Child.*, **53**: 536~539, 1978.
- 8) Stagno, S., Reynolds, D.W., Huang, E.S., Thames, S.D. Smith, R.J. and Alford, C.A.Jr.: Congenital cytomegalovirus infection; occurrence in an immune population, *N. Engl. J. Med.*, **296**: 1254~1258, 1977.
- 9) Agatsuma, Y., Fitzpatrick, P., Lele, A., Kaul, A. and Ogra, P.L.: Cell-mediated immunity to cytomegalovirus in pregnant women, *Am. J. Reprod. Immunol.*, **1**: 174~179, 1981.
- 10) Tanaka, A., Hirota, K., Takahasi, K. and Numazaki, Y.: Suppression of cell mediated immunity to cytomegalovirus and tuberculin in pregnancy employing the leukocyte migration inhibition test, *Microbiol. Immunol.*, **27**: 937~943, 1983.
- 11) 沼崎義夫: CMV の疫学-WHO の調査報告. 臨床とウイルス, **7**: 267~269, 1979.
- 12) 南嶋洋一: サイトメガロウイルス感染症. 臨床とウイルス, **9**: 43~49, 1981.
- 13) 森田盛大: 臨床ウイルス学, 手技篇, 講談社, p. 64~76, 1978.
- 14) 菅原 勇, 石坂重昭, 辻井 正, 西山利正: MTT アッセイ-細胞増殖能および細胞障害試験に応用可能な迅速比色定量法. 医学のあゆみ, **128**: 733~735, 1984.
- 15) 鎌田 誠: 本邦における cytomegalovirus 胎内感染に関する研究. 札幌医誌, **49**: 529~537, 1980.
- 16) 大島武子, 田中 明, 沼崎義夫, 広田清方, 渡部旭常, 刈田美和子, 玉橋征子, 石井アケミ, 村田喜代: 本邦における妊婦 CMV 感染と感染細胞抗原に対する IgM 抗体の意義. 医学のあゆみ, **106**: 535~536, 1978.
- 17) 矢吹朗彦: 妊娠中におけるサイトメガロウイルス (CMV) 感染の検索. 第31回産婦学会抄録, p. 150~151, 1979.
- 18) 中井定子, 野田朱実, 田中由理子: 妊婦における各種ウイルス抗体保有状況. 第2報, 栃木衛検所報, **15**: 44~46, 1985.
- 19) 篠崎百合子: サイトメガロウイルスの胎内感染に関する研究. 第2篇, 健康妊婦のウイルス学的血清学的研究. 東女医大誌, **52**: 1355~1362, 1982.
- 20) 坂本 博: 小児における Cytomegalovirus 感染に関する研究. 第2篇, 血清疫学調査. 日児誌, **78**: 678~688, 1974.
- 21) 坂本 博: 小児における Cytomegalovirus 感染に関する研究. 第1篇, Cytomegalovirus 分離成績. 日児誌, **78**: 669~677, 1974.
- 22) Hayes, K., Danks, D.M., Gibos, H. and Jack, I.: Cytomegalovirus in human milk, *N. Engl. J. Med.*, **287**: 177~179, 1972.
- 23) Ahlfors, K. and Ivarsson, S.A.: Cytomegalovirus in breast milk donors, *Scand. J. Infect. Dis.*, **17**: 11~13, 1985.
- 24) Cabau, N., Labadie, M.D., Vesin, C., Feingold, J. and Boue, A.: Sero-epidemiology of cytomegalovirus infections during the first years of life in urban communities, *Arch. Dis. Child.*, **54**: 286~290, 1979.
- 25) Hanshaw, J.B.: Congenital cytomegalovirus infection: A fifteen year perspective, *J. Infect. Dis.*, **123**: 555~561, 1971.
- 26) Starr, J.G., Bart, R.D., Jr. and Gold, E.: Inapparent congenital cytomegalovirus infection: clinical and epidemiologic characteristics in early infancy, *N. Engl. J. Med.*, **282**: 1075~1078, 1970.
- 27) Stern, H.: Isolation of cytomegalovirus and clinical manifestations of infection at different ages, *Br. Med. J.*, **1**: 665~669, 1968.
- 28) Birnbaum, G., Lynch, J.I., Margileth, A.M., Lonergan, W.M. and Sever, J.L.: Cytomegalovirus infections in newborn infants, *J. Pediatr.*, **75**: 789~795, 1969.
- 29) 中尾 亨, 千葉峻三, 平木雅久, 中田文輝, 大柳和彦, 鎌田 誠, 梅津征夫, 小森 昭: 胎児および新生児におけるサイトメガロウイルス感染, 厚生省心身障害研究, 妊婦管理研究班, 昭和56年度研究報告書, p. 233~235, 1982.
- 30) Stagno, S., Pass, R.F., Dworsky, M.E., Henderson, R.E., Moore, E.G, Walton, P.D.

- and Alford, C.A.: Congenital cytomegalovirus infection: The relative importance of primary and recurrent maternal infection, *N. Engl. J. Med.*, **306**: 945~949, 1982.
- 31) **Hanshaw, J.B., Scheiner, A.P., Moxley, A.W., Gaev, L., Abel, V. and Scheiner, B.:** School failure and deafness after "silent" congenital cytomegalovirus infection, *N. Engl. J. Med.*, **295**: 468~470, 1976.
- 32) **Chiba, S., Kamada, M., Yosimura, H., Hirai, M. and Nakao, T.:** Congenital cytomegalovirus infection in Japan, *N. Engl. J. Med.*, **310**: 50~51, 1984.
- 33) **Rifkind, D., Starzl, T.E., Marchioro, T.L., Waddell, W.R., Rowlands, D.T., Jr. and Hill, R.B. Jr.:** Transplantation pneumonia, *JAMA*, **189**: 808~816, 1964.
- 34) **Mintz, M.:** *Viral infections, a clinical approach*, F.A.Davis Company, p. 174~175, 1976.
- 35) 舟田 久, 原田実根: サイトメガロウイルス感染症, 骨髄移植患者における検討. *医学のあゆみ*, **131**: 919~923, 1984.
- 36) 竹内正七, 高桑好一: 産婦人科医のための免疫学. 産婦人科 MOOK, No. 37, p. 50~55, 1987.
- 37) 渡辺重博: モノクローナル抗体を用いた妊婦リンパ球サブセットの検索. *最新医学*, **39**: 43~46, 1984.
- 38) **Fujisaki, S., Mori, N., Sasaki, T. and Maeyama, M.:** Cell-mediated immunity in human pregnancy: Changes in lymphocyte reactivity during pregnancy and postpartum, *Microbiol. Immunol.*, **23**: 899~907, 1979.
- 39) **Faix, R.G., Zweig, S.E., Kummer, J.F., Moore, D. and Lang, D.J.:** Cytomegalovirus-specific cell-mediated immunity during pregnancy in lower socio-economic class adolescents, *J. Infect. Dis.*, **148**: 621~629, 1983.
- 40) **Stewart, W.E. II:** *The Interferon System*, Springer-Verlag, p. 313~315, 1981.
- 41) **Wade, J.C., McGuffin, R.W., Springmeyer, S.C., Newton, B., Singer, J.W. and Meyers, J.D.:** Treatment of cytomegalovirus pneumonia with high-dose acyclovir and leukocyte interferon, *J. Infect. Dis.*, **148**: 557~562, 1982.
- 42) **Stewart, W.E. II:** *The Interferon System*, Springer-Verlag, p. 262~263, 1981.

(平成元年2月28日受付)