

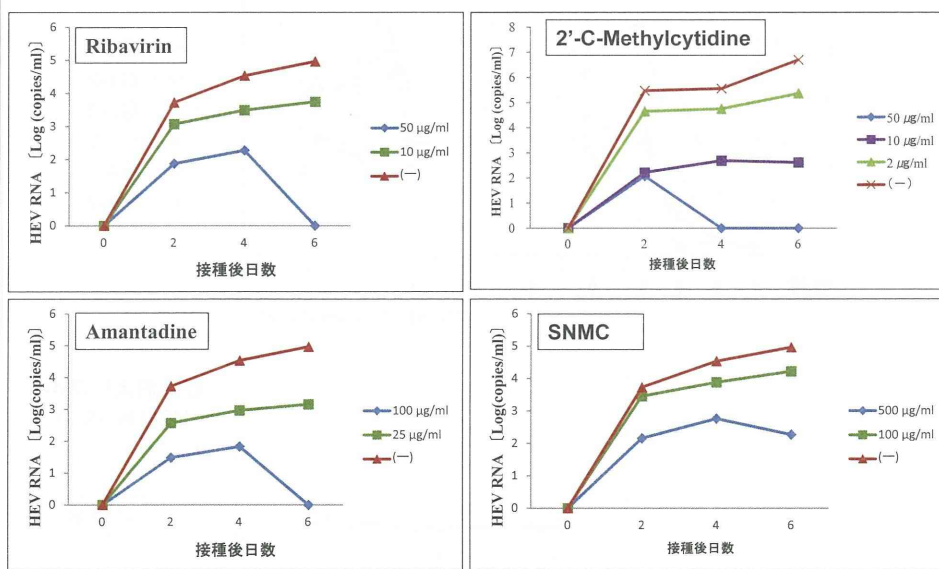
E型肝炎の抗ウイルス薬開発に向けた 基礎検討

感染培養系において、
IFN α 、IFN λ 1-3、リバビリン、アマンダジン、
2'-C-methylcytidine、SNMCはそれぞれ単独
でも濃度依存的にHEVの増殖を抑制する
ことが分かった。

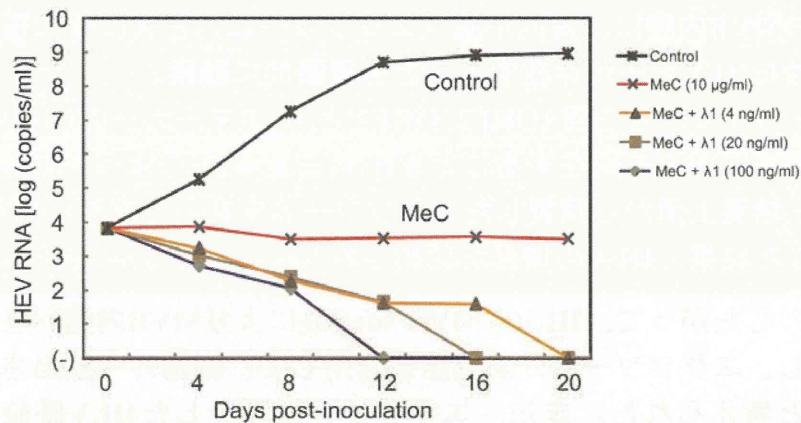
班長

A549細胞に対してウイルス接種と同時に 培養液中に薬剤を添加した実験

班長



PLC/PRF/5細胞でHEVが増殖している状態で薬剤を含む培養液に切り換え、効果を見た実験



HuH-7細胞やHepG2細胞、また併用薬剤としてIFNλ2, λ3、IFNαを用いても、ほぼ同等の効果が得られた。

班長

細胞培養系を用いたHEVの増殖機構の解析

HEVの放出とエクソソーム分泌経路

薬剤 (Bafilomycin A1, GW4869)を用いた解析

エクソソームの放出：促進 → ウイルス放出：促進
 エクソソームの放出：阻害 → ウイルス放出：抑制

siRNA (Rab27A, Hrsに対するsiRNA)を用いた解析

エクソソームの形成ならびに放出：阻害
 → ウイルス放出：抑制

HEV粒子の放出にエクソソーム分泌経路が関与している可能性が示唆された

班長

HEVの放出とエクソソーム分泌経路

HEV感染細胞

- ・ MVB内腔に、膜内小胞（エクソソーム）と共に膜に覆われたHEV粒子が存在することを電顕的に観察。
- ・ ウイルス蛋白質 (ORF2, ORF3)とMVBマーカーのCD63が細胞質内で共局在することをIFA (三重染色)によって観察。
- ・ 培養上清から精製したエクソソームを新たな細胞に接種した結果、HEVの増殖が認められた。

したがって、HEVはMVB sortingによりMVB内腔へと出芽し、エクソソーム分泌経路を利用して、細胞外へ放出されると考えられた。また、エクソソームを介したHEV感染の伝播が示唆された。

班長

平成26年度(3年計画3年目)の課題

1. A型、E型肝炎(含む劇症肝炎)の発生動向と重症化リスク因子の全国調査、地域別調査
2. 北海道の献血者におけるHEV NAT検査
3. HAVならびにHEVのウイルス株蒐集と塩基配列解析
4. 臨床病態の解明
5. 食品媒介感染の可能性の調査・感染源調査
6. HEV宿主動物調査: 食用動物及び野生動物の感染調査とウイルス株解析
7. 慢性HEV感染調査: 肝移植患者での調査の継続、慢性感染の病態解析
8. HEVの増殖機構の解明: 効率的なHEVの感染培養系およびreverse genetics systemを用い、HEVの増殖機構、とくに接着・侵入機構解析
9. HAVとHEVの抗ウイルス剤、HEVの不活化ワクチン開発の為の研究:
 - ・培養系を用いた抗ウイルス薬のスクリーニングとその評価
 - ・不活化ワクチン開発に向けた検討

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 25 年度分担研究報告書

国立病院共同研究・急性肝炎調査結果と A 型肝炎重症化の検討

研究分担者 八橋 弘 独立行政法人国立病院機構長崎医療センター・臨床研究センター長

研究要旨：1980 年から 2012 年に全国国立病院 34 施設の共同研究で登録された A 型急性肝炎 1624 例の発生状況と重症度の検討をした。男 875 例 (53.9%)、年齢中央値 37.0 才。1994 年までの発症例は全年齢を通じ毎年 2-3 月に集積したが、1995 年以降季節的集積性は消失し、通年的に散布発生した。プロトロンビン時間 (PT) 40%未満かつ脳症を伴う劇症型は 8 例 (0.5%)、PT40%未満で脳症なしの重症型は 64 例 (4.0%)、これら以外の通常型は 1547 例 (95.5%) であった。死亡例は 2 例であり、劇症型の 25%、全症例の 0.1%であった。1994 年までの劇症および重症化率は 21 例/1209 例 (1.7%)、1995 年以降は 51 例/406 例 (12.6%) と高率だった (p<0.001)。劇症化および重症化に寄与する因子をロジスティック回帰分析で算出、抽出因子は、発症年 1995 年以降 (odds 比 8.1、p<0.001)、高齢 (odds 比 7.6、p<0.001) であった。我が国の急性 A 型肝炎は、1995 年以降季節集積性を失いながら減少しているが、劇症および重症例の頻度は増加している。

<研究協力者>

共同研究者

山崎一美 (独立行政法人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

1980 年から 2012 年までの過去 33 年間に、国立病院機構肝疾患ネットワーク参加 33 施設内において急性肝炎症例は 4,966 例登録されてきた。このうち散発性急性肝炎として登録された症例数は 4,674 例で、うち A 型が 1,624 例 (34.7%)、B 型が 1,363 例 (29.2%)、C 型が 407 例 (8.7%)、非 ABC 型 1280 例 (28.0%) であった。A 型肝炎は、1983 年 (162 例) と 1990 年 (187 例) に全国的大流行を認めたが、それ以後は減少傾向にある。

上記のような発生動向の変化がみられる中、A 型肝炎の臨床像、なかでも重症化はいかに変遷しているのか不明である。

本研究では、我が国における A 型急性肝炎の重症化の検討を行うことを目的としている。

B. 研究方法

全国 33 施設からなる国立病院機構肝疾患ネットワーク参加施設医療機関において、各施設に急性肝炎として入院した患者の症例登録をおこなった症例のうち、A 型と診断された 1,624 例を対象

とした。

倫理面への配慮：本研究は「疫学研究のための倫理指針」および「個人情報保護法」を順守し、患者への研究協力の説明と同意は、書面にて遂行した。

C. 研究結果

1) 患者背景 対象 1,624 例の背景を表 1 に示す。

(表 1) 患者背景

N	1624
男	875 (53.9%)
年齢中央値	37.0 (1 - 85)
ALT中央値	1580 (44 - 66912)
T.Bil中央値	5.8 (0.4 - 32.4)
臨床型	
劇症型 (PT<40%, 脳症あり)	8 (0.5%)
重症型 (PT<40%, 脳症なし)	64 (4.0%)
通常型 (PT>40%, 脳症なし)	1547 (95.5%)
不明	5

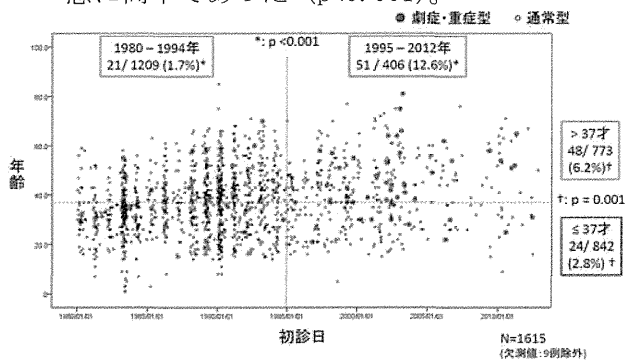
2) 転帰 死亡例は 2 例であった。その頻度は、総登録 1624 例においては 0.1%、劇症化 8 例においては 25%であった。それぞれ 1988 年 3

月、1991年1月発症者で順に、58才、52才
でいずれも女性であった。

3) A型肝炎の発症年次推移と年齢および重症度の関係

図1にA型肝炎の発症年次推移と年齢および重症度の関係について示した。1980年から1991年にかけて1年ごとに、低年齢層から高年齢層に幅広い範囲で垂直に症例の集積がみられる。集積している時期はいずれも2月前後であり、季節性の集積が認められている。しかし、1992年からはややこの季節的集積性が損なわれつつあり、1995年以降は明らかな垂直性の集積が認められなくなった。そして通年的に散布しながら発症数も減少していた。

赤点で示す劇症・重症化例は、1980-1994年までに21例(1.7%)であるのに対し、1995-2012年では51例(12.6%)と有意に効率であった($p < 0.001$)。また年齢中央値37歳を分割点として2群に分けて劇症・重症化率を検討した。37歳以下では24例(2.8%)に対し、37歳より高齢では48例(6.2%)と有意に高率であった($p < 0.001$)。



(図1) A型急性肝炎登録例の重症度と年次推移・年齢の関係

4) A型急性肝炎の劇症化・重症化に寄与する因子 登録されたA型急性肝炎の劇症化および重症化に寄与する因子をロジスティック回帰モデル(ステップワイズ法)で解析した。算出結果を表2に示す。有意な寄与因子は、1995年以降の発症と37歳を超える年齢であった。性、地域性は関連しなかった。

(表2) A型肝炎の劇症化・重症化の寄与因子

解析因子	Odds Ratio Exp(β)	95% confidence limit	P value
発症年代1995年以降	8.13	4.82-13.70	<0.001
年齢 >37才	7.60	4.50-12.85	<0.001
性			ns
地域(関東:1,他地域:0)			ns

Cox-Snell R squared: 0.046, Nagelkerke R squared: 0.149 ($p < 0.001$)

D. 考察

全国国立病院共同研究によるA型急性肝炎登録例から発症状況を検討しながら重症化の解析を行った。

我が国のA型急性肝炎は登録を始めた1980年代は、広範囲の年齢において発症するも毎年2月ごろを好発時期とし、季節集積性を強く認めていた。1983年、1990年に全国的な大流行があるが、いずれも季節集積性を損なわない。この傾向は1995年以降には喪失し、2012年まで再度確認されていない。また季節性を喪失しながら、発症数は減少していた。ところが重症化率は高くなった。これは37歳より高い年齢の発症者が重症化しやすいことが一因であった。我が国の年齢人口構成において高齢化率が進んでいることが背景にあると考えている。今後、高齢者のA型急性肝炎の臨床像には注意しながら病態管理する必要がある。

またHAV genotypeと重症型の関係については今後検討していくことになる。

E. 結論

我が国の急性A型肝炎発生数は、1995年以降季節性を失いながら減少しているが、劇症および重症例の頻度は増加している。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 八橋 弘. 疾患編, 第IX章 肝疾患, ①急性肝炎(A型肝炎, B型肝炎, C型肝炎, D型肝炎, E型肝炎). 肝臓専門医テキスト. 日本肝臓学会編集, 南江堂, 東京, pp. 186-190, 2013. 3. 30, 497頁
- 八橋 弘. IV. 肝臓(各論)/感染症, その他のウイルス肝炎(D型肝炎, E型肝炎, EBウイルス, サイトメガロウイルス). 専門医のための消化器病学 第2版, 小俣政男・千葉勉監修, 下瀬川徹・渡辺守・木下芳一・金子周一・樫田博史編集, 医学書院, 東京, pp. 363-366, 2013. 10. 15.

2. 学会発表

- 第100回日本消化器病学会総会 演題採択

G. 知的所有権の取得状況

- 特許申請: なし
- 実用新案登録: なし
- その他: 特記事項なし

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 25 年度分担研究報告書

わが国における A 型および E 型の急性肝不全の実態

研究分担者 中山 伸朗 埼玉医科大学 消化器内科・肝臓内科 准教授

研究要旨：平成 25 年度も従来の「劇症肝炎、遅発性肝不全 (LOHF)」を含む「急性肝不全」の新たな診断基準に準拠して「2012 年に発症した急性肝不全の全国調査」を実施し、その結果を基に A 型肝炎ウイルス (HAV) および E 型肝炎ウイルス (HEV) に起因する急性肝不全症例の実態を解析した。A 型の急性肝不全は、昨年より減少して 10 例が首都圏以西より登録され、急性肝不全の 3.6% (10/278)、劇症肝炎の成因に起因する急性肝不全症例の 4.7% (10/211) を占めるに留まった。昏睡型は、2 例とも肝移植が実施例され、1 例が救命された。非昏睡型は内科的治療で 8 例全てが救命された。2012 年に発症した E 型の急性肝不全症例は北海道から 2 例と岩手から 1 例が登録され、3 例ともが非昏睡型で、内科的治療により救命された。1998-2012 年の 15 年間に発症し、全国調査に登録された A 型劇症肝炎 69 症例において、内科的治療の予後に影響を与える基礎疾患に関して検討した。A 型劇症肝炎では改めて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。最近の A 型劇症肝炎は高齢化しており、特に男性で糖尿病などの基礎疾患を有する頻度が高いことが、内科的治療による救命率が低下した要因と考えられた。

<研究協力者>

持田 智 埼玉医科大学 消・肝内科 教授
桶谷 真 鹿児島大学 消化器・生活習慣病
坪内 博仁 鹿児島市立病院 院長

A. 研究目的

2011 年に欧米の「acute liver failure」に相当する疾患概念として、正常肝ないし肝予備能が正常と考えられる肝に肝障害が生じ、初発症状出現から 8 週以内に、高度の肝機能障害に基づいてプロトロンビン時間 (PT) が 40%以下ないしは INR 値 1.5 以上を示すものをわが国では「急性肝不全」と定義することになって 2 年が経過した。薬物中毒、循環不全、悪性腫瘍の肝浸潤、代謝性、術後肝不全など、肝炎を伴わない成因の肝不全も加えられた、この新たな定義において、昏睡Ⅱ度以上の肝性脳症をきたし、プロトロンビン時間が 40%以下を示すものと定義される劇症肝炎は、「急性肝不全・昏睡型」に含まれる。平成 23 年度と 24 年度は 2010 年と 2011 年に発症した症例を対象にして「急性肝不全」の基準に基づく全国調査を実施し、A 型では従来の劇症肝炎に相当する昏睡型 8 例、非昏睡型が 23 例登録された。

平成 25 年度も調査対象を「劇症肝炎、遅発性肝不全(LOHF)」から新たな診断基準に準拠した「急

性肝不全」に拡大した「2012 年に発症した急性肝不全の全国調査」を実施し、その結果を基に A 型および E 型肝炎症例の実態を解析した。

一方、従来は内科的治療で予後が良好であった A 型劇症肝炎 (急性肝不全・昏睡型) の救命率が、2010 年以降発症の肝移植非実施例では 7.1%と低率になっていた。これまでの検討で、1998-2010 年の 13 年間に発症し、全国調査に登録された A 型劇症肝炎症例を 2003 年までと 2004 年以降発症の 2 群に分け、背景因子を比較すると、死亡群において有意に高齢で、基礎疾患の有病率が高いことが判明した。さらに、糖尿病合併の劇症肝炎例において内科的治療の予後が不良であることが示された。そこで本年度は 1998 年から 2012 年までの 15 年間に発症した A 型劇症肝炎例を対象にして予後悪化に寄与する要因に関して以上の結果を検証した。

B. 方法

① A 型および E 型の急性肝不全、LOHF の実態調査

消化器病学会と肝臓学会の評議員が勤務する 525 診療科と救急医学会の会員が勤務する 482 診療科 (計 731 施設) を対象として 2012 年に発症した「急性肝不全」の全国調査を実施した。その結

果を基に A 型肝炎ウイルス (HAV) および E 型肝炎ウイルス (HEV) に起因する急性肝不全症例の実態を解析した。

② A 型劇症肝炎の内科的治療の予後に寄与する要因の検討

厚労省「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究班」の全国集計に登録された HAV に起因する 1998~2012 発症の劇症肝炎および LOHF 計 69 例を対象に、内科的治療の予後と各種の基礎疾患の有無に関して検討した。

統計解析には SPSS Statistics 19 (IBM) を用いた。

倫理面への配慮：各施設において匿名化されたデータを集計・解析するもので、アンケート調査は埼玉医科大学倫理委員会の承認の元に実施されている。

C. 成績

1) 2012 年に発症した A 型の急性肝不全の特徴

診断基準に合致した急性肝不全症例は 278 例が登録された。劇症肝炎と同じ成因による急性肝不全が 211 例、うち劇症肝炎に相当する昏睡型の症例は急性型 49 例、亜急性型 45 例で、LOHF 症例は 10 例であった。

A 型の急性肝不全症例数は、昨年より減少して 10 例が登録され、急性肝不全の 3.6% (10/278)、劇症肝炎の成因に起因する急性肝不全症例の 4.7% (10/211) を占めるに留まった。登録施設の所在地は、5 例が首都圏で、その他は京都府 2 例、広島県 1 例、九州北部 2 例で、2010 年、2011 年の登録状況とほぼ同様であった。男性が 7 例、女性が 3 例で、病型は非昏睡型が 80.0% (8/10)、昏睡型が 20.0% (2/10)、年齢 (平均±SD) は非昏睡型で 41.9±13.6 歳、昏睡型は京都府から登録の 56 歳と 67 歳の女性だった (表 1)。合併症は 30.0% (3/10) に発生し、内訳は非昏睡型の 1 例と昏睡型 2 例であった。昏睡型は、2 例とも肝移植が実施例され、1 例が救命された。非昏睡型は内科的治療で 8 例全てが救命された。

病型別に背景因子の特徴を検討すると、非昏睡型 10 例では男女比は 7 : 1、年齢 (平均±SD) は 41.9±13.6 歳で合併症数 (平均±SD) は 0.1±0.4 と少なく、死亡例はなかった (表 1)。昏睡型は急性型と亜急性型 1 例例ずつで PT40%以下に低下し、いずれも従来の劇症肝炎の基準を満たした。2 例とも女性で、京都府から登録の 56 歳と 67 歳の女性だった。急性型 56 歳の女性に基礎疾患はなく、腎障害、消化管出血、感染症を合併したが、内科

的治療でコントロールされ、生体肝移植の実施で救命された。亜急性型 67 歳の女性は高血圧症、脂質異常症を薬物治療中で、脳浮腫を併発し、肝移植実施後に感染症により死亡した。

2) 2012 年に発症した E 型の急性肝不全の特徴

2012 年に発症した E 型の急性肝不全症例は 3 例が登録され、全員が非昏睡型で、内科的治療により救命された (表 2)。

50 歳男性と 69 歳女性が北海道から、61 歳女性が岩手県から登録された。3 症例とも基礎疾患を有していたが、急性肝不全に伴う合併症は発生しなかった。68 歳の症例ではプロトロンビン活性が 35%まで低下したが、副腎皮質ステロイドパルス療法とトロンボモジュリンによる抗凝固療法が実施され、昏睡が出現することなく治癒した。

3) A 型劇症肝炎の内科的治療の予後に寄与する因子

厚労省「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究班」の全国集計に登録された 1998~2012 発症の劇症肝炎および LOHF 計 69 例を対象に、1998~2003 年 (前期) に発症した 45 例と 2004 年以降 (後期) に発症した 24 例の 2 群に分けて、背景因子と予後の各項目を表 3 に示す。前期は 45 例中 3 例で、後期は 24 例中 2 例で肝移植が実施された。肝移植非実施例の救命率は前期が 78.6%、後期が 59.1%で、予後は不良になっていた。

そこで肝移植非実施の 64 例を前期の 42 例と後期に発症した 22 例に区分すると (表 4)、男女比は前期が 25 : 17 に対して、後期は 19 : 3 で男性が高率であった ($p < 0.05$)。年齢 (平均±標準偏差) は前期 48.3±12.9 歳、後期 56.4±10.5 歳で ($p < 0.05$)、高齢化が見られた。基礎疾患を有する頻度は 22.0%から 57.1%に上昇していた ($p < 0.05$)。基礎疾患を糖尿病、高血圧、脂質異常症、固形癌、心疾患、精神疾患に区分すると、糖尿病と高血圧の合併率にのみ変化が見られ、それぞれ前期 9.5%から後期 22.7%、4.8%から 22.7%へ高率化し、高血圧では有意差 ($p < 0.05$) を認めた (表 5)。

次に非移植 64 例を救命 46 例、死亡 18 例に区分すると (表 6)、男女比は生存群が 27 : 19 に対して、死亡群は 17 : 1 で、有意に男性が高率であった ($p < 0.01$)。また、死亡群は年齢がより高齢で ($p < 0.01$)、基礎疾患の併発率も高率で ($p < 0.05$)、特に糖尿病は生存群 (8.7%) に比して死亡群 (27.8%)

で多く認められた ($p < 0.05$) (表 7)。また、基礎疾患の併発率は男性 39.5% (17/34) に比して女性 20.0% (4/20) と低率であった。

肝移植非実施 64 例において、主な基礎疾患の有無で死亡率を比較すると、糖尿病のみで差があり、糖尿病無の 23.6% に対して、55.6% と有意に高率であった (表 8)。

D. 考 案

2012 年に発症した A 型の急性肝不全症例の登録は、A 型劇症肝炎が 2 例、非昏睡型は 8 例の計 10 例で、昨年と比較して減少した。昨年と一昨年の急性肝不全調査では、それぞれ 2011 年発症の 15 例、2010 年発症の 16 例が登録された。保健所への届出に基づく感染症動向調査によると、A 型急性肝炎の発生数は、2010 年、2011 年、2012 年がそれぞれ 347 人、174 人、158 人であり、急性肝不全の登録は、昨年が急性肝炎の発生数に比して高率で、今年度の登録数は一昨年とほぼ同等といえよう。

2012 年発症の A 型劇症肝炎は 2 例のみで、ともに肝移植が実施された。非昏睡型の平均年齢より高齢で合併症発数も多いのは前年までと同様であるが、最近の傾向と異なり、2 例とも女性で、また A 型劇症肝炎で肝移植が実施されたのは、2004 年以降では初めてであった。非昏睡型は全例が内科的治療で救命され、予後良好であることが示された。A 型の急性肝不全に対して抗ウイルス剤など特殊な治療薬の使用はなかったが、HDF などの人工肝補助やステロイドパルス治療が実施された症例があり、これらの治療の早期開始が昏睡出現の阻止に有効か否かについては今後の詳細な検討が必要である。

2012 年に E 型の劇症肝炎数の登録はなく、急性肝不全症・非昏睡型 3 例でいずれもが人工肝補助やステロイドパルス療法などで救命された。リバビリンなど抗ウイルス剤を投与した症例はなかった。ところで、急性肝不全・成因不明例 66 例のうち抗 HEV 抗体や HEV-RNA など HEV ウイルスマーカー検査の実施は 22 例に留まり、未診断の E 型の急性肝不全例の存在が疑われる。現在までの E 型の急性肝不全の登録症例は少数であるが、E 型の動向を解析するためには、データの蓄積を待たなくてはならない。

1998 年から 2012 年に発症した A 型劇症肝炎を対象にして、2003 年以前の前期と 2004 年以降の後期で肝移植非実施例の予後と背景因子を比較したが、2004 年以降に男性の比率と平均年齢が有意

に高いこと、また死亡例では基礎疾患を有する症例の比率が高く、糖尿病を有する症例で有意に予後が不良であることが改めて確認された。高齢化と、特に男性の糖尿病有病率の高いことが、最近の肝移植非実施例の予後不良の要因と考えられる。今回の検討で高血圧の合併率が、2004 年以降に有意に増加していたが、症例の高齢化に伴う事象と解釈される。今後、糖尿病を有する高齢者に HAV ワクチン接種を推奨することは、A 型劇症肝炎の予防に繋がると期待される。

E. 結 語

2012 年に発生した A 型の急性肝不全は、急性肝炎の届出数に相応の 10 例で、うち劇症化した 2 例には 2004 年以降、初めて肝移植が実施された。同年の E 型の急性肝不全は 3 例のみで、劇症化例はなかった。急性肝不全症例では HEV ウイルスマーカー検査未施行例が多く、成因不明例の中に E 型肝炎の未診断例が潜在している可能性がある。一方、1998 から 2012 年までの 15 年間に発症した劇症肝炎と LOHF 症例での検討でも、最近の A 型劇症肝炎は高齢化して、特に男性で糖尿病などの基礎疾患を有する頻度が高いことが、肝移植非実施例における救命率が低下した要因と考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表 :

- 1) Oketani M, Ido A, Nakayama N, Takikawa Y, Naiki T, Yamagishi Y, Ichida T, Mochida S, Onishi S, Tsubouchi H; Intractable Hepato-Biliary Diseases Study Group of Japan. Etiology and prognosis of fulminant hepatitis and late-onset hepatic failure in Japan: Summary of the annual nationwide survey between 2004 and 2009. *Hepatol Res.* 2013; 43: 97-105.
- 2) Mochida S, Takikawa Y, Nakayama N, Oketani M, Naiki T, Yamagishi Y, Fujiwara K, Ichida T and Tsubouchi H. Classification of the Etiologies of Acute Liver Failure in Japan: A Report by the Intractable Hepato-Biliary Diseases Study Group of Japan. *Hepatol Res.* (in press)
- 3) 中山伸朗, 持田 智. 劇症肝炎の肝移植適応ガイドライン. *Modern Physician* 2013 ; 33 : 519-524.
- 4) 中山伸朗, 持田 智. 劇症肝炎と de novo 肝炎. *Annual Review 消化器* 2014, 中外医学社, 東京, 2014, 123-133.

2. 学会発表 :

- 1) 中山伸朗, 内田義人, 持田 智. わが国にお

ける急性肝不全の成因別実態と治療法の現状、
第 17 回 日本肝臓学会大会，東京，2013 年
10 月 9 日。

- 2) Nakayama N, Oketani M, Kawamura Y, Tsubouchi H, and Mochida S. Novel hybrid model for prediction of the outcome of patients with acute liver failure: Combination of forms of artificial neural network and decision trees. The liver meeting 2013 of AASLD (米国肝臓学会会議)，

Washington DC, 2. Nov. 2013.

G. 知的所有権の取得状況

特許申請：なし
 実用新案登録：なし
 その他：なし

表1 HAVに起因する急性肝不全の背景因子 -2012年-

平均±標準偏差	非昏睡型	昏睡型	
	(8)	急性型 (1)	亜急性型(1)
男：女	7：1	女性	女性
年 齢	41.9 ± 13.6	56	67
HBVキャリア(%)	0/8 (0)	-	-
基礎疾患(%)	0/8 (0)	なし	高血圧症、高脂血症
薬物歴(%)	1/8 (12.5)	なし	ビタパスタチン、カンデサルタン
予 後 (生存率)	3/8 (100)	移植生存	移植死亡
合併症数	0.1 ± 0.4	3	1

表2 HEVに起因する急性肝不全の背景因子 -2012年-

	症例1 北海道	症例2 北海道	症例3 岩手
性別	女	男	女
年 齢	68	50	61
病 型	非昏睡型	非昏睡型	非昏睡型
基礎疾患	高血圧、アスモイ ド腫瘍	脂質異常症、 気管支喘息	糖尿病、高脂血 症
薬物歴	有	無	無
予 後	生存	生存	生存
合併症数	0	0	0
HEV診断法	IgA抗体	PCR	PCR, IgAおよび IgG抗体 Genotype 3

全国集計に登
録の急性肝不
全・成因不明
66例中、HEV
の検索を実施
されたのは22
例のみ

表3 A型劇症肝炎, LOHFの背景因子 - 1998-2012年 -

	98~2012 全体(69)	98~2003 (45)	2004~2012 (24)
男:女	47:22	28:17	19:5
年齢	50.7 ± 12.4 ^a	48.3 ± 12.5	56.8 ± 10.3*
病型 急性:亜急性:LOHF	58:8:1	38:6:1	21:3:0
HBVキャリア(%)	3.1(2/66)	2.3(1/44)	4.5(1/22)
基礎疾患(%)	30.6(23/68)	22.7(10/44)	54.2*(13/24)
薬物歴(%)	32.8(24/69)	17.8(8/45)	66.7*(16/24)
予後 <small>生存:死亡:移植</small>	46:18:5	33:9:3	13:9:2
内科的救命率	71.9%	78.6%	59.1%

^a平均±標準偏差, *p<0.05 vs 98~2003

表4 A型劇症肝炎, LOHFの非移植例における内科的予後と背景因子
- 1998-2012年 -

	98~2012 全体(64)	98~2003 (42)	2004~2012 (22)
男:女	44:20	25:17	19:3*
年齢	51.1 ± 12.7 ^a	48.3 ± 12.9	56.4 ± 10.5*
病型 急性:亜急性:LOHF	56:7:1	36:5:1	20:2:0
HBVキャリア(%)	3.3(2/61)	2.4(1/41)	5.0(1/20)
基礎疾患(%)	33.3(21/63)	22.0(9/41)	54.5*(12/22)
薬物歴(%)	34.4(22/64)	19.0(8/42)	63.6*(14/22)
予後 <small>生存:死亡</small>	46:18	33:9	13:9
内科的救命率	71.9%	78.6%	59.1%

^a平均±標準偏差, *p<0.05 vs 98~2003

表5 A型劇症肝炎, LOHFの非移植例における合併症と内科的予後
- 1998-2012年 -

基礎疾患	98~2012 全体(64)	98~2003 (42)	2004~2012 (22)
糖尿病	14.1 (9/64)	9.5 (4/42)	22.7 (5/22)
高血圧	10.9 (7/64)	4.8 (2/42)	22.7* (5/22)
脂質異常症	6.3 (4/64)	4.8 (2/42)	9.1 (2/22)
心疾患	1.6 (1/64)	0 (0/42)	4.5 (1/22)
消化器疾患	3.1 (2/64)	2.4 (1/42)	4.5 (1/22)
固形癌	1.6 (1/64)	0 (0/42)	4.5 (1/22)

*p<0.05 vs 98~2003

表6 A型劇症肝炎, LOHFの非移植例における内科的予後と背景因子
- 1998~2012年 -

	非移植例 全体(64)	生存例 (46)	死亡例 (18)
男:女	44:20	27:19	17:1*
年齢	50.8 ± 12.7 ^a	48.3 ± 12.9	56.4 ± 10.5*
病型 急性:亜急性:LOHF	53:7:1	42:3:1	14:4:0
基礎疾患(%)	30.0	23.9 (11/46)	58.8* (10/17)
薬物歴(%)	31.7	28.3 (13/46)	50.0 (9/18)

*p<0.05 vs 生存例

表7 A型劇症肝炎, LOHFの非移植例における合併症と内科的予後
- 1998~2012年 -

基礎疾患	非移植例 全体(64)	生存例 (46)	死亡例 (18)
糖尿病	14.1 (9/64)	8.7 (4/46)	27.8* (5/18)
高血圧	10.9 (7/64)	8.7 (4/46)	17.7 (3/18)
脂質異常症	6.3 (4/64)	6.5 (3/46)	5.6 (1/18)
心疾患	1.6 (1/64)	2.2 (1/46)	0 (0/18)
消化器疾患	3.1 (2/64)	4.3 (2/46)	0 (0/18)
固形癌	1.6 (1/64)	2.2 (1/46)	0 (0/18)

*p<0.05 vs 生存例

表8 A型劇症肝炎・LOHFの非移植例における糖尿病合併の有無
と内科的治療による死亡率
- 98~2012年 -

	糖尿病	高血圧	脂質異常症	消化器疾患	固形癌	心疾患
あり	55.6%* (5/9)	42.9% (3/7)	25.0% (1/4)	0.0% (0/2)	0.0% (0/1)	0.0% (0/1)
なし	23.6% (13/55)	26.3% (15/57)	28.3% (17/60)	29.0% (18/62)	28.6% (18/63)	28.6% (18/63)

*p<0.05 vs なし

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 25 年度分担研究報告書

日本および近隣国における 2013 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

研究分担者 石井孝司 (国立感染症研究所ウイルス第二部)

研究要旨：本研究では、2010 年より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 A 型肝炎ウイルス(HAV)ゲノムの配列を決定し、流行状況の分子疫学的解析を行っている。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による発生は、2011 年、2012 年には見られなかったが、2013 年になって東南アジアからの輸入例 2 株が検出された。genotype IIIA については 2013 年も引き続き検出されている。

また、A 型肝炎は 4 類感染症に分類され、すべての医師は患者が発生するたび、最寄りの保健所に届け出ることが義務づけられている。2008-2012 年に届けがあった A 型肝炎患者情報を集計し、各国・地域別感染リスクを検討した。

共同研究者：

清原知子 (国立感染症研究所ウイルス第二部)

多田有希 (国立感染症研究所感染症疫学センター)

A. 研究目的

日本は世界的に見て、最も A 型肝炎の少ない地域の一つである。1990 年の大流行を最後に患者数は減少し、近年の患者報告数は年間 200 人程度で推移している。2003 年の血清疫学調査では、全人口の約 88%、50 歳以下の約 98%は HAV 感受性者であることが明らかになった。また、これまで防御抗体を持つとされてきた高年齢層でも HAV 感受性者が増加しており、患者の高齢化とそれに伴う重症化も危惧される(表 1)。このような状況を鑑み、A 型肝炎の予防についてより一層の情報発信が必要と考えられる。

我々は、国立感染症研究所感染症疫学センター、国立医薬品食品衛生研究所、および全国の地方衛生研究所と共同で、A 型肝炎の全国的なサーベイランスシステムを構築し、ウイルス(HAV)ゲノムの塩基配列情報を基に分子疫学的な解析を行っている。本年は、昨年に引き続き 2013 年の A 型肝炎の日本における発生状況について分子疫学的解析を行い、流行状況の調査を行った。また、台湾、フィリピンの A 型肝炎流行状況およびウイルス浸淫状況を調査し、日本の流行株との比較を行った。また、2008-2012 年の A 型肝炎患者情報と各国・地域別日本人訪問者数から、渡航先別 A 型肝炎感染リスクを検討した。

B. 研究方法

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

フィリピン、マニラ市内の 6 ヶ所の河川水 50ml 中のウイルスを陰電荷膜に吸着させ、ビーフエクストラクト液で吸着物を抽出した。溶出液から RNA を抽出し、同様に HAV ゲノムを RT-PCR 法により増幅し、TA クローニングを行って各サンプルからそれぞれ 6 株ずつを配列決定し、日本の HAV 配列との比較を行った。

感染症法の 4 類感染症として報告された A 型肝炎例の報告内容(診断日、性別、年齢、感染地域等)から A 型肝炎の感染リスクを調査した。本研究では、2013 年 1 月 10 日現在のデータを用いた。調査期間は 2008 年～2012 年とした。また、各国・地域別日本人訪問者数は一般社団法人日本旅行業協会のデータを使用した。

(<http://www.jata-net.or.jp/data/stats/2013/05.html>)

倫理面への配慮：取り扱うすべての DNA および病原性微生物に関しては適切な封じ込めレベルの実験施設で取り扱われる。各種研究材料の取り扱い及び組換え DNA 実験は、適切な申請を行い承認を受ける。また、本研究では個人を特定できるデータは含まれていない。

C. 研究結果

2013年のA型肝炎の分子疫学的解析

2013年は暫定の急性A型肝炎報告数は127例であり、ここ10年では2009年について少ない報告数であった(図1、2)。そのうち16株の解析を行ったところ、IAが13株、IIIAが3株であった。図3に青字で示したのが本年に検出された株である。広島市で発生した家族内感染では6人が感染、4人が発症している。配列解析の結果日本に常在するIA株(IA-1)によると考えられる。

2010年にmulti-location outbreakの主な原因となった東南アジア由来と考えられる株(IA-2)は、2011年、2012年には計1例のみであり、2010年の流行後は日本に定着せずにほぼ消失したものと推定された。2013年はフィリピンおよびタイから帰国した2例が本クラスターに属するものと考えられた。

フィリピン、台湾におけるHAVの配列解析

フィリピンのマニラ市内の河川6ヶ所からすべてHAV遺伝子が検出され、市内にウイルスが常在していることが明らかとなった。検出されたHAV株はすべてgenotype IAであり、約400bpの配列解析の結果さらに3つのサブクラスター(S1~S3)に分類されると考えられる(図4、赤と桃色で示した)。そのうちのS1は日本で2010年に流行した株のクラスターと一致すると考えられる。

台湾CDC、楊志元博士から分与された、台湾北部のA型肝炎患者由来のHAV配列計10株の解析を行った。検出されたHAVは、8株がIA、2株がIIIAであり、系統樹解析の結果、IAのうち3株は日本で2010年に流行した東南アジア由来と考えられる株に近いと考えられた。残りの5株は上記の株とも日本での常在株とも異なる別のクラスターに属した(図3)。

海外感染例の解析

2008年から2012年の患者報告数は、合計963人、年平均約200人であった。発症前に渡航歴があり海外感染が疑われた患者報告数は2008-2012年累積で241人(25.0%)であった。国内でmulti-location outbreakがあった2010年(15.0%)を除くと、各年22.9-36.1%で推移しており、A型肝炎患者のおよそ1/4~1/3は海外で感染したものと推察された。海外感染率をもっとも高いのは20代であった。また、20代では男性患者が女性患者より有意に多かった(図5)。

邦人渡航者数上位30ヶ国の対10万人A型肝炎感染率を比較すると、最も感染率が高いのはパキスタン、次いでバングラデシュ、ボリビア、インド、スリランカと南アジアに多い傾向が認められた(表2)。

D. 考察

2010年の全国的なmulti-location outbreakの主要な原因となったIA-2のクラスターに属する株は、

2011年から2013年まで、国内が原因と思われる報告例は2011年の1例のみであった。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る。2013年の2例はフィリピンおよびタイからの輸入感染例と考えられる。

Genotype IIIAは今年検出された3株のうち、韓国で流行したクラスターに属するのは1株のみであった。他の2株はいずれも南アジアからの輸入感染例で、上記のクラスターとは異なる位置に属した。

A型肝炎は渡航者感染症でもあり、日本におけるA型肝炎感染者の1/3から1/4は海外での感染疑いである。各国・地域別日本人訪問者数から対10万人感染率を算出すると、従来、感染リスクが高いと言われてきた東南アジアよりも、パキスタン、バングラデシュ、インドなど南アジアの感染リスクの方が高い結果となった。東南アジアの衛生状態の改善とともに、東南アジア旅行者の予防意識の向上が要因と思われる。国内の感染では、40代、50代の感染者が多いが、海外感染率をもっとも高いのは20代であった。20代の海外渡航者は女性の方が多く一方で感染率は男性が有意に高く、予防対策や好む渡航先、渡航先での行動の男女差がA型肝炎感染に関与していると考えられる。

E. 結論

2010年の流行の主な原因となった株(IA-2)は2011年以降はほとんど見られず、日本には定着せずに消失した可能性が示唆されるが、フィリピン河川水調査の結果、本クラスターに属するHAVはフィリピンでは現在も流行していることが強く示唆され、旅行者や食品を介した日本への流入には引き続き注意を払う必要がある。台湾北部での流行株は日本の現在の常在株とは異なっており、限られたデータではあるが日本の流行との関連性はあまり高くないと思われる。ウイルスの分子疫学的な解析は流行状況把握の上で有用であり、今後もこのようなサーベイランスシステムを継続していくことは極めて重要であると考えられる。

A型肝炎は日本では稀な病気であるが、海外では常在、流行地域は珍しくない。多くの日本人は抗体を持っていないので、渡航前にワクチンを接種するのが望ましい。これは、個人の感染を防ぐためだけでなく、渡航先の医療機関の負担を減らすためにも必要である。地域別の感染者数を比較すると、渡航者が多い東南アジア、東アジアが相対的に患者報告数も多くなるが、各国・地域別日本人訪問者数10万人あたりに換算すると南アジアの感染率が高かった。A型肝炎はワクチンで防ぐことができる疾病である。A型肝炎ワクチン

の供給量は年々増加しており、平成 25 年度には小児用の適用拡大も承認された。「出かける前の肝炎ワクチン」を、より広く発信することが必要である。また、ワクチンの接種間隔やメーカー間の互換性、効果の持続期間など、臨床データの蓄積が今後の課題である。

全国サーベイランス共同研究者

吉崎佐矢香、佐藤知子、島田智恵、中村奈緒美、中島一敏（国立感染症研究所）
野田 衛、上間 匡（国立医薬品食品衛生研究所）
筒井理華（青森県）青木洋子（山形県）関根雅夫（仙台市）齊藤哲也（新潟市）原 孝（茨城県）山崎彰美（柏市）篠原美千代（埼玉県）新開敬行（東京都）涌井 拓（千葉県）清水英明（川崎市）宇宿秀三（横浜市）大沼正行（山梨県）長岡宏美（静岡県）吉田徹也（長野県）岡村雄一郎（長野市）小原真弓（富山県）柴田伸一郎（名古屋市）楠原 一（三重県）近野真由美（京都市）入谷展弘（大阪市）飯島義雄（神戸市）川西伸也（姫路市）榊原啓子（岡山市）榎本義正（福山市）岡本玲子（山口県）世良暢之（福岡県）川本大輔（福岡市）増本久人（佐賀県）上村晃秀（鹿児島県）

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Li T.C., Yang, T., Shiota T., Yoshizaki S., Yoshida H., Saito M., Imagawa T., Malbas F., Lupisan S., Oshitani H., Wakita T. and Ishii K. Molecular detection of hepatitis E virus in rivers in the Philippines. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, in press.
2. Shiota T., Li T.C., Yoshizaki S., Kato T., Wakita T. and Ishii K. Hepatitis E virus capsid C-terminal region is essential for the viral life-cycle: Implication in viral genome encapsidation and particle stabilization. Journal of Virology 87: 6031-6036, 2013.
3. 石井孝司. A 型肝炎、E 型肝炎 臨床と微生物 41: 72-78, 2014.
4. 石井孝司、清原知子. A 型肝炎ワクチン BIO Clinica 28: 25-29, 2013
5. 石井孝司、李天成. E 型肝炎の概要および検査法. 病原微生物検出情報 35: 3-4, 2014.
6. 石井孝司、李天成、恒光裕. 人獣共通感染症としての E 型肝炎. 病原微生物検出情報 35: 4-5, 2014.
7. 原田誠也、大迫英夫、吉岡健太、西村浩一、清田政憲、李天成、石井孝司. イノシシ、シおよびブタの E 型肝炎ウイルス感染状況調査-熊本県. 病原微生物検出情報 35: 9-10, 2014.
8. 石井孝司. E 型肝炎の慢性化、肝外病変について. 病原微生物検出情報 35: 13-14, 2014.

2. 学会発表

1. Ishii K. Epidemiological and genetic analysis of

hepatitis A virus infection in Japan. 15th International Conference on Emerging Infectious Diseases (EID) in the Pacific Rim. Singapore. March 10-14, 2013

2. 清原知子、石井孝司、多田有希、脇田隆宇: A 型肝炎のリスクアセスメント、第 17 回日本ワクチン学会、平成 25 年 11 月、津
3. 塩田智之、李 天成、吉崎佐矢香、西村順裕、清水博之、下島昌幸、西條政幸、脇田隆宇、石井孝司: E 型肝炎ウイルス感染性規定宿主因子の探索に関する研究、第 61 回日本ウイルス学会、平成 25 年 11 月、神戸
4. 石井孝司、李 天成、吉崎佐矢香、塩田智之、脇田隆宇: E 型肝炎ウイルスレプリコンの構築とレプリコン包埋 VLP 作成の検討、第 61 回日本ウイルス学会、平成 25 年 11 月、神戸

G. 知的所有権の取得状況

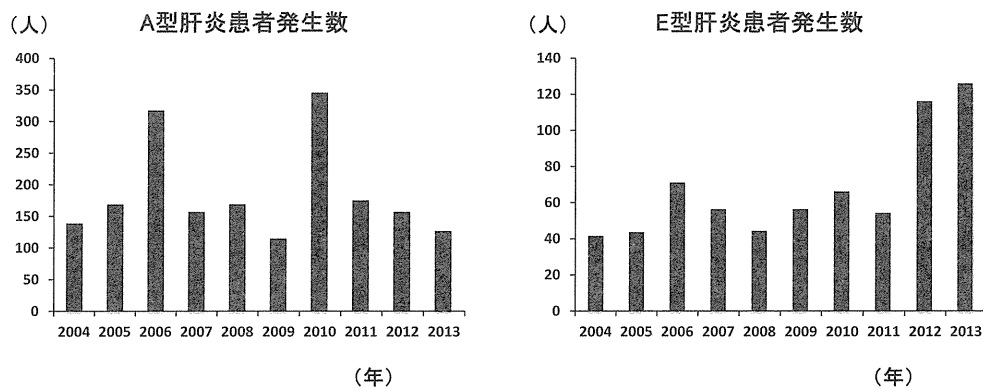
なし

表1. 重症A型肝炎患者報告数
(2008—2012年累計)

事象(総数)	年齢	性別
死亡(2)	95	女性
	79	男性
劇症肝炎(4)	67	女性
	57	男性
	57	男性
	56	男性
重症肝炎(5)	70	男性
	69	男性
	57	男性
	46	男性
	41	女性

感染症発生動向調査:2013年1月10日現在

図1. A型、E型肝炎患者発生数の推移



国立感染症研究所 感染症疫学センターのまとめによる

図2. 2013年の急性A型肝炎発生状況(暫定報告数)

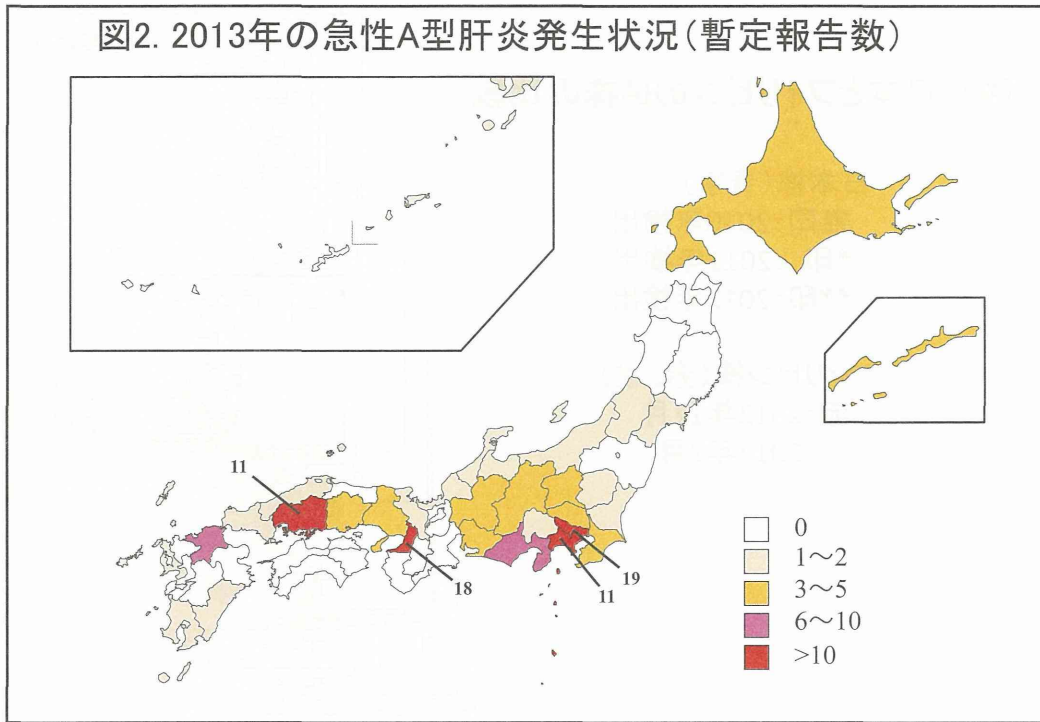


図3. 2013年の日本株
(青字)台湾株(赤字)

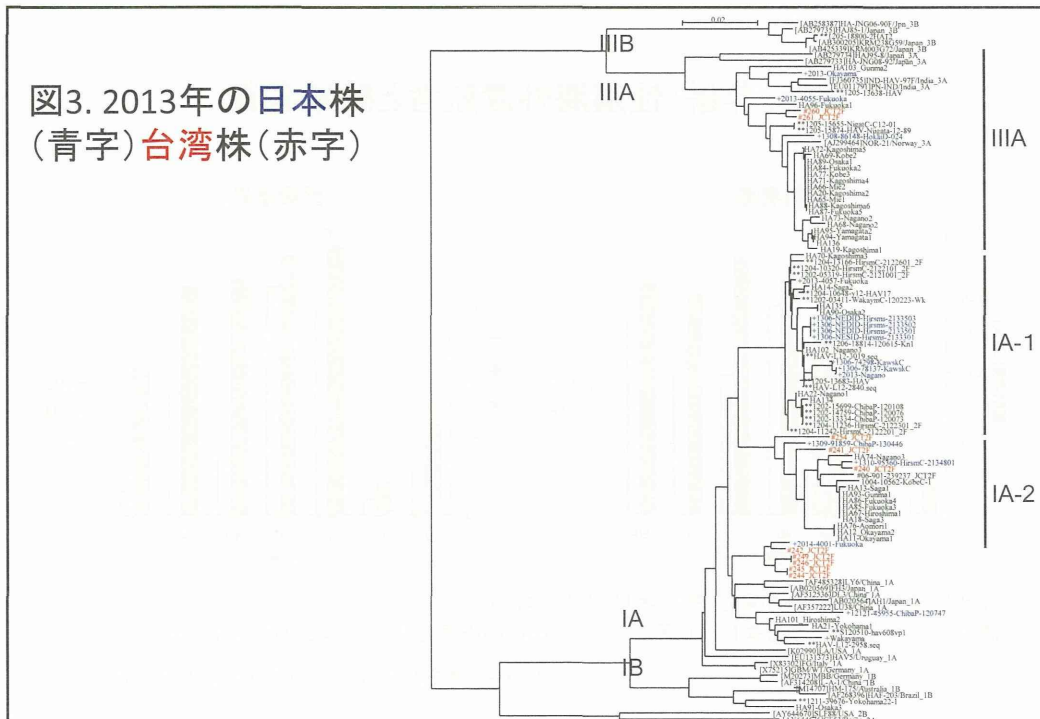


図4. 日本とフィリピンのIA株の比較

日本株 (青字)

無印: 2010年検出

*印: 2011年検出

**印: 2012年検出

フィリピン株 (赤、桃)

赤: 2012年12月

桃: 2013年7月

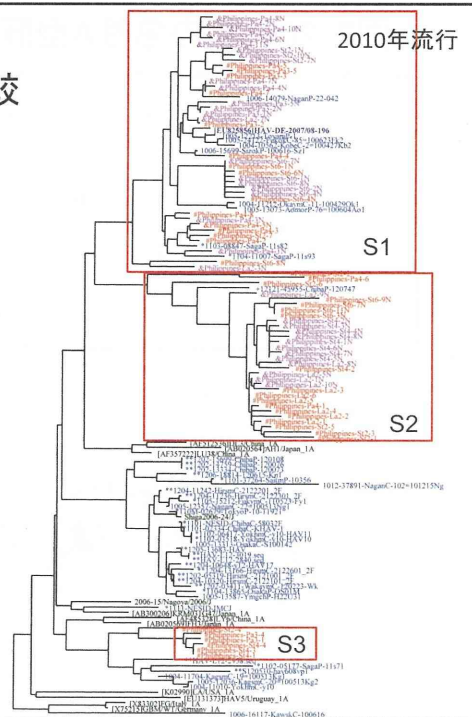
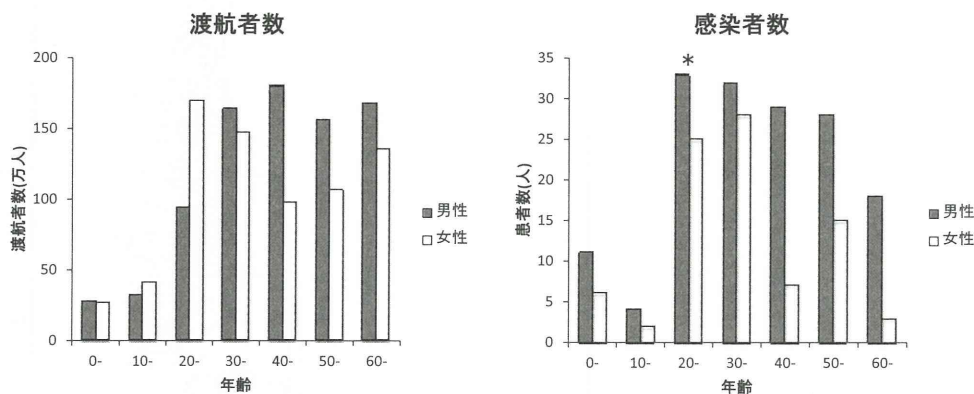


図5. 年齢・性別海外渡航者と感染者数



20代は渡航者は女性が多く、感染者は男性が多い。

渡航者男女比と患者男女比を比較したとき、20代のみ有意差が認められた (* $p < 0.05$)。

感染症発生動向調査: 2013年1月10日現在

表2. 邦人渡航者数上位30ヶ国の対10万人感染者数

国名	対10万人感染者数	国名	対10万人感染者数
パキスタン	46.4*	ブラジル	0.59
バングラデシュ	8.57	インドネシア	0.52
ボリビア	8.57	ロシア	0.50
インド	6.21	メキシコ	0.31
スリランカ	3.16	ベルギー	0.23
モンゴル	3.10	サイパン	0.23
モザンビーク	2.00	韓国	0.19
ペルー	1.99	マレーシア	0.10
ケニア	1.90	タイ	0.09
ネパール	1.75	イタリア	0.06
フィリピン	1.42	オーストラリア	0.05
ミャンマー	1.33	グアム	0.05
エジプト	1.13	シンガポール	0.04
カンボジア	1.00	フランス	0.03
アルゼンチン	0.85	中国	0.03

*集団感染を除くと29.0 日本旅行業協会資料、感染症発生動向調査:2013年1月10日現在

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25年度分担研究報告書

A型肝炎ウイルスに対する抗ウイルス剤の開発

研究分担者 横須賀 収 千葉大学大学院医学研究院消化器・腎臓内科学・教授

研究要旨: 各種宿主細胞因子に対する siRNAs を用いて, HAV IRES 依存性翻訳および HAV レプリコン増殖に対するにおける宿主細胞因子の解析を行なった. La の発現抑制により HAV IRES 依存性翻訳抑制および HAV レプリコン増殖抑制がみられた. 宿主細胞因子 La は HAV IRES 依存性翻訳および HAV レプリコン増殖に重要な分子の一つであることを明らかにした.

<研究協力者>

神田 達郎 (千葉大学大学院医学研究院・消化器・腎臓内科学・講師)

A. 研究目的

我々はこれまでにインターフェロン・アルファ, インターフェロン・ラムダ 1 およびアマンタジンなどが A 型肝炎ウイルス(HAV) internal ribosomal entry-site (IRES)を介して, HAV に対する抗ウイルス効果を持つことを報告してきた. 今回はHAVにより有効な治療法の開発を目指し, HAV 増殖に重要な宿主細胞因子を検討することを目的に以下の研究を行なった.

B. 研究方法

- 1) これまでに HAV IRES と相互作用する分子として eIF4E, PABP, La, PCBP2 (hnRNPE2), PTB (hnRNP I), GAPDH, eIF4G などが報告されている. はじめに, eIF4E, PABP, La, PCBP2 (hnRNPE2), PTB (hnRNP I), GAPDH, eIF4G など各種宿主細胞因子に対する siRNAs を作成し各分子のノックダウンを確認した.
- 2) 次に各 siRNA と HAV IRES レポーターを肝細胞に遺伝子導入しルシフェラーゼアッセイにより HAV IRES 活性を測定した. 各分子をノックダウンした場合の HAV IRES 活性に対する影響を検討した.
- 3) 前記 siRNA の HAV IRES に対する効果が見られた場合には, siRNA を HAV レプリコンとともに肝細胞に遺伝子導入し, ルシフェラーゼアッセイを用いて HAV レプリコン増殖に対する影響を検討した.
- 4) 非特異的抗 HAV 剤との併用効果も検討した.
- 5) また siRNA に代わる阻害剤を用いた検討も行

なった.

倫理面への配慮: 血清の解析に関しては千葉大学医学部倫理委員会に申請し, インフォームドコンセントに係る手続きを実施し, 提供試料, 個人情報情報を厳格に管理保存する. また, 一般論として弱者, 女性, 少数民族の疫学調査等を行う場合は倫理上十分配慮している.

C. 研究結果

- 1) La, GAPDH, PTB, PCBP2, PABP, eIF4E, eIF4G に対するそれぞれの siRNAs を作成し Huh7 細胞に遺伝子導入した. 48 時間後に細胞蛋白を回収し, Western Blot にて各分子のノックダウンを蛋白レベルで確認した.
- 2) 各宿主細胞因子に対する siRNAs による HAV IRES 活性の変化を Huh7 細胞を用いてレポーターアッセイにより検討した. コントロール siRNA と比較すると, La に対する siRNA (La-siRNA)をレポーター遺伝子と共に遺伝子導入した場合にのみ HAV IRES 活性が 59%と低下した. すなわち La-siRNA による HAV IRES 依存性翻訳の抑制を確認した. またコントロール siRNA と比較して, La-siRNA 使用時には細胞障害性の増加が見られないことを MTS アッセイにより確認した.
- 3) La-siRNA による HAV レプリコン増殖の抑制を用いて検討した. 遺伝子導入後 24-72 時間の検討では La-siRNA により HAV レプリコン増殖が 15-29%と低下した.
- 4) La-siRNA とアマンタジン 5 μ g/mL を併用することで HAV レプリコン増殖の抑制が増強することを確認した.
- 5) また JAK 阻害剤 SD-1029, AG490 により La の