

## 話題の感染症

## 周産期のサイトメガロウイルス感染症

## Perinatal cytomegalovirus infections

ぬま ぎき けい  
沼 崎 啓  
Kei NUMAZAKI

## はじめに

ヒトサイトメガロウイルス (HCMV) は胎内、周産期感染症の因子としては最も重要なものの一つである<sup>1)</sup>。社会的、経済的環境の低下と抗体保有率の上昇には相関が認められるが、わが国の成人の大多数は周産期以降に HCMV に初感染し、潜伏感染の状態 で体内にウイルスを保有する。日本でも若年層の抗 HCMV 抗体保有率の低下が報告され、妊婦の初感染による胎内感染の増加が危惧されている<sup>2,3)</sup>。古くより用いられてきた「先天感染」の概念においては HCMV の経胎盤性胎内感染が臨床的に最も重要な問題となっている。

本稿では HCMV 胎内、周産期感染の最近の知見を中心に紹介する。

## I. HCMV 感染の概略

HCMV は、ヒトヘルペスウイルス 6 (HHV-6) やヒトヘルペスウイルス 7 (HHV-7) と同じヘルペスウイルス科  $\beta$  ヘルペスウイルス亜科の 5 型 (HHV-5) 二本鎖 DNA ウイルスに分類される。HCMV は種特異性が高く、直径約 200 ~ 300nm でゲノムは約 227 ~ 235Kb に相当し、165 の免疫原性の異なる遺伝子情報をコードする。テグメントの主要蛋白は lower matrix phosphoprotein 65 (pp65) または unique long 83 (UL83) 遺伝子産物と呼ばれるもので、その他に UL82 遺伝子産物の virion transactivator pp71 (upper matrix protein)、UL32 遺伝子産物の herpesvirus core virion maturation protein pp150 (large matrix protein)、UL48 遺伝子産物の largest

tegument protein)、UL99-encoded pp28 などが知られている。テグメント蛋白の主要な役割には以下の 2 つのものが挙げられる。すなわち、ウイルス粒子の構成および細胞侵時の吸着と感染成立時の免疫誘導などである。

テグメントを囲むエンベロープの糖蛋白としては glycoprotein B (gB)、gH、gL、gM、gN、gO など が知られている。gB 遺伝子領域の解析を基にした株の分類と病原性の解析も試みられているが、株間の病原性の相違は確定されていない<sup>4)</sup>。HCMV は糖蛋白を介して細胞表面にある特異的レセプターに結合するが、感染初期に gB および gH はウイルスの吸着およびエンベロープと宿主細胞の細胞膜との融合に関与する。

HCMV はヒトの体内では広汎な組織に親和性があり、ヘパラン硫酸プロテオグリカン、アンネキシン II、CD13 (アミノペプチダーゼ N) などがそのレセプター候補分子として注目されていた。近年、ヒト血小板由来増殖因子  $\alpha$  受容体 (PDGFR- $\alpha$ ) が、HCMV のヒト細胞への感染に重要であることが明らかになった。PDGFR- $\alpha$  が不活性化されると、HCMV は細胞に侵入できず、ウイルス遺伝子は発現されない。現在利用可能な 2 つの薬剤、つまり、抗がん剤であるイマチニブ (グリベック) と PDGFR- $\alpha$  阻止抗体である IMC-3G3 が、ヒト細胞で HCMV に対して効果があるという知見も得られた。

細胞侵入後、ウイルス蛋白 VP16 と細胞の転写調節因子が複合体を形成し、前初期 (immediate early, IE) 遺伝子を発現させる。IE 遺伝子の中でも IE1 および IE2 遺伝子産物はその後の初期 (Early または delayed-Early, E) および後期 (late, L) 遺伝子の発現を調節する。

感染直後の $\alpha$ 期には5領域から転写が起り、その産物がIE遺伝子産物の中のIE1およびIE2である。 $\beta$ 遺伝子産物にはウイルスDNA複製やDNA代謝に関係する酵素などが含まれる。 $\beta$ 遺伝子の発現にはIE1およびIE2による調節機構も作用している。IE1は細胞側の転写制御因子NF- $\kappa$ Bの発現を促進するとともにIE2と共同して $\beta$ 、 $\gamma$ 群遺伝子の発現を促す。

感染後24時間以降のLate (L)あるいは $\gamma$ 期に転写される遺伝子は、その発現がDNA合成に依存する $\gamma$ 2とDNA合成阻害下でも産生が認められる $\gamma$ 1遺伝子群に分けられる。L遺伝子産物はウイルス構成蛋白である。初期遺伝子は主に酵素類などを含み、後期遺伝子はウイルスの骨格を構成する蛋白を合成する。

マクロファージ、単球系細胞もHCMVの潜伏感染および感染の拡大に重要な役割を果たすものと推定されていた。骨髄細胞ではアンチセンスRNAが存在し、IE遺伝子の転写を阻止し再活性化を抑制する機序が推定されていた。血液、内皮細胞における潜伏感染では不完全増殖 (abortive infection) が起り、DNAまたはIE抗原のみを発現するとされた。感染したマクロファージは血管透過性を有し、内皮細胞にも感染が拡大する。

末梢血CD14陽性単球の約0.01%にHCMVが潜伏感染しており、組織内に侵入して、マクロファージや樹状細胞 (dendritic cell : DC) への分化にともないHCMVの再活性化が起こる。潜伏感染細胞はエピゾーム状のHCMV遺伝子を保持している。潜伏感染時と再活性化時ではMIEP (major immediate-early promoter) 部分のクロマチン構造にリモデリングが起こる。

潜伏感染時は非アセチル化でメチル化したヒストンにHP1 (heterchromatin protein 1) が会合し、転写活性が抑制された構造になっている。再活性化時には、ヒストンはアセチル化され、HP1と解離し転写活性が促進される。血清抗HCMV抗体陽性健康人では局所的に常にHCMVが再活性化しているが、抗体やCMV特異的CD8T細胞で感染の拡大が阻止されている。免疫抑制状態にある宿主では感染は局所から全身に拡大し重篤化する。

HCMVの増殖サイクルは緩慢であるため、感染細胞とHCMVが共存する。しかもHCMVは除去さ

れずに、感染者の組織中に潜伏し、免疫抑制状態で再活性化する。これらの宿主では細胞性免疫と抗体性免疫がともに障害される。通常はNK細胞が、HCMV感染を抑制するが、既知の免疫障害がない胎児や新生児が重症感染症を発症することがある。

直接的あるいは間接的なヒトとヒトの接触によりHCMV感染の伝播が起こる。HCMV自体は感染性の強いものではないが、ウイルスを含有する分泌物などと接触することにより感染が成立する。HCMVの感染源となり得るものとしては尿、唾液、鼻汁、子宮頸管粘液、膣分泌液、精液、母乳、涙、血液などが知られており、無症候性にウイルスの排出が認められることもある。

## II. HCMVの胎内、周産期感染の現状

1990年代前半まで、わが国の妊婦の血清抗HCMV抗体保有率は90%前後であったが、近年では若年層を中心に抗体保有率の低下が指摘されている<sup>3)</sup>。HCMVの経胎盤感染は妊娠中の初感染および再活性化のいずれによっても起こり得るが、初感染の場合は児により重篤な後遺症を残す。HCMV胎内感染の発生頻度は検索母数が4,000以上の報告に限定すると、0.29~0.48%と世界的にほぼ一定である。米国では全新生児の0.2~2.0% (年間約40,000人) がHCMVの胎内感染児と推定されている<sup>5~7)</sup>。HCMVの胎内感染の多くは無症候性であり、症候性のものは10~15%である。

妊娠中のHCMVの初感染では約40~50%で胎児に感染が波及し、有効な出生前治療は確立されていない。症候性感染は約10%で認められ、その約半数で神経学的後遺症を合併する。無症候性感染においても8~10%において神経学的後遺症の合併を認める。妊娠前に抗HCMV抗体陽性の妊婦では妊娠中の再活性化などにより0.5~2.0%で胎児感染が起こる<sup>8,9)</sup>。

典型的ないわゆるHCMVの先天感染では経胎盤感染によって巨細胞封入体症 (cytomegalic inclusion disease, CID) として知られる、肝脾腫、腹水、黄疸、出血斑、小頭症、網脈絡膜炎、頭蓋内石灰化などの症状が出現し、予後は不良のことが多い。また子宮内発育不全や早産を認めることもある。HCMVの胎生期の感染によって脳発達障害が生じ、生存例

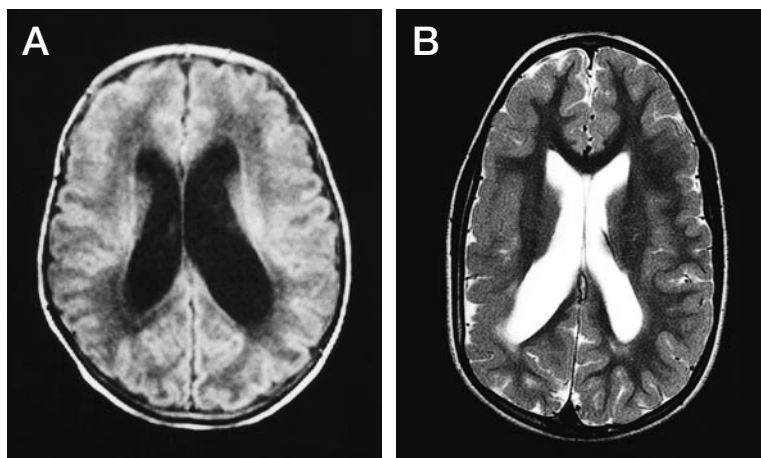


図1 HCMV胎内感染による神経病変

A. 1カ月女児の頭部CT像 B. 5歳女児の頭部MRI像

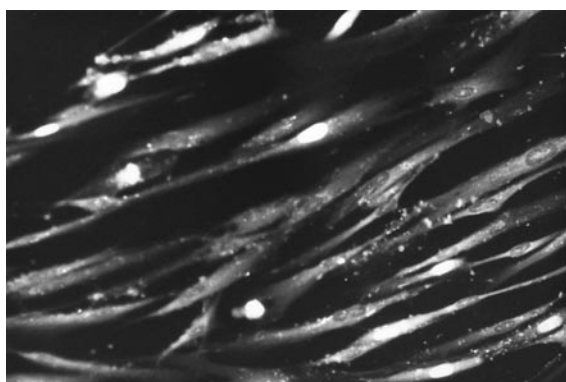


図2 MRC-5細胞中に単クローン抗体で検出されたHCMV抗原

でも精神運動発達遅延や、感音性難聴（sensorineural hearing loss, SNHL）などの神経学的後遺症の合併が問題となる。CIDの脳障害では脳室壁や脳室上衣下に石灰沈着を伴う病変を認め、胎生期における脳室壁から大脳皮質に向けての感染の拡大を示す（図1 A, B）。胎生期の脳室の脈絡叢の上皮細胞や未分化神経上皮細胞よりなる増殖層がHCMVに感受性を持つものと推定される。MRIによる画像診断ではT1, T2強調画面で妊娠28週頃より異常所見が確認される。

胎内感染において症候性および無症候性感染児が生ずる原因については胎内感染の成立時期および母体および児の免疫状態の相異などが推定されている<sup>10-12)</sup>。初感染例でも特に妊婦の中和抗体価が低ければ胎内感染が起りやすいものと推定されている。さらにBoppaら<sup>11)</sup>は再感染例でも異なるHCMV株に感染すると症候性胎内HCMV感染症

表1 札幌市におけるHCMV先天性感染発生頻度の年代的推移（沼崎、藤川）

年代	対象 新生児数	先天感染例数 (%)	症候性感染例数 (%)
1977～1981	3,084	14 (0.45%)	1 (0.032%)
1982～1985	2,814	10 (0.36%)	1 (0.036%)
1986～1990	2,097	7 (0.33%)	1 (0.048%)
1991～1996	1,898	3 (0.16%)	1 (0.053%)
1997～2002	2,045	3 (0.15%)	1 (0.049%)
1977～2002	11,938	37 (0.31%)	5 (0.042%)

が発生する可能性を示唆している。

筆者ら<sup>13)</sup>は1977～2002年の間に札幌市内で出生した新生児11,938名より、生後1週以内の尿を採取し、MRC-5細胞の組織培養を用いて臨床材料よりHCMVの分離を試み、IE、E抗原に対する単クローン抗体で同定した（図2）。新生児11,938名中37名（0.31%）がCMV胎内感染例と診断され、症候性感染は5名で無症候性感染は32名であった。年代別の胎内感染の発生頻度は1977～1981年0.45%、1982～1985年0.36%、1986～1990年0.33%、1991～1996年0.16%、1997～2002年0.15%と経時的に低下する傾向が判明したが、臨床的に問題となる症候性胎内感染の発生頻度はそれぞれ0.032%、0.036%、0.048%、0.053%、0.049%と増加傾向であった（表1）<sup>13)</sup>。

HCMVの先天性（胎内）感染と診断された児に関しては、7歳時まで精神運動発達、聴力などの神経学的後遺症に関する追跡調査を実施した。追跡調査が可能であった出生時無症候の感染児21名中2名において経過中に感音性難聴が出現した。無症候

性胎内感染児では対照群と比較して、HCMV 特異的 CD4 + T細胞に細胞内サイトカイン (IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ ) が有意に高率に検出された<sup>14)</sup>。

### Ⅲ. HCMV の胎内、周産期感染の診断と治療

HCMV 胎内、周産期感染の診断には多くの新たな診断法の開発、応用も試みられている。現在、実施可能な検査法には mRNA 検出のための NASBA (nucleic acid sequence based amplification) 法、ウイルス抗原を検出するための antigenemia 法、DNA 検出のための PCR 法、組織培養によるウイルス分離、ウイルス特異的 IgM 抗体の測定などがある。mRNA は通常の潜伏感染状態では検出されないため、活動性感染の指標となり得る。羊水から HCMV のゲノムが 1,000 コピー以上検出された場合は胎児感染成立の危険性が高く、5,000 コピー以上では症候性感染の確立が高いという報告もある。Antigenemia 法は、現在 2 種類の方法 (C7HRP、C10C11) が使用されている。

血清抗体の測定は妊娠中の初感染、輸血および臓器移植にかかわる HCMV 感染予防のためのスクリーニングの目的で用いられることも多い。Hagay ら<sup>15)</sup> は妊娠中の HCMV 初感染の診断における血清 IgM 抗体測定の不確実性、ウイルス分離による初感染と再活性化の鑑別の困難性、先天感染の予防・治療の困難性などの観点から妊婦における HCMV 感染のスクリーニングの問題点を指摘している。

抗体陰性妊婦の妊娠中の抗体陽転率は欧米では 1 ~ 2% 程度と推定されている。妊婦の抗 HCMV 抗体スクリーニングの必要性は指摘されているが、実際は妊娠 20 週での胎児の超音波検査などが日常的に実施されている。胎児の超音波検査で腹水、脳室拡大、頭蓋内または腹腔内の異常像、子宮内の胎児発育の遅延などは胎内感染を疑う所見となる。

新生児の尿、唾液などの臨床材料より HCMV が検出されるか、血清中に HCMV 特異的 IgM 抗体が検出されれば胎内感染の診断が得られる (表 2)。巨細胞封入体の出現が確認されれば診断は容易であるが、感度は良好ではない。巨細胞封入体が確認されない組織においても免疫組織化学染色や *in situ* hybridization (ISH) によって感染が確認されること

表 2 新生児期における HCMV 胎内感染の診断基準 (沼崎)

1. 臨床診断 (疑診)
(1) 症状: 巨細胞封入体症の典型的あるいは非典型的 (部分) 症状
(2) 検査: 血清 IgM 定量、眼底検査、CT スキャン、MRI、髄液検査、聴力検査 (ABR) など
2. ウイルス学的病原診断 (確診)
(1) 尿、唾液、髄液、気管支洗浄液、血液などの臨床材料より CMV の分離同定、ウイルス抗原検出、ウイルスゲノムの検出
(2) ELISA 法もしくは IF 法による CMV 特異的血清 IgM 抗体の検出
(3) 剖検・生検による病理組織もしくは尿中脱落細胞中の巨細胞封入体の検出、ウイルス抗原検出、ウイルスゲノムの検出

もある。活動性の HCMV 感染の評価には実験室内診断法の結果のみならず、臨床的所見に基づく臨床診断も併用する必要がある。

胎内感染のスクリーニングには新生児の尿、唾液よりの分離<sup>16)</sup> や聴力評価が有用であるが、臍帯血よりの DNA の検出も応用されている。HCMV 胎内感染では妊婦血清 sIL-2R 値の上昇が認められ、サイトカイン活性の測定が診断に応用できる可能性も示唆された<sup>17 ~ 19)</sup>。

### Ⅳ. HCMV の胎内、周産期感染の治療

HCMV は *in vitro* においてもヘルペスウイルス群のなかでも最も薬剤に抵抗性であることが知られている。HCMV 感染の治療薬としてはガンシクロビル (ganciclovir, GCV, dihydroxy propoxymethyl guanine, DHPG)、フォスカーネット (foscarnet, sodium phosphonoformate)、抗 HCMV 高力価免疫グロブリン、ヒト型抗 HCMV 単クローン抗体などが知られているが、胎内感染、周産期感染に対する臨床的効果は十分に検討されていない。チミジンキナーゼ (TK) を有さないウイルスのため、アシクロビルは有効ではない。抗ウイルス剤使用開始基準に関しては、それぞれの病態でかなり異なる。HCMV 胎内感染による血小板減少や肌機能異常に対しては、母体および胎児腹腔内への HCMV 高力価  $\gamma$  グロブリン製剤および GCV の投与が検討されている。

Whitley ら<sup>20)</sup> は重症 HCMV 先天性感染に対する GCV の効果について検討し、難聴の改善や非進行、神経学的後遺症発生の減少を報告した。米国では、GCV 12mg/kg/day を 6 週間および  $\gamma$  グロブリン

200mg/kg/day を1週間に1度、2回投与するスケジュールで臨床試験が行われた。GCVに関しては骨髄抑制や生殖器障害などの問題点も指摘されている。

GCVの作用機序は、HCMVがGCVをリン酸化する酵素をコードする遺伝子を保有していることから、この酵素によりリン酸化されることによってウイルスのDNA polymeraseを阻害し、ウイルスの増殖を抑制する。一般的には初期投与量として1回5mg/kg、1日2回を1時間以上かけて14日間点滴静注する。維持療法が必要な場合は、1日6mg/kgを週5日間、または1日5mg/kgを週7日間、1時間以上かけて点滴静注する。アシクロビルと同様、腎機能障害の程度に応じて減量が必要である。副作用として、前述のように骨髄抑制(汎血球・顆粒球減少、貧血、血小板減少)には注意が必要である。

羊水でHCMVもしくはHCMV DNAが検出された妊婦に200 U/kgの高力価抗HCMV免疫グロブリンを投与した結果では症候性胎内感染の発症が抑えられた。NK細胞やHLA-DR+細胞の増加はtumor necrosis factor (TNF)などのサイトカイン産生の増加をもたらし、免疫機序が関与する胎児の障害を起こす。免疫グロブリン投与群では特異抗体やavidityの上昇や初感染の初期では上昇するNK細胞やHLA-DR+細胞の減少が起こったが、副作用の発現は認めなかった<sup>21-23)</sup>。

臓器移植後のHCMV感染症の場合は、抗ウイルス剤のprophylactic therapy, pre-emptive therapyの形で治療がなされる場合が多いが、分子生物学的手法により、感染症を発症する前にウイルス量が増えてきたことを確認してから治療を開始するpre-emptive therapyが最近の主流である。造血幹細胞移植の場合は、GCVは骨髄抑制の問題で使用が困難な時期があり、その場合にはホスカーネットが使用される。一方、腎移植の場合には、ホスカーネットによる腎障害の問題からGCVが主に用いられる。同じ移植後であっても、造血幹細胞移植後と臓器移植後では抗ウイルス剤使用開始基準が異なり、造血幹細胞移植後の方が早期の対応が必要である。いずれの場合も、HCMV高力価γグロブリン製剤との併用で使用されることがほとんどである。HIV感染者におけるHCMV網膜炎の治療には、GCVの経口製剤やホスカーネットが使用される。

ホスカーネットは、わが国においては現在、AIDS患者のHCMV網膜炎にのみ保険適応がある。作用機序は、DNA polymeraseのピロリン酸結合部位に直接結合して活性を阻害することによる。GCV耐性ウイルスにはこの薬剤が用いられる。投与量は、1回60mg/kgを1日3回、8時間ごとに1時間以上かけて、あるいは1回90mg/kgを1日2回、12時間ごとに2時間以上かけて、14～21日間点滴静注する。維持療法が必要な場合には、90～120mg/kgを2時間以上かけて1日1回点滴静注する。最近カプセル製剤(1カプセル250mg)がわが国においても発売され、成人で12カプセル/日、分6で投与されている。副作用として腎機能障害があるため、腎機能のチェックが必要である。クレアチニンクリアランスが0.4ml/分/kg以下の者には投与禁忌である。また、カルシウムやマグネシウムをキレートして低カルシウム血症、低マグネシウム血症、低カリウム血症を起こすことがあるため、電解質のチェックも重要である。

抗ウイルス剤治療以外にも、臓器移植患者を対象とした養子免疫療法などの研究も進んでいる。これはHCMVに対するCTLを造血幹細胞移植の場合はドナーの末梢血から、一方、臓器移植の場合はレシピエントの末梢血から樹立し、*in vitro*で増殖させ患者に戻す治療法である。従来donor leukocyte transfusion (DLT)などの方法も用いられてきたが、養子免疫療法の方がよりHCMVに対して特異的に治療が行える<sup>24)</sup>。

HCMV胎内感染の場合は抗ウイルス剤の保険適応はないものの、神経学的予後を考えるとその適応も考慮する必要がある。また、胎内診断の技術も発達し、今後は胎内治療などの検討も活発になるものと考えられる<sup>25)</sup>。

## V. HCMVの胎内、周産期感染の予防

HCMV胎内感染症の予防方法としては、未感染妊婦は乳幼児やウイルス排出者と密接な接触を避けることなどがあげられる<sup>26)</sup>。欧米では未感染妊婦の保育士などにおいては、乳幼児の担当を避けるなどの配慮がなされているようである。ただし、これには妊娠中の抗体検査が必要となる。早産児においては感染母体からの母乳を避けること、抗体陽性者か

らの輸血を避けることが重要である。移植患者などにおいては、移植前にドナー、レシピエントともに抗体検査をしておく、その後のモニタリングにも応用可能であり、早期診断・早期治療に直結するので重要である。

母体感染のワクチンによる予防に関しては、MF59 アジュバントを添加した組換え HCMV のエンベロープ糖蛋白 B から成るワクチンとプラセボを比較した成績が報告された<sup>27)</sup>。出産後 1 年以内の HCMV 血清陰性の女性に対し、0 カ月、1 カ月、6 カ月の 3 回の時点で HCMV ワクチンまたはプラセボの投与を行った。IgG 抗体を測定する検査法を用いて、3 カ月ごとに 42 カ月間、女性の HCMV 感染を検査している。感染の確認は、ウイルス培養または免疫プロット法により行われた。最短で 1 年の追跡調査後、49 例の感染が確認された。内訳はワクチン群 18 例、プラセボ群 31 例であった。ワクチン群では、プラセボ群に比べ 42 カ月間ウイルス非感染状態を維持する割合が高いことが示された ( $P = 0.02$ )。対象女性の乳児における HCMV 胎内感染は、ワクチン群 1 例、プラセボ群 3 例に認められた。HCMV の糖蛋白 B ワクチンにより、母体の HCMV 感染と HCMV 胎内感染が減少する可能性が示唆された。

## おわりに

いわゆる先天性感染の多くは出生前に診断が確立しても治療の対象とはならず、従来は妊娠の中断という不幸な結末につながることも少なくなかった。HCMV 胎内感染症は、生存しても神経学的後遺症をもたらす疾患の一つとしてその重要性は高く、発生予防と治療法に関する研究の今後の発展が望まれる。さらに安全で信頼度の高い HCMV 胎内感染の診断法の確立とともに胎児治療の適応基準、安全性、有効性などに関する検討が必要であろう。

## 文 献

- 1) Numazaki K. Current concepts of management for congenital cytomegalovirus infection. *Trends in Developmental Biology*, **2** : 1-11, 2007.
- 2) Numazaki K. Immunological evaluation of children with congenital cytomegalovirus infection and infected women

- during pregnancy. *Current Trends in Immunology*, **5** : 45-54, 2003.
- 3) Numazaki K, Fujikawa T : Prevalence of serum antibodies to cytomegalovirus in pregnant women in Sapporo, Japan. *Int J Infect Dis*, **6** : 147-148, 2002.
- 4) Tanaka K, Numazaki K, Tsutsumi H : Human cytomegalovirus genetic variability in strains isolated from Japanese children during 1983-2003. *J Med Virol*, **76** : 356-360, 2005.
- 5) Duff P. Cytomegalovirus infection in pregnancy. *Infect Dis Obstet Gynecol*, **2** : 146-152, 1994.
- 6) Lipitz S, Yagel S, Shalev E, Achiron R, Mashiach S, Schiff E. Prenatal diagnosis of fetal primary cytomegalovirus infection. *Obstet Gynecol*, **89** : 763-767, 1997.
- 7) Azam AZ, Vial Y, Fawer CL, Zufferey J, Hohlfeld P. Prenatal diagnosis of congenital cytomegalovirus infection. *Obstet Gynecol*, **97** : 443-448, 2001.
- 8) Boppana SB, Rivera LB, Fowler KB, Mach M, Britt WJ. Intrauterine transmission of cytomegalovirus to infants of women with preconceptional immunity. *N Engl J Med*, **344** : 1366-1371, 2001.
- 9) Fowler KB, Stagno S, Pass RF. Maternal immunity and prevention of congenital cytomegalovirus infection. *JAMA*, **289** : 1008-1011, 2003.
- 10) Boppana SB, et al : Symptomatic congenital cytomegalovirus infection in infants born to mothers with preexisting immunity to cytomegalovirus. *Pediatrics*, **104** : 55, 1999.
- 11) Boppana SB, Britt WJ : Antiviral antibody responses and intrauterine transmission after primary maternal cytomegalovirus infection. *J Infect Dis* **171** : 1115-1121, 1995.
- 12) Fowler KB, Stagno S, Pass RF, Britt WJ, Boll TJ, Alford CA. The outcome of congenital cytomegalovirus infection in relation to maternal antibody status. *N Engl J Med*, **326** : 663-667, 1992.
- 13) Numazaki K, Fujikawa T : Chronological changes of incidence and prognosis of children with asymptomatic congenital cytomegalovirus infection in Sapporo, Japan. *BMC Infect Dis*, **4** : 22 (1-5), 2004.
- 14) Numazaki K, Fujikawa T, Asanuma H : Immunological evaluation and clinical aspects of children with congenital cytomegalovirus infection. *Congenital Anomalies*, **42** : 181-186, 2002.
- 15) Hagay ZJ, et al : Congenital cytomegalovirus infection : a long-standing problem still seeking a solution. *Am J Obstet Gynecol*, **174** : 241-245, 1996.
- 16) Balcarek KB, et al : Neonatal screening for congenital cytomegalovirus infection by detection of virus in saliva. *J Infect. Dis*, **167** : 1433-1436, 1993.
- 17) Numazaki K, Asanuma H, Ikehata M, Chiba S : Detection of cytokines and cytomegalovirus DNA in serum as test for congenital infection. *Ear Hum Dev*, **52** : 43-48, 1998.
- 18) Fujikawa T, Numazaki K, Asanuma H, Tsutsumi H : Human cytomegalovirus infection during pregnancy and detection of specific T cells by intracellular cytokine staining. *Int J Infect Dis*, **7** : 215-221, 2003.

- 19) Fujikawa T, Numazaki K, Asanuma H, Kudo R, Tsutsumi H : Frequency of human cytomegalovirus-specific T cells during pregnancy determined by intracellular cytokine staining. *J Med Virol*, **71** : 527-531, 2003.
- 20) Whitley RJ, et al : Ganciclovir treatment of symptomatic congenital cytomegalovirus infection: results of a phase II study. *J Infect Dis*, **175** : 1080-1086, 1997.
- 21) Nigro G, Adler SP, La Torre R, Best AM : Passive immunization during pregnancy for congenital cytomegalovirus infection. *N Engl J Med*, **353** : 1350-1362, 2005.
- 22) Nigro G, La Torre R, Anceschi MM, Mazzocco M, Cosmi EV. Hyperimmunoglobulin therapy for a twin fetus with cytomegalovirus infection and growth restriction. *Am J Obstet Gynecol* ; **180** : 1222-1226, 1999.
- 23) Snyderman DR, Werner BG, Meissner HC, et al: Use of cytomegalovirus immunoglobulin in multiple transfused premature neonates. *Pediatr Infect Dis J* ; **14** : 34-40, 1995.
- 24) Numazaki K, Ikehata M, Yanai S, Umetsu M, Motoya H, Chiba S, Sekine T. Adoptive immunotherapy for interstitial pneumonia associated with cytomegalovirus infection. *Clin Infect Dis*, **25** : 1246-1247, 1997.
- 25) Watts DH. Management of human immunodeficiency virus infection in pregnancy. *N Engl J Med* ; **346** : 1879-1891, 2002.
- 26) Stagno S, Cloud GA : Working parents : the impact of day care and breast-feeding on cytomegalovirus infections in offspring. *Proc Natl Acad Sci USA* **91** : 2384-2389, 1997.
- 27) Pass RF, et al: Vaccine Prevention of Maternal Cytomegalovirus Infection. *N Engl J Med*, **360**, 1191-1199, 2009.