

平成10年度厚生科学研究費補助金  
(厚生科学特別研究事業) 研究報告書

研究課題名 (課題番号) :

新しいヒト肝炎ウイルス (TTV) の胆汁および便での検出  
意義に関する研究 (H10-特別-020)

研究者 : 浮田雅人 自治医科大学

厚生科学研究費補助金 (厚生科学特別研究事業)  
総括研究報告書

新しいヒト肝炎ウイルス(TTV)の胆汁および便での検出意義に関する研究

主任研究者 浮田雅人 自治医科大学 分子ウイルス学研究所

研究要旨

PCR 法により血中に TTV DNA が検出され、胆汁採取が可能であった 5 例の閉塞性黄疸を伴う患者を対象とした。これら 5 例全例の胆汁中で TTV DNA が陽性で、うち 4 例では胆汁中の方が血清中より TTV DNA の titer は 10 ~ 100 倍高く、残りの 1 例でも胆汁中と血清中の TTV DNA の titer は同程度であった。5 例中 2 例で糞便中からの TTV DNA の検出を試み、1 例で陽性であった。この 1 例について TTV の比重を測定したところ、胆汁中では 1.33-1.35g/cm<sup>3</sup>、糞便中では 1.32-1.35g/cm<sup>3</sup> で、血清のそれと同じであった。

以上のことから、TTV は肝臓から胆汁中に分泌され、感染性を保持したまま、さらに糞便中に排泄されていると考えられる。したがって、TTV は輸血などの血液を介した感染経路だけでなく、経口感染(糞口感染)を起こすことによっても、我々人類に広く感染している可能性がある。

A. 研究目的

新しいヒト肝炎ウイルス TTV の胆汁中および糞便中からの検出を試み、TTV の感染経路として経口感染(糞口感染)がありうるかどうかを明らかにする

B. 研究方法

対象：PCR 法により血中で TTV DNA が検出され、胆汁採取が可能であった、閉塞性黄疸を伴う患者 5 例を対象とした。

TTV DNA の測定：血清、胆汁、糞便それぞれから DNA を抽出し、seminested PCR 法により TTV DNA を測定した。プライマーは 1st PCR に NG059 (sense: 5'-ACA GAC AGA GGA GAA GGC AAC ATG-3') および NG063 (antisense: 5'-CTG GCA TTT TAC CAT TTC CAA AGT T-3')、2nd PCR に NG061 (sense: 5'-GGC AAC ATG YTR TGG ATA GAC TGG-3' [Y=T or C, R=A or G]) および NG063 を使用し

た。それぞれの PCR 産物の長さは、286 塩基長および 271 塩基長(プライマーを含む)であった。

TTV の比重測定：胆汁および糞便上清を塩化セシウム溶液を用いた密度勾配平衡遠心に供し分画した。PCR 法により各分画の TTV DNA を測定して、胆汁および便中の TTV DNA の比重を測定した。

TTV DNA の部分塩基配列：2nd PCR 産物をベクターに連結し、大腸菌を形質転換してクローン化した後に DNA を精製し、蛍光プライマ法により塩基配列を決定した。それぞれのサンプルにつき少なくとも 3 クローンの塩基配列を決定し、そのコンセンサス配列を得た。

C. 研究結果

5 例全例の胆汁で TTV DNA が陽性であった。そのうち 4 例では、胆汁中の方が血清中

より TTV DNA の titer は 10 ～ 100 倍高く、残りの 1 例でも胆汁中と血清中の TTV DNA の titer は同程度であった。5 例中 2 例で糞便からの TTV DNA の検出を試み、1 例で陽性であった。

糞便中の TTV DNA が陽性であった 1 例について TTV の比重を測定したところ、胆汁中では 1.33-1.35g/cm<sup>3</sup>、便中では 1.32-1.35g/cm<sup>3</sup> と同じであった。

TTV DNA の部分塩基配列は、それぞれの症例ごとに、血清、胆汁、糞便で一致していた。また、5 例中 3 例はこれまでに報告されていない新しい TTV 遺伝子型であった。

#### D. 考察

新しい肝炎ウイルス TTV は、エンベロップをもたない一本鎖の環状 DNA ウイルスで、その DNA は血清中だけでなく肝組織および糞便中からも検出されることが報告されている。しかし、例えば動物のパルボウイルスでは腸管上皮でも増殖することが知られており、TTV が肝臓から胆汁中に分泌され、それが糞便中に検出されているかどうか確認する必要があった。本研究で、血清中 TTV DNA が陽性であった閉塞性黄疸患者 5 例全例で、胆汁中の TTV DNA は陽性であり、しかも 4 例ではその titer は血清中よりも胆汁中の方が高いことが示された。DNA titer が最も高かった 1 例では糞便中でも TTV DNA が陽性であった。各症例で、血清、胆汁、糞便中の TTV DNA の部分塩基配列は一致しており、TTV は肝臓から胆汁中に分泌され糞便中に排泄されていることが裏付けられた。

TTV がエンベロップを持たないことから予想されるように、胆汁および糞便中の TTV の比重は血中のそれと同じであった。したがって、TTV は肝臓から胆汁中に分泌され、感染性を保持したまま、さらに糞便中に排泄されていると考えられた。

#### E. 結論

TTV は輸血などの血液を介した感染経路だけでなく、経口感染(糞口感染)を起こすことによっても、我々人類に広く感染している可能性がある。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

Masato Ukita, Hiroaki Okamoto, Naomi Kato, Yuzo Miyakawa, and Makoto Mayumi. Excretion into bile of a novel unenveloped DNA virus (TT virus) associated with acute and chronic non-A to G hepatitis. *The Journal of Infectious Diseases*, 1999 (in press)

##### 2. 学会発表

なし。

#### G. 知的所有権の取得状況

なし。