

201125011A

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

経口感染する肝炎ウイルス(A型、E型)の感染防止、
遺伝的多様性、および治療に関する研究

平成 23 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 岡本宏明

平成 24 (2012) 年 3 月

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

経口感染する肝炎ウイルス(A型、E型)の感染防止、
遺伝的多様性、および治療に関する研究

平成 23 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 岡本宏明

平成 24 (2012) 年 3 月

目 次

I. 総括研究報告

研究代表者報告：平成 23 年度の研究成果の纏め	(岡本 宏明)	-----	1
--------------------------	---------	-------	---

II. 分担研究報告

1. 国立病院急性肝炎共同研究班における A 型肝炎、E 型肝炎の動向	(八橋 弘)	-----	17
2. ①A 型および E 型肝炎ウイルスに起因する急性肝不全の実態調査、②成因不明の急性肝不全における非 B 非 C 型肝炎ウイルス感染の関与の検討	(中山伸朗)	-----	21
3. 日本における 2011 年の A 型肝炎の分子疫学的解析	(石井孝司)	-----	30
4. 千葉県における最近みられた A 型肝炎例の解析	(横須賀 収)	-----	37
5. ヒト・動物・食品からの A 型及び E 型肝炎ウイルス検出と塩基配列解析	(新井雅裕)	-----	39
6. 北海道地区献血者集団における HEV 感染の実態調査および関東地区献血者における HAV 抗体保有率調査	(日野 学)	-----	43
7. 北海道 E 型肝炎研究会による北海道内 HEV 感染実態の研究	(姜 貞憲)	-----	46
8. 岩手県を中心とした北東北における急性 E 型肝炎例の実態とその臨床像	(鈴木一幸)	-----	49
9. 分子進化学を駆使した日本土着 genotype 3 HEV の起源、日本への侵入時期、感染拡大の歴史の解析と今後の感染拡大防止策の提案	(中野達徳)	-----	53
10. 組換えバキュロウイルスを用いた Rat HEV 構造蛋白の発現およびその応用	(李 天成)	-----	57
11. 種の壁を越えた HEV の培養細胞での増殖	(高橋 雅春、 岡本 宏明)	-----	60
12. HEV の放出機構の解析	(長嶋 茂雄、 岡本 宏明)	-----	63

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	67
---------------------	-------	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	71
-----------------	-------	----

I. 総括研究報告

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）
経口感染する肝炎ウイルス（A 型、E 型）の感染防止、遺伝的多様性、および
治療に関する研究
平成 23 年度総括研究報告書

研究代表者 岡本宏明 自治医科大学 感染・免疫学講座ウイルス学部門 教授

研究要旨：今年度の研究成果のポイントを纏めると、A 型肝炎については、1) 年代別性別の HAV 抗体保有率を調査した結果、HAV に対する感受性者が着実に高齢化していることが明らかになり、A 型肝炎の集団発生があったこと（49 名発症：千葉市寿司店）、従前稀であったⅢA 型 HAV が 2007 年以降国内感染例でも散見され、定着が疑われること（重症化との関連も疑われること）などから、引き続き A 型肝炎流行の慎重な監視が必要であること、2) IFN-λ（IL29）が単独で、さらには Amantadine や IFN-α との併用療法が HAV IRES 活性の抑制に有効であること、などが示された。E 型肝炎については、1) Non-ABC 急性肝炎の中での E 型肝炎の占める割合が増加傾向にあること [国立病院機構共同研究班の全国調査：1.7～3.4%から 10%超（2000 年以降）]、2) 北海道での E 型肝炎の重症化率が高く [12/81（14.8%）]、うち 3 例（3.7%）が劇症化したこと、さらに札幌圏で 2009 年に小流行の原因となった新札幌 4 型株による E 型肝炎が 2011 年 12 月から再流行していること（7 例中 1 例劇症、2 例重症）、3) rat HEV の中空粒子の作製に成功し、抗体検出 ELISA 法を確立したこと、4) 培養系を用い、食物媒介性 E 型肝炎の感染源となりうる市販ブタ肝臓や野生イノシン肝臓の HEV 感染性を証明できたこと、5) ウサギ由来 HEV も含め、動物由来 HEV がヒト培養細胞（A549, PLC/PRF/5）で効率的に増殖しうることを示し、HEV の人獣共通感染する特性を培養系でも再現できたこと、6) HEV 粒子の細胞からの放出には Tsg101 や Vps4 などの宿主因子が重要な働きをしており、HEV が”non-enveloped”ウイルスでありながら、多くの”enveloped”ウイルスと同じように、ESCRT 輸送系と呼ばれる細胞内膜輸送系を介して放出されていることなど、感染予防対策の構築や治療法確立に資する多くの成果が班員および班友の協力によって得られた。

<研究分担者（班員）>

新井雅裕 東芝病院消化器内科 副院長
鈴木一幸 岩手医科大学 消化器・肝臓内科 教授
横須賀收 千葉大学大学院医学研究院腫瘍内科学
教授
八橋 弘 国立病院機構長崎医療センター 臨床
研究センター 治療研究部 部長
日野 学 日本赤十字社血液事業本部 副本部長
中山伸朗 埼玉医科大学 消化器内科・肝臓内科 講
師
姜 貞憲 手稲溪仁会病院消化器病センター 主任
医長
李 天成 国立感染症研究所ウイルス第二部 主任
研究官

<研究協力者（班友）>

三代俊治（東芝病院研究部）、高橋和明（東芝病
院研究部）、神田達郎（千葉大学大学院医学研
究院腫瘍内科学）、松林圭二（北海道赤十字血
液センター検査部）、石井孝司（国立感染症研
究所ウイルス第二部）、玉田陽子（国立病院機
構長崎医療センター臨床研究センター治療研
究部）、高橋雅春（自治医科大学感染・免疫学
講座ウイルス学部門）、長嶋茂雄（自治医科大
学感染・免疫学講座

ウイルス学部門）、狩野吉康（札幌厚生病院消
化器科）、水尾仁志（北海道勤労者医療協会
勤医協中央病院内科）、加藤秀章（名古屋
市立大学大学院医学研究科）、中野達徳（藤
田保健衛生大学医学部七栗サナトリウム内
科）、北嶋直人（市立加西病院消化器科）、
松浦善治（大阪大学微生物病研究所分子ウ
イルス分野）、脇田隆字（国立感染症研
究所ウイルス第二部）、田中靖人（名古屋
市立大学ウイルス学）、相川達也（相川内
科病院）、矢崎康幸（小林病院消化器病セ
ンター）、磯田憲夫（自治医科大学消化器
・肝臓内科）、井上淳（東北大学消化器
内科）、佐藤幸浩（かみいち総合病院
内科）、岡野宏（鈴鹿中央総合病院消化
器内科）、川上万里（まび記念病院内科）、
依田 広（京都大学消化器内科）、吉川 亮
（長崎県環境保健研究センター研究部保
健科）、国立裕之（京都桂病院消化器内
科）、嶋村 剛（北海道大学第一外科
（臓器移植医療部）、石田勢津子（北海
道立衛生研究所）

A. 研究目的

A 型肝炎について、発生状況のモニタリングを
実施し、重症・劇症化の機序を解明する。治療法

を開発する。また、ワクチンの接種対象をより明確なものとし、普及・啓発を行う。E 型肝炎について、感染経路の全解明、診断・治療・予防法の確立を目標とする。

B. 研究方法

発生動向と重症化リスク因子の調査、感染実態の調査、HAV ならびに HEV のウイルス株塩基配列の蒐集と解析、HEV 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、ワクチン開発のための予備的検討などを行う。

なお、すべての調査・研究は、個人情報保護および「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」を旨とする倫理規定を遵守して行なわれた。

C. 研究結果及び考察

今年度の研究成果の概要図を図 1 に示した。以下に、研究代表者、研究分担者および研究協力者別に研究結果の要旨を記すが、詳細については該当する分担研究報告(項目 II)および研究成果の刊行物・別刷(項目 IV)をご参照戴きたい。

研究代表者(岡本宏明)

- (1) 2003 年に研究代表者らは、市販ブタ肝臓の 363 包装中 7 包装(1.9%)から HEV を検出した。それらの一部の HEV は、ブタ肝臓を生、あるいは加熱不十分で喫食した後に E 型肝炎を発症した患者から分離された HEV とゲノム塩基配列がほぼ一致していたことから、HEV 陽性ブタ肝臓が感染源となる可能性が強く示唆された。しかし、その時点では市販ブタ肝臓内 HEV の感染性の証明はなされていなかった。今回、凍結保存されていた 7 つの HEV 陽性ブタ肝臓のホモジネートを作製し、A549 細胞や PLC/PRF/5 細胞に接種したところ、効率よくブタ肝臓由来 HEV が増殖しうることを確認できた。これにより、初めて、市販ブタ肝臓の HEV 感染性が証明された。食物媒介性 HEV 感染に対する注意喚起の必要性を示す重要なエビデンスである。
- (2) ブタの肝臓以外に、ブタの糞便・血液由来の HEV、さらに野生イノシシの肝臓由来 HEV もヒト由来の株化培養細胞である A549 細胞や PLC/PRF/5 細胞に感染し、培養上清中に大量の progeny ウイルスが放出されることを確認した。また、ウサギ由来の HEV の A549 細胞での増殖が認められた。一方、zoonotic type の感染性を有する遺伝子型 3 型のヒト HEV は種の壁を越えてブタ腎臓由来の PK15 細胞および IBRS-2 細胞に感染し、効率良く増殖するが、

nonzoonotic type の 1 型のヒト HEV は接種後 10 日目以降で増殖が抑制された。これは 1 型 HEV の宿主特異性をウイルス側から解明する手がかりになるものと期待される。

- (3) 昨年度までに、HEV) の ORF3 蛋白質に存在する PSAP モチーフは、膜に覆われたウイルス粒子の形成ならびに感染細胞からのウイルス粒子の放出に重要であることを明らかにした。本研究では、ORF3 蛋白質と宿主因子である tumor susceptibility gene 101 (Tsg101) の相互作用の解析、ならびに multivesicular body (MVB) sorting 機構を阻害することによる HEV 放出効率への影響を解析した。その結果、ORF3 蛋白質は PSAP モチーフを介して Tsg101 と細胞内で結合することが明らかとなった。また、Tsg101 に対する siRNA ならびに Vps4 のドミナントネガティブ変異体を用いて、これらの宿主因子を抑制したところ、HEV の放出が阻害された。以上の結果から、Tsg101 および Vps4 はウイルスの放出に重要であり、HEV の放出に MVB sorting 機構が関与していることが明らかとなった。したがって、HEV の成熟粒子は、MVB 内に共存しているエクソソームとともに細胞外に分泌される可能性が強く示唆され、HEV は細胞内膜輸送系を巧みに利用した極めてオリジナリティの高い放出機構を有していると考えられる。HEV の放出機構の解明は、疾患制圧に向け、特異的な創薬標的の発見への大きな一歩になるものと思われる。

研究分担者(八橋弘)

1980 年～2011 年の期間に実施した国立病院機構 33 施設での急性肝炎の全国調査において、輸血後肝炎を除く散発性急性肝炎として、4,599 例が登録された。A 型肝炎の登録症例数は 1,618 例であった。A 型肝炎の発生は、1983 年(162 例)と 1990 年(187 例)の流行以後、減少傾向にあり、直近の 5 年間では、2007 年以降から 10 例未満の低値横ばいで、全国的に diffuse outbreak のあった 2010 年は 21 例とやや増加した。従来本邦では 1 割に満たなかった subgenotype IIIA 型感染が、2009 年以降約 3 割の頻度で発生していた。

E 型肝炎は、非 ABC 型急性肝炎の登録症例 1,261 例中、保存血清のある 983 例を対象として HEV-IgM 抗体と HEV-IgG 抗体を測定し、両抗体陽性をもって診断した。983 例中、E 型肝炎は 59 例(6.0%)であった。非 ABC 型急性肝炎に占める E 型肝炎の発生頻度は、2000 年以前では 1.7%～3.4%であったが、2000 年代においては 10%を超えていた。

研究分担者(中山伸朗)

最近年間 1～2 例に留まっていた A 型劇症肝炎の

平成 23 年度の研究成果の概要

HAV

抗ウイルス剤の開発
(横須賀班員)

年代別 HAV 抗体陽性率
(日野班員)

A 型急性肝炎の集団発生
(横須賀班員、石井班友)

A 型劇症肝炎の動向
(中山班員)

A 型急性肝炎の動向
(八橋班員)

HAV 全長解析 (1990-2011 年)
(新井班員)

IFN λ (IL29) が HAV IRES 活性を抑制することを見出した。IL29 単独よりも、Amantadine、あるいは IFN α との併用療法の方がより効果的であった。

男女ともに、HAV 抗体陽性率は 40 歳代以下ではほぼゼロであり、50 歳代でも 10%、さらに 60 歳代でも 43% と低下しており、HAV に対する感受性者の高齢化が着実に進行していることを確認。

2011 年春に千葉市内寿司店で A 型肝炎が集団発生 (患者 49 名、IA 型)。過去 10 年間で最大規模の集団発生。

急性肝不全の全国調査結果 (2010 年): 調査年に広域流行があったため、4 例の劇症肝炎例が登録された。高齢、男性、基礎疾患、合併症数が予後不良因子。

国立病院機構共同研究班 33 施設による急性肝炎の全国調査 (1980 ~ 2011 年): 1990 年以降減少傾向。2005 年以降低値横ばい。2007 年より IIIA 型が散見され、韓国流行株 (III A) と同一クラス。

2007 年以降の国内感染 IIIA 型は全長配列を比較すると、韓国株よりもヨーロッパ株に類似。HAV 株の流入・拡散経路の解明には更なる調査解析が必要。

HEV

感染培養系を用いた感染性の証明と増殖機構の解明
(班長)

rat HEV の中空粒子の作製と ELISA 法樹立 (李班員)

E 型劇症肝炎の動向
(中山班員)

E 型急性肝炎の動向
(八橋班員)

北海道 E 型肝炎研究会
(道 E 研) による流行監視
(姜班員、新井班員)

北海道地域の献血者に
於ける HEV-NAT の継続
(日野班員)

北東北に於ける急性肝障害
登録システムによる成因調査
(鈴木班員)

- ・ HEV 陽性市販ブタ肝臓の HEV 感染性を培養系 (A549 細胞、PLC/PRF/5 細胞) を用いて証明した。
- ・ ブタ由来 HEV のみならず、野生イノシシやウサギ由来の HEV も種の壁を越えてヒト培養細胞 (A549, PLC/PRF/5) に感染し、効率よく増殖した。培養系で HEV の人獣共通感染を実証。
- ・ HEV の感染細胞からの放出に Tsg101 や Vps4 などの宿主因子が重要な働きをしており、HEV が "non-enveloped" ウイルスでありながら、多くの "enveloped" ウイルスと同じように、ESCRT 輸送系を利用して出芽していることを明らかにした。

組換えバキュロウイルス発現システムを用い、rat HEV 中空粒子の作製に成功し、抗体検出 ELISA 法を確立。rat HEV はヒト HEV (1 型、3 型、4 型) と交叉反応性を示した。

急性肝不全の全国調査結果 (2010 年): 4 例が登録され、そのうち 1 例が昏睡型であった。高齢発症、基礎疾患、亜急性型の経過、複数の合併症が予後不良因子。有効な抗ウイルス療法の確立が重要。

国立病院機構共同研究班 33 施設による急性肝炎の全国調査 (1980 ~ 2011 年): E 型肝炎の発生頻度は 2000 年以前では非 ABC 型急性肝炎の数 % 程度であったが、2000 年代は 10% 超。

・ 2007-2011 年の 5 年間で非 ABC 型急性肝障害 399 例のうち 81 例 (19.6%) が E 型。2009 年に札幌圏で小流行を起こした新札幌 4 型株による流行が 2011 年 12 月より同地域で再発生。7 例中 1 例の劇症肝炎と 2 例の重症型を含む。慎重な監視が必要。

献血者 279,841 名 (2011 年 1 月 ~ 2011 年 12 月) における HEV RNA 陽性者は、35 名 [0.013% (男性 0.014%、女性 0.010%)]。献血前の動物内臓喫食率は 65%。2005 年 1 月からの 7 年間で 231 名の HEV RNA 陽性者が見出され、遺伝子型は 3 型が 93%、4 型が 7% であった。

2009 年 8 月から 2011 年 10 月までに登録された急性肝炎症例 165 例中 10 例 (6.1%) が E 型であり、成因不明急性肝炎例の 13.0% (10/77) を占めた。

図 1. 平成 23 年度の研究成果の概要

登録数が5例、そして本年度から新診断基準で調査を始めた急性肝不全としてはHAVに起因する症例数が16例に及び、調査対象年の2010年にHAV感染が多発した影響と考えられた。HAVに起因する昏睡型・急性型では、急性肝不全診断時のデータで非昏睡型に比べてPT%が有意に低下していたが、2010年に発症した急性肝不全16例のデータのみでは、非昏睡型から昏睡型への重症化にかかわる背景因子を特定することはできなかった。死亡例では生存例に比較して有意に肝萎縮の合併率が高いことが判明した。これまで指摘されてきた高齢化と男性の比率の上昇、そして予後不良因子としての合併症数の多さなど、2004年以降のA型劇症肝炎の特徴として指摘されてきたことが、本年度の検討でより顕著に示された。HA抗体保有率が高齢者で低下していることが要因と推測された。

HEVに起因する急性肝不全においてもHAVと同様に高齢発症、基礎疾患、亜急性型の経過、複数の合併症が予後不良の因子と考えられた。死亡例は、いずれも高齢発症で基礎疾患を有する亜急性型だった。症例の積み重ねによる多数症例での検証が必要と考えられた。

研究分担者(横須賀 収)

2010年から2011年までの2年間に千葉大学医学部附属病院消化器内科に入院したA型肝炎重症型6例のHAV subgenotypeの解析により、subgenotype IAが4例であるのに対して、subgenotype IIIAは2例と高頻度に認められた。

2011年1月から3月までに国立千葉医療センターおよび千葉大学医学部附属病院消化器内科に入院したA型肝炎29例中28例が千葉市内の回転すし店で食事をし、その後肝炎を発症していた。3症例が急性肝炎重症型であった。HAV RNAは29例中25例(86.2%)にVP1/2A領域におけるRT-PCR法を用いて検出可能であった。全分離株は日本固有株IA-1に属し、VP1/2A領域(232bp)において100%のホモロジーを示した。

IFN-λ発現 Huh7細胞にHAV IRES reporter constructを遺伝子導入したところ、48時間後の検討でIL29がHAV IRES活性をより強く抑制した。またIL29をIFN-αまたはamantadineと併用することによりさらに強くHAV IRES活性を抑制することが明らかとなった。

研究分担者(新井雅裕)

近年韓国内で大流行したA型肝炎の原因株がいち早く日本に上陸し、日本国内各地に既に感染が拡大してしまっただけの可能性もある。その可能性を

証するために両国で採取された分離株の遺伝子塩基配列を相互比較した。韓国A型肝炎患者3症例に於いて準完全長塩基配列を得ることが出来た。一方で日本国内症例からは22本の完全長乃至準完全長HAV塩基配列を決定した。今回解析し得た韓国株3本は全てgenotype IIIAであり、日本株5本と共に単一のクラスターを形成した。しかし、興味深いことに、このクラスターの中には1本だけNorway株が混入していた。このIIIAクラスターに属するHAV株について、準完全長7332 ntのidentity%を求めると、日本株vs韓国株の97.5~98.5%を凌駕する高い一致率98.7~99.1%が日本株とNorway株の間に認められた。従来の300 nt前後の短い塩基配列の比較のみからは見えて来なかった興味深い所見として注目された。

今年度も北海道E型肝炎研究会(略称「道E研」)の参加施設から送付されて来る血清検体につきHEV antibodies (IgM, IgA, and IgG)の測定及びHEV RNAのdetection/sequencing作業を続行して来た中で、2011年12月以降に札幌圏で発生した症例の多くが同一株に感染していることが注目された。解析の結果、その株は2009年に同地区で流行した“New Sapporo Strain (4型)”の末裔であることが判明した。

研究分担者(姜貞憲)

道E研により2007年以降観察された道内E型肝炎患者数は2011年度に初めて減少に転じ、その背景にはHEV遺伝子型4による感染例の減少が存在すると考えられた。しかし、新井班員からの報告にもあるように2011年末から2012年になって、札幌圏内で少なくとも7例のE型肝炎患者から4型同一株が分離され、2009年に札幌圏内での小流行の原因となった新札幌株“New Sapporo Strain”の再出現であることが判明した。7例のうち、1例は劇症型、2例は重症型であり、7例に共通する感染源・感染ルートは目下解明できていない。引き続き厳重な監視が必要である。ブタ内臓肉摂取による感染は重要と思われるも、その他にも感染経路の存在が想定され、その解明が求められる。

研究分担者(日野学)

昨年に引き続き、2011年1月から12月までの北海道内献血検体のうち、血清学的感染症スクリーニング陰性かつALT値61 IU/L未満の検体279,841本を対象としてHEV RNAスクリーニング(HEV NAT)調査を実施した。2011年のHEV陽性者数は35名(男性25名、女性10名)、陽性頻度は献血者延べ1万人当たり1.25人(男性1.38名、女性1.01名)で、有意な性差は認められなかった。

居住地については21例(60%)を札幌市在住者が占めた。献血2か月以内の内臓肉喫食歴は65%と依然として高く、遺伝子型についてはHEV濃度が極めて低い1例を除き同定された。3型が30例(88%)、4型が4例(12%)となり、例年通り大多数を3型が占めた。

なお、2005年から2011年までの7年間においては、HEV NAT陽性者総数は231名(男性172名、女性59名)に達し、献血者延べ1万人当りの平均陽性者数は1.20人(男性1.42人、女性0.82人)であった。

2010年11月に東京都、神奈川県、山梨県、千葉県、および茨城県で献血された血液で、各年代・男女別に100本ずつ合計1200本を対象に抗HAV-IgG抗体を測定した。50歳未満では男女ともHAV抗体保有者はほとんどいないが、50歳代で10%、60歳代で43%と、HAVに対する感受性者の高齢化がさらに進んでいることが明らかになった。

研究分担者(鈴木一幸)

北東北地区における40医療機関と共同で急性肝障害患者のプロスペクティブスタディを行っている。このシステムを利用して、2009年8月から2011年10月末までに登録された224例の急性肝障害例についてその成因を検索し、急性E型肝炎の実態とその臨床像について検討した。急性肝炎の中でE型肝炎は10例であり、急性肝障害全体の4.5%、急性肝炎の6.1%、成因不明の急性肝炎の13%を占めた。遺伝子型の検討では10例中9例は3型、1例は4型であった。3型例は全例軽快したが、4型の1例は高度黄疸と肝不全徴候を示した(最終的には他病院で死亡)。今回の検討では、感染源や感染経路は特定できなかった。

研究分担者(李天成)

組換えバキュロウイルス発現システムを用いてrat HEV 構造蛋白を発現し、世界初rat HEV-LPs(中空粒子)の作製に成功した。rat HEV-LPsは既知の1型、3型および4型のHEV-LPsと交叉反応することが明らかになった。Rat HEV-LPsを用いた抗体検出ELISA法を樹立し、ベトナム野生ラットにおける疫学調査の結果、新しい遺伝子型のrat HEVが存在することがわかった。

ヒトHEV-LPsを用いたELISA法によってratからHEV抗体が高頻度に検出されることから、ratがヒトへのHEV感染のreservoirとなっている可能性が示唆されていた。しかし、rat HEV-LPsはヒトHEV-LPsと交叉反応することが判明したことから、これまで検出されていた抗体はrat固有HEVに対する抗体であったと考えられる。すなわち、ratはヒトHEVのreservoirではないと考えるの

が自然であり、今後それを実証するための野生ラットにおける疫学調査が必要である。

研究協力者(石井孝司)

2010年に引き続き、A型肝炎患者の糞便または血清からHAVゲノムの配列を決定し、流行状況を分子疫学的に解析した。2011年には1月に千葉市で大きなA型肝炎の集団発生があったが、その後はA型肝炎の発生は全国的に少なく、最終的な報告数は176人であった。千葉市で流行した株はgenotype IAの日本常在型に分類された。2010年の全国的なdiffuse outbreakの主要な原因となった東南アジア由来と考えられるIA-2株は、2011年には類似株を含めても3株のみであった。このクラスターに属する株は同一の感染源から何らかの理由で2010年に全国に拡散して広域流行をおこしたが、二次的な拡大はせずに収束し、2011年にはほぼ消失したものと推定された。Genotype III Aに属する株は2010年に引き続き2011年も検出され、地域的な偏りが見られないことから、日本への定着が懸念される。

研究協力者(中野達徳)

日本土着HEVの中で最も多いgenotype 3型HEVの遺伝子配列を解析することにより、HEVの日本での感染拡大の歴史と要因を推測し、今後の感染拡大防止策を提案しようと考えた。Hepatitis Virus Databaseから分離時期が明確なHEV genotype 3遺伝子配列を抽出し、分子進化学とベイズ統計学を統合した方法にて解析した。日本土着のgenotype 3 HEVは日本固有株でほぼ占められるsubgenotype 3b、新大陸で分離される株と関連したsubgenotype 3a、ヨーロッパで分離される株と近縁のsubgenotype 3eに分類された。3bは1900-1950年頃、3a、3eは1960年頃に日本に侵入したと考えられ、いずれも1960-1980年の間に急速に感染数が増加したと推測された。1960-1980年には日本の養豚業の効率化と大規模化が実践され、これが日本のgenotype 3 HEVの感染数の急速な増加につながったと推測された。養豚場での徹底した衛生管理が今後のHEV感染拡大の予防につながると考えられた。

D. 結論

A型肝炎について

- 1) 献血者でのHAV抗体保有率が40歳代以下ではほぼゼロ、50歳代で10%、60歳代でも43%と低値になっていることが判明した。対象は異なるが、2003年時の調査結果よりもさらに高齢者側にシフトしており、HAVに対する感受性者の高齢化が一層進んでおり、高齢者におけるHAV感染の重症化、大流行への進展がさら

に危惧される状況にある。

- 2) 2011 年春に千葉市内の寿司店で提供された寿司が感染源となって、49 名が発症するという最近 10 年間では最大規模の A 型肝炎の集団発生事例が報告された。医療機関からの迅速な届出、入院患者の調査への理解と協力、食品安全課と感染症対策課との連携、研究所の速やかな検査対応（従事者からの HAV 検出）などが探知から 1 週間で原因施設を特定することに繋がり、HAV の分子疫学的解析の情報共有が原因究明や感染拡大の防止に有用であったと考えられる。
- 3) 従前、我が国では IA 型 HAV の感染が殆どであったが、2007 年頃より IIIA 型が散見されるようになった。隣国韓国での 2008 年からの IIIA 型 HAV による大流行を踏まえ、韓国からの流入・定着が危惧されるが、HAV ゲノムの全長配列に基づく分子系統解析の結果からは寧ろ、ヨーロッパ株との類似性が高いことが示唆されており、HAV 株の流入・拡散の経路については更なる解析が必要である。
- 4) A 型劇症肝炎は発生数が明らかに減少しているが、高齢、男性、基礎疾患、合併症数が予後不良因子であり、予後不良例は寧ろ増加している。
- 5) A 型肝炎に対する有効な特異的治療法の候補として、IL29 が HAV IRES 活性をより強く抑制することを見出した。そして、IL29 を IFN- α または amantadine と併用することによりさらに強く HAV IRES 活性が抑制されることが明らかとなった。

E 型肝炎について

- 1) E 型肝炎診断薬(HE-IgA 抗体定性)が 2011 年 10 月に保険収載された。測定法自体は 2005 年に開発されたものであるが(J Clin Microbiol 43: 49-56, 2005)、その後も診断薬の必要性を示すデータを研究班から絶えず発信し続けてきたことの成果であると言える。E 型肝炎診断薬の保険適用によって、全国津々浦々での E 型肝炎の診断、症例の発掘、実態把握が可能になると思われる。
- 2) 非 ABC 型急性肝炎の中での E 型肝炎の占める割合が増加傾向にある[北海道：11%(2007 年)から 20%(2011 年)；国立病院機構の全国調査：1.7%~3.4%から 10%超(2000 年以降)]。
- 3) 国内で E 型肝炎の患者数が最も多い北海道では、道 E 研による流行監視と赤十字血液センターでの献血者を対象とした HEV NAT 検査が継続して行なわれている。2011 年 12 月以降に

札幌圏で発生した症例（劇症 1 例、重症型 2 例を含む）の多くが 4 型の同一株に感染していることが注目された。解析の結果、2009 年に同地区で流行した“New Sapporo Strain”の再出現であることが判明した。2011 年 1 月から 12 月までの北海道内献血者を対象として HEV RNA スクリーニング(HEV NAT) 調査を実施した結果、HEV 陽性者数は 35 名(男性 25 名、女性 10 名)であり、陽性頻度は献血者延べ 1 万人当たり 1.25 人(男性 1.38 名、女性 1.01 名)であり、例年とほぼ同等であった。

- 4) 岩手県を中心とした北東北地区では A 型肝炎よりも E 型肝炎の発生件数が 2 倍となっており、E 型肝炎は成因不明急性肝炎の 13%を占めた。
- 5) 組換えバキュロウイルス発現システムを用いて世界初 rat HEV-LPs(中空粒子)の作製に成功し、抗体検出 ELISA 法を樹立した。
- 6) 市販ブタ肝臓から検出された HEV の感染性を細胞培養系を用いて証明した。現行の培養系は、感度の点では未だ改良の余地はあるが、HEV RNA titer が高いサンプル(>2 x 10⁴ copies/ml)については感染性の評価に供することが可能であることもわかった。
- 7) 上述のブタ由来 HEV 以外にも、野生イノシシやウサギ由来の HEV も種の壁を越えて、ヒト株化細胞である A549 細胞や PLC/PRF/5 細胞に感染し、効率よく増殖して子ウイルスを産生しうることが明らかになった。人獣共通感染ウイルスである HEV の特性が培養系で再現されたことになる。
- 8) 本研究により、HEV は多くのエンベロープウイルスで報告されている MVB pathway が関与していることが明らかとなった。さらに、ORF3 蛋白質が MVB のマーカーである CD63 と共局在を示すこと、感染細胞内には培養上清中の粒子と同様の抗原性を示す膜に覆われたウイルス粒子が存在していることを見出した。これらの知見は、HEV が細胞質内のエンドソーム膜に出芽し、エンベロープを獲得した成熟ウイルス粒子が MVB 内に存在することを示唆している。以上のことから、HEV の成熟粒子は、MVB 内に共存しているエクソソームとともに細胞外に分泌される可能性が強く示唆される。また、感染培養系において細胞変性が認められず、長期間の培養が可能であることから、細胞内膜輸送系を巧みに利用した極めてオリジナリティの高い放出機構を有していると考えられる。

以上の研究成果は平成23年8月6日に開催された第1回目の班会議(プログラム別紙: ページ8)、平成24年1月23日に開催された年度末班会議(合同班会議)(プログラム別紙: ページ9)、および平成24年3月3日に開催された公開報告会(スライド: ページ10-16)において発表された。

E. 研究発表

論文発表、総説:

- 1) Takahashi M, Nishizawa T, Sato H, Sato Y, Jirintai, Nagashima S, Okamoto H. Analysis of the full-length genome of a hepatitis E virus isolate obtained from a wild boar in Japan that is classifiable into a novel genotype. *J Gen Virol* 92(Pt 4):902-908, 2011
- 2) Nagashima S, Takahashi M, Jirintai S, Tanaka T, Nishizawa T, Yasuda J, Okamoto H. Tumour susceptibility gene 101 and the vacuolar protein sorting pathway are required for the release of hepatitis E virions. *J Gen Virol* 92(Pt 12):2838-2848, 2011
- 3) Sato Y, Sato H, Naka K, Furuya S, Tsukiji H, Kitagawa K, Sonoda Y, Usui T, Sakamoto H, Yoshino S, Shimizu Y, Takahashi M, Nagashima S, Jirintai, Nishizawa T, Okamoto H. A nationwide survey of hepatitis E virus (HEV) infection in wild boars in Japan: identification of boar HEV strains of genotypes 3 and 4 and unrecognized genotypes. *Arch Virol* 156(8): 1345-1358, 2011
- 4) Takahashi H, Tanaka T, Jirintai S, Nagashima S, Takahashi M, Nishizawa T, Mizuo H, Yazaki Y, Okamoto H. A549 and PLC/PRF/5 cells can support the efficient propagation of swine and wild boar hepatitis E virus (HEV) strains: demonstration of HEV infectivity of porcine liver sold as food. *Arch Virol* 157(2): 235-246, 2012
- 5) Okamoto H. Hepatitis E virus cell culture models. *Virus Res* 161(1):65-77, 2011
- 6) Meng XJ, Anderson DA, Arankalle VA, Emerson SU, Harrison TJ, Jameel S, Okamoto H. *Hepeviridae*. In: Andrew M.Q. King, Michael J. Adams, Eric B. Carstens, and Elliot J. Lefkowitz, editors, *Virus Taxonomy*. Oxford: Elsevier, 2011, pp. 1021-1028.
- 7) 田辺利男, 水尾仁志, 矢崎康幸, 高橋雅春, 岡本宏明. 北海道東部の釧路市および根室市における E 型肝炎ウイルス感染の疫学調査感染の地域差と食文化の相違について. *肝臓* 52(9): 567-574, 2011
- 8) 岡野宏, 中野達徳, 松崎晋平, 佐瀬友博, 齋藤知規, 向克巳, 西村晃, 伊藤圭一, 白木克哉, 竹井謙之, 岡本宏明. 三重県内で発生した稀な3型(ヨーロッパ型)E型肝炎ウイルスによる散発性急性肝炎の4症例. *肝臓* 52(5): 295-302, 2011
- 9) 小関 至, 姜 貞憲, 水尾仁志, 赤池 淳, 大村卓味, 狩野吉康, 松居剛志, 佐賀啓良, 渡辺正夫, 三浦洋輔, 倉 敏郎, 常松 泉, 松林圭二, 坂田秀勝, 岡本宏明, 高橋和明, 新井雅裕. 2009 年秋に札幌圏で発生したE型肝炎小流行の臨床的・ウイルス学的・分子疫学的解析. *肝臓* 53(2): 78-89, 2012
- 10) 岡本宏明. 【新時代のウイルス性肝炎学 基礎・臨床研究の進歩】 E 型肝炎 E 型肝炎ウイルスのウイルス学的特徴. *日本臨床* 69(増刊 4) 新時代のウイルス性肝炎学. p579-587, 2011

F. 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

平成23年度

厚生労働科学研究費 肝炎等克服緊急対策研究事業

「経口感染する肝炎ウイルス（A型、E型）の感染防止、遺伝的多様性、
および治療に関する研究」

（3年計画の3年目） 年度末 班会議

プログラム

日 時：平成24年1月23日（月）8：30・10：30

場 所：KKR ホテル東京 10階 平安

8:30～ 平成23年度 経口肝炎班 班会議

司会 岡本 宏明

<発表7分、討議2～3分>

1. 本邦におけるウイルス性急性肝炎（A型・E型）の動向 長崎医療センター 玉田 陽子／八橋 弘
2. 2010年にわが国で発生したHAV、HEVに起因する急性肝不全の実態の解析
埼玉医科大学 中山 伸朗
3. 日本における2011年のA型肝炎の分子疫学的解析 国立感染症研究所 石井孝司
4. 千葉県における最近のA型肝炎症例の解析およびインターフェロンλ 発現肝細胞におけるHAV増殖への影響
千葉大学 神田 達郎／横須賀 收
5. HAV日本株および韓国株の完全長解析 東芝病院 新井 雅裕
6. 北海道内献血者におけるHEV感染の動向と抗HEV IgA抗体検査試薬の評価
献血者におけるHAV抗体の陽性率調査結果（地域、男女、年齢別等）
北海道血液センター 松林 圭二／日野 学
7. 道E研による北海道内HEV感染の動向 手稲溪仁会病院 姜 貞憲
8. 岩手県を中心とした北東北におけるE型肝炎の実態とその臨床像
岩手医科大学 鈴木 一幸
9. 分子進化学を駆使した日本土着genotype 3 HEVの起源、日本への侵入時期、感染拡大の歴史の解析と今後の感染拡大防止策の提案
藤田保健衛生大学 中野 達徳
10. Rat HEV構造蛋白の発現およびその応用 国立感染症研究所 李 天成
11. 種の壁を越えたHEVの培養細胞での増殖 自治医科大学 高橋 雅春／岡本 宏明
12. HEVの感染細胞からの放出に関わる宿主因子 自治医科大学 長島 茂雄／岡本 宏明

10:30

閉会予定

平成23年度 厚生労働科学研究費肝炎等克服緊急対策研究事業 公開報告会
平成24年3月3日 於笹川記念会館 国際会議場2F

経口感染する肝炎ウイルス(A型、E型)の感染防止、遺伝的多様性、
および治療に関する研究(3年計画の3年目)

経口感染によるウイルス肝炎

研究代表者
自治医科大学 感染・免疫学講座 ウイルス学部門
岡本宏明

研究分担者: 新井雅裕、美貞憲、鈴木一幸、中山伸朗、
日野学、八橋弘、横須賀收、李天成 (50音順)

1

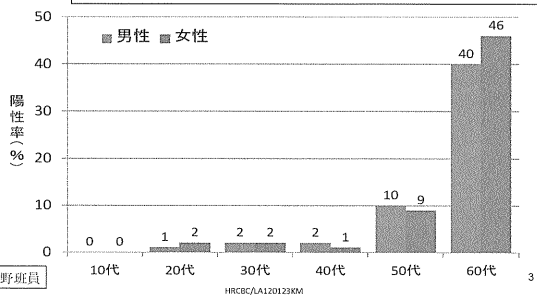
A型肝炎に関する研究成果

2

献血者に於ける男女年代別HAV抗体陽性率

2010年

対象: 東京、神奈川、千葉、茨城、山梨採血の各年代男女各100検体、計1200検体
測定: アキシムHAダイナパック(ver.2)



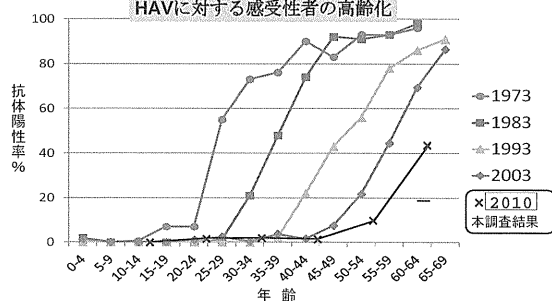
日野班員

HRCBC/A120123RM

3

年代別HAV抗体陽性率の推移

HAVに対する感受性者の高齢化

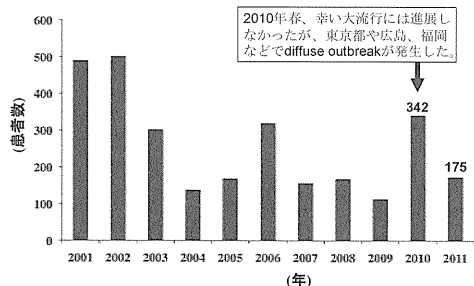


日野班員

Kiyohara et al., Microbiol Immunol 51, 185-191, 2007

4

我が国での急性A型肝炎報告数(2001~2011年)

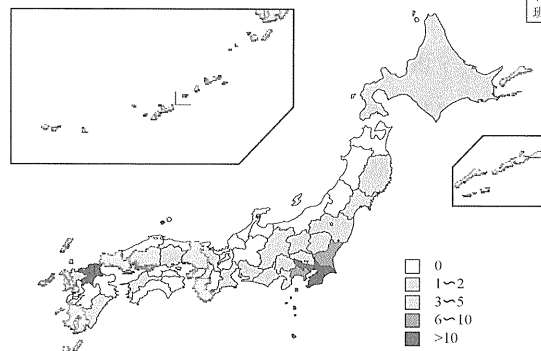


2010年春、幸い大流行には進展しなかったが、東京都や広島、福岡などでdiffuse outbreakが発生した。

石井班員

5

2011年の急性A型肝炎発生状況



石井班員

6

千葉市内のすし店が感染源となった
A型肝炎の集団発生事例

横須賀
班員

- 1) 患者49名が利用
2010年11月下旬～12月下旬にかけて利用
- 2) 潜伏期間は、22日～61日(平均32.6日)
- 3) 原因食品は寿司(推定)
2010年11月下旬～12月下旬に調理、提供された寿司
- 4) 感染源は調理従事者
- 5) 日本に常在するIA-1株による感染

長崎医療センター 八橋、玉田

7

A型肝炎の集団発生事例

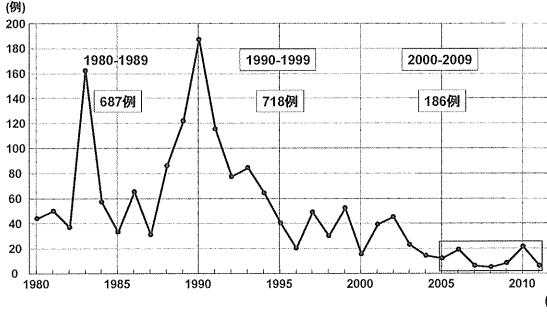
石井
班員

発生年	地域	原因施設	感染源	患者数	遺伝子型	備考
2000	岐阜県	寿司店	調理従事者	23	IA	
2001	浜松市	飲食店	大アサリ(中国産)	4	IA	ノロウイルスの重複感染
2002	江東区	寿司店	調理従事者	24	IA	
2002	江戸川区	飲食店	大アサリ(中国産)	5	IA	ノロウイルスの重複感染
2006	新潟県	寿司店	不明	5	IA	
2006	滋賀県	飲食店	調理従事者	17	IA	
2010	新潟市	不明	不明	5	IA	
2011	千葉市	寿司店	調理従事者	49	IA	

8

A型肝炎 発生数の年次推移
1980年-2011年 (N=1,618)

八橋
班員

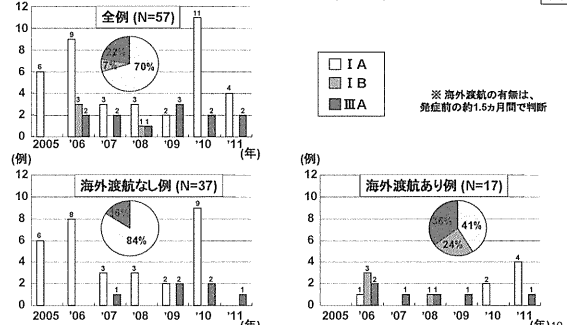


長崎医療センター 八橋、玉田

9

A型肝炎症例のHAV genotypeの分類
2005年-2011年 (N=57)

八橋
班員



※ 海外渡航の有無は、発症前の約1.5か月間で判別

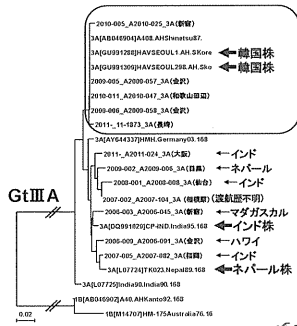
長崎医療センター 八橋、玉田

10

HAV genotype 系統樹解析
(VP1/2A junction: 168 nt)

青色と赤色が、解析対象症例のHAV株
黒色は、GenBankより引用した参照株

海外渡航なし例
海外渡航あり例



韓国流行株と同一クラスに属する

韓国HA株の我が国への流入が示唆される。

八橋班員

長崎医療センター 八橋、玉田

11

HAV日本株および韓国株の完全長解析

新井班員

Case	Sex/Age	Date	Diagnosis	Country	HAV-genotype	Isolate Name
1	M/8	1957.10.4	AH	Japan	IA	HA286-Aki1957
2	F/46	1990.03.20	AH	Japan	IA	HAJSK-Tok90
3	M/35	1990.03.26	AH	Japan	IA	HAJYV-Tok90
4	M/14	1990.05.19	AH	Japan	IA	HAJTK-Tok90
5	M/43	1990.09.18	AH	China Japan	IA	HAJYS-Tok90
6	F/64	1991.03.08	AH	Japan	IA	HAJMO-Tok91
7	M/46	1991.03.15	AH	Japan	IA	HAJKI-Tok91
8	F/41	1991.03.18	AH	Japan	IA	HAJSN-Tok91
9	M/38	1999.6.17	AH	Borneo Japan	IA	HAJMS-BorSap99
10	M/23	2001.4.27	AH	India Japan	IIIA	HAJMT-Indoka01
11	M/30	2004.02.25	AH	Japan	IA	HAJKH-Tok04
12	F/61	2005.04.07	AH	Japan	IA	HAJTM-Tok05
13	M/51	2006.06.28	AH	Japan	IA	HAJST-Tok06
14	M/61	2006.11.17	AH	Japan	IA	HAJYH-Tok06
15	M/47	2007.01.11	AH	Japan	IIIA	HAJNS-Tok07
16	M/33	2007.02.21	AH	South Korea	IIIA	HA082-Kor07
17	F/33	2007.03.19	AH	South Korea	IIIA	HA084-Kor07
18	M/30	2007.03.27	AH	Japan	IIIA	HAJSK-Tok07
19	M/36	2008.07.04	AH	South Korea	IIIA	HA510-Kor08
20	M/38	2008.11.09	AH	Japan	IA	HAJSN-Tok09
21	F/64	2010.	AH	Japan	IIIA	HAJKS-Fuku010
22	F/64	2010.05.14	AH	Japan	IIIA	HAJHT-Kob10
23	F/54	2010.4.12	AH	Japan	IA	HAJHT-Fuku010
24	M/71	2011.04.16	FH	Singapore Japan	IA	HAJTS-SinKan11
25	F/47	2011.06.13	AH	Japan	IIIA	HAJHT-Tok11
26		2011.	AH	Papua New Guinea Japan	IA	HAJXX-PapTok11

HAV IIIA型株の全塩基長(7332 nt)の比較 新井班員

Country Date	Japan 1990	Norway 1998	Japan 2007	Japan 2010	Japan 2010	Japan 2011	Korea 2007	Korea 2007	Korea 2008
Isolate name	JNG04-30F	NOR21	HAJSK-Tok07	HAJKS-Fukuo10	HAJHT-Kob10	HAJHI-Tok11	HA082-Kor07	HA094-Kor07	HA510-Kor08
JNG04-30F									
NOR21	97.9								
HAJSK-Tok07	97.6	98.9							
HAJKS-Fukuo10	97.9	98.9	98.4						
HAJHT-Kob10	97.9	98.1	98.6	98.8					
HAJHI-Tok11	97.7	98.7	98.5	98.7	99.1				
HA082-Kor07	97.6	98.4	98.2	98.2	98.4	98.2			
HA094-Kor07	97.7	98.6	98.4	98.3	98.6	98.5	98.2		
HA510-Kor08	97.5	98.5	98.3	98.3	98.5	98.3	98.2	98.3	

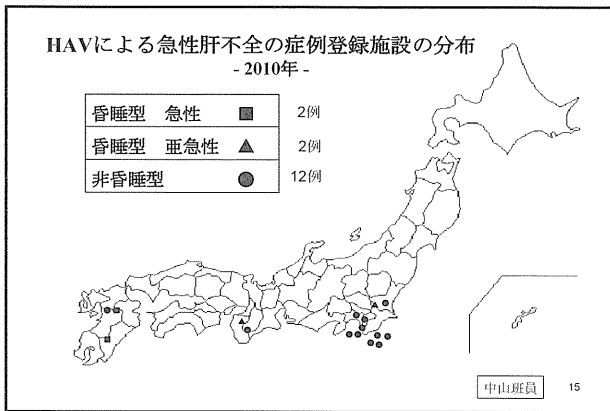
Identity(%) 13

渡航歴のない患者から分離されたIII A型株は全塩基長に基づいて比較すると、韓国株よりも寧ろヨーロッパ株に近い。

HAVの塩基配列の解析結果(まとめ) 新井班員

- ▶ 日本および韓国にて発症した急性A型肝炎26症例において、ウイルス遺伝子の完全長ないし準完全長解析を行った。
- ▶ 1990年頃の国内感染と考えられる6症例はすべて genotype I Aを示したが、2004年以降の症例では11例中6例がI A、5例がIII Aであった。
- ▶ 韓国でのIII A型HAVの流行から、我が国へのIII A型ウイルスの流入が推測されているが、完全長解析によると、ヨーロッパ株との近縁性も高く、ウイルスの拡散・流入経路については、更なる解析が必要である。

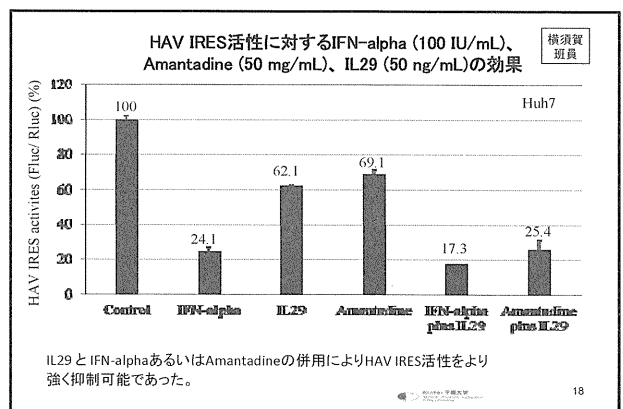
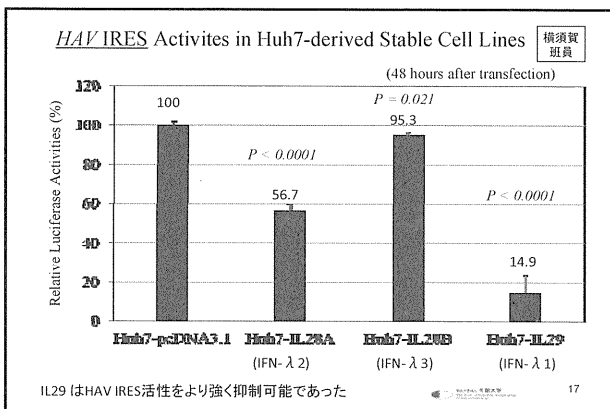
14



A型劇症肝炎, LOHFの内科的予後と背景因子 - 1998-2010年 -

	非移植例 全体(60)	生存例 (43)	死亡例 (17)
男:女	43 : 17	25 : 18	16 : 1*
年齢	50.8 ± 12.8 ^a	48.1 ± 13.2	57.7 ± 8.7*
病型 急性:亜急性:LOHF	51 : 8 : 1	39 : 3 : 1	12 : 5 : 0
基礎疾患 (%)	30.0	20.9	52.9*
薬物歴 (%)	31.7	25.6	47.1
合併症数 (%)	1.6 ± 1.8	0.8 ± 1.3	3.5 ± 1.4
肝萎縮 (%)	20.4	12.8	40.0*

^a平均±標準偏差, *p<0.05 vs 生存例 中山班員 16



E型肝炎に関する研究成果

19

E型肝炎診断薬の保険収載

HE-IgA抗体定性 「イムニスIgA anti-HEV EIA」

(2011年10月から保険適用)

Simultaneous detection of immunoglobulin A (IgA) and IgM antibodies against hepatitis E virus (HEV) is highly specific for diagnosis of acute HEV infection.
Takahashi M, Kusakai S, Mizuo H, et al. *J Clin Microbiol* 43(1): 49-56, 2005

20

本邦におけるE型肝炎の動向

八橋 班員

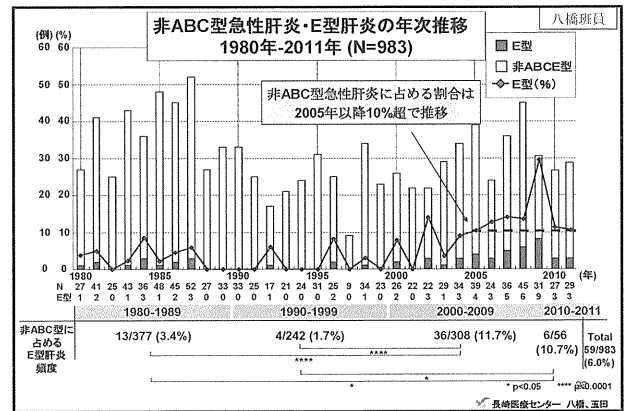
国立病院機構長崎医療センター
臨床研究センター
八橋 弘 (分担研究者)
玉田 陽子



国立病院急性肝炎共同研究班
2011年度 参加施設

旭川医療センター	京都医療センター
北海道医療センター	大阪南医療センター
仙台医療センター	大阪医療センター
まつもと医療センター	南和歌山医療センター
西群馬病院	米子医療センター
高崎総合医療センター	岡山医療センター
西埼玉中央病院	東広島医療センター
東京病院	呉医療センター
国際医療センター	岩国医療センター
東京医療センター	香通寺病院
災害医療センター	小倉医療センター
横浜医療センター	九州医療センター
相模原病院	大分医療センター
金沢医療センター	別府医療センター
東名古屋病院	熊本医療センター
名古屋医療センター	釧路医療センター
	長崎医療センター

長崎医療センター 八橋、玉田



岩手県を中心とした北東北地域におけるE型肝炎 (2009.8 - 2011.10)

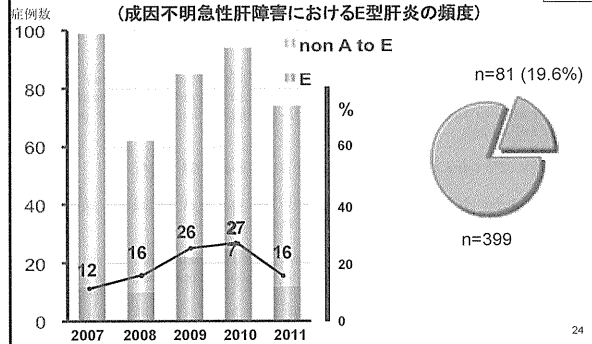
鈴木 班員

	生存	死亡	計	小計
HAV	5	0	5	
急性 HBV	14	1	15	
HBV Carrier	13	3	16	
HEV	9	1	10	成因不明急性肝炎 の13.0%がE型
その他のウイルス(EBV, CMV, HSV, 他)	12	1	13	
薬物性	27	0	27	
自己免疫性	12	0	12	
成因不明	65	2	67	165 (74%)
アルコール	14	2	16	
循環障害	8	2	10	
代謝性	3	0	3	
中毒性	2	0	2	
悪性腫瘍浸潤	0	2	2	
追跡調査不十分	26	0	26	59 (26%)
計	210	14	224	(100%)

23

北海道におけるE型肝炎の動向 (成因不明急性肝障害におけるE型肝炎の頻度)

姜 班員



24

北海道におけるE型肝炎の病型と転帰 姜班員

(2007~2011年)

n=81 (%)

臨床病型	
self limited	69 (85)
重症型	9 (11)
劇症	3 (4)
重症型+劇症	12 (15)
転帰	
生存	78 (96)
死亡	3 (4)

25

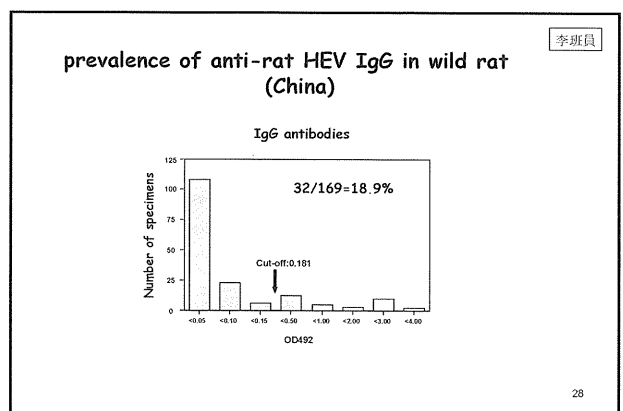
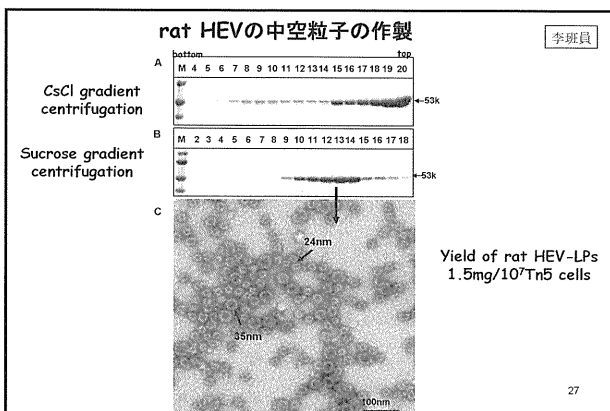
北海道内献血者におけるHEV感染の動向 日野班員

HEV RNAスクリーニング

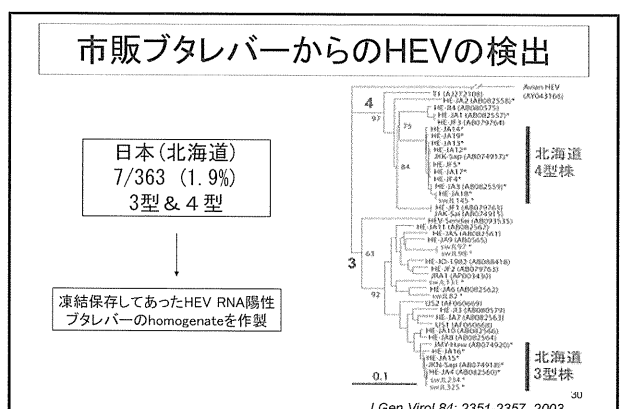
■ 調査期間	2011.1 - 2011.12 (1yr)	2005.1 - 2011.12 (7yr)
■ 検査総数	279,841	1,931,847
■ 陽性者数	35	231
■ 陽性率	0.017% (1/7,995)	0.012% (1/8,363)
■ 年齢	39.1±10.9 (20-60)	41.1±11.9 (17 - 68)
■ 男 : 女	25:10 (71%:29%)	172:59 (74%:26%)
■ Genotype (G3:G4)	30:4 (88%:12%)	212:17 (93%:7%)
■ 動物内臓肉喫食歴 ¹⁾	15/23 (65%)	117/166 (70%)
■ 肝機能異常(ALT>45 IU/L)	6 ²⁾ /12 ³⁾ (50%)	41 ⁴⁾ /72 ³⁾ (57%)
G3 : G4	6/11 (55%) : 0/1 (0%)	37/66(56%) : 4/6 (67%)

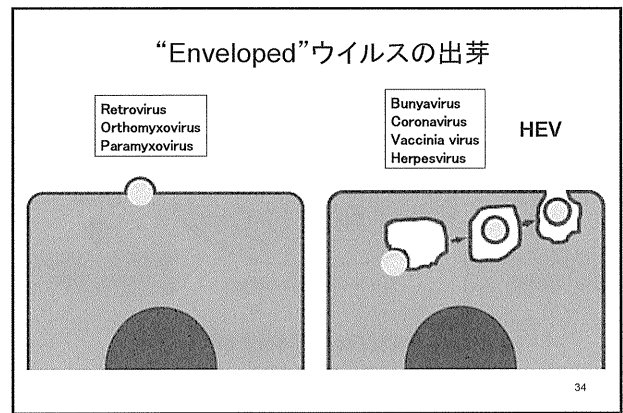
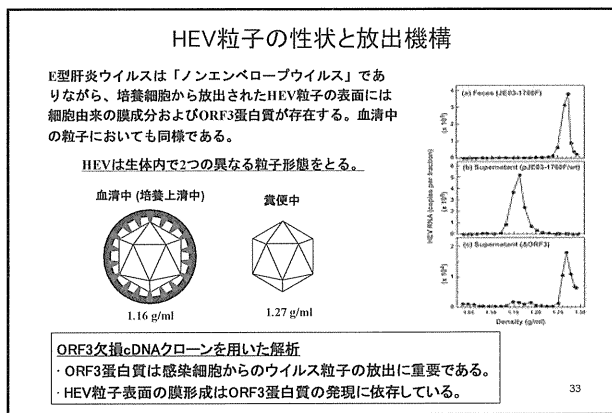
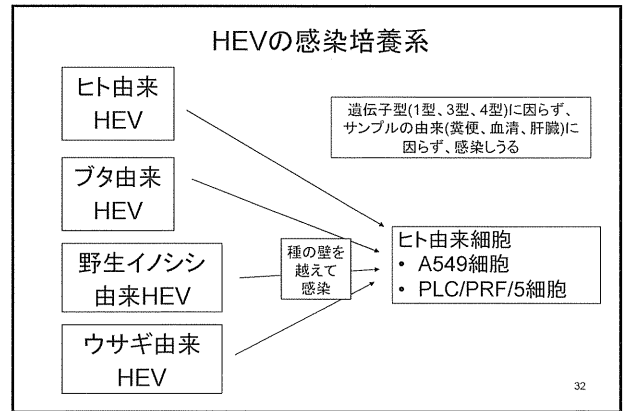
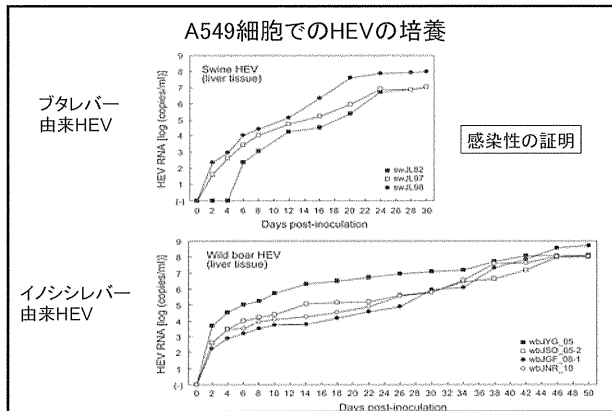
*1: 一般献血者の献血前動物内臓肉喫食歴 28%
*2: peak ALT 53-562 IU/L
*3: 陽性献血後1ヶ月以内に2回以上経過観察できた陽性ドナー数
*4: peak ALT 46-326 IU/L

26

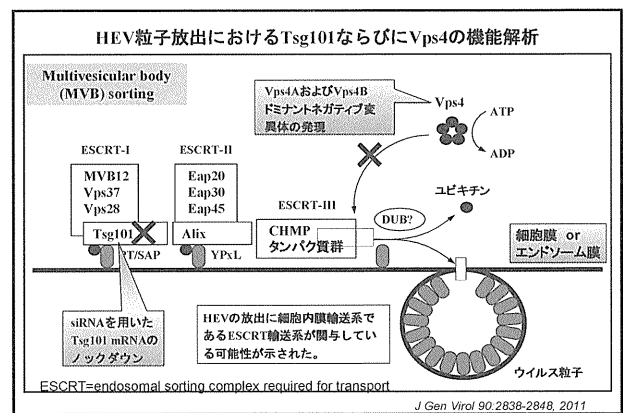


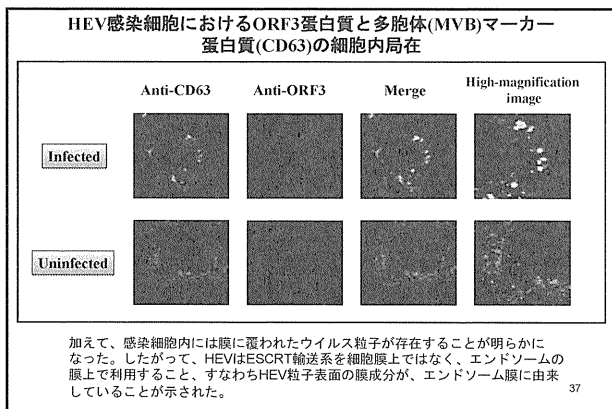
- ### Summary 李班員
1. When the N-terminus-100aa truncated rat HEV ORF2 protein was expressed by recombinant baculovirus, truncated proteins efficiently released into the supernatant and self-assembled into virus-like particles (rat HEV-LPs).
 2. Rat HEV-LPs were cross-reactive with G1, G3 and G4 HEVs.
 3. An ELISA for detection of anti rat HEV IgG and IgM antibodies was established by using rat HEV-LPs as the antigens.
 4. Preliminary epidemiology research shows that rat HEV infection is widespread and transmitted among wild rats in Vietnam and China.
- 29





- ### HEVの放出機構
- ウイルス側因子
 - ORF3蛋白質、特にPSAPモチーフ
 - 宿主側因子
 - Tsg101、Vps4など





HEVの培養系

- 遺伝子型に因らず、臨床材料の種類(糞便、血清、肝臓)に因らない、効率的な培養が可能となっている。
- Supernatant passageによる53代の培養、cell passageによる25代(約2,300日間)の連続培養によって培養系に馴化したHEV株を樹立できている。
- ボトル培養により $>10^9$ copies/mlに達する。
- 感染性cDNAクローンをを用いたReverse genetics systemを確立し、粒子形成や放出機構の解明が進んでいる。

38

