

ウイルス母子感染防止に関する調査研究

肝炎ウイルス母子感染の研究

分担研究者 白木和夫 鳥取大学小児科

研究協力者 藤澤知雄 十河 剛 小松陽樹 乾あやの
防衛医科大学校小児科

A.研究目的

C型肝炎ウイルス(HCV)が発見され約 10 年が経過し、HCV の疫学的な実態はほぼ解明されたが母子感染の成立要因や感染した児の自然経過は未だ不明である。また新たな肝炎候補ウイルスとして TTウイルス(TTV)が 1997 年に発見され約 3 年を経過した。現在、各分野で活発に検討されているが、母子感染に関する情報は少ない。私どもは HCV 母子感染が成立した児の経過を追跡するとともに慢性肝炎発症例にインターフェロン(IFN)による治療を試み、その効果を検討した。さらに今回は TTV についても TTV 母子感染の実態を解明するため予備的ではあるが母子感染した親子間のウイルス変異を検討した。

B.研究方法

(1)HCV 感染に関して

平成 10 年度の報告書と同様の方法であるが、1990 年 10 月から 1998 年 3 月までに HCV 抗体(第 2 世代)陽性の母親から生まれた児のうち informed consent が得られた例を前方視的に追跡し、自然経過を追った。また、この間に後方視的に HCV 母子感染を疑わせる 9 例を発見した。HCV 母子感染の推定は家族内に母親以外の HCV-RNA 陽性者がいない、母子間で遺伝子型(genotype)と HCV インターフェロン領域(E2)の塩基配列(増幅、クローニング、3 クローンの塩基配列)の比較によった。慢性 C 型肝炎に対する IFN 療法は天然型 IFN- α を 0.1MU/Kg/日を連日 2 週後、週 3 回、22 週の計 24 週を投与した。

(2)TTV 感染に関して

1998 年 4 月から 1999 年 10 月までに TTV DNA 陽性の妊婦から生まれ informed consent が得られた児を前方視的に追跡し、感染実態を検討した。TTV-DNA は血清より核酸を抽出し PCR 法を用いて TTV DNA の遺伝子領域を検出した。血清 TTV-DNA の陽性例はゲル電気泳動法を用いて TTV-DNA の遺伝子解析を行い genotype を

決定し、さらに家族調査が可能な症例については TTV の分子系統樹解析を用いて分子生物学的検索を行った。

C.研究結果

(1)HCV の母子感染に関して

a.前方視観察例

HCV 抗体陽性の 96 例から生まれた児は 106 例であり、このうち 6 か月以上の追跡可能例は 73 例の母親から生まれた 80 例の出生児であった。73 例中約 70% は HCV-RNA が陽性であった。生まれた児のうち持続感染成立は 5 例(6.3%)、一過性感染 4 例(5.0%)、非感染 71 例(88.7%)であった。感染例と無感染例について母親の病歴(輸血、肝炎歴)、周産期の肝機能以上、HCV 抗体価、HCV-RNA 量、分娩時異常、栄養方法などについて検討したが有意な感染因子を見出すことは出来なかった。この HCV 感染児の中に HCV 感染が 1 児のみにみられた一卵性双生児があり、感染要因に関して大きな示唆を得たので、次ぎにその経過を述べる。

b.一卵性双生児の経過

母親は今回妊娠時 39 歳。肝炎歴や輸血歴はなかった。今回の妊娠スクリーニングではじめて HCV 抗体陽性が判明された。病歴では 34 歳時に卵巣の腫瘍摘出術を受けた。父親は 39 歳で肝炎歴や輸血歴はない。母親は今回 2 回目の妊娠で初回妊娠は在胎 9 か月で胎児死亡。今回、妊娠中には肝機能異常はなく、出生時には AST 40 IU/l、ALT 23 IU/l、HCV 抗体は 12.2 倍、HCV-RNA (Amplimore 定性)陽性であった。妊娠中の超音波検査と分娩時の胎盤所見から胎盤は 1 絨毛膜羊膜であった。第 2 子は第 1 子出生 3 分後に生まれた。第 1 子は受動 HCV 抗体は漸減消失し、経過中に肝機能異常はなく、HCV RNA も持続陰性であったが、第 2 子は生後 1 か月～現在(2 歳)まで血清 HCV-RNA は陽性であり HCV 抗体も生後 3 か月から上昇し、肝機能異常も認めら

れた。第1子と第2子のトランスアミン値の推移を図1に、HCV抗体価の推移を図2に示した。

c. 後方視観察例

家族内調査で発見された9例ではウイルス遺伝子が同定された例はいずれもHCV遺伝子型は一致し、E2領域では90%以上の高い相同性があり、分子系統樹を用いた検討でも同じ家系の親子が同一枝に分岐しており母子感染が証明された。

d. 追跡調査結果

持続感染例は前方視観察の6例と家族内調査で発見された9例の合計15例を長期にわたり追跡したが、前方視観察例の6例中2例はそれぞれ2、3歳に肝機能異常が改善するとともに血清HCV-RNAも消失した。家族内調査で発見された9例中6例はいずれも臨床的には慢性肝炎であり、2例にはinformed consentを得た後、6歳以降にIFN療法を行い著効(肝機能正常化かつ血清HCV-RNA消失)を得た。

(2) TTV母子感染

血清TTV-DNA陽性の母親から生まれた16例を追跡しているが、生後1か月の段階で6例(38%)にTTV-DNAが検出された。この6例はいずれも肝機能異常はなかった。父親の検査が可能であったのは16例中8例(50%)であり、この8例中6例(75%)はやはり血清TTV-DNAは陽性であった。父母とも血清TTV-DNA陽性例は6家系中3例であり、出生児がTTV-DNA陽性例は1例にみられた。分子系統樹解析(UPGMA)を用いて血清TTV-DNA陽性18例(母6例、出生児6例、父6例)のgenotypeはG1が9例(50%)、G2が5例(28%)、G3が1例(5%)、G4が3例(17%)であった(図3)。

D. 考察

(1) HCV母子感染

母子感染を証明するためにはHCVキャリア妊婦から生まれる児の感染状況がまず検討された。しかし、新生児期のみならず、いかなる年齢でもHCV感染により容易にキャリア化するのでHCVキャリア妊婦から生まれる児を前方視的に追跡し、感染率、感染期間、予後を検討する必要性が高まった。現在、世界中でHCV母子感染の前方視的研究が行われている。

現時点で明かな点はわが国における妊婦のHCV感染者は地域差があるが約1%である。そしてHCV抗体陽性妊婦の約75%は血清HCV-RNA陽性であり、残りの約25%は抗体のみ陽性であり、感染既往例や疑陽性例である。HCV抗体陽性妊婦でHCV-RNA陰性の妊婦から生まれた児に感染はみられず、したがって、血

清HCV-RNA陽性が母子感染のリスクファクターの1つである。前方視的研究では母子感染率は5-10%であった。HCV-RNAが陽転した例では母親から胎盤を介して移行したHCV抗体は陰性化せず、再上昇してHCV感染があったことが確認される。HCV-RNAが陽転しない児では生後4か月から、遅くとも生後18か月までには陰性化し、HCV感染が無かったことが確認される。HCV母子感染例においてHCV-RNA陽転時期はHCV-RNA検出感度に大きく依存するが、約80%は生後1週~3か月に及び、しかし、出生時にすでにHCV-RNAが陽性であり、胎内感染を示唆する例も報告されている。重要な点はHCV母子感染の正確な感染経路は不明であるが、大部分はHBV母子感染と同様に分娩時であることが推察される。このことは将来、母子感染の防止が可能となる重要な点である。

母子感染の成立要因に関して様々な因子が検討された。まず、予想どおり妊婦の血清HCV-RNA量が多い例に母子感染がみられたが、十分な条件ではなかった。すなわちHCV-RNA量が多い例でも無感染が少なくなかった。ウイルス量以外にも多くの因子が検討された。たとえば分娩中に母親から胎児(新生児)に移行する血液量、HCVに特異抗体が付着しているか否かは重要な因子と考えられるが、いずれも正確な測定が困難である。私どもはHCV母子感染が第2子のみにみられた一卵性双生児を経験した。胎盤は1絨毛膜2羊膜であり、3分後に生まれた第2子のみを持続感染が成立しており、出生時体重、羊水量、分娩時の異常などが両者に差はなく分娩時の母子血液量の違いがHCV感染に関与したと考えている。一方、外国では妊婦がHCV以外にHIVに感染しているとHCV母子感染は倍増することが良く知られている。HIV感染によりHCV量が増えるのか、あるいは免疫低下により易感染性が増すためと考えられる。

その他にも種々の因子が検討された。HCVキャリア妊婦の輸血歴、肝炎歴、分娩所要時間、胎盤重量、出血量、HCV遺伝子型などであるが明確なリスクファクターは特定できなかった。最も心配されたのは母乳感染であった。確かに母乳中には微量のHCVが含まれているという報告はあるが、母乳栄養児にHCV感染率が高いという結論は得られなかった。反対に完全人工栄養児でも感染例はあり、現時点ではHCVの母子感染の危険性を減らす為に母乳を禁止する根拠はない。

次に母子感染によりHCV-RNAが陽転した児の経過についてはHCV-RNA陽転児が全例キャリア化するわけではない。母親由来のHCV-RNA

量、HCV 抗体、ウイルス蛋白が一過性感染か持続感染かを定める可能性はあるが証明されていない。陰性化例の多くは急性肝炎様のトランスアミナーゼ値の上昇が認められるので、ホスト側のウイルス排除機構が作動していると考えられる。3 歳以降でも HCV-RNA が消失しない例はおそらくキャリア化するであろう。キャリア化例の経過は無症候性キャリア例、反復肝機能異常例、持続肝機能異常例など様々である。

成人の HCV 感染は一旦慢性化すると自然治癒がほとんど期待できない。小児でも慢性化すると自然治癒率は少ない。小児の C 型慢性肝炎における IFN 療法の著効率は約 50% と成人に比べると高い。著効因子としては HCV-RNA 量が低い、HCV 遺伝子型が 1b(II 型)以外、免疫抑制状態がないなどがあげられる。私どもは HCV 母子感染例の 2 例に IFN 療法を行い、いずれも著効を得ている。副作用は成人に比して軽いが痙攣の既往がある例や熱性痙攣の好発年齢である乳幼児期における IFN 療法は避けるべきと考えている。私どもは 6 歳以降に行っている。

(2) TTV 母子感染

1997 年に原因不明の輸血後肝炎の患者血清から遺伝子工学的に発見された TTV は環状一本 DNA ウィルスであり、ヒトに感染するはじめてのサーコウィルスであることが判明した。TTV は DNA ウィルスであるにもかかわらず RNA ウィルスに匹敵するほど遺伝子変異が顕著である。現在までに TTV にはウィルス DNA の塩基配列が約 30% 以上異なる変

異ウィルスが多数存在し、少なくとも 11 種類の genotype が明らかになっている。小児の TTV 感染に関しては、一般小児の感染率は約 5% であり、新生児には感染率が低く 6 か月以降に感染率が増加することが報告された。また TTV に感染していない妊婦から生まれた児にも乳児期から TTV 感染が増加している。TTV は分娩時感染よりも出生後の水平感染が起こる可能性がある。私どもの予備的研究では高率(38%)に母子感染がみられ、遺伝子解析では母子間、父子間にウィルス系統樹の検索では母子間例でも変異が異なり、同じホストにおいても他種類の TTV の感染が存在すると考えられた。これは一つの TTV が増殖する過程で変異するのか、あるいは経過中に何度も TTV に感染するのか現時点では不明である。

E. 結語

HCV 母子感染例は全例がキャリア化するわけでない。3 年以内に HCV-RNA が消失する例が半数近くある。3 歳以降までキャリア化し、慢性肝炎を発症する例は 6 歳頃に IFN 療法を行えば、著効が得られる可能性が高い。HCV 母子感染の成立機序は不明であるが、対策は具体的になった。TTV の母子感染の意義や実態は不明であり、研究の継続が必要である。

(TTV の母子感染に関する研究は本院分娩部の黒田浩一先生、東医歯大保健衛生学科の田中稔生先生との共同研究である)

双胎におけるトランスアミナーゼの推移

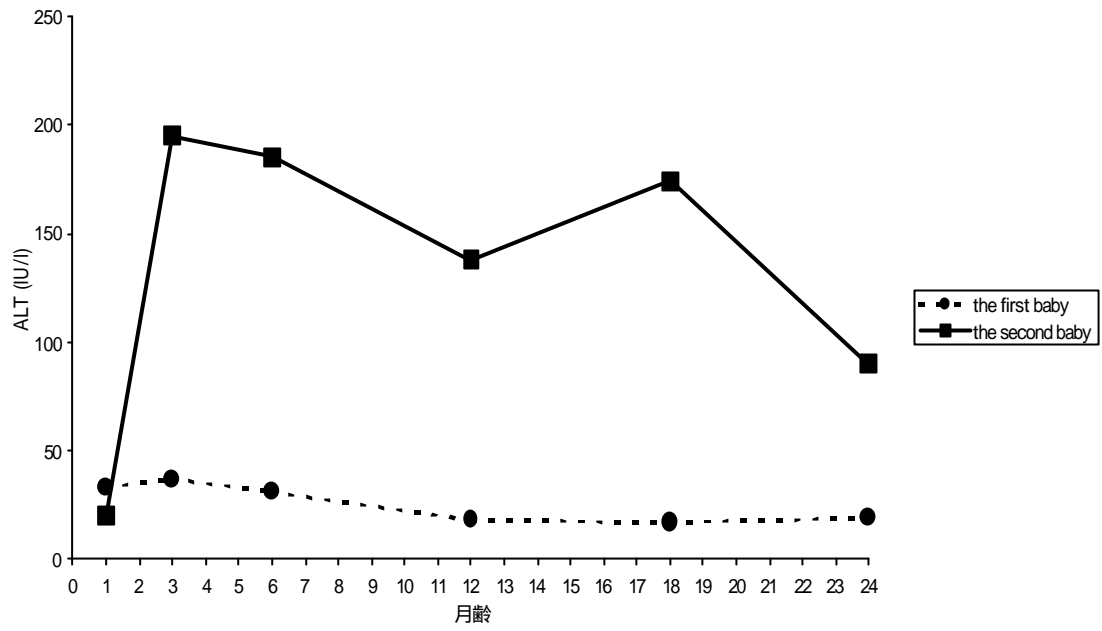


Fig.1

双胎における HCV 抗体の推移

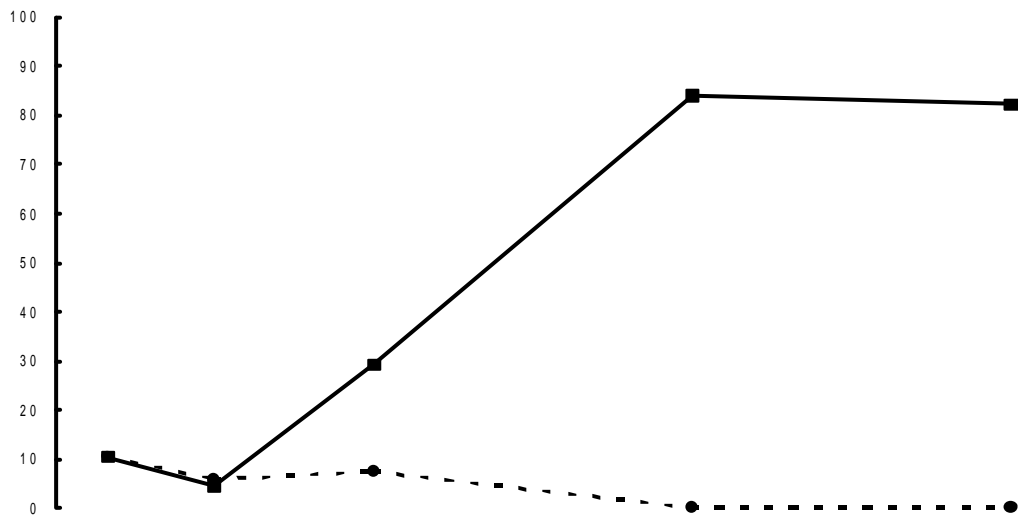


Fig.2

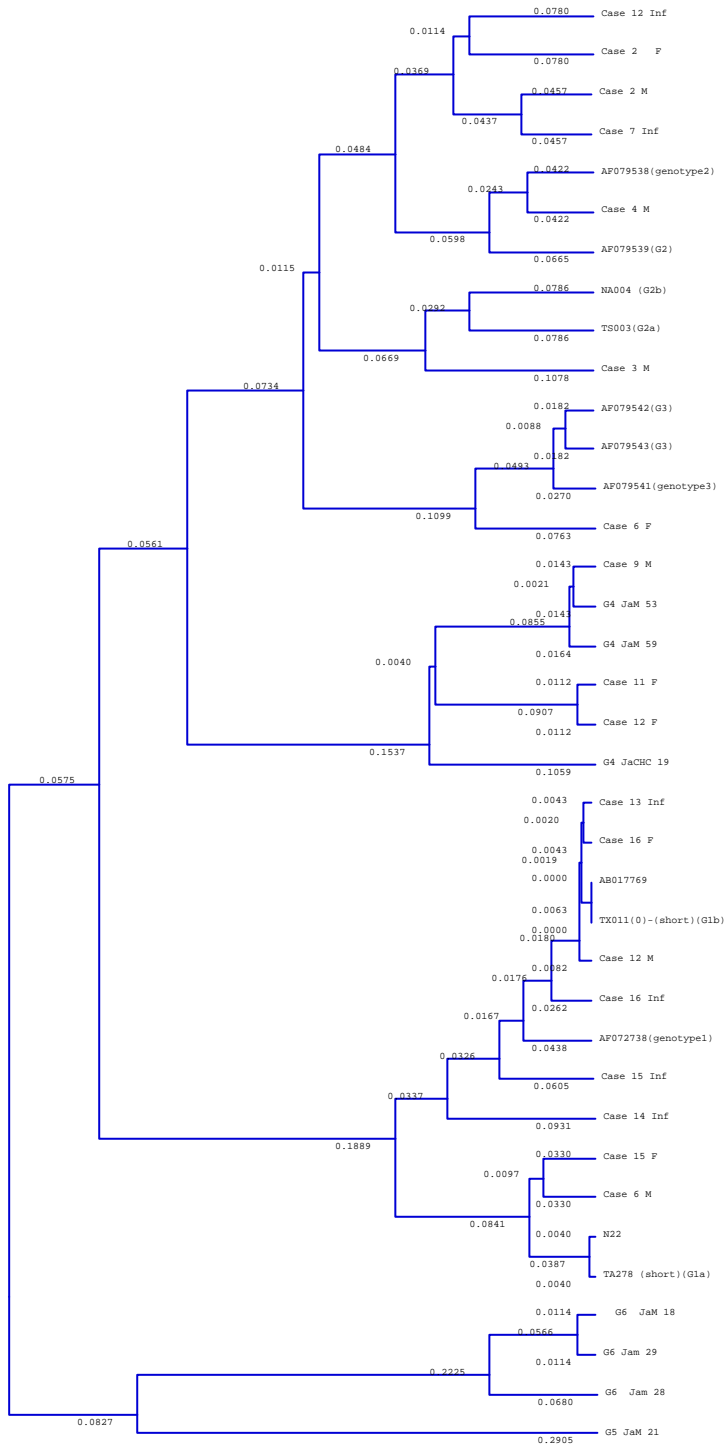


Fig. 3