

令和 2 年 6 月 8 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K09986

研究課題名(和文)先天性サイトメガロウイルス感染症における免疫機構と大脳白質病変の病態の解明

研究課題名(英文) Immunological mechanism of cerebral white matter lesion in congenital cytomegalovirus infection.

研究代表者

稲葉 雄二 (Inaba, Yuji)

信州大学・医学部・特任教授

研究者番号：30334890

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：近年増加している先天性サイトメガロウイルス感染症において、中枢神経合併症は多岐にわたるが、その病態については不明な点が多い。本研究では、神経発達症と大脳白質病変、海馬形成異常が本症で高率に合併していることを証明した。大脳白質病変の大きさは知能指数と相関していたが、海馬病変や神経発達症との関連については明らかではなかった。免疫関連遺伝子の多型性解析の結果、Toll様受容体やサイトカイン遺伝子の多型性と中枢神経病変との関連が示唆された。胎内でのウイルス暴露により多様な中枢神経合併症を呈し、その発現には免疫系の遺伝子多型が関与していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

様々な症状を呈する先天性サイトメガロウイルス感染症では、中枢神経合併症がその後の患者および家族の生活の質に大きく影響を与える。本研究で明らかにした神経発達症や大脳白質病変、海馬形成異常の頻度の多さ、ならびに免疫関連遺伝子多型との関連により、患者の重症度リスク評価が可能となり、抗ウイルス治療などの治療戦略を検討する一つの指標になると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Congenital cytomegalovirus infection that has increased in recent years cause various complications in the brain, but there are many unknown points about the condition. In this study, neurodevelopmental disorders, cerebral white matter lesion, and hippocampal malrotation were complicated with high rates in this disease. The size of the cerebral white matter lesions was correlated with the intelligence index, but it was not clear about the association between hippocampus lesions and neurodevelopmental disorders. As a result of polymorphic analysis of immune-related genes, the relationship between polymorphism of Toll-like receptors and cytokine genes and the brain lesions was suggested. Intrauterine viral exposure caused a variety of brain lesions, suggesting that the expression involved a gene polymorphism of the immune system.

研究分野：小児神経学

キーワード：サイトメガロウイルス 先天性サイトメガロウイルス感染症 大脳白質 海馬形成異常 遺伝子多型 神経発達症

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

先天性サイトメガロウイルス (CMV) 感染症は、子宮内での CMV 感染によって中枢神経病変や進行性難聴を来す疾患である。妊婦の初感染またはウイルスの再活性化によって胎内感染がおこるが、近年、本邦の若年女性における CMV に対する抗体保有率の低下が指摘されている。また、これまでは感染しても無症候性に経過する例が大部分とされてきたが、比較的軽微な神経症状を呈する症例や、神経発達症を合併する症例の報告があり、中枢神経症状に多様性があるとわかってきた。しかし、その病態や症状と検査所見との関連、治療による影響など、不明な点が多い。これまでに研究代表者らは、本症罹患患児の大脳白質病変の体積と知能指数が関連することを示し、無症候性感染症と思われる罹患児でも大脳白質病変がある場合は、中枢神経への障害があることを明らかにした。しかし、その重症度や出現する症状の多様性が何によって規定されるかは不明であった。

### 2. 研究の目的

本症に罹患した患児の発達および神経症状と所見の解析を通じて、中枢神経合併症の多様性を明らかにし、それと神経画像などの検査所見との関連を評価することにより、中枢神経合併症の病態を明らかにする。さらに、免疫学的解析を通じて、本症の免疫学的基板を明らかにすることを目的とする。これらの結果から、CMV の胎内感染におけるハイリスク者の抽出を可能にし、早期治療介入手段を検討し、治療による神経学的転帰への影響の検討を可能にすることを目的とする。

### 3. 研究の方法

#### (1) 先天性 CMV 患者の登録と臨床的解析：

乾燥保存臍帯の PCR により本症と診断した患者を登録し、周産期情報、発達・神経学的所見、聴力検査、神経画像などを集積した。また、年齢に合わせて発達検査や知能検査を実施した。

#### (2) 神経画像解析：

脳 MRI における大脳皮質の容量と形態、海馬形態、大脳白質病変の部位と容積、脳室や脳梁の大きさなどを解析し、上記臨床情報との関連を検討する。特に、海馬の形態は海馬の大きさおよび回転異常を評価する定量的計測指標を用いて評価した。画像解析には複数の計測者が個別に実施して平均値をとった。

#### (3) 遺伝子多型解析：

患者の末梢血単核球から DNA を抽出し、各種サイトカイン (IL-1B, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ , CCL-2) や Toll 様受容体 (TLR-2, 3, 4, 7, 9) などの免疫関連タンパクの遺伝子の多型性について、次世代シーケンサーを用いて解析した。

#### (4) メモリー T 細胞機能：

患者の末梢血リンパ球中のメモリー T 細胞の機能を評価するために、末梢血単核球を

分離し、CMV 抗原に対する反応を ELISPOT 法によって検出を試みた。

( 5 ) 治療効果評価 :

周産期のガンシクロビル投与症例について、非投与症例の解析から予測される神経学的転帰と、実際の転帰を比較し、治療介入効果について検討した。

#### 4 . 研究成果

( 1 ) 臨床的解析 :

神経学的には、重度の脳性麻痺や難治性てんかんを有する症例から無症状のものまで幅広く認めた。また、自閉スペクトラム症合併例を高率に認めた。発達と難聴の程度に相関を認めなかった。

( 2 ) 神経画像解析 :

大脳皮質形成異常は知的発達および運動発達、難治性てんかんに影響していた。大脳白質病変の大きさと知能指数は有意な正の相関を示し、これまで病的意義が明らかにされていなかった大脳白質病変は認知機能に影響することが判明した。白質病変の局在と神経発達症や聴覚との関連はなかった。海馬形態の解析で、回転異常を示す海馬の縦径と横径の比は年齢一致の対象群に比して有意に高値であり、先天性 CMV 感染症患者で高率に海馬回転異常を合併することが明らかとなった。この所見と知能指数や神経発達症、難聴の合併との関連は明らかではなかった。

( 3 ) 遺伝子多型解析 :

TLR-2、TLR-9、NKG2D ( Natural Killer group2 member D ) 遺伝子において遺伝子多型例が多く、既報告と同等の結果を認めた。また、CCL2 遺伝子の多型性と難聴の合併との関連が示唆された。これらの結果から、CMV の胎内感染の成立と合併症の発症には免疫関連タンパクの遺伝子多型が関与し、免疫学的な宿主の反応の違いが先天性 CMV 感染症の症状の多様性に関与している可能性が示唆された。

( 4 ) メモリーT細胞機能:

患者末梢血リンパ球を用いて ELISPOT によるメモリーT細胞の機能について検討を試みたが、実施した患者の細胞からは十分な反応が得られず、評価できなかった。

( 5 ) 治療効果評価 :

登録された患者において、生後早期にガンシクロビルを使用した群では、使用しなかった群に比較して、出生時の画像から予測される発達予後が良好であると考えられた。

以上より、CMV の胎内感染によって大脳白質病変や海馬回転異常など多岐にわたる中枢神経合併症をきたし、その背景には自然免疫に関与する遺伝子の多型が修飾因子となって症状の多様性の一因となっていることが考えられた。生後早期のガンシクロビル治療は有効であることから、出生後もウイルスによる中枢神経での病態が進行している可能性が示唆される。今後、遺伝子多型の検索も念頭に高危険群ではより強力な治療介入が望まれる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Moteki H, Isaka Y, Inaba Y, Motobayashi M, Nishio SY, Ohira S, Yano T, Iwasaki S, Shiozawa T, Koike K, Usami SI	4. 巻 138
2. 論文標題 A rational approach to identifying newborns with hearing loss caused by congenital cytomegalovirus infection by dried blood spot screening	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Acta Otolaryngol	6. 最初と最後の頁 708-712
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/00016489.2018.1441545	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Nasuno M, Shigemura T, Nakazawa Y, Inaba Y, Motobayashi M	4. 巻 60
2. 論文標題 Postencephalitic epilepsy secondary to cytomegalovirus encephalitis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Pediatr Int	6. 最初と最後の頁 758-760
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/ped.13594	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Mitsuo Motobayashi, Masaru Nasuno, Tomonari Shigemura, Yozo Nakazawa, Yuji Inaba	4. 巻 60
2. 論文標題 A case of postencephalitic epilepsy secondary to cytomegalovirus encephalitis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Pediatrics International	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Inaba Y, Motobayashi M, Nishioka M, Kaneko T, Yamauchi S, Kawasaki Y, Shiba N, Nishio SY, Moteki H, Miyagawa M, Takumi Y, Usami S, Koike K	4. 巻 55
2. 論文標題 Correlation Between White Matter Lesions and Intelligence Quotient in Patients With Congenital Cytomegalovirus Infection	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Pediatric Neurology	6. 最初と最後の頁 52-57
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.pediatrneurol.2015.11.014	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 稲葉 雄二	4. 巻 57
2. 論文標題 先天性サイトメガロウイルス感染症 耳鼻咽喉科と連携した神経発達診療	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 小児科	6. 最初と最後の頁 236-270
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 本林 光雄, 稲葉 雄二, 西岡 誠, 川崎 洋一郎, 井坂 友一, 西尾 信哉, 茂木 英明, 大平 哲史, 岩崎 聡, 中村 友彦, 宇佐美 真一	4. 巻 37
2. 論文標題 先天性サイトメガロウイルス感染症スクリーニングに関する多施設共同研究結果の検討(第1報)	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 小児耳鼻咽喉科学会雑誌	6. 最初と最後の頁 29-34
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件(うち招待講演 0件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 稲葉 雄二
2. 発表標題 先天性サイトメガロウイルス感染症の診療の進歩 地域における連携と小児神経科の取り組み
3. 学会等名 第60回日本小児神経学会学術集会 シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 夏目 岳典, 那須野 将, 柳沢 俊光, 柴 直子, 本林 光雄, 稲葉 雄二
2. 発表標題 先天性サイトメガロウイルス感染症における海馬形成異常と自閉スペクトラム症の関連
3. 学会等名 第60回日本小児神経学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 那須野 将, 本林 光雄, 大澤 由寛, 森川 愛美, 夏目 岳典, 柳沢 俊光, 稲葉 雄二
2. 発表標題 サイトメガロウイルス脳室脳炎後にてんかんを発症した一例
3. 学会等名 第60回日本小児神経学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yuji INABA, Mitsuo MOTOBAYASHI, Manami MORIKAWA, Makoto NISHIOKA, Mitsuho TAKATSUKI
2. 発表標題 Autism Spectrum Disorder in Children with Congenital Cytomegalovirus Infection
3. 学会等名 14th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	本林 光雄  (Motobayashi Mitsuo)  (90747940)	信州大学・医学部附属病院・特任研究員   (13601)	