

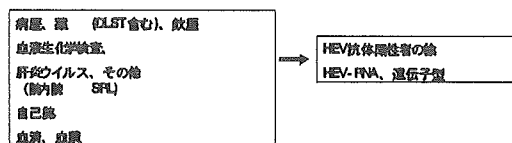
型も測定した。

C. 研究結果

1) 急性 E 型肝炎の診断手順

当科における急性 E 型肝炎の診断手順を表 1 に示した。HEV の診断は入院時の血清を用いて IgM および IgG 型の HEV 抗体を測定し (外注), IgM 抗体陽性例については HEV-RNA を測定 (自治医科大学感染・免疫学講座ウイルス学部門 岡本宏明教授) する手順である。過去 3 年間では 6 例の急性 E 型肝炎を経験したが、これは年間に経験する急性肝障害患者の約 2% であった。

表1. 当科に診 E型肝炎



2) E-AH 例の感染経路の推定

入院時あるいは診断確定後に改めて患者より病歴を聴取し、感染源と考えられる家畜・ペットとの接触の有無、生肉摂取既往の有無などについて詳細に調べた。表 2 に示すように、6 例中 4 例にこれらの事項との関連性が認められたが、2 例は感染源との関わりは不明であった。

表2. E型急性肝

年度	症例	性/齡	職業	感染源 関与	HEV 遺伝型	経過 予後
2003	S.S.	M/73	酪農	牛の世話・ 糞尿処理	III	軽快 改善
2004	M.H.	F/54	主婦	生肉、レバ (発酵)	III	重症 改善
2004	I.Y.	M/65	左官	不明 (東京出稼)	III	薬剤癩 死亡
2005	M.H.	M/39	美容	生肉 (豚)	III	軽快 改善
2005	O.Y.	F/43	主婦 バー	不明	III	軽快 改善
2005	H.T.	M/50	営業	猪のすき焼	III	軽快 改善

3) E-AH 例の臨床経過

HEV の遺伝子型は全例 III 型であった。入院時急性肝炎重症型を呈した 1 例を含む 5 例では、肝機能は順調に改善したが、他の 1 例は入院時に高度の黄疸を呈し、かつ薬剤アレルギーによる薬剤性肝障害を合併していたが、経過中に薬剤過敏症を併発し多臓器不全にて死の転帰をとった(表 2, 3)。

表3. E型急性肝 の肝機能値

年度	症例	性/齡	T-Bil. (mg/dl)	AST (IU/l)	ALT (IU/l)	PT (%)
2003	S.S.	M/73	1.9	1099	672	72.8
2004	M.H.	F/54	6.4	6531	3030	37.6
2004	I.Y.	M/65	30.4	1548	1483	79.0
2005	M.H.	M/39	4.2	8861	5753	58.0
2005	O.Y.	F/43	3.8	859	1791	83.0
2005	H.T.	M/50	1	1676	2044	91.0

注) 数値は各 PTは最も

D. 考察

E-AH は少数ながら毎年散発性に発生していた。E-AH の確定診断には、HEV-RNA の測定が必須であるが、その迅速な確定診断法が望まれている。現在、HEV の IgM 抗体の測定が保険適応外で可能であるが、最近 IgA 抗体の同時測定が有用との報告がなさ

れており、早急にその認可が望まれる。

感染経路については、感染源と考えられる家畜・ペットとの接触、生肉摂取既往を有する例が多かったが、子案会経験した例では感染源を特定するまでには至らなかった。また、感染源との関わりが不明な例も存在しており、HEVの未知の感染源を明らかにするためには疫学的研究を含めて今後更に検討が必要であろう。

E-AHの多くはこれまで我々が報告してきたように予後良好で慢性化する例は認めていない。しかしながら、まれに重症化や劇症化する例が認められる。また、我々が既に指摘したように重症化あるいは劇症化の要因に薬剤の関与が疑われる例も多い。最近、劇症化に関わるウイルス側の因子としてHEVウイルスの遺伝子型およびその塩基配列の違いが密接に関係することが報告された。しかしながら、E型肝炎の発生は散発的であり、また一施設で経験する症例数も少ないため、HEVの感染経路の解明や肝炎の病態・重症化または劇症化に関わる因子の解明などについては多施設共同研究を更に推進する必要があると思われる。

#### D. 結論

当科で経験した過去3年間におけ

る急性E型肝炎例について臨床的検討を行った。

#### E. 健康危険情報

特記すべきことなし。

#### F. 研究発表

##### 学会発表

- 1) Y. Yasumi, Y. Takikawa, K. Suzuki, et al. Serum interleukin-17 level is a new and reliable marker for prognosis of severe acute hepatic injury. AASLD 2005年11月13日(於サンフランシスコ)
- 2) Y. Takikawa, Y. Yasumi, K. Suzuki, et al. Usefulness of MELD score for prediction of hepatic encephalopathy development in patients with severe acute hepatitis. International Liver Transplantation Society 2005年7月22日(於ロサンゼルス)
- 3) 滝川康裕、片岡晃二郎、鈴木一幸、他. 広範肝細胞死成立に対する肝細胞アポトーシスの関与とプロスタグランディン受容体アゴニストの有効性に関する検討 第30回日本急性肝不全研究会 シンポジウム「劇症肝炎の病態解明－肝細胞の生と死のメカニズム」. 2005年6月15日(於大阪市)
- 4) 宮坂昭生、阿部弘一、鈴木一幸 : B型慢性肝疾患の病態別にみたLamivudine療法の治療効果と限界. 第91回日本消化器病学会シンポジウ

ム(2)「B 型慢性肝疾患の病態別の抗ウイルス療法の現状と今後の課題」

2005 年 4 月 15 日 (於東京)

5) 佐藤彰宏、滝川康裕、鈴木一幸.

劇症化予知と早期治療開始による救命率向上の可能性. 第 47 回日本消化器病学会大会パネルディスカッション(1)「劇症肝炎、肝不全治療のあり方—診断から治療へ」2005 年 10 月 5 日 (於神戸)

論文発表

1. Y. Takikawa, R. Endo, K. Suzuki, K. Fujiwara, M. Omata and Fulminant Hepatitis Study Group of Japan. Prediction of hepatic encephalopathy development in patients with severe acute hepatitis. *Dig Dis Sci* in print.

2. K. Kataoka, Y. Takikawa, S. D. Lin and K. Suzuki. Prostaglandin E2 receptor EP4 agonist induces Bcl-xL and independently activates proliferation signals in mouse primary hepatocytes. *J Gastroenterol* 2005; 40(6):610-616.

3. S. Sainokami, K. Abe, K. Ishikawa and K. Suzuki. Influence of load of hepatitis A virus on disease severity and its relationship with clinical manifestations in patients with hepatitis A. *J Gastroenterol Hepatol* 2005;20 (8):1165-1175

4. M. Takahashi, S. Kusakai, H. Mizuno, K. Suzuki, K. Fujimura, K. Masuko, Y. Sugai, T. Aikawa, T. Nishizawa, and H.

Okamoto. Simultaneous detection of immuno- globulin A (IgA) and IgM antibodies against hepatitis E virus (HEV) is highly specific for diagnosis of acute HEV infection. *J Clin Microbiol* 2005;43:49-56.

5. 熊谷一郎, 葛西幸穂, 鈴木一幸, 他: ウイルス性肝障害 E 型肝炎の重症例. *肝・胆・膵* 2005;51:61-67.

6. 滝川康裕, 佐藤彰宏, 鈴木一幸, 他: 劇症肝不全の全国統計. *肝・胆・膵* 2005;51: 7-15.

7. 鈴木一幸: E 型肝炎の臨床. *日本農村医学会雑誌* 2005;53:919-923.

8. 遠藤龍人, 八角有紀, 鈴木一幸, 他: 原因不明の急性肝炎および劇症肝炎の実態と病態. *消化器科* 2005;40:174-179.

9. 鈴木一幸, 滝川康裕, 林 世徳: 急性肝不全をめぐる最近の話題. *岩手医誌* 2005 ; 57 : 455 - 462.

## HEV ウイルス様中空粒子 (HEV VLP) を用いた E 型肝炎に対する T 細胞性免疫応答の検出

班友 垣見和宏 東京大学大学院医学系研究科免疫細胞治療学講座

ウイルスに対する生体の細胞性免疫応答は、ウイルスの排除に重要なサイトカインの産生と、ウイルス感染細胞の破壊を伴う細胞傷害活性に深く関与しており、両者のバランスによってウイルス性肝炎の病態が形成されている。E 型肝炎においても、ウイルスに対する生体の細胞性免疫応答が重要な役割を果たしていると考えられる。そこで、3例(**genotype IV**;2例、**genotype III**; 1例)の急性 E 型肝炎患者の回復期 (HEV-RNA が消失し、抗 HEV 抗体が陽性) の末梢血リンパ球を、HEV ウイルス様中空粒子 (HEV VLP, **genotype I**) を抗原として用い刺激して、その反応を検討したところ、**genotype IV** の2例では、Th1 タイプの HEV 特異的な T 細胞の存在が認められた。**genotype III** 患者の末梢血リンパ球では IFN- $\gamma$  の産生が検出できなかった。HEV-RNA の検出や抗 HEV 抗体の検出に加えて、ウイルスに対する細胞性免疫応答を解析し、E 型肝炎の病態を解明することは、診断と治療やワクチン開発に非常に重要である。今後は **genotype specific** な抗原を用いたアッセイ系を導入し、より詳細な検討が必要であると思われる。**genotype III** と **genotype IV** 型 HEV 感染による急性肝炎が異なる病像を示すことから、両者の免疫応答の相違を比較検討することが今後の重要な課題である。

## &lt;協同研究者&gt;

HEV-VLP の提供：李 天成、武田直和 (感染研)

検体：姜 貞憲、前久保博士 (手稲溪仁会病院)

## A.研究目的

前年度までに、HEV VLP (**genotype I**)を用いて HEV 患者の末梢血リンパ球(PBMC)中の HEV 特異的細胞性免疫応答を検出するためのアッセイシステムを構築した。急性 E 型肝炎 (**genotypeIV**) 回復期患者の PBMC には、HEV VLP に反応して IFN- $\gamma$ を産生する Th1 タイプの HEV 特異的な T 細胞の存在が認められた。今年度は、**genotype III** 型の HEV 感染による急性 E 型肝炎患者の PBMC を解析する機会を得た。前年度に解析した2例と併せて3例の HEV 患者における細胞性免疫応答の解析結果を総括して報告したい。

## B.研究方法

1. HEV 抗原 国立感染研の李、武田先生から

提供を受けた **genotype 1** の HEV ウイルス様中空粒子 (VLP) を HEV ウイルス抗原として用いた。

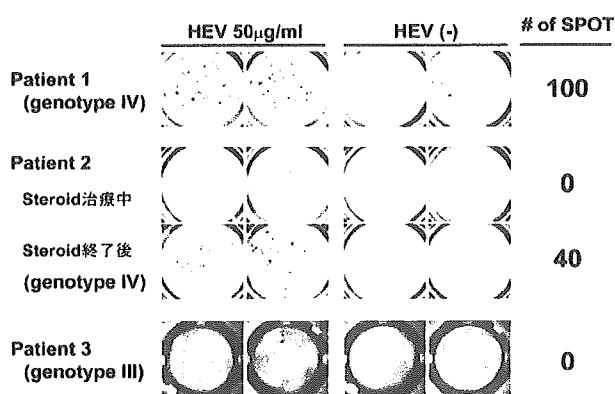
2. 検体 手稲溪仁会病院 (前久保博士院長) 姜先生から提供された急性 HEV 肝炎患者の回復期の末梢血から、lymphoprep を用いて末梢血単核細胞 (PBMC) を分離した。

3. ELISPOT(Enzyme-Linked Immunospot Assay)法による HEV 特異的 T 細胞の検出 HEV に反応して IFN- $\gamma$ を産生する細胞を定量的に解析した。h-IFN- $\gamma$  ELISpot Plus kit (Mabtech)または、Human IFN- $\gamma$  ELISPOT Kit (BD Bioscienc)を用いて、あらかじめヒト抗 IFN- $\gamma$  抗体を付着させた96穴プレートに、 $1.5 \times 10^4$ ,  $5 \times 10^4$ ,  $1.5 \times 10^5$ ,  $5 \times 10^5$  個の PBMC を加え、10 U/ml の IL-2 存在下で36時間培養した。5  $\mu$ g/ml または 50  $\mu$ g/ml HEV VLP を添加し、細胞を刺激した。HEV-VLP を認識する細胞が存在すれば、その細胞を中心として細胞の周囲に分泌された IFN- $\gamma$  が抗体にトラップされる。IFN- $\gamma$  産生細胞をスポットとして検出し、

カウントした。

### C. 研究結果

本年度は、手稲溪仁会病院において治療を受け、詳細に経過が観察された genotype III HEV 感染による急性 E 型肝炎患者（下図, Patient3）における HEV 特異的細胞性免疫応答を解析した。急性肝炎の回復期で HEV-RNA が陽性から陰性へ変化し、IgM, IgG クラスの抗 HEV 抗体が検出された後に、患者の末梢血から PBMC を分離し、HEV VLP を用いて ELISPOT アッセイを行った。



Patient 3 では、5  $\mu$ g/ml, 50  $\mu$ g/ml の VLP で刺激したにもかかわらず、 $1.5 \times 10^4 \sim 5 \times 10^5$  個の PBMC において、IFN- $\gamma$  を産生するスポットが検出できなかった。

昨年度に報告した Patient 1 では、PBMC  $5 \times 10^5$  あたり約 100 個の IFN- $\gamma$  のスポットが観察された。Patient 2 では、ステロイド治療中に採血された検体では、IFN- $\gamma$  スポットは検出できなかったが、ステロイド治療が終了し、肝炎の回復後には PBMC  $5 \times 10^5$  あたり約 40 個の IFN- $\gamma$  のスポットが観察された。

### D. 考察

詳細な疫学的な検討で明らかにされた HEV genotype III と IV の地理的な分布の違いや、両者の肝炎の臨床・病態が異なる点は非常に興味深い。そこで、HEV genotype III, IV 感染に対する

宿主の免疫応答を比較し解析することは、HEV 肝炎の病態解明に非常に重要である。しかしながら、今回 HEV genotype III 感染患者において、HEV 特異的細胞性免疫応答を検出することができなかった。この結果から、HEV genotype IV と比較して、genotype III に対する免疫応答が弱いとは結論できない。細胞性免疫応答はウイルス蛋白を取り込んだ抗原提示細胞が、ウイルス蛋白をペプチドレベルにまで分解し、MHC Class I & II 分子上に結合して、T 細胞に提示することによって誘導される。反応が認められなかった原因は①HEV genotype I VLP を用いて抗原刺激を行ったために、MHC 分子上に提示された HEV 由来のペプチドのアミノ酸配列が genotype III と適合しなかった。②Patient 3 の HLA が genotype I VLP 由来のペプチドを提示できなかった。が考えられる。ELISPOT アッセイに genotype III, IV 型の VLP を抗原として用いることにより、false negative の結果になる risk を避けて、より正確なウイルス特異的な細胞性免疫応答を解析し、病態の解明に努めることが重要であると思われる。

### E. 結論

1. ELISPOT 法により HEV 特異的な免疫応答を解析するために、急性 HEV 肝炎患者の PBMC を HEV-VLP (genotype I) を用いて刺激し、IFN- $\gamma$  産生細胞を検出した。
2. genotype I VLP を用いた ELISPOT アッセイでは、genotype III 感染による急性肝炎患者の細胞性免疫応答の検出ができなかった。
3. genotype specific な抗原を用いたアッセイ系を導入することによりこの問題点を解決すれば、より詳細な検討が可能になると思われる。

## II. 分担研究報告

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）  
 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 17 年度分担研究報告書

沖縄に生息するマンガースの E 型肝炎ウイルス抗体保有状況

分担研究者 武田直和（国立感染症研究所）

研究要旨 2002 年から 2005 年まで沖縄で捕獲した 199 匹のマンガースを対象として、血清中の抗 HEV IgG, IgM 抗体、および HEV RNA を調べた。IgG 陽性率は 22.1%、IgM のそれは 0.5%であった。HEV RNA は全て陰性であった。マンガースが HEV に暴露されていることが明らかになった。

協力研究者 李 天成、宮村達男（国立感染症研究所）、斉藤 美加、小倉 剛、石橋 治（琉球大学）

A. 研究目的

E 型肝炎の原因ウイルスである E 型肝炎ウイルス（HEV）はプラス一本鎖 RNA を遺伝子に持つ小型球形ウイルスである。E 型肝炎は先進国においては輸入感染症とわれてきたが、近年、まったく海外渡航歴のない E 型肝炎患者が見つかるなど、わが国においても既に土着しているウイルスと考えられている。また、わが国のブタやイノシシは高い HEV 抗体保有率を示し、ヒト HEV に遺伝学的に極めて類似するウイルスも分離されている。したがって、これらの動物が HEV のリザーバーであるかもしれない。沖縄島には 1910 年にハブやネズミの駆逐を目的にジャワマンガース(*Herpestes javanicus*)が移入され、現在、広範囲に生息が確認されている。本研究では沖縄島における動物の HEV 感染を明らかにする目的で、マンガースの抗体および HEV 遺伝子の保有状況を調べた。

B. 研究方法

沖縄島に生息する野生のマンガース 199 匹を捕獲し、血清を採取した。HEV 組換え中空粒子をマイクロプレートに固相化し、HRP-anti cat IgG および IgM を二次抗体とした ELISA 法を確立し、マンガース血清中の抗体を検出した。抗体の有無はウエスタン法で確認した。また、血清から RNA を抽出し、RT-PCR 法によって構造蛋白領域の一部を増幅した。

C. 研究結果

2002 年から 2005 年まで沖縄で捕獲した 199 匹のマンガースを対象として、血清中の抗 HEV IgG, IgM および HEV RNA を調べた。199 検体中 44 検体に IgG 抗体を検出した。その陽性率は 22.1%であった。1 検体だけが IgM 陽性であり、その陽性率は 0.5%であった。年度別の IgG 抗体保有率は 2002 年が 46.2% (12/26)、2003 年が 46.2% (12/26)、2004 年が 10.1% (7/69)、2005 年が 23.4% (18/77)で、年度によって抗体保有率が異なっていた。これは捕獲地域の違いによるものと考えられる。IgG の陽性率はマンガースの体重および身長

の増加とともに高くなる傾向も見られていた。現在まで RNA 陽性例はまだ見つかっていない。

#### D. 考察

マンガースは日本の固有動物種ではない。ハブの駆逐のため 1910 年、インドから沖縄に、1979 年、鹿児島奄美に導入された。日本にはマンガースの天敵がいないため、繁殖スピードは非常に速かったと考えられる。また、日本に生息しているマンガースはハブの捕食はほとんどせず、希少な動物と鳥類を食べることから、生態系のバランスを脅かす存在となっている。そのため、現在沖縄、鹿児島ではマンガースの駆除が実施されている。沖縄では HEV の宿主と思われる琉球イノシシが数多く生息している。同じ地域で生息しているマンガースがイノシシの糞便とともに環境に排泄された HEV に暴露されることが十分考えられる。マンガースにおける抗体保有率および遺伝子の検出を調べることは、動物間での HEV の伝播の状況を把握する上で重要である。

本実験から IgG 抗体の保有率は 22.1% に上ることが示され、マンガースが HEV に暴露されていることが明らかになった。野生動物であるマンガースの年齢を正確に断定するには難しいが、抗体保有率は体重と身長とともに増加する傾向が見られたことから、抗体保有率は年齢と相関することが示唆された。現時点ではウイルス遺伝子そのものはまだ見つかっておらず、HEV が真にマンガースに感染するかどうか不明である。また、マンガースが HEV のリザーバーであるかどうかは、遺伝子の検出と感染実験が必要である。

#### E. 結論

沖縄に生息しているマンガースの IgG 抗体保有率は 22.1%、IgM 抗体のそれは 0.5% であった。マンガースが HEV に暴露されていることが明らかになった。

#### F. 研究発表

##### 1. 学会発表

李 天成、斉藤 美加、小倉 剛、宮村 達男 武田 直和。沖縄に生息するマンガースの E 型肝炎ウイルス抗体保有状況。日本ウイルス学会、第 53 回学術集会 2005 年 11 月 横浜

李 天成、宮村 達男、武田 直和。E 型肝炎ウイルス中空粒子形成に必須な領域の同定。日本ウイルス学会、第 53 回学術集会 2005 年 11 月 横浜

##### 2. 論文発表

Li T-C, Saito M, Ogura G, Ishibashi O, Miyamura T, Takeda N: Serological evidence for hepatitis E virus infection in mongoose. Am. J. Trop. Med. Hyg. 2006:in press.

Li TC, Takeda N, Miyamura T, Matsuura Y, Wang JC, Engvall H, Hammar L, Xing L, Cheng RH: Essential elements of the capsid protein for self-assembly into empty virus-like particles of hepatitis E virus. J Virol 2005;79:1299-3006.

Li T-C, Chijiwa K, Sera N, Ishibashi T, Etoh Y, Shinohara Y, Kurata Y, Ishida M, Sakamoto S, Takeda N, Miyamura T: Hepatitis E Virus Transmission from Wild Boar Meat. Emerg Infect Dis 2005;11:1958-1960.

#### G. 知的所有権の取得状況

1. 特許申請：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし



厚生科学研究費補助金（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・疫学に関する研究班  
 平成 17 年度分担研究報告書

## E 型肝炎ウイルスはいつ頃から日本に広がったか？

分担研究者 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

研究要旨：近年、渡航歴のない本邦固有の E 型肝炎ウイルス（HEV）による急性肝炎例が報告されているが、これらの HEV 株の起源や分岐時期に関しては不明である。今回我々は本邦の主要な genotype である 3 型、4 型の中で、HEV 全塩基配列が報告されている本邦固有株及び新たに塩基配列を決定した 48 本を用いて進化速度を求めた。進化速度は、約  $0.8 \times 10^{-3}$  と推定され、この進化速度に基づいて分岐時期を求めると、genotype 3 型、4 型ともに約 100 年前にすでに日本に侵入していた可能性が示唆された。その後、genotype 3 型は 1920 年頃より緩やかに増加しているのに対し、genotype 4 型は最近 20 年で急激に増加していることがわかった。今回求めた拡散時期における当時の社会的背景を理解することで、HEV の拡散予防に役立つものと考えられた。

共同研究者氏名

田中靖人<sup>1</sup>、高橋和明<sup>2</sup>、三代俊治<sup>2</sup>

<sup>1</sup>名古屋市立大学大学院医学研究科臨床分子情報医学、<sup>2</sup>東芝病院・研究部

その進化速度を求め、本邦における分岐時期及び拡散時期を推定した。

### A. 研究目的

近年、渡航歴のない本邦固有の E 型肝炎ウイルス（HEV）による急性肝炎例が報告されているが、これらの HEV 株の起源や感染時期（分岐時期）に関しては不明である。本邦における HEV の拡散時期を知るために、その変異（進化）速度を知ることが重要であり、今回我々は新たに配列を決定した多数の HEV 株を用いて、

### B. 研究方法

本邦の主要な genotype である genotype 3 型、4 型の中で、HEV 全塩基配列が報告され、しかもクラスターを形成している genotype 3 型の兵庫県由来の 6 本（JMO-Hyo03, JYO-Hyo03, JTH-Hyo03, JSO-Hyo03, JDEER-Hyo03, JBOARD04）、genotype 4 型の北海道由来の 4 本（JSM-Sap95, JKK-Sap00, JTS-Sap02, JYW-Sap02）及び全国各地から集めた HEV-RNA 陽性検体 48 本（3 型 24 本、4 型 24

本) を用いて進化速度を求めた。分岐時期の解析には、これらの HEV-RNA 陽性検体 48 本から GDD を含む RNA polymerase 領域 821 bp の塩基配列を決定し、分子進化的解析を行った。方法は、Alignment 作成後、6-parameter にて genetic distance を推定し、近隣結合法を用いて系統樹を作成した。進化速度と分岐時期は linear regression 解析及び TipDate, Genie software (Effective population size 法) を用いて推定した。

C. 研究結果

最初に分子系統樹を作成し、同一クラスター内で linear regression 解析により進化速度は、genotype 3 型、4 型ともに約  $0.8 \times 10^{-3}$ /site/year と推定された。この All position での進化速度は HCV の進化速度に類似していることがわかった。次に、この進化速度を基に分岐時期を求めると、genotype 3 型、4 型ともに約 100 年前にすでに日本に侵入していた可能性が示唆された (図 1)。一方、本邦における HEV の拡散時期を TipDate 及び Genie を用いて検討したところ、genotype 3 型は 1920 年頃より緩やかに増加しているのに対して (図 2a)、genotype 4 型は最近 20 年で急激に増加していることがわかった (図 2b)。特に、現在 HEV 感染の報告が多い札幌ではここ 10 年間で増加していることがわかった。

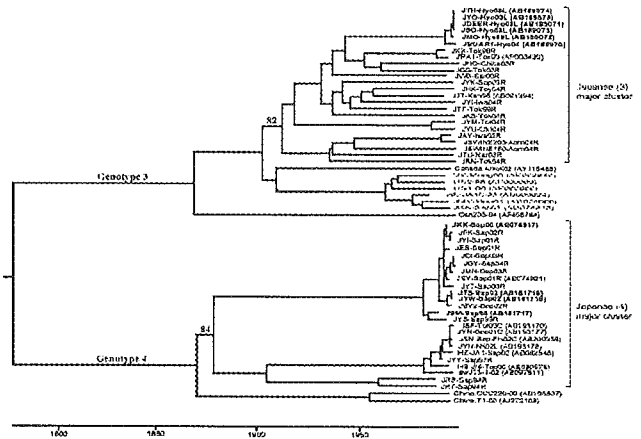


図 1 : RNA polymerase 領域の系統樹及び分岐時間

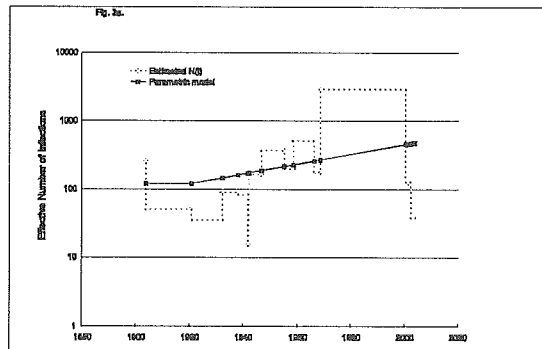


図 2 a: HEV genotype 3 の拡散時期

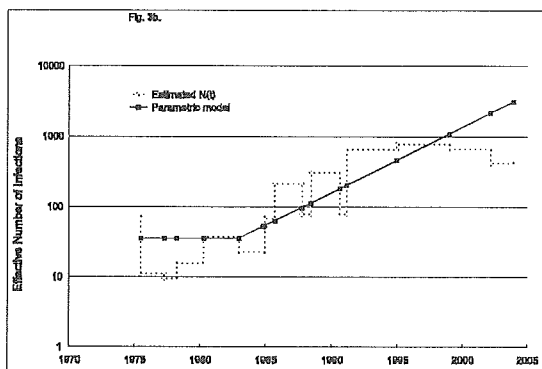


図 2 b : HEV genotype 4 の拡散時期

## D. 考察

今回の解析により、HEV は 100 年以上前に genotype 3 型と 4 型はすでに別れて本邦に存在していたと推定された。その当時の本邦の歴史を紐解いてみると、明治政府は富国強兵策の一環として、西洋のすぐれた家畜を国内で速やかに増殖普及する目的で、明治 33 年（1900）に広島県七塚原に種牛牧場を設置して、イギリスから大ヨークシャー種、中ヨークシャー種、小ヨークシャー種、バークシャー種を輸入して、ここに繋養し、優良種豚の生産配布事業を行っていた。大正(1912)から昭和初期にわたる豚の飼養は、4～5 年を周期として増減を繰り返しながらも漸増を続け、昭和 13 年（1938）には、戦前における最高の 8,900 頭を記録していた。こうした本邦における 1900 年以降のブタの普及と HEV 感染の拡散が関与している可能性が示唆された。

一方、本邦における拡散時期については genotype 3 型と 4 型とでは大きく異なり、genotype 3 は 20 世紀前半、genotype 4 は近年北海道を中心に広がっていることが示された。今後症例数を増やし各地域における HEV 拡散時期をより正確に把握し、その当時の本邦における社会的背景を理解することで、HEV の拡散予防に役立つものと考えられた。

今回我々が用いた手法を用いれば、世界、特に衛生上問題が残る発展途上国における HEV 拡散時期、拡散様式を把握し、HEV の拡散予防にも繋

がると考える。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Tanaka Y. Takahashi K. Mizokami M. Mishiro S. Molecular tracing of Japan-Indigenous hepatitis E viruses. J. Gen Virol 2006, in press.

田中靖人、高橋和明、三代俊治、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.消化器科 41:179-184, 2005.

### 2. 学会発表

田中靖人、溝上雅史. パネルディスカッション 5 : わが国における E 型肝炎の実態: 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、平成 16 年 10 月 21, 22 日、福岡（肝臓 45 Supplement 2: A382, 2004）

Kurbanov Fuat, 田中靖人、折戸悦朗、加藤孝宣、大野智義、杉原寛治、長谷川泉、藤原圭、伊藤清顕、小笹貴士、溝上雅史. E 型肝炎ウイルス抗体測定法における特異性の検討.第 40 回日本肝臓学会総会、平成 16 年 6 月 3-4 日、東京（肝臓 45 Supplement 1: A274, 2004）

## H. 知的財産権の出願・登録状況

今回の研究内容については特になし。

厚生科学研究費補助金（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」班

平成 17 年度分担研究報告書

## 献血者集団における HEV 感染の実態解明

分担研究者：金光公浩（日本赤十字社 血液事業本部）

研究協力者：松林圭二，坂田秀勝，武田尋美，徳島恵里奈，田中聖子，  
佐藤進一郎，加藤俊明，池田久實（北海道赤十字血液センター）

### 研究要旨

平成 16 年度に肝機能高値献血者を対象とした全国規模の HEV 陽性率調査を実施したところ、北海道地区が他の地域を大きく上回り HEV 浸淫地区であることがわかった。このため同地区に限定して予備的な HEV 関連喫食歴問診（HEV 問診）と HEV NAT スクリーニングを試行し、一般献血者における問診の有効性と HEV 感染の実態を調査した。この結果、HEV 問診は HEV RNA 陽性者を排除するには効果的ではなかった。また、HEV NAT スクリーニング陽性者は 1 年間に 30 名（男性 17 名、女性 13 名）確認でき、陽性率は 1/9,848（男性 1/10,422、女性 1/9,098）と HBV や HCV よりも高かった。HEV RNA 陽性者のうち 26 名（87%）は献血時の ALT 値が正常で、21 名（70%）は HEV 抗体が陰性であったことから、ALT 検査や HEV 抗体検査は RNA 陽性者の排除には不十分であると考えられた。陽性血から分離された HEV 株の遺伝子型は 3 型 29 例、4 型 1 例であった。また陽性者に対して過去 3 ヶ月の喫食歴に関するアンケート調査を行ったところ、回答があった 21 名中 19 名（90%）が献血前に動物内臓肉を食しており、内臓肉摂取と HEV 感染との因果関係が強く示唆された。また、調査期間中 6 名の陽性者由来の濃厚血小板製剤（5 本）と濃厚赤血球製剤（1 本）が NAT 結果判明前に 6 名の患者に輸血され、2 名は輸血感染が成立し、1 名は感染不成立、3 名は感染が認められないまま原疾患で死亡した。今後、輸血後肝炎防止対策として献血者の HEV NAT スクリーニング検査体制の構築についての早急な検討が必要であるが、一方で国民的な zoonotic food-borne 感染防止対策も極めて重要な課題である。

### A. 研究目的

わが国の HEV 感染の実態については、肝炎発症患者を対象とした調査がほとんどで、一般献血者を含む健常者についてはごく一部しか調査がなされていないのが現状である。このため献血者集団における HEV 感染の実態を早急に調査し、血液製剤による HEV 感染のリスク評価を行い、適切な対策を講じることが必要であり、これを本研究の目的とする。

昨年度の肝機能異常献血者を対象とした全国規模の HEV 陽性率調査の結果、北海道地区が他の地域を大きく上回り HEV 浸淫地区であることがわかった。このため本年度は同地区に限定して HEV 関連喫食歴問診

（HEV 問診）と HEV NAT スクリーニングを試行し、一般献血者における問診の有効性と HEV 感染の実態を調査した。

### B. 研究方法

#### 1. 献血受付時の喫食歴問診調査

2004 年 11 月から 2005 年 10 月までの 1 年間に北海道管内で献血した全員（289,790 名）を対象に、献血前の 3 ヶ月以内に豚、鹿、猪、あるいは動物種不明の生肉、生レバーを食べたか問診（問診 A）した。また、HEV 陽性者の捕捉率を高めるために、2005 年 11 月から 12 月の 2 ヶ月間の献血者 49,361 名に対しては、献血前の 3 ヶ月以内に生肉あるいはレバー、ホルモン（動物種や調理法を問わず）を食べたか問診（問診 B）し

た。

## 2. HEV RNA スクリーニング

2005年1月から12月までの1年間に北海道地区で献血した全員(295,442名)を対象に、現行20プールNATの使用済み血漿検体425 $\mu$ LからBioRobot 9604 QIAamp DNA Blood Kit (Qiagen)を用いて核酸を抽出し、ORF2/3領域の75塩基をターゲットとしたリアルタイム RT-PCR法により、QuantiTect Probe RT-PCR Kit (Qiagen)を用いてABI PRISM 7700でHEV RNAを検出した。HEV RNA陽性検体については、市販ELISAキット(Viragent HEV-Ab human IgM, IgG, コスミックコーポレーション)による抗HEV IgM抗体およびIgG抗体の検査、リアルタイム RT-PCR法によるHEV RNAの定量、そして分子系統樹解析を行った。さらに感染経路を調査する目的で陽性献血者に郵送により喫食歴に関するアンケート調査を行うとともに、献血後の追跡調査を行った。

### C. 研究結果

問診Aの対象となった献血者は289,790名で、このうち802名(0.28%)が該当した。男性献血者の0.32%、女性献血者の0.21%がこの問診に該当しており、男性の該当者が有意に多かった。該当者が食した肉の動物種は半数以上が鹿(53.9%)で、続いて豚(21.8%)、猪(0.2%)、そして動物種不明(24.1%)の順であった。この期間中のHEV RNA陽性者は22名で、その中には献血前に動物種不明の生レバーを食した問診該当者1名が含まれていた。したがって問診AによるHEV RNA陽性者の捕捉率はわずか4.5%ということになる。そこでHEV RNA陽性者の捕捉率を高めるために、問診Bを実施したところ、HEV RNA陽性者の捕捉率は62.5%(5名/8名)と問診Aの約200倍になったが、問診B該当者は対象献血者の28%(13,835名/49,361名)に達した。

一方、調査期間(1年間)中のHEV NATスクリーニング陽性者は30名(男性17名、女性13名)で、陽性率は1/9,848(男性1/10,422、女性1/9,098)となった。陽性者は年齢が38.0 $\pm$ 12.4歳と中年層に多く、

全道に分布していたが、献血者数の多い札幌およびその近郊在住者が約半数を占めていた。また月別発生数をみると5月、8月は陽性者がいなかったが、それ以外では毎月3例前後発生していた。HEV RNA陽性者30名のうち26名(87%)は献血時のALT値が正常で、また21名(70%)はHEV抗体がIgM型、IgG型ともに陰性であった。このうち11名についてはHEV RNA陽性が判明した日から1ヶ月以内に再検査することができた。3名(No.1, 7, 15)は再検査時のALT値が正常範囲を超えて軽微な上昇を示したが、他の8名のALT値は正常範囲内に留まったままだった(表1)。HEVの遺伝子型は29例が3型で、これまで道内のE型肝炎患者から多く見つかった4型はわずか1名(3%)のみであった。HEV NAT陽性者に対して、喫食歴に関するアンケート調査を行ったところ、21名から回答が得られ、このうち19名(90%)がレバーやホルモンなどの動物内臓肉を献血前に食していた。調理法に関しては、生で食した者は5名(24%)のみで、8名(38%)はよく加熱して食べたと回答していた。

調査期間中、有効期間の短い血小板濃厚製剤(PC製剤)や赤血球濃厚製剤(RC MAP製剤)の一部の血液製剤はHEV NAT検査結果が判明する前に医療機関に供給された。そのうち6製剤については原料血液にHEV RNAが含まれることが後日判明し、患者6名に輸血されていた(表2)。

このうち2名(No.4, 6)からは供血者のHEV株と同じゲノム配列が同定され、輸血感染が成立していることが確認された。患者No.4は輸血後10日目に初めてHEV RNAが検出され、以後指数関数的に増加し、51日目には10<sup>7</sup> copies/mLの最高値に達した。このピークに合わせて患者は肝炎を発症し、ALT値は急激に上昇し始め65日目に972 IU/Lの最高値を示した(図1)。この期間のHEV RNA倍加時間は約54時間と推定された。その5日前にはIgM型とIgG型のHEV抗体が同時に出現し、それと連動してHEV RNA量とALTは下降し続けた。この間のHEV RNA量の半減時間は対数増殖期の倍加時間と同等であった。また経過観察中、ALT値が200 IU/L以上を示したのは、抗体

が出現する前後の約 2 週間のみであった。なお、患者は 78 日目に治癒軽快して退院した。一方、患者 No.6 は HEV RNA が輸血後 27 日目に初めて血中に確認され、41 日目には  $10^{4.9}$ copies/mL の最高値を示した。この間の HEV RNA 倍加時間は約 37 時間で、その後の半減時間も同様であった。ALT は 61 IU/L までしか上昇せず、肝炎を発症することにはなかった。

また他の患者 1 名 (No.1) は輸血後 4 ヶ月まで追跡調査したが、HEV RNA、HEV 抗体の陽転は認められず、HEV に感染していないと判断した。

残る 3 名 (No. 2, 3, 5) の患者は輸血後まもなく原疾患で死亡した。このうち 2 名 (No.2, 3) は HEV マーカーの陽転は確認できず、また他の 1 名 (No.5) は輸血翌日に輸血製剤からの移行ウイルス (HEV RNA) が認められた。

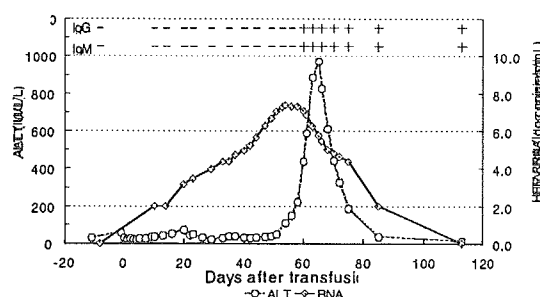


図1 輸血後E型肝炎例 (表2 No.4の症例)

D. 考察

北海道地区の献血者に限定して研究試行的に喫食歴に関する問診と HEV NAT スクリーニングを実施した。

喫食歴問診については、動物種や肉の種類、調理法 (生食) を限定した問診 (問診 A) で捕捉できた HEV RNA 陽性者はわずか 4.5% であった。このため、動物種や調理法の制限をなくした問診内容 (問診 B) に変更して HEV RNA 陽性者の捕捉率を高める試みを行ったところ、捕捉率は 63% に上昇したが、問診該当者は全献血者の約 3 割にも達したため、問診によって HEV RNA 陽性者を排除するのは困難であり、かつ有効ではないと考えられた。

HEV NAT スクリーニングの結果では、30 名の HEV RNA 陽性者が確認され、HEV RNA 陽性率は 1/9,848 と予想以上に高いことが判明した。この頻度は現在 NAT スクリーニングを実施している HBV や HCV に比べて数倍から数十倍高いことになり、北海道地区においては HEV が蔓延していると考えられた。しかし、陽性者の多くは ALT 値が正常で、しかも HEV 抗体を持たない割合が高いことから、献血時は感染初期であったと考えられる。したがって HEV RNA 陽性献血者を排除するためには、ALT スクリーニングや HEV 抗体スクリーニングは不十分であると考えられた。

一部の陽性者については HEV RNA 陽性が判明した後も追跡調査することができたが、その多くは ALT 値が正常範囲を超えて上昇することなく、HEV 抗体が陽転化していた。したがって HEV 感染者の多くは重篤な肝炎を発症することなく、自覚症状がないまま、不顕性感染の経過をたどるケース

表1 HEV NATスクリーニング陽性献血者

No.	年齢	性別	ALT (Max.)	HEV RNA (copies/mL)	G. type	問診該当	供給製剤	No.	年齢	性別	ALT (Max.)	HEV RNA (copies/mL)	G. type	問診該当	供給製剤
1	32	M	57 (67)	-	III	x	x	16	24	M	19	-	-	III	x
2	38	F	11	-	III	x	x	17	33	M	49 (49)	-	-	III	x
3	41	M	103	-	III	x	x	18	29	F	100 (100)	+	+	III	x
4	65	F	17	-	III	x	x	19	42	M	31 (34)	-	-	III	x
5	26	M	38	-	III	o	o*	20	20	F	10	-	-	III	x
6	54	F	20	-	III	x	x	21	41	M	12	-	-	III	x
7	59	F	16 (264)	-	III	x	x	22	44	F	38	+	+	III	x
8	35	F	16 (20)	-	III	x	x	23	30	F	21	-	-	III	x
9	25	M	24	+	III	x	o	24	31	F	12	+	+	III	o
10	22	M	44	-	III	x	x	25	28	M	47 (47)	+	+	III	o
11	42	M	24	+	III	x	o	26	35	F	339	+	+	III	o
12	51	M	52	-	III	x	x	27	42	M	30 (40)	-	-	III	o
13	58	M	219	+	III	x	x	28	30	M	11 (12)	-	-	III	o
14	22	M	15	+	III	x	x	29	62	F	14 (14)	-	-	III	x
15	38	M	23 (118)	-	III	x	x	30	42	F	14	-	-	III	x

\*1 ( ) 内はHEV陽性判明後1ヶ月以内に退院検査できた献血者のALT最高値を示す。  
\*2 No.1~22は問診A、No.23~30は問診Bを実施。  
\*3 No.5の供給製剤は壊滅したため輸血に使用されなかった。

表2 HEV-RNA陽性血受血者

No.	原疾患	年齢	性別	輸血製剤 (10RNA/mL, IgM, IgG) *	輸血前 HEV検査結果 (輸血前日数)	輸血後 HEV検査結果 (輸血後日数)	輸血後経過
1	急性骨髄性白血病	70	女	II-PC (<2.0, +, +)	RNA, IgM, IgG 陰性 (1)	IgM, IgG, RNA 陰性 (123)	肝炎未発症、未感染 原疾患経過良好のため退院
2	肺癌	60	女	II-PC (<2.0, +, +)	RNA, IgM, IgG 陰性 (1)	IgM, IgG, RNA 陰性 (18)	肝炎未発症 37日目に原疾患にて死亡
3	弄ホジキンリンパ腫	70	女	II-PC (2.9, -, -)	RNA, IgM, IgG 陰性 (0)	IgM, IgG, RNA 陰性 (18)	肝炎未発症 20日目に原疾患にて死亡
4	狭心症	70	男	II-PC (4.4, -, -)	RNA, IgM, IgG 陰性 (6)	RNA 陽性 (10) IgM, IgG 陽性 (60)	65日目にALT最高値 872 IU/L 78日目に退院
5	急性骨髄性白血病	70	女	II-PC (3.2, -, -)	RNA, IgM, IgG 陰性 (0)	RNA 陽性 (1) IgM, IgG 陰性 (1)	輸血翌日に原疾患にて死亡
6	狭心症	50	男	MAP (4.8, -, -)	RNA, IgM, IgG 陰性 (1)	RNA 陽性 (27) IgM, IgG 陽性 (55)	肝炎未発症 48日目にALT最高値 61 IU/L

\* 原料血漿中のHEV RNA濃度 (log copies/mL)、anti-HEV IgM・IgG検査結果 (+: 陽性, -: 陰性) を示す。

が多いと考えられる。

また、陽性者の多くはレバーやホルモンなどの動物内臓肉を献血前に食しており、従来から報告されているようにこれらの食材の摂取と HEV 感染とが密接に関わっていることが強く示唆された。さらに今回の調査においては、内臓肉を摂取した HEV 陽性者の約 4 割は肉を十分加熱して食べたとしており、箸などの食器や調理器具を介して感染した可能性も十分考えられるが、これまで熱に弱いとされてきた HEV の耐熱性についても再検討が必要である。

これまで第四類感染症として国に報告されている E 型肝炎患者は男性が女性より多いが、今回の調査では HEV 陽性率に性差は認められないことから、性別と肝炎発症との関連性が示唆された。また、北海道内の E 型肝炎患者からは 3 型よりも 4 型が多く分離されているが、本調査で確認できた陽性者はほとんどが 3 型で、その多くは不顕性感染と考えられた。このことから E 型肝炎発症に関しては HEV 遺伝子型が発症率や重症化とも関連している可能性がある。

調査期間中、HEV RNA 陽性血が 6 名の患者に輸血され、このうち 2 名が感染し、他の 1 名は感染しなかった。感染が確認された 2 名に輸血された濃厚血小板製剤は、原料血液中の HEV RNA 濃度はそれぞれ  $10^{4.4}$ 、 $10^{4.8}$  copies/mL と高く、HEV 抗体は検出されなかった。一方、感染が成立しなかった他の 1 名については、原料血液中の HEV RNA 量は 100 copies/mL 以下と少なく、IgM 型と IgG 型の HEV 抗体が含まれていた。したがって、輸血製剤を介して HEV に感染するか否かは、患者の年齢や原疾患の種類など受血者側の因子も関係していると考えられるが、輸血製剤中の HEV 濃度と HEV 抗体の有無も重要な感染因子であると考えられる。

北海道地域の献血者における HEV 疫学調査を行った結果、HEV 陽性率はこれまで考えられていた以上に高かった。HEV 陽性献血者を排除するためには、ALT 検査や HEV 抗体検査、喫食歴に関する問診は不十分であり、HEV NAT スクリーニングが最も有効であると考えられる。今後、輸血による HEV 感染防止を計るためには、試薬、機

器の開発も含めた HEV NAT スクリーニング体制の構築が必要である。しかしながら、わが国における HEV の主要な感染経路は zoonotic food-borne 感染であるため、食材となる肉の適切な調理法の周知と共に動物の感染防止対策が今後の重要な課題と考えられた。

## E. 結論

1. 北海道地区の献血者における HEV RNA 陽性頻度は 9,848 人に 1 人と予想以上に高く、HEV は蔓延している。
2. 調査期間中、HEV-RNA 陽性血が 6 名の患者に輸血され、2 名が感染、1 名は未感染、3 名は原疾患にて死亡した。
3. 献血受付時の喫食に関する問診や、HEV 抗体検査は HEV RNA 陽性者の排除に適さなかった。
4. HEV NAT スクリーニング検査体制の構築（試薬、機器等）についての早急な検討が必要である。
5. HEV 陽性献血者の多くは zoonotic food-borne 感染であることから、食材の適切な調理法の周知と共に動物の感染防止対策も今後の重要な課題と考えられた。

## 研究発表

1. 学会発表
  - (1) 松林圭二, 坂田秀勝, 姜貞憲, 高橋和明, 進藤基博, 加藤将, 三代俊治, 佐藤進一郎, 加藤俊明, 池田久實  
ALT 高値献血者を対象とした肝炎ウイルススクリーニングによって判明した輸血後 E 型肝炎症例  
第 53 回日本輸血学会総会, 浦安市, 2005 年 6 月
  - (2) 坂田秀勝, 松林圭二, 武田尋美, 徳島恵理奈, 佐藤進一郎, 加藤俊明, 池田久實, 金光公浩  
全国の肝機能高値献血者における HEV 感染の実態調査  
第 29 回日本血液事業学会総会, 仙台市, 2005 年 10 月

- (3) Hisami Ikeda, Keiji Matsubayashi,  
Hidekatsu Sakata, Shinichiro Sato, Toshiaki  
Kato, Jong-Hon Kang, Motohiro Shindo,  
Masashi Kato, Kazuaki Takahashi, Shunji  
Mishiro  
A case of transfusion-transmitted hepatitis E  
caused by blood from a food-borne infected  
donor.  
AABB 2005, Seattle, Oct 2005.

G. 知的所有権の取得状況

該当なし



厚生科学研究費補助金（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・疫学に関する研究班

平成 17 年度分担研究報告書

## 輸血により感染発症した E 型急性肝炎症例の検討

分担研究者 前久保 博士

手稲溪仁会病院 内科

研究要旨：本研究班における我々の課題は、HEV 高侵淫地域と考えられる札幌地域において発症する E 型急性肝炎の臨床像を明らかにし、さらに HEV 伝搬経路を究明することにより、本疾患の診療及び予防に資することにある。

班研究 3 年目においては、輸血による HEV 感染を確認し発症前及び急性肝炎の全臨床経過を観察しえた輸血後 E 型肝炎を昨年度に続き経験したため、これら 2 症例の臨床経過を報告する。

### 共同研究者

姜 貞憲	手稲溪仁会病院 消化器病センター
松居 剛史	同上
松林 圭二	北海道赤十字血液センター 検査部
狩野 吉康	札幌厚生病院 第 3 消化器科
豊田 成司	同上

### A. 背景

本邦における E 型肝炎は、2003 年に兵庫県において鹿肉生食による感染が証明されて以来人獣共通感染症としてにわかに注目された。しかしながら E 型肝炎症例が多数報告される北海道ないし札幌地域における HEV の感染経路は依然として分明とは言えない。班研究が開始された 2003 年度以降、我々は札幌地域 2 施設（当院及び札幌厚生病院）による共同研究を行い、44 例の E 型急性肝炎孤発例を新たに、或いは retrospective に診断した。しかしながらこれらの症例において、HEV 感染経路が解明された事例は得られなかった。

日本赤十字社北海道血液センターでは輸血関連 HEV 感染の予防のため、北海道内の献血者に対する HEV NAT 検査を開始した。

### B. 研究目的

輸血により発症した E 型急性肝炎症例の臨床像を明らかにする。

### C. 研究方法

2004 年及び 2005 年度に経験した輸血後 E 型急性肝炎 2 例を発症前から virus 学的、血液生化学的所見を中心に prospective に観察し、1 例で治療介入を行い臨床経過の変化を検討した。

E 型肝炎の診断は、献血者及び輸血後に recipient から得られた血清に対して行った PCR による HEVRNA 陽性を根拠とした。

献血者に対する HEV NAT 検査により HEV 陽性が判明後、日赤北海道血液センターは当該献血由来輸血製剤に対する遡及調査を行い、当該製剤が投与された recipient を同定した。recipient が入院中の施設に依頼し、定期的に血液 sample を採取し、血液生化学指標、HEV RNA load (Taqman 法) 及び ELISA による抗 HEV IgG, IgM (Cosmic 社) を測定

し臨床経過を prospective に観察した。入院施設の協力の下で、患者は、HEV 血症出現後血清 ALT が正常上限を超えた時期に手稲溪仁会病院消化器病センターへ転入した。

D. 研究結果

E 型班研究は 2003 年度から開始されたが、同年から当院及び札幌厚生病院で診断した E 型急性肝炎は 12 例であり、輸血後肝炎症例は 04、05 年度に各 1 例ずつであった(図 1)。

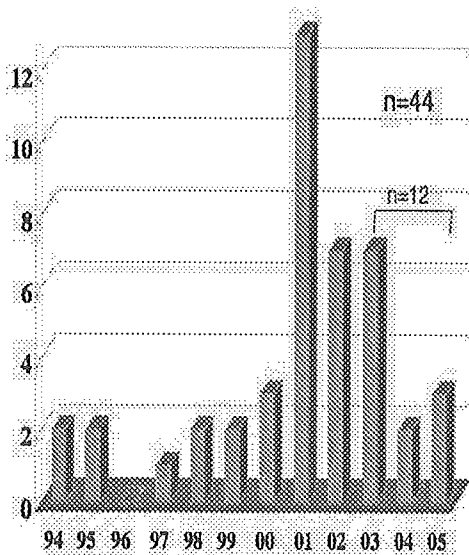


図1. 札幌市内2施設におけるE型急性肝炎症例の年次別推移

輸血後 E 型肝炎症例の背景と検査成績を表 1 に示す。2 症例はいずれも男性で、04 年の症例では非ホジキン性リンパ腫に対する自家末梢血幹細胞移植後、05 年の症例では急性心筋梗塞に対する外科治療後に各々受けた濃厚血小板輸血による感染であった。HEV 遺伝子型は 1 例目が genotype 4、2 例目は genotype 3 であった。

2 例目は治療介入せず自然経過の観察のみで肝炎は終息したが、1 例目は重症化に関与する可能性が高い遺伝子型 4 による感染であり、背景疾患の治療中に免疫能の低下を伴ったため治療介入した。抗 virus 療法として IFN を投与し、Prednisolone による抗炎症治療も併用し重症化は回避された。

症例	1	2
発症時期	04年10月	05年11月
性別年齢 (歳)	男/64	男/72
背景疾患	NHLymphoma auto PBCT後	急性心筋梗塞 CABG後
肝炎既往症	なし	なし
輸血製剤	照射濃厚血小板	照射濃厚血小板
HEV genotype	4	3
輸血製剤中の HEV RNA量, LC/ml	3.1	4.3
ALT最高値, IU/L	673	972
T.bil 最高値, mg/dl	7.4	2.4
PT最低値, %	74.1	65.1
治療	IFN, PSL	保存的

表1. 輸血後E型肝炎2症例の背景と検査成績

HEV 陽性照射濃厚血小板輸血後 recipient に virus 血症が観察されたのは 1 例目第 10 病日、2 例目は 21 病日であった。血中 HEVRNA 量の推移を図 2 に示す。HEV load は各々 44 日、22 日間の対数増殖期を経た後、7Logcopies/ml を超え極期に到達した。遺伝子型 4 による 1 例目では HEV load は plateau を示し、抗 HEV IgG 出現に同期し減衰した。同じく 3 による 2 例目では血中 HEVRNA の極期を示した直後から抗 HEV IgM, IgG が出現し virus 量は速やかに減衰した。Virus 血症の持続期間は両者とも 75 日間であった。

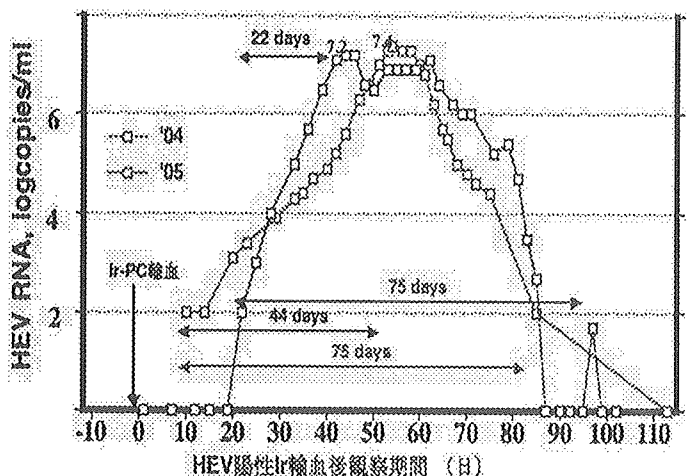


図2. 血中HEV RNAの推移

HEV 陽性輸血後の ALT 値は各々 61 病日、57 病日で極期を示した。04 年に経験した 1 例目におい

て肝炎は prednisolone 減量中に再燃を示し、2 例目では自然経過により消退した (図 3)。

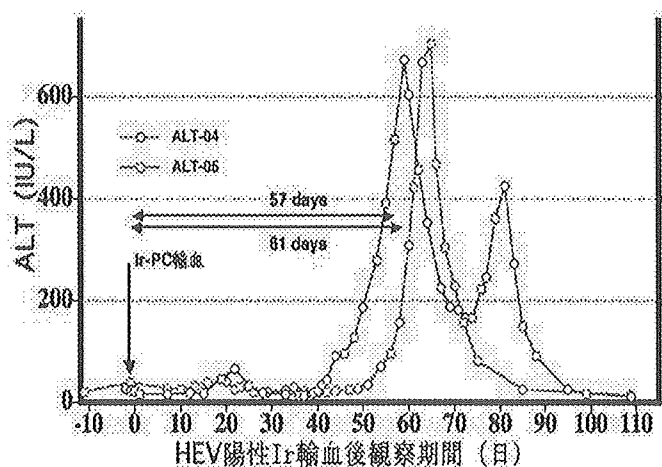


図3. 血清ALTの推移

## E. 考察

HEV 陽性輸血直後から血中 HEV RNA の動態と肝炎全過程を prospective に観察しえたとの報告はない。日本国内における輸血後 E 型肝炎の報告は 2 例で存在するが、いずれも過去の症例における retrospective な解析による。この度経験したこれら症例に対しさらに詳細な検討を行うことにより、当班研究において求められる E 型肝炎の病態を理解する上で役立つことが期待される。

## F. 結論

HEV 陽性輸血後 recipient に発症した HEV 血症と続発する E 型肝炎を prospective に観察しえた。経験した 2 例では血中 HEV RNA が対数増殖期を経て極期に達するまでの期間は 3—6 週間、ALT が最高値を示すまでの期間は 8—9 週間であった。

## G. 研究発表

### 1. 学会発表

1) 姜 貞憲、安藤 佐知子、西森 博幸他  
ウイルス血症出現前から消失時まで詳細に経過を観察し得た輸血後 E 型肝炎の 1 例  
第 41 回日本肝臓学会総会、大阪 2005 年 6 月 17 日

### 2) 姜貞憲

ウイルス量と抗体系の変化を経時的に観察しえた E 型急性肝炎の 1 例

厚生労働省 E 型肝炎研究班会議・宮川庚子記念財団合同ワークショップ、神戸 2005 年 10 月 7 日

### 3) 姜貞憲

HEV 感染者の病態

北海道輸血療法検討会、札幌 2005 年 7 月 9 日

### 4) Jong-Hon KANG

Clinical feature of hepatitis E in Japan

The 2<sup>nd</sup> Japan Korea liver symposium

Jeju, South Korea. 2005 年 4 月

## 2. 論文発表

### 1) 姜貞憲

輸血により発症した E 型肝炎の症例  
今日の治療 2005.13; 17-23.

### 2) 大西幸代、姜貞憲、前久保博士他

札幌地域における E 型肝炎  
消化器科 2005. 41; 161-167.

## G. 知的所有権の取得状況

1. 特許申請：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし

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・疫学に関する研究班  
平成 17 年度分担研究報告書

E 型肝炎ウイルス感染の分子ウイルス学的研究

分担研究者 岡本宏明 自治医科大学医学部教授

研究要旨：前年度に開発した ELISA 法による IgA クラス抗 HEV 抗体測定系についてさらに検討し、顕性 HEV 感染例のみならず、不顕性 HEV 感染例でも IgM クラス抗 HEV 抗体測定系よりも優れていることを示した。飼育ブタと野生イノシシでの HEV の感染状況を全国規模で調査し、感染実態を明らかにするとともに、遺伝子配列に多様性を示す HEV 株を分離した。北海道の北見市と札幌市での E 型肝炎患者を対象とした分子疫学的調査研究において、約 90% の E 型肝炎患者が発症 1-2 ヶ月前のブタ内臓肉の摂取既往を有していたことから、ブタ内臓肉の喫食が重要な感染危険因子であることが示唆された。また、E 型肝炎の重症化の因子として、高齢や基礎疾患の有無などの宿主因子が重要であると同時に、genotype 3 よりも genotype 4 の方が重症度と密接な関連があることが示唆された。

A. 研究目的

近年、わが国において「輸入感染症」としての E 型肝炎のみならず、国内感染による E 型肝炎が看過できない頻度で存在することが明らかになった。その E 型肝炎症例のなかには、重症化例や劇症肝炎による死亡例もある。しかも、複数種の動物を reservoir とする人畜(獣)共通感染症(動物由来感染症)であることが明らかになっている。本研究は、HEV 感染の核酸診断法および抗体測定法を確立し、ヒトおよびブタ等の動物での HEV の感染実態を把握するとともに、それら感染 HEV の特徴および感染経路を解明することを目的とする。

B. 研究方法

1. イムノグロブリンクラス別の抗 HEV 抗体の測定

カイコ蛹で発現し精製した HEV ORF2 蛋白 (genotype 4) を固相抗原として、IgG クラス抗 HEV 抗体 (IgG-HEV 抗体)、IgM クラス抗 HEV 抗体 (IgM-HEV 抗体) および IgA クラス抗 HEV 抗体 (IgA-HEV 抗体) を測定し、HEV 感染の血清診断における特性を比較検討した。抗体測定系の特異性を高めるために、非組換え baculovirus を感染させたカイコ蛹に由来する mock 蛋白を検体希釈

液に添加した。また、特異性の確認のために固相に使用した抗原と同じ HEV ORF2 抗原を用い、吸収試験を実施した。

ブタおよび野生イノシシの血清中での IgG クラス、IgM クラスおよび IgA クラス抗 HEV 抗体の測定においては、それぞれ酵素標識した抗ブタ IgG ウサギ抗体、抗ブタ IgM ヤギ抗体、抗ブタ IgA ヤギ抗体を用いた。

2. HEV RNA の測定とその塩基配列解析

ヒトあるいは動物の血清および肝臓から核酸を抽出し、既報 (J Clin Microbiol 40:3209-3218, 2002) に準拠し、あるいは若干の改良を加え、RT-PCR 法により HEV RNA を検出した。

増幅した PCR 産物について、塩基配列を決定し、分子系統樹解析を行った。

倫理面への配慮：研究用血清検体の採取に際して、インフォームドコンセントが得られている。そして、検体提供者は不特定化されているため、個人のプライバシーを侵害することはなく、人権上の問題は生じない。

C. 研究結果

1. IgA-HEV 抗体測定系の有用性の検討

前年度に引き続き、E 型肝炎の血清診断により