

APASL Conference. 2007. 3.27-30, Kyoto.

11) 菅原秀典、十河 剛、乾あやの、佐久間  
かおり、小松陽樹、藤澤知雄. ミルクアレルギーに  
対する抗原特異的リンパ球刺激試験の有用性.  
第 286 回日本小児科学会神奈川県地方会  
2007.4.14.横浜

12) 道堯浩二郎、松浦可奈、日浅陽一、堀池  
典生、柴山隆男、矢倉道泰、原田栄治、乾あ  
やの、藤澤知雄、恩地森一. 本邦における B  
型肝炎ウイルスゲノムタイプ D の多様性.  
2007.5.31-6.1. 日本肝臓学会 東京

13) 青松友槻、宮崎敬士、余田 篤、小松陽  
樹、乾あやの、藤澤知雄、玉井 浩. 劇症肝  
炎2例を含む HBV の家族内水平感染例. 第  
24 回日本小児肝臓研究会..2007.7.14-15.東  
京

14) 乾あやの、小松陽樹、十河 剛、橋本卓  
史、中島章子、藤澤知雄. 小児科における C  
型肝炎に対する PEG-IFB  $\alpha$  2b+リハビリン  
併用療法の経験. 第 11 回日本肝臓学会大会.  
2007. 10.18. 神戸

15) 乾あやの、菅原秀典、橋本卓史、十河  
剛、小松陽樹、藤澤知雄. C 型肝炎母子感染  
例における Pegylated Interferon (PEG-IFN)療  
法の効果. 第 38 回日本小児感染症学会.  
2007.11.9-11.11

16) 小松陽樹、乾あやの、十河 剛、藤澤知  
雄. HBV escape mutant における CTL 機能解  
析. 第 38 回日本小児感染症学会.  
2007.11.9-11.11

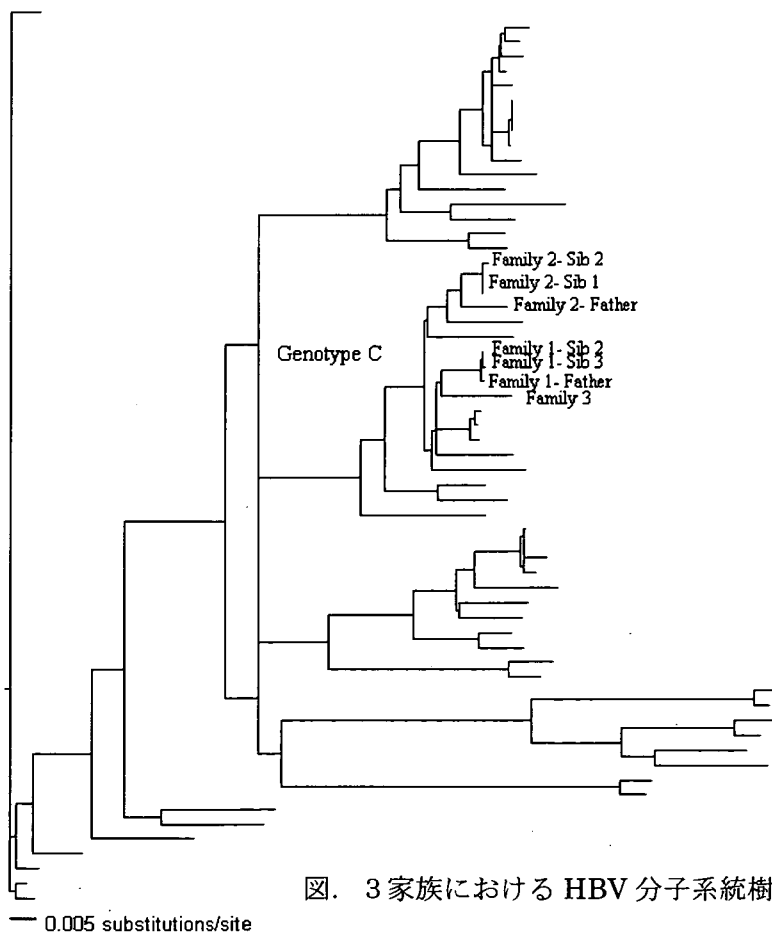


図. 3 家族における HBV 分子系統樹解析

平成19年度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」(H17-肝炎-一般-008)

分担研究報告書

HCV 母子感染例における HCV NS5B 領域の塩基置換速度の母子間の比較

「HB ワクチン早期接種による B 型肝炎母子感染防止効果の研究」に関する当院の状況

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 准教授  
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 講師  
共同研究者 伊藤 孝一 名古屋市立大学大学院 新生児・小児医学 臨床研究医

研究要旨

HCV 母子感染例について長期の経過で母子に感染したウイルスが母子間でどのように変化していくか不明な点も多い。今回我々は HCV 母子感染7家系を対象に、HCV の遺伝子の中でも遺伝子の増幅に重要であり、比較的保存されているとされる NS5B 領域の 336 塩基配列およびアミノ酸配列を決定し、比較検討を行った。分子系統樹から、それぞれの母子の HCV 株の塩基配列は近縁に存在することが示された。母子間の HCV 株の塩基相同性は高く(平均 98.9%)、垂直感染が確定された。母子感染の児7例のうち観察期間中(平均観察期間 4.5年)に塩基置換がみられたのは1例のみであり、アミノ酸置換は伴わない変化であった。経時的に観察可能であった母子感染の母6例のうち観察期間中(平均観察期間 3.5年)に塩基置換がみられたのは4例であり、アミノ酸置換は伴わない変化であった。HCV 株の NS5B 領域の塩基置換速度を母子で比較すると、母の方が速い傾向がみられた。

B型肝炎ウイルス陽性の母親から出生した7例の児を対象に、HB ワクチン早期接種を実施した。このうち、HBe 抗原陽性の母親から出生したのは2例、HBe 抗原陰性の母親から出生した例は5例であった。評価時点では全例母子感染は成立しておらず、1例を除いて HBs 抗体価は良好に保たれていた。1例についてはワクチンに低反応のため、HBs 抗体価の上昇を認めず、追加接種を実施した。

- A. HCV 母子感染例における HCV NS5B 領域の塩基置換速度の母子間の比較 進み HCV の感染経路として輸血によるものはほとんど無くなり、新たな患者の発生は減少している。しかし、残念ながら、現時点では HCV については確立された母子感染予防法はなく、
- A. 研究の目的 最近では、輸血用血液のスクリーニング法が

母親の血清中 HCV RNA が陽性の場合、その約 10%に母子感染が成立するとされ、現在でも全国では数百人規模の新規感染例が存在すると推定される。感染例の約 2/3 は HCV キャリアの状態となり、大部分は小児期から成人に至るどこかで慢性肝炎を発症する。今後、これら母子感染例の予後を予測し、治療を進めていく上で、HCV 母子感染の病態を解明することは、重要な課題の一つと考えられる。

HCV 母子感染の小児例では肝線維化の進展の程度は成人と比較して軽度である。また、治療においては IFN 単独療法の成績は小児では、成人と比べて良好である。このような小児と成人で臨床像に差の生じる理由は明らかにされていないが、ホストである母子の免疫能の違いや、ウイルスの遺伝子変異が病態に関わる可能性も考えられる。HCV 母子感染における、母子間での HCV 遺伝子の変異速度や変異部位の違いが明らかになれば、小児と成人での臨床像が異なる原因を究明する上で意義あるものと考えられる。今回、我々は HCV 母子感染例を対象に、それぞれ母子から検出したウイルスの遺伝子解析を実施することにより、病態の一部を解明したいと考えた。

母親に存在する HCV クローンは quasispecies の状態にあり、必ずしも major なクローンだけが児へ感染するとは限らず、minor でありながら感染性の強いクローンが感染する可能性が示されている。また、quasispecies の増加は宿主に最も適応したウイルスを選択する過程において生じることから、ホストの免疫能が強まることにより、ウイルスが多様化し変化が加速する可能性がある。即ち母由来の HCV クローンは新たな宿主である児のもとで母とは異なる方向性の変化を来す可能性がある。母由来のウイルスは、遺伝的には似ているが免

疫力の異なる児の下で、進化の速度、方向性に違いを見せるのか、あるいは似た方向を示すのであろうか。

HCV 遺伝子の NS5B 領域は、HCV RNA ゲノムの複製において重要な役割を担っている RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) をコードし、その領域の変異は HCV RNA の複製に重要な影響を与えることが、明らかとなっており、インターフェロン治療との関連性も指摘されている。しかしながら、HCV 母子感染例の小児期における HCV NS5B 領域の多様化(進化)について母子間で比較した研究は少なく、詳細は不明である。そこで、今回我々は HCV NS5B 領域を主要な解析対象とした。

## B. 研究方法

対象は当院小児科にてフォロー中の HCV 母子感染患者 7 例及びそれぞれの母親とした。採取した血液は凝固後、直ちに遠心し、RNA 抽出時まで凍結保存した。解析時、保存血清 50  $\mu$ l より SepaGene-RVR (三光純薬) を用い、添付のマニュアルに従い HCV RNA を抽出した。

抽出した RNA、random primer 及び逆転写酵素 SuperScript II を用い、逆転写を実施し cDNA を作成後、NS5B 領域(nt 8279-8614) に設定した primer 及び、FastTaq を用い、nested PCR 法で増幅した(図 1)。増幅産物は、3%アガロースゲルで泳動後、陽性バンドから DNA を切り出した。切り出した DNA、2nd PCR で用いた 2 組の primer、BigDye Kit (Applied BioSystems) にて、Sequence 反応を実施し、Sequence 解析装置で、目的領域の塩基配列を両方向から決定した(Direct Sequence 法)。配列中の一部の塩基は quasispecies によるものと思われる信号の混合を認めたが、順方向

と逆方向の両者を解析し、より信号の強いものを採用した。

母子7家系につきNS5B領域の336塩基配列、アミノ酸配列を決定し比較検討した。経時的に観察可能であった6家系の母子については、塩基置換速度を母子間で比較した。

## C. 研究結果と考察

### 1) 患者背景と臨床経過

患者背景を表1に示す。ALTの持続高値を示したのはCase CとCase Fの2例であり、いずれもPEG-IFN単独療法を施行されていた(1例は現在治療中)。

図2～図8にCase A-GのALT値およびHCV RNA量の推移を示し、HCV遺伝子解析を行った時点を矢印で示す。Case CとCase Fの2例については図中にPEG-IFN単独療法を施行した時期を示す。Case Cは現在治療中の児であり、治療開始12週の時点でHCV RNAは定性法で陰性化している。Case FはPEG-IFN治療を開始後、血清中HCV-RNAが著明に減少し、一旦は定性法で陰性化したが、10回投与した時点でALT値が600IU/lを超える著明な上昇を認めたため、PEG-IFNの副作用と考えられ、治療を中断した。その後、HCV-RNAは陽性化したが、徐々に減少していき、中断後約1年半の時点で再び定性法で陰性化している。また、HCVコア抗体価も漸減している(図9)。

### 2) 母子間でのNS5B領域の比較検討

7家系につき母子それぞれのHCV株のNS5B領域の塩基配列を決定し、分子系統樹を作成した(図10)。この系統樹から、それぞれの母子のHCV株の塩基配列は近縁に存在することが示された。また、母子間のHCV株の

塩基相同性を求めると(母子ともに最も年齢の若い時期でHCV株の塩基配列を比較)、母子間の塩基相同性は高く、平均99.2%(97.3-99.7%)、アミノ酸相同性も平均99.8%(98.2-100%)と高い相同性を示した。アミノ酸配列については、2箇所のアミノ酸残基の不一致を示した1家系を除き、6家系で100%の相同性を示した(表2)。NS5B領域が感染ルートの確定に有用であることが再確認された。

### 3) 母子感染例の児におけるNS5B領域の変化

母子感染の児は7例につき観察期間中のHCV NS5B領域の塩基置換の数、およびアミノ酸置換の数、塩基置換速度(塩基置換/塩基/年)を求めた。それぞれ最も若い時点でのHCVの塩基配列を基準とした(表3)。Case Aは9歳、10歳、11歳の時点では6ヶ月時の配列と比較して塩基置換がみられたが、12歳の時点では塩基置換がみられなかった。Case Bでは塩基置換がみられたが、4歳から16歳にかけて3ヶ所の塩基置換がみられたが、アミノ酸置換は伴わない変化であった。残りの5例では塩基置換がみられなかった。IFN- $\alpha$ 2a単独療法を施行したCase F(肝障害の発生により、10週目で治療中断)では治療前後で塩基置換がみられなかった。

### 4) 母子感染例の母におけるNS5B領域の変化

経時的に観察可能であった母子感染例の母6例につき観察期間中のHCV NS5B領域の塩基置換の数、およびアミノ酸置換の数、塩基置換速度(塩基置換/塩基/年)を求めた。それぞれ最も若い時点でのHCVの塩基配列を基準とした(表4)。Case Aの母、Case Bの母、Case Eの母、Case Gの母で塩基置換がみられ、Case Eの母ではアミノ酸置換を伴ってい

た。

#### 5) NS5B 領域の塩基置換速度の母子間の比較

母子ともに経時的に観察可能であった 6 家系について塩基置換速度を比較した(表 5)。HCV 株の NS5B 領域の塩基置換速度を母子で比較すると、児の方が遅い傾向がみられた。この HCV の塩基置換速度の差異は宿主の免疫力の差が影響している可能性が推察された。また、臨床経過と HCV の塩基置換速度との関係について明らかなものは認めなかった。

### B. 「HB ワクチン早期接種による B 型肝炎母子感染防止効果の研究」における当院での実施例についての検討

#### A. 研究の目的

HBe 抗原陽性の妊婦から出生した児は、B 型肝炎母子感染予防処置を実施しない場合、90%以上に母子感染が成立し、感染した児の多くはキャリア化する。そこで、最近では母子感染予防が保険適応となり、ほとんどの例で実施されるため、母子感染例を経験することは少なくなった。しかし母子感染例を全く経験しなくなった訳ではない。予防処置を実施しても母子感染が成立する理由として、胎内感染など避けられないものもあるが、HB ワクチン、HBIG の投与方法や投与時期が間違っているなど医療機関あるいは保護者の過誤によって感染が成立してしまう例も少なからず存在する。特に投与時期について、現行の方法では、HBIG は 0、2 ヶ月、HB ワクチンは 2、3、5 ヶ月と出生後長期に渡り実施しなければならないこと、里帰り分娩の習慣によって、出生した病院との関係が切れ、きちんとフォローされないことが、投与忘れや投与間違いを増加させていると推定さ

れる。

この対策として、今回の研究班では、大戸主任研究者のもと、従来の日本での方法(出生後 0、2 ヶ月時に HBIG 接種を実施し 2、3、5 ヶ月時に HB ワクチンを接種する方法)と異なり、諸外国では既に行われている HB ワクチン早期接種法(出生後 0 ヶ月に HBIG を接種し、出生後 0、1、3 ヶ月に HB ワクチンを接種する方法)について検討することとなった。この方法では、出産した病院で 1 ヶ月健診を受ける場合には、最低でも同病院で 2 回目までの HB ワクチンを受けることが出来、投与間違いによる母子感染の発生をかなり減少できると考えられる。またこの方法では 3 ヶ月までに HB ワクチンを終了することが可能となり、BCG やポリオ、3 主混合ワクチンなどとの接種時期の干渉を少なくすることが可能となる。

HB ワクチン早期接種について、現時点での当院での実施例について報告する。

#### B. 当院実施例の結果及び考察

期間内の早期接種対象例は 7 例であった。内、1 例については他院からの紹介例で、母親のデータ、児の背景データについて詳細は不明である。全例に書面での同意を取得した。母の HBV 関連データを表 6 に示す。HBe 抗原陽性例は 2 例、HBe 抗原陰性例は 5 例であった。Genotype については、A が 1 例、B が 1 例、C が 3 例で、不明又は未実施が 2 例あった。症例 7 の HBs 抗原は 0.1 と減少していた。

表 7 に対象児の体重、身長、在胎週数等の背景データを示す。37 週未満の早期産例が 2 例(症例 1,6)含まれていた。体重は全例 2500g 以上であった。双胎例はなく、全例出産時に異常は認めなかった。

表 8 に HBs 抗原、HBs 抗体、HBc 抗体の推

移について1ヶ月時、4ヶ月時、12ヶ月時のものを示す。全例、観察期間内には母子感染は成立しなかった。1年間以上観察可能であった2例について、12ヶ月時のHBs抗体価はそれぞれ351mIU/mL、239mIU/mLと充分感染予防力価として維持されていた。

症例5(他院からの紹介例)についてはワクチン低反応例であった。図11に出生後のワクチン接種状況と各種抗体価の推移を示す。日齢191に追加ワクチンを接種したが、HBs抗体について、経過中の再上昇は観察されなかった。今後、HBs抗原が陽転してくるか否かについては不明であり、注意深い観察が必要と考えられた。

ワクチン低反応で抗体価が低下する例における追加接種については、実施しなくても結果は変わらないとの考え方と、実施すべきとの考え方があるが、今回の症例については、両親と相談し、追加接種を実施した。

#### (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。

#### C. 健康危険情報

特記事項はなし。

#### D. 研究発表

##### 1 論文発表

Ito K, Goto K, Tanaka Y, Mizokami M et al., Evidence of mother to infant transmission of hepatitis C virus and the evolutionary pattern

by molecular evolutionary analyses, submitted, 2007

後藤健之、杉山幸八郎：【小児の肝胆膵疾患の特異性】肝内胆管低形成症 (Alagille 症候群など)、肝・胆・膵、55、297-303、2007.

#### 2. 学会発表

なし

#### E. 知的財産権の出題・登録状況

現時点でなし。

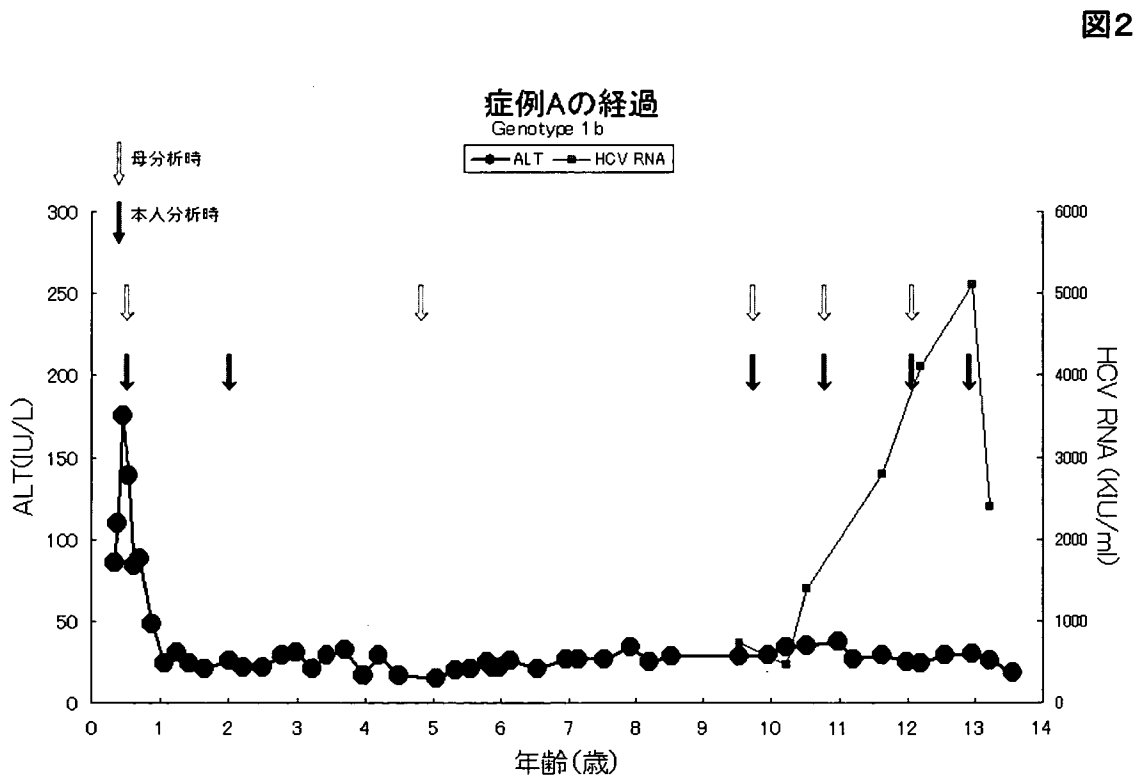
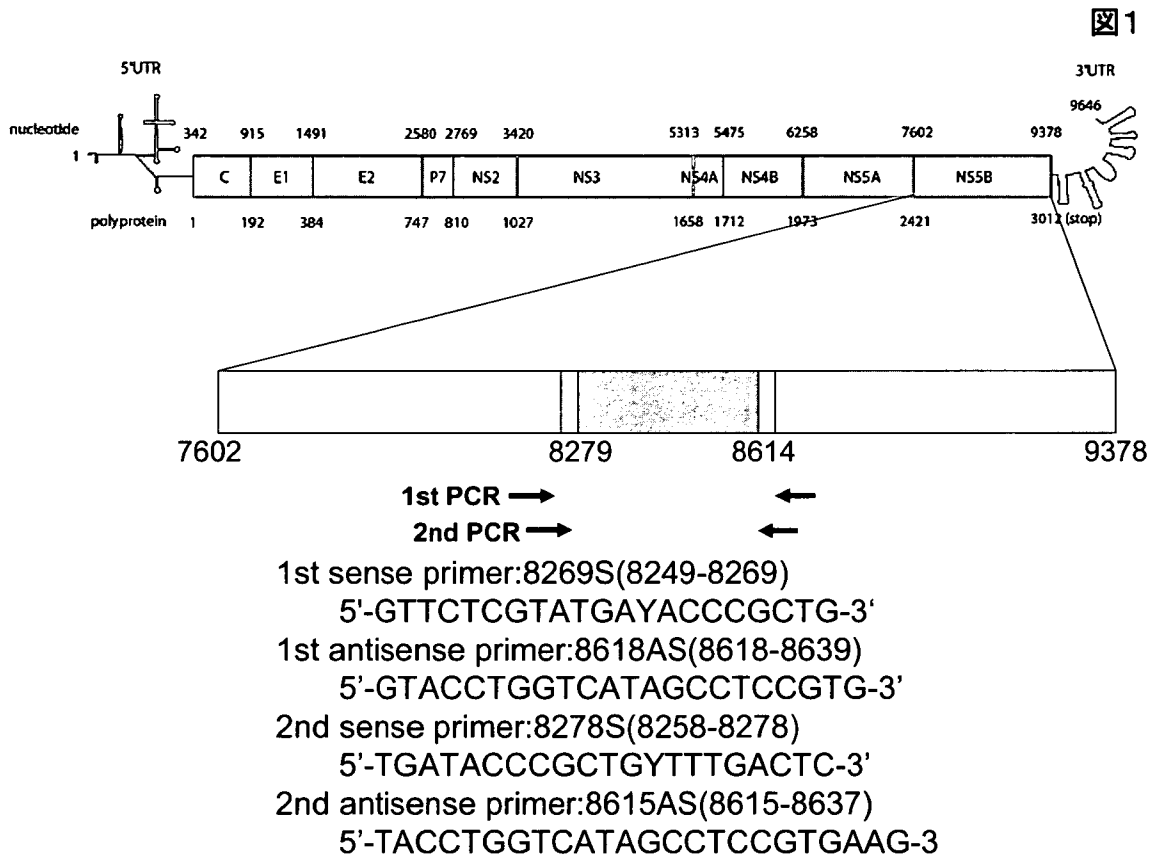


図3

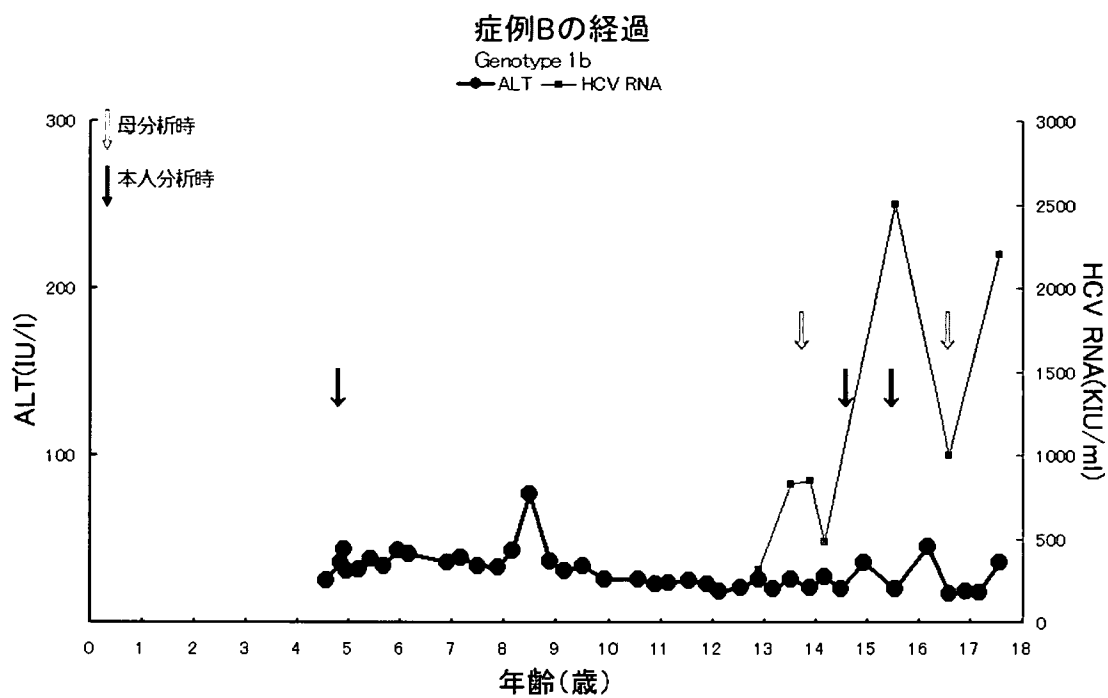


図4

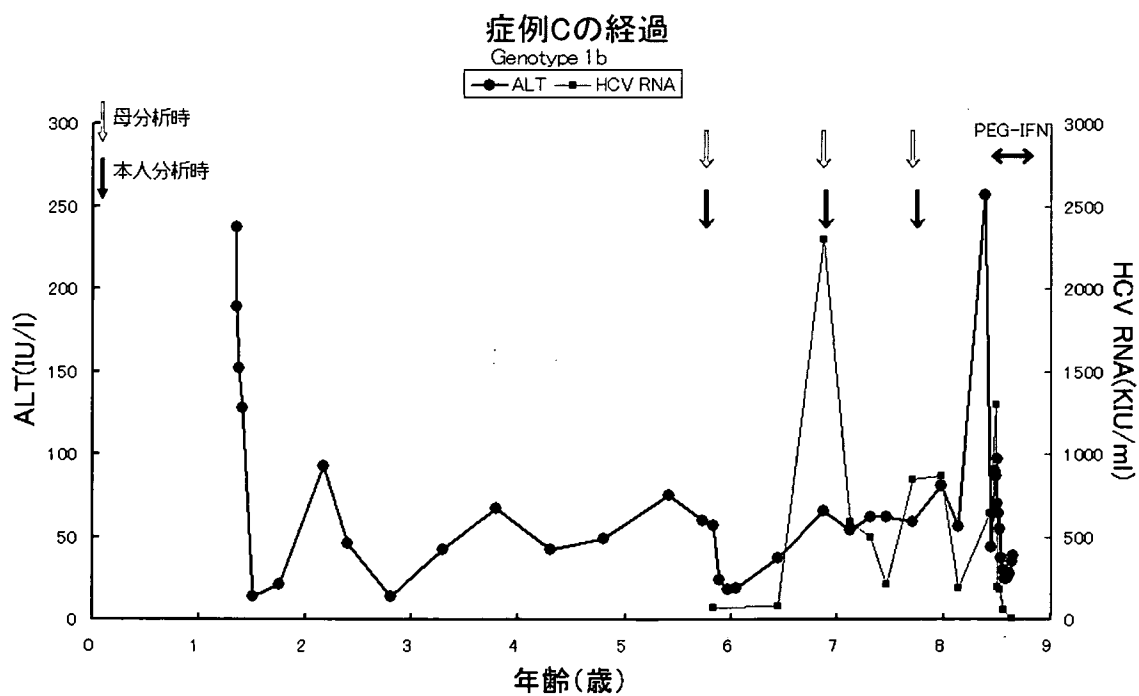




図5

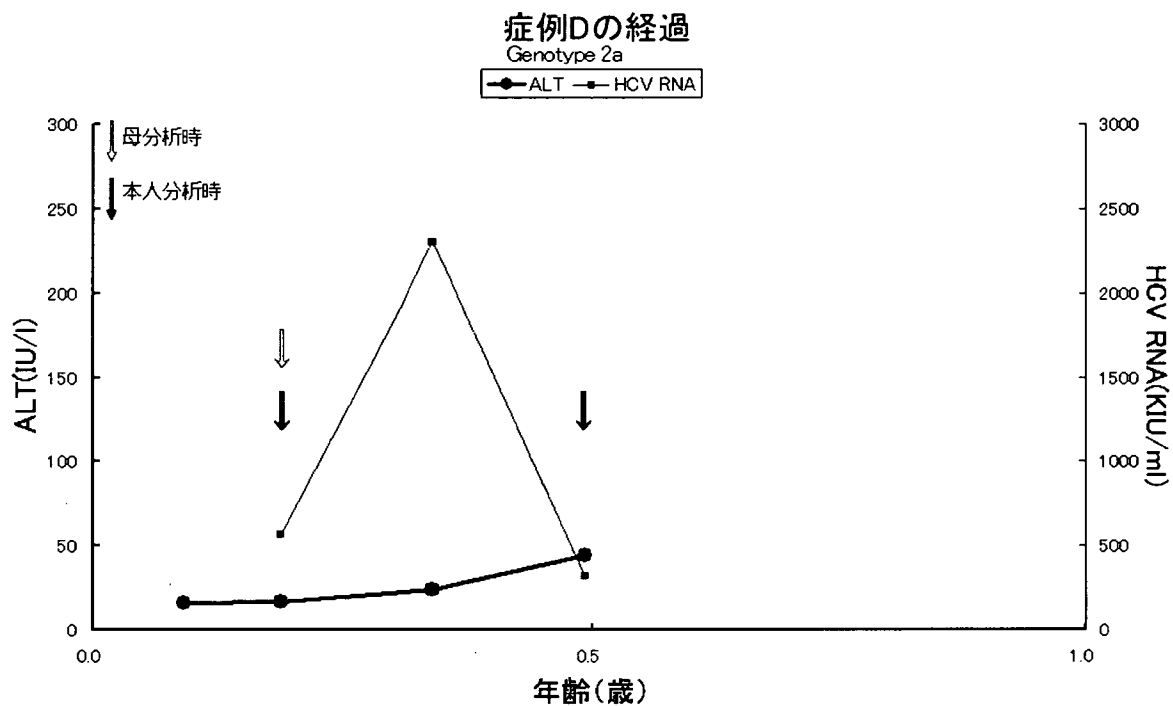


図6

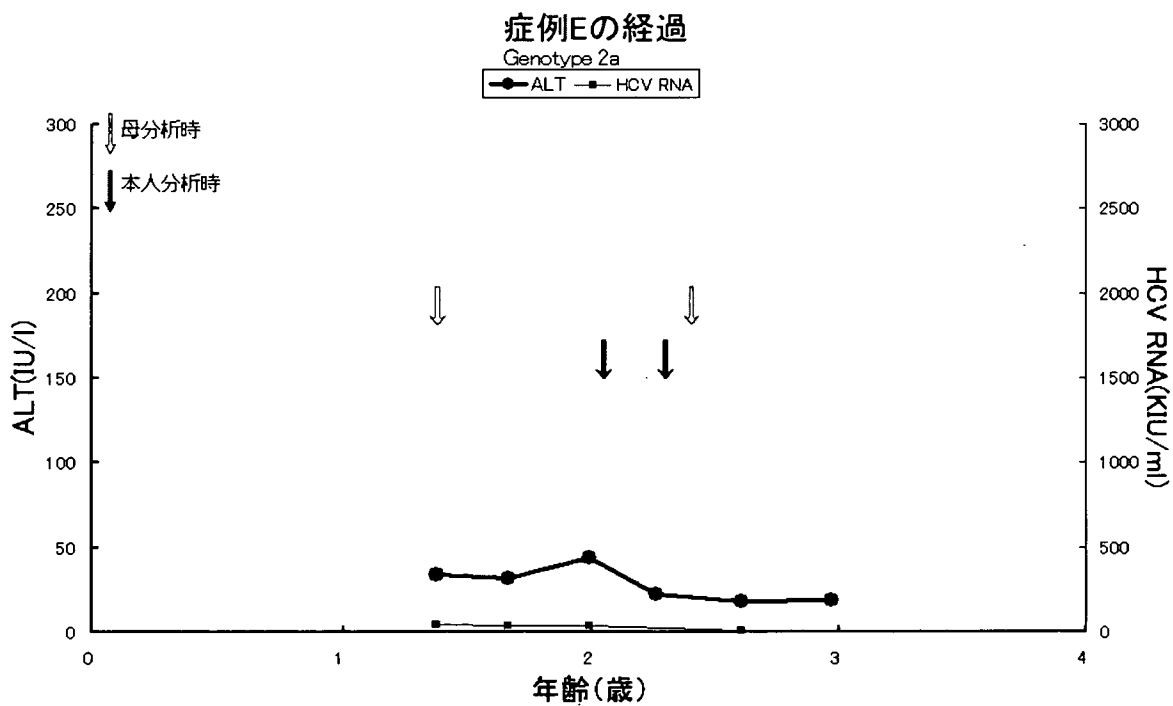


図7

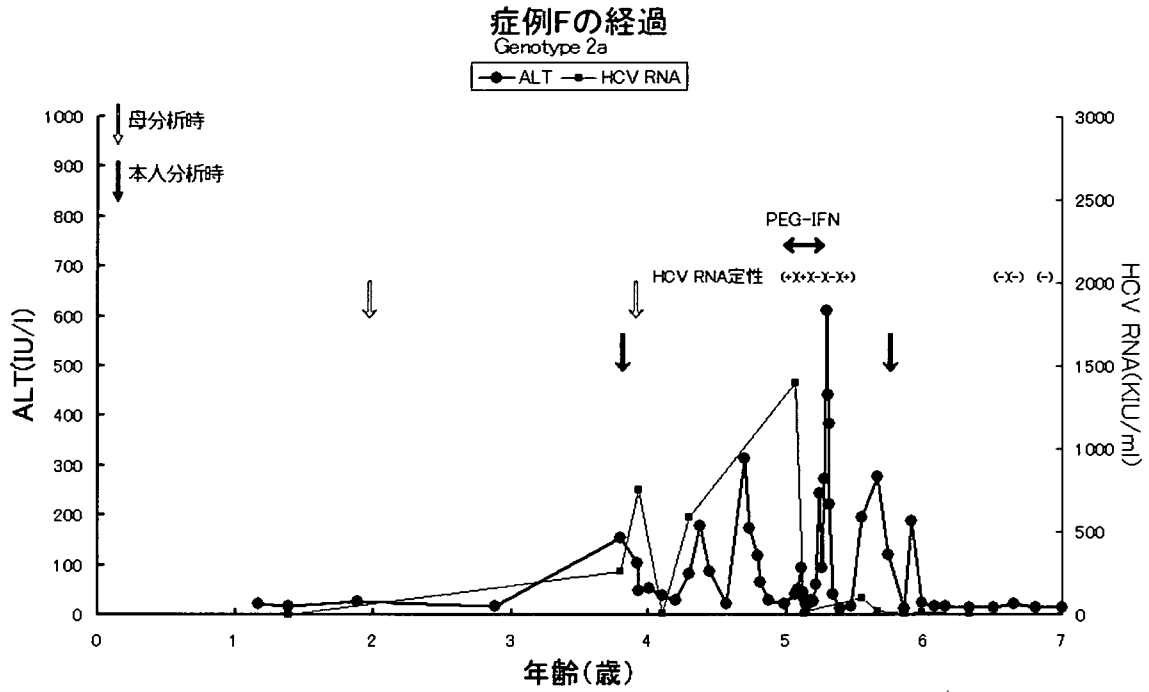


図8

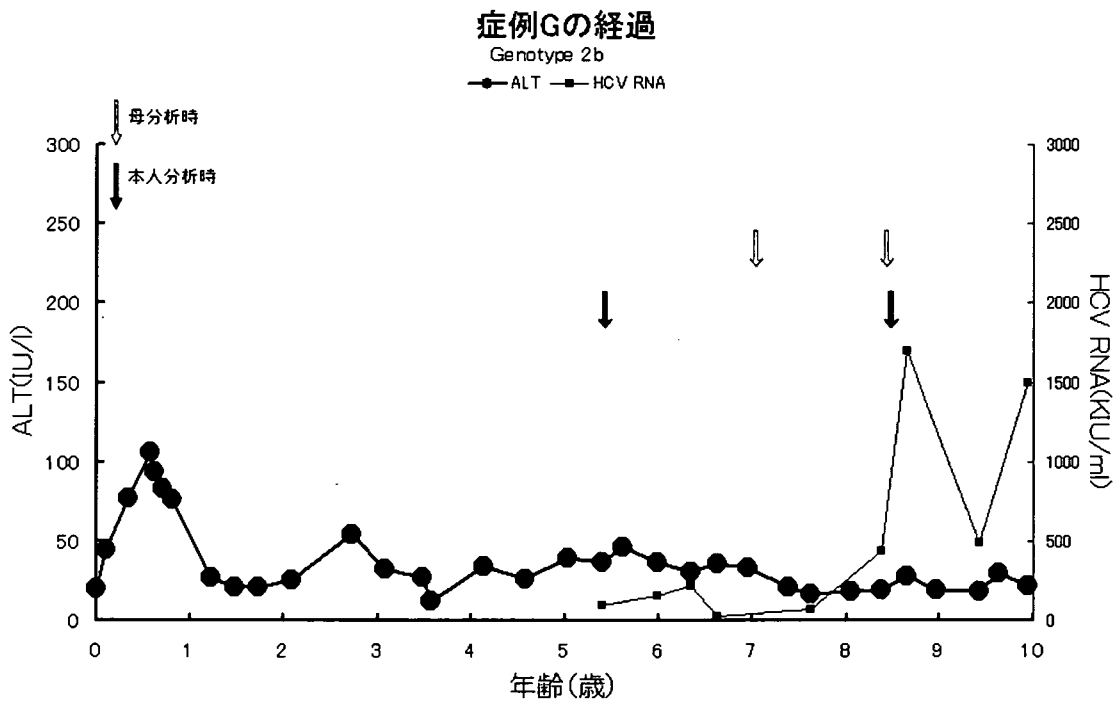


図9

症例FのPEG-IFN治療後の経過

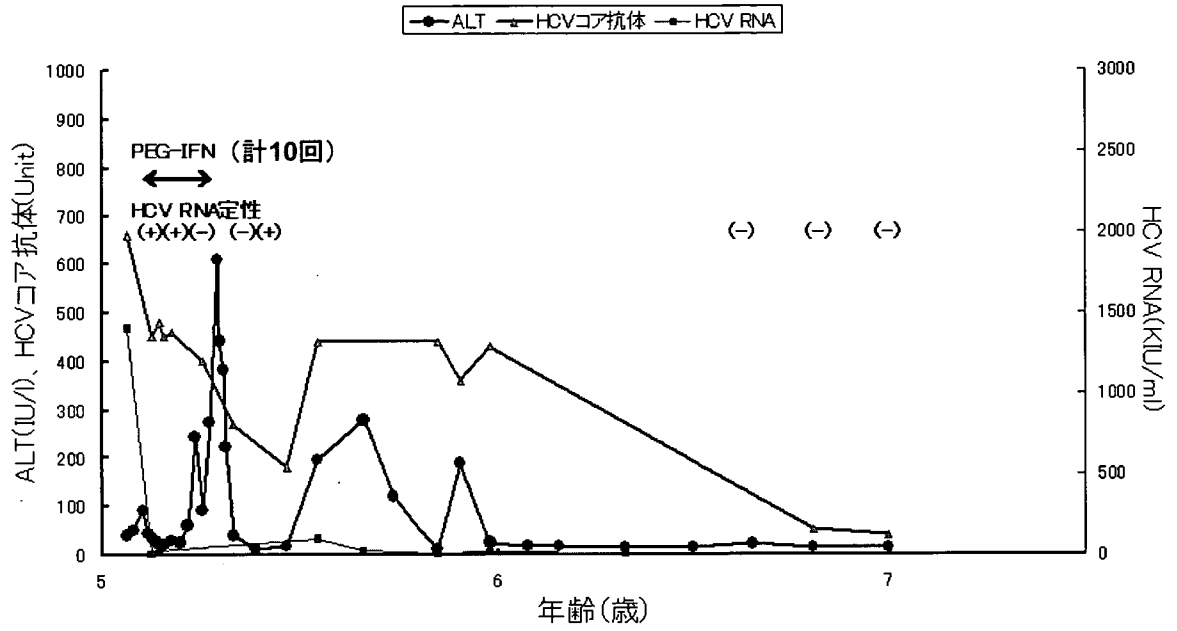


図10

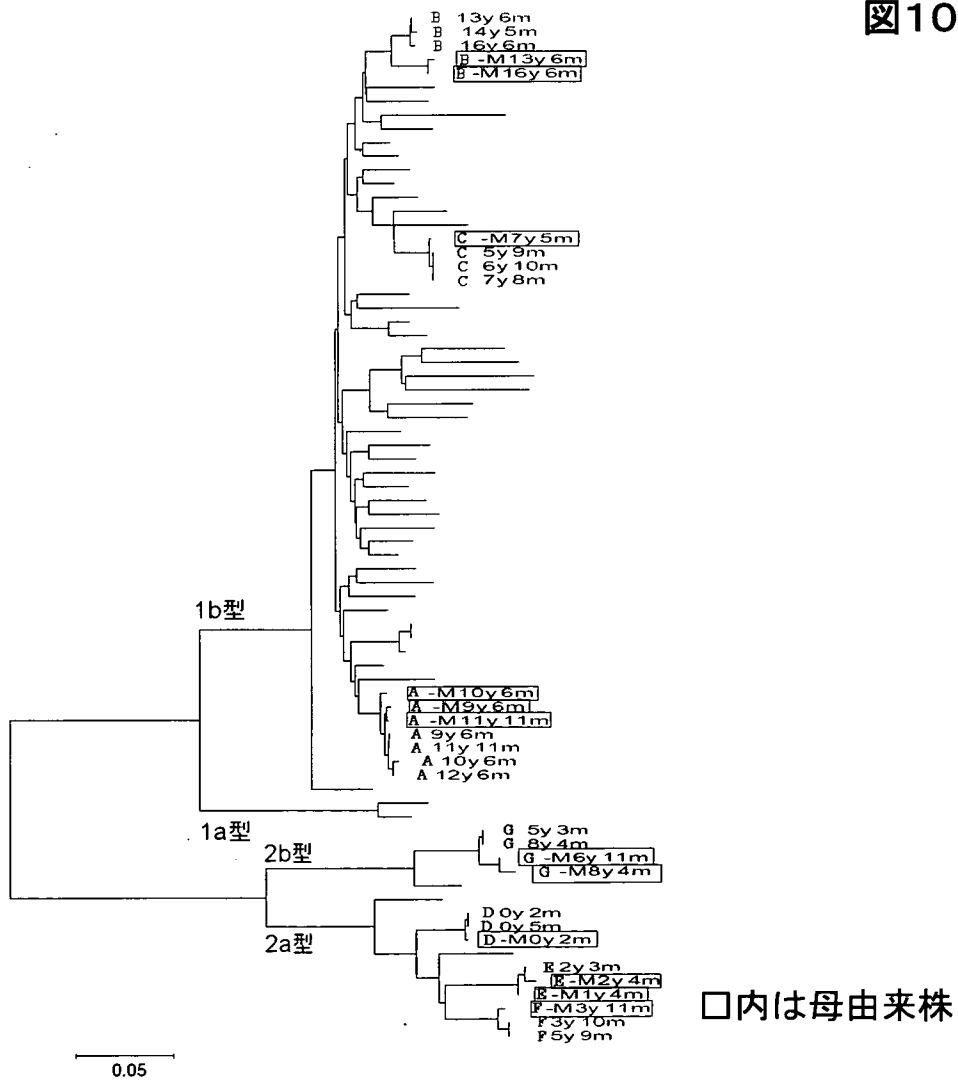


図11 ワクチン低反応の1例

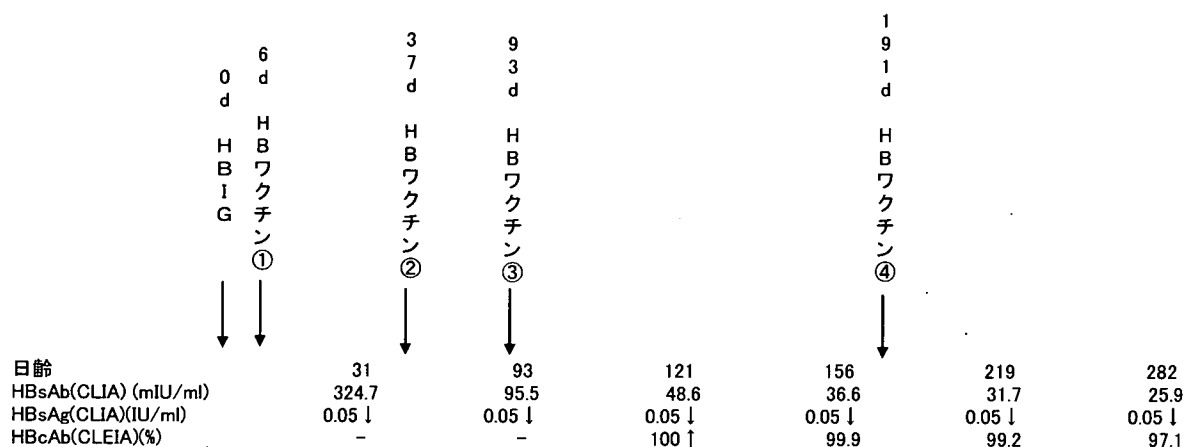


表1 患者背景

| Case | 性 | HCV genotype | 観察期間 (年齢)  | 観察期間 (年) | ALTの持続高値 | PEG-IFN 治療 |
|------|---|--------------|------------|----------|----------|------------|
| A    | f | 1b           | 0.3 - 13.6 | 13.3     | -        | -          |
| B    | f | 1b           | 4.6 - 17.6 | 13.0     | -        | -          |
| C    | f | 1b           | 1.3 - 8.7  | 7.4      | +        | +          |
| D    | f | 2a           | 0.1 - 0.5  | 0.4      | -        | -          |
| E    | m | 2a           | 1.2 - 3.0  | 1.8      | -        | -          |
| F    | m | 2a           | 1.2 - 7.0  | 5.8      | +        | +          |
| G    | f | 2b           | 0.1 - 9.9  | 9.8      | -        | -          |

表2 母子間の塩基配列、アミノ酸配列の比較

| Case | HCV genotype | 児検体   | 母検体   | 塩基置換 | 塩基相同性 (%) | アミノ酸置換 | アミノ酸相同性 (%) |
|------|--------------|-------|-------|------|-----------|--------|-------------|
| A    | 1b           | 6m    | 6m    | 1    | 99.7      | 0      | 100.0       |
| B    | 1b           | 4y6m  | 13y6m | 9    | 97.3      | 2      | 98.9        |
| C    | 1b           | 5y9m  | 7y5m  | 1    | 99.7      | 0      | 100.0       |
| D    | 2a           | 2m    | 2m    | 1    | 99.7      | 0      | 100.0       |
| E    | 2a           | 1y11m | 1y4m  | 2    | 99.4      | 0      | 100.0       |
| F    | 2a           | 3y10m | 3y11m | 2    | 99.4      | 0      | 100.0       |
| G    | 2b           | 5y3m  | 6y11m | 3    | 99.1      | 0      | 100.0       |

母子間のHCV NS5B領域の塩基相同性は高く、アミノ酸配列も高い相同性を示した。

表3 HCV母子感染の小児7例におけるHCVの塩基置換速度

| Case | 年齢1   |     | 年齢2    | 塩基置換 | アミノ酸置換 | 塩基置換速度<br>(塩基置換/塩基/年) × 10 <sup>-3</sup> |
|------|-------|-----|--------|------|--------|--|
| A    | 0y6m  | vs. | 2y0m   | 0    | 0      |  |
|      | 0y6m  | vs. | 9y6m   | 2    | 0      |  |
|      | 0y6m  | vs. | 10y6m  | 1    | 0      |  |
|      | 0y6m  | vs. | 11y11m | 1    | 0      |  |
|      | 0y6m  | vs. | 12y6m  | 0    | 0      | 0.00                                     |
| B    | 4y6m  | vs. | 13y6m  | 2    | 0      |  |
|      | 4y6m  | vs. | 14y5m  | 1    | 0      |  |
|      | 4y6m  | vs. | 16y6m  | 3    | 0      | 0.74                                     |
| C    | 5y9m  | vs. | 6y10m  | 0    | 0      |  |
|      | 5y9m  | vs. | 7y8m   | 0    | 0      | 0.00                                     |
| D    | 2m    | vs. | 5m     | 0    | 0      | 0.00                                     |
| E    | 2y0m  | vs. | 2y3m   | 0    | 0      | 0.00                                     |
| F    | 3y10m | vs. | 5y9m   | 0    | 0      | 0.00                                     |
| G    | 5y3m  | vs. | 8y4m   | 0    | 0      | 0.00                                     |

表4 HCV母子感染の小児6例の母におけるHCVの塩基置換速度

| Case  | 年齢1*2 |     | 年齢2*2  | 塩基置換 | アミノ酸置換 | 塩基置換速度<br>(塩基置換/塩基/年) × 10 <sup>-3</sup> |
|-------|-------|-----|--------|------|--------|--|
| A-M*1 | 0y6m  | vs. | 0y7m   | 2    | 0      |  |
|       | 0y6m  | vs. | 4y6m   | 2    | 0      |  |
|       | 0y6m  | vs. | 9y6m   | 3    | 0      |  |
|       | 0y6m  | vs. | 10y6m  | 4    | 0      |  |
|       | 0y6m  | vs. | 11y11m | 2    | 0      | 0.52                                     |
| B-M*1 | 13y6m | vs. | 16y6m  | 1    | 0      | 0.99                                     |
| C-M*1 | 5y9m  | vs. | 6y10m  | 0    | 0      | 0.00                                     |
|       | 5y9m  | vs. | 7y8m   | 0    | 0      | 0.00                                     |
| E-M*1 | 1y4m  | vs. | 2y4m   | 3    | 1      | 8.93                                     |
| F-M*1 | 2y0m  | vs. | 3y11m  | 0    | 0      | 0.00                                     |
| G-M*1 | 6y11m | vs. | 8y4m   | 1    | 0      | 2.10                                     |

\*1 A-M : A の母、B-M : B の母、C-M:Cの母、D-M:Dの母、E-M:Eの母、F-M:Fの母、G-M:G の母

\*2 検体採取時の児の年齢

表5 HCV母子感染6家系における、HCV NS5B領域の塩基置換速度のまとめ

| Case | HCV genotype | PEG-IFN 治療期間  | Time1 | Time2  | 観察期間 (年) | 変異塩基数 | 塩基置換速度<br>(塩基置換/塩基/年) × 10 <sup>-3</sup> |
|------|--------------|---------------|-------|--------|----------|-------|--|
| A    | 1b           | -             | 0y6m  | 12y6m  | 12.0     | 0     | 0.00                                     |
| B    | 1b           | -             | 4y6m  | 16y6m  | 12.0     | 3     | 0.74                                     |
| C    | 1b           | 8y5m~         | 5y9m  | 6y10m  | 1.1      | 0     | 0.00                                     |
| E    | 2a           | -             | 2y0m  | 2y3m   | 0.3      | 0     | 0.00                                     |
| F    | 2a           | 5y1m~<br>5y3m | 3y10m | 5y9m   | 1.9      | 0     | 0.00                                     |
| G    | 2b           | -             | 5y3m  | 8y4m   | 3.1      | 0     | 0.00                                     |
| A-M  | 1b           |               | 0y6m  | 11y11m | 11.5     | 2     | 0.52                                     |
| B-M  | 1b           |               | 13y6m | 16y6m  | 3.0      | 1     | 0.99                                     |
| C-M  | 1b           |               | 5y9m  | 7y8m   | 1.9      | 0     | 0.00                                     |
| E-M  | 2a           |               | 1y4m  | 2y4m   | 1.0      | 3     | 8.93                                     |
| F-M  | 2a           |               | 2y0m  | 3y11m  | 1.9      | 0     | 0.00                                     |
| G-M  | 2b           |               | 6y11m | 8y4m   | 1.4      | 1     | 2.10                                     |

表6 母のHBV関連データ

|   | HBsAg  | HBsAb | HBeAg | HBeAb | HBcAb | genotype | HBV DNA     |
|---|--------|-------|-------|-------|-------|----------|-------------|
| 1 | 2000 ↑ | n.t.  | 0.2 ↓ | 100 ↑ | 100 ↑ | A        | 4.7(TMA)    |
| 2 | 6810   | n.t.  | 1030  | 24.7  | 100 ↑ | C        | 8.1(TMA)    |
| 3 | 2000 ↑ | n.t.  | 0.2 ↓ | 100 ↑ | 100 ↑ | C        | 2.6 ↓ (PCR) |
| 4 | 2000 ↑ | n.t.  | 0.2 ↓ | 100 ↑ | n.t.  | C        | 2.6 ↓ (PCR) |
| 5 | (+)    | (-)   | (-)   | (+)   | (+)   | -        | -           |
| 6 | 2000 ↑ | 0.5 ↓ | 1600  | 0.1 ↓ | n.t.  | n.t.     | 8.4(TMA)    |
| 7 | 0.1    | (-)   | 0.5 ↓ | 57.6  | 99.6  | B        | 2.6 ↓ (PCR) |

症例2、6はHBeAg陽性。症例7はHBsAg低下例だが、HBcAbは高力価。

症例5は他院からの転入例。

表7 児の背景データ

|   | 体重   | 身長 | 頭囲   | 在胎週数  | Apgar | 性別 | 胎児数 | 仮死  | 疾患  |
|---|------|----|------|-------|-------|----|-----|-----|-----|
| 1 | 2542 | 47 | 32.5 | 35w4d | 8/9   | F  | 1   | (-) | (-) |
| 2 | 3314 | 52 | 34   | 39w4d | 7/9   | F  | 1   | (-) | (-) |
| 3 | 2920 | 49 | 33.5 | 40w1d | 9/9   | M  | 1   | (-) | (-) |
| 4 | 2652 | 49 | 30.5 | 40w1d | 9/10  | M  | 1   | (-) | (-) |
| 5 | -    | -  | -    | -     | -     | -  | -   | -   | -   |
| 6 | 2882 | 51 | 32   | 36w4d | 9/10  | M  | 1   | (-) | (-) |
| 7 | 3084 | 48 | 33.5 | 39w0d | 7/7   | M  | 1   | (-) | (-) |

表8 HB関連抗体価の推移

| HBIG<br>投与時間 | 1 mo   |       |       | 4mo    |       |       | 12mo   |       |       |
|--------------|--------|-------|-------|--------|-------|-------|--------|-------|-------|
|              | HBsAg  | HBsAb | HBcAb | HBsAg  | HBsAb | HBcAb | HBsAg  | HBsAb | HBcAb |
| 1 12         | 0.05 ↓ | 158   | 100 ↑ | 0.05 ↓ | 1830  | 100 ↑ | 0.05 ↓ | 351   | 89.2  |
| 2 13         | 0.05 ↓ | 149   | 100 ↑ | 0.2 ↓  | 145   | 100 ↑ | 0.3    | 239   | 92.5  |
| 3 9          | 0.2 ↓  | 128   | 100 ↑ | 0.2 ↓  | 233   | 99.5  |        |       |       |
| 4 20         | 0.2 ↓  | 89.7  | 100 ↑ | 0.3    | 395   | 99.9  |        |       |       |
| 5 -          | 0.1 ↓  | 324.7 | -     | 0.05 ↓ | 48.6  | 100 ↑ |        |       |       |
| 6 5          | 0.05 ↓ | 116   | 99.8  |        |       |       |        |       |       |
| 7 3          | 0.05 ↓ | 229   | 99.7  |        |       |       |        |       |       |

平成19年度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」(H17-肝炎-一般-008)  
分担研究報告書

小児期・青年期のC型慢性肝炎に対するペグインターフェロンとリバビリンの併用療法

分担研究者 田尻 仁 大阪府立急性期・総合医療センター小児科  
研究協力者 恵谷 ゆり 同上  
研究協力者 清原由起 大阪大学大学院医学系小児科

研究要旨

小児期・青年期のC型慢性肝炎16例においてペグインターフェロンとリバビリンの併用療法を行っており、その成績を検討した。対象は、男児7名：女児9名、18歳(10～21)、母子感染5：輸血後11、無効1例と副作用(強い倦怠感)1例、計2例が治療を中断した。治療継続中が6例あり、8例が予定の治療を終了した。終了後6ヶ月時にHCV RNA定性法陰性(著効)が7例中7例であった。残りの1例は終了後4ヶ月時点でHCV RNA定性法陰性である。対象16例の中で、予定の治療を終了した8例全例においてHCV-RNAが陰性化しており、同療法は小児期・青年期のC型慢性肝炎に対して有効であると考えられた。

A. 研究の背景と目的

現在の成人C型慢性肝炎に対する治療は、ペグインターフェロン(PEG-IFN)とリバビリンの併用療法(PEG-Rib療法)が主流になっているが、小児・青年での報告は少ない。我々は、小児期・青年期の16例においてPEG-Rib療法を行っているのでその経過を報告する。

B. 研究方法

男児7名、女児9名。中央値18歳(範囲10～21)。母子感染5：輸血後11(表)。HCV genotype 1b 11名、2a 4名、不明1名。治療前のウイルス量は中央値2300 KIU/mL(範囲94～5000)。

C. 研究結果

2例が治療を中断した。無効1例と副作用(強い倦怠感)1例であった。治療継続中が6例(48週治療予定4名、72週治療予定2名)あり、8例が予定の治療を終了した。終了後6ヶ月時にHCV RNA定性法陰性(著効；sustained virological response, SVR)が7例中7例であった。残りの1例は終了後4ヶ月時点でHCV RNA定性法陰性である。

D. 考案

成人C型慢性肝炎に対する治療は、PEG-Rib療法が主流となっており、同療法を



完遂できた症例全体の著効率は約 50%である。ただし成人では貧血などの副作用のために脱落例が多いとの報告がある。今回の我々の成績は、まだ治療終了したものが 16 例中 8 例であり、著効率を議論できる段階にはない。ただしこれら 8 例全例において HCV RNA の陰性化は続いており、成人以上の高い有効率が期待される。また副作用による脱落例は、ダウン症の 1 例のみであり、小児期・青年期の症例においては PEG-Rib 療法からの脱落例は少ないような印象がある。著効率や副作用に関してはさらに症例を増やして検討を進めたいと考えている。

#### E. 結論

PEG-Rib 療法を行った 16 例の中で、予定の治療を終了した 8 例全例において HCV-RNA が陰性化していた。終了後 6ヶ月時の有効性評価でも対象 7 例のすべてが SVR であった。今回の検討から、同療法は小児期・青年期の C 型慢性肝炎に対して有効であると考えられた。

#### F. 健康危険情報

とくになし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) 田尻 仁, 恵谷ゆり. 自己免疫性肝炎の特徴. 肝・胆・膵 55 巻 2 号 Page 253-258 (2007.08)

- 2) 田尻 仁, 白木和夫, 藤澤知雄, 工藤豊一郎, 長田郁夫, 木村昭彦, 乾あやの, 十河剛, 村上潤, 恵谷ゆり. 小児 B 型肝炎の診療指針.: 日本小児科学会雑誌 111 巻 7 号 Page 949-958 (2007.07)

- 3) 田尻 仁, 恵谷ゆり. 非肝炎ウイルス感染による慢性肝炎. 小児科診療 70 巻 6 号 Page 908-911 (2007.06)

- 4) Tajiri H, Etani Y, Mushiake S, Hasegawa Y, Ozono K. Acute exacerbation of hepatitis in a boy with chronic HCV genotype-2 infection after a 9-year period of normal transaminases levels. Eur J Pediatr. 2007;166:501-2.

- 5) Tajiri H, Tanaka Y, Kagimoto S, Murakami J, Tokuhara D, Mizokami M. Molecular evidence of father-to-child transmission of hepatitis B virus. J Med Virol. 2007;79:922-6.

##### 2. 学会発表

- 1) 恵谷ゆり, 田尻 仁, 他. 小児 B 型肝炎キャリアの肝病理所見とインターフェロン治療効果の検討. 第 43 回日本肝臓学会. 2007 年 5 月 31 日 (東京)

- 2) 田尻 仁, 恵谷ゆり, 他. 小児期・青年期の C 型慢性肝炎に対するペグインターフェロンとリバビリンの併用療法. 第 24 回日本小児肝臓研究会. 2007 年 7 月 14 日 (東京)

#### H. 知的財産権の出題・登録状況

なし

(表) ペグインターフェロン・リバビリン併用療法を行った 16 例

| No. | age | sex | Transmision route | HCV subgroup | HCVRNA (KIU/ml) | Previous treatment | Underlying Disease |
|-----|-----|-----|-------------------|--------------|-----------------|--------------------|--------------------|
| 1   | 18  | M   | transfusion       | 2a           | 532             | IFN                | jaundice           |
| 2   | 20  | M   | transfusion       | 2a           | 2200            | none               | 21 trisomy         |
| 3   | 17  | F   | transfusion       | 1b           | 1200            | none               | ALL                |
| 4   | 21  | M   | transfusion       | 1b           | 2400            | none               | 21 trisomy         |
| 5   | 14  | M   | maternal          | 1b           | 700             | IFN                | none               |
| 6   | 10  | M   | maternal          | 2a           | 470             | none               | none               |
| 7   | 11  | M   | maternal          | 1            | 1400            | none               | none               |
| 8   | 15  | M   | maternal          | 2            | 94              | IFN                | none               |
| 9   | 21  | F   | transfusion       | 1b           | 3400            | none               | 21 trisomy         |
| 10  | 20  | F   | transfusion       | 1            | 5000            | none               | TOF                |
| 11  | 19  | F   | transfusion       | 1            | 5000            | IFN                | CoA, VSD           |
| 12  | 18  | F   | transfusion       | 1            | 4400            | IFN                | 21 trisomy         |
| 13  | 18  | F   | transfusion       | 1            | 2400            | none               | TOF                |
| 14  | 19  | F   | maternal          | 1b           | 2500            | IFN                | none               |
| 15  | 18  | F   | transfusion       | ND           | 5000            | IFN                | 21 trisomy         |
| 16  | 18  | F   | transfusion       | 1b           | 2000            | IFN                | ALL                |

IFN:インターフェロン、ALL:急性リンパ白血病、TOF:ファロー四徴症

CoA:大動脈縮窄症、VSD:心室中隔欠損症

平成19年度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」(H17-肝炎一般-008)  
分担研究報告書

鳥取県におけるC型肝炎母子感染例の検討

鳥取大学医学部周産期・小児医学 長田郁夫、村上潤、飯塚俊之、神崎晋  
鳥取大学 白木和夫

研究要旨

鳥取県における14年間のC型肝炎母子感染防止事業の前方視的疫学調査の結果を解析した。

1992年5月から2006年3月までに鳥取県内で出産した妊婦のべ41,856例をHCV抗体でスクリーニングし、HCV-RNA定性・定量を行い、抗体・RNA陽性率、母子感染率を求めた。また複数回の出産を除外して妊婦のHCV抗体・HCV-RNA陽性率を求めた。

出産前3ヶ月以内にHCV-RNA量を測定し得た、母子感染例10例と非感染例59例のHCV-RNA量を比較した。その他、分娩形式、授乳方法、手術歴、輸血歴、serotype、在胎週数、出生体重、分娩時間、出血量、胎盤重量を母子感染例、非感染例で比較検討した。

HCV抗体陽性妊婦は202例(0.48%)で、コア抗体陽性妊婦は179例(0.43%)、HCV-RNA陽性は111例(0.27%)。HCV-RNA陽性妊婦からの出生児は112例(双胎1例)、6ヶ月以上フォローできた児は73例、母子感染例は10例(14%;10/73例)であった。

重複を除外したコア抗体陽性妊婦は129例(0.43%)、HCV-RNA陽性は82例(0.28%)であり、のべ人数から求めたHCV抗体・HCV-RNA陽性率とほぼ同じであった。

妊婦HCV-RNA量は、母子感染例の方が有意に高値であった( $p=0.0008$ )。母子感染例と非感染例の分娩形式(経膈分娩と帝王切開)は有意差を認めなかったが( $p=0.2624$ )、妊婦HCV-RNA量 $\geq 250\text{KIU/mL}$ に限った場合、母子感染例で経膈分娩が有意に多かった( $p=0.0135$ )。その他の項目では、母子感染例と非感染例に差は認めなかった。

A. 研究目的

鳥取県は人口が少なく、また県下の特定の小児科・産婦人科でフォロー体制をとることで、前方視的な調査を行いやすい利点があった。鳥取県における14年間のC型肝炎母子感染防止事業の前方視的疫学調査の結果を報告

する。

B. 研究方法

1) 対象・HCV感染の確認方法

1992年5月から2006年3月までに鳥取県内で出産した妊婦のうち同意の得られたのべ

41,856 例を第 2 世代 HCV 抗体(PHA 法)でスクリーニングし、コア抗体で確認した。

抗体陽性例においては HCV-RNA アンプリコア定性法で測定し、陽性例については branched DNA assay(bDNA)ないし HCV-RNA アンプリコアモニター法で HCV-RNA 量を定量した。

出生した児は県内の小児科で定期的に HCV 抗体・HCV-RNA を測定した。6 ヶ月以上フォローでき、経過中 2 回以上 HCV-RNA が陽性になった場合に母子感染が成立したと判断した。

## 2) 複数妊娠、同胞例の影響

HCV 抗体陽性妊婦は、複数回の妊娠時に反復してスクリーニングを受けやすい可能性と、同胞間の HCV 陽性率に差がある可能性が考えられ、結果として HCV 陽性率にバイアスがかかることが予想された。

このバイアスを回避する目的で、スクリーニング対象について、複数回の妊娠・出産があっても「妊婦 1 人」としてカウントし、重複を除外して妊婦の HCV 抗体・HCV-RNA 陽性率を求め、のべ人数から求めた陽性率と比較した。

また同胞間で HCV 母子感染率に差がないかどうかを検討した。

## 3) 母子感染要因の検討

出産前 3 ヶ月以内に HCV-RNA 量を測定しえた、母子感染例 10 例と非感染例 59 例の HCV-RNA 量を比較した。bDNA 法で測定したものは 100 倍して KIU/mL に換算した。定性法で陽性かつ bDNA 法で陰性のものは便宜上 40KIU/mL とした。検定には Mann-Whitney U 検定を用いた。

HCV-RNA 陽性妊婦から出生し、6 ヶ月以上フォローできた児について、分娩形式(経膈分娩と帝王切開)、授乳方法、手術歴、輸血歴、serotype (Fisher 直接確率法)、在胎週数、出生体重、分娩時間、出血量、胎盤重量 (Mann-Whitney U 検定)を母子感染例、非感染例で比較検討した。

## C. 研究結果

### 1) HCV 母子感染率の検討

スクリーニングで HCV 抗体陽性妊婦は 202 例(0.48%)で、コア抗体陽性妊婦は 179 例(0.43%)、HCV-RNA 陽性は 111 例(0.27%)であった。HCV-RNA 陽性妊婦からの出生児は、双胎 1 例を含む 112 例であった。6 ヶ月以上フォローできた児は 73 例で、うち母子感染例は 10 例であった。母子感染率は 14%(10/73 例)であった(図 1)。

### 2-1) 複数妊娠の影響

スクリーニング対象のうち、複数回の妊娠が確認できた妊婦は 29,726 例で、そのうち HCV コア抗体陽性であった妊婦は 129 例(0.43%)、HCV-RNA 陽性は 82 例(0.28%)であった(図 2)。

のべ人数から求めた HCV 抗体・HCV-RNA 陽性率と、重複を除外して求めた陽性率は、ほぼ同じであった。

### 2-2) 同胞例の影響について

同胞が確認できた HCV 抗体陽性妊婦で、2 回以上の分娩で事業対象となった 35 組と、1 回のみ分娩が事業対象となった 53 組について、抗体・HCV-RNA の有無、母子感染について検討した。母子感染例は 3 組あり(□で囲