

表6 E型の急性肝不全の病型と背景因子 - 2010~2013年 -

平均±標準偏差	全体	病型	
	(17)	非昏睡型 (13)	昏睡型(4)
男：女	13：4	11：2	2：2
年 齢	57.2 ± 14.5	55.2 ± 15.9	63.8 ± 6.2
HBV キャリア (%)	0/17 (0)	0/13 (0)	0/4 (0)
基礎疾患 (%)	11/16 (68.8)	9/12 (75.0)	2/4 (50.0)
薬物歴 (%)	8/17 (47.1)	7/13 (53.8)	1/4 (25.0)
予 後 (生存率)	15/17 (88.2):移植0	13/13 (100)	2/4 (50.0):移植0
合併症数	0.5 ± 0.9	0.1 ± 0.3	1.8 ± 1.0
肝萎縮	2/17 (5.9)	0/13 (0)	2/4 (50.0)

表7 E型の急性肝不全の転帰と背景因子 - 2010~2013年 -

	生存例 (15)	死亡+移植例 (2)
男：女	13：2	0：2
年 齢 (平均±SD)	56.2 ± 14.9	64.5 ± 10.6
病 型 非昏睡：急性：亜急性	13：2：0	0：0：2
基礎疾患 (%)	10/14 (71.4)	1/2 (50.0)
薬物歴 (%)	8/15 (53.3)	0/2 (0)
合併症数	0.3 ± 0.6	2.0 ± 1.4
肝萎縮	0/15 (0)	2/2 (100)

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 26 年度分担研究報告書

日本における 2014 年の A 型肝炎流行状況の分子疫学的解析

研究分担者 石井孝司 国立感染症研究所ウイルス第二部 室長

研究要旨：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が、2014 年の全国における A 型肝炎の報告数は例年と比べ極めて多く、42 都府県から累積 432 例となった。本研究では、全国の地方衛生研究所、保健所と共同で、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、2014 年の日本における A 型肝炎の流行状況を分子疫学的に解析し、流行の原因となった株を明らかにした。

<研究協力者>

清原知子

国立感染症研究所ウイルス第二部

砂川富正

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。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、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、2014 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。

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、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。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」で推奨されている PCR 領域は約 230 塩基と短く、精度の高い分子疫学的解析には不十分であると考えられたため、さらに長い領域 (1st で 619 塩基、nested で 568 塩基) を増幅できるプライマーを設計した。このプライマーにより増幅された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。

倫理面への配慮：取り扱うすべての DNA および病原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および組換え 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

2014 年の全国における A 型肝炎の報告数は、第 6 週から増加傾向がみられ、ピークとなった第 10 週では 60 例を超えた (図 1)。最終的に 42 都道府県から累積 432 例 (暫定値) となり、ここ 10 年では最も発生数の多い年となっている。週別の推移では、第 8 週から宮城県を中心とした限局的な流行が見られたが、その後、西

日本を中心とした報告が多くなり、全国のピークであった第9～10週において、九州及び瀬戸内地方から全体の約7割が報告されたものの、報告は西日本にとどまらず、関東から東北まで広く患者発生が見られた(図2)。流行状況把握のためA型肝炎患者159例の糞便または血清からHAVゲノムの配列(構造/非構造 junction 領域、568塩基)を決定し、流行状況を分子疫学的に解析したところ、遺伝子型の内訳は、IAが137例、IIIAが18例、IBが4例であった(図3)。宮城県を中心とした第8週からの流行の遺伝子型はIIIAで、韓国で流行したIIIAと近縁であった。また、すべての株がほぼ同一配列であったことから、単一の感染源からの小流行と考えられた。一方、IAのうち約75%にあたる103例は、遺伝子配列解析を行った領域の配列はほぼ完全に同一であり、しかも宮城県から鹿児島県まで広範囲に渡り同時期に検出されるという非常に特異な特徴を示した(図4、5)。ここではこの株をIA(広域型)と呼ぶ。均一性を検証するために、藤沢市と鹿児島市ではほぼ同時期に検出されたIA(広域型)について、全長の配列を決定し比較したところ、7407塩基中違いはわずか1塩基のみであり、藤沢市と鹿児島市の株はほぼ完全に同一であると考えられた。

一方、食安監発1201第1号「A型肝炎ウイルスの検出法について」で推奨されているプライマーによりリアルタイムPCRを実施したところ、コンベンショナルPCRによりIA(広域型)と判明した31検体中29検体で検出限界以下と判定された。この結果から、確認のためにリアルタイムPCRを用いると、IA(広域型)の場合は本来陽性であるべき検体が陰性と判定される恐れがあることが判明した。

IA(広域型)のリアルタイムPCRで増幅される領域の配列解析を行った結果、HAV-449(forward)、HAV-557(reverse)それぞれに1塩基ずつのミスマッチが見出された。HAV-557に存在するミスマッチはプライマーの3'端に近い位置であり、PCRに与える影響が大きいものと思われる。そのため、HAV-557の配列を混合塩基を含むように変更したところ、リアルタイム

PCRでIA(広域型)の増幅が可能になった。

D. 考察

2014年春季のA型肝炎の流行は、その60%以上がIA(広域型)を原因とするものであったことが分子疫学的解析で明らかとなった。このような流行の特徴から、おそらく限局された地域で同一時期にこの株に汚染された食材などが短期間に全国規模で流通し、同一株による全国的な流行を発生させたものと推察される。

PCRによる確認検査は、ウイルスの遺伝子配列の変異により使用しているプライマーとの間にミスマッチが生じ、本来陽性である検体が陰性と判定される可能性は否定できない。今回のIA(広域型)はその1つの例である。PCR検査の場合、陰性と判定することに明らかな疑義がある場合は、他の検査結果も参考にするなど注意深い判定が必要と思われる。

E. 結論

IA(広域型)の全国的な流行は、東北から九州まで広域に流通した共通の感染源によるものである可能性が考えられ、現在さらに詳細な解析を行っている。A型肝炎は一般的に潜伏期が平均的に1ヶ月程度と長いことから、食材などの感染源についての聞き取り調査は非常に困難であるが、感染源の共通性の検討には分子疫学的手法が非常に有用である。感染源の究明という観点からは、医療機関、保健所、地方衛生研究所等が連携して患者の喫食や行動に関する情報を収集・整理することが重要であり、特に、共通した食材・食品の広域流通的な曝露という観点からの聞き取りや遺伝子配列解析の実施が自治体の連携の上で行われることが、原因究明の上でより有効であると考えられる。

A型肝炎はワクチンで防ぐことができる疾病である。今後は感染源や感染経路対策だけでなく、個人の積極的な予防対策、感染症に対する意識の向上が望まれる。特に、A型肝炎流行地への渡航者、医療従事者、介護従事者、生鮮魚介類を扱う生産者や調理従事者、高齢者などへのA型肝炎ワクチン接種を積極的に推奨すべき

と思われる。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Li T.C., Yang T., Yoshizaki S., Ami Y., Suzuki Y., Ishii K., Haga K., Nakamura T., Ochiai S., Wakita T. and Johne R. Construction and characterization of an infectious cDNA clone of rat hepatitis E virus. Journal of General Virology in press.
2. Shiota T., Li T.C., Yoshizaki S., Kato T., Wakita T. and Ishii K. Establishment of Hepatitis E Virus Infection-Permissive and -Nonpermissive Human Hepatoma PLC/PRF/5 Subclones. Microbiology and Immunology in press.
3. Jiang X., Kanda T., Wu S., Nakamoto S., Saito K., Shirasawa H., Kiyohara T., Ishii K., Wakita T., Okamoto H. and Yokosuka O. Suppression of La Antigen Exerts Potential Antiviral Effects against Hepatitis A Virus. PLOS One, 9, e101993 (2014)
4. 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, 90: 764-766 (2014)
5. 石井孝司 環境中A型肝炎ウイルス遺伝子の検出と分子疫学的応用 臨床とウイルス印刷中
6. 石井孝司 A型肝炎、E型肝炎 臨床と微生物 41: 72-78 (2014)
2. 学会発表
1. Ishii K. Epidemiological and genetic analysis of an outbreak of hepatitis A in Japan, 2014. The 11th Japan-Taiwan Symposium on New Technologies Applied to Public Health Including Foodborne Diseases and Drug Resistance. Taipei, Taiwan, September 11-12, 2014
2. Ishii K. Epidemiological and genetic analysis of a large outbreak of hepatitis A in Japan, 2014. The 10th China-Japan International Conference of Virology. Changchun, China, August 25-27, 2014
3. Li TC., Ochiai K., Yang T., Yoshizaki S., Takeda N., Ishii K., Wakita T. Characterization of a case of hepatitis E that imported from Spain. 10th Asia Pacific Travel Health Conference, Ho Chi Minh City, Viet Nam, May 7-11, 2014
4. Ishii K., Kiyohara T., Yoshizaki S., Shimada T., Nakamura N., Nakashima K., Tada Y., Noda M., Wakita T. Molecular epidemiological analysis of recent hepatitis A in Japan and Asian countries. 10th Asia Pacific Travel Health Conference, Ho Chi Minh City, Viet Nam, May 7-11, 2014
5. Ishii K., Kiyohara T., Yoshizaki S., Tada T., Shimada T., Nakashima K., Noda M., Wakita T. Epidemiological and genetic analysis of hepatitis A in Japan. Blankenberge, Belgium, March 9-14, 2014
6. 石井孝司 : 日本における A 型肝炎の現状について、第 1 1 回日本小児消化管感染症研究会、平成 2 7 年 2 月、大阪
7. 清原知子、石井孝司、杉山真也、溝上雅史、脇田隆字 : 10-15 歳児における HBs 抗原保有率調査、第 1 8 回日本ワクチン学会、平成 2 6 年 1 2 月、福岡
8. 福島慎二、清原知子、石井孝司、中野貴司、濱田篤郎 : 不活化 A 型肝炎ワクチンの互換性研究～エイムゲンと HAVRIX～、第 1 8 回日本ワクチン学会、平成 2 6 年 1 2 月、福岡
9. 河端邦夫、清原知子、石井孝司、脇田隆字、金山敦宏、八幡裕一郎、松井珠乃、砂川富正、大石和徳 : A 型肝炎の家族内感染についての疫学的解析 (2014 年上半期を中心に)、第 1 8 回日本ワクチン学会、平成 2 6 年 1 2 月、福岡
10. 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、脇田隆字、石井孝司：E型肝炎ウイルス感染性規定因子宿主候補に関する研究、第62回日本ウイルス学会、平成26年11月、横浜

11. 石井孝司、清原知子、吉崎佐矢香、八幡裕一郎、河端邦夫、金山敦宏、山岸拓也、高橋琢理、有馬雄三、木下一美、齊藤剛仁、松井珠乃、大石和徳、砂川富正、脇田隆字：2014年春季に日本で多発したA型肝炎の分子疫学的解析、第62回日本ウイルス学会、平成26年11月、横浜
12. 横川 寛、中村紀子、東濃篤徳、鈴木紗織、明里宏文、加藤孝宣、石井孝司、脇田隆字：培養細胞由来HAV粒子のマーモセットにおける抗HCV抗体誘導能の検討、第62回日本ウイルス学会、平成26年11月、横浜
13. 石井孝司：日本におけるA型肝炎の現状について、第29回関東甲信静支部ウイルス研究部会、平成26年9月、長野

3. その他

1. 石井孝司、清原知子、脇田隆字、河端邦夫、八幡裕一郎、松井珠乃、木下一美、砂川富正：2014年のA型肝炎流行状況について、病原微生物検出情報 36: 3-4 (2015)
2. 石井孝司、奴久妻聡一：A型肝炎検査マニュアル通知法のリアルタイムPCRによる広域株の偽陰性の可能性について、病原微生物

G. 知的所有権の取得状況
なし

図説明

図1：2009年から2014年までの急性A型肝炎患者の週別報告数。国立感染症研究所感染症疫学センターの集計による。

図2：2014年の急性A型肝炎の県別発生状況。

図3：2014年の日本において検出されたA型肝炎ウイルス配列の系統樹解析。同一県での同一配列は代表1株のみを示した。太字下線は過去における日本、韓国での流行株の代表を示す。また灰色は、今回の解析のために用いたGenBankに登録されている株の配列である。

図4：2014年の日本におけるHAVの遺伝子型別の週別推移。

図5：2014年のIA（広域型）の6月10日までの県別検出状況。分母は解析した検体数、分子はそのうちのIA（広域型）の数を示した。

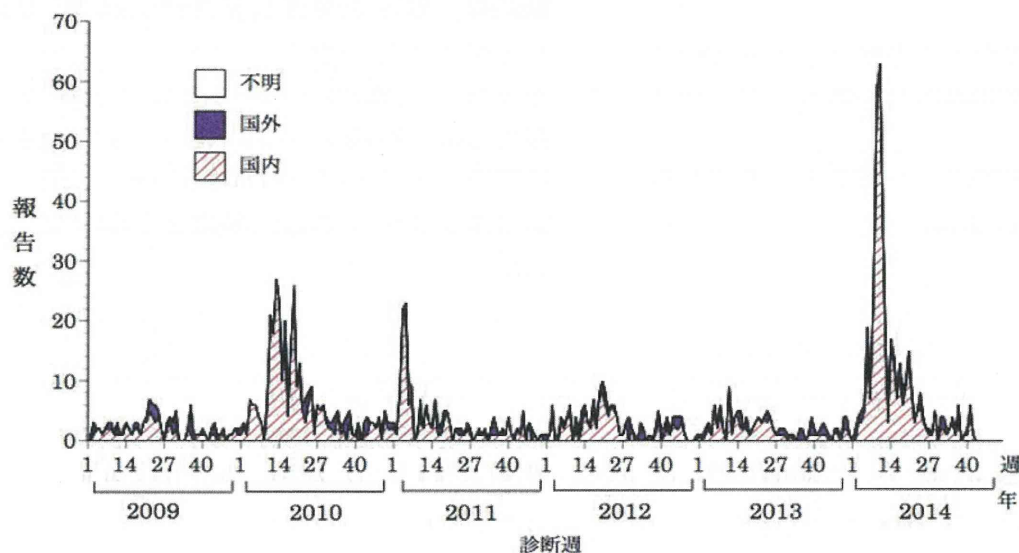
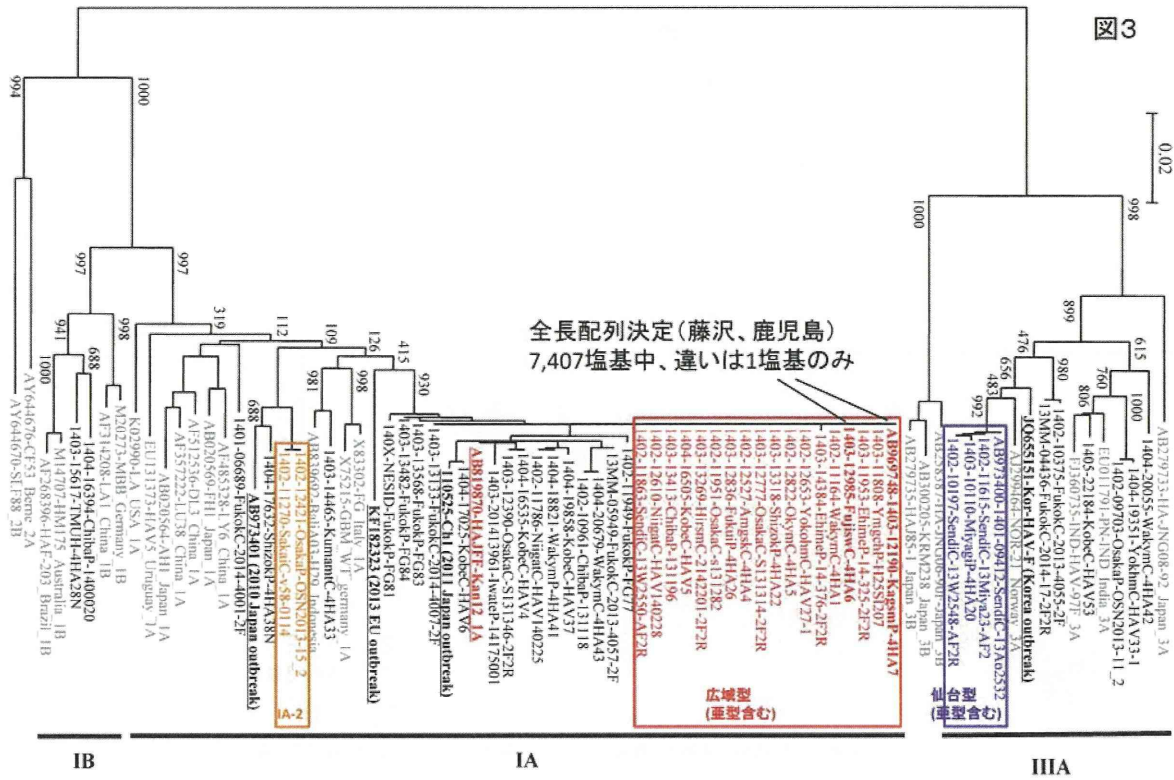
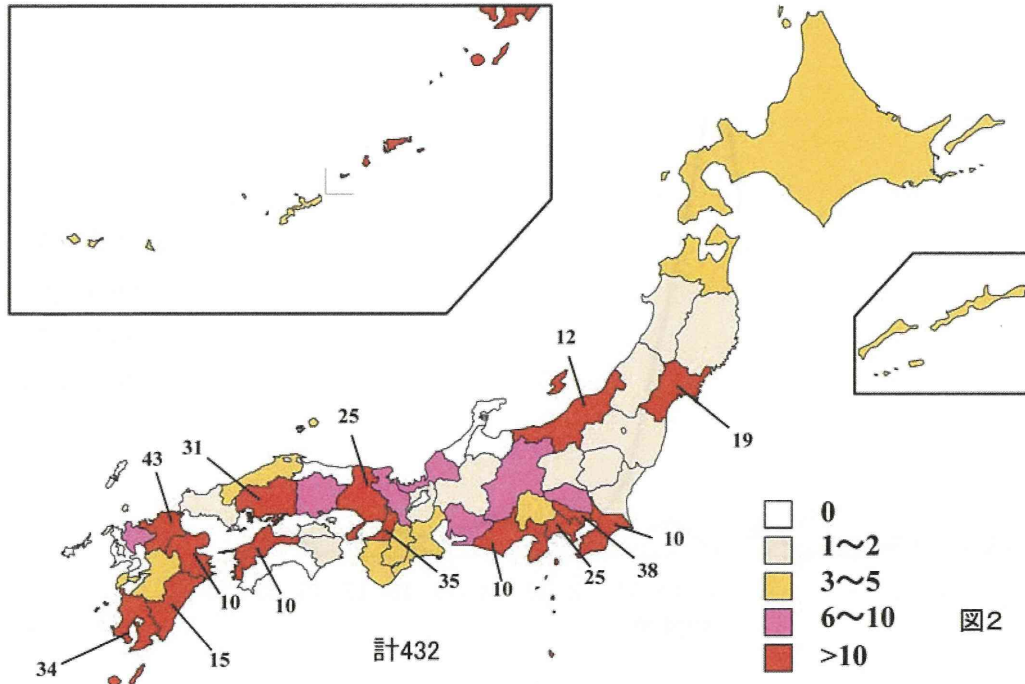


図1

2014年の急性A型肝炎発生状況（ステータス未確認を含む）



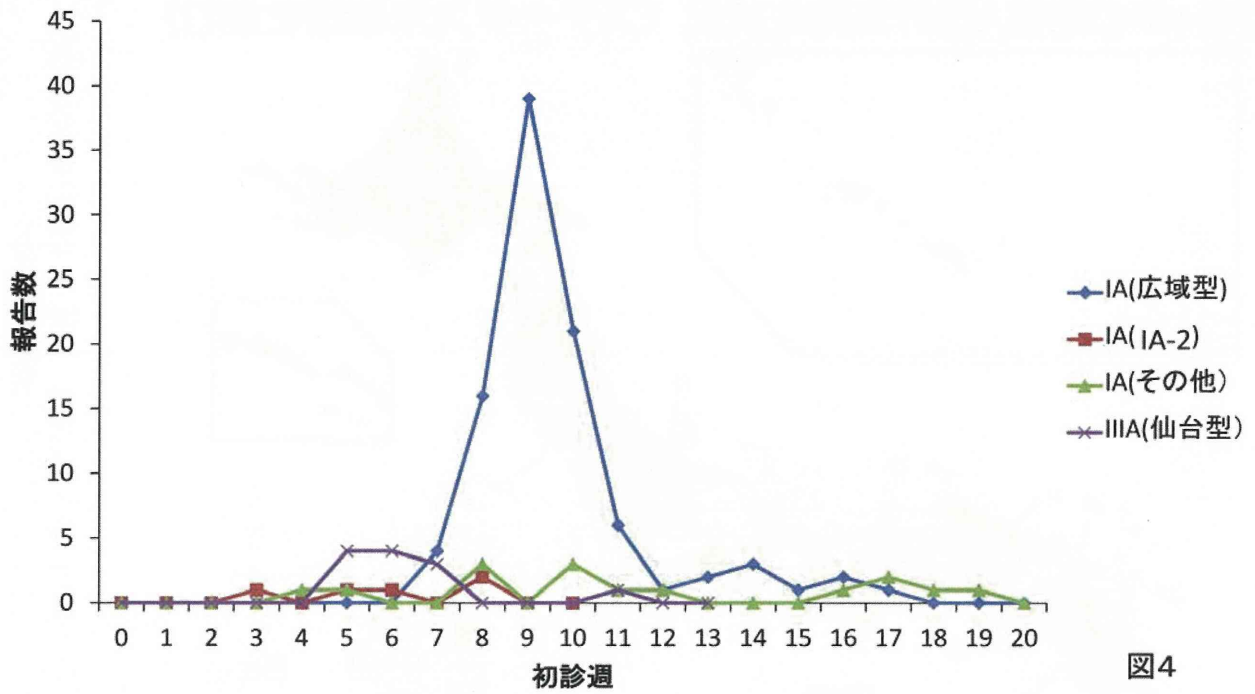


図4

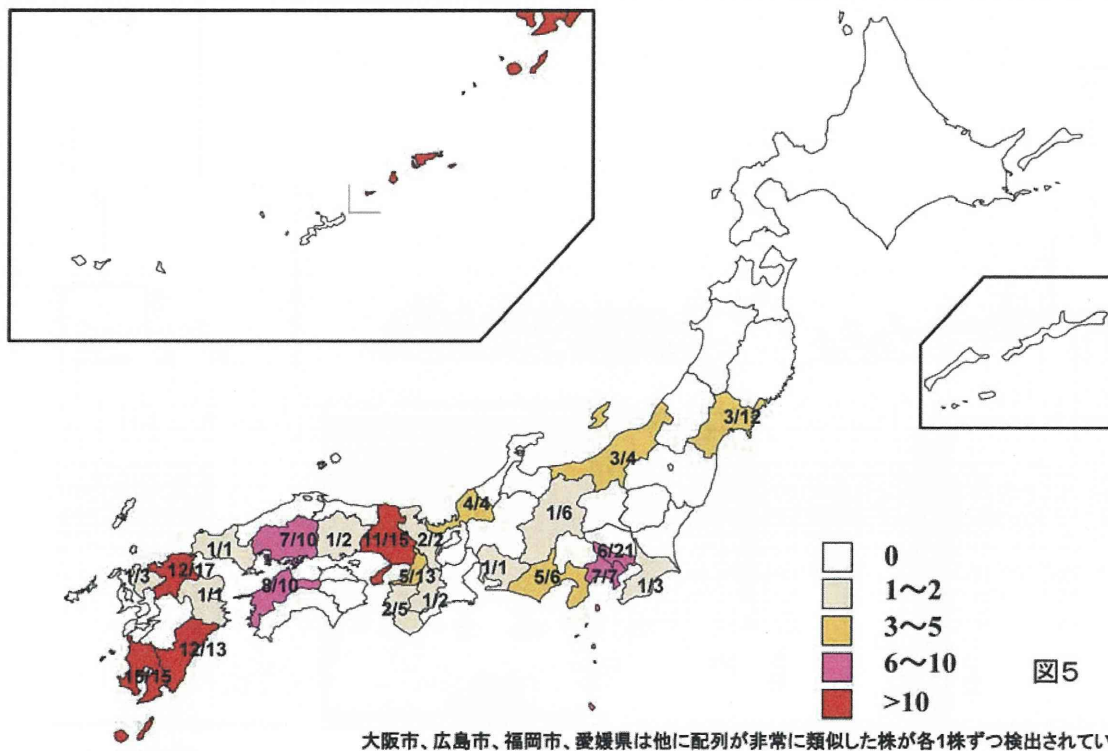


図5

大阪市、広島市、福岡市、愛媛県は他に配列が非常に類似した株が各1株ずつ検出されている

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26年度分担研究報告書

市中病院におけるA型肝炎の genotype 変遷：本年度流行型との関連

研究協力者 川上万里 岡山済生会総合病院 内科（肝臓病センター）主任医長

研究要旨：一般市中病院である当院で保存されていた2002年～2014年のA型肝炎血清17検体の genotype 解析を行った。その結果、特に海外渡航例での感染地の同定、家族内感染の感染経路に有用であることが判明した。流行年であった2014年に2例のA型肝炎症例を経験したが、その塩基配列の一致率は98.9%であり、ともに胆汁うっ滞を呈した。系統樹上同クラスター内には2002年からの発症例を含む8例が存在し、少なくとも12年前から国内に存在する土着株であることが示唆された。胆汁うっ滞を3例(37.5%)で認め、同病態を随伴しやすいことに注意する必要があると考えられた。一方、海産物の喫食歴を有したのは2例(25.0%)のみで、殆どの症例で感染源は不明であった。

〈共同研究者〉

自治医科大学医学部感染・免疫学講座ウイルス学部門 教授 岡本宏明

自治医科大学医学部感染・免疫学講座ウイルス学部門 講師 高橋雅春

A. 研究目的

肝炎ウイルスの genotype 解析は臨床像のみならず、感染経路を把握する上でも有用である。2002～2014年に当院にて認めたA型肝炎のうち17例の genotype 解析を行い、感染経路や臨床像を検討すると共に、今年流行のA型肝炎へのアプローチも試みた。

B. 研究方法

当院にA型肝炎と診断され(IgM-HA抗体陽性)、保存された血清17検体と原因不明肝障害として保存されていた血清32検体を自治医科大学医学部感染・免疫学講座ウイルス学部門にてHAV RNAの検出と genotype 解析を行った。

倫理面への配慮：A型肝炎保存血清よりの genotype 解析は当院倫理委員会の承認を得ている。また血清は番号記載とし、個人の同定ができないようにした。

C. 研究結果

A型肝炎(IgM HA抗体陽性)と診断された17症例のうち16例が genotype 解析が可能であった。また原因不明肝炎と診断された32例中の1例がHAV

RNA陽性であり、A型肝炎と診断され、 genotype 解析が可能であった。合計17例の内訳は、2002年4例(年齢28～52歳, 男性/女性=2/2)、2003年2例(23, 60歳, 1/1)、2004年3例(21～30歳, 2/1)、2005年1例(39歳, 1/0)、2006年4例(39～53歳, 2/2)、2013年1例(83歳, 1/0)、2014年2例(39, 67歳, 2/0)であった(Table 1)。このうち海外渡航を4例(23.5%)に認め、インド2例(Case 4, 15)、台湾1例(Case 9)、韓国14例(Case 14)であった。インド旅行者(Case 4, 15)の genotype はいずれも国内にはない「IIIA」型であった。また台湾旅行者(Case 9)の genotype は「IA」型で、系統樹上同じクラスター内に中国株を認めた(Figure 1)。国内感染例が否定できない症例のうち、発症1か月内の海産物摂取を4例(26.7%)に認めた(Case 1, 7, 10, 14)。牡蠣摂取は2002年1月と2004年9月発症の2例(13.3%)に認めたが、系統樹上近似してはいなかった(Case 1, 7) (Figure 1)。家族内感染は3組5人(33.3%)に認め(Case 5, 7, 8, 11, 12)、両者の解析が可能であった2組はそれぞれ99%の一致率であった(Case 7, 8, 11, 12) (Figure 1)。このうち1組は男性の牡蠣の摂取歴を認めた(Case 7)。いずれも女性の発症は1か月遅れていた。

臨床像では、プロトロンビン時間40%以下の重症例を4例(22.2%)に認めたものの(Case 4, 6, 8, 13)、入院日数はいずれも1ヵ月以内であった。但し、輸入感染であった83歳男性は発病2ヵ月後に死亡した(死亡率5.6%) (Case 15)。

2014 年は A 型肝炎が多発し、流行年であった。当院で認めた 2 例 (Case 16, 17) はいずれも総ビリルビン値 25mg/dl を超える胆汁うっ滞を呈したためステロイド加療を要し、入院日数も一か月を超えた (Figure 2, 3)。両者の genotype は同じ「IA」

感染源として、海産物の摂取は 4 例 (26. 7%) に認めただに過ぎず、また同じ牡蠣摂取例でも 2 例の genotype は系統樹上近似してはいなかった。A 型肝炎の感染源の同定が難しいことが示唆された。臨床像では、プロトロンビン時間 40%以下の重症

Table 1. 当院で経験したA型肝炎症例

Case	届出	発症月	年齢性別	感染推定地	生もの摂取	PT<40%	重症化	入院日数	genotype
1	2002	Jan	48F	岡山	牡蠣			21	IA
2	2002	Feb	52M	岡山				15	IA
3	2002	May	43M	岡山				12	IA
4	2002	July	28F	インド	タイ	○		22	IIIA
5	2003	Jan	60F	岡山			胆汁うっ滞	29	IA
6	2003	May	23M	岡山		○		26	IA
7	2004	Sept	21M	岡山	牡蠣			16	IA
8	2004	Oct	21F	岡山		○		13	IA
9	2004	Nov	30M	台湾				16	IA
10	2005	Mar	39M	岡山	寿司			0	IA
11	2006	Jan	53M	岡山				17	IA
12	2006	Feb	53F	岡山				14	IA
13	2006	Mar	39F	岡山	かに	○		17	IA
14	2006	Mar	50M	韓国	かに			34	IA
15	2013	Apr	83M	インド			死去	66	IIIA
16	2014	Mar	39M	広島三原			胆汁うっ滞	78	IA
17	2014	May	67M	岡山			胆汁うっ滞	30	IA

型に属し、その一致率は 98. 9%であった。系統樹上同クラスター内には、当院の「IA」型 15 例中の 8 例 (Case 1, 2, 5, 11-13, 16, 17) が属し (53. 3%)、2002 年発生の 2 症例も含まれた。8 例について検討すると、発症前の海産物喫食は 2 例 (25%) に認められたものの、75%は不明であった。また胆汁うっ滞を 3 例 (37. 5%) に認めた。

D. 考察

まず、原因不明肝炎と診断された一例が HAV RNA 陽性であったことから、一般的な診断法である IgM-HA 抗体のみの検索では不十分であることが示唆された。海外渡航例についてはインド感染例において genotype が同地型に一致しており、genotype 解析が感染地を同定する上で有用であることが示唆された。同様に家族内感染例は両者の genotype が解析できた 2 組もそれぞれの genotype が 99%一致していた。発症時期に差を認めており、同時感染ではなく、二次感染であることも判明した。以上より感染経路の同定に genotype の有用性が示された。しかしながらその

例を「IA」型の 4 例 (22. 2%) に認めたものの、系統樹上近似した配列ではなかった。輸入感染であった 83 歳男性は発病 2 か月後に死亡しており、高齢感染例には注意を要することが示唆された (死亡率 5. 6%)。

A 型肝炎の流行を認めた 2014 年の当院症例の 2 例は genotype が 98. 9%一致しており、同一の感染源が考えられた。また遡って 2002 年発症例を同じクラスター内に認めたことより少なくとも 12 年以上前から国内に存在し、「IA」型の過半数を占めたことより常在型であると考えられた。2 例はいずれも総ビリルビン値 25mg/dl を超える胆汁うっ滞を呈したが、このクラスター内に認めた 2002 年～2014 年発症の 8 症例のうち胆汁うっ滞は 3 例 (37. 5%) に認め、随伴しやすいことが示唆された。発症前の海産物喫食は 2 例 (25. 0%) で、75. 0%は不明であり、その感染源は特定できなかった。

E. 結論

市中病院に保存された A 型肝炎血清の genotype 解析から 2014 年度流行した A 型肝炎は少なくとも

12年前から国内に存在する株で、胆汁うっ滞を来しやすいことが示唆された。genotype 解析は肝炎の感染経路へのアプローチを行う上で重要なツールとなることが示唆された。

F. 研究発表

- 川上万里、藤岡真一、大澤俊哉：当院におけるA型急性肝炎について—genotype 解析がかたるもの—：第40回日本肝臓学会西部会、平成26年12月、東京

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

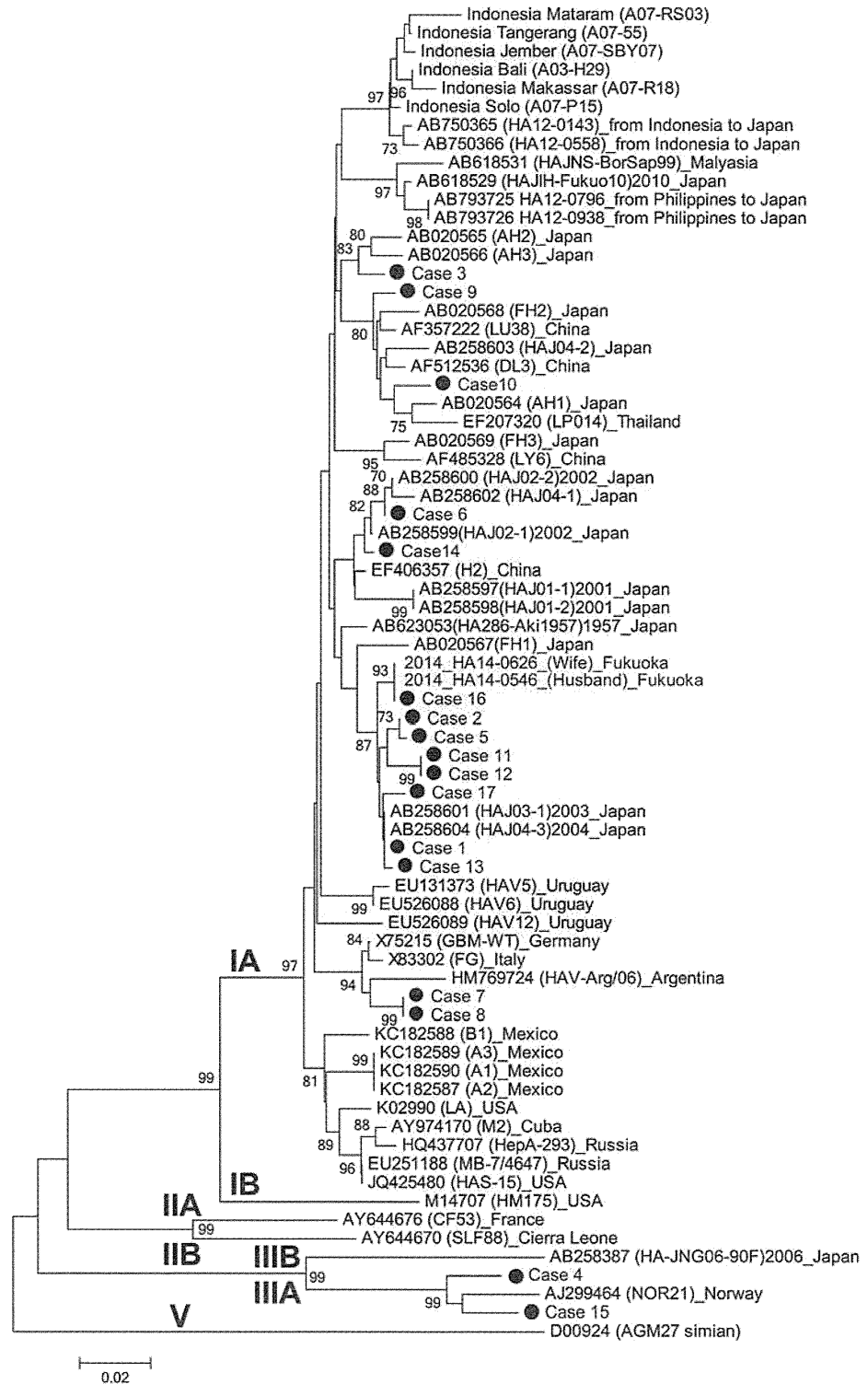


Figure 1. Phylogenetic analysis of HAV strains

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26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：JAK 阻害剤 AG490, SD-1029 が La 蛋白の発現を抑制することを明らかにした。また, HAV IRES 活性を評価可能な COS7-HAV IRES 細胞を作成し, この細胞を用いて JAK 阻害剤 AG490, SD-1029 の HAV IRES 活性に対する影響を検討すると AG490 および SD-1029 はそれぞれ, HAV IRES 活性を抑制することが判明した。更に実際の HAV をアフリカミドリザル腎細胞およびヒト肝癌細胞株に感染させ, AG490, SD-1029 の HAV 増殖に対する影響を検討すると AG490 および SD-1029 はそれぞれ, HAV 増殖を抑制することが判明した。

<研究協力者>

神田 達郎 (同消化器・腎臓内科学・講師)

白澤 浩 (同分子ウイルス学・教授)

A. 研究目的

A 型肝炎ウイルス (HAV) は我が国における急性肝炎の主な原因ウイルスの一つであり, 劇症肝炎を含む重症肝炎の原因となり, 致命的となることが知られている。HAV 感染症はワクチンで感染予防可能であるが, ワクチン接種を受けていない高齢者等の罹患により重症化や入院期間の延長が懸念されている。我々はこれまでに HAV に対してインターフェロン・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等が抗ウイルス効果を持つことを報告してきた。これら薬剤は HAV internal ribosomal entry-site (IRES) による Cap 非依存性翻訳の抑制により HAV 複製・増殖の抑制に関与することも明らかにしており, HAV IRES は HAV に対する抗ウイルス剤の重要な標的の一つと考えている。今回は HAV に特異的な治療法の開発を目指した研究を行うことを目指し, 特に細胞培養と HAV 感染実験により HAV 増殖に重要な標的分子を検討する。

B. 研究方法

HAV IRES と相互作用する分子として eIF4E, PABP, La, PCBP2 (HNRNPE2), PTB (HNRNP-I), GAPDH, eIF4G などの各転写開始因子や各分子などが報告されている。これまでの検討でこれら各分子に対する siRNAs を作成し, 各分子をそれぞれノックダウンした場合の HAV IRES 活性に対する効果を検討すると La-siRNA により HAV IRES

活性抑制および HAV レプリコンの増殖抑制がみられた。そこでアフリカミドリザル腎臓細胞 GL37 (国立感染症研究所・ウイルス第二部 清原知子博士、石井孝司博士より供与) に short hairpin RNA (sh)-La およびコントロール sh-C をそれぞれ恒常的に発現させた GL37-shLa および GL37-shC を作成した。それぞれの細胞に HAV 11-1299 genotype IIIA 株 (自治医科大学 岡本宏明博士より供与) (0.1 MOI) を感染させ, 72 時間後の細胞内 HAV RNA を Real-time RT PCR を用いて評価検討した。

(2) JAK 阻害剤 SD-1029 および AG490 は La 蛋白発現を抑制することを確認しており, これら薬剤が HAV 11-1299 genotype IIIA 株の感染増殖に与える影響を同様に検討する。

(3) ヒト肝癌細胞株 Huh7 および HepG2 細胞を用いた検討も行った。

倫理面への配慮：HAV を取り扱うウイルス感染実験は千大研第 13 号として承認されている。千葉大学では弱者、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。本年度の研究にはヒト検体、動物実験は含まれていない。

C. 研究結果

(1) GL37-shLa および GL37-shC に HAV 0.1 MOI を感染後 72 時間では HAV RNA 量が約 8% 低下することを確認した。

(2) MTS assay を用いた検討で, GL37 細胞を JAK 阻害剤 100 nM-10,000nM AG490 および 100 nM-5,000nM SD-1029 を用いてそれぞれ 48 時間処理しても Cell viability に変化は見られな

かった。

- (3) GL37 細胞を JAK 阻害剤 100 nM-10,000 nM AG490 および 100 nM-5,000 nM SD-1029 によりそれぞれ 24 時間処理を行うと細胞内 La 蛋白の発現が低下することを Western blotting 法にて確認した。
- (4) HAV IRES 活性を評価可能な Stable cell line COS7-HAV IRES 細胞を作成し、この細胞を用いて JAK 阻害剤 AG490, SD-1029 の HAV IRES 活性に対する影響を検討すると 5,000 nM-10,000 nM AG490 および 5,000 nM-10,000 nM SD-1029 による 24 時間処理により、それぞれ、HAV IRES 活性を抑制することが判明した。
- (5) 0 nM, 100 nM, 1,000 nM, 10,000 nM AG490 で GL37 細胞をそれぞれ処理すると感染 96 時間後の細胞内 HAV RNA 量は 8.35×10^4 copies/ μ g (100%), 5.27×10^4 copies/ μ g (63%), 5.46×10^4 copies/ μ g (65%), 2.58×10^4 copies/ μ g (31%) であり、AG490 の HAV に対する抗ウイルス作用を確認した。
- (6) また 100 nM, 1,000 nM SD-1029 で GL37 細胞をそれぞれ処理すると感染 96 時間後の細胞内 HAV RNA 量は 4.26×10^4 copies/ μ g (51%), 4.12×10^4 copies/ μ g (49%) であり、SD-1029 の HAV に対する抗ウイルス作用を確認した。

D. 結論

本研究では HAV IRES 活性を抑制し、La に対する siRNA/shRNA が HAV IRES 活性を抑制し HAV 感染増殖を抑制することを確認した。また JAK 阻害剤 AG490, SD-1029 は La 蛋白発現を抑制し、HAV IRES 活性および HAV 増殖を抑制した。今回は実際に HAV 感染実験を行い、これら薬剤の抗ウイルス活性を確認した。

HAV IRES を標的とした薬剤は HAV 増殖抑制に有用である。ヒト肝細胞を用いた検討でも JAK 阻害剤は HAV 増殖抑制に有用であることを明らかにした。JAK 阻害剤は HAV 増殖抑制に有望であると考えられた。今後は更なる作用機序の解明が必要であると考えられた。

F. 研究発表

1. 神田達郎, 中村昌人, 姜霞, 中本晋吾, 呉霜, 中村昌人, 宮村達雄, 横須賀収. HAV および HCV internal ribosomal entry-site を標的とした Direct-acting antiviral agents および Host-targeting agents の探索. 第 51 回肝臓学会総会(2014 年 5 月 30 日, 東京)(学会発表).
2. Jiang X, Kanda T, Wu S, Nakamoto S, Saito K, Shirasawa H, Kiyohara T, Ishii K, Wakita T,

Okamoto H, Yokosuka O. Suppression of La antigen exerts potential antiviral effects against hepatitis A. PLoS ONE 2014;9:e101993.

3. Jiang X, Kanda T, Nakamoto S, Saito K, Nakamura M, Wu S, Haga Y, Sasaki R, Sakamoto N, Shirasawa H, Okamoto H, Yokosuka O. The JAK2 inhibitor AZD1480 inhibits hepatitis A virus replication in Huh7 cells. Biophys Biochem Res Commun 2015; in press.

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26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

研究協力者 松林圭二 北海道ブロック血液センター 品質副部長
研究分担者 日野学 日本赤十字社 血液事業本部 総括管理監

研究要旨：北海道において2014年1月から12月にかけてHEV RNAスクリーニング(HEV NAT)調査を実施した。7月までは例年通り1次スクリーニング陰性の献血者154,436名を対象に20プールTaqMan RT-PCRを実施したところ、HEV RNA陽性者数は10名(男性9名、女性1名)で、陽性率は0.006%(男性0.009%、女性0.002%)となった。8月以降は全献血者114,472名を対象にTMA法による個別NATを実施し、HEV RNA陽性者数は25名(男性23名、女性2名)、陽性率は0.022%(男性0.030%、女性0.005%)となり大きく上昇し、男性優位が顕著であった。陽性者のHEV遺伝子型は3型27例、4型4例で、サブタイプは3b株9例、3a株と3e株が各6例と、3e株が例年になく多かった。これら3e株はすべて同一クラスターに分類され、同時期に発生しているため、同一感染源による集団感染が起きたと推測された。3a型と3b型が8割強を占める状況は従来と変わらないが、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>

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、2014年1月から12月までの北海道内献血検体268,908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。

1月から7月までは従来通り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154,436名を対象に、20本プール血漿検体を用いてORF2/3領域の75塩基をターゲットとするReal-time RT-PCR法(Qiagen)によりプールNATを実施した。陽性検体はさらにプールを構成する20検体について個別検査を実施した。

8月からはTMA法による全自動遺伝子検査システムGrifols/Hologic PANTHER System(PANTHER HEV)を用いて114,472名を対象に全数個別検査を

行った。新システム導入により、検出感度は従来の約80倍に上昇し、約16 IU/mLとなった。

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作成し、Luらの分類法(Rev. Med. Virol. 2006; 16: 5-36.)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

2014年のHEV陽性者数は35名(男性32名、女性3名)で、陽性率は献血者延べ1万人当たり1.3人(男性1.8名、女性0.3名、 $p=0.002$)となり、男性優位の状況は例年になく顕著であった(図1、表1)。8月の新NATシステム導入の前後で陽性者

数と陽性率を比較すると、導入前は HEV RNA 陽性者数は 10 名（男性 9 名、女性 1 名）で陽性率は同 0.6 人（男性 0.9 名、女性 0.2 名、 $p=0.011$ ）、導入後は陽性者数は 25 名（男性 23 名、女性 2 名）で、陽性率は同 2.2 人（男性 3.0 名、女性 0.5 名、 $p=0.008$ ）となり、約 3.7 倍に大きく上昇した（図 2）。また、陽性判明時の HEV RNA 平均濃度は、導入前は 3.2 log IU/mL であったが導入後は 2.1 log IU/mL となり、検出感度の上昇に伴ってより低濃度の HEV 感染者を捕捉することが可能となった。陽性者の年齢（平均 \pm SD）は 44.1 \pm 12.3 歳となり、昨年（40.5 \pm 13.9 歳）から再び上昇した（表 1）。陽性者の発生時期については、検査法を変更したため季節性は確認できなかった（図 2）。また、陽性者の居住地については、献血者の多くが都市部に集中していることもあり、19 例（54%）は札幌市在住者であった。

HEV RNA 陽性判明時の HEV 抗体保有状況は例年と変わらず、29 名（83%）には IgM、IgG のいずれの HEV 抗体も検出されなかった（表 1）。

また、陽性者の献血前の内臓肉喫食歴については、アンケートの回収率が低かったものの、喫食歴があった陽性者は 62% と例年通り高かった（表 1）。

2012 年から 2014 年の 3 年間に分離された HEV 株の分子系統樹解析結果を図 3 に示す。2014 年においては、ウイルス濃度が低いために解析ができなかった 4 例を除き、31 株について遺伝子型を決定し得た。3 型は 27 例で、3a(9)、3b(12)、3e(6) に分類された。また、4 型は 4 例で、すべて 4c であった（図 5）。道内では 3e 株は比較的珍しく、これまで道内献血者から検出された 3e 株は 20 例（6.5%）のみである（図 3、図 5）。2014 年に検出された 6 例は従来の株とは独立してクラスターを形成しており、99.0~100% の類似性を示していた。また、このうち 5 例は札幌圏在住者で、8 月から 9 月にかけて集中的に発生していた。このため、これらの 3e 株は同一感染源由来である可能性が高いと推測される。

HEV 遺伝子型・サブタイプについて道内の地域（振興局）別に集計した結果を図 4 に示す。陽性者は都市部に集中しており、各地域の遺伝子型の出現パターン異なっていた。また、4 型株が占める割合は道内全体では 6% と少ないが、陽性率が低い道東部の網走地方（E3）では 56%、渡島地方（S1）では 24% と高かった。

HEV 遺伝子型・サブタイプの占有率の年次推移を図 5 に示す。道内では例年 3a 株と 3b 株が 8 割強を占め、残りを 3e 株と 4c 株、その他が約 6% ずつ占めている。しかしその構成比は毎年変化して

おり、2010 年と 2014 年には 3e 株が約 20%（各 6 例）検出された。

表 1 HEV NAT スクリーニングのまとめ

調査期間	2014.1 - 2014.12		2005.1 - 2014.12	
検査総数	268,908		2,753,157	
陽性者数	35		314	
陽性率	0.013% (1/7,683)		0.011% (1/8,768)	
年齢	44.1 \pm 12.3 (20-67)		41.6 \pm 12.0 (17 - 68)	
男:女	32:3 (91%:9%)		241:73 (77%:23%)	
Genotype (G3:G4)	27:4 (87%:13%)		286:24 (93%:7%)	
Anti-HEV抗体				
IgM(-)/IgG(-)	29	(83%)	258	(82%)
IgM(+)/IgG(-)	0		3	(1%)
IgM(+)/IgG(+)	5	(14%)	39	(12%)
IgM(-)/IgG(+)	1	(3%)	14	(4%)
動物内臓肉喫食歴 ^{*1}	8/13	(62%)	141/202	(70%)
肝機能異常(ALT>45 IU/L)	3 ^{*1} /5 ^{*2}	(60%)	47 ^{*3} /83 ^{*2}	(57%)

*1: peak ALT 46-161 IU/L

*2: 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

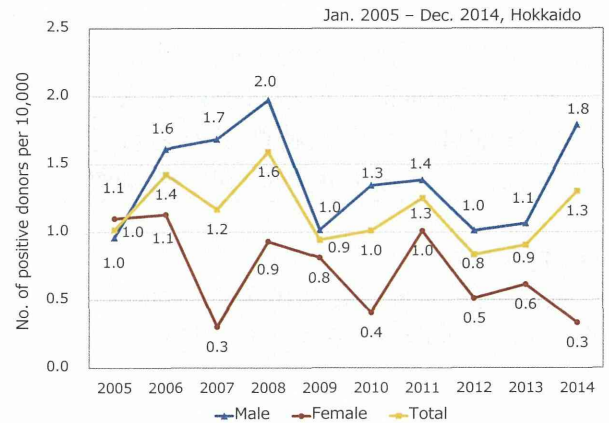


図 1 HEV NAT 陽性率の年次推移

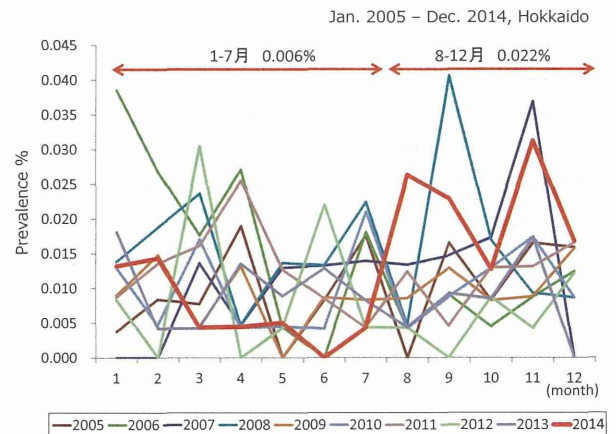


図 2 HEV NAT 陽性者の月次発生数

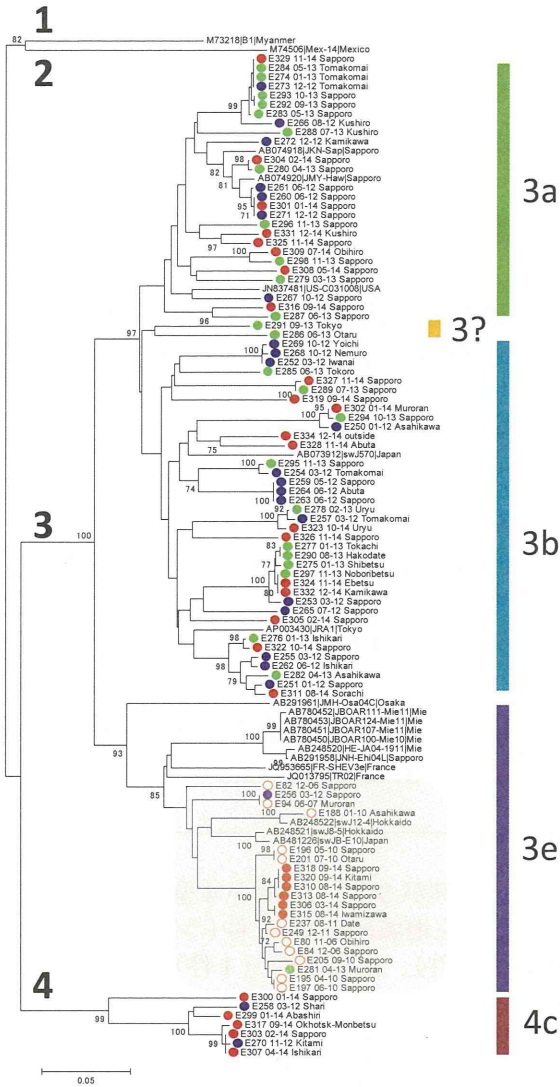


図3 HEV 遺伝子型・サブタイプの系統樹解析
 ●: 2012年、●: 2013年、●: 2014年、○: 2012年以前に北海道内献血者から分離された3e株。網掛けは北海道3eクラスターを示す。

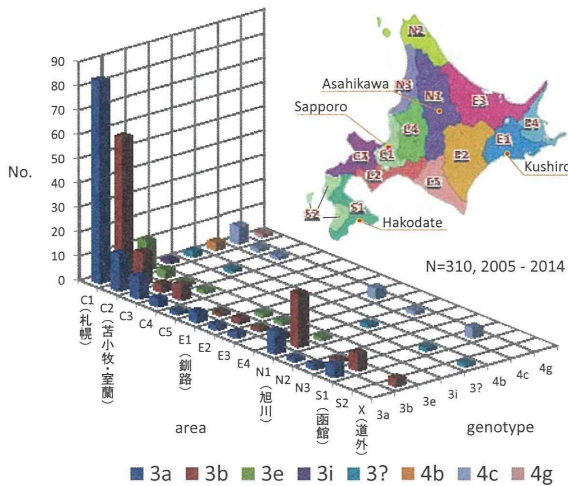


図4 HEV 遺伝子型の地理的分布

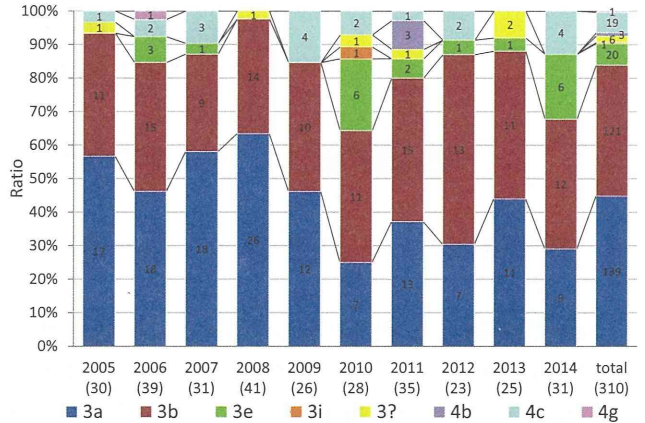


図5 HEV 遺伝子型占有率の年次推移

D. 考察

2014年は8月から高感度個別HEV NATシステムを導入したことによりHEV陽性者が大きく増加し、都市部を中心にHEV感染が道内に広く蔓延していることが再確認された。8-9月には道内ではまれな3e株による集団感染が札幌圏内で確認され、同一感染源によると推測される。道内献血者由来HEVの遺伝子型分布には地域性がみられ、HEV感染源は各地域に密着したものと考えられる。また、HEVの遺伝子型については3a株と3b株が主体である状況はこの10年間で変化していないが、その構成比は徐々に変化しており疫学上大変興味深い。

E. 結論

北海道内献血者集団においてHEV感染は定着しており、HEV感染動向について今後も注視していく必要がある。

F. 研究発表

1. H. Sakata, K. Matsubayashi, J. Iida, T. Yoshimasa, S. Sato, T. Kato, S. Hino, H. Ikeda, S. Takamoto, Hepatitis E Virus RNA Screening in Blood Donors In Hokkaido, Japan. 33rd International Congress of the ISBT, May 31- June 15, 2014, Seoul, Korea.
2. 飯田樹里, 吉政 隆, 坂田秀勝, 松林圭二, 佐藤進一郎, 加藤俊明, 池田久實, 紀野修一, 高本滋, HEV 陽性献血者における HEV RNA 及び HEV 抗体の血中動態の解明, 第58回日本輸血・細胞治療学会北海道支部例会, 2014年11月8日, 札幌.

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

26 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26年度分担研究報告書

北海道内における4型E型肝炎ウイルスの検出状況(2004~2014)

研究協力者 石田 勢津子 北海道立衛生研究所感染症部・ウイルスグループ 主幹

研究要旨：2013~2014年に、北海道内において、感染症発生動向調査における全数把握疾患であるE型肝炎患者または無症状病原体保有者として届け出られ、検体を入手できた26症例について、RT-PCR法によりウイルス遺伝子の検出を行った。陽性例についてORF2領域の塩基配列を決定し、分子疫学的に解析したところ、5株が3型、16株が4型であった。2012年以降全国における届出件数は増大したが、北海道及び札幌市の件数の変動は少なかった。2004~2014年の、北海道内の地域毎、患者・献血者毎の遺伝子型分布において、患者からは4型、献血者からは3型が多く検出される傾向があり、全体として4型が優位を占めた。解析できた症例において、2004~2007年には道東の北見・網走地区から重症度の高い4型HEVが検出されたが、2009~2014年には、道南・道央地域で互いに類似した4型HEV群が検出されている。ウイルス遺伝子の分子疫学的解析による相同性の確認と、喫食調査など疫学情報による症例間の関連性追跡、感染源調査を継続することが重要と考える。

A. 研究目的

日本国内で検出されるE型肝炎ウイルス(HEV)は主に3型と4型に分類されるが、北海道では4型の発生例が多いとされている。本研究では、感染症発生動向調査における全数把握疾患のE型肝炎として道内で届け出られ、検体を入手できた症例について、ウイルス株の分子疫学的解析による実態調査を行った。

B. 研究方法

2013~2014年は、E型肝炎患者または無症状病原体保持者として届け出られたヒト由来検体26症例についてRT-PCRによるウイルス遺伝子検出を試みた。血清200 μ lからQIAamp MinElute Virus Spin Kitを用いてウイルスRNAを抽出し、ORF1N末端及びORF2をターゲットとするRT-PCRを行った。HEV ORF2検出用プライマーで増幅された産物の塩基配列を決定し、分子疫学的解析を行った。

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い、人権上の問題は生じない。

C. 研究結果

2013~2014年に行った遺伝子検査の結果、26

症例中、6例が3型、15例が4型、5例が陰性であった。発生地域は道南10件(うち3型2件)、道央13件(3件)、道東2件(1件)、道北1件(0件)であった。

2004~2014年の全国、北海道及び札幌におけるE型肝炎届出件数を図1に示した。2014年の全国、北海道、札幌の件数は、151、19、5件であった。全国総届出件数の16~45%が北海道から、そして北海道全体の50%程度が札幌市から届け出られていた時期もあること、人口比からみても道内での発生数は他の地域と比べて突出していることなどから、北海道はE型肝炎ウイルスの高侵淫地域と考えられている。2012年以降全国的に届出数の急増が目立つが、これは、2011年10月に抗HEV IgA抗体検出用診断薬が保険収載され、医療機関でのウイルス検査が容易になったためと考えられる。これに対して、診断薬の登場以前から北海道E型肝炎研究会の活動などを通じて診断・検査体制を整えていた北海道の届出件数に大きな変動はない。全国の件数が大幅に増大したことは、看過されていた事例が掘り起こされるようになったことを意味している。

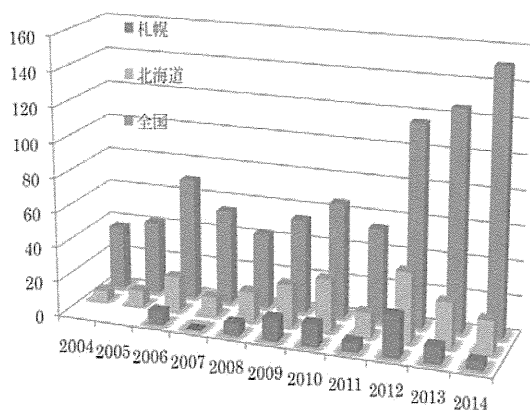


図1 E型肝炎届出件数(2004-2014)

図2に2004～2014年の北海道内において、献血者と患者から検出された遺伝子型を地域別に示した。届け出があっても検体を入手できない場合もあるので単純に比較はできないが、この2、3年は特に道南、道央に発生の偏りが見られた。4型HEVはほとんどが患者由来で劇症肝炎例も含まれており、3型に比べて発症・重症化率が高く北海道では4型の割合が高いとする従来の報告と一致していた。3型HEVは、人口の集中する道央地域において献血者からの検出例も際立って多く、無症状の感染者の潜在が示唆される。

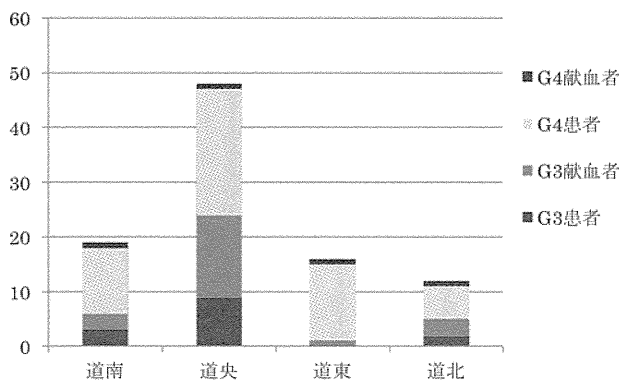


図2 献血者及びE型肝炎患者由来遺伝子型と地域分布(2004-2014)

2011年12月～2012年2月に道央地域においてE型肝炎の届出が急増した。当初は2011年10月の検査診断薬の保険適用認可によるものと考えたが、互いに同一性のきわめて高い8株が検出されたため(図3)、共通の原因食品の存在も示唆された。これらの株は、2009年に札幌近郊で検出された株群の配列と類似していた。しかしながら飲食店利用や食品の購入など、疫学調査による裏付け

は得られなかった。

さらに、2013年9月末～11月下旬に道央の1保健所管内において5件の届け出があった。5件中4件が陽性となりその配列は互いに100%一致した。この配列は、2011年12月～2012年2月に道央地域において集中した事例由来の配列とも99%の類似を見せ、2009年に札幌近郊で検出された株群とも同一性はきわめて高かったが、疫学調査による共通の感染源についての情報は得られなかった。しかしながら、2009～2013年にわたって道央地域を中心に、同一と考えられる株が維持されていることが示唆された。

2004～2007年には道東の北見・網走地区から重症度の高い4型HEVが検出されたが、2009～2014年には、道南・道央地域で互いに類似した4型HEV群が継続して検出されており、感染源調査が必要と思われる(図3)。

D. 考察

2004～2014年の届出件数において、全国的には2012年以降、診断薬の認可によると考えられる急激な増加があったが、北海道及び札幌市の発生状況に大きな変化はなかった。しかしながら、発症・重症化率の高いHEV4型への偏りは見られ、4型の配列類似株が地域と時期を共通に出現していた。継続して発生動向を追跡する必要がある。さらに、感染源・感染経路究明のためにも、宿主動物や環境を含めたウイルス保有状況調査が重要であり、その分子疫学的解析は感染者間及び感染源を繋ぐ有用な方法と思われる。

E. 結論

北海道内には発症・重症化しやすいとされる4型HEVが定着していると考えられる。今後も疫学情報、病原体情報を収集し、監視を続ける必要がある。

F. 研究発表

1. E型肝炎の現況と北海道におけるウイルス保有状況調査、石田勢津子、吉澄志磨、後藤明子、長野秀樹、北海道公衆衛生学雑誌、27、45-51(2013)

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

道央 2011/12-2012/2

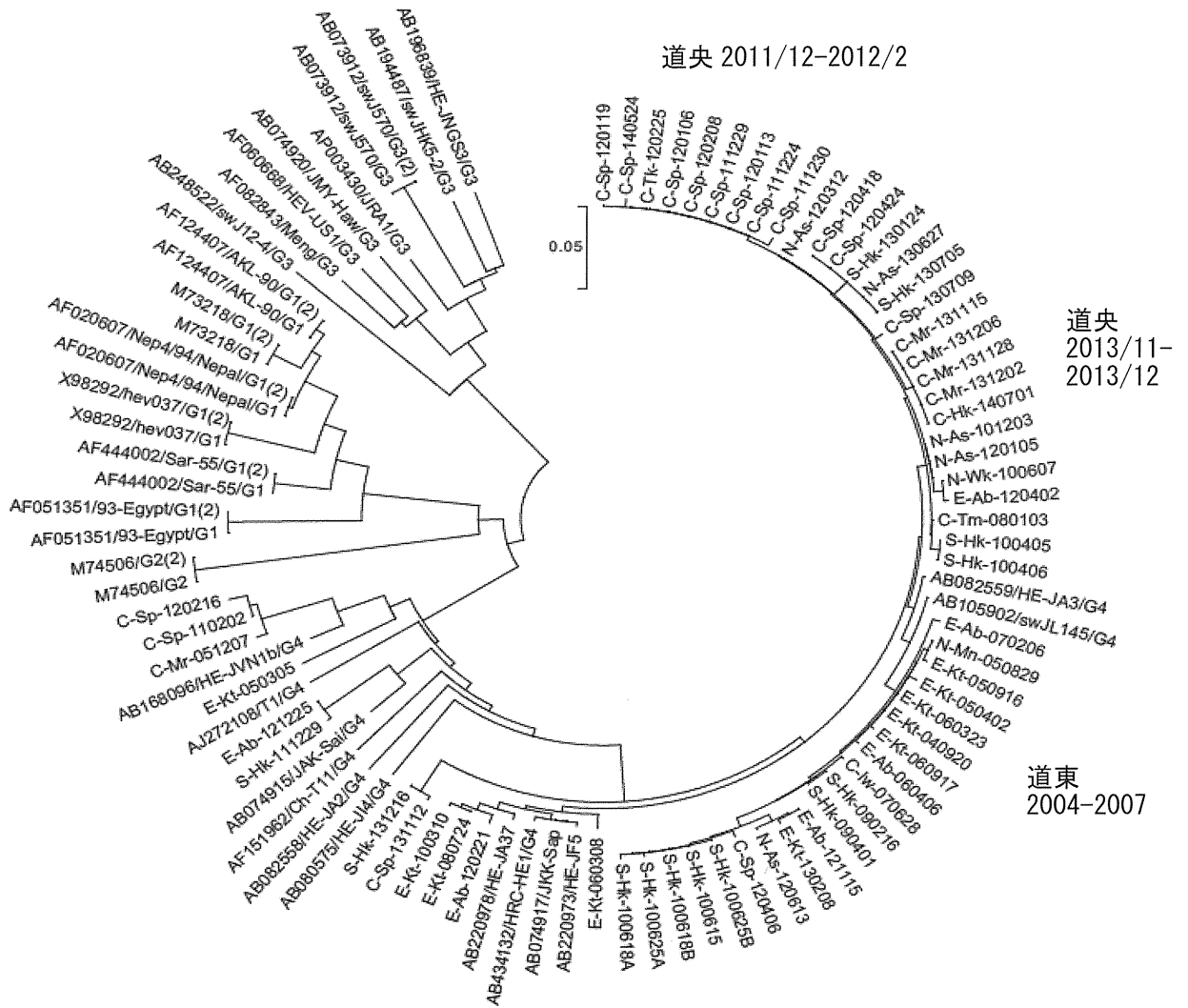


図3 北海道内で検出された HEV 4 型の系統樹(2004-2014)

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 26 年度分担研究報告書

HEV 急性感染による肝炎の重症化に与る因子に対する研究

研究分担者 姜 貞憲
手稲溪仁会病院 消化器病センター 主任医長

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把握した上で、肝炎重症化の病態と重症例に対する至適治療法を確立し、さらに地域における HEV 伝搬経路を究明することである。

HEV 感染症の重症化についてはこれ迄、年齢、HEV genotype 4 の関与が指摘されているが、その背景、機序については不明であった。2013 年度に我々は HAV, HEV 感染自験例を対象に重症化に関連する宿主因子を検討した。今年度は自験例に札幌厚生病院消化器科における診断例も加え、HEV 感染重症化に関連する因子を再検討した。急性肝不全症例を含む E 型急性肝炎 94 例を対象とし検討したところ、重症化に与る宿主因子としては肝疾患既往の存在、同じく virus 側因子としては HEV genotype 4 の感染が抽出された。肝疾患既往には、アルコール性肝障害、非アルコール性脂肪性肝疾患、非活動性 HBV carrier 等が含まれた。

<研究協力者>

狩野吉康 札幌厚生病院 第 3 消化器科
松居剛志 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

A. 背景

日本国内で発生する E 型急性肝炎の重症化因子は 2006 年阿部らの全国集計 254 例に対する解析で、高齢、HEV genotype 4 感染例に多いことが示されている(阿部他本邦に於ける 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)。しかし、genotype 4 HEV の感染が重症化に関連する理由を臨床的事実により検討した報告は少なく、年齢を含む宿主因子に対する検討も充分とはいえない。

B. 研究目的

国内発症型 E 型肝炎症例を対象に、重症化頻度を検討し、その HEV 側および宿主側の背景因子を明らかにすることを目的とした。

C. 研究方法

札幌の 2 紹介施設(手稲溪仁会病院、札幌厚生病院)において診療した E 型肝炎症例の臨床像を検討した。初期血清に対し nested PCR を行い HEV RNA を同定、ELISA にて測定した抗 HEV IgM, A の結果と合わせて HEV 感染を診断した。HEV ORF 1 326nt の塩基配列の比較から HEV genotype を決定した。急性肝不全(acute liver failure, ALF)は Prothrombin time (PT)活性 40%以下または PT INR1.5 以上と定義した。アルコール性肝障害(ALD)はエタノール換算 80g/日以上、5 年以上の飲酒歴を有する非ウイルス性肝障害、中等量飲酒脂肪肝はエタノール摂取量 30g /日以上、80g/日未満の US 上脂肪肝、