

201227028A

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

経口感染によるウイルス性肝炎(A型及びE型)の感染防止、
病態解明、遺伝的多様性及び治療に関する研究

平成24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 岡本宏明

平成25(2013)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

経口感染によるウイルス性肝炎(A型及びE型)の感染防止、
病態解明、遺伝的多様性及び治療に関する研究

平成24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 岡本宏明

平成25(2013)年3月

目 次

I. 総括研究報告			
研究代表者報告：平成 24 年度の研究成果の纏め	(岡本 宏明)	-----	1
II. 分担研究報告			
1. 急性肝炎の疫学調査および HAV 遺伝子型解析	(八橋 弘)	-----	11
2. 2011 年に発症した HAV, HEV に起因する急性肝不全の実態	(中山伸朗)	-----	18
3. 日本における 2012 年の A 型肝炎の分子疫学的解析および A 型肝炎のリスクアセスメント	(石井孝司)	-----	24
4. A 型肝炎ウイルスの塩基多様性と重症化に関する研究	(横須賀 収)	-----	31
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)	-----	33
6. 北海道地区献血者集団における HEV 感染の実態解明	(日野 学)	-----	36
7. 北海道 E 型肝炎研究会の定点観測的観察による北海道内 HEV 感染動向と札幌圏 E 型肝炎小流行 2011-12	(姜 貞憲)	-----	39
8. 急性肝障害患者における HAV および HEV 感染の実態とその臨床像、ならびに肝移植症例における血清 HEV 抗体の推移	(鈴木一幸)	-----	43
9. 三重県全域における E 型肝炎発生調査 (2011 年 8 月以降)	(中野達徳)	-----	48
10. 三重県における E 型肝炎の特徴と感染源の検索について	(岡野 宏)	-----	52
11. 1)肝移植患者における E 型肝炎の感染状況の実態調査：第 1 次全国アンケート調査、2)HEV ワクチン開発研究：ブタ由来 HEV のラットへの感染実験	(大河内信弘)	-----	55
12. ニッポンザルからの HEV の分離	(李 天成)	-----	59
13. ウサギ HEV 及びラット HEV の分離・解析とヒト由来培養細胞での増殖の検討	(高橋 雅春、 岡本 宏明)	-----	63
14. 培養細胞から放出された E 型肝炎ウイルスの粒子表面に存在する膜成分の抗原性ならびに粒子放出に関する細胞内膜輸送機構の解析	(長嶋 茂雄、 岡本 宏明)	-----	66
III. 研究成果の刊行に関する一覧表		-----	69
IV. 研究成果の刊行物・別刷		-----	75

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）
経口感染によるウイルス性肝炎（A型及びE型）の感染防止、病態解明、
遺伝的多様性及び治療に関する研究
平成24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：研究成果のポイントを纏めると、A型肝炎については、1)HAVに対する感受性者が着実に増え、かつ高齢化し、大流行への進展・拡大が危惧される状況にはあるが、幸い流行はなく、患者数は低値横ばいであったこと、しかし2)ⅢA型の頻度が上昇し、国内への定着が懸念されること、3)HAV感染のリスクファクターとして外食頻度と海外旅行が指摘されること、また4)血清中のHAV粒子が脂質に覆われ、抗体によって中和されない状態で存在していること、5)IL-29(IFN λ 1)がHAV増殖及び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)E型肝炎診断薬が保険収載されたこともあり、届け出件数が例年の2倍になり、ほぼ全国から届け出があったが、人口10万人当たりの患者数は北海道(0.70)と三重県(0.65)が突出していた。北海道では4型新札幌株による小流行が再発生し、重症化が目立った。一方、三重県ではヨーロッパ型(3e型)の同一HEV株による感染例が多く認められたが、重症化例はなかったこと、2)野外飼育サルで3型HEVの感染があり、1頭のサルで約3年間の持続感染が観察されたこと、3)飼育ウサギに由来するウサギHEVもヒト培養細胞(PLC/PRF/5、A549)に於いて効率よく増殖したこと、4)感染細胞から放出されたHEV粒子の表面抗原の一つが細胞内の核周囲に存在するtrans-Golgi networkに由来すること、5)HEVが細胞質内のエンドソーム膜に出芽し、エクソソーム分泌経路を利用して細胞外に放出されること、6)HEVの感染培養系に於いて、IFN、リビリン、アマンタジンなどがそれぞれ単独で濃度依存性にHEVの増殖を抑制したことなど、病態解明、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及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 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 消化器・腎臓内科学 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 准教授
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
石井孝司 国立感染症研究所ウイルス第二部 室長
大河内信弘 筑波大学医学医療系消化器外科 教授

<研究協力者（班友）>

石田勢津子(北海道立衛生研究所)、水尾仁志、古山準一(北海道勤労者医療協会勤医協中央病院内科)、矢崎康幸(小林病院内科)、田辺利男(道東勤労者医療協会道東勤医協ねむろ医院)、後藤隆(秋田大学医学部内科学講座消化器内科学分

野・神経内科学分野(第一内科)、上野義之(山形大学医学部内科学第二講座)、二宮匡史(東北大学医学部消化器内科)、中山晴夫(いわき市立総合岩城共立病院)、相川達也、津田文男(相川内科病院)、高木均(国立病院機構高崎総合医療センター)、磯田憲夫(自治医科大学消化器・肝臓内科)、高橋雅春、長嶋茂雄、西澤勉、小林富成、吉林台(自治医科大学感染・免疫学講座ウイルス学部門)、妻神重彦(公立福生病院内科)、佐藤幸浩(かみいち総合病院内科)、清水裕子(公立陶生病院消化器内科)、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)、岡野宏(三重厚生連鈴鹿中央総合病院消化器内科)、川上万里(岡山済生会総合病院内科)

A. 研究目的

経口感染によるウイルス性肝炎(A型及びE型)の動向を調査し、感染源・感染経路を明らかにするとともに、病態解明、及び治療法の確立を目指す。A型肝炎ウイルス(HAV)及びE型肝炎ウイルス(HEV)の遺伝的多様性に関する知見を蓄積し、理解を深化させる。加えて、HAVワクチンの接種対象をより明確なものとし、普及・啓発を行うと同時に、より効果的なHEVワクチンの開発を目標とす

る。

B. 研究方法

A 型肝炎と E 型肝炎の発生動向と重症化リスク因子の調査、感染実態の調査、ヒト・動物・食品からの HAV ならびに HEV の検出と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、細胞培養系を用いた増殖機構の解明、抗ウイルス剤、ワクチン開発のための予備的検討などによる。

なお、すべての調査・研究は、個人情報保護及び「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、研究分担者及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)及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)

三重県に於ける HEV 感染:人口 10 万人あたりの E 型肝炎患者数が北海道にほぼ匹敵する三重県に於いて、市販ブタレバーから 4.1%(8/193)の頻度で HEV RNA(いずれも genotype 3)を検出した。ブタレバーから分離された 8 株の HEV のうちの 2 株と 99%以上の塩基配列の類似性を示す HEV 株が同県内の E 型肝炎患者 2 名から分離された。これら 2 名の患者は発症前にブタレバーを食べた既往を有していなかったが、ブタ由来 HEV によって他の食材が汚染されるなど、ブタが大元の感染源である可能性も考えられ、感染予防対策の確立に向け、今後も注意深く感染源・感染経路を調査していくことが重要であると思われた。

ウサギ HEV とラット HEV:中国内モンゴル自治区の飼育ウサギ(4 ヶ月齢)の約 70%から HEV RNA が検出された。HEV 高力価陽性ウサギの肝臓 homogenate から分離されたウサギ HEV は A549 細胞及び PLC/PRF/5 細胞で効率よく増殖したことから、ウサギからヒトへのウサギ HEV の感染の可能性が強く示唆された。一方、インドネシア・ロンボク島の野生ラットでも約 15%のラットからラット HEV が検出された。ラット HEV はヒト由来の A549 細胞では増殖せず、ラットでのヒト HEV の感染も認められなかった。以上の結果から、ブタ、イノシシ、シカ、マングースに加え、ウサギもヒトへの HEV 感染の感染源となりうることが示唆された。

膜に覆われた HEV 粒子の表面抗原の由来:培養

上清中の HEV 粒子を精製し、それを免疫原としてマウスモノクローナル抗体(TA1708 抗体)を作製した。細胞小器官に対する各種抗体との 2 重染色による蛍光抗体法等によって検討した結果、感染細胞から放出された HEV 粒子表面抗原の 1 つが細胞内の核周囲に存在する trans-Golgi network に由来することが明らかになった。

細胞内膜輸送機構と HEV の放出:各種薬剤及び siRNA を用いた検討によって、HEV は細胞質内のエンドソーム膜に出芽し、エクソソーム分泌経路を利用して細胞外に放出されることが示唆された。今後は、ウイルス放出とエクソソーム分泌経路の関連性を明らかにする予定である。HEV の放出機構が明らかとなれば、抗ウイルス剤の開発など特異的な治療法の確立に向けた新たな研究基盤を構築できるものと期待される。

培養系に於ける HEV に対する抗ウイルス薬の検討:HEV の感染培養系に於いて、IFN、リバビリン、及びアマンタジンはそれぞれ単独で HEV の増殖を濃度依存性に抑制した。IFN とリバビリンの併用はより効果的であった。

研究分担者(八橋弘)

国立病院急性肝炎共同研究班参加 33 施設による全国調査(1980 年~2011 年):A 型肝炎は 2007 年以降ほぼ低値横ばいの状態であるが、HAV subgenotype は、2000 年~2005 年の 6 年間では I A 型 99.1%、I B 型 0.9%であったのに対し、2006 年~2011 年の 6 年間では I A 型 81.6%、III A 型 19.4%で、III A 型の頻度は有意に上昇した。非 ABC 型肝炎(輸血後発生は除く)例の 4.7%に相当する 59 例が E 型肝炎と診断された。E 型肝炎の発生数は、2000 年以前は毎年非 ABC 型急性肝炎の 10%未満の頻度であったが、2000 年以降はコンスタントに 10%内外を占める頻度で発生している。59 例中 2 例が重症化。国内感染例の 96.8%は 3 型であった。

研究分担者(中山伸朗)

2011 年に発症した急性肝不全の全国調査:HAV に起因する急性肝不全は、2010 年とほぼ同数の 15 例が首都圏を中心に登録され、急性肝不全の 5.2%(15/289)、劇症肝炎の成因に起因する急性肝不全症例の 6.3%(15/237)を占めていた。非昏睡型 12 例に死亡例はなかったが、急性型の 3 例のうち、高齢発症の 1 例が合併症を併発して死亡した。HEV に起因する急性肝不全症例においても 5 例が登録され、全員が男性で、内科的治療によって救命された。昏睡型は、急性型の 2 例でどちらも北海道の症例であった。

1998-2010 年の 13 年間に発症し、全国調査に登録された A 型劇症肝炎 64 症例の解析:内科的治療

HAV

抗ウイルス剤の開発
(横須賀班員)

2012年のHAV分離株の解析
(石井班員)

HAV感染のリスクファクター
(石井班員)

A型急性肝炎の動向
(八橋班員)

血清中HAV粒子の性状
(新井班員)

IFN λ 1 (IL-29) はHAV増殖及びIRES依存性翻訳を抑制することによりHAVに対する抗ウイルス効果を示した。

大部分はIA型であったが、2010年の広域流行時に多数検出された東南アジアからの流入株(IA-2)は検出されなかった。IIIA型は引き続き検出され、土着化が懸念された。引き続き慎重な監視が必要である。

外食頻度と海外旅行がHAV感染のリスクファクターとして指摘されたことから、それらを踏まえた対策の実行が重要である。A型肝炎全数報告の徹底と聞き取り調査の充実もリスク評価に不可欠。

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):2007年以降、A型肝炎の患者数は低値横ばい。しかし、2006年以降、IIIA型の頻度が有意に増加。

血中HAV粒子の大半は、その表面が脂質に被覆され、抗原エピトープが抗体によって認識されない粒子(non-neutralizable particle)として存在していることが分かった。

HEV

感染培養系を用いた研究成果
(班長)

ブタ及びマンガースからのHEVの分離(班長、新井班員)

野外飼育サルに於けるHEV感染(李班員)

慢性HEV感染の調査
(大河内班員、鈴木班員)

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)

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)

- ・飼育ウサギから分離されたウサギHEVはヒト由来株化細胞であるA549細胞及びPLC/PRF/5細胞で効率よく増殖したことから、ウサギHEVのヒトへの感染リスクが強く示唆された。一方、野生ラットから分離されたラットHEVはA549細胞では増殖しなかった。
- ・培養上清中のHEV粒子に対するモノクローナル抗体を作製し、感染細胞から放出されたHEV粒子表面の抗原の1つが細胞内の核周囲に存在するtrans-Golgi networkに由来することを明らかにした。HEV粒子が細胞内膜輸送系を利用し、多胞体を介してexocytosisによって細胞外に放出されていることを示唆する知見を得た。
- ・感染培養系において、IFN、リバビリン、及びアマンタジンはそれぞれ単独でも濃度依存性にHEVの増殖を抑制した。

- ・三重県に於いて、市販ブタレバーから4.1%(8/193)の頻度でHEV RNA(3型)を検出(班長・岡野班員)。
- ・沖縄に於いて、マンガースから2.9%(6/209)の頻度でHEV RNA(3型)を検出(新井班員)。

京都大学霊長類研究所(犬山)の野外飼育サルコロニーに於いてHEV感染の流行が認められ、1頭のサルで3型HEVの約3年間に亘る持続感染が観察された。

今年度の調査の範囲内では、肝移植患者での慢性HEV感染は認められなかった。次年度は対象を増やし、調査する予定。

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型肝炎が非ABC肝炎の約10%(2000年以降)に相当。約3%(2/59)が重症化。約97%は3型。

- ・2009年秋に発生した札幌圏小流行の起因ウイルス(4型新札幌株)によるE型肝炎小流行が2011年12月から2012年2月までの期間に札幌を含む道央圏で再発生した。その後も6月まで同一株による孤発例が把握された。

- ・4型新札幌株によるE型肝炎症例27例のうち、13例(48%)が急性肝不全(重症型12例、劇症型1例)と診断された。

2012年1月～2012年12月の献血者に於けるHEV RNA陽性率は0.008%(23/275,923)であり、過去8年間で最も低かった。土着と看做される3型株が大多数(91%{21/23})を占める状況は例年と同様であった。

- ・2012年1月から10月までの急性肝障害例について、成因を調査し、E型肝炎3例を見出した(A型肝炎はゼロ)。
- ・IgA-HEV抗体が陽性でありながら、経過中IgM-HEV抗体が陰性のままのE型肝炎症例を経験した。

図1. 平成24年度の研究成果の概要

の予後に影響を与える基礎疾患に関して検討した結果、A 型劇症肝炎では糖尿病を有する症例で有意に予後が不良であることが示された。この結果により、糖尿病を有する高齢者には、A 型肝炎ワクチンの接種が推奨される。

研究分担者(石井孝司)

A 型肝炎患者の動向：わが国での 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、最終的には年間 347 人の届け出数に達した。2010 年、2011 年に引き続き全国の地方衛生研究所と共同で、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結果、2010 年の流行の主要な原因となった東南アジア由来と考えられる株 (IA-2) による発生は 2012 年には見られなかった。また、genotype IIIA は 2012 年にも検出され、わが国への定着が懸念された。

HAV 感染のリスクファクター：外食頻度と海外旅行が HAV 感染のリスクファクターとして指摘された。外食については、食品取扱従事者へのより一層の衛生管理指導、流行地からの輸入食材の取扱い、A 型肝炎に関する知識、ワクチン等予防法の情報提供が必要である。海外旅行については、HAV 常在地及び流行地域の迅速な把握と疾病情報、予防法の提供、渡航前に余裕を持ってワクチン接種を完了できるよう、旅行計画そのものにワクチン接種を組み込むような情報発信が望ましい。また、A 型肝炎全数報告の徹底と聞き取り調査の充実もリスクアセスメントには不可欠である。

研究分担者(横須賀收)

次世代シーケンサーを用いた HAV ゲノム解析：2011 年に千葉市内ですし店が感染源となった A 型肝炎の集団発生症例から得られた血清中 HAV の 5'非翻訳領域の塩基多様性と重症化の関連の有無について、次世代シーケンサー Roche/454 GS Junior sequencer を用いて比較検討した。重症型と非重症型において明らかな差異は見られなかった。しかしこの方法は集団感染例と非集団感染例の鑑別に役立つ可能性が示唆された。

HAV に対する抗ウイルス薬の検討：インターフェロン $\lambda 1$ (IFN $\lambda 1$ =IL-29) の HAV 増殖に関する影響に関して、HAV レプリコン及び HAV を用いてそれぞれ検討した。IFN $\lambda 1$ は HAV レプリコン及び HAV 増殖の抑制に有用であった。

研究分担者(新井雅裕)

動物からの HEV ゲノム解析：沖縄の野生マング

ース 209 頭中の 6 頭から HEV RNA を採取し遺伝子解析を行なったところ genotype 3a と 3b の 2 群に別れ、そのうち 3b に属した株は既報の沖縄マングース株及び沖縄ブタ株と近似していた。これにより、沖縄に於ける HEV 感染の重要な reservoir animals のひとつがマングースである可能性が更に強まった。

臨床例からの HEV ウイルスゲノム解析：中国株に類似する genotype 4 が山口県の症例から見つかった。

血清中 HAV の物理化学的性状解析：塩化セシウム密度勾配遠心、免疫沈降、レクチン吸着、界面活性剤処理等により、血中の HAV 粒子の大半はその表面が脂質に被覆され、抗原エпитープが抗体によって認識されない粒子 (non-neutralizable particle) として存在していることが分かった。

研究分担者(日野学)

北海道地区献血者における HEV NAT：北海道において 2012 年 1 月から 12 月にかけて血清学的感染症スクリーニング陰性かつ ALT < 61 IU/L を示した献血者 275,923 名を対象に従来通りの方法により HEV RNA スクリーニングを実施した。HEV RNA 陽性者数は 23 名（男性 18 名、女性 5 名）、陽性頻度は全体で 0.008%（男性 0.010%、女性 0.005%）となり、昨年 1 年間の陽性頻度 0.013% から大きく減少し、過去 8 年間で最も低かった。例年と同様、土着株と考えられる 3 型株が大多数 (91.3%) を占めた。

ALT ≥ 500 IU/L の献血における検討：13 名中 1 名 (ALT 1149 IU/L) から 3 型の HEV が検出された。

北海道内献血者においては依然として HEV 不顕性感染が蔓延していると推察され、今後も HEV 感染動向に注目していく必要がある。

研究分担者(姜貞憲)

4 型新札幌株による E 型肝炎小流行の再発生：地域的 HEV 感染診断支援ネットワークである北海道 E 型肝炎研究会（道 E 研）における定点観測的観察により、2011 年末から 2012 年 6 月までの期間に札幌を含む道央圏で HEV 感染孤発例の連続発生を見だし 2009 年に発生した札幌圏小流行の起因ウイルス株である新札幌株による小流行の再現であることを確定した。共通の感染経路は不明であった。札幌圏では以前から E 型肝炎小流行が繰り返し発生していた可能性があり、感染源と感染経路が解明され対策が講じられなければ今後も小流行の反復は不可避と考えられた。

研究分担者(鈴木一幸)

HAV 及び HEV 感染の実態とその臨床像：北東北地区における急性肝障害患者のプロスペクティブスタディのシステムを利用し、平成 24 年度(2012 年 11 月末まで)に経験した急性肝障害例について成因を調査した。E 型急性肝炎 3 例を見出し、各例の感染経路、臨床像について検討した。なお、A 型肝炎発生例はなかった。

IgM-HEV 抗体陰性の E 型肝炎症例：IgG-HEV 抗体及び IgA-HEV 抗体が検出されながら、IgM-HEV 抗体の上昇が経過中全く認められない E 型肝炎例を経験した。

肝移植症例での HEV 感染調査：岩手医科大学附属病院で施行された肝移植症 7 例について移植前後での血清 HEV 抗体を測定し、2 例に既感染を確認したが、新規感染及び持続感染例は認められなかった。

研究分担者(大河内信弘)

肝移植症例での HEV 感染調査：日本肝移植研究会施設である 92 施設、施設会員である内科医、外科医、小児科医など 127 名に 1 次アンケートを送付した。アンケート回収率は、70/92 施設(76%)、90/127 名(70%)であった。E 型肝炎抗体検査を施行したことがあると答えたのは、6/70 施設(8.6%)であり、HEV 抗体検査で陽性反応を認めたと回答したのは 0 施設であった。HEV そのものが周知されていなかったことや、肝移植後に肝機能障害が出現しても E 型肝炎が疑われなかったことなどが原因と考えられた。

研究分担者(李天成)

ニッポンザルからの 3 型 HEV の分離：京都大学霊長類研究所(犬山)の野外飼育サルコロニーに於いて、HEV の感染状況を 6 年間(2004-2009 年)にわたって調査(年 1 回の定期健康検査)した結果、HEV の流行が認められ、自然環境下でも HEV はサルに感染・伝播しうることが分かった。1 頭のサルから連続して HEV RNA が検出され、少なくとも 3 年間(2006 年から 2009 年)HEV の感染が持続していたことが分かった。培養細胞(PLC/PRF/5)及びバニクイザルへの接種により、サル糞便由来 HEV は感染性を有することが証明された。

研究協力者(中野達徳)

三重県での HEV 感染の動向調査：三重県ではヨーロッパ型の HEV(3sp/3e 型)による E 型肝炎の発生が多いことに着目し、三重県内 19 の基幹医療施設の協力を得て三重県全域における E 型肝炎発生調査を 2011 年下半期より継続中である。13 医療施設から 57 例の原因不明の急性肝障害患者の登

録があり、これらの血清の HEV 抗体検査、HEV-RNA 検査によって 10 例が急性 E 型肝炎と判明した。症例を蓄積し、近縁ウイルスによる急性肝炎患者の共通点を分析し、感染原因、感染源を特定できるように三重県内での多施設で協力することの重要性が示唆された。

研究協力者(岡野宏)

三重県における HEV 株の特徴：三重県では 2004 年から 2012 年 7 月までの期間に発生した散発性急性 E 型肝炎症例として計 36 例が把握され、その多くは三重県北部から中部で発生していることが判明した。これら散発性 E 型肝炎症例の内、北中部の HEV 症例 17 例で遺伝子解析が行われており、これら 17 例の HEV の遺伝子型は 3 型が 15 例(内 3sp/3e 株が 11 例、3jp/3b 株が 4 例)、4 型が 2 例であった。4 型は 1 例が中国での感染例であり、残りの 1 例は愛知県内での感染例であった。一方 3 型は、9 例の 3sp/3e 株が同一クラスターに属した。集団発生例は 1 例もなく、個々の症例同士の直接の関連もなかった。また従来指摘されているイノシシやシカの肉・内臓やブタレバーの摂取歴もなく感染源は不明であった。しかしながら同一の 3sp/3e 株による孤発感染が繰り返し起こっていることから、感染源が長期に亘って継続されているものと推察された。

D. 結論

A 型肝炎について

- 1) HAV に対する感受性者の高齢化が進んでおり、高齢者における HAV 感染の重症化、流行の拡大が危惧される状況にあることは変わらないが、幸い今年度は流行例の報告はなく、A 型肝炎の患者数は低値横ばいであった。
- 2) わが国では 2010 年春に全国各地で A 型肝炎が多発し、最終的には年間 347 人の届け出数に達したが、2010 年の流行の主要な原因となった東南アジア由来と考えられる株(IA-2)による発生は 2012 年には見られなかった。一方、IIIA 型は 2012 年にも検出され、わが国への定着が懸念された。引き続き慎重な監視が重要である。
- 3) HAV 感染のリスクファクターとして外食頻度と海外旅行が指摘された。対策として、外食については、食品取扱従事者へのより一層の衛生管理指導、流行地からの輸入食材の取扱い、A 型肝炎に関する知識、ワクチン等予防法の情報提供が必要である。海外旅行については、HAV 常在地及び流行地域の迅速な把握と疾病情報、予防法の提供、渡航前に余裕を持つ

てワクチン接種を完了できるよう、旅行計画そのものにワクチン接種を組み込むような情報発信が望ましい。

- 4) A 型劇症肝炎では糖尿病を有する症例で有意に予後が不良であったことから、HAV 抗体陰性の糖尿病を有する高齢者には A 型肝炎ワクチンの接種が推奨される。
- 5) A 型肝炎に対する有効な特異的治療法の候補として、IL-29 (IFN λ 1) が有望であり、HAV IRES 活性及び HAV 増殖を抑制することを見出した。
- 6) 血清中の HAV 粒子が HEV 粒子と同様、脂質に覆われ、抗体によって中和されない状態の粒子 (non-neutralizable particle) として存在していることが明らかになった。

E 型肝炎について

- 1) 主として 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ことに起因すると思われるが、E 型肝炎の年間届け出件数が 2006-2011 年の約 2 倍 (116 件) であった。ほぼ全都道府県から届け出があったが、人口 10 万人当たりの患者数として北海道の 0.70 人と三重県の 0.65 人は突出していた。
- 2) 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。2009 年に札幌圏で流行した 4 型 “New Sapporo Strain” による小流行が再度発生した。共通の感染源・感染経路は認められなかった。感染源・感染経路が特定され適切な予防措置が講じられなければ小流行は今後も繰り返されることが懸念される。一方、2012 年 1 月から 12 月までの北海道内献血者を対象とした HEV RNA スクリーニング (HEV NAT) 調査では、過去 8 年間で最も低い陽性率となったが、3 型が大多数を占め、男性が優位で、約 7 割の陽性者が動物内臓喫食歴を有していた点は例年と変わりがなかった。
- 3) 三重県ではヨーロッパ型の 3 型 (3sp/3e) による感染例が多く認められ、重症化例が認められず、比較的軽症であった点、いずれも孤発例であった点は北海道と対照的である。市販ブタレバーの 4.1% から HEV が検出された。その一部の HEV は患者由来 HEV と 99.7% 以上の一致率を示した。しかし、ほとんどの症例で感染源・感染経路は不明であり、その解明が急がれる。
- 4) 霊長類研究所 (犬山) の野外飼育サルで 3 型 HEV の感染が認められた。1 頭のサルで約 3 年間の

持続感染が観察された。

- 5) 中国内モンゴル自治区の飼育ウサギに於いて約 70% の 4 ヶ月齢ウサギからウサギ HEV が検出された。肝臓 homogenate を用いてウサギ HEV を A549 及び PLC/PRF/5 細胞に接種したところ、種の壁を越えて両細胞株に於いて効率よく増殖しうる事が分かった。
- 6) 培養上清中の HEV 粒子に対するモノクローナル抗体を作製し、細胞小器官に対する各種抗体との 2 重染色による蛍光抗体法等によって検討した結果、感染細胞から放出された HEV 粒子表面抗原の 1 つが細胞内の核周囲に存在する trans-Golgi network に由来することが明らかになった。また、各種薬剤及び siRNA を用いた検討によって、HEV は細胞質内のエンドソーム膜に出芽し、エクソソーム分泌経路を利用して細胞外に放出されることが示唆された。HEV の放出機構が明らかとなれば、抗ウイルス剤の開発など特異的な治療法の確立に向けた新たな研究基盤を構築できるものと期待される。
- 7) HEV の感染培養系に於いて、IFN、リバビリン、及びアマンタジンはそれぞれ単独で HEV の増殖を濃度依存性に抑制した。IFN とリバビリンの併用はより効果的であった。

E. 健康危険情報 なし

F. 研究発表

論文発表、総説：

- 1) Okamoto H. Culture systems for hepatitis E virus. *J Gastroenterol* 2013; 48(2): 147-58.
- 2) Jirintai S, Jinshan, Tanggis, Manglai D, Mulyanto, Takahashi M, Nagashima S, Kobayashi T, Nishizawa T, Okamoto H. Molecular analysis of hepatitis E virus from farm rabbits in Inner Mongolia, China and its successful propagation in A549 and PLC/PRF/5 cells. *Virus Res* 2012; 170(1-2): 126-37.
- 3) Mulyanto, Depamede SN, Sriasih M, Takahashi M, Nagashima S, Jirintai S, Nishizawa T, Okamoto H. Frequent detection and characterization of hepatitis E virus variants in wild rats (*Rattus rattus*) in Indonesia. *Arch Virol* 2013; 158(1): 87-96.
- 4) Takikawa Y, Miyamoto Y, Onodera M, Kuroda H, Kasai K, Miyasaka A, Takahashi M, Okamoto H, Suzuki K. Icteric acute

- hepatitis E with no response of immunoglobulin M class anti-hepatitis E virus antibody. *Hepatol Res* 2012; 42(11): 1146-9.
- 5) Nakano T, Okano H, Kobayashi M, Ito K, Ohmori S, Nomura T, Kato H, Ayada M, Nakano Y, Akachi S, Sugimoto K, Fujita N, Shiraki K, Takei Y, Takahashi M, Okamoto H. Molecular epidemiology and genetic history of European-type genotype 3 hepatitis E virus indigenized in the central region of Japan. *Infect Genet Evol* 2012; 12(7): 1524-34.
- 6) Nakano T, Takahashi K, Pybus OG, Hashimoto N, Kato H, Okano H, Kobayashi M, Fujita N, Shiraki K, Takei Y, Ayada M, Arai M, Okamoto H, Mishiro S. New findings regarding the epidemic history and population dynamics of Japan-indigenous genotype 3 hepatitis E virus inferred by molecular evolution. *Liver Int* 2012; 32(4): 675-88.
- 7) 石綿 翔, 高木 均, 星野 崇, 長沼 篤, 坂本直美, 小坂橋 絵里, 相馬 宏光, 乾 正幸, 工藤 智洋, 小川 晃, 田原 博貴, 金古 美恵子, 岡本 宏明. 薬物性肝障害との鑑別を要した E 型肝炎の 1 例. *日本消化器病学会雑誌* 2012; 109(4): 624-9
- 8) 小畑 達郎, 巽 亮二, 竹本 隆博, 田中 俊樹, 平田 邦明, 関岡 敏夫, 竹田 彬一, 石金正裕, 横田 和久, 名取 洋一郎, 池谷 敬, 古川 恵一, 川上 万里, 高橋 雅春, 岡本 宏明. A 型肝炎ウイルスの分子系統解析により感染時期・地域が推定された輸入 A 型肝炎の 2 例. *肝臓* 2012; 53(11): 754-62.
- 9) 岡本宏明. 新規に保険収載された検査法「IgA-HE 抗体価(定性)」. *Modern Media* 2012; 58(6): 182-7.
- 10) 岡本宏明. 【ウイルス肝炎のすべて】 経口感染するウイルス肝炎 E 型肝炎 E 型肝炎ウイルス培養系. *化学療法の領域*. 2012; 28 巻増刊: 1022-31.
- 11) 岡本宏明. E 型肝炎の現状と今後の戦略. *日本医事新報* 2012; 4621(11/17): 71-7.
- 12) 岡本宏明. E 型肝炎ウイルス感染の現状と対策. *血液事業* 2012; 35(1): 228-9.
- 13) 岡本宏明. シリーズ感染症 プライマリケア どうアプローチするか 第 33 回 E 型肝炎の現状と予防. *Medical Tribune* 2012; 45(25): 38.
- 14) 岡本宏明. 抗肝炎ウイルス薬 A 型肝炎, E 型肝炎. *臨床と微生物* 2013; 40(1): 57-63.
- G. 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 24 年度 第 1 回
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
「経口感染によるウイルス性肝炎(A 型及び E 型)の感染防止、病態解明、
遺伝的多様性及び治療に関する研究」 班会議

宮川庚子記念研究財団「経口肝炎ウイルス」研修会

プログラム

日時：平成 24 年 8 月 11 日(土) 受付 午後 1:30～、会議 午後 2:00～5:00

会場：サピアタワー（東京ステーションコンファレンス） 6 階 605-B+C
〒100-0005 東京都千代田区丸の内 1 丁目 7-12
Tel: 03-6888-8080; fax: 03-6888-8062

司会 岡本 宏明（自治医科大学）

1. 「新班の研究計画について」：岡本宏明（自治医科大学感染・免疫学講座）
2. 「急性肝炎の疫学調査および HAV 遺伝子型解析」：玉田陽子、八橋 弘（国立病院機構長崎医療センター）
3. 「2012 年上期の日本の A 型肝炎ウイルス株の解析」：石井 孝司（国立感染症研究所ウイルス第二部）
4. 「インターフェロン λ による A 型肝炎ウイルス増殖の抑制および 次世代シークエンサーを用いた A 型肝炎ウイルスのゲノム解析」：神田達郎、横須賀 収（千葉大学大学院腫瘍内科）
5. 「わが国における HAV, HEV に起因する急性肝不全の実態」：中山 伸朗（埼玉医科大学 消化器内科・肝臓内科）
6. 「反復が確認された札幌圏 E 型肝炎小流行」：姜 貞憲（手稲溪仁会病院 消化器病センター）

<休憩>

7. 「岩手県を中心とした北東北における急性 E 型肝炎の実態とその臨床像(報告)、当大学における肝移植症例の血中 HEV 抗体価の推移(計画)」：鈴木 一幸（岩手医科大学消化器・肝臓内科）
8. 「HEV 三題：山口県の奇妙な 4 型(中間報告)、Bangladesh の non-seasonal outbreak(中間報告)、Nepal の重症例蒐集(計画)」：新井 雅裕（東芝病院消化器内科）
9. 「三重県における E 型肝炎の特徴と感染源の検索について」：岡野 宏（鈴鹿中央総合病院 消化器内科）
10. 「ブタ由来 HEV のヒト初代培養肝細胞への感染様式の検討(報告)、肝移植患者における慢性 E 型肝炎の実態調査ならびに HEV ワクチン開発(計画)」：大城幸雄、大河内信弘（筑波大学消化器外科）
11. 「E 型肝炎ウイルスに対するラットの感受性」：李 天成（国立感染症研究所ウイルス第二部）
12. 「野生ラットからの rat HEV の同定と解析」：高橋雅春、岡本宏明（自治医科大学感染免疫学講座）
13. 「培養細胞から放出された E 型肝炎ウイルスの粒子表面に存在する膜成分の抗原性の解析」：長嶋茂雄、岡本宏明（自治医科大学感染免疫学講座）

ご講評 三田村圭二（肝炎等克服緊急対策研究事業 評価委員）

<敬称略>

平成24年度

厚生労働科学研究費 肝炎等克服緊急対策研究事業

「経口感染によるウイルス性肝炎(A型及びE型)の感染防止、病態解明、遺伝的多様性及び治療に関する研究」班 (経口肝炎班)

(3年計画の1年目) 年度末 班会議

プログラム

日 時：平成24年12月19日 (水) 8:30 - 10:30

場 所：KKR ホテル東京 10階 平安

8:30～ 平成24年度 経口肝炎班 班会議

司会 岡本宏明

<発表6分、討議2～3分>

1. 急性肝炎の疫学調査およびHAV遺伝子型解析 長崎医療センター 八橋 弘
2. 2012年の日本のA型肝炎ウイルス株の分子疫学的解析 国立感染症研究所 石井孝司
3. 2011年に発症したHAV, HEVに起因する急性肝不全の実態
埼玉医科大学 中山伸朗
4. IL29のHAV IRES依存性翻訳およびHAV増殖に対する影響および次世代シーケンサーを用いたA型肝炎ウイルスの塩基多様性と重症化に関する研究 千葉大学 神田達郎/横須賀 収
5. 北海道内献血者におけるHEV感染の動向-2012年 北海道血液センター 松林圭二/日野 学
6. E型肝炎札幌小流行2009, 2011-12 手稲溪仁会病院 姜 貞憲
7. 1)急性肝障害患者におけるHAVおよびHEV感染の実態とその臨床像, 2)肝移植症例における血清HEV抗体の測定 岩手医科大学 鈴木一幸
8. 三重県全域におけるE型肝炎発生調査(2011/8～)の経過報告(発表4分)
藤田保健衛生大学 中野達徳
9. 三重県内の市販ブタレバーから分離されたHEVとE型肝炎患者から分離されたHEVの比較(発表4分)
鈴鹿中央総合病院 岡野 宏
10. 1)移植患者におけるE型肝炎慢性化の実態調査:第1次全国アンケート調査、2)HEVワクチン開発研究:ブタ由来HEVのラットへの感染実験 筑波大学 田野井智倫/大河内信弘
11. 血清中HAV及びHEVウイルスの物理化学的性状解析 東芝病院 高橋和明/新井雅裕
12. 日本ザルからのHEV分離 国立感染症研究所 李 天成
13. ウサギHEV及びラットHEVの分離とその解析 自治医科大学 高橋雅春/岡本宏明
14. HEVの放出に向けた細胞内膜輸送機構の解析 自治医科大学 長島茂雄/岡本宏明

10:30

閉会予定

II. 分担研究報告

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）
経口感染によるウイルス性肝炎（A 型及び E 型）の感染防止、病態解明、
遺伝的多様性及び治療に関する研究
平成 24 年度分担研究報告書

急性肝炎の疫学調査および HAV 遺伝子型解析

研究分担者 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 センター長

研究要旨：1980 年～2011 年の期間に実施した国立病院および国立病院機構 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、4,595 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、減少傾向にある。

HAV 遺伝子型に関する検討では、従来本邦では subgenotype I A 型 HAV 感染が大多数を占めているが、本研究結果より、2000 年代後半には IIIA 型 HAV 株感染が増加し約 20%の頻度で発生していることが明らかになった。

<研究協力者>

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、流動研究員）

山崎一美（国立病院機構長崎医療センター・臨床研究センター、臨床疫学研究室長）

A. 研究目的

A 型肝炎ウイルスによる急性肝炎の発生動向を明らかにするため、定点観測的におこなわれている急性肝炎流行調査のデータをもとに検討をおこなった。

B. 研究方法

全国 33 施設の国立病院急性肝炎共同研究班では、参加施設に入院したウイルス性急性肝炎症例を毎年登録している。今回、1980 年～2011 年の期間に登録された急性肝炎例（輸血後肝炎を除く）の集計をおこなった。

診断は、A 型は IgM-HA 抗体陽性、B 型は HBsAg 陽性および IgM-HBc 抗体陽性、C 型は HCV-RNA 陽性、非 ABC 型は上記のいずれも陰性を確認しおこなった（ただし、薬物、アルコール、自己免疫性

肝炎、非肝炎ウイルス性肝炎（EB、CMV、HSV など）はウイルス性急性肝炎の登録からは除外した）。E 型肝炎は、非 ABC 型のうち発症後 3 ヶ月以内の保存血清が存在した症例を対象に、ELISA 法にて HEV-IgG 抗体、HEV-IgM 抗体を測定し、両抗体陽性であることを判定基準とした。

2000 年～2011 年の発症例の血清サンプルを用いて、VP1/2A junction 領域 168 塩基における系統樹解析をおこない、HAV subgenotype を決定した。

倫理面への配慮：研究用血清の採取に際して、インフォームドコンセントが得られている。検体提供者は匿名化されているため、個人のプライバシーを侵害することはなく、人権上の問題は生じない。

C. 研究結果

C-1. ウイルス性急性肝炎の型別発生頻度

図 1 のように、1980 年～2011 年の 32 年間で、輸血後肝炎を除くウイルス性急性肝炎として 4,595 例が登録された。4,595 例中、A 型は 1,618 例（35.2%）、B 型は 1,322 例（28.8%）、C 型は 398

例 (8.7%) で、非 ABC 型は 1,257 例であった。非 ABC 型の 1,257 例中 979 例 (77.9%) で保存血清が存在し、HEV-IgG 抗体、HEV-IgM 抗体を測定した結果、両者が陽性であったのは 59 例であった。したがって、E 型肝炎は 59 例で、ウイルス性急性肝炎の 1.3% を占め、残りの 1,198 例は非 ABC 型とし、ウイルス性急性肝炎の 26.1% を占めた。

C-2. A 型肝炎の発生動向

1980 年～2011 年の調査期間中、A 型肝炎は 1,618 例の発生数で、年次別では、1983 年と 1990 年にそれぞれ 162 例、187 例と流行を認めたが、以後減少傾向である。直近 5 年間では、2007 年から 2009 年は毎年 10 例未満の発生数であったが、2010 年に 21 例とやや増加し、2011 年は 6 例であった (図 1)。

年	A型	B型	C型	E型	非ABC型	計
80	44(30.6)	55(38.2)	16(11.1)	1(0.7)	28(19.4)	144
81	50(33.4)	42(28.0)	17(11.3)	2(1.3)	39(26.0)	150
82	37(28.2)	55(42.0)	13(9.9)	0(0.0)	26(19.8)	131
83	162(57.7)	51(18.1)	16(5.7)	1(0.4)	51(18.1)	281
84	57(32.8)	66(37.9)	9(5.2)	3(1.7)	39(22.4)	174
85	33(20.9)	51(32.3)	18(11.4)	1(0.6)	55(34.8)	158
86	65(33.5)	54(27.8)	21(10.8)	2(1.0)	52(26.8)	194
87	31(17.9)	62(35.8)	18(10.4)	3(1.7)	59(34.1)	173
88	86(45.3)	46(24.2)	17(8.9)	0(0.0)	41(21.6)	190
89	122(51.9)	47(20.0)	16(6.8)	0(0.0)	50(21.3)	235
90	187(65.8)	39(13.7)	14(4.9)	0(0.0)	44(15.5)	284
91	115(55.8)	37(18.9)	15(7.3)	0(0.0)	37(18.1)	204
92	77(54.6)	27(19.1)	9(6.4)	1(0.7)	27(19.1)	141
93	84(52.8)	27(17.0)	16(10.1)	0(0.0)	32(20.1)	159
94	64(49.6)	23(17.8)	13(10.1)	0(0.0)	29(22.5)	129
95	40(33.6)	24(20.2)	17(14.3)	0(0.0)	38(31.9)	119
96	20(26.7)	22(29.3)	3(4.0)	2(2.7)	28(37.3)	75

年	A型	B型	C型	E型	非ABC型	計
97	49(43.4)	25(22.1)	9(8.0)	0(0.0)	30(26.5)	113
98	30(21.9)	37(27.0)	7(5.1)	1(0.7)	62(45.3)	137
99	52(43.3)	27(22.5)	7(5.8)	0(0.0)	34(28.3)	120
00	15(17.7)	34(39.0)	8(9.2)	2(2.3)	28(32.2)	87
01	39(30.0)	45(34.6)	17(13.1)	0(0.0)	29(22.3)	130
02	45(38.5)	29(24.8)	8(6.8)	3(2.6)	32(27.4)	117
03	23(22.5)	31(30.4)	12(11.8)	1(1.0)	35(34.3)	102
04	14(11.0)	60(47.2)	11(8.7)	3(2.4)	39(30.7)	127
05	12(9.8)	39(34.8)	8(7.1)	4(3.6)	49(43.8)	112
06	19(17.8)	49(45.8)	11(10.3)	3(2.8)	25(23.4)	107
07	6(5.9)	49(48.0)	7(6.9)	5(4.9)	35(34.3)	102
08	5(4.6)	45(41.7)	6(5.6)	6(5.6)	46(42.6)	108
09	8(7.0)	53(46.1)	17(14.8)	9(7.8)	28(24.3)	115
10	21(19.6)	44(41.1)	11(10.3)	3(2.8)	28(26.2)	107
11	6(8.6)	27(38.6)	11(15.7)	3(4.3)	23(32.9)	70
計	1618 (35.2)	1322 (28.8)	398 (8.7)	59 (1.3)	1198 (26.1)	4595

図1. 散発性急性肝炎の型別年次推移 (1980年～2011年)

C-3. HAV の遺伝子解析

2000 年～2011 年発症の A 型肝炎 213 例中、167 例 (78.4%) の肝炎初期の血清が保存されており、このうちの 160 例で HAV-RNA を検出できた。系統

樹解析により決定した 160 例の HAV subgenotype の内訳は、I A 141 例 (88.1%)、I B 6 例 (3.8%)、III A 13 例 (8.1%) であった (図 2)。

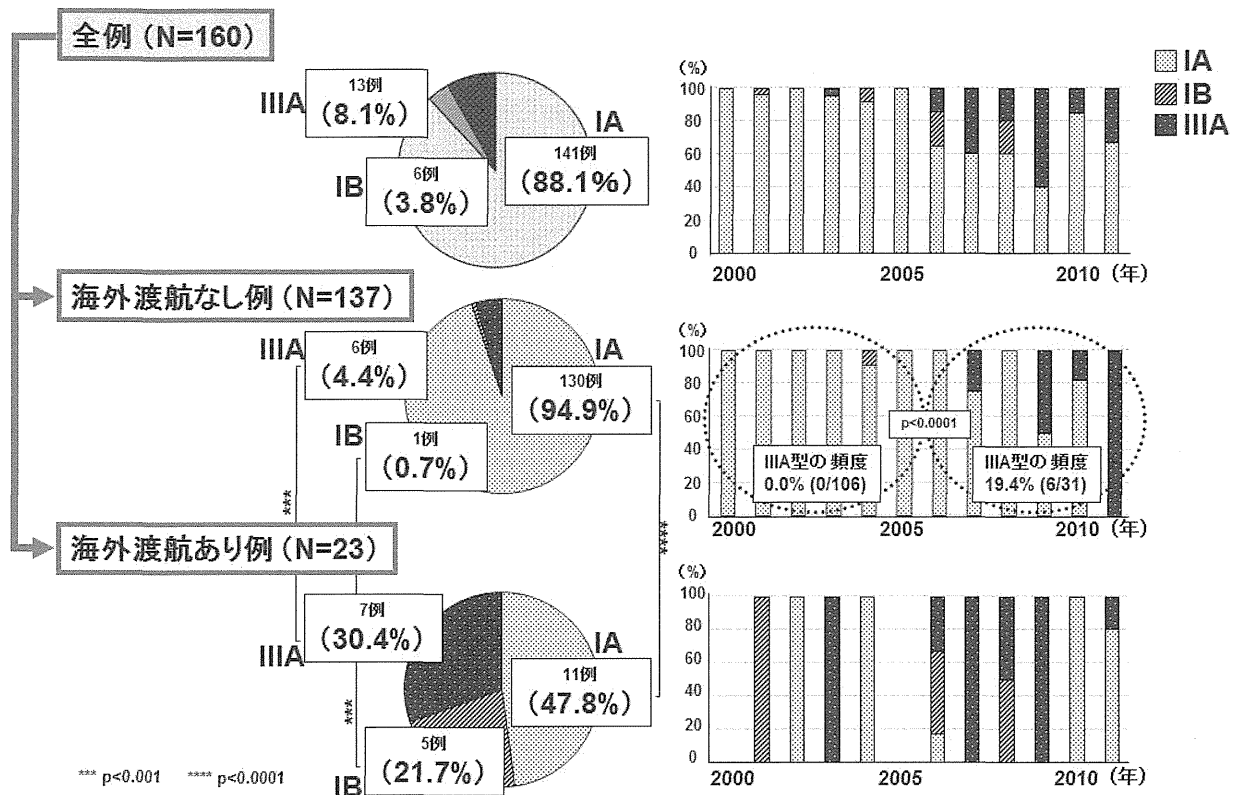


図 2. 海外渡航の有無別 HAV subgenotype 分布 (2000年～2011年, N=160)

160 例を発症前約 1.5 ヶ月間の海外渡航歴の有無別にグループ分けし、HAV subgenotype の頻度を検討した (図 2)。海外渡航歴のない (海外渡航歴が明らかでない症例も一部に含む) 症例は 137 例、海外渡航歴のある症例は 23 例であった。HAV subgenotype は、渡航歴なし群 137 例では、IA 130 例 (94.9%)、IB 1 例 (0.7%)、IIIA 6 例 (4.4%) であった。渡航歴あり群 23 例では、IA 11 例 (47.8%)、IB 5 例 (21.7%)、IIIA 7 例 (30.4%) と、subgenotype にはばらつきが認められた。IA の頻度は、渡航歴なし群において渡航歴あり群に比し有意に高く ($p<0.0001$)、IB および IIIA の頻度は、渡航歴あり群において渡航歴なし群に比しそれぞれ有意に高かった (各々 $p<0.0001$)。

調査期間を 2000 年～2005 年 (前半 6 年間) と 2006 年～2011 年 (後半 6 年間) の二つに分け、海外渡航の有無別に各期間における HAV subgenotype の頻度を検討した (図 2)。

渡航歴なし群の 137 例は、106 例が前半 6 年間

に、31 例が後半 6 年間に発症していた。前半 6 年間の 106 例における HAV subgenotype 内訳は、IA が 105 例 (99.1%)、IB が 1 例 (0.9%)、IIIA が 0 例 (0.0%) であった。後半 6 年間の 31 例における HAV subgenotype 内訳は、IA が 25 例 (80.6%)、IB が 0 例 (0.0%)、IIIA が 6 例 (19.4%) であった。IA の頻度は後半 6 年間に比し有意に低く ($p<0.0001$)、一方 IIIA の頻度は後半 6 年間に比し有意に高かった ($p<0.0001$)。

渡航歴あり群の 23 例は、6 例が前半 6 年間に、17 例が後半 6 年間に発症していた。前半 6 年間の 6 例における HAV subgenotype 内訳は、IA が 4 例 (66.7%)、IB が 1 例 (16.7%)、IIIA が 1 例 (16.7%) であった。後半 6 年間の 17 例における HAV subgenotype 内訳は、IA が 7 例 (41.2%)、IB が 4 例 (23.5%)、IIIA が 6 例 (35.3%) であった。前半 6 年間と後半 6 年間の間で、subgenotype の頻度に差は認めなかった。

渡航歴なし群に属する 137 例の居住地域（都道府県）と HAV subgenotype の分布を図 3 に表す。Subgenotype の明らかな地域集積性は認められなかった。

渡航歴あり群に属する 23 例の渡航地と HAV subgenotype の分布地を図 4 に表す。IA に分類された 11 例の渡航地は、韓国、中国、タイ、ベト

ナム、カンボジア、マレーシア、インドネシア、フィリピン、サイパンであった。IB に分類された 5 例の渡航地は、韓国、インドネシア、エジプト、ボリビアであった。III A に分類された 7 例は、ネパール、インド、マダガスカル、ハワイへ渡航していた。

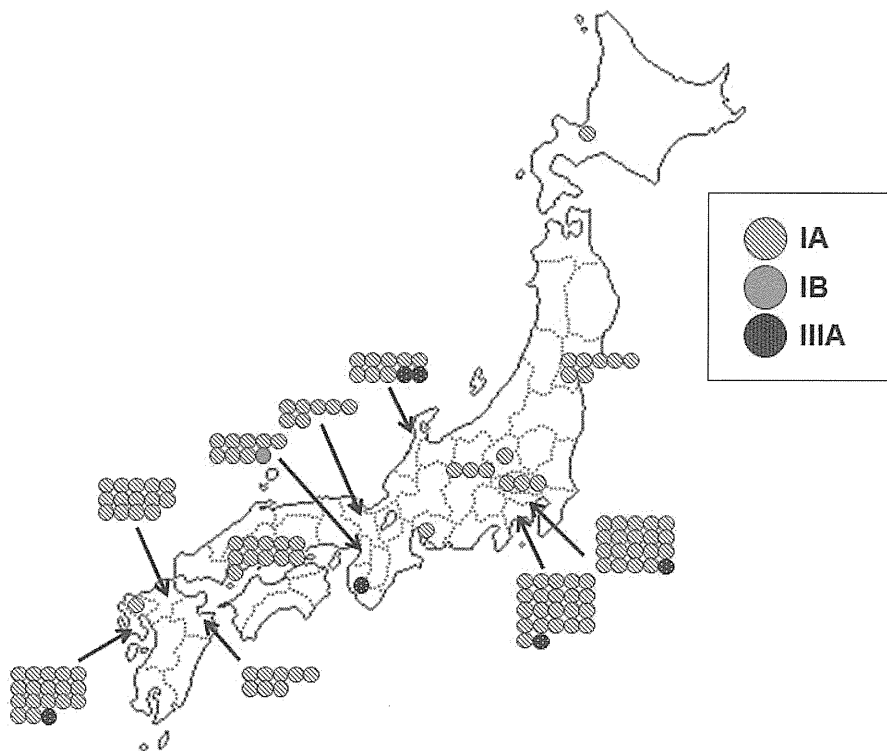


図 3. 発症地別のHAV subgenotype分布（2000年-2011年, N=137）



**図 4. 海外渡航歴のあるA型肝炎例
渡航地別のHAV subgenotype分布（2000年-2011年, N=23）**

D. 考察

D-1. ウイルス性急性肝炎の発生動向について

1980年～2011年の期間中、本邦の散发性ウイルス性急性肝炎の発生数は4,595例で、その訳はA型1,618例(35.2%)、B型1,322例(28.8%)、C型398例(8.7%)、E型59例(1.3%)、非ABCE型1,198例(26.1%)であった(図1)。A型肝炎の発生は、1983年と1990年の流行以後、近年徐々に減少している。10年単位で発生数を比較すると、2000年代のA型肝炎発生数(186例)は、1980年代(687例)および1990年代(718例)に比し7割以上減少している。2010年は21例の小流行を認めたが、2011年は6例にとどまり、2007年～2009年と同程度の発生数であった。A型肝炎と同じく経口感染が感染様式であるE型肝炎は、非ABC型急性肝炎例から、保存血清中のHEV-IgG抗体およびHEV-IgM抗体の両者陽性をもって診断し、59例であった。

D-2. HAVの遺伝子解析について

本邦のHAV subgenotype 頻度を調べるため、過去の文献を検索したところ、45例以上の本邦のA型肝炎例を解析したものが2003年～2009年の間に少なくとも5個あった。それらの論文では、合計で、1984年～2005年の間に本邦で発生した286例のA型肝炎が解析されており、そのHAV subgenotype 頻度は、IA型が95.5%、IB型1.0%、IIIA型2.1%、IIIB型1.4%と算出された。

本研究では、2000年～2011年のA型肝炎例160例のsubgenotypeを決定した。その結果、IA型88.1%、IB型3.8%、IIIA型8.1%の頻度で分布していた。さらに海外渡航歴の有無別に解析すると、興味深い結果が得られた。海外渡航歴のない137例ではIA型94.1%、IB型0.7%、IIIA型4.4%であり、このうち2005年以前の発症例では1例のIB型を除き全例がIA型であるのに対し、2006年以後の症例ではIA型が81.6%にとどまり残りの19.4%をIIIA型が占めていた。2000年～2005年の

本研究の HAV subgenotype 頻度は過去の文献と同様の傾向であったが、それに対し 2006 年～2011 年では、subgenotype の分布に変化が認められたのである。海外渡航歴なし群でⅢA 型の頻度が以前に比し高い理由としては、系統樹解析から、ひとつは韓国 HAV 株の流入、国内従来株の増加、ヨーロッパ株の流入などが考えられる。HAV の VP1/2A 領域 168 塩基における系統樹解析 (data not shown) では、本研究の海外渡航歴なし群のⅢA 型 6 例中 5 例の HAV 株と 2007 年、2008 年に韓国で得られた HAV 株 (GU991288、GU991309)、1987 年信越地方 (AB046904)、1990 年愛知県で得られた HAV 株 (AB279732) は近縁関係にあった。またこれらの HAV 株と同じクラスターには 1997 年に得られたノルウェー株 (AJ299464) も分類されていた。海外渡航歴なし群のⅢA 型 6 例中、1 例に牡蠣の摂食歴、別の 1 例に魚介類の摂食歴があったが、残り 4 例は HAV 感染の原因と考えられる摂食歴、生活歴は見出せなかった。また、患者の居住地域にも偏りは認められなかった。現時点では、どのような原因で、国内でⅢA 型の頻度が以前に比し高いのかについては明らかなものは見出せていない。

一方、発症前約 1.5 ヶ月の間に海外渡航歴のある症例は 23 例で、その HAV subgenotype は I A 型 47.8%、I B 型 21.7%、ⅢA 型 30.4%であった。いわゆる輸入感染と考えられるこれらの海外渡航歴あり群と、海外渡航歴なし群とでは、subgenotype の分布は異なり、海外渡航歴あり群における subgenotype の多くは患者の渡航地に多く分布する subgenotype と一致していた。また、海外渡航歴あり群のⅢA 型 HAV 株は、系統樹上でインドやネパールのⅢA 型 HAV 株と近縁に位置し、韓国ⅢA 株、本邦ⅢA 株、ノルウェーⅢA 株と近縁であった本研究の海外渡航歴なし群ⅢA 型 HAV 株とは異なる枝に分類された。よって、海外渡航歴あり群の A 型肝炎症例はいわゆる輸入感染であることが示唆され、またそれらのⅢA 型 HAV 株と国内感染例のⅢA 型 HAV 株は、系統樹解析によって判別が可能と考えられた。

E. 結論

A 型肝炎は 1983 年と 1990 年の流行以後、減少傾向である。2010 年は、直近の過去 3 年に対しやや増加していたものの小流行にとどまり、2011 年は 6 例の発生数であった。従来本邦では subgenotype I A 型 HAV 感染が大多数を占めているが、本研究結果より、2000 年代後半にはⅢA 型 HAV 株感染が増加し約 20%の頻度で発生していた。

F. 研究発表

1. 学会発表

- (1) Yoko Tamada, Hiroshi Yatsushashi. <The 3rd International Forum> Acute viral hepatitis A and E in Japan. 第 98 回日本消化器病学会総会. 東京, 2012. 04. 19-21. 日本消化器病学会雑誌 109(suppl.) : A32, 2012. 3. 15.
- (2) 玉田陽子、八橋 弘、正木尚彦、高橋正彦、高野弘嗣、太田肇、渡部幸夫、長岡進矢、小森敦正、阿比留正剛、石橋大海. <オープンワークショップ>A 型肝炎ウイルス (HAV) の分子疫学的解析によるわが国の A 型肝炎の発生动向に関する検討. 第 48 回日本肝臓学会総会. 金沢, 2012. 06. 07-08. 肝臓 53(suppl. 1) : A350, 2012. 6
- (3) Yoko Tamada, Naohiko Masaki, Seigo Abiru, Hiroshi Kohno, Yukio Watanabe, Hajime Ota, Masahiko Takahashi, Michiyasu Yagura, Hiroshi Yatsushashi. <poster presentation> Does hepatitis A virus subgenotype influence the disease severity? The 63rd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. ボストン, 2012. 11. 09-13. Hepatology56(Suppl1) : 653A, 2012. 10

2. 論文等発表

- (1) 玉田陽子、八橋 弘. A 型肝炎の現状と今後の展望 —診療のすすめかた—. Medical Practice 30(2) : pp236-241, 2013