

## 新生児における CMV 感染経路

永井 正<sup>1)2)</sup>

サイトメガロウイルス (CMV) は、新生児期を含む乳児期あるいは幼小児期に感染することが多いが、無症状あるいは軽度の症状で終息することが多い。しかしながら、超低出生体重児が新生児期に感染すると、重篤な臨床所見を認める場合が珍しくなく、致死的な転帰をたどることもある。超低出生体重児における CMV の感染経路は、既感染の母親からの母乳感染、輸血感染さらに水平感染が想定されているが、輸血を受けるケースが多いため実臨床ではしばしば輸血感染が疑われる。しかしながら、CMV-DNA 陽性献血ドナーからの血液製剤が一定の確率で存在しているにも関わらず、現時点では輸血感染と確定された国内症例はない。国内では白血球除去が全面導入されている点からも、輸血感染のリスクは極めて低いと思われるが、さらに CMV 抗体陰性血の使用が超低出生体重児に対して勧奨されている。一方、日赤では国内の CMV 輸血感染症疑い症例について感染経路の検討を進めており、現時点では、ほとんどが母乳感染と結論づけられている。海外からも母乳が主たる感染経路であるとする報告が相次いでおり、今後は母乳感染の防止対策の確立も重要な課題となる。

キーワード：サイトメガロウイルス、超低出生体重児、輸血感染、母乳

### はじめに

サイトメガロウイルス (CMV) は多くの場合、新生児期を含む乳児期あるいは幼小児期に感染する。発熱や肝機能障害などを示す場合もあるが、一般的に無症状あるいは軽度の症状にとどまることが多い。感染後は、骨髄球系前駆細胞あるいは末梢血単球などに潜伏感染し、一生にわたり体内に存在する。

一方、1) 胎内感染、2) 先天性・後天性免疫不全症候群、移植後などの免疫不全状態における感染、3) 超低出生体重児すなわち超早期出生で体重がおよそ 1,500 g 未満の新生児における感染は、しばしば重篤な症状を伴い、ときとして致死的となる。本稿では、輸血感染がしばしば疑われる超低出生体重児への CMV 感染を中心に、その感染経路、感染予防対策について概説する。なお、本稿では CMV 感染によって実際に臨床症状を認めたケースを「CMV 感染症」と表現している。

### CMV の構造

ヒト CMV は、直径約 180nm の 2 本鎖 DNA ウィルスで、ヘルペスウイルスに属する。正 20 面体の nucleocapsid がゲノム DNA を内包しており、脂質二重膜の envelope が nucleocapsid を被っている。

ヒト CMV ゲノムは 235kb の dsDNA からなっており、

約 250 個の open reading frame (ORF) を有している。その中に、unique long (UL) と呼ばれる領域が 1 番から 151 番まで存在する。特に、UL139 と UL146 は Hypervariable region いわゆる超可変領域と呼ばれており、CMV の個々のゲノタイプによって多様性を示すことが知られている<sup>1)</sup>。すなわち、この領域の構造を解析することで、CMV のゲノタイプを決定・比較することができる。この事実は、後述するように CMV の感染経路を同定する上で大事なポイントとなる。

### CMV の胎内感染

CMV の胎内感染は臨床的に重要であり、その発生頻度は妊娠全体の 0.4~1% と報告されている。症状としては、発育遅延、肝腫大、脳室拡大、小頭症、紫斑、網膜症などが知られているが、特に妊娠 13 週までの妊娠初期の感染は脳障害のリスクを上昇させると報告されている<sup>2)</sup>。実際に症状を呈する症候性の症例は胎内感染全体の 10~20% であるが、症候性症例の約 90% で聴覚障害、運動機能低下、精神発達遅滞などの続発症状が出現する。一方、胎内感染の 80~90% を占める無症候性の症例においても、約 10% の症例で続発症状が認められる。重要なことは、未感染の妊婦が妊娠中に CMV に初感染すると胎内感染を起こすリスクが高くなると

1) 日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター

2) 血液事業本部中央血液研究所

〔受付日：2018 年 1 月 5 日，受理日：2018 年 1 月 22 日〕

いうことである。

献血ドナーにおける CMV-IgG 抗体の保有率は、10 歳台、20 歳台では 50~60% であり、年齢とともに増加して 50~69 歳では 90% 以上となる<sup>3)</sup>。この結果は、国内における CMV 既感染率をほぼ反映していると考えられる。また、抗体陽性者の年齢分布から約 70% の妊婦が既感染であると推測された。すなわち、約 30% の妊婦が未感染と推測されており、その中の 1~2% が妊娠中に CMV に初感染すると考えられている。実際、このような初感染例の 40% で胎内感染が成立することから、妊娠中の初感染予防が非常に重要となる。従って、輸血に関して言えば、未感染すなわち CMV 抗体陰性の妊婦に対しては CMV 抗体陰性血の使用が推奨されている。

### 超低出生体重児における CMV 感染

超低出生体重児の新生児期における CMV 感染症では、壊死性腸炎、敗血症様症状、高度の血小板減少などさまざまな臨床所見を認めるケースが多く、致死的な転帰をたどることもある。さらに、超低出生体重児が新生児期に CMV に感染した場合、成長期における神経学的発達に影響がでる可能性が複数のグループから報告されている<sup>4)~6)</sup>。

超低出生体重児における CMV 感染の頻度については、海外から複数の報告がある。539 例の超低出生体重児を調べた解析では、29 例 (5.4%) で CMV 感染が認められた<sup>7)</sup>。この場合、29 例のうち 5 例で臨床症状を伴う「CMV 感染症」を発症した。一方、国内では森岡らが 65 例の超低出生体重児について解析した結果、出生後 3 週間以内の CMV 感染を 4 例 (6.2%) 認めたが、いずれも臨床的所見は認められなかった(投稿中)。これらの結果から、超低出生体重児における CMV 感染の頻度は数%であると推測される。

#### 1. 母乳による感染リスク

超低出生体重児における CMV の感染経路については、既感染の母親からの母乳を介した感染、輸血感染あるいは他人からの水平感染が以前より指摘されており、現時点では、この 3 つが主な感染ルートとして想定されている。

ほとんどの CMV 既感染の母親では血液中に CMV-DNA が認められないが、母乳中から CMV-DNA が検出されるケースは珍しくない<sup>7)8)</sup>。Josephson らの報告では、CMV 既感染の母親の 70% 以上で母乳中に CMV-DNA が検出され、CMV に感染した超低出生体重児のほとんどが母乳感染であったと結論づけている<sup>7)</sup>。同様に、母乳が主たる CMV 感染経路であるとする報告は数多い。

#### 2. CMV 超可変領域の構造比較による感染経路の決定 しかしながら、超低出生体重児では輸血を受けてい

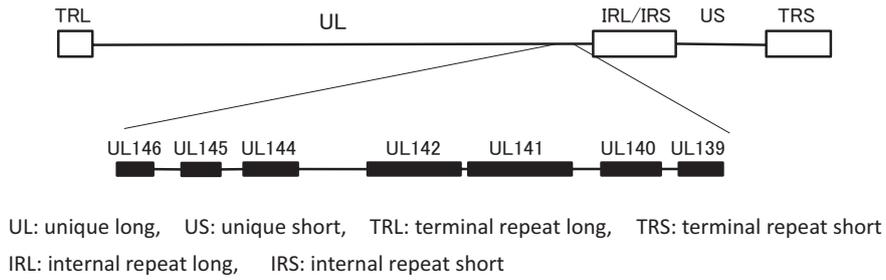
るケースが多いため、実臨床ではまず輸血感染が疑われる傾向にある。実際、全国の医療機関から年間およそ 10 例の CMV 輸血感染症疑い超低出生体重児例が日赤に報告されている。

これまでのスタディでは、CMV-DNA が母乳中あるいは献血ドナーから検出されるか否かで感染経路、特に母乳感染であるか輸血感染であるかが判断されてきた。別の言い方をすれば、患者と母乳中から検出されたそれぞれの CMV が本当に同じ株であったのか、あるいは患者と献血ドナーから検出されたそれぞれの CMV が同じ株であったのか、という確認がなされていない。そのため、正確な感染経路を結論づけるには根拠が不十分であると考えられる。

そこで、筆者らは日赤に報告された輸血感染症疑い症例について正確な感染経路を同定するため、患者検体(血液あるいは尿)、母乳そして献血ドナー保管検体から検出された CMV の UL139 および UL146 の塩基配列を決定し、その比較を試みている。

図 1 に、CMV-DNA 陽性ドナーからの血液製剤を輸血後に CMV 感染症を発症したため、輸血感染症が疑われた例の解析結果を示す。患者血液、母乳そして献血ドナー保管検体のそれぞれから検出された CMV について、UL139 と UL146 の塩基配列を比較した。その結果、保管検体からの CMV と患者 CMV との間では塩基配列の一致率が低かった反面、母乳からの CMV と患者 CMV との間では完全に一致していた。さらに、UL139 あるいは UL146 の塩基配列の結果を基に CMV 遺伝子型の系統樹を作成したところ、患者および母乳から検出された CMV と保管検体の CMV とでは遺伝的距離が非常に離れていることが明らかとなった(図 2)。従って、本症例は、結果的に輸血感染ではなく母乳感染であったと結論づけられた<sup>10)</sup>。本症例は、単に母乳あるいは献血ドナー血液に CMV-DNA が存在するか否かで感染経路を評価する従来の考え方では輸血感染と判断された可能性が高い。従って、正確な感染経路の評価のためには、超可変領域の塩基配列の解析による CMV ゲノタイプの確認がきわめて有用と考えられる。

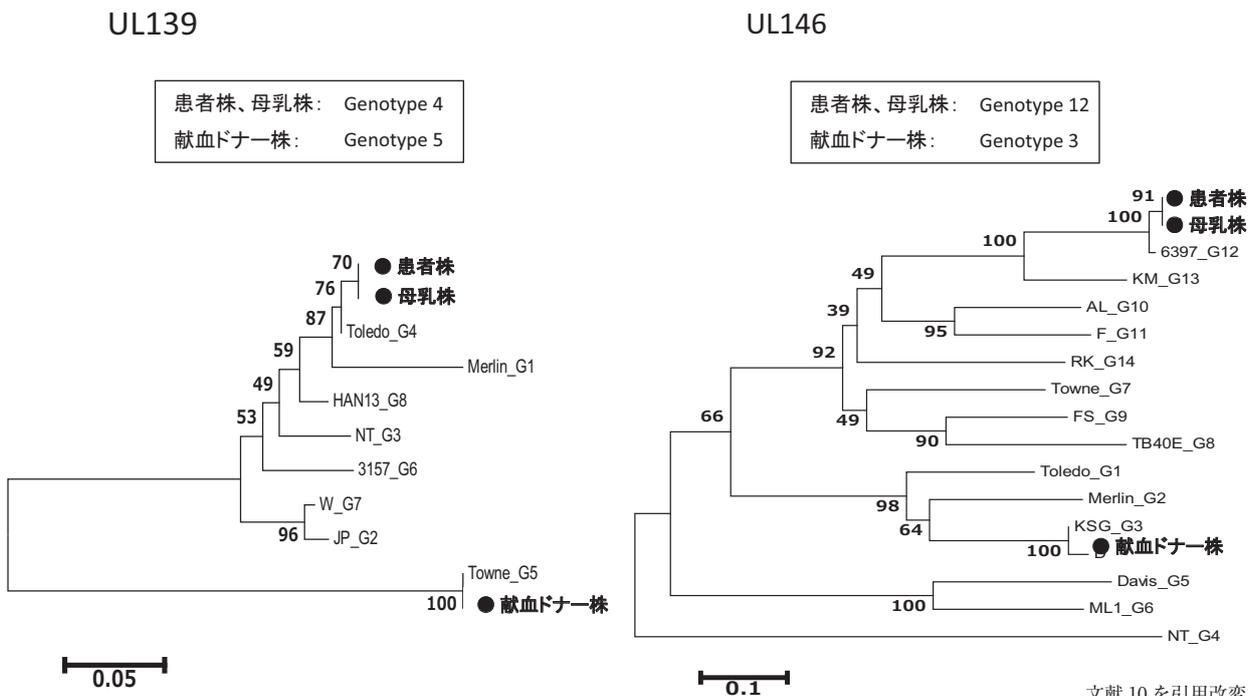
日赤では、現在、全国の未熟児・周産期医療実施医療機関に向けて、輸血 CMV 感染症が疑われた場合に患者の血液、尿、母親の血液および母乳の提供を依頼している。現在までに、10 数例の解析が完了しているが、母乳については 1 例を除いて CMV-DNA が陽性であった。さらに、陽性症例について母乳と患者検体のそれぞれの CMV の UL139 と UL146 の塩基配列を比較したところ、全ての症例で一致した。一方、3 例で献血ドナー保管検体からも CMV-DNA が検出された。そのうちの 2 例で UL139 と UL146 の塩基配列の解析が可能であったが、いずれも患者 CMV と一致しなかった。この結果



塩基配列の一致率 (%)		
	UL139	UL146
ドナー株/患者株	64.6	68.6
母乳株/患者株	100	100

文献 10 を引用改変

図1 輸血感染疑い症例における CMV 可変領域の塩基配列一致率  
CMV のマップを示した (GenBank Accession Number AY446894.2). 母乳と患者のそれぞれから検出された CMV 株において, CMV 可変領域 (UL139 および UL146) の塩基配列が完全に一致した.



文献 10 を引用改変

図2 系統樹解析

患者検体, 母乳, 献血ドナー保管検体から検出された CMV およびデータベースから抽出した各遺伝子型 CMV の UL139 および UL146 のアミノ酸配列を基に, 系統樹を作成した. 患者および母乳から検出された CMV と保管検体の CMV とでは遺伝的距離が非常に離れていることがわかる.

は, 輸血 CMV 感染症疑い症例のほとんどは母乳感染であることを強く示唆している (投稿中).

なお, 母乳から CMV-DNA が検出されなかった 1 例については, 医療機関での母乳検査で CMV-DNA が陽性であった. 実際, 母乳における CMV-DNA のコピー数は一定ではなく, 出生後一定の期間が経過すると急速に低下することが報告されている<sup>11)</sup>. 従って, 母

乳の検査時期によって CMV-DNA の検出結果が影響される可能性に留意する必要がある.

### 3. 輸血感染のリスクは本当に低いのか?

輸血による CMV 感染のリスクは従来 10~60% と報告されていた. しかしながら, CMV 抗体陰性血や白血球除去製剤が広く使用されている昨今では, 高い輸血感染リスクを示す報告はほとんどない. 一方, 輸血感

染リスクそのものの存在を依然として指摘する報告も少数ながら存在する。Wu らが報告したスタディでは、合計 1,316 回の白血球除去製剤の輸血を受けた 13 歳以上の 46 例のうち、3 例で CMV 感染が成立していた<sup>12)</sup>。この結果から、輸血による CMV 感染の可能性が依然として存在していると指摘している。しかしながら、白血球除去製剤の使用下における最近のスタディでは、CMV 感染率が非常に低い事実を示す報告が相次いでいる<sup>13)~15)</sup>。

Seed らは、白血球除去製剤で CMV 感染が起こる要因として、残存白血球と血漿中の free CMV を想定した。残存白血球については、白血球除去フィルターの不良によって  $5 \times 10^6$  個以上残存していれば感染リスクがあると想定する。一方、血漿中の free CMV については、1) ウイルス培養ではきわめて稀にしか証明されない、2) FFP での CMV 感染例がない、3) CMV 血漿投与マウスで感染が成立しない、などの理由により感染要因から除外した。その上で、CMV-DNA 陽性の献血者率および白血球除去フィルターの不良率から感染リスクを計算したところ、 $7.367 \times 10^{-8}$  (13,575,000 本に 1 本) と極めて低レベルであった。従って、白血球除去製剤からの感染リスクは、ほとんどないと結論を導き出している<sup>16)</sup>。

輸血感染の防止には、白血球除去とともに CMV 抗体陰性血の使用も有力なオプションと考えられる。Josephson らは、白血球除去と CMV 抗体陰性血を組み合わせた場合、310 例の超低出生体重児を検討した範囲では CMV 感染が 1 例もなかったと報告している<sup>7)</sup>。一方、白血球除去のみで感染予防効果としては十分に機能しているという意見も多い。実際、カナダでは CMV 抗体陰性血は子宮内輸血に限った選択肢とされている。

国内での調査では、1,740 人の IgM 抗体陰性かつ IgG 抗体陽性すなわち既感染献血ドナーにおいて、31 人で CMV-DNA が検出された<sup>3)</sup>。この結果は、CMV-DNA 陽性献血ドナーからの血液製剤が一定の確率で存在していることを示している。この事実にも関わらず、現時点では輸血感染と結論づけられた症例はない。国内では白血球除去が全面導入されている点からも、輸血感染のリスクは極めて低いと思われる。しかしながら、輸血感染リスクを最大限低下させるという観点から、新生児、特に低出生体重児への輸血に際しては CMV 抗体陰性血の使用がさらに勧奨されている。

#### 4. 母乳感染の防止は可能か？

母乳が主たる CMV 感染経路であることが明らかになりつつあることから、母乳感染の効果的な防止法の開発が重要な課題となる。従来、凍結母乳の使用が感染防止法として期待されてきた。最近も、Balcells らは、凍結母乳の使用による CMV 感染率の低下を報告してい

る<sup>17)</sup>。しかしながら、凍結解凍した母乳においても CMV 感染性が残存することは実験的にも証明されており<sup>18)</sup>、実際、凍結母乳の有効性を疑問視する臨床報告も少なくない<sup>7)19)</sup>。メタ解析の結果でも、凍結母乳の優位性は明確には示されなかった<sup>9)</sup>。従って、少なくとも凍結母乳によって母乳感染リスクが著明に低下することはないと思われる。

一方、母乳の加熱効果についても検討されており、62~72°C の短時間の加熱で CMV の感染性が失われることが示された<sup>18)</sup>。しかしながら、この方法では母乳中のアルカリホスファターゼやリパーゼなどの酵素活性も大きく損なわれてしまい、本来の母乳のメリットが失われてしまう。

超低出生体重児においては、母乳の栄養学的メリットが非常に高く、CMV 感染のリスクを考慮した上でも人工乳の選択は推奨されていない。従って、母乳の使用が前提となっており、この点からも効果的な母乳感染防止法の開発が期待される。

#### おわりに

超低出生体重児における CMV 感染は、母乳が中心であり輸血感染リスクは非常に低いと理解されるが、今後、症例の積み重ねによりそれぞれの正確なリスク評価が可能になると思われる。また、白血球除去のみで十分な輸血感染防止効果を得ることができるかという点に関しては、さらなる知見の集積による判断が必要になると思われる。一方、母乳感染、輸血感染がともに否定された場合は、他人からの水平感染が疑われる。現時点では、超低出生体重児における水平感染リスクは不明であるが、一定のリスクが明らかになった場合は、その対策についても積極的に取り組む必要がある。

著者の COI 開示：本論文発表内容に関連して特に申告なし

#### 文 献

- Bradley AJ, Kovács IJ, Gatherer D, et al: Genotypic analysis of two hypervariable human cytomegalovirus genes. *J Med Virol*, 80: 1615—1623, 2008.
- Pass RF, Fowler KB, Boppana SB, et al: Congenital cytomegalovirus infection following first trimester maternal infection: symptoms at birth and outcome. *J Clin Virol*, 35: 216—220, 2006.
- Furui Y, Satake M, Hoshi Y, et al: Cytomegalovirus (CMV) seroprevalence in Japanese blood donors and high detection frequency of CMV DNA in elderly donors. *Transfusion*, 53: 2190—2197, 2013.

- 4) Bevot A, Hamprecht K, Krägeloh-Mann I, et al: Long-term outcome in preterm children with human cytomegalovirus infection transmitted via breast milk. *Acta Paediatr*, 101: e167—172, 2012.
- 5) Goelz R, Meisner C, Bevot A, et al: Long-term cognitive and neurological outcome of preterm infants with postnatally acquired CMV infection through breast milk. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 98: F430—433, 2013.
- 6) Brecht KF, Goelz R, Bevot A, et al: Postnatal human cytomegalovirus infection in preterm infants has long-term neuropsychological sequelae. *J Pediatr*, 166: 834—839, 2015.
- 7) Josephson CD, Caliendo AM, Easley KA, et al: Blood transfusion and breast milk transmission of cytomegalovirus in very low-birth-weight infants: a prospective cohort study. *JAMA Pediatr*, 168: 1054—1062, 2014.
- 8) Jim WT, Shu CH, Chiu NC, et al: Transmission of cytomegalovirus from mothers to preterm infants by breast milk. *Pediatr Infect Dis J*, 23: 848—851, 2004.
- 9) Lanzieri TM, Dollard SC, Josephson CD, et al: Breast milk-acquired cytomegalovirus infection and disease in VLBW and premature infants. *Pediatrics*, 131: e1937—1945, 2013.
- 10) Yamagishi N, Furu Y, Koshinami S, et al: Sequence analysis of two variable cytomegalovirus genes for distinction between transfusion- and breast milk-transmitted infections in a very-low-birthweight infant. *Transfusion*, 56: 1305—1310, 2016.
- 11) Hayashi S, Kimura H, Oshiro M, et al: Transmission of cytomegalovirus via breast milk in extremely premature infants. *J Perinatol*, 31: 440—445, 2011.
- 12) Wu Y, Zou S, Cable R, et al: Direct assessment of cytomegalovirus transfusion-transmitted risks after universal leukoreduction. *Transfusion*, 50: 776—786, 2010.
- 13) Delaney M, Mayock D, Knezevic A, et al: Postnatal cytomegalovirus infection: a pilot comparative effectiveness study of transfusion safety using leukoreduced-only transfusion strategy. *Transfusion*, 56: 1945—1950, 2016.
- 14) Strauss RG: Optimal prevention of transfusion-transmitted cytomegalovirus (TTCMV) infection by modern leukocyte reduction alone: CMV sero/antibody-negative donors needed only for leukocyte products. *Transfusion*, 56: 1921—1924, 2016.
- 15) Ziemann M, Juhl D, Brockmann C, et al: Infectivity of blood products containing cytomegalovirus DNA: results of a lookback study in nonimmunocompromised patients. *Transfusion*, 57: 1691—1698, 2017.
- 16) Seed CR, Wong J, Polizzotto MN, et al: The residual risk of transfusion-transmitted cytomegalovirus infection associated with leucodepleted blood components. *Vox Sang*, 109: 11—17, 2015.
- 17) Balcells C, Botet F, Gayete S, et al: Castrillo Study Group: Vertically transmitted cytomegalovirus infection in newborn preterm infants. *J Perinat Med*, 44: 485—490, 2016.
- 18) Hamprecht K, Maschmann J, Müller D, et al: Cytomegalovirus (CMV) inactivation in breast milk: reassessment of pasteurization and freeze-thawing. *Pediatr Res*, 56: 529—535, 2004.
- 19) Omarsdottir S, Casper C, Navér L, et al: Cytomegalovirus infection and neonatal outcome in extremely preterm infants after freezing of maternal milk. *Pediatr Infect Dis J*, 34: 482—489, 2015.

## CMV TRANSMISSION ROUTES IN INFANTS

Tadashi Nagai<sup>1)2)</sup>

<sup>1)</sup>Japanese Red Cross Kanto-Koshinetsu Block Blood Center

<sup>2)</sup>Central Blood Institute, Blood Service Headquarters

### Keywords:

cytomegalovirus, very low birth weight infant, transfusion-transmitted infection, breast milk