

の検査を施行したところ、血清中に HEV RNA が検出され E 型急性肝炎と診断した。

入院後経過 (Fig. 1a) : 入院第 8 病日に AST 2944 IU/l, ALT 2483 IU/l と最高値となった後はトランスアミナーゼ値は低下した。総ビリルビン値は入院第 16 病日に 30.3 mg/dl と最高値となり、その後の低下も緩徐で、発症後約 2 カ月後に 1.4 mg/dl と正常値に復した。一方、 γ -GTP 値は、入院時 262 IU/l で、入院第 22 病日に 46 IU/l と正常値となったが、再上昇し、退院後に 111 IU/l まで上昇したが肝炎発症 9 カ月後に正常値に復した。

症例 2 : 71 歳、男性。

主訴 : 発熱、全身倦怠感。

既往歴 : 特記すべきことなし。

飲酒歴 : なし。

輸血歴、海外渡航歴、内服薬 : なし。

現病歴 : 2009 年 6 月 12 日に発熱と全身倦怠感にて当院受診。血液検査にて AST 3794 IU/l, ALT 2032 IU/l と高度の肝機能異常を認めたため当院緊急入院となる。A, B, C 型肝炎ウイルスマーカーは陰性であった。

入院後経過 (Fig. 1b) : 入院後、速やかにトランスアミナーゼ値は低下し第 12 病日に退院となった。当初、本症例は、原因不明の急性肝炎とされていたが、症例 1 と共に 5 月 13 日に祭礼に出席し、イノシシの肉を生焼けの状態と共に食したとのことであったため、退院後の血清中を用いて IgM 型 HEV 抗体を測定し陽性であったため E 型急性肝炎と診断した。

症例 1 の血清から分離された HEV と過去に報告された HEV 株を用いて分子系統樹を作成した (Fig. 2)。今回検出された HEV 株 (JYN-Aic09) (Accession number : AB630953) は、過去に愛知静岡地域から分離された HEV 株とクラスターを形成した。

考察 : 伊藤らは、愛知県の岡崎・設楽地域と長野県の上伊那地区で捕獲されたイノシシを調査し 91 頭中 11 頭 (12.1%) で HEV RNA が陽性で⁴⁾、イノシシから分離された HEV 株は互いに近縁で、いずれも 4 型に分類され、相同性は 98.5~100% であったとした。さらに 2010 年に、川村らは、静岡県の西部地区で発生したシカ生肉またはイノシシ生肝摂食後の E 型急性肝炎の 3 例を報告し³⁾、分離された HEV 株は、愛知 HEV 株と近縁で、静岡地域から分離された HEV 株も含め愛知静岡株と呼称することを提唱している。さらに愛知静岡株は、中国、上海から検出された 4 型株と近縁関係にあり、中

国から伝播した可能性を示唆している³⁾。中国から伝播したとするならば、ブタを介してか、あるいは人によって持ち込まれたのか、その輸入経路に興味を持たれる。また、この愛知静岡地域からは、近年、新たな遺伝子型である 5 型の報告がなされ⁵⁾、その分布に興味を持たれる。

今回我々が経験した症例は、2 人が共通の生焼けのイノシシの肉の摂食により E 型急性肝炎を発症したものと考えられた。どちらも著明なトランスアミナーゼの上昇を認めたものの、症例 1 では高度な黄疸の出現とその遷延化が認められ、症例 2 では、黄疸は出現せずトランスアミナーゼも速やかに正常化した。このように同じウイルスにより発症したと考えられる 2 症例の臨床経過に差異を生じた理由には、宿主の免疫応答やベースとなる肝臓の状態などの差異による影響が推定され、症例 1 では長期にわたる飲酒歴があり、すでに肝臓に潜在的な肝障害があった可能性が考えられ、症例 1 の黄疸の遷延化した一因と推定された。

今回愛知県東部の豊川地区でのイノシシの肉が共通の感染源であると考えられる E 型急性肝炎の 2 例を報告した。本検討では、愛知静岡地域には独自の HEV4 型株が侵淫することを支持する結果であった。

索引用語 : E 型肝炎, 野生イノシシ肉,
HEV 愛知静岡株

文献 : 1) Tei S, Kitajima N, Takahashi K, et al. Lancet 2003; 362: 371—373 2) Sonoda H, Abe M, Sugimoto T, et al. J Clin Microbiol 2004; 42: 5371—5374 3) 川村欣也, 小林良正, 高橋和明, 他. 肝臓 2010; 51: 418—424 4) 伊藤 雅, 小林愼一, 山下照夫, 他. 肝臓 2006; 47: 316—318 5) 高橋和明, 寺田修三, 国立裕之, 他. 肝臓 2010; 51: 536—538

英文要旨

Two cases of acute hepatitis E due to Aichi/Shizuoka strain developed after intake of wild boar meat

Hideaki Kato^{1)2)*}, Kazuaki Takahashi³⁾,
Makoto Nakamura¹⁾, Hirokazu Ikeuchi¹⁾,
Atsuyuki Hirano¹⁾, Natsumi Abe³⁾,
Masahiro Arai³⁾⁴⁾, Shunji Mishiro³⁾

Two 71-year-old males (Case 1 and 2) with liver dysfunction were admitted to our hospital and diagnosed to acute hepatitis E due to detection of Hepatitis E virus (HEV) RNA or IgM class antihepatitis E antibody in their sera. Since they ate the same rare wild boar meat at the same ritual, the boar meat was considered to the infection source. Phylogenetic analysis showed that HEV strain identified in the serum of Case 1 was clustered with “Aichi/Shizuoka Strain of HEV Genotype 4” with high homology. Those support the evidence that “Aichi/Shizuoka Strain of HEV Genotype 4”, different from those are predominant in other part of Japan, is prevailed in this area.

Key words: hepatitis E, wild boar meat,
HEV Aichi/Shizuoka strain

Kanzo 2011; 52: 524—527

- 1) Department of Gastroenterology, Toyokawa City Hospital
- 2) Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences
- 3) Department of Medical Sciences, Toshiba General Hospital
- 4) Department of Gastroenterology, Toshiba General Hospital

*Corresponding author: hideakik@k6.dion.ne.jp

<原 著>

2010 年 A 型肝炎ウイルス福岡株に対する分子疫学的検討—1999 年ボルネオ (カリマンタン) 島由来株との近縁性

道免 和文^{1)*} 小野原伸也¹⁾ 田中 博文¹⁾ 春野 政虎²⁾
下田 慎治³⁾ 姜 貞憲⁴⁾ 石井 孝司⁵⁾ 高橋 和明⁶⁾

要旨：A 型肝炎が多発した 2010 年春に福岡市で感染し、発症した A 型肝炎急性肝炎夫婦例から分離された A 型肝炎ウイルス (HAV) 福岡株と 1999 年にボルネオ (現カリマンタン) 島で感染し、札幌市で発症した HAV 札幌株とが全長塩基配列の解析により 98.4% の一致率を示し、genotype IA の同一系統株であることが判明した。またこの福岡 HAV 株は 2007 年にフィリピンで感染し、ドイツで発症した HAV 株と同一系統株であった。フィリピン・ボルネオ地域を淵源とする HAV 株が変異しながら 2010 年春に福岡で 2 例の A 型肝炎急性肝炎発症に参与している可能性が推測された。遺伝子系統解析は HAV の地理的かつ時間的な分布ならびに変異の把握に有効な手段であることが示された。また福岡、札幌株の全長塩基配列の比較から、HAV の変異速度の解析の可能性も示唆された。

索引用語： A型肝炎 系統樹 genotype

はじめに

本邦では 2010 年に 342 名の A 型肝炎急性肝炎の届け出があり (国立感染症研究所ホームページ)¹⁾、2007 年 (157 例)、2008 年 (169 例)、2009 年 (115 例) と比較し、発生数は 2~3 倍近くに増加していた。

しかしながら、日本を含む先進諸国における A 型肝炎急性肝炎症例の大多数は散发例であり、流行年を除くとその症例数は少なく、A 型肝炎ウイルス (hepatitis A virus, HAV) 感染実態を分子疫学的手法により地理的ないし時間縦断的に検討した報告は見当たらない。われわれは 1999 年にボルネオ (現カリマンタン) 島で感染したと推測される症例由来の HAV 株と 2010 年に福岡市で感染した A 型肝炎由来 HAV 株 genome に対する sequencing を試み、後者は地理的・時間的・空間を超えて前者から変異した同一系統株であることを見出した

ので若干の分子疫学的考察を加え報告する。

対象と方法

対象：

症例 1：福岡市在住の 54 歳女性。主訴は黄疸、発熱、全身倦怠感。2010 年 4 月 5 日より全身倦怠感、発熱が出現し、近医を受診した。AST 3,092 IU/l、ALT 4,132 IU/l と肝機能異常を認めたため、千早病院内科に紹介入院となった。飲酒歴はなし。3 月中旬に夫と共に福岡市内で生牡蠣を喫食した。身体所見では 36.9℃ の微熱と結膜・皮膚の黄染を認めた。総ビリルビンは 4.5 mg/dl、AST 965 IU/l、ALT 2,929 IU/l、PT 活性 83% で IgMHA 抗体価が 12.1 と高値であった。A 型肝炎と診断され、保存的療法で回復した。

症例 2：症例 1 の夫で 56 歳。2010 年 4 月 26 日 (症例 1 の発症 3 週後) に発熱が出現し、近医を受診した。肝障害が認められたため、同じく千早病院内科に紹介入院となった。身体所見では 38.1℃ の発熱を認めるのみであった。総ビリルビンは 1.8 mg/dl、AST は 3,525 IU/l、ALT は 4,006 IU/l、PT 活性は 43% で、IgMHA 抗体価が 11.3 と高値を示した。A 型肝炎と診断され、同じく保存的療法で回復した。

症例 3：札幌市在住の 38 歳男性。1999 年 6 月 9 日か

- 1) 国家公務員共済組合連合会千早病院内科
- 2) 国家公務員共済組合連合会千早病院放射線科
- 3) 九州大学病態修復内科学 (第 1 内科)
- 4) 手稲溪仁会病院消化器病センター
- 5) 国立感染症研究所
- 6) 東芝病院研究部

*Corresponding author: dohmen-kzfm@cool.odn.ne.jp

<受付日 2011 年 4 月 12 日><採択日 2011 年 6 月 5 日>

ら 39.5°C の発熱と嘔気を自覚し、10 日に近医を受診。14 日に手稲溪仁会病院消化器病センターに紹介入院となった。AST 1,650 IU/l, ALT 2,270 IU/l を示し、総ビリルビンは 7.3 mg/dl まで上昇したが、PT 活性は 94% でその後も正常範囲で推移した。IgMHA 抗体価は 6.9 と上昇し、4 週後には 2.0 と低下したことから、A 型急性肝炎と診断された。保存的療法で回復した。同年 5 月初旬にボルネオ島コタキナバルへ旅行した際に生のマンゴー摂取歴があった。

症例 1, 2 は生牡蠣を感染源とした家族内感染が疑われ、症例 3 はボルネオ旅行中の感染が疑われた。

方法：

HAV-RNA の解析は保存血清から HAV-RNA を抽出後、既報の HAV 株をもとに作製した 20 のプライマーセットを用いて nested RT-PCR を行い、HAV の全領域を含む PCR 増幅産物を得た。PCR 産物は direct sequencing 法により塩基配列を決定した。5'末端は SMARTer Pico PCR cDNA Synthesis Kit を、3'末端は Oligo (dt) 20 primer を用いて解析した。

結 果

3 症例から分離した HAV-RNA について塩基配列の解析を試み、症例 1 (HAJIH-Fuku010; AB618529) からは 7,455 塩基の準完全長 HAV 塩基配列 (5'末端一部が未解読) が得られ、症例 2 (HAJTH-Fuku010; AB618530) からは 3,996 塩基の部分塩基配列が、症例 3 (HAJNS-BorSap99; AB618531) からは 7,494 塩基の完全長 HAV 塩基配列がそれぞれ得られた。3 症例から分離された HAV 株は genotype IA に属した。2010 年に福岡の夫婦から分離された 2 株 (福岡株) の間には 3,996 塩基の配列において比較する限り 100% の一致を示した。この福岡株は 2007 年にフィリピンで感染し、ドイツで発症した A 型急性肝炎由来の HAV 株 (HAV-DE-2007/08-196) と HAV の junction 部の 223 塩基の比較で 100% の一致が確認され、症例 3 の札幌株、フィリピンから分離されている株 (La2, Pa4, Ps2, Pa3-2) との間においても分子系統樹で同一クラスターを形成した (Fig. 1)。福岡株 (HAJIH-Fuku010) と札幌株 (HAJNS-BorSap99) の 2 株の間には 7,455 塩基の配列において比較すると 98.4% の一致率を示し、full genome の分子系統樹においても同一の系統に属することが示された (Fig. 2)。

A 型肝炎発症時に 11 年間の間隔が存在する HAV 福岡株と HAV 札幌株における全長塩基配列の比較から

遺伝子変異速度を計算した。求めた HAV の変異速度は 2×10^{-3} /site/year であった。

考 察

HAV genotype は I~VI に分類され、そのうち genotype I~III のウイルスがヒトに感染することが知られている²⁾。また HAV I~III はサブタイプ A, B に亜分類される。本邦における A 型急性肝炎は他国の流行地域とは異なり、散发例が大半を占め、1991 年から 2009 年に至る期間の症例数は少数にとどまった³⁾。それ故、本邦における A 型急性肝炎はウイルスの地理的伝搬範囲や発症者の分布に対する遺伝子疫学上の知見に乏しい。

HAV genotype の世界的分布は頻度順に IA (80%)、IB (17%)、IIIA (3%) であると報告されている⁴⁾ものの、その分布には地域差が存在する。

2006 年に滋賀、新潟などで小流行をもたらした株 (「2006 年型 IA」と総称) は 2001 年に報告された FH 1 株 (AB020567) と同じクラスターに属しており、それ以前の 10 年間の本邦の A 型急性肝炎における主要な起因株であった⁵⁾⁶⁾。しかし、2010 年福岡株と 2006 年型 IA 株との junction 部 223 塩基の比較では 7 塩基が異なり、その相同性は 97% に留まった。一方、2010 年福岡株は 2007 年にフィリピンで感染し、ドイツで発症した症例由来の IA である HAV-DE-2007/08-196 株とは同 223 塩基の比較で 100% の一致が確認された (Faber MS との personal communication)。さらに、福岡株は遡ること 11 年前に札幌で既に輸入型 A 型肝炎を発症せしめていたボルネオ島コタキナバル感染株と同一系統であることが示された。

フィンランドの A 型急性肝炎症例の HAV は IA が主であるものの、近年 IB, IIIA が増加している⁷⁾。その IB, IIIA が初めて検出されたのは共に 1998 年であり、IIIA の流行はソビエト連邦 (当時) からの流入に因ると推察されている⁷⁾。また、2008~2009 年に韓国で大流行があった A 型急性肝炎例の HAV 遺伝子解析では genotype は IA から IIIA に置き換わっている⁸⁾。2010 年春季に本邦では A 型急性肝炎の集中的な発症をみ、春季 59 株の解析を試みた⁹⁾ところ、成因 HAV は genotype IA が 42 株 (71%)、IB が 1 株 (2%)、IIIA が 16 株 (27%) であった。さらに IA はふたつのクラスターに分類され、ひとつは少なくとも日本に 10 年以上前より常在していた 2006 年型 IA 株であり、他のひとつは 2010 年福岡株と junction 部 223 塩基が 100% 一致した「2007

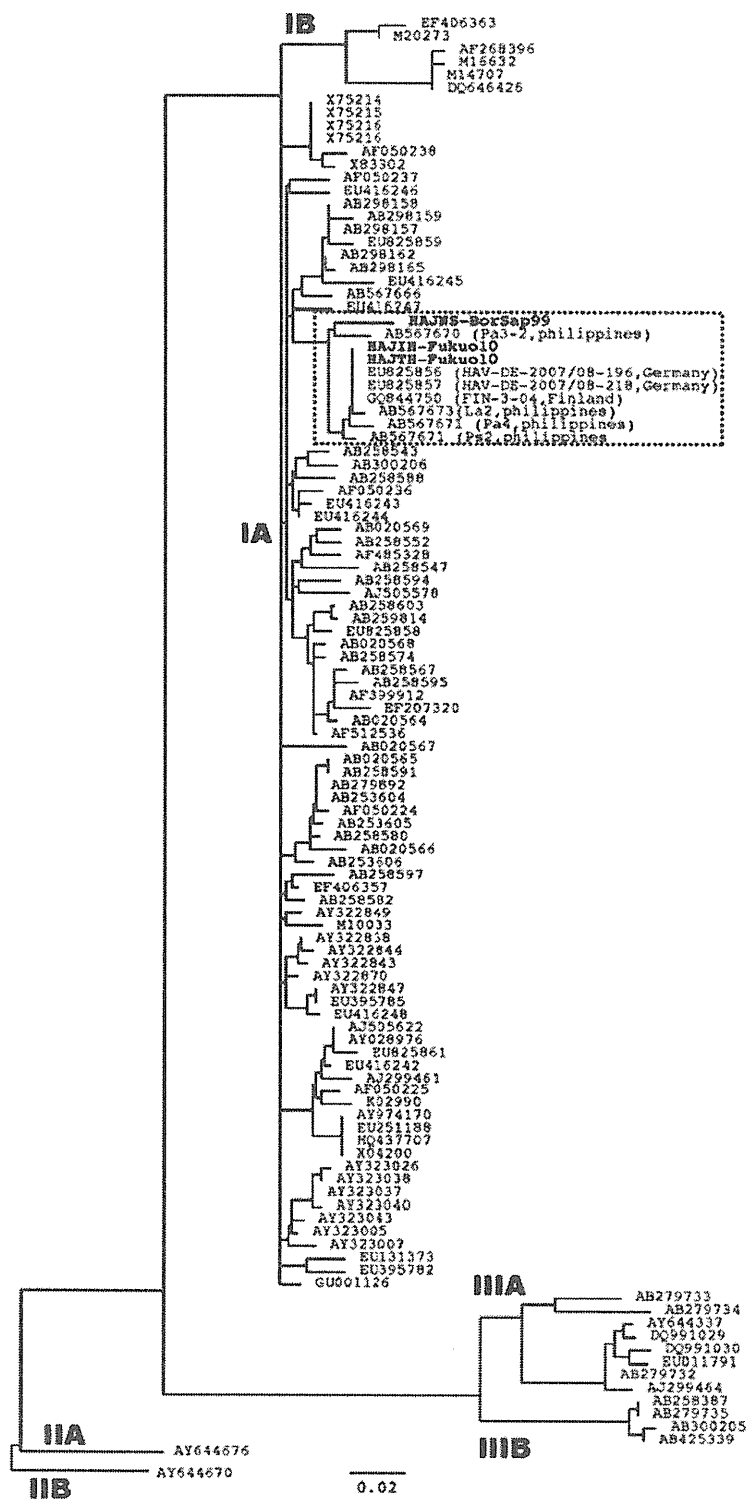


Fig. 1 Phylogenetic tree (Neighbor-joining method) of HAV based on 223 nt (nt 2938-3160, AB020565) was constructed. The dotted area shows the Fukuoka, Sapporo, Philippines, and German isolates. All isolates belonged to genotype IA. The isolates of Fukuoka couple and Sapporo man have been shown by bold.

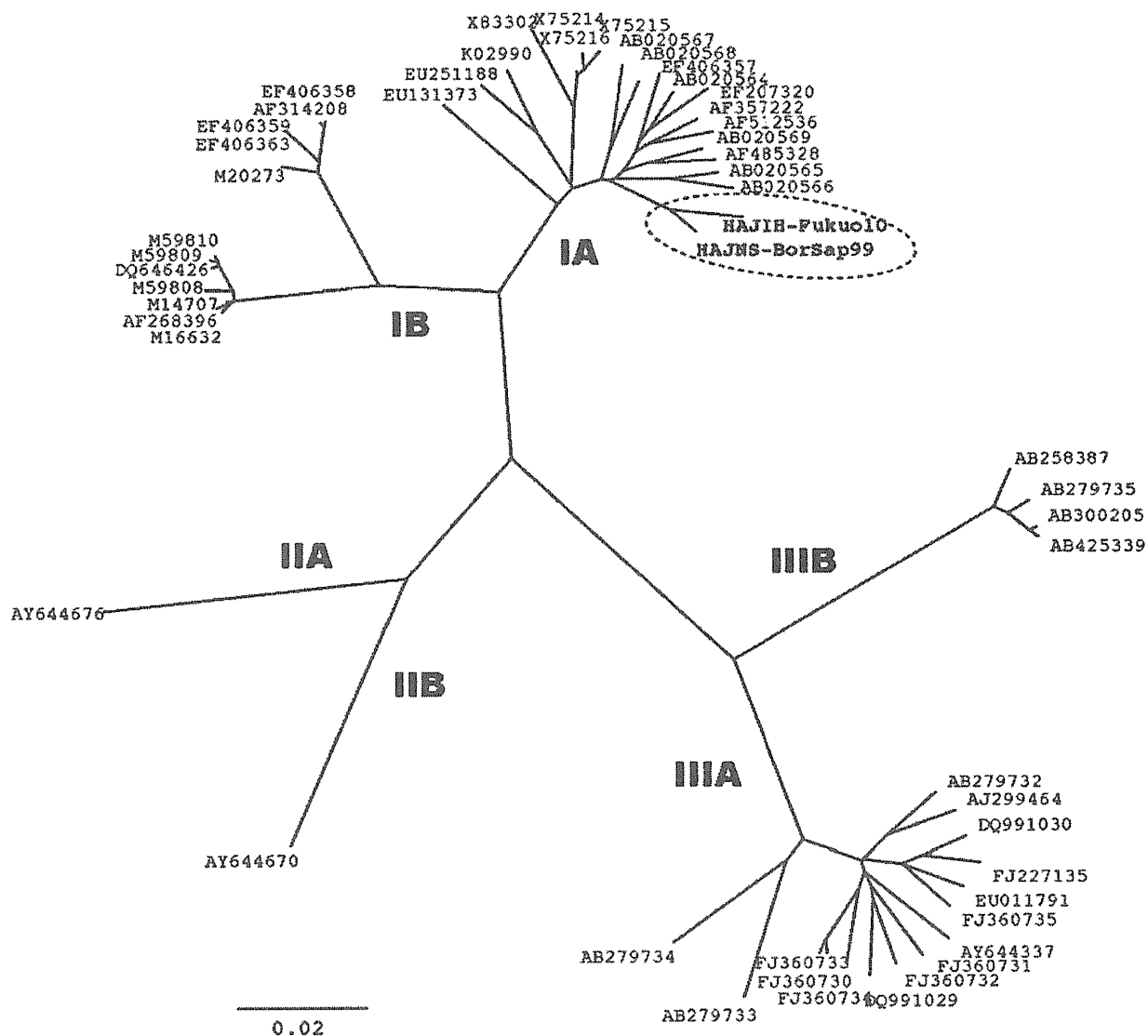


Fig. 2 Phylogenetic tree (Neighbor-joining method) of HAV based on full genome of HAV of Fukuoka woman (HAJ1H-Fuku010) and Sapporo man (HAJNS-BorSap99) was constructed. Both of the isolates clustered in genotype IA and they were almost similar (sequence homology 98.4%).

年にフィリピンで感染し、ドイツで発症した症例由来の HAV-DE-2007/08-196 株”であった。すなわち、2010 年の genotype IA は本邦土着の株とフィリピンを淵源とするあらたな株に二分された。また本邦では今まで極めて稀であった IIIA が約 30% を占め、その IIIA は 2008~2009 年に韓国で大流行⁸⁾した株と同じクラスターに属していることが判明した。このことは韓国で流行した HAV 株が日本に侵淫してきた事実を示すものと思われる。

これらの報告から類推されるように従来の HAV の地

理的分布が近年頻繁になってきた人的交流や移動あるいは生鮮食品の国境を越えた広範な流通によって変化する可能性があり、感染経路の探索や感染病態の解析には HAV genotyping などの遺伝子学的検討の必要性がより増大していくものと思われる。

HCV などの持続感染ウイルスでは同一宿主から時間的間隔をおいて採取した血清を用いることで塩基配列の変異速度の計算は可能であり、Okamoto ら¹⁰⁾、Ogata ら¹¹⁾の報告がある。また、HEV 感染に関して変異速度に対する検討が既に存在する¹²⁾。HAV の変異速度に

関しては Sánchez ら¹³⁾が 1999 年にスペインで発症した 3 例の genotype IB の遺伝子解析から変異速度は $1 \times 10^{-3} \sim 1 \times 10^{-4}$ /site/year と報告している。われわれは発症時期に 11 年間の間隔が存在するものの全長塩基配列に基づく遺伝子系統樹で同一クラスターを形成した A 型急性肝炎由来札幌、福岡株を用いて HAV 変異速度を算出した。これらから求められたウイルスの変異速度は 2×10^{-3} /site/year であった。われわれが算出した HAV の変異速度は Sánchez ら¹³⁾が報告した HAV の変異速度 $1 \times 10^{-3} \sim 1 \times 10^{-4}$ と近似し、また HCV ($1.44 \sim 1.92 \times 10^{-3}$ /site/year)¹⁰⁾¹¹⁾、HEV ($1.8 \sim 2.1 \times 10^{-3}$ /site/year)¹²⁾ の変異速度との比較においても近似していた。

当然ながら、一過性感染である HAV では同一宿主におけるウイルス株塩基配列の経時的比較は困難であり、異時的に発生した感染者由来 HAV 株が遺伝子系統樹上に形成したクラスター内での比較にならざるを得ず、また宿主での感染成立前の HAV は生牡蠣やマンゴーなどに付着あるいは蓄積した状態のまま、ある一定時間が経過していることによる修飾も想定しなければならない。従って、今回算出した HAV 変異速度に対して他の事例を用いた再現性の検討は必要である。今後の HAV の遺伝子解析、分子疫学の進捗によって HAV 感染発症地域におけるウイルス拡散時期や感染経路がより精度を増して推定されることが期待される。

結 語

遺伝子解析により 1999 年のボルネオ由来 HAV と 2010 年 HAV 福岡株が同一系統であることが判明し、2010 年春の福岡症例は日本に由来より土着している HAV 株によるものではなく、フィリピン、ボルネオに循環している HAV 株により発症したことが示唆された。遺伝子系統解析は HAV の地理的かつ時間的な分布ならびに変異の把握に有効な手段であることが示された。

文 献

- 1) 国立感染症研究所. 感染症情報センター. ホームページ (<http://idsc.nih.gov/idwr/pdf-j.html>)
- 2) Costa-Mattioli M, Cristina J, Romero H, et al. Molecular evolution of hepatitis A virus: A new classification based on the complete VP1 protein. *J Virol* 2002; 76: 9516—9525
- 3) 国立病院機構共同臨床研究. 本邦におけるウイルス性急性肝炎の発生状況と治療法に関する研究. 平成 21 年度研究報告書. p1—9, 主任研究者 八橋 弘
- 4) Nainan OV, Xia G, Vaughan G, et al. Diagnosis of hepatitis A virus infection. A molecular approach. *Clin Microbiol Rev* 2006; 19: 63—79
- 5) Fujiwara K, Yokosuka O, Fukai K, et al. Analysis of full-length hepatitis A virus genome in sera from patients with fulminant and self-limited acute type A hepatitis. *J Hepatol* 2001; 35: 112—119
- 6) Takahashi H, Yotsuyanagi H, Yasuda K, et al. Molecular epidemiology of hepatitis A virus in metropolitan areas in Japan. *J Gastroenterol* 2006; 41: 981—986
- 7) Broman M, Jokinen S, Kuusi M, et al. Epidemiology of hepatitis A in Finland in 1990-2007. *J Med Virol* 2010; 82: 934—941
- 8) Yoon YK, Chun BC, Lee HK, et al. Epidemiological and genetic analysis of a sustained community-wide outbreak of hepatitis A in the Republic of Korea, 2008: a hospital-based case-control study. *J Clin Virol* 2009; 46: 184—188
- 9) 石井孝司, 清原知子, 島田智恵, 他. 2010 年春季の A 型肝炎の diffuse outbreak の分子疫学的解析. *肝臓* 2011; 52 (Supple 1) : A109
- 10) Okamoto H, Kojima M, Okada S, et al. Genetic drift of hepatitis C virus during a 8.2-year infection in a chimpanzee: variability and stability. *Virology* 1992; 190: 894—899
- 11) Ogata N, Alter HJ, Miller RH, et al. Nucleotide sequence and mutation rate of H strain of hepatitis C virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 3392—3396
- 12) Tanaka Y, Takahashi K, Orito E, et al. Molecular tracing of Japan-indigenous hepatitis E viruses. *J Gen Virol* 2006; 87: 949—954
- 13) Sánchez G, Bosch A, Gomez-Mariano G, et al. Evidence for quasispecies distributions in the human hepatitis A virus genome. *Virology* 2003; 315: 34—42

Molecular epidemiological analysis of hepatitis A virus strain separated in Fukuoka 2010—the similarity with the strain from a patient infected in Borneo (Kalimantan) island 1999

Kazufumi Dohmen^{1)*}, Shin-ya Onohara¹⁾, Hirofumi Tanaka¹⁾, Masatora Haruno²⁾,
Shinji Shimoda³⁾, Jong-Hon Kang⁴⁾, Koji Ishii⁵⁾, Kazuaki Takahashi⁶⁾

Molecular epidemiology of hepatitis A virus (HAV) is warranted. HAV isolates obtained from middle-aged couple with acute hepatitis A in Fukuoka 2010, showed 100% similarity each other in genome sequence. These HAV strains of genotype IA also indicated 98.4% homology with HAV isolates derived from a patient with acute hepatitis A infected in Borneo island 1999. Interestingly, the Fukuoka strains were also similar to the HAV isolate which was reported to be identified from a German individual, infected in the Philippines 2007. Taken together, the HAV strains circulating in South Asia may have been spreading and responsible for hepatitis A in different regions of the world.

Key words: acute hepatitis A strain genotype

Kanzo 2011; 52: 497—502

1) Internal Medicine, Chihaya Hospital

2) Radiology, Chihaya Hospital

3) Medicine and Biosystemic Science, Graduate School of Medical Science, Kyushu University

4) Center for Gastroenterology, Teine Keijinkai Hospital

5) National Institute of Infections Diseases

6) Department of Medical Sciences, Toshiba General Hospital

*Corresponding author: dohmen-kzfm@cool.odn.ne.jp

<原 著>

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

小関 至^{1)*} 姜 貞憲²⁾ 水尾 仁志³⁾ 赤池 淳¹⁾ 大村 卓味¹⁾
 狩野 吉康¹⁾ 松居 剛志²⁾ 佐賀 啓良⁴⁾ 渡辺 正夫⁵⁾ 三浦 洋輔⁶⁾
 倉 敏郎⁷⁾ 常松 泉⁸⁾ 松林 圭二⁹⁾ 坂田 秀勝⁹⁾ 岡本 宏明¹⁰⁾
 高橋 和明¹¹⁾ 新井 雅裕¹¹⁾

要旨：E 型急性肝炎の流行は須く HEV 感染流行地域においてのみ観察可能な事象と認識され、日本を含む先進国からは流行的 HEV 感染に対する報告は皆無である。

HEV 感染診断を支援する地域的 net work である北海道 E 型肝炎研究会（道 E 研）は、2009 年 9 月下旬から 10 月下旬にかけて札幌圏における急性 E 型肝炎孤発例の連続的発生という事態に遭遇した。これら 11 名の患者から得られた HEV 株はいずれも genotype 4 に属したが、部分塩基配列をもとに作成した遺伝子系統樹で単独のクラスターを形成したため、本事例は同一株による小流行と判断された。これら HEV 株は既報の“Sapporo strain”あるいは、北見・網走地域で急性肝炎の原因となった“Kitami/Abashiri strain”と近接していた。

前述した分子疫学的手法が HEV 感染小流行の解明に有用であることが示された一方、11 例に対する個別的調査を行うも本小流行に共通の感染源、感染契機を特定するには至らなかった。今後も“New Sapporo strain”に対する注意深い監視が必要と考えられた。

索引用語： E 型急性肝炎 E 型肝炎ウイルス 遺伝子系統樹 遺伝子型
小流行

はじめに

日本国内で発症した E 型肝炎が須く流行地からの輸入感染症と見なされる時代はもはや過去となった。

2001 年、海外渡航歴のない成因不明急性肝炎の男性

患者から HEV RNA (JRA-1) を分離同定した第 1 例目の報告¹⁾が発端となり、本邦における国内発症型 E 型肝炎の臨床像が次第に明らかになってきた。

水系感染を背景とした流行地域の E 型肝炎²⁾とは異なり、先進工業国における E 型肝炎ウイルス (Hepatitis E Virus, HEV) 感染は孤発例が一般的である。HEV 感染 254 例を対象とした阿部らの解析では、本邦の E 型肝炎もほぼ全例が孤発例³⁾で、集団発生は例外的⁴⁾⁵⁾である。日本国内の HEV 高侵淫地域とされている北海道においても発生状況は同様とみられ、HEV 集団感染は僅か 2 件(北見, 網走)が報告されているに過ぎない^{6)~8)}。2007 年 1 月に北海道 E 型肝炎研究会 (道 E 研) が発足し、北海道では HEV 感染に対するリアルタイムな診断支援網が構築された。道 E 研参加 44 施設は A 型、B 型、C 型急性肝炎が除外された急性肝障害症例を登録し、協力研究施設 (東芝病院研究部、自治医科大学感染・

- 1) 札幌厚生病院消化器科
- 2) 手稲溪仁会病院消化器病センター
- 3) 勤医協中央病院内科
- 4) 愛育病院消化器科
- 5) JR 札幌病院消化器科
- 6) 恵み野病院消化器科
- 7) 町立長沼病院内科・消化器科
- 8) 東栄病院内科
- 9) 日本赤十字社北海道血液センター
- 10) 自治医科大学感染・免疫学講座ウイルス学部門
- 11) 東芝病院研究部

*Corresponding author: 3767759101@jcom.home.ne.jp

<受付日2011年9月29日><採択日2011年12月16日>

免疫学講座ウイルス学部門)は患者初期血清に対し HEV RNA を同定, 抗 HEV IgM・IgA・IgG 抗体を測定している。HEV 感染診断例では主治医が臨床経過及び HEV 感染経路について 2 次調査を進めている。

2009 年 9 月下旬から 10 月下旬にかけて, 道 E 研は, 札幌市とその郊外における E 型急性肝炎孤発例の連続的発生という異常な事態に遭遇したが, 遺伝子型 4 型に属する単独系統株による札幌圏小流行と診断し, これを本誌で速報した⁹⁾。著者らは本小流行に対し, 臨床的, ウイルス学的, 分子疫学的解析を行い, さらに HEV 感染背景を検討することにより, その全貌の解明を試みたのでここに報告する。

対象と方法

2009 年 9 月から 10 月にかけて札幌市とその郊外において発生し, 道 E 研の感染診断網により後に単独系統株による HEV 初感染が確認された E 型急性肝炎 11 例を対象とした。これら 11 例の背景因子, 肝炎の臨床像と治療経過, 併存肝疾患, HEV 感染指標を検討した。次に HEV 感染背景を明らかにするため, 発症時から遡った感染推定期間におけるブタ内臓肉摂取の有無, 摂取時期とその機会の詳細について検討した。なお, 感冒様症状など急性肝炎に起因すると考えられる自覚症状の出現日を発症日と定義した。

抗 HEV 抗体 IgM, IgA, IgG は enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) キット (特殊免疫研究所, 東京) を用い, HEV RNA は HEV genome open reading frame (ORF) 2 領域における RT-PCR 法でそれぞれ検出した。HEV 感染診断は, 病初期に得られた患者血清における HEV RNA の同定, あるいは IgM, IgA クラスの HEV 抗体陽性に拠った。HEV ORF1 の methyl transferase 領域内の 326 塩基に対するシーケンスにより遺伝子型を決定し, 遺伝子系統解析は unweighted pair-grouping method with arithmetic means (UP-GMA) 法で行った。

結 果

道 E 研を介して診断された 11 名の E 型肝炎患者はいずれも 2009 年秋の 9-10 月に札幌圏で発症した孤発例であり, 後述する症例 1, 6 (Table 2) を除くと居住地や職場など生活圏における症例間の関係性を認めなかった。

11 症例の背景を Table 1 に示す。男性が 8 例 (73%), 年齢中央値は 52 歳, 居住地別症例数は札幌市内 6 行政

区から 8 例, 札幌市近郊の N 町 2 例, K 市 1 例であった。HEV 感染リスクについては, 発症 6 カ月前の韓国への海外渡航歴が 1 例にみられ, 肝障害に関連しうる生活歴としては, BMI 30 以上の高度肥満が 1 例, 日本酒換算 1 日 5 合以上の大酒家が 1 例, 薬剤常用が 4 例, 健康食品摂取が 1 例存在した。併存疾患では, 脂肪肝と高脂血症がそれぞれ 2 例, 高血圧と高尿酸血症がそれぞれ 1 例で認められた。

1 例 (症例 4) は献血時に日本赤十字北海道血液センターによる HEV スクリーニングで HEV 感染が判明したため, 札幌市内の医療機関を紹介受診した。その時点では無症状で肝胆道系酵素の異常が認められず, 経過観察となったが, 初診より 10 日後に倦怠感, 食欲不振などの症状が出現し, 再度受診したところ, 肝炎の発症が確認され入院加療を受けた。症例 4 を除く 10 例は急性肝炎に由来する症状の出現が契機となり受診した。症例 1 のみ肝炎と黄疸が遷延し急性肝炎重症型を呈したが, 最終的には全例が軽快した (Table 2a)。

血液生化学検査結果では, AST 中央値は初診時, 最高値でそれぞれ, 942 IU/L, 1702 IU/L, ALT は同様に 1923 IU/L, 2238 IU/L, 総ビリルビン値で 6.0 mg/dl, 8.2 mg/dl であった。症例 4, 6, 8 の AST 値は初診時からそれぞれ 10, 1, 1 日後に最高値に達した。

経過中プロトロンビン活性の最低値は 26~103% で, 1 例で 40% 未満を呈した。2, 5-oligoadenylate synthetase (2-5AS) は測定した 7 例中 5 例 (71%) で異常値 (正常値 100 pmol/dl 未満) を示した。治療では 9 例で強力ネオミノファーゲン C や ursodeoxycholic acid (UDCA) などの肝底治療法が施され, 2 例で cyclosporine A, methylprednisolone が投与された (Table 2b)。

HEV 遺伝子型は全例 4 型であり, 病初期血清における抗 HEV 抗体 IgG, IgM, IgA クラスの陽性を順に 11 例 (100%), 11 例 (91%), 10 例 (91%) で認めた (Table 3)。

UPGMA 法で作成した遺伝子系統樹では, 11 例の HEV 株は遺伝子型 4 の北見網走株および札幌地域の症例から分離された札幌株と近接しながらもそれらとは区別される cluster を形成した (Fig. 1)。

人獣共通感染経路を中心に HEV の感染背景を調査した。11 例中 5 例が発症 4-6 週前に焼肉店, 居酒屋における, ブタ内臓肉 (直腸, 結腸及び肝) 摂取歴を有していた (Table 4)。このうち症例 1, 6 はいずれも札幌市近郊の N 町在住で知人同士であった。この 2 例においては発症前 3 カ月以内に食事を共にした事実はなかつ

Table 1 Background of the Patients Involved in Hepatitis E Epidemic in Sapporo Area, 2009

Number of patients		11
Male Gender, n		8 (73%)
Age, years		52 (34-65)
BMI, kg/m ²		24.2 (19.7-33.6)
Place of residence	Sapporo City	8 (73%)
	Chuoh Ward	2 (18%)
	Kita Ward	2 (18%)
	Teine Ward	1 (9%)
	Toyohira Ward	1 (9%)
	Shiroishi Ward	1 (9%)
	Higashi Ward	1 (9%)
	N Town	2 (18%)
	K City	1 (9%)
Alcohol overconsumption		1 (9%)
Underlying disease	Hyperlipdemia	2 (18%)
	Fatty liver	2 (18%)
	Hyperuricemia	1 (9%)
	Hypertension	1 (9%)
History of overseas travel		1 (9%)
Medicine intake		4 (36%)
Health food intake		1 (9%)

Number of patients or the median value with a range in parentheses are shown.

Overconsumption of alcohol is defined as the intake of 70 g or more ethanol per day over 5 years.

たが、2009年8月下旬、症例1が某焼肉店でブタ内臓肉を喫食した翌日に症例6が同一店舗で知人らと会食していたことが聞き取り調査により判明した。そこで、おのおのの食事会に同席した家族、友人など30名について同意の上で、HEV感染の検索を行ったところ、症例6に隣席しブタ内臓肉を摂取したVolunteer 30から、会食して約2カ月が経過した10月27日に採取した血液でIgM、IgG HEV抗体陽性、同IgA陰性が確認された (Table 5a)。

HEV感染11例のうち2例は、職業上食肉に接触する機会が存在した (Table 4)。症例5からの聴取では感染推定期間におけるブタ内臓肉摂取歴はみいだせなかったが、患者が自営する焼き鳥店では2009年春からブタレバーの調理を開始していた。症例8は調理師であり、日常的に生肉に接触する機会を有した。同意の上で症例8の妻、同居する両親の3名に対してHEV感染指標を検討したところ、妻 (Volunteer 31) がHEV RNA、抗HEV IgA陰性、抗HEV IgM・IgG陽性を示した

(Table 5b)。妻を含む同居家族3名には明らかなブタ内臓肉摂取歴はなかった。妻は自覚症状を示さず、後の血液検査で3名は肝障害を認めなかった。

考 察

E型肝炎はアジア、アフリカの熱帯、亜熱帯地域に固有の風土病的急性肝炎と認識され、日常的に孤発例が認められ、時に流行性肝炎が発生する²⁾¹⁰⁾¹¹⁾。一方、近年、非流行地域である先進工業国からも国内感染E型肝炎が報告され、成因HEV株は流行地域とは異なる固有の遺伝子型に属することが明らかとされた^{12)~14)}。非侵淫地域である欧米や日本では、HEVの主要な感染経路として人獣共通感染を背景とした食肉摂取が想定されており、症例数の限られた集団感染が少数事例のみ報告されている⁴⁾⁵⁾⁷⁾¹⁵⁾。発展途上国においてHEV水系感染が拡大した結果として流行性肝炎が集団発生するのは異なり、先進工業国におけるE型肝炎はいずれも孤発例であり¹⁾¹²⁾¹³⁾、特定地域における流行の報

Table 2 Clinical Features and Outcomes in Small Epidemic

a

Case	Gender/Age	Symptoms	Category of Disease	Hospitalization (days)	Outcome
1.	M/52	Fatigue, Appetite loss, Icterus	ASH	78	Alive
2.	M/42	Fever, Stomach discomfort	Self limited	11	Alive
3.	M/37	Fever, Fatigue, Appetite loss	Self limited	11	Alive
4.	F/54	None	Self limited	9	Alive
5.	F/59	Fatigue, Appetite loss, Nausea	Self limited	51	Alive
6.	M/50	Fatigue, Appetite loss, Nausea	Self limited	15	Alive
7.	M/57	Fatigue, Appetite loss, Nausea	Self limited	28	Alive
8.	M/35	Fever, Fatigue	Self limited	11	Alive
9.	M/46	Icterus	Self limited	20	Alive
10.	F/65	Fatigue, Appetite loss, Nausea	Self limited	19	Alive
11.	M/53	Stomach discomfort, Icterus	Self limited	18	Alive

Abbreviations: M, male; F, female; ASH, acute severe hepatitis, defined to show nadir prothrombin time index less than 40%.

b

Case	AST (IU/L)		ALT (IU/L)		Total bilirubin (mg/dl)		Nadir PT (%)	2-5AS (pmol/dl)	Treatment
	Initial visit	Peak	Initial visit	Peak	Initial visit	Peak			
1.	184	184	1104	1104	14.2	32.1	26	60	SNMC, UDCA, CyA
2.	1711	1711	4880	4880	4.2	4.5	68		SNMC, UDCA
3.	1772	1772	2096	2096	2.7	2.7	102		SNMC
4.	33	1970	29	2238	0.5	1.0	66	103	SNMC
5.	791	791	1107	1107	14.4	14.4	51		SNMC, UDCA
6.	599	619	1316	1316	16.4	18.4	41	84	mPSL, CyA
7.	357	357	1305	1305	0.8	0.8	103	183	SNMC
8.	3683	10716	3294	6914	2.6	8.2	42		FFP
9.	942	942	2651	2651	12.8	12.8	68	315	SNMC, Tathion
10.	6403	6403	6688	6688	5.0	5.7	62	1000	SNMC
11.	1878	1878	2859	2859	10.1	10.1	85	207	SNMC, Tathion

Abbreviations: PT, prothrombin time; 2-5 AS, 2'-5' oligoadenylate synthetase; SNMC, Stronger Neo-Minophagen C; UDCA, ursodeoxycholic acid; mPSL, methylprednisolone; CyA, cyclosporine A; FFP, fresh frozen plasma

告はない。北海道は日本国内における HEV 高侵淫地域とされており³⁾¹⁶⁾、人獣共通感染を背景としたブタ内臓肉の摂取が主たる感染経路と想定されるが、例外⁶⁾⁷⁾を除けば症例は孤発例に限られていた。

2009 年 9 月下旬から 10 月にかけて道 E 研が観察した E 型肝炎小流行は、以上の理解に対しその変更を迫る事例と考えられるため、その全貌について詳細な検討を試みた。

2009 年秋に道 E 研が遭遇した 11 例は、広域な札幌圏において 9 月下旬から 10 月末にかけて連続的且つ非集団的に発症していた。これら 11 例から分離された HEV

株に対して改めて遺伝子疫学的解析を行い、本小流行が HEV genotype 4 の単一系統株による感染に起因することを再度確認した。本 HEV 株は、2004、2006 年に集団感染からの分離が確認された札幌地域の孤発例から分離された Sapporo strain に近接するも、異なった cluster を形成したため、これらと区別する意味で New Sapporo strain と命名した (Fig. 1)。

本小流行では年齢中央値が 52 歳で男性が 8 例 (73%) であり、既報¹⁷⁾の如く中高年男性優位であった (Table 1)。11 例中 1 例 (Table 2. 症例 9) のみ発症 6 カ月前に韓国への渡航歴を有した。韓国は日本に比して住民

Table 3 Infection Markers of HEV

Case	Genotype	Anti HEV					
		IgA	OD	IgM	OD	IgG	OD
1.	4	+	2.947	+	2.911	+	>3.000
2.	4	+	2.373	+	2.817	+	1.555
3.	4	+	>3.000	+	>3.000	+	1.884
4.	4	+	1.842	+	>3.000	+	2.803
5.	4	+	>3.000	+	1.976	+	>3.000
6.	4	+	2.526	+	>3.000	+	2.442
7.	4	+	2.500	+	1.705	+	2.359
8.	4	-	0.068	+	0.466	+	0.456
9.	4	+	0.971	+	1.597	+	>3.000
10.	4	+	>3.000	+	1.583	+	0.303
11.	4	+	2.277	+	1.412	+	1.530

The cut-off in IgA, IgM, and IgG class anti-HEV is 0.642, 0.440, and 0.175, respectively.

の抗 HEV IgG 陽性率が高い可能性が指摘されており¹⁸⁾, 近年 genotype 4 による国内発症 E 型肝炎症例も報告されている¹⁹⁾ため, 渡航中に罹患した可能性が否定できるものではない。しかし, HEV 感染潜伏期間は 2-8 週とされており²⁰⁾²¹⁾, 症例 9 は免疫抑制下の慢性 E 型肝炎²²⁾²³⁾とは考えにくく, 自然軽快した臨床経過を考慮すると, 本小流行に含めることに問題はないと考える。また, 薬剤, 健康食品による HEV 感染は報告がない。

血液検査成績では総ビリルビン値は初診時で 5 mg/dl 以上のいわゆる顕性黄疸を示した症例が 7 例 (64%) 存在した。肝障害と黄疸が遷延した症例 1 及び重症化が危惧され methylprednisolone のパルス療法などで治療介入した症例 6 を除くと, AST, ALT 値は速やかに改善したため, 初診後に黄疸が増悪した症例は認められなかった。また, 初診時の AST, ALT 値がそのまま最高値となった症例が 8 例 (73%) 存在し, 医療機関を受診する時期には既に AST, ALT, 総ビリルビン値が上昇しているという過去の検討²⁴⁾とほぼ同様の結果が得られた。ウイルス感染に伴い細胞内に誘導される酵素である 2-5 AS については検討し得た 7 例のうち 5 例 (71%) で 100 pmol/dl 以上の高値を示した。2-5 AS は様々な急性ウイルス感染症で高値を示すことが知られている²⁵⁾²⁶⁾が, E 型肝炎でも同様であることが示された。

E 型肝炎の重症化には高齢男性であること, 肝臓病や生活習慣病などの基礎疾患が存在すること, ウイルスの遺伝子型が 4 型であることが指摘されている³⁾²⁷⁾。

本小流行では年齢の中央値は 52 歳で全例が遺伝子型 4 型を示した。唯一の重症化例は, 年齢は中央値と同様 52 歳であったが, 宿主因子として高度の肥満と脂肪肝を認めた。坪内らは E 型肝炎を発症した 58 歳の男性例で発症 4 週, 16 週で肝生検を行い, 非アルコール性脂肪性肝炎 (Non-alcoholic steatohepatitis, NASH) による炎症所見の増悪, 線維化の進行を確認し, NASH を背景に E 型肝炎が重症化, 遷延化した可能性を論じている²⁸⁾。本重症化例では組織検査が行われていないので推測の域をでないが, 線維化を伴う非アルコール性脂肪性肝疾患が背景肝病変として存在し, 病態の悪化に寄与した可能性は否定できない。ウイルス側の重症化因子としては, 遺伝子型 4 以外にも遺伝子配列や遺伝子変異が重症化に関与するという報告^{29)~31)}もあり, 今後の検討課題である。

重症化した症例 1 では cyclosporin A の持続静注が試みられ, プロトロンビン活性が 40% 台まで低下し, 重症型への進展が懸念された症例 6 では cyclosporine A, methylprednisolone が投与された。2 例とも更なる病状の増悪を認めず, 症例 1 では入院期間が 78 日と長期に及んだものの軽快退院した。E 型肝炎重症例に対する至適治療法には今なお定まったものがない。HEV RNA の定量系を用い, 症例の臨床経過に応じた臨床的ウイルス学的検討を基礎として抗 HEV 治療薬及び一時的な免疫抑制療法の有用性を検討する必要がある。

日本赤十字北海道血液センターでは献血者に対する HEV スクリーニングを 2005 年より開始した。献血時

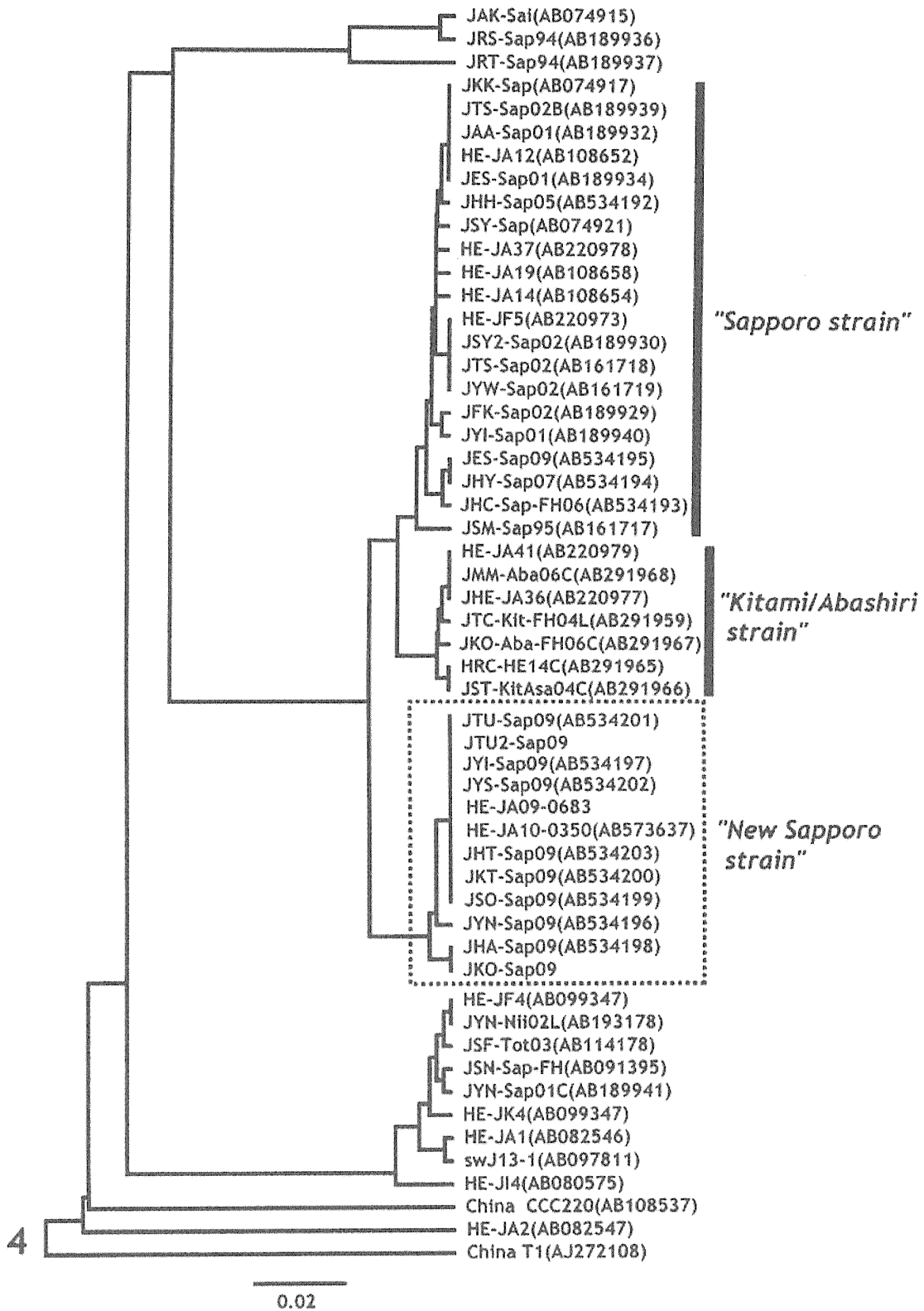


Fig. 1 Phylogenetic tree showing the partial nucleotide sequences of the ORF1 region (326nt) of hepatitis E virus in 55 isolates by unweighted pair-grouping method with arithmetic means. HEV sequences isolated from a series of 11 patients segregated to a very compact cluster, New Sapporo strain, suggesting a single-source epidemic.

Moreover, they are closely related to the Sapporo strain or the Kitami/Abashiri strain, but caused severe hepatitis in Kitami and Abashiri areas far from Sapporo in 2004.

Table 4 The Background of HEV Infection in Small Epidemic

Case	Place of residence	Date of Onset	Occupation	Pig liver and/or intestine		
				Intake	Time	Place
1.	N Town	Middle of Sept.	Owener of general store	Yes	End of Aug.	Barbecue restaurant
2.	Chuoh Ward ^a	20 Sept.	Office worker	Yes	End of Aug.	Tavern
3.	Kita Ward ^a	23 Sept.	Unknouwn	Yes	Unknouwn	Unknouwn
4.	TeineWard ^a	24 Sept.	Care worker	No		
5.	ToyohiraWard ^a	25 Sept.	Owner of "Yakitori" restaurant	No		
6.	N Town	25 Sept.	Confectioner	Yes	End of Aug.	Barbecue restaurant
7.	Kita Ward ^a	25 Sept.	Office worker	No		
8.	K City	3 Oct.	Cook	No		
9.	Shiroishi Ward ^a	5 Oct.	Office worker	No		
10.	Higashi Ward ^a	10 Oct.	Housewife	No		
11.	Chuou Ward ^a	27 Oct.	Office worker	Yes	End of Sept.	Barbecue restaurant

^a: All 6 Wards belong to Sapporo City

Abbreviations: Aug., August; Sept., September; Oct., October

HEV 陽性を示した献血者については道 E 研関連医療施設へ紹介するシステムが構築されており, HEV 感染早期から E 型肝炎終了までの病態観察と HEV 感染経路の解明が試みられている. 2009 年には遺伝子増幅検査で献血者 26 例が HEV RNA 陽性を示し, そのうち遺伝子型 4 型が 4 例で検出された³²⁾. この 4 例中 1 例が Table 2a の症例 4 に該当した. 道血液センターと道 E 研による共同事業が HEV 感染者の早期の医療機関への受診を促し, さらに本小流行の 1 例を拾い上げたものと考えられた.

日本国内における主要な HEV 伝搬様式は人獣共通感染を背景にすると推測されるが具体的な感染経路には不明な点が多い. 2004 年北海道北見市ではブタ内臓肉を共に摂取した家族から同一株による HEV 感染が 2 例発症し, うち 1 例は劇症肝炎で死亡したことが報告された⁶⁾⁷⁾. 北海道内で市販されているブタ生レバーに対し PCR 法により HEV RNA の検出を試みたところ, 363 個中 7 個 (1.9%) で陽性を示したとされている³³⁾. 全国の養豚場における HEV 感染の検討では, 半数以上で HEV 抗体が陽性を示し, HEV 感染が国内でまん延している事実が明らかとされた³⁴⁾. 本小流行ではブタ内臓肉摂取歴は 11 例中 5 例 (45%) にとどまった. 患者の記憶によればブタ内臓肉摂取から発症までの期間は 2~9 週 (平均 6 週) と推測され, 摂取場所は焼肉店, 居酒屋などであった. また, 症例 5 では明らかなブタ

内臓肉摂取歴を認めないが, 自営焼鳥店で約半年前からブタレバーの調理を開始したという経緯よりブタ内臓肉への曝露が推定され感染リスクを有すると考えられた.

阿部らの全国集計では, HEV 感染 216 例に対して感染経路が検討されたが, 人獣共通感染を背景とした食肉摂取経路が 68 例 (31%) であり 125 例 (58%) の症例は感染経路不明であった³⁾. 本小流行においても同様に 6 例 (55%) で感染源は不明であり, 本小流行全体に共通する感染源, 感染契機を特定するに至らなかった. しかしながら一部の症例においては, 詳細な病歴聴取と患者に同席した会食者における HEV 感染指標の検討が試みられた.

前述のように N 町在住の 2 例 (症例 1, 6) が同一の飲食店で別々に会食したことが判明したが, 1 名で直近の HEV 感染が明らかになり, 症例 6 と同卓で会食した際に感染した可能性が高いと考えられた. 他方, 症例 8 は, 明らかなブタ内臓肉摂取歴を認めないものの, 生の食肉を職業的に扱う調理師であることから当初は職場での感染が疑われた. しかし, 家族に対する詳細な調査と HEV 感染指標に関する血液検査にて妻の最近の HEV 感染が明らかとなり, 家庭内感染の可能性がより高いと判断された.

発症前を遡ること 2-8 週間の感染潜伏期における食事内容の記憶が不正確となる可能性は否定できない. 感

Table 5a Retrospective Research for HEV Infection among the Individuals Dined with Case 1 or 6

Volunteer	Gender/Age	Date of blood Sampling in 2009	Anti-HEV						HEV RNA
			IgA	OD	IgM	OD	IgG	OD	
1	F/52	Oct. 24	-	0.025	-	0.025	-	0.030	-
2	F/27	Oct. 24	-	0.023	-	0.047	-	0.036	-
3	M/53	Oct. 15	-	0.028	-	0.025	-	0.030	-
4	F/79	Oct. 15	-	0.082	-	0.030	-	0.032	-
5	M/81	Oct. 15	-	0.029	-	0.032	-	0.028	-
6	F/46	Oct. 17	-	0.022	-	0.027	-	0.036	-
7	F/24	Oct. 17	-	0.027	-	0.048	-	0.028	-
8	M/21	Oct. 17	-	0.033	-	0.030	-	0.027	-
9	M/20	Oct. 17	-	0.036	-	0.036	-	0.052	-
10	F/23	Oct. 17	-	0.050	-	0.032	-	0.045	-
11	M/79	Oct. 19	-	0.038	-	0.029	+	1.604	-
12	F/51	Oct. 19	-	0.035	-	0.042	-	0.040	-
13	M/51	Oct. 19	-	0.026	-	0.037	-	0.030	-
14	F/57	Oct. 19	-	0.027	-	0.033	-	0.017	-
15	F/76	Oct. 19	-	0.028	-	0.024	-	0.038	-
16	M/52	Oct. 19	-	0.029	-	0.112	-	0.016	-
17	M/54	Oct. 19	-	0.048	-	0.047	-	0.023	-
18	F/55	Oct. 19	-	0.036	-	0.081	-	0.028	-
19	M/48	Oct. 19	-	0.035	-	0.044	-	0.030	-
20	M/56	Oct. 19	-	0.027	-	0.027	-	0.072	-
21	M/19	Oct. 19	-	0.023	-	0.067	-	0.036	-
22	F/50	Oct. 19	-	0.035	-	0.058	-	0.027	-
23	M/42	Oct. 20	-	0.037	-	0.038	+	0.648	-
24	M/53	Oct. 20	-	0.024	-	0.035	-	0.015	-
25	F/59	Oct. 20	-	0.036	-	0.025	-	0.054	-
26	M/57	Oct. 21	-	0.032	-	0.031	-	0.046	-
27	F/50	Oct. 21	-	0.027	-	0.141	-	0.023	-
28	F/51	Oct. 22	-	0.028	-	0.027	-	0.040	-
29	M/25	Oct. 26	-	0.037	-	0.032	-	0.030	-
30	F/52	Oct. 27	-	0.119	+	1.009	+	2.700	-

Table 5b Retrospective Research for HEV Infection among the Individuals Dined with Case 8

Volunteer	Gender/Age	Date of blood Sampling in 2009	Anti-HEV						HEV RNA
			IgA	OD	IgM	OD	IgG	OD	
31	F/26	Nov. 6	-	0.123	+	0.600	+	2.864	-
32	F/61	Nov. 17	-	0.055	-	0.060	-	0.057	-
33	M/63	Nov. 21	-	0.044	-	0.096	-	0.027	-

Volunteer 31 was the wife of case 8 patient, and volunteer 32 and 33 were parents of him.

Abbreviations: Nov, November

染機会に対する先入観を捨て、できるだけ発症早期に患者とその会食者から病歴を聴取し、さらに血清学的

ウイルス学的検討を進めることがブタ内臓肉以外の感染源の解明に重要と考えられる。

本小流行では、2009年9月下旬から約1カ月間に11名の患者が札幌市6行政区と札幌中心部からおよそ20~30km離れたN町、K市で同時多発的に発生した。2009年の住民登録数及び住民基本台帳（札幌市のみ人口動態から引用）によると当該地域の人口規模は約137万人と推計され、小流行の背景人口は大規模であり居住範囲は広域に及ぶ。大都市とその近郊で発生した本小流行には、食材やその加工品を高い鮮度で瞬時且つ広範囲に供給する発達した食品流通システムが背景に存在すると思われる。このような現代的食品供給システムの存在が、患者の連続的発生に関与し、一方ではHEV感染源の特定をさらに困難なものにしていると考えられる。本小流行は、E型肝炎流行地域におけるそれとは異なり、高度の衛生状態が維持された環境で発生する先進国型HEV流行の一類型を示唆していると思われる。しかしながら、E型肝炎多発地域とされる北海道においても広域の小流行の事例は未見であった。地域限定的なHEV感染支援システムとして発足した道E研の活動が、期せずして地域包括的且つ一元的なHEV感染監視網として機能したため、本小流行が捕捉解明されるに至ったものと思慮される。

本研究では、分離されたHEV株塩基配列に対する遺伝子系統解析により、感染機会を必ずしも共有しない複数の孤発例の背景にHEV単独系統株の伝播が存在することを証明し得た。前述した先進国型HEV流行の解析における分子疫学的手法の有用性を示した最初の事例として理解することができる。

道E研の観察結果から、小流行は2009年10月末に終息したかに思われた。しかし、2009年12月中旬に空路で北海道を訪れ、千歳、浦河、苫小牧を旅行し、その間にブタ肉を食した茨城県在住の症例が2010年1月に地元でE型急性肝炎を発症したことが報告された。該当症例から分離されたHEV株の分子疫学的検討により、症例は札幌小流行を発生させたNew Sapporo strainに北海道内で感染し、帰宅後に発症したことが明らかにされた³⁵⁾。本小流行起因HEV株が旅行者や生鮮食品を介して、北海道外へ伝播する可能性を示す事例と解釈することができる。北海道内外を問わず、E型肝炎症例に対するウイルス学的、遺伝子疫学的検討によりNew Sapporo strainに対する注意深い監視が必要である。

道E研による全北海道的前向き調査により小流行が初めて確認された。道E研が発足した2007年以前の北海道内HEV感染実態が不明である以上、本事例が小流行の最初の事例であると結論することはできない。HEV

感染源と感染経路が不明である限り地域的な感染予防は不可能であり、第2の小流行が任意の時期に再発する可能性がある。本小流行を絶後とするためには感染経路、感染源の究明と適切な予防的処置が講じられる必要がある。最低限、ヒトへの感染が確認されている生のブタ内臓肉の摂取を避けることはいうまでもない。

HEV抗体における血清学的診断の感度は、IgA型抗体98.8%、IgM型抗体97.5%と、IgA型抗体がIgM型にほぼ匹敵し特異性が高いことが報告²⁴⁾されている。飯野らは抗HEV IgA測定試薬の性能試験に対する検討³⁶⁾で、HEV RNA genotype 3, 4がそれぞれ分離されたが抗HEV IgA陰性であった2例を示し、その理由をHEV感染早期の血清であったためとしている。姜は病初期にHEV RNA陽性を認めたE型肝炎症例の検討で、抗HEV IgA、IgMは第2病日に何れも陰性、第3病日に低力価ながら陽性化しその後急増する臨床経過を示し、病初期におけるHEV感染指標の変遷について記した³⁷⁾。

本小流行では症例8と抗HEV IgM、IgG陽性の妻(volunteer 31)でIgA型抗体が共に陰性であり、症例6と会食を共にしIgM、IgG分画陽性を示したvolunteer 30でもIgA分画のみ陰性を示したが、何れも感染指標の特性を考える上で興味深い(Table 3, Table 5b)。症例8は初診時にHEV RNA陽性、抗HEV IgA陰性を示しASTは3683 U/Lであったが、第2病日は10716 U/Lと著明に増加した(Table 2b)。以上の経過から、症例8では、HEV RNA陽性、抗HEV IgA陰性の血清は活動性の極めて高い肝炎の病初期に採取されたと判断され、飯野、姜らの所見に矛盾しない。HEV感染診断に各種感染指標を用いる際は、その特性を考慮し適切に使用する必要性が示唆された。

症例6とその会食者(volunteer 30)は8月末に食事をともにし、症例は9月末に発症、会食者は10月27日に採取した血液中の抗HEV IgA分画陰性を示した。一方、症例8は10月3日に発症し、妻(volunteer 31)は11月8日の血液で抗HEV IgA陰性を示した。Volunteer 30, 31ともに症例6, 8と同時期にHEVに暴露したと推測されるが、何れも症例の発症後30-35日ほど経過した時点で抗HEV IgA陰性を示した。これらvolunteer 2例でのIgA陰性の理由として、何らかの理由でIgAが陽転しなかった可能性の他に、血中にIgAが出現後時間経過と共に力価が低下した可能性が考えられた。

いずれにせよ、HEV感染の診断キットであるIgA型HEV抗体の測定が漸く保険収載されることになり、

今後は E 型急性肝炎確定症例数が増え, HEV 感染の全貌解明に資することが期待される。

結 語

道 E 研は 2009 年秋に札幌圏において重症型 1 例を含む 11 例からなる E 型急性肝炎小流行を観察した。遺伝子型 4 に属する HEV 単一系統株による流行であり, 共通した感染源・感染契機の特定には至らず, 今後の検討課題と思われた。

本論文の要旨の一部は第 46 回日本肝臓学会総会 (2010 年 5 月, 山形) で報告した。

謝辞: 本研究の一部は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」に対する厚生労働省科学研究費補助金に拠ったことを記し謝意を表するものである。

文 献

- 1) Takahashi K, Iwata K, Watanabe N, et al. Full-genome nucleotide sequence of a hepatitis E virus strain that may be indigenous to Japan. *Virology* 2001; 287: 9—12
- 2) Arankalle VA, Chadha MS, Tsarev SA, et al. Seroepidemiology of water-borne hepatitis in India and evidence for a third enterically-transmitted hepatitis agent. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 3428—3432
- 3) 阿部俊紀, 相川達也, 赤羽賢浩, 他. 本邦における E 型肝炎ウイルス感染の統計学的・疫学的・ウイルス学的特徴: 全国集計 254 例に基づく解析. *肝臓* 2006; 47: 384—391
- 4) Tei S, Kitajima N, Takahashi K, et al. Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings. *Lancet* 2003; 362: 371—373
- 5) Tamada Y, Yano K, Yatsushashi H, et al. Consumption of wild bear linked to cases of hepatitis E. *J Hepatol* 2004; 40: 869—870
- 6) 加藤 将, 種市幸二, 松林圭二. 焼肉店での会食後に発生した E 型肝炎ウイルス集団感染: うち 1 例は劇症肝炎で死亡. *肝臓* 2004; 45: 688
- 7) Matsubayashi K, Kang JH, Sakata H, et al. A case of transfusion-transmitted hepatitis E caused by blood from a donor infected with hepatitis E virus via zoonotic food-borne route. *Transfusion* 2008; 48: 1368—1375
- 8) 三代俊治. 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. 「厚生労働省肝炎等克服緊急対策事業平成 18 年度総括研究報告書」2007. p5—9
- 9) 姜 貞憲, 松居剛志, 佐賀啓良, 他. genotype 4 単一系統株による札幌圏内 E 型肝炎小流行. *肝臓* 2010; 51: 51—53
- 10) Balayan MS, Andjaparidze AG, Savinskaya SS, et al. Evidence for a virus in non-A, non-B hepatitis transmitted via the fecal-oral route. *Intervirology* 1983; 20: 23—31
- 11) Purcell RH. Hepatitis E virus. *In: Fields Virology*, Edited by BN Fields, DM Knipe, PM Howley, et al, 3rd ed, Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1996, p2831—2843
- 12) Kwo P, Schlauder GG, Carpenter HA, et al. Acute hepatitis E by a new isolate acquired in the United States. *Mayo Clin Proc* 1997; 72: 1133—1136
- 13) Zanetti AR, Schlauder GG, Romanò L, et al. Identification of a novel variant of hepatitis E virus in Italy. *J Med Virol* 1999; 57: 356—360
- 14) Worm HC, Schlauder GG, Wurzer H, et al. Identification of a novel variant of hepatitis E virus in Austria: sequence, phylogenetic and serological analysis. *J Gen Virol* 2000; 81: 2885—2890
- 15) Matsuda H, Okada K, Takahashi K, et al. Severe hepatitis E virus infection after ingestion of uncooked liver from a wild boar. *J Infect Dis* 2003; 188: 944
- 16) Mizuo H, Suzuki K, Watanabe N, et al. Polyphyletic strains of hepatitis E virus are responsible for sporadic cases of acute hepatitis in Japan. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 3209—3218
- 17) Tanaka E, Takeda N, Li T-C, et al. Seroepidemiological study of hepatitis E virus infection in Japan using a newly developed antibody assay. *J Gastroenterol* 2001; 36: 317—321
- 18) Taniguchi M, Kim SR, Mishiro S, et al. Epidemiology of hepatitis E in northeastern China, South Korea and Japan. *J Infect* 2009; 58: 232—237
- 19) Yun H, Kim JS, Lee HJ, et al. The complete genome sequence and molecular analysis of human hepatitis E virus genotype IV identified from a Korean patient. *Arch Virol* 2010; 155: 1003—1008
- 20) Emerson SU, Purcell RH. Running Like Warrer-The

- Omnipresence of Hepatitis E. *New Engl J Med* 2004; 351: 2367—2368
- 21) Sjoegren MH, Hepatitis E. *In: Schiff's Disease of the Liver*, Edited by ER Schiff, ME Sorrel, WC Maddrey, 10th ed, Lippincott Williams & Wilkins, 2007, p 739—743
- 22) Gerolami R, Moal V, Colson P. Chronic hepatitis E with cirrhosis in a kidney-transplant. *N Engl J Med* 2008; 358: 859—860
- 23) Dalton HR, Bendall R, Keane F, et al. Persistent carriage of hepatitis E virus in patients with HIV infection. *N Engl J Med* 2009; 361: 1025—1027
- 24) Takahashi M, Kusakai S, Mizuo H, et al. 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
- 25) 杉野禮俊, 出沢 亨, 篠原邦一, 他. ウイルス感染症と 2'-5'オリゴアデニル酸合成酵素活性. *医学のあゆみ* 1983 ; 124 : 967—970
- 26) 杉野禮俊, 三谷育子, 小池通夫, 他. ウイルス感染症の早期診断における血清 2-5A 合成酵素測定の有有用性について, 2-5A RIA キットの使用経験. *小児科臨床* 1986 ; 39 : 999—1005
- 27) Mizuo H, Yazaki Y, Sugawara K, et al. Possible risk factors for the transmission of hepatitis E virus and for the severe form of hepatitis E acquired locally in Hokkaido, Japan. *J Med Virol* 2005; 76: 341—349
- 28) 坪内博仁. 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. 「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」2008, p49—50
- 29) 高橋和明, 岡田勝夫, 姜 貞憲, 他. 重症肝炎との関連性濃厚な E 型肝炎ウイルス genotype IV 内の広域分布型一系統: 鳥取, 新潟, 札幌から得られた 3 本の完全長および 1 本の準完全長 HEV 塩基配列. *肝臓* 2005 ; 46 : 389—390
- 30) Inoue J, Nishizawa T, Takahashi M, et al. Analysis of the full-length genome of genotype 4 hepatitis E virus isolates from patients with fulminant or acute self-limited hepatitis E. *J Med Virol* 2006; 78: 476—484
- 31) Kamar N, Selves J, Mansuy JM, et al. Hepatitis E virus and chronic in organ-transplant recipients. *N Engl J Med* 2008; 358: 811—817
- 32) 日野 学. 北海道地区献血者集団に於ける HEV 感染の実態解明. 「厚労省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」班 分担研究報告書平成 21 年度 総括研究報告書」2009, p32—35
- 33) Yazaki Y, Mizuo H, Takahashi M, et al. Sporadic acute or fulminant hepatitis E in Hokkaido, Japan, may be food-borne, as suggested by the presence of hepatitis E virus in pig liver as food. *J Gen Virol* 2003; 84: 2351—2357
- 34) Takahashi M, Nishizawa T, Miyajima H, et al. Swine hepatitis E virus strains in Japan form four phylogenetic clusters comparable with those of Japanese isolates of human hepatitis E virus. *J Gen Virol* 2003; 84: 851—862
- 35) 相川達也, 池澤和人, 間宮 孝, 他. 札幌圏内小流行 4 型 HEV 株が検出された茨城県内 E 型肝炎の 1 例. *肝臓* 2010 ; 51 : 579—581
- 36) 飯野四郎, 狩野吉康, 前久保博士, 他. 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」の有有用性の検討. *医学と薬学* 2005 ; 53 : 461—469
- 37) 姜 貞憲. E 型肝炎の診断と治療. *日本臨床* 2011 ; 69 (Supple 4) : 588—592

Small epidemic of hepatitis E in the fall 2009 in Sapporo, Hokkaido

Itaru Ozeki^{1)*}, Jong-Hon Kang²⁾, Hitoshi Mizuo³⁾, Jun Akaike¹⁾, Takumi Ohmura¹⁾, Yoshiyasu Karino¹⁾, Takeshi Matsui²⁾, Akiyoshi Saga⁴⁾, Masao Watanabe⁵⁾, Yohsuke Miura⁶⁾, Toshiroh Kura⁷⁾, Izumi Tsunematsu⁸⁾, Keiji Matsubayashi⁹⁾, Hidekatsu Sakata⁹⁾, Hiroaki Okamoto¹⁰⁾, Kazuaki Takahashi¹¹⁾, Masahiro Arai¹¹⁾

In Sapporo and its surrounding areas, we encountered 11 successive cases of acute sporadic hepatitis E between late September and late October in 2009. Surprisingly, the HEV strains, obtained from the patients, segregated to a compact cluster in genotype 4, suggesting that the epidemic was caused by the propagation of single source strain. In addition, these HEV strains were closely related not only to "Sapporo strain" previously reported, but also to "Kitami/Abashiri strain", which caused acute hepatitis several years ago in Kitami and Abashiri regions, located far away from Sapporo. Despite intensive surveillance by the Hokkaido Study Group for Hepatitis E, neither a common infection source nor precipitating event for epidemic could be identified. The advanced system for food distribution may have spread the HEV strains, thereby complicating identification of the source of HEV infection. "New Sapporo strains" should be carefully monitored in the future.

Key words: acute hepatitis E hepatitis E virus phylogenetic analysis genotypes
epidemic

Kanzo 2012; 53: 78—89

-
- 1) Department of Gastroenterology, Sapporo Kosei General Hospital
 - 2) Center for Gastroenterology, Teine Keijinkai Hospital
 - 3) Department of Internal Medicine, Kin-ikyuu Chuoh Hospital
 - 4) Department of Gastroenterology, Aiiku Hospital
 - 5) Department of Gastroenterology, JR Sapporo Hospital
 - 6) Department of Gastroenterology, Megumino Hospital
 - 7) Department of Internal Medicine, Naganuma Municipal Hospital
 - 8) Department of Internal Medicine, Touei Hospital
 - 9) Hokkaido Red Cross Blood Center
 - 10) Division of Virology, Department of Infection and Immunity, Jichi Medical University School of Medicine
 - 11) Department of Medical Sciences, Toshiba General Hospital
- *Corresponding author: 3767759101@jcom.home.ne.jp