

平成24年度都道府県肝疾患診療連携拠点病院医師向け研修会

平成24年7月13日(金) 於 独立行政法人国立国際医療センター病院
国立医療協力研修センター 5階大会議室

A型・E型肝炎に関する最新情報

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

A型・E型肝炎に関する最新情報

1. A型肝炎とE型肝炎の比較:

最新知見を踏まえた類似点と相違点

2. A型肝炎の最近の動向

3. E型肝炎の動向と感染源・感染経路

4. E型肝炎ウイルス培養系の確立とその応用

1. A型肝炎とE型肝炎の比較: 類似点と相違点

A型肝炎

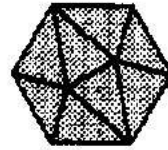
A型肝炎ウイルス
(HAV)

⊕ ssRNA

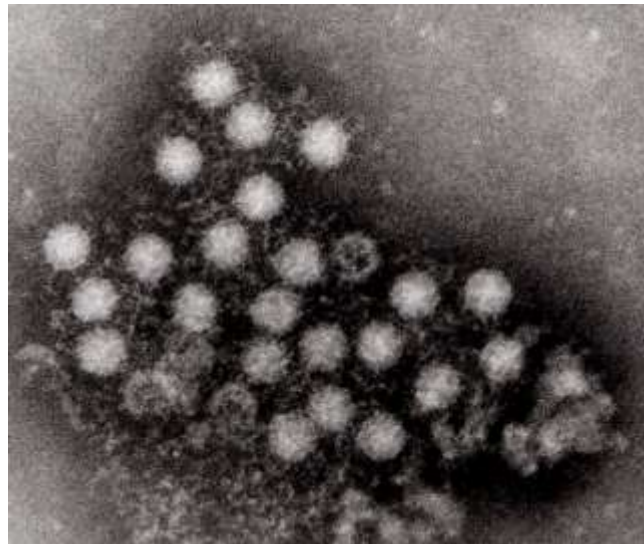
5'

poly (A)

7.5kb



27 nm



E型肝炎

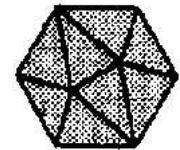
E型肝炎ウイルス
(HEV)

⊕ ssRNA

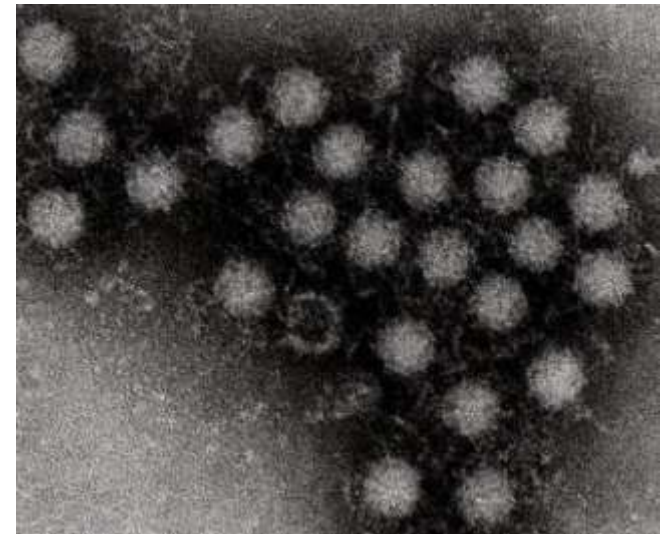
5'

poly (A)

7.2kb



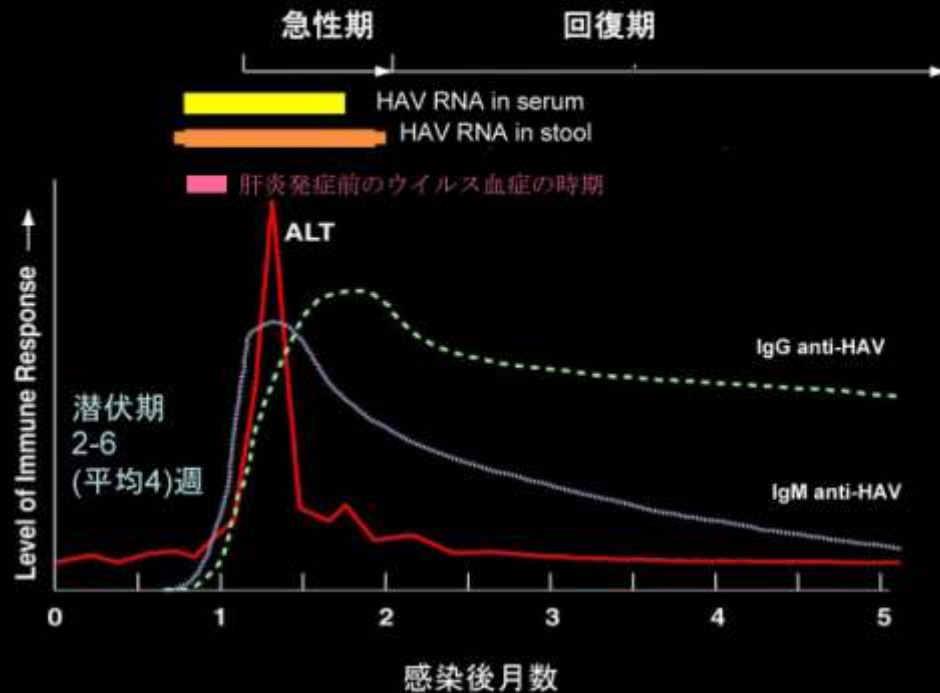
30 nm



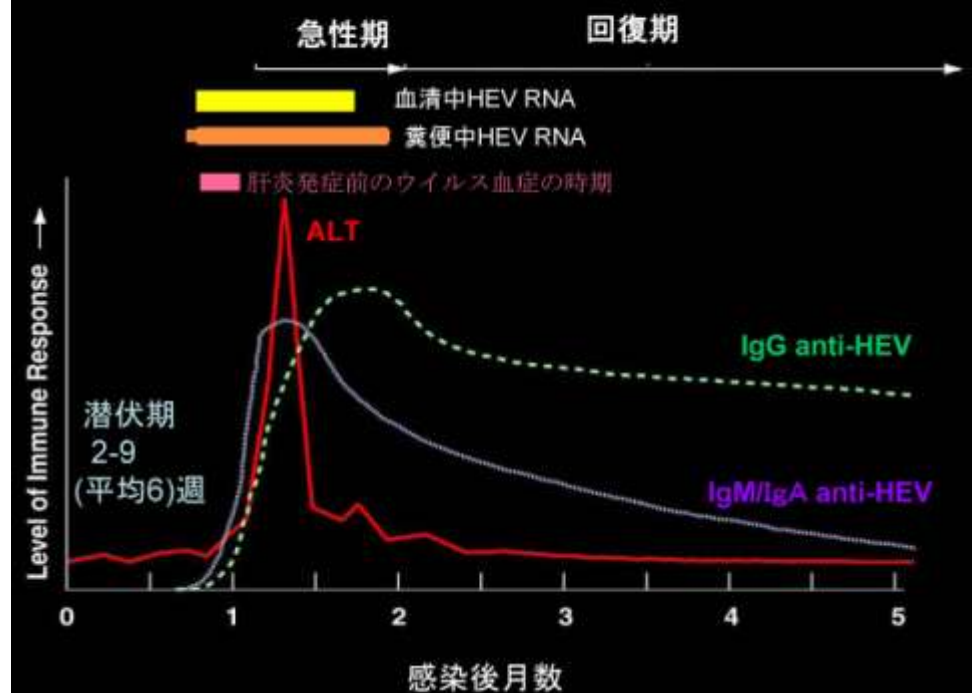
A型肝炎とE型肝炎の比較

	A型肝炎	E型肝炎
起因ウイルス	HAV	HEV
分類	ピコルナウイルス科（ヘパトウイルス属）	ヘペウイルス科（ヘペウイルス属）
感染症法	四類感染症（全数把握、届出義務）	
主な感染経路	主として経口感染（稀に輸血感染）、輸入感染あり	
潜伏期間	2～6週（平均4週）	2～9週（平均6週）

A型肝炎の臨床経過



E型肝炎の臨床経過



A型肝炎とE型肝炎の比較

	A型肝炎	E型肝炎
起因ウイルス	HAV	HEV
分類	ピコルナウイルス科（ヘパトウイルス属）	ヘペウイルス科（ヘペウイルス属）
感染症法	四類感染症（全数把握、届出義務）	
主な感染経路	主として経口感染（稀に輸血感染）、輸入感染あり	
潜伏期間	2～6週（平均4週）	2～9週（平均6週）
感染の特徴	症状は発熱、全身倦怠感、食欲不振、褐色尿、黄疸など。	
	一過性の感染のみ。一般にキャリア化することはない。	
		● 臓器移植患者では慢性化

A型肝炎とE型肝炎の相違点

- A型肝炎
遷延することはあっても、慢性肝炎に移行することはない。
- E型肝炎
慢性肝炎や肝硬変に進展する場合がある。

臓器移植患者におけるHEV感染と慢性化

国名	比較項目	頻度	文献
フランス	移植後の HEV 感染	14/217 (6.5%) ^a	Kamar et al
	HEV 感染 14 例での観察期間	3.9 (0.5-14.0) 年	
	慢性化 ^c	<u>8/14 (57.1%)</u>	Legrand-Abravanel et al
	慢性化	<u>22/38 (57.9%)</u>	
オランダ	移植後の HEV 感染	3/285 (1.1%) ^b	Haagsma et al
	全例 (285 例) の観察期間	8.9 (1.2-28.7) 年	
	慢性化	<u>2/3 (67%)</u>	Haagsma et al
ドイツ	移植後の HEV 感染	3/226 (1.3%) ^b	Pischke et al
	全例 (226 例) の観察期間	6.1 (0.1-25.0) 年	
	慢性化	<u>2/3 (67%)</u>	Pischke et al

^a 移植後肝機能異常が認められた患者のなかでの HEV 感染者の頻度

^b 移植患者全例についての HEV 感染者の頻度

^c 6 ヶ月以上、血中 HEV RNA が持続陽性

6割は慢性化

Kamar et al. NEJM 358:811-817, 2008

Legrand-Abravanel et al. JID 202:835-844, 2010

Haagsma et al. Liver Transpl 15:1225-1228, 2009

Pischke et al. Liver Transpl 16:74-82, 2010

A型肝炎とE型肝炎の比較

	A型肝炎	E型肝炎
起因ウイルス	HAV	HEV
分類	ピコルナウイルス科（ヘパトウイルス属）	ヘペウイルス科（ヘペウイルス属）
感染症法	四類感染症（全数把握、届出義務）	
主な感染経路	主として経口感染（稀に輸血感染）、輸入感染あり	
潜伏期間	2～6週（平均4週）	2～9週（平均6週）
感染の特徴	症状は発熱、全身倦怠感、食欲不振、褐色尿、黄疸など。	
	一過性の感染のみ。一般にキャリア化することはない。	
		● 臓器移植患者では慢性化
	衛生環境の改善によって感染は減少（HEVでは流行性肝炎型の genotype 1, 2 のみ）	
		● 人獣共通感染症（genotype 3, 4）

ヒトから分離されるHEVの遺伝子型

衛生環境の改善
によって

- Genotype 1
humans
- Genotype 2
humans

ヒトのみ (non-zoonotic type) → 流行性肝炎
(発展途上国)



人獣共通(zoonotic type)

- Genotype 3
humans, swine, wild boars, deer, mongoose, rabbits
- Genotype 4
humans, swine, wild boars

動物由来E型肝炎の感染源

→ 主として散発性急性肝炎
(先進国を中心として
世界各地)



A型肝炎とE型肝炎の比較

	A型肝炎	E型肝炎
起因ウイルス	HAV	HEV
分類	ピコルナウイルス科（ヘパトウイルス属）	ヘペウイルス科（ヘペウイルス属）
感染症法	四類感染症（全数把握、届出義務）	
主な感染経路	主として経口感染（稀に輸血感染）、輸入感染あり	
潜伏期間	2～6週（平均4週）	2～9週（平均6週）
感染の特徴	症状は発熱、全身倦怠感、食欲不振、褐色尿、黄疸など。	
	一過性の感染のみ。一般にキャリア化することはない。	
		● 臓器移植患者では慢性化
	衛生環境の改善によって感染は減少（HEVでは流行性肝炎型の genotype 1, 2 のみ）	
		● 人獣共通感染症（genotype 3, 4）
劇症化	あり	
	成人が感染した場合、不顕性感染で終わることは少なく、重症化・劇症化することがある。 (重症型 3.3%, 劇症型 0.5%)	- 発展途上国では妊婦が HEV に感染して E 型肝炎を発症した場合には、劇症化率が高い。 (致死率：10～25%) - 我が国の国内感染の E 型肝炎では、中高年男性での重症化・劇症化率が高い。 (重症型 13.0%, 劇症型 4.3%)
診断法 (血清学的検査)	IgM クラス HAV 抗体の検出 (保険収載)	IgA クラス HEV 抗体の検出 (保険収載)

E型肝炎診断薬の保険収載

HE-IgA抗体定性

「イムニスIgA anti-HEV EIA」

(2011年10月から保険適用)

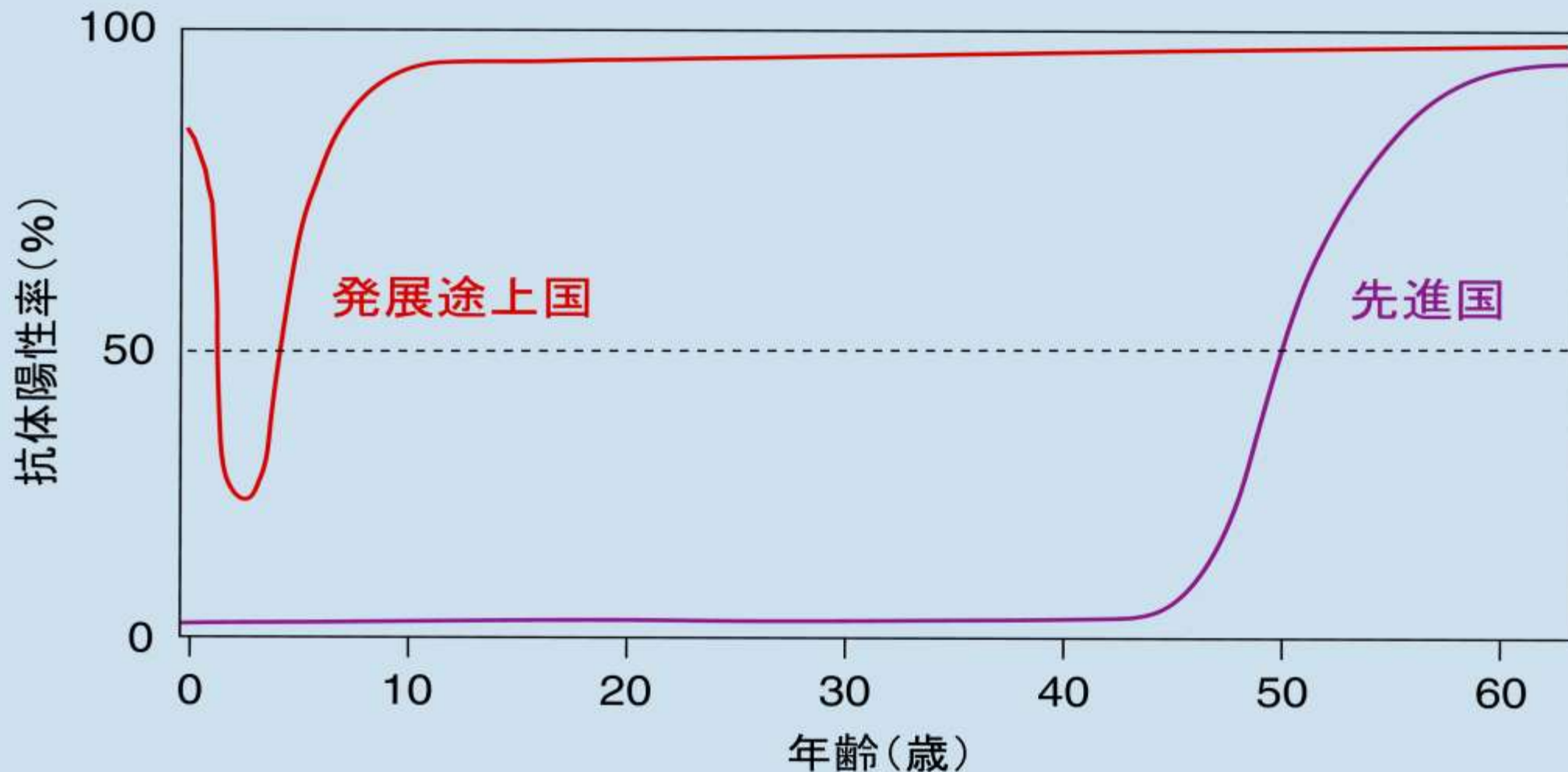
Simultaneous detection of immunoglobulin A (IgA) and IgM antibodies against hepatitis E virus (HEV) is highly specific for diagnosis of acute HEV infection.

Takahashi M, Kusakai S, Mizuo H, et al. *J Clin Microbiol* 43(1): 49-56, 2005

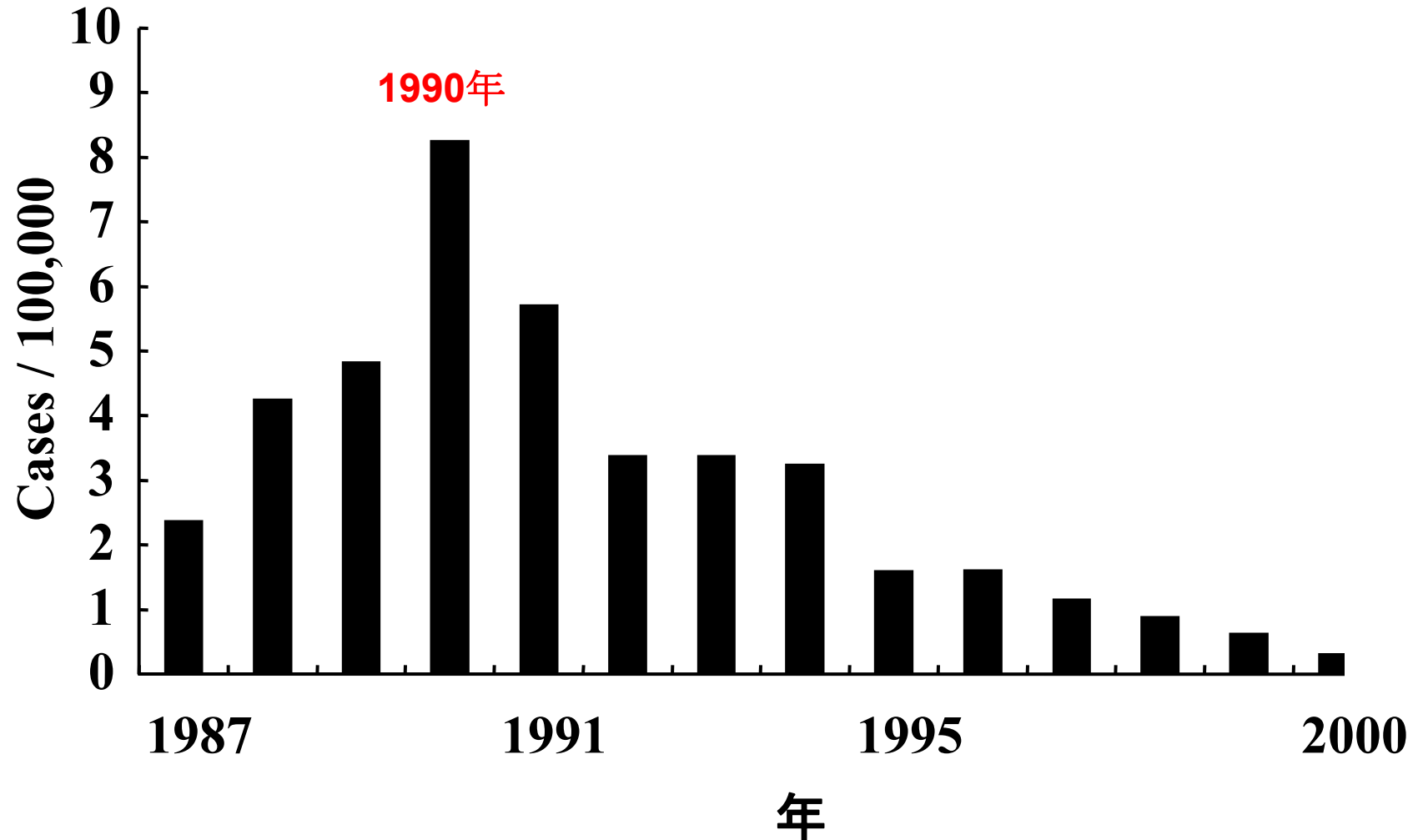
2. A型肝炎の最近の動向

年齢別A型肝炎ウイルス抗体保有率

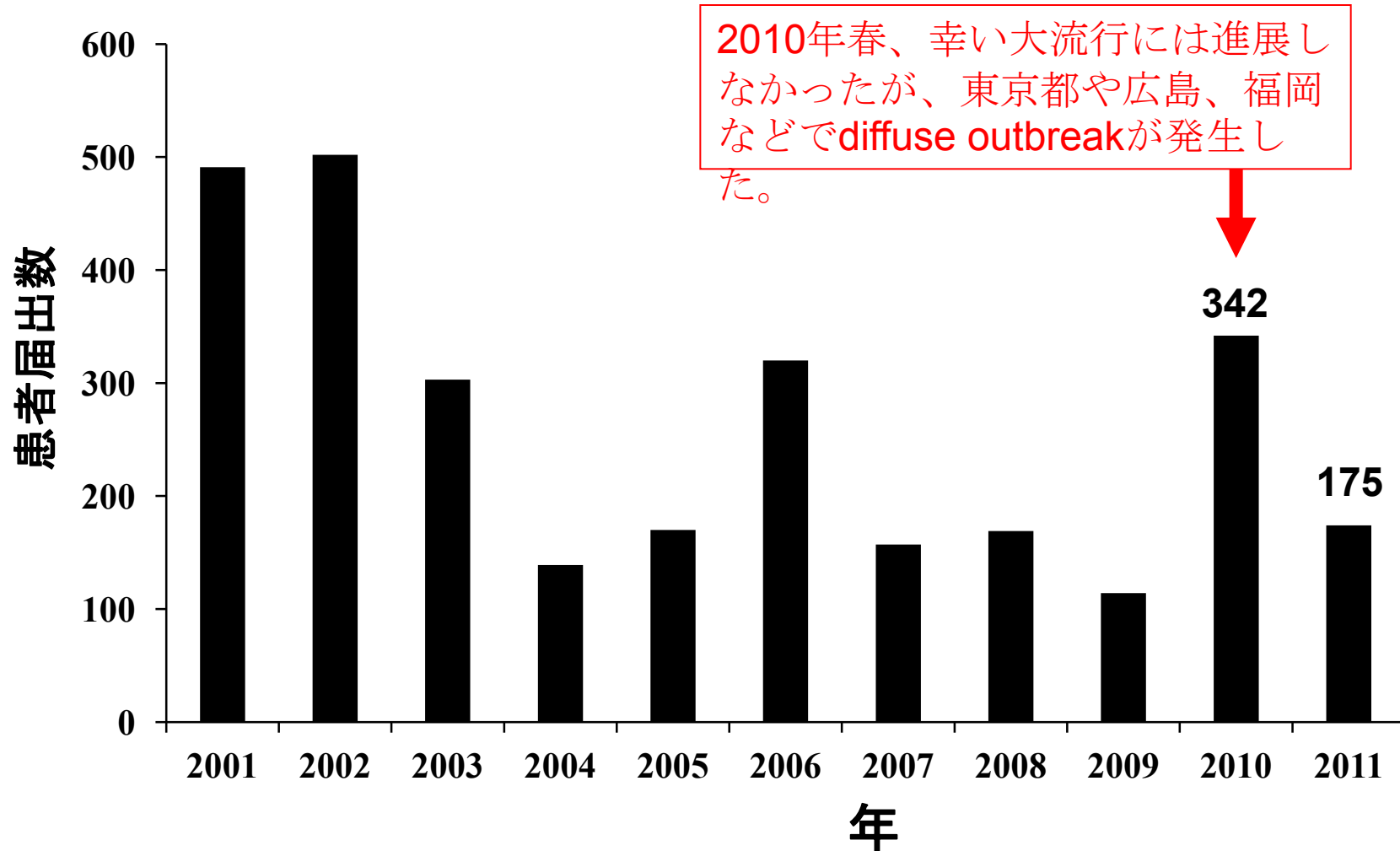
衛生環境の整備の状況に大きく影響されている



わが国における A 型肝炎報告数（1987～2000 年）



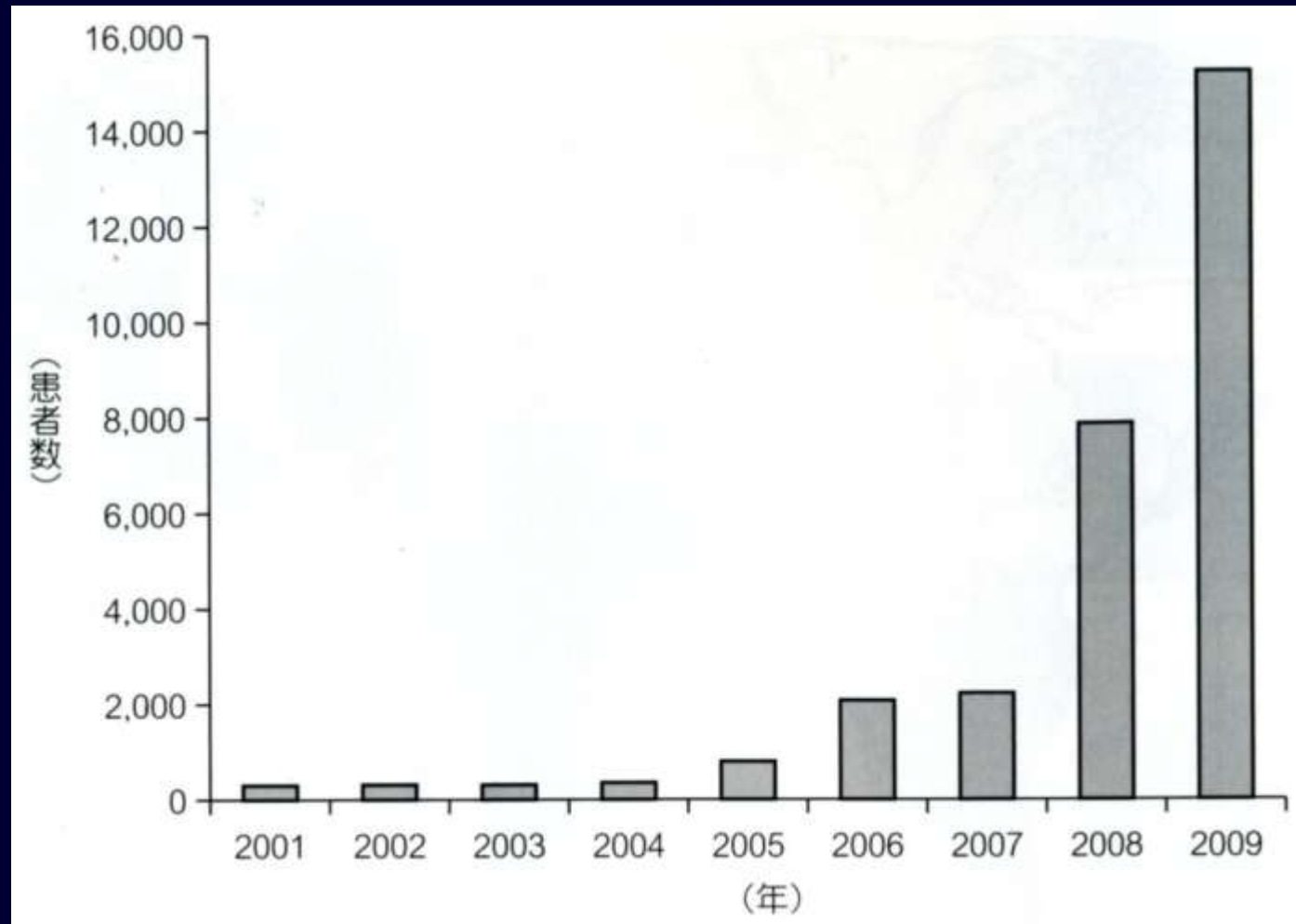
わが国におけるA型肝炎報告数（2001～2011年）



わが国のA型肝炎に於ける感染様式の多様性

- カキ等魚介類の生食
- 海外渡航による輸入肝炎としてのA型肝炎
- 輸入食品(魚介類、野菜、果物等)の関与が考えられる通年的な発生
- 同性愛者を含む性行為の関与

隣国韓国でのA型肝炎の大流行



我が国でも流行の可能性は十分にありうると考えられ、
”対岸の火事”として見過ごすことができない。厳重な監視が必要であ

A型肝炎についての最近の動向と留意点

- 輸入食品・性行為などの感染経路の多様化によりA型肝炎は今なおウイルス性急性肝炎の10%以上を占め、決して過去の疾患ではない。
- 以前は殆ど認められなかった遺伝子型ⅢA型が30%を占めるなど、海外から流入したと思われるHAV型が定着する傾向もみられる。
- 日本人の抗体保有率の低下及び最近のグローバル化を考慮すると、隣国韓国のような大流行の危険性が危惧される状況下にある。
- 輸血によるHAV感染の可能性も忘れてはならない。
- HAVワクチンの必要性を再認識すべき時期にある。

3. E型肝炎の動向と感染源・感染経路

最近のE型肝炎の動向

昨年10月にE型肝炎診断薬が認可されたが、まだ十分に臨床現場に浸透しているとは言い難い。

したがって、現在把握されているE型肝炎の患者数は氷山の一角である可能性が高いと言える。

1) IgG anti-HEV抗体検査結果から見た わが国でのHEV感染の実態

一般健常人における HEV感染の全国調査

30都道府県からの22,027例
の健康診断検体

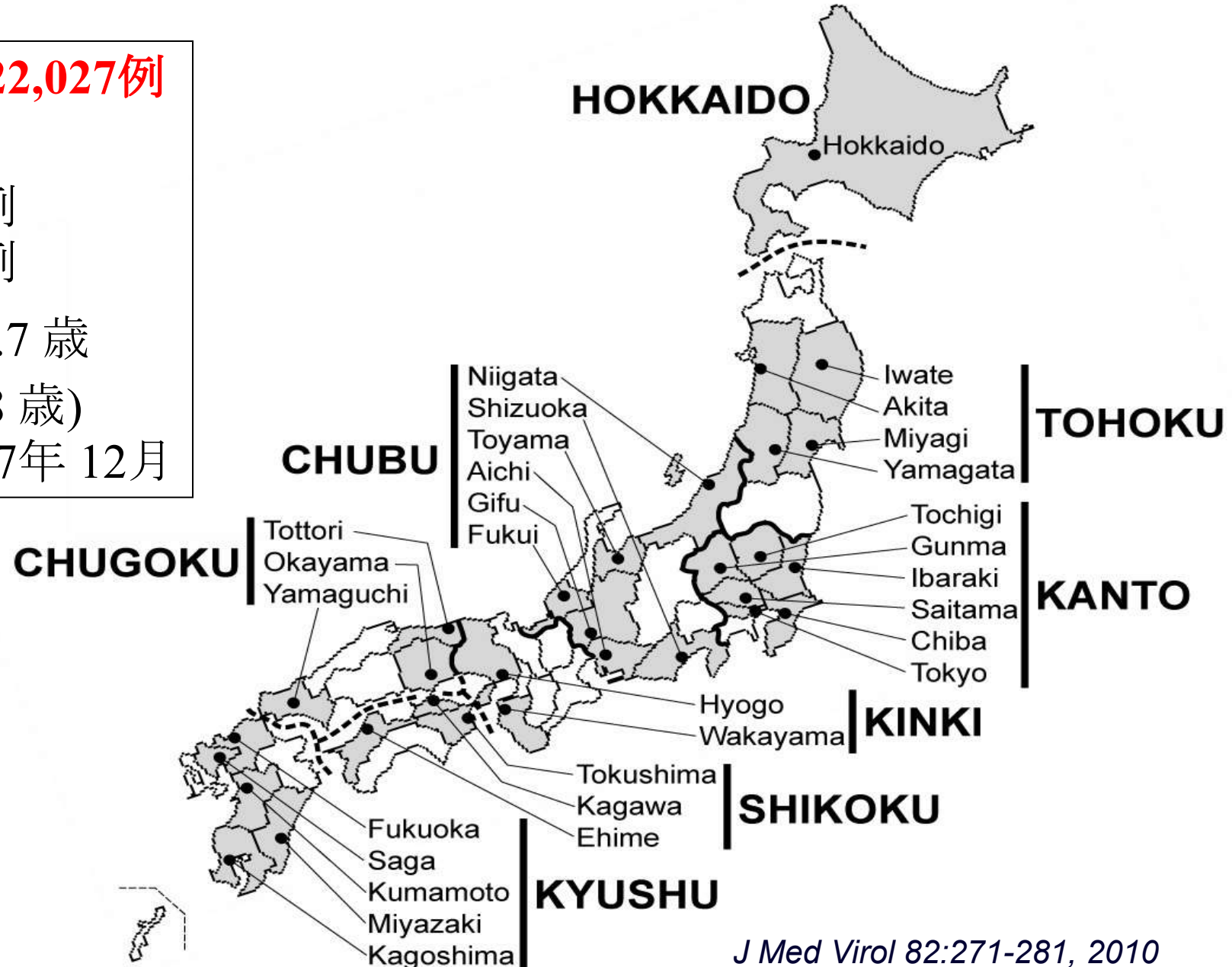
男性： 9,686例

女性： 12,341例

年齢： 56.8 ± 16.7 歳

(20～108 歳)

2002年 1月～2007年 12月



地域別HEV抗体とHEV RNA陽性率の比較

Geographic region	N	Age (years) [mean ± SD (range)]	Anti-HEV IgG			Anti-HEV IgM and/ or anti-HEV IgA	HEV RNA
			Total	Male	Female		
Hokkaido	2,135	52.0 ± 18.9 (20–106)	159 (7.4%)	104 (11.1%)	55 (4.6%)	3 (0.14%)	0
Tohoku	3,834	54.9 ± 15.4 (20–93)	263 (6.9%)	165 (10.3%)	98 (4.4%)	5 (0.13%)	2 (0.05%)
Kanto	4,292	52.7 ± 15.3 (20–96)	281 (6.5%)	198 (9.2%)	83 (3.9%)	2 (0.05%)	1 (0.02%)
Chubu	2,921	57.2 ± 16.7 (20–108)	180 (6.2%)	116 (9.1%)	64 (3.9%)	2 (0.07%)	0
Kinki	1,896	61.6 ± 15.9 (20–97)	51 (2.7%)	32 (3.5%)	19 (2.0%)	1 (0.05%)	0
Chugoku	2,934	59.0 ± 16.7 (20–96)	69 (2.4%)	40 (3.6%)	29 (1.6%)	0	0
Shikoku	1,837	62.2 ± 15.9 (20–101)	56 (3.0%)	31 (4.1%)	25 (2.3%)	0	0
Kyushu	2,178	60.2 ± 17.1 (20–97)	108 (5.0%)	67 (7.3%)	41 (3.3%)	0	0
Total	22,027	56.8 ± 16.7 (20–108)	1,167 (5.3%)	753 (7.8%)	414 (3.4%)	13 (0.06%)	3 (0.01%)

Past infection (IgG anti-HEV):

東日本 > 西日本

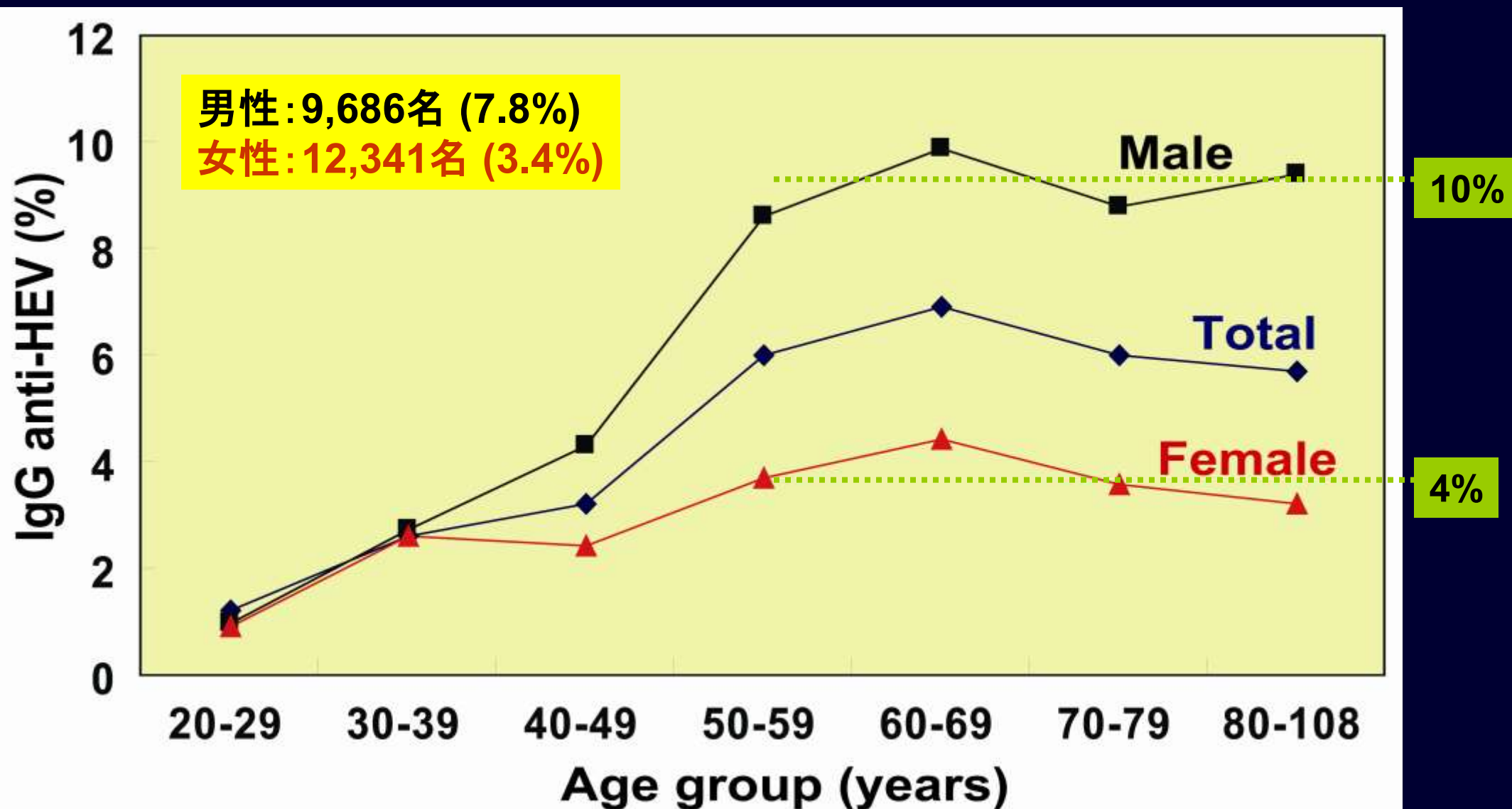
地方	合計		男性		女性	
	N	IgG-HEV抗体	N	IgG-HEV抗体	N	IgG-HEV抗体
北海道 ～中部	13182	883 (6.7%)	5960	583 (9.8%)	7222	300 (4.2%)
近畿 ～九州	8845	284 (3.2%)	3726	170 (4.6%)	5119	114 (2.2%)
P value	<0.0001		<0.0001		<0.0001	

Recent infection (IgM/IgA
anti-HEV, HEV RNA)

東日本 > 西日本

地方	N	HEV RNA or IgM- and/or IgA- HEV抗体
北海道 ～中部	13182	13 (0.10%)
近畿 ～九州	8845	1 (0.01%)
P value	0.0117	

性別、年代別のIgGクラスHEV抗体陽性率

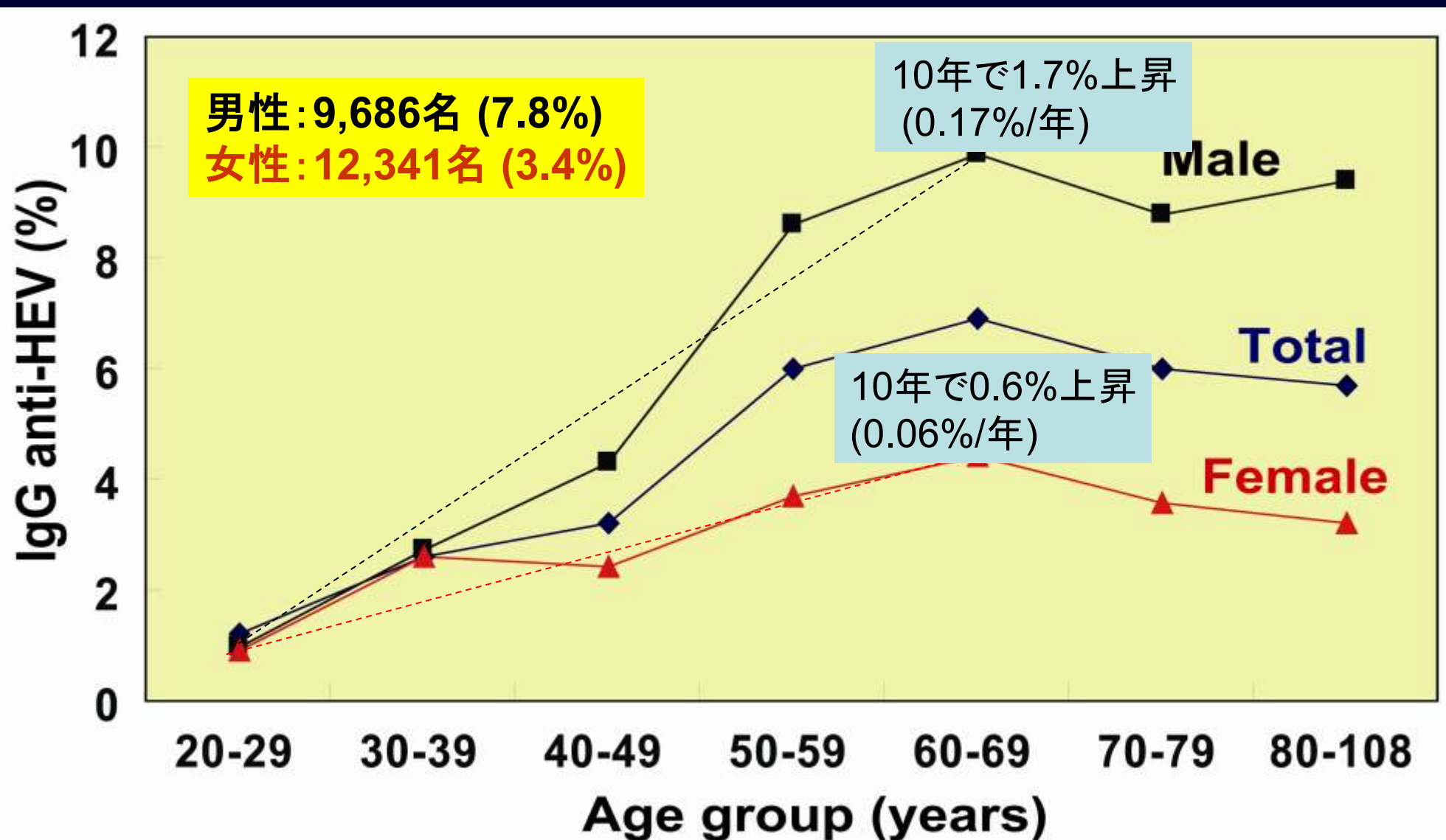


一般成人におけるHEV抗体陽性者数 (感染既往者数)

歳	男			女		
	人口 (千人)	IgG anti-HEV 陽性率 (%)	IgG anti-HEV 陽性者	人口 (千人)	IgG anti-HEV 陽性率 (%)	IgG anti-HEV 陽性者
20-29	7,141	1.7	121,397	6,778	1.3	88,114
30-39	9,102	2.7	245,754	8,815	2.6	229,190
40-49	8,147	4.6	374,762	8,001	2.5	200,025
50-59	8,271	8.9	736,119	8,369	3.8	318,022
60-69	8,584	10.4	892,736	9,170	4.5	412,650
70-79	5,709	9.5	542,355	6,976	4	279,040
80-	2,668	10.4	277,472	5,231	3.3	172,623
合計	49,623	7.8	<u>3,190,595</u>	53,342	3.4	<u>1,699,664</u>

約500万人が感染既往者

性別、年代別のIgGクラスHEV抗体陽性率



国内の透析患者および医療従事者で見た 年間HEV感染率

- 透析患者

平均7.5年でのHEV抗体陽転率

4/374 (1.07%)

年間HEV感染率:0.14%

- 医療従事者

平均8.7年でのHEV抗体陽転率

2/260 (0.77%)

年間HEV感染率:0.09%

年間HEV感染者

- 成人男性

49,623 (千人)

$$49,623 \times 1000 \times 0.17\% = 84,359$$

- 成人女性

53,342 (千人)

$$53,342 \times 1000 \times 0.06\% = 32,005$$

合計: 116,364

————→ 年間約12万人がHEVに新たに感染

わが国でのE型肝炎の年間患者数の推定

- 急性肝炎の年間発生件数：約3万
- 急性肝炎の10%がA型、43%がB型、8%がC型、残りの39%がnon-ABC型。non-ABC型の11.0% (25/228)がE型。

八橋らによる全国31施設の国立病院急性肝炎共同研究班参加施設における最近の調査結果。

この集計には北海道の症例が殆ど含まれていない。北海道ではnon-ABC型急性肝障害の27%がE型（北海道E型肝炎研究会調査）。

- E型肝炎の推定年間発生件数：約1,200

non-ABC型急性肝炎の仮に10%としても、約1,200人がE型肝炎を発症していると推定される。

2) HEVの主な感染源・感染経路

阿部らの報告(肝臓 47:384-391, 2006)

- 動物原性食感染 ----- 31%
(zoonotic food-borne)
- 輸入感染----- 7.9%
- 輸血感染 ----- 2.3%
- 感染動物や肉との接触 ----- 0.5%
- 不明 ----- 58%

2006年1月までの症例

症例の任意登録：共著者45名が経験した症例

既報告例の引用登録：学会報告例の蒐集

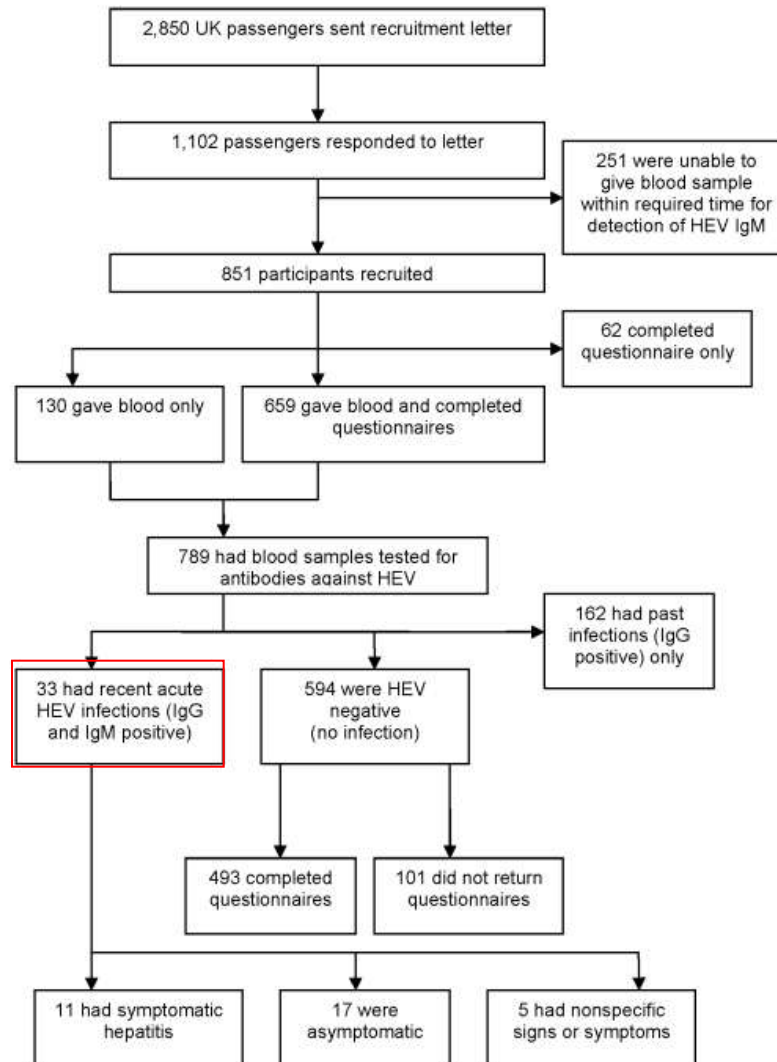
Hepatitis E outbreak on cruise ship

EID 15:1738-1744, 2009

3型HEV分離

感染と関連が認められた因子

- Maleであること
- Alcohol摂取
- Shellfish喫食



魚介類からのHEVの感染の可能性

ヤマトシジミからのHEV RNAの検出:

(31%)

(8%)

(2%)

Li et al., Am J Trop Med Hyg 76:170-172, 2007

- しじみを生で食べることはないことから、シジミからのHEV感染は考えにくい。ただ、大きいなシジミは生で食することもある？とすると完全には否定できない。
- 河がHEVで汚染されていることを意味し、その河の水が注ぐ海域はHEVで汚染され、海の二枚貝がHEVを保有し汚染されている可能性は十分に考えられる。

生の二枚貝を摂食し、E型肝炎を発症

J Clin Microbiol 42:3883-3885, 2004

Consumption of contaminated **shellfish** has also been implicated in sporadic cases of **hepatitis E**. Meng, *Virus Res* 161: 23-30, 2011

E型肝炎における感染源と感染経路

殆どが不顕性であるとしても年間12万人が感染するにはかなりpopularな感染源であると想定される。

1. ブタ肉や内臓からのHEVの“Zoonotic food-borne transmission”を過少評価しているかもしれない。
2. 魚介類(二枚貝)からの感染も否定できない。
3. 新たな感染源・感染経路の解明が必要。
4. まだ気付かれていないreservoir(s)がいる可能性も十分に考えられる。

直ぐ実行可能なHEVの感染予防対策

- 十分な加熱調理はもちろんであるが、調理時の交叉汚染の可能性もあることから、他の食品との調理器具(「まな板」や「包丁」、「箸」など)の共用を避ける。
- 動物の肉・内臓を生で摂取しない。摂取する場合には、中心部まで十分に火が通るような焼き方をする。
- 温度は？

培養系を用いたHEVの温度感受性に関する検討

Medium-to-rare cookingの温度に相当する56°C、30分の熱処理でも感染性は残っている。

Days after Inoculation	HEV RNA titer (copies/ml) in culture medium				
	25°C, 30 min	56°C, 30 min	70°C, 10 min	95°C, 1 min	95°C, 10 min
10	0	0	0	0	0
20	3.3×10^3	1.5×10^3	0	0	0
30	2.4×10^4	8.6×10^3	0	0	0
40	3.6×10^5	5.5×10^4	0	0	0
50	6.2×10^5	1.1×10^5	0	0	0

ブタへの感染実験のデータ

HEV陽性ブタレバーをすりつぶし、

① 56°Cで1時間加熱する、

② 191°Cで5分間炒める、

③ 5分間ボイルする、

5頭ずつのブタの静脈内に注射した。

この実験条件では、満遍なく
全体に熱が通ったということが
前提になっている。

① 5頭中4頭で感染

② 感染なし

③ 感染なし

直ぐ実行可能なHEVの感染予防対策

- 十分な加熱調理はもちろんであるが、調理時の交叉汚染の可能性もあることから、他の食品との調理器具(「まな板」や「包丁」、「箸」など)の共用を避ける。
- 動物の生肉・内臓を摂取する場合には、中心部まで十分に火が通るような焼き方をする。
- 温度と時間: 56°Cで1時間加熱しても不十分

• 中心部まで十分に火が通るようにし、70°C、10分以上の加熱処理が必要

4) E型肝炎ウイルス培養系の 確立とその応用

E型肝炎ウイルス(HEV)の感染培養系の確立

- 1983年にHEVが同定され、そのころから培養系の確立が試みられてきたが、成功していなかった。

培養系樹立の発端になった接種ウイルス

E型肝炎患者由来の糞便浮遊液
(JE03-1760F [3型])

HEV RNA titer: 2.0×10^7 copies/ml

Development and evaluation of an efficient cell-culture system for *Hepatitis E virus*

Toshinori Tanaka,¹ Masaharu Takahashi,¹ Eiji Kusano²
and Hiroaki Okamoto¹

Correspondence

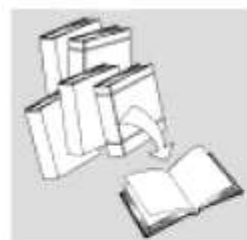
Hiroaki Okamoto

hokamoto@jichi.ac.jp

¹Division of Virology, Department of Infection and Immunity, Jichi Medical University School of Medicine, Tochigi-Ken 329-0498, Japan

²Department of Nephrology, Jichi Medical University School of Medicine, Tochigi-Ken 329-0498, Japan

R E V I E W



Efficient cell culture systems for hepatitis E virus strains in feces and circulating blood

Hiroaki Okamoto*

Division of Virology, Department of Infection and Immunity, Jichi Medical University School of Medicine, Shimotsuke-Shi, Tochigi, Japan

Virus Research 161 (2011) 65–77



Contents lists available at ScienceDirect

Virus Research

journal homepage: www.elsevier.com/locate/virusres



Review

Hepatitis E virus cell culture models

Hiroaki Okamoto*

Division of Virology, Department of Infection and Immunity, Jichi Medical University, School of Medicine, Tochigi-Ken 329-0498, Japan

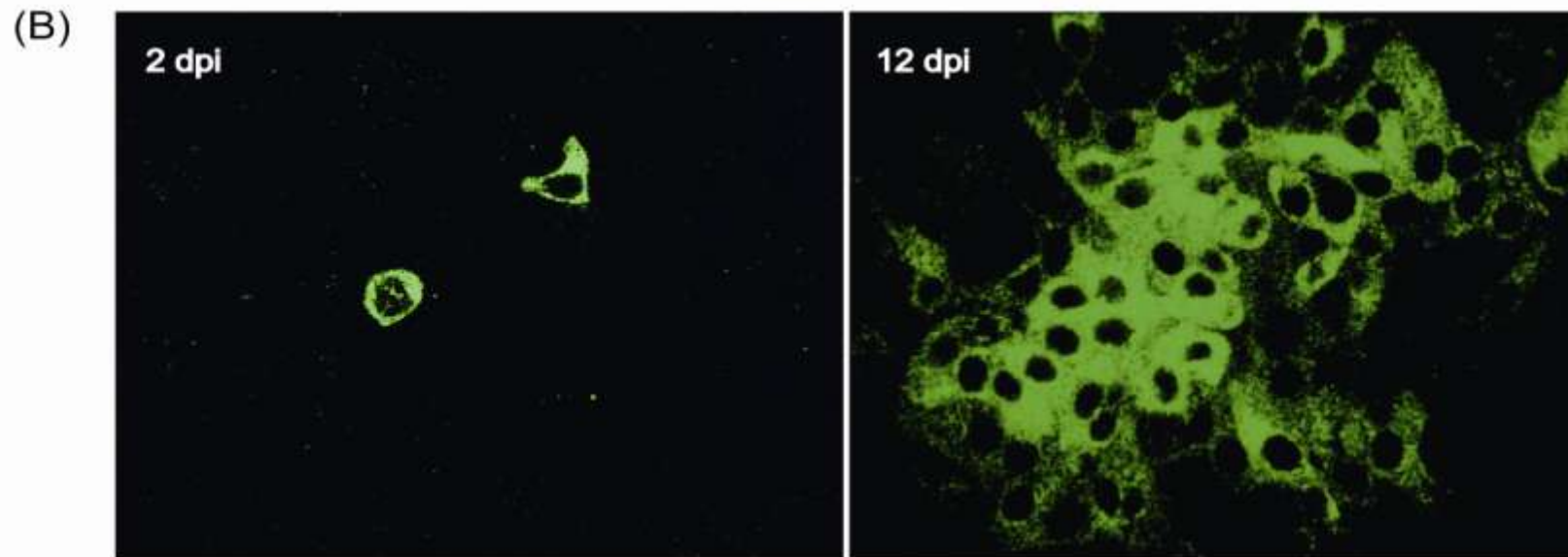
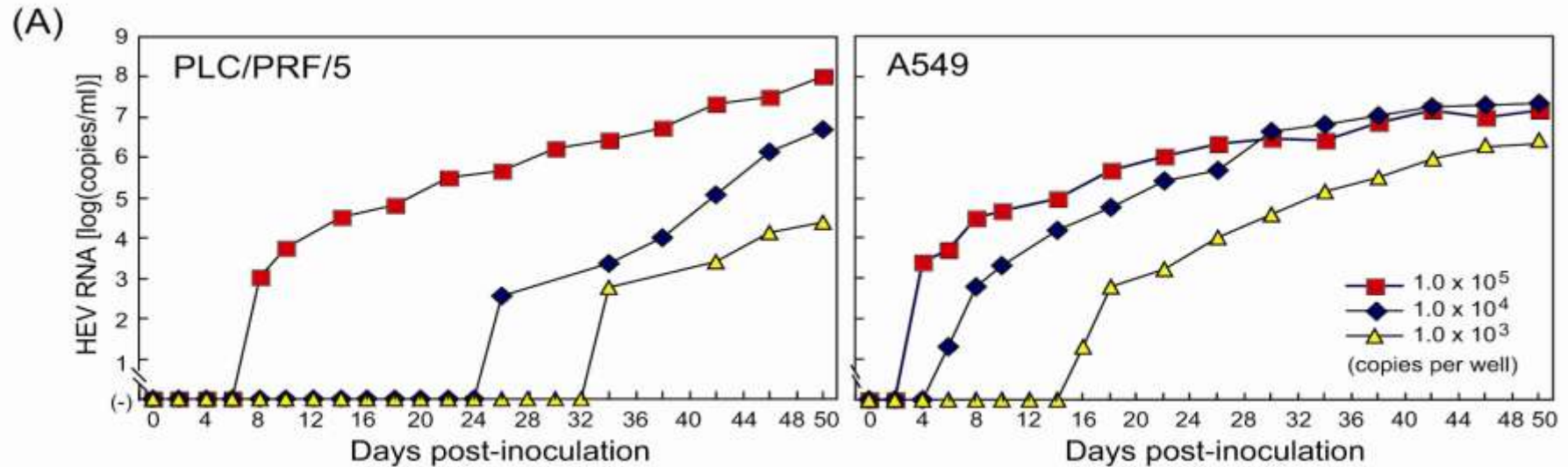
HEV感受性細胞の探索

由来	ヒト	ヒト以外の哺乳動物
胚		P19 (マウス)
神経系	SK-N-MC GOTO	BC3H1 (マウス) C6 (ラット)
皮膚・筋肉	HT-1080	L929 (マウス) C2C12 (マウス)
肺	A549	
乳腺	MCF	
胃	NUGU-4	
肝臓	PLC/PRF/5 HepG2 HuH7	
小腸		IEC-6 (ラット)
腎臓	HEK293	MDBK (ウシ) MDCK (イヌ) LLC-MK2 (サル) CV1 (サル)
子宮	HeLa	

•A549 細胞
(肺癌由来株化細胞)

•PLC/PRF/5 細胞
(肝癌由来株化細胞)

PLC/PRF/5細胞及びA549細胞に於ける HEV JE03-1760F株の増殖



HEVの感染培養系の確立

培養細胞: PLC/PRF/5, A549

ヒト由来

E型肝炎患者由来の糞便浮遊液

- JE03-1760F [3型]

HEV RNA titer: 2.0×10^7 copies/ml

- HE-JF5/15F [4型]

HEV RNA titer: 1.3×10^7 copies/ml

ヒト由来

E型肝炎患者由来の血清サンプル

1型、3型、4型のHEV ($>5 \times 10^5$ copies/ml)

J Gen Virol 88: 903-911, 2007

J Clin Microbiol 47:1906-1910, 2009

J Clin Microbiol 48: 1112-1125, 2010

HEVの感染培養系

ヒト由来
HEV

ブタ由来
HEV

野生イノシシ
由来HEV

ウサギ由来
HEV

遺伝子型(1型、3型、4型)に因らず、
サンプルの由来(糞便、血清、肝臓)に
因らず、感染しうる

種の壁を
越えて
感染

ヒト由来細胞

- A549細胞
- PLC/PRF/5細胞

HEVの培養系

- Supernatant passageによる53代の培養、cell passageによる25代(約2,300日間)の連続培養によって培養系に馴化したHEV株を樹立できている。
- 馴化したHEV株はA549細胞やPLC/PRF/5細胞のみならず、HepG2細胞やHuh7細胞などでも効率よく増殖しうる。
- ボトル培養により $>10^9$ copies/mlに達する。
- 感染性cDNAクローンを用いたReverse genetics systemを確立し、粒子形成や放出機構の解明が進んでいる。

E型肝炎ウイルス培養系を用いた 新規治療法・予防法の開発

