

また持続感染例で生後早期より高い量のHCV-RNAが検出されたことは、分娩時の母児間移行ウイルス量が多かったものと推察された。これに対し、自然消失例では、経過中のウイルス量は少なく3歳までに全例陰性化しており、自然消失を辿る児の一つの所見と考えられた。

児学会 2003年7月

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

#### E. 結論

1) HCV-RNA陽性母親での感染率7.5%であった。

2) 妊娠時および分娩時における有意な感染危険因子は認めなかった。

3) 3歳以降の症例で自然寛解例は50%で、ウイルス量は低値で推移した。一方、持続感染例においては、ウイルスは早い時期より陽性化し、高ウイルス量である傾向がみられた。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

(論文発表)

大戸 斉、氏家 二郎、有賀 裕道、石井 勉、藤森 敬也、大川 敏昭、佐藤 章. ウイルス母子感染: 母子間輸血現象からの機序と感染予防. 日本新生児学会雑誌, 39:596-600, 2003

(学会発表)

石井 勉、大戸 斉、杉山 誠治、河原田 勉、有賀 裕道、平井 滋、氏家 二郎. C型肝炎ウイルス(HCV)の超可変領域における変異に関する検討—母子感染をきたした2症例における観察—  
母子感染 2症例でのC型肝炎ウイルス超可変領域における変異に関する検討. 第39回日本新生

表1 分娩時期

	満期産	早期産
非感染群 n=58	51 (87.9%)	7 (12.1%)
感染群 n=8	7 (87.5%)	1 (12.5%)

有意差無し(P=0.66)

表2 在胎週数

	在胎週数(週)
非感染群 n=58	38.7 (30.1~41.3)
感染群 n=8	39.7 (35.9~41.0)

有意差なし(P=0.45)

表3 分娩様式

	経膈分娩	待期的 帝王切開	緊急 帝王切開
非感染群 n=58	43 (74.1%)	6 (10.3%)	9 (15.5%)
感染群 n=8	6 (75%)	2 (25%)	0 (0%)

有意差なし(P=0.547)

表4 分娩時間\*

	分娩時間(時間)
非感染群 n=43*	7.60±0.84 (0.78~26.2)
感染群 n=4 §	7.17±3.2 (4.1~10.1)

有意差なし(P=0.24)

※陣痛発来から児娩出まで

\* 経膈分娩のみ § 経膈6例のうち2例は時間不明

表5 出血量\*

	出血量(ml)
非感染群 n=41*	385.3±44.5 (90~1614)
感染群 n=4 §	309.8±50.4 (220~410)

有意差なし(P=0.72)

※陣痛発来から児娩出まで \* 経膈分娩43例中2例は不明 § 経膈6例のうち2例は時間不明

表6 流早産徴候\*

	有り	無し
非感染群 n=58	18 (31.0%)	40 (69.0%)
感染群 n=8	2 (25.0%)	6 (75.0%)

有意差なし(P=0.542)

※流早産徴候: 子宮収縮抑制剤の投与(内服、静注)を受けたもの

表7 妊娠中毒症

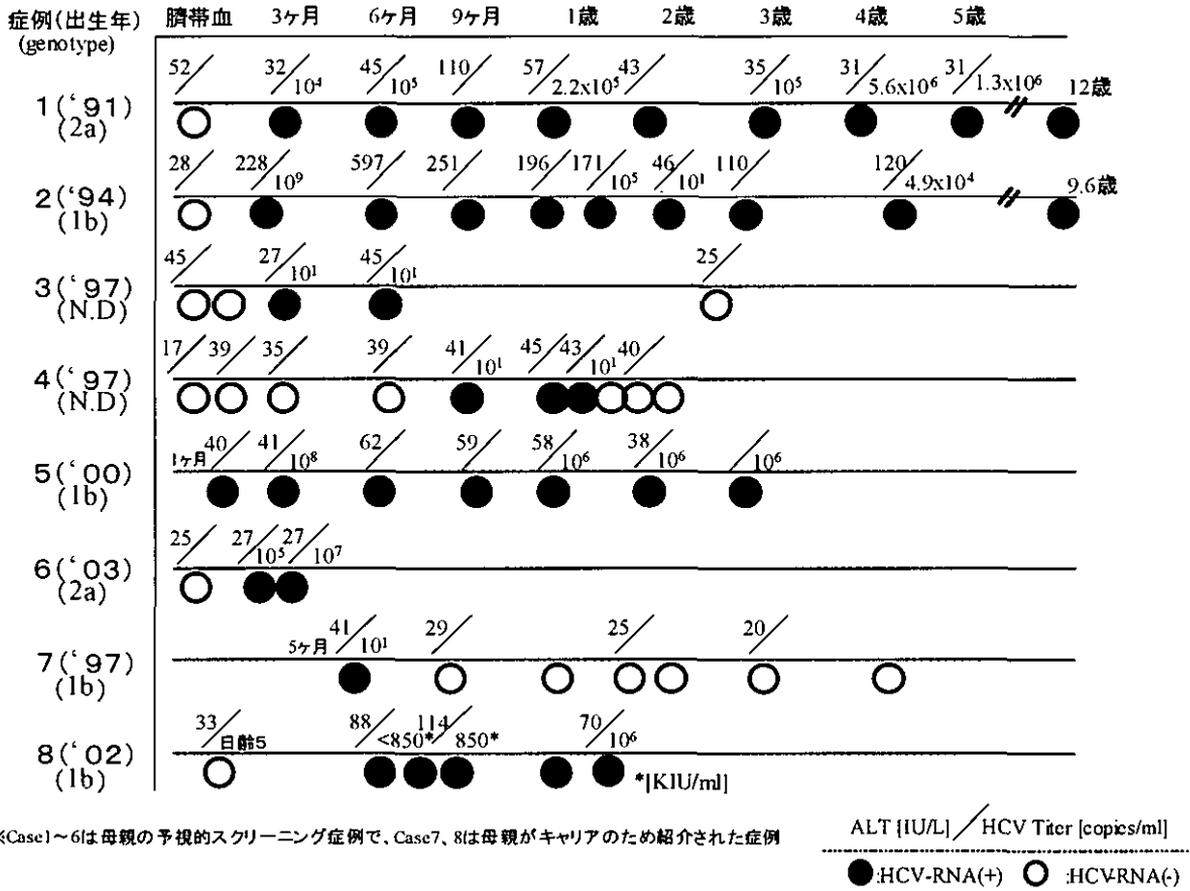
	有り	無し
非感染群 n=58	12 (31.0%)	46 (69.0%)
感染群 n=8	0 (0.0%)	8 (100.0%)

有意差無し(P=0.181)

表8 胎盤剥離徴候

	有り	無し
非感染群 n=58	0 (0%)	58 (100%)
感染群 n=8	0 (0%)	8 (100%)

図1 感染した児のALTおよびHCV-RNAの推移



※Case1~6は母親の予視的スクリーニング症例で、Case7、8は母親がキャリアのため紹介された症例

HCV 母子感染リスク因子について  
—特に G 型肝炎ウイルス母子感染と比較して—

分担研究者 獨協医科大学 産科婦人科学教室 稲葉憲之

協力研究者 同 大島教子、西川正能、渡辺 博

A. 研究の目的

同じフラビウイルス科に属する二種の肝炎関連ウイルス、HCV と G 型肝炎ウイルス(HGV:GBV-C)は 24.9%の遺伝子相同性を有するが、各々その病理病原性は異なると考えられている。これら二種のフラビウイルスの母子感染率、感染様式、リスク因子、キャリア化児の肝機能、予後及びキャリア母の肝機能・予後について調べ、その差異を明らかにすると共に HCV 母子感染予防対策立案に寄与する。

B. 研究の背景およびこれまでの研究成果の概要

1995 年に同定された新たな肝炎関連ウイルス、HGV は HCV と同じフラビウイルス科に属する RNA ウイルスであるが、HCV 同様母子感染を生ずることが判明している。

当科では、非 HIV/IVDU (intravenous drug users) 妊婦 1365 名に HCV-RNA 検査を行い、9 名(0.7%)の陽性者を得た。これに他施設から紹介された HCV キャリア妊婦 69 名を加えた計 78 名の HCV キャリア妊婦からの出生児 105 名を 6-72 ヶ月間定期的にフォローアップし、HCV の母子感染の自然史を調査した。105 名中 10 名(9.5%)が少なくとも 6 ヶ月間血中に持続して

HCV RNA が検出可能で、9 名は生後 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ことが強く示唆された。これら 10 名のキャリア化児中 6 名(60.0%)が肝機能異常(sALT > 110mIU/ml)を呈し、4 名(40.0%)が脱キャリア化したが、1 名は一旦陰性化後再び HCV RNA 持続陽性となった。以上より、HCV は母が非 HIV/IVDU キャリアでは母子感染率は低く、キャリア化児の 30%は脱キャリア化することが示された。

また非 HIV/IVDU 妊婦 3738 名に、HGV-RNA 検査を行い 24 名(0.6%)の陽性者を得た。これらキャリアからの出生児 14 名を 6-44 ヶ月間定期的にフォローアップし、HCV と同様に母子感染の自然史を調査した。14 名中 9 名(66.7%)が 6 ヶ月以上持続して血中に HGV-RNA が検出可能で、4 名(44.4%)は 1 ヶ月以内に陽転した。残りの 5 名も 3 ヶ月以内に HGV-RNA 陽性となり、児の陽転時期より、HCV 同様、胎内、あるいは産道感染が強く示唆される結果であった。HGV 母子感染では、症例が少ないながら、分娩前の母体血中ウイルス量に相関する傾向がうかがわれた。また、これら 9

名のキャリア化児中わずかに1名(11.1%)の児が肝機能異常(sALT>110mIU/ml)を呈したが、HCVとの重複キャリア児であった。

これに対し、妊婦血清中のHCVウイルス量を測定し得た例について母子感染との関連を調べたが、非感染例には、ウイルス量が低いものが多く見られるが、ほぼ同様のウイルス量(50~60KIU/lm)で感染例もあり、現在の検討では母体血中のウイルス量と母子感染に明らかな関連は見られなかった。

HGVではHCVに比して有意に母子感染率が高く、脱キャリア化児も現在まで確認されていない。HGVの肝病原性の詳細は尚不明であるが、同じフラビウイルス科に属するHCVとHGVでは母子感染においても差異があることが判明するに至った。

HCV、HGVいずれにおいても、帝王切開での分娩では母子感染は見られなかった(HCVにおいてもそのほとんどが陣痛発来後の帝王切開である)。厚生労働省の班研究においても帝王切開における母体の死亡率は、経膣分娩におけるその8倍に達することがわかっており、帝王切開の選択は、産科的適応によるべきであると考えられる。

### c. 研究の意義

本研究は、同じフラビウイルス科に属する二種の肝炎関連ウイルス、HCVとHGVの母子感染自然史について比較検討し、その差異を明らかにし、両者の臨床的インパクトを検証するものである。また、分娩前の母体血中ウイルス量、ウイルスゲノタイプ、母体分娩前肝炎発症の有無、分娩様式、母乳栄養など、母子感染のリスクファクターの解析と児の長期予後についても明らかにした。

表1 母子感染の有無と母体血中のウイルス量および分娩様式

	ウイルス量 (KIU/ml)	分娩様式	ウイルス量 (KIU/ml)	分娩様式
母子感染あり				
CASE 1	60.2	NSD		
CASE 2	670.0	NSD		
CASE 3	880.0	NSD		
CASE 4	56.9	NSD		
母子感染なし				
CASE 5	4.1	NSD	CASE14	850.0 NSD
CASE 6	220.0	NSD	CASE15	8.8 NSD
CASE 7	16.7	NSD	CASE16	420.0 NSD
CASE 8	1600.0	緊急C/S	CASE17	140.0 緊急C/S
CASE 9	200.7	NSD	CASE18	270.0 緊急C/S
CASE10	51.3	NSD	CASE19	34.6 C/S
CASE11	24.5	NSD	CASE20	580.0 NSD
CASE12	3.5	NSD	CASE21	0.5 NSD
CASE13	0.1	NSD		

ウイルス量は Meq/ml、Kcopy/mlをKIU/mlに換算した。

表2 HGV母子感染の有無と母体血中のウイルス量および分娩様式

	ウイルス量 (copies/ml)	分娩様式	備考
母子感染あり			
CASE 1	$3.4 \times 10^8$	NSD	母体 HCV-RNA (+) : 児はHGV単独感染
CASE 2	$1.0 \times 10^9$	NSD	母体 HCV-RNA (+) : 児はHCVと混合感染
CASE 3	$7.6 \times 10^8$	NSD	
CASE 4	$1.0 \times 10^9$	NSD	母体 HCV-RNA (-), Ab (+) : 児はHGV単独感染
CASE 5	$7.4 \times 10^7$	NSD	
CASE 6	$3.9 \times 10^8$	NSD	
CASE 7	$5.7 \times 10^7$	NSD	母体はCASE1と同一, インターフェロン治療後でHCV-RNA (-)
CASE 8	$5.0 \times 10^8$	NSD	
CASE 9	$3.6 \times 10^8$	NSD	
母子感染なし			
CASE 10	$2.0 \times 10^4$	NSD	母体 HCV-RNA (+) : 児はHCVも (-)
CASE 11	$1.0 \times 10^9$	C/S	前回 C/S 今回PROM後2日陣発せず
CASE 12	$1.0 \times 10^9$	NSD	
CASE 13	$1.0 \times 10^9$	C/S	母体 連合弁膜症 (予定C/S)
CASE 14	$2.0 \times 10^3$	NSD	

図1 母子垂直感染と母体血中のHCVウイルス量

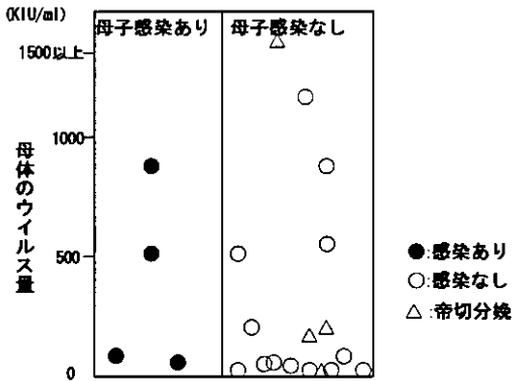


図2 母子垂直感染と母体血中のHGVウイルス量

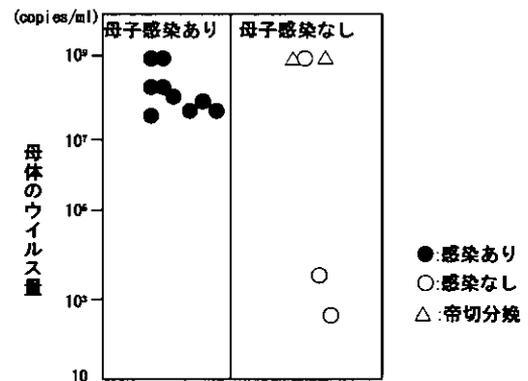


図3 出生児におけるHGV-RNA検出

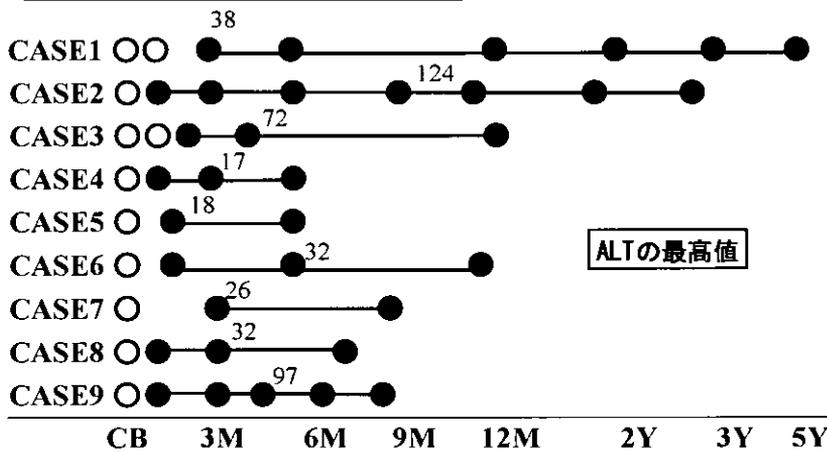


表3 HCV母子感染とキャリア母HCVゲノタイプ

Infants	(n)	キャリア母HCVゲノタイプ (%)					nd
		1A	1B	2A	2B	その他	
出生児の分布	(105)	3(2.9)	36(34.3)	25(23.8)	13(12.4)	3(2.9)	25(23.8)
キャリア化児	(10)	1(33.3)*	3(8.3)*	6(24.0)*	—	—	

\* : ns

表4 HCV、HGV母子感染

(児キャリア化率、HCV RNA陽転時期、脱キャリア化率)

	n	期間	キャリア化率(%)	陽転時期	肝機能異常率*	脱キャリア化
HCV	105	6-72M	10(9.5%)	CB-3M	6(60.0%)	3(33.3%)
HGV	14	6-44M	9(64.3%)	1-3M	1+(11.1%)	0(0%)

M : months、CB : cord blood \* : sALT 110IU/l以上

+: HCV,HGV混合感染

## 当院における HCV 母子感染統計：分娩様式と母体ウイルス量の検討

分担研究者 筑波大学臨床医学系小児科 松井 陽  
研究協力者 同上 須磨崎 亮, 長谷川 誠

研究要旨：C 型肝炎ウイルス (HCV) 母子感染の感染経路は胎内および産道感染が主と考えられている。母子感染成立のリスク因子として、分娩時の母体の高ウイルス量 ( $10^6$  copy/ml 以上) が知られているが、その他の胎内および産道感染に関わるリスク因子は明らかになっていないのが現状である。出産前 1 カ月以内～出産後 1 週間以内の母体 HCV-RNA が定量されている妊婦から出生した児 8 例の検討では、予定帝王切開例 2 例中 2 例で母子感染は成立せず、経膈分娩 6 例中 1 例で感染成立した。しかし、分娩前後に HCV-RNA が定量されていない妊婦も対象にして検討したところ、予定帝王切開例でも 1 例が感染成立しており、妊娠・分娩経過の違いと感染成立との間に明らかな関係は見出されなかった。当院の母子感染成立例の現況は、HCV-RNA 5 Meq/ml 以上でセロタイプは group 1 が多く、従来のインターフェロンの効果は確かでない症例が多いことが示唆された。予定帝王切開により実際に母子感染リスクを軽減できる程度を示すことは難しく、また、HCV 母子感染例の治療法も現在変化しつつあることを考えると、HCV 母子感染防止策の 1 つとしての予定帝王切開術の選択には慎重な姿勢が必要である。

### A. 研究目的

C 型肝炎ウイルス (HCV) 母子感染の感染経路は胎内および産道感染が主と考えられている。母子感染成立のリスク因子として、分娩時の母体の高ウイルス量 ( $10^6$  copy/ml 以上) がよく知られているが、その他の胎内および産道感染に関わるリスク因子は明らかになっていないのが現状である。

HCV-RNA 検査が可能となってからまだ約 8 年の経過であり、単独施設における数少ない症例の検討からリスク因子を明らかにすることには限界があるが、今年度は、これまでの当院における HCV 母子感染と分娩様式、母体ウイルス量の関係について臨床データを収集し検討を行っ

た。

### B. 研究方法

#### 1 予定帝王切開、母体 HCV-RNA 量の母子感染成立への影響に関する検討

分娩時期の前後で HCV-RNA 定量検査が行われ HCV-RNA 陽性が確認された妊婦において、予定帝王切開、母体 HCV-RNA 量の母子感染成立への影響に関する検討を行った。

当院では現在、妊婦全例に HCV 抗体および HIV 抗体を検査している。HCV-RNA 検査は、1996 年から HCV-RNA 定量分岐プローブ法(カイロン社、クオンティプレックス)が行われるようになった。1997 年から

PCR 定性(ロシユ、コバスアンプリコア)、1998 年から PCR 定量(ロシユ、アンプリコア HCV モニター)が行われるようになった。

1996 年から 2003 年までの、HCV キャリア妊婦は 29 例で、診療記録をもとに、母体 HCV-RNA 量と母子感染成立の有無について確認した。

対象は、出産前 1 か月以内～出産後 1 週間以内の HCV RNA が定量されている妊婦から出生した児とした。また児の感染は生後 6 か月以内に HCV RNA 陽性となり、陽性その後少なくとも 1 回以上確認されたものとした。当院では、0、1、3、6、9、12 か月で児の HCV-RNA の検査を行なっている。なお、母の HIV 抗体は全例で陰性であった。

#### <調査項目>

- ・陣痛発来前に帝王切開分娩した症例のうち、
  - 1) 児に感染が起こったものの数および各症例の母体の HCV RNA 量
  - 2) 児に感染が起こらなかったものの数および各症例の母体の HCV RNA 量
- ・陣痛発来後に帝王切開分娩した症例のうち、
  - 1) 児に感染が起こったものの数および各症例の母体の HCV RNA 量
  - 2) 児に感染が起こらなかったものの数および各症例の母体の HCV RNA 量
- ・経膣分娩した症例のうち、
  - 1) 児に感染が起こったものの数および各症例の母体の HCV RNA 量
  - 2) 児に感染が起こらなかったものの数および各症例の母体の HCV RNA 量

#### 2 分娩経過および分娩時 HCV-RNA 量と HCV 母子感染成立の有無の関係についての検討

母体の分娩経過、分娩時 HCV-RNA 量と、HCV 母子感染成立の有無との関係について検討した。対象は、当院出生例または他院で出生し紹介された症例で、母体の分娩経過、分娩時 HCV-RNA 量について記録のある症例である。分娩経過のデータは、在胎週数、出生体重、切迫流早産、会陰裂傷、前期破水、分娩方法、分娩時間、出血量を調べた。予定帝王切

開術は、陣痛発来前に行われたものと定義した。

#### 3 当院で管理している母子感染成立例のまとめ

当院でフォローしている HCV 母子感染成立例の、最近6か月間の ALT 値、HCV-RNA 量、についてまとめ、HCV 母子感染症例における治療の適応について検討した。

(倫理面への配慮)

症例の解析において個人を特定できるような情報は絶対に外部に漏れないようにした。

#### C. 研究結果

##### 1 予定帝王切開、母体 HCV-RNA 量の母子感染成立への影響に関する検討

出産前 1 か月以内～出産後 1 週間以内の HCV RNA が定量されている妊婦から出生した児は8例あった。

・陣痛発来前に帝王切開分娩した症例 2 例

1) 児に感染が起こったものの数 0 例

2) 児に感染が起こらなかったものの数 2 例

(2 例は、1 人の母から出生した二卵性双胎児例であり、症例の母は、輸血歴なし、薬物乱用歴なし。在胎 37 週 1 日で出生。分娩 1 週間後の母の HCV RNA 量 4.8 Meq/ml。2 例ともに、出生時の静脈血採血で HCV RNA 定性は陽性であったが、生後 1、3、6、9 か月の HCV RNA 定性は陰性であった。)

・陣痛発来後に帝王切開分娩した症例 0 例

・経膣分娩した症例 6 例

1) 児に感染が起こったものの数 1 例

症例の母は薬物乱用歴あり。在胎 37 週 1 日で出生した(第 1 子)。第 2、3 子は経膣分娩であったが、母子感染しなかった。分娩 3 日後の母の HCV RNA 量 2.7 Meq/ml (分岐プローブ法)、セロタイプは GROUP 1。児は出生時

の静脈血採血で HCV RNA 定性は陰性であったが、生後3か月の HCV RNA 量 31 Meq/ml。  
2歳11か月の HCV RNA 量 9.3 Meq/ml。

2) 児に感染が起こらなかったものの数 5例

各症例の母の HCV RNA 量は、

4.9 Meq/ml,

1.5 Meq/ml,

>200kIU/ml(測定上限超え),

>200kIU/ml(測定上限超え),

268 kcopy/ml

### 2 HCV 母子感染の有無と、母体の分娩経過および分娩時 HCV-RNA 量の関係についての検討

分娩経過の判明している症例は、感染例 3 例と感染不成立例 13 例で、これらの症例についてまとめた(表1)。感染例と感染不成立例の 2 グループの傾向をみてみると、41 週以降の出産、切迫流早産、会陰裂傷、前期破水(PROM)は、両グループにみられた。また、分娩遷延と明らかな胎児仮死の記載は感染不成立のグループのみにみられた。感染のリスクが比較的少ないと考えられている予定帝王切開は、感染したグループでも 1 例あり、陣痛発来前の帝王切開術が必ずしも感染を防ぎうるとは限らないことを示している。その他、リスクと考えられる胎児採血、羊水穿刺の既往、妊娠中毒症などは感染不成立のグループにも認められた。検討症例数が少なく、今回の調査で明らかな傾向もなかったため、統計学的な検討は行わなかった。

### 3 当院で管理している母子感染成立例のまとめ

現在、当院で経過観察している HCV 母子感染による持続感染症例は 7 例である。表2にまとめを示した。1例は 13 歳時に肝生検で F2/A2 であり、すでに IFN 治療(IFN $\beta$  連日 2 回投与の後に、IFN $\alpha$  を計 24 週間)が行われている。IFN 投与中は HCV-RNA は陰性化した。投与終了後すぐに HCV-RNA が再陽転し、1年後から ALT が再上昇した。5 Meq/ml 以上の高ウイルス量の例が多く、セロタイプは group

1であることを考慮すると、従来の IFN の効果は期待しがたい。しかも、ALT は正常か軽度の上昇しか示しておらず、IFN 療法の適応判断はむずかしい症例が多く、治療をせずに自然経過を観察している。

### D. 考察

当院における HCV 母子感染のデータをまとめた結果、母子感染成立のリスクについて次の2つの事実が浮かび上がった。

1 つは、1Meq/ml 以上の高ウイルス量でも母子感染成立しない症例も少なくないということが改めて明らかになった。反面、ウイルス量が低くても感染が成立している症例も 1 例認められた。それでは、母子感染に寄与する因子は何かというと、現段階では不明であり、おそらくは宿主の免疫に関わる要素やウイルス学的差異が大きいものと考えられる。

もう1 つは、HCV 母子感染防止策として有用と考えられつつある予定帝王切開が防止策として必ずしも絶対ではないということである。さらに、妊娠や分娩の異常と母子感染成立との間には明らかな関係は見出されなかった。確かに、予定帝王切開では母体から児への血液移行が少ないと報告されている。今回、母子感染成立した母体の HCV-RNA 量は不明であり、母から児へ移行したウイルスの量についてはこれ以上の考察はできない。

母子感染が成立した児は当院では 9 例あり、そのうち自然経過でウイルスが消失したのは 2 例である。持続感染している例のウイルス量、セロタイプを考慮すると、従来のインターフェロン(IFN)療法の効果はそれほど期待できないと考えられる。今後、PEG-IFN の導入により、こういった小児 HCV キャリアの治療効果を明らかにしつつ、適切な治療時期を模索する必要がある。

### E. 結論

当院のこれまでの診療記録をもとに、HCV 母子感染に関する母体側のリスク因子の検討を行った。母体 HCV-RNA 量が低ウイルス量でも持続感染が成立し

た例があり、感染に寄与する他の因子の存在が推定された。

近年、予定帝王切開が母子感染防止策の1つとして検討されているが、母親が分娩方法を選択するにあたっての医学的情報の提供に際し、大規模調査による経膈分娩、緊急帝王切開、予定帝王切開例のそれぞれにおける感染成立率はもちろんのこと、HCV 母子感染児の自然経過、治療への反応性について示すことができるように全国的なデータの蓄積が必要と考えた。

HCV キャリア妊婦および感染小児に対する指導マニュアルの作成に際して、分娩方法については上記のことを考慮し可能な限り正確な情報を伝え、また、母親に心理的な負担をかけず、育児支援をすることが必要である。

**F. 健康危険情報**

なし。

**G. 研究発表**

なし。

**H. 知的財産権の出願・登録状況**

なし。

表1

	在胎週数	出生体重	切迫 流早産	会陰 裂傷	PROM	胎児仮死 (臍帯血pH)	出産歴	分娩時間	分娩方法	出血量 (ml)	Apgar score	母体分娩時 HCV-RNA	serotype	備考
感染例														
1	38w4d	2879	-	-	-	n.a	初産		予定帝王切		8→9	不明	Group 1	胎児採血(36w)
2	39w5d	3205	-	+	+	7.301	初産	1h59m	経膣	125	9→10	124 kcopy/ml	Group 1	
3	37w1d	2640	+(25w)	-	-	7.47	初産	11h5m	経膣	160	8→9	2.7 Meq/ml	Group 1	
感染不成立例														
1	38w1d	2925	-	-	-	7.257	経産	2h11m	経膣	44	9→10	2.9 Meq/ml	不明	
2	38w6d	2995	-	-	-	7.251	経産	6h15m	経膣	10	9→9	2.0 Meq/ml	不明	
3	41w5d	3455	-	+	-	7.272	経産	5h42m	経膣	430	9→10	4.9 Meq/ml	Group 2	妊婦中毒症
4	37w5d	2765	-			7.252	経産		予定帝王切		8→9	1.9 Meq/ml	Group 1	
5	37w2d	2920	-			n.a	経産		予定帝王切		9→10	17 Meq/ml	Group 1	胎児採血(36w)
6	41w3d	3975	-	+	+	7.268	経産	12h6m	経膣	180	8→10	88 Meq/ml	不明	
7	40w2d	2850	+(34w)	+	-	7.221	初産	29h13m	経膣	80	7→9	1.5 Meq/ml	不明	
8	39w3d	3695	+(23w)	+	-	7.401	経産	3h47m	経膣	54	9→10	268 kcopy/ml	判定保留	羊水穿刺(15w)
9	40w6d	3240	-	+	-	7.34	経産	19h1m	経膣	42	9→10	7.1 Meq/ml	不明	母体AML
10	37w1d	2405	-			7.243	初産		予定帝王切		9→10	4.8 Meq/ml	不明	
11	37w1d	2210	-			7.206	初産		予定帝王切		8→10	4.8 Meq/ml	不明	
12	39w0d	3040	-	-	-	仮死あり	経産	5h50m	経膣	84	8→9	>200kIU/ml	不明	妊婦中毒症
13	33w2d	2150	+(32w)	-	+	7.33	初産	20h4m	経膣	41	8→9	>200kIU/ml	不明	

表2

現在年齢	性別	ALT (IU/l)	HCV-RNA	serotype	備考
16歳	M	80-160	高ウイルス量	Group 1	IFN治療歴あり
13歳	M	<40	高ウイルス量	Group 1	
8歳	F	<40	高ウイルス量	Group 1	
7歳	F	40-80	高ウイルス量	判定不能	
5歳	M	40-80	低ウイルス量	Group 1	
4歳	M	<40	高ウイルス量	Group 1	
2歳	F	40-80	高ウイルス量	Group 1	

\* 高ウイルス量: 5 Meq/ml 以上

## 小児 C 型慢性肝炎に対する PEG-IFN 療法(案)

分担研究者 国際医療福祉大学附属熱海病院 小児科 藤澤知雄  
協力研究者 同 小児科 乾あやの、十河 剛

### 【背景】

肝癌の約 95%は肝細胞由来であり、肝癌による年間死亡者は 3 万人を超えるといわれる。肝癌患者の約 70%が C 型肝炎ウイルス(HCV)の持続感染者である。HCV はどの年齢の初感染でも 70-80%は持続感染となる。C 型慢性肝炎は肝硬変を経て肝癌となり、非癌部は肝硬変である。小児期には肝硬変や肝癌発症例は極めて少ない。小児期の C 型慢性肝炎はゆっくりと進行し、成人になり急速に進展すると考えられる。成人に対して HCV を排除する治療法が確立すれば小児期に治療する意義は薄い。しかし、成人の C 型慢性肝炎の多くは難治であり単独 IFN 療法での著効率は約 30%である。一方、小児では同様の治療法でしかも基礎疾患に血液・悪性腫瘍のある患者を含めても著効率は約 50%と成人より優秀でかつ副作用は少ない。

2003 年 12 月より我が国でも PEG-IFN 療法が認可される。成人の著効率は従来の IFN 製剤より高く、かつ副作用も軽度とされている。そこで私たちは小児 C 型慢性肝炎の PEG-IFN の適応と投与方法を考案した。

### 【治療の対象】

① ALT 値が 6 か月以上にわたり異常高値

を示す(各施設の基準値上限を超す)。

- ② 投与前 6 か月以内に肝生検が施行され、慢性肝炎と診断されている。原則として肝硬変は除外する。
- ③ HCV RNA が陽性である。
- ④ 原則として投与開始より 2 週間は入院が可能である。

### 【除外の条件】

- ① 脂肪肝、薬剤性肝障害、自己免疫性肝炎、B 型慢性肝炎、EBV 感染、CMV 感染など C 型肝炎以外の肝機能異常を慎重に除外する。
- ② 好中球数減少( $1,500/\mu\text{l}$  未満)、血小板減少( $90,000/\mu\text{l}$  未満)、貧血( $\text{Hb}<10\text{g/dl}$ )の場合。
- ③ 重篤な合併症を有する場合。
- ④ その他、担当医師が対象として不相当と認めた場合。
- ⑤ 基礎疾患が血液・悪性腫瘍で完全寛解が得られていない場合。骨髄移植後は、同種骨髄移植であれば移植後 24 か月以内、自家骨髄移植後では 12 か月以内は PEG-IFN は投与しない。
- ⑥ 3 歳未満の乳幼児(本薬剤はベンジアル

コールを含有するため)。

- ⑦ コントロールされていない痙攣発作がある場合。
- ⑧ 重度の心障害の既往歴がある場合。

#### 治療方法

患者に PEG-IFN の治療の目的、方法、予測される効果と副作用を十分に説明し、文書で同意を得る。

#### 【使用薬剤】

PEG-IFN $\alpha$  2a Pegasys (ペガシス) 90  $\mu$ g、  
180  $\mu$ g

#### 【用法・用量】

PEG-IFN を 3  $\mu$ g/kg/回 (最大投与量 180  $\mu$ g/回) を 1 週間に 1 回皮下注、計 48 週間。投与量の端数は 10  $\mu$ g で切り上げる。

#### 【投与上の注意】

投与部位は、上腕、大腿、臀部など広範囲に求め、順序よく移動し、同一部位に短期間内に繰り返さない (従来の IFN 製剤より局所反応が強い)。

初回投与前には必要であればフリック試験を行う。従来の IFN 製剤よりインフルエンザ様症状は少ないが、症状がみられた場合はその時点でアセトアミノフェンを屯用してもよい。

投与後 2 週間までに血球系の減少がみられ、原則として 2 週間は入院とする。入院期間中は 2/週で末梢血液像を含む血算は最低限行う。その後 6-12 週までは減少が緩徐にみられることがある。3 週目からは外来投与が可能であり、遠方の

患者は適切な医療施設に紹介して連携しながら投与を続ける。外来で投与する場合はできるだけ患者の都合に合わせる。通常は学校から帰宅後、夕方に投与するか、土曜日の投与が望ましい。

#### 【投与中の検査と注意点】

肝機能 (AST、ALT、T-Bil、D-Bil、LDH、 $\gamma$ -GTP)、血算、腎機能 (BUN、Cre、場合によっては Ccr)、検尿を投与開始 2 週間目までは 2-3 回/週行い、3 週目以降は 1 回/週程度行う。血球系の減少は 2 週目までみられ、3 週目以降は下げ止まり、終了後回復することが多い。一応、白血球数 2,000/ $\mu$ l (好中球数 500/ $\mu$ l) 未満、血小板数 25,000/ $\mu$ l 未満、Hb 8.5g/dl 未満が投与中止の目安である。投与開始後にトランスアミナーゼ値が上昇する症例があるが、投与量の減量や中止する必要はない。

HCV RNA と HCV コア抗体は 4 週目までは 1 回/週、それ以降は 1 回/月で検査する。

HCV RNA 量など検査方法を統一する必要がある検査項目があるため、定期的に血清を保存しておく。

[Base line (投与直前)、投与後 4 週目、投与後 12 週目、投与後 24 週目、投与終了時 (投与後 48 週目)、投与終了後 4 週目 (投与後 52 週目)、投与終了後 24 週目 (投与後 72 週目)]

長期投与で起こりうる副作用には、蛋白尿、好中球減少による感染、自己免疫性疾患の誘発や増悪、甲状腺機能異常、心筋障害、脱毛、皮膚炎、生理不順、うつ病などが知られており、監視が必要 (小児では副作用は少ない) である。やむを得ない理由で PEG-IFN を中止する場合は、中断に

より急速に HCV が増殖 (リバウンド) する可能性はないので、漸減中止する必要はない。

テオフィリンの血中濃度を上昇させることが報告されているので、テオフィリン併用の患児では定期的にテオフィリン血中濃度を測定する。

#### 【効果判定】

48 週終了後に効果判定を行う。経過中に持続的に HCV RNA が陰性化していても PEG-IFN は終了しない。判定法は以下のように行う。

#### ウイルス学的基準

著効: PEG-IFN 終了後 6 か月後の HCV RNA 定性が陰性。

再燃: PEG-IFN 終了時の HCV RNA 定性が陰性で 6 か月以内に陽性化。

無効: PEG-IFN 終了時に HCV RNA 定性が陽性でそのまま持続。

#### 生化学的基準

著効: PEG-IFN 終了後 6 か月以上血清 ALT 値が持続的に正常。

注): HCV RNA 持続陰性を完全著効 (CR: Complete Response)

HCV RNA 陽性で血清 ALT 値が持続正常化を生化学的著効 (BR: Biochemical Response)

再燃: PEG-IFN 終了時血清 ALT 値は正常で 6 か月以内に再燃。

無効: PEG-IFN 終了時から血清 ALT 値が異常。

HCV 抗体陽性母より出生した児における母子感染成立要因の検討及び  
HCV 母子感染後、長期観察例における HCV E2 領域 hyper variable region の  
変異と多様性に関する検討

分担研究者	名古屋市立大学大学院 先天異常・新生児・小児医学 教授	戸蒔 創
共同研究者	名古屋市立大学大学院 医療情報部 助手	後藤 健之
共同研究者	名古屋市立大学大学院 先天異常・新生児・小児医学 院生	杉浦 時雄

### 研究要旨

当院及び関連病院にて HCV RNA 陽性、あるいは HCV 抗体高力価陽性の妊婦より出生し、その後の経過で HCV 感染の有無を観察可能であった41例に対し、分娩様式(予定帝王切開、緊急帝王切開、自然分娩)、授乳法、在体週数、出生時体重、母体の HCV RNA 量、出産後より RNA 測定時するまでの期間、検出された HCV の genotype あるいは serotype について評価した。今回の検討では母子感染率を上昇させる明らかな要因は認められなかったが、予定帝王切開例では母体のウイルス量にかかわらず1例も感染が成立した例はなかった。

長期観察し得た HCV 母子感染例から連続して採取した血清より抽出した HCV RNA から E2 遺伝子の RT-PCR を実施、サブクローニングの後、塩基配列の決定を行い、推定されるアミノ酸配列の経時的変化に関する検討した。母子間のウイルスの hyper variable region(HVR)の配列は、長期の経過により大きく変異していた。

#### A. 研究目的

成人における C 型肝炎ウイルス(HCV)感染の自然経過や各種の治療に対する効果は、症例数も多く精力的に研究され、新しい知見が明らかになってきているが、小児期の HCV 感染、特に母子感染に関する研究はそれほど多くなく、HCV の母子感染のリスクを評価し対処法や予防法を明らかにしていくことは重要な課題と考えられる。今回我々は、HCV RNA 陽性あるいは HCV 抗体高力価陽性妊婦より出生した児の HCV 母子感染成立に分娩様式、その

他がどのように影響しているのかについて調査検討した。

一方、母子感染が成立してしまった場合の児の経過については、未だ不明な点も多く、調査する事は極めて重要と考えられる。HCV は約 9400 個の塩基からなる一本鎖プラス鎖 RNA ウイルスであり、その構造からフラビウイルス科に分類される。持続感染が成立し、宿主からの排除を逃れる方法の1つとして、常にエンベロープ糖蛋白抗原が変化し多様性を持つ性質を有す、すなわち、エンベロープ糖蛋白

のアミノ酸配列の中でも特に変化しやすく多様性を認める領域の存在が知られており hyper variable region(HVR)と呼ばれる。母子感染例で、HVR の多様性の変化を長期にわたり観察した研究は少なく、今回我々は長期観察し得た HCV 母子感染例から連続して採取した血清より抽出した HCV RNA から E2 遺伝子の RT-PCR を実施しサブクローニング後、塩基配列の決定を行い、推定されるアミノ酸配列の経時的変化に関する検討を実施したので報告する。

#### 「HCV 抗体陽性母より出生した児における母子感染成立要因の検討」

### B. 研究方法

#### 1 調査対象

当院及び関連病院にて HCV RNA 陽性、あるいは HCV 抗体高力価陽性の妊婦より出生し、その後の経過で HCV 感染の有無を観察可能であった 41 例。

#### 2 検査方法

HCV RNA の定量は分岐 DNA プローブ法あるいは RT-PCR 法(定量法)を用いた。HCV 抗体の測定は、当院及び関連病院それぞれで実施されている方法が異なっているため、各施設で通常実施されている方法(RIA 法、EIA 法、CLEIA 法等)に従い評価した。

分娩様式と母子感染との関係を明らかにする目的で、41 例を分娩様式(予定帝王切開、緊急帝王切開、自然分娩)、児の感染の有無で分類し、それぞれの児の授乳法、在体週数、出生時体重、母体の HCV RNA 量、出産後より RNA 測定時するまでの期間、検出された HCV の genotype あるいは serotype についても評価した。

児は最低 6 ヶ月間経過を観察し、HCV 抗体

が完全に陰性化した場合を非感染例とした。一部の症例では RT-PCR 法(定性)で HCV RNA が陰性であることも加えて確認した。

### C. 研究結果

表1に結果を示す。一部過去の症例では母体の HCV RNA が全く測定されていなかったり、出産前後には HCV RNA 量が測定されておらず、最近になって初めて測定されている例もあった。母体の HCV RNA 量が測定されていた児は 41 例中 27 例だが、出産前のデータはなく、27 例中、出産後 6 ヶ月以内に測定されていたのは 15 例であった。

1) 予定帝王切開で出生した児には感染例は認められなかった。HCV RNA あるいは HCV 抗体高力価陽性で緊急帝王切開となった母体はなかった。

2) 在胎週数、出生児体重、栄養法ともに感染例と非感染例の間で明らかな特徴は認められなかった。

3) ウイルスのゲノタイプは測定されていない例がほとんどだったが、判明している例では感染例と非感染例との間に明確な傾向は認められなかった。

4) 母体の HCV RNA 量と HCV 母子感染の成立との間には明らかな関連は認められなかった。

5) 分娩経過に関しては非感染例中 1 例のみ鉗子分娩であった。その他は異常は認めなかった。分娩時間に関しては検討できなかった。

6) 母子感染成立例は女兒が多い傾向が認められた。

### D. 考察

HCV 母子感染の主な機序として分娩時あるいは子宮収縮時にウイルスを含んだ母体血が

児に移行する事により感染が成立すると考えられており、経膈分娩では母体血中の HCV RNA 量が多い程、あるいは移行した血液量が多いほど HCV 母子感染率が上昇するとされる。一方、子宮収縮がない状態での帝王切開(予定帝王切開)では、出産時に母児間の輸血が起こりにくく、HCV 母子感染は成立しにくいとされる。しかしながら今回の我々の検討では、母子感染が成立した児の母親の血清中ウイルス量は、成立しなかった児の母親のウイルス量より多い傾向は認められなかった。この理由として、対象となる例数が少なかった事、出産時ではなく出産数ヶ月後のウイルス量のため出産時点での正確な HCV 量を反映していない可能性が考えられた。一方、予定帝王切開例では、母体のウイルス量にかかわらず1例も HCV 母子感染が成立した例は認められなかったことは、上記の理由と矛盾しないと考えられた。分娩様式、栄養法、ウイルスゲノタイプ、出生時体重と HCV 母子感染との間には明らかな関係は認められなかった。母子感染成立例に女兒が多い傾向が認められたが、臨床的な意味は不明であった。今後も症例数を増して検討する必要があると考えられた。

「HCV 母子感染後、長期観察例における HCV E2 領域 *hyper variable region* の変異と多様性に関する検討」

## B. 研究方法

### 1 対象

対象は HCV 母子感染が成立しウイルス血症が持続している2家系2母子。Family 1 では4、9、12、30、114ヶ月、Family2 は162ヶ月時に母親及び児の血清中の HCV を調査した。

#### Family1.

妊娠中の母体の肝機能は正常。39週3日、2758g、正常分娩、初産で出生した女兒。母乳栄養。生後3ヶ月の時点で、肝機能障害を認め RT-PCR 法で HCV RNA 陽性を確認されている。児の生後よりの ALT 値、HCV RNA 量 (DNA プローブ法、RT-PCR 法)の推移を示す。(図1)3ヶ月~8ヶ月に ALT 値の異常 (>100 IU/l)が見られたが、その後は正常値が続いている。HCV RNA は持続して陽性であった。

#### Family2.

妊娠中の母体の肝機能は不明。40週、2920g、正常分娩、初産で出生の女兒。混合栄養。次子の出産の際、母親が HCV RNA 陽性であることが判明し、4歳7ヶ月時の検査で、児も HCV RNA 陽性であることを確認した。4歳時より ALT 値はほぼ正常値が続いている。8歳時に一過性の肝機能障害の既往があるが、HCV による肝炎か否かは明らかではなかった。(図2)

## 2 方法

### RNA 抽出と cDNA 合成

患者より血液を採取後、遠心し-30℃で凍結保存してあった血清を、検査時溶解し、tRNA をキャリアに用い acid-guanidine-phenol-chloroform method (AGCP 法)で RNA を抽出した。cDNA はランダムプライマーと SuperScript II reverse transcriptase (Life Technologies, Rockville, USA)を用いて、抽出した RNA より逆転写反応で合成した。

### PCR

PCR 法はプライマー 5'-CGC ATG GCA TGG GAC ATG AT-3'、5'-GGR GTG AAR CAA TAC ACY GG-3'、rTaq DNA polymerase (TAKARA、Otsu)、合成した

cDNA を用い denature、annealing、extension をそれぞれ 30 秒、30 秒、60 秒の 35 cycle で 1st PCR を実施した。その後、1st PCR 産物をテンプレートに使用して、プライマー 5'-GGG ACA TGA TGA TCA ACT GG-3'、5'-GTG AAR GAA TTC ACY GGG CCR CA-3' を用い 1st PCR と同条件、30cycle の nested PCR を実施した。PCR 産物はアガロースゲル上で電気泳動し UV 上で陽性バンドを確認した後、ゲルから切り出し QIAquick Gel Extraction Kit (QIAGEN KK, Tokyo) にて DNA を抽出した。

#### PCR サブクローニング

切り出した直後の PCR 産物を TAcloning kit (Invitrogen Corp., Carlsbad, CA, USA) を用い、添付のベクターに ligation し大腸菌に transformation した。LB プレート上にて培養後 Blue/White selection で選択した 5~10 コロニーを、液体培地で増幅し、増殖した大腸菌から Wizard Mini Column (Promega Corp., WI, USA) を用いベクターを抽出した。

#### シーケンス反応

抽出したベクターから BigDye Terminator Cycle Sequence Kit (Applied Biosystems, CA, USA) を用いて、シーケンス反応を実施し 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, CA, USA) を用いて塩基配列を決定後、HVR 1、2 のアミノ酸配列を推定し比較した。

### C. 研究結果

2 例における塩基配列の比較結果を表 2、3 に、分枝系統樹を図 1、2 に示す。

Family1 では、出産後 4 ヶ月の時点で母

親からのクローンの HVR 配列は大きく 4 タイプに分類されたが、児で優位であったクローンはいずれのタイプにも類似していなかった。母から検出されたクローンは、その後の経過で 1 つのタイプに収束したり、拡散したりして 114 ヶ月の時点では大きく 3 タイプに分類された。この 3 タイプは 4 ヶ月の時点で観察された 4 タイプ中の 3 タイプと類似していたが、細かい所では異なっていた。一方、児から観察されたクローンは 12 ヶ月の時点までは、4 ヶ月時に母親から観察されたクローンと類似していなかったが、30 ヶ月時点では 2/5 クローンが母親のそれと類似しており、114 ヶ月の時点では 30 ヶ月で初めて観察された 2 クローンが最も優位となっていた。このクローンは 4 ヶ月の時点で母親から検出された物と類似していた。

Family2 では出産後 162 ヶ月の 1 ポイントのみでの評価であるが、児から観察された 2 タイプのクローンは、162 ヶ月で母親から観察されたクローンと全く異なっていた。

### D. 考察

母子感染であるため、出生直後には母と児は同一クローンを有していたと思われるが、その後の経過で Family1 では出生時、母子感染が成立した際、マイナーなクローンであったものが、免疫の圧力等により選択され、徐々に優位となっていた事が推定された。一方、Family2 では、母親と児ではそれぞれ異なったタイプのクローンが、13 年以上の歳月の間に選択されて優位となった事が推定された。

#### (倫理面への配慮)

本研究は、個々の診療における一般的な検査のデータを集約したもの及び患者の同意を得て採取した検体中のウイルスを解析したもの

である。この研究を遂行するに当たり、プライバシーを尊重し、施設、個人名が特定出来ないように配慮した。

#### E. 健康危険情報

特記事項はなし。

#### F. 研究発表

##### 1 論文発表

Ban K, Sugiyama K, Goto K, Mizutani F, Togari H. Detection of PHKA2 gene mutation in four Japanese patients with hepatic phosphorylase kinase deficiency. *Tohoku J Exp Med.* 2003 200:47-53.

Goto K, Sugiyama K, Sugiura T, Ando T, Mizutani F, Terabe K, Ban K, Togari H. Bile salt export pump gene mutations in two Japanese patients with progressive familial intrahepatic cholestasis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2003 36: 647-50.

Sugiura T, Goto K, Imamine H, Ando T, Ban K, Sugiyama K, Togari H. Prevalence of SEN virus among children in Japan. *Virus Res.* 2004 (in press)

##### 2. 学会発表

後藤健之、安藤寿啓、杉浦時雄、杉山幸八郎、戸莉創:小児期の劇症肝炎におけるE型肝炎ウイルスの関与に関する検討。第106回日本小児科学会学術集会(2003、4/25～4/27、

福岡)

杉浦時雄、後藤健之、安藤寿啓、杉山幸八郎、戸莉創:日本人小児におけるSEN Virus感染の検討。第30回日本小児栄養消化器肝臓学会学術集会(2003、11/7～11/8、北九州)

#### G. 知的財産権の出題・登録状況

現時点でなし。