

200400676A

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

本邦に於ける E 型肝炎の診断・予防・疫学に関する研究

平成 16 年度 総括研究報告書

主任研究者 三代 俊治

平成 17 年 (2005) 4 月

I. 総括研究報告

班長からの報告

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）

平成 16 年度

総括研究報告書

本邦に於ける E 型肝炎の診断・予防・疫学に関する研究

主任研究者 三代 俊治 東芝病院研究部長

研究要旨：三年計画の中間年である平成 16 年度の重点研究課題は、『ヒトに於ける感染の全国集計』と『野生動物に於ける感染の実態調査』にあった。前者については、計 193 例の HEV 感染例を全国から蒐集することを得、その集計の結果、[1-i] 男性に多発する（男女比 4:1）、[1-ii] 中高年層に多発（平均年齢 51 歳）し且つ加齢と肝炎重症度が正相関する、[1-iii] 明白な季節性は無い、[1-iv] 北海道に多発するが全国的に存在する、[1-v] genotype と地域及び重症度が相関する、[1-vi] 推定感染経路は blood-borne 2%、imported 8%、zoonotic 26%、unknown 64% である、等の所見を得た。野生動物については、[2-i] 宮崎、長崎、愛媛、兵庫、和歌山、長野、及び関東（A・B・C 県）の猪から、地域による頻度差こそあれ、HEV RNA と antibodies が検出された。[2-ii] 兵庫と栃木の北海道の鹿からも HEV RNA あるいは antibodies が検出されたが、その頻度は猪のそれより有意に低かった。他に特筆すべき研究成果としては、[3] HEV が我国に土着化したのは 1900 年前後であり、以後は緩徐な拡散を示したが、genotype IV は最近になって拡散速度が増加したと示唆する分子時計法による解析結果、[4-i] 従来の IgM 抗体検出系に較べれば感度及び特異性共に優れた IgA 抗体検出系の開発、[4-ii] HEV-specific T cell の検出系の作製、[5] 献血者に於ける全国規模の感染実態調査の実施、[6] 従来の VLP より大きい実物ウイルス大 VLP 作製の成功、等を挙げることができる。

＜分担研究者（班員）＞ abc 順		武田直和	国立感染症研究所ウイルス第二部室長
今井光信	神奈川県衛生研究所所長	津田新哉	農業技術研究機構中央農業総合研究センター病害防除部ウイルス病害研究室主任研究官
金光公浩	日本赤十字社血液事業部品質管理次長	山口成夫	農業技術研究機構動物衛生研究所感染病研究部部長
前久保博士	手稲溪仁会病院名誉院長	矢野公士	国立病院長崎医療センター臨床研究センター室長
溝上雅史	名古屋市立大学大学院医学研究科・臨床分子情報医学教授		
持田智	埼玉医科大学消化器肝臓内科教授		
岡本宏明	自治医科大学感染免疫学講座ウイルス学部門教授	＜班長研究協力者（班友）＞ abc 順	
		阿部敏紀	一心病院

相川達也	相川内科
新井雅裕	東芝病院
朝比奈靖浩	武蔵野赤十字病院
新敷吉成	富山医科薬科大学
茶山一彰	広島大学
原田英治	国立療養所東京病院
橋本直明	東京逓信病院
堀亜希子	国保中央病院
市田隆文	順天堂大學
石川晶久	日立総合病院
伊藤敬義	昭和大学
垣見和宏	東京大学
狩野吉康	札幌厚生病院
加藤秀章	豊川市民病院
加藤将	北見赤十字病院
北村庸雄	順天堂浦安病院
北嶋直人	市立加西病院
松田裕之	鳥取日赤病院
道堯浩二郎	愛媛大学
宮川浩	帝京大学溝口
宮地克彦	大阪医大
水尾仁志	勤醫協中央病院
西口修平	大阪市大
岡上武	京都府立醫大
岡田克夫	鳥取県立中央病院
齋藤英胤	慶應大學
佐久川廣	琉球大学
柴田実	NTT 東日本関東病院
鈴木一幸	岩手医大
高橋和明	東芝病院
田中純子	広島大学
津田文男	東芝病院
山際訓	新潟大学
山中太郎	板橋中央総合病院
山田剛太郎	川崎医大

A. 研究目的

三年計画中間年度の研究目的として、以下の諸項目を設定した。

1. 我国のヒトに於ける HEV 感染の実態を把握する。
2. 我国の野生動物に於ける HEV 感染の実態を把握する。
3. 日本土着 HEV 株の遺伝的特徴を明らかにし、分子時計法により履歴を探る。
4. HEV 感染診断系の改良乃至新規開発を行う。
5. 輸血を介する HEV 感染のリスク評価を行い適切な対策を立てる。
6. 有効なワクチンを開発する為の基礎研究を行う。

B. 研究方法

上記目的 1 の為には、時間縦断的空間横断的全国集計的疫学手法（班員及び班友からの任意の症例登録と論文等からの症例発掘による）及び定点観測的疫学手法（矢野班員、前久保班員等）を用いた。

目的 2 の為には、ハンター等の協力を得て、猪、鹿、マングース等野生動物から検体を採取し、HEV RNA and/or antibodies の検出を試みた（北嶋班友、岡本班員、山口班員、武田班員、道堯班友、矢野班員、佐久川班友、高橋班友、班長等）。

目的 3 の為には、分子ウイルス学的手法を用いた（岡本班員、溝上班員、高橋班友、班長等）。

目的 4 の為には、IgA class 抗体検出系を試作し市販・未市販各種抗体検出系との比較試験を行った（岡本班員）。また HEV-specific T cell 検出系を ELISPOT を用いて試作した（垣見班友）。

目的 5 の為には、ALT 高値ドナー検体を全国から集め HEV RNA & antibodies を調べた。ALT 正常値ドナーについては北海道に限定して検体を集め、同様の調査を行った（金光班員，今井班員等）。

目的 6 の為には、様々な系を用いてウイルス蛋白発現を試みた（武田班員，津田班員）。

（倫理面への配慮）

行った全ての研究は、検体提供者個人情報の保護を厳守しつつ行われた。今年度の研究に於いてはヒトゲノム・遺伝子解析は行われなかったが、それをを行うに際しては必ず所属機関の遺伝子解析倫理審査委員会の承認を得ること、及び、文部省・厚生労働省・経済産業省の定めた倫理指針告示第 1 号を遵守することを原則とした。

C. 研究結果及び考察

以下、今年度研究の成果を項目毎に略述する。

1. 我国のヒトに於ける HEV 感染の実態

班員及び班友からの症例登録による 149 例、論文や学会発表から拾い上げた 24 例、日赤等から情報提供を受けた 20 例、計 193 例を解析対象とした。診断の内訳は

不顕性感染	n = 41
急性肝炎軽症型	n = 119
急性肝炎重症型	n = 16
劇症肝炎	n = 16

である。

1-i. 性差

男 n = 154、女 n = 39 で、性差が明らかに存在した（男女比 4:1）。この比率はフランスからの報告（Mansuy et al. J Med Virol 2004; 74: 419-24）に於けるそれとほぼ一致

している。

1-ii. 年齢

年齢不詳 2 例を除いて集計すると、最若年は 15 歳、最老年は 83 歳、平均年齢 50.8 歳。30-69 歳の中老年層が n = 152 と全体の 80% を占めた。専ら endemic areas に於ける観察に基づいて本病の好発年齢層は従前 "young adults" とされてきたが、我国に於いてもフランスに於いても好発年齢層は "middle or older adults" である。年齢に於けるこの差異は感染様式の差異を反映していると思われる。

診断別に年齢を集計すると、不顕性感染例に於いては 20-49 歳の年齢層が全体の半数以上（25/40 = 63%）を占め、急性肝炎軽症型では 40-59 歳が、急性肝炎重症型では 40-69 歳が、劇症肝炎では 60-69 歳が、夫々全体の半数以上（64/119 = 54%、12/16 = 75%、9/16 = 56%）を占め、加齢に伴って肝炎重症度が増す傾向を認めた。よって、A 型肝炎でそうであったように、E 型肝炎に於いても罹患年齢と肝炎重症度が正相関するものと考えられる。

1-iii. 季節変動

月毎に症例数を集計すると、最低は 7 月の n = 10、最高は 4 月の n = 31 であり、おしなべて n = 10~20 であったが、4 月の症例数には集団感染例がカウントされているので、感染例数ではなく感染源数に直して集計すると季節変動パターンは消失した。かくて、A 型肝炎に於いて見られる如き明らかな季節性は本病には無いことが示唆された。

1-iv. 地域性

登録された症例の半数近く（n = 87）が北海道からのものであった。しかし、本州からも満遍なく、また四国からも九州からも沖縄

からも、少数ずつとはいえ症例が報告されているので、東高西低という地域性が非常に顕著ではあるものの、本病は全国に遍満している (Emerson et al. N Engl J Med 2004; 351: 2367-8 の言葉を借りて云えば "It's omnipresent!" - ドコニデモ在ル!) ことが強く示唆された。

1-v. Genotype

193 例中 165 例は HEV RNA genotype が判明していた。

Genotype I	n = 6 (4%)
Genotype II	n = 0
Genotype III	n = 95 (58%)
Genotype IV	n = 64 (39%)

そのうち I 型は専ら輸入感染例から検出されたものであり、国内発症例は III 型か IV 型のいずれかであった。

注目されたのは、地域による genotype 分布の明らかな差異である。即ち、津軽海峡以北 (北海道) では IV 型が優位 (III : IV = 27 : 54) であるのに対し、津軽海峡以南の地域では III 型が圧倒的に優位であった (III : IV = 68 : 11)。

Genotype に関する今一つの重要所見は、肝炎重症度との相関である。即ち、IV 型の頻度が

不顕性感染	21% (6/29)
急性肝炎軽症型	38% (40/106)
急性肝炎重症型 + 劇症	76% (19/25)

の如く、重症度が増すに連れて増加していた。

また、急性肝炎軽症型のみ限定して III 型と IV 型を比較した場合にも、前者より後者の方が ALT 値と総ビリルビン値の平均値が高値であり (2013 vs 3104 IU/L, 5.7 vs 8.3 mg/dL)、プロトロンビン時間も延長していた (83.4% vs 77.5%)。

Genotype IV が III に較べて重症度の高い肝炎を惹起するのではないかとの印象を我国の研究者達は夙に抱いて来ていたが、上記の如く、本調査によって相当な数の症例を集計した結果、その印象が間違っただけではなかったことが明らかになった。

1-vi. 感染経路

個々の症例の主治医によって推定もしくは確定された感染経路を、頻度の低い方から順に列挙する。

● Blood-borne : n = 4 (全体の 2.1%)

これは全例が輸血による感染であり、donor 及び recipient 由来の HEV sequences の一致が確認されている故、『直接証拠』が存在する。

● Imported : n = 15 (7.8%)

渡航先は、インド (6 例)、中国 (4 例)、バングラデシュ (2 例)、ネパール (2 例)、タイ (2 例)、パキスタン (1 例)。複数国渡航例が含まれている故、括弧内の数字の総和は 15 を越えている。

● Zoonotic : n = 51 (26.4%)

Food-borne と animal contact の二つのカテゴリーに分けられる。前者は

豚	n = 30 (60%)
猪	n = 13 (26%)
鹿	n = 5 (10%)
動物種不明*	n = 2 (4%)

(*レバ刺、焼肉とのみ記載)

の如く、豚の肉や内臓の摂取が原因であると推定された症例が、猪や鹿のそれを上回っていた。後者 (animal contact) は、ペットの猫から感染したと推定された症例が 1 例、存在するのみであった。

● Unknown : n = 123 (63.7%)

感染経路不明とされた症例が全体の半数を

越えて存在した。しかるに、『原因不明例』の中にも下記の如く、特定の感染経路を示唆する履歴や職歴を有する症例が 29 例存在した。

Food-borne 的：バーベキュー（牛肉）と刺身（魚介類）を摂取；韓国焼肉店に 3 回行った；3-4 カ月前に鹿の刺身、豚のレバーを摂取。

Animal contact 的：豚舎にて豚の運搬に従事；獣医；酪農ヘルパー；酪農養豚業(2 例)；中央競馬会勤務；精肉加工業；養豚舎臨時職員；育牛。

Water-borne 的：地元の湧水を飲水；井戸水を常用。

Nosocomial 的：醫師；臨床検査技師；血液透析(4 例)。

調理行為?：イノシシ肉を頻回調理；寿司職人；ラーメン店店主；板前修業；調理師アルバイト。

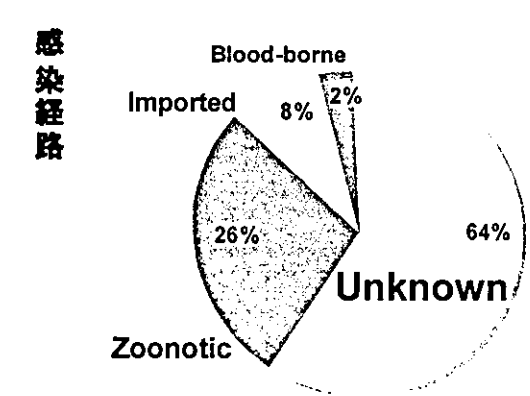
魚介類?：オーストラリアで生カキ摂取；刺身が好き；魚介類の生食が好き；便から横川吸虫；バーベキュー（牛肉）と刺身（魚介類）を食べた。

土から?：造園業(2)；趣味で園芸。

以上は、感染経路を推定あるいは確定するには証拠不十分な『単なるヒント』でしかないが、感染経路不明例が全体の半数を越える現状に鑑みて、今後究明すべき従前未知の感染源・感染経路が何であるかについて重要な示唆を与えていると考える。例えば、岡本職員も指摘している如く（後出当該報告書参照）、A 型肝炎に於けると同様、これまでは等閑視されてきた『二枚貝』が E 型肝炎に於いても感染源になっている可能性は大いにある。

感染症制御の為の最も重要な課題の一つは

感染経路の把握である。次年度以降の本研究班の方向性は感染経路の全解明に向けてのものでなければならないことが、以上の調査により益々明確になった。即ち、下図の "unknown" の部分の面積を可及的減少せしめることが我々の今後の大きな課題の一つである。



2. 野生動物に於ける HEV 感染の実態

詳細は班員及び班友からの報告書に記載されているので、此處では概略のみ述べる。

猪については、関東の 3 つの県（山口班員等）、和歌山県（武田班員等）、兵庫県（北嶋班友等）、愛媛県（道堯班友等）、佐賀／熊本／宮崎／大分／岡山／徳島／富山／長野／神奈川／栃木（岡本班友等）、長崎県（矢野班員等）、及び沖縄県（佐久川班友等）で調査が行われ、関東の 3 県、和歌山県、兵庫県、愛媛県、宮崎県、長野県、長崎県、及び沖縄県に於いて HEV RNA and/or HEV antibodies が検出された。

鹿については、兵庫県（北嶋班友等）と栃木県／北海道（岡本班員等）で猪と比較する形で調査が行われ、猪に於けるよりは低い頻度ながらも HEV RNA or HEV antibodies が検出された。兵庫県での調査によれば、鹿と猪が共に棲息する森の中で、鹿が猪から

HEV に感染したことを示唆するデータも得られている。

沖縄県ではマングースからも HEV RNA が検出された（佐久川班友）。

かくて、我国に於ける HEV の animal reservoirs としては、既に昨年度の本研究で発表した豚を筆頭として、猪、鹿がこれに続くものであることが明らかとなり、その他にもマングースや鼠などの齧歯類も考慮せねばならぬことが明らかになった。ヒトに於いても動物に於いても HEV は "omnipresent!" である。

3. 日本土着 HEV の履歴

詳細は溝上班員による分子時計法を用いた解析結果の報告に譲るが、それによれば、genotype III も IV も 1900 年前後（日本が開国し、海外からの文物の流入が盛んとなり、海外出兵もし、肉食分化も定着しかけた頃）に日本に土着化し、以後は細々と生き延びて来たが、IV 型は最近になって拡散速度を増加させたことが示唆された。即ち本病の国内感染は既に 100 年も前から存在していたのである。最近の IV 型のスプレッド（特に北海道に於ける）が如何なる要因により起こったのかを解明すれば、予防に繋がる。

4. 感染診断系の改良乃至新規開発

詳細は岡本班員からの研究報告に譲るが、従来の IgM 抗体検出系に比して感度は同等かそれ以上で、特異性は遥かに優る IgA 抗体検出系が開発された。また、垣見班友によって、T-cell を用いた感染診断系も開発された（後述報告書参照）。

後述するウイルス実物大 VLP の発現成功によって抗体診断系が更に改良される可能性

も出て来た（武田班員報告書参照）。

5. 献血者調査

全国規模での献血者調査が初めて施行された。抗体陽性率でみると北海道以外にも高陽性率地域が存在したが、HEV RNA の陽性率で見れば、矢張り北海道が他地域より 2 倍以上高く、これまでの臨床的観察を裏付けた（詳細は今井班員と金光班員の報告書参照）。即ち、北海道は日本国内の "HEV-endemic area" と見做すことが出来る故、もし blood screening を施行するとすればそれをば北海道で行うのが最も効果的であると云える（よって、北海道限定で、試行的ドナースクリーニングが開始された）。

6. ワクチン開発

ワクチン用の抗原を新規開発乃至改良する努力が続行された。特筆すべきは、武田班員等によるウイルス実物大 VLP の発現成功である（該当報告書参照）。

7. その他

日本各地で採取されたウイルス株の塩基配列解析により、従来は『地域限定的なストレイン』の存在が注目されていたが、本年度の研究によって『広域分布ストレイン』の存在が明らかとなり、広域化のメカニズムを解明する必要性が新たに生じた。

また、感染例数が近年増加しているか否かの問題については、矢野班員等が定点観測により『否』のデータを出した（該当報告書参照）が、その調査には北海道及び岩手県という endemic sentinels が不足している故、本邦全体のトレンドを反映しているとは結論できない。寧ろ、前述した溝上班員等の分子

時計解析結果に基づいて、III型感染は stable、IV型感染は近年増加、と考えるのが妥当と思われる。

D. 結論

本年度研究の主な結論を箇条書きする。

- 北海道で多発するが、南は沖縄まで、全国で発生している
- 中高年男性が罹患しやすい。
- 重症化因子は、高齢と genotype IV である。
- Genotype III も IV も 1900 年頃に土着化した。
- Genotype IV は最近の北海道で拡散速度を増加させている。
- 感染経路は、不明>ズーノシス>輸入>輸血の順。
- 保因動物は、豚>猪>鹿>の順。特に豚と猪は全国的。
- 診断系は改良されつつある。
- 地域限定株の他に、広域分布株も在る。

よって、次年度以降の研究課題としては、感染経路及び拡散機序の更なる解明が最も急務である。

E. 健康危険情報

平成 16 年 10 月 20 日付で健康危険情報通報を厚生労働省健康危機管理調整官宛てに提出した。報告内容は以下の如し（再掲にあたり一部伏字を使用）。

(1) 健康危険情報

以下に報告する一連の出来事には二つの健康危険要素が含まれている。第一の要素は『肉食によるウイルス感染』、第二の要素は『輸血によるウイルス感

染』である。この二つの独立した要素が三人の人物を結ぶ一本の線の上で連鎖した。

2004.10.14 北海道〇〇市の〇〇病院で E 型劇症肝炎により死亡した男性患者（69 歳、以下「subject A」）は、発病の約一カ月前（2004.08.14）、〇〇市内の焼肉屋に於いて家族と共に牛肉、豚肉、鶏肉、ホルモン、豚レバーを食べていた。

その會食に参加した家族の一人、subject A の次男（39 歳、以下「subject B」）は、2004.09.20 に献血を行った際に ALT = 236 U/L であり、従って彼の血液は輸血には使用されなかったが、當時たまたま日赤が本研究班活動の一環として行っていた『ALT 高値検体に於ける HEV RNA 陽性頻度の研究』の対象に供され、その結果 HEV RNA 陽性であることが判明した。これにより日赤は、subject B の献血歴を調べ、2004.09.06 に前回献血が為されていたことを知り、保管検体を調べたところ HEV RNA 陽性であった。その献血血液は ALT 値正常（27 U/L）であり且つ他のスクリーニング項目にも異常が認められなかった故、合格品として出荷された。

2004.09.09、subject B 由来の HEV RNA 陽性血小板製剤が、〇〇醫大〇〇科に〇〇病治療目的で入院していた男性患者（64 歳、以下「subject C」）に輸血された。Subject C は現在（2004.10.19）に至るも肝炎を發症するには至っていないが、輸血後の血液を調べたところ HEV RNA は陽性であ

り、且つその塩基配列は subject B のそれと一致した。

(2) 情報源

(通報者の耳に入った順に記す)

厚生労働省医薬食品局血液対策課〇〇氏からの電話による報告。

日赤血液事業部金光公浩氏（本研究班班員）との電話による事実確認。

日赤北海道血液センター加藤俊明氏及び松林圭二氏（本研究班班員研究協力者）との電話及び文書（e-mail）による情報交換。

〇〇醫大〇〇科〇〇醫師（subject C の主治醫）との電話による對話。

札幌手稲溪仁會病院消化器病センター姜貞憲醫師（本研究班班員研究協力者）との電話及び文書（e-mail）による情報交換。

〇〇病院〇〇醫師（subject A の主治醫）からの電話及び文書（e-mail）による報告。

(3) その他

< 考案 > Subjects A と B が 2004.08.14 の〇〇市内某焼肉屋での會食時に HEV に感染したとする直接証拠は未だ得られていないが、其の前および其の後の兩名の間には接点がなかった（A は〇〇、B は〇〇に在住）し、程度の差こそあれ兩名はほぼ同時に肝炎を發症しているし、潜伏期間的にも矛盾がないので、兩名が 2004.08.14 の會食時に同一感染源から感染した可能性は極めて高いと考える。Subject A 由来血清検体中の HEV RNA titer が低いので sequencing は至難の業であるが、もしゲノム塩基配列が兩者間で一

致するなら zoonotic food-borne HEV transmission がほぼ確定する。〇〇市に於ける E 型肝炎例には豚レバー摂食歴を有する者が多いとする既報（Yazaki Y, Mizuo H, Takahashi M, Nishizawa T, Sasaki N, Gotanda Y, Okamoto H. Sporadic acute or fulminant hepatitis E in Hokkaido, Japan, may be food-borne, as suggested by the presence of hepatitis E virus in pig liver as food. J Gen Virol 2003; 84: 2351-7）もこの可能性を支持している。

市井の一食堂に於ける肉食（含内臓）が HEV 感染を媒介したとすれば、一般の『食中毒事例』に準じた対策を講ずるべきである。即ち、他に感染者が発生していないかどうかの調査、感染者が出た食堂の立ち入り調査、食材の仕入れルートの逆行性追跡、食堂職員のウイルス検査等が為されるべきである。また、動物の内臓肉を食べさせる食堂は我國のあちこちに存在するが、もし〇〇市に於いて他地域に較べ有意に高率に『内臓肉摂取後 E 型肝炎』が発生しているのであれば、その差が奈辺に由来するのか早急に究明する必要がある。

一方、輸血による HEV 感染については、本事例の場合、偶然ではあったが日赤の努力によって、レシピエントが肝炎を發症する充分前に感染を確認することが出来た。これにより、レシピエントの蒙る健康被害を最小限に食い止めるチャンスが生まれた（インターフェロンの早期投与など）。本事例に於けるレシピエントは高齢である故、

劇症化の可能性を充分に見据えつつ、それをば断固回避すべく、適切な治療方針を立てて行かねばならない。

この健康危険情報は、厚生労働省を經由して北海道庁に伝達され、道庁は関係機関に命じて調査を行い、その結果は平成 17 年 1 月 21 日付の『E 型肝炎患者発生に伴う調査について』と題する網走保健福祉事務所北見地域保健部（北海道北見保健所）発の文書で公表された。その概要は「当該飲食店には、當日（8 月 14 日）提供していた食肉の残品が無く検査ができなかったこと、患者及び感染者全員が共通して食べた食品はないこと、E 型肝炎の潜伏期間（平均 6 週間）や抗体の持続期間が長いことなどから、当該飲食店以外での感染も否定できないため、感染源及び感染経路の特定にはいたらなかった」というものであった。また同調査では、「E 型肝炎感染の可能性が指摘されている豚レバーについて、卸業者から 30 検体収去し、HEV 遺伝子の検査を行ったが全て陰性であった」とされている。而るに、同調査が行った患者及び患者家族の HEV RNA 検査結果によれば、他の研究機関による検査結果が陽性であった検体の一つが陰性とされており、同調査で用いられた HEV RNA 検出の方法の妥当性に疑問が残る。斯様な感染事例が何處かで再び起こるかもしれないことを考えれば、それを未然に予防する為にも、この際、徹底的に調査すべきであったと悔やまれる。

F. 研究発表

1. 論文発表

原著

[1] Takahashi K, Kitajima N, Abe N, Mishiro S. Complete or near-complete

nucleotide sequences of hepatitis E virus genome recovered from a wild boar, a deer, and four patients who ate the deer. *Virology* 2004; 330: 501-5.

- [2] Takahashi K, Toyota J, Karino Y, Kang JH, Maekubo H, Abe N, Mishiro S. Estimation of the mutation rate of hepatitis E virus based on a set of closely related 7.5-year-apart isolates from Sapporo, Japan. *Hepatol Res* 2004; 29: 212-215.
- [3] Matsubayashi K, Nagaoka Y, Sakata H, Sato S, Fukai K, Kato T, Takahashi K, Mishiro S, Imai M, Takeda N, Ikeda H. Transfusion-transmitted hepatitis E caused by apparently indigenous hepatitis E virus strain in Hokkaido, Japan. *Transfusion* 2004; 44: 934-40.
- [4] Tei S, Kitajima N, Ohara S, Inoue Y, Miki M, Yamatani T, Yamabe H, Mishiro S, Kinoshita Y. Consumption of uncooked deer meat as a risk factor for hepatitis E virus infection: an age- and sex-matched case-control study. *J Med Virol* 2004; 74: 67-70.
- [5] Surya IGP, Kornia K, Suwardewa TGA, Mulyanto, Tsuda F, Mishiro S. Serological markers of hepatitis B, C, and E viruses and human immunodeficiency virus type-1 infections in pregnant women in Bali, Indonesia. *J Med Virol* 2005; 75: 499-503.
- [6] 北嶋直人, 高橋和明, 安倍夏生, 三代俊治. 本邦に棲息する野生猪の HEV 感染に関する実態予備調査. *肝臓* 2004; 45: 557.
- [7] 加藤将, 種市幸二, 松林圭二. 焼肉店での会食後に発生した E 型肝炎ウイルス集団感染: うち 1 例は劇症肝炎で死亡. *肝臓* 2004; 45: 688.
- [8] 新井雅裕, 橋本直明, 宮川浩, 阿部敏紀, 山中太郎, 柴田実, 安倍夏生, 高橋和明, 三代俊治. 京浜地区 E 型肝炎国内感染例 10 例の疫学的特徴と HEV 分離株塩基配列. *肝臓* 2005 in press.

総説・解説・啓蒙書等

- [9] Mishiro S. Hepatitis E virus infection in Japan. *In International Kilmer Conference Proceedings (vol. VIII)*. Polyscience, Canada 2004 pp241-6.
- [10] 三代俊治. E 型肝炎ウイルスに関する最近の話題: 我国に於いて近頃目覚ましき動物から人への感染. *ウイルス* 2004; 54: 243-8.
- [11] 三代俊治. E 型肝炎研究これからの課題. *肝臓* 2004; 45: 177-85.
- [12] 三代俊治. 本邦における E 型肝炎. 治療

- 学 2004; 38: 964-7.
- [13] 三代俊治. E 型肝炎ウイルス. *In* Annual Review 消化器, 中外医学社 2004 pp31-5.
- [14] 三代俊治. E 型肝炎ウイルス. 内科 2004; 93: 295.
- [15] 三代俊治. 四類感染症: E 型肝炎. 日本医師会雑誌 2004; 132(suppl): 102-3.
- [16] 三代俊治. E 型肝炎. 日本食品微生物学会雑誌 2004; 21: 94-8.
- [17] 三代俊治. HEV 遺伝子の構造と機能. 日本臨牀 2004; 62(suppl): 504-13.
- [18] 三代俊治. HEV 遺伝子の変異と多様性. 日本臨牀 2004; 62(suppl): 514-9.
- [19] 三代俊治. E 型肝炎の疫学. 日本臨牀 2004; 62(suppl): 520-3.
- [20] 三代俊治. 動物からヒトへの感染症の現況と対策: E 型肝炎ウイルス. 臨牀と研究 2004; 81: 1595-9.
- [21] 三代俊治. E 型肝炎ウイルス感染 - it's omnipresent!. *Hepatoday* 2005 No.8 6-7.
- [22] 大西幸代, 姜貞憲, 前久保博士, 高橋和明, 三代俊治. 日本土着型 HEV による札幌地域 E 型肝炎の臨牀像. 日本臨牀 2004; 62(suppl): 532-5.
2. 学会発表
- Mishiro S. Emerging, zoonotic, food-borne hepatitis E virus infection in Japan. The 26th US-Japan Cooperative Medical Science Program Hepatitis Panel Joint Meeting (国立京都国際会館, 京都) 8 December, 2004.
- 三代俊治. ウイルス性食中毒と E 型肝炎食中毒の予防. 第 31 回日本防菌防黴学会年次大会パネルディスカッション (きゅりあん, 東京) 27 May, 2004.
- 姜貞憲, 三井慎也, 西森博幸, 辻邦彦, 宮本憲幸, 桜井康雄, 真口宏介, 吉田純一, 前久保博士, 大西幸代, 荒川智宏, 狩野吉康, 豊田成司, 高橋和明, 三代俊治. E 型急性肝炎重症化に寄与する因子の検討. 第 40 回日本肝臓学会総会 (シェラトン・グランデ・トーキョーベイ, 千葉) 3-4 June, 2004.
- 荒川智宏, 狩野吉康, 桑田靖昭, 仲地耕平, 赤池淳, 山崎克, 佐藤隆啓, 大村卓味, 豊田成司, 姜貞憲, 大西幸代, 三代俊治. 急性腎不全を合併した E 型急性肝炎の一例. 第 40 回日本肝臓学会総会 (シェラトン・グランデ・トーキョーベイ, 千葉) 3-4 June, 2004.
- 三代俊治. E 型肝炎ウイルス. 日本輸血学会総会 (札幌コンベンションセンター, 北海道) 23 June, 2004.
- 三代俊治. E 型肝炎. 血液事業学会 (横浜ロイヤルパーク, 神奈川) 15 September, 2004.
- 松田裕之, 岡田克夫, 三代俊治. イノシシの肝の生食により感染し発症したと考えられる重症 E 型肝炎の 2 例. 第 8 回日本肝臓学会大会 (福岡国際会議場) 21-22 October, 2004.
- 姜貞憲, 大西幸代, 西森博幸, 宮本憲幸, 桜井康雄, 辻邦彦, 真口宏介, 吉田純一, 松嶋喬, 前久保博士, 荒川智宏, 狩野吉康, 豊田成司, 高橋和明, 三代俊治. 札幌における E 型急性肝炎の臨床像. 第 8 回日本肝臓学会大会 (福岡国際会議場) 21-22 October, 2004.
- 田中靖人, 高橋和明, 溝上雅史. E 型肝炎ウイルスの進化速度と本邦における拡散時期の推定. 第 8 回日本肝臓学会大会 (福岡国際会議場) 21-22 October, 2004.
- G. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得: なし.
 2. 実用新案登録: なし.
 3. その他: なし.

班長研究協力者（班友）からの報告書

E 型肝炎における Zoonosis の関与

班友 北嶋直人 市立加西病院

研究要旨：昨年度我々は鹿の生肉摂取により発生したと考えられる E 型急性肝炎集団発生例を経験し、HEV 感染における zoonotic transmission を直接証明した。今年度は地域住民を対象として、鹿の生肉摂取が HEV 感染にどの程度関与しているかを検討した。鹿肉摂取群では 45 例中 8 例 (17.7%) が HEV-IgG 抗体陽性であり、非摂取群 45 例中 1 例 (2.2%) に比べ有意に抗体陽性率が高かった。また、野生の鹿及び猪を捕獲してその肝臓と血液をサンプリングし、HEV-IgG 抗体と HEV RNA を測定した。鹿は 100 頭中 1 頭でのみ肝臓から HEV RNA を検出しただけであったが、猪は 116 頭のうち 31 頭 (26.7%) に HEV-IgG 抗体陽性を認め、そのうち 8 頭は血液から HEV RNA を検出した。さらに、E 型肝炎集団感染の原因となった鹿が捕獲された地域では猪の 56 頭中 25 頭 (44.6%) が HEV-IgG 抗体陽性であり、他の地域での 60 頭中 6 頭 (10.0%) と比べて有意に抗体陽性率が高かった。HEV RNA が陽性であった 8 頭のうち 6 頭の猪は上記の鹿と同じ山林で捕獲されており、そのうちの 3 頭の猪から得られた HEV の塩基配列は同一であり、上記の鹿肉および 4 人の患者血清から得られたものともほぼ 100%一致していた。以上の結果、今回対象とした地域では E 型肝炎の感染において鹿の生肉摂取が主要な役割を果たしていること、猪が HEV の reservoir であり感染源になり得ることが判明した。

＜共同研究者＞

丁 秀鎮 市立加西病院
高橋和明 東芝病院研究部
三代俊治 東芝病院研究部

A. 研究目的

＜研究-1＞

本邦の E 型肝炎ウイルス (HEV) 感染においては、その感染連鎖の中に動物が関与していること (zoonosis) の重要性が指摘されている。豚や猪の生肉・肝臓を食べて E 型肝炎を発症した事例がいくつもの施設から報告され、感染ルートを解明することが急務となっている。昨年度我々は、鹿の生肉摂取による E 型肝炎の集団発生を報告し zoonosis の

関与を直接証明した。同地域で、鹿の生肉摂取が HEV 感染において主要な役割を果たしているかどうかを検討した。

＜研究-2＞

鹿及び猪の生息数が最近急速に増加して農林業被害が問題となっている。それらが HEV の reservoir であるとするれば重要な感染源になり得ることが危惧されるため、同地域に棲息する鹿および猪における HEV 感染状況調査を実施した。

B. 研究方法

＜研究-1＞

加西市の地域住民のうち、年齢・性別を一致させた鹿肉摂取群 (鹿の生肉を食べたこと

のある人) 45 人と非摂取群 (一度も食べたことのない人) 45 人を対象として、海外渡航歴、輸血歴、肝炎様症状の既往の有無を確認の上で採血し、血清 HEV-IgG 抗体 (ELISA kit) 及び血清 HAV-IgG 抗体 (EIA kit) を測定した。

<研究-2>

同地域の猟友会の協力を得て、2003 年 12 月末から 2005 年 1 月中旬までの期間に兵庫県中部を中心として野生の鹿及び猪を捕獲して肝臓と血液をサンプリングした。東芝病院研究部で血清 HEV-IgG 抗体を測定し、HEV RNA の検出を試みた。また、検出された HEV RNA の塩基配列を決定し既知のものと比較した。

C. 研究結果

<研究-1>

血清 HEV-IgG 抗体は鹿肉摂取群 45 例中 8 例 (17.7%) で陽性であり、非摂取群での 45 例中 1 例 (2.2%) に比べ有意に抗体陽性率が高かった。両群で平均年齢、男女比、海外渡航歴、輸血歴および HAV-IgG 抗体陽性率に差を認めなかった。血清 HEV-IgG 抗体陽性と HAV-IgG 抗体陽性に関連はなく、鹿の生肉摂取のみが HEV-IgG 抗体陽性に関与していた。HEV-IgG 抗体陽性者 9 名のうち肝炎様症状が過去にあった者は、黄疸歴のある 1 名のみであった。

<研究-2>

鹿は 100 頭中 1 頭のみで肝臓から HEV RNA を検出した (血液中は陰性)。一方、猪は 116 頭のうち 31 頭 (26.7%) が HEV-IgG 抗体陽性であり、そのうち 8 頭は血液から HEV RNA を検出した。地域別に HEV-IgG 抗体陽性率を比較してみると、E 型肝炎集団

感染の原因となった鹿が捕獲された地域では猪の 56 頭中 25 頭 (44.6%) が陽性であり、他の地域での 60 頭中 6 頭 (10.0%) と比べて有意に抗体陽性率が高かった。

さらに、HEV RNA が陽性であった 8 頭のうち 6 頭の猪は上記の鹿と同じ山林で捕獲されており、そのうちの 3 頭の猪から得られた HEV の塩基配列を解析してみると互いに 100%一致していた。また、そのうちの一つの全塩基配列を決定したところ、上記の鹿肉および 4 人の患者血清から得られたものともほぼ 100%一致していた。

D. 考察

昨年度経験した E 型肝炎集団発生例において、鹿の生肉摂取が HEV 感染の原因であることを直接証明することができたが、鹿の生肉摂取がどの程度 HEV 感染に関与しているのかは不明であった。今回の研究により、少なくとも今回対象とした地域では鹿の生肉摂取が E 型肝炎の感染において主要な役割を果たしていることが判明した。HEV 抗体陽性と HAV 抗体陽性の間に関連がなかったことより、同じ経口感染する肝炎ウイルスでありながら A 型肝炎とは感染経路が異なることが推測された。また、抗体陽性者のほとんどに肝炎様症状の既往を見出せなかったことより、多くは不顕性感染の形で HEV 感染が拡がっている可能性が示唆された。

鹿の生肉摂取が E 型肝炎の感染源であることが新聞で報道され、その結果として鹿肉を食べることが控えられたことは公衆衛生上好ましいことであったが、一方で鹿を捕獲するのを避ける風潮が強まり、農林業被害を防ぐための有害鳥獣駆除対策の点からは問題となった。そこで、兵庫県の農林水産部森林動物

共生室および猟友会と協同で鹿におけるHEV感染状況を調査してみると、我々の予想に反し鹿には稀にしか感染していないことが判明した。この地域では鹿肉を生で食べる習慣が広く拡がっており、多くの住民が頻回に食する機会を有していたために感染機会が増えたものとする。

一方、鳥取県と長崎県において猪からのHEV感染が相次いで報告されたため、猪におけるHEV感染状況も併せて調査してみるとHEV抗体保有率は26.7%と極めて高く、HEV感染の観点からは鹿よりも猪の方が危険であることが判明した。E型肝炎集団感染の原因となった鹿が捕獲された地域では他の地域に比べて猪のHEV抗体保有率が傑出して高いこと、上記の鹿と同じ山林で捕獲された3頭の猪から得られたHEVの塩基配列が同一であったことは、この地域に棲息する野生猪集団においてはHEV感染がendemicであることを強く示唆している。さらに、猪から得られたHEVの全塩基配列が同じ山林で捕獲された鹿および4人の患者血清から得られたものとほぼ100%一致していたことは、HEVが猪・鹿・人間と種を越えて感染している強力な証拠となっている。

猪にHEVを流行させた感染源は何なのかが、今後の解明すべき重要な疑問点である。今後の検体集積、更なる遺伝子解析、疫学的な調査などによって明らかにしていく予定である。

E. 結論

今回対象とした地域では、HEV感染において鹿の生肉摂取が主要な役割を果たしていることが判明した。また、猪がHEVの

reservoirであり感染源になり得ることが推測された。

F. 研究発表

1. 論文発表

[1] Tei S, Kitajima N, Ohara S, Inoue Y, Miki M, Yamatani T, Yamabe H, Mishiro S, Kinoshita Y. Consumption of uncooked deer meat as a risk factor for hepatitis E virus infection: an age- and sex-matched case-control study. *Journal of Medical Virology* 2004; 74: 67-70.

[2] Takahashi K, Kitajima N, Abe Natsumi, Mishiro S. Complete or near-complete nucleotide sequences of hepatitis E virus genome recovered from a wild boar, a deer, and four patients who ate the deer. *Virology* 2004; 330:501-505.

[3] 北嶋直人, 高橋和明, 安倍夏生, 三代俊治. 本邦に棲息する野生猪のHEV感染に関する実態予備調査. *肝臓*; 45: 557-557.

2. 学会発表

[1] 北嶋直人, 丁秀鎮, 木下芳一. E型急性肝炎におけるzoonosisの関与. 第90回日本消化器病学会総会. 仙台, Apr 21-23, 2004.

[2] Kitajima N, Tei S, Ohara S, Inoue Y, Miki M, Yamatani T, Kinoshita Y, Takahashi K, Mishiro S. Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings. *DDW 2004*. New Orleans, May 15-20, 2004.

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得：なし。
2. 実用新案登録：なし。
3. その他：なし。

愛媛県におけるイノシシの感染状況に関する実態調査

班友 道堯浩二郎 愛媛大学光学医療診療部

研究要旨：イノシシにおける E 型肝炎ウイルス(HEV)の感染状況を明らかにする目的で、愛媛県の野生イノシシと飼育イノシシを対象に、HEV 抗体と HEV-RNA を検討した。HEV 抗体は野生イノシシ 269 頭中 50 頭(18.6%)、飼育イノシシでは 14 頭中 10 頭(71.4%)に陽性であった。HEV-RNA は野生イノシシ 8 頭に検出され、ゲノタイプはすべて III 型であった。以上より、愛媛県の野生イノシシの約 2 割が HEV の感染を受けており、HEV-RNA 陽性のイノシシも存在することから、HEV の感染源としてのイノシシの重要性が確認された。

<共同研究者>

堀池典生 愛媛大学第3内科
 恩地森一 愛媛大学第3内科
 高橋和明 東芝病院研究部
 三代俊治 東芝病院研究部

A. 研究目的

野生イノシシ肉の生食により E 型急性肝炎を発症した例の報告が増加してきているが、日本の野生イノシシにおける E 型肝炎ウイルス(HEV)の感染状況に関しては不明な点が多い。本研究は、愛媛県のイノシシにおける HEV の感染状況を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

2001 年から 2003 年に愛媛県で捕獲された野生イノシシ 260 頭と飼育イノシシ 14 頭を対象とした。血清中の IgG クラス HEV 抗体、と HEV-RNA を測定した。HEV-RNA 陽性検体についてはゲノタイプと HEV 塩基配列を検討した。

C. 研究結果

野生イノシシ 269 頭中、HEV 抗体は 50

頭(18.6%)に陽性であった。陽性率に性差はなかった。年齢別の HEV 抗体陽性率を調べると、1 歳未満では 36 頭中 2 頭(5.6%)であったのに対し、1—2 歳では 44 頭中 14 頭(31.8%)、2—3 歳では 89 頭中 21 頭(23.6%)、3 歳以上では 27 頭中 5 頭(18.5%)であった。捕獲された地区別、年度別に陽性率を調べると、2001 年、2002 年、2003 年の順に、県東部で捕獲されたイノシシでは、それぞれ 35 頭中 1 頭(3.0%)、13 頭中 1 頭(7.7%)、21 頭中 4 頭(19.0%)、県中部ではそれぞれ 22 頭中 8 頭(36.2%)、55 頭中 7 頭(12.7%)、37 頭中 19 頭(51.4%)、県西南部ではそれぞれ 30 頭中 5 頭(16.7%)、27 頭中 1 頭(3.7%)、3 頭中 0 頭(0%)であった。

一方、飼育イノシシでは、14 頭中 10 頭が陽性であり、野生イノシシより陽性率は有意に高かった($p < 0.0001$)。

HEV-RNA は野生イノシシの 8 頭に検出された(注：血清が非働化されていた為、検出率は過小評価されていると考えられる)。ゲノタイプはいずれも III 型であった。3 頭で塩基配列の検討が可能であった。3 頭からの HEV 配列の塩基同一性は、98.4%~100%であった。

D. 考察

野生イノシシの 18.6%は HEV 抗体が陽性で、HEV 抗体陽性イノシシは県下のいずれの地域にもみられたことから、全県下に HEV が拡散していることが示された。年齢別 HEV 抗体陽性率は 1 歳未満より 1 歳以上で高い傾向であったが、過去に報告されている飼育ブタにおける成績ほど年齢による差が著明ではなく、野生イノシシでは感染の機会が限られている可能性が示唆された。また飼育イノシシでは明らかに野生イノシシより HEV 抗体陽性率が高く、飼育された環境ではイノシシにおいても HEV に感染しやすいことが推察された。

HEV-RNA 陽性イノシシがみられたことから、イノシシ肉や内臓の生食は、感染の危険性が高いことが確認された。また、ゲノタイプの検討では全頭 III 型であり、愛媛県ではゲノタイプ III が主たる遺伝子型であることが判明した。

E. 結論

愛媛県の野生イノシシの 18.6%は HEV 抗体が陽性であり、また HEV-RNA 陽性イノシシもみられた。HEV 抗体陽性イノシシは県下全域にみられた。以上より、野生イノシシは日本における HEV の主要な reservoir の一つであることが確認された。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし。
2. 学会発表
なし。

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得：なし。
2. 実用新案登録：なし。
3. その他：なし。

沖縄県内で発症した E 型肝炎の 2 例と動物由来の HEV 株

班友 佐久川廣 琉球大学輸血部

研究要旨：沖縄県でも、ヒトにおける HEV ドメスティック感染が確認された。また、イノシシやマンブスからも HEV が検出され、野生動物にも HEV が蔓延していることが明らかになった。

<共同研究者>

仲村正治 沖縄県衛生環境研究所

三代俊治 東芝病院研究部

A. はじめに

近年、E型肝炎の国内感染症例が増加している。沖縄県は日本列島の南西に位置し、その食文化は、日本本土とは若干異なる。例えば、豚肉を使った料理が多く、その消費量も多い。また、ヤギを食べる機会が多く、その生肉を好む人も多い。E型肝炎ウイルス(HEV)は豚や野生動物に感染していると報告されており、これらの動物の生や半生の肉の摂食による感染が多数報告されているが、沖縄県からの報告はこれまでになかった。今回、我々は、E型急性肝炎の2例と沖縄県内で捕れた動物からHEVを検出し、その塩基配列を決定したので、人由来のHEV株と比較して報告する。

B. ヒト E 型急性肝炎症例

症例1は71歳の男性で、沖縄県宮古島生まれで、宮古島在住。これまでに海外渡航歴はない。2002年9月1日に倦怠感、食欲不振出現、さらに黄疸も加わったため、病院受診。急性肝炎の診断で入院となった。入院時の検査成績はALT 1391 IU/L、総ビリルビン 9.2 mg/dl、プロトロンビン活性 76%であったが、その後、順調に軽快し、約3週間で退院

した。原因不明であったため、入院中の保存血清を調べたところ、IgG-HEV抗体、IgM-HEV抗体およびHEV-RNAが陽性であった。

症例2は63歳男性で、沖縄県の伊江島(沖縄本島北部の本部町に近接した離島)在住で、最近3年間は海外渡航なし。2004年5月15日倦怠感、食欲不振あり、近医を受診し、黄疸を指摘され、琉球大学附属病院に紹介入院。入院時の検査成績はALT 7145 IU/L、総ビリルビン 5.0 mg/dl、プロトロンビン活性 46%であったが、その後は症例1と同様順調に軽快し、約1ヶ月で退院した。IgG-HEV抗体、IgM-HEV抗体およびHEV-RNAが陽性であったことより、E型急性肝炎と診断した。

症例1と2の感染経路について検討した。症例1は発症前の生の魚介類の摂食はなく、豚レバーを時々(疲れた時)吸物にして食べる習慣があり、入院前のいつ頃が最後に豚レバーを摂食したか正確に記憶していないが、豚レバーが感染源と思われた。症例2は、豚肉の摂食について明らかな記憶がなく、焼肉を食べたかもしれないという非常にあいまいなものであった。症例1、2ともにイノシシの摂食はなく、また、ヤギの肉やさしみの摂食もなかった。

C. 2 症例の HEV 株と沖縄産の動物由来