

表1. E型急性肝炎94症例の背景と臨床像

年齢		51.5 (19-75)
性, 男性n		75 (79.8%)
肝疾患既往, n		23 (24.5%)
	アルコール性肝障害 [§]	12
	NAFLD	5
	中等量飲酒脂肪肝	1
	非活動性 HBV Carrier [§]	4
	成因不明	2
飲酒量, g/day		28 (0-248)
体重, kg		67.6 (45.1-98.5)
Body Mass Index		23.6 (18.4-33.7)
HEV Gt, n: 3/ 4/ 3+4/ 不明		34/ 56/ 1/ 3
AST [†] , U/L		1691 (28-15444)
ALT [†] , U/L		2545 (43-17900)
総 Bilirubin [†] , mg/dl		4.8 (0.40-39.9)
PT INR [†]		1.24 (0.85-27.51)
病型	自然寛解, n	64 (68.1%)
	ALF, n	30 (31.9%)
	ALF 昏睡型, n	4 (4.3%)
入院期間, 日		19 (0-116)
転帰: 生存 / 死亡, n		92 / 2

†: 最高値, §: アルコール性肝障害及び非活動性HBV carrier重複1例

非アルコール性脂肪性肝疾患 (Non Alcoholic Fatty Liver disease: NAFLD) はエタノール摂取量 30g/日未満の US 上脂肪肝とした。非活動性 HBV carrier を急性肝炎診断時 HBV DNA 4Log copies/ml 未満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。

連続変数は中央値で示した。統計学的解析は SPSS ver.20 を用い Mann-Whitney U-test, Chi-square test, logistic 回帰 model で行った。

D. 研究結果

1) E 型急性肝炎の背景と臨床像 (表 1)

対象は E 型急性肝炎 94 例で、年齢は中央値 51.5(19-75)歳、男性が約 8 割を占めた。症例背景には、アルコール性肝障害 (12 例) 等 HEV

感染前から存在した肝疾患を 23 例 (24.5%) に認め、body mass index (BMI) は 23.6 であった。初期血清で HEV 3 が 34 例で、同 4 が 56 例で決定され、genotype 3, 4 の重複感染は 1 例であった。初期血清を用いても HEV RNA が同定できず抗 HEV IgM, IgA 陽性を示した 3 例は、genotype が不明であった。

E 型急性肝炎 94 例中 64 例が保存的治療で寛解したが 30 例 (31.9%) は PT INR 最高値が 1.5 以上を示し急性肝不全 (ALF) と診断された。ALF 30 例のうち 4 例 (4.3%) が肝性昏睡を合併し、2 例 (2.1%) は死亡した。

2) E 型急性肝炎の臨床像と重症化関連因子の検討 (表 2) 急性肝不全を呈した E 型急性肝炎の臨床像と背景因子を検討し重症化関連因子

の解明を試みた。

表2. E型急性肝炎の臨床像と急性肝不全重症化因子

			単変量解析		多変量解析	
	自然寛解, n=64	ALF, n=30	P-value	Odds Ratio	95% CI	P-value
年齢	52.5 (19-75)	50.5 (20-69)				
性, 男性, n	52 (81.3%)	23 (76.7%)				
肝疾患既往, n	10 (15.6%)	13 (43.3%)	0.0036	4.290 §	1.39-13.26	0.0110
アルコール性肝障害	5 (7.8%)	7 (23.3%)	0.0356			
NAFLD or 中等量飲酒脂肪肝	4 (6.3%)	3 (10.0%)				
非活動性HBV Carrier	1 (1.6%)	3 (10.0%)	0.0589			
飲酒量, g/day †	26 (0-248)	40 (0-152)				
体重, kg	67.0 (45.1-90.0)	68.0 (50.0-98.5)				
Body Mass Index	23.6 (18.7-29.5)	23.9 (18.4-33.7)				
HEV Gt 4, n	29 (45.3%)	27 (90.0%)	< 0.0001	11.126 §§	2.92-42.35	< 0.001
AST †, U/L	1191 (28-13096)	3776 (292-15444)	< 0.0001			
ALT †, U/L	1444.5 (43-13073)	4213 (1092-17900)	< 0.0001			
総 Bilirubin †, mg/dl	2.4 (0.4-29.0)	12.0 (2.8-39.9)	< 0.0001			
PT INR †	1.08 (0.85-1.49)	2.18 (1.51-27.51)	< 0.0001			
入院期間, 日	8 (0-75)	25.5 (7-116)	< 0.0001			
肝性昏睡, n	0	4 (13.3%)	0.0028			
転帰: 死亡, n	0	2 (6.7%)	0.0368			

†; 最高値, CI, confidence interval, §, §§; 肝疾患既往なし、又は、HEV Gt 4 以外を 1 として比較

ALF30 例には肝疾患既往例が 13 例 (43.3%) 含まれ、自然寛解 64 例中 10 例 (15.6%) に比して有意に多かった ($p=0.0036$)。さらに、アルコール性肝障害、非活動性 HBV carrier も ALF では頻度が高かった。また、HEV 側因子では、genotype 4 感染が ALF30 例中 27 例 (90%) を占め、genotype 3 他に比して重症化例で高頻度であった ($p<0.0001$)。ALF では自然寛解例に比して、AST, ALT, 総 bilirubin の最高値が有意に高値であり、入院期間もより長かった。

これらのうち ALF への進行に寄与する病初期の因子を解明するため肝疾患既往全体、そのうちアルコール性肝障害、非活動性 HBV carrier 及び HEV 側因子である genotype 4 について Logistic 回帰モデルを用いた多変量解析で検討した。その結果、ALF に寄与する独立因子として HEV genotype 4 と肝疾患既往が抽出された。Genotype 4 はそれ以外の場合に比べ 11.1 倍 ($p<0.001$) ALF に関連し、肝疾患既往は同じく 4.29 倍 ($p=0.011$) であ

った。

3) 肝疾患既往例の臨床像 (表 3)

E 型肝炎例における肝疾患既往の実態を明らかにするため E 型急性肝炎 94 例中肝疾患既往を有する 23 例の臨床像を検討した。肝疾患既往を有する群は年齢、性別に特徴はないが、飲酒量が多く体重、body mass index が中央値 25.6 と高値を示した。また臨床経過では ALT が高い傾向を示し、PT INR が高く、入院期間も長

い傾向が認められた。以上から

肝疾患既往の背景には肥満とアルコール多飲が存在し、E 型肝炎発症後の経過も重篤な症例が多い可能性が示唆された。

E. 結論

札幌の 2 施設で診療した E 型急性肝炎 94 例中 30 例が ALF を呈し、4 例が劇症化、2 例は死亡した。

表3. 肝疾患既往例の臨床像

	肝疾患既往		P-value
	No, n=71	Yes, n=23	
年齢	51 (19-75)	54 (33-68)	
性、男性, n	57 (80.3%)	18 (78.3%)	
飲酒量, g/day	20 (0-248)	77.5 (0-198)	0.0077
体重, kg	67.0 (45.1-90.0)	72.0 (53.0-98.5)	0.0755
Body Mass Index	23.0 (18.4-29.1)	25.6 (19.3-33.7)	0.0110
HEV Gt 4, n	40 (56.3%)	16 (70.0%)	
AST [†] , U/L	1574 (28-12100)	2660 (32-15444)	
ALT [†] , U/L	2259 (70-17900)	3729 (43-13073)	0.0863
総 Bilirubin [†] , mg/dl	4.6 (0.4-39.1)	7.0 (0.4-38.9)	
PT INR [†]	1.19 (0.85-27.51)	2.27 (0.92-7.48)	0.0011
入院期間, days	16 (0-75)	22 (0-116)	0.0888
肝性昏睡, n	3 (4.2%)	1 (4.3%)	
転帰: 死亡, n	2 (2.8%)	0	

[†]: 最高値

ALF 進行に関与した宿主側因子は発症前肝疾患既往、ウイルス側因子としては genotype 4 の感染であった。

献血者スクリーニングで陽性を示す無症候 HEV 感染を含めない、有症状で受診する E 型肝炎例の集団では、上記の 2 因子が重症化に関連する因子と考えられる。肝疾患既往と genotype 4 感染は E 型急性肝炎重症化の予測

因子と言えるため、HEV 感染では肝疾患既往を詳細に聴取することと、保険未収載であるが感染 HEV の genotype 決定が極めて重要であることが示された。肝疾患既往の実態に対する検討は更に必要であり、HEV genotype 4 における重症化機序の解明は今後の課題と考えられる。

F. 研究発表

学会発表

- 1) 姜貞憲, 松居剛志, 山崎大, 永井一正, 友成暁子, 田中一成, 辻邦彦, 児玉芳尚, 桜井康雄, 真口宏介 肝疾患既往がウイルス性急性肝炎に与える臨床的 impact -単一施設における検討- 東京 2014年5月30日
- 2) Jong-Hon Kang, Takeshi Matsui, Kazumasa Nagai, Akiko Tomonari, Kazunari Tanaka, Kunihiro Tsuji, HIroyuki Maguchi, Yoshiyasu Karino, Itaru Ozeki, Shuhei Hige, Tomoaki Nakajima, Takumi Ohmura, Kazuaki Takahashi, Masahiro Arai, Shunji Mishiro Pre-existing liver diseases lead acute HEV infection to progressive liver failure. The 65th Annual Meeting of the American Association for the Study of the Liver Diseases Boston 2014年11月10日
- 3) 姜貞憲、永井一正、松居剛志 肝疾患既往がウイルス性急性肝炎の病態に与える影響-単一施設における検討- 第40回日本肝臓学会東部会 東京2014年11月28日

研究論文

- 1) Matsui T, Kang JH, Matsubayashi K, Yamazaki H, Nagai K, Sakata H, Tsuji K, Maguchi H. Rare case of transfusion-transmitted hepatitis E from the blood of a donor infected with the hepatitis E virus genotype 3 indigenous to Japan: Viral dynamics from onset to recovery. Hepatol Res 2014 Jul 17. doi: 10.1111/hepr.12390. PMID: 25041213
- 2) 姜貞憲 E型肝炎はひそかに増えている? -発生傾向とその感染経路- Animus 2015 No 82 13-16

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

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

(当科におけるA型およびE型肝炎の臨床的・肝組織学的比較検討)

研究分担者 (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： ①2014年度に経験したA型及びE型肝炎例について臨床像、感染源、遺伝子型、予後などを集計した。また、②1998年より2014年までに北東北急性肝障害登録システムにより抽出されたA型及びE型肝炎例(それぞれ68例、35例)のうち、当科に入院し肝生検を施行し得たA型肝炎14例、及びE型肝炎13例(うち2例は発症より肝生検までの日数が120日以上であり除外)について肝組織学的所見を比較検討した。結果として、①2014年度はA型肝炎3例、E型肝炎4例を経験し、過去3年間では最も発生数が多かった。感染源(経路)については、A型では3例とも不明であり、E型では1例に獣肉(豚レバー刺し)、1例に生海産物の摂食を認めたが、2例は不明であった。臨床病型では、A型、E型の各1例に急性肝炎重症型(急性肝不全非昏睡型)を認めたが、他の例はいずれも通常型の急性肝炎を示した。全例改善し、死亡例は認めなかった。遺伝子型は測定可能であったA型の2例はIA、E型の3例は3型を示した。②肝組織学的検討(両群で発症より肝生検までの日数に差はない)では、E型肝炎ではA型肝炎に比し、胆汁うっ滞スコアが有意に高かったが、他の検討項目(炎症、線維化、浸潤リンパ球細胞数、肝細胞の脂肪化・風船化など)には差異を認めなかった。また、E型肝炎では薬剤リンパ球刺激試験で陽性を示した例で炎症スコアが高い傾向を示した。

〈研究協力者〉

館道芳徳(八幡平市西根病院内科・内科科長)

熊谷一郎(盛岡市立病院消化器内科・医師)

片岡晃二郎(岩手医科大学内科学講座消化器内科肝臓分野、助教)

宮本康弘(岩手医科大学内科学講座消化器内科肝臓分野、助教)

宮坂昭生(岩手医科大学内科学講座消化器内科肝臓分野、講師)

滝川康裕(岩手医科大学内科学講座消化器内科肝臓分野、教授)

増田友之(岩手医科大学病理学講座病理病態学分野、教授)

A. 研究目的

A型肝炎ウイルス(HAV)及びE型肝炎ウイルス(HEV)は、いずれも経口感染するウイルスであり、これらのウイルスによる急性肝炎例について、その感染源・経路の解明と臨床像の違いを検討することは、感染防止対策を的確に行う上でも重要である。我々はこれまで、北東北地域(岩手県、青森県、秋田県、一部宮城県を含む)における急性

肝障害登録システムを稼働し、急性肝障害の成因、臨床像、劇症化の予知、治療法の評価、予後などを検討し、報告してきた。本システムに登録される症例の約85%は岩手県内の症例であり、未だ発症早期の血清確保が十分でないため成因不明例についての詳細な検討が出来ないなど、今後解決すべき問題点もあるが、急性肝炎の経年的な成因別頻度、臨床病型、予後などの情報を得ることが可能であり有効なシステムと考えている。本研究では、個別研究として各年度におけるA型及びE型肝炎例を集計し、臨床病型、遺伝子型および予後などを検討し、報告してきた。2014年度は当該年度におけるA型及びE型肝炎例について解析するとともに、これまでほとんど検討されてこなかった肝組織所見について比較検討した。

B. 研究方法

1. 2014年度における急性A型及びE型肝炎例の臨床像

2014年1月から12月までに当科及び北東北急性肝障害登録システムにおいて確定診断がなされた急性A型及びE型肝炎例について、登録県、感

染地及び感染源、遺伝子型、臨床病型・予後を検討した。ウイルスの遺伝子型の測定は、保存血清が確保されていた例について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（岡本宏明教授）に郵送して測定を依頼した。なお、本研究が遂行された過去3年間における急性A及びE型肝炎の発生件数も集計した。

2. A型肝炎とE型肝炎との肝組織像の比較検討

1998年から2014年までに当科及び北東北急性肝障害登録システムにおいて確定診断がなされた急性A型及びE型肝炎例は、それぞれ68、35例であったが、このうち当科に入院し肝生検が施行された症例（A型肝炎14例、E型肝炎13例）について肝組織像を比較検討した。なお、肝炎の発症から肝生検までの期間を出来るだけ一致させるため、肝生検までの日数が120日以上であったE型肝炎の2例は今回の検討より除外した。肝組織の評価項目については、炎症及び線維化の程度をMETAVIR scoring system (A0, no activity; A1, mild; A2, moderate; A3, severe. F0, no portal fibrosis; F1, portal fibrosis without septa; F2, portal fibrosis with few septa; F3, portal fibrosis with many septa but no cirrhosis)を用いて評価した。また、interface hepatitis, portal lymphocyte, lobular necrosis, steatosis, ballooning, cholestasisについては、半定量的にスコア化(none=0, mild=1, moderate=2, severe=3)した。2名の病理専門医がそれぞれに各症例の肝組織像を観察してスコア化を行い、その平均値をもって各症例のスコア値とした。倫理面への配慮：本研究（北東北急性肝障害登録システム）の遂行に当たっては岩手医科大学の倫理委員会の承認のもとに行われており、個人情報IDで管理し、コンピューターは外部との接続が不可能な環境に置かれている。

C. 研究結果

1. 2014年度における急性A型及びE型肝炎例の臨床像

2014年度における急性A型及びE型肝炎例はそれぞれ3、4例であった。発生月は、E型肝炎の1例を除き、2月から6月の間に発生していた。感染地は、秋田県で発生したE型肝炎の1例を除き、他は岩手県での発生例であった。感染源については、A型肝炎はいずれの例でも生カキなどの海産物摂取は確認されず不明であった。一方、E型肝炎では2例に獣肉（レバー刺し）、生海産物の摂取を確認したが、他の2例では不明であった。臨床病型・予後は、A型肝炎では通常型の急性肝炎2

例、急性肝炎重症型（急性肝不全非昏睡型）1例、E型肝炎では、それぞれ3例、1例であった。全例肝機能は改善し、死亡例は認めなかった。HAVおよびHEVの遺伝子型は、A型ではいずれもIA、E型ではいずれも3型であった（表1）。

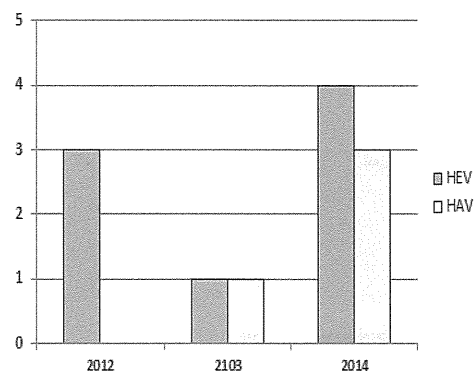
表1. 急性肝炎症例(2014年度)

症例	性・年齢	発生月	感染地・感染源	臨床病型・予後
A-1	女・45歳	2月	岩手中央・不明	急性肝炎・改善(IA)
A-12	女・46歳	3月	岩手県南・不明	急性肝炎重症型・改善(IA)
A-3	男・62歳	6月	岩手中央・不明	急性肝炎・改善
症例	性・年齢	発生月	感染地・感染源	臨床病型・予後
E-1	男・59歳	4月	岩手盛岡・レバー刺し/ 焼肉	急性肝炎・改善 (n.t)
E-2	男・45歳	4月	岩手盛岡・不明	急性肝炎・改善 (genotype 3)
E-3	男・71歳	5月	秋田能代・生海産物/ 井戸水?	急性肝炎重症型・改善 (genotype 3)
E-4	女・66歳	10月	岩手盛岡・不明	急性肝炎・改善 (genotype 3)

上段:急性A型肝炎、下段:急性E型肝炎

なお、過去3年間における急性A及びE型肝炎の発生件数をみると、2014年が最も多かった（図1）。

図1. 過去3年間におけるHAV及びHEVによる急性肝炎の発生数



2. A型肝炎とE型肝炎との肝組織像の比較検討

表2に肝生検を施行したA型肝炎及びE型肝炎の肝機能検査値と臨床像を示した。肝生検までの日数及び肝生検時の肝機能検査値には有意差を認めなかった。A型肝炎はE型肝炎に比し有意に年齢が若く、肝機能（ピーク値）では血清トランスアミナーゼ値が有意に高く、プロトロンビン時間（PT）値が有意に低値であった。一方、胆道系酵素は、E型肝炎で高値傾向を示し、 γ GTP値には有意差が認められた。

表2. A型およびE型肝炎の肝機能検査値、臨床像

	HAV	HEV	P value
年齢	44.7±10.8	56.7±15.8	0.012
急性肝炎重症型(%)	36% (5/14)	27% (3/11)	0.685
生検時期(日)	44±16	44±23	0.366
T.Bil Max(mg/dl)	9.9±3.0	16±12	0.311
AST Max(IU/ml)	6064±4582	1749±941	0.013
ALT Max(IU/ml)	5296±2861	1894±1050	0.023
PT Min(%)	45±25	74±28	0.015
γ GTP Max(IU/l)	444±247	547±657	0.681
ALP Max(IU/l)	718±245	1553±1585	0.015
T.Bil生検時(mg/dl)	1.3±0.6	3.9±4.0	0.238
AST生検時(IU/ml)	46±34	426±1281	0.826
ALT生検時(IU/ml)	73±64	131±280	0.784
PT生検時(%)	83±14	91±10	0.093
γ GTP生検時(IU/l)	101±74	146±103	0.250

表3に肝組織像における各観察項目のスコア(平均値±標準偏差)を示した。胆汁うっ滞を除くいずれの項目においても両群間には有意差を認めなかった。また、飲酒歴より純アルコールにして1日40g以下とそれ以上に分けて同様に肝組織像を比較検討したが、飲酒歴の有無で有意な差異は認めなかった。

表3. 急性A型肝炎及び急性E型肝炎症例の肝組織所見の比較

	HAV (n=14)	HEV (n=11)	P
Activity*	1.4±0.5	1.1±0.9	0.299
Fibrosis*	0.36±0.5	0.4±0.5	1.000
Interface hepatitis**	0	0.2±0.4	0.116
Portal lymphocyte**	1.1±0.3	0.9±0.3	0.181
Lobular necrosis**	1.4±0.5	0.9±0.7	0.060
Lobular inflammation**	1.0	0.9±0.7	0.610
Steatosis**	0.6±0.6	0.4±0.5	0.277
Ballooning**	0.3±0.5	0.2±0.4	0.579
Cholestasis**	0	0.4±0.5	0.018

*: METAVIR score, **: semi-quantitative score

次に、E型肝炎例において、発症前および発症直後に服用した薬剤に対するリンパ球刺激試験(DLST)が陽性を示した例を4例認めたことより、DLST陽性の有無で肝組織所見を比較検討した。なお、A型肝炎例にはDLST陽性を示した例は認めなかった。表4にDLST陽性の有無からみた肝機能検査所見の差異を示した。すなわち、肝機能検査のピーク値はDLST陽性例で黄疸が強く、血清トランスアミナーゼ値が高く、PT値は低い傾向を示したが、有意差は認めなかった。一方、肝組織像では、表5に示すように、小葉間の炎症及び壊死スコア

がDLST陽性例で有意に高値であった。

表4. DLST陽性の有無からみたE型肝炎の肝機能検査所見の比較

	DLST positive (n=8)	DLST negative (n=3)	P value
T.Bil Max (mg/dl)	23.9±6.4	12.9±12.0	0.262
AST Max (IU/l)	1758±719	1566±1003	0.820
ALT Max (IU/l)	2126±1227	1624±994	0.649
PT Min(%)	73±36	79±27	1.000
γ GTP Max (IU/l)	1099±1098	363±320	0.171
ALP Max (IU/l)	2490±2796	1246±787	0.494
T.Bil生検時(mg/dl)	8.8±4.4	1.9±1.6	0.067
AST生検時(IU/ml)	1462±2448	37±18	0.170
ALT生検時(IU/ml)	357±533	38±16	0.171
γ GTP生検時(IU/l)	232±94	111±97	0.111
ALP生検時(IU/l)	872±845	422±191	0.494

表5. DLST陽性の有無からみたE型肝炎の肝組織像の差異

	DLST positive (n=8)	DLST negative (n=3)	P value
Activity*	2.0±1.0	0.8±0.7	0.083
Fibrosis*	0.7±0.6	0.3±0.5	0.272
Interface hepatitis**	0.3±0.6	0.1±0.4	0.543
Portal lymphocyte**	1.0	0.9±0.4	0.683
Lobular necrosis**	1.7±0.6	0.6±0.5	0.042
Lobular inflammation**	1.7±0.6	0.6±0.5	0.042
Steatosis**	0	0.5±0.5	0.180
Ballooning**	0	0.4±0.5	0.292
Cholestasis**	0	0.4±0.5	0.292

*: METAVIR score, **: semi-quantitative score

D. 考察

2014年度は全国的に急性A型肝炎の発生件数が多かった年である。我々に施設においても同様であったが、E型急性肝炎例も4例と多く経験された。いずれも経口感染する肝炎ウイルスであることを考慮すると、両者の発生頻度が並行することもあり得るが、近年はE型肝炎数の年間発生件数がA型肝炎を上回って推移していた経緯があり、感染源に興味もたれる。しかしながら、今回の症例の中で感染源の推定が可能であった例はE型肝炎の2例のみで、他の症例では不明であった。今後、急性肝障害例を治療する際には、聴取すべき事項、ことに生鮮食品類や冷凍食品など摂取に関する具体的な項目を研究班として提示し、全国の医療機関に普及させることが感染源の解明のために必要と考えられる。

次に、A型急性肝炎とE型急性肝炎について肝組織所見に比較検討を行ったが、急性肝炎の肝組織像を比較検討するためには発症から肝生検までの期間を出来るだけ一致させる必要がある。また、重度度が異なれば当然のことながら肝炎・肝壊死

の程度は異なってくる。今回の検討では、これらの点を考慮し、発症から肝生検までの日数が長い（120日以上）の2例を除外し、また剖検例も除外した。したがって、急性肝炎重症型（急性肝不全非昏睡型）を含む通常型の急性肝炎例についての比較検討成績である。結果に示したように、A型急性肝炎とE型急性肝炎の間には肝組織像に大きな差異は認められなかったが、胆汁うっ滞はE型肝炎例でスコアが有意に高い所見を得た。この結果は、A型急性肝炎とE型急性肝炎の発症早期（あるいは極期）の肝機能検査成績を比較した臨床成績、すなわち、胆汁うっ滞を示すALP及びγGTPがE型急性肝炎においてA型急性肝炎よりも有意に高値を示すとの過去の成績を裏づけるものと思われる。しかし、今回の組織学的検討は、光顕レベルでの検討であり、免疫組織学的検討などを含め今後も検討してゆくことが重要と考えられる。

一方、DLSTが陽性を示したE型急性肝炎例をDLST陰性例と比較検討したところ、陽性例では陰性例に比し炎症の程度が高い傾向が認められた。DLSTは、薬剤性肝障害の診断に有用な検査であるが、測定時期によって測定結果が異なる可能性があること、偽陽性を示すことがあること、外注検査会社によっては同じ検体でも異なる結果が得られる可能性があること、などいくつかの問題点が指摘されている。しかし、我々は過去に急性E型肝炎に薬剤過敏症候群を合併し、サイトメガロウイルスの再活性化をきたして死亡した1例を経験している。今回の検討でDLS陽性を示した4例は、直ちに薬剤性肝障害合併例とみなすことは出来ないが、E型肝炎例にのみDLST陽性を示したことは注目に値する。薬剤などの抗原に対する免疫応答がHAVとHEVで異なるのかどうか？そのような観点での基礎的・臨床的研究も必要と考えられる。

E. 結論

2014年度に経験した経口感染によるウイルス性急性肝炎（A型3例、E型4例）について、感染源（経路）、臨床病型、遺伝子型、予後などを検討した。②A型急性肝炎とE型急性肝炎の肝組織像を比較検討し、E型肝炎ではA型肝炎に比し、胆汁うっ滞が強い傾向を認めた。また、E型肝炎では薬剤リンパ球刺激試験で陽性を示した例において炎症の程度が強い傾向を認めた。

F. 研究発表（2013-2014年のみ）

1. **Suzuki K**, Kataoka K, Miyamoto Y, Miyasaka A, Kumagai I, Takikawa Y, Takahashi M and Okamoto H. Clinical and molecular analysis of sporadic acute hepatitis A and E and the specific

viral genotypes isolated in Iwate and three neighboring prefectures in the northern part of Honshu, Japan, between 2004 and 2013. **Hepatol Res** 2014, Doi: 10.1111/hepr.12406.

2. Kuroda H, Kakisaka K, Oikawa K, Onodera M, Miyamoto Y, Sawara K, Endo R, **Suzuki K** and Takikawa Y. Liver stiffness measured by acoustic radiation force impulse elastography reflects the severity of liver damage and prognosis in patients with acute liver failure. **Hepatol Res** 2014 Doi: 10.1111/hepr.12389.
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** 2013, Doi 10.1007/s00535-013-0927-6.

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

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

E型肝炎発生数に偏りが認められる三重県北中部及び南部地域における、健診受診者血清を使用したHEV-IgG抗体陽性率の測定

研究協力者 岡野 宏 三重県厚生連鈴鹿中央総合病院 消化器内科医長

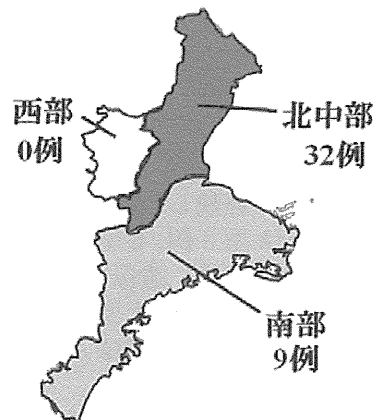
研究要旨： 三重県では、2004年に初めて急性E型肝炎症例が報告されて以来北中部地域（津市以北）で2013年まで32例のE型肝炎発生を認めている。一方松阪以南の南部地域では9例の発生数にとどまっている。人口比を考慮しても三重県のE型肝炎発生数は北中部地域に多くが偏っている。またE型肝炎発生数からみると、三重県は近畿地方より中部地方に属する愛知県、静岡県での発生数に近く、三重県内にはE型肝炎が高率に蔓延している可能性がある。このため我々は2013年10月～12月に鈴鹿市の鈴鹿中央総合病院で、また2014年7月～8月に松阪市の松阪中央総合病院で健診受診者に同意を得て血清を確保し、HEV-IgG抗体を用いて陽性率の測定を行った。上記期間に2施設から計921名の血清を確保した。内北中部及び南部地域在住911名（男496例女415例平均年齢53歳）の血清について解析した。全体では24例のHEV-IgG陽性例を認め陽性率は2.6%であった。男女別では男18例、女6例で陽性率は各々3.6%、1.4%であった。地域別では北中部3.1%（男4.3%女1.8%）、南部1.7%（男2.3%女0.7%）となった。HEV-IgG抗体陽性率は北中部>南部であった。また両地域で50-60歳代の男性の陽性率が高い傾向となった。E型肝炎発生数の南北差は両地域の感染率に起因することが疑われた。また男性の特定年代の感染率が高いことは、これらの集団の食事の嗜好等が影響している可能性も示唆された。

<共同研究者>

同一県内で地域別発生数に偏りがある状態である。

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 教授）
高橋 雅春（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）
長嶋 茂雄（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）
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）

Fig. 1 三重県地域別E型肝炎発生状況
(2004年～2013年)



A. 研究目的

E型急性肝炎は、三重県内では2004-2013年に北中部地域（津市以北）で32例の発生が報告されている。しかし同時期の南部地域（松阪市以南）での報告は9例である。また西部（伊賀地区）は報告数0となっている(Fig.1)。

三重県の人口は、2014年2月の時点で各自治体が発表している統計から計算すると61.3%が北中部地域に居住、29.3%が南部地域に居住し、三重県は北中部に人口が集中している。しかし人口差を考慮しても北中部地域のE型肝炎発生数は多く、

この原因として、E型肝炎の感染率が北中部地域で高い可能性が考えられるが、E型肝炎感染時の肝炎症状顕性化率が低いため、E型肝炎発生報告数は実際の感染状況を反映していない可能性もある。またこれまでの全国規模の調査では、日本全体では発生数、HEV-IgG抗体陽性率共に東日本>

西日本で、三重県が属する近畿地方では HEV-IgG 抗体陽性率は 2% 台であるが、隣接する中部地方は 6% 台と高い。しかしこれまでの E 型肝炎報告数においては、三重県は中部地方の各県に類似した発生数が報告されており、近畿地方の中でも発生数が多い傾向にある。これらの状況から、三重県内での E 型肝炎感染率が近畿地方で特に高い可能性が疑われた。また地域別に発生数が大きく異なる同一県内での E 型肝炎感染状況の比較検討はこれまで殆ど行われていないため、三重県北中部及び南部地域居住者の健診受診者血清を用いて県内居住者の HEV-IgG 抗体測定調査を行った。

B. 研究方法

2013 年 10 月～12 月の期間に三重県鈴鹿市の鈴鹿中央総合病院健診センターに来院された健診受診者の血清 [551 例(男 298 例、女 253 例) : 30-74 歳] と、2014 年 8 月～9 月の期間に三重県松阪市の松阪中央総合病院健診センターに来院された健診受診者の血清 [370 例(男 205 例、女 165 例) : 22-74 歳] の計 921 例の血清を確保した。これら集められた血清は -20℃ に凍結保存され、その後自治医科大学医学部感染・免疫学講座ウイルス学部門に送られた。同施設で保存された各血清を使用して HEV-IgG 抗体を測定し、陽性率を地域別及び男女各年齢層別に比較検討した。

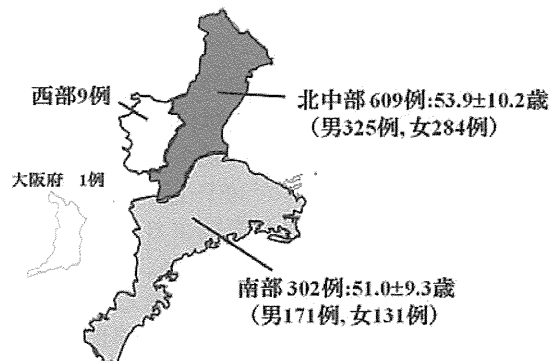
倫理面への配慮：この研究は、上記の期間に各健診センターを受診する予定の対象者に予め文書を郵送し、文書で同意を得られた健診受診者に対して行われた。これらの血清保存を行うにあたり、各健診センターが所属する病院施設で個別に倫理委員会を開催し、その承認を得て行われた。また血清確保に際しての採血は、受診者が各健診センターとの間で交わされた契約に基づき行われる検査項目中の生化学検査目的で行われた採血により行われた血液を使用した。健診で使用された血液(血清)で必要項目検査が既に行われた後に残った血清を使用することで、同意された受診者に余分な採血行為や採血量の増大、金銭負担をかけないように配慮した。

C. 研究結果

上記期間内に 2 施設で確保された全血清 921 例中、大阪府在住の 1 例を除いた三重県内居住者は 920 例(男性 502 例女 418 例)であった。血清提供者 920 例の平均年齢は 53 歳であった。男は 54.6 歳、女は 51.1 歳で男性平均年齢が高い傾向となった。北中部地域(津市以北)は 609 例、南部(松阪市以南)は 302 例、西部(伊賀)は 9 例であった。北

中部地域と南部地域の平均年齢は各々 53.9 歳、51 歳で北中部地域が高い傾向であった (Fig. 2)。

Fig. 2 HEV-IgG 抗体解析血清全提供者分布 (921 例)



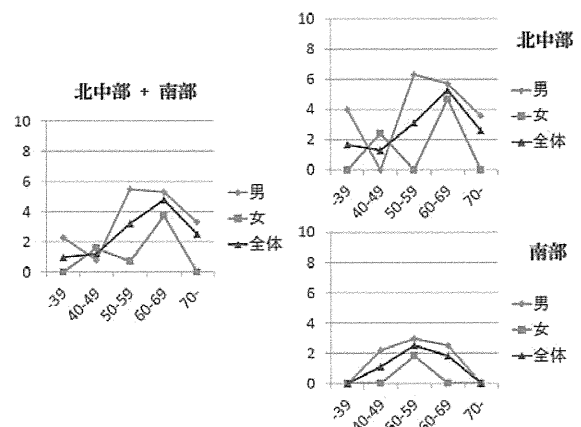
県内在住者 920 例中 HEV-IgG 抗体陽性数は 26 例で陽性率は 2.8% (男 4.0%、女 1.4%) であった。この数値は報告されている近畿地方の 2.7% に類似していた。次に西部 9 例については症例数が少ないため以後の検討からは除外し、三重県北中部と南部との比較を行った (Table 1)。

Table 1 地域別 HEV-IgG 抗体陽性症例数及び陽性率

	男	女	男+女
北中部	14	5	19
南部	4	1	5
計	18	6	24

	男	女	男+女
北中部	14/325 (4.3%)	5/284 (1.8%)	19/609 (3.1%)
南部	4/171 (2.3%)	1/131 (0.7%)	5/302 (1.7%)
計	18/496 (3.6%)	6/415 (1.4%)	24/911 (2.6%)

Fig. 3 年齢別 HEV-IgG 抗体陽性率



両地域で HEV-IgG 抗体陽性数は 24 例 (男 18 例女 6 例) であった。地域別では北中部地域が 19 例 (男 14 例女 5 例)、南部地域が 5 例 (男 4 例女 1 例) であった。陽性率で見ると北中部地域は 3.1% (男 4.3%、女 1.8%)、南部地域は 1.7% (男 2.3%、女 0.7%)

で、南部は北中部の約半分の陽性率であった。両地域とも男性の陽性率がほとんどの年代で女性を上回った。特に 50-60 歳台の男性での抗体陽性率が両地域で高い結果であった (Fig. 3)。

D. 考察

三重県全体の HEV-IgG 陽性率は他の近畿地方と類似した数値であり、三重県の E 型肝炎感染率は中部地方で報告されている程の高い感染率ではなかった。一方三重県内の HEV-IgG 抗体陽性率の地域別比較では、北中部が南部より高く、E 型肝炎発生数と同様の傾向となった。また両地域で 50-60 歳台の男性が陽性者多数となる傾向を認めた。以上の結果から三重県内で南部地域に比して北中部地域で多数の E 型肝炎の感染報告例が認められることは、県内での地域別の感染状況の差を反映していると考えられた。同一県内でも地域で感染状況に差があることは、E 型肝炎感染原因及びルートについて、原因となる食物の摂取内容や流通などが影響を与えている可能性が示唆される。北中部と南部で E 型肝炎感染に影響を与えると考えられる食生活上の大きな違いは認められないが、豚の屠畜については、北中部地域産では四日市市、南部地域産では松阪市で行われているため E 型肝炎感染豚が、南部地域に流通しない状況になっていると思われ、これが感染率の差に影及ぼしている可能性がある。E 型肝炎の発生が少数である南部地域でも、北中部地域と同じように抗体陽性者が特定の年齢層 (50-60 台男性) に多く認められる事は、E 型肝炎感染について、この年代層の食生活等の行動が影響している可能性も示唆された。今後の感染予防にはこれらの要因を考慮した対策が重要であり、また感染源を探る上で考慮すべきと考えられた。

E. 結論

三重県北中部及び南部地域居住者の血清による HEV-IgG 抗体の解析では、抗体陽性率は北中部が南部より高いことが認められた。また両地域で 50-60 歳台の男性の陽性率が高いことも認められた。三重県で南部地域に比して北中部地域で E 型肝炎例が多数報告される背景には、両地域間での E 型肝炎感染率の差が反映されている可能性がある。このような感染率に差が生じる原因について、感染源や感染ルートの点についてさらに検討が必要である。

F. 研究発表

1. Okano H, Nakano T, Sugimoto K, Takahashi K, Nagashima S, Takahashi M, Arai M, Okamoto H. High genomic similarity between European type hepatitis E virus subgenotype 3e strains isolated from an acute hepatitis patient and a wild boar in Mie, Japan. *Hepatology Res.* 2014 Jun;44(6):694-9.
 2. Okano H, Takahashi M, Isono Y, Tanaka H, Nakano T, Oya Y, Sugimoto K, Ito K, Ohmori S, Maegawa T, Kobayashi M, Nagashima S, Nishizawa T, Okamoto H. Characterization of sporadic acute hepatitis E and comparison of hepatitis E virus genomes in acute hepatitis patients and pig liver sold as food in Mie, Japan. *Hepatology Res.* 2014 Oct;44(10):E63-E76.
 3. 岡野 宏, 中野 達徳, 岡本 宏明. 薬物性肝障害診断スコアリングにおける E 型肝炎の診断マーカー追加の必要性についての検討. *肝臓.* 2014. 55 (6) .325-334
 4. 岡野 宏, 赤地 重宏, 中野 達徳, 岡本 宏明. 三重県北中部で持続発生している E 型肝炎の主たる感染株 (ヨーロッパ型 3e/3sp 株) の県内産豚からの特定. *肝臓.* 2014. 55(9), 553-555.
 5. 岡野 宏, 中野達徳, 岡本宏明. 三重県北中部地域の症例からみた E 型急性肝炎の特徴. 第 40 回日本肝臓学会東部会 (ワークショップ). 東京. 2014 年 11 月 28 日.
- 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

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

岐阜市近郊で短期間に異なる遺伝子配列を持つE型肝炎ウイルス株によって
発症した急性E型肝炎の6例

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: 岐阜市民病院では2012年10月から2014年3月の18ヶ月間で6例のE型肝炎症例を経験した。6例は岐阜市内または岐阜市近郊に在住していたが住所は離れており、それぞれ別の前医から離れた時期に肝障害で紹介されてきた。1例は顕性黄疸を認め、PTが40%になった重症例であったが、他の5例では黄疸は現れず、症状は軽かったか、無かった。このことはE型肝炎では明らかな肝炎の症状を呈する症例は少なく、多くが見過ごされてきた可能性があることを示唆した。重症の1例は発症2か月前にブタレバーとブタの心臓を生で喫食しており、それが感染源と強く疑った。他の5例では感染源は断定できなかった。感染していたウイルスの遺伝子配列から作った分子進化系統樹から、重症の1例は遺伝子型4型愛知静岡株と呼称されるこの地方のイノシシ・シカなどの野生動物から分離される重症化することが多いHEV株であった。このことからこの地方では野生動物だけでなく飼育ブタにも4型愛知静岡株が拡散している可能性が示唆された。他の3例は3b型、2例は3a型のクラスターに属したが、各々は系統樹上で全く近縁関係を示さなかった。短期間に全く異なるHEV株によるE型肝炎が発生したということは、複数の未知の感染源が存在し、それぞれ異なる系統のHEV株に汚染されていることが疑われる。

〈共同研究者〉

西垣 洋一(岐阜市民病院・肝臓内科、部長)
富田 栄一(岐阜市民病院・病院長)
高橋 和明(東芝病院・研究部、主任研究員)
新井 雅裕(東芝病院・消化器内科、院長・部長)
三代 俊治(東芝病院・研究部、部長)

A. 研究目的

これまで三重県内主要医療機関で発生したE型肝炎症例を中心にその発生の動向、検出されたE型肝炎ウイルス(HEV)の遺伝子型、遺伝子配列、患者の生活歴を調査し、感染源・感染経路の特定に努めてきた。今回は隣県の岐阜県の岐阜市内の中核病院、岐阜市民病院で発生したE型肝炎症例のHEVの遺伝子型、遺伝子配列と患者の生活歴から感染源・感染経路の解明に努めた。また臨床経過についての特徴がないかも検討した。

B. 研究方法

急性肝障害患者が発生した場合 IgA-HE 抗体を測定するとともに血清を保存。IgA-HE 抗体陽性の場合、保存血清を東芝病院研究部に送付していただいた。東芝病院研究部にて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、3か月以内の野生動物肉の摂食歴、豚内臓肉、豚肉、豚肉加工品、貝類などの喫食歴、渡航歴、輸血歴、多種の動物種との接触歴、家族・友人・同僚など飲食を中心とした行動をとったものなどの健康状態を詳細に聴取した。以上のような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。臨床経過についても検討した。

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ている。岐阜市民病院からの情報により、他の協力施設には患者が特定できないように配慮した。

C. 研究結果

2012年10月から2014年3月の18ヶ月間で6例のE型肝炎症例を経験した。これらの6症例の情報をTableに示した。年齢は51歳から71歳で男性が5例、女性が1例であった。6例は岐阜市内または岐阜市近郊に在住していたが住所は離れており、それぞれ別の前医から離れた時期に肝障

害で紹介されてきた。症例 1 と 2 は食思不振と全身倦怠感、症例 3 は発熱にて採血検査を受け肝障害が発見された。症例 4 は全身倦怠感を感じていたものの受診するほどではなく、高血圧症での定期受診の際の採血検査で肝障害を指摘された。症例 5 は左胸部痛を訴えて受診し、心疾患除外のため採血検査され肝障害を指摘された。症例 6 には全く症状なく、併存症の定期採血にて肝障害を指摘された。当科初診時の IgA-HE 抗体陽性にて急性 E 型肝炎と診断し、他の原因による肝障害も否定し、後に HEV-RNA 検査で確定診断した。症例 1 は顕性黄疸を認め、PT が 40% になった最も重症例であったが、他の 5 例では黄疸は現れず、全例が補液または経過観察のみにて回復した。問診では症例 1 は発症 2 か月前にブタレバーとブタの心臓を生で喫食しており、感染源を強く疑った。症例 2, 5, 6 は調理したブタ肉を、症例 4 はブタしゃぶを喫食していた。症例 3 には感染の危険因子は見当たらなかった。

患者の凍結保存血清から HEV の ORF1 領域 326 塩基の塩基配列を決定し、既報株とともに分子進化系統樹を作成した (Fig.)。症例 1 は遺伝子型 4 型、症例 2, 4, 6 は 3b 型、症例 3, 5 は 3a 型のクラスターに属したが、各々は系統樹上で全く近縁関係を示さなかった。6 例の HEV 株の近縁株を BLAST search でも検索した。症例 1 の HEV 株は 4 型愛知静岡株と呼称されるこの地方のイノシシ・シカなどの野生動物から分離される HEV 株と 100% の bootstrap 値でクラスターを形成し、最も近縁関係にあったのは 2005 年愛知県瀬戸市で愛知県内で捕獲されたイノシシ肉喫食後に発生した急性 E 型肝炎症例から分離された株であり、323/326 塩基、99.1% の高い一致率を示した。症例 2, 3, 4, 5, 6 の HEV 株にはそれぞれ感染源と言えるほどの 99% 以上の相同性を持つ既報株は存在しなかった。

症例 1 は明らかな肝炎の症状を示し、重症化が懸念される 4 型愛知静岡株による肝炎であったが、野生動物肉喫食歴がなかった。しかし、本症例は感染源が強く疑われるブタ内臓肉を喫食していた。このことはこの地方の野生動物だけでなく飼育ブタにも 4 型愛知静岡株が拡散している可能性を初めて示唆した。症例 2, 4, 5, 6 ではブタ肉が危険因子には挙げられたが、内臓ではない部分のブタ肉から感染したことを証明した報告はないため感染源とは断定できない。

この 6 症例のうち、はっきりとした肝炎を疑うべき症状を呈したのは 1 例であり、5 例では念のためや定期的採血で肝障害を発見され、見過ごされても不思議ではない症例が肝臓専門医へ紹介され、IgA-HE 抗体の測定で診断された。

E. 結論

この地方の野生動物だけでなく飼育ブタにも 4 型愛知静岡株が拡散している可能性が示唆され、この地方でのブタ内臓肉の喫食には十分な注意が必要と思われる。

この 6 例から想像する限り、明らかな肝炎の症状を呈した症例は少なく、E 型肝炎の多くが見過ごされてきた可能性があり、実際には潜在的な罹患患者はもっと多い可能性がある。

一般にはある特殊な HEV 株が同一地区で多数分離され、特定の感染源・感染経路が関連していることが注目されるが、この 6 例は全く異なる HEV 株であった。短期間に全く異なる HEV 株による E 型肝炎が発生したということは、複数の未知の感染源が存在し、それぞれ異なる系統の HEV 株に汚染されていることが疑われる。問診からは感染の危険因子としてブタ肉が挙げられたが、感染源はブタ肉とは断定できず 5 例では不明であり、真の感染源・感染経路の同定には一層詳細な調査が必要である。

F. 研究発表

1. 渡部直樹, 小島健太郎, 渡邊千晶, 渡邊諭, 中島賢憲, 鈴木祐介, 小木曾富生, 向井強, 林秀樹, 杉山昭彦, 西垣洋一, 加藤則廣, 富田栄一, 内木隆文, 中野達徳. 当院で経験した E 型急性肝炎の 6 例. 日本消化器病学東海支部第 120 回例会 2014 年 6 月 14 日 岐阜長良川国際会議場.
2. 渡部直樹, 西垣洋一, 富田栄一, 高橋和明, 中野達徳, 鈴木祐介, 林秀樹, 渡邊諭, 加藤則廣, 内木隆文, 新井雅裕, 三代俊治. 岐阜市近郊で短期間に異なる遺伝子配列を持つ HEV 株によって発症した E 型肝炎の 6 例. 肝臓. 2014 55 巻 11 号: 713-716

G. 知的所有権の取得状況: なし

1. 特許申請: なし
2. 実用新案登録: なし
3. その他: なし

Table Information of patients with sporadic acute hepatitis E in Gifu, Japan

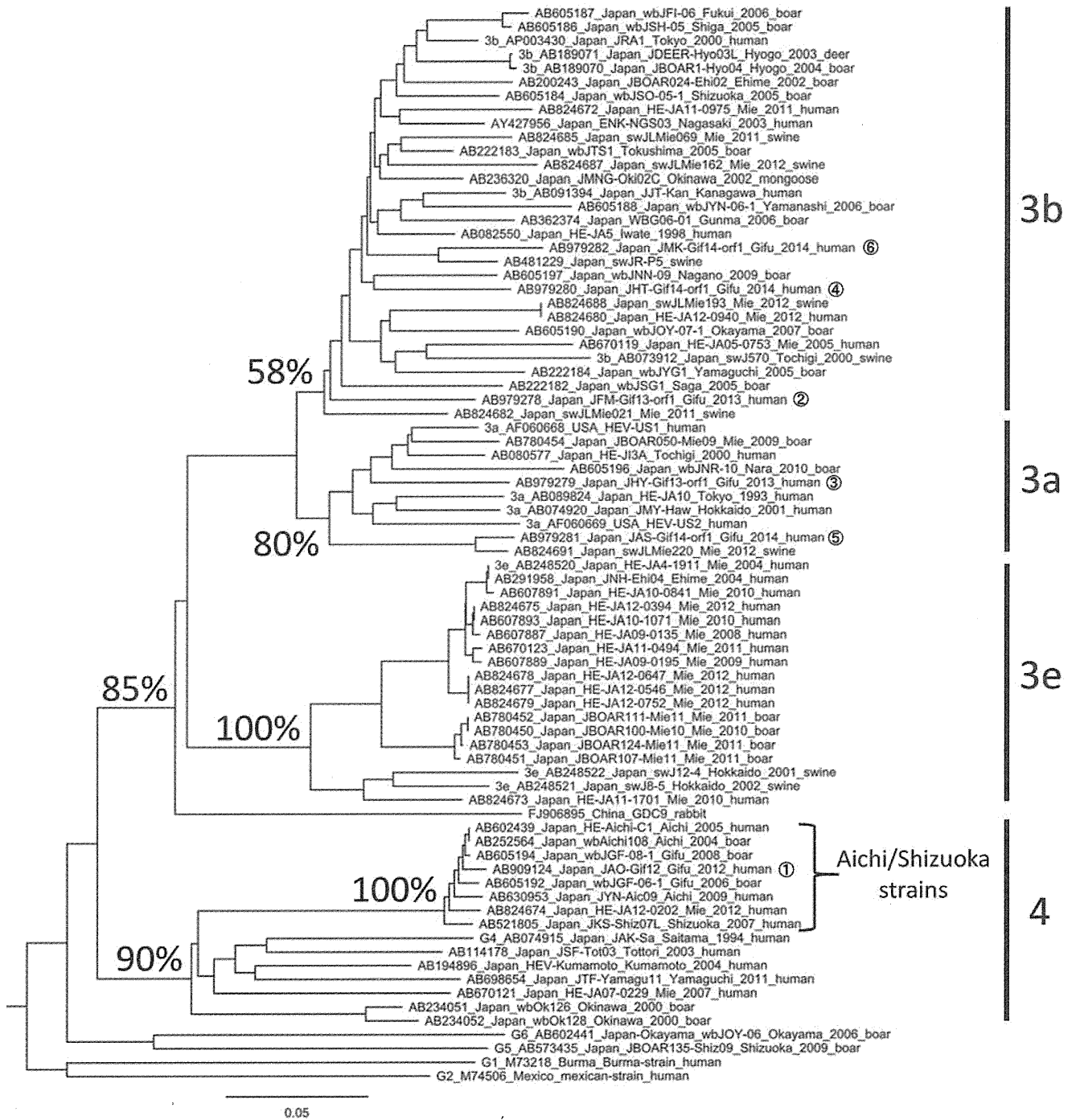
No. of patient	1	2	3
Age (years)	63	51	58
Sex	Male	Male	Male
Residence (city)	Gifu	Gifu	Gifu
Date of onset	2012/10/11	2013/1/28	2013/6/21
Date of visiting home doctor	2012/10/15	2013/2/2	2013/6/24
Symptom on onset	Appetite loss Nausea General fatigue	Appetite loss General fatigue	Fever
ALT (IU/L) at home doctor	6640	1793	1495
AST (IU/L) at home doctor	7430	651	1889
Date of admission	2012/10/16	2013/2/4	2013/6/25
Hospitalization (days)	33	6	10
ALT (IU/L) on admission	6160	898	1308
AST (IU/L) on admission	5240	181	362
Peak T-Bil (mg/dl)	13.9	1.1	1.5
Lowest PT %	40	97	95
IgA anti-HEV	+	+	+
HEV RNA	+	+	+
HEV genotype	4	3b	3a
Isolate name	JAO-Gif12	JFM-Gif13	JHY-Gif13
Possible source of infection	Raw liver of pig Raw heart of pig Cooked pork	Cooked pork	None

Table (continued)

No. of patient	4	5	6
Age (years)	60	62	71
Sex	Male	Male	Female
Residence (city)	Motosu ¹	Gifu	Gifu
Date of onset	2013/12/15	2014/2/4	2014/3/5
Date of visiting home doctor	2014/1/22	2014/2/13	2014/3/5
Symptom on onset	General fatigue	Left chest pain	None
ALT (IU/L) at home doctor	1247	275	1226
AST (IU/L) at home doctor	633	343	1194
Date of admission	2014/1/28	2014/2/14 ²	2014/3/5
Hospitalization (days)	18	0	14
ALT (IU/L) on admission	600	82	1226
AST (IU/L) on admission	131	36	1194
Peak T-Bil (mg/dl)	1.4	0.7	0.8
Lowest PT %	100	100	91
IgA anti-HEV	+	+	+
HEV RNA	+	+	+
HEV genotype	3b	3a	3b
Isolate name	JHT-Gif14	JAS-Gif14	JMK-Gif14
Possible source of infection	Undercooked pork	Cooked pork	Cooked pork

¹ Motosu city is a neighbor city of Gifu city. Residence of the patient 4 is about 10km far from the Gifu Municipal Hospital.

² Patient 5 was not hospitalized.



Figure

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

肝移植患者におけるE型肝炎ウイルス感染状況の全国実態調査

研究分担者 大河内 信弘 筑波大学医学医療系消化器外科 教授

研究要旨：近年欧米や日本などの先進国においても、土着のE型肝炎ウイルス(HEV)株による散発、集団感染の報告が増加するとともに、化学療法施行中や臓器移植後などの免疫抑制下における慢性肝炎への移行が明らかになってきた。臓器移植後のHEV感染、慢性化については欧州を中心にいくつかの報告があるが、これまでわが国を始めアジア諸国における全国規模調査は未施行である。そこでわれわれは、全国の肝移植後患者を対象として抗HEV抗体、血中HEV RNA測定を施行した。肝移植後患者における抗HEV-IgG抗体保有率は2.9%であり、血中HEV RNA陽性を2例で認めた。これら2例はいずれも肝移植時の輸血製剤による感染であり、感染後6か月以上持続するウイルス血症を認め慢性感染を来していた。

<研究協力者>

大城 幸雄 (筑波大学医学医療系消化器外科
講師)
稲垣 勇紀 (筑波大学大学院博士課程疾患制御
医学専攻)

A. 研究目的

わが国では2011年の抗HEV-IgA抗体検査の保険
収載以降、土着HEV株による散発型、あるいは集
団肝炎の報告が増加傾向にある(国立感染症セン
ター：感染症発生動向調査)。また、これまでE
型肝炎の多くが一過性感染で終息すると考えられ
てきたが、近年、化学療法施行中やHIV感染患者
といった免疫抑制下での慢性感染の報告が散見さ
れ、さらには臓器移植後で免疫抑制剤投与中の患
者においてもE型肝炎が慢性化を来するという報告
が2008年の初報以来、欧州諸国を中心に散見さ
れる(Kamar N, et al: N Engl J Med. 2008)。しか
し、わが国を始めとしたアジア諸国では、臓器移
植患者におけるHEV感染の全国規模調査はこれま
で施行されていない。本分担研究において平成24
年度に全国の肝移植施設に行ったアンケート調査
では、移植後の患者に対してE型肝炎検査を実施
した経験のある施設は8%に過ぎず、認知が充分で
ないことが明らかとなった。

そこでわれわれは、わが国の肝移植患者におけ
るHEV感染の実態を把握するため、全国の肝移植
後患者を対象に抗HEV抗体、血中HEV RNA測定検
査を実施した。

B. 研究方法

わが国の主要な肝移植施設である、北海道大学、
東北大学、筑波大学、東京大学、慶應義塾大学、
順天堂大学、信州大学、京都大学、大阪大学、神
戸大学、岡山大学、広島大学、徳島大学、愛媛大
学、九州大学、長崎大学、熊本大学の計17施設に
おいて、過去に肝移植術を受け外来通院中である
患者1978人を対象とした。対象患者について外来
での定期採血時に血清を提供して頂き、血清中の
抗HEV IgG, IgA, IgM抗体測定、ならびに血中HEV
RNA測定を行った。なお測定は自治医科大学医学
部感染・免疫学講座ウイルス学部門にて行った。

倫理面への配慮：ヘルシンキ宣言、疫学研究に関
する倫理指針、厚生労働省「臨床研究に関する倫
理指針平成15年7月30日(平成16年12月28
日全部改正)」に則り提供者に対する十分な配慮を
行った。筑波大学ならびに参加する全ての施設の
倫理委員会において、研究実施計画書および説明文
書・同意書の承認を受けた後に研究を開始した。

C. 研究結果

参加17施設においてこれまで施行された肝移
植数は、わが国全体の約75%に相当した(日本肝
移植研究会：肝移植症例登録報告)。

対象患者の背景は、男女比：51.2% / 女性
48.8%、年齢は48.8±20.7(0-83)歳、肝移植か
ら採血までの期間は84.1±57.4(0-297)カ月、白

血球数 5896 ± 3220 (1070–97000) / μL , リンパ球数 1755 ± 1193 (157–24225) / μL , AST 31.3 ± 27.5 (1–484) IU/L, ALT 27.4 ± 29.5 (619–3) IU/L, γ GTP 91.1 ± 182 (0–3118) IU/L, 総ビリルビン 0.99 ± 1.36 (0.1–40) mg/dL (以上, 臨床情報が収集可能であった 1893 人が対象)であった。

抗体測定結果は、測定した 1978 人中, 抗 HEV IgG, IgA, IgM 抗体陽性者はそれぞれ 58 人 (2.9%), 0 人 (0%), 1 人 (0.05%)であった。HEV RNA 測定については測定した 1722 人中, 2 人 (0.12%)が陽性であり, うち 1 例が IgM 抗体陽性の感染急性期であった。

HEV RNA 陽性 2 例の感染ルートの検討では, 1 例は移植周術期に輸注された新鮮凍結血漿から, 1 例は濃厚血小板から, 塩基配列がそれぞれの患者から検出された HEV (genotype 3) と 100%一致する HEV が分離され, 輸血感染であることが明らかとなった。

臨床経過の検討では, これらの 2 症例ともに移植後に 6 か月間以上のウイルス血症が持続し, 慢性肝炎を来していると考えられた。うち 1 例においては軽度の肝機能異常が継続していたことより, 抗ウイルス剤 Ribavirin を 400mg/日を 20 週間投与され, 投与終了後に寛解を 10 か月間維持している。

臨床検査データの解析では, これら 2 例では, HEV RNA が陰性であった 1720 例と比較して感染診断時に移植からの経過期間が短く (8 か月, 2 か月), また末梢血リンパ球数が低値であった (453 / μL , 882 / μL)。

D. 考察

わが国の肝移植後患者における抗 HEV IgG 抗体保有率 2.9%は, 国内の健常人 (年齢: 56.8 ± 16.7 歳, 男女比: 44% / 56%) での IgG 抗体保有率 5.3% (M. Takahashi, et al: J Med Virol. 2010) と比較すると低い傾向にあった。その原因として, 17 参加施設中 11 施設において, 肝移植後患者は術後 6 ヶ月以上の生鮮食品の摂取を禁止されており, 感染源となる生肉などの喫食を控えるなど感染機会が減少していること, 免疫抑制剤の投与による抗体産生能の低下が寄与していることなどが考えられた。また, 今回の調査では患者居住地の割合が東日本 30% / 西日本 70%と, HEV 抗体保有率が元来低い西日本に偏在していたことも一因と考えられる。

HEV RNA が陽性であった 2 人についてはいずれも移植周術期の輸血製剤が感染源であることを突き止めた。われわれが知る限り, 肝移植後患者の輸血感染の報告は世界においてもまだない。過去わ

が国では赤血球, 新鮮凍結血漿, 血小板のいずれの製剤においても HEV の輸血感染が報告されており (T. Matsui, et al: Hepatol Res. 2014), 受血者には移植患者に限らず多くの他の患者や免疫抑制患者が含まれている可能性があることから, 追跡調査の必要性, また今後の HEV の献血スクリーニングなど輸血に関する厚生労働省業務の見直しの議論の必要性が示唆される。

2 例の RNA 陽性症例の検討では 2 例とも HEV 感染の診断時は, 移植からの経過期間が浅く, また, 感染時の末梢血リンパ球数は陰性者と比較して低値であったことから, 移植周術期や移植後まだ日が浅く, 免疫抑制剤の減量が充分ではない期間での感染が慢性化に寄与した可能性が考えられた。免疫抑制状態での HEV 感染は高率に慢性化するという欧米の既報と矛盾しない結果であった。

2 例中 1 例では主治医グループの方針により Ribavirin 投与が実施され寛解を得た。寛解症例の再発率は 18%との既報があり (Kamar N, et al: N Engl J Med. 2014), 今後の定期的な血中 HEV の再活性化の監視が重要である。2 例目については現在, 不顕性感染と考えられたため経過観察としている。今後もウイルス動態と肝機能のフォローアップが不可欠であるのに加え, 今後, 免疫抑制剤の減量あるいは抗ウイルス薬投与の検討も視野に入れる必要があると考えられた。

E. 結論

わが国初の肝移植後患者における HEV 感染の全国調査により以下のことが明らかとなった。わが国の肝移植後患者における抗 HEV 抗体保有率は 2.9%と低値であった。世界で初めて肝移植後患者 2 例の輸血を感染源とした HEV 感染ならびに慢性化が明らかとなった。今後, 肝移植術において HEV 検査のルーチン化や, 献血の HEV スクリーニングなどの必要性が示唆された。

E. 研究発表

学会発表

1. 稲垣勇紀, 大城幸雄, 岡本宏明, 大河内信弘
演題名: 肝移植患者における E 型肝炎ウイルス感染の全国実態調査～中間報告
学会: 第 50 回日本肝臓学会総会
発表年月日: 2014 年 5 月 29 日、東京
2. 稲垣勇紀, 大城幸雄, 岡本宏明, 大河内信弘
演題名: 肝移植患者の HEV 感染全国調査～中間報告～学会: 第 32 回日本移植研究会
発表年月日: 2014 年 7 月 3 日、熊本
3. 稲垣勇紀, 大城幸雄, 岡本宏明, 大河内信弘

演題名:肝移植患者における E 型肝炎ウイルス感染の全国実態調査(中間報告)
学会:第 69 回日本消化器外科学会総会
発表年月日:2014 年 7 月 17 日、郡山

論文発表

1. Oshiro Y, Yasue H, Takahashi K, Hattori S, Ideno S, Urayama T, Chiba M, Osari S, Naito T, Takeuchi K, Nagata K, Ohkohchi N. Mode of swine hepatitis E virus infection and replication in primary human hepatocytes. J Gen Virol. 2014;95, 2677-82. doi:10.1099/vir.0.068452-0
2. Inagaki Y, Oshiro Y, Hasegawa N, Fukuda K, Abei M, Nishi M, Okamoto H, Ohkohchi N. Clinical features of acute-on-chronic liver failure from autochthonous hepatitis E in Ibaraki, Japan. Tohoku J Exp Med 2015, in press.

受賞

1. 優秀演題賞、第 32 回日本肝移植研究会
発表者; 稲垣勇紀, 大城幸雄, 岡本宏明, 大河内信弘
演題名:肝移植患者の HEV 感染全国調査～
中間報告～
- 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

優秀演題賞

稲垣 勇紀殿

第 32 回日本肝移植研究会における貴殿の発表
「肝移植後患者における E 型肝炎ウイルス感染状況」
は優秀演題賞に選ばれましたので、ここに表彰します。

平成 26 年 7 月 4 日

日本肝移植研究会
会長 上本伸

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

生体肝移植後に発症しリバビリン治療が奏功した慢性E型肝炎の1例(症例報告)

研究協力者 田中 智大 東京大学医学部附属病院 臓器移植医療部 助教
研究代表者 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 教授

研究要旨： 旧来E型肝炎は不顕性感染または一過性感染として終息すると考えられてきたが、特に臓器移植後等の免疫抑制下における慢性化移行が明らかになってきた。今回、本研究班の主導による全国調査に参加した症例のうち、生体肝移植後に慢性E型肝炎を発症したことが確認された一症例を経験した。この症例に対し、リバビリン単剤(投与期間20週間)による治療を行い、重篤な副作用を認めることなくウイルス学的著効を得ることができた。なお、その後のRetrospectiveな調査により、感染源は肝移植施行時に施行された新鮮凍結血漿であることが確認された。

<共同研究者>

國土 典宏
東京大学大学院医学系研究科 臓器病態外科学
肝胆膵外科・人工臓器移植外科 教授

大河内 信弘、大城 幸雄、稲垣 勇紀
筑波大学医学医療系 消化器外科

A. 研究目的

従来不顕性感染または一過性の急性肝炎の病態のみを取ると考えられていたE型肝炎ウイルス(HEV)であるが、2008年に固形臓器移植後のHEVによる慢性肝炎の発症が報告されて以降、免疫抑制下における慢性化症例が散見されるようになっている(Unzueta and Rakela, Liver Transpl 2014等)。肝移植症例においてはHEV感染は比較的稀であると考えられてきたが、上述の理由から原因不明のグラフト障害が持続する際には慢性E型肝炎を疑う必要がある。放置した場合には線維化の進展や肝硬変への進行が懸念されるため、その早期発見および適切な治療の導入(リバビリンやインターフェロン等)が肝要となる。今回我々は、本研究班の主導による全国調査に参加した症例のうち、生体肝移植後に慢性E型肝炎を発症したことが確認された1例を経験したため、その治療経験も交えて報告する。

B. 研究方法

当科は、筑波大学の主導で行われている全国調査の一参加施設である。対象は、当科で過去に肝

移植術を受け外来通院中の患者である。外来通院時の定期採血を行う際に採取した血清を研究班に提供し、全例で各種抗HEV抗体検査(IgA/IgM/IgG)測定を行い、抗体陽性例に対してHEV-RNA測定を行った。なお、測定は自治医科大学医学部感染・免疫学講座ウイルス学部門において行われた。

倫理面への配慮：本研究用の採血・血清保存と研究班への提供については、東京大学大学院医学系研究科倫理委員会の承認を得た上で、Informed Consentを取得した。検体は匿名化し、患者が特定できないようにした。

C. 研究結果

当科からはこれまでに247例の血清を研究班に提供し、うち1例でHEV-RNA持続陽性が確認された。ここでは当該症例(TKY-072)について簡潔に報告する。

【症例】60歳(肝移植施行時59歳)・女性

【主訴】倦怠感、腹部膨満感

【現病歴】

2000年1月：健診で肝機能障害を指摘され、近隣の総合病院消化器内科受診。

2000年11月：同院でPBCと診断された。AMAは80倍、肝生検の病理所見はScheuer分類III-IVであり、PBCとしてCompatible。以後、同院外来通院となり、UDCAの内服を開始した。

2005年2月、2006年1月、2007年8月、2008年6月、2010年2月：いずれも食道静脈瘤に対して内視鏡的治療(EVL and/or EIS)を施行。

2010年6月：顕性腹水が出現。以降も黄疸が進行。

2010年10月：肝移植適応評価目的に当科紹介受診。

【既往歴、家族歴、生活歴】

特記事項なし。海外渡航歴(-)、ペット飼育歴(-)、生肉等摂取歴(-)。

【入院時検査所見】

WBC 2000/ μ l, Hb 9.7 g/dl, Plt 13.3 万/ μ , TP 7.0 g/dl, Alb 2.6 g/dl, AST 126 IU/l, ALT 46 IU/l, ALP 689 IU/l, γ -GTP 144 IU/l, TBil 6.1 mg/dl, Dbil 3.9 mg/dl, Cre 0.63 mg/dl, PT% 82%, PT-INR 1.12, APTT 35.3, HBsAg(-), HCV-Ab(-). MELD score 15, Child-Pugh score 10 points (C). 腹部造影 CT 検査にて少量腹水及び著明な脾腫を認めた。肝癌を含め悪性腫瘍は認めず。上部消化管内視鏡にて食道静脈瘤を認めた(LmF1CbRc+)ため、術前に予防的 EVL を施行。

【入院後経過】(図 1)

20xx年12月10日生体肝移植を施行。ドナーは29歳長男、血液型は一致(O型)。右肝グラフト(469g, SLVの39.3%)を使用。レシピエントの摘出肝病理は、PBC/Scheuer 分類IV、完成した肝硬変の像を呈していた。肝移植後の免疫抑制剤は当科の概ねプロトコルの通り、ステロイドおよびタクロリムス併用を行い、移植後徐々に taper し少量で継続した。経過中明らかな急性拒絶反応を認めなかった。その後の術後経過は順調で、第58病日に自宅退院となった。

以後、外来通院となり、著変なく経過していたが、移植後20週目に一過性かつ原因不明の軽微な肝逸脱酵素上昇を認めたが、無治療にて自然軽快したためそれ以上の検索は行わなかった。

研究班の第一回採血(移植後40週目)において、HEV-IgG が高値(検出感度以上)となったため、HEV-RNA を検査したところ陽性(Genotype3、ウイルス量5.9 Log copies/ml)となった。その後も継続的に HEV-RNA を測定したが、移植後52週の時点でも引き続き陽性(6.3 Log copies/ml)、かつトランスアミナーゼ軽度高値(ALT 40-50 IU/L 程度で推移)が継続していたため、その時点でリバビリンを導入した。診断が確定していたため肝生検は行わなかったが、Fibroscan を施行した結果、グラフト障害は軽度であると推測された(7.5kPa)。リバビリンの投与量に関しては、少量から開始し、忍容性が確認された時点で漸増し、以後は貧血の進行に合わせて調節した(図2)。治療中、HEV-RNA ウイルス量は速やかに低下し、投与開始8週の時点で検出感度以下(UD)となり、以後はUDを維持した。リバビリン合計投与期間は20週間で、投与終了後7か月経過した時点でも引き続きUDを維持しており、ウイルス学的著効と判断している。リバビリンによる副作用としてはヘモグロビン値

が Minimum で 8.4g/dl まで低下し、リバビリンの減量(600mg/日→400mg/日)を要した(Grade 2)。ただし、その他には特筆すべき有害事象は認めなかった。

Retrospective に感染経路の特定を進めた結果、肝移植時に投与された新鮮凍結血漿(FFP)から HEV-RNA が検出された。当該患者血清中及び投与された FFP 中の HEV について、双方の遺伝子解析を行った結果、ORF1, 2 で塩基配列が 100%一致したため、FFP 輸血による感染であることが判明した。尚、肝移植前に保存していたレシピエント血清・ドナー血清から HEV-RNA は検出されなかった。

分枝系統樹解析(図3)では、当該症例から分離された HEV 株と、都内で市販されていた豚レバーから分離された HEV との一致率が比較的高かった(98.3%)ため、FFP の供血者が豚レバーの摂食等を契機に HEV に感染した可能性が示唆された。

D. 考察

通常、臓器移植後の E 型肝炎の慢性化に関しては、HEV 感染から 3-6 か月以上 HEV-RNA が持続して陽性の場合に慢性化と判断されることが多い(Kamar et al, Semin Liver Dis 2013)。本症例においては、HEV 陽性が確認されて 3 か月以上が経過したことを確認したうえで(移植後 20 週目の原因不明の一過性肝機能障害から約 8 か月後)、既報(Kamar et al, NEJM 2014、等)を参考にリバビリンを導入した。なお、自己免疫性疾患に対し肝移植をした女性であり、移植からの期間が比較的短かったことから、通常第一に行うべきとされる免疫抑制剤の減量を行わなかった。また、既報では Genotype3 が慢性化のリスクであるとされるが、本症例の HEV-genotype も 3 であった。

E. 結論

本研究班による全国調査の結果、慢性 E 型肝炎と診断し得た 1 例を経験した。当科にて導入したリバビリンによる治療が奏功し、現在も特筆すべき臨床上的問題点を認めず外来通院中である。

F. 研究発表 なし

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