

厚生労働科学研究費補助金
肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野）

C型肝炎ウイルス等の母子感染防止に関する研究
(H14-肝炎-13)

平成 14 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 白木 和夫

平成 15 (2003) 年 3 月

目 次

I. 総括研究報告

- C型肝炎等の母子感染防止に関する研究 ----- 1
白木和夫

II. 分担研究報告

- C型肝炎母子感染のリスクファクターに関する研究 ----- 12
森島恒雄

- C型肝炎ウイルス母子感染の疫学、要因、予後調査研究 ----- 23
神崎 晋、日野茂男、白木和夫

- C型肝炎ウイルス等の母子感染防止に関する研究 ----- 33
藤澤知雄

- 大阪府におけるC型肝炎ウイルス母子感染に関する検討 ----- 43
田尻 仁

- C型肝炎ウイルスの母児間感染危険因子の同定と
感染追跡児における超可変領域の変異 ----- 53
大戸 斉

- 当院におけるHCVキャリア母体産児の統計ならびに
母子感染例の後方視的検討 ----- 63
松井 陽

- C型肝炎ウイルス母子感染の自然史とキャリア化児の予後について ----- 75
稲葉憲之

- HCV RNA 陽性妊婦から出生した児の検討および
HCV 母子感染例の臨床経過の検討 ----- 84
戸苅 創

- HCV 母子感染例の検討- HCV RNA 陰性化群と持続陽性群の臨床的比較 ----- 94
木村昭彦

I. 総括研究報告書

C型肝炎ウイルス等の母子感染防止に関する研究

主任研究者 白木和夫 鳥取大学名誉教授

研究要旨

1) 分担研究者各施設においてC型肝炎ウイルス（HCV）RNA陽性妊婦からの出生児を出生時から前方視的に追跡調査した結果、生後6カ月以上にわたりHCV RNA陽性となった児は施設によりかなり異なり7.3%～12%であった。これら各施設の症例を集計すると395例となり、その内37例の児に感染が認められた。すなわち平均HCV母子感染率は9.4%であった。

2) 母子感染の要因に関してウイルス学的因子、妊娠経過、分娩様式、母乳などを検討した。各分担研究者でほぼ一致したのは妊婦の高ウイルス量のみであった。緊急帝王切を含んだ帝王切分娩と経膈分娩とでは児の感染率に差がなかったが、1施設では帝王切児で感染が全く起こらず、高ウイルス量を示した妊婦からの出産児でみると経膈分娩児との差が有意であった。母乳哺育の有無、HCV genotypeによる差は認められなかった。

3) 全国16施設に対して行ったアンケートによるケースコントロールスタディでも、上記の結果が確かめられた。但しこの調査では感染児の方が非感染児より分娩時間が有意に短く、その理由については更に検討する予定である。

4) 前述の感染乳児についてはウイルス変異、動態を追跡調査した。感染児37例中生後4年以内に12例で血中HCV RNAが検出されなくなった。すなわち小児期に感染状態を脱する症例が少なくとも33%あることが明らかになった。その要因はまだ明らかには出来なかった。

6) 持続感染児の内、慢性肝炎と臨床診断された例について肝生検を行ったところ、多くは線維化が軽度であったが、8歳で既に小葉改築傾向を示す例があった。

7) 小児C型慢性肝炎症例に対し数年前に臨床試験でinterferon投与を行ったところ成人と同等以上の効果がみられたが、それらの症例の長期予後を調査した。ウイルスの再出現した例はなく、発育には長期的にも悪影響が認められなかった。

分担研究者

神崎 晋 鳥取大学医学部教授

日野茂男 鳥取大学医学部教授

森島恒雄 名古屋大学医学部教授

藤澤知雄 防衛医科大学校助教授

戸蒔 創 名古屋市立大学医学部教授
松井 陽 筑波大学臨床医学系教授
木村昭彦 久留米大学医学部講師
田尻 仁 大阪府立病院小児科部長
大戸 斉 福島県立医科大学医学部教授
稲葉憲之 獨協医科大学医学部教授

A. 研究目的

肝癌、肝硬変の原因となる HCV 持続感染は水平感染あるいは垂直感染（母子感染）の結果生じる。近年、HCV の検査が確立され適切な対策がとられてから、水平感染による HCV 感染は急速に減少し、若年者の HCV 持続感染率は極めて低くなった。しかし母子感染による HCV 感染に対してはまだ有効な感染防止方策が見つかっておらず、感染妊婦には多大の不安が広がっている。

HCV 持続感染者の新規発生を根絶するために母子感染防止対策を確立する必要がある。また母子感染により HCV に感染した児の経過を明らかにし、治療方針を確立する必要がある。これらの目的を達成するため、次の研究目標を設定した。

1) HCV 母子感染に関連する各種要因を検討し、その関与の度合いを明らかにする。これによって母子感染率を低下させる方策を探る。同時に近い将来開発されるであろうワクチンなどによる HCV 母子感染防止の対象となるべき high risk group を明確にする。

2) HCV の母子感染が起こった後の児を追跡調査し、その長期経過・予後を明らかにする。HCV により小児期に慢性肝炎となった児について、interferon その他の治療への反応と成長などへの影響を明らかにする。

これらにより HCV 持続感染の成人への移行を阻止する方策を明らかにする。

3) 以上の結果を基に、HCV に感染している妊産婦への指導指針を作成する。

4) 本研究に平行して副次的に調査可能な他の肝炎ウイルス（TT ウイルス、GB ウイルスなど）の母子感染の実態を明らかにする。

B. 研究方法

1) 現在のわが国妊婦の HCV 保有率は地域差があるがおおむね 0.4%～0.7%程度であるので、HCV の母子感染に関する研究を比較的短期間に行うには多施設共同研究が不可欠である。また感染児の自然経過を明らかにするために継続的調査が必要である。

主任研究者、分担研究者、研究協力者の各施設において、HCV 感染妊婦にインフォームドコンセントを得た後、それら妊婦の HCV のウイルス学的検査を行い、出生時からその新生児を定期的に診察・検査し、母子感染成立の有無を調査すると共に、感染児についてウイルス学的検査、肝機能検査を行い、長期間にわたりウイルスの動態を含めた予後調査を行った。

2) 上記の前方視的調査を通じて母子感染成立例と非成立例における各種要因の比較検討を行い、母体の HCV の genotype、変異などウイルス学的検索、妊娠・出産時合併症、

分娩様式、分娩時間など産科的要因、母乳哺育の関与などを検討した。

3) 母子感染によって新生児期に HCV RNA 持続陽性となった小児の一部には生後 2、3 年の間に血中の HCV RNA が検出されなくなり感染状態を脱したと考えられるものがある。感染新生児についてそのウイルス動態の経過を追跡調査し、感染状態を脱する症例と持続する症例についてその差が生じる要因を検索した。

4) HCV に母子感染し、持続感染となった児については、HCV の超可変領域の変異を追跡調査し、肝障害との関連を調べた。Interferon に対する反応性と成長など長期的な影響について調査した。

5) 全国 16 施設に対してアンケート調査を行い、後方視的に HCV キャリア妊婦から生まれて母子感染した児としなかった児とのコントロールスタディを行った。

6) 倫理面への配慮

HCV 持続感染状態にある妊婦に対して、不必要な不安を与えないよう十分配慮しつつ、HCV 感染が妊産婦に与える可能性のある影響、および生まれてくる児に対する影響について、現在知られている範囲での情報を十分に説明し伝えた上で、妊婦の通常診療上当然必要な検査採血の一部でウイルス検査を行うことについての承諾を得、更に生まれてくる児について HCV 感染を調べるための検査を生後 6 カ月くらいにわたり数回行うことの承諾を文書で得た。出生後の経過観察中に児に HCV 感染が認められた場合は、その後の児の予後、経過に関して、現在知られている範囲で全ての可能性を説明し伝えた上で、その後、数年にわたって感

染児の定期的検査を行うことに関して承諾を得た。この際、母親が育児に関して不安を抱かないよう、また（こうした状況でしばしば母親に認められることであるが）児が HCV 感染を起こしたことに関して母親として無用な罪悪感を抱かぬよう説明（情報開示）に特段の配慮を払った。（鳥取大学医学部倫理審査委員会承認済）

C. 研究結果

1) 分担研究者各施設において HCV RNA 陽性妊婦からの出生児を出生時から前方視的に追跡調査した結果、生後 6 カ月以上にわたり児が HCV RNA 陽性となった率は施設によりかなり異なり 7.3%~12%(HCV 母子感染率)であった。これら各施設の症例を集計すると 395 例となり、その内 37 例の児に感染が認められた。すなわち平均母子感染率は 9.4%であった。

2) 母子感染の要因に関してウイルス学的因子、妊娠経過、分娩様式、母乳などを検討した。HCV 抗体のみ陽性の妊婦からの出生児では感染は証明されず、母子感染が起こった例の母はすべて HCV RNA 陽性であった。各種要因のうち母子感染に密接な関係があるとして各分担研究者でほぼ一致したのは妊婦の高ウイルス量のみであった。緊急帝王切を含んだ帝王切分娩と経膈分娩とでは殆どの施設で児の感染率に差がなかったが、1 施設（鳥取大学）では HCV RNA 高値妊婦群でみると、経膈分娩児が帝王切開児より有意に高率に感染していた。母乳哺育の有無、HCV genotype による差は認められなかった。

3) 全国 16 施設に対して行ったアンケートによるケースコントロールスタディでは

感染児の方が非感染児より分娩時間が有意に短かった。その理由については更に検討を要する。

4) 前述の感染乳児についてウイルス変異、動態を追跡調査した。感染児 37 例中生後 4 年以内に 12 例で血中 HCV RNA が検出されなくなった。すなわち小児期に感染状態を脱する症例が少なくとも 33%あることが明らかになった。その要因についてウイルス変異を含めて検索している。

6) 持続感染児の内、慢性肝炎と診断された例について肝生検を行ったところ、多くは線維化が軽度であったが、8 歳で小葉改築傾向を示す例があった。

7) 数年前に小児 C 型慢性肝炎症例に interferon 投与を行ったところ成人と同等以上の効果がみられたが、それらの症例の長期予後を調査した。ウイルスの再出現した例はなく、発育には長期的にも悪影響が認められなかった (Shiraki et al. Eur J Ped, 161 : 629, 2002)。

8) 各分担研究者の研究結果の概要は以下の如くであった。

森島班員 : HCV 母子感染のリスクファクターを明らかにするため、多施設共同研究によるケースコントロールスタディを実施した。HCV キャリアー妊婦より出産した児、122 例 (感染例 50 例、非感染例 72 例) についてレトロスペクティブに母体の状況、ウイルス学的検索、妊娠分娩経過、および児については出生後の状況、ウイルス学的検索について調査した。それぞれの項目について、感染児および非感染児の間における有意差が認められるかどうか検討し、1. 母親

の HCVRNA 陽性、2. 母親の HCVRNA 量の高値、がリスクファクターとして確認された。一方、母親のウイルスのゲノタイプや帝王切開 (緊急帝王切開を含む)、母乳授乳の有無、母親の肝炎歴・輸血歴・妊娠中の肝機能値などについては有意差は認められなかった。分娩時間に有意差が見られたがその理由は不明であった。

小児感染例 50 例のうち、持続感染が 32 例、一過性感染で HCVRNA が消失した症例が 18 例あった。持続感染例、一過性感染例とも生後 6 ヶ月-12 ヶ月の間に有意に ALT が高値を示し、持続感染例の方が高値であった。非感染児では、肝機能は正常で、生後 6 ヶ月以降、HCV 抗体 (母からの移行抗体) は 50%が陰性となり、多くは 12 ヶ月までに陰性化した。第 1 子と、第 2 子以降の兄弟につき、それぞれ感染の有無を調べたところ、感染率に全く差を認めず、各兄弟の感染に対するリスクは同じであることが判明した。

神崎班員、白木班長 : HCV 母子感染の危険因子を疫学的に調査検討した。鳥取県内の HCV 陽性妊婦を HCV 抗体でスクリーニングし、HCV RNA 量、エピトープ特異的抗体、周産期の因子を検討した。21,791 例の妊婦のうち 84 例 (0.39%) が HCV RNA 陽性で、7 例の母子感染例 (12%) を見出した。この 7 例は全例経膈分娩で出生し、高ウイルス量群に限れば、母子感染は帝王切開例よりも有意に高率で (44% vs 0%; $p=0.023$)、また感染例の NS4 抗体陽性率は非感染例の陽性率よりも有意に低かった ($p=0.048$)。経膈分娩例において感染例の HCV RNA 量は非感染例より

も有意に高値であった。母体の高ウイルス量が HCV 母子感染の重要な危険因子の一つであり、さらにこのような症例が経膈分娩した場合、母子感染率が高くなることが明らかになった。

日野班員：母子感染を成立させるクローンを明らかにするために、高比重分画 (HDF) と低比重分画 (LDF) に存在する hypervariable region (HVR) を比較した。上記 HCV 母子感染例 4 例について血清を LDF と HDF に分離し、各々 HCV 15 クローンについて経時的に解析した。生後 1-2 ヶ月時の HVR は単一ないし複数のクローンが存在し、全て母親と同じ群に属していた。児にみられたクローンの中には母親の 25-40% を占めたクローンも含まれ、また母親の HDF や、LDF、HDF 両方に存在するクローンが多くみられた。抗体価が最も低くなる前に LDF クローンに変化がみられた。児に感染したクローンは必ずしも母親の LDF に存在するクローンや単一の少数のクローンのみではないと考えられた。また児のクローンの進化は児の免疫反応、おそらくは細胞性免疫、によって惹起されると考えられた。

藤澤班員：1) HCV RNA 陽性妊婦 53 例からの出生児は 69 例で感染児は 11 例 (15.9%) であった。感染例 11 例と非感染例 44 例の母親の HCV RNA 量は平均値で比較すると、感染例が $10^{6.3 \pm 1.4}$ コピー/ml で、非感染例が $10^{6.0 \pm 1.3}$ コピー/ml で両群間に有意差はなかったが、母親のウイルス量を $10^{6.0}$ コピー/ml 以上とそれ未満で検討すると、母親のウイルス量が $10^{6.0}$ コピー/ml 以上が感染例では 11 例中 9 例

(82%)、非感染例では 44 例中 14 例 (32%) で有意に感染例の方が母親の HCV RNA 量が 10^6 コピー/ml 以上の症例が多かった ($p=0.008$)。母親の HCV serotype については両群間に有意差がなかった。分娩様式、母乳哺育の有無で感染率に差はなかった。

2) 11 例の感染児のうち、持続感染例が 5 例、自然寛解例 (無治療で HCV RNA が消失し、C 型慢性肝炎が治癒した症例) が 2 例、一過性感染例 (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た症例) が 4 例であった。持続感染例と自然寛解例は全例でトランスアミナーゼ値の高値がみられ、自然寛解例は 4 歳までにトランスアミナーゼ値が正常化し、かつ HCV RNA が陰性化した。

3) Core - E2, NS3, NS4, NS5B 領域のサブクローニングおよびシーケンズを行った。現在までに報告されている CTL エピトープの母子間のアミノ酸配列は、Hypervariable region (HVR) 以外はほとんど違いはなく、また、wild type のアミノ酸配列と比較して escape mutant の存在を示唆する配列はみられなかった。分子系統樹を用いた解析でも Core 領域と比較して HVR では著しい変異を認めた。

田尻班員：1) C 型肝炎ウイルスの母子感染の頻度と感染成立に關与する要因を検討した。108 名の母親とその出生児 114 名を対象とした検討の結果、C 型肝炎母子感染率は、HCV 抗体陽性の母親からの出生児については 7.8% であり、HCV-RNA 陽性の母親からの出生児では 11.1% であった。感染成立に關与する要因としては母親のウイルス量が最も關与すると考えられた。2) 母子感染によ

る小児のC型慢性肝炎15例の自然経過を検討した。全例肝機能異常を軽度から中等度認めしたが、臨床症状を示したものはいなかった。prospective caseの2例において、経過観察中に血中よりHCV-RNAが消失し、自然治癒例と考えられた。6例に肝生検を施行し、肝機能異常は軽度だが組織学的に進行している症例が1例認められた。インターフェロン治療を3例に施行したが、ウイルス排除には無効であった。

大戸班員：妊婦のHCV抗体陽性率は0.4% (143/29,768名)で、母子感染はHCV-RNA陽性の母親でのみみられ、感染率は7.5% (6/80名)であった。母体血中ウイルス量は、感染群において多い傾向がみられた。また分娩様式、栄養法については有意な差はみられなかった。感染した児の50%が一過性感染で、18か月までにウイルスは検出されなくなった。一方残り50%は持続感染例で、その2症例に対するシーケンス解析の結果よりHVR1の持続的な変異が観察され、ウイルスの宿主免疫学的監視機構からの逃避が伺えた。

松井班員：当院出生例における7年間の母子感染成立例は2例で、キャリア妊婦からの感染率は10%であった。母子感染成立例のうち1例では、分娩時母体HCV-RNA量が低くても持続感染パターンを示した。3歳前後でHCV-RNA陰性化した一過性感染2例では乳児期ALTが高値であり、乳児期に低いALT値が続く場合に持続感染となる傾向がみられた。

稲葉班員：妊婦1314名にHCV RNA検査を行い、9名(0.7%)の陽性者を得た。これに他施設より紹介されたHCVキャリア妊婦51名を加えた、計60名のHCVキャリア妊婦からの出生児82名を6-72ヶ月間定期的にフォローアップし、HCV母子感染の自然史を調査した。82例中6名(7.3%)が少なくとも6ヶ月間血中にHCV RNAが検出可能で、5名が生後1ヶ月以内にHCV RNA陽性となった。1名の児は生後1ヶ月の時点でHCV RNA陰性であったが、生後3ヶ月では陽転していた。児の陽転時期より、HCV母子感染は胎内、あるいは産道感染による事が強く示唆された。これら6名のキャリア化児中4名(66.7%)が肝機能異常(sALT>110mIU/ml)を示し、2名(33.3%)が脱キャリア化した。1名は一旦陰性化後再びHCV RNA持続陽性となった。非HIV/IVDUキャリア妊婦ではHCV母子感染率は低く、キャリア化児の約3分の1は脱キャリア化する事が示された。

戸苅班員：2000年～2002年間に当院でHCV RNA陽性の妊婦から出生した児及び、1999年～2002年にHCV RNA陽性の妊婦から院外で出生し当院に紹介され経過を観察し得た計5例の児についてHCV母子感染の有無を検討した。全例、生後1歳までにHCV抗体は陰性化し、現在まで再び陽性化することなく経過している。

HCV RNA陽性の妊婦より出生した児のうち、生後3年以内にHCV抗体の再上昇あるいは少なくとも6ヶ月以上に渡って高値が持続した8例につき、その臨床像を検討した。HCV抗体価は全例高値で、HCV RNA陽性例は

8 例中 6 例、陰性例は 8 例中 2 例であった。3 年以上観察し得た 7 例中 1 例のみ ALT の上昇は認めていないが、残る 6 例は一過性の ALT の上昇を認めた。3 歳までに 5 例の ALT は正常化していた。ALT のピーク値は、80 IU/l から 929 IU/l まで見られたが、1 例を除き 300 IU/l 以下であった。ALT がピークを示した時期は 1 歳未満が 4 例、2 歳未満が 2 例、3 歳未満が 1 例であった。

木村班員： C 型肝炎母子感染例と診断された 13 例の初診時年齢、初診時 GPT 値およびその後の推移、受診理由、母親の感染状況、児の感染状況と HCV のグループ群分け、同胞の感染状況、分娩様式、栄養方法について治療の有無にかかわらず観察期間内に HCV-RNA が陰性化した群と持続陽性群に分けて retrospective に検討した。その結果、13 例の母子感染例中 5 症例は 2 歳までに HCV-RNA の自然陰性化をみた。初診時年齢、初診時 GPT および分娩様式は両群で差異はみられなかった。第一子の感染有無は両群共に第二子以降に影響は示さなかった。栄養方法では、HCV-RNA 持続陽性群に母乳栄養が多くみられた。分娩様式（予定帝王切は含まず）は、HCV-RNA の陰性化群と持続陽性群との間で比較した場合、意義は少ないと考えられた。母子感染によって HCV キャリアないし慢性 C 型肝炎になった症例の一部は、2 歳頃までに HCV-RNA が自然消失すると考えられた。

D. 考察

欧米においては HCV キャリアの多くがヒト後天性免疫不全ウイルス (HIV) のキャリ

アでもあり、この際には HCV の母子感染が高率に起こることが知られているものの、HIV 感染を伴わない場合の母子感染に関する報告は少ない。わが国では HIV 感染妊婦の頻度はまだ低率であり、HCV のみの母子感染を調査しやすいと言える。しかしわが国の HCV キャリア率は高齢者で高く若年層では比較的到低く、妊婦での HCV キャリア率も 1% 以下であるため、単独の施設で経験される HCV キャリア妊婦の数は多いとは言えず、その疫学的研究は必ずしも容易でない。その為、本研究では多施設共同研究で短期間に結論に到達することを目指した。

本研究においても HCV RNA 陽性妊婦からの出生児への母子感染率は、分担研究者の施設毎にかなり異なり、7.3%–12% であったが、各施設の症例を集計した 395 例では 9.4% の母子感染率となり、これが現在のわが国の HCV 母子感染率といえよう。これは従来の報告に比べ高いように見えるが、これまでの報告が HCV 抗体陽性妊婦を母数にしているものが少なくなかったためでもあろう。HCV RNA 陰性で HCV 抗体のみ陽性の妊婦からの母子感染は起こっていない。

HCV 母子感染の要因として、各分担研究者でほぼ一致を見たのは出産時における妊婦の血中 HCV RNA 量であった。殆ど全ての感染児の母の HCV RNA 量は 10^6 copies/ml 以上で、これ以下の場合にはほとんど感染がおこっていなかった。すなわち母の HCV RNA 量が 10^6 copies/ml 以上の場合は母子感染のハイリスクであることが明らかとなった。但し母子感染が起こっているのは 10^6 copies/ml 以上の群の全部ではないことから、母体の HCV ウイルス量以外

の要因が存在することは明らかである。

母体血中の高 HCV ウイルス量以外の要因として、最も疑われるのは分娩様式である。HCV 母子感染の場合、感染児の多くで臍帯血にごく少量の HCV RNA が検出され、児が HCV RNA 陽性になるのも生後 1 カ月以内が多く、遅くも 3 カ月以内であることを考えると、分娩時に母から新生児にウイルスが伝播したと考えるのが自然である。HCV 母子感染の頻度に関して、これまで帝王切開分娩と経膣分娩とで差がなかったとする報告が多いが、帝王切開出生児で感染頻度が低かったとする報告もある。今回の研究で各分担研究者の症例では、一施設（鳥取大学）を除き分娩様式による母子感染の頻度に有意差が認められず、全ての症例を合計しても有意差は見られなかった。

一般に感染成立にはある量以上のウイルスが伝播することが必要と考えられる。伝播するウイルス量 = (血中ウイルス濃度) × (母から出生児への移行血液量) であるはずである。我々の先行研究 (Kaneda et al. J. Pediatr. 130:730, 1997) で、分娩時の母から児への移行血液量には分娩毎に大きな差があるが、予定帝王切開の場合は、経膣分娩や緊急帝王切開に比べ移行血液量が有意に少ないことが明らかになっている。これは陣痛により胎盤のバリアーが破綻し、母体血が臍帯を通じて児へ送り出されるためと考えられる。

今回の各施設での分析では、帝王切開症例の多くが緊急帝王切開であった。そのため経膣分娩の場合と母子移行血液量には差がなく、したがって感染率にも差が見られなかったものと考えられる。鳥取大学症例

で高ウイルス量妊婦で検討すると経膣分娩児の感染率が有意に高いという結果になったのは、帝王切開の多くが予定帝切であったためではないかと推測され、今後更に検討が必要である。

母乳哺育と母子感染率の間にはどの施設でも全く関係が見られず、全症例を集計しても有意差は認められなかった。母乳哺育期間との関係で見てもヒト成人 T 細胞性白血病ウイルスの母子感染で見られるような有意な差は認められなかった。これは前述の如く、感染の時期が出産時と考えられることから納得でき、HCV キャリアである母からその児への母乳哺育を禁ずる必要がないことが明らかとなったといえよう。

HCV 母子感染児の追跡調査で、生後 6 カ月以上持続感染となった児でも生後 3、4 歳までに血中から HCV RNA が検出されなくなる症例が、全施設を通じて約 30% 存在したことは予想外であった。成人では HCV に感染すると高率に持続感染となり、自然にウイルスが消失することはほとんどないとされることに比べ、大きな違いである。その原因をウイルスの変異との関連で引き続き検索中であり、また持続感染が続く症例とそれから脱する症例との違いを更に追跡調査する予定である。

小児の慢性 C 型肝炎に対する interferon の効果は成人と同程度ないしそれ以上であり、短期的副作用も重篤でないことは我々の先行研究で明らかになっているが、今回、それらの症例の長期予後を調査したところ、長期的な成長にも悪影響がないことが明らかとなった。しかし前節に述べた如く、HCV 母子感染例にはウイルス自然消退例がある

ことが明らかになったことより、何歳の時期に、どの様な症例に対して積極的治療を開始するかを決定するため、母子感染例の自然歴が今後さらに明らかにされる必要がある。

HCV キャリア妊婦に対する指導においても、母子感染の要因のみならず、出生児が感染した場合の予後を明確にすることにより、的確な情報を与えて不安を軽減させる効果が期待できる。

E. 結論

1) わが国における HCV RNA 陽性妊婦からの出生児を前方視的に追跡調査した結果、生後 6 カ月以上にわたり HCV RNA 陽性となった率 (HCV 母子感染率) は施設により差が大きく 7.3%~12%であり、症例数を合計して平均すると 9.4%であった。

2) 母子感染の要因に関してウイルス学的因子、妊娠経過、分娩様式、母乳などを検討したが、各分担研究者でほぼ一致したのは妊婦の高ウイルス量のみであった。但し高ウイルス量であっても母子感染が起らなかった症例も多く、他の要因の存在が示唆された。緊急帝王切を含んだ帝王切分娩と経膈分娩とでは児の感染率に差がなかったが、1施設では帝王切児で感染が全く起こらず、経膈分娩児との差が有意であった。妊婦のウイルス量以外に分娩様式の差が感染に関与することが示唆された。母乳哺育の有無、HCV genotype などによる差は認められなかった。

3) HCV 母子感染児のうち生後 4 年以内に感染状態を脱する症例が全施設平均して 33%あることが明らかになった。その要因

についてウイルス変異を含めて検索したが結論に達しなかった。

4) 持続感染児の多くは transaminase の上昇を示し、肝生検でも慢性肝炎と診断された。interferon 投与症例で、発育には長期的にも悪影響が認められなかった。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Shiraki K, Morishima T, Terasawa S, Koike M, Fujisawa T, Tajiri H. & OPC-18 Study Group. Long-term virological response and growth rate of children with chronic hepatitis C who received natural interferon-alpha. *Eur.J.Pediatr* 161: 629-630, 2002.

2) 白木和夫, 長田郁夫: 小児と C 型肝炎—その疫学と治療. *小児科臨床* 55: 1725-1734, 2002.

3) 白木和夫, 長田郁夫: HCV の母子感染. *臨床医* 28: 19-21, 2002.

4) 白木和夫, 長田郁夫: ウイルス性肝炎. *臨床と微生物* 29: 515-517, 2002.

5) 藤澤知雄, 白木和夫: 肝臓疾患の診断と治療のガイドライン. *小児科臨床*, 55: 1327-1334, 2002.

6) Inui A, Fujisawa T, Sogo T, Komatsu H, Isozaki A, Sekine I. Different outcomes of vertical transmission of hepatitis C virus in a twin pregnancy.

J Gastroenterology and Hepatology,
17: 617-619, 2002

7) Nakashima E, Fujisawa T, Kimura
A, Kage M, Yamamoto Y, Maeda L,
Kumagae M, Ushijima K, Yamashita Y,
Matsuishi T. Efficacy of
interferon-alpha treatment in
Japanese children with chronic
hepatitis C. J Gastroenterol
Hepatol 18: , 2003 (in press).

8) H Komatsu, I Inui, T Fujisawa, O
Pybus, E Holmes, P Klenerman.
Evolution of hepatitis C virus after
mother to child transmission - role
of humoral and cellular immune
responses. Immunology 107
supplement 1, 64, 2002

9) 藤澤知雄: C型肝炎とインターフェロン. 小児科別
冊 (どのような時その薬を使うの
か) :128-129, 2002

10) 藤澤知雄, 乾あやの: HCV 母子感染の頻
度と予後. 消化器科, 34: 345-352, 2002

11) 乾あやの, 小松陽樹, 十河 剛, 藤澤知
雄: 肝炎ウイルスとしての TTV 感染. 小児科,
43: 193-198, 2002

12) 藤澤知雄, 小松陽樹, 十河 剛, 乾あや
の: 小児期の肝炎ウイルスに対する治療. 小児科,
43: 1838-1848, 2002

13) Ohto H, Ujiiie N, Takeuchi C, Sato
A, Hayashi A, Ishiko H, Nishizawa
T, Okamoto H. TT virus infection
during childhood. Transfusion
42(7):892-898, 2002.

14) 三善陽子, 沢田敦, 古座岩宏輔, 近藤
宏樹, 虫明聡太郎, 田尻仁: C型肝炎母子感

染の前方視的研究: 感染率及び関連因子の
検討. 日本小児栄養消化器肝臓学会雑誌
16: 29, 2002.

15) 稲葉憲之、大島教子、西川正能: 母子感
染予防 - 肝炎ウイルス- 産婦人科の実際
51: 2007-2016, 2002.

16) 大島教子、西川正能、稲葉憲之: HGV母
子感染. 周産期医学 32: 894-896,
2002.

17) 大島教子、稲葉憲之: 妊婦・新生児スク
リーニング検査 HCV抗体検査. 産科と婦人
科 69(増刊号): 97-100, 2002.

2. 学会発表

1) H Komatsu, I Inui, T Fujisawa, O
Pybus, E Holmes, P Klenerman
Evolution of hepatitis C virus after
mother to child transmission - role
of humoral and cellular immune
responses.

Joint Congress of the British
Society for Immunology and the
British Society for Allergy and
Clinical Immunology(2002, 12/3-6,
Harrogate, UK)

2) 乾あやの、志岐紀子、石井茂樹、十河 剛、
小松陽樹、藤澤知雄、関根勇夫: インター
フェロン療法非著効のC型慢性肝炎患児例.
第105回日本小児科学会学術集会 (2002,
4/19-21 名古屋)

3) 藤澤知雄、十河 剛、小松陽樹、乾あや
の、橋本卓史*、蜂矢正彦*: 小児期におけ
るC型肝炎ウイルス(HCV)持続感染例の解
析. 第19回日本小児肝臓研究会
(2002, 7/19, 20, 土浦)

- 4) 藤澤知雄、十河剛、小松陽樹、乾あやの、橋本卓史*、蜂矢正彦*：小児C型慢性肝炎に対する単独IFN治療の効果と限界．第29回日本小児栄養消化器肝臓学会(2002, 9/21, 22 高崎)
- 5) 小松陽樹、乾あやの、藤澤知雄：HCV母子感染でのウイルス遺伝子解析と免疫応答の検討．第13回抗ウイルス化学療法研究会(2003, 1/27-29 津田沼)
- 6) 安藤寿啓、杉浦時雄、後藤健之、稲垣晴代、河辺義和、杉山幸八郎：HCV母子感染例の臨床経過．第19回肝臓研究会2002.7、土浦

II. 分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金

(肝炎等克服緊急対策研究事業「C型肝炎ウイルス等の母子感染防止に関する研究」)

分担研究報告書

C型肝炎母子感染のリスクファクターに関する研究

分担研究者 森島恒雄 名古屋大学医学部保健学科 教授

研究協力 藤沢知雄、乾あやの(防衛医大小児科)
田尻仁、吉村文一、位田忍(大阪大学小児科)
河島尚志(東京医大小児科)、長田郁夫(鳥取大学小児科)
小林昌和、奥田修司(和歌山県立医大小児科)
岡庭真理子(武蔵野赤十字病院小児科)
白木和夫(聖路加看護大学)

研究要旨 C型肝炎ウイルス(HCV)の母子感染は現在、有効な防止策が確立していない最大の感染経路である。このHCV母子感染のリスクファクターを明らかにするため、多施設共同研究によるケースコントロールスタディを実施した。HCVキャリアー妊婦より出産した児、122例(感染例50例、非感染例72例)についてレトロスペクティブに母体の状況、ウイルス学的検索、妊娠分娩経過、および児については出生後の状況、ウイルス学的検索について調査した。それぞれの項目について、感染児および非感染児の間における有意差が認められるかどうか検討し、1.母親のHCVRNA陽性、2.母親のHCVRNA量の高値、がリスクファクターとして確認された。一方、母親のウイルスのゲノタイプや帝王切開(緊急帝王切開を含む)、母乳授乳の有無、母親の肝炎歴・輸血歴・妊娠中の肝機能値などについては有意差は認められなかった。

小児においては感染例50例のうち、持続感染が32例、一過性感染でHCVRNAが消失した症例18例であった。持続感染例・一過性感染例では生後6ヶ月～12ヶ月の間に有意にALTが高値を示し、持続感染例の方が高値であった。非感染児では、肝機能は正常で、6ヶ月以降、HCV抗体(移行抗体)は50%が陰性となり、多くは12ヶ月までに陰性化した。第1子と、第2子以降の兄弟につき、それぞれ感染の有無を調べたところ、感染率に全く差を認めず、すなわち各兄弟の感染に対するリスクは同じであることが判明した。

これらの結果は、HCVキャリアー妊婦と出生児のフォローアップをする上で重要な知見と考えられた。

A.研究目的

C型肝炎ウイルス(HCV)の母子感染について、感染の実態、危険因子、予防方法など不明な点が多い。

現在、感染経路の中で母子感染は、他の経路の感染対策が進む中、残された最大の感染経路といつてよい。HCVの母子感染の現状及び病態、予防対策な

どを多施設共同研究により明らかにし、具体的なガイドラインを作成することを目的とした。

B. 研究方法

全国の大学病院を中心とした16施設(上記の研究協力者の施設に加え、名古屋第一赤十字病院、安城厚生病院、春日井市民病院、市立岡崎病院、陶生病院、上飯田第一病院)に対するアンケート調査を実施し、HCV抗体陽性の母親から、児に感染が成立した症例(感染群)と感染しなかった症例(非感染群)についてケースコントロールスタディを行った。

対象は、HCV抗体陽性の母親113例とその出生児122例であり、児の内訳は男児60例、女児62例。

非感染例72例、感染例50例(持続感染32、一過性感染18例)であった。感染例の定義は、生後、一度でも血中HCVRNAが確実に陽性になったものとした。また、経過観察中にHCVRNAが陰性化し、この陰性化が持続した症例を一過性感染と定義した。これらの症例に対して、以下に示すアンケート調査を母親及び小児について実施した。アンケートの回答は主治医にお願いし、施設名および患者名を記号化し、個人が特定されないようにするなどプライバシーについては十分な配慮を行った。なお、このアンケート自体は2001年に実施された。統計解析はSPSSを用いた。

1. 母親についてのアンケート項目

- ・年齢
- ・既往歴: 妊娠分娩歴、輸血歴、肝炎歴
- ・肝機能: AST値、ALT値、HCV抗体、HCVRNA(PCR法)、HCVブランチ法、HCVRNA・PCR定量、HCVゲノタイプ
- ・今回の妊娠経過: 不妊治療、喫煙、飲酒、経腹的穿刺術(羊水穿刺・臍帯血管穿刺等)、妊娠中毒症、前期破水、絨毛膜下血腫、GBS(B群溶連菌)、HTLV-1、妊娠中の異常(切迫流早産等)
- ・今回の分娩経過: 分娩日時、分娩週数、分娩様式、分娩誘発、分娩所要時間、破水日時、臍帯クラン

プの時期、会陰裂傷・会陰切開、胎盤(大きさ・重さ、切開沈着、白色梗塞、臍帯付着部位、卵膜の性状)

- ・家族の肝疾患歴(特にC型肝炎)

- ・その他

2. 児についてのアンケート項目

- ・HCV感染の有無

- ・出生時の状況: 出生年月日、出生体重、在胎週数、アプガースコア、黄疸

- ・発達の異常

- ・母乳授乳の有無

- ・出生後から最近までの検査値:

- 白血球数、赤血球数、血小板数、ヘモグロビン値、ビリルビン値、AST値、ALT値

- HCVRNA抗体価、HCVRNA(定性及び定量)

- ・治療: インターフェロン治療の有無と内容

- ・その他

C. 研究結果

HCV母子感染のリスクファクターを表1に母親の側についてまとめた。表から明らかなように、年齢、肝炎歴の有無、妊娠中の肝機能異常の有無、破水から分娩までの所要時間などについては、感染群と非感染群で差は認められなかった。妊娠中毒症は逆に非感染群に多かった。一方、母体のウイルス量が多いほど母子感染の確率は高く、ブランチ法でウイルス量が5meq以上や、10⁶copy以上の例では有意に感染しやすいことが明らかとなった。

その他、重要な点として、母親のウイルスゲノタイプによる児への感染の頻度には差を認めなかった(表2)。また、帝王切開が母子感染を防げるか否かは重要な課題であるが、今回の検討の中では有意な差は認められなかった(表3)。ただし、今回の帝王切開例は緊急帝王切開が多く、予定帝王切開によっては感染を予防しようとの報告もある。

母乳授乳が感染に与える影響については、表4に

示すごとく有意な差は認められなかった。

その他、小児の側の感染のリスクファクターについては、表 5 にまとめた。感染が成立した児においては、生後 3 ヶ月～12 ヶ月に sGPT が有意に上昇を示した (表 5 及び図 3)。

小児の側から見た興味深い点として、表 6 に示したごとく第 1 子の感染の有無が必ずしも第 2 子以降の感染の成立に関係しないという点である。つまり、第 1 子が非感染であっても第 2 子以降は感染の危険性は同じ確率で残るということであり、B 型肝炎ウイルスの母子感染の場合、第 1 子が最も感染の確率が高く、第 2 子以降感染率が漸減していくこととは全く異なる結果が得られた。感染した児の中で、持続感染は 32 例、一過性感染は 18 例であり、図 2 に示すごとく持続感染例では 6 ヶ月～12 ヶ月の間に多くの例でウイルスの消失が見られる一方、24 ヶ月まで陽性が持続した症例もあった。

D. 考察

1989 年に C 型肝炎ウイルスの発見が報告され、その後の検査体制の整備により、今日では HCV による輸血後肝炎はほとんど姿を消したとあってよい。その中で、HCV 陽性の母親から生まれた児への垂直感染は、頻度は高くないものの、現在残る最大の感染ルートとなっている。母子感染の感染経路は不明であり、現在のところ病態も明らかでなく、有効な予防方法は確立していない。近年、輸血以外の HCV 感染について社会的関心が高まってきており、母子感染の生ずる HCV のリスクファクターを明確にし、予防方法の確立と母乳禁止の必要性や帝王切開の選択などが本当に必要であるかを確認することは、社会的にみてもきわめて重要である。今回の結果から、母体側と児の側から考察すると、

1. 母体について

母親の輸血歴、肝炎歴ともに感染群、非感染群において有意差は認められず、輸血歴、肝炎歴がなく

でも母子感染は減少しないことがわかった。不妊治療、喫煙、絨毛膜下血腫の既往、前期破水の既往、切迫流産の既往のいずれにおいても感染群、非感染群の間に有意差は認められなかった。妊娠中毒症および切迫流産の既往がリスクになる可能性を報告しているものもあるが、この報告では症例数が少なく、今回の我々の結果では妊娠中毒症は逆に非感染例が多く、リスクとはならなかった。この点は今後も検討していく必要がある。

胎盤については、胎盤重量は母子感染成立に関連しないとの従来の報告と同様であり、胎盤の重さに有意差は認められなかった。その他、胎盤の大きさ、石灰沈着の有無、白色梗塞の有無、臍帯付着部位、卵膜の性状においても明確な有意差は認められなかった。

妊娠中の母親の HCV-RNA の有無については、感染群 42 例、非感染群 33 例についてデータが得られた。感染群は全例 HCV-RNA 陽性であり、非感染群は 25 例が陽性であり、有意差が認められた ($P=0.001$)。HCV-RNA 陰性妊婦からの母子感染は認められていない。HCV ブランチ法については、HCV ブランチ法 5Meq/ml 以上、5Meq/ml 未満でみると有意に 5Meq/ml 以上に感染しやすい傾向が見られた ($P=0.03$)。HCV-PCR 定量では、HCV-PCR 定量 10^6 コピー/ml 以上で有意に感染しやすく ($P=0.018$)、ウイルス量が多い程、感染する頻度が高い。一方、今回の我々の調査では、感染群の HCV-RNA 量が少なくても感染している例も認められた。これは HCV-RNA 量が変動しやすいこと、測定時期が症例 (病院) により統一されていないこと、RNA 量以外の因子も関連している可能性があることによると考えられた。

母親の HCV ゲノタイプは 1b、2a、2b の 3 種類が認められた。感染群はそれぞれ 20 例、5 例、4 例であり、非感染群はそれぞれ 8 例、1 例、1 例であり、両群に全く有意差は認められず、ゲノタイプ 1b は、ハイリスク

ではなかった。(P=0.409)。

HCV 母子感染経路としては経胎盤感染(子宮内感染)、および経産道感染と出生後に母乳などから感染する感染経路が推定される。

母乳による感染は無いとの報告がある。一方、母乳投与が感染因子になる可能性を報告しているものもあり、母乳からの垂直感染を危惧し、HCV 陽性の母親の母乳を禁止している施設も存在する。今回の調査では、母乳投与のあったものは感染群 45 例中 40 例(88.8%)、非感染群 77 例中 62 例(80.5%)であり、有意差を認めず、母乳投与は危険因子とは考えにくい。

分娩様式では、帝王切開より経膣分娩の方が母子感染の確立が高いとの報告があり、また、Spencer らは、破水から分娩までの時間が長時間であると母子感染率が高いと報告しており、経産道感染も示唆されている。しかし、我々の調査結果では、破水から分娩までの時間では、感染群に逆に短い傾向がみられた。今回、帝王切開では 21 例中 6 例(28.6%)が感染し、経膣分娩では 90 例中 39 例(43.3%)が感染し、やや経膣分娩に感染率が高い傾向があるものの、帝王切開と経膣分娩の間には有意差は認められなかった。このことより、経産道感染は主要な感染経路としては考え難く、むしろ出生前の経胎盤感染が示唆された。母子感染例の多くが生後早期に HCV-RNA が陽性化することや、臍帯血内に HCV-RNA が存在する報告もこれらの仮説を支持している。

ヒト免疫不全ウイルス(HIV)では、35 週以降の母体-胎児間の血液リークによる母子感染が存在し、在胎 34-35 週に予定帝王切開を行うことにより、母子感染率が減少するといわれている。今回の我々の結果、すなわち(1)帝王切開で必ずしも感染が防げないこと、(2)分娩時の異常が感染率の増加につながっていないこと、(3)母体血中のウイルス量が多いほど感染しやすいこと、(4)母乳は感染源とはならないことから、HIV 同様、出生数週間前に起きる母体血の胎児

へのリークが児への感染をおこしている可能性が高い。ただし、今回 34 週に帝王切開をおこなった例での母子感染も認められており、母体血中ウイルス量や母子間の血液リークの量等、他のリスクの存在も無視できない。今後、症例を増やし、さらなる検討が必要である。

2 小児について

小児の同胞において、第一子が感染している場合に第二子以降が感染する確立は 42.8%、第一子が感染していない場合に第二子以降が感染する確立は 41.9%であり、ほぼ同じであった。HBV の場合、ウイルスキャリアとしての年齢が経るに従い、ウイルス量が減少する。そのため、第二子以降の感染の確立は減少する。一方、興味深いことにHCVでは、今回の調査より、第二子以降の母子感染の確立は、第一子のそれとほぼ同じであり、後続児の方が感染率が低くなる傾向は認められなかった。そのため、第一子が非感染であったとしても、第二子以降の感染率は同じで、同様のフォローが必要と思われる。

在胎週数、出生時体重、アプガースコア、黄疸、発達異常ともに感染群、非感染群の間に有意差は認められず、出生時およびその後の経過で感染児に特徴的な異常は認められなかった。一般に、小児、特に新生児期、乳幼児期の HCV 感染は無症状であり、そのため、HCV 母子感染の早期診断には、肝機能検査、HCV抗体検査、PCR等、血液検査が必要となってくる。

今回の調査では、感染児の約 2/3 は持続感染、約 1/3 は一過性感染であった。これは以前の厚生省母子感染研究班の報告と一致する。これら感染例の多くは生後 3-6 ヶ月までにPCRが陽性化した。早い児では生後 0 ヶ月から陽性になっており、生後3ヶ月及び6ヶ月では 80%以上の児が陽性となっていた。一過性感染群の PCR は生後 6 ヶ月で 30%、1 歳で 77%が陰性化した。ただし、2 歳まで陽性が持続した

症例もある。これらのことより、HCV 母子感染の診断には、生後3ヶ月及び6ヶ月時のHCV-RNA検査が重要である。また、1歳以降にPCRが陽転した報告もあり、生後3ヶ月及び6ヶ月時のHCV-RNA検査が陰性であっても、その後の継続的観察が必要である。

非感染群のHCV移行抗体については、生後2歳以内に1例を除き全例HCV抗体が陰性化し、生後約7ヶ月で50%の児が陰性化、1歳ではほぼ全例が陰性化した。1歳以降に陽性が持続する場合は、PCRとともに引き続き経過観察が必要であろう。

感染群のALTは、特に3ヶ月、6ヶ月、1歳の感染群において明らかに有意な上昇が見られた。実際の診察上、前述のPCRの結果は、しばしば結果の報告が遅れることがある。一般的外来受診時、特に3ヶ月または6ヶ月時にGPT高値が認められたとしたら、その時点でHCV母子感染の可能性を疑い、その後の治療への方向付けができる。

以上のことから、HCVキャリア母体から出生した児は定期的な観察が重要である。具体的には、肝機能検査、HCV抗体検査、PCRを少なくとも1歳くらいまでは3ヶ月毎、1歳以降は6ヶ月毎に観察すると良いと思われる。この間にGOTやGPTが高値を示したり、HCV抗体が陰性化したり、PCRが陽転または陰転することがある。この際、1回の検査でHCV-RNAが陰性化しても、それはHCVが消失したとは限らず、ウイルスが感度以下になった可能性もあるので、抗体陰性が持続し、かつ、PCR陰性が持続するまで、引き続き観察が必要であろう。

以上、今後さらに症例を増やし、解析を続ける必要がある。

E. 結論

C型肝炎ウイルス(HCV)の母子感染のリスクについて、ケースコントロールスタディを実施した。母子感染のリスクファクターとして、母体の血中のウイルス量が重要であった。一方、母親の輸血歴、肝炎

歴、妊娠中の肝機能の上昇、妊娠分娩中の異常、母親のHCVゲノタイプなどは母子感染率の上昇には関連が認められなかった。母乳授乳や帝王切開の実施も感染率に関連は認められなかった。ただし、帝王切開については今回の症例は緊急帝王切開を多く含んでいた。

小児については、感染例の中で持続感染例と一過性感染例が約2:1の割合で認められた。いずれも生後3-12ヶ月の間に血中のPCRが陽性となり、その時期に一致して肝機能(ALT)の上昇が認められた。非感染例では、母親からの移行抗体は6-12ヶ月で急速に低下し、陰性化した。一過性感染例の多くは12ヶ月までに血中PCRが陰転化した。兄弟によるHCVの母子感染率には差がなく、従って第一子が感染がなかったとって第二子以降のフォローアップを怠ってはならないと考えられた。

今後、さらに症例を加え、リスクファクターについてより明確にしていきたい。

F. 健康危惧情報

今回の研究からは、特に緊急に報告を必要とする健康危惧情報は含まれていないと考えられた。

G. 研究発表

1. Long-term virological response and growth rate of children with chronic hepatitis C who received natural interferon- α .

Shiraki K, Morishima T, Terasawa S, Koike M, Fujisawa T, Tajiri H.

Eur Pediatr.2002;161:629-630.

2. Severe hepatitis caused by Epstein-Barr virus without infection of hepatocytes.

Kimura H, Nagasaka T, Hoshino Y, Hayashi N, Tanaka N, Xu JL, Kuzushima K and Morishima T.