

200728009A

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

E型肝炎の感染経路・宿主域・遺伝的多様性・感染防止・診断・
治療に関する研究

平成 19 年度 総括研究報告書

主任研究者 三代 俊治

平成 20 年(2008)4 月

まえがき(おことわり)

第一次E型班(平成15-17年度)と第二次E型班(平成18年度にスタート)で都合5年間に亘り班長を務めて来た私が、あと一年の豫定任期を自ら抛擲し、降板することになった。降板の理由は、それを知るべき人達には色々と説明済みなので(「理由がコロコロ変わる!」という批判もあったが)、此處には述べない。とにかく私は断固として辞める。

これまでの5年間を顧みて、岡本宏明班員(自治醫大)の業績が卓越していることは万人の認めるところである故、後任班長の候補者として第一に私の脳裡に浮上したのは當然の如く岡本先生であった。而るに、3年計画の2年目までの「ひとのフンドシ」を、最後の1年だけ岡本先生に締めさせるのは流石に氣が引けた。岡本先生には再来年からスタートするであろう「新班」の舵取りをして貰いたい。

と書くと、矢野公士先生(國立長崎醫療セ)には大變失禮な話になる譯だが、3年目班長の代打は、矢野班員に御務め頂くことにした。班員中最も若く、基礎も臨床も解るし、ゾーキングケも厭わない。これが、矢野先生に白羽の矢をあてた理由である。御快諾頂いたことに深謝する。

此の2月、辞めることに決め後任も定まってホッとした私の油斷を、NEJMから送られて来た刺客が襲った。「慢性E型肝炎」という名の刺客である。私はバツサリと切られ、最早戦う力がない。矢、矢野先生、..... あ、あとを頼む.....

2008.03.26

主任研究者 三代 俊治

目次

I. 総括研究報告	頁
1. 班長報告:平成 19 年度のハイライト	(三代俊治) 5
2. 班友報告:E 型劇症肝炎の一例	(依田 広) 13
3. 班友報告:重症型急性 E 型肝炎例の検討	(川上万里) 15
4. 班友報告:E 型急性肝炎における血清 IgM 値の推移	(鈴木一幸) 16
5. 班友報告:兵庫県の野生猪およびアライグマにおける HEV 感染実態調査	(北嶋直人) 21
II. 分担研究報告	
1. E 型肝炎ウイルスの感染培養系	(岡本宏明) 27
2. キメラマウスでの E 型肝炎ウイルスの増殖	(武田直和) 29
3. HEV キャプシド蛋白を発現する形質転換植物の開発	(津田新哉) 32
4. ①E 型肝炎ウイルスの分子進化; ②Anti-HEV IgA 抗体の有用性	(田中靖人) 36
5. 北海道地区献血者集団に於ける HEV 感染の実態解明	(日野 学) 39
6. 本邦における非 ABC 型肝炎、特に E 型肝炎の動向と特徴	(矢野公士) 43
7. 北海道における E 型急性肝炎の臨床像と HEV 伝搬経路	(姜 貞憲) 46
8. ①劇症肝炎、遅発性肝不全における HEV 感染の実態調査(2006 年); ②重症化、遷延化した E 型急性肝炎の 1 例	(坪内博仁) 49
9. 関東地域で屠殺解体される豚の生産地およびその地域で流通・消費される豚肉	(品川邦汎) 51
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	 57
IV. 研究成果の刊行物・別刷	 61
V. 参考 (衝撃の「慢性 E 型肝炎」!)	 173

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 19 年度

総括研究報告書

E 型肝炎の感染経路・宿主域・遺伝的多様性・感染防止・ 診断・治療に関する研究

主任研究者 三代 俊治 東芝病院研究部長

要旨 平成 19 年度研究のハイライト: [i] 北海道に於ける全献血者 HEV RNA スクリーニングにより不顕性感染の実態への認識が深化した(不顕性感染の意外な多さ; viremia の意外な長さ)。[ii] *in vivo* 及び *in vitro* の感染実験が始動し興味ある示唆が得られた(齧歯類の感染感受性に関する疑義; genotype 間の増殖能の差異)。[iii] HEV が NASH の増悪因子かもしれないことを示唆する症例の発掘。[iv] 急性期診断への IgA anti-HEV の有用性の再認識。[v] 診断系評価の為に「HEV 血清パネル ver-1」の出来。主に此の五点について以下報告する。

<分担研究者(班員)> abc 順

日野学	日本赤十字社血液事業本部
姜貞憲	手稲溪仁会病院消化器病センター
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分野
岡本宏明	自治医科大学感染免疫学講座ウイルス学部門
品川邦汎	岩手大学農学部獣医学科応用獣医学講座食品安全学研究室
武田直和	国立感染症研究所ウイルス第二部第一室
坪内博仁	鹿児島大学大学院医歯学総合研究科人間環境学講座消化器疾患生活習慣病学
津田新哉	独立行政法人農業生物系特定産業技術研究機構中央農業総合研究センター病害防除部病害防除システム研究室
矢野公士	独立行政法人国立病院機構長崎医療センター臨床研究センターウイルス免疫研究室

<班長研究協力者(班友)> abc 順

安倍夏生(東芝病院)、新智文(帯広厚生)、新敷吉成(済生会高岡)、新井雅裕(東芝病院)、林純(九大)、平野史生(今村病院)、市田隆文(順天堂静岡)、依田広(京大)、垣見和宏(東大)、狩野吉康(札幌厚生)、加藤孝宣(東芝病院)、加藤将(北大)、川上万里(倉敷成人病センター)、川西輝明(札幌緑愛病院)、KIM Dong-Joon(翰林大校校附属春川聖心病院)、金守良(神戸朝日病院)、北村庸雄

(順天堂浦安)、北嶋直人(市立加西)、古藤和浩(九大)、前久保博士(手稲溪仁会)、正木尚彦(国立国際医療センター)、松林圭二(北海道日赤)、松井高峯(帯広畜産大)、松田裕之(松田内科)、目黒高志(北海道消化器科病院)、道堯浩二郎(愛媛大)、峯村正実(富山大)、宮西浩嗣(札幌医大)、宮下憲暢(網走厚生)、水尾仁志(勤医協中央)、森宏光(長野赤十字病院)、大平浩司(岩見沢市立総合病院)、大西幸代(公立芽室病院)、大竹孝明(旭川医大)、佐賀啓良(愛育病院)、佐久川廣(ハートライフ病院)、真田拓(福井済生会病院)、Shih JWK (Xiamen University)、杉之下与志樹(京大)、鈴木一幸(岩手医大)、鈴木康秋(旭川佐野病院)、高橋和明(東芝病院)、豊田一弘(九大)、津田文男(東芝病院)、常松泉(東栄病院)、露口雅子(札幌北楡病院)、和田太郎(兵庫県北播磨県民局地域振興部社農林振興事務所森林林業課)、渡辺雅男(北見赤十字病院)、山本義也(市立函館病院)、吉田行範(砂川市立病院)

(註: 記入漏れが存在する可能性もあり)

A. 研究目的

感染経路の全解明、及び、診断・治療・予防法の確立。

B. 研究方法

発生动向とリスク因子の調査、献血者感染実態の調査、ウイルス株塩基配列の蒐集と解析、ウイルス蛋白発現とその応用、宿主動物調査、食品媒介感

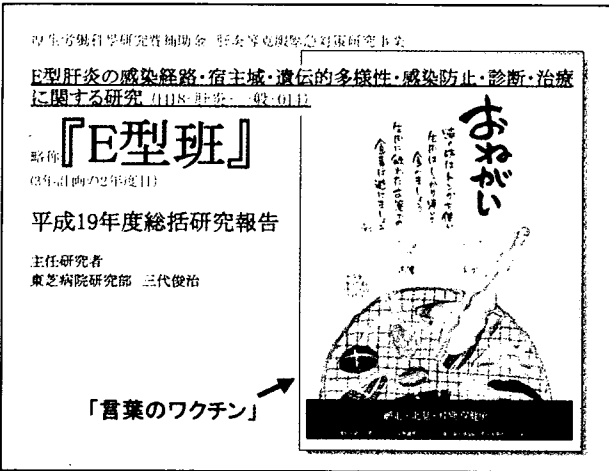
染の可能性の調査、抗ウイルス剤開発の為の予備研究(方法詳細は個別記載)。

＜倫理面への配慮＞

行った全ての研究は、個人情報保護を旨とする倫理規定を厳守しつつ行われた。

C. 研究結果及び考察

[1] 果たして『言葉のワクチン』の効果は有りや無しや？



我々は未だ、実用可能なHEVワクチンをば世の中に提供し得ていないが、当研究班より数度に亘り発報した健康危険情報通報や、北海道内の有志により作成されたポスターや、新聞報道等が、総じて『言

葉のワクチン』として世の中に作用した可能性はある。即ち、我国に於けるHEVの重要な感染経路として動物由来食感染 (zoonotic food-borne transmission) が存在するという警告を、我々は執拗に世の中へ向けて発信して来たつもりである。

例えば左図のポスターは、2007年初頭に網走保健福祉事務所によって作成され、北海道内にて流布されたものである(詳細は前年度報告書参照)が、斯様な『言葉のワクチン』に一体どれほどの効果があったのか？「焼け石に水」なのか？それとも「涓滴岩を穿つ」なのか？かりそめにも「肝炎等克服緊急対策研究事業」の一環として実施されている当研究班の活動は、世の中への波及効果と無縁のものであつてはならない譯だから、少なくとも自問自答はしておかねばならない。

[2] 北海道に於ける HEV 感染の増減は？

発症例については全道的調査結果が未見であるが、少なくとも不顕性感染例については、北海道赤十字血液センターによって2005年1月1日から開始された全献血者HEV NAT screeningによって、少なくとも過去3年間のトレンドを推し量ることが出来る(下図参照)。上記[1]の設問への答や如何に？

Q E型肝炎に関する情報開示や豫防キャンペーンは、感染者数の減少を齎し得たか？

北海道血液センター 松林圭二等

HEV NAT 陽性頻度の年次推移

北海道BC管内

	2005年		2006年		2007年		合計	
	女性	合計	女性	合計	女性	合計	女性	合計
検査数	118,271	295,446	106,181	273,686	99,312	265,660	323,764	834,796
陽性者数	13	30	12	39	3	31	28	100
陽性頻度 (延べ1万人当り)	1.1	1.0	1.1	1.4	0.3	1.2	0.9	1.2

A 女性では減り始めたように見えるが
男性では不変

これを見るに、述べ1万人あたりのHEV RNA陽性者数が、女性では2005年及び2006年の1.1人から2007年の0.3人へと減少を呈したが、男性では(性懲りもなく)1.0→1.6→1.7と、一向に減る気配がない。この種のコンプライアンスは女性の方が高いのかもしれない。

[3] HEV RNA 陽性率は高いのか低いのか？

ところで、世界の中で日本だけが、そして日本の中で北海道だけがやっている全献血者 HEV RNA スクリーニングという快挙から見えてくるものは甚だ多い。そのうちの一つは、他の感染症との prevalence の比較である。下図を御覧頂きたい。

Q HEV RNA prevalence compared to other viruses ?

北海道血液センター 松林圭二等
北海道内献血者のNAT陽性頻度推定値

2005年 延献血者総数: 295,448
2005年 実献血者総数: 194,810

	HBV ^{*1}	HCV ^{*2}	HIV-1 ^{*3}	HEV
陽性者数	229	60	3	30
陽性頻度 (延献血者1万人当り)	7.8	2.0	0.1	1.0
陽性頻度 (実献血者1万人当り)	11.8	3.1	0.2	1.5

*1 HBsAg陽性 あるいは HBV DNA陽性
*2 HCV Ab陽性 かつ HCV RNA陽性
*3 HIV-1 Ab陽性 かつ HIV-1 RNA陽性

A 決して低くはない
HCV の半分、HIV の 10 倍

HEV は HBV・HCV・HIV と違って持続感染型のウイルスではない。宿主から宿主へとジャンプを繰り返しながら、宿主の中ではなく集団の中で持続しているウイルスである。にもかかわらず、瞠目すべきことに、HEV の prevalence は HIV の約 10 倍、HCV の 1/2 に達する。決して「稀な感染症」ではない。

[4] ウイルス血症の持続期間

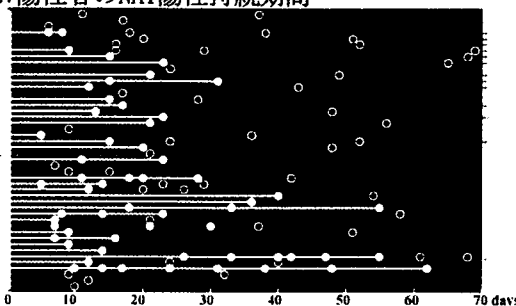
北海道血液センターの此の調査から出て来た今一つの重要な示唆は、「viremia 持続期間が結構長い」というものである。2008 年 2 月 21 日號の NEJM に臓器移植患者に於ける「慢性 E 型肝炎」が報告され注目を浴びたが、健常者に於ける不顕性感染例でもおよそ 2 ヶ月にも及ぶ持続感染が観察されたことは、我々の過去の常識に大幅な修正を促すもので

ある。献血時 HEV RNA 陽性者を丹念にフォローした北海道血液センターの研究努力に敬意を表したい。

(註: HEV の不顕性感染に斯様なまでに深く踏み込んだ調査は古今東西これが初めてである)

Q How long does HEV's viremia persist ?

北海道血液センター 松林圭二等
HEV陽性者のNAT陽性持続期間



A 結構長い。2ヶ月以上のケースもある

[5] *in vivo* 感染実験: マウス

国立感染研の李天成等はヒト肝キメラマウスを用いた HEV 感染実験に本年度から着手したが、本番実験の前に、彼等が通常マウスを用いた予備実験を実施したことは実に用意周到であった。即ち、過去に、齧歯類から HEV 抗体や HEV RNA を検出したとの報告がなされて来たものの、本當に齧歯類が HEV の reservoir たり得るかについては、真偽が定かでなかったのである。

Q 齧歯類はHEVのreservoirsたり得るか？

国立感染研 李天成・武田直和等

健常マウス (C57BL/6) に尾静脈からHEVを接種し、ウイルス増殖の有無を検討した

接種ウイルス: $3 \times 10^2 \sim 3 \times 10^4$ コピー/100ul

	HEV/G1	HEV/G3	HEV/G4
4ヶ月齢	2	2	2
9ヶ月齢	2	2	1

結果: 血中、便中HEV-RNAはRT-PCRで陰性
血中IgG & IgMはELISAで陰性

A 健常マウスはHEVに対して感受性を有しない

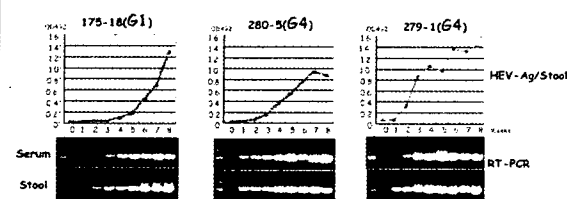
この予備実験の成績は、上図の如く、「マウスは HEV の reservoir たり得ない」ことを示唆した。かくて、

ネパールのラットからHEV RNAを採ったとする過去の報告にも、彼方此方から報告されたネズミのHEV抗体のデータにも、疑義が生ずることとなった。

同じ接種材料を用いても、マウスの肝臓の一部をヒトの肝細胞で置換したところの所謂「ヒト肝キメラマウス」に接種すれば、見事に感染が成立した(下図)。

Q マウス感染実験-2: マウスの肝臓の一部をヒト肝臓で置換すると?

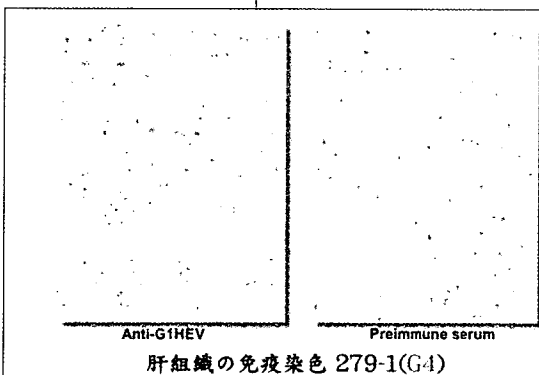
国立感染症研 李天成・武田直和等
ヒト肝キメラマウスを用いたHEV感染実験



A 感染が成立!

そして、当然といえば当然の結果であるが、このヒト肝キメラマウスに於けるHEVの感染増殖の場がヒト肝細胞であることも、免疫組織染色で証明された(下図)。

Q 増殖の場は? **A** ヒト肝細胞である



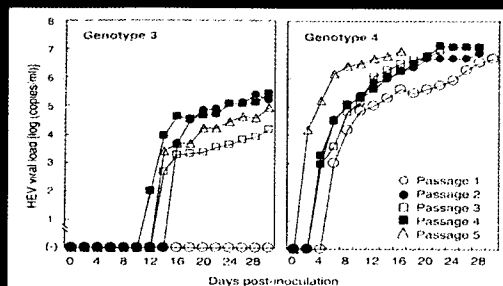
[6] *in vitro* 感染実験:細胞培養

既に前年度に岡本宏明班員等はgenotype 3のHEV株をcell cultureで継代することに成功していたが、今年度はgenotype 4についても同様の細胞培養系の確立に成功した。我が國に土着するHEVが専らgenotype 3と4のみであること、genotype 4の方

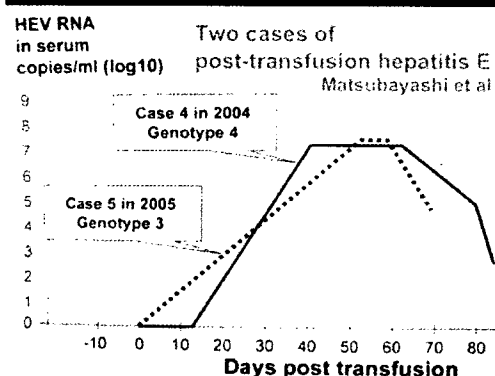
が病原性が高いと推定されていること、等に鑑みて、この成果の意味は大きい。培養細胞でのHEV増殖に於いても、ヒト感染例のそれに於いても、genotype 4の方がgenotype 3より高速度増殖能を示している点が特に注目される(下図2点)。

Q 細胞培養系は? **A** Genotype 3に續きg4についても確立!

自治醫大 岡本宏明等
Genotype 3 HEV (JE03-1760F株)とgenotype 4 HEV (JE02-4760F株)の比較



in vitro に於ける増殖能力の差 (g4 > g3) は



従前の臨牀觀察結果と合致

前述した「臓器移植患者に於ける慢性E型肝炎」や、稀ながら発生する「劇症E型肝炎」の存在に鑑みて、HEVに対する抗ウイルス剤は、無いより有った方がよい。そして、その開発の為には、この細胞培養系や前項で述べたヒト肝キメラマウスの系が役に立つ。

[7] NASHよ、おまえもか!?

一旦は薬物性肝炎とか自己免疫性肝炎と診断されていたケースが実はE型肝炎であったことが後に判明したり、慢性B型肝炎の急性増悪と考えられていたケースが実は「E on B」であったりしたことが、これまでに報告されている。臨床の現場でHEV感染診断がルーチンに行われてはいない現状に於いて、

これは無理からぬ現象である。

坪内博仁班員等の経験した「NASHの急速進展例」も、もしHEV感染の検査を行ってさえいなければ、単なるNASHとして片付けられていたであろうケースである(下図)。

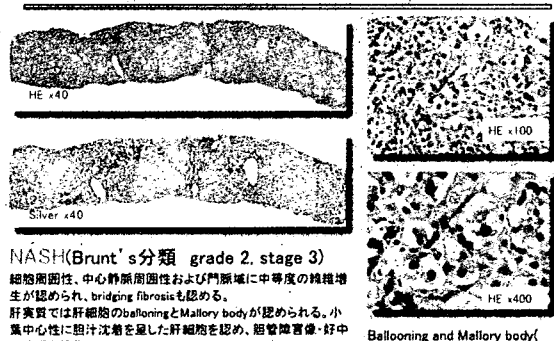
Q E型肝炎(特に重症例)に於ける病理像とその示唆は?

重症化、遷延化したE型急性肝炎の一例

坪内 博仁
鹿児島大学消化器疾患・生活習慣病学

A NASH様の病理像を呈した症例がある

第116入院病日の肝組織



斯様な症例の存在に気付いた以上、おしなべてNASH例の既往歴にHEV感染があったのかなかったのか、せめてIgG anti-HEVの陽性率を対照群との間で比較してみたいところである。

[8] 急性期診断の為の抗体検出

前項とも関連するが、結局のところ、保険適用されたHEV感染診断系が未出であることが、「誤診」や「過少診断」の大きな原因になっている。更に云えば、E型肝炎は「四類感染症」として届出を義務付けられている疾患であるにもかかわらず、臨床の現場はその診断に苦慮する状態が続いている。これは言語道断のジレンマである。よい診断系が存在しないか

ら保険が未適用であるという理由ならまだしも、既に2年前から承認申請中であるIgA anti-HEV検出系については、国外で使用されている(あるいはin-houseの)IgM anti-HEV検出系に優るとも劣らぬ感度&特異性が報告されている。今年度の研究に於いても、田中靖人班員等から、IgMで頻発する非特異反応がIgAでは稀であることが報告された(下図)。

Q.急性期診断に有用な抗体検出系は?

Case No.	Gender	Age	Diagnosis	Sampling day	Anti-HEV			HEV RNA
					IgG	IgM	IgA	
AH1	M	23	NABC	6	(+)	(+)	(+)	(+)
AH2	M	32	NABC	3	(+)	(+)	(+)	(+)
AH3	M	60	NABC	35	(+)	(+)	(+)	(-)
AH4	M	44	AHA	2	(+)	(+)	(-)	(-)
AH5	F	21	NABC(EBV)	2	(-)	(+)	(-)	(-)
AH6	M	35	NABC(CMV)	3	(-)	(+)	(-)	(-)
AH7	M	43	AHA	2	(+)	(-)	(-)	(-)
AH8	M	60	AHA	1	(+)	(-)	(-)	(-)
AH9	M	45	AHA	2	(+)	(-)	(-)	(-)
AH10	M	48	NABC	8	(+)	(-)	(-)	(-)

A. IgA anti-HEVである

名古屋市大 田中靖人等

審査・認可・承認のプロセスに携わる人達は、一体全体、何が理由で結論を先延ばししているのだろうか? 何が理由で、一つのアクションから次のアクションまでに3ヶ月とか6ヶ月という長い時間を費やしたりしているのだろうか?

[9] HEVアッセイ試金石パネル

北海道赤十字血液センターが2005年1月1日から開始したHEVスクリーニングの副産物として、HEV RNA 陽性のサンプルを約100本確保することが出来た。それらの一部と、抗体のみ陽性であるサンプルや、疑陽性反応の出るサンプル等を組み合わせ、全部で40本から成る「コード化されたHEV Serum Panel」の第一弾を作成した。国内国外には既に数種類の市販キットがあるし、彼方此方のラボに夫々のin-houseの系が存在するので、HEV感染診断の標準化の為に、今後、このパネルが広く用いられることになる。その最初の試みとして、中国XiamenのDr JWK Shihのラボのin-house systemを評価する共同作業が、松林圭二班友と溝上雅史班友等によって行われた。Decodeの結果は来年度に報告。

D. 健康危険情報

今年度は発報せず。

E. 研究発表

Michitaka K, Takahashi K, Furukawa S, Inoue G, Hiasa Y, Horiike N, Onji M, Abe N, Mishiro S. Prevalence of hepatitis E virus among wild boar in the Ehime area of western Japan. *Hepatol Res* 2007 Mar;37(3):214-20

Tamura A, Shimizu YK, Tanaka T, Kuroda K, Arakawa Y, Takahashi K, Mishiro S, Shimizu K, Moriyama M. Persistent infection of hepatitis E virus transmitted by blood transfusion in a patient with T-cell lymphoma. *Hepatol Res*. 2007 Feb;37(2):113-20

Koike M, Takahashi K, Mishiro S, Matsui A, Inao M, Nagoshi S, Ohno A, Mochida S, Fujiwara K. Full-length sequences of two hepatitis E virus isolates representing an Eastern China-indigenous subgroup of genotype 4. *Intervirology* 2007;50(3):181-9. Epub 2007 Jan 26

Achwan WA, Muttaqin Z, Zakaria E, Depamede SA, Mulyanto, Sumoharjo S, Tsuda F, Takahashi K, Abe N, Mishiro S. Epidemiology of hepatitis B, C, and E viruses and human

immunodeficiency virus infections in Tahuna, Sangihe-Talaud Archipelago, Indonesia. *Intervirology* 2007 50 (6): 408-11.

高橋和明, 安倍夏生, 道堯浩二郎, 北嶋直人, 松井高峯, 津田新哉, 新井雅裕, 三代俊治. 動物種の如何を問わず E 型肝炎ウイルス抗体を検出し得る簡便 ELISA 法. *肝臓* 2007; 48: 338-340

三代俊治. 日本における E 型肝炎の現状. *感染症*. 2007 37 (1): 23-8.

藤山洋一, 山岸由幸, 菊池真大, 下地顕一郎, 加藤眞三, 永田博司, 齋藤英胤, 日比紀文, 三代俊治. 人工肝補助療法を施行し救命し得た genotype IV の E 型劇症肝炎の 1 例. *日本消化器病学会雑誌*. 2007 104 (2): 219-25.

三代俊治. 肝炎ウイルス ABCDE:とりわけ食品衛生学的に問題となる A 型および E 型について. *食品衛生学雑誌*. 2007 48 (2): J171-7.

F. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許: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

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)
**E型肝炎の感染経路・宿主域・遺伝的多様性・感染防止・診断・
 治療に関する研究**

平成19年度
 班友研究報告書

E型劇症肝炎の一例

班友 依田 広 京都大学病院消化器内科

研究要旨: E型劇症肝炎の一例を経験したので報告する。症例は79歳男性。急性肝炎と診断され紹介入院となった。当初非A非B非C肝炎と診断し、保存的に対処していたが、第26入院病日に劇症化し、E型劇症肝炎(亜急性型)と診断した。ステロイドパルス治療、血漿交換、血液濾過透析にて対処したが、肝不全・肝萎縮が進行し、第63入院病日に死亡した。HEVの遺伝子解析にてGenotype3型であった。感染経路は不明であった。E型劇症肝炎の標準的治療は確立されておらず、今後症例の蓄積による治療法の検討が必要である。

<共同研究者>

杉之下与志樹、池田篤志、千葉勉:京大病
 院消化器内科
 高橋和明、三代俊治:東芝病院研究部

透析導入(70歳)、狭心症(78歳)

家族歴:父:狭心症、姉:胃癌

生活歴:喫煙:25本/日(20-40歳)、飲酒日
 本酒3合(20-40歳)、井戸水摂取なし、生肉、
 生牡蠣摂取なし、この数年遠方の旅行歴な
 し

A.はじめに

Genotype3型によるE型劇症肝炎(亜急性
 型)の一例を経験した。救命し得なかったが
 貴重な症例と考えられ、報告する。

現症:意識清明、羽ばたき振戦なし、体温
 36.7℃、血圧155/67mmHg、脈拍105/分・
 整、眼瞼結膜に軽度貧血あり、眼球結膜に
 黄染あり、胸部聴診上異常なし、腹部は平
 坦・軟で、圧痛なし、心窩部にて肝を3横指
 触知。

B.症例報告

症例:79歳、男性

主訴:全身倦怠感、発熱、食欲低下

現病歴:糖尿病性腎症にて近医にて維持透
 析中であった。5日前より微熱を自覚し、翌
 日抗生剤を処方された。その後も解熱がみ
 られず、全身倦怠感・発熱・食欲低下も伴っ
 てきた。血液検査にて肝胆道系酵素高値と
 黄疸を認め、急性肝炎と診断され当院紹介
 入院となった。

既往歴:糖尿病(60歳)、糖尿病性腎症にて

入院時検査所見(Table1, 2):肝胆道系酵
 素高値、黄疸あり。肝炎ウイルスマーカーは
 B型は既感染、A型・C型は否定的、CMV・
 EBは既感染であった。薬剤性肝障害の嫌
 疑薬のDLST陰性。

腹部CT:肝萎縮なし、マップサインなし

入院後経過(Figure):入院後トランスアミナ
 ーゼは急速に低下し、PT活性も一時的に改
 善傾向となった。しかし黄疸が徐々に進行し、

PT活性も低下傾向に転じた。第26入院病日に、HEV-IgM+が判明すると同時に、脳症II度、PT活性29%となり、E型劇症肝炎亜急性型と診断した。ステロイドパルス治療、血液濾過透析を開始し、脳症悪化時には血漿交換をおこなった。その後、脳症の改善なく、黄疸は次第に悪化し、肝不全・肝萎縮が進行し、第63病日に死亡した。

剖検所見：肝重量 730g、再生結節なし。門脈域周囲の肝細胞壊死、細胆管増生、胆汁栓がみられた。繊維化の所見なし。

HEV 遺伝子解析：入院時血清にてHEV-RNA 陽性、Genotype は 3 型 (JSW-Kyo-FH06L)。第47入院病日の血清中および剖検肝においてHEV-RNA検出されず。

C. 考察

本症例では、経過の後半において血清中からHEV-RNAは消失しており、剖検肝においてHEV-RNAの消失を確認したが、臨床経過において黄疸は悪化し、肝不全の進行がみられ、死亡するに至った。他のE型劇症例肝炎死亡例においても、経過中早期に血中HEV-RNAが消失していたことが報告されている。これらの事実は、HEVが消失しても肝不全が非可逆的に進行する可能性を示唆している。過剰な免疫応答が、早期のウイルス排除と同時に肝細胞の大量壊死をもたらす可能性などが考えられるが、重症例と軽症例での血中ないし肝組織中ウイルス量の

比較や、ウイルス血症の持続期間の解析が、劇症化の病態解明の一助となる可能性がある。

自験例を含め、E型劇症肝炎の国内報告例は12例あった。うちGenotype4型が9例(75%)と多くを占めている。本症例はGenotype3型であったが、genome解析にて一部genotype4型に共通する要素をもつ点が興味深い(詳細は別項)。

E型劇症肝炎の予後は極めて悪く、12例中死亡例が10例(83%)と大半を占めた。生存例2例の治療法は、1例ではステロイドパルス・免疫抑制剤・血漿交換・血液濾過透析、もう1例では血漿交換と持続血液濾過透析が行なわれていたが、他の死亡例との間に治療法に本質的な差異はみられず、現時点ではE型劇症肝炎の標準的治療法は確立されていない。重症肝炎例や劇症肝炎救命例を中心に症例を蓄積し、詳細に治療法をレビューすることにより、劇症化の予防法や治療法を確立していくことが急務である。

D. 結語

E型劇症肝炎(亜急性型)の一例を経験した。血中や肝臓からのHEV-RNA消失にも関わらず、黄疸・肝不全が進行し救命できなかった。

E. 研究発表

未発表

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)
**E型肝炎の感染経路・宿主域・遺伝的多様性・感染防止・診断・
治療に関する研究**

平成19年度
班友研究報告書

重症型急性E型肝炎例の検討

班友 川上万里 倉敷成人病センター内科

研究要旨: 鳥取県東部在住の成人男性に発生した重症型急性E型肝炎の一例を経験した。Full genome sequencing によりgenotype 3と判明した。

<共同研究者>

高橋和明、三代俊治:東芝病院研究部

A.研究目的

E型肝炎の重症化因子を探る。

B.研究方法

2005年に経験した鳥取県東部にて発症した重症型急性E型肝炎症例の経過を報告する。またその血清よりRNAを抽出し、full sequenceにてgenotypeを同定する。(倫理面への配慮:患者に文面同意をとり、血清ラベルをイニシャルにするなど個人が同定できないようにした。)

C.研究結果

症例は65才男性。鳥取県東部在住。野生動物および豚の生食の既往はなかった。近年海外渡航もなく、感染経路は不明であった。2005年6月24日、黄疸と肝障害にて入院。入院時 T.Bil. 3.9mg/dl、AST 9238IU/l、ALT 6134IU/l、P.T.値39%と重症型肝炎であった。対症療法にて改善したが、黄疸は

遷延し、その後14日間T.Bil.10mg/dl前後を推移した。入院時 HEV-IgM24、HEV-IgG>200、HEV-RNA(+)で、full sequencingの結果genotype 3であった。

D.考察

鳥取県東部にて発症例を認めたことより、西日本での発症が増加していることが推測された。genotype 3はgenotype 4に比べ軽症で、重症化しにくいといわれているが、本例では重症化し、その検討は貴重であると考ええる。更なる症例の蓄積が必要であると考ええる。

E.研究発表

1. 学会発表:

(1) 今本龍他「食肉歴のない健常成人に発症した急性E型肝炎の1例」第93回日本内科学会中国地方会(2005.10.15 宇部)。(2) 川上万里他「鳥取県東部で発症した重症型急性E型肝炎の1例」2007年度厚生労働省肝炎等克服緊急対策研究事業「E型肝炎の感染経路・宿主域・遺伝的多様性・感染防止・診断・治療に関する研究」班会議(2008.1.31 東京)

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)

E型肝炎の感染経路・宿主域・遺伝的多様性・感染防止・診断・ 治療に関する研究

平成19年度

班友研究報告書

E 型急性肝炎における血清 IgM 値の推移

班友 鈴木一幸 岩手医科大学第一内科 教授

研究要旨：血清 IgM 値が E-AH 診断を疑う参考所見となりうるか否かを明らかにするために、1998 年から 2007 年までに当科で経験した急性 E 型肝炎 16 例について血清 IgM 値の変動を観察し、そのピーク値より増加群（250mg/dl 以上）と正常値群（250mg/dl 以下）に分けて臨床像および予後などを比較検討した。急性 E 型肝炎では血清 IgM 値の増加を示す頻度は約 30%と A 型急性肝炎の 90%に比して低率であり、増加群と正常値群では自・多覚症状、血液生化学検査値ならびに予後に明らかな差異は認めなかった。臨床的に急性 E 型肝炎を疑う特徴的な臨床徴候や血液生化学検査項目がない現状では、早期の血清学的診断法(抗体検査)の保険収載が望まれる。

共同研究者

滝川康裕 岩手医科大学第一内科
准教授

阿部弘一 岩手医科大学第一内科
講師

遠藤龍人 岩手医科大学第一内科
講師

熊谷一郎 岩手医科大学第一内科
助教

抗体などの抗体検査とともに HEV-RNA の測定が必要であるが、これらの検査は未だ保険収載がなされていない。我々の施設でも毎年少数例ながら E-AH 例を確認しているが、全例入院時に外注検査にて IgM-HE 抗体と IgG-HE 抗体を測定し、IgM-HE 抗体が陽性を示した場合には、保存血清を自治医科大学に郵送し、HEV-RNA の測定と遺伝子型の確認を行っている。

一方、A 型肝炎ウイルスによる急性肝炎では発病初期に血清 IgM 値の増加を認め、これが診断の契機になる事

A. 研究目的

E 型肝炎ウイルス(HEV)による急性 E 型肝炎(E-AH)の血清学的診断には IgM-HE 抗体、IgA-HE 抗体、IgG-HE

が広く知られている。そこで、E-AH 例について血清 IgM 値の変動を観察し、E-AH 診断を疑う参考所見となりうるか否かを明らかにするために検討した。

B. 研究方法

1998 年 1 月より 2007 年 12 月までに岩手医科大学第一内科において入院加療を受けた急性肝障害患者のうち血清学的に E-AH と診断(血中 HEV-RNA 陽性)された 16 例を対象とした。これらの症例について、血清 IgM 値を経時的に測定し、そのピーク値より I 群(血清 IgM が 250mg/dl 以上)、II 群(250mg/dl 以下)に分けて臨床像を比較検討した。また、同時期の経験した急性 A 型肝炎例 41 例を対照として血液生化学検査値を比較検討した。HEV の確定診断は血中 HEV-RNA の陽性で行い、同時に遺伝子型も測定した。

C. 研究結果

1) E-AH と A-AH との血液生化学検査値の比較

E-AH と A-AH の患者背景ならびに血液生化学検査値(ピーク値)を比較検討すると、年齢は有意に E-AH で高く、T-Bil、TTT、ZTT および IgM 値に有意差が認められたが、他の検査項目には明らかな差異は認めなかった(表 1)。

なお、血清 IgM 値の陽性率(250mg/dl 以上)は、E-AH で 31%、A-AH で 90% であり、E-AH での陽性率が有意に高率であった。

2) E-AH における血清 IgM 値増加群と正常値群との臨床像ならびに臨床経過の差異

血清 IgM 値増加群と正常値群においては、性差、年齢などの背景因子、血液生化学検査値に明らかな差は認めなかった。また、表には示していないが、HEV-RNA 量についても差を認めなかった(表 2)。

表1. E-AHとA-AHの患者背景 (peak値)

	EH-E (n=16)	AH-A (n=41)	P
性 (男:女)	10:6	16:25	
年齢 (歳)	57.8±11.0 (39~73)	45.9±10.8 (23~69)	<0.01
飲酒歴 *	16例中5例 (31.3%)	41例中12例 (29.3%)	
薬剤服用歴	16例中11例 (68.8%)	41例中15例 (36.6%)	
T-Bil (mg/dl)	13.0±13.6	8.8±4.5	0.04
AST (IU/l)	2302±2272	3384±4117	NS
ALT (IU/l)	2175±1360	3775±2882	NS
γ-GTP (IU/l)	413±309	400±236	NS
ALP (IU/l)	837±331	730±223	0.03
WBC (/μl)	6845±2338	8820±4088	NS
PT (s)	65±28	61±26	NS
IgM (mg/dl)	207.8±130.2	508.7±204.1	<0.01
TTT (mg/dl)	8.9±4.9	15.7±3.9	<0.01
ZTT (mg/dl)	13.9±5.0	28.1±8.5	<0.01

*飲酒歴: アルコール摂取 60g以上/日

注: 有意差なし

表2. 血清IgM値よりみた病態の差異

	I 群 (IgM ≥ 250mg/dl)	II 群 (IgM < 250mg/dl)	P
性 (男:女)	3:2	7:4	
年齢 (歳)	60.4±11.8 (43~72)	56.8±11.1 (39~73)	NS
飲酒歴 *	6例中1例 (20.0%)	11例中4例 (36.4%)	
薬剤服用歴	6例中3例 (50.0%)	11例中8例 (72.7%)	
T-Bil (mg/dl)	17.3±11.7	11.1±14.5	NS
AST (IU/l)	2545±2345	2191±2345	NS
ALT (IU/l)	2133±1048	2194±1527	NS
γ-GTP (IU/l)	335±448	449±242	NS
ALP (IU/l)	1048±527	742±147	NS
WBC (/μl)	6582±1826	6964±2811	NS
PT (s)	68±25	64±20	NS
IgM (mg/dl)	367.6±89.2	135.2±60.7	<0.01
TTT (mg/dl)	12.1±4.1	7.4±4.8	NS
ZTT (mg/dl)	14.5±3.0	13.7±5.8	NS

*飲酒歴: アルコール摂取 60g以上/日

注: 有意差なし

次に、血清総ビリルビン、ALT 値の経過を両群で比較したが変動パター

ンに明らかな差異は認めなかった。

さらに、最終予後についても検討したが、両群で差異は認めなかった(表3)。

表3. 患者の転帰

症例	年齢	性別	年次	ALT / AST (mg/dl)	AST / ALT (IU/l)	γ-GTP / ALP (IU/l)	PT (%)	IgM (mg/dl)	遺伝子型	転帰
9	54	♀	2004	4.4	4531 / 3030	1130 / 1244	34	600	■	生存
12	43	♀	2005	3.8	859 / 1791	124 / 445	83	410	■	生存
3	72	♂	2001	20.0	1950 / 114	48 / 478	100	334	■	生存
15	48	♂	2004	25.9	2739 / 3415	153 / 448	51	334	■	生存
10	45	♂	2004	30.4	1648 / 1483	234 / 1837	100	270	■	死亡*
2	47	♀	1999	3.2	1415 / 1430	75 / 348	55	232	■	生存
4	59	♀	2002	28.1	1458 / 819	445 / 448	34	178	■	生存
8	73	♂	2003	1.9	1099 / 1162	507 / 835	73	180	■	生存
7	47	♀	2002	3.3	2583 / 2373	713 / 812	80	171	■	生存
4	54	♂	2001	5.7	539 / 2944	474 / 747	100	157	■	生存
11	39	♂	2006	4.3	8841 / 6763	820 / 740	58	153	■	生存
1	44	♂	1998	4.1	1434 / 2834	440 / 844	84	107	■	生存
14	71	♂	2007	3.3	2780 / 3495	342 / 459	(410)*	104	■	生存
12	50	♂	2005	1.0	1474 / 2044	757 / 728	91	78	■	生存
5	45	♀	2001	34.0	1945 / 2153	174 / 853	9	54	■	死亡
14	52	♂	2004	23.4	108 / 409	240 / 911	100	49	■	生存

*ワーファリン投与中

■: CMV 陽性, 胆汁管拡張, DIC を合併して死亡

D. 考察

今回の検討より、E-AH では発病初期に血清 IgM 値の増加を認める例は約 30%と少なく、E-AH 診断の契機になりうる可能性は低いことが明らかとなった。血清 IgM の増加にはウイルス感染による生体の液性免疫(B 細胞)の反応性が関係しているものと考えられるが、何故 E-AH で A-AH に比し血清 IgM の増加が見られないかについては今後さらに検討が必要である。

これまでの検討より、E-AH では中高年の男性に多く、予後は比較的良好で慢性化する例は認めていないが、一部の症例(遺伝子型 IV 型)ではまれに重症化や劇症化する例が認められ、さらに高度の胆汁うっ滞を示し経過中に薬剤過敏症とサイトメガロウイルス

スの再活性化を認める例も存在することなどより、HEV の診断のためには、出来るだけ早期の抗体検査が必要と考えられる。

D. 結論

当科で経験した急性 E 型肝炎例について血清 IgM 値の推移を検討し、そのピーク値より 2 群に分けて病体を解析した。自・多覚症状、および血液生化学検査値より E-AH を疑う特徴的な項目が認められない現状においては、今後、早期の血清学的診断法(抗体検査)の早急な保険収載が望まれる。

E. 健康危険情報

特記すべきことなし。

F. 研究発表

1) Yasumi Y, Takikawa Y, Endo R, Suzuki K. Interleukin-17 as new marker of severity of acute hepatic injury. Hepatol Res 2007;37:248-254.

2) Takikawa Y, Yasumi Y, Sato S, Endo R, Suzuki K, et al. A case of acute hepatitis E associated with multidrug hypersensitivity and cytomegalovirus reactivation. Hepatol Res 2007;37:158-65.

3) Kumagai I, Abe K, Oikawa T, Sato A, Sato S, Endo R, Takikawa Y,

Suzuki K, Masuda T, Sainokami S, Endo K, Takahashi M, Okamoto H. A male patient with severe acute hepatitis who was domestically infected with a genotype H hepatitis B virus in Iwate, Japan. J Gastroenterol 2007;42:168-75.

4) Sainokami S, Abe K, Sato A, Endo R, Takikawa Y, Suzuki K, Okamoto H. Initial load of hepatitis B virus (HBV), its changing profile and precore/core promoter mutations correlate with the severity and outcome of acute HBV infection. J Gastroenterol 2007;42:241-249.

5) 滝川康裕, 鈴木一幸. 急性肝不全治療戦略. 治療学 2007;41:343-347.

6) 遠藤龍人, 滝川康裕, 鈴木一幸. 劇症肝炎・肝不全の原因と病態. Surgery Frontier 2007;14:126-132.

2.学会発表

1) Takikawa Y, Suzuki T. The Effect of Artificial Liver Support on Acute Liver Failure. APDW 2007 年 10 月 16 日 (於神戸)

2) Takikawa Y, Suzuki T. The Effect of Artificial Liver Support on Acute Liver Failure. 6th JSH Single Topic Conference. 2007 年 9 月 28 日 (於盛岡)

3) Yasumi Y, Takikawa Y, Watanabe

Y, Sato A, Endo R, Suzuki K.

Significance of a novel biomarker for hepatocellular apoptosis (caspase 3-cleaved cytokeratin-18 product) in acute and fulminant hepatic injury. DDW USA 2007 年 5 月 21 日 (於 Washington DC)

4) Endo R, Takikawa Y, Suzuki K. Establishment and prospective verification of early prediction and patient transferring system for fulminant hepatic failure in Japan. 6th World Congress of the International Society for Apheresis 2007 年 3 月 4 日 (於横浜)

5) 八角有紀, 滝川康裕, 片岡晃二郎, 渡辺雄輝, 佐藤彰宏, 遠藤龍人, 鈴木一幸. 急性肝障害の劇症化における IL-17 の関与. 第 104 回日本消化器病学会総会. 2007 年 4 月 19 日 (於青森)

6) 八角有紀, 滝川康裕, 佐藤彰宏, 遠藤龍人, 鈴木一幸, 前沢千早, 増田友之. 抗 IL-17 抗体によるマウス急性肝障害の抑制. 第 43 回日本肝臓学会総会 2007 年 6 月 1 日 (於東京)

7) 三浦典正, 遠藤龍人, 中山伸朗, 滝川康裕, 持田智, 鈴木一幸, 長谷川純一, 汐田剛史. 劇症肝炎の予後予測マーカーとしての血清 TGF- α mRNA の臨床的意義. 第 43 回日本肝臓学会総会 2007 年 6 月 1 日 (於東京)

8) 遠藤龍人, 滝川康裕, 鈴木一幸.

High-flow HDF 主体の血液浄化を余儀なくされつつも救命し得た亜急性型劇症肝炎. 第 11 回日本肝臓学会大会ワークショップ 4 症例から学ぶ急性肝不全 2007 年 10 月 18 日 (於神戸)

9) 日下部篤宣, 田中靖人, 狩野吉康, 古賀郁利子, 坂井田功, 佐久川廣, 鈴木一幸, 住野泰清, 田中榮司, 長田成彦, 山田剛太郎, 持田智, 溝上雅史. B 型肝炎劇症化に寄与するウイルス因子の検討. 日本肝臓学会大会 2007 年 10 月 18 日 (於神戸)

10) 遠藤龍人, 滝川康裕, 鈴木一幸, 坪内博仁. EBM 時代の劇症肝炎治療

はどうあるべきか 急性重症肝炎における劇症化阻止に対する血液浄化療法の有効性評価 観察研究による治療効果の推定は可能か? 日本急性肝不全研究会 2007 年 5 月 30 日 (於東京)

11) 佐藤彰宏, 滝川康裕, 柿坂啓介, 片岡晃二郎, 遠藤龍人, 阿部弘一, 加藤章信, 鈴木一幸, 坪内博仁. 劇症肝炎診断基準におけるプロトロンビン時間の意義と表記法に関する検討. 第 104 回日本内科学会総会 2007 年 4 月 13 日 (於大阪)