

る。67歳以上の抗体保有率は約70%以上で、保有率の上昇とともに患者数は減少した(21/282人)。抗体保有率が高い年齢層の患者数は少なく、HAV 感染防御における免疫の効果を再確認する結果となった。

A 型肝炎の予防には衛生管理とワクチン、またはヒト免疫グロブリンによる免疫が有効である。今回の流行では患者の多くが散発例であり、HAV に汚染された食品による感染が疑われた。一方で、患者との接触が原因とされるような集団感染、二次感染の報告が少ないことが、抗体保有率が低い割に爆発的な流行につながらなかった一因と考えられた。

感受性者が人口の多くを占めるわが国においては、衛生管理とともに、A 型肝炎のハイリスク群(A 型肝炎流行地への渡航者、患者家族、肝臓に基礎疾患を持つ人・特に中高齢者など)や周囲に感染を拡大させるおそれのある調理者等の食品取り扱い業者はワクチンで感染予防することが推奨される。

参考文献

- 1) World Health Organization, Department of Communicable Disease Surveillance and Response: Hepatitis A, 2000
http://www.who.int/csr/disease/hepatitis/whocdscsredc2007/en/index.html
- 2) Kiyohara T, *et al.*, Microbiol Immunol 51: 185-191, 2007
- 3) 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所感染症情報センター, 感染症発生動向調査事業年報1991~2008年

国立感染症研究所ウイルス第二部第五室

清原知子 石井孝司 脇田隆字

国立感染症研究所感染症情報センター

中村奈緒美 島田智恵 中島一敏 多田有希

<特集関連情報>

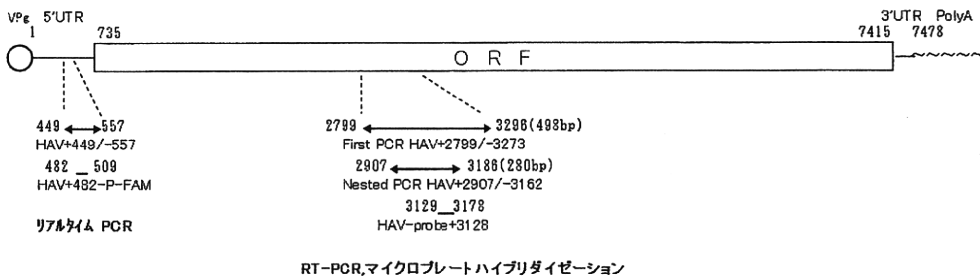
2010年春季に日本で多発した A 型肝炎の分子疫学的解析

日本での A 型肝炎患者数は2007年以降非常に低いレベル(150人/年程度)で推移していたが、2010年は3月から全国各地で A 型肝炎が多発したため、3月26日に国立感染症研究所感染症情報センターからアラートが発出された。また厚生労働省は、4月26日付健感発第0426第2号・食安監発0426第4号「A 型肝炎発生届受理時の検体の確保等について」(IASR 31: 140, 2010参照)により、各自自治体宛に A 型肝炎の発生届を受理した場合の分子疫学的解析を目的とする患者の糞便検体の確保と積極的疫学調査の実施を依頼した。感染症情報センターのまとめでは、2010年の A 型肝炎患者数は第34週時点で296人となっている。

ウイルス第二部では、感染症情報センター、国立医薬品食品衛生研究所、および全国の地方衛生研究所と共同で、A 型肝炎患者からウイルス(HAV)ゲノムの検出を試み、得られた塩基配列情報を基に分子疫学的な解析を行った。本稿ではその結果について記載する。

A 型肝炎患者の便乳剤または血清から RNA を抽出し、2009(平成21)年12月1日に医薬食品局食品安全部監視安全課長より通知された食安監発1201第1号「A 型肝炎ウイルスの検出法について」に従い、HAV ゲノムの構造/非構造領域の junction 部分の配列を RT-PCR 法により増幅後決定した(図1)。これらの配列を過去のデータベースと比較し分子疫学的な解析を行った。

現在までに合計59株について配列解析を行った。その結果、今年の流行株は genotype IA が42株、IB が1株、III A が16株であり、その大部分は IA の2つのクラスターと III A の1つのクラスターに分類されることが判明した(次ページ図2)。IA のクラスター



RT-PCR,マイクロプレートハイブリダイゼーション

<Primer> HAV+2799 5'-ATT CAG ATT AGA CTG CCT TGG TA-3'
 HAV+2907 5'-GCA AAT TAC AAT CAT TCT GAT GA-3'
 HAV-3162 5'-CTT CYT GAG CAT ACT TKA RTC TTT G-3'
 HAV-3273 5'-CCA AGA AAC CTT CAT TAT TTC ATG-3'
 <Probe> HAV-probe+3129 5'-Biotin-CCA TAT AAA GAA CTG AGA TTA GAA GTT GGG AAR CAA AGA YTC AAG TAT GC-3'

リアルタイム PCR

<Primer> HAV+449 5'-AGG GTA ACA GCG GCG GAT AT-3'
 HAV-557 5'-ACA GCC CTG ACA RTC AAT YCA CT-3'
 <Probe> HA+482-P-FAM 5'-FAM-AGA CAA AAA CCA TTC AAC ROC GRA GGA C-TMIRA-3'

図1. A型肝炎ウイルス検出のプライマーおよびプローブ

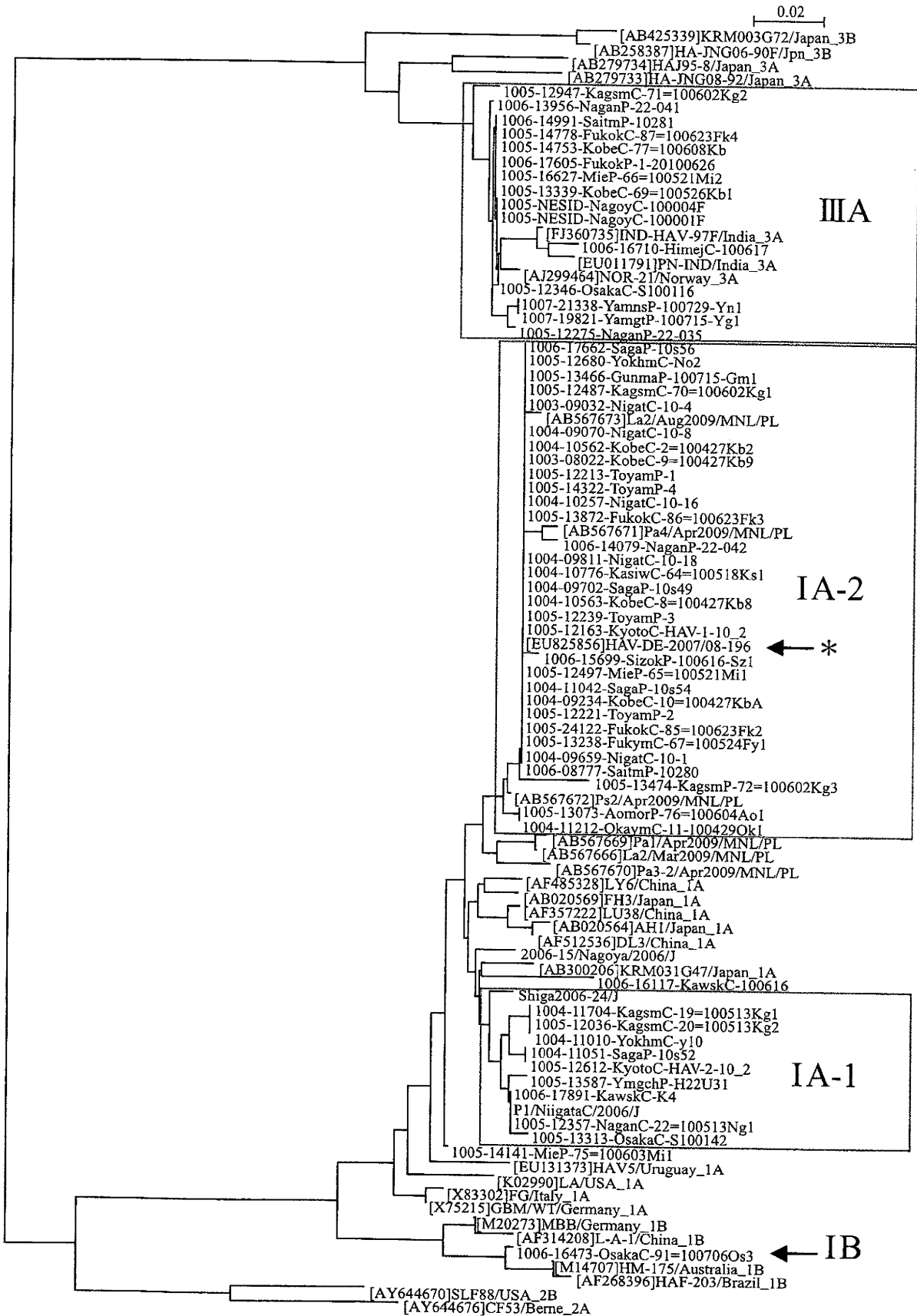


図2. 2010年春季に日本で流行したHAV遺伝子の系統樹解析

V-Nus Net Japan における HAV の株名表記の規則については本号 7 ページ上段表 1 を参照
 (インターネット版 IASR <http://idsc.nih.gov/jiasr/31/368/inx368-j.html> にはカラー版が掲載されています)

の1つ(前ページ図2, IA-1)は2006年に日本で滋賀、新潟などで小流行した株と類似しており、また同じクラスターに属する株が2001年から継続して検出されていることから、少なくとも10年程度前から日本に常在していた株と推定される^{1,2)}。

一方、IAのもう1つのクラスターに属する株(前ページ図2, IA-2)は解析を行った株の過半数を占め、非常に均一性が高く、しかも2007年にドイツで確認された株(HAV-DE-2007/08-196, 前ページ図2, IA-2中←*印がついている株。本稿ではGM2007と呼ぶ)と同一の配列であった³⁾。GM2007は2007年にフィリピンへ旅行し帰国直後に急性肝炎を発症した11歳の女兒から得られた株である。また、このクラスターに属する日本の患者の中には、フィリピンからの帰国直後に発症した事例が2例あった(うち1例については本号11ページ参照)。本クラスターはフィリピンとの関連が示唆されることから、データベースよりフィリピンの河川水、下水由来のHAV配列を取得して系統樹解析を行った結果、これらの配列の一部は本クラスターに属していることが判明した。以上の結果から、本クラスターに属するIA株は、フィリピンのHAVと関連があることが強く示唆された。

日本において、従来 genotype IIIA に属するHAVの報告は非常に少なかったが、本年は30%近くがIIIAに分類されている。韓国においては、2000年以降のHAVの主要な genotype はIAであったが、2008年から急性A型肝炎の大流行が発生しており、2009年には患者数は15,231人、2010年の32週までの患者数は4,766人に達している。この大流行の際にドミナントな genotype がIAからIIIAに移行していることが報告された⁴⁾。2010年に日本で検出されたIIIAの株(前ページ図2, IIIA)は、この韓国で大流行したIIIA株と同じクラスターに属しており、韓国での流行との関連が示唆された(本号11 & 13ページ参照)。

genotype IBが検出された患者(前ページ図2に←IBで示す)は、エジプト、トルコなど中近東地域への旅行から帰国直後に発症しており、旅行先での感染が示唆される(本号13ページ参照)。トルコ産のセミドライトマトが原因と見られる genotype IBのA型肝炎の流行が、フランス、オランダ、オーストラリアなどで発生しており、中近東地域で主流と見られるHAVと本事例の遺伝子型が一致していることも旅行先での感染を示唆する⁵⁾。

以上の結果より、本年にA型肝炎が多発した理由は、従来日本に常在していた株に加え、GM2007と同一配列である株が新たに日本で流行し、また韓国で大流行した株も一部日本に侵淫してきたためであると考えられた。GM2007類似株が全国で多発していた原因と、この株の由来についてさらに解析を進める予定である。

参考文献

- 1) 長谷川, 他, IASR 27: 341-342, 2006
- 2) 新潟市保健所, 他, IASR 27: 178, 2006
- 3) Faber MS, *et al.*, Emerg Infect Dis 15: 1760-1768, 2009
- 4) Yoon YK, *et al.*, J Clin Virol 46: 184-188, 2009
- 5) Pettrignani M, *et al.*, Euro Surveill. 2010; 15 (11): pii=19512

国立感染症研究所ウイルス第二部

石井孝司 清原知子 吉崎佐矢香 佐藤知子
脇田隆宇

国立感染症研究所感染症情報センター

中村奈緒美 島田智恵 中島一敏 多田有希
国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部
野田 衛

三上稔之(青森県), 齊藤哲也(新潟市), 山崎彰美(柏市), 埼玉県衛生研究所, 清水英明(川崎市), 宇宿秀三(横浜市), 長岡宏美(静岡県), 吉田徹也(長野県), 岡村雄一郎(長野市), 小原真弓(富山県), 柴田伸一郎(名古屋市), 楠原 一(三重県), 近野真由美(京都市), 入谷展弘(大阪市), 奴久妻聡一(神戸市), 川西伸也(姫路市), 榊原啓子(岡山市), 榎本義正(福山市), 岡本玲子(山口県), 世良暢之(福岡県), 川本大輔(福岡市), 増本久人(佐賀県), 上村晃秀(鹿児島県)

<特集関連情報>

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

A型肝炎はA型肝炎ウイルス(HAV)の感染による急性肝炎で、感染者の便中に排泄されたウイルスが感染源となり、感染者との接触や水、食品等を介して経口的に感染するが、その感染経路や原因食品は不明の場合が多い。これは主にA型肝炎は、①潜伏期が2~7週間と長く、患者の喫食調査や行動調査などの疫学調査が困難であること、②感染症法に基づき全数把握4類感染症として届け出られた症例に対して、食中毒としての調査が行われることが少なかったこと、③多くの場合血清学的検査(HAV特異的IgM抗体の検出)により確定診断されるため、感染症発生動向調査の病原体サーベイランスの対象となっておらず、地方衛生研究所(地研)等でウイルスの検出や分子疫学的解析が行われていなかったことなどによる。そのため、これまで集団発生事例では原因食品や感染経路が特定された事例はあるものの¹⁻⁴⁾、散发例については患者間の疫学的関連性や感染経路はほとんど明らかにされていない。

表1. V-Nus Net JapanにおけるA型肝炎ウイルスの株名

<p>A型肝炎ウイルスの株名は以下の規則に従う。</p> <p>YYMM-NESID-JJJJJJ-KKKKKKKKKKKK(半角30文字以内)</p> <p>(例)1003-09070-NigatC-10-8</p> <p>YYMM:原則として、感染症法に基づく医師から地方自治体への報告日の年(西暦下2桁)および月(2桁)を示す。ただし、年次変わりで医師から地方自治体への報告年と地方自治体のNESIDへの登録年が異なる場合(例:医師から自治体への報告が12月31日で、自治体のNESID登録が1月1日である場合)は、NESID IDとの整合性を確保するため、自治体のNESID登録年月とする。</p> <p>(例)1003(=2010年3月)は医師から地方自治体への報告年月が2010年3月であることを示す。</p> <p>NESID: NESIDの感染症発生動向調査システム報告IDの下5桁</p> <p>(例)「09070」に「2010」(届出の西暦年)を付した「201009070」が報告IDになる。</p> <p>JJJJJJ: ウイルスを検出した自治体名あるいは検体を国立感染症研究所に送付した自治体名に、府・県はP、市はCを付し、6文字以内で任意に省略したもの。</p> <p>KKKKKKKKKKKK: ウイルスを検出した自治体あるいは国立感染症研究所での株名あるいはその省略名。(半角12文字以内)</p>
--

一方、HAVは世界的にはノロウイルスとともに食品媒介ウイルスとして重要視され、コーデックス食品衛生部会において両ウイルスを念頭においた「食品中のウイルス制御への食品衛生の一般原則の適用に関するガイドライン」の文書化が進んでいる。諸外国では二枚貝^{5,6)}、ルッコラ(Rocket salad)⁷⁾などの生鮮輸入農水産物による集団発生が報告され、わが国への汚染食品の侵入も懸念されている。2009年秋にはオーストラリアや欧州でセミドライトマトによるA型肝炎が多発^{8,9)}し、わが国でも輸入時の検疫体制の強化が図られた。

このような中、2010年春季にわが国においてA型肝炎患者が急増し、不幸にも死亡例を見るに至った。感染経路として二枚貝の関与が疑われる事例が少なくなく、共通の汚染食品による広域食中毒事例の可能性も否定できなかった¹⁰⁾ことから、厚生労働省は2010(平成22)年4月26日付健感発第0426第2号・食安監発0426第4号「A型肝炎発生届受理時の検体の確保等について」(IASR 31: 140, 2010参照)により厚生労働省健康局結核感染症課長、医薬食品局食品安全部監視安全課長の連名で各自治体宛に、A型肝炎の発生届を受理した場合の分子疫学的解析を目的とする患者の糞便検体の確保と、感染症対策主管部局および食品衛生主管部局の連携による積極的疫学調査の実施を依頼した。

本通知により、全国で検出されたHAVの塩基配列データが国立感染症研究所で収集され、データの共有化が開始されたが、分子疫学的解析結果を単に共有するだけでは感染源や感染経路の究明などに有効に機能

することは少なく、解析結果をさらなる疫学調査に生かすことが求められる。たとえば、海外からHAVに汚染された食品が輸入され、広域に流通した場合、患者発生は全国に及び、さらに潜伏期は2~7週間と幅があることから、同一の汚染食品による感染事例でも地理的、時間的な広がりを持って発生する可能性がある。これらの散発発生にみえる患者から共通の汚染食品を特定するためには、全国から報告されたA型肝炎患者のうち、同一のクラスターに分類されるウイルスが検出された患者について関連する自治体間で疫学情報を共有することで、共通の原因食品を効率的に特定することができると考えられる。また、海外旅行後に発症した場合、感染地域が海外か国内かの推定や、複数の国に渡航した場合の感染国の推定は個人の疫学情報に基づくだけでは困難な場合が多い。しかし、同じ塩基配列を持つウイルスによる海外旅行後の感染者が他にいた場合、両者に共通する訪問国での感染の可能性が高くなると考えられる。これらの例のように遺伝子解析で得られた情報を疫学調査に適用することで、より効率的に詳細な疫学的分析が可能になる。一方、HAVは、環境中での生存性が高く、同一の塩基配列を持つウイルスが疫学的に直接的に関連しない患者からも検出されるため、塩基配列の一致は疫学的な直接的関連性を必ずしも意味するものではない。以上のことから、患者間の疫学的関連性や共通の感染源を特定するためには、系統樹解析で同一のクラスターに分類されるウイルスが検出された患者について、関連する自治体間で疫学データを共有し、さらなる疫学調査を

実施できる仕組みが極めて重要となる。

そこで、全国で検出された HAV の系統樹解析結果を還元するにあたり、前ページ表 1 に示したように、報告年月、感染症サーベイランスシステム (NESID) の感染症発生動向調査システム報告 ID、自治体名、および地研等での株名を含む共通の規則をもった株名を採用することとした。NESID の報告 ID は医師から A 型肝炎の届出を受けた保健所が NESID に患者データを登録する際に自動的に付加される番号で、患者に固有のものである。従って、この ID を用いて登録元の自治体に照会することで、迅速に患者を特定することができ、両自治体の患者について双方で疫学情報を共有することができる。さらに、系統樹に登録されているそれぞれの HAV が、いつ (報告年月)、どこから (自治体) 報告されたかが簡単に把握できることに加え、地研等での株名も含めることで、地研間での情報交換も容易に行える仕組みになっている (本号 5 ページ参照)。

現在、食中毒の早期発見と被害の拡大防止を目的として、自治体間での情報の共有、交換を行うために運用されている食中毒支援調査システム (NESFD) 内の V-Nus Net Japan (Virus Nucleotide Sequence Network of Japan の略) において、この命名法を用いた HAV の系統樹解析結果を掲載し、情報の共有化を図っている。本システムを利用し、自治体間での疫学情報の交換を密に行い、患者間の疫学的関連性や感染源、感染経路の特定、被害の拡大防止に生かしていただければ幸いである。

なお、このような分子疫学的な実験室内情報と NESID に基づく疫学情報との共有化は、E 型肝炎、腸管出血性大腸菌感染症などを含め他の全数把握感染症にも応用可能である。また、病原体検出情報システムで報告されているウイルスであれば、同様に病原体個票の ID を用いることにより疫学情報との共有化を図ることができる。現在、ノロウイルスについても協力をいただいている地研から報告された株について系統樹解析を行い、試行的な情報の共有化を実施しており、V-Nus Net Japan 内にも情報を還元している。

参考文献

- 1) 猿渡, 他, IASR 23: 147-149, 2002
- 2) 古田, 他, IASR 23: 119-120, 2002
- 3) 貞升, 他, IASR 23: 273, 2002
- 4) 新潟市保健所, 他, IASR 27: 178, 2006
- 5) Webby RJ, *et al.*, Clin Infect Dis 44: 1026-1031, 2007
- 6) Guiral Rodrigo S, *et al.*, Euro Surveill. 1999; 3 (47): pii=1297
- 7) Nygård K, *et al.*, Euro Surveill. 2001; 6 (10): pii=380
- 8) Health Protection Report 4 (10), 2010

- 9) Petrigiani M, *et al.*, Euro Surveill. 2010; 15 (11): pii=19512
- 10) A 型肝炎, 感染症週報 12 (13): 6-10, 2010
国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部
野田 衛
国立感染症研究所ウイルス第二部
石井孝司 片山和彦
国立感染症研究所感染症情報センター
多田有希 中島一敏 島田智恵 中村奈緒美
岡部信彦
厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課
食中毒被害情報管理室 田中 誠 熊谷優子

<特集関連情報>

A 型肝炎ウイルスによる食中毒事例——新潟市

2010 (平成22) 年 3 月, 新潟市内の事業所で A 型肝炎ウイルス (HAV) による食中毒事例があった。その概要を報告する。

事件の概要: 3 月 31 日および 4 月 5 日に, 新潟市内の医療機関から新潟市保健所に A 型肝炎患者の発生届が出された。保健所の調査の結果, 患者 2 名のそれぞれの家族が同一の事業所に勤務しており, その事業所で 2 月の中旬, 海産物を従業員で分け, 家庭に持ち帰り喫食していたことが判明した。保健所では, その海産物を介した食中毒を疑い疫学調査を実施した。また, 衛生環境研究所での検査の結果, すべて同一の遺伝子塩基配列を持つ HAV が検出された。

検査対象および方法: 届出患者の便 2 件を含む海産物を喫食した者の便 23 件 (表 1) および患者らの家族等 18 件, 合計 41 件を採取し, 本研究所にて HAV の検

表 1. A 型肝炎ウイルスの検出状況と海産物の調理方法

	発症の有無	検出	食べた個数	
			生	加熱
No.1	有	○	1	
No.2	有	○	2	3
No.3	有	○	1	
No.4	有	○	3	
No.5	無	○	5	
No.6	無	×	2	
No.7	無	×	1	
No.8	無	×	1	
No.9	無	×	1	1
No.10	無	×		2
No.11	無	×		1
No.12	無	×		1
No.13	無	×		5
No.14	無	×		1.5
No.15	無	×		0.5
No.16	無	×		2
No.17	無	×		2
No.18	無	×		6
No.19	無	×		1
No.20	無	×		3
No.21	無	×		6
No.22	無	×		1
No.23	無	×		1

(N=23:海産物を喫食した者)

表2. 患者の症状(N=5)

	発熱	食欲不振	肝機能障害	黄疸	嘔吐・吐気	全身倦怠感
患者数(人)	3	3	3	2	1	1
発症率(%)	60	60	60	40	20	20

表3. 患者の性別・年齢別(N=5)

年齢	男性	女性	計
30～39歳	1	1	2
40～49歳		1	1
50～59歳	1	1	2
計	2	3	5

査を実施した。検査は RT-PCR 法（国立感染症研究所・病原体検査マニュアルおよび平成21年12月1日付食安監発1201第2号による「A型肝炎ウイルスの検出法について」）で行った。陽性の検体についてはシーケンス（Gene Rapid: ダイターミネーター法）を行い、遺伝子型検索を実施した。

検査結果：上記、海産物を喫食した者の便23件中5件から HAV が検出された（前ページ表1）。遺伝子解析の結果、いずれも IA 型の HAV で、VP1-2A 領域の遺伝子塩基配列も一致した。DDBJ における BLAST 検索では、HAV-DE-2007/08-218 株（EU825857）に近縁であった。また、2006年に本市で発生した食中毒事例4株および2010年2月の本市での散発事例1株とは、その遺伝子塩基配列は異なっていた。

患者等疫学情報：HAV 検出者は5名であり、うち4名は3月21日～4月4日にかけて発症していた。症状は、発熱、食欲不振および黄疸等であった（表2）。また、無症状病原体保有者が1名であった。年齢構成は、30代が2名、40代が1名および50代が2名であった（表3）。海産物を喫食した23名に対し喫食状況を確認したところ、患者らはこの海産物を加熱せず生で喫食していたことが判明した（前ページ表1）。

HAV を検出した5名の共通点は次の2項目であった。1) 本人あるいは家族が同一の事業所に勤務していた。2) その事業所で分け持ち帰った海産物を加熱せず生で喫食した。

一般に、これらの海産物による食中毒では既に喫食されているなど、原因と推定される食品のウイルス検出は困難である。今回の事例も食品の検査は実施できておらず、生産地域での発生状況の確認調査となった。その結果、海産物の生産海域における HAV の自主検査の結果は陰性であり、また、その生産地域においても A 型肝炎の患者が発生していないことなどから、この海産物を原因食品と特定することは難しいとの判断により、保健所は原因食品および原因施設不明の食中毒事件とした。

今回は、症状が重症化し医療機関へ入院した発症者が3名いたが、劇症肝炎にはならず、幸いに全員回復した。今後、生産地域を管轄する関係機関や国と連携し、原因食品の探知まで追跡できる体制の整備が必

要と思われた。

本事例に関して疫学調査等の情報収集に尽力いただいた新潟市保健所食品・環境衛生課各位および HAV 遺伝子の解析にご協力ご助言いただいた国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部・野田衛先生ならびに国立感染症研究所ウイルス第二部・石井孝司先生に深謝いたします。

新潟市衛生環境研究所衛生科学室

齊藤哲也 山本一成 宮嶋洋子 田邊純一

<特集関連情報>

A 型肝炎ウイルス検出事例の分子疫学的検討——佐賀県

1. はじめに

国内の A 型肝炎患者数は2000年以降減少傾向を示していたが、2010年2月（第5週）から患者届出が増加し始め、3月（第10週）以降に急増した。この状況から国立感染症研究所（感染研）感染症情報センターは、2010年3月26日付けで厚生労働省健康局結核感染症課および医薬食品局監視安全課を通じて「A型肝炎の Diffuse Outbreak に関する注意喚起情報」¹⁾を全国の自治体に周知し、積極的疫学的調査と A 型肝炎ウイルス（HAV）の PCR 検査のための検体確保の協力を促す「アラート体制」をとった^{1,2)}。佐賀県では2010年4月（第15週）の初発事例から6月（第25週）までに計7件の A 型肝炎患者の届出があった。これらの患者の届出を受け、管轄保健福祉事務所で疫学的調査を実施するとともに当所において HAV の検出と分子疫学的な解析を行った。

2. 材料と方法

佐賀県内において A 型肝炎と届出された7事例（次ページ表）のうち5事例の患者便5検体と事例4の患者自宅の井戸水1検体、計6検体について HAV 遺伝子の検出を試みた。患者便からの HAV 遺伝子検査法は「A型肝炎ウイルス検出法」（食安監発第1201号、平成21年12月1日改正）、感染研の病原体検出マニュアルなどに準じて行った³⁻⁶⁾。井戸水については約300ml を Amicon Ultra-15 Ultracel-30K (MILLIPORE) を用いて濃縮した後、便検体と同様に処理した。なお、後述のように当所の検査では井戸水は陰性であったことから、井戸水約200ml を感染研に送付し、再検査を実施した。PCR 法で得られた HAV 遺伝子の陽性産物はダイレクトシーケンス法で塩基配列を決定し、この塩基配列および予測されるアミノ酸配列について BLAST 検索、CLUSTALW ver.1.83 による系統樹解

表. A型肝炎NESID登録症例と検査結果一覧(2010年1月~8月)

事例No.	事例1	事例2	事例3	事例4		事例5	事例6	事例7
				(患者便)	(井戸水)			
NESID登録事例	○	○	○	○	—	○	○	○
検体No.	10s49	10s52	10s53	10s54	10e505a	10s65	—	—
年齢	45歳、男性	47歳、女性	78歳、女性	60歳、男性	—	26歳、女性	84歳、男性	53歳、男性
検体	便	便	便	便	井戸水	便	—	—
採取日	4月13日	4月26日	4月26日	4月27日	4月27日	6月25日	—	—
PCR結果	陽性	陽性	陰性	陽性	陽性	陽性	—	—
遺伝子型・群	G-IAb亜群	G-IAa亜群	陰性	G-IAb亜群	G-IAb亜群	G-IAb亜群	—	—
診断日	4月1日 (13週)	4月21日 (16週)	4月22日 (16週)	4月23日 (16週)	—	6月23日 (25週)	4月1日 (13週)	4月8日 (14週)
臨床診断	IgM抗体	IgM抗体	IgM抗体	IgM抗体	—	IgM抗体	IgM抗体	IgM抗体
感染経路 (推定)	経口	不明	不明	経口	—	経口	経口	経口
感染源 (推定)	生肝	不明	不明	不明	不明	不明	生、生貝	生肝
感染地域 (推定)	国内不明	佐賀県	佐賀市	三養基郡(家族内発生なし)		福岡県	佐賀市	佐賀県
管轄保健所 (届出)	佐賀中部 (〃)	佐賀中部 (〃)	佐賀中部 (〃)	鳥 栖 (福岡県久留米市)		佐賀中部 (〃)	佐賀中部 (〃)	鳥 栖 (〃)

* 遺伝子型・群：便宜的にG-IAa亜群、G-IAb亜群に分類した。

析などの分子疫学的な解析を行った。

3. 遺伝子検査結果

患者便では5検体中4検体(事例1, 2, 4, 5)からHAV遺伝子が検出された。井戸水(事例4)は当所で濃縮処理した検体からは検出できなかったため、感染研に再検査を依頼した結果、陽性となった。VP1-2A領域の塩基配列(232bp)を基に系統樹解析を行った結果(次ページ図)、検出HAVはすべてgenogroup(G)-IA型の標準株①DL3[AF512636](China)や標準株②HAV5[EU131373](Uruguay)の分枝下に属していた。事例2由来株はHAV isolate a56[FJ445821](Taiwan)株と近縁で小分枝群を形成した(便宜的にG-IAa亜群とした)。事例1, 4, 5の患者便と事例4の井戸水(塩基配列不読部分を除く)に由来する株の塩基配列は完全に一致し、HAV-DE-2007/08-218[EU82857](Germany)株とも完全に一致した(G-IAb亜群とした)。以上より、今回検出されたHAVは二つのクラスターに分類された。

一方、決定した塩基配列から予測されるアミノ酸配列(77aa)に変換し、G-IA標準株①と比較した結果、G-IAa亜群はアミノ酸変異は認められなかった。G-IAb亜群は70番目のグルタミン酸(E)がアスパラギン酸(D)に変異(E70D)し、相同性は99%であった。

4. 考察

佐賀県では2010年4月~6月の間に7件のA型肝炎患者の届出があり、検体が採取された5事例のうち4事例の患者便からHAVが検出された。検出HAVはすべてG-IA型遺伝子と型別された。2000~2006年の間に岐阜県、浜松市、東京都、新潟市、滋賀県で発生した事例⁸⁾は飲食施設が関与した食中毒事例で、すべてG-IA型が検出されており、G-IA型は国内での

主流型と思われる。

事例1, 4, 5の患者から検出されたHAVの塩基配列は完全に一致した。この3名の患者の聞き取り調査を行ったが、A型肝炎は発症するまでの潜伏期が長いことなどから十分な疫学情報は得られず、患者間の疫学的な関連性や感染源の究明には至らなかった。

一方、事例4においては患者自宅の井戸水からHAVが検出され、その塩基配列は不読部分を除き、当該患者から検出されたウイルスの塩基配列と一致した。患者の家では水道が引かれておらず、井戸水が飲用を含む生活水として利用されていることから、井戸水の飲用により感染した可能性が考えられる。しかし、家族内に他の発症者が見られず、トイレが汲み取り式の便槽であることから当該患者の便中のウイルスが井戸水を汚染した可能性も否定できず、感染源として特定するには至っていない。

事例2から検出されたウイルスは、上記の3事例とは異なるウイルスの亜群であり、それらとは感染経路が異なるものと思われた。疫学調査からも感染源の特定には至らなかった。

佐賀県内においては1977年に県内東部の小学校児童411名を中心としたA型肝炎集団事例¹¹⁾が発生しているが、それ以降、県内では大規模な集団発生は確認されていない。感染研の感染症発生動向調査システムの登録情報によると、県内のA型肝炎報告数は2006年2件、2007年3件、2008年3件、2009年は0件であった。2010年は8月現在で7件の届出があり、分子疫学的解析の結果、2種類の亜群が県内で確認された。今後もHAVの監視および感染予防対策のために分子疫学的な調査を継続して行くことが重要と思われる。

謝辞：本調査にあたり、ご協力をいただきました佐

表. HAV患者の疫学調査結果

患者	性別	年齢	発病年月日	海外渡航歴		二枚貝生食喫食物(時期)	ウイルス株名
				渡航先	渡航期間		
A	女性	54	'10/04/29	韓国 台湾	'10/04/04~04/07 '10/04/26~04/28	無	1005-12275-NgnP-22-035
B	男性	52	'10/05/13		無	あさりの生塩漬け (4月中旬)	1006-13956-NgnP-22-041
C	女性	20	'10/05/19	フィリピン	'09/11/??~'10/05/18	不明	1006-14079-NgnP-22-042

準じ、患者糞便から RNA を抽出し、RT-PCR 法を用い HAV 遺伝子の一部を検出することによって実施した。さらに、PCR によって増幅された VP1-2A 領域の一部約230塩基の配列は、ダイレクトシーケンス法を用い決定し、系統樹解析などを行った。

3例のA型肝炎患者は女性2名(54歳・20歳)および男性1名(52歳)で、2010年4月29日~5月19日にかけて発病していた(表)。臨床症状は、黄疸、肝機能障害、発熱、倦怠感など、A型肝炎に典型的な症状を呈していた。3例中2例(患者AおよびC)は海外渡航歴を認め、患者Aは韓国および台湾に、患者Cはフィリピンに渡航していた(表)。A型肝炎の潜伏期間を考慮すると、患者Aの台湾への渡航は短期間で、しかも発病直前であったことから、HAV曝露との因果関係は考えられなかった。一方、患者Cは非常に長期間フィリピンに滞在(2009年11月~2010年5月18日)し、さらに帰国日の翌日に発病したことから、HAVによる曝露はフィリピン国内であったと強く示唆された。二枚貝の生食に関しては、患者Bのみ発病の約1カ月前に「あさりの生塩漬け」を喫食していたことが聞き取り調査で明らかになった。

A型肝炎患者3例から採取された糞便を用い、RT-PCR法を実施したところ、すべてHAV遺伝子陽性となった。さらに、PCR増幅産物の塩基配列を解読し系統樹解析を行ったところ、患者AおよびB由来株は遺伝学的に近縁で、いずれも遺伝子型ⅢAに分類された(図)。近年韓国では若年層を中心にA型肝炎が流行し、患者から検出されたHAV株の多くは遺伝子型ⅢAに属したとの報告がされている²⁾。このことから、患者Aは韓国滞在期間中に、同国内で流行していたHAV株に感染した可能性が否定できないと考えられた。また、患者Bは、HAVに汚染した二枚貝を発病の約1カ月前に生で喫食したことが、感染の原因となったものと推察された。食材の遡り調査は、患者の記憶が定かではないことから実施できず、二枚貝の産地等の情報は得られなかった。

他方、患者C由来株は遺伝子型ⅠAに分類され、ドイツにおいてフィリピン渡航者から検出されたHAV-DE-2007/08-196株(accession no. EU825856)およびHAV-DE-2007/08-218株(accession no. EU825857)と同じクラスターに属した(図)。また、図には示し

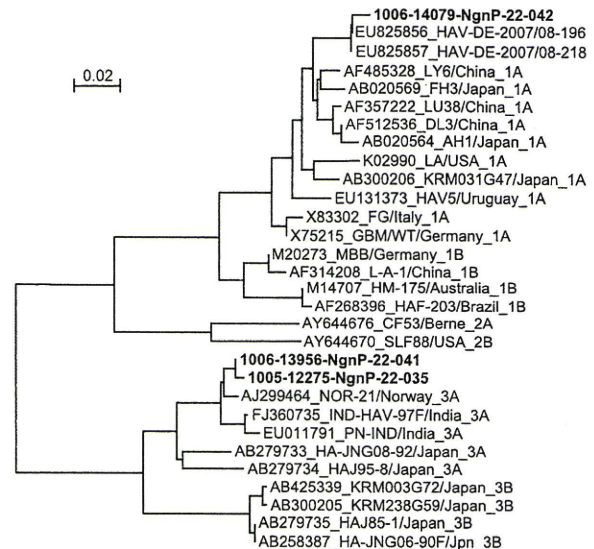


図. HAVのVP1-2A領域の一部約230ntの塩基配列に基づく系統樹解析結果

系統樹は neighbor-joining 法を用い、1,000 回ブートストラップを行った。図示していないが、out group として Avian encephalomyelitis virus (accession no. AY275539) を用いた。

ていないものの、患者C由来株はフィリピンの河川水から検出された株とも近縁であった。これらの遺伝学的解析結果は、患者Cがフィリピン国内でHAVに感染したことを強く裏付けるものであると考えられた。

2010年、わが国で流行しているHAV株の多くは遺伝子型ⅠAに分類され、患者C由来株に近縁との解析結果が示されている。今後、さらに詳細で広範囲な遺伝学的解析と疫学解析が行われ、A型肝炎患者急増の原因が早期に解明されることを期待する。

参考文献

- 1) A型肝炎検査マニュアル, 国立感染症研究所ウイルス第二部, 2006
- 2) Lee KO, et al., J Bacteriol Virol 39: 165-171, 2009

長野県環境保全研究所感染症部

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

国立感染症研究所ウイルス第二部

石井孝司

国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部

野田 衛

＜特集関連情報＞

大阪市で認められた A 型肝炎 3 症例について

2010年第10週からの A 型肝炎患者報告数急増によって「A 型肝炎の Diffuse Outbreak に関する注意喚起情報」が通知され、疫学的調査と PCR 検査のための検体確保について協力を促す「アラート体制」が第27週までとられた。本期間に 3 症例の A 型肝炎についてウイルス検出および分子疫学的解析を行ったので報告する。

症例 1：患者は海外渡航歴のない26歳男性。4月下旬から発症し、発熱、黄疸、肝機能障害、嘔吐を呈した。病院での A 型肝炎ウイルス (HAV) 抗体検査において IgM 陽性となり、A 型肝炎と診断された。推定感染時期は 3～4 月であり、本期間中に魚介類を喫食していた。

症例 2：患者は海外渡航歴のない57歳男性。5月初めに発症し、発熱、黄疸、肝機能障害、肝腫大を呈した。HAV 抗体検査において IgM 陽性となり、A 型肝炎と診断された。推定感染時期は不明である。

症例 3：患者は31歳男性。4月末～5月上旬にエジプト・トルコに滞在しており、帰国後に発症した（発症日は不明）。症状は、発熱、黄疸、肝機能障害、肝腫大、下痢である。病院での HAV 抗体検査において IgM 陽性となり、A 型肝炎と診断され、海外渡航時における感染が疑われた。

HAV 検査：ウイルスの検出は患者糞便材料について遺伝子検査を実施した。検査には、西尾らのリアルタイム PCR¹⁾、VP1-2A領域²⁾および VP3-VP1 領域³⁾における nested-PCR を用いた。さらに増幅された特異的 PCR 産物は、ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定し、遺伝子系統解析により型別した⁴⁾。その結果、検査を実施した 3 症例は、いずれかの方法で HAV 遺伝子が検出され、異なる遺伝子型に分類された (表)。VP1-2A 領域の nested-PCR で陰性となった症例 1 および 3 は、国立感染症研究所において antigen capture 等による再検査を実施し、陽性となった。リアルタイム RT-PCR で陽性となった症例 1 および 2 の糞便 1g あたりのウイルス RNA コピー数は、それぞれ 4.8×10^5 、 1.7×10^7 であった。

考察：患者情報から、今回の 3 症例は HAV が経

口感染したものと考えられたが、原因となった食品などの感染源は特定できなかった。また、検出された HAV 遺伝子型がすべて異なっていたことから、3 症例に疫学的な関連性はなく、個別の感染によるものであると考えられた。症例 1 および 2 については、渡航歴がないことから感染地域は国内と推定された。症例 1 の IIIA 型は、従来日本ではまれであったが、2007 および 2008 年に韓国で検出された株 (GenBank accession no. GU991288, GU991309, GU991321) と非常に近縁であった (塩基配列相同性 99.6% 以上)。IIIA 型は韓国において 2008 年頃から大きく増加していることから^{5,6)}、今後注意を要する株であると考えられた。症例 2 の IA 型は、世界各地で広く検出されている型であり、日本においても最も多く検出されている⁷⁾。今回検出された IA 株は、2006 年に新潟県など国内で検出された IA 株と近縁であった (data not shown)。症例 3 については、海外渡航時期と推定感染時期が一致すること、および IB 型が国内ではほとんど認められず、海外⁸⁻¹¹⁾で検出されている型であることから渡航地域での感染が強く疑われた。IB 型については 2009 年からトルコ産セミドライトマトを介した食中毒がオーストラリア^{8,9)}やフランス¹⁰⁾などで発生しており、感染拡大が危惧されている。

今回実施した HAV の分子疫学的解析は、各症例間の関連性や感染地域の推定に有用であった。A 型肝炎は潜伏期間が長く、感染源や感染経路の特定が非常に困難であるため、患者から検出されたウイルスの分子疫学的解析が原因究明に重要な情報になると考えられた。

参考文献

- 1) 西尾, 他, IASR 23: 274-275, 2002
- 2) 国立感染症研究所, 病原体検出マニュアル, 急性ウイルス肝炎: 6-14
- 3) Afaire-Marchais V, *et al.*, Mol Cell Probes 8: 117-124, 1994
- 4) Robertson BH, *et al.*, J Gen Virol 73: 1365-1377, 1992
- 5) Lee KO, *et al.*, J Bacteriol Virol 39: 165-171, 2009
- 6) Yoon YK, *et al.*, J Clin Virol 46: 184-188, 2009
- 7) 戸塚, IASR 21: 74, 2000

表. A 型肝炎 3 症例の検査結果および遺伝子型

症例	糞便採取日	HAV 遺伝子検査			遺伝子型
		リアルタイム RT-PCR (ウイルス量) ^{*1}	nested-PCR VP1-2A	nested-PCR VP3-VP1	
1	5/11	+ (4.8×10^5)	-(+) ^{*2}	+	IIIA
2	5/20	+ (1.7×10^7)	+	+	IA
3	6/16	-	-(+) ^{*2}	+	IB

*1 糞便 1g 当たりの HAV RNA コピー数

*2 Antigen capture 等による再検査結果

- 8) ProMED-mail 20090522.1917, 2009
- 9) ProMED-mail 20091104.3811, 2009
- 10) Health Protection Report 4(10), 2010
- 11) Petrigani M, *et al.*, Euro Surveill. 2010; 15
(11): pii=19512

大阪市立環境科学研究所

入谷展弘 久保英幸 改田 厚

関口純一郎 後藤 薫 長谷 篤

大阪市保健所

齊藤武志 石黒正博 鎌倉和哉 吉田英樹

国立感染症研究所ウイルス第二部

清原知子 石井孝司

国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部

野田 衛

