

表1 市販生カキにおける HAV 遺伝子検出状況

	産地	2009 年度			2010 年度*		
		供試	real-time	nested	供試	real-time	nested
		件数	PCR 陽性	PCR 陽性	件数	PCR 陽性	PCR 陽性
生食用	宮城	34	0	0	12	0	0
	岩手	13	0	0			
	兵庫	3	0	0	3**	0	0
	広島	3	0	0	1	0	0
加熱用	広島	19	0	0			
	宮城	1	0	0			
	岩手	1	0	0			
計		74	0	0	16	0	0

\* : 2010 年 4 月～2011 年 1 月 \*\* : 蒸しカキ 1 を含む

表2 集団胃腸炎関連二枚貝における HAV 遺伝子検出状況

	2009 年度			2010 年度*		
	供試	real-time	nested	供試	real-time	nested
	件数	PCR 陽性	PCR 陽性	件数	PCR 陽性	PCR 陽性
生カキ	47	0	0	38**	0	0
ホンビノスガイ	3	0	0			
しじみ (醤油漬)	1	0	0			
かき昆布しめ				1	0	0
調理済かき				1	0	0
ホタテ貝				1	0	0
パーナ貝				1	0	0
計	51	0	0	42	0	0

\* : 2010 年 4 月～2011 年 1 月 \*\* : 加熱前カキフライ 1 を含む

## 輸入生鮮魚介類からの A 型肝炎ウイルスの 検出及び分子疫学的解析

協力研究者 山下育孝（愛媛県立衛生環境研究所）  
協力研究者 石井孝司（国立感染症研究所）  
協力研究者 青木紀子、青木里美（愛媛県立衛生環境研究所）  
協力研究者 古屋由美子（神奈川県衛生研究所）  
協力研究者 西尾 治（愛知医科大学）  
研究分担者 石井 孝司（国立感染症研究所）  
研究代表者 野田 衛（国立医薬品食品衛生研究所）

### 研究要旨

輸入食品の A 型肝炎ウイルス (HAV) 汚染状況を調査するため、平成 22 年 9 月から 11 月までの間に市販されていた輸入生鮮魚介類 (ブラックタイガー及び貝類) 10 ロット 47 検体について、リアルタイム PCR 法及び RT-PCR 法を用いて HAV の検出を試みた。その結果、2010 年 9 月に購入したフィリピン産ブラックタイガーから HAV が 1 例検出され、遺伝子型は 1A であった。この株は、2010 年に人から検出された 1A の一部及びフィリピンの河川から 2009 年に検出された HAV とアミノ酸配列が一致していた。また、HAV は、2006 年に中国産アカガイ、2007 年、2008 年にフィリピン産ブラックタイガー及びインドネシア産エビから検出されているが、2007 年のフィリピン産ブラックタイガーから検出された HAV は、今回の主流型であった 2010 年の 1A と塩基配列の相同性が 99.5~99.6% で、アミノ酸配列は 100% 一致していた。これらのことから、2007 年に輸入生鮮魚介類から検出された株が 2010 年の 1A による A 型肝炎の発生に関与していた可能性が示唆された。また、輸入生鮮魚介類の HAV 汚染率は低いと考えられるが、HAV を国内に持ち込む媒介物の一つであることが示された。

### A. 研究目的

2010 年 3 月以降、国内において A 型肝炎患者報告数が急増した。これらの発生には、多くの事例で食品の関与が疑われていることから、その原因究明と A 型肝炎の発生予防対策等を検討するため、東

南アジア等の A 型肝炎汚染地域から輸入された生鮮魚介類について、HAV の汚染状況調査を行った。また、過去に輸入生鮮魚介類から検出された株と 2010 年流行株との関連性について検討するため分子疫学的解析を実施した。

## B. 研究方法

### 1. 材料

2010年9月から11月の間に、市販されていたブラックタイガー8ロット(計280尾)及び貝類2品目各1ロットを買い上げ、ブラックタイガーは4尾~14尾を1検体として計33検体、貝類は1個~2個を1検体として計14検体を検査に用いた。

### 2. 方法

#### (1) 検体からのウイルスの濃縮及びRNA抽出

ブラックタイガーの腸管(背ワタ)、貝類の中腸腺をいずれもPBSで10%乳剤とし、 $\alpha$ -アミラーゼ(2.5mg/ml)を加え、37°Cで1時間振とう後、10,000rpmで20分冷却遠心し、上清を30%ショ糖液上に重層して、38,000rpmで2時間超遠心を行った。その沈さに0.5%チッタジェン溶液を加え再浮遊した後、10,000rpmで2分冷却遠心した上清を抽出材料とした。ウイルスRNAの抽出は、High pure viral RNA kit (Roche)を用いて、添付マニュアルに従って実施した。

#### (2) HAV 遺伝子の検出

抽出RNAをDNase処理後、Random Hexamer及びOligo-dTを用いてcDNAを合成した。HAVの検出は、このcDNAを鋳型として、HAV+499/HAV-557プライマーとHAV+482TaqManプローブを用いたリアルタイムPCR法及びHAV+2799/-3273プライマー(1st-PCR)とHAV+2709/-3162プライマー(Nested-PCR)を用いたRT-PCR法を行った。

#### (3) HAV 遺伝子の解析

PCR産物についてダイレクトシーケンシング法により塩基配列を決定し、VP1/2A領域の系統樹解析を実施した。また、これまでに輸入生鮮魚介類から検出された

株と2010年のA型肝炎発生事例(新潟、長野、大阪、神戸、佐賀)において人から検出された株(1A)の塩基配列を比較した。

## C. 研究結果

### 1. 輸入生鮮魚介類からのHAV検出状況

2010年9月から11月の間に購入した輸入生鮮魚介類からのHAV検出状況を表1に示した。輸入生鮮魚介類47検体のうち、フィリピン産ブラックタイガー1検体(2.1%)からHAVが検出された。マレーシア産ブラックタイガー及び貝類からはHAVは検出されなかった。

フィリピン産ブラックタイガーからNested-PCRで検出されたHAVは、リアルタイムPCR法による定量では、実測値で2コピー/4 $\mu$ l(背ワタ1gあたり10<sup>4</sup>コピー)であった。

### 2. 輸入生鮮魚介類から検出されたHAVの遺伝子型

輸入生鮮魚介類から検出されたHAVの系統樹解析の結果、2010年9月に購入したフィリピン産ブラックタイガーから検出されたHAV(EhimeHA99/PH/Sep10/black tiger)の遺伝子型は1Aであった。(図1)また、2007年~2008年購入のフィリピン産ブラックタイガーから検出された3株(KanagawaN10/PH/May07/black tiger、KanagawaN12/PH/May07/black tiger、KanagawaN21/PH/Jun08/black tiger)及び2006年5月購入の中国産アカガイから検出された1株(Ehime06-2-2CN/May06/ark shell)の遺伝子型はいずれも今回検出されたHAVと同じ1Aに分類されている。

### 3. HAV 1Aの系統樹解析

輸入生鮮魚介類から検出されたHAVと

国内で 2010 年に流行した遺伝子型 1A に分類された HAV について VP1/2A 領域の系統樹解析を行った結果を図 2 に示した。

(1) 食品中(2010 年にフィリピン産ブラックタイガー等)から検出された HAV と他の株との相同性

今回、フィリピン産ブラックタイガーから検出された EhimeHA99/PH/Sep10/black tiger (EhimeHA99 と略)は、佐賀で検出された株(1004-11051-SagaP-10s52)と 231 塩基中 4 塩基に相違が認められたが、アミノ酸配列は一致していた。また、EhimeHA99 は、大阪で検出された株(1005-13313-OsakaC-S100142)及び 2009 年にフィリピンの河川から検出された株(AB567666、AB567670)とは、231 塩基中 6 塩基に相違が認められたが、アミノ酸配列は大阪の株及び AB567666 と一致していた。また、2006 年に中国産アカガイから検出された Ehime06-2-2/CN/May06/ark shell は、2006 年に新潟で検出された P1/NiigataC/2006/J と近縁であった。

(2) 2007 年にフィリピン産ブラックタイガーから検出された株と 2010 年の A 型肝炎起因株(1A)との相同性

2007 年にフィリピン産ブラックタイガーから検出された HAV 2 株(Kanagawa N10/PH/May07/black tiger 及び Kanagawa N12/PH/May07/black tiger)は、VP1/2A 領域の 231 塩基について比較すると、A 型肝炎発生事例から検出された神戸の 4 株と佐賀の 3 株及びドイツでフィリピン渡航者から検出された株(EU825856)と塩基配列の相同性が 99.6%であり、アミノ酸配列は 100%一致していた。また、この株は、新潟の 5 株と VP1/2A 領域の 205 塩基について比較すると、相同性が 99.5%であり、アミノ酸配列は 100%一致していた。さら

に、この株は、長野の株(10006-14079-NaganP-22-042)とも近縁で、231 塩基中 3 塩基に相違が認められたが、アミノ酸配列は一致していた。

#### D. 考察

輸入生鮮魚介類(フィリピン産ブラックタイガー)から HAV が 1 例(2.1%)検出され、遺伝子型は 1A であった。過去においても、検出率は低いが、2006 年に中国産アカガイ、2007 年、2008 年にフィリピン産ブラックタイガー及びインドネシア産エビ等から HAV が検出され、いずれも 1A であった。この遺伝子型は、アジア地域で広く検出されている。一方、国内では HAV の常在流行は見られていない。これらのことから、輸入生鮮魚介類の HAV 汚染率は低いと考えられるが、A 型肝炎汚染地域から輸入された生鮮魚介類による HAV の国内への持ち込みが A 型肝炎発生の一因であると考えられた。

今回、Nested-PCR 法で検出された HAV は、リアルタイム PCR 法では、10 コピー以下(実測値で 2 コピー/ $4\mu\text{l}$ )と低値であったことから、エビ類に含まれるウイルス量は微量であると推察された。

系統樹解析の結果、2006 年の中国産アカガイから検出された HAV は、2006 年に人から検出された株と近縁であり、それ以降も同様の株が国内で検出されていることから、2006 年以降に発生した散发性の A 型肝炎に関与していた可能性が示唆された。

さらに、2007 年のフィリピン産ブラックタイガーから検出された HAV は、今回の主流型であった 2010 年の 1A と塩基配列の相同性が 99.5~99.6%で、アミノ酸配列は 100%一致していた。このこと

から、2007年に輸入生鮮魚介類から検出された株が2010年の1AによるA型肝炎の発生に関与したと考えられ、少なくとも2007年に輸入食品を介して国内に侵入していたことが明らかになった。

輸入生鮮魚介類等の食品を介したA型肝炎の発生防止には、食品を十分加熱調理することと調理従事者への更なる衛生指導の徹底が重要である。また、生鮮魚介類を扱う調理従事者は、A型肝炎に感染する可能性があるため、ワクチン接種に努め、2次感染の防止に注意する必要がある。

#### E. 結論

1. 2010年9月から11月の間に、輸入生鮮魚介類47件中1件(2.1%)からHAVが検出された。
2. HAVが検出された食品は、フィリピン産ブラックタイガーで、検出されたHAVの遺伝子型は1Aであった。
3. 2007年のフィリピン産ブラックタイガーから検出されたHAVと2010年の主流株について、塩基配列の相同性は99.5-99.6%で、アミノ酸配列は100%一致していた。
4. 輸入生鮮魚介類が国内でのA型肝炎の発生に関与していることが示唆された。

謝辞：HAV VP1/2A領域の塩基配列を提供していただいた新潟市衛生環境研究所の斉藤哲也先生、長野県環境保全研究所の吉田徹也先生、大阪市環境科学研究所の入谷展弘先生、神戸市環境保健研究所の飯島義雄先生、佐賀県衛生薬業センターの増本久人先生に深謝いたします。

#### 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. 特許習得：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし

表1 輸入生鮮魚介類からの HAV 検出状況

品名	検体数	HAV 検出数	
		リアルタイム PCR 法	RT-PCR 法
ブラックタイガー(フィリピン産)	27	(1)*	1**
ブラックタイガー(マレーシア産)	6	0	0
パーム貝 (ニュージーランド産)	7	0	0
ムール貝 (韓国産)	7	0	0

検査数47検体

\*2.0 コピー/4 $\mu$ l

\*\*Nested-PCR

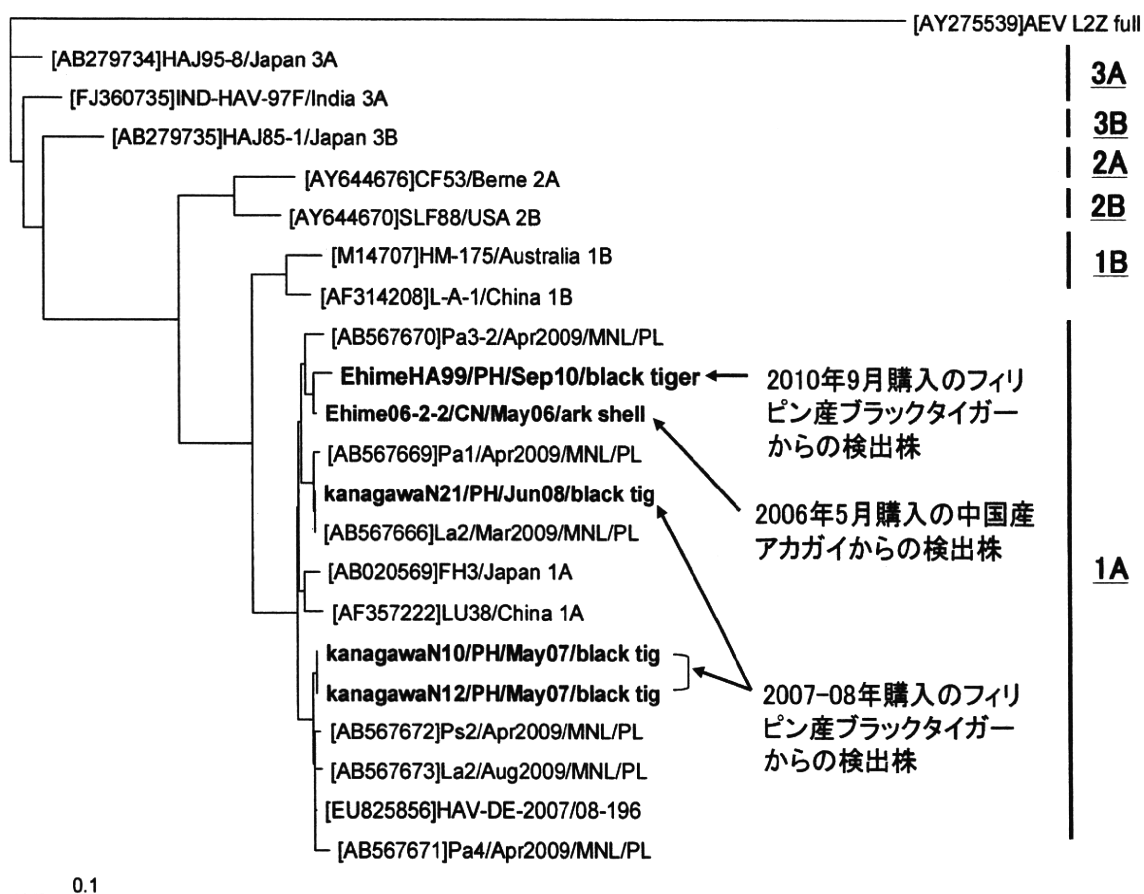


図1 輸入魚介類から検出 HAV の系統樹[VP1/2A 領域]

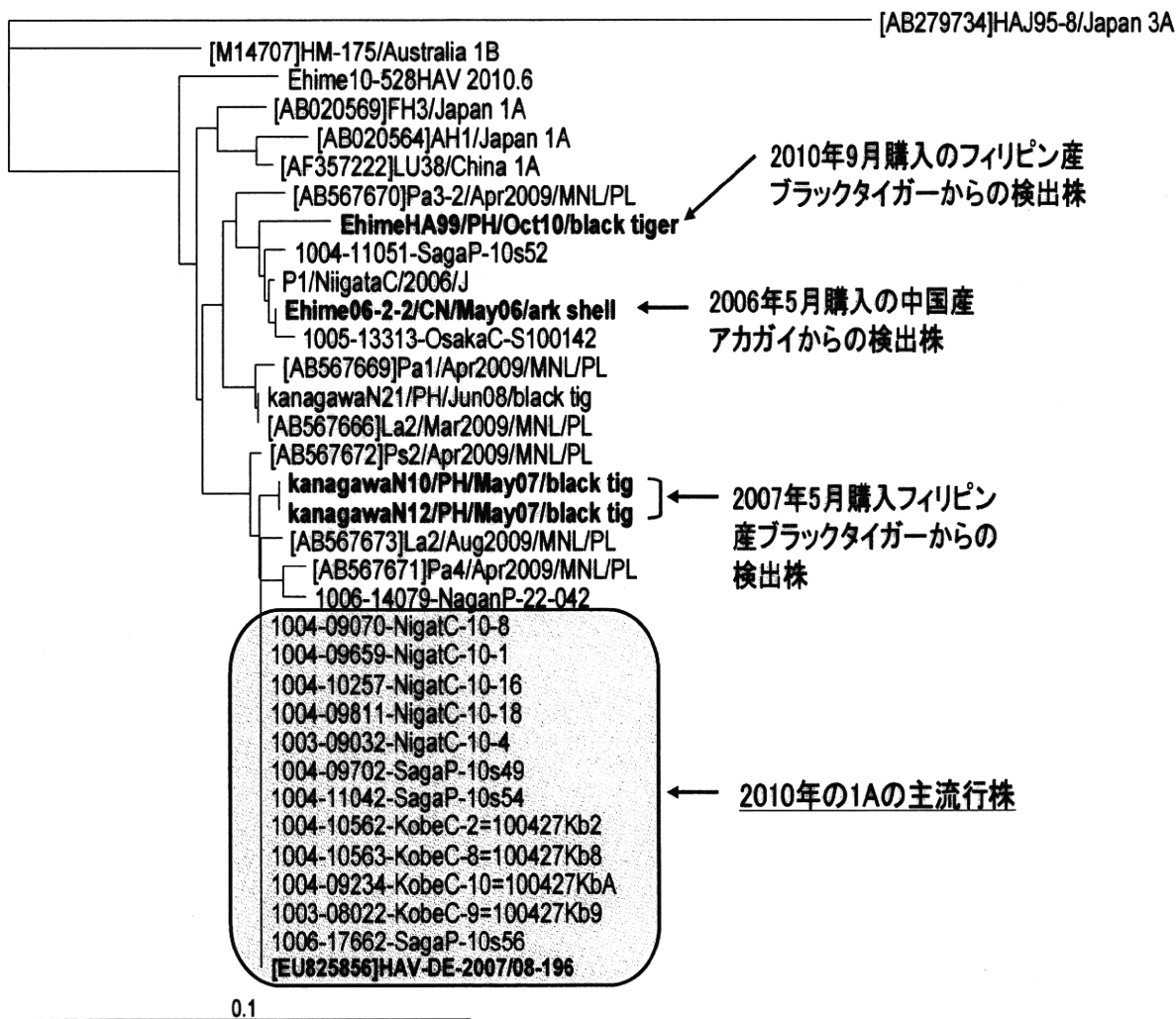


図2 HAV 1A の系統樹[VP1/2A 領域]

平成 22 年度厚生労働科学研究費補助金(厚生労働科学特別研究事業)  
「A 型肝炎発生報告増加に対する食品衛生上の原因究明と予防対策」  
研究協力報告書

輸入二枚貝の A 型肝炎ウイルス保有調査

研究協力者 柴田 伸一郎 名古屋市衛生研究所  
研究代表者 野田 衛 国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨

2010 年春から A 型肝炎が多発し、喫食歴から魚介類が関与している事例も報告された。そこで、国内流通の輸入貝類の A 型肝炎ウイルス(HAV)の汚染リスクを把握することを目的として、中国および韓国から輸入されたハマグリおよびアサリから HAV の検出を試みた。その結果、輸入ハマグリが HAV を保有している可能性が示唆された。

A. 研究目的

2010 年春から A 型肝炎が多発し、喫食歴から魚介類が関与している事例も報告された。また、今回の流行の分子疫学的解析から韓国で流行している A 型肝炎ウイルス(HAV)と類似の HAV が検出されている事から、輸入貝類の関与の可能性も考えられる。そこで今回流通輸入貝類の HAV 保有状況を把握することを目的として、中国産ハマグリおよび韓国産赤貝から HAV の検出を試みた。

B. 研究方法

1. 材料

2010 年 12 月に購入した、韓国産赤貝 3 個 2 セット、中国産赤貝 3 個 2 セット、中国産ハマグリ 6 個 2 セット、中国産活アサリ 12 個 1 セット、韓国産冷凍アサリ 12 個 1 セットを検査材料とした。これらの貝類の中腸腺を上記個数を 1 プールに

して乳鉢に取り乳棒にて押しつぶしながら PBS を適宜加え 10%乳剤を作成した。播り潰した中腸腺は、3,500 回転、30 分遠心後、上清を最終濃度 2.1%NaCl、8%PEG6000 で一晚塩析した。久保田冷却遠心機、ローター RA-5 で 4℃、12,000 回転、20 分間遠心分離後、沈さを PBS で再浮遊した。再浮遊液を 13,000 回転、10 分遠心分離して得た上清を核酸抽出に用いた。

2. RNA 抽出、逆転写反応および PCR

核酸抽出は、QIAamp Viral RNA Mini Kit(QIAGEN)を使用した。抽出した RNA は、Random Nanoamer(TaKaRa) と Oligo dT (TaKaRa) をプライマーとし、SuperScript III (invitrogen) で逆転写反応を実施した。

PCR は、1st, 2nd とともに PrimeStar GXL DNA polymerase(TaKaRa)を使用し、オリジナルプライマーペアを用いてタッチダウン法で増幅した。

### 3. 塩基配列の決定

RT-PCR法で増幅した産物をSizeSelect ( invitrogen ) で精製し、BigDye Terminator Kit ver. 3.1(ABI)にてダイレクトシーケンス反応を実施した。

#### (倫理面への配慮)

本研究では、特定の研究対象者は存在せず、倫理面への配慮は不要である。

## C. 研究結果

### 1. PCR 結果

PCRでは、中国産ハマグリ 1, 2 に特異的な遺伝子が増幅された。韓国産アサリ(アサリ 2)に、不明瞭だが特異的遺伝子の大きさ付近に遺伝子が増幅が見られた。

### 2. シーケンス検査結果

韓国産アサリ(アサリ 2)で増幅が見られた遺伝子は、増幅産物量が少量であったため塩基配列を決定する事ができなかった。中国産ハマグリは、塩基配列が決定できそうであったが、決定する事はできなかった。

## D. 考察

韓国産アサリに見られた不明瞭なバンドは、HAVの遺伝子でない可能性が大きい。

中国産ハマグリで検出された遺伝子は、オリジナルプライマーで検出した物であり、シーケンス不能な事からHAVの複数のタイプが混在している可能性、もしくは非特異に増幅している可能性が考えられる。

## E. 結論

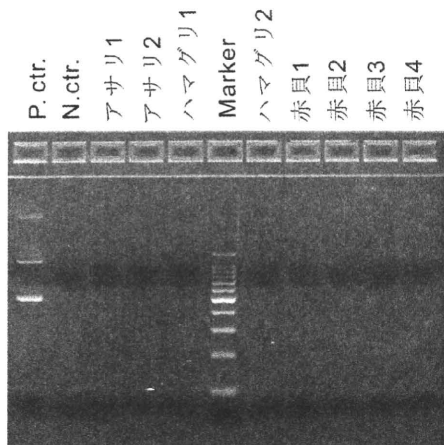
今回の輸入貝類のHAV保有状況調査から、HAVを保有している可能性が示唆されたが、決定的な証拠は得られなかった。

## F. 研究発表

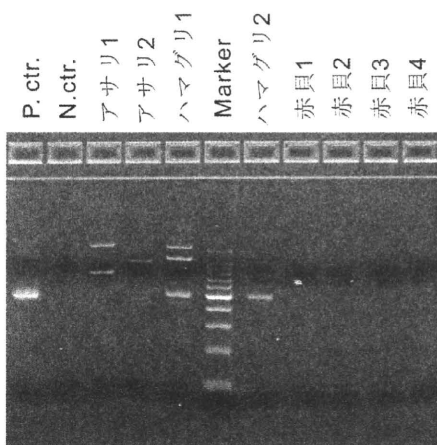
1. 論文発表  
なし
2. 学会発表  
なし

## 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



1st PCR HAV2789s/HAV3296c



2nd PCR HAV2804s/HAV3231c

PrimeStar GXL DNA polymerase 50  $\mu$ l

平成 22 年度厚生労働科学研究費補助金(厚生労働科学特別研究事業)  
「A 型肝炎発生報告増加に対する食品衛生上の原因究明と予防対策」  
研究協力報告書

パンソルビン・トラップ法を用いたセミドライトマト等からの  
A型肝炎ウイルス検出の試み

研究協力者	吉田 徹也、宮坂たつ子、畔上 由佳、内山友里恵、 笠原ひとみ、上田ひろみ、長瀬 博、藤田 暁 (長野県環境保全研究所)
研究協力者	斎藤 博之 (秋田県保健環境研究センター)
研究分担者	石井 孝司 (国立感染症研究所)
研究代表者	野田 衛 (国立医薬品食品衛生研究所)

### 研究要旨

ノロウイルスの高感度検出法として開発された「パンソルビン・トラップ法(パントラ法)」を、A型肝炎ウイルス(HAV)を食品から回収・濃縮するために応用した。添加回収試験の結果、HAVについてもパントラ法は有効であることが推察された。

この方法を用い、過去に海外においてHAVによる食中毒の原因食品となったことのあるセミドライトマト 20 検体およびドライトマト 6 検体について汚染実態調査を行ったところ、すべて陰性であった。

HAV 食中毒事例発生時の原因究明のための検査や食品中のHAVモニタリング検査に、簡便で特別な器具を用いないパントラ法は、利用可能と示唆された。

### A. 研究目的

経口感染症の一つであるA型肝炎の感染源究明や流通食品のモニタリング検査には、感度の良いA型肝炎ウイルス(HAV)試験法の開発が必要である。そこで、食品中から高効率にHAV粒子を回収・濃縮する方法として、秋田県健康環境センターの斎藤ら(食品中のウイルス制御に関する研究)「パンソルビン・トラップ法による食品検査法の構築(検討1)」、厚生労働科学研究費補助金(食品の安心・安全

確保推進研究事業)平成21年度総括・研究分担報告書:45-60(2010))がノロウイルスで開発した「パンソルビン・トラップ法(パントラ法)」を応用し、過去に食中毒の原因食品になったことのある「輸入セミドライトマト」等におけるHAV汚染実態調査を行った。

### B. 研究方法

#### 1. 検査試料

検査試料としては、オーストラリア産

セミドライトマト 4 銘柄 (ロット) 各 5 包装計 20 検体およびイタリア産ドライトマト 2 銘柄 (ロット) 各 3 包装計 6 検体の合計 26 検体とした。

## 2. パントラ法の操作方法

パントラ法の操作方法の流れを図 1 に示した。試料 10g をフィルター付き滅菌ポリバッグに量り採り、食品洗滌液 ( Tris-HCl (pH8.4)-0.5M NaCl-0.1% Tween20) 50ml を加え、超音波処理を 10 分間行った。ろ液 50ml は、あらかじめ  $\alpha$ -アミラーゼ (和光純薬 (Cat.No. 013-03732)) 125mg を入れた 50ml ディスポーザブル遠心管に移し、よく混合した。混合液は、室温で 3,000rpm、30 分間遠心分離した。遠心上清を別の 50ml ディスポーザブル遠心管に移し、ヒトプール血清 (コージンバイオ (ロット番号: H15L03Z)) 0.5ml および PANSORBN Cells (Merk (Cat.No. 507861-25ML)) または PANSORBIN Cells, Lyophilized (Merk (Cat.No. 507862-1GM)) 1.0ml を添加し、混和後、37°C で 15 分間放置した。その後、室温で 3,000rpm、20 分間遠心分離し、上清を廃棄、BufferAVL (QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) に添付) を 250  $\mu$ l 加えて沈渣を再懸濁した。再懸濁液全量を 1.5ml チューブに移し、室温で 10 分間放置後、TRIzolLS (Invitrogen) 750  $\mu$ l およびクロロホルム 200  $\mu$ l を添加し、ボルテックスした。混濁液を室温で 12,000rpm、15 分間遠心分離し、水層を別の 1.5ml チューブに分取した。分取した量の 0.8 倍量のエタノールを加え、ボルテックスし、その溶液を RNA 抽出試料として用いた。

## 3. RNA 抽出、DNase 処理および RT 反応

RNA の抽出は QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) により行った。抽出した RNA 溶液は DNase (Takara) によって処理され、さらに SuperScript II Reverse Transcriptase (Invitrogen) および Random hexamer を用いて cDNA を合成した。

## 4. HAV ウイルス検索方法

HAV の同定は病原体検査マニュアル (国立感染症研究所ウイルス第二部 (2006)) に準じ、Nested RT-PCR 法で実施した。

## 5. 添加回収試験用 HAV 陽性試料

添加回収試験用 HAV 陽性試料として、2010 年 5 月に発病した A 型肝炎患者糞便乳剤を用いた。

(倫理面への配慮)

本研究では、特定の研究対象者は存在せず、倫理面への配慮は不要である。

## C. 研究結果

### 1. パントラ法の応用結果

セミドライトマト約 10g に HAV 陽性便乳剤を 10  $\mu$ l 添加し、パントラ法を用いて HAV を回収・濃縮した場合 (図 2、レーン 7) とそうでない場合 (図 2、レーン 8) を比較したところ、パントラ法を用いた場合の方が明らかに PCR 増幅産物の量が多かった。

### 2. セミドライトマトおよびドライトマトからの HAV 遺伝子の検出結果

オーストラリア産セミドライトマト計 20 検体およびイタリア産ドライトマト計 6 検体について、パントラ法を用い HAV 遺伝子の検出を試みたが、すべて不検出であった (表)。

## D. 考察

食品中のノロウイルス粒子の回収・濃縮方法として斎藤ら（食品中のウイルス制御に関する研究 パンソルビン・トラップ法による食品検査法の構築（検討1）、厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）平成21年度総括・研究分担報告書：45-60（2010））によって開発されたパントラ法は、簡便で特別な機器も必要とせず、目的とするウイルスに対する抗血清（IgG）さえあれば、理論的にすべてのウイルスの回収・濃縮に応用可能である。今回、パントラ法を用いて、油分を多く含んだセミドライトマトに添加した HAV 粒子の回収・濃縮を試みたところ、結果は良好であった（図1）。このことから、食品中の高感度 HAV 回収・濃縮方法として、パントラ法は利用可能であると示唆された。

パントラ法を用い、過去にA型肝炎食中毒の原因食品となったセミドライトマト等のHAV汚染実態調査を行ったものの、検査を行った試料26検体はすべて陰性であった。しかしながら、今後もセミドライトマトを含めた食品中のHAVモニタリング検査は必要で、簡便・高感度のパントラ法は応用価値の高い試験法の一つと考えられた。

A型肝炎患者は、一般的に発病後約2週間程度糞便中にウイルスを排泄するといわれている。しかしながら、医療機関から保健所等行政機関へのA型肝炎患者発生の届出は、必ずしもリアルタイムではない場合がある。発病から時間が経過

した場合、糞便中のHAV粒子量が少なくなり、その時点で検査を行っても結果は陰性になってしまうことが想定される。このような場合に、糞便乳剤からHAV粒子を濃縮する方法として、パントラが応用可能ではないかと考えられた。

## E. 結論

食品中からの高感度HAV検出法の一つとして、ノロウイルスの検出法として開発された「パントラ法」が応用可能で、食中毒発生時の原因究明や流通食品のモニタリング検査に利用できると考えられた。

「パントラ法」を用い、過去に海外においてHAVによる食中毒の原因食品となったことのあるセミドライトマト等26検体について汚染実態調査を行ったところ、すべて陰性であった。

## 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

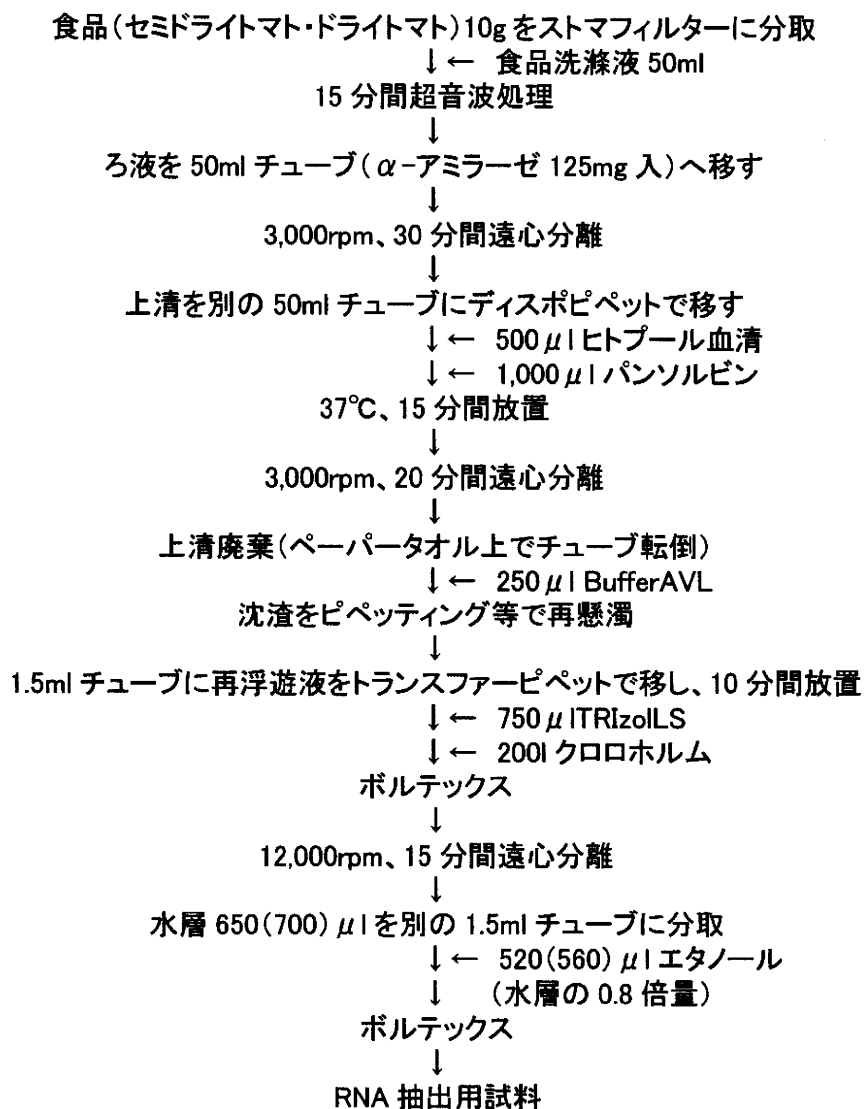


図 1 パンソルビン・トラップ法の操作手順

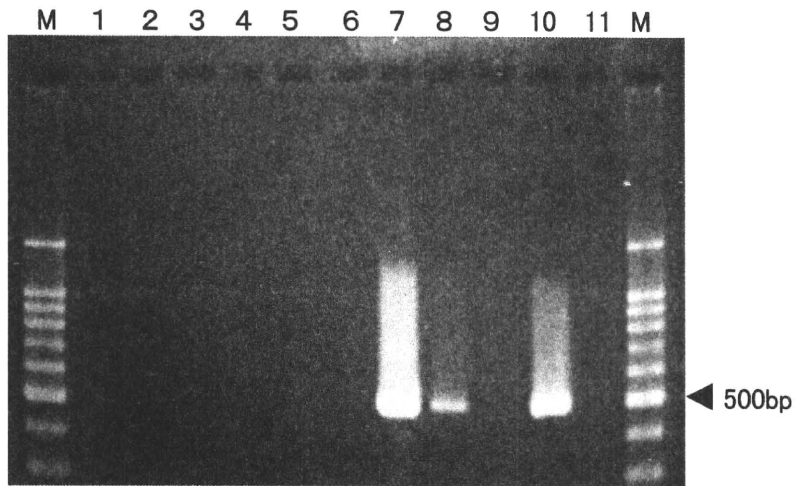


図2 PCR(1st)泳動像

M: DNA サイズマーカー、レーン 1~6: 試料、レーン 7: パントラ法を使用した場合の添加回収試験結果、レーン 8: パントラ法を使用しなかった場合の添加回収試験結果(抗血清未添加)、レーン 9: 試薬ブランク、レーン 10: 陽性対照(HAV の cDNA をテンプレートとして使用)、レーン 11: 陰性対象

表 セミドライマト等からの HAV 遺伝子検出結果

試料の種類	原産国	賞味期限(ロット)	試料数	HAV 試験 <sup>a</sup> 結果
セミドライマト A	オーストラリア	2011.11.25	5	不検出
セミドライマト B	オーストラリア	2012.02.03	5	不検出
セミドライマト C	オーストラリア	2012.01	5	不検出
セミドライマト D	オーストラリア	2010.12.11	5	不検出
ドライマト A	イタリア	2012.02.28	3	不検出
ドライマト B	イタリア	2011.03	3	不検出
合 計			26	

A: Nested RT-PCR 法による

## 研究成果の刊行に関する一覧

## 研究成果の刊行に関する一覧表

### 1. 論文発表

- 齊藤哲也, 山本一成, 宮嶋洋子, 田邊純一: A型肝炎ウイルスによる食中毒事例, 病原微生物検出情報, 31(10), 291-292, 201
- 野田 衛: 食品媒介性ウイルス感染症の現状と対策, 食と健康, 8-18 (2010)
- 野田 衛: 食品媒介性ウイルス感染症の現状と課題, 衛生の友, 41, 2 (2010)
- 野田 衛: 食品中のウイルスの制御に関する国際動向, 日本食品微生物学会雑誌, 27(2), 68-74 (2010)
- 野田 衛, 石井孝司, 片山和彦, 多田有希, 中島一敏, 島田智恵, 中村奈緒美, 岡部信彦, 田中 誠, 熊谷優子: 自治体間における A 型肝炎ウイルスの分子的, 疫学的データの共有体制 (V-Nus Net Japan) の構築: その目的と意義, 病原微生物検出情報, 31, 289-291 (2010)
- 入谷展弘, 久保英幸, 改田厚, 関口純一郎, 後藤薫, 長谷篤, 齊藤武志, 石黒正博, 鎌倉和哉, 吉田英樹, 清原知子, 石井孝司, 野田衛: 大阪市内で認められた A 型肝炎 3 症例について, IASR 31(No. 368), 296-297 (2010)
- 入谷展弘, 改田厚, 久保英幸, 阿部仁一郎, 西尾治, 後藤薫, 長谷篤: 市販生食用カキにおけるノロウイルスおよび A 型肝炎ウイルス汚染調査 (2006-2007~2009-2010 シーズン), 大阪市立環境科学研究所報告 調査・研究年報 平成 21 年度版 第 72 集, 7-12 (2010)
- 増本久人, 南 亮仁, 野田日登美, 江口正宏, 原崎孝子, 鶴田清典, 北島正章, 片山浩之, 清原知子, 石井孝司, 野田 衛: A 型肝炎ウイルス検出事例の分子疫学的検討-佐賀県, 病原微生物検出情報, 31, 292-294 (2010)
- 石井孝司, 清原知子, 吉崎佐矢香, 佐藤知子, 脇田隆字, 中村奈緒美, 島田智恵, 中島一敏, 多田有希, 野田衛, 三上稔之, 齊藤哲也, 山崎彰美, 埼玉県衛生研究所, 清水英明, 宇宿秀三, 長岡宏美, 吉田徹也, 岡村雄一郎, 小原真弓, 柴田伸一郎, 楠原一, 近野真由美, 入谷展弘, 奴久妻聡一, 川西伸也, 榊原啓子, 榎本義正, 岡本玲子, 世良暢之, 川本大輔, 増本久人, 上村晃秀: 2010 年春季に日本で多発した A 型肝炎の分子疫学的解析, IASR 31(No. 368), 287-289 (2010)
- 吉田徹也, 宮坂たつ子, 畔上由佳, 内山友里恵, 笠原ひとみ, 上田ひろみ, 長瀬博, 藤田暁, 石井孝司, 野田衛: 長野県における A 型肝炎事例の疫学的分析. 病原微生物検出情報, 31: 294-295, 2010.
- Tetsuya Yoshida, Tatsuko Miyasaka, Yuka Azegami, Yurie Uchiyama, Hitomi Kasahara, Hiromi Ueda, Koji Ishii, Mamoru Noda: Investigation of epidemiology and HAV genomes regarding three hepatitis A infections that occurred in April -May, 2010. Jpn J Infect Dis, (submitted).

### 2. 学会発表

- 野田 衛, 片山和彦, 石井孝司, 岡智一郎, 多田有希, 山下和予, 三瀬敬治, 吉澄志磨, 植木 洋, 林 志直, 山崎匠子, 小原真弓, 吉田徹也, 小林慎一, 中田恵子, 入谷展弘, 三好龍也, 阿部勝彦, 山下育孝, 糸数清正, 中村奈緒美, 島田智恵, 岡部信彦: 塩基配列情報共有化の食品媒介ウイルス感染症の疫学調査への応用, 第 31 回日本食品微生物学会学術総会, 大津市, 11/11 (2010)
- 入谷展弘, 改田厚, 久保英幸, 阿部仁一郎, 西尾治, 後藤薫, 長谷篤: 市販生食用カキにおけるノロウイルスおよび A 型肝炎ウイルス汚染調査 (2006-2007~2009-2010 シーズン), 平成 22 年度地方衛生研究所全国協議会近畿支部ウイルス部会総会, 奈良 (2010. 9. 17)
- 石井孝司, 清原知子, 吉崎佐矢香, 脇田隆字, 島田智恵, 中村奈緒美, 多田有希, 野田 衛: 2010 年に日本で多発した A 型肝炎の分子疫学的解析, 第 58 回日本ウイルス学会, 平成 22 年 11 月, 徳島
- 三浦正義, 金田尚, 橋本郁夫, 中川裕康, 西浦可祝, 樋上義伸, 高櫻明子, 小原真弓: A 型肝炎の家族発症. 第 300 回日本小児科学会北陸地方会, 石川県, 平成 22 年 12 月 12 日
- 斎藤博之, 東方美保, 岡智一郎, 片山和彦, 田中智之, 野田 衛: 食品検体のノロウイルス検査のためのパンソルビン・トラップ法の開発と拡大適用, 第 58 回日本ウイルス学会学術集会, 徳島市, 11/8 (2010)
- N. Nakamura, T. Shimada, Y. Tada, N. Okabe, T. Kiyohara, K. Ishii, M. Noda: Diffuse outbreak of hepatitis A suspected by national case based surveillance in Japan, 2010, International Meeting on Emerging Diseases and Surveillance, Vienna (Austria), 2/6 (2011)
- Ishii K., Kiyohara T., Yoshizaki S., Shimada C., Nakamura N., Tada Y., Noda M. and Wakita T. Epidemiological and genetic analysis of a diffuse outbreak of hepatitis A in Japan, 2010. Asian Pacific Association for the Study of the Liver. Bangkok, Thailand, February 17-20, 2011.
- Ishii K. Surveillance of hepatitis A virus in Japan. Research Forum for the Tohoku-RITM Collaborating Research Center for Emerging and Reemerging Infectious Diseases. Manila, Philippines, December 10, 2010.

研究成果の刊行物・別刷

<特集関連情報>

わが国における A 型肝炎の血清疫学

背景

A 型肝炎ウイルス (HAV) に感染すると抗 HAV-IgG 抗体 (抗 HAV 抗体) を獲得する。抗 HAV 抗体は長期間にわたって感染を防御し、個人の A 型肝炎既往歴を示すとともに、HAV に対して抵抗性であることを意味する。

HAV 常在地では多くの人々が小児期に感染して抗 HAV 抗体を獲得する<sup>1)</sup>。小児期の A 型肝炎は不顕性であることが多く、これらの地域では A 型肝炎の流行を見ないまま高い抗体保有率を維持する。A 型肝炎の発生が減少するとともに抗体獲得年齢が上昇し、疾病としての A 型肝炎が社会問題となる。さらに衛生環境が整備され感染の機会が減ると、抗 HAV 抗体を持たない HAV 感受性者が増加・蓄積する。つまり、A 型肝炎の発生が少なくなればなるほど、HAV に感染するリスクが増えていくというパラドックスが成立する。

現在、日本は世界的に見て、最も A 型肝炎の少ない地域の一つである<sup>1)</sup>。1990年の大流行を最後に患者数は減少し、近年の患者報告数は年間200人程度で推移している。2003年の血清疫学調査では、全人口の約88%、50歳以下の約98%は HAV 感受性者であることが明らかになった。

図1に示したように、2003年の調査<sup>2)</sup>では60歳以上の抗体保有率は70%以上と高く、60~40歳にかけて急激に減少し、40歳以下はほぼ0%で推移することから、2003年より60~65年以上前 (1940年以前) は日本に A 型肝炎が常在し、多くの人々が無症状、または軽症ですむ小児のうちに罹患して終生免疫を獲得していたこと、その後20年間で A 型肝炎が減少し、それとともに抗

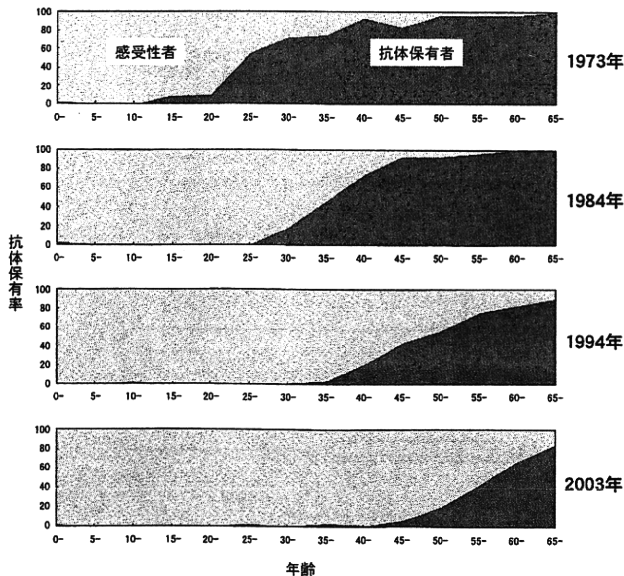


図1. HAV感受性者と抗体保有者の推移

体保有率が低下したこと、40年前 (1960年代) ~2003年までは抗体保有率に影響を及ぼすような A 型肝炎の蔓延がなかったことが見てとれる。

抗体保有者と感受性者の割合の経時変化を見ると、1973年の抗体保有者は感受性者より多かったが、1984年になると同率になり、1994年では感受性者が過半数を占めるようになった。2003年になるとさらに感受性者が増加する (図1)。感受性者の年齢は年々上昇し、これを反映して中高年の患者数が増えている<sup>3)</sup> (図2)。

2010年の流行

2010年第31週 (8月11日) までに報告された A 型肝炎患者 (282人) の年齢分布と抗体保有率 (2003年調査から推定) を図3に示した。0~21歳は抗体保有率が低い患者数は少ない。この年齢層はそれ以上の年齢層に比べ①不顕性感染が多い、② A 型肝炎流行の原因として報告の多い食材 (カキ・魚介類など生もの) の喫食や会食の機会が少ない、等が考慮される。特に、5歳以下の感染者は80~95%が不顕性感染し<sup>1)</sup>、リザーバーおよびスプレッダー (不顕性感染の小児による学校等のサイレント・アウトブレイク、家庭内への持ち込み、成人への感染など) としての危険性が懸念されている。

成人患者は20~60代前半に集中しており、全体の85% (241/282人) を占めた。22~51歳の間は抗体保有率がほぼ0%で推移し、52歳から抗体保有率が上昇す

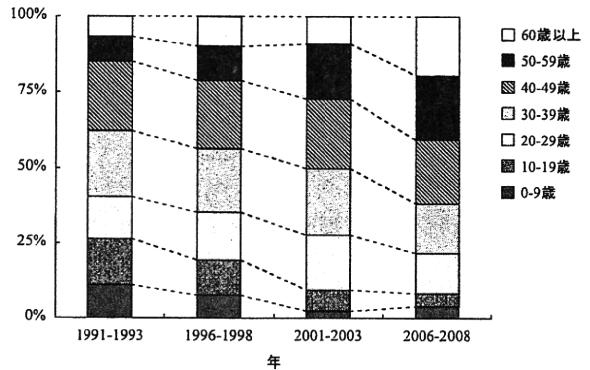


図2. 日本におけるA型肝炎患者の年齢分布, 1991~2008年 (感染症発生動向調査より)

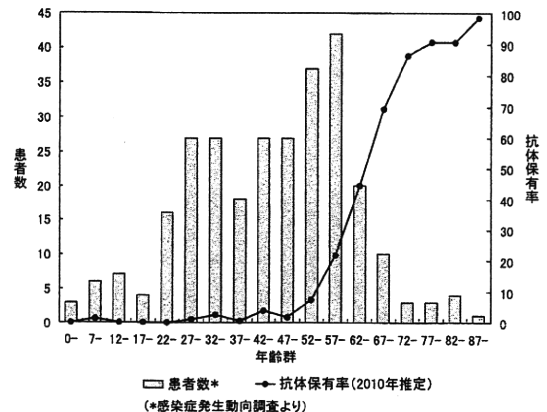


図3. 患者数 (2010年31週) と抗体保有率