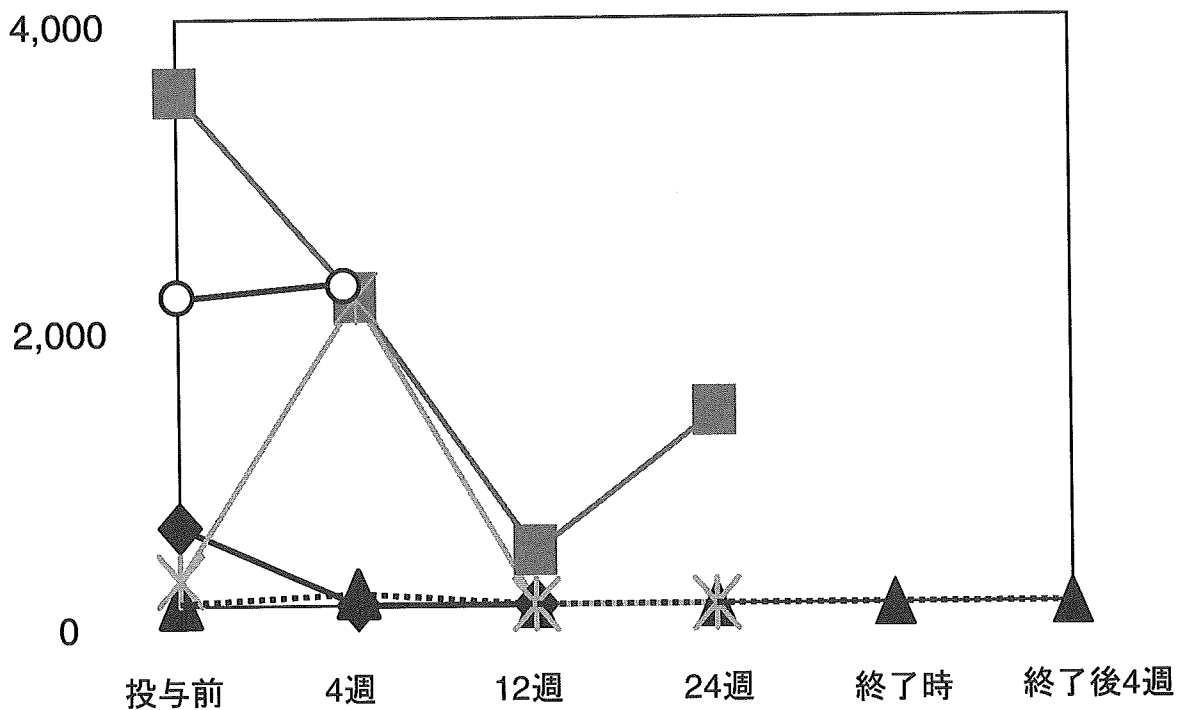


HCV RNA(KIU/ml)



【図PEG-IFN療法によるウイルス量の推移】

国際方式によるHBV母子感染予防効果

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	同上	乾あやの、十河 剛
	東邦大学附属佐倉病院小児科	小松陽樹

研究要旨

1986年から開始されたHBV母子感染防止事業によるHBV母子感染予防効果(厚生省方式)と国際的に行われている出生直後からHBワクチン投与を接種する予防効果(国際方式)に関して経時的なHBs抗体価の推移を比較した。厚生省方式の方が高いHBs抗体価が得られたが、HBV感染防御の面からは両方式での有意差はみられなかった。厚生省方式で予防された小児の長期経過は良好で、10歳までの観察例に新たなHBVキャリア例はみられなかった。厚生省方式は優秀なHBV母子感染防止方法であるが、国際方式でも十分な感染防止は可能と考えられる。

A. 研究目的

1986年から旧厚生省により開始されたHBV母子感染防止事業により、我が国でのHBV母子感染は激減した。しかし、感染経路が不明な水平感染や母子感染以外の家族内感染の報告は増加している。国際的には母子垂直感染を含めた小児期のHBV感染を防止する目的で出生直後からのHBワクチン接種している。本研究では従来の旧厚生省が行ったHBV母子感染防止事業による予防法(厚生省方式)と国際的に汎用されているHBV母子感染防止方法(国際方式)による効果を比較検討するとともに、厚生省方式によるHBV母子感染防止の長期成果を検討した。

B. 研究方法

1) 国際方式と厚生省方式における予防効果の比較

投与方法と投与時期を図1に示した。厚生省方式は1986年から1995年3月までに出生したHBs抗原陽性の母親から出生した児60例について、出生後48時間以内にHBIGを200単位筋注後、生後2、3、5か月にHBワクチンを5 μ ずつ皮下注した。HBe抗原陽性の母親から出生した児については生後2か月時にHBIG200単位を追加投与した。国際方式についてはHBV母子感染予防が保険収載された1995年4月以降に出生した児52例について、出生後48時間以内にHBIGを200単位筋注後、日齢5以内、1、3か月にHBワクチンを5 μ ずつ皮下注した。検査時期は生後1か月、予防処置終了後1か月、1歳、2歳、3歳にAST、

ALT、HBs 抗原、HBs 抗体、HBc 抗体を測定した。

2) 厚生省方式による長期的な予防効果

厚生省方式で予防処置を行い4歳以上となった児についてAST、ALT、HBs 抗原、HBs 抗体、HBc 抗体を1年ごとに経時的に測定した。

統計学的検討は、Excel®とystat2004を用いてWilcoxon t-test、Mann-Whitney U-test、カイ二乗検定を行った。

(倫理面の配慮)

倫理面については、特に国際方式を行った1995年4月以降の出生児について、国際方式の意義、安全性、効果を説明し、十分に理解を得られた患者についてのみ口頭にてインフォームド・コンセントを得て診療録に記載した。長期経過観察は予防処置後も感染の危険性を危惧する患者、協力が得られた患者を中心に長期追跡した。

C. 研究結果

1) 厚生省方式と国際方式での比較

厚生省方式で予防処置を行った児のうち、HBe 抗原陽性の母親から出生した児は30例で、HBe 抗原陰性の母親から出生した児は30例であった。国際方式で予防処置を行った児のうち、HBe 抗原陽性の母親から出生した児は16例で、HBe 抗原陰性の母親から出生した児は36例であった。経過観察中、HBs 抗体が陰性化してHB ワクチンの追加投与例やHBs 抗原が陽性化例はなかった。厚生省方式と国際方式でのHBs 抗体の推移を図2に示した。生後36か月までプロトコル通りに検査できたのは、現在のところ厚生省方式が34例、国際方式が18例である。中央値は厚生省方式では、生後

1か月が188.0 mIU/ml、投与後1か月が1382.2 mIU/ml、生後12か月が978.2 mIU/ml、生後24か月が290.4 mIU/ml、生後36か月が183.5 mIU/mlであったのに対して、国際方式では生後1か月が211.0 mIU/ml、投与後1か月が626.3 mIU/ml、生後12か月が566.3 mIU/ml、生後24か月が176.0 mIU/ml、生後36か月が91.5 mIU/mlであった。

a) 厚生省方式でのHBs 抗体価の推移

生後1か月と終了後1か月および生後12か月では有意にHBs 抗体価が上昇し($p<0.01$)、生後24か月でもHBs 抗体価は高値を維持していた($p<0.05$)。投与終了後1か月と生後12か月に有意差はなかったが、これらに比して生後24か月および生後36か月のHBs 抗体価は有意に低下した($p<0.05$)。しかし、生後24か月と生後36か月ではHBs 抗体価に有意差はみられなかった。

b) 国際方式でのHBs 抗体価の推移

厚生省方式と同様、生後1か月と終了後1か月および生後12か月では有意にHBs 抗体価が上昇していた($p<0.01$)。投与終了後1か月と生後12か月に有意差はなかったが、これらに比して生後24か月および生後36か月のHBs 抗体価は有意に低下した($p<0.05$)。しかし、生後24か月と生後36か月ではHBs 抗体価に有意差はみられなかった。

両方式での各時期のHBs 抗体価の比較では、生後1か月、終了後1か月、生後12か月、生後24か月、生後36か月のいずれも有意差を認めなかった。

Very good responder をHBs 抗体価 ≥ 200 mIU/ml、good responder を $200 \text{ mIU/ml} > \text{HBs 抗体価} \geq 100 \text{ mIU/ml}$ と定義すると、厚生省方式では、very good responder が生後1か月、

終了後 1 か月、生後 12 か月、生後 24 か月、生後 36 か月で各々 21/49(43%)、51/54(94%)、45/53(85%)、30/55(55%)、21/50(42%)、good responder が生後 1 か月、終了後 1 か月、生後 12 か月、生後 24 か月、生後 36 か月で各々 24/49(49%)、2/54(4%)、3/53(6%)、14/55(25%)、12/50(24%)であった。一方、国際方式では very good responder が生後 1 か月、終了後 1 か月、生後 12 か月、生後 24 か月、生後 36 か月で各々 27/45(60%)、43/49(88%)、30/36(83%)、14/29(48%)、4/20(20%)、good responder が生後 1 か月、終了後 1 か月、生後 12 か月、生後 24 か月、生後 36 か月で各々 15/45(33%)、3/49(6%)、3/36(8%)、8/29(28%)、5/20(25%)であり、good responder 以上の率は両方式の各時期で有意差はなかった。(図 3)

2) 厚生省方式による予防処置例の長期経過 (図 4)

長期観察例においても、経過観察中に HBs 抗原が陽性化する症例はなかった。各年齢での very good responder は、4歳で 12/36(33%)、5歳で 9/31(29%)、6歳で 10/35(29%)、7歳で 5/29(17%)、8歳で 8/22(36%)、9歳で 4/13(30%)、12歳で 1/12(8%)であり、good responder は 4歳で 10/36(28%)、5歳で 9/31(29%)、6歳で 8/35(23%)、7歳で 4/29(14%)、8歳で 2/22(9%)、9歳で 1/13(8%)、10歳で 2/12(17%)であり、8歳までは約半数で良好な HBs 抗体価が維持できた。

D. 考察

1986 年から開始された厚生省方式による HBV 母子感染防止事業により、HBV 母子垂直感染は激減し、我が国で最も頻度の高い感染経路による感染防止は成功した。さらに

我々の検討ではその予防効果は追加ワクチンを接種することなく長期予防効果があった。一方で、HBe 抗原陽性のキャリア妊婦から出生する児の約 5%は胎内感染で、これらの児に対する予防処置の方法は現在のところ存在せず、HBV キャリアの撲滅には至っていない。また、外国人を親にもつ児あるいは我が国での外国人就労者の増加により、今後、家族内あるいは community での HBV 水平感染は増加するものと考えられる。この中には我が国古来より伝播されてきた genotype B、C 以外の HBV 感染者が多く、あらゆる年齢でのキャリア化の危険性が想定される。本研究結果により、国際方式による予防処置でも十分な感染防御は可能と考えられた。

E. 結論

1986 年から開始された厚生省による HBV 母子感染防止事業による HBV 母子感染予防効果は優秀であり、少なくとも 8 歳までは良好な抗体価を獲得していた。

生後 3 か月までに終了する国際方式での HBV 母子感染予防方法でも少なくとも 3 歳までは厚生省方式と同等の HBs 抗体価が得られ、我が国でも国際方式による小児期の HBV 感染予防は可能である。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 乾あやの、藤澤知雄、十河 剛、小松陽樹. HBV 母子感染と予防対策. 日本臨床増刊号 62:190-194(2004)
- 2) 藤澤知雄、乾あやの、十河 剛、小松陽樹. 小児期における B 型慢性肝炎の長期経過. 日本臨床 増刊号 62:303-308(2004)
- 3) 乾あやの、十河 剛、藤澤知雄、小松陽

樹. B 型肝炎ワクチン. 小児科診療 67(特大号):1925-1930(2004)

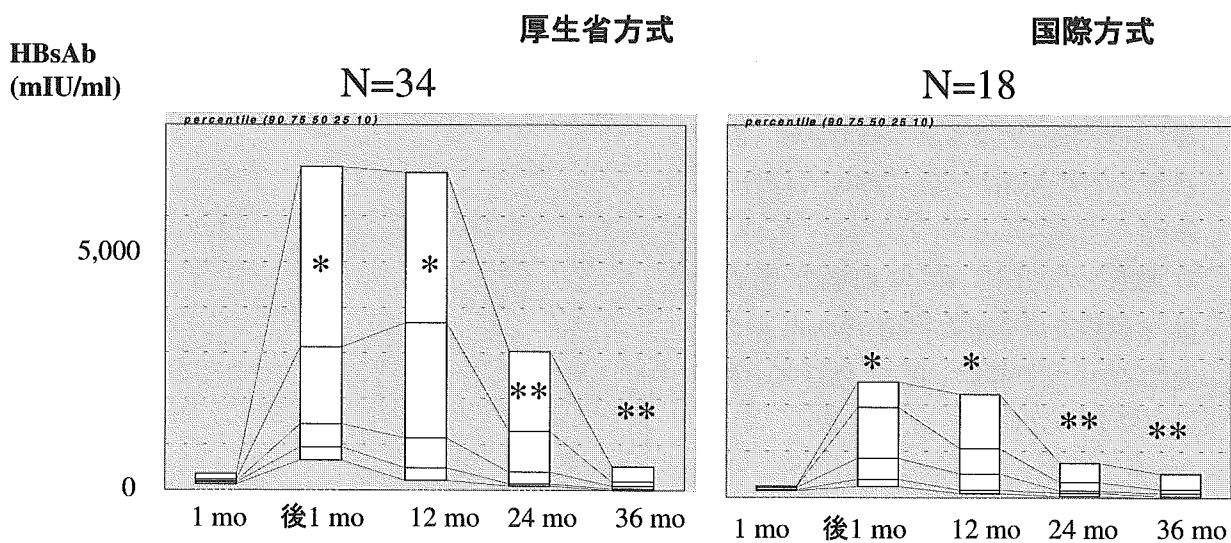
2. 学会発表

- 1) 乾あやの、藤澤知雄、阿部賢治. 小児期における HBV 感染症と HBV genotype の検討. 第 35 回日本肝臓学会東部会 (2004, 12/10-11, 東京)
- 2) 乾あやの、十河 剛、藤澤知雄. HBV 母子感染予防の長期経過と今後の展望. 第 9 回日本肝臓学会総会 (2005, 10/5-6, 神戸)
- 3) 乾あやの、藤澤知雄、阿部賢治. B 型肝炎母子感染防止事業前後における HBV genotype の変遷. 第 9 回日本肝臓学会総会 (2005, 10/5-6, 神戸)
- 4) T. Fujisawa, A. Inui, T. Sogo, H. Komatsu, K. Abe. Hepatitis B virus genotype in Japanese children- present and future-. 9th Congress of the Asian Pan-Pacific Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (2005, 6/16-19, Kuala Lumpur, Malaysia)
- 5) 乾あやの、十河 剛、小松陽樹、藤澤知雄. HBV 母子感染予防の長期経過. 第 37 回日本小児感染症学会 (2005, 11/11-12, 津)
- 6) 乾あやの、十河 剛、小松陽樹、藤澤知雄. B 型肝炎母子感染と HBV genotype の関連性についての検討. 第 37 回日本小児感染症学会 (2005, 11/11-12, 津)

図1 HB Vaccine protocol

方式	Age	<48hr	<5d	1	2	3	4	5	6	//	12	24	36 mo
HBIG		↓		(↓)									
厚生省 HB vaccine					↓	↓		↓					
'86-'95 3月 検査*				●				●		●	●	●	
HBIG		↓											
国際 HB vaccine			↓	↓		↓							
'95 4月~ 検査*			●		●					●	●	●	

() ; HBeAg(+)の母から生まれた場合 *Informed consentを得て行った検査時期



但し、厚生省方式では1moと24moでp<0.05

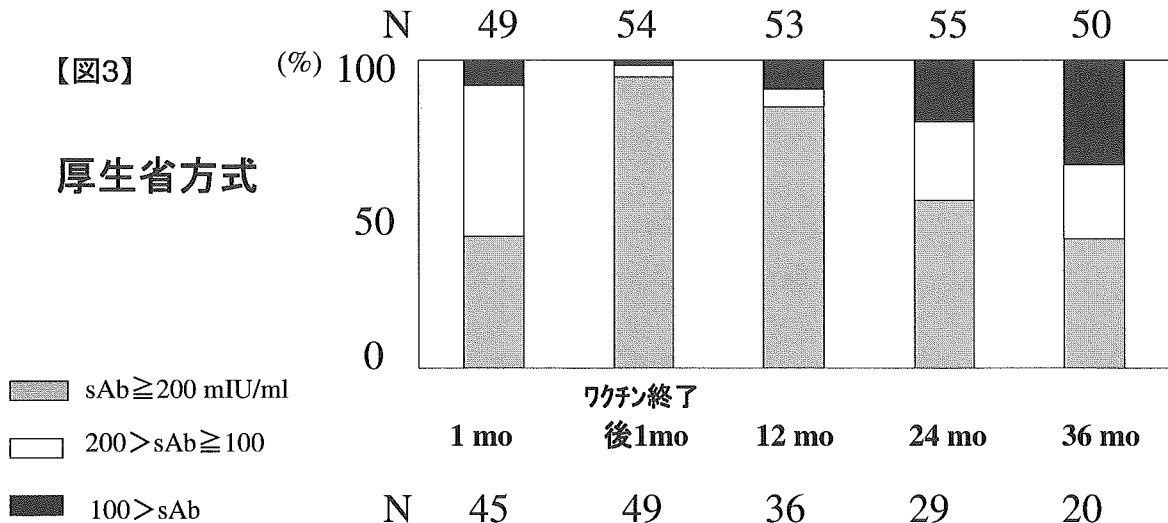
【図2 HBs抗体価の中央値による推移】

* p<0.01

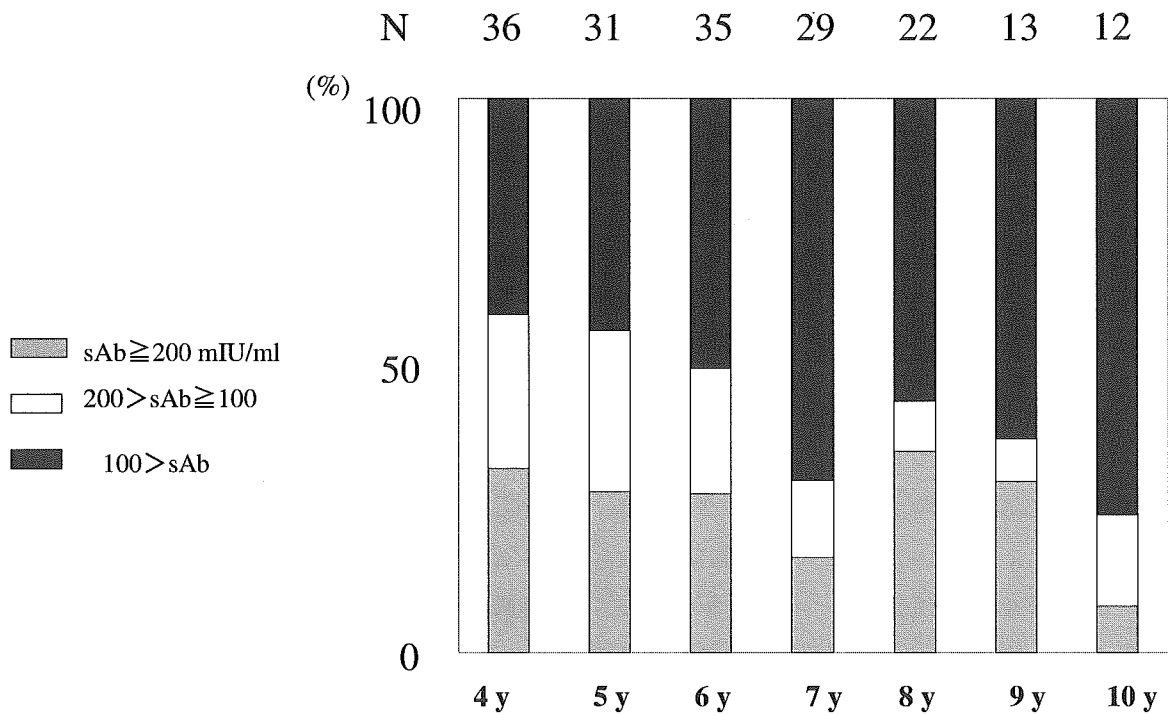
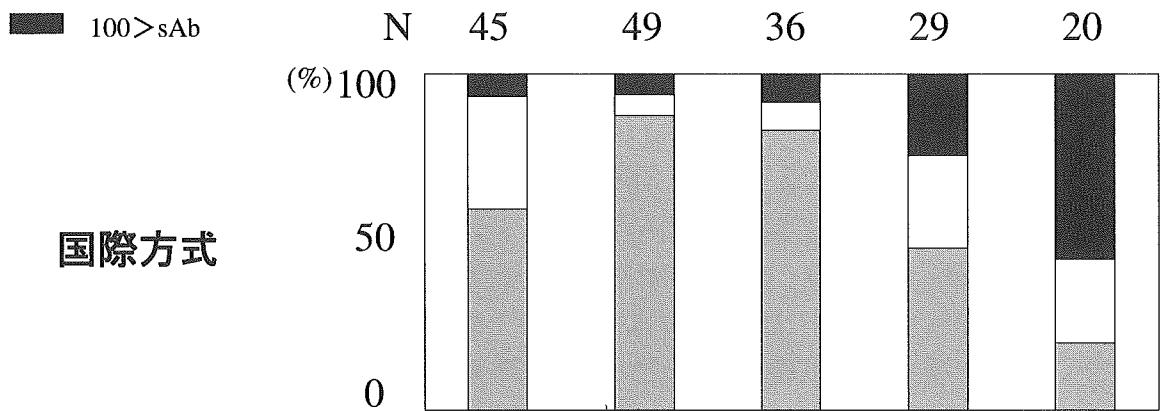
** p<0.05

【図3】

厚生省方式



国際方式



【図4: 厚生省方式によるHBs抗体価の長期経過】

当院におけるB型肝炎ウイルス母子予防症例に関する検討
及びB型肝炎母子感染成立例の検討

分担研究者	溝上 雅史	名古屋市立大学大学院 臨床分子情報医学 教授
共同研究者	田中 靖人	名古屋市立大学大学院 臨床分子情報医学 講師
共同研究者	後藤 健之	名古屋市立大学大学院 医学・医療情報管理学 助手
共同研究者	伊藤 孝一	名古屋市立大学大学院 先天異常・新生児・小児医学 院生

研究要旨

B型肝炎母子感染の現状を詳細に把握し、予防の精度を高めていくことは、重要な課題である。今回我々は当院におけるB型肝炎母子感染予防の実施状況、母子感染成立率、成立例においては、その成立機序や感染後の児の経過を調査した。結果、母体のHBe抗原陽性群では11%、HBe抗原陰性群では1%に母子感染を認め、従来の報告と同様、HBe抗原陽性母体から出生した群に母子感染が多かった。6ヶ月時のHBs抗体価は両群で差がなかったが、1ヶ月時のHBc抗体価は、HBe抗原陽性群でより低値であった。

最近23年間で当院にて経験したB型肝炎母子感染例22例について検討では、在胎週数、出生時体重、男女比に特徴的な所見は認めなかったが、22例中21例(95%)がHBe抗原陽性母体より出生した児であった。HBs抗原出現時期の検討では早期陽転群、後期陽転群、晩期陽転群はそれぞれ10例、10例、1例であり、不適切な予防処置により感染したと思われる例は1例であった。

HBe抗原陽性の母体から出生した児の母子感染率は、適切な処置が実施されていれば、数%とされるが、今回我々は兄弟とも母子感染が成立した例を経験し、その原因を明らかにするため、母親と兄弟のB型肝炎ウイルス株の塩基配列を決定し、分子系統樹を用いて解析した。

A. 研究の目的

B型肝炎ウイルス母子感染予防が実施されるようになって以来、母子感染成立例は急速に減少した。しかしながら、現在でも少数ではあるが母子感染例は存在し、一旦母子感染が成立すると、その大半はキャリア化するため、B型肝炎ウイルスは生涯にわたり消失しないことと

なる。今後、このような児を更に減らしていくためには、B型肝炎母子感染の現状を把握し、予防の精度を高めていくことが重要な課題である。今回我々はB型肝炎母子感染予防の実施状況や母子感染成立率、成立例においては、その機序や児の経過について調査したので報告する。一方、当施設における感染成立

例については、22 例をまとめて検討し、中でも特に予防処置開始後に感染が成立した兄弟例については、母子間のウイルスの塩基配列も含め、その詳細について報告する。

B. 当院におけるB型肝炎母子感染予防例の後方視的検討

1)対象と方法

対象は1993年～現在に至るまで、B型肝炎ウイルスワクチン(HBワクチン)が血漿由来製剤からリコンビナント製剤に変更になってから、HBワクチンをB型肝炎母子感染予防として当院で1回でも接種した98例とし、HBe抗原陰性母から出生した児とHBe抗原陽性母から出生した児の性別、在胎週数、出生時体重、母子感染成立者数、追加接種必要数、分娩様式、6ヶ月時のALT値、6ヶ月時のHBs抗体価、1ヶ月時のHBc抗体価を後方視的に調査し、比較検討した。HBs抗体及びHBc抗体に関しては、検査時期により測定法が異なるため、HBs抗体ではRIA法、CLIA法、HBc抗体についてはRIA法、CLIA法、CLEIA法でまとめ、それぞれについて検討した。6ヶ月時のHBs抗体価、1ヶ月時のHBc抗体価については一部測定されていない例があるため、測定例のみでの検討とし、それぞれの症例数を示した。尚、追加接種必要例は、母子感染予防の経過観察中、HBs抗体価が検出感度限界付近あるいは検出感度以下であり、主治医が追加接種必要と判断し、ご両親の同意を得て、実際にHBワクチンを規定の3回より多く実施した例とした。CLIA法のHBs抗体価については500mIU/mLが測定上限のため、それ以上の検査値については、便宜上500mIU/mLとみなして処理した。

2)母子感染実施例の全体像

実施例の詳細を表1に示す。男女比、在胎週数、出生時体重に特徴は認めなかった。母体のHBe抗原保有状況の検討では全98例中HBe抗原陰性例は71例、HBe抗原陽性例は27例で、HBe抗原陽性率は28%であった。全体を通じた感染成立例は4例(4%)であり、HBワクチン追加接種必要例は8例(8%)であった。分娩様式では経膾分娩が91例、帝王切開が7例であり、帝王切開例には母子感染成立例は認めなかった。

3) 結果と考察

HBe抗原陽性母体から出生した児とHBe抗原陰性母体から出生した児の予防処置後の比較を表2に示す。性差、在胎週数、出生時体重、6ヶ月時ALT値に有意差は認められなかった。感染率はHBe抗原陽性母体から出生した児が3例(11%)、HBe抗原陰性母体から出生した児が1例(1%)とHBe抗原陽性母体から出生した児に母子感染成立率が高い傾向があった。感染例中、キャリア化例は2例で2例ともHBe抗原陽性母体から出生した児であった。急性肝炎例は2例であり、うち1例はHBe抗原陽性母体から、1例はHBe抗原陰性の母体から出生した児であった。追加接種必要例については、HBe抗原陰性母体より出生した児で3例(4%)、HBe抗原陽性母体より出生した児で5例(19%)と有意差を認め、HBe抗原陽性母体より出生した児はHBe抗原陰性母体より出生した児に比べ追加接種を必要とする場合が多いと考えられた。1ヶ月時のHBc抗体価についてはRIA法での検討で、HBe抗原陽性母体から出生した児はHBe抗原陰性母体から出生した児より低値であった。

C. 最近 23 年間で当院にて経験した B 型肝炎 母母子感染例 22 例のまとめ

1) 対象と方法

B 型肝炎母子感染予防対策として B 型肝炎陽性母体より出生した児(当初は HBe 抗原陽性母体から出生した児のみ。最近では母体の HBe 抗原の陽性、陰性にかかわらず HBs 抗原陽性母より出生した児)に対し HBIG、HB ワクチンを投与開始して以来、現在まで最近 23 年間に当院で経験した B 型肝炎母子感染成立例を対象として、その診療録を後方視的に調査し、母子の血液検査データや、感染発見時の状況から母子感染が明らかと考えられる例のみ抽出し、在胎週数、出生時体重、出生時の母体の HBe 抗原の有無、児の HBs 抗原出現時期について検討した。

2) 結果と考察

感染例のまとめを表 3 に示す。在胎週数、出生時体重、男女比に特徴的な所見は認めなかった。22 例中 21 例(95%)が母体の HBe 抗原は陽性であり、多くの報告と同様であった。児の HBs 抗原出現時期で分類した結果を表 4 示す。0-1 ヶ月で陽転した例を早期陽転群、ワクチン後陽転した群を後期陽転群、1-2 年後に陽転した群を晩期陽転群とすると、それぞれ 10 例(45%)、10 例(45%)、1 例(4.5%)で、HBIG、HB ワクチンの不適切な実施により母子感染が成立してしまった例は 1 例(4.5%)あった。後期陽転群については、月別の HBs 抗原出現時期も示した。HBs 抗原の出現時期から考慮すると、感染時期は胎内ではなく出産時の可能性も考えられるが、出産時には多くの例で適切な処置が実施されていることから、仮に適切な予防処置を実施したとしても、出産の際の B 型肝炎感染の一部は防ぎきれない場合がある

と考えられた。

D. B 型肝炎母子感染の兄弟例

HBe 抗原陽性母体から出生した児の母子感染成立率は適切な処置がなされていれば、通常数%程度とされるが、今回我々は、HBe 抗原陽性母体から出生し母子感染が成立した兄弟 2 例を経験した。母親と兄弟の血清から抽出された B 型肝炎ウイルスから DNA を抽出し PCR 法で増幅した後、直接シーケンス法にて塩基配列を決定、分子系統樹を用いて解析したので報告する。

1) 症例

第 1 子(兄):

母親は HBeAg(+)の無症候性キャリア。在胎週数 39 週 5 日、出生時体重 3665g、頭位自然分娩で出生。第 1 子(妊娠歴は 2 回目)、母乳栄養であった。出生直後、HBIG を接種され、里帰り分娩のため当院紹介、月例 1 ヶ月時に当院受診した。経過を表 5 に示す。血液検査では HBsAg (RIA) 陰性、HBs 抗体 (RIA) 18、HBc 抗体 (RIA) 70.50%と感染を認めなかったため、2 ヶ月時に HB ワクチン接種を予約したが、母親の都合にて来院せず、3 ヶ月時より当院での HBIG、HB ワクチン接種を開始した。HBs 抗体価が徐々に低下したため、4 回目の追加ワクチンを接種したが、9 ヶ月時に HBs 抗原陽性を確認した。その後はトランスアミナーゼの上昇は認めず HBeAg 陽性、高ウイルス量のみまで現在(3 歳)に至る。

第 2 子(弟)

出産時、母親は HBeAg(+)の無症候性キャリア。在胎週数 36 週 5 日、出生時体重 3590g、頭位自然分娩で出生。母乳栄養であった。里帰り分娩。出生直後の臍帯血で HBsAg 陽性

だったため、児からの直接採血で再検したが、HBsAg 143.9 と高値を認め、既に胎内感染が成立したと考え予防処置は実施しなかった。経過を表6に示す。その後、特別なトランスアミナーゼの上昇は認めずHBe抗原陽性、高ウイルス量のままで現在(2歳)に至る。

3) 方法

上記の症例に対し、母親および児の血清からDNAを抽出し、HBV preS/S領域に設定した特異的プライマーを用いてPCR法で増幅し、ダイレクト・シーケンス法で塩基配列を決定した。決定した塩基配列を比較検討した。結果を表7に示す。母と兄弟の塩基配列は1ヶ所変異が見られるのみで、99.9%の相同性であった。これらの配列とデータベースから得られた塩基配列を用いてアラインメントを作成し、近隣結合合法により系統解析を行った。図1に示すように、母子から得られたHBV株は一つのクラスターを形成し、母子感染により感染したことが強く示唆された。

(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

Sugiura T, Goto K, Ito K, Ueta A, Fujimoto S, Togari H. Chronic zinc toxicity in an infant

who received zinc therapy for atopic dermatitis. *Acta Paediatr.*, 94, 1333-1335, 2005

Goto K, Ito K, Sugiura T, Ando T, Mizutani F, Miyake Y, Kawabe Y, Sugiyama K, Togari H. Prevalence of Hepatitis E Virus Infection in Japanese Children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.*, in press.

Tanaka Y, Hanada K, Mizokami M, et al. Molecular Evolutionary Analyses Implicate Injection Treatment for Schistosomiasis in the Initial Hepatitis C Endemic of Japan. *J Hepatol* 42(1):47-53, 2005.

Orito E, Sugauchi F, Tanaka Y, et al. Differences of hepatocellular carcinoma patients with hepatitis B virus genotypes of ba, bj or C in Japan. *Intervirol* 48(4):239-45, 2005.

Fujiwara K, Tanaka Y, Mizokami M, et al. Novel type of hepatitis B virus mutation - "replacement mutation" involving hepatocyte nuclear factor 1 binding site tandem repeat in chronic hepatitis B genotype E. *J Virol*. 79(22):14404-10, 2005.

Wakita T, Pietschmann T, Mizokami M, et al. Production of infectious hepatitis C virus in tissue culture from a cloned viral genome. *Nature Medicine* 2005;11:791-796.

Tanaka Y, Kurbanov F, Mizokami M, et al. Molecular Tracing of Global Hepatitis C Virus

Epidemic Predicts Regional Patterns of Hepatocellular Carcinoma Mortality. Gastroenterology 2005, in press.

Tanaka Y., Orito E. Mizokami M. et al. Two Subtypes (Subgenotypes) of Hepatitis B Virus Genotype C: A Novel Subtyping Assay Based on Restriction Fragment Length Polymorphism. Hepatol Res 33(3):216-224, 2005.

2. 学会発表

Tanaka Y., Sugiyama M. Mizokami M. et al. Difference of viral replication and protein production by hepatitis B virus genotypes using replication model in vitro and in vivo. 2005 International meeting on the molecular biology of hepatitis B viruses. Heidelberg, Germany, September 18-21, 2005.

Sugiyama M. Tanaka Y. Mizokami M. et al. Difference of viral replication and protein production by hepatitis B virus genotypes using replication model in vitro and in vivo. 56th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. SanFrancisco, November 11-15, 2005.

Tanaka Y., Kurbanov F. Mizokami M. et al. Molecular Tracing of Global Hepatitis C Virus Epidemic Predicts Regional Patterns of Hepatocellular Carcinoma Mortality. 56th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. SanFrancisco, November 11-15, 2005.

Ito K. Tanaka Y. Mizokami M. et al. T1653 Mutation in the Box Alpha Increases the Risk of Hepatocellular Carcinoma in Patients with Chronic Hepatitis B Virus Genotype C. 56th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. SanFrancisco, November 11-15, 2005.

G.知的財産権の出題・登録状況
現時点でなし

表1 B型肝炎ワクチン実施例の背景

		症例の背景	
症例数		98	
性 (M:F)		47 : 51	
HBeAg (- : +)		71 : 27	
在胎週数(w)		39.1 ± 1.4	
出生時体重(g)		3036 ± 430	
感染者数		4	
追加接種必要例		8	
平均観察期間(day)		1069 ± 993	
6ヶ月時 ALT(U/l)		31.3 ± 16.7	
経腔 : 帝切		91 : 7	
6ヶ月時の HBs抗体価	27.3 ± 18.5 (RIA法)	484.1 ± 327.6 (CLIA法)	
n	52	39	
1ヶ月時の HBc抗体価	97.9 ± 8.8 (RIA法)	11.0 ± 0.8 (CLIA法)	98.3 ± 2.9 (CLEIA法)
n	65	5	8

表2 HBeAg(-)母とHBeAg(+)母から出生した児の比較

	eAg(-)母から出生した児		eAg(+)母から出生した児			P	
症例数	71		27				
性(M:F)	31 : 40		16 : 11			0.124	
在胎週数(w)	38.9 ± 1.4		39.5 ± 1.1			0.965	
出生時体重(g)	2992 ± 449		3149 ± 360			0.943	
感染者数	1		3			0.060	
追加接種必要例	3		5			0.034*	
平均観察期間(day)	930 ± 853		1533 ± 1283			0.968	
6ヶ月時 ALT(U/l)	31.3 ± 16.7		31.8 ± 12.1			0.552	
6ヶ月時の HBs抗体価	29.4 ± 18.5 (RIA法)	515.7 ± 356.0 (CLIA法)	22.7 ± 18.0 (RIA法)	403.5 ± 236.1 (CLIA法)		RIA: 0.131 CLIA: 0.131	
n	39	28	13	11			
1ヶ月時の HBc抗体価	99.7 ± 2.2 (RIA法)	11.3 ± 0.60 (CLIA法)	98.8 ± 2.5 (CLEIA法)	92.1 ± 16.3 (RIA法)	9.87 (CLIA法)	96.8 ± 4.5 (CLEIA法)	RIA: 0.043* CLIA: nt CLEIA 0.665
n	49	4	6	16	1	2	

表3 感染例のまとめ

感染例の背景	
症例数	22
在胎週数	39±1.4
出生時体重(g)	3263±560
男:女	13:9
院内出生:院外出生	10:12
母のeAg(+):母のeAg(-)	21:1

表4 B型肝炎母子感染例の感染時期

児のs抗原出現時期による分類	例数	HBs抗原出現時期	例
早期陽転(0-1ヶ月で陽転)	10	3M	4
後期陽転(ワクチン後陽転)	10	4M	3
晚期陽転(1-2年後に陽転)	1	6M	2
不適切処置	1	8M	1

表5 経過(症例1)

	HBIG ワクチン1 ↓	ワクチン2 ↓	ワクチン3 ↓	ワクチン4 ↓	感染確認 ↓		
日齢	52	94	122	192	227	248	276
AST	61		51	59	48		46
ALT	36		30	34	23		22
HBsAg(C.O.I)(RIA)	(-)		0.3	0.4	0.4		10.9
HBsAb(C.O.I)(RIA)	18		44	11.2	3.9		0.5
HBeAg(EIA)	19.7						
HBeAb(EIA)	(-)						
HBcAb(%) (RIA)	70.50%		54.80%	26.50%	13.80%		0.40%

表6 経過(症例2) 感染確認

日齢	0	29	56	175	287
AST(U/l)	196	33	38	35	39
ALT(U/l)	13	21	31	24	17
HBsAg(CLIA)	143.9	200 ↑	10000 ↑		10000 ↑
HBsAb(CLIA)	0.7	0.5			
HBeAg(C.O.I)(RIA)	599.2	800 ↑	1600 ↑		1600 ↑
HBeAb(inhibition)(RIA)	0	0	0.1		0.1
HBcAb(%) (RIA)			86.6		
HBcAb(%) (RIA*200)					
HBV TMA(LGE/ml)			8.7		8.6

表7:preS/S 領域のアラインメント

Mother991013	1	gaggggcctatattttctctgctgggtgctccagttccggaacagtaaacctgttccgactactgcctcaccatctcgtcaatctctcagaggactggggaccctgcaccgaacatgga	120
Mother991201	1	120
KeitoAni1	1	120
Keito5	1	120
CAB014378Ja	1c.....a.....	120

Mother991013	121	gagcacaacatcaggattcctaggaccctgctcgtgttaccaggcggtttttcttgttgacaagaatcctcacaataccacagagtctagactcgtgggactctctcaatttct	240
Mother991201	121	240
KeitoAni1	121	240
Keito5	121	240
CAB014378Ja	121g.....	240

Mother991013	241	agggggagcaccacgctgtcctggcgaatttcgagtccecaacctccaatcactcaccacctctgtcctccaatttgcctggctatcgctggatggtctcgcggcgtttatcat	360
Mother991201	241	360
KeitoAni1	241	360
Keito5	241	360
CAB014378Ja	241a.....a.....	360

Mother991013	361	attcctcttcatcctgctgctatgcctcatcttcttgttggttctctggactaccaaggatggtgcccgttgcctctactccaggaacatcaactaccagcaaggaccatgcaa	480
Mother991201	361	480
KeitoAni1	361	480
Keito5	361	480
CAB014378Ja	361g.....	480

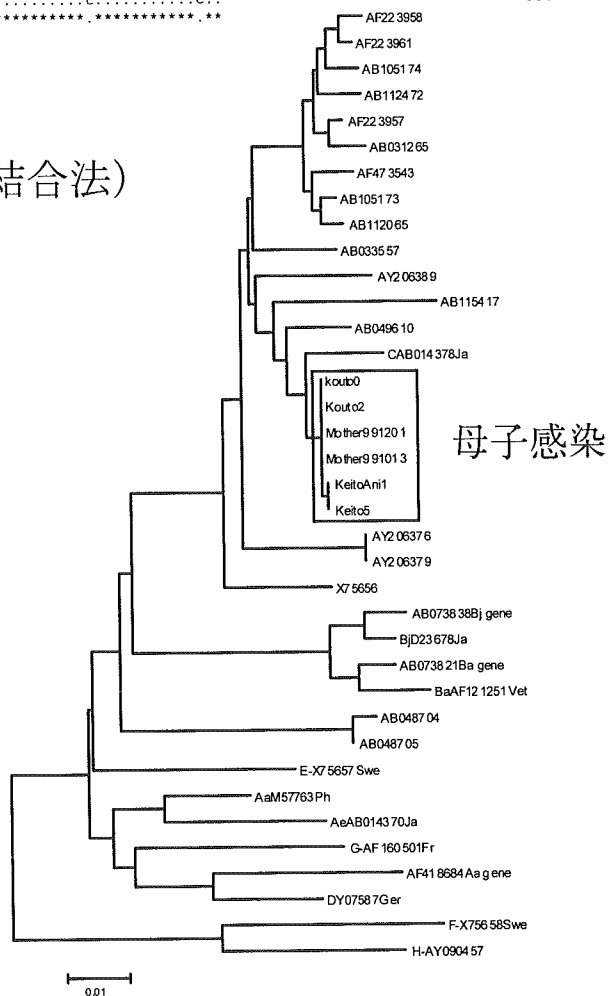
Mother991013	481	gacctgcagattcctgctcaaggaacctctatgtttccctcttgttgcgtacaaaacctcggacgaaactgcactgtattccatcccatcactcctggcgttgcgaagattcct	600
Mother991201	481	600
KeitoAni1	481	600
Keito5	481	600
CAB014378Ja	481	600

Mother991013	601	atgggagtgaggcctcagtcctgttctcctggctcagtttactagtgccattgttccagtggttcgcaggccttccccactggttggttccagttataggatgatggtgattgggg	720
Mother991201	601	720
KeitoAni1	601	720
Keito5	601	720
CAB014378Ja	601	720

Mother991013	721	gccaaagtctgtacaacatcttgagtcctttttacctctattaccaattttcttcttcttcttgggtatacattgaaacctataaaaccaaactggggctactcccttaactcatg	840
Mother991201	721	840
KeitoAni1	721	840
Keito5	721	840
CAB014378Ja	721g.....g.....k.....	840

Mother991013	841	ggatattgtaattggaagttgggtactttaccacaggaacatattgtattaaaactcaagcaatgttttcggaaactgcctgtaaataga	930
Mother991201	841	930
KeitoAni1	841	930
Keito5	841	930
CAB014378Ja	841c.....cca.....t.....c.....	930

図1:preS/S 領域の系統樹(近隣結合法)



C型肝炎ウイルス母子感染成立症例の自然経過に関する検討

分担研究者;大阪府立急性期・総合医療センター小児科

田尻 仁

研究協力者;大阪大学大学院臨床医学系発達医学小児科

恵谷 ゆり

研究要旨

C型肝炎母子感染症例33例について肝機能とHCV-RNAの自然経過について検討した。prospective caseに追跡した15例の中で、経過中にHCV-RNAが自然に消失したものは(脱キャリア化)、3例(20%)のみであった。prospective caseの肝機能は、生後3~6ヶ月の間に異常値(ALT値30 IU/l以上)を示すものが多かった(生後0~3ヶ月50%、生後4~6ヶ月83%、生後7~9ヶ月50%、生後7~12ヶ月50%)。この期間にALTピーク値が100 IU/l以上を示したものは、15例中7例であった(平均192;範囲137~234 IU/l)。C型肝炎母子感染症例では全例において肝機能異常を軽度から中等度認めたが、臨床症状を示したものは認めず、C型母子感染の肝炎は乳児期では軽度と考えられた。さらに生後12ヶ月以降は、肝機能異常の頻度は、生後13~18ヶ月72%、生後19~24ヶ月75%、生後25~30ヶ月50%、生後31~36ヶ月33%であり、生後25ヶ月以降に肝機能異常の頻度は明らかに減少した。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5例に施行した。従来のインターフェロン単独療法を行った3例では、ウイルス排除には無効であった。最近の2例では、ペグインターフェロン単独療法を行っているが、1例では無効であり、12週間で中止した。他の1例では、血中ウイルスは感度以下に抑制されており、現在、48週間の治療を続行中である。

A. 研究の背景と目的

今日、わが国では慢性肝炎の患者は約200万人にもものぼり、その70~80%はC型肝炎ウイルス(以下HCV)によるものと考えられる。HCVによる慢性肝炎は治療に難渋することが多く、肝硬変、肝細胞癌に進展する症例も多い。HCVの主要な感染経路は輸血と考えられるが、日本では献血者に対して1989年よりHCV抗体を用いたスクリーニング検査が導入され、輸血による感染が

防げるようになった。しかし周産期の母子感染に対しては有効な予防方法がなく、それによって現在もHCV感染者が発生しているものと考えられる。

C型肝炎については母子感染の頻度やそれに寄与する危険因子に関しては報告が多いが、母子感染成立例の小児の臨床経過などに関しては検討された報告は比較的少ない。

今回は、研究目的として、母子感染によるC型慢性肝炎の小児33例の自然経過について検

討した。

B. 研究方法

今回の研究の対象は、これまで当院および関連3施設(大阪大学医学部附属病院、大阪府立母子センター、大阪警察病院)において外来フォローを行ったC型肝炎母子感染症例33例である。その内訳は、prospectiveに母子感染と診断した15例と、肝機能異常などで発見されretrospectiveに母子感染と診断した18例の、計33例(男児13例、女児20例)であった。これら33例の肝機能とHCV-RNAの推移について検討した。観察期間は、平均63ヶ月(±31)(範囲10~135ヶ月)であった。肝機能異常については、正常(ALT値30IU/l未満)、軽度異常(30~60IU/l)、中等度異常(60IU/l以上)の3段階に分けて検討を行った。

なお6例では過去に肝生検が行われており、その結果を参考にして、3例では24週間のインターフェロン(IFN)単独治療が行われた。最近の2例では、ペグインターフェロン治療を行っている。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。血中HCV-RNAの定性検査は、HCVゲノムの5' non-coding regionにプライマーを設定したreverse transcription polymerase chain reaction法にて行った。HCV genotypeの診断は岡本らの既報に従った。一部の例については、HCV-RNAの非構造領域のNS5B領域の252塩基配列(nt8295-8546)の母子間の相同性および、児と標準株HCV-JまたはHCV-J6との相同性を解析して、母子感染例と診断した(Etani et al. 1998)。肝組織の検討はヨーロッパ分類およびKnodellらのhistology activity index(HAI score)を用いて

行った。

C. 研究結果

C型肝炎母子感染症例33例の中で経過中にHCV-RNARNAが自然に消失したものは、prospective caseに追跡した15例の中の3例のみであった(いわゆる脱キャリア化)。我々の症例においては、C型肝炎母子感染症例の脱キャリア化の頻度は、15例中3例(20%)となる。1例目は1歳までは肝機能異常(ALT値最高237IU/l)が持続したが、1歳過ぎより肝機能は正常化し、1歳7か月時点から血中よりウイルスが検出されなくなった。2例目は、生後6か月時点のみ肝機能異常(ALT値最高138IU/ml)を認めたが以後正常化し、11か月時点より血中HCV-RNAが検出されなくなった。3例目は、18か月時点より血中HCV-RNAが検出されなくなった。まとめると我々の経験した3例の脱キャリア化時期は、11ヶ月、18ヶ月、19ヶ月であった。

prospective case15例の肝機能は、生後3~6ヶ月の間に異常値を示すものが多かった(生後0~3ヶ月では50%、生後4~6ヶ月では83%、生後7~9ヶ月では50%、生後7~12ヶ月では50%)。ALTピーク値が100IU/l以上を示したものは、15例中7例であり(平均192IU/l、範囲137~234IU/l)、C型肝炎母子感染の肝炎は乳児期では軽度と考えられた。生後12ヶ月以降は、prospectiveとretrospective caseを合わせて、肝機能異常を検討した。肝機能異常の頻度は、生後13~18ヶ月72%、生後19~24ヶ月75%、生後25~30ヶ月50%、生後31~36ヶ月33%であり、生後25ヶ月以降(2歳以降)に肝機能異常の頻度は明らかに減少した。その傾向は、7歳まで見られ、とくに

中等度異常(ALT 値 60 IU/l 以上)の症例は、4歳から7歳までの間には認めなかった。年長児(9歳~15歳)では、インターフェロン治療例を除いた自然経過例4例でも肝機能は、9歳の1例を除けば正常か軽度異常を示すのみであった。

6例に対し、経皮針肝生検を施行した。肝生検時の年齢は平均7.8(3.0~13.8)歳であり、肝機能はALT 値の平均40(20~92)IU/lと正常から軽度上昇であった。肝組織像はヨーロッパ分類では chronic persistent hepatitis 3例に対し、chronic active hepatitis が3例あり、このうち1例は8歳10カ月時点で既に一部の肝小葉構造に改変が認められた。このうち3例に対しインターフェロン単独治療を6か月間施行した。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。治療終了後6か月の時点で肝機能が正常化(ALT 35IU/l)したものは2例あったが、血中HCV-RNA が消失したものは1例もなかった。なお最近の2例では、ペグインターフェロン単独療法を行っているが、1例では無効であり、12週間で中止した。他の1例では、血中ウイルスは感度以下に抑制されており、現在、48週間の治療を続行中である。

D. 考案

本研究では、これまで外来フォローしたC型肝炎母子感染の33例に関して、肝機能の推移などについて検討した。乳児期の肝機能は、prospective case15例に限って検討を行った。その結果、生後3~6ヶ月の間に異常値を示すものが多かったが、ALTピーク値が100IU/l以上を示したものは、15例中7例であり、乳児期では母子感染のC型肝炎は軽度と考えられ

た。次に生後25ヶ月以降に肝機能異常の頻度は明らかに減少した。その傾向は、7歳まで見られた。年長児(9歳~51歳)では、肝機能は、正常か軽度異常を示すのみであった。すなわちC型肝炎母子感染例の肝機能異常は、乳児期から15歳までの年長児まで軽度であった。以上の結果は、小児のC型肝炎が成人に比べて進行が緩徐であり、一般的に小児期には、C型肝炎による肝硬変、肝癌は発症しないというこれまでの報告と一致するものであった。

prospective に追跡した3例において経過中血中HCV-RNA が自然消失し、ウイルスが排除されたと考えられた。母子感染が成立したとしても一過性の感染で終わる症例も少なからず存在するようである。

文献的にHCV母子感染例の肝組織像に関する報告数は少なく、肝組織変化の軽度のものがほとんどで、生検時の年齢が分かっている症例はいずれも若年での報告であった。しかし肝機能異常が軽度でも組織学的には進行していた1例が認められたことは興味深い。フォローアップできなかった時期に肝炎の活動性が強い時期があり、肝病変が進行したものと考えられる。

一般的に成人のC型慢性肝炎ではALT 値が100IU/l前後を推移し、10~20年の経過を経て肝硬変へと移行する。感染時期が高齢の場合急速に肝病変が進行するケースも知られているが、逆に若年期感染例では緩徐な進行を示すケースが多い。こうした予後を左右する因子として、感染ウイルス量以外に宿主の免疫能を含めた遺伝的な背景が存在すると考えられる。またこれまでC型肝炎母子感染症例について肝生検所見の報告がいくつか見られ

るが、慢性肝炎の活動性は軽度であるとの報告がほとんどである。しかしながら今回我々が示したように母子感染による C 型慢性肝炎の小児で早期より肝病変の進行した症例も存在したことから、定期的な経過観察とともに、どのような時期にいかん治療するかも念頭に置く必要がある。

E. 結論

1. C 型肝炎母子感染症例 33 例について肝機能の経過を検討した。prospective case 15 例の肝機能は、生後 3～6 ヶ月の間に異常値を示すものが多かった。乳児期に ALT ピーク値が 100 IU/l 以上を示したものは、15 例中 7 例であり、C 型肝炎母子感染の肝炎は軽度と考えられた。生後 12 ヶ月以降は、肝機能異常の頻度は、生後 13～18 ヶ月 72%、生後 19～24 ヶ月 75%、生後 25～30 ヶ月 50%、生後 31～36 ヶ月 33% であり、生後 25 ヶ月以降に肝機能異常の頻度は明らかに減少した。その傾向は、7 歳まで見られ、とくに ALT 値中等度異常 (60 IU/l 以上) の症例は、4 歳から 7 歳までの間には認めなかった。年長児 (9 歳～15 歳) の自然経過例 4 例でも肝機能は正常か軽度異常を示すのみであった。
2. 3 例において、経過観察中に血中から HCV-RNA が消失した。
3. 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。
4. インターフェロン単独治療を 3 例に施行したが、ウイルス排除には無効であった。
5. 最近の 2 例では、ペグインターフェロン単独療法を行っているが、1 例では無効であり、12 週間で中止した。他の 1 例は、48 週間の治療

を続行中である。

F. 健康危険情報

とくになし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Sawada A, Tajiri H, Kozaiwa K, Guo W, Tada K, Etani Y, Okada S, Sako M. Favorable response to lymphoblastoid interferon- α in children with chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 1998 Feb;28(2):184-8.
- (2) Etani Y, Tajiri H, Tada K, Sawada A, Kozaiwa K, Okada S, Hotta H. Molecular diagnosis and liver histology of children with mother-to-child-transmitted hepatitis C virus infection. *J Pediatr.* 1998 Oct;133(4):588.
- (3) Matsumoto S, Nakajima S, Nakamura K, Etani Y, Hirai H, Shimizu N, Yokoyama H, Kobayashi Y, Tajiri H, Shima M, Okada S. Interferon treatment on glomerulonephritis associated with hepatitis C virus. *Pediatr Nephrol.* 2000 Dec;15(3-4):271-3.
- (4) 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* 2000; 第 52 卷 (第 5-12 号):189-194.
- (5) Tajiri H, Miyoshi Y, Funada S, Etani Y, Abe J, Onodera T, Goto M, Funato M, Ida S, Noda C, Nakayama M, Okada S. Prospective study of mother-to-infant transmission of hepatitis C virus. *Pediatr Infect Dis J.* 2001 Jan;20(1):10-4.
- (6) 三善陽子、田尻 仁. 小児 HCV 感染 — C 型肝炎母子感染および小児 C 型慢性肝炎について — *日本臨床* 2001; 第 59 卷 (第 7

号):1294-1298.

(7) 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. 2002 Nov;161(11):629-30.

(8) 三善陽子, 田尻仁, 恵谷ゆり, 他. C型肝炎ウイルス(HCV) 感染経路と予防対策 —C型肝炎ウイルスの母子感染症例の自然経過— 日本臨床 62:279-282;2004

(6) 田尻仁. 他2名:小児期肝疾患の病態と診断の進歩;肝針生検を施行した小児肝疾患症例の診断と治療. 第9回日本肝臓学会大会学, 2005年10月 神戸市

2. 学会発表

(1) 田尻仁. 他3名:大阪府におけるB型肝炎母子感染防止の実態に関するアンケート調査. 第39回日本肝臓学会総会, 2003年5月 福岡市

(2) 田尻仁. 他2名:過去10年間のB型及びC型ウイルス肝炎に関する臨床的検討. 第30回日本小児栄養消化器肝臓学会, 2003年11月 北九州市

(3) 田尻仁. 他2名:急性肝炎の変遷 過去10年間の小児B型及びC型ウイルス肝炎についての臨床的検討. 第35回日本肝臓学会西部会, 2003年11月 岡山市

(4) 田尻仁. 小児期・青年期のB型慢性肝炎に対するラミブジンの使用経験 第31回日本小児栄養消化器肝臓学会 2004年9月 東京都

(5) 田尻仁. 他3名:小児期・青年期のB型慢性肝炎に対するラミブジンの使用経験. 第41回日本肝臓学会総会, 2005年6月 大阪市