

後、生後 3, 6, 9, 12 カ月時、およびその後 1 年ごとに検査した。追跡期間が 6 カ月未満およびプロトコルから脱落した計 33 例は除外し、最終的に 114 例の小児が評価の対象となった。児の追跡期間は 6-61 (平均 18.5) カ月であった。母親の HCV-RNA は 108 人で検査され、陽性 76 人 (70%)、陰性 32 人 (30%) であった。母親の HIV 抗体は 73 例において検査され、全例陰性であった。これらの HCV 抗体陽性妊婦から出生した 114 例の小児において、9 例 (7.8%) の小児に血中 HCV-RNA を認めた。HCV-RNA 陽性の母親からの出生児 81 例中 9 例 (11.1%) に母子感染が成立したが、RNA 陰性の母親からの出生児 33 例には感染は成立しなかった ($p=0.040$)。また感染成立例は全例母親が高ウイルス量 (DNA プローブ法 1.0 Meq/ml またはアンプリコア定量法 100 kcopy/ml 以上) であった ($p=0.019$)。分娩方法、児への栄養方法および母親の肝機能異常 (ALT 50 IU/l 以上) に関しては、母子感染成立に関して有意差を認めなかった。対象小児の HCV 抗体は、生後 12 カ月の時点で 20 人で陽性であり、うち 9 人が HCV-RNA 陽性で、残り 11 人は HCV-RNA 陰性であった。

2. 母子感染による C 型慢性肝炎小児 15 例の臨床経過

上記の前方視的研究にて母子感染と診断した 9 例と、肝機能異常などで発見され後方視的に母子感染と診断した 6 例の、計 15 例 (男児 7 例、女児 8 例) の自然経過について検討した⁶⁾。C 型肝炎の感染は第二世代または第三世代の HCV 抗体陽性、血中 HCV-RNA 陽性をもって診断した。前方視的研究の 3 例と後方視的研究の全例については、NS5B 領域の 252 塩基配列 (nt 8295-8546) の母子間での相同性および、児と標準株 HCV-J または HCV-J6 との相同性を解析した。標準株との相同性 93.4 (92.5-94.4) % に比べ、母児間では平均 98.6 (96.4-99.6) % と高い相同性を示したことより母子感染例であると診断した⁷⁾。患児の平均年齢は 10.6 (3.9-19.8) 歳で、HCV-RNA の genotype は 1b 型 9 例、2a 型 2 例、未検 4 例であった。母親の HIV 抗体は

前方視的研究の 6 例で検査され陰性であった。

肝機能については 15 例とも経過観察中 ALT の最高値で平均 139 (46-355) IU/l と軽度から中等度の上昇を認めたが、黄疸などの肝炎に関連する臨床症状は認められなかった。うち 2 例において経過観察中血中より HCV-RNA が消失し、ウイルスが排除されたと考えられた。いずれも前方視的に追跡した母子感染例で、1 例は 1 歳までは肝機能異常 (ALT 値最高 237 IU/l) が持続したが、1 歳過ぎより肝機能は正常化し、1 歳 7 カ月時点から血中よりウイルスが検出されなくなった。もう 1 例は、生後 6 カ月時点のみ肝機能異常 (ALT 値最高 138 IU/l) を認めたが以後正常化し、11 カ月時点より血中 HCV-RNA が検出されなくなった。

対象 15 例中 6 例に対して経皮針肝生検を施行したが、生検時の年齢は平均 7.8 (3.0-13.8) 歳、ALT 値の平均は 40 (20-92) IU/l であった。肝組織像は chronic persistent hepatitis 3 例に対し、chronic active hepatitis が 3 例あり、うち 1 例は 8 歳 10 カ月時点で既に一部の肝小葉構造に改築 (CAH2B) が認められた。このうち 3 例に対して天然型 IFN- α を 10 万単位/kg、週 3 回、6 カ月間投与した。治療開始時の年齢は平均 6.9 (3.0-8.8) 歳、ALT 値は平均 31 (21-48) IU/l であった。2 例において治療終了後より肝機能が完全に正常化したが、血中 HCV-RNA は 3 例とも IFN 治療中を含め消失しなかった。

3. HCV 母子感染症例の臨床経過

a. 肝機能の経過

一般に HCV は感染すると 60-85% は慢性化するが、HBV 母子感染に比べ、乳児劇症肝炎を発症することは極めて少ない。感染した児の経過は様々であるが、黄疸などの臨床症状はほとんど認められず、肝機能、HCV 抗体、HCV-RNA などの検査により初めて HCV 感染が確認される。多くの症例は 1 歳までにトランスアミナーゼの上昇がみられるが、乳児期に ALT 頂値が正常の 5 倍以上であった症例群の方がウイルスの自然消失率が高かったとの報告がある⁸⁾。数年以上肝機能異常が持続する症例、正常値と

異常値の間を変動する症例、異常値が持続した後正常化する症例などがあり、トランスアミナーゼの頂値は軽度から中等度の症例が多い。

b. HCV抗体の経過

HCV抗体陽性妊婦からの出生児は、母親からの移行抗体によりHCV抗体陽性であるが、母子感染が成立しなかった場合には抗体価は徐々に低下し、多くは1歳以内に、遅くとも18カ月までにほぼ陰性化する⁹⁾。母子感染が成立した場合は、児が抗体を産生するため抗体価が再び上昇する。経過中HCV-RNAが陰性化する症例では、その後HCV抗体が消失する症例が多く、ウイルスが排除されたと考えられる。

c. HCV-RNAの経過

HCV-RNA量にも変動が認められるが、変動パターンは様々であり、陰性であっても単に検出感度以下に低下していることもあるので、繰り返し検査を行う必要がある。HCV母子感染が成立した児の多くは生後3カ月以内にHCV-RNA陽性となるが、生後1カ月ではPCR感度が22%という報告¹⁰⁾もあり、生後1カ月以降に確認する必要がある。感染児では既に臍帯血で低量ながらもHCV-RNA陽性であるという報告もあるが、母体血の混入の可能性もあり、臍帯血のみでは母子感染の診断は困難である。HCV-RNAは長期間持続的に陽性あるいは、間欠的に陽性となる症例が多いが、およそ30%の児において3歳頃までに血中よりHCV-RNAが自然消失する²⁾。なお、血中からいったん検出されたHCV-RNAが乳児期早期に消失する症例については、母体から児へウイルスは移行したが、児の体内では増殖していないという可能性も示唆されている。

d. 肝組織像

文献的にHCV母子感染例の肝組織像に関しての報告数は少なく、一般に組織変化は軽度から中等度である^{7,8,11,12)}。Kageらは我が国の小児慢性C型肝炎109例の生検肝組織を成人の組織像と比較しているが、全体として成人と同様の組織学的変化がみられるものの線維化は明らかに軽度であった¹³⁾。Vogtら¹⁴⁾によると、スクリーニング検査導入前の心疾患手術時の輸血によ

る小児C型肝炎17例において、感染後平均21.2年で肝生検を施行し、線維化がみられたのは3例であった。このうち、門脈域の線維化を認めた2例はうっ血性心不全であり、微小結節性肝硬変を認めた1例はHBVの重感染例であった。このように他の増悪因子を有する症例においては、より慎重な経過観察が必要と考えられる。

4. HCV母子感染症例の治療

小児期のC型肝炎はその進行が成人より緩徐であり、小児期から若年成人期の間には肝硬変から肝癌を発症することは皆無である。しかしながら、成人のC型肝炎の多くが難治性であり、成人での肝癌発生を阻止する観点からも、小児期にHCVを排除する可能性を探ることは重要と思われる。HCV母子感染例において3歳頃までに血中からHCV-RNAが検出できなくなる自然寛解例が少なからず存在し、乳幼児期には発熱時に熱性けいれんがみられ得ることを考慮すると、定期的に血液検査をしながら経過観察を行い、3歳を過ぎてもHCV-RNAが陽性で肝機能異常が半年以上続く症例においては、肝生検を行って慢性肝炎像の有無、線維化の程度を確認したうえで、IFN療法を検討するのがよいと思われる。

小児のC型肝炎に対するIFN単独療法の成績は成人に比して良好でかつ副作用も少ないことが報告されている¹⁵⁾。当科においても24例中18例がIFN治療終了時にHCV-RNAが消失し、12例が治療終了後6カ月においてもHCV-RNA陰性が持続していた¹⁶⁾。IFNの有効率が高い要因として、感染からの期間が短いため、ウイルス量が少なく組織所見が軽度であること、相対的にIFNの投与量が多いこと、肝炎の増悪因子が少ないことがあげられる。今後PEG-IFNが小児においても使用されれば、更に有効率は高まると考えられる。現在日本では成人にのみIFNとリバビリンの併用療法が施行されているが、IFN単独療法に比べて貧血などの副作用の頻度が高いこと、催奇形性、成長期のこどもに対する未知の副作用の可能性などを考慮す

ると、一般的治療とするにはまだ長期にわたる安全性の検討が必要と思われる。

B型肝炎では母子感染予防にワクチンおよびグロブリン投与が施行され劇的な効果をあげているが、C型肝炎に関しては現在のところワクチンを含めて母子感染の予防法は確立されていない。一方、B型肝炎治療に保険適用されたラミブジンのような直接ウイルスに作用する薬剤が今後C型肝炎に対しても適用された場合、小児の母子感染予防に対してどのように適用していくか、更なる検討が必要である。

おわりに

日本において年間数百例の母子感染による新規HCVキャリアが発生していると考えられるが、そのほとんどは臨床症状が認められないことから、全く感染に気づかれていない例も多いと考えられる。海外ではHCV抗体陽性の母親から出生した児のスクリーニングおよびフォローに関するガイドラインが示されているが¹⁷⁾、日本においても内科、産婦人科および小児科間で統一したプロトコールによるフォローが望まれる。

文献

- 1) 日本肝臓学会：肝がん白書，1999.
- 2) National Institutes of Health. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: Management of hepatitis C. *Hepatology* 36(Suppl 1): 5, 2002.
- 3) 白木和夫：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 平成14年度総括・分担研究報告書，2003.
- 4) Roberts EA, et al: Maternal-infant transmission of hepatitis C virus infection. *Hepatology* 36 (Suppl): S106-S113, 2002.
- 5) Tajiri H, et al: Prospective study of mother-to-infant transmission of hepatitis C virus. *Pediatr Infect Dis J* 20: 10-14, 2001.
- 6) 三善陽子：C型肝炎母子感染症例の自然経過に関する研究. 大阪大学医学雑誌 52(12): 189-194, 2000.
- 7) Etani Y, et al: Molecular diagnosis and liver histology of children with mother-to-child-transmitted hepatitis C virus infection. *J Pediatr* 133: 588, 1998.
- 8) Resti M, et al: Clinical features and progression of perinatally acquired hepatitis C virus infection. *J Med Virol* 70: 373-377, 2003.
- 9) Ferrero S, et al: Prospective study of mother-to-infant transmission of hepatitis C virus: a 10-year survey (1990-2000). *Acta Obstet Gynecol Scand* 82: 229-234, 2003.
- 10) Gibb DM, et al: Mother-to-child transmission of hepatitis C virus: evidence for preventable peripartum transmission. *Lancet* 356: 904-907, 2000.
- 11) Bortolotti F, et al: Hepatitis C virus infection and related liver disease in children of mothers with antibodies to the virus. *J Pediatr* 130: 990-993, 1997.
- 12) Tovo PA, et al: Persistence rate and progression of vertically acquired hepatitis C infection. *J Infect Dis* 181: 419-424, 2000.
- 13) Kage M, et al: Pathology of chronic hepatitis C in children. *Hepatology* 26: 771-775, 1997.
- 14) Vogt M, et al: Prevalence and clinical outcome of hepatitis C infection in children who underwent cardiac surgery before the implementation of blood-donor screening. *N Engl J Med* 341: 866-870, 1999.
- 15) Jacobson KR, et al: An analysis of published trials of interferon monotherapy in children with chronic hepatitis C. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 34: 52-58, 2002.
- 16) Sawada A, et al: Favorable response to lymphoblastoid interferon-alpha in children with chronic hepatitis C. *J Hepatol* 28: 184-188, 1998.
- 17) Resti M, et al: Guidelines for the screening and follow-up of infants born to anti-HCV positive mothers. *Dig Liver Dis* 35: 453-457, 2003.

HCV母子感染：HCV-RNA自然陰性化群と持続陽性群の臨床的比較

(平成15年5月30日受付, 平成15年10月7日受理)

久留米大学 小児科

大和 靖彦・木村 昭彦・中嶋 英輔
前田 公史・熊谷 優美・松石豊次郎

Key Words：C型肝炎, 母子感染, 母乳栄養

要 旨

われわれは、11例のC型肝炎母子感染例についてHCV-RNAが自然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、母子感染11例中5例が2歳までにHCV-RNAの陰性化を起こした。HCV-RNA持続陽性群の6例中4例が完全母乳栄養であった。一方、自然陰性化群では完全母乳栄養はみられなかった。

これらの結果より、C型肝炎母子感染例の一部は、2歳ごろまでにHCV-RNAが自然消失すると考えられた。さらに、母乳栄養とHCV-RNA持続陽性群の関係を実証する研究が必要と考えられた。

はじめに

輸血によるHCV水平感染が抑制され、母子感染例が注目を集めつつある。わが国におけるHCV母子感染率は、対象をHCV-RNA陽性妊婦に限定すると、報告者により差はあるが約10%である¹⁾。また、母子感染例は、全例が持続感染となるわけではないことも明らかにされた。そこで、今回われわれは、当科で経験したHCV母子感染例について観察期間内にHCV-RNAが自然陰性化した群と持続陽性群に分けて臨床的比較を行った。

対象および方法

対象は、出生後にHCV母子感染が疑われ精査の結果母子感染と診断された11例である。

方法は、これら11例について、初診時年齢、初診時ALT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、および栄養方法を観察期間内にHCV-RNAが自然陰性化した群と持続陽性群に分けてretrospectiveに検討した。

結 果

結果を表1、2に示す。表中の空白部は、継続外来フォローができず母親からインタビューが取れなかった部位である。

初診時年齢、初診時のALT値、受診理由、母親の感染状況、HCVのグループ群分け、同胞の感染状況、および分娩様式については2群間で差異はみられなかった。ALT推移と児の感染状況であるが、当然のごとくHCV-RNA自然陰性化群はHCV-RNA陰性化とともにALT値の正常化を認めた。HCV-RNA持続陽性群のALT推移は、2例に経過中正常化を認めた。

今回の研究では栄養方法にのみ差異がみられた。HCV-RNA持続陽性群の6例中4例が完全母乳栄養であり、1例が2カ月まで母乳栄養その後人工栄養、残り1例が混合栄養であった(表2)。一方、HCV-RNA自然陰性化群では完全母乳栄養はみられなかった(表1)。ただし、1例に2カ月まで母乳栄養、その後混合栄養、さらに、1例に1カ月まで母乳栄養、4カ月まで混合栄養、以後人工栄養がみられた。他は混合もしくは人工栄養である。

なお、この2群を統計学的(Fisher直接法)に検討すると $p=0.0606$ と有意差はみられなかった。

別刷請求先：〒830-0011 久留米市旭町67
久留米大学医学部 小児科
木村 昭彦

表1 HCV-RNA陰性化群

症例	性別	初診時年齢	初診GPT	受診理由	母親の感染状況	現在の状況	同胞	グループ群別	分娩様式	栄養
1	女	3カ月	106	HB母子間ブロッック中に肝機能異常を指摘される。生後3カ月にHCV-Ab(+), 生後4カ月にHCV-RNA(+), 生後5カ月に当科紹介となる。	HCV-RNA(+) HCV(3rd)-Ab(+) IFNでいったんRNA(-)も再び(+)	9歳：生後12カ月時にHCV-RNA(-)となるも再び陽性となる。しかし、1歳11カ月以後HCV-RNA(-)持続。4歳時、HCV-RNA(-), ALT 8IU/Lで以後再診なし。	弟：HCV-Ab(-)		帝王切	混合
2	女	1歳1カ月	17	生後2カ月時に無熱性けいれん。生後3カ月時にじん麻疹にて入院し、その後AST68IU/L, ALT30IU/L, HCV C-100抗体陽性判明。1歳時アレルギ-1検査でいん・HCV-Ab陰性で精査目的紹介。	HCV-RNA(+) HCV(2nd)-Ab(+)	11歳：1歳1カ月時にHCV-RNA(+), 1歳4カ月時にHCV-RNA(-)HCV(2nd)-Ab(-)となり以後受診なし。	姉：HCV-Ab(-)			生後2カ月まで母乳, 以後混合。
3	男	4カ月	122	CHDで当科経過観察中, 生後4カ月時に肝機能異常認め精査にてHCV-RNA(+), 判明。	HCV-RNA(+)	8歳：4カ月時にHCV-RNA(+), 11カ月以後肝機能正常。1歳3カ月時にHCV-RNA(-), 以後現在まで持続。	妹：未検	チェック未	経産	生後2カ月まで母乳, 以後人工乳。
4	男	9カ月	26	母親慢性C型肝炎で近医フォロー中。本児も精査したところHCV-RNA(+), 判明し当科紹介。	HCV-RNA(+)	4歳：9カ月時にHCV-RNA(+), 1歳11カ月時にHCV-RNA(-), 初診時より肝機能正常。	なし	グループ1	経産	人工乳のみ。
5	女	1歳2カ月	272	CHD経過観察中, 1歳1カ月時に肝機能異常認め精査。HCV-RNA(+), 判明し当科紹介。	HCV(3rd)-Ab(+), (父親も)	4歳：1歳1カ月時にHCV-RNA(+), 1歳3カ月時よりHCV-RNA(-), 肝機能正常。1歳8カ月時より再診なし。		判定不能	経産	1カ月間母乳のみ, 4カ月まで母乳, 以後人工乳。

表2 HCV-RNA陽性持続群

症例	性別	初診時年齢	初診GPT	受診理由	母親の感染状況	現在の状況	同胞	グループ群別	分娩様式	栄養
1	女	10カ月	62	予防接種のため受診。その際母親HCVキャリアー判明し精査。	HCV-RNA(+), HCV-Ab(+) (3.6×10^6 copies/ml)	2歳：1歳時にHCV-RNA(+), 1歳10カ月時より肝機能正常持続。	なし	判定不能	経産	母乳のみ (8カ月まで)
2	男	3カ月	49	母親HCVキャリアーで胎帯血HCV-Ab(+), 判明し当院新生児より紹介。	HCV-RNA(+)	3歳：3カ月時にHCV-RNA(+), 1歳2カ月時より肝機能正常持続。	兄：HCV-Ab(-)	チェック未	帝王切	母乳
3	女	8歳	127	インフルエンザで入院した際、肝機能異常認めHCV-RNA(+), 判明し当科紹介。	HCV(3rd)-Ab(+)	11歳：8歳時にHCV-RNA(+), 肝機能異常持続し現在ALT 104IU/L。	兄：未検	グループ1	経産	8カ月まで母乳, 以後人工乳
4	男	1歳7カ月	37	本児1歳4カ月時に母親献血を行いHCVキャリアー判明。本児も精査したところHCV(2nd)-Ab(+), 当科紹介となる。	HCV-RNA(+)	6歳：1歳7カ月時にHCV-RNA(+), 2歳11カ月時にALT 52IU/L以後再診なし。	兄：HCV-Ab(-)	判定不能	経産	母乳のみ (1歳まで)
5	女	0生日	43	救急外来で産後分婉。母親HCVキャリアー判明し精査。	HCV(3rd)-Ab(+), 数年前IFN治療受けるも、その後受診せず。	2歳：4カ月時にHCV-RNA(+), 当初より肝機能異常持続, 現在ALT 108IU/L。	なし	判定不能	経産	母乳のみ (1歳半まで)
6	女	1歳5カ月	46	嘔吐下痢症で近医受診した際、母親HCVキャリアーのため精査希望。HCV-PCR(+), 判明し当科紹介。	HCV-RNA(+)	1歳6カ月：1歳5カ月時にHCV-RNA(+), フォロー開始直後。	なし	グループ1	経産	生後2カ月まで母乳, 以後人工乳

考 察

母子感染の成立に最も関与するのは、母体から児へ移行する総ウイルス量と考えられる。よって、感染源が血液とすれば、“移行ウイルス量＝血中ウイルス量×移行血液量”となる。

HCV母子感染の成立因子の一つに分娩様式が挙げられている。すなわち、予定帝王切は他の分娩様式（経陰分娩、緊急帝王切）に比較して感染率が低いとされている²⁾。しかし、現在のところ分娩様式とHCV母子感染後の自然陰性化との関係は不明である。今回の研究では、2群間に分娩様式では差はみられなかった。

栄養方法による母子感染の有無は、次のようにいわれている。母乳にはPCRでHCV-RNAが検出されないという報告が多く³⁾、したがって、母乳保育児と人工栄養児との間にHCV母子感染率に差がないとする報告がほとんどである⁴⁾。しかし、Kumarら⁵⁾の報告によると、出産後5日以内の初乳にHCV抗体とHCV-RNAが検出されている。さらに、出産後3カ月以内に肝障害を起こした5名の母親から生まれた児のうち、3例が母乳保育され、HCVの感染が起こり肝炎を発症したという報告がある⁵⁾。また、HCV-RNA陽性の母親の母乳サンプルの検査で、20%の母親の母乳がHCV-RNA陽性であり、かつこれらの母親から生まれた児の感染率が有意に高かったという報告もある⁶⁾。

今回われわれの検討では、HCV-RNA持続感染群には、母乳栄養が多くみられた。もし、母乳栄養とHCV持続感染が関連あるとすれば、前述の母体から児へ移行するウイルス量が問題となり、母乳中に多量のHCV-RNAが存在することになる。しかし、報告では母乳中にはHCV-RNAは検出されないことが多い⁴⁾。ところが、前述のKumarら⁵⁾の報告があり、母体の母乳投与時の肝機能状態が今後問題となろう。したがって、HCV-RNA自然陰性化および持続陽性症例と母乳栄養について症例数を増し、さらに大規模な検討が必要と考えられた。

ところで、HCV-RNA自然陰性化例の中には、一過性感染と6カ月以上にわたりいったんは持続感染となった例でもHCV-RNAが消失し、緩解したと考えられる例が見られる^{7) 8)}。この一過性感染と持続感染後の寛解例ではHCV-RNA消失機序は異なると考えられる。今回の5症例はすべて持続感染後の寛解と考えられた。

最後に、HCV-RNA自然陰性化例と持続陽性例の差は、前述の母乳中HCV-RNAの存在および量、母体授乳時の肝機能状態以外に次のことが関与していると考えられる。すなわち、感染時のHCV-RNA量と児の免疫反応の

関与、母体の肝機能障害とHCV粒子の存在様式、およびウイルス変異である^{9) 10)}。したがって、今後乳幼児期になぜウイルスを排除できる症例が存在するのか、そのメカニズムを解明することは小児HCV慢性肝炎治療に有用と考えられた。

本研究は、平成14年度厚生労働省「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：主任研究者 白木和夫」による科学研究費により行った。

文 献

- 1) 白木和夫：ウイルス母子感染防止に関する研究。厚生労働省肝炎研究連絡会議。平成12年度研究報告書，2001：35-39。
- 2) Gibb DM, Goodall RL, Dunn DT, Mealy M, Neave P, Cafferkey M, Butler K：Mother-to-child transmission of hepatitis C virus: evidence for preventable peripartum transmission. *Lancet* 2000；356：904-907。
- 3) Kage M, Ogasawara S, Kosai K-I, Nakashima E, Shimamatsu K, Kojiro M, Kimura A, Fujisawa T, Matsukuma Y, Ito Y, Kondo S, Kawano K, Sata M：Hepatitis C virus RNA present in saliva but absent in breast-milk of the hepatitis C carrier mother. *J Gastroenterol Hepatol* 1997；12：518-521。
- 4) Okamoto M, Nagata I, Murakami J, Kaji S, Iitsuka T, Hoshika T, Matsuda R, Tazawa Y, Shiraki K, Hino S：Prospective reevaluation of risk factors in mother-to-child transmission of hepatitis C virus: high virus load, vaginal delivery and negative anti-NS4 antibody. *J Infect Dis* 2000；182：1511-1514。
- 5) Kumar RM, Shahul S：Role of breast-feeding in transmission of hepatitis C virus to infants of HCV-infected mother. *J Hepatol* 1998；29：191-197。
- 6) Ruiz-Extremera A, Salmeron J, Torres C, De Rueda PM, Gimenez F, Robles C, Mirand MT：Follow-up of transmission of hepatitis C to babies of human immunodeficiency virus- negative women: the role of breast-feeding in transmission. *Pediatr Infect Dis J* 2000；19：511-516。
- 7) Ceci O, Margiotta M, Mareello F, Francavilla R, Lerardi E, Loizzi P, Impedouo L, Francavilla A：High rate of spontaneous viral clearance in a cohort of vertically infected hepatitis C virus infants: what lies behind? *J Hepatol* 2001；35：687-688。
- 8) Ketzinel-Gilad M, Colodner SL, Hadary R, Granot E, Shouval D, Galun E：Transient transmission of hepatitis C virus from mothers to newborns. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000；19：267-274。
- 9) Sasaki N, Matsui A, Momoi M, Tsuda F, Okamoto H：Loss of circulating hepatitis c virus in children who developed a persistent carrier state after mother-to-baby transmission. *Pediatr Res* 1997；42：263-267。
- 10) Okamoto M, Nagata I, Murakami J, Hino S, Shiraki K：Shift in the buoyant density of HCV particles in infants infected by mother-to-infant transmission. *Pediatr Int* 1999；41：369-373。

2004年 6月

Mother-to-infant transmission of hepatitis C virus infection: clinical features of spontaneous cleared and continuous positive HCV RNA groups

Department of Pediatrics and Child Health, Kurume University School of Medicine

Yasuhiko YAMATO, Akihiko KIMURA, Eisuke NAKASHIMA

Kohji MAEDA, Yumi KUMAGAE, and Toyojiro MATSUISHI

In 11 infants who were infected by HCV through mother-to-infant transmission, we examined the differences in clinical feature between the spontaneous cleared HCV RNA group and the continuous positive HCV RNA group retrospectively. Results showed that 5 of 11 infants with mother-to-infant hepatitis C were cleared HCV RNA by 2 years of age. Four of 6 infants in the continuous positive HCV RNA group received complete breast-feeding. On the other hand no infants received complete breast-feeding in the spontaneous cleared HCV RNA group. In conclusion, some infants with mother-to-infant transmission of HCV showed spontaneous clearance of HCV infection by 2 years of age. Moreover, we consider that a further study is required to substantiate the apparent correlation between breast-feeding and continuous positive HCV RNA status.

CHRONIC HEPATITIS

Efficacy of interferon- α treatment in Japanese children with chronic hepatitis C

EISUKE NAKASHIMA,* TAKUJI FUJISAWA,* AKIHIKO KIMURA,* MASAYOSHI KAGE,[†]
YASUHIKO YAMATO,* KOHJI MAEDA,* MASAMI KUMAGAI,* KOSUKE USHIJIMA,*
YASUHIRO YAMASHITA* AND TOYOJIRO MATSUSHI*

*Departments of *Pediatrics and Child Health and [†]Pathology, Kurume University School of Medicine,
Kurume, Japan*

Abstract

Background: We investigated the efficacy of natural interferon (IFN)- α treatment in 34 Japanese children with chronic hepatitis C.

Methods: Thirty-four children completed 6 months of therapy with natural IFN- α and were followed for 12 months or longer. We examined the serum hepatitis C virus (HCV) RNA titer and liver histology before, during, and after IFN treatment.

Results: At 6 months after the cessation of IFN- α treatment, 16 patients (47%) had normal serum alanine aminotransferase concentration and no detectable serum HCV RNA. There were no major side-effects, excluding some influenza-like symptoms during the IFN- α treatment. Most genotype 2a patients had a complete response (80%). Moreover, patients who had a low HCV RNA titer ($<10^2$ copies/mL) after 1 month of IFN- α treatment became complete responders at 6 months after the cessation of treatment. Histological improvement was observed in almost all patients after IFN- α treatment.

Conclusion: Interferon- α treatment is safe and effective for children with chronic hepatitis C and has no serious side-effects. A HCV RNA concentration of $<10^2$ copies/mL after 1 month of IFN- α treatment and genotype 2a may be useful predictors of long-term IFN efficacy.

© 2003 Blackwell Publishing Asia Pty Ltd

Key words: children, chronic hepatitis C, interferon treatment.

INTRODUCTION

Children with chronic hepatitis C may spontaneously convert from hepatitis C virus (HCV) RNA-positive to -negative more often than adults.¹⁻³ Moreover, in pediatric patients with chronic hepatitis C who are HCV RNA-positive, histological changes in the liver may not progress to cirrhosis or hepatocellular carcinoma (HCC), at least during childhood and adolescence.³⁻⁵ Nonetheless, the results of our previous study indicated that 60-80% of children with HCV infection may develop chronic hepatitis C before adulthood.⁵ Therefore, pediatricians may need to consider immediate therapy such as treatment with interferon (IFN) for chronic hepatitis C, considering the high risk of developing HCC as an adult.

In this study we investigated the efficacy of IFN- α treatment in inducing a primary response and sustained

loss of viremia in 34 Japanese pediatric patients with chronic hepatitis C. In addition, the results of IFN- α treatment were evaluated by assessing changes in liver histology and by monitoring HCV RNA in liver tissue in eight patients with chronic hepatitis C.

METHODS

Patients

Seventy-four children were diagnosed with chronic hepatitis C infection in our department between 1992 and 1996. Of these children, 34 patients (24 boys, 10 girls; mean age, 14.0 ± 3.9 years) were candidates for IFN- α treatment. Informed consent was obtained from the parents of these 34 patients. The 40 patients who were

Correspondence: Dr Akihiko Kimura, Department of Pediatrics and Child Health, Kurume University School of Medicine, 67 Asahi-machi, Kurume-shi 830-0011, Japan. Email: hirof@med.kurume-u.ac.jp

Accepted for publication 26 November 2002.

ineligible for IFN- α therapy, for whom informed consent was not obtained because a low response rate and intolerance for long-term IFN- α injection were predicted, had chronic hepatitis C and persistent HCV RNA in the circulation. The suspected source of HCV in the 34 study subjects was blood transfusion in 28 patients (indications: leukemia in 19, open-heart surgery in six, neonatal anemia in three); familial transmission in three; and unknown in three. Laboratory studies including alanine aminotransferase (ALT), serum HCV RNA, genotype and platelet count were examined serially before, during, and after IFN- α treatment.

Hepatitis C virus RNA procedure

Detection of HCV RNA was performed by using the double reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) method. Using two pairs of external and internal primers deduced from the 5'-non-coding region of the HCV genome, HCV RNA was obtained from patient's sera before and during IFN- α treatment.⁶

The HCV RNA genotypes in these patients were determined by two-stage RT-PCR using mixed primers that were derived from the putative core region according to the method of Okamoto *et al.*⁷ The HCV genotype nomenclature was determined as 1a, 1b, 2a and 2b according to the classification system proposed by Simmonds *et al.*⁸ Therefore, we obtained type 1a in one patient, type 1b in 22, type 2a in nine, type 2b in one, and type 1b+2a in one.

Study design

Natural IFN- α was administered at a dose of 0.1×10^6 units (MU) per kg of body weight (maximum, 5.0 MU) daily for 2 weeks and then three times per week for an additional 22 weeks. The response to treatment was classified as complete if the serum ALT and HCV RNA titers became normal within 6 months of the cessation of treatment and remained normal for at least 6 months. The response was classified as partial if the serum ALT concentration became normal without disappearance of HCV RNA from the circulation. A non-responder was defined by the persistence of abnormal serum ALT concentration for at least 12 months after the cessation of treatment.

The serum HCV RNA was detected by a nested PCR and quantified by a competitive RT-PCR method. Serum samples for assays of HCV RNA were obtained before treatment, at the end of the fourth week after beginning IFN induction, and then every 4 weeks.

All patients underwent a liver biopsy before IFN- α treatment. We examined the liver histology, including grade of necroinflammation and stage of fibrosis according to the classifications of the Scheuer system.⁹ Eight of 16 complete responders (see Results) underwent repeat liver biopsy to evaluate the histological findings after the cessation of IFN- α treatment. Moreover, at the repeat liver biopsy, liver samples from four

patients of eight complete responders were assayed for HCV RNA.

The statistical significance of the difference was determined by use of Student's *t*-test or Fisher's exact probability rank test. $P < 0.05$ was considered as statistically significant.

RESULTS

No patient eligible for IFN- α was excluded from this study. At 6 months after the cessation of IFN- α treatment, 16 patients (47%) had normal serum ALT concentrations and no detectable serum HCV RNA. The profiles of these patients and their follow-up data after IFN- α treatment are shown in Table 1. Of the 16 patients who had a complete response, 11 (69%) had a history of leukemia. Of the 10 patients with genotype 2 HCV, eight (80%) showed a complete response, while of 23 patients with genotype 1 HCV, only seven (30.4%) showed a complete response. No patient had a partial response. Moreover, 15 patients (93.8%) who had a low titer of HCV RNA in their serum ($<10^2$ copies/mL) at the end of the fourth week following the initiation of IFN- α treatment became complete responders (Table 1). In terms of the correlation between initial HCV RNA titer before IFN- α treatment and final sustained response result, there was no statistical significance in our result ($P > 0.999$). In contrast, a serum HCV RNA titer $<10^2$ copies/mL at 1 month and viral genotype 2a have contributed to the sustained response and demonstrated clinical significance

Table 1 Hepatitis C virus genotype and RNA titer of patients with chronic hepatitis C

	Complete responders	Non-responders
No. of patients	16 [†]	18
Male	9	15
Female	7	3
Age (years)	13.5 \pm 3.9	14.3 \pm 4.0
Genotype		
1a	0	1
1b	7	15
2a	8	1
2b	0	1
1b+2a	1	0
Initial serum HCV-RNA		
Titer (copies/mL)		
$<10^6$	8	8
$\geq 10^6$	8	10
Positive serum HCV-RNA		
4 weeks [‡] ($<10^2$ copies/mL)	1 (15)	14 (4)
24 weeks [§]	0	8
48 weeks [¶]	0	18

[†]Number of patients; [‡]after the start of IFN- α treatment, [§]end of IFN- α treatment, [¶]6 months after completion of IFN- α treatment. HCV, hepatitis C virus; IFN, interferon.

Table 2 Histological findings before or after interferon- α treatment in eight complete responders

Case no.	Sex	Inflammation grade (portal, lobular)		Fibrosis stage		Detection of hepatitis C virus RNA in the liver
		Before	After	Before	After	
1	M	4 (2, 2)	2 (1, 1)	2	1	ND
2	F	3 (2, 1)	2 (0, 2)	1	1	Negative
3	M	3 (1, 2)	2 (1, 1)	1	1	ND
4	F	3 (2, 1)	3 (1, 2)	2	1	Negative
5	F	3 (1, 2)	2 (1, 1)	1	1	Negative
6	F	2 (1, 1)	3 (1, 2)	1	1	ND
7	F	2 (1, 1)	1 (0, 1)	1	1	ND
8	M	4 (2, 2)	2 (1, 1)	1	1	Positive

F, female; M, male; ND, no data.

($P < 0.0001$, $P = 0.0059$, respectively). Factors of both age and sex showed no statistical significance.

While IFN- α was well tolerated, most patients had some combination of influenza-like symptoms, such as high fever (83%), general malaise (79%), headache (42%), and leukocytopenia (17%) during the initial treatment. Four patients experienced slight hair loss (17%).

Almost all these patients had low-grade 2–4 inflammation and stage 1–2 fibrosis, suggesting that chronic hepatitis C is a morphologically mild disease in most affected children. In eight patients who had a complete response, a change in the liver histology was observed: an improvement in both the portal and lobular inflammatory reaction but not a regression of the fibrosis (Table 2). Interestingly, HCV RNA was detected from the liver tissue of only one patient with a complete response.

DISCUSSION

In previous pediatric studies, the rate of complete response to IFN therapy has ranged from 30% to 50%.^{10–13} In our prospective analysis, 16 of 34 patients with chronic hepatitis C (47%) had normalization of their serum ALT concentrations, and disappearance of detectable HCV RNA at 6 months after the cessation of IFN- α treatment. In an adult study in Japan, IFN treatment was effective in clearing the serum HCV RNA in only 30–40% of patients, using the same criteria as in our study.¹⁴ We therefore suggest that IFN treatment in children with chronic hepatitis C may offer a higher response rate than in adults, particularly in patients with a history of leukemia, genotype 2a HCV, or a low HCV RNA titer at the end of 1 month of IFN- α treatment.

More generally, the results suggest that the immune system differs somewhat between children and adults.¹⁰ In a study by Komatsu *et al.*,¹² children with underlying acute leukemia showed a high rate of complete response to IFN treatment for hepatitis C, although the rate was not as high as in children with non-malignant disease.¹⁰

The viral genotype has been evaluated in the pediatric age group as a predictor of response. Bortolotti *et al.*¹¹ found that response to IFN varied by genotype; a complete response was observed in one of six children with genotype 1a, two of two children with genotype 2a, and two of four children with unidentifiable genotypes. Therefore, genotype 2a predicted a good response, as in adults.¹⁵ In our study, nine of 10 patients with genotype 2a also had a complete response.

Moreover, our responders had a significantly lower HCV RNA concentration than did the non-responders, particularly at the end of 1 month of IFN- α treatment. These results suggest that the amount of circulating HCV RNA at the end of 1 month of IFN- α treatment reflects HCV replication, and a sustained HCV RNA titer $< 10^2$ copies/mL is an indication of therapeutic efficacy. Accordingly, we believe that a loss of viremia at 1 month of IFN- α treatment is the strongest predictor of long-term response.¹⁵ Previous studies have identified the serum HCV RNA concentrations and HCV genotype as predictors of the response to IFN treatment in adults, particularly among the Japanese.^{15–17} Our results supported the previous report described on HCV genotype, however, in terms of HCV RNA titer: evaluation at the end of 1 month is a more favorable predictor than before initial treatment.

The side-effects of IFN in our patients, including fever, general malaise, headache, and leukocytopenia, were generally transient. We suspect that side-effects of IFN in children may be better tolerated than in adults. However, the possible long-term complications of IFN treatment remain to be clarified. Furthermore, the number of patients in this study is too small, and further study will be necessary to determine this.

In our subjects with a sustained response who underwent repeated liver biopsies, the grade for inflammation in the hepatic lobules and in the portal area were reduced. The stage of fibrosis was also reduced. Interferon- α treatment in children with chronic hepatitis C may be beneficial if associated with a sustained response. At repeat liver biopsy, interestingly, only one patient who had a complete response had detectable HCV RNA in the liver tissue by RT-PCR. However, the significance between no detectable HCV RNA in

the serum and positive HCV RNA in the liver tissue is uncertain.

In conclusion, IFN- α treatment may be safe and effective for children with chronic hepatitis C. The evaluation of HCV RNA at 1 month after the start of IFN- α treatment and genotype 2a may be important predictors of IFN efficacy.

REFERENCES

- 1 Yousuf M, Nakano Y, Tanaka E, Sodeyama T, Kiyosawa K. Persistence of viremia in patients with type-C chronic hepatitis during long-term follow-up. *Scand. J. Gastroenterol.* 1992; **27**: 812-16.
- 2 Fujisawa T, Komatsu H, Inui A *et al.* Spontaneous remission of chronic hepatitis C in children. *Eur. J. Pediatr.* 1997; **156**: 773-6.
- 3 Schwimmer JB, Balistreri WF. Transmission, natural history, and treatment of hepatitis C virus infection in the pediatric population. *Semin. Liver Dis.* 2000; **20**: 37-46.
- 4 Kage M, Fujisawa T, Shiraki K *et al.* Pathology of chronic hepatitis C in children. *Hepatology* 1997; **26**: 771-5.
- 5 Hoshiyama A, Kimura A, Fujisawa T, Kage M, Kato H. Clinical and histological features of chronic hepatitis C virus infection after blood transfusion in Japanese children. *Pediatrics* 2000; **105**: 62-5.
- 6 Okamoto H, Okada S, Sugiyama Y *et al.* Detection of hepatitis C virus RNA by two-stage polymerase chain reaction with two pairs of primers deduced from the 5'-noncoding region. *Jpn. J. Exp. Med.* 1990; **60**: 215-22.
- 7 Okamoto H, Sugiyama Y, Okada S *et al.* Typing hepatitis C virus by polymerase chain reaction with two type-specific primers: application to clinical surveys and tracing infection sources. *J. Gen. Virol.* 1992; **73**: 673-9.
- 8 Simmonds P, Alberti A, Alter HJ *et al.* A proposed system for the nomenclature of hepatitis C viral genotypes. *Hepatology* 1994; **19**: 1321-4.
- 9 Brunt EM. Grading and stage the histological lesions of chronic hepatitis: the Knodell histology activity index and beyond. *Hepatology* 2000; **31**: 241-6.
- 10 Ruiz-Moreno M, Rue MJ, Castillo I *et al.* Treatment of children with chronic hepatitis C with recombinant interferon- α : a pilot study. *Hepatology* 1992; **16**: 882-5.
- 11 Bortolotti F, Giacchino R, Vajro P *et al.* Recombinant interferon-alfa therapy in children with chronic hepatitis C. *Hepatology* 1995; **22**: 1623-7.
- 12 Komatsu H, Fujisawa T, Inui A *et al.* Efficacy of interferon in treating chronic hepatitis C in children with a history of acute leukemia. *Blood* 1996; **87**: 4072-5.
- 13 Sawada A, Tajiri H, Kozaiwa K *et al.* Favorable response to lymphoblastoid interferon-alpha in children with chronic hepatitis C. *J. Hepatol.* 1998; **28**: 184-8.
- 14 Hagiwara H, Hayashi N, Mita E *et al.* Detection of hepatitis C virus RNA in serum of patients with chronic hepatitis C treated with interferon- α . *Hepatology* 1992; **15**: 37-41.
- 15 Kakumu S, Aiyama T, Okumura A, Iwata K, Ishikawa T, Yoshioka K. Earlier loss of hepatitis C virus RNA in interferon therapy can predict a long-term response in chronic hepatitis C. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 1997; **12**: 468-72.
- 16 Kanai K, Kato M, Omata H. HCV genotypes in chronic hepatitis C and response to interferon. *Lancet* 1991; **339**: 1543.
- 17 Mita E, Hayashi N, Hagiwara H *et al.* Predicting interferon therapy efficacy from hepatitis C virus genotype and RNA titer. *Dig. Dis. Sci.* 1994; **39**: 977-82.