

後での予定 C/S による出生がより多いための結果と考えられた。

非感染 50 例の検討では、ほとんどの例で母親および児に ART が行われていた。問題点としてまず貧血があげられる。78% の例で最低 Hb が 10g/dl 未満と、新生児乳児期としても強い貧血を認めた。外国の報告<sup>16,17)</sup>と比較しても、わが国では貧血の重篤な例が多い。このうち 18 例で貧血に対する対策が行われていたが、その中には児への ZDV 投与が短縮されているものもあり、スタンダードな MTCT 予防法のすべてが施行されている例ばかりではないことがわかった。奇形、精神発達遅延の 5 例は、ART との関連が強く疑われるわけではないが、今後非感染児の予後を調査していくことで、関連性が検討される可能性がある。突然死の 1 例については、貧血が非常に強かったこと以外、原因に関係する情報はないが、今回追跡調査した 50 例のほかにも、突然死の症例が 1 例あるとの情報を得ており、ART と突然死の関連性について、今後さらに検討していく必要がある。これらのことから、現在の MTCT 予防法が適切であるのかは、今後とも検討が必要である。

感染 42 例については、最終観察年齢が 3 歳以下であった群の 13 例中 9 例までが AIDS または死亡の転帰をとった。一方、4 歳を超えて観察が続けられた群は、乳幼児期の重度の免疫不全と日和見感染症を克服した、あるいは免疫レベルの低下が緩慢な群と考えられ、HAART の導入が進み、特に症状を認めていない例が多い。彼らは保育園・幼稚園・小学校・中学校あるいはより上級の集団において健康に生活しているが、告知をどうするかの問題、心理的問題等を抱えていると考えられる。本疾患の管理は、日本においては過去にほとんど経験がないために、今後とも長期間にわたって調査が必要である。

## 結 語

母児への ART、予定 C/S による分娩、断乳を組み合わせた MTCT 予防の効果は高く、MTCT 率は 0% に近づいている。この効果を維持するためには、妊婦の HIV 抗体検査実施率を 100% に近づけることが重要であり、さらに妊婦が医療へのアクセスをとりやすい状況を作ることが重要である。また非感染児についても経過中貧血等の問題が存在することから、現在の MTCT 予防法が適切であるのかは、今後とも検討が必要である。年長感染児は HAART の導入によって病状が安定し、今後は水平感染予防や告知に向けて、生活支援等の包括的な診療体制の構築の時期を迎えている。

本報告は、平成 18 年度厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）による「周産期・小児・生殖医療におけ

る HIV 感染対策に関する集学的研究」班（主任研究者：稲葉憲之）の分担研究「HIV 感染妊婦より出生した児の実態調査とその解析および HIV 感染妊婦とその出生児に関するデータベースの構築」の知見に基づいた。

## 文 献

- 1) <http://api-net.jfap.or.jp/mhw/survey/06nenpo/gaiyou.pdf>
- 2) Connor EM, Sperling RS, Gelber R, Kiselev P, Scott G, O'Sullivan MJ, VanDyke R, Bey M, Shearer W, Jacobson RL, Jimenez E, O'Neill E, Bazin B, Delfrayssy JF, Culnane M, Coombs R, Elkins M, Moye J, Stratton P, Baisley J: Reduction of maternal-infant transmission of human immunodeficiency virus type 1 with zidovudine treatment. *N Engl J Med* 331: 1173-1180, 1994.
- 3) Cooper ER, Charurat T, Mofenson L, Hanson IC, Pitt J, Diaz C, Hayani K, Handelsman E, Smeriglio V, Hoff R, Blattner W: Combination antiretroviral strategies for the treatment of pregnant HIV-1-infected women and prevention of perinatal HIV-1 transmission. *J AIDS* 29: 484-494, 2002.
- 4) European Collaborative Study: Mother-to-child transmission of HIV infection in the era of highly active antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis* 40: 458-465, 2005.
- 5) Mandelbrot L, Le Chenadec J, Berrebi A, Bongain A, Benifla JL, Delfrayssy JF, Blanche S, Mayaux MJ: Perinatal HIV-1 transmission: Interaction between zidovudine prophylaxis and mode of delivery in the French perinatal cohort. *JAMA* 280: 55-60, 1998.
- 6) 平成 17 年度厚生労働科学研究費補助金エイズ対策事業「HIV 感染妊婦の早期診断と治療および母子感染予防に関する基礎的・臨床的研究」（主任研究者：稲葉憲之）分担研究「わが国独自の HIV 母子感染予防対策マニュアル作成・改訂に関わる検討」（分担研究者：塚原優己）編：HIV 母子感染対策マニュアル第 4 版。
- 7) Center for Disease Control and Prevention: Revised classification system for human immunodeficiency virus infection in children less than 13 years. *MMWR* 43 (No. RR-12): p1-p10, 1994.
- 8) Stringer JS, Rouse DJ, Goldenberg RL: Prophylactic cesarean delivery for the prevention of perinatal human immunodeficiency virus transmission: the case for restraint. *JAMA* 281: 1946-1949, 1999.
- 9) Beckerman KP, Morris AB, Stek A: Mode of delivery and the risk of vertical transmission of HIV-1. *N Engl J Med* 341: 205-206, 1999.

- 10) Nduati R, John G, Mbori-Ngacha D, Richardson B, Overbaugh J, Mwatha A, Ndinya-Achola J, Bwayo J, Onyango FE, Hughes J, Kreiss J : Effect of breastfeeding and formula feeding on transmission of HIV-1 : a randomized clinical trial. *JAMA* 283 : 1167-1174, 2000.
- 11) Fowler MG, Newell ML : Breast-feeding and HIV-1 transmission in resource-limited settings. *J AIDS* 30 : 230-239, 2002.
- 12) Sullivan JL : Prevention of mother-to-child transmission of HIV—what next? *J AIDS* 34 : S67-72, 2003.
- 13) Canani RB, Spagnuolo MI, Cirillo P, Guarino A : Decreased needs for hospital care and antibiotics in children with advanced HIV-1 disease after protease inhibitor-containing combination therapy. *AIDS* 13 : 1005-1006, 1999.
- 14) de Martino M, Tovo PA, Balducci M, Galli L, Gabiano C, Rezza G, Pezzotti P : Reduction in mortality with availability of antiretroviral therapy for children with perinatal HIV-1 infection. *JAMA* 284 : 190-197, 2000.
- 15) Gortmaker SL, Hughes M, Cervia J, Brady M, Johnson GM, Seage GR 3rd, Song LY, Dankner WM, Oleske JM : Effect of combination therapy including protease inhibitors on mortality among children and adolescents infected with HIV-1. *N Engl J Med* 345 : 1522-1528, 2001.
- 16) Le Chenadec J, Mayaux MJ, Guihenneuc-Jouyaux C, Blanche S : Perinatal antiretroviral treatment and hematopoiesis in HIV-uninfected infants. *AIDS* 17 : 2053-2061, 2003.
- 17) European Collaborative Study : Exposure to antiretroviral therapy in utero or early life : the health of uninfected children born to HIV-infected women. *J AIDS* 32 : 380-387, 2003.
- 18) Barret B, Tardieu M, Rustin P, Lacroix C, Chabrol B, Desguerre I, Dollfus C, Mayaux MJ, Blanche S : Persistent mitochondrial dysfunction in HIV-1-exposed but uninfected infants : clinical screening in a large prospective cohort. *AIDS* 17 : 1769-1785, 2003.
- 19) Newell ML, Huang S, Fiore S, Thorne C, Mandelbrot L, Sullivan JL, Maupin R, Delke I, Watts DH, Gelber RD, Cunningham CK : Characteristics and management of HIV-1-infected pregnant women enrolled in a randomised trial : differences between Europe and the USA. *BMC Infect Dis* 7 : 60, 2007.
- 20) Naver L, Lindgren S, Belfrage E, Gyllensten K, Lidman K, Gisslen M, Ehrnst A, Arneborn M, Bohlin AB : Children born to HIV-1-infected women in Sweden in 1982-2003 : trends in epidemiology and vertical transmission. *J AIDS* 42 : 484-489, 2006.
- 21) 平成 18 年度厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業「周産期・小児・生殖医療における HIV 感染対策に関する集学的研究」(主任研究者：稲葉憲之) 分担研究「妊婦 HIV 検査実施率の全国調査と検査周辺の診療体制の整備に関する研究 (分担研究者：和田裕一) 平成 18 年度総括・分担研究報告書, 2007 年 3 月.

## Current Status of Mother-to-Child Transmissions of HIV in Japan : A Questionnaire Survey of Hospital Pediatric Departments Nationwide

Yoshikazu OZAKI<sup>1)2)</sup>, Masao TOGAWA<sup>2)</sup>, Takeo KASAI<sup>2)</sup>, Satoru OHBA<sup>2)</sup>,  
Tetsuya KUNIKATA<sup>2)</sup>, Naoto YOSHINO<sup>2)</sup>, Teruko ENOMOTO<sup>2)</sup>, Ryozo TOTANI<sup>2)</sup>,  
Tsunekazu KITA<sup>2)</sup>, Yuuichi WADA<sup>2)</sup>, Yuki TSUKAHARA<sup>2)</sup> and Noriyuki INABA<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Department of Pediatrics, Osaka National Hospital, <sup>2)</sup> National Cooperative Study Group supported by The Ministry of Health, Labour and Welfare : H15-AIDS-007, H18-AIDS-012

**Objective :** To verify the effects of preventive measures against mother-to-child transmissions (MTCT) of HIV in infants born to HIV-positive females ; to investigate the effects of exposure to antiviral drugs in non-infected infants ; and to investigate the pathological conditions and diagnoses of infected children.

**Method :** Over an eight-year period, we conducted a questionnaire survey at hospital pediatric departments throughout Japan. In the primary survey, we asked whether respondent institutions had any experience diagnosing infants born to HIV-positive females, and a detailed secondary survey was then carried out at institutions with such experience. In addition, follow-up surveys were conducted regarding non-infected infants in 2004 and infected children in 2005.

**Results :** The number of known infants born to HIV-positive females was 287 as of 2006, and MTCT was observed in 42 cases. The rate of MTCT decreased to 0.6% due to thorough preventive measures (including antiviral drug treatments on mothers and infants, cesarean deliveries, and the termination of breast-feeding). In many non-infected infants, anemia was observed in the neonatal period. The 42 infected children exhibited no symptoms in 23 cases, moderate disease in 1 case, AIDS in 3 cases, death in 11 cases, and unknown outcomes in 4 cases. Among the 26 cases that were 4 years old or older, highly active antiretroviral therapy was performed in 22 cases.

**Conclusion :** Due to the preventive measures against MTCT, the rate of mother-to-child transmissions of HIV is now approaching 0%. It is important to implement HIV antibody tests on 100% of all pregnant women. However, the issue regarding side effects in infants remains unclear, therefore further study is required to clarify whether the current preventive measures against MTCT are appropriate. In long-term infected children, the implementation of highly active antiretroviral therapy is becoming more common and the number of stabilized cases is increasing.

**Key words :** HIV/AIDS, prevention of mother-to-child transmission, anti-retroviral therapy, questionnaire survey, hospital pediatric departments

## 特集 産婦人科感染症診療マニュアル

〔各論〕◆周産期 II. 母子感染

# 4. HIV

喜多 恒和

帝京大学医学部産婦人科

Key Words/HIV 母子感染, 選択的帝王切開術, HAART

## 要旨

わが国における HIV 母子感染の報告は、近年数年間に 1 例程度に減少した。妊娠早期の HIV スクリーニング検査、high active anti-retroviral therapy (HAART) による抗 HIV 療法、陣痛発来前の選択的帝王切開術による分娩および出生児への人工栄養などの適切な母子感染予防対策を講じることにより、わが国における HIV 母子感染率は全体の 0.5%以下に抑えることができたようになった。しかしわが国における HIV 感染者は、若年者を中心に毎年増加し続けており、HIV 感染妊婦の増加も危惧されている。HIV 母子感染のメカニズムやリスクファクターを検討し、欧米やわが国における HIV 母子感染の現況を比較することにより、HIV 母子感染のさらなる減少を期待したい。

AIDS (acquired immunodeficiency syndrome: 後天性免疫不全症候群) の原因である HIV (human immunodeficiency virus: ヒト免疫不全ウィルス) は、1990 年ごろより東南アジアや東アジアに広がり、現在インドや中国ではそれぞれ約 250 万人、約 100 万人もの HIV 感染者が存在し、有効な治療も受けられない医療状態であるといわれている。HIV 感染者の約半数は女性で、図 1 に示すようにベトナムでは 2000 年以降も妊婦の HIV 感染率は増加し続けており 200 人に 1 人の割合である。これは日本国内の妊婦の HIV 感染率の約 50 倍に相当する。アフ

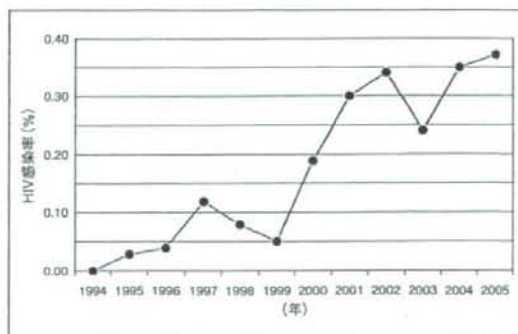


図 1 ベトナムにおける妊婦の HIV 感染率  
(文献 1) より引用)

リカや東南アジア・南アジアの国々における HIV 母子感染予防対策はほとんど機能していないと予測される。一方日本における AIDS 患者と HIV 感染者の総数は、2008年6月現在14,600人を超え年次報告数は増加の一途をたどっているが、先進諸国と比較して総数は少なく幸いわが国における爆発的な流行には至っていない<sup>2)</sup>。しかし1992年以降、年次報告数は日本国籍例で増加が続いており、1996年からは20歳代の若年層での増加が始まっていることから<sup>3)</sup>、今後 HIV 感染妊婦の増加が懸念され、母子感染予防はますます重要な問題になりつつあると考えられる。本稿では HIV 母子感染のメカニズムやリスクファクターについて概説し、HIV 母子感染の現況とその予防対策について述べる。

## HIV 母子感染のメカニズム

周産期における HIV 母子感染の時期と経路として、以下の3つが挙げられる。

### 1. 妊娠中の経胎盤感染

妊娠中の経胎盤感染のメカニズムに関してはいまだ明確ではない。胎盤中に HIV の存在が明らかにされているが母子感染との因果関係は明らかではなく、胎盤の間質細胞が何らかの役割を果たしているという報告がある<sup>4)</sup>。母体中の HIV に感染した T 細胞が児の胎盤に接着することにより感染することが予測され、ケモカイン・レセプターや細胞接着因子の関与が示唆されている<sup>5)</sup>。しかし妊娠初期や中期の経胎盤感染の頻度はごくわずかである。一方妊娠後期には、子宮収縮や陣痛により母体血が胎盤を経由して直接胎児の血管内に流入するために母子感染に至ると考えられている。したがって妊娠後期には子宮収縮を抑制し、陣痛発来前に選択的帝王切開術を施行することの有用性が示唆され

る。

### 2. 分娩時における経産道感染

分娩時における経産道感染は、児が分娩中に産道を通る際に母体のウィルスに曝露されることによる。産道中の母体からの血液や分泌物中のウィルスが経口的に児の上部消化管上皮から侵入する<sup>6)</sup>。未熟な児では胃粘膜などのウィルス侵入への防御機能が弱く、また母体血中あるいは産道内のウィルス量が多いほど母子感染の可能性が高くなることから、早産を避けることは重要であるが、逆に無闇な陣痛の抑制による妊娠の継続も危険である。HAART による母体の血中ウィルス量のコントロールが最も大切であろう。

### 3. 産褥期における授乳による感染

産褥初期の母乳には、それ以降の母乳に比べて明らかに多くの HIV ウィルスが含まれている<sup>7)</sup>。開発途上国においては、経済的事情から人工哺乳より母乳を推奨せざるを得ないのが現状であるが、逆に母乳栄養により HIV 感染母の健康状態の悪化を招き、結果的に未感染児の死亡を誘発するという報告<sup>8)</sup>もあり医学的ジレンマとなっている。

## HIV 母子感染のリスクファクター

HIV 母子感染のリスクファクターとして挙げられるのは、

- ①母体血中 CD4 陽性 T 細胞数の低下
- ②母体血中ウィルス量の上昇
- ③児の免疫機能や上部消化管上皮の未熟性を伴う早産
- ④膣炎や羊水感染症
- ⑤鉗子分娩や吸引分娩を含む経陰分娩
- ⑥会陰切開や児頭皮電極の装着
- ⑦母乳栄養

である<sup>9)</sup>。

母子感染の75%は陣痛発来後の分娩中に発生し、また分娩中の母子感染率は母体血中ウィルス量が10,000コピー/mLを超えると有意に高くなる<sup>9)</sup>。産道の炎症や出血および児の消化管上皮の未熟性や表皮の創傷により児は母体のウィルスに曝露されることになり、感染機会が増す。また母体血中ウィルス量が高くなれば母乳中のウィルス量も高くなり、母乳中のウィルス量が10倍になれば母子感染率は2倍になるとされている<sup>6)</sup>。

## HIV 母子感染の現況

HIV 母子感染予防対策がほとんど困難である開発途上国においては、HIV 母子感染は将来の国の存亡にもかかわる大きな問題であるが、本稿では医療経済上わが国と類似した欧米の報告と比較し、わが国の HIV 母子感染の現況を述べる。

### 1. 欧米における HIV 母子感染の現況

タイにおける HIV 感染妊婦を対象にした米国主導の PACTG076 プロトコルの成績が1994年に報告された<sup>10)</sup>。この予防法は妊娠14週～34週の HIV 感染妊婦にジドブジン (ZDV) を①妊娠中は100 mg/日経口投与を開始し、②分娩時は2 mg/kg/時、静注に次いで、1 mg/kg/時、持続点滴静注し、③さらに新生児に ZDV シロップを2 mg/kg/回で6時間ごと生後6週間投与方法である。この予防法により母子感染率は25.5%から8.3%と約1/3に低下した。その後さらに強力な抗レトロウィルス薬の多剤併用療法 (HAART 療法) により、母体血中ウィルス量を著明に減少させることが可能になった。1999年には欧米の15件8,533例の HIV 感染妊婦とその児についての前方視的コホート調査を対象にメタアナリシスが行われ

た<sup>11)</sup>。この報告では、HIV 感染妊婦に抗ウィルス薬が投与されていなかった場合、母子感染率は選択的帝王切開術では10.4%で、経膈その他の分娩は19.0%であったとされ、一方抗ウィルス薬が投与されていた場合は、それぞれ母子感染率は2.0%と7.3%であった。なんら母子感染予防対策を講じない場合より、抗ウィルス薬の投与のみ、選択的帝王切開術のみ、その両者の併用の順に母子感染率は低下するということが明らかになったわけである。この報告により欧米においては、HAART 療法を中心とする抗ウィルス薬の投与、選択的帝王切開術および人工乳保育が標準となった。

ところが2000年代になると、HAART により母体血中 HIV ウィルス量が良好にコントロールされている場合の経膈分娩の安全性に関する報告が散見されるようになった。『Cochrane Database 2005』では HIV 母子感染予防における選択的帝切分娩の効果に関する26件の論文が解析された<sup>12)</sup>。抗ウィルス療法が行われていないか、AZT 単独療法のみ妊婦に限っては選択的帝切分娩が母子感染予防に有効であったが、HAART などにより血中ウィルス量が低い妊婦ではその有用性は不明であった。選択的帝切分娩の有効性を検証するには、血中ウィルス量が感度以下の HIV 感染妊婦を対象とした大規模な臨床試験が必要と結論されている。ヨーロッパにおける4,525例の HIV 感染妊婦を含む大規模な前方視的コホート研究では、母子感染リスクファクターは、妊婦の高ウィルス量 ( $p = 0.003$ ) と選択的帝切分娩 ( $p = 0.04$ ) で、HAART によって血中ウィルス量が測定感度以下となった560例においても、選択的帝切分娩は経膈分娩や緊急帝切分娩と比べて母子感染リスクを90%低下させたことから HAART を行っている HIV 感染妊婦を含む全 HIV 感染妊婦に対して、選択的帝切分娩を推奨している<sup>13)</sup>。ところがインドの報告では、妊娠14週以降、AZT 単独療法が

行われた222例の母子感染は、選択的帝王切開174例で2例(1.1%)、経膈分娩48例では1例(2.1%)で、統計学上の有意差はなかった( $p=0.87$ )ことから、HIV感染妊婦と出生児に対する抗ウイルス療法(AZT単独)と断乳は、選択的帝王切開と同等の母子感染予防効果があるとしている<sup>16)</sup>。さらにオランダのコホート調査の報告では、HAARTが行われた143例のHIV感染妊婦と196例の非感染妊婦の分娩法、母子感染率、早産率、出生時体重などを比較し、母子感染例は1例も認めなかったが、早産率は感染妊婦で高率で、特に妊娠13週以前にHAARTを開始した場合に44%と高率であったことから、HAARTを行っていれば母子感染予防のための選択的帝王切開は不要であり、分娩1カ月前のウイルス量が50コピー/mL未満である必要もないとしている<sup>16)</sup>。

以上の報告から、HIV感染妊婦の適切な分娩法の選択に関しては、いまだ一定の見解が得られていないと考えられる。HAARTにより血中ウイルス量が良好にコントロールされている妊婦の場合は、帝王切開による合併症のリスクと経膈分娩による母子感染のリスクを十分に説明したうえで、分娩法を妊婦とその家族にインフォームドチョイスしてもらうことが現時点では適切であろうと考えられる。

## 2. わが国におけるHIV母子感染の現況

わが国においても1987年に最初のHIV感染妊婦の分娩例が報告された。1990年代前半からHIV感染妊婦数の増加がみられ、厚生省研究班では1998年からHIV感染妊婦とその出生児を対象とした全国調査<sup>16)</sup>が継続されている。図2に示すように、研究班では全国調査によりこれまで産婦人科診療施設から422例のHIV感染妊娠と、小児科診療施設から281例の出生児の報告を受け、重複を除いた合計503例のHIV感染妊娠がデータベースに登録されている。分娩様

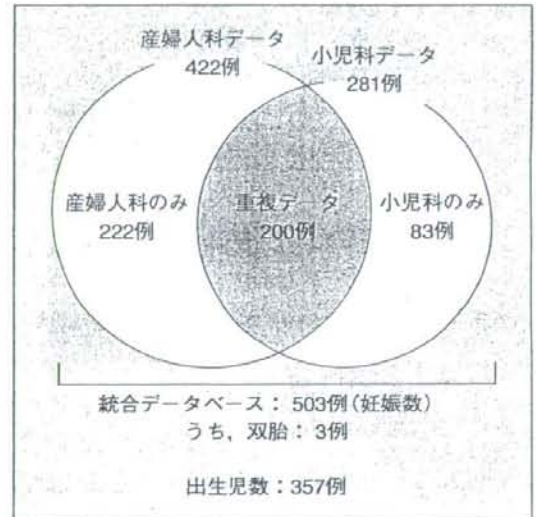


図2 わが国のHIV感染妊娠の報告数

[文献16)より引用]

表1 HIV感染妊娠の分娩様式別母子感染の有無

分娩様式	母子感染			総数	(%)
	感染	非感染	不明		
選択的帝王切開	8	231	33	272	54.1
緊急帝王切開	4	19		23	4.6
経膈	26	27	7	60	11.9
中絶			103	103	20.5
分娩様式/転帰不明	5		37	42	8.3
妊娠中			3	3	0.6
総計	43	277	183	503	100.0

[文献16)より引用]

式や妊娠転帰と母子感染との関係を表1に示した。これまでエイズ動向委員会が報告しているHIV母子感染は49例であるが、研究班では43例の疫学的・臨床的情報を把握しており、非感染277例を含む感染の有無が確認された320例

中、母子感染率は13.4%となる。各分娩様式の母子感染率は、選択的帝切が3.3%、緊急帝切が17.4%、経膈分娩が49.1%となり、諸報告と比べて高い感染率となっている。これは小児科全国調査において非感染例より感染例が的確に報告

表2 産婦人科全国調査による分娩様式別母子感染率

分娩様式	非感染	感染	感染率(%)
選択的帝切	218	1	0.46
緊急帝切	16	1	5.88
経膈	22	6※ (14)	21.43
合計	256	8 (16)	3.08

※児の異常による受診を契機に母親のHIV感染と母子感染が判明した8例を除く。

[文献16]より引用]

表3 妊娠中の母体血中ウイルス量の最高値別症例数

ウイルス量 (コピー/ml)	症例数	(%)
100,000以上	22	7.9
10,000以上 100,000未満	84	30.0
1,000以上 10,000未満	84	30.0
感度以上 1,000未満	17	6.1
感度未満	73	26.1
合計	280	100

[文献16]より引用]

表4 抗ウイルス薬による血中ウイルス量の変化別症例数 (%)

薬剤数	1/100以下へ減少	1/10以下へ減少	やや減少	感度未満維持	増加	総計
単剤	0 (0.0)	5 (16.1)	16 (51.6)	4 (12.9)	6 (19.4)	31 (100.0)
2剤	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (100.0)
3剤以上	46 (41.4)	33 (29.7)	9 (8.1)	21 (18.9)	2 (1.8)	111 (100.0)
レジメン変更	7 (38.9)	3 (16.7)	1 (5.6)	6 (33.3)	1 (5.6)	18 (100.0)
合計	53 (32.9)	41 (25.5)	27 (16.8)	31 (19.3)	9 (5.6)	161 (100.0)

[文献16]より引用]

表5 分娩様式別・母子感染の有無別、抗ウイルス薬の投与状況別症例数

分娩様式	母子感染	総数	投与なし				投与あり			投与率 (%)
			不明	AZT	2剤併用	3剤以上	レジメン変更	小計		
選択的帝切	非感染	218	42	58	2	100	16	176	80.7	
	感染	1		1				1	100.0	
	不明	37	6	5		25	1	31	83.8	
	小計	256	48	64	2	125	17	208	81.3	
緊急帝切	非感染	16	7	1	1	5	2	9	56.3	
	感染	1	1					0	0.0	
	不明	3	1			1	1	2	66.7	
	小計	20	9	1	1	6	3	11	55.0	
経膈	非感染	22	18	1		3		4	18.2	
	感染	14	14					0	0.0	
	不明	7	6	1				1	14.3	
	小計	43	38	2	0	3	0	5	11.6	
合計		319	95	67	3	134	20	224	70.2	

[文献16]より引用]



されることによりバイアスがかかっているためである。産婦人科全国調査のみの報告例から母子感染率を推測すると、表2のように欧米の報告に類似した結果となった。すなわち母子感染率は、選択的帝切では0.46%、緊急帝切では5.88%、経腔分娩では21.43%となった。しかし選択的帝切のみによって母子感染率が0.46%と低率となったわけではない。わが国におけるHIV感染妊婦の妊娠中の母体血中ウィルス量の最高値は、表3に示すように妊婦の場合には治療対象となる1,000コピー/mL以上が68%も占めている。しかし表4に示すように3剤以上の抗ウィルス薬を用いるHAARTにより、母体血中ウィルス量は約70%の例で100分の1あるいは10分の1へ良好にコントロールされることがわかっている。また表5に示すように選択的帝切例の81%では抗ウィルス薬が投与されており、一方経腔分娩例では12%の例でしか投与されていなかった。これらのことから、0.46%という低い母子感染率は、選択的帝切および抗ウィルス薬投与という2つの母子感染予防対策の成果であると考えられる。

## HIV 母子感染予防対策

①妊娠早期のHIVスクリーニング検査による感染の診断

②HAARTによる抗ウィルス療法

③陣痛発来前の選択的帝王切開による分娩

④帝切時のZDV点滴投与

⑤出生児へのZDVシロップの予防投与

⑥児への人工栄養

以上の6項目は、わが国におけるレトロウイルスな検討からは、ほぼ完全なHIV母子感染予防対策と考えられる。しかし上記HIVスクリーニング検査および抗ウィルス療法については不可欠な対策と考えられるものの、選択的帝

切については欧米の報告から、母体血中ウィルス量が良好にコントロールされている例を対象に、帝切分娩か経腔分娩かのランダム化比較臨床試験が必要かもしれない。人工栄養については各国の医療経済事情により導入可能かどうかは異なる。しかし帝切時のAZT点滴や児へのAZT予防投与の効果についてエビデンスは得られておらず、その必要性については疑問が残る。

厚生省研究班から平成20(2008)年9月に「HIV母子感染予防対策マニュアル第5版」が刊行されている。スペースの関係上本稿ではその詳細は割愛するが、HIV感染妊婦やその出生児の診療において役立つところが多いと思われる。エイズ予防情報ネットのホームページ：<http://api-net.jfap.or.jp/>で閲覧可能であるのでぜひ参考にされたい。

## おわりに

わが国におけるHIV母子感染の報告は49例とまだ少ないものの、その半数は死亡あるいはAIDSを発症しているのが現状である。現時点では妊娠早期のHIVスクリーニング検査による感染の診断、HAARTによる抗ウィルス療法、陣痛発来前の選択的帝王切開による分娩および児への人工栄養は、わが国においては必須のHIV母子感染予防対策と考えられる。今後はHIVスクリーニング検査の徹底化を図るための行政的・医学的介入の重点化、抗HIV療法の標準化、HIV感染妊婦や感染児の診療施設の改変と偏りの是正、帝切時のAZT点滴や児へのAZT予防投与の必要性の検討、選択的帝切分娩と経腔分娩の比較に関する臨床試験の必要性の検討などを継続して推進していくことが重要であると考えられる。

近年わが国においては若年層におけるHIV感染者の増加が報告されており、必然的にHIV感

染妊婦の増加も予想されるところである。HIV 母子感染予防対策を普及させることは、HIV 母子感染を予防することには役立つものの HIV 感染妊婦を減少させることはできない。近年の若年者におけるクラミジア感染症の増加を鑑みると、中高生からを対象とした HIV 感染症を含む性感染症に関する啓発・教育対策の大いなる改善が必要と考えられる。

## 文 献

- 1) API-Net エイズ予防情報ネット  
http://api-net.jfap.or.jp, アクセス 2008 年 8 月 31 日
- 2) 市川誠一・他: HIV 感染症疫学の現状。化学療法領域 18:495-501, 2002.
- 3) Schwartz DH, et al.: Adherence of human immunodeficiency virus-infected lymphocytes to fetal placental cells: a model of maternal → fetal transmission. Proc Natl Acad Sci USA 92:978-982, 1995.
- 4) Arias RA, et al.: Transmission of HIV-1 infection between trophoblast placental cells and T-cells take place via an LFA-1-mediated cell to cell contact. Virology 307:266-277, 2003.
- 5) Gaillard P, et al.: Exposure to HIV-1 during delivery and mother-to-child transmission. AIDS 14: 2341-2348, 2000.
- 6) Rousseau CM, et al.: Longitudinal analysis of human immunodeficiency virus type 1 RNA in breast milk and of its relationship to infant infection and maternal disease. J Infect Dis 187:741-747, 2003.
- 7) Nduati N, et al.: Effect of breastfeeding on mortality among HIV-1 infected women: a randomized trial. Lancet 357:1651-1655, 2001.
- 8) European Collaborative Study Group: Risk factors for mother-to-child transmission of HIV-1. Lancet 339:1007-1012, 1992.
- 9) Mock PA, et al.: Maternal viral load and timing of mother-to-child HIV transmission, Bangkok, Thailand. Bangkok Collaborative Perinatal HIV Transmission Study Group. AIDS 13:407-414, 1999.
- 10) Connor EM, et al.: Reduction of maternal-infant transmission of human immunodeficiency virus type 1 with zidovudine treatment. Pediatric AIDS Clinical Trial Group Protocol 076 Study Group. N Engl J Med 331:1173-1180, 1994.
- 11) The International Perinatal HIV Group: The mode of delivery and the risk of vertical transmission of human immunodeficiency virus type 1. N Engl J Med 340:977-987, 1999.
- 12) Read JS, Newell MK: Efficacy and safety of cesarean delivery for prevention of mother-to-child transmission of HIV-1. Cochrane Database Syst Rev: CD005479, 2005.
- 13) European Collaborative Study: Mother-to-child transmission of HIV infection in the era of highly active antiretroviral therapy. Clin Infect Dis 40:458-465, 2005.
- 14) Shah I: Is elective caesarian section really essential for prevention of mother to child transmission of HIV in the era of antiretroviral therapy and abstinence of breast feeding? J Trop Pediatr 52:163-165, 2006.
- 15) Boer K, et al.: The AmRo study: pregnancy outcome in HIV-1-infected women under effective highly active antiretroviral therapy and a policy of vaginal delivery. Int J Obstet Gynecol (BJOG) 114:148-155, 2007.
- 16) 平成 19 年度厚生労働科学研究費補助金 (エイズ対策研究事業) 「周産期・小児・生殖医療における HIV 感染対策に関する集学的研究」班 (主任研究者: 和田裕一) (編), 分担研究「HIV 母子妊婦の実態調査とその解析および HIV 感染妊婦とその出生児に関するデータベースの構築」班 (分担研究者: 喜多恒和) 研究報告書, 2008 年 3 月.

著者連絡先

(〒173-8605)

東京都板橋区加賀 2-11-1

帝京大学医学部産婦人科学教室

喜多恒和

## 特集 妊産婦の感染症とその対策

### HIV 垂直感染とその予防

*Mother-to-child transmission of HIV and its prevention*

喜多 恒和

KITA Tsunehazu

和田 裕一\*

WADA Yuichi

帝京大学医学部産婦人科学教室 准教授 \*国立病院機構仙台医療センター 副院長

ヒト免疫不全ウイルス (Human Immunodeficiency Virus ; HIV) 垂直感染の経路は妊娠中の経胎盤感染、分娩時の経産道感染および産褥期の授乳による感染が考えられる。したがって妊娠早期の HIV スクリーニング検査により妊婦の HIV 感染を確認し、High Active Anti-Retroviral Therapy (HAART) による抗 HIV 療法を行い妊婦血中の HIV 量をコントロールし、陣痛発来前の選択的帝王切開術により HIV が直接児に暴露されることを回避し、さらに母乳栄養を避けることがわが国における適切な HIV 垂直感染予防対策であると考えられる。これによりわが国における HIV 垂直感染率は 0.5% 以下に抑えられている。

#### Key Words

HIV 垂直感染、HIV スクリーニング検査、HAART、選択的帝王切開術

### はじめに

AIDS (Acquired Immunodeficiency Syndrome ; 後天性免疫不全症候群) の原因である HIV は、当初 1970 年代後半よりアフリカのサハラ砂漠以南地域において爆発的に流行し、次いで欧米諸国へ拡大し、1990 年初頭にはタイをはじめ、東南アジアや東アジアに広がり、現在インドでは約 250 万人、中国では約 100 万人もの HIV 感染者が存在するとされる。一方日本における HIV 感染者総数は、2008 年 6 月現在 14,600 人程度<sup>1)</sup>で爆発的な流行には至っていないが、先進諸国のなかで年次報告数が増加し続けているのはわが国だけである。ベトナムの妊婦における HIV 感染率は年々増加しており、1995 年には 0.04% であったのが 2005 年には 0.4% と 10 倍に増加した<sup>2)</sup>。わが国の妊婦の HIV 感染率は 0.01% 程度で妊婦 1 万人に 1 人の割合であるが、1992 年以降日本国籍の HIV 感染妊婦の増加が続いており<sup>2)</sup>、また一

般感染者では 1996 年から 20 歳代の若年層での増加が始まっていることから、垂直感染予防を適切に実施することが求められる。本稿では HIV 垂直感染の経路とリスクファクターについて概説し、HIV 垂直感染に関する諸報告を考察し、わが国における予防対策について述べる。

### HIV 垂直感染の経路と リスクファクター

妊娠中の経胎盤感染、分娩時の経産道感染、産褥期の授乳による感染の 3 つの感染経路が考えられる。

母体中の HIV 感染 T 細胞が、ケモカインレセプターや細胞接着因子などの関与により胎盤に接着し、垂直感染がおこると推測されているが明確ではない<sup>3)</sup>。しかし妊娠中の抗 HIV 療法の開始時期が比較的遅くても、垂直感染の頻度はそれほど上昇しないことから、妊娠初期や中期の経胎盤感染の頻度はごくわずかと考えられる。子宮収縮などが原因となり母体血が胎盤を経由して直接胎児

の血管内に流入する可能性がある妊娠後期のほうが、経胎盤による垂直感染の頻度は高いであろうと推測される。

分娩時における経産道感染は、児が産道内の母体血や分泌物に暴露され、これらに含まれる HIV が主に経口的に児の上部消化管上皮から侵入することによる。低出生体重児や早産児では胃粘膜が脆弱であるため、HIV が侵入しやすい<sup>5)</sup>。

産褥初期の母乳には、それ以降の母乳に比べて明らかに多くの HIV が含まれている<sup>5)</sup>。したがって人工乳栄養が推奨されるが、WHO は経済的理由から開発途上国においては人工乳より母乳を推奨している。しかしケニアでの無作為臨床試験の報告では、母乳栄養により HIV 感染母は健康状態が悪化するため致死率が高く、その結果として未感染児の死亡率も高くなったことから、母乳栄養のデメリットは垂直感染だけでは済まないとしている<sup>6)</sup>。

上記 3 つの感染経路による HIV 垂直感染の頻度を増加させる因子は、HIV 感染母の病状進行による母体血中 CD4 陽性 T 細胞数の低下や母体血中 HIV 量の上昇、膣炎・破水後羊水感染などによる産道感染や会陰切開・膣裂傷などによる産道出血を起因とする産道内 HIV 量の増加、鉗子分

娩・吸引分娩による児の創傷部位や出生児の未熟な上部消化管粘膜からの HIV の侵入などがあげられる<sup>7)</sup>。

## ■ HIV 垂直感染の現況

### 1. わが国における HIV 垂直感染の現況

厚生省研究班では 1998 年から HIV 感染妊婦とその出生児を対象とした全国調査が継続されている。研究班では平成 19 年度産婦人科小児科全国調査において 2007 年 3 月までに 503 例の HIV 感染妊娠を確認し、それらの疫学的・臨床的情報を解析し報告している<sup>2)</sup>。これによると 1987 年にわが国で最初の HIV 感染妊婦の分娩例が報告され、1990 年代前半から HIV 感染妊娠数の増加がみられている。図 1 に HIV 感染妊娠の都道府県別報告数を示した。東京都が 119 例と全国報告数 503 例の 23.7% を占める。次いで千葉、愛知、大阪、神奈川、埼玉、長野、茨城、静岡、栃木と続くが、関東・甲信越ブロックが 323 例と 64.2% を占めている。いまだ報告がないのは中国・四国ブロックと九州・沖縄ブロックを中心とする 12 県のみである。日本国籍の HIV 感染妊婦も増加している。日本人は 193 例 (38.4%) を占め、次いで

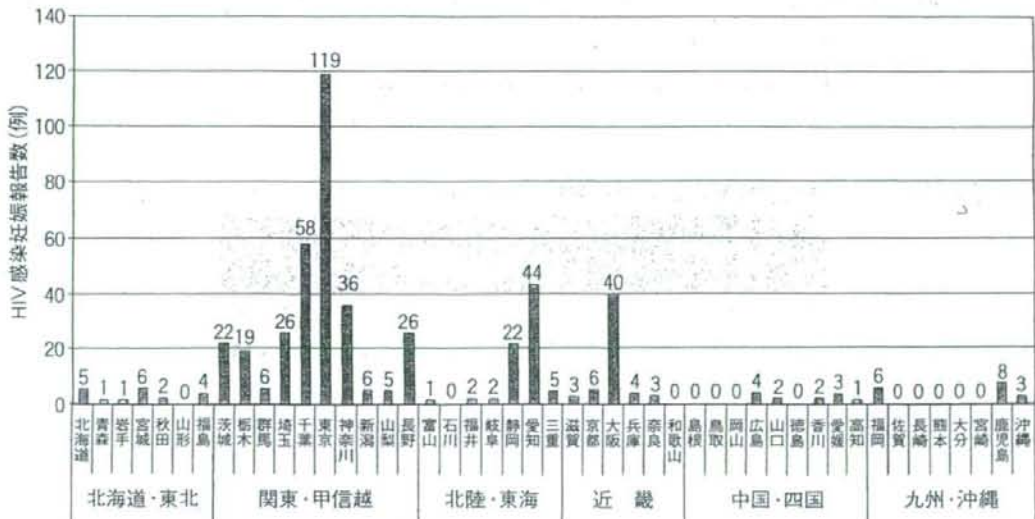


図 1 HIV 感染妊娠の報告都道府県別分布 (文献 2 より引用)

タイ人149例 (29.6%)、ブラジル人41例 (8.2%) である。図2に上記3国とケニア・フィリピンを加えた上位5カ国の年次別変動を示した。1992年以降、日本人とタイ人の HIV 感染妊婦の増加が始まり、1999年以降はタイ人が減少するなか、日本人は増加しつつある。

このような背景のなか、厚労省エイズ動向委員会が報告している HIV 垂直感染は49例であるが、研究班では43例 (88%) の HIV 垂直感染を確認した。表1に503例の HIV 感染妊婦の分娩様式別垂直感染の有無を示す。非感染277例を含む感染の有無が確認された320例中、垂直感染率は13.4%となった。各分娩様式の垂直感染率は、

選択的帝切が3.3%、緊急帝切が17.4%、経膈分娩が49.1%となり、諸報告と比べて高い感染率となっている。これは小児科全国調査において、HIV 感染妊娠が判明しないまま分娩に至った場合の非感染例は報告されることが無いにもかかわらず、AIDS を発症した垂直感染例のみが報告されることによりバイアスがかかってしまうためである。そこで2008年3月までに519例の HIV 感染妊娠が確認されている産婦人科全国調査の成績をもとに、わが国における HIV 垂直感染率について解説する。

519例のうち妊娠中と中絶の200例を除いた選択的帝切・緊急帝切・経膈分娩319例の年次別妊

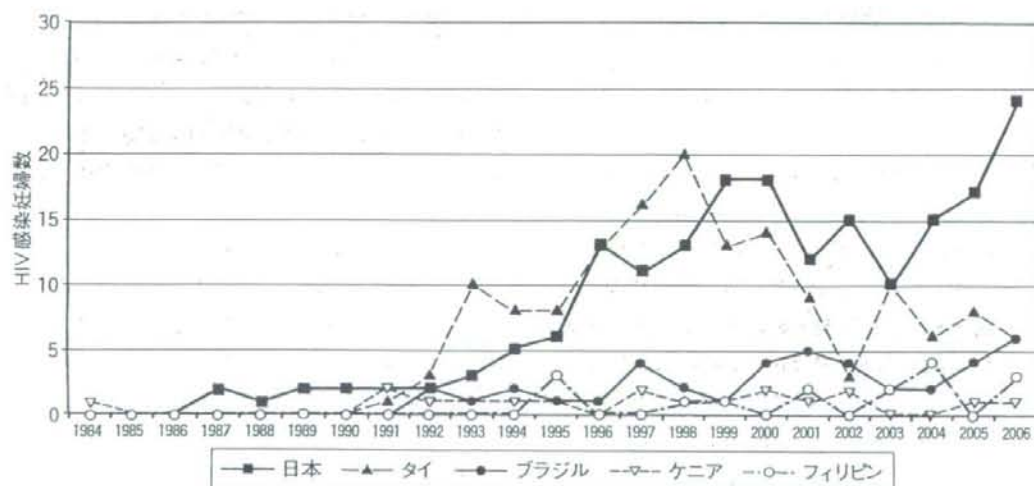


図2 HIV 感染妊婦数の国籍上位5カ国の年次別変動 (文献2より引用)

表1 HIV 感染妊娠の分娩様式別垂直感染の有無 (文献2より引用)

分娩様式	母子感染			総数	母子感染率 (%)
	感染	非感染	不明		
選択的帝切	8	231	33	272	3.3
緊急帝切	4	19	23	23	17.4
経膈	26	27	7	60	49.1
中絶			103	103	
分娩様式不明 / 転帰不明	5		37	42	100
妊娠中			3	3	
総計	43	277	183	503	13.4

表2 HIV 感染妊娠の年次別妊娠転帰と垂直感染の有無 (妊娠中・中絶の200例を除く) (文献2より引用)

発生年	妊娠数	分娩数 (%)	選択的帝切		緊急帝切		経産	
			総数 (%)	非感染 感染 (%)	総数 (%)	非感染 感染 (%)	総数 (%)	非感染 感染 (%)
1987	2	2 (100.0)	1 (50.0)	1	1 (50.0)	1 (50.0)	1	1
1988	1	1 (100.0)	1 (100.0)	1	1	1	1	1
1989	1	1 (100.0)					1 (100.0)	1
1990	3	1 (33.3)	1 (100.0)	1	1			
1991	3	2 (66.7)			1 (50.0)		1 (50.0)	1 2 (66.7)
1992	8	6 (75.0)	3 (50.0)	3	3 (37.5)	1 (12.5)	3 (37.5)	1 3 (75.0)
1993	13	9 (69.2)	3 (33.3)	3	1 (11.1)	1	5 (55.6)	1 2 (50.0)
1994	17	12 (70.6)	5 (33.3)	5	3 (25.0)	2 1 (33.3)	4 (33.3)	2 4 (66.7)
1995	23	16 (69.6)	9 (56.3)	8 1 (11.1)	1 (6.3)	1	6 (37.5)	2 1 (20.0)
1996	25	17 (68.0)	10 (58.8)	10	2 (11.8)	2	5 (29.4)	4
1997	34	15 (44.1)	14 (93.3)	13			1 (6.7)	1
1998	36	24 (66.7)	22 (91.7)	17			2 (8.3)	2
1999	39	26 (66.7)	21 (80.8)	20	1 (3.8)	1	4 (15.4)	
2000	30	14 (46.7)	13 (92.9)	11			1 (7.1)	1 (100.0)
2001	29	22 (75.9)	19 (86.4)	18	2 (9.1)	2	1 (4.5)	1
2002	31	27 (87.1)	22 (81.5)	17	3 (11.1)	3	2 (7.4)	2
2003	26	20 (76.9)	17 (85.0)	15	1 (5.0)	1	2 (10.0)	2
2004	37	23 (62.2)	21 (91.3)	18	1 (4.3)	1	1 (4.3)	1
2005	39	24 (61.5)	22 (91.7)	21	1 (4.2)	1	1 (4.2)	
2006	55	34 (61.8)	31 (91.2)	23	1 (2.9)	1	2 (5.9)	1 1 (50.0)
2007	32	23 (71.9)	21 (91.3)	13	2 (8.7)			
2008	4	0 (0.0)						
不明	31	0 (0.0)						
総計	519	319 (61.5)	256 (80.3)	218 1 (0.5)	20 (6.3)	16 1 (5.9)	43 (13.5)	22 14 (38.9)

妊娠転帰と垂直感染の有無を表2に示した。これによると選択的帝切が行われた256例中垂直感染は1995年の1例のみで垂直感染率は0.5%、緊急帝切も20例中1994年の1例(5.9%)のみであった。一方経産分娩43例では垂直感染は14例(38.9%)と高率で、1996年以前は毎年発生していたが、そのあとは2000年と2006年に各1例のみである。抗HIV療法においてジドブジン(ZDV)単剤に替わりHAARTが主流になりだしたのも2000年である。

表3に示すように、わが国におけるHIV感染妊婦の妊娠中の母体血中ウィルス量の最高値は、

表3 妊娠中の母体血中ウィルス量の最高値別症例数 (文献2より引用)

ウィルス量 (コピー/ml)	症例数	(%)
100,000以上	22	7.9%
10,000以上100,000未満	84	30.0%
1,000以上10,000未満	84	30.0%
感度以上1,000未満	17	30.0%
感度未満	73	26.1%
合計	280	100.0%

妊婦の場合には治療対象となる1,000コピー/ml以上が68%も占めている。しかし表4に示すよ

表4 抗ウイルス薬による血中ウイルス量の変化別症例数 (%) (文献2より引用)

薬剤数	1/100以下へ減少	1/10以下へ減少	やや減少	感度未済維持	増加	総計
単剤	0 (0.0)	5 (16.1)	16 (51.6)	4 (12.9)	6 (19.4)	31 (100.0)
2剤	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (100.0)
3剤以上	46 (41.4)	33 (29.7)	9 (8.1)	21 (18.9)	2 (1.8)	111 (100.0)
レジメン変更	7 (38.9)	3 (16.7)	1 (5.6)	6 (33.3)	1 (5.6)	18 (100.0)
合計	53 (32.9)	41 (25.5)	27 (16.8)	31 (19.3)	9 (5.6)	161 (100.0)

うに3剤以上の抗ウイルス薬を用いるHAARTにより、母体血中ウイルス量は71%の例で10分の1あるいは10分の1へ良好にコントロールされることがわかっている。ZDV単剤ではその効果は16%のみで、19%の例ではウイルス量が増加し、垂直感染のリスクも増加すると考えられる。選択的帝王切開例の81%では抗ウイルス薬が投与されており、一方経陰分娩例では12%の例でしか投与されていなかった。HIVスクリーニング検査を行っていない感染妊婦では抗ウイルス療法が行われないうまま経陰分娩に至る場合が多く、垂直感染のリスクはさらに増加する。

以上の情報から、HIV垂直感染率は産婦人科全国調査のみの報告例から推定するほうが信頼度は高いと考えられる。表5に示したように、児のAIDS発症を契機にHIV感染妊娠が判明した症例を除き小児科調査に含まれるバイアスを除去すると、垂直感染率は選択的帝王切開では0.46%、緊急帝王切開では5.88%、経陰分娩では21.43%となった。0.46%という低い垂直感染率は、選択的帝王切開および抗ウイルス薬投与という2つの垂直感染予防対策の成果であると考えられる。

## 2. HIV垂直感染に関する欧米の報告

1994年に米国主導の臨床試験による成績が報告され、PACTG076プロトコールというHIV垂直感染予防対策が提唱された<sup>8)</sup>。HIV感染妊婦にZDVを①妊娠中は100mg/日を経口投与し、②分娩時は2mg/kg/h静注に次いで、1mg/kg/h持続点滴静注し、③さらに新生児にZDVシロップを2mg/kgで6時間毎生後6週間投与する方法である。この予防法により垂直感染率は

表5 産婦人科全国調査による分娩様式別母子感染率 (文献2より引用)

分娩様式	非感染	感染	感染率
選択的帝王切開	218	1	0.46%
緊急帝王切開	16	1	5.88%
経陰	22	5 <sup>a)</sup> (14)	21.43%
合計	256	8 <sup>a)</sup> (16)	3.03%

<sup>a)</sup>児の異常による受診を契機に母親のHIV感染と垂直感染が判明した8例を除く。

25.5%から8.3%と約1/3に低下した。産科的適応がなければ帝王切開術は行わず、経陰分娩である。1999年には欧米のメタアナリシスの結果が報告された<sup>9)</sup>。垂直感染は、予防対策を何ら講じない場合の19.0%と比べて、選択的帝王切開術のみ10.4%、抗ウイルス薬の投与のみ7.3%、その両者の併用2.0%の順に低下するということが明らかになったわけである。その後ZDV単剤療法よりさらに強力なHAART療法により、母体血中ウイルス量を著明に減少させることが可能になった。この結果欧米においては、HAART療法を中心とする抗ウイルス薬の投与、選択的帝王切開術および人工乳保育が標準となった。

2000年代になりHAARTにより母体血中HIVウイルス量が良好にコントロールされている場合には経陰分娩による垂直感染率は、メタアナリシスで報告された7.3%よりさらに低いという報告が散見されるようになった。Cochrane Database 2005では、抗ウイルス療法が行われていないか、ZDV単独療法のための妊婦に限っては選択的帝王切開が垂直感染予防に有効であったが、HAARTなどにより血中ウイルス量が低い妊婦

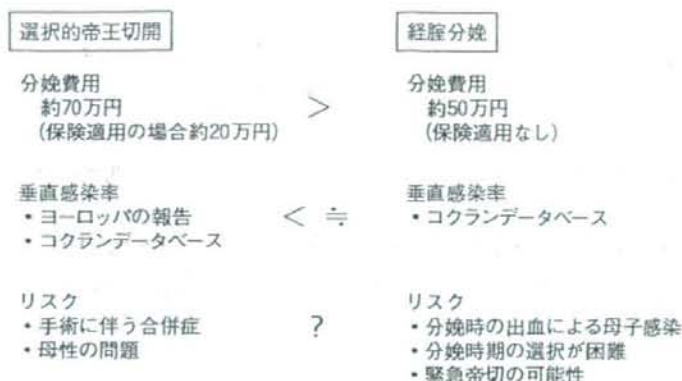


図3 各分娩法のメリット・デメリット

ではその有用性は不明で、選択的帝王切開の有効性を検証するには、血中ウィルス量が感度以下のHIV感染妊婦を対象とした大規模な臨床試験が必要と結論されている<sup>10)</sup>。

ヨーロッパにおける大規模前方視的コホート研究では、母子感染リスクファクターは妊婦の高ウィルス量 ( $p=0.003$ ) と選択的帝王切開 ( $p=0.04$ ) で、HAARTによって血中ウィルス量が測定感度以下となった560例においても、選択的帝王切開は経膈分娩や緊急帝王切開と比べて垂直感染リスクを90%低下させたことから、全HIV感染妊婦に対して選択的帝王切開を推奨している<sup>11)</sup>。

図3に選択的帝王切開と経膈分娩のメリット・デメリットを比較した。分娩費用は経膈分娩で安価であるが、垂直感染率はいまだ確定されていないものの経膈分娩のほうが低率になることは考えにくい。分娩におけるリスクは妊婦個々により異なり、各国の医療レベルによっても異なるため、優越つけがたいであろう。

以上の報告から、現時点ではHAARTを行っていない妊婦においては選択的帝王切開が推奨されるが、HAARTにより血中ウィルス量が良好にコントロールされている妊婦の場合は、選択的帝王切開による合併症のリスクと経膈分娩による垂直感染のリスクを十分に説明し、さらに妊婦の経済事情も考慮したうえで、分娩法を妊婦とその家族にイ

ンフォームドチョイスしてもらうことが適切であろうと考えられる。

## ■ ■ ■ わが国における HIV 垂直感染 予防対策

厚生省研究班から平成20(2008)年9月に「HIV母子感染予防対策マニュアル第5版」が刊行されている。エイズ予防情報ネットのホームページ：<http://api-net.jfap.or.jp/> で閲覧可能であるので是非参考にされたい。以下の6項目は、わが国におけるレトロスペクティブな検討からは、ほぼ適切なHIV垂直感染予防対策と考えられる。

1. 妊娠早期のHIVスクリーニング検査による感染の診断
2. HAARTによる抗ウィルス療法
3. 児への人工栄養
4. 陣痛発来前の選択的帝王切開術による分娩
5. 帝王切開時のZDV点滴投与
6. 出生児へのZDVシロップの予防投与

しかし上記1~3については、本稿で述べてきた内容から不可欠な対策として確立されたものと考えられるが、4の選択的帝王切開については、図3に示すような決定手順を踏む必要がある。しかし5~6の帝王切開時のZDV点滴や児へのZDV予防投与の効果についてエビデンスは得られておらず、その必要性については疑問が残る。



## ■ ■ ■ おわりに

近年わが国においては、クラミジア感染症をはじめとする性感染症の増加が、10歳代から20歳代において問題となっている。同様に若年層における HIV 感染者の増加から HIV 感染妊婦の増加も予想される。少子化の進むわが国においては毎

年30~50例程度の HIV 感染妊婦といえども、垂直感染を完全に回避することの臨床的・倫理的・経済的重要性は高い。しかし HIV 垂直感染予防対策を確立し普及させることも重要であるが、HIV 感染症を含む性感染症の蔓延を防止することのほうが先決であろう。中高生をはじめとする思春期における教育においては、性感染症も受験必須科目と同様に重視してほしいものである。

## 文 献

- 1) API-Net エイズ予防情報ネット <http://api-net.jfap.or.jp>, 2008年8月31日アクセス.
- 2) 平成19年度厚生労働科学研究費補助金(エイズ対策研究事業)「周産期・小児・生殖医療における HIV 感染対策に関する集学的研究」班(主任研究者:和田裕一)編, 分担研究「HIV 母子妊婦の実態調査とその解析および HIV 感染妊婦とその出生児に関するデータベースの構築」班(分担研究者:喜多恒和)研究報告書, 2008年3月.
- 3) Arias RA, Munoz LD, Munoz-Fernandez MA: Transmission of HIV-1 infection between trophoblast placental cells and T-cells take place via an LFA-1-mediated cell to cell contact. *Virology* 307: 266-277, 2003.
- 4) Gaillard P, Verhofstede C, Mwanjumba F et al: Exposure to HIV-1 during delivery and mother-to-child transmission. *AIDS* 14: 2341-2348, 2000.
- 5) Rousseau CM, Nduati RW, Richardson BA et al: Longitudinal analysis of human immunodeficiency virus type 1 RNA in breast milk and of its relationship to infant infection and maternal disease. *J Infect Dis* 187: 741-747, 2003.
- 6) Nduati N, Richardson BA, John G et al: Effect of breastfeeding on mortality among HIV-1 infected women: a randomized trial. *Lancet* 357: 1651-1655, 2001.
- 7) European Collaborative Study Group: Risk factors for mother-to-child transmission of HIV-1. *Lancet* 339: 1007-1012, 1992.
- 8) Connor EM, Sperling RS, Gelber R et al: Reduction of maternal-infant transmission of human immunodeficiency virus type 1 with zidovudine treatment. Pediatric AIDS Clinical Trial Group Protocol 076 Study Group. *N Engl J Med* 331: 1173-1180, 1994.
- 9) The International Perinatal HIV Group: The mode of delivery and the risk of vertical transmission of human immunodeficiency virus type 1. *N Engl J Med* 340: 977-987, 1999.
- 10) Read JS, Newell MK: Efficacy and safety of cesarean delivery for prevention of mother-to-child transmission of HIV-1. *Cochrane Database Syst Rev* Oct 19(4): CD005479, 2005.
- 11) European Collaborative Study: Mother-to-child transmission of HIV infection in the era of highly active antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis* 40: 458-465, 2005.

# Mucosal Administration of Completely Non-Replicative Vaccinia Virus Recombinant Dairen I strain Elicits Effective Mucosal and Systemic Immunity

N. Yoshino\*,†, M. Kanekiyo†, Y. Hagiwara‡, T. Okamura†, K. Someya†, K. Matsuo†, Y. Ami§, S. Sato\*, N. Yamamoto† & M. Honda†

\*Department of Microbiology, School of Medicine, Iwate Medical University, Iwate; †AIDS Research Center, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo; ‡Research Center for Biologicals, The Kitasato Institute, Saitama; and §Division of Experimental Animals Research, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan

Received 27 March 2008; Accepted in revised form 15 July 2008

Correspondence to: N. Yoshino, Department of Microbiology, School of Medicine, Iwate Medical University, 19-1 Uchimarui, Morioka, Iwate 020-8505, Japan. E-mail: nyoshino@iwate-med.ac.jp

## Introduction

Human immunodeficiency virus type-1 (HIV-1), like most infectious agents, gains entry into the host via the mucosal surfaces. Immunoprophylaxis by the mucosal route is an important approach to control mucosally transmitted infections. Moreover, because most generic immunization procedures for vaccinia virus require needles, mucosal vaccines pose the risk of cross-contamination due to needle reuse. But mucosal immunization would eliminate such a risk.

A number of groups have demonstrated the efficacy of poxvirus as a mucosal vaccine vector. Recombinant modified vaccinia virus Ankara (rMVA) expressing HIV-1 89.6 gp160 induced both mucosal and systemic cytotoxic T-lymphocyte responses in intrarectally immunized mice [1]. The MVA vector was tested in multiple prime-boost vaccine protection studies in macaques [2, 3]. In another study, NYVAC/SIV<sub>gpe</sub>, the highly attenuated poxvirus vector NYVAC, encoding the SIV<sub>mak6w</sub> gag, pol, and env,

## Abstract

We studied the immunogenicity of completely replication-deficient vaccinia virus Dairen I strain recombinant encoding simian immunodeficiency virus (SIV) gag/pol (rDIs) in both mucosal and systemic compartments. When administered either intranasally or intragastrically, rDIs elicited enhanced levels of both SIV Gag p27-specific IgA antibodies and specific plasma antibodies, and the enhanced immunity persisted for the 1-year of observation by intranasal immunization. Increases were observed in antigen-specific IgA antibody-forming cells (AFC) in intestinal mucosal tissues and in IgG AFC in spleens. Furthermore, induction of type 1 and 2 helper cytokines in CD4<sup>+</sup> spleen T cells and of CD8<sup>+</sup> IFN- $\gamma$  spot-forming cells in mucosal tissues was observed in the intranasally immunized mice. Moreover, not even high-dose rDIs generated an SIV gene signal in the brain tissues of immunized mice. These findings suggest that mucosal immunization with the DIs recombinant hold promise as a safe mucosal vector.

was administered via various routes and its immunogenicity against simian immunodeficiency virus (SIV) Gag peptide was assessed. This NYVAC study found that mucosal immunization routes were effective in inducing mucosal immune responses [4]. Obtaining the appropriate balance between safety and immunogenicity is a critical issue for the development of any vaccine. Some of vector systems, such as those based on replication-deficient poxviruses, are readily established and have undergone clinical testing in humans, mainly for safety and, to some extent, for immunogenicity [5–7].

In this study, we selected the completely replication-deficient vaccinia virus, Dairen I strain (DIs) for the vaccinia vector. A highly attenuated mutant of vaccinia virus obtained by successive 1-day egg passages of the DIE virus [8–10], DIs replicates only in chick embryo fibroblast cells and is not pathogenic to mice, guinea pigs or rabbits [8]. Although completely non-virulent, the recombinant virus efficiently produces foreign gene products [11, 12]. When systemically administered,

recombinants of DIs have induced specific immunities in mice and non-human primates [11–14]. Furthermore, the efficacy of prime-boost regimen that primed with recombinant *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guérin expressing SIV gag or DNA encoding SIV gag and pol genes and boosted by DIs recombinants have been shown in macaques [13, 14].

Although parenterally administered vaccines induce protective immune responses, they are less able to induce the mucosal immune responses needed to prevent infection at the site of initial contact between the host and the infectious agent [15]. However, no study has as yet been performed to determine the potential of recombinant DIs (rDIs) as a mucosal vaccine vector in experimental animals. In this study, we assessed the capability of rDIs to induce mucosal and systemic immunity in animals.

## Materials and methods

**Recombinant vaccinia virus vectors.** We propagated rDIs-SIVgag/pol as a candidate vaccine expressing full-length SIV gag and rDIs expressing LacZ (rDIsLacZ) as a control vector in chick embryo fibroblast cells and prepared them as previously described [11, 12]. Dr Bernard Moss (Laboratory of Viral Diseases, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA) generously supplied the recombinant modified vaccinia virus Ankara (rMVA) expressing SIV gag (rMVA-SIVgag/pol) and non-recombinant MVA 74LVD6 as the parent strain of rMVA-SIVgag/pol. These vaccinia virus vectors were stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  until used.

**Mice.** Five-week-old C57BL/6 mice (H-2<sup>b</sup>) were purchased from Charles River Japan, Inc. (Yokohama, Japan). Mice were acclimated to the experimental animal facility for 1 week before being used in experiments and were maintained in the facility under pathogen-free conditions. All experimental procedures were conducted following the guidelines established by the National Institute of Infectious Diseases, Japan. The study was conducted in a biosafety-level 2 facility with the approval of an institutional committee for biosafety and in accordance with the requirements of the World Health Organization.

**Immunization of mice.** Several groups of mice were immunized with rDIsSIVgag/pol by intranasal, intragastric or intradermal routes. Similar results were obtained when experiments were conducted for a second or third time. For intranasal immunization, the mice were lightly anesthetized with ketamine before being immunized with a 5- $\mu\text{l}$  aliquot (2.5  $\mu\text{l}$ /nostril) of PBS containing several concentrations of rDIsSIVgag/pol, rDIsLacZ, rMVA-SIVgag/pol or MVA 74LVD6. For intragastric immunization, mice were deprived of food for 12 h before immunization and neutralized stomach acidity

[16]. The mice were immunized with a 250- $\mu\text{l}$  aliquot of PBS containing several concentrations of rDIsSIVgag/pol by intragastric gavage. For intradermal immunization, the mice were lightly anesthetized with ketamine and immunized with a 50- $\mu\text{l}$  aliquot of PBS containing several concentrations of rDIsSIVgag/pol in the inguinal region.

**Sampling of plasma and fecal pellets.** Blood and fecal pellets were collected 1 week after the last immunization, and then at 2 to 8-week intervals for 49 weeks. The collection and preparation methods have been previously described [17]. Samples of plasma and fecal extract were stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  until needed.

**Detection of p27-specific antibody production by enzyme-linked immunosorbent assay.** Simian immunodeficiency virus Gag p27-specific antibody (Ab) titres in plasma and fecal extracts were determined by an endpoint enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The assay was conducted in 96-well plates (Nalge Nunc International, Rochester, NY, USA), that had been coated with 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  of SIV Gag p27 (recombinant Gag p27 SIV<sub>mac251</sub>; ImmunoDiagnosics, Inc., Woburn, MA, USA) in PBS. Twofold serial dilutions of samples were added after blocking with 1% BSA-PBS. Horseradish peroxidase-conjugated goat anti-mouse IgG (H + L), IgM, or IgA Ab (Southern Biotechnology Associates, Inc., Birmingham, AL, USA) were used to detect the p27-specific Ab, which were then developed at room temperature with TMB+ substrate-chromogen (DAKO, Carpinteria, CA, USA). Endpoint titres were expressed as the last dilution that gave an optical density at 450 nm (OD<sub>450</sub>) of  $\geq 0.1$  OD units above the OD<sub>450</sub> of negative controls after 15-minute incubation. Incubations were terminated by addition of 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

**Preparation of single-cell suspensions.** Single-cell suspensions were obtained from spleen, submandibular lymph nodes (SMLN), mesenteric lymph nodes (MLN), Peyer's patches (PP), small intestinal lamina propria (i-LP), small intestinal intraepithelial lymphocytes (IEL), nasal lamina propria (n-LP), and nasopharynx-associated lymphoid tissue (NALT), and then prepared according to the protocols described elsewhere [17]. The cells were washed and resuspended in RPMI 1640 supplemented with 10% heat-inactivated fetal calf serum, antibiotics and 55  $\mu\text{M}$  2-mercaptoethanol (Sigma-Aldrich Co., St Louis, MO, USA) (complete medium).

**Detection of p27-specific Ab-forming cells by enzyme-linked immunospot assay.** Simian immunodeficiency virus p27-specific IgG, IgM and IgA Ab-forming cells (AFC) in the mucosal and systemic tissues of mice were determined by enzyme-linked immunospot (ELISPOT) assay which was conducted in 96-well filter plates (Millicell HA; Millipore Co., Bedford, MA, USA). Plates were coated with 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  of SIV p27 in PBS. After blocking with complete medium, single-cell suspensions of mononuclear

cells from the spleen, MLN, PP, i-LP, n-LP and NALT were added at various concentrations into each well and incubated for 4 hours at 37 °C in 5% CO<sub>2</sub>. SIV p27-specific AFC were detected by alkaline phosphatase-conjugated goat anti-mouse IgG (H + L), IgM or IgA Ab and developed with Nitro blue tetrazolium chloride/5-Bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate, toluidine salt (Roche Diagnostics GmbH, Penzberg, Germany). After being washed with water, the palates were dried and p27-specific AFC were quantitated with the aid of stereomicroscope.

**Analysis of the cytokine production of SIV Gag peptide-specific CD4<sup>+</sup> T cells.** CD4<sup>+</sup> T cells were isolated from spleen by auto MACS (Miltenyi Biotec GmbH, Bergisch Gladbach, Germany). The purified T-cell fractions were > 97% CD4<sup>+</sup> and were > 99% viable. Cells were resuspended in complete medium, and purified CD4<sup>+</sup> T cells ( $4 \times 10^6$  cells/ml) were cultured with or without 50 µg/ml of overlapping Gag peptides [12] in the presence of T cell-depleted, mitomycin C-treated splenic antigen-presenting cells (APC) at 37 °C in 5% CO<sub>2</sub>. Culture supernatants were collected after 5 days, and IFN-γ, IL-4 and IL-10 were measured by ELISA kit (eBioscience, San Diego, CA, USA). The levels of Gag-specific cytokine production were calculated by subtracting the results of control cultures (e.g. without Gag peptide stimulation) from those of Gag peptide-stimulated cultures.

**Analysis of IFN-γ production of SIV Gag peptide-specific CD8<sup>+</sup> T cells.** To prepare APC for this assay, CD11c<sup>+</sup> dendritic cells were isolated from the spleens of naive mice by auto MACS and then resuspended into complete medium before being added into 96-well anti-mouse IFN-γ Ab-coated (R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN, USA), sterilized nitrocellulose plates at the rate of  $1 \times 10^4$  APC/well. The APC were then incubated with or without 50 µg/ml of overlapping Gag peptides for 24 hours at 37 °C in 5% CO<sub>2</sub>. CD8<sup>+</sup> T cells were isolated from spleen, SMLN, PP, and IEL by auto MACS. The enriched CD8<sup>+</sup> cells were added to APC-cultured wells and incubated for 24 hours at 37 °C in 5% CO<sub>2</sub>. IFN-γ spot-forming cells (SFC) were detected by ELISPOT kit (R&D Systems, Inc.) and quantitated with the aid of stereomicroscope. The number of Gag-specific IFN-γ SFC was calculated by subtracting the results of the control culture (e.g. without Gag peptide stimulation) from those of the peptide-stimulated culture. In contrast, the calculated numbers of Gag-specific IFN-γ SFC of naive mice were < 20/10<sup>6</sup> cells.

**Detection of rDISIVgag/pol in the central nervous system by nested reverse transcription PCR.** To determine the dissemination of intranasally administered rDISIVgag/pol in the brain, a nested DNA-PCR and reverse transcription PCR (RT-PCR) were used to amplify a fragment of the SIV gag gene [18]. Mice were intranasally inoculated with 10<sup>6</sup> plaque-forming units (PFU) of

rDISIVgag/pol. After 48 hours, brains were removed and the olfactory bulbs, cerebellum and cerebrum were sectioned. The DNA and mRNA were extracted from the olfactory bulbs, cerebellum and cerebrum by the DNeasy tissue kit (QIAGEN, KJ Venlo, The Netherlands) and the RNeasy mini kit (QIAGEN), respectively. RT-PCR was performed using One-Step RT-PCR kit (Takara Bio Inc., Shiga, Japan). Reverse transcription was carried out at 50 °C for 30 min with avian myeloblastosis virus reverse transcriptase. The initial and nested PCR protocols and the sequences of the primers have been described elsewhere [18]. After the second amplification, 10 µl of nested PCR-amplified product was run on 1.0% agarose gel, and DNA bands were visualized by staining with ethidium bromide. The lowest concentration of plasmid SIV DNA that could be detected with this PCR method in the first amplification with outer gag primer pair was 10<sup>3</sup> copies. Upon further amplification with nested/internal gag primers, a single copy of plasmid DNA could be routinely detected [18].

**Statistical Analysis.** The results are expressed as the mean + the standard deviation (SD). Normally distributed variables were compared by using the two-tailed Student's *t* test and non-normally distributed variables by the two-tailed Mann-Whitney *U*-test. Probability value of < 0.05 was considered significant.

## Results

### Induction of SIV p27-specific IgA Ab responses in mucosal secretions

We ran an endpoint ELISA to determine the levels of SIV p27-specific IgA Ab in the fecal extracts by collecting fecal pellets at 1 week after the last immunization. SIV p27-specific IgA Ab were detected in the fecal extracts from all mice that had been immunized intranasally with 10<sup>6</sup> PFU of rDISIVgag/pol and in seven of the eight (88%) mice given 10<sup>5</sup> PFU of rDISIVgag/pol (Fig. 1). In contrast, p27-specific IgA Ab were detected in the fecal extracts from five of eight (63%) mice given 10<sup>6</sup> PFU of rDISIVgag/pol intragastrically. As a reference, SIV p27-specific IgA Ab were also detected in the fecal extracts of mice immunized intranasally with 10<sup>3</sup>–10<sup>6</sup> PFU of rMVA-SIVgag/pol (Fig. 1). The titres of p27-specific IgA Ab in fecal extracts of mice immunized intranasally with 10<sup>6</sup> PFU of rDISIVgag/pol were significantly higher than in those mice immunized intranasally with the same dose of rMVA-SIVgag/pol (*P* = 0.026). No SIV p27-specific IgA Ab were detected in the fecal extracts of controls immunized with either rDISLacZ or MVA 74LVD6 (Fig. 1). These results show that mucosal vaccination with rDISIVgag/pol can induce antigen (Ag)-specific humoral immunity in mucosal compartment.