

**Table 1. HCV 母子感染と分娩様式**

Based on	Delivery	No. enrolled*	No. positive	% positive	P†
<b>Ab+ mothers</b>					
Mothers	Vaginal	45	5	11	<i>0.159</i>
	Cesarean	23	0	0	
Children	Vaginal	50	7	14	<i>0.045</i>
	Cesarean	28	0	0	
<b>RNA+ mothers</b>					
Mothers	Vaginal	36	5	14	0.304
	Cesarean	14	0	0	
Children	Vaginal	41	7	17	0.089
	Cesarean	18	0	0	
<b>HVL mothers</b>					
Mothers	Vaginal	13	5	38	0.111
	Cesarean	8	0	0	
Children	Vaginal	16	7	44	<b>0.023</b>
	Cesarean	10	0	0	

Ab+ mothers, HCV 第 2 世代抗体陽性の母親; RNA+ mothers, HCV RNA 陽性の母親 (RT-PCR 法,  $\geq 200$  copies/mL); HVL mothers, 高ウイルス量群の母親 (bDNA 法,  $\geq 2.5 \times 10^6$  copies/mL). 母子感染した母親は全例高ウイルス量群であった.

\* 6 例の分娩様式不明例を除く.

† Fisher 直接確率法による.

**Table 2. 経膈分娩した母親の HCV RNA 量の比較**

Based on	No. tested	HCV RNA ( $\times 10^6$ copies/mL)		P*
		Average†	CI†	
<b>Mothers‡</b>				
Infectious	5	7.0	2.4 – 20.0	< .001
Noninfectious	31	1.5	0.9 – 2.3	
<b>Children</b>				
Infected	7	8.0	3.8 – 16.7	< .001
Uninfected	34	1.4	0.9 – 2.2	

Average, 平均値; CI, 95%信頼区間.

\* 対数変換後に Welch 補正した t 検定にて検討.

† bDNA 法で測定. bDNA 法で陰性の場合  $0.2 \times 10^6$  copies/mL で算出.

‡ 複数の児を出生した 10 例の母親については第 1 子の時のウイルス量で算出.

**Table 3.** HCV 母子感染児の HCV RNA 量の推移

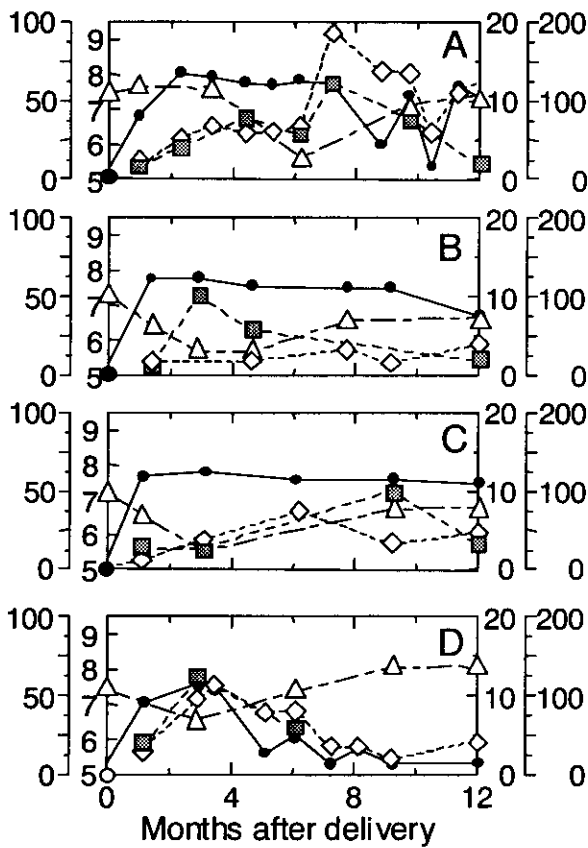
ID of infected child		HCV RNA		Infantile age in months*		
Mother	Order	Maternal* †	Cord blood‡	1	3	6
29	1	11	+	58	58	34
29	2	20	-	50	65	nt
49	1	3.8	nt	11	37	1.3
53	1	3.0	-	9.0	8.7	5.1
53	2	6.2	-	nt	1.6	< 0.5
66	1	2.9	+	6.8	80	65
131	1	5.4	+	10	nt	2.2

+ : HCV RNA 陽性, - : HCV RNA 陰性, nt: 未検査

\* HCV RNA 量(bDNA 法,  $\times 10^6$  copies/mL).

† 分娩前 1 週間以内の母親の HCV RNA 量.

‡ HCV RNA(RT-PCR 法, 感度 200 copies/mL).



**Figure 1.** 症例 1-4 の臨床経過(A - D). Proportion of HCV in LDF (% $\blacksquare$ ); HCV RNA 量(bDNA 法, copies/mL,  $\bullet$ ); 第 3 世代 HCV 抗体(COI: cut off index,  $\blacktriangle$ ); 血清 ALT 値(IU/L,  $\diamond$ )

**Table 4.** 症例 1 の LDF と HDF における HVR の進化

Clone group*	AA sequence	Mother at delivery		Case 1 at 2 months	
		LDF	HDF	LDF	HDF
Gr101	ATRTIGGEAGRRTGSFTALFNAGSSQK	2	9		15
Gr102	QS.....ASG.AG...P.....		2		
Gr103	EAH.T..K.....A.....	2			
Gr104	.....A...R..VS..SP.....	2			
Gr105	E.H.T....A...R..VG..SP.....	9	4		
Total		15	15	0	15

アミノ酸(aa)の 3 個未満異なるクローンは同じ群に分類.

**Table 5.** 症例 2 の LDF と HDF における HVR の進化

Clone group*	AA sequence	Mother at†				Case 2 at 1 months		
		- 6 months		+ 1 month		LDF	HDF	
		LDF	HDF	LDF	HDF	LDF	HDF	
Gr201	ETHVTGGSAARTTMSFARFFAPGASQK					1	11	5
Gr202	.....S.L.N.....		4	3	2	4	10	
Gr203	.....SSL.T.....					3		
Gr204	.....Y..S....L.N.....		4	12	9			
Gr205	.....Y..SG..GL.T.....		6					
Gr206	.I..A..P..Y..SG..GL.T.....		1					
Total		0	15	15	15	15	15	

† -, 分娩前; +, 分娩後

**Table 6.** 症例 3 の LDF と HDF における HVR の進化

Clone group*	AA sequence	Mother at delivery		Case 3 at 1 month	
		LDF	HDF	LDF	HDF
Gr201	ETHVTGGSAARTTMSFARFFAPGASQK	2		5	1
Gr202	.....S.L.N.....	3	2		6
Gr203	.....SSL.T.....		4		
Gr304	.....H..S....L.K.....	1	1		
Gr305	.....A.S.LT.L.....H.	2			
Gr306	.....ASGLT.L.S.....	1		4	2
Gr307	...A.....H.AS.LT.L...P...		1		
Gr308	.....HAASGLT..L...P...	6	7	6	6
Total		15	15	15	15

\* イタリック体の群は症例 2 と共通.

Table 7. 症例 4 の LDF と HDF における HVR の進化

Clone group*	AA sequence	Mother at† + 3 months		Case 4 at 1 month	
		LDF	HDF	LDF	HDF
Gr401	TTRVSGGTAGHTTMGFTSLFSSGAQQK			4	5
Gr402	S.Y.....A.N.K..A...TL.SN.R			7	5
Gr403	S.Y.....A.N.K..A....L.S...		1		
Gr404	S.Y.....TAYN.R.L.....L.S...	2	3	2	
Gr405	S.Y....A.A.N.R.L.....L.S...		1		
Gr406	S.Y.....ALN.R.L....PL.S...	8			
Gr407	N.Y....S....S.L....PL.S...	2			
Gr408	D.Y....S....S.LA...AP.QS..	2	4		
Gr409	D.Y....S..Y..S..A....P.QS..	1		2	1
Gr410	E.H.T..S.AR..SSLARFLAP..S..				4
Gr411	..H....A.....P...F.SR.N		5		
Gr412	D.Y....S..Y..S..A....P.SR.N		1		
Total		15	15	15	15

† +, 分娩後

## ウイルス母子感染防止に関する研究

### —C型肝炎ウイルス母子感染の現状—

分担研究者 白木和夫 鳥取大学医学部小児科  
研究協力者 森島恒雄、杵山正浩、木村宏、糸洲朝久、  
前嶋七海、後藤泰浩  
名古屋大学医学部保健学科、同小児科

要約：C型肝炎ウイルス母子感染の現状について検討を行った。すなわち HCV キャリアー妊婦から生まれた児への母子感染率を調べたところキャリアー妊婦 278 例中児に感染が認められた症例は 24 例（感染率 8.6%）であった。その後の経過観察から長期に follow up できた 22 例中 14 例、64%では持続感染が成立し、残りの 36%の症例は一過性の感染であった。HCV の母子感染のメカニズムを検討したところ、母親の HCV のウイルス株の中で、抗体に捕捉されないマイナーな株が主に児に感染したことが判明した。これら垂直感染でキャリアーになり慢性活動性肝炎を示した児はインターフェロン療法が効果が高く、著効率は 67%に上った。これは免疫不全がない小児例における治療効果の 52%に比較しても高いことが判明した。また、愛知県下における HBV 母子感染の現状を調べた。

#### 1.愛知県下における HBV,HCV 母子感染の現状

現在、C型肝炎ウイルスの感染経路の解明がすすみ、感染予防の様々な方法がとられており、輸血などによる感染の機会はほとんどなくなった。その中で、母子垂直感染は、現在でも予防が困難な感染経路としてその比重を増している。今年度、昨年に引き続き愛知県下における HCV の母子垂直感染の頻度について調査を行った。同時に母子感染のリスクファクター検討した。また垂直感染をうけ HCV RNA 持続陽性を示し、肝機能値の上昇を認め、組織学的にも慢性肝炎が確認された小児に対してインターフェロン $\alpha$ の安全性および有効性を評価した。また HCV 母子感染のウイルスの動態について検討した。

**A. 愛知県下における HCV 母子感染の現状**  
対象と方法：1995年より2000年までに愛知県下の名古屋大学関連施設15病院において HCV 抗体陽性かつ HCV RNA 陽性の妊婦より産まれた児について prospective に HCV 抗体の消長、HCV RNA、肝機能値の推移を調

べた。児の follow up 期間は1年以上の症例とした。

#### 結果：

- 1.15 病院産婦人科における出産数は 58202 人であった。
- 2.HCV 抗体陽性かつ HCV RNA 陽性の妊婦の出産は計 278 例（0.47%）であった。
- 3.児への感染（HCV RNA 陽性、HCV 抗体再上昇を示した例）は 24 例（8.6%）であった。
- 4.その中で 2 歳以降も HCV RNA が持続陽性であった症例（持続感染例）は 22 例中 14 例（58%、HCV キャリアー妊婦出産全体の 5.0%）であった。
- 5.一過性感染例（HCV RNA が 2 歳までに陰性化し、HCV 抗体の陰性化または低下を認めた症例）は 22 例中 8 例（同、3.6%）であった。
- 6.2 例は現在、1 歳未満で経過観察中である。以上から、HCV の母子感染率は 8.6%、その中で持続感染率 5.0%、一過性感染率 3.6%と推定され、2 例は経過観察中である。
- 7.一過性感染例では全ての症例が 1 歳までに

HCV RNA が陰性化し肝機能も正常値が持続している。HCV 抗体は 2 歳までに 8 例中 5 例が陰性化し、残りの 3 例も抗体価 (HCV 抗体) は低下傾向にある。HCV core 抗体は 3 才までに全例で陰性化した。(表 1)

#### B. HCV 母子垂直感染児に対するインターフェロン $\alpha$ の治療効果

対象と方法：母子感染がウイルス学的に明らか小児 (1-12 歳) に対してインターフェロン  $\alpha$  の皮下注射による治療効果を検討した。方法はインターフェロン  $\alpha$  10mg/kg/回を最初の 2 週間は連日投与し、それ以降の 22 週間は週 3 回の投与とした。投与開始 12 週の時点で、血液中の HCV RNA の陽性が続き、ウイルス量の低下傾向が認められない症例は無効と判定し以後のインターフェロン投与を中止した。治療に際しては両親に治療の内容、効果および予測される副作用など十分説明し同意を得た上で実施した。

#### 治療効果判定：

有効例-治療終了後 1 年以上 HCV RNA 陰性および肝機能正常化が続く症例

無効例-上記にあてはまらない症例

#### 結果：

IFN 治療対象例\*：

有効例 12 例 (67%) 全例 HCVRNA 陰性が持続

無効例 6 例 (33%)

\*2 例を除き 2 歳後半から 3 歳時に治療

#### インターフェロンの副作用：

1 歳時に治療した 2 例中 1 例に熱性痙攣を認めた。2 歳以上に治療した症例では特記すべき副作用を認めなかった。また児の成長曲線は正常であった。鼻出血がしばしば認められるのが小児のインターフェロン治療の特徴であった。一方、成人でよく認められる眼底出血は 1 例もみられなかった。アトピー性皮膚炎の悪化、関節痛を認めた例もある。甲状腺機能は正常であった。

今後、二次性徴の異常の有無などについてフォローアップして行く予定であるが、現在までは異常を認めていない。ただし抗核抗体の

陽性化が持続する症例 (2 例) もあり、今後とも慎重に追跡していく必要がある。

#### (参考資料)

HCV 母子感染がなく、また、免疫不全 (臓器移植や血液悪性腫瘍化学療法) がない症例、主に open heart surgery や小児外科的手術の際の輸血で感染した症例を中心としたインターフェロン  $\alpha$  の治療効果

有効例 17 例 52%

無効例 16 例 48%

したがってこれらと比較しての母子感染児のインターフェロン  $\alpha$  に対する治療効果は良好である。今後とも 3 歳前後を治療開始の目安として検討を続けたい。

#### C. HCV 母子感染におけるリスクファクターの検討 (多施設共同研究)

HCV の母子感染の感染経路は、現在対策がとられていない重要な感染経路である。この母子感染のリスクファクターについての詳細な検討はなされていないのが現状である。今回、わが国において本研究班を中心に多施設共同研究を実施し、HCV 母子感染のリスクファクターを明らかにすることを計画した。血液中のウイルスの量やウイルスの感染力から考えて出産時の産道における感染だけとは考えにくい。すなわち出生前に経胎盤性にウイルスが母体血から移行する可能性が強い。妊娠後期における種々の妊婦の病態が母子感染の頻度に関連すると思われる。これらを明らかにするため、現在、多施設共同研究として母子感染例及び母子非感染例をそれぞれ 50 例以上 (目標症例数) を集め、コントロールスタディ (多変量解析も含む) を実施予定である。この研究を通じて HCV 母子感染のリスクファクターを明確にし、有効な予防方法の確立を目指したい。

#### D. HCV 母子感染のウイルスの動態

HCV 母子感染の病態について以下の 2 点について検討を加えた。

##### (1) 免疫複合体の意義

表 2 に示したように母子感染が成立した母親の血中には免疫複合体の形成は少なく、母子感染が成立しなかった母親の血中には免疫複

合体 (Bottom fraction に PCR 陽性反応が認められる) が多く認められた。以上の結果から、抗体に捕捉されない感染性をもった HCV 粒子が見に感染していくことが明らかになった。

## (2) 児におけるウイルスの変異

表 3 に 2 例における母子間の HCV 核酸及びアミノ酸配列の差異を示した。変異の少ない E1 領域ではほぼ完全な一致を示したが、変異の多い HVR1 では大きな差異が認められた。

(3) 感染した児のウイルスの変異の追跡 1 例の感染児について 5 ヶ月まで経時的に HVR1 の HCV アミノ酸配列の変化を調べたが図 1 に示すごとくほとんど変異は認められなかった。

## 2. 愛知県下における HBV 母子感染の検討

**目的:** 現在、HBV 母子感染予防は健康保険の適応の下、各施設で実施されている。これは、簡便に予防処置が行えるという利点がある反面、実際の予防がどの程度確実に実施されているか、予防できずにキャリア化した症例の頻度など、全体での実態の把握が困難な状況が生まれている。また、一部では、HBV 母子感染予防に対する緊張感が薄まり、確実な予防処置の実施が行われていない可能性も指摘されている。

この点を明らかにするため、愛知県における HBV 母子感染の現況を調べた。

**方法:** 愛知県下の 18 病院産婦人科における 1998 年～2000 年における HBV キャリアー妊婦より出産した児の追跡調査を実施した。児の follow up 期間は原則として 1 年以上とした。予防処置は生後 24 時間以内に HB グロブリンを投与し、その後、HBe 抗原陽性の母からの出産例では、2 か月に HB グロブリンとワクチンの併用、3 か月、5-6 か月に 2 回目、3 回目のワクチンを接種し、その後 6-7 か月、1 歳、2 歳、3 歳及び 6 歳 (予定) まで肝機能、ウイルスマーカーの推移を検討した。HBe 抗体陽性の母からの出産例では、2 か月での HB グロブリンは省略した。児の follow up は小児科で実施した。

**結果:** 愛知県下の 18 病院産婦人科での

1998-2000 年の出生数は、30337 人であった。この中で HBe 抗原陽性の母親からの出生は 68 例、e 抗体陽性の母親からの出生は 121 例の計 189 例であった。予防処置は全例前述の方法で行われた。このうち 1 年以上経過が観察できた症例は 101 例 (e 抗原陽性の母親から 29 例、e 抗体陽性母親から 72 例) であった。

結果は

1. 98 (97.0%) 例は HBs 抗体陽性となり、キャリアー化は予防できた。また、経過中で感染の徴候を示す症例もなかった。

2. 3 例 (3.0%) は HBs 抗原が陽性となり、キャリアー化した。

2 例は HBe 抗原陽性妊婦からの出産で、1 例は生直後から HBs 抗原陽性となり、残りの 1 例は 3 カ月児に HBs 抗原陽性となった。軽度の (ALT; 80-120 IU/L の一過性の上昇を示したが、その後正常化し、現在 HBs 抗原陽性、e 抗原陽性、HBV DNA 陽性、同ポリメラーゼ高値を示している。

1 例は HBe 抗体陽性妊婦からの出生で、生後 1 か月に HBs 抗原が陽性化した。ALT は 200IU/L まで上昇したが 1 歳までに正常化し、以降 HBs 抗原陽性、e 抗原陽性、HBV DNA 陽性、同ポリメラーゼ高値が持続している。HBV precore 領域の変異は母子とも認めていない。

**追加ワクチンの実施:** 98 例中 2 例が、6 か月または 12 か月の時点で HBs 抗体価が RIA で 10 IU 未満となったため、4 回目の追加ワクチンを実施し、その後抗体価の上昇を確認した。

今回の集計では不完全な予防処置による児の HBV キャリアー化は認められなかった。これはアンケートに協力してくれた施設が、確実な予防処置を実施している病院であることもその要因と思われた。

## 3. TTV の母子感染

TTV は輸血後肝炎の血液から新たに発見されたウイルスであり、肝障害の原因となるかどうか注目されている。ここでは TTV の疫学、感染ルート、ウイルスの動態について調

べた。

**対象と方法：**まず 292 人の小児（男 146、女 146）を以下の 3 つのグループに分けた。年齢は 5 ヶ月から 16 歳（平均 5.4 歳）。グループ 1 は肝疾患以外で小児科の外来を訪れた小児。グループ 2 は原因不明の急性及び慢性の肝炎（平均 2.9 歳）であり、A,B,C および GBV その他 CMV,EBV, HHV-6 などの感染は除外されている。グループ 3 は透析や輸血を受けた 18 人の小児（平均 8.2 歳）である。また、109 人の妊婦（平均 29 歳）についても調べた。採血にあたっては、本人/両親の同意を得て行った（インフォームド・コンセント）

**方法：**定性 PCR 法と定量 PCR 法を用いて TTVDNA の検索を行った。TTVDNA の定量は real-timePCR 法を用いて行った。その定量の結果は図 2 の A,B に示した。

**結果：**表 4 に各グループにおける TTVDNA の検出率を示した。肝疾患のない外来を訪れた小児の陽性率は 23%であった。原因不明の肝炎の小児の陽性率は 20%と高くはなかった。一方、透析または輸血を受けた小児の TTVDNA の陽性率は 50%と有意に高かった。

外来を訪れた患者の疾患別の TTVDNA の検出頻度を表 5 に示した。有意差は各疾患の中で見られなかったが急性胃腸炎で陽性率の 36%と高値であったのは興味深い。

図 3 に TTVDNA の年齢別陽性率を示した。0～6 ヶ月は 10%。7～12 ヶ月は 20%であり、また 1 歳では 28%。次第に増加しているが、その後は 15 歳まで大きな変化はなかった。

**TTVDNA の定量：**図 4 に real-timePCR 法による TTVDNA の検出結果を示した。図から明らかなように 1 歳以下の小児では 105.4 コピー/ml であったのに対し、それより上の子供では 103.8 コピー/ml と有意に ( $P=0.008$ ) 1 歳以下の子供でウイルス量が多かった。図 2 及び図 3 の結果から本ウイルスは乳幼児期早期に感染が成立し、その後はほぼ一定の値となるということが示された。

TTV が肝疾患を起こすかどうかについての検討を図 5 に示す。定量的な解析から血中の TTVDNA の量と推移と肝機能の変動とは相関を認めなかった。従って現時点では TTV が小児の肝炎の原因ウイルスとは言い難い。



図1 感染した児のHCVアミノ酸配列の変化

Mother	ETHVTGGAAGYTTSGLTTLFTVGPQN	
	-----	
		F
	-----	
Infant		
	-----	IAG---- P-AR-K
	-----	IAG---- P-AR-K
10days	-----	IAG---- P-AR-K
	-----	IAG---- P-AR-K
	-----	IAG---- P-AR-K
	-----	IAG---- P-AR-K
	-----	IAG---- P-AR-K
	-----	IAG---- P-AR-K
3months	-----	IAG---- P-AR-K
	-----	IAG---- P-AR-K
	-----	IAG---- P-AR-K
	-----	IAG---- P-AR-K
	-----	IAG---- P-AR-K
	-----	IAG---- P-AR-K
5months	-----	FAG---- S-AR-K
	-----	FAG---- S-AR-K

図1 Serial examination of HVR1 in an HCV-infected infant from case 3. Deduced amino acid sequences from the major clones of the mother are indicated by single-letter codes. Letters in infant's sequences denote amino acids different from those in the mother. The nucleotide or amino acid sequence of the infant is composed of a single strain until 3 months of age, and shows no change.

表1 母子感染の発生頻度（愛知県）

(1) HCV 抗体陽性、HCV RNA 陽性妊婦 (児の follow up 期間、2 年以上)	278 例
(2) 児への感染率 (RNA 陽性、HCV 抗体再上昇)	
持続性感染例 (2 歳以降も RNA+)	14 例 (5.0%)
一過性感染例 (2 歳以降、RNA-、抗体陰性化または低下)	8 例 (3.6%)
(3) 経過観察中	2 例
	計 24 例
	(感染率 : 24/278=8.6%)

表2 感染例、非感染例の母親のウイルス学的検討

Case no.	Maternal history of transfusion	Mode of delivery	Breast- feeding	Quantity of HCV RNA	Signal of HCV RNA	
					* Top fraction	Bottom frac
A. Mothers with Infected Infants						
1	+	Vaginal	+	1.1	+	+
2	-	Vaginal	+	1.3	-	+
3	+	C-section	-	<0.5	+	+
4	-	Vaginal	-	<0.5	-	+
5	-	Vaginal	-	2.1	-	++
6	-	Vaginal	-	7.9	+	++
B. Mothers with Uninfected Infants						
7	-	Vaginal	+	<0.5	+	++
8	unknown	Vaginal	+	16.0	+	++
9	-	Vaginal	+	<0.5	-	++
10	-	C-section	+	3.1	+	++
11	+	Vaginal	-	1.5	-	++
12	-	Vaginal	+	2.9	+	++

\*Assayed by bDNA method(Meq/ml [mega equivalents/ml]) .

表3 感染した児のHCV変異の追跡

Case no.	Comparison with the mother		Comparison with HCV-BK	
	E1	HVR1	E1	HVR1
1	96-99(95-100)	74-80(52-60)	91-94(92-97)	65-66(56-59)
3	98-100(98-100)	84-86(70-74)	91-93(95)	64(48)

\* Data presented as the range of sequence homology in nucleotides (in deduced amino acid parentheses). HCV-BK was used as the reference for HCV genotype 1b. HVR1, hypervariable

表 4. 各病態における TTV DNA の検出率

Population group	Positive (%)	P value <sup>a</sup>
Children (n = 292)		
Ambulatory children		
without liver disease (n = 254)	23	—
Hepatitis of unknown etiology (n = 20)	20	0.50
Transfusion recipients or hemophiliacs (n = 18)	50	0.01 <sup>b</sup>
Pregnant women (n = 109)	15	0.07

<sup>a</sup>  $\chi^2$  test or Fisher's exact test for the comparison with ambulatory children

<sup>b</sup> Statistically significant

表 5. 外来患者の疾患別 TTV DNA の検出率

Population group	Positive (%)	P value <sup>a</sup>
Children (n = 292)		
Ambulatory children		
without liver disease (n = 254)	23	—
Hepatitis of unknown etiology (n = 20)	20	0.50
Transfusion recipients or hemophiliacs (n = 18)	50	0.01 <sup>b</sup>
Pregnant women (n = 109)	15	0.07

<sup>a</sup>  $\chi^2$  test or Fisher's exact test for the comparison with ambulatory children

<sup>b</sup> Statistically significant

図 2. real-time PCR 法による TTV DNA の検出

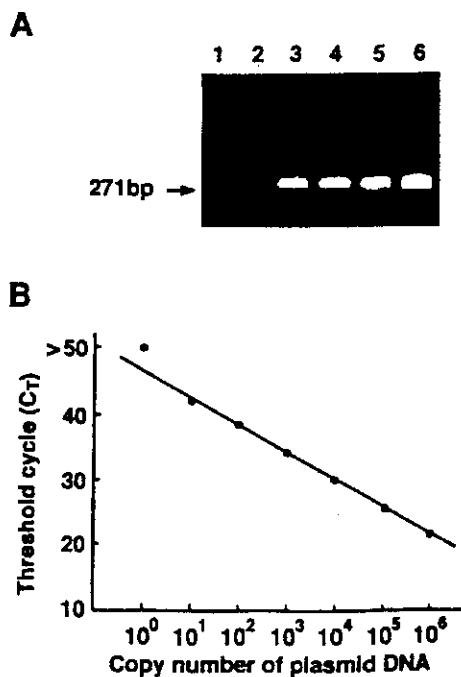


図 3. 各年齢における TTV DNA の陽性率

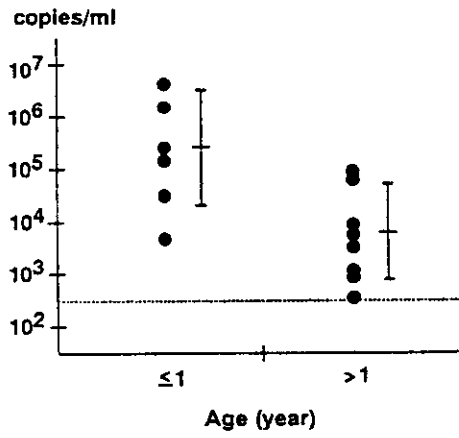


図 4. 年齢別血中 TTV DNA 量

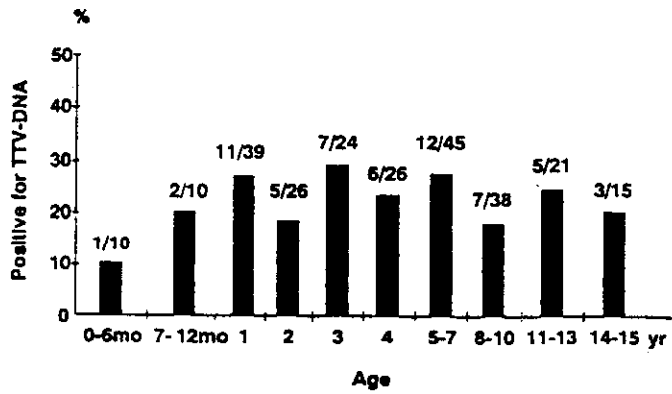
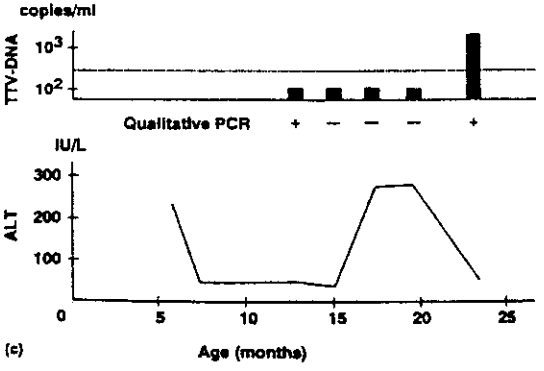
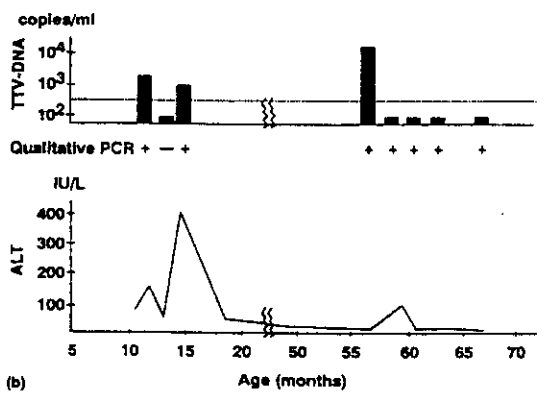
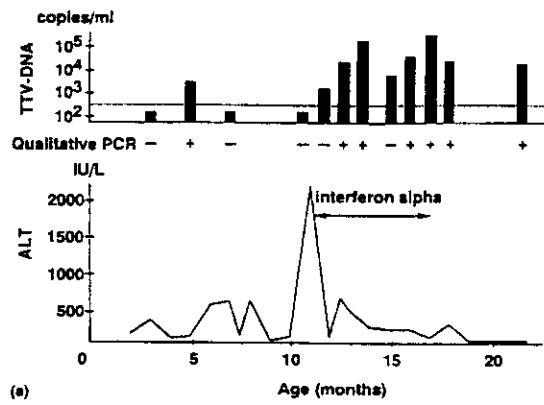


図 5. 小児輸血後肝炎患者における TTV DNA 量の推移(患者 a~c)



## ウイルス母子感染防止に関する研究

### －肝炎ウイルス母子感染に関する研究－

分担研究者 白木和夫 鳥取大学医学部小児科

研究協力者 藤沢知雄、小松陽樹、乾あやの 防衛医科大学小児科

#### 研究目的

B型肝炎ウイルス(HBV)、C型肝炎ウイルス(HCV)、TT型肝炎ウイルス(TTV)の母子感染に関して(1)HBV母子感染防止に関する国際方式および早期HBワクチン接種を行い従来の方法と比較した、(2)HCV母子感染の要因を検討し、(3)HCV感染を受けた小児の長期経過を追った、(4)TTV母子感染の実態を検討した。これら4つの研究成果について述べる。

#### 各研究

##### 研究 1. HBV 母子感染防止に関する国際方式および早期 HBV ワクチン接種の検討

対象と方法：対象は上記予防法に関してインフォームドコンセントが得られた HBs 抗原陽性の母親から生まれた 30 組の母子である。21 例(母親が HBe 抗原陽性が 6 例、HBe 抗原陰性は 15 例)は生後 48 時間以内に HBIG 200IU を筋注後、月齢 1、2、4 にリコンビナント HB ワクチンを 5 マイクロマイクログラム接種し(これを早期方式と呼ぶ)、9 例(母親が HBe 抗原陽性が 4 例、HBe 抗原陰性が 5 例)は生後 48 時間以内に HBIG 200 マイクログラムを筋注後、日齢 5、月齢 1、3 でリコンビナント HB ワクチンを 5 マイクログラム接種した(国際方式)。従来通りの方式(厚生省方式)で予防処置を行った 43 例を対照とした。それぞれ HB ワクチン接種後 1 か月に肝機能と HBs 抗原、HBs 抗体、HBc 抗体を測定した。なお HBs 抗体価は EIA 法で測定し、mIU/ml 単位で表示した。

結果：経過観察中に HBs 抗原が陽転した例は各方式群にいなかった。ワクチン接種 1 か月の時点での HBs 抗体価の範囲と幾何学平均±SD は早期方式、国際方式、厚生省方式で、それぞれ、139・10,042 (1,476 ±2,362)、361・3,367 (1,5418±1,226)、30.2・20, 200 (2,500±3,611)で各群に有意差はなかった。

十分な抗体獲得と考えられる HBs 抗体価 200mIU/ml 以上は早期方式では 95%(20/21)、国際方式では 89%(8/9)、厚生省方式では 91%(39/43)であり、やはり各群に有意差はなかった(表 1)。

考察：HBs 抗体価の平均値、十分な抗体獲得率は各群で差はなかった。血液製剤である HBIG を 1 回省略出来る点、早期に予防処置が終了する点、など早期方式や国際方式は有用であった。今後も症例数を増やし、さらに長期の HBs 抗体価の推移、HBV 感染の有無を検討し、厚生省方式を改変するか明確にしたい。

##### 研究 2. HCV 母子感染の要因

対象と方法：対象は第 2 世代 HCV 抗体陽性の母親から出生した児で 6 か月以上追跡可能であった 91 例(男児 52 例、女児 39 例)、母親 74 例、同胞 17 例である。出生児について月齢 1、3、6、12 とそれ以降は原則として 1 年毎に AST、ALT、第 2 世代 HCV 抗体、HCV RNA を測定した。

結果：母親の HCV RNA 陽性率は 45/74(60.8%)で、児の感染率は全体では 11/91(12.1%)、HCV RNA 陽性の母親では 11/61(18%)であった。HCV RNA 陰性の母親から出生した児(30 例)と陽性(91 例)の平均観察期間は各々 27.8±21.2 か月と 31.0±21.3 か月で両群間に有意差はなかった。HCV RNA 陰性の母親から出生した児への感染はなかった。児への感染の危険因子を検討するため、①母親の HCV RNA 量、②妊娠中の肝炎歴、③母親の serotype、④分娩様式、⑤栄養について感染児と非感染児で比較した。①母親のウイルス量は感染児(11 例)で log<sub>10</sub>(6.3±1.4)copy/ml、非感染児(37 例)で log<sub>10</sub>(6.2±

1.3)copy/ml と有意差はなかった。②妊娠中の肝炎歴は感染児では 3/11(27%)、非感染児(50 例)では 14/50(28%)で有意差はなかった。③Serotype 1 は感染児(10 例)で 5/10(50%)、非感染児(19 例)で 11/19(58%)で有意差はなかった。④分娩様式は経膈分娩での感染率が 8/34(24%)、帝王切開術では 3/14(21%)で有意差はなかった。⑤完全人工栄養児での感染率は 5/6(83%)、母乳を一度でも飲んだことのある児の感染率は 6/18(35%)であった。

**考察：**HCV 母子感染の危険因子は母親の血中 HCV-RNA 陽性に見いだせなかった。分娩様式で感染率の差はなかったが、帝王切開術で出生した児で感染した児はすべて緊急帝王切開術であった。完全人工栄養児でも高率に感染しており、母乳から感染する可能性は低かった。

### 研究 3. HCV 母子感染児の長期経過

**対象と方法：**対象は HCV-RNA 陽性の妊婦から生まれた児で、経過中に血清 HCV 抗体上昇かつ HCV-RNA 陽転して HCV の母子感染が証明された児 11 例である。月齢 1、3、6、12 か月に HCV 抗体、HCV-RNA、肝機能を検査し、月齢 12 か月以降は適時に検査した(図 1)。

**結果：**図 1 に追跡結果を示す。月(年)齢 12 か月以降の HCV-RNA 陽性率は 12 か月、2 歳、3 歳、4 歳時で、それぞれ 80%(8/10)、55%(5/9)、50%(3/6)、20%(1/5)、であった。また 11 例中 7 例(63%)に ALT 値 80IU/L 以上の肝機能異常が認められたが、3 歳までには改善する傾向にあった。

**考察：**HCV-RNA の母子感染は HCV-RNA 陽性妊婦から生まれる児を対象にすると約 10%に認められる。HCV 感染児は乳幼児期に肝機能異常を示す例が過半数にみられるが、3 歳以上にわたる経過では生化学的緩解(biochemical remission)例が多く、さらにウイルス学的緩解(HCV-RNA 消失)も全体の約半数に認められた。現時点では妊婦の約 1%が HCV 抗体が陽性であり、そのうち 70%が HCV-RNA 陽性であり、HCV-RNA 陽性の妊婦から生まれた児の約 10%に母子感染がみられるが、3 歳までの経過で

そのうち約 50%がウイルス学的緩解する。以上より現在のところ年間の出生は約 120 万人なので、HCV の母子感染による 3 歳以降のキャリア化は  $1,200,000 \times 0.01 \times 0.7 \times 0.1 \times 0.5 = 420$  なので毎年約 400 名が HCV キャリア化すると考えられる。小児とくに母子感染による C 型慢性肝炎例に対するインターフェロン(IFN)の効果は優れており、HCV 母子感染により C 型慢性肝炎が成立した児は 3 歳以降に IFN 療法を考慮すべきと考えられた。

### 研究 4. TTV 母子感染の prospective study

**対象と方法：**対象は 1999 年 9 月から 2000 年 3 月までに防衛医大産科にて分娩し、インフォームドコンセントが得られた妊婦に血清 TTV-DNA を検査し、TTV-DNA 陽性の妊婦からの出生児を prospective に追跡した。血清より核酸を抽出し N22 領域由来の primer を用いて nested PCR を行い TTV-DNA を検出した。TTV-DNA 陽性例はクローニングを用いて 1 例について 10 クローンの塩基配列を決定し遺伝子を解析した。さらにインフォームドコンセントが得られた家族については家族調査を行い分子系統樹を用いて分子生物学的検索もした。

**結果：**血清 TTV-DNA 陽性の妊婦から生まれた 22 例を追跡中である。出生児の TTV-RNA 陽性率は月齢 1、3、6、12 か月でそれぞれ 4.5%(1/22)、19.0%(4/21)、33.3%(6/18)、50%(7/14)であった(表 2)。父親 10 人および同胞 4 人(2 家系 2 人ずつ)を検索したが同胞は 100%(4/4)、父親は 30.0%(3/10)が TTV-DNA 陽性であった。生後 1 年まで ALT 値が 70IU/L 以上の肝機能異常は 22 例中 6 例(27.2%)にみられ、この 6 例中 5 例(83.3%)が TTV-DNA 例であった。出生児が TTV-DNA 陽性であった 12 例中 11 例において母子および家族間の遺伝子解析を行った。11 例中 5 例(case 6、8、9、12、13)で major クローンの塩基配列が母子間で完全に一致し、4 例(case 2、10、15、20)は塩基配列が完全に一致してはいないが母子共に同じ genotype に属し、残り 2 例(case 14、18)は母子間で異なる genotype であった。父親は 3 例(case 10、15、20)は全例で major クローンが母子の genotype と異なっていた。同胞は 1 家系(case 20)では 2 人とも major クローンの塩基配列が母親と完全に一致していたが、もう 1 家系(case 18)では母親の genotype、もう 1 人は出生児の genotype に属し

ていた(図 2)。

**考察：**1997年に非 A-G 型輸血後肝炎の患者から新たな肝炎ウイルス候補として分離された TTV はエンベロープを有さない環状 1 本鎖 DNA ウイルスであり、ウイルス学的にはサーコウイルスに属する。輸血や血液製剤を介して感染するが、年齢とともに感染率は上昇するため経口感染の可能性も指摘されている。N22 領域に primer を置いた検討では一般小児での本邦における感染率は約 5%である。TTV は DNA ウイルスにもかかわらず RNA ウイルスのように変異株が多く、現在、16 種以上の遺伝子型が

知られている。唾液や母乳から TTV-DNA が検出されることより、主な感染経路は出生後の水平感染が疑われている。我々の検討でも月齢とともに TTV-RNA 陽性率が上昇しており、遺伝子解析(塩基相同性)から母子間の水平感染が主体と考えられた。しかし臍帯血中 TTV-DNA 陽性例もあり、生後 1 か月時でも TTV-RNA 陽性例が 1 例みられた。頻度は少ないが母子垂直感染もあり得ると考えられた。また TTV-DNA 陽性例には有意に肝機能異常例が認められ、乳児の TTV 初感染では肝炎を惹起する可能性がある。さらに長期の追跡を行い、小児期における TTV 感染の病態を明らかにし、母子感染の予防対策が必要か否かを検討する必要がある。



表1. ワクチン接種1か月後のHBs抗体価

	早期方式	国際方式	厚生省方式
HBs抗体価 (mean±SD) mIU/ml	1476±2362	1541±1226	2581±3611
HBs抗体価 ≥200mIU/ml	20/21(95%)	8/9(89%)	39/43(91%)

各群間で有意差はなかった。

表2

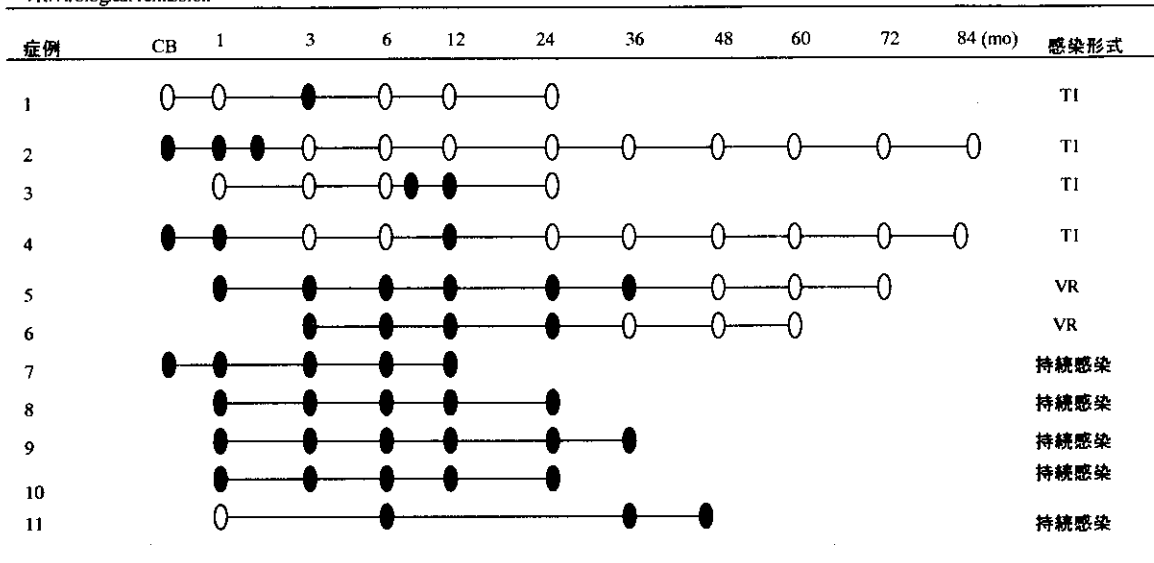
出生児の血清 TTV DNA および血清 ALT値

Case	PCR/ALT(IU/L)			
	1	3	6	12 (month)
1	- /ND	- /50	- /23	+ /16
2	- /20	+ /77	- /29	ND
3	- /23	- /24	- /19	- /21
4	- /11	- /29	ND	ND
5 *	- /13	- /34	- /35	- /39
6	- /20	- /22	+ /30	+ /24
7	- /20	- /46	- /26	- /26
8	- /32	- /61	+ /92	+ /32
9	- /22	- /45	- /32	+ /17
10	- /15	ND	ND	+ /95
11	- /23	- /40	- /31	- /25
12	- /17	- /38	+ /24	+ /14
13	- /22	+ /39	- /32	- /ND
14	- /15	- /151	+ /93	+ /41
15 *	- /30	- /74	+ /71	- /27
16	- /22	- /30	ND	- /19
17	- /37	- /61	- /38	
18	- /14	+ /33	+ /23	
19	- /14	- /22	- /20	
20 *	+ /16	+ /25	ND	
21	- /17	- /32	- /22	
22	- /32	- /76	- /58	
PCR陽性率	1/22 = 4.5%	4/21 = 19.0%	6/18 = 33.3%	7/14 = 50.0%

\* 父親も血清 TTV DNA 陽性例

図1. HCV RNAの推移

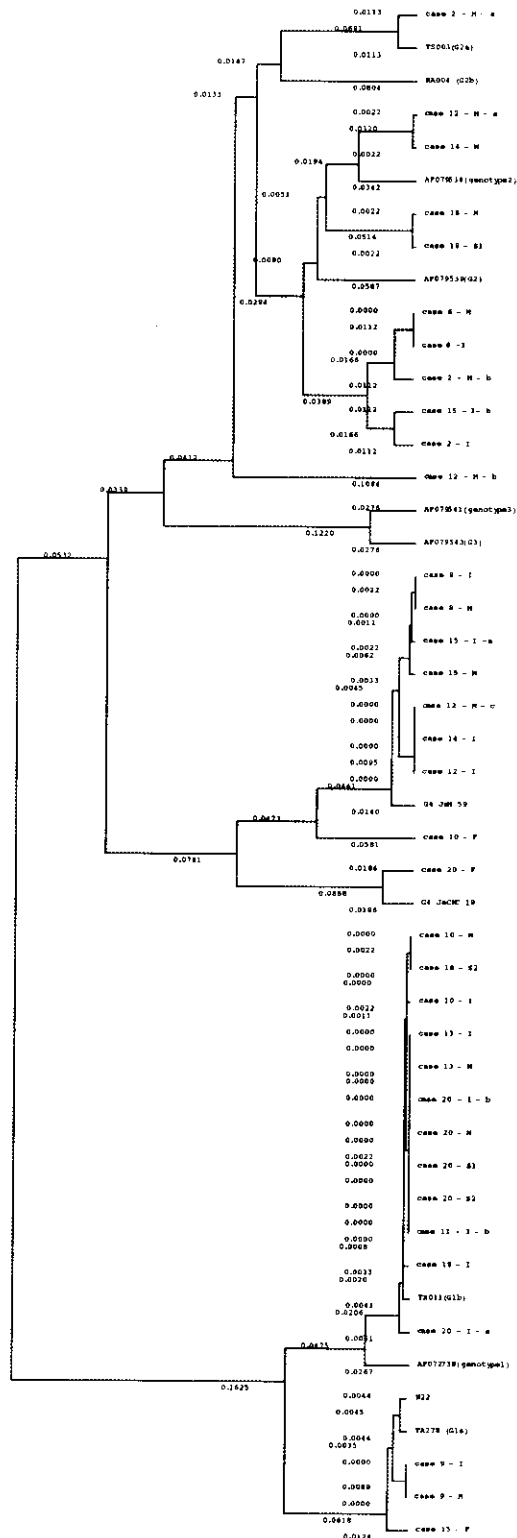
Transient infection(TI): HCV RNA陽性の期間が6か月以内で、HCV抗体の一過性の上昇がみられるもの  
 VR: virological remission



○ HCV RNA陰性

● HCV RNA陽性

[GENE TREE-ABC: Evolutionary Tree]  
 Date : 2021.10.07  
 Method : UPGMA



M: 母親, F: 父親, I: 出生児, S: 同胞

母親間で完全に塩基配列が一致: case 6, 8, 9, 12, 13

完全に一致してはいるが母子とも同じ genotype: case 2, 10, 15, 20

母子間で異なる genotype: case 14, 18

父親 3 例: case 10, 15, 20

同胞例: case 18, 20