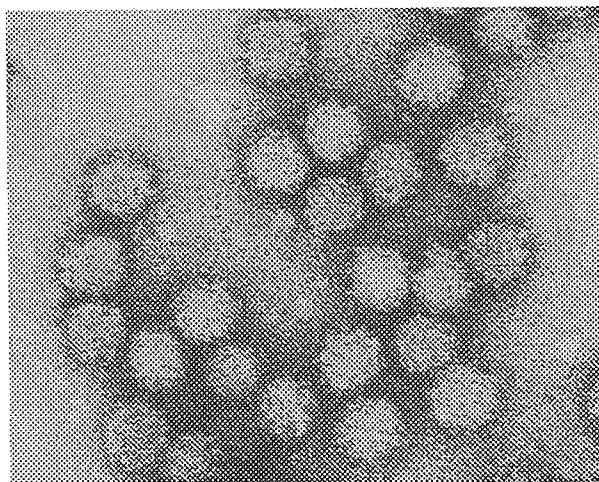


IV. ワクチン・診断・免疫に関する研究

IV. ワクチン・診断・免疫に関する研究

●武田班員等は、夙に、N 末端から 111 アミノ酸を欠失させた ORF2 を発現することにより、直径 27 nm の virus-like particles (VLP)を作製して來たが、2004 年度には、ORF2 の全長を発現することにより、實物大(直径 35-38 nm) の VLP を作製することに成功した³⁶⁾。より有効なワクチン及び抗体検出診断薬を開發する為の重要な成果の一つである。



●岡本班員等は、IgM anti-HEV 検出系に伴いがちな非特異陽性反応を回避する目的で、IgA anti-HEV を検出する ELISA を開発し、良好な成績を得たので³⁷⁻³⁹⁾、保険収載を目指した申請手続きを進めつつある。

●垣見班友は、ELISPOT 法によって HEV 特異的 T 細胞を検出するアッセイ系を構築した⁴⁰⁾。病態解明に有用性を發揮することが期待される。

| | Frequency of HEV specific IFN-g producing cells |
|------------------------|---|
| Acute HEV patient PBMC | |
| Healthy volunteer PBMC | |

References

- 36) 武田直和. 遺伝子型 3 の E 型肝炎ウイルス構造蛋白の発現. 本邦に於ける E 型肝炎の診断・予防・疫學に関する研究班平成 16 年度報告書.
- 37) Takahashi M, Kusakai S, Mizuo H, Suzuki K, Fujimura K, Masuko K, Sugai Y, Aikawa T, Nishizawa T, Okamoto H. Simultaneous detection of immunoglobulin 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.
- 38) Takahashi M, Nishizawa T, Tanaka T, Tsatsralt-Od B, Inoue J, Okamoto H. Correlation between positivity for immunoglobulin A antibodies and viraemia of swine hepatitis E virus observed among farm pigs in Japan. *J Gen Virol* 2005; 86: 1807-1813.
- 39) 飯野四郎, 犬野吉康, 前久保博士, 姜貞憲, 三代俊治, 新井雅裕, 北嶋直人, 市田隆文, 岡本宏明. E 型急性肝炎の血清診断における IgA クラス抗 HEV 抗体測定用試薬「イムニス IgA anti-HEV EIA」の有用性の検討. *医学と薬学* 2005; 53: 461-9.
- 40) 垣見和宏. ELISPOT 法による HEV 特異的 T 細胞検出系の構築. 本邦に於ける E 型肝炎の診断・予防・疫學に関する研究班平成 16 年度報告書.

V. H E V感染全國集計

V. HEV 感染全國集計

以下に紹介するのは、過去約 30 年間（1979-2005）に我國で経験され、本研究班のデータベースに症例登録された HEV 感染症例 252 例（内訳は不顕性感染 71 例、急性肝炎 134 例、急性肝炎重症型 21 例、劇症肝炎 16 例、診断不明 10 例）に基づくデータである。

V-1. 好発年齢と性

V-1-1. 年齢

最若年感染者は 15 歳、最老年は 86 歳、平均年齢は 50 歳である。30-69 歳の年齢層が全体の 8 割 ($186/237 = 78\%$) を占めており、従前の教科書には等しく「本症はヤング・アダルトの病気である」と書かれていたのに反し、少なくとも我国では『中高年』の病気であることが判明した。同様のデータはフランスからも報告されており、インド等 endemic areas と日欧米等の non-endemic areas では好発年齢層に差異のあることが示唆された。

V-1-2. 性

男が 188 例、女が 53 例（性別不明が 11 例）。男女比は 3.5 : 1 で男性優位である。フランスのデータも同様である。

V-2. 地域差

HEV 感染は日本全国津々浦々で発生しているが、我国に於ける最多発地域は北海道（全国から登録された症例の約半数を占める）であって、敢て「北海道は HEV-endemic area である」と云うも決して過言ではない。例えば、2000-2004 年に札幌の手稲渓仁会病院で経験された急性肝炎の筆頭原因ウイルスは、

HAV でも HBV でも HCV でもなく、驚くべきことに実に此の HEV であった（by 前久保班員）。従って、急性肝炎患者を問診する際に「インド・中国・中央アジア等へ最近旅行しましたか」と訊くぐらいなら、「北海道へは？」とも尋ねるべきである。

北海道の次に好発なのは東北地方であり、日本全土を俯瞰して云うならば『西低東高』のパターンであって、それを裏付けるデータが日赤の調査からも得られている（Table V-1）。即ち、ALT 高値 ($> 200 \text{ IU/L}$) の献血者を調べてみると、北海道の献血者に於ける HEV RNA 陽性率は関東以西のそれの約 10 倍であり、東北のそれは両者の中間に位置していた。

Table V-1. ALT 高値 (200 IU/L 以上) 献血者に於ける地域別 HEV RNA 陽性率

| 地域ブロック | HEV RNA 陽性率 (%) |
|--------|-----------------|
| 九州 | 0.6 |
| 中国・四国 | 0.5 |
| 近畿 | 0.4 |
| 中部・北陸 | 0.4 |
| 関東・甲信越 | 1.2 |
| 東北 | 2.1 |
| 北海道 | 4.6 |

（北海道赤十字血液センター松林圭二等による 2003.4-2004.3 の調査。n = 1389）

ALT 値正常の献血者に於ける HEV RNA 陽性率のデータは未見であるが、それは蓋し、上述の ALT 高値献血者のデータを下方修正したパターンになる筈であり、北海道優位は不变である。実際、この 5 年間に我国で経験された輸血後 E 型肝炎は全て北海道で発生したものである。

地域差に関して今ひとつ注目すべきは、genotype 分布である。我国で経験される国内発症例（及びブタやイノシシ等の動物）から採れる HEV の genotype は専ら 3 型と 4 型である（輸入感染例からは 1 型も採れている）が、奇妙なことに、津軽海峡の南北で 3 型と 4 型の比率が逆転している。即ち、北海道ではその比率が 40 : 65（『4 型優位』）であるのに対し、本州以南では 78 : 17（『3 型優位』）である。後述するように、3 型よりは 4 型の方が症状が強く出るので、北海道からの症例報告が目立つ理由の一つは此處にある。

V-3. 重症化に寄与する因子

従前の教科書には必ず記載されている「妊娠婦が妊娠第三期に感染すると重症化し約 20% が劇症肝炎で死亡する」というインドでの観察結果が、真偽のほどはともかくとして、これまで知られていた唯一の重症化寄与因子候補であった。我国でのこれまでの調査では、妊娠時に感染した例が一例もなかったから、この仮説の真偽を検証することが出来ないでいるが、その代わりに、二つの独立した因子が浮き彫りになって来た。年齢と HEV genotype である。

V-3-1. 年齢

Table V-2 に示す如く、不顕性感染の好発年齢層が 30 歳台であるのに対して、急性肝炎軽症型のそれは 40-50 歳台、急性肝炎重症型のそれは 40-60 歳台、劇症肝炎のそれは 60 歳台というように、年齢と肝炎重症度との間に相関がある。従って、高年齢症例を診た際には重症化の可能性を念頭に置かねばならない。

Table V-2. 感染者の年齢と肝炎重症度の相関

| 年齢層 (years) | 不顕性感染 | 急性肝炎 (軽症型) | 急性肝炎 (重症型) | 劇症肝炎 |
|----------------|-----------|---------------|---------------|----------|
| 00-19 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| 20-29 | 12 | 9 | 2 | 0 |
| 30-39 | <u>24</u> | 11 | 1 | 1 |
| 40-49 | 13 | <u>32</u> | <u>6</u> | 2 |
| 50-59 | 7 | <u>36</u> | <u>5</u> | 3 |
| 60-69 | 7 | 24 | <u>5</u> | <u>9</u> |
| 70-79 | 2 | 16 | 1 | 1 |
| 80-89 | 3 | 3 | 1 | 0 |

（数字は症例数。好発年齢層に相当する数字を下線でハイライトした）

V-3-2. HEV genotype

本邦に土着する HEV は genotype が 3 型か 4 型の株に限られており、且つ前者は本州

及びそれ以南に多く後者は北海道に多いと前述したが、更に興味深いことに、感染宿主に惹起される肝炎の重症度が両型の間で異なつ

ている。

Table V-3 に示す如く、4 型の頻度が、不顕性感染から劇症肝炎へと重症度が増すにつれ高くなつており、3 型と 4 型では virulence に差異があると示唆された。また、同じ急性肝炎軽症型の診断であつても、3 型よりも 4 型の方がトランスマニナーゼ値とビリルビン値が高く、プロトロンビン時間も遅延している (Table V-4)。

HEV の genotype と病原性との間の相關については過去に報告がなく、本研究班による上記の知見は實に『ノイエス中のノイエス』であり、本班の快挙の一つと自慢してもいい。もし 3 型と 4 型の HEV に平等に有効なワクチンや抗ウイルス剤が開発し難いのであれば、4 型を優先ターゲットに定めるべし、との現実的な示唆も得られた。

Table V-3. HEV genotype と肝炎重症度の相関

| 診断 | HEV genotype | | 4 型の頻度 |
|-----------------|--------------|-----|--------|
| | 3 型 | 4 型 | |
| 不顕性感染 | 44 | 7 | 14%* |
| 急性肝炎軽症型 | 73 | 46 | 38%** |
| 急性肝炎重症型あるいは劇症肝炎 | 7 | 23 | 77%*** |

*. **. ***此の三つの數字の差異は餘りに顯著である故、統計學的有意差検定を省略した。

Table V-4. 急性肝炎軽症型の中での genotype 3 と 4 の比較

| 肝機能検査値 | HEV genotype | |
|-------------------------|--------------|-----------|
| | 3 型 | 4 型 |
| ALT (IU/L) | 2008±1338 | 3180±2993 |
| Total bilirubin (mg/dL) | 5.7±6.3 | 8.1±5.4 |
| Prothrombin time (%) | 84.5±19.0 | 77.6±20.6 |

(統計學的有意差は存在しないかもしれないが)

3 型と 4 型の間にはゲノム構成上も若干の違い (ORF の frame usage の違い等) が認められる故、replication の速度や virulence に差があつても不思議ではない。例えば、病前期のタイムコースを具さに観察し得た輸血

後 E 型肝炎に於いて、genotype 3 の例と genotype 4 の例を比較すると、血中 viral load の対数增加期に於ける増殖速度は、genotype 4 の方が明らかに高かつた（前久保班員・松林班友等）(Figure V-1)。將

来、動物や培養細胞等を用いた感染実験でも然様な観察が再現されるか否か、興味の抱かれるところである。

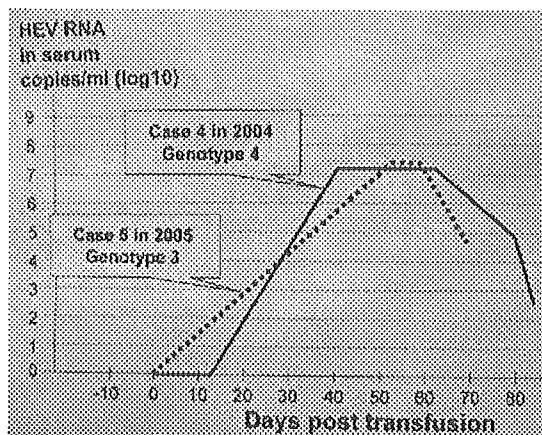


Figure V-1. Changes in viral load compared between infections with genotype 3 and 4 HEV.

E型肝炎症例が北海道で目立つのも、其處に high virulence の strain (genotype 4) が蔓延しているからだと考えられる。

V-4. 感染経路および感染源

調査した 200 有余例のうちの 59%の症例は『感染経路不明』、31%は『動物由来感染』、7.5%は『輸入感染』、2.4%が『輸血による感染』であった。感染経路不明例が過半数であったという事実は、未だ我々の把握していない感染経路が存在している可能性を示唆している。

VI. 本邦土着HEVの起源に関する研究

VI. 本邦土着 HEV の起源に関する研究

HEV が既に本邦に土着してしまっていることには疑いがない。しかし彼等とて太古の昔からずっと日本に居続けた譯ではなかろう。歴史上の何處かの時點で、世界の何處から舞い込み歸化するに至った筈だ。

Where are you from, and when? How?

VI-1. 西暦 1900 年前後

HEV (genotype 3 と 4) が我国に土着してしまっていることは、既に疑いようもない確かな事実であるが、非常に遙かな昔（例えば縄文時代）から此のウイルスが日本列島のヒトやその他の動物に感染していた可能性よりは、もっと近い過去の何處かの時点で蓋し幾度も幾度も、世界の何處から舞い込んで来た可能性の方が高い。そう考え、溝上雅史班員（名古屋市大）に『分子時計解析』を行って貰ったところ、「HEV はおよそ 100 年前（西暦 1900 年前後）に日本上陸した」という答が返って來た⁴¹⁾。

VI-2. イギリスからブタが運んだ？

西暦 1900 年は我国の明治 33 年である。丁度、日清戦争（1894-5）が終わりやがて日露戦争（1904-5）が始まる中間の時期に相当する。当時の日本は、先行する世界の列強達に肩を並べようとして精一杯背伸びしているところだった。その為には軍隊を強くせねばならない。軍隊を強くするには、兵器の近代化は勿論のこと、軍隊を構成する人員の個々の体力も増強させねばならない。日本人も西洋人のように「肉を食べないといけない！」と明治政府は考えた（註：岡山県畜産課のホームページに「明治政府はわが国の富

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、バーカ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た……云々」とある）。分子時計法で推定された『HEV 日本上陸年代=1900 年』とは、イギリスから我国に初めてブタが輸入された年だったのである。

その 1900 年のイギリスのブタ達が HEV を日本に運んで來た可能性がある。HEV genotype 3 は欧米と日本に存在するが、アジアの一国である日本が何故に欧米型の HEV を保有しているのか、これまで全くの謎だったが、1900 年に英國から輸入されたブタが日本にそれを運んで來たとするなら、謎は氷解する。

VI-3. イギリスから世界各地へ？

ヨーロッパと日本以外で genotype 3 が見つかっている国は、米国とカナダとニュージーランドとアルジェンチンであり、前三者は言わずもがな『英國系』の国々であるが、アルジェンチンもまた英國との縁は深く、19 世紀に英國人が多数入植した国である。かく

て、HEV genotype 3 の発祥地をイギリスであると指定すれば、其の地理的分布が上手く説明できる。曾てのイギリス（大英帝国）は全世界を睥睨する大貿易国だから、HEV genotype 3 も輸出していた？！

VI-4. インドからマングースが運んだ？

沖縄に棲息するマングースから HEV RNA が採取された³²⁾ことは既に述べたが、その HEV は genotype 3 であった。マングースはインド原産の食肉目（ジャコウネコ科）の動物で、コブラの天敵として知られていたから、沖縄の毒蛇ハブへの対策としてインドから導入されたのであるが、それがまた偶然にも 1910 年のことであった。

HEV genotype 3 は 1900 年に英國からブタを介して日本に上陸した可能性がある、と先に述べたが、そうではなく（あるいは別のルートとして）、1910 年にインドからマングースを介してまずは沖縄に上陸し、その後、本土に拡がって行った、という可能性もある。インドは HEV の蔓延国だから、非蔓延国である英國からの輸入よりは、こちらの方が考え易い。更に云えば、イギリスも元々はインドから HEV genotype 3 を輸入していたのではないか？（インドは長年大英帝国の傘下にあった国である。数多の文物と人物の往来が両国間には存在したから、HEV の往来も当然にして存在した筈である）。

VI-5. Genotype 4 の謎

Genotype 4 の歴史には別のシナリオが必要である。前述した如く、genotype 4 は北海道に圧倒的な集中を見る。その一方で、北海道からは遠く離れた沖縄の、その更に西方の、台湾に近い西表島（イリオモテジマ）のリュウキュウイノシシからもそれが採れている。そして genotype 4 の分子時計法による日本上陸推定年代は genotype 3 のそれよりも 20-30 年ほど古い。

西表島に近い台湾にも（中国本土にも）genotype 4 が存在するから、イリオモテの genotype 4 は蓋し台湾から来たものと思われる。それが何故、本州を飛び越して北海道に行ってしまったのか、全く謎に包まれているが、曾ての日本には国内交易の主要ルートの一つとして、江戸時代から、北前船（きたまえぶね）が蝦夷地と沖縄の間を往来していた。沖縄の HEV genotype 4 が北前船によって北海道に運ばれた可能性がある。

References

- 41) Tanaka Y, Takahashi K, Orito E, Karino Y, Kang JH, Suzuki K, Matsui A, Hori A, Matsuda H, Sakugawa H, Asahina Y, Kitamura T, Mizokami M, Mishiro S. Molecular tracing of Japan-indigenous hepatitis E viruses. J Gen Virol 2006; 87: 949-54.

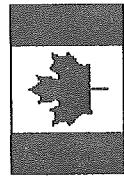
HEV genotype 3

の日本土着化は1900年 前後

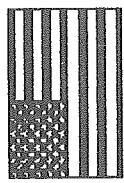
（参考文献：Horn et al., 2005; 稲葉・他、2006）

ITB-Human1 (AB18007A)

歐州以外では



Canada



USA

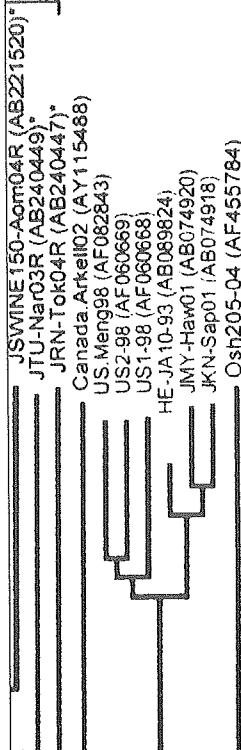


New Zealand

(19世紀に英國から移民、文物の交易が盛ん)

82

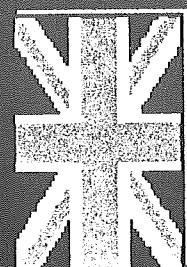
Genotype 3



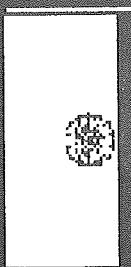
1900

1850

1900年に輸入



1910年

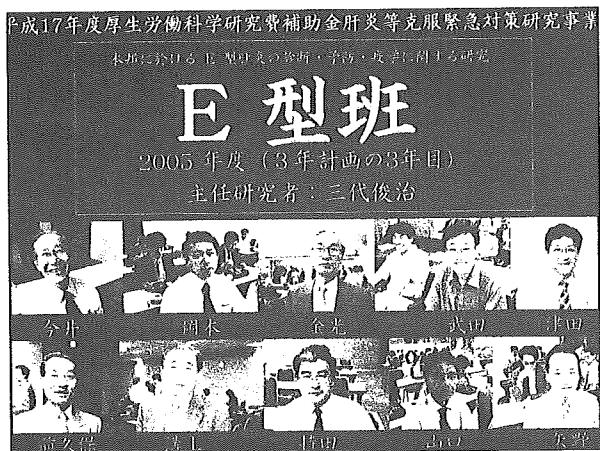


起源に関する研究-3

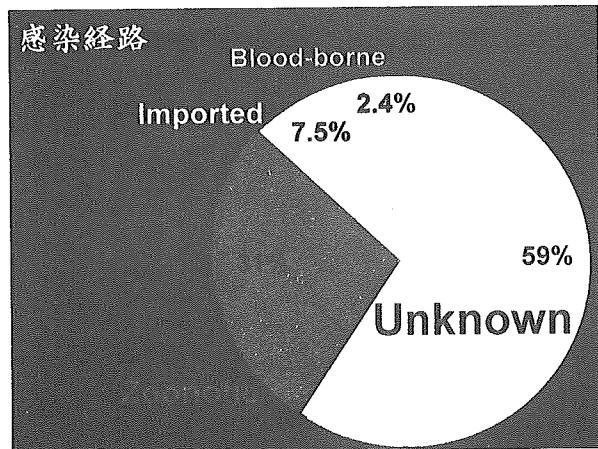
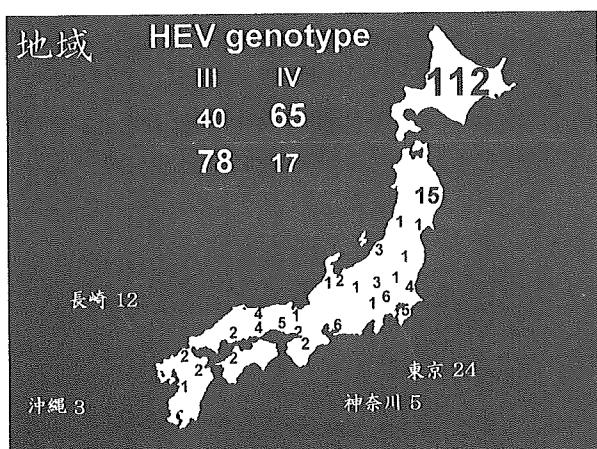
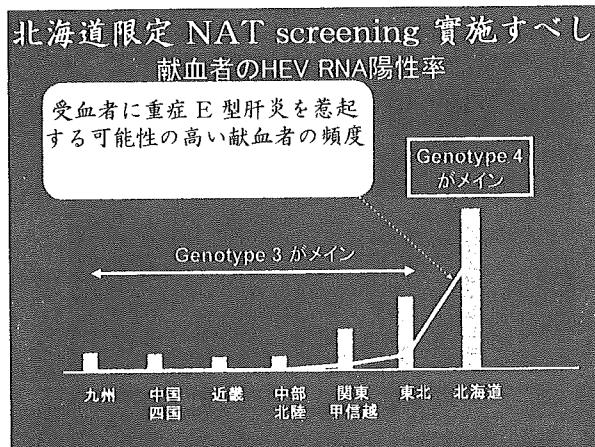
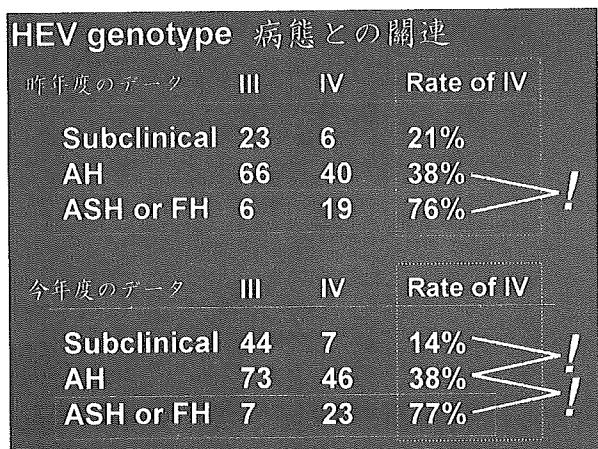
抗体保有率 100%

抗体保有率 20%

VII. スライド・ショー (selected)



| 感染者の年齢 | | 不顕性 | 急性 | 重症型 | 剖症 |
|-----------|----------------|-----------------|-------------|-------------|------------|
| Age group | Total n=237 | Subelin n=71 | AH n=134 | ASH n=21 | FH n=16 |
| 00-09 | 0 0 | 0 0 | 0 0 | 0 0 | 0 0 |
| 10-19 | 2 2 | 2 2 | 0 0 | 0 0 | 0 0 |
| 20-29 | 15 23 | 4 12 | 9 9 | 2 2 | 0 0 |
| 30-39 | 17 37 | 15 24 | 10 11 | 1 1 | 1 1 |
| 40-49 | 15 53 | 6 13 | 32 32 | 5 6 | 2 2 |
| 50-59 | 12 51 | 3 7 | 32 36 | 4 5 | 3 3 |
| 60-69 | 38 45 | 5 7 | 21 24 | 3 5 | 9 9 |
| 70-79 | 16 20 | 2 2 | 12 16 | 1 1 | 1 1 |
| 80-89 | 6 7 | 加齢と重症度の相關 | | | |
| 90- | 0 0 | 0 0 | 0 0 | 0 0 | 0 0 |



ジェノタイプ1, 3および4の中空粒子の作製と性状解析

武田直和、李 天成、宮村達男
国立感染症研究所ウイルス第二部

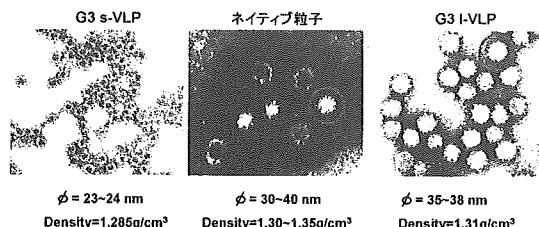


HEVキャプシドタンパク質を発現する形質転換植物の開発

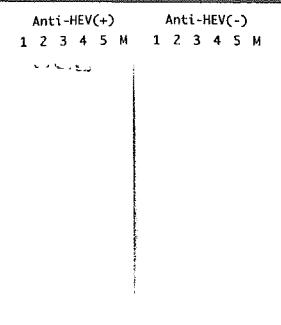
中央農業総合研究センター
ウイルス肝炎財団リサーチラボレーティント
協力分担：東芝病院研究部

津田 新哉
大西 純
高橋 和明

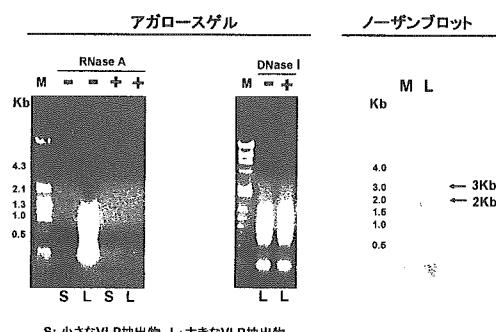
大きな粒子はネイティブな粒子と似た形態をもつ



HEVキャプシドタンパク質の発現

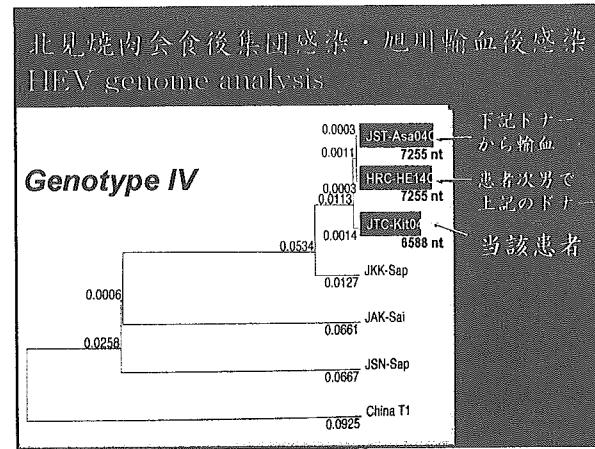
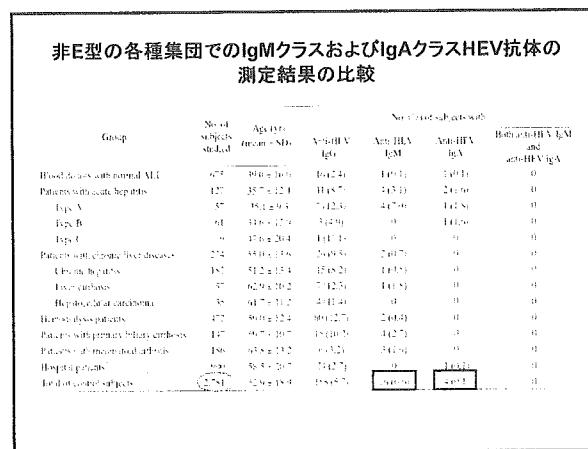
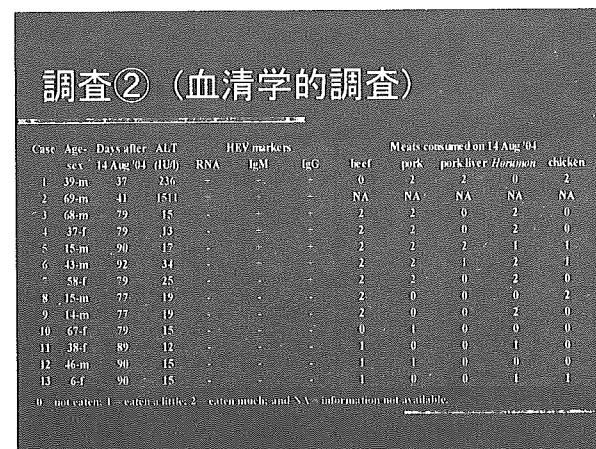
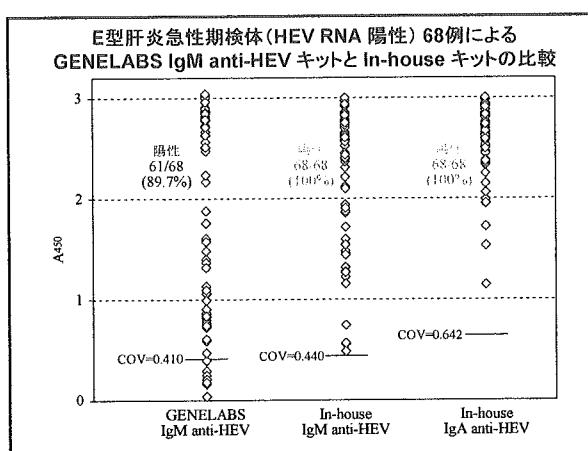
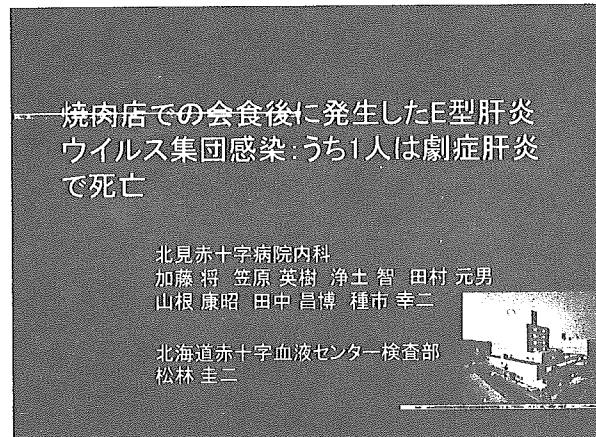
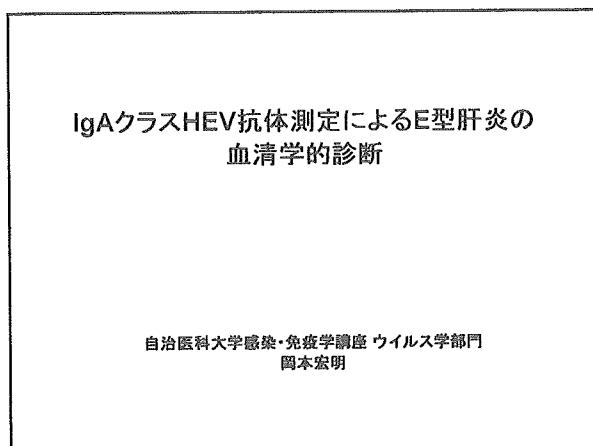


大きな粒子はRNAを含む



タバコ由来抗原を用いた感染者血清のスクリーニング

| | Anti- RNase A (+) | Anti- RNase A (-) | Anti- DNase I (+) | Anti- DNase I (-) | Anti- RNase (+) | Anti- RNase (-) |
|--------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------------|-----------------------|
| Genotype IV | | | | | | |
| JSI | + | | | | + | + |
| JRS | + | | | | | |
| JVA | + | | | | + | |
| Genotype III | | | | | | |
| JRA | + | | | | | |
| JRS | + | | | | + | |
| JRN | + | | | | | + |



国立病院機構内におけるE型肝炎発生頻度の推移

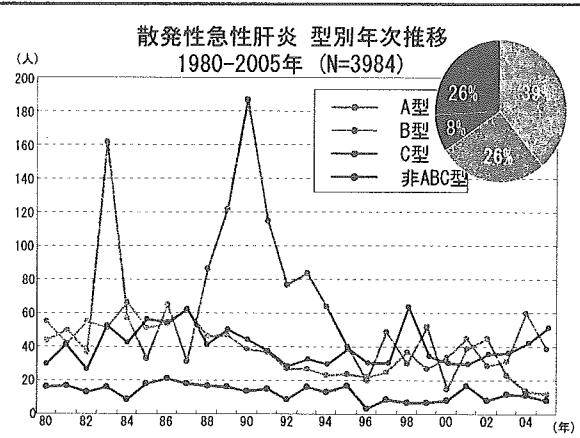
国立病院機構長崎医療センター 臨床研究センター
矢野公士 玉田陽子 大黒学 八橋弘 石橋大海

厚労省肝炎等克服(中略)合同会議
2004年1月15日 東京

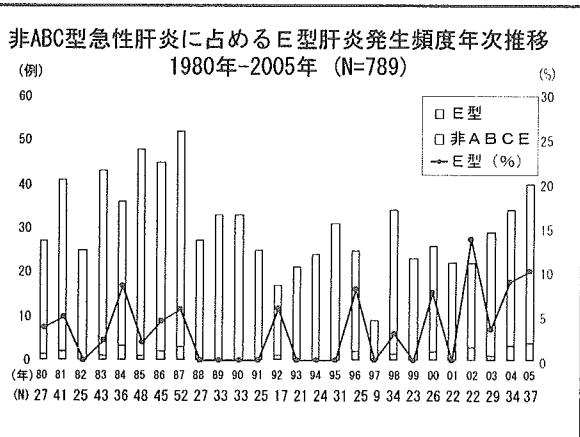
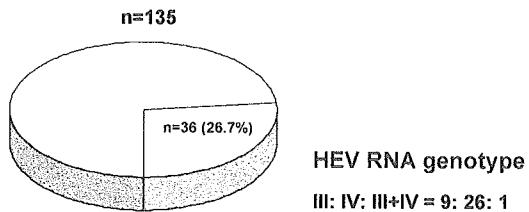
E型急性肝炎の臨床像に 関わる幾つかの知見

手稻渓仁会病院

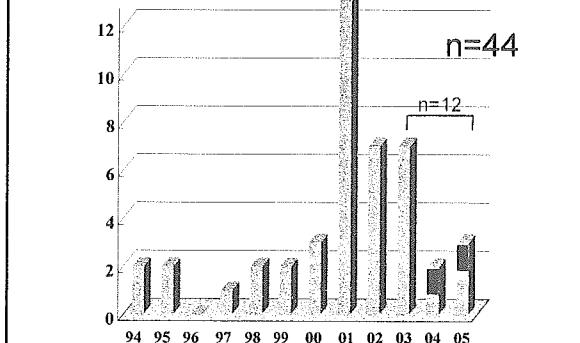
消化器病センター 姜 貞憲
内科 前久保 博士

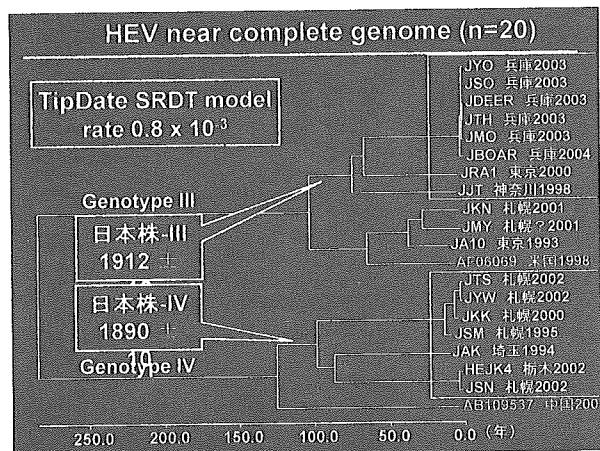
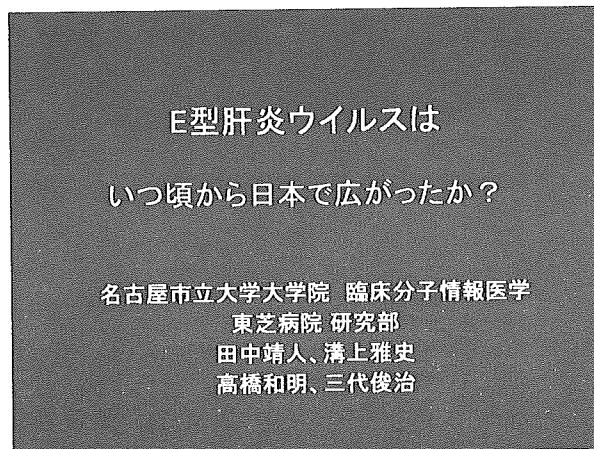
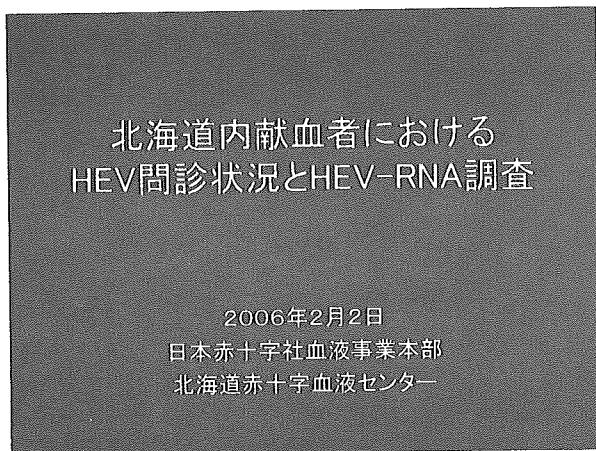


成因不明急性肝炎にしめる E型の割合とHEV RNA genotype



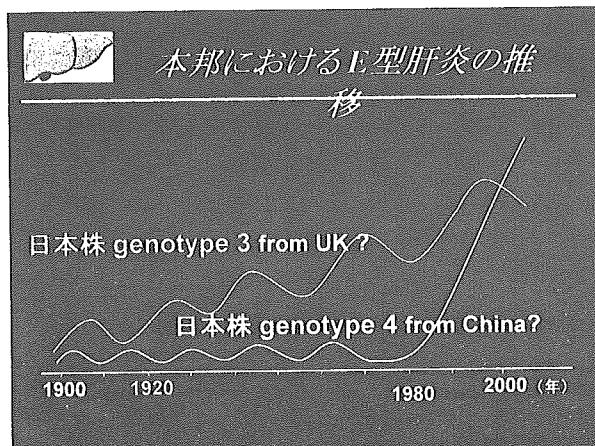
札幌市内2施設における E型急性肝炎症例の年次別推移 '94-'05





結語

- 北海道地区の献血者におけるHEV-RNA陽性頻度は、調査期間中、9,848人に1人と予想以上に高かった。
- 調査期間中、HEV-RNA陽性血が6名の患者に輸血され、2名が感染し(1名は肝炎発症、1名は現在未発症)、1名は未感染、3名は原疾患にて死亡した。
- 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。
- 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。



あとがき

楽しんで作る！と宣言して編集を開始したものの、竜頭蛇尾、時間に追われ、此の『総集編』作成は、寧ろ苦しき作業になってしまった。

班員・班友諸兄姉の研究成果を可及的遺漏無く盛り込もうとは思ったが、読み手のことを考えると、ストーリーから外れた研究成果は寧ろ割愛すべきだと思われたので、一部の班員・班友の業績をば全く紹介せぬままに終ってしまった。誤解しないで頂きたい。彼等も立派に仕事した。

嗚呼、弁解だらけの『あとがき』を書いている己れが情けない！入稿予定時刻まで残り 10 min を切った。あとはもう謝辞しかない。全ての班員・班友諸兄姉、3 年間の御付き合い、有難うございました。

そして、私の秘書役の木村ゆかりさん、御辛抱に感謝します。

平成 18 年 3 月 28 日
主任研究者 三代 俊治

平成 15-16-17 年度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」報告書

総集編

発行日：2006 年 3 月 31 日

発行人：主任研究者 三代俊治（東芝病院研究部）

発行所：主任研究者所属機関 〒140-8522 東京都品川区東大井 6-3-22 東芝病院研究部

印刷：京浜印刷（株）

本報告書に掲載されました論文及び図表には著作権が発生しております。御利用にあたり御留意ください。