

発現の減少がみられ、両薬剤の使用にて HAV IRES 活性の抑制を確認した。

- 6) HAV に関するウイルス感染実験を行なう準備として千葉大学に病原体等取扱変更申請を行い承認された (千大研第 13 号)。

#### D. 考察

HAV は急性肝炎の主要な原因の一つであり、HAV に対する抗ウイルス剤の開発は重要と考えられる。HAV そのものを標的とする Direct-acting antivirals (DAAs) および HAV 増殖に関与する宿主因子を標的とする Host-targeting agents (HTAs) により HAV 増殖の抑制がそれぞれ可能と考えられる。

HTAs の特徴としてはその抵抗性に高い遺伝的要因が関与すること、およびウイルスジェノタイプとは無関係に作用することなどが知られている。DAAs とは相補的に作用する可能性があり、両者併用により、強いウイルス増殖抑制の誘導が可能であると考えられる。

今回の検討では、宿主蛋白 La に対する siRNA により HAV IRES 依存性翻訳および HAV レプリコン増殖の抑制がみられることを確認した。

これまでに La 蛋白の発現を変化させる薬剤としては (-)-Epigallocatechin gallate, Iron chelator deferxamine (DFX), Ferric ammonium citrate, AZD1480 (Jak-Stat pathway 阻害剤), HBSC-11 などが報告されている。今回 JAK 阻害剤 SD-1029, AG490 により宿主蛋白 La の発現抑制、および HAV IRES 依存性翻訳抑制を確認した。今後は HAV ウイルスそのものに対する影響を検討する必要があると考えられた。

#### E. 結論

宿主細胞因子に対する siRNA を用いた検討を行なうことにより、La の HAV IRES 依存性翻訳における重要性を明らかにした。La の発現抑制により HAV IRES 依存性翻訳抑制、HAV 増殖抑制がみられた。

#### F. 研究発表

1. Wu S, Nakamoto S, Kanda T, Jiang X, Nakamura M, Miyamura T, Shirasawa H, Sugiura N, Takahashi-Nakaguchi A, Gono T, Yokosuka O. Ultra-Deep Sequencing Analysis of the Hepatitis A Virus 5'-Untranslated Region among Cases of the Same Outbreak from a Single Source. *Int J Med Sci.* 2013 Dec 20;11(1):60-4. Doi: 10.7150/ijms.7728. PMID: 24396287

#### G. 知的所有権の取得状況

1. 特になし

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

北海道地区献血者集団におけるHEV感染の実態解明

研究分担者 日野 学 日本赤十字社 血液事業本部 副本部長

**研究要旨：**北海道において2013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276,477名を対象に、20プールTaqMan RT-PCRによるHEV RNAスクリーニング調査を実施した。HEV RNA陽性者数は25名(男性19名、女性6名)で陽性頻度は0.009%(男性0.011%、女性0.006%)となり、過去最低を示した昨年とほぼ同様であった。陽性者の発生時期や居住地についても例年と変わりなく、季節性は見られず、約半数が都市部に集中していた。1名を除くすべてのHEV陽性者にHEV特異抗体は検出されず、ほとんどは感染初期の献血と考えられた。また、陽性者の約7割は献血前に動物内臓肉を摂取しており、zoonotic food-borne感染が疑われた。詳細に経過が追えた6例中4例は軽度の肝炎を発症した。陽性者のHEV遺伝子型はすべて3型で、サブタイプ3a株と3b株が約8割を占める状況は従来と変わらないが、近年、北海道士着株の割合が減少しつつある。さらに、HEV遺伝子型の出現パターンには道内各地域で大きな特徴がみられることから、HEV感染源は地域に密着したものと推測された。今後も道内のHEV感染動向に注目していく必要がある。

<研究協力者>

松林圭二、坂田秀勝、吉政 隆、飯田樹里、佐藤進一郎 (日本赤十字社北海道ブロック血液センター品質部)

A. 研究目的

本研究では、①献血者集団におけるHEV感染の実態を調査し、②輸血用血液によるHEV感染のリスク評価を行い、③適切な対策を講じることを目的とする。

B. 研究方法

昨年に引き続き、2013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276,477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。

HEV NAT検査は、まず20プール血漿検体265 $\mu$ LからQIAamp Virus BioRobot MDx Kit (Qiagen)を用いて核酸を抽出し、続いてORF2/3領域の75塩基をターゲットとするReal-time RT-PCR法により、QuantiTect Probe RT-PCR Kit (Qiagen)を用いてApplied Biosystems 7500で増幅・検出した。陽性検体はさらにプールを構成する20検体につい

て個別に検査を実施した。

HEV RNA陽性検体については、抗HEV IgM抗体およびIgG抗体をIgG/IgM anti-HEV EIA(特殊免疫研究所)で測定し、Real-time RT-PCR法により、HEV RNAの定量を行った。また、ORF2/412ntに基づくNJ法による分子系統樹解析をMEGA 6.0を用い、Lu (Rev. Med. Virol. 2006; 16: 5-36.)の分類法に基づきHEVのサブタイプを調べた。さらに陽性献血者に対しては、献血前の動物内臓肉喫食歴に関するアンケート調査を行うとともに、陽性が判明した献血から6ヵ月以内の遡及調査および献血後追跡調査を行った。

倫理面への配慮：検体はすべて匿名化されており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

2013年のHEV RNA陽性者数は25名(男性19名、女性6名)で、陽性率は献血者延べ1万人当たり0.9人(男性1.1名、女性0.6名、 $p=0.235$ )となり、統計的な有意差はないものの、男性優位の状況は変わっていない(図1、図2、表1)。陽性率は過去最も低かった昨年と比較すると男女ともにほぼ

同様の値となった(図1)。陽性者の年齢は昨年の43.5+/-10.2歳から若干下降し40.5+/-13.9歳であった。陽性者の発生時期については、例年同様、季節性は見られなかった(図2)。また、陽性者の居住地については約半数が都市部に集中しており、11例(44%)は札幌市在住者であった。

HEV RNA 陽性判明時の抗体保有状況については、1名を除くすべての陽性者からはIgM、IgGのいずれのHEV特異抗体も検出されず、感染初期に献血したと考えられた。

献血2か月以内の内臓肉喫食歴は67%と例年通り高く、献血後1か月以内に2回以上経過観察できた陽性者6名中4名が、ALTが45 IU/L以上となって軽度の急性肝炎症状を呈した(表1)。

HEV NAT 調査を開始した2005年から2013年までの9年間においては、HEV RNA 陽性者総数は279名(男性209名、女性70名)に達し、献血者延べ1万人当りの平均陽性者数は1.12人(男性1.33人、女性0.77人、 $p < 0.001$ )で有意な性差が認められた(表1)。

表1 HEV NAT スクリーニングのまとめ

■ 調査期間	2013.1 - 2013.12	2005.1 - 2013.12 (9yr)
■ 検査総数	276,477	2,484,249
■ 陽性者数	25	279
■ 陽性率	0.009% (1/11,059)	0.011% (1/8,904)
■ 年齢	40.5+/-13.9 (20-66)	41.3+/-11.9 (17-68)
■ 男:女	19:6 (76%:24%)	209:70 (75%:25%)
■ Genotype (G3:G4)	25:0	259:20 (93%:7%)
■ Anti-HEV抗体		
lgM(-)/lgG(-)	24 (96%)	229 (82%)
lgM(+)/lgG(-)	0	3 (1%)
lgM(+)/lgG(+)	0	34 (12%)
lgM(-)/lgG(+)	1 (4%)	13 (5%)
■ 動物内臓肉喫食歴 <sup>*1</sup>	9/13 (69%)	137/193 (71%)
■ 肝機能異常(ALT>45 IU/L)	4 <sup>*2</sup> /6 <sup>*3</sup> (67%)	47 <sup>*4</sup> /83 <sup>*3</sup> (57%)

\*1: 一般献血者の献血前動物内臓肉喫食歴 28%  
 \*2: peak ALT 71-269 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 48-3266 IU/L\*

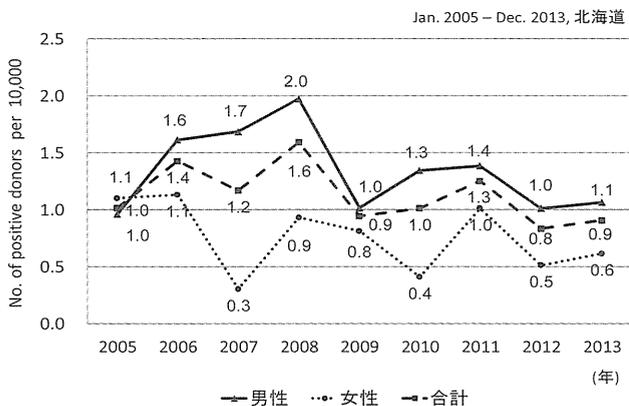


図1 HEV NAT 陽性率の年次推移

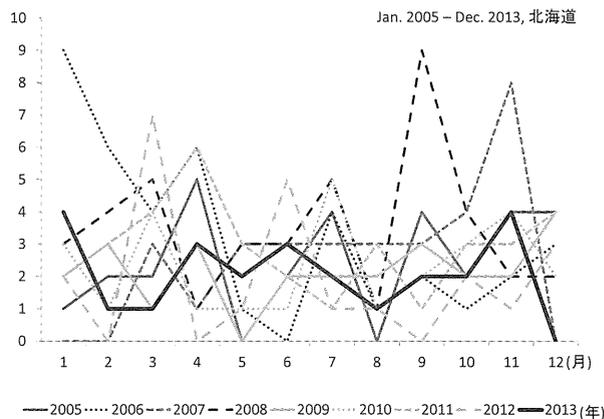


図2 HEV NAT 陽性者の月次発生数

HEV 遺伝子型・サブタイプの解析結果を図3と図4に示す。3a型と4c型については、北海道由来株からのみ構成されるクラスターとその他に分けられ、それぞれ北海道型(3a-1、4c-1)と全国型(3a-2、4c-2)とした。本年分離された株25例はすべて3型で、3a-1(3)、3a-2(8)、3b(10)、3e(1)、そして既報タイプに該当しないもの(3?:3)に分かれた。例年分離される4型株は1例もなかった。

過去9年間のHEV RNA 陽性者の道内献血者由来のHEV株は、3a(130例、3a-1:95、3a-2:35)、3b(107)、3e(14)、3i(1)、4b(3)、4c(15、4c-1:11、4c-2:4)、4g(1)の7つのサブタイプと既報のサブタイプには該当しない3型(3?:4)にタイプングされた。

HEV 遺伝子型・サブタイプについて道内の地方(振興局、旧支庁)別に集計した結果を図3に示す。陽性者は都市部に集中しているが、特に札幌市がある石狩地方(C1)は全体の半数以上を占めている。この地区の優占株は北海道士着タイプ(北海道型)の3a-1型と3b型であるが、旭川市のある上川地方(N1)では3b型が、函館市のある渡島地方(S1)では全国型3a-2型と3b型が、苫小牧市・室蘭市がある胆振地方(C2)では全国型3a-2型であった。また、4型株が占める割合は道内全体ではわずか7%と少ないが、陽性率が低い道東部の網走地方(E3)では57%、渡島地方(S1)でも24%と高くなっている。

HEV 遺伝子型・サブタイプの占有率の年次推移を図4に示す。いずれの年も3a型と3b型が主要な株で、2010年を除くすべての年で、これらの株が約8割を占めている。3a型については、2008年までは北海道型(3a-1)が優位な状況が続いたが、その後次第に全国型(3a-2)が増加し、2012

年には逆転して全国型が優位となり現在に至っている。また、近年、既報サブタイプに該当しない株 (3?) の割合も増加傾向にあるほか、2010年には3e型が多数確認され、特徴的な年となっている。

化は見られないものの、HEV 遺伝子型の出現状況は年々変化していることが明らかとなった。また、HEV 遺伝子型の出現パターンは地域によって大きく異なることから、道内においても HEV 感染源は各地域に密着したものと考えられ、従来から感染源の一つと考えられている動物内臓肉はこれに該当すると示唆される。

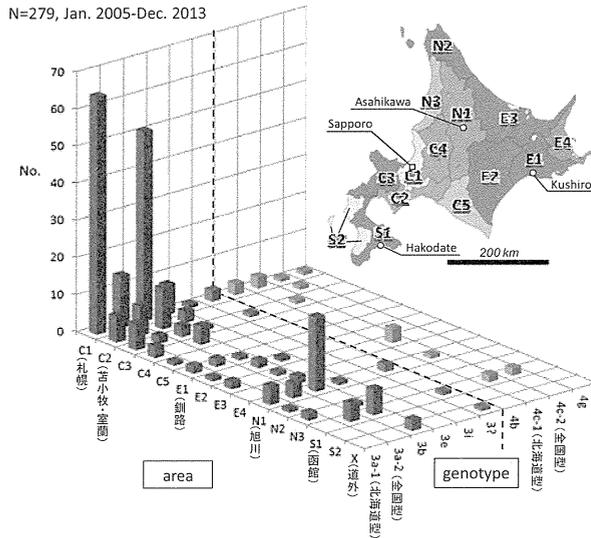


図3 HEV 遺伝子型の地理的分布

#### E. 結論

2013年の北海道の献血者集団におけるHEV感染者の発生状況は例年と同様で、献血者にHEV感染が定着している状況は従来と変わっていないが、HEV 遺伝子型の分布状況には地域性が認められ、年々変化している状況が確認された。今後もHEVの輸血感染防止のためにも、道内のHEV感染動向に注目していく必要がある。

#### F. 研究発表

1. 松林圭二, 坂田秀勝, 飯田樹里, 佐藤進一郎, 加藤俊明, 池田久實, 高本 滋, 北海道内献血者におけるHEV感染の実態解明, 第37回血液事業学会総会, 2013年10月21日, 札幌.

2. 松林圭二, 北海道献血者におけるHEV感染の状況, 病原体検出情報 Vol. 35, No. 1 (No. 407), 7-8, 2014.

#### 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

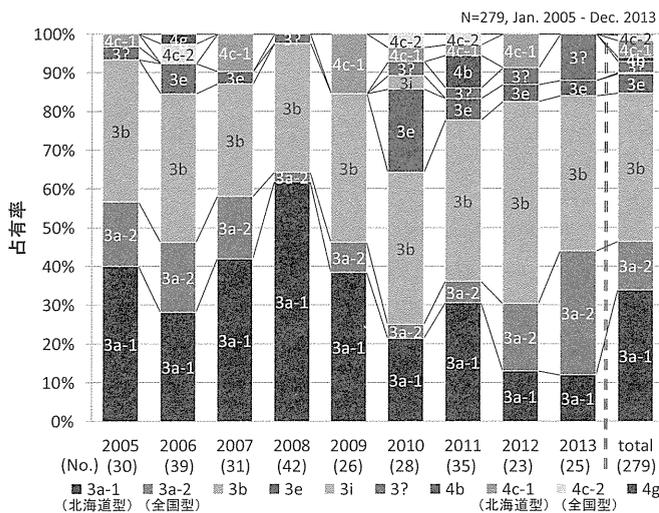


図4 HEV 遺伝子型・サブタイプの年次推移

#### D. 考察

2013年の北海道内献血者のHEV RNA陽性者の発生状況や特徴は、昨年とほぼ同様で、男性優位、3型株優位の感染状況が続いている。依然として内臓肉摂取歴を持つ陽性者の割合が多く、zoonotic food-borne感染が定着していると考えられる。過去9年間の動向を解析すると、陽性率に大きな変

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

北海道内 HEV 感染動向及び  
肝疾患既往と A, E 型急性肝炎重症化に関する研究

研究分担者 姜 貞憲  
手稲溪仁会病院 消化器病センター

**研究要旨：**本研究班における我々の課題は、HEV 高侵淫地域北海道で発症する E 型急性肝炎の実態を明らかにし、肝炎重症化の病態と重症例に対する至適治療法を解明し、さらに地域における HEV 伝搬経路を究明することである。本年度は HAV, HEV 感染症の重症化について宿主因子を中心に検討した。A 型肝炎では肝疾患既往、肥満が重症化に関連し、性別（男性）も関与する可能性が示された。背景には HAV 感受性年齢階層の高齢化が存在すると考えられた。E 型では既報の如く genotype 4 HEV の感染に加え、肝疾患既往が重症化に関連した。以上から E 型肝炎のみならず A 型でも中高年症例が増加し、肝疾患既往が重症化に関連すると考えられ、治療介入をはかる際に有用な情報と推測される。

〈研究協力者〉

狩野 吉康 札幌厚生病院 第3消化器科  
水尾 仁志 札幌勤医協中央病院 内科  
松居 剛志 手稲溪仁会病院 消化器病センター  
山崎 大 手稲溪仁会病院 消化器病センター  
永井 一正 手稲溪仁会病院 消化器病センター  
新井 雅裕 東芝病院 研究部  
高橋 和明 東芝病院 研究部  
岡本 宏明 自治医科大学  
感染・免疫学講座ウイルス学部門

A. 背景

HEV 高侵淫地域と見做されている北海道では、2007年に道内のHEV感染診断を支援する目的で北海道E型肝炎研究会（道E研）が発足し、結果的には全道的なHEV感染監視網としての機能も果たしてきた。2011年末にHEV感染検査が保険収載されその診断が保険診療で可能となったため、診断支援の歴史的役割は終了した。そこで道E研は2012年以降、E型肝炎の診断支援から施設横断的に臨床研究を推進する方向へ活動の軸足を移すこととなった。

B. 研究目的

道E研ネットワークに参加する全道の主要医療施設

で診療したE型肝炎症例を集積し、その病態、特に重症化の背景とHEV感染経路を究明する。また、症例の高齢化が著しいA型肝炎の臨床像を再度検討しA, E型肝炎両者での比較によりそれぞれの病態に対する理解を深めることを目的とした。

C. 研究方法

道E研は、研究施設（東芝病院研究部、自治医科大学感染・免疫学講座ウイルス学部門）の協力の下、道内医療施設が診療するE型急性肝炎を対象に、PCRによりHEV RNAを検出、HEV genotypeを決定し遺伝子系統解析による分子疫学的検討を行う。

さらに、手稲溪仁会病院消化器病センターで診療したA, E型急性肝炎の重症化に関連する因子について患者背景を中心に検討する。

なお、急性肝不全(acute liver failure; ALF)をPT INR>1.5またはPT活性≤40%、アルコール性肝障害を清酒3合に相当するエタノール摂取で5年以上、非活動性HBV carrierを急性肝炎診断時HBV DNA<4Log copies/ml且つ急性肝炎沈静化後年2回以上の血液検査でALT<40IU/Lと定義した。Acute on chronic liver failureはAPASLの定義(PT>1.5, 総bilirubin>5mg/dl)を用いた。

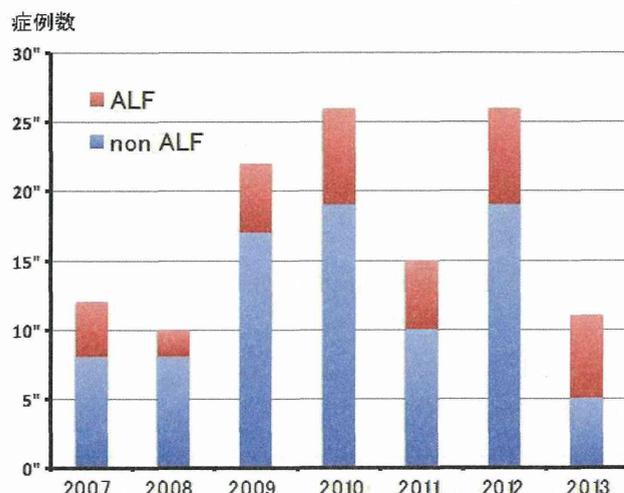


図1. 2013年度のHEV感染登録数は2012年に比して減少したが重症化症例数には著変なかった。

表1. A型急性肝炎の臨床像

症例数, n	27
年齢 <sup>§</sup>	44, 18-67
性別, M/F, n	16 / 11
既往肝疾患, n	10 (37.0%) <sup>#</sup>
飲酒量 <sup>a</sup> , g/day	27.1 ± 46.5
入院時体重 <sup>§</sup> , kg	61.4, 43.4-83.0
入院時BMI <sup>§</sup>	22.5, 16.9-28.4
AST <sup>§, ¶</sup> , IU/L	2180, 126-16937
ALT <sup>§, ¶</sup> , IU/L	3675, 458-9324
Total Bilirubin <sup>§, ¶</sup> , mg/dl	7.2, 3.3-11.7
PT, 活性% <sup>§, †</sup>	56, 23-124
PT INR <sup>§, ¶</sup>	1.45, 0.86-3.55
ALF, n	10 (37.0%)
入院期間 <sup>§</sup> , 日	16.5, 5-46
転帰, 生存 / 死亡, n	27 / 0

§ ; median, range, ¶ ; peak level, † ; nadir level, a : mean ± STD, PT: prothrombin time, ALF; acute liver failure defined as PT INR > 1.5

表2. E型急性肝炎の臨床像

症例数, n	45
年齢 <sup>§</sup>	51, 19-71
性別, M/F, n	35 / 10
既往肝疾患, n	16 (35.6%) <sup>#</sup>
飲酒量 <sup>a</sup> , g/day	43.8 ± 42.5
入院時体重 <sup>§</sup> , kg	67.0, 50.0-99.0
入院時BMI <sup>§</sup>	24.2, 18.4-33.7
AST <sup>§, ¶</sup> , IU/L	2000, 32-1544
ALT <sup>§, ¶</sup> , IU/L	2422, 64-17900
Total Bilirubin <sup>§, ¶</sup> , mg/dl	4.8, 0.4-39.9
PT, 活性% <sup>§, †</sup>	51, 5-102
PT INR <sup>§, ¶</sup>	1.37, 0.92-27.51
HEV RNA genotype ? / 3 / 4, n	1 / 15 / 29
ALF, n	20 (44.4%)
肝性脳症	4 (8.9%)
入院期間 <sup>§, *</sup> , 日	22, 4-116
転帰, 生存 / 死亡, n	43 / 2

§ ; median, range, ¶ ; peak level, † ; nadir level, a : mean ± STD, \* : 外来通院治療例は10例 PT: prothrombin time, ALF; acute liver failure defined as PT INR > 1.5

## D. 研究結果

### 1) 2012-3年における道E研登録症例の推移

図1に初診時期による各年次の道E研登録症例数を示す。2012年は登録症例数が26例であり、同年のHEV感染発症数の増加が際立つが、2013年は11例であった。抗HEV抗体検査の保険収載は2011年末からであり、2013年にはその事実がいよいよ周知され登録数が減ったと思われる。居住地別の症例数は札幌圏8例、函館2例、北見1例で、登録医療施設は8施設であった。病型は急性肝不全が6例で、そのうち1例は肝性昏睡を合併（劇症化）し死亡した。最近5年間ではALFの登録数に著変ないことから、2013年に道E研への登録数は減少したものの重症例を扱う基幹医療施設からの登録は維持されていることがうかがえる。道E研による重症例の集積が今後もある程度可能か否かは留意が必要と思われる。

2007年から13年迄に道E研に集積したE型急性肝炎症例は合計122例となった。

### 2) A, E型肝炎における肝疾患既往の意義

1998-2013年に手稲溪仁会病院消化器病センターで診療したA型(n=27)及びE型(n=45)急性肝炎を対象とし、その臨床像を調べ特にALFを呈した症例の背景因子を検討した。

表1, 2に示す如くA型、E型急性肝炎症例の年齢中央値は44歳、51歳であった。E型感染年齢は従前の報告と同様と思われるが、A型では衛生環境の向上に伴いHAV感受性年齢の中老年化が観察された。肝疾患既往はA型37%、E型35.6%でみられた。E型では4例に肝性昏睡が合併し、2例が死亡の転帰をたどった。

A型で重症化(ALF)を呈した10例では、通常の経過を辿った17例に比して男性が多い傾向を認め、既往肝疾患を有する症例は70%と多く、発症時体重及びbody mass index(BMI)が高いことが示された(表3)。

E型では年齢及び性と重症化の関連は明らかではなく、他方、肝疾患既往と感染HEV genotype 4がALFに関連した(表4)。

A型、E型急性肝炎症例における既往肝疾患の頻度を図2, 3に示す。既往肝疾患の内訳は、A型ではアルコール性肝疾患と非活動性HBV carrier、E型ではアルコール性と脂肪肝を合計すると肝疾患既往全体の約6割を占めた。

### 急性肝不全症例において

肝疾患既往例が占める割合は、A型では急性肝不全の70%を占め(図2)、E型でも同じく20例中11例と過半数であった(図3)。

表3. A型急性肝炎による急性肝不全の臨床像

病型	Self limited (n=17)	ALF (n=10)	P value <sup>#</sup>
年齢 <sup>§</sup>	39.8 ± 12.8	48.0 ± 12.2	0.1050
>44歳、n	7 (41.2%)	7 (70.0%)	0.1478
性別、M/F、n	8 / 9	8 / 2	0.0925
既往肝疾患、n	3 (18.8%)	7 (70.0%)	0.0065
飲酒量 <sup>§</sup> 、g/day	17.3 ± 36.9	43.6 ± 57.8	0.1586
入院時体重 <sup>§</sup> 、kg	58.8 ± 9.3	69.9 ± 10.4	0.0091
入院時BMI <sup>§</sup>	22.1 ± 3.1	24.7 ± 2.8	0.0362
AST <sup>§、¶</sup> 、IU/L	4095.5 ± 4911.4	3408.8 ± 1461.9	
ALT <sup>§、¶</sup> 、IU/L	3678.2 ± 2530.0	4185.8 ± 1391.7	
Total Bilirubin <sup>§、¶</sup> 、mg/dl	7.0 ± 4.1	8.2 ± 2.4	
PT、活性% <sup>§、♭</sup>	72.3 ± 20.8	40.6 ± 11.5	0.0002
PT INR <sup>§、¶</sup>	1.25 ± 0.19	2.10 ± 0.64	< 0.0001
入院期間 <sup>§</sup> 、日	13.9 ± 6.9	22.3 ± 9.4	0.0154
転帰、生存 / 死亡、n	16 / 0	10 / 0	

§: mean ± STD, ¶: peak level, ♭: nadir level, #: by Chi-square test or Student's t-test  
PT: prothrombin time, ALF; acute liver failure defined as PT INR > 1.5

表4. E型急性肝炎による急性肝不全の臨床像

病型	Self limited (n=25)	ALF (n=20)	P value <sup>#</sup>
年齢 <sup>§</sup>	48.8 ± 13.8	51.6 ± 12.2	
>51歳、n	12 (48%)	13 (65%)	
性別、M/F、n	21 / 4	14 / 6	
既往肝疾患、n	5 (20%)	11 (55%)	0.0148
飲酒量 <sup>§</sup> 、g/day	42.7 ± 40.8	44.9 ± 45.2	
入院時体重 <sup>§</sup> 、kg	67.8 ± 10.5	67.4 ± 15.6	
入院時BMI <sup>§</sup>	24.3 ± 10.5	24.3 ± 4.2	
AST <sup>§、¶</sup> 、IU/L	1299.4 1290.5	5107.8 ± 3744.0	< 0.0001
ALT <sup>§、¶</sup> 、IU/L	1732.5 ± 1420.4	4873.3 ± 3675.7	0.0003
Total Bilirubin <sup>§、¶</sup> 、mg/dl	5.1 ± 7.8	15.1 ± 10.2	0.0006
HEV genotype 4、n	12 (48%)	17 (85%)	0.0040
PT、活性% <sup>§、♭</sup>	78.7 ± 15.8	28.7 ± 11.0	< 0.0001
PT INR <sup>§、¶</sup>	1.2 ± 0.1	3.9 ± 5.7	0.0258
入院期間 <sup>§</sup> 、日	18.1 ± 17.1	38.8 ± 30.2	0.0238
転帰、生存 / 死亡、n	25 / 0	18 / 2	

§: mean ± STD, ¶: peak level, ♭: nadir level, #: by Chi-square test or Student's t-test  
PT: prothrombin time, ALF; acute liver failure defined as PT INR > 1.5

急性肝不全のうち肝疾患既往の7例における既往肝疾患はアルコール性2例、脂肪肝2例、健診などの肝障害歴2例、非活動性HBV carrier 1例であった。また、E型急性肝不全のうち肝疾患既往11例では、アルコール性4例、脂肪肝3例、非活動性HBV carrier 2例、健診肝障害既往2例であった。

APASLの定義に適合するacute on chronic liver failureは、A型で3例(11%)、E型では7例(16%)であり、これらは、図2、3の如く肝疾患既往急性肝不全A型10例、E型20例に包含された。Acute on chronic liver failure合計10例の転帰は全例生存であり、肝疾患既往急性肝不全(A型7例、E型11例)の転帰とかわらなかった。A型27症例、E型45例の対象では、既往肝疾患を有する症例で急性肝不全のリスクが高い可能性が示され、APASLによるacute on chronic liver failureの定義を満たさない急性肝不全症例も少なくなかった。

E. 結論

2013年度に道E研に集積したHEV感染例は急性肝不全の割合が高かった。

宿主背景の再検討により、HAV感受性年齢の上昇によるA型肝炎症例の中高齢化を背景に肝疾患既往例が増加し急性肝炎重篤化に関与していると推測される。E型ではgenotype 4の他に肝疾患既往が急性肝不全に関連する因子であることが示された。

急性肝不全への進行に関連する可能性がある既往肝疾患としては、アルコール性肝障害、脂肪肝、非活動性HBVキャリアなどが挙げられる。それら既往肝疾患の病態、進行度と急性肝不全進行との関連は今後の検討課題と考えられる。

F. 研究発表

1. 学会発表

- 1) 姜貞憲、水尾仁志、狩野吉康、高橋和明、新井雅裕、岡本宏明 遺伝子型4 new Sapporo strainによるE型急性肝炎の臨床像と重症化因子 第49回

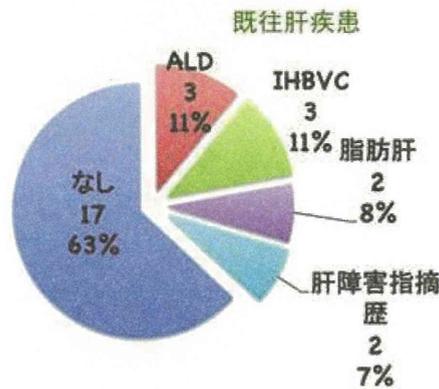
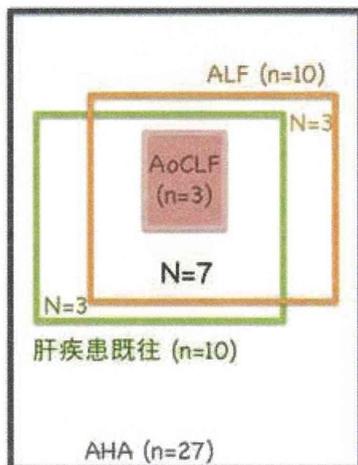


図2. A型急性肝炎由来急性肝不全と肝疾患既往

AHA; A型急性肝炎、ALF; acute liver failure, AoCLF; acute on chronic liver failure, ALD; alcoholic liver disease, IHBVC; inactive HBV carrier

日本肝臓学会総会 東京 2013  
年6月7

日

2) Jong-Hon Kang, Yoshiyasu Karino, Hitoshi Mizuo, Kazuaki Takahashi, Masahiro Arai, Hiroaki Okamoto, and Shunji Mishiro

Reemerging Hepatitis E Epidemic in Sapporo, Japan, Caused by a Monophyletic and Virulent HEV Strain within Genotype 4. The 48<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver, Amsterdam, 2013年4月27日

3) Jong-Hon Kang, Yoshiyasu Karino, Hitoshi Mizuo, Takeshi Matsui, Kazuaki Takahashi, Masahiro Arai, Hiroaki Okamoto, and Shunji Mishiro. Acute hepatitis E Caused by Monophyletic HEV Strain Responsible for Remerged Epidemics in Sapporo, Japan. The 64<sup>th</sup> Annual Meeting of the American Association for the Study of the Liver Diseases Washington DC, 2013年11月2日

4) 姜貞憲, 松居剛志, 山崎大, 永井一正, 辻邦彦, 児玉芳尚, 桜井康雄, 真口宏介 A型急性肝炎の重症化背景並びに Acute on Chronic Liver Failure への関与 第40回日本肝臓学会西部会, 岐阜、2013年12月6日

## 2. 研究論文

- 1) 姜貞憲 E型肝炎ウイルス 別冊日本臨床感染症症候群 (上) 病原体別感染症編 2013; 541-544.
- 2) 姜貞憲 E型肝炎の実態と診断法の進歩 Modern Physician 2013; 33: 511-514.
- 3) 姜貞憲 E型肝炎:北海道・札幌地区での観察病原微生物検出情報月報 2014; 35: 5-7.

## 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

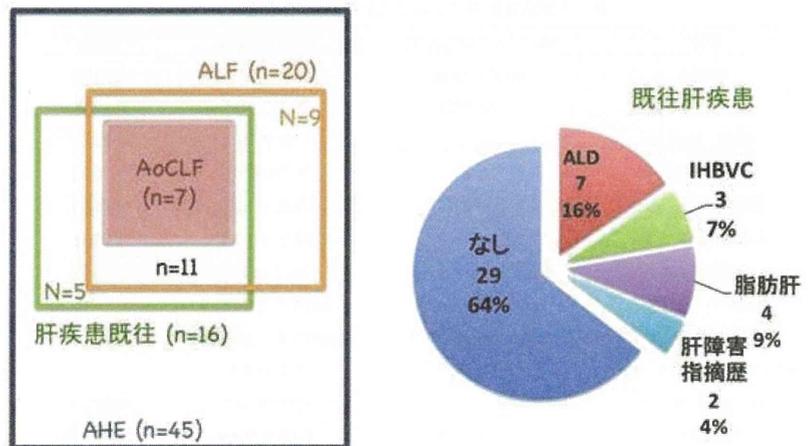


図3. E型急性肝炎由来急性肝不全と肝疾患既往  
AHE; E型急性肝炎、ALF; acute liver failure, AoCLF; acute on chronic liver failure, ALD; alcoholic liver disease, IHBVC; inactive HBV carrier

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

岩手県を中心とした北東北地区における急性 A 型及び E 型肝炎の実態  
：過去 10 年間の変遷

分担研究者：鈴木一幸 岩手医科大学 名誉教授  
(現 盛岡大学 栄養科学部 教授)

研究要旨：岩手医大消化器・肝臓内科では岩手県を中心とした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きた。このシステムを利用して、2004 年から 2013 年 12 月末までに登録された急性肝障害例についてその成因、臨床病型を再検討し、急性 A 型及び E 型肝炎の実態と時代的変遷を明らかにした。急性肝障害の全登録数は 487 例であり、ウイルス性急性肝障害と診断された 135 例を解析した。急性 A 型肝炎は 10 例、急性 E 型肝炎は 23 例であり、年次的症例数をみると、A 型は年間 0~1 例、E 型は年間 2~4 例で、経口感染によるウイルス性急性肝炎の主体は E 型になってきていた。臨床病型との関連では、A 型及び E 型とも通常型の急性肝障害例が多く重症型あるいは劇症化例は少数であった。遺伝子型は A 型では IA のみならず IIIA 型が、E 型では 4 型による感染例も散見されるようになってきていた。一方、感染源（推定）は A 型及び E 型とも不明な例が多数存在していた。生鮮食品・飲料水などの国内流通がより広範囲になってきている現況から、地域性が少なくなり、北東北地区では従来みられた遺伝子型以外の HAV および HEV 感染の危険性が拡大してきている可能性が示唆された。

<研究協力者>

岩手医科大学 消化器内科・肝臓分野 教授  
滝川康裕  
岩手医科大学 消化器内科・肝臓分野 講師  
宮坂昭生  
岩手医科大学 消化器内科・肝臓分野 助教  
片岡晃二郎  
岩手医科大学 消化器内科・肝臓分野 助教  
宮本康弘

ある A 型肝炎については北東北地域において明らかな流行性はみられていないが、E 型肝炎との臨床像の差異など検討すべき課題が残されている。

本年度は、2004 年より 2013 年 12 月までに登録された急性肝障害例について成因、臨床病型などを再検討し、A 型(AH-A)および E 型急性肝炎(AH-E)と確定診断された症例について、年次推移、遺伝子型、臨床像、予後などを検討した。

B. 研究方法

当科では、2004 年より「難治性の肝胆道疾患調査研究」班で作成した劇症化予知式に基づいて、北東北 4 県の 40 施設と共同で、急性肝障害患者の登録、搬送システムを構築し、劇症化予知・予防に関するプロスペクティブスタディを行っている。また、2009 年 8 月からは、全急性肝障害の登録および血清保存を進め、成因ウイルスの検索などを進めている。本研究では、このシステムの調査結果を基にして行った。

対象は、2004 年 1 月から 2013 年 12 月末までの

A. 研究目的

我々は北東北地区において急性肝障害患者の登録システムを構築し、成因と予後に関する調査研究を行ってきた。E 型肝炎ウイルス (HEV) による感染の血清学的診断法については血清 IgA 抗体の測定が平成 24 年度より保険承認されたが、日常診療の場では十分に普及しておらず、成因不明の急性肝障害症例における E 型肝炎の実態（感染源または経路、臨床像、予後など）は未だ十分に明らかになっていない。一方、同じ経口感染症で

間に登録された急性肝障害 487 例のうち HAV 及び HEV による急性肝炎と診断された症例について解析した。

HAV の確定診断は IgM-HA 抗体の測定により行い、後日保存血清を用いて遺伝子型も測定した。HEV の確定診断は IgG-HEV, IgM-HEV および IgA-HEV 抗体を測定し、陽性例については HEV-RNA の測定を行い初感染か否かを判定した。また、HEV-RNA 陽性例については HEV 遺伝子型を測定した。なお、HEV の診断ならびに HAV/HEV 遺伝子型の測定は自治医科大学感染・免疫学講座に依頼して行った。

倫理面への配慮：本研究は岩手医科大学倫理委員会の研究承認を受け、また、患者情報の送付に関しては各施設で患者の承諾を得たうえで行った。

### C. 研究結果

#### 1. ウイルス性肝障害の頻度と臨床病型

対象期間内に 487 例が登録されたが、ウイルス性肝障害と判定された例は 135 例(27.7%)であった。非ウイルス性肝障害は 352 例(72.7%)であったが、このなかには自己免疫性肝炎、薬物性肝炎、肝炎以外の成因による肝障害(循環障害、アルコール性、代謝性、中毒性)、成因不明(成因検索が不十分な例も含む)が含まれる。

ウイルス性肝障害の成因別頻度では、A 型 10 例(7.3%)、B 型急性感染 25 例(18.5%)、B 型キャ

リアの再燃 46 例(34.1%)、B 型 de novo 4 例(3.0%)、E 型 23 例(17.3%)、その他のウイルス群(サイトメガロウイルス、EB ウイルス、パルボウイルスなど) 27 例(20.0%)であり、全体としては B 型関連の急性肝障害例が半数強を占めた。

臨床病型では、急性肝障害(通常型) 314 例、急性肝不全(非昏睡型) 67 例、急性肝不全昏睡型(急性) 4 例、急性肝不全昏睡型(亜急性) 11 例、ACLF(acute on chronic liver failure) 87 例、LOHF(late onset liver failure) 4 例であった。

#### 2. AH-A の臨床像

10 例の内訳を表 1 に示す。男性 8 例、女性 2 例であり、年齢は 22 歳から 69 歳であった。臨床病型は 1 例で重症型を示したが、他は通常の急性肝障害型であった。年次的推移をみると、2004 年 1 例、2006 年 2 例、2007 年 1 例、2009 年 2 例、2010 年 1 例、2011 年 2 例、2013 年 1 例であり、観察できない年もみられた。遺伝子型では未測定 of 1 例を除き IA が 6 例、IIIA が 3 例のうち 2 例は国内感染例であった。感染源については、生カキ、レバー刺しの摂取など明らかに経口感染によると思われる例が 6 例と半数以上を占めたが、4 例は不明であった。

#### 3. AH-E の臨床像

23 例の内訳を表 2、3 に示す。男性 18 例、女性

表1. A型肝炎例の内訳

No	性別	感染経路	年齢	臨床病型	遺伝子型	転帰
1	女	不明	38	急性肝障害	IA	生存
2	女	生カキ	69	急性肝障害	IA	生存
3	男	不明	54	急性肝障害	IA	生存
4	男	インド旅行	22	急性肝不全非昏睡型	IIIA(インド株)	生存
5	男	アジア出張	40	急性肝障害	IA(バリ島株)	生存
6	男	海産物摂取	54	急性肝障害	IA	生存
7	男	不明	45	急性肝障害	IA	生存
8	男	不明	29	急性肝障害	IA	生存
9	男	レバ刺?	52	急性肝障害	IIIA(韓国株)	生存
10	男	レバ刺?(9と一緒に)	49	急性肝障害	IIIA(韓国株)	生存

表2. E型肝炎例の内訳(1)

No	年度	性	感染経路	年齢	臨床病型	遺伝子型	転帰
1	2004	女	焼き鳥、串刺し業務	54	急性肝不全非昏睡型	3us	生存
2	2004	男	不明	65	急性肝炎	3jp	死亡
3	2005	男	鹿肉、牛レバー	39	急性肝炎	3jp	生存
4	2005	男	猪肉すき焼き	50	急性肝炎	3jp	生存
5	2005	女	不明	43	急性肝炎	3jp	生存
6	2006	男	不明	52	急性肝炎	3jp	生存
7	2006	男	湧水、焼き肉?	68	急性肝炎	3jp	生存
8	2007	男	不明	71	急性肝炎	3jp	生存
9	2009	男	牛レバー、馬刺し	83	急性肝炎(秋田)	3us	生存
10	2009	男	不明	57	急性肝炎	3us	生存
11	2009	男	不明	53	急性肝炎	3us	生存

表3. E型肝炎例の内訳(2)

No	年度	性	感染経路	年齢	臨床病型	遺伝子型	転帰
12	2010	女	不明	59	急性肝炎	3jp	生存
13	2010	男	湧水	51	急性肝炎	3jp	生存
14	2010	男	不明	74	急性肝炎	4	生存
15	2010	女	不明	18	急性肝炎	3jp	生存
16	2011	男	不明	75	急性肝炎	3jp	生存
17	2011	男	不明	41	急性肝炎	3jp	生存
18	2011	男	不明	72	LOHF	4	死亡
19	2011	女	不明	51	急性肝炎	3us	生存
20	2012	男	不明	46	急性肝炎	回復期(-)	生存
21	2012	男	レバー	61	急性肝不全非昏睡型	3us	生存
22	2012	男	不明	55	急性肝炎	4	生存
23	2013	男	不明	79	急性肝炎	3jp	生存

5例と男性に多い傾向を示し、過去の報告と同様であった。年齢は18歳から79歳まで広く分布し

ていた。臨床病型は通常型の急性肝障害20例、重症型2例、LOHF1例であった。感染源(推定)

の検討では、獣肉摂取歴、湧水摂取歴を有する例をそれぞれ5例、2例に認めたが、感染源不明例が16例と多数を占めた。一方、遺伝子型の検討では、回復期の保存検体のみであった1例を除いた22例で測定可能であったが、3型が19例、4型が3例であった。また、サブタイプを検討すると、3型ではヨーロッパ型も4例に認められた。年次的推移で検討すると、2007年以前はすべて3型であったが、2009年以降では4型が散見されるようになってきた(図1)。

#### D. 考察

過去10年間における北東北地区における急性肝障害の発生調査研究により、経口感染によるウイルス性急性肝障害例においてはHAVよりもHEVによる例が主体となってきていることが明らかとなった。また、HAVおよびHEVの遺伝子型では、東北地区では以前はHAVではIAが、HEVでは3型が中心であったが、近年はHAVではIIIAが、HEVでは4型が散見してきている傾向が認められた。

一方、感染源や感染経路については、依然として不明な例が多く存在している。日常生活の中で摂取している生鮮食品のなかにHAVおよびHEV感染の危険性がある食材が拡大してきている可能性があるが、それらの感染源の同定はなかなか難しいのが現状である。A型、E型肝炎と診断された例については再度詳細な病歴聴取を行い感染源と感染経路の探索を今後も継続することが予防対策の上で重要と考えられる。

#### E. 結論

岩手県を中心とした北東北地区における過去10年間(2004~2013)の急性肝障害例の発生状況を検討し、A型及びE型肝炎の発生数、臨床像、

遺伝子型の違いなど最近の実態を明らかにした。いずれの経口感染ウイルスについても今後感染源の更なる検討が必要である。

#### F. 健康危険情報

該当なし

#### G. 研究発表

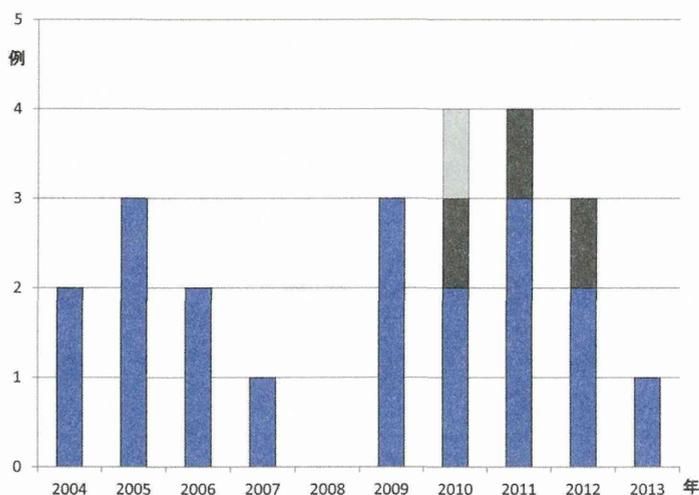
##### 1. 論文発表

1. Takikawa Y, Harada M, Wang T, Suzuki K. Usefulness and accuracy of the international normalized ratio and activity percent of prothrombin time in patients with liver disease. *Hepatol Res* 92-101, 2014
2. 滝川康裕、鈴木一幸. 肝疾患 急性肝不全の予後. *肝胆膵* 2013; 66: 391-393.
3. Wang T, Takikawa Y, Watanabe A, Kakisaka K, Oikawa K, Miyamoto Y, Suzuki K. Proliferation of mouse liver stem/progenitor cells induced by plasma from patients with acute liver failure is modulated by P2Y2 receptor-mediated JNK activation. *J Gastroenterol* 2014; in press.

##### 2. 学会発表

1. 小野寺美緒、滝川康裕、柿坂啓介、片岡晃二郎、宮本康弘、黒田英克、宮坂昭生、鈴木一幸. 急性肝不全の昏睡発現率とN-アセチルシステインの昏睡発現阻止効果に関する検討. 第49回日本肝臓学会総会、2013年6月7日、東京.
2. 小野寺美緒、滝川康裕、鈴木一幸. 急性肝障害の昏睡発現予知におけるProthrombin index slopeの有用性の検討. ワークショップ2「急性肝不全の予後改善に向けた病態理解と治療の進歩」第17回日本肝臓学会大会、2013年10月9日、東京.

図1. E型肝炎の年次発生数と遺伝子型



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

東京都内の一病院で最近経験した6例の急性E型肝炎

研究協力者 時田 元

国家公務員共済組合連合会三宿病院消化器科・臨床検査科、医長

**研究要旨：**東京都内の一病院で2012年9月から2013年6月の10ヶ月間に6例の急性E型肝炎を経験した。性別は男4例・女2例、年齢は31歳から71歳であった。全例国内で感染したと推定され、発症年月は2012年9月に1例、2012年12月に2例、2013年2月に2例、2013年6月に1例であった。患者間に接点はなかった。HEV genotypeは3jp型4例、3us型1例、4型1例であった。劇症化例はなく全例無治療で軽快したが、genotype 4型の1例はgenotype 3型の5例よりも重症であった。

いずれも散发例で感染源も確定できなかったが、多様な料理を志向する現在のライフスタイルが都市部の散发性急性E型肝炎多発の一因となっている可能性が示唆された。東京都心部でも急性E型肝炎は決して稀な疾患ではないので、急性肝炎の原因検索にはIgA型HEV抗体測定が必須である。

〈共同研究者〉

中山 聡 (同消化器科、医長)  
村島直哉 (同消化器科、部長)  
又木紀和 (同内科、医長)  
近藤壽郎 (同副院長)

得した。検体は全て匿名化し、患者が特定できないようにした。したがって、個人のプライバシーを侵害することはない。また保存血清中にはヒトの遺伝子は含まれない。

#### A. 研究目的

2011年10月にIgA型HEV抗体の測定が保険適応になり、急性E型肝炎の診断が一般の医療機関でも可能になった。それに伴い今後本邦における急性E型肝炎の実態がより明らかになることが期待される。急性E型肝炎は以前から北海道内で多発することが知られているが、最近東京都内の一病院で6例の急性E型肝炎を経験したので報告する。

#### B. 研究方法

IgA型HEV抗体が測定可能になった2012年3月から2013年6月までに当院で経験したIgA型HEV抗体陽性急性肝炎6例を対象とした。入院時の保存血清を用いて、自治医科大学医学部感染・免疫学講座ウイルス学部門でHEV RNAの有無をPCR法で測定した。HEV RNAが陽性の場合、さらにORF2領域412ntの塩基配列を決定し、分子系統樹解析を行った。

倫理面への配慮：研究用の採血および血清保存に際しては、全員にインフォームドコンセントを取

#### C. 研究結果

他院からの紹介は3例あったが、紹介元でIgA型HEV抗体が測定されていた例はなかった。HCV抗体、HBs抗原、IgM型HBc抗体、IgM型HA抗体、IgM型VCA抗体またはIgM型CMV抗体陽性例は存在せず、抗核抗体も全例40倍以下であった。

初診時保存血清でHEV RNAを測定したところ、全例陽性であった。性別は男4例・女2例、年齢は31歳から71歳であった。全例国内で感染したと推定された。発症年月は2012年9月に1例、2012年12月に2例、2013年2月に2例、2013年6月に1例であった。患者間に接点はなかった。

聴き取りで発症前2週から9週の間摂取したHEV感染の可能性がある食物として、豚冷製レバ刺し、半生の豚肉、イノシシ、馬刺し、ホルモン煮込みがそれぞれ1例ずつ挙げられたが、同時摂取者が急性肝炎を発症した例はなく、摂取した食物も残っていなかった(表1)。

HEV genotypeは3jp型4例、3us型1例、4型1例であった。劇症化例はなく全例無治療で軽快したが、genotype 4型の1例はpeak T-bil (16.2mg/dL)、peak AST (3542 IU/L)、peak ALT (4870 IU/L)およびPT最低値 (29%)がgenotype 3

型の5例よりも重症であった(表2)。

分子系統樹解析では症例1および症例5からそれぞれ分離されたHEV株の一致率が比較的高かった(図)が、発症時期および感染経路で両者の関連性は認められなかった。

#### D. 考察

東京都内の一病院だけで2012年9月から2013年6月の10ヶ月間に6例の急性E型肝炎を経験した。北海道のみならず、東京都心部でも急性E型肝炎が多数発生している実態が明らかになった。いずれも散发例で感染源も確定できなかったが、多様な料理を志向する現在のライフスタイルが都市部の散发性急性E型肝炎多発の一因となっている可能性が示唆された。

#### E. 結論

東京都内の一病院で最近経験した急性E型肝炎6例を報告した。東京都でも急性E型肝炎は決して稀な疾患ではないため、急性肝炎の原因検索にはIgA型HEV抗体測定が必須である。

#### F. 学会発表

時田 元、中山 聡、村島直哉、又木紀和、近藤壽郎、岡本宏明. 東京都内の一病院で最近経験した6例の急性E型肝炎. 第40回日本肝臓学会西部会. 2013年12月 岐阜市

#### 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

表1. 急性E型肝炎6例の推定感染経路

症例	年齢/性	肝炎発症	発症3ヶ月以内の海外渡航歴	感染源の可能性のある食物	摂取時期	飲酒歴
1	71/女	2012年9月	なし	なし		機会飲酒
2	64/男	2012年12月	なし	豚冷製レバ刺し	4週前	日本酒5合/日
3	33/男	2012年12月	10月韓国	半生の豚肉(国内)	4週前	機会飲酒
4	31/女	2013年2月	なし	加熱カキと和歌山産のイノシシ	5週前	酎ハイ3缶/日
5	70/男	2013年2月	なし	熊本産馬刺し	8週前	機会飲酒
6	50/男	2013年6月	なし	北海道産ホルモン煮込み	3週前	ビール350mlと酎ハイ1缶/日

表2. 急性E型肝炎6例の臨床データ

症例	HEV Genotype	Peak T-Bil mg/dl	Peak AST IU/L	Peak ALT IU/L	PT 最低値 %
1	3型 (3jp型)	2.4	2040	1710	85
2	3型 (3us型)	7.5	3471	2275	98
3	4型	16.2	3542	4870	29
4	3型 (3jp型)	0.5	1675	1296	100
5	3型 (3jp型)	1.1	1234	975	100
6	3型 (3jp型)	8.0	1162	1582	41

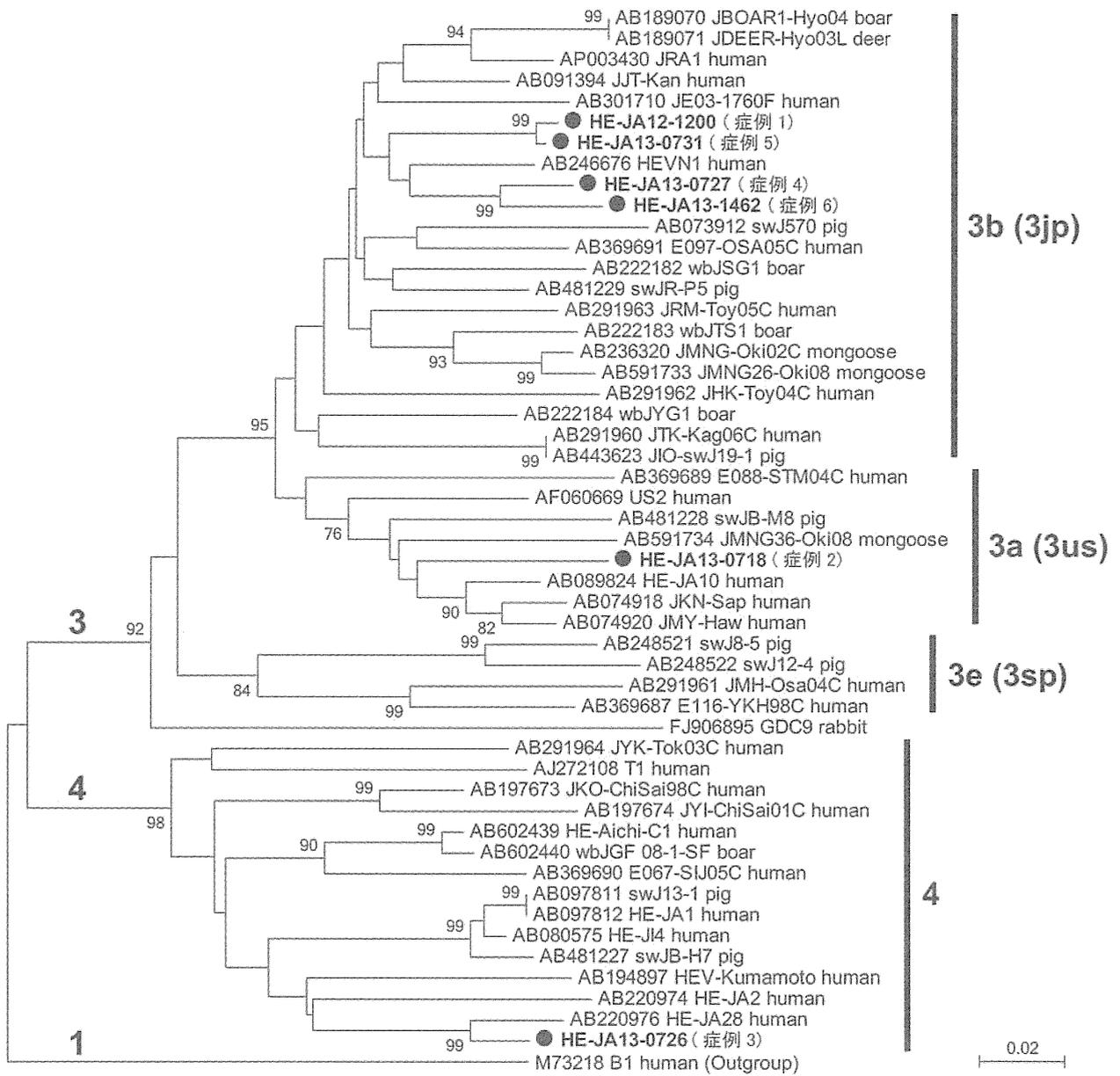


図. ORF2 (412nt) 配列に基づく HEV の分子系統樹

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

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

研究分担者 新井雅裕 (東芝病院・研究部/消化器内科) (病院長)

研究要旨：

[1] 当初愛知縣のみから報告され“*Aichi strain*”と仮稱されたHEV genotype 4の一系統は、やがて静岡縣からも採取され“*Aichi/Shizuoka strain*”と改名されたが、本年度調査研究の結果、岐阜縣と三重縣にも存在することが判明した。この*Aichi/Shizuoka strain*の感染拡大には、愛知静岡縣境付近に棲息する野生猪がreservoirとして大きく關與して來たが、同地域に棲息する野生猪の行動圏内には豚舎も存在するゆえ、野生猪から飼育豚へと*Aichi/Shizuoka strain*が傳播することにより更なる感染拡大(広域化)の起こる危険性がある。  
[2] 福岡縣で、本邦初のHEV-associated Guillain-Barré syndrome (GBS)の一症例が経験された。海外からの既報11例と異なる特徴として、本例はGBSの典型症状の他に味覚障害も伴っていた點が注目された。肝炎臨牀家には向後、HEV感染に關係付け得るかもしれない神経所見についても、注意深い觀察を要請したい。逆に神経内科醫には、肝機能異常のあるGBSを診たら必ずHEV検査を御願いたい。

<研究協力者>

高橋和明 (東芝病院・研究部、主任研究員)  
アクバル (東芝病院・研究部、主任研究員)  
藤原有希 (東芝病院・研究部、研究員)  
矢野満美子(東芝病院・研究部、事務員)  
三代俊治 (東芝病院・研究部、部長)  
中野達徳 (藤田保健衛生大学)  
西垣洋一 (岐阜市民病院)  
川村欣也 (浜松医療センター)  
国立裕之 (京都桂病院)  
加藤秀章 (名古屋市立大学)  
深江治郎 (福岡大学医学部神経内科)  
樋口正晃 (福岡大学医学部神経内科)

A. 研究目的

感染宿主生物(ヒトと動物)及び其れを取り巻く環境(食品を含む)からA型及びE型肝炎ウイルスゲノムを採取し塩基配列を解析することにより、両ウイルスの遺伝的多様性に關する理解の深化、感染経路の解明、感染防止対策の立案、重症化リスク予知の精度向上等に役立てることを期す。

B. 研究方法

次項(C. 研究結果及び考察及び結論)で適宜述べる。

倫理面への配慮：臨牀檢體解析の場合、主治醫から解析擔當者への檢體及び臨牀情報等の送付乃至受け渡しに際し、被験者氏名のコード化处理が行なわれた。解析擔當者から主治醫への解析結果フィードバックに際してもコード化されたIDが用いられた。デコード(=被験者氏名と解析データの再連結)は主治醫のみの責任で行なわれた。

C. 研究結果及び考察及び結論

[1] “HEV *Aichi/Shizuoka strain*”の感染拡大

2006年に伊藤等(肝臓2006; 47: 316-317)が愛知縣棲息野生猪からの分離を報告し、次いで清水等(肝臓2006; 47: 465-473)が同縣の重症肝炎患者からの検出を報告したところのHEV genotype 4 “*Aichi strain*”は、やがて2010年に川村等(肝臓2010; 51: 418-424)が静岡縣の患者からも類似株を検出したと報告するに及んで“*Aichi/Shizuoka strain*”へと改名された。HEV

genotype 4 は夙に北海道の土着株として有名であったが、この“*Aichi/Shizuoka strain*”は北海道土着株とは完全に別物であり、例えば超可変領域内に5個のアミノ酸欠失が存在するという特徴などは寧ろ中国の genotype 4「上海株」に類似している。

この“*Aichi/Shizuoka strain*”が、本年度の調査では、2012年に岐阜県で発生したE型肝炎の保存血清(JA0-Gif12)、2013年に静岡県西部で発生したE型肝炎症例(JKK-Shiz13)、及び2009年に採取され以後冷凍保存されていた愛知静岡県棲息の野生猪3頭(JBOAR025-Aic09, JBOAR089-Aic09, JBOAR196-Aic09)の血清から検出された。のみならず、Databaseを検索したところ、本研究班の岡本班長が登録したAcc#AB824674の配列(2012年に三重県のE型肝炎患者から採取)も“*Aichi/Shizuoka strain*”に属する株であることが分り、現時点で“*Aichi/Shizuoka strain*”は愛知・静岡・三重・岐阜の東海四縣に跨がって存在することが判明した。かくて、この東海土着の genotype 4 は、北海道土着の genotype 4 に匹敵する major cluster となった (Figure 1 参照)。

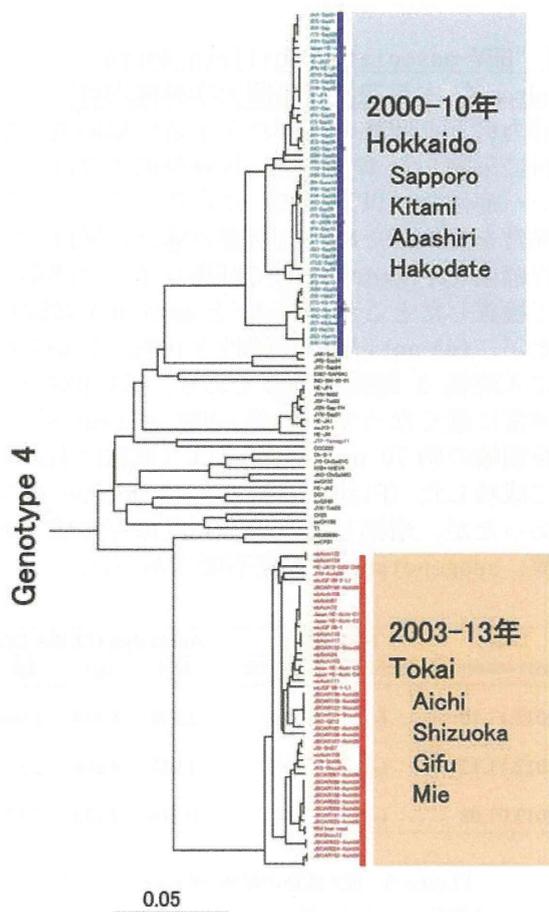


Figure 1. HEV ORF1 内の 326 nt で描いた系統樹  
上述したように中国の上海株との近似性は明ら

かに存在したが、完全長乃至準完全長ゲノムで系統解析すると両者の違いが一層自明であった (Figure 2 参照)。

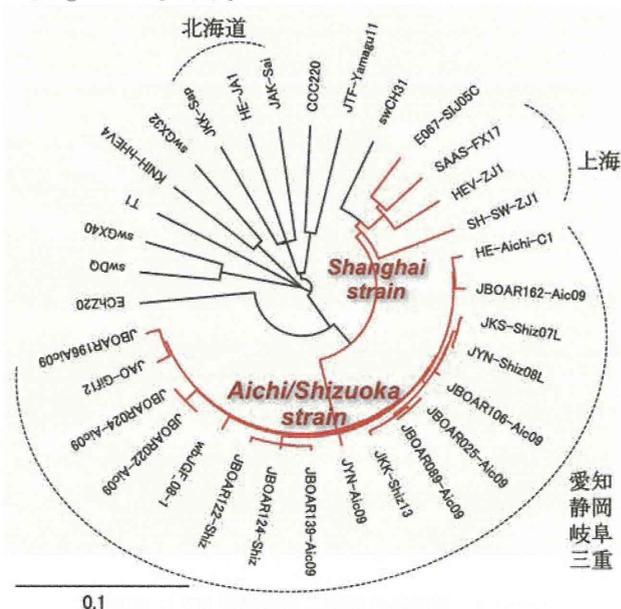


Figure 2. 完全乃至準完全長ゲノムに基づく HEV genotype 4 の系統樹

夙に HEV genotype 4 に属する株は genotype 3 の株より病原性が高いとされて来たが、それは主として北海道土着 genotype 4 株の感染事例を観察することにより得られた知見であった。しかし、何故か此の東海地方に土着して徐々に感染拡大しつつある HEV genotype 4 “*Aichi/Shizuoka strain*” の感染事例も、殆どが「重症度の高い急性肝炎」として報告されたものである。よって北海道土着の genotype 4 と同様に、此の“*Aichi/Shizuoka strain*”も「高病原性 HEV 株」と看做されるべきである。だとすれば積極的な感染拡大防止策が講じられなければならない。

ところが、およそ全ての病原体は(病原性の高い場合なら尚更)、現状以上に感染拡大が起こらないよう封じ込められなければならないが、いま我々が關心するところの HEV genotype 4 “*Aichi/Shizuoka strain*” の封じ込めについては二つ(いや三つかもしれない)の大きな問題が存在する。

第一には、この HEV 株の natural reservoir であるところの野生猪の棲息数が近年増加しつつあるらしいことである。

第二には、この HEV 株に感染している野生猪集団の棲息圏の直ぐ近く(寧ろ敢えて云うなら棲息圏内あるいは生活行動圏内)に、食用の豚を飼育する為の豚舎が(二つも)存在することである (Figure 3 参照)。ひとたび此の HEV 株が豚舎に

入ってしまうと「食品流通ルートによる HEV 感染」という北海道型の感染拡大が起こる可能性がある。



Figure 3. 養豚場の近傍に高病原性 HEV に感染した野生猪が棲息するという危険きわまりない構圖

第三には、この地域には Figure 4 に示す新聞記事で報道されているような不法行為をする養豚業者が今でも存在するという事実である。これは、封じ込めの逆を行く行為であり、かかる人為が飼育豚から野生動物への HEV 傳播を媒介して来た可能性は十分にある。

### <養豚場> 経営者を逮捕…汚水を川に捨てた疑い 愛知県警

毎日新聞 1月21日(火)13時40分配信

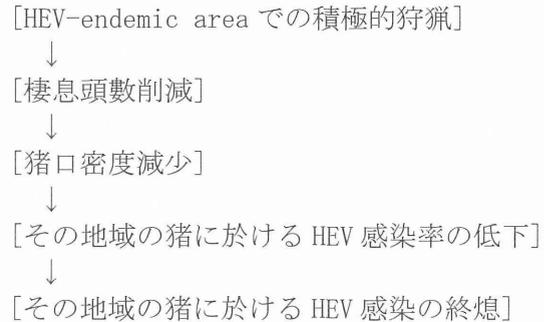
有害物質を含んだ大量の汚水を川に捨てたとして、愛知県警は21日、同県田原市などで養豚場を経営する●●●ファーム(本社・同県豊橋市)の社長、●●●容疑者(60)＝静岡県湖西市＝を水質汚濁防止法違反容疑で逮捕した。田原市などによると、この養豚場が排出した豚の排せつ物が近くの池尻川を通じて赤羽根漁港に流れ込み、異臭が発生。魚が死んだり船舶の往来に支障が生じたりする問題が起きているという。

Figure 4. 愛知県内養豚場汚水の不法投棄を報じた毎日新聞の記事

<http://headlines.yahoo.co.jp/hl?a=20140121-00000034-mai-soci>

上述した三つの問題に対して、HEV 感染拡大防

止の観点から、具体的にどう対処すべきかは既に自明であるが、敢えて喫緊の対策をひとつ挙げるなら「少なくとも養豚場周囲に棲息する野生猪については、棲息頭数の削減を目指す」という戦略である。即ち、



この圖式は嘗て兵庫縣で成功したことのある戦略である(北嶋直人, 厚労科研肝炎等克服緊急対策研究事業: 本邦に於ける E 型肝炎の診断・予防・疫学に関する研究, 平成 17 年度総括研究報告書 pp18-19)。

### [2] “HEV-associated Guillain-Barré syndrome” 本邦初例 (福岡大学神経内科)

筋力低下と四肢のしびれを主訴に福岡大学神経内科に来院した 49 歳男性。神経學的所見はギランバレー症候群 (以下 GBS) に合致していたが肝機能異常を認めたため、主治醫の樋口正晃は GBS の先行感染 (trigger) として肝炎ウイルス感染を疑って検査したところ、HBsAg と anti-HCV は陰性だったが、IgA anti-HEV が陽性と判明。しかし時は既に入院後 2 週間経過しており、HEV RNA titer が非常に低くなっていたが、HEV genome 5' 高度保存領域の約 70 nt の検出には (追試にも) 辛うじて成功した (Figure 5 参照)。Genotype は 3 型であったが、増幅し得たのが高度保存領域であった故、subgenotype は判定不能であった。

Date (yyyy.mm.dd)	HEV RNA		Antibodies (ELISA OD)		
	HE5-PCR	HE7-PCR	IgM	IgA	IgG
2012.11.10	(-)	(+)	2.276	1.336	2.984
2012.11.12	(-)	(+)	1.467	0.860	2.541
2013.01.08	(-)	(-)	0.710	0.122	2.370

Figure 5. HEV 感染の証明. 惜しむらくは入院時 (2012. 10. 26) の血清が保存されていなかったこと

海外からの既報 11 例と異なる特徴として、本例

は GBS の典型症状の他に味覚障害 (dysgeusia) を伴っていた點が注目された (Higuchi et al. *Dysgeusia in Guillain-Barré syndrome associated with acute hepatitis E: case report and literature review. submitted*).

肝炎臨牀家には向後、HEV 感染に関係付け得るかもしれない神経所見についても、注意深い観察を要請したい。逆に神経内科醫には、肝機能異常のある GBS を診たら必ず HEV 検査の實施を御願いたい。

本邦に HEV-GBS が本例一例しか存在しないとは到底思えないからである。

#### D. 研究発表

1. Nakano T, Takahashi K, Arai M, Okano H, Kato H, Ayada M, Okamoto H, Mishiro S. Identification of European-type hepatitis E virus subtype 3e isolates in Japanese wild boars: molecular tracing of HEV from swine to wild boars. *Infect Genet Evol* 2013; 18: 287-98.
2. Harun-Or-Rashid M, Akbar SM, Takahashi K, Al-Mahtab M, Khan MS, Alim MA, Ekram AR, Khan MM, Arai M, Mishiro S. Epidemiological and molecular analyses of a non-seasonal outbreak of acute icteric hepatitis E in Bangladesh. *J Med Virol* 2013; 85: 1369-76.
3. Masaaki Higuchi, Jiro Fukae, Jun Tsugawa, Shinji Ouma, Kazuaki Takahashi, Shunji Mishiro, Yoshio Tsuboi. *Dysgeusia in Guillain-Barré syndrome associated with acute hepatitis E: case report and literature review. (submitted)*.
4. 高橋 和明, 藤原 有希, アクバル・S.M.F. , 新井 雅裕, 三代 俊治. 血中の A 型肝炎ウイルス粒子には脂質膜エンベロープが存在する. *肝臓* 2013; 54: 396-398.
5. 新井 雅裕, 手島 一陽, 金原 猛志, 高橋 和明, 安倍 夏生, 三代 俊治. 都内一般病院で経験した急性肝炎症例および市販食品からの多様な HEV-RNA の検出. *病原微生物検出情報* 2014; 35: 8-9.
6. 深江治郎他. 急性 E 型肝炎に伴って Guillain-Barré 症候群を発症した一例. (2013 年 6 月 29 日、佐賀大学医学部講堂、第 202 回日本神経學會九州地方會)

#### E. 知的所有權の取得狀況

1. 特許申請：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：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

三重県全域におけるE型肝炎発生調査：2013年の特徴

研究協力者 中野達徳 藤田保健衛生大学七栗サナトリウム・内科 准教授

**研究要旨：**2011年8月より三重県内19の主要医療機関の協力を得て三重県全域におけるE型肝炎の発生調査を開始した。過去にも溯り2004年から2012年までの8年間に三重県内で発生したE型肝炎症例を36例確認した。そのうち19例で原因となったE型肝炎ウイルス(HEV)の遺伝子配列が解析でき、日本では比較的稀な subtype 3e による急性肝炎が13例(68%)を占めていた。2013年はE型肝炎の発生は5例にとどまった。これまで多く確認した subtype 3e 株による症例は認めなかった。subtype 3a 症例と 3b 症例を認めたが既報の近縁株は無かった。2013年の大きな収穫は桑名市で genotype 4 による症例を確認したことである。さらにこの genotype 4 株は愛知県、岐阜県、静岡県で分離される genotype 4 株に塩基配列が非常に近い株であった。三重県桑名市は愛知県、岐阜県と木曾三川を境界として接しており、この地で愛知県、岐阜県、静岡県で分離される株に塩基配列が非常に近い株によるE型肝炎が発生したのは特に興味深い。しかし、愛知県、岐阜県、静岡県の genotype 4 株はいずれも野生動物関連株であり、桑名の症例は野生動物との関連が確認できなかった。また、この症例は発症前に愛知県、岐阜県、静岡県で外食したことも無く、三重県内で感染したことが疑われる。これらの調査結果から、愛知県、岐阜県、静岡県の野生動物関連の genotype 4 株が野生動物以外にも広がり、その感染源が木曾三川を超えて三重県に侵入していることが疑われる。三重県では感染源不明の急性E型肝炎が持続的に発生しており、HEV-RNA 検査を主体とした急性E型肝炎発生調査は今後も続ける必要があると思われる。

<共同研究者>

岡野 宏 (鈴鹿中央総合病院・消化器内科、医長)  
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)  
三代 俊治(東芝病院・研究部、部長)  
新井 雅裕(東芝病院・消化器内科、院長・部長)  
高橋 和明(東芝病院・研究部、主任研究員)

A. 研究目的

我々は2004年から2012年までの8年間に三重県内で発生したE型肝炎症例を県内主要医療機関の医師と協力して36例確認していた(図1)。そのうち19例で原因となったE型肝炎ウイルス(HEV)の遺伝子配列が決定されてきた。その遺伝子型(genotype)の大きな特徴は、日本では比較的稀な subtype IIIsp/3e 型(以降 subtype 3e)が13例(68%)を占めていたことであった。特に2012年には年間に過去最高の12例の発生があり、遺伝子型が判明した7例中4例が subtype 3e であった。2013年も同様に subtype 3e によるE型肝炎が多く発生するのか、別の傾向が現れるのかを継続調査するとともに、遺伝子解析から感染源、感染経路を検索することを目的として三重県内でのE型

肝炎の発生調査を継続した。

B. 研究方法

三重県全域の19主要医療機関の協力を得て調査を継続している(図2)。これらの医療機関にて急性肝障害患者の発生とともにこの調査への症例登録をしていただき、血清は自治医科大学医学部感染・免疫学講座ウイルス学部門または東芝病院研究部に送付していただいた。それぞれの研究室にてHEV抗体検査、HEV-RNA検査を行い、HEV-RNA陽性の場合には遺伝子配列決定を試み、BLAST search と分子進化系統樹により、genotype と subtype の決定と、既報のHEV株との関連を検討した。また、患者からは個人情報の守秘に注意を払いつつ、2カ月以内の野生動物肉の摂食歴、豚内臓肉、豚肉、豚肉加工品などの喫食歴、渡航歴、輸血歴、多種の動物種との接触歴などを詳細に聴取した。HEV 遺伝子配列の解析と詳細な患者情報から感染源、感染経路の特定に努めた。

倫理面への配慮：この調査研究は藤田保健衛生大学七栗サナトリウム倫理委員会の承認を得た。各医療機関からの情報により、他の協力施設には患