

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名：(日本語) 肝炎等克服緊急対策研究事業

(英語) Program for Basic and Clinical Research on Hepatitis

研究開発課題名：(日本語) 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、治療等に関する研究

(英語) Research on Infection Prevention, Elucidation of Pathogenesis and Treatment of Orally-transmitted Viral Hepatitis A and E

研究開発担当者 (日本語) 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

所属 役職 氏名：(英語) Division of Virology, Department of Infection and Immunity, Jichi Medical University School of Medicine, Professor, Hiroaki Okamoto

実施期間：平成 27 年 4 月 1 日 ～ 平成 30 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) 感染培養系を用いたHEV増殖機構の解明、治療法・ワクチン開発、HEVの感染源・感染経路の解明及びHAVとHEVの遺伝子解析

開発課題名：(英語) Elucidation of Replication Mechanism of HEV by Using Cell Culture Systems for HEV, Development of Treatment and Vaccine for Hepatitis E, Investigation of Sources and Routes of HEV Infection, and Genetic Analysis of HAV and HEV

研究開発代表者 (日本語) 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

所属 役職 氏名：(英語) Division of Virology, Department of Infection and Immunity, Jichi Medical University School of Medicine, Professor, Hiroaki Okamoto

分担研究 (日本語) A型及びE型肝炎発生率に関する全国調査と症例収集

開発課題名：(英語) Dynamic Epidemiology, Clinical Severity and Outcome of Acute Hepatitis A and E in Japan

研究開発分担者 (日本語) 国立病院機構長崎医療センター 臨床研究センター長 八橋 弘

所属 役職 氏名：(英語) Clinical Center, National Hospital Organization (NHO) Nagasaki Medical Center, Director General, Hiroshi Yatsushashi

分担研究 (日本語) A型およびE型急性肝不全および遅発性肝不全の実態調査と重症化の解明

開発課題名：(英語) Acute Liver Failure Caused by Hepatitis A Virus (HAV) and Hepatitis E Virus (HEV) Infection in Japan: Recent Status Based on Nationwide Surveys

- 研究開発分担者 (日本語) 埼玉医科大学消化器内科・肝臓内科 准教授 中山伸朗  
所属 役職 氏名: (英語) Department of Gastroenterology and Hepatology, Saitama Medical University, Associate Professor, Nobuaki Nakayama
- 分 担 研 究 (日本語) 住民及び職域検診受検者集団における層化無作為抽出によるA型肝炎ウイルス抗体保有状況に関する疫学的検討  
開 発 課 題 名: (英語) Epidemiological Study on Age-Sex Stratified Prevalence of HAV in 1200 Random Samples from General Population and Employees
- 研究開発分担者 (日本語) 広島大学医歯薬保健学研究科疫学・疾病制御学 教授 田中純子  
所属 役職 氏名: (英語) Department of Epidemiology, Infectious Disease Control and Prevention, Institute of Biomedical and Health Sciences, Hiroshima University, Professor, Junko Tanaka
- 分 担 研 究 (日本語) A型肝炎の重症化機序解明と治療薬に関する検討  
開 発 課 題 名: (英語) Mechanism of Severe Acute Hepatitis A and Its Treatment
- 研究開発分担者 (日本語) 千葉大学大学院医学研究院 講師 神田 達郎  
所属 役職 氏名: (英語) Chiba University, Graduate School of Medicine, Associate Professor, Tatsuo Kanda
- 分 担 研 究 (日本語) ヒト・動物・環境からのA型及びE型肝炎ウイルス検出と塩基配列解析  
開 発 課 題 名: (英語) Detection and Genetic Analyses of Hepatitis A and E Viral Genomes from Humans, Animals, and Surroundings
- 研究開発分担者 (日本語) 東芝病院 病院長 新井雅裕  
所属 役職 氏名: (英語) Toshiba General Hospital, Director, Masahiro Arai
- 分 担 研 究 (日本語) 腎臓移植、心臓移植患者における慢性HEV感染の実態調査  
開 発 課 題 名: (英語) A Nationwide Survey of Chronic Hepatitis E Virus Infection in Kidney and Heart Transplant Recipients in Japan
- 研究開発分担者 (日本語) 筑波大学医学医療系消化器外科-臓器移植外科 教授 大河内信弘  
所属 役職 氏名: (英語) Department of Gastrointestinal and Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery, Faculty of Medicine, University of Tsukuba, Professor, Nobuhiro Ohkohchi
- 分 担 研 究 (日本語) 献血者集団におけるHEV感染の実態解明  
開 発 課 題 名: (英語) Analysis of the Current Situation of HEV Infection among Blood Donors
- 研究開発分担者 (日本語) 日本赤十字社血液事業本部 参事監 (総括製造販売責任者) 豊田九朗  
所属 役職 氏名: (英語) Blood Service Headquarters, Japanese Red Cross Society, General Marketing Compliance Officer, Kuro Toyota
- 分 担 研 究 (日本語) 北海道におけるHAV、HEV感染の実態と感染経路の解明、重症化E型肝炎症例の臨床像の解明

開発課題名：(英語) Current Situation and Transmission Route for HAV or HEV Infection in Hokkaido area and Clinical Features in Cases of Acute Severe Hepatitis E

研究開発分担者 (日本語) 手稲溪仁会病院消化器病センター 嘱託常勤医師 姜 貞憲

所属 役職 氏名：(英語) Center for Gastroenterology, Teine Keijinkai Hospital, non-regular member of the staff MD for specialized duties, Jong-Hon Kang

分担研究 (日本語) 北東北におけるA型肝炎及びE型肝炎の発生動向、感染源・感染経路、重症化因子に関する研究

開発課題名：(英語) Epidemiological Analyses of Acute Hepatitis A and E in the Northern Tohoku Area in Japan and Determination of Risk factors for Acute Liver Failure.

研究開発分担者 (日本語) 岩手医科大学内科学講座消化器内科肝臓分野 教授 滝川康裕

所属 役職 氏名：(英語) Division of Hepatology, Department of Internal Medicine, Iwate Medical University, Professor, Yasuhiro Takikawa

分担研究 (日本語) 養豚場でのHEV清浄化及びHEV感染動物モデルの検討

開発課題名：(英語) Decontamination of HEV in pig farms and examination of HEV infection animal models

研究開発分担者 (日本語) 自治医科大学, 教授, 國田 智

所属 役職 氏名：(英語) Center for Experimental Medicine, Jichi Medical University School of Medicine, Professor, Satoshi Kunita

## II. 成果の概要 (総括研究報告)

### 和文

#### 1. 臨床データの収集と病態解明

・疫学動向調査：年齢別HAV抗体陽性率を調査した。抗体陽性者の高齢化がみられ、特に若年層における抗体陽性率は極めて低くなっており、50歳代以下ではほぼ0%であった。感受性者の増加により、HAV感染のアウトブレイクが生じる可能性が危惧される。E型肝炎の年間届け出件数は、旭川市の特別養護老人施設における集団感染例(少なくとも25名)を含む過去最高の347例を記録し、減少傾向を示していない。

・感染源・感染経路調査：ブタや野生イノシシが感染原因の過半数を占め、イノシシの乾燥胆嚢が感染源と考えられる症例もあったが、不明例が34%(10/29)を占めた。

・重症化因子の解析：A型急性肝不全症例において、基礎疾患を高率に合併しており、高齢者で昏睡型の症例が多く、多彩な合併症を併発することが、予後不良の要因であることが分かった。糖尿病や肥満をはじめとする代謝異常症の患者ではHAV増殖が促進され、小胞体ストレスやインターフェロン応答と関連するGlucose-regulated protein 78 (GRP78)の発現低下が重症化機序の一つであることが実験的に示された。E型肝炎重症化の宿主要因として、脂肪肝やB型慢性肝疾患などの基礎疾患の存在が重要であることが示された。

・慢性HEV感染の調査：心移植患者の62名中1名(1.6%)、腎移植患者の2,236名中10名(0.45%)からHEV RNAが検出され、それぞれ1名と3名で慢性化が確認された。慢性化した4名のうち3名が慢性E型肝炎と診断された。

・献血者におけるHEV感染実態：北海道において、平成28年の全献血者252,151名でのHEV RNA陽性率は0.045%(男性0.054%、女性0.023%)であり、前年より全体で0.008%上昇した。

・宿主動物調査：平成28年に国内10県で捕獲された野生イノシシの1.7%(5/242)でHEV RNAが陽性であった。

・HAV、HEV遺伝子解析：新種の1型及び3型HEV株を含む、全241株の全塩基配列を決定した。

## 2. HEV の増殖機構の解明

・接着・侵入因子の特定と評価：膜に覆われた HEV 粒子の細胞への侵入に関与する受容体候補蛋白質を同定した。そして、その蛋白質に対する特異抗体は膜に覆われた HEV 粒子の感染を阻止しうることを確認した。

## 3. HEV 感染動物モデルの検討

・感染実験系の確立と評価：妊娠ラットに対する rat HEV 感染の影響を検討した。産子への垂直感染が認められなかった。しかし、妊娠後期の感染によりウイルス増殖の増強と長期化がみられ、一過性の肝傷害も認められた。

・抗ウイルス剤の効果の検討：F344 ラットに rat HEV を静脈内接種し、ribavirin を含む 3 種類の抗ウイルス薬の投与を感染当日より 4 週間後の試験終了日まで連日行った。抗ウイルス薬非投与の対照群では、感染 4 週間後でも糞便中に rat HEV RNA が全個体で検出された（陰性化率 0%）。これに対し、抗ウイルス薬投与群では、すべての被験薬剤で、感染 2~4 週間後に糞便中の rat HEV RNA が陰性化する個体が認められ（感染 4 週間後の陰性化率 50-75%）、*in vivo* でも抗 HEV 効果が確認された。

## 4. HAV 及び HEV の抗ウイルス剤の開発

・抗 HAV 剤の検討：上述のように、GRP78 と HAV 増殖の関連を明らかにし、代謝異常が HAV 増殖を亢進することが分かったことから、GRP78 誘導薬剤やエピジェネティック薬剤の効果を検討中である。

・抗 HEV 剤の検討：感染培養系を用い、34 種類の既存薬剤から抗 HEV 効果を示す薬剤をスクリーニングした。用いた薬剤は HEV に対する抗ウイルス効果が臨床例で認められているリバビリンと IFN- $\alpha$ 2b、他のウイルスに対する抗ウイルス効果が認められている薬剤として RNA ポリメラーゼ阻害薬 19 種類、IFN- $\lambda$ 1、IFN- $\lambda$ 2、IFN- $\lambda$ 3 などの 10 種類の薬剤、また HEV の増殖機構を解析する過程で見出され、有効性が期待される 3 種類の薬剤である。これら薬剤のうち、21 種類の薬剤が抗 HEV 効果を示すことが明らかになった。また、HEV の感染性 cDNA クローンの ORF2 遺伝子を *Gaussia luciferase* 遺伝子に置換した HEV サブゲノムレプリコンを作製し、分泌型 luciferase の活性を指標に、網羅的に抗 HEV 薬をスクリーニングする系を構築した。この HEV レプリコンを用い、化合物ライブラリーのなかから抗 HEV 効果を示す薬剤をスクリーニングした。細胞培養系を用いて評価した結果、HEV の陰性化が可能で有効な抗 HEV 効果を示す薬剤の存在が明らかになった。2 剤の併用がより有効であった。

## 5. 不活化 HEV ワクチンの開発

・不活化法の検討：感染培養系を用い、感染性 HEV を含む培養上清を種々の温度と時間で処理したのち、培養細胞に接種し増殖能を評価することによって不活化効果を検討した。56°C60 分、58°C60 分、60°C10 分、65°C5 分、70°C1 分、75°C1 分、80°C1 分などの条件で加熱処理した結果、56°C60 分では不活化は不十分であり、60°C10 分以上、70°Cでは 1 分以上の加熱が必要であることが分かった。

## 6. 養豚場における HEV 清浄化の検討

・新生子豚の早期離乳・隔離飼育：新生子豚を 3 週齢で離乳・隔離飼育して HEV の清浄化を試みた結果、すべての新生子豚が離乳直後の HEV 感染を免れた。しかし、4 か月齢で HEV RNA が陽性となった数頭の新生ブタが感染源となり、6 か月齢までにほぼ全頭（19 頭中 18 頭）で HEV 感染が認められた。清浄化できなかった理由として、最初に陽性となった新生ブタが離乳直前に微量のウイルスに感染していた可能性と、周辺環境から隔離施設が汚染された可能性が推測された。

## 英文

### 1. Collection of clinical data and elucidation of pathogenesis

・ Epidemiology and trend survey: The age-specific prevalence of IgG anti-HAV antibody was investigated among 1, 200 healthy individuals living in Hiroshima Prefecture. The prevalence of IgG anti-HAV was high (71%) at 70s, while it was almost 0% in young age groups ( $\leq 50$  years). Although additional studies in other areas in Japan are needed, the present study suggests the risk of HAV outbreak in Japan. The annual number of reported cases of hepatitis E is increasing and reached the highest number of 347 in 2016, including 25 cases in an outbreak which occurred in an intensive care home for the elderly at Asahikawa City, Hokkaido.

・ Survey of infectious sources and routes of HEV infection: Consumption of meat and viscera from pigs and wild boars were associated with the majority of infectious sources, including a first case of acute autochthonous hepatitis E via consumption of dried gall bladders from wild boars. However, infectious sources were unknown in 10 of 29 autochthonous cases studied.

・ Analysis of factors that influence the severity of hepatitis: According to a nationwide survey for acute liver failure (ALF), survival rates of ALF patients with HAV infection seen between 2010 and 2015 became deteriorated due to increase of elderly male patients with underlying disease such as diabetes mellitus and hyperlipidemia. Effects of free fatty acids or high-concentration glucose on HAV replication and the effects on mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling pathway-related genes were examined in human hepatocytes. We observed a novel effect of free fatty acids or high-concentration

glucose on HAV replication in association with a reduction in the expression of glucose-regulated protein 78 (GRP78). Host risk factors for the severity of hepatitis E were estimated to be underlying diseases such as chronic liver diseases.

- Survey of chronic HEV infection: In a nationwide survey, HEV RNA was detectable in 1.6% (1/62) of heart transplant recipients and 0.45% (10/2,236) of kidney transplant recipients. HEV infection became chronic in 4 of the 11 viremic recipients, 3 of which developed chronic hepatitis E.

- Survey of HEV infection in blood donors: Individual NAT of all donations (n=252,151) in Hokkaido in 2016 revealed that 111 donations (97 males and 17 females) were positive for HEV RNA, accounting for 0.045% of the total (0.045% in males and 0.023% in females), with the increase of 0.008% as compared with that in 2015.

- Survey of HEV infection in reservoir animals: HEV RNA was detectable in 1.7% (5/242) of wild boars captured in 10 prefectures in Japan in 2016, the prevalence being comparable with that (1.4%) in 2015.

- Analysis of HAV/HEV genomes: The entire or near entire genomic sequences of 241 HEV strains, including those of novel HEV strains that are classifiable into a novel subtype within genotype 1 or genotype 3, were determined.

## **2. Elucidation of replication mechanism of HEV**

Identification of factor(s) associated with cell attachment and entry: We identified a candidate receptor protein that is likely to be associated with the entry of enveloped HEV particles. An antibody to the candidate protein inhibited the infection of enveloped HEV particles.

## **3. Animal model for HEV infection**

- Rat HEV infection on pregnant rats: In order to examine the effects of HEV infection on pregnant mothers, rat HEV infection experiments on pregnant rats were conducted. In the infected rats, there was no evidence of severe hepatitis accompanied by clinical symptoms or macroscopic lesions. In addition, no vertical infection to the offsprings was detected. However, infection during late pregnancy tended to increase and prolong the virus proliferation, and an increase in serum enzyme levels was observed.

- Drug treatment experiments using rat HEV infection models: To evaluate drug treatment in an acute HEV infection model, rats were intravenously inoculated with rat HEV, followed by the daily administration of 3 types of antiviral drugs including ribavirin from the day 0 until 4 weeks after infection. Rat HEV RNA was detected in feces of all control rats without drug treatment after 4 weeks of infection (negative rate: 0%). In contrast, rats treated with any 3 drugs were negative for rat HEV RNA in feces after 2 to 4 weeks of infection (negative rate: 50-75%), suggesting the *in vivo* efficacy of tested drugs.

## **4. Development of antiviral agents against HAV and HEV**

Anti-HAV agents: Thapsigargin induced GRP78 expression and inhibited HAV replication.

Anti-HEV agent: By using cell culture system for HEV, 34 existing drugs, including ribavirin, IFN- $\alpha$ 2b, RNA polymerase inhibitors, and those that were suggested to inhibit the replication of HEV during the investigation on replication mechanism of HEV, were tested. Among the 34 candidate drugs, 21 were found to have inhibitory effects for HEV and combinations of two drugs were more effective. In addition, an HEV subgenomic replicon that was constructed by introducing the Gaussia luciferase gene into the ORF2 gene of an HEV infectious cDNA clone (pJE03-1760F/wt), enabled a comprehensive screening of anti-HEV drugs from drug libraries.

## **5. Development of inactivated HEV vaccine**

Study on heat inactivation of HEV particles: Culture medium containing infectious HEV was incubated at various temperatures and inoculated on cultured cells. Although inactivation by incubation at 56°C for 60 min was incomplete, inactivation at 60°C for 10 min, 65°C for 5 min, 70°C for 1 min, 75°C for 1 min and 80°C for 1 min was successful.

## **6. HEV decontamination on swine farms**

Newborn piglets were weaned and isolated at the age of 3 weeks in attempt to decontaminate HEV infection. Although all newborn piglets were prevented from HEV infection immediately after weaning, a few piglets became positive for HEV RNA at 4 months of age and most (18/19) of the piglets became positive for HEV antibody by 6 months of age. The route of HEV infection among the piglets remained unknown.

### III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧(国内誌 13 件、国際誌 19 件)

1. 小林 剛, 佐藤 賢, 山崎勇一, 大山達也, 堀口昇男, 柿崎 暁, 草野元康, 山田正信, 横濱章彦, 岡本宏明. 輸血による E 型急性肝炎の 1 例. 日内会誌. 2016, 105, 2215-20.
2. 宮崎慎一, 野田裕之, 森田照美, 甲斐 弦, 大廻あゆみ, 小林富成, 長嶋茂雄, 高橋雅春, 水尾仁志, 岡本宏明. 猪胆(乾燥猪胆嚢)からの感染が疑われた急性 E 型肝炎の 1 例輸血による E 型急性肝炎の 1 例. 肝臓. 2016, 57, 606-13.
3. 鈴木祐介, 西垣洋一, 高橋和明, 中野達徳, 林秀樹, 内木隆文, 加藤則廣, 富田栄一, 新井雅裕, 三代俊治. 渡航歴なく日本では稀な subtype 3f 型肝炎ウイルスに感染し黄疸が遷延した急性肝炎の 1 例. 肝臓 2016, 57, 614-6.
4. 片岡晃二郎, 滝川康裕. 急性肝不全 その常識は正しいか? 急性肝不全の肝性昏睡や劇症化予知は可能である(Q&A/特集). 救急・集中治療. 2016, 28, 325-30.
5. 姜 貞憲. E 型肝炎の現状. Medical Practice. 2016, 34, 791-6.
6. 八橋 弘. 肝臓, 急性肝炎(伝染性単核球症, サイトメガロウイルス感染症を含む). 研修ノートシリーズ 消化器研修ノート 改訂第 2 版. 永井良三総監修, 中島 淳, 五十嵐良典, 榎本信幸, 穂苅量太編集, 診断と治療社, 東京, pp.428-432, 2016.
7. 岡野 宏, 大矢由美, 白木克哉, 高瀬幸次郎, 中野達徳, 高橋雅春, 岡本宏明. 三重県で発生した本邦では稀な HEV subgenotype 3f 株による急性 E 型肝炎の 1 例. 肝臓. 2017, 58, 53-9.
8. 稲垣克哲, 高木慎太郎, 本田洋士, 井上基樹, 森 奈美, 川上広育, 川上由育, 川上万里, 岡本宏明, 辻 恵二, 柘植雅貴, 茶山一彰. 原発性胆汁性胆管炎に genotype3b 型 E 型肝炎を合併した 1 例. 肝臓. 2017, 58, 183-90.
9. 岡本宏明. E 型肝炎の新展開 一感染源の多様性と慢性化. 医学のあゆみ. 2017, 261, 830-1.
10. 岡本宏明. E 型肝炎診断における HEV RNA の有用性. 肝胆膵. 2017, 74, 241-7.
11. 岡本宏明. 第 44 回内科学の展望 日常遭遇することの多いウイルス感染症 肝炎領域 3) A, E 型肝炎. 日内会誌. 2017, 106, 433-8.
12. 中山伸朗, 持田 智. 急性肝不全における肝移植とその適応. 月刊「消化器・肝臓内科」. 2017, 1, 製本中.
13. 中山伸朗, 持田 智. 急性肝不全. 竹原徹郎, 持田 智 編集, 劇症肝炎肝疾患治療マニュアル. 南江堂, 2017, 製本中
14. Nagashima S, Kobayashi T, Tanaka T, Tanggis, Jirintai S, Takahashi M, Nishizawa T, Okamoto H. Analysis of adaptive mutations selected during the consecutive passages of hepatitis E virus produced from an infectious cDNA clone. Virus Res. 2016, 223, 170-80.
15. Takahashi M, Kobayashi T, Tanggis, Jirintai S, Mulyanto, Nagashima S, Nishizawa T, Kunita S, Okamoto H. Production of monoclonal antibodies against the ORF3 protein of rat hepatitis E virus (HEV) and demonstration of the incorporation of the ORF3 protein into enveloped rat HEV particles. Arch Virol. 2016, 161, 3391-404.
16. Kobayashi T, Takahashi M, Tanggis, Mulyanto, Jirintai S, Nagashima S, Nishizawa T, Okamoto H. Characterization and epitope mapping of monoclonal antibodies raised against rat hepatitis E virus capsid protein: An evaluation of their neutralizing activity in a cell culture system. J Virol Methods. 2016, 233, 78-88.
17. Tsatsralt-Od B, Baasanjav N, Nyamkhuu D, Ohnishi H, Takahashi M, Kobayashi T, Nagashima S, Nishizawa T, Okamoto H. Molecular analysis of hepatitis A virus strains obtained from patients with acute hepatitis A in Mongolia, 2004-2013. J Med Virol. 2016, 88, 622-30.
18. Tsatsralt-Od B, Baasanjav N, Nyamkhuu D, Ohnishi H, Takahashi M, Okamoto H. Prevalence of hepatitis viruses in patients with acute hepatitis and characterization of the detected genotype 4 hepatitis E virus sequences in Mongolia. J Med Virol. 2016. 88, 282-91.
19. Kurihara T, Yoshizumi T, Itoh S, Harimoto N, Harada N, Ikegami T, Inagaki Y, Oshiro Y, Ohkohchi N, Okamoto H, Maehara Y. Chronic hepatitis E virus infection after living donor

- liver transplantation via blood transfusion: a case report. *Surg Case Rep.* 2016, 2, 32.
20. Smith DB, Simmonds P, Izopet J, Oliveira-Filho EF, Ulrich RG, Johne R, Koenig M, Jameel S, Harrison TJ, Meng XJ, Okamoto H, Van der Poel WH, Purdy MA. Proposed reference sequences for hepatitis E virus subtypes. *J Gen Virol.* 97, 537-42.
  21. Tanaka T, Akamatsu N, Sakamoto Y, Inagaki Y, Oshiro Y, Ohkohchi N, Okamoto H, Kokudo N. Treatment with ribavirin for chronic hepatitis E following living donor liver transplantation: A case report. *Hepatol Res.* 2016, 46, 1058-9.
  22. Nakano T, Takahashi K, Takahashi M, Nishigaki Y, Watanabe N, Ishida S, Fujimoto S, Kato H, Okano H, Takei Y, Ayada M, Tomita E, Arai M, Okamoto H, Mishiro S. Investigating the origin and global dispersal history of hepatitis E virus genotype 4 using phylogeographical analysis. *Liver Int.* 2016, 36, 31-41.
  23. Shimakawa Y, Njai HF, Takahashi K, Berg L, Ndow G, Jeng-Barry A, Ceesay A, Tamba S, Opoku E, Taal M, Akbar SM, Arai M, D'Alessandro U, Taylor-Robinson SD, Njie R, Mishiro S, Thursz MR, Lemoine M. Hepatitis E virus infection and acute-on-chronic liver failure in West Africa: a case-control study from The Gambia. *Aliment Pharmacol Ther.* 2016, 43, 375-84.
  24. Yamazaki Y, Naganuma A, Arai Y, Takeuchi S, Kobayashi T, Takakusagi S, Hatanaka T, Hoshino T, Namikawa M, Hashizume H, Takizawa D, Ohyama T, Suzuki H, Horiguchi N, Takagi H, Sato K, Kakizaki S, Kusano M, Nagashima S, Takahashi M, Okamoto H, Yamada M. Clinical and virological features of acute hepatitis E in Gunma prefecture, Japan between 2004 and 2015. *Hepatol Res.* 2017, 47, 435-45.
  25. Suzuki K, Kumagai I, Yoshida Y, Miyasaka A, Takikawa Y, Kamiya R, Kondo K, Kato A, Chiba T, Okamoto H. Asymptomatic acute hepatitis E in a female patient with ulcerative colitis. *Clin J Gastroenterol.* 2017, 10, 255-60.
  26. Yamaguchi Y, Takagi H, Suzuki Y, Maruhashi K, Kosone T, Kakizaki S, Sato K, Yamada M, Nagashima S, Takahashi M, Okamoto H. Autochthonous sporadic acute hepatitis E caused by two distinct subgenotype 3b hepatitis E virus strains with only 90% nucleotide identity. *Clin J Gastroenterol.* 2017, 10, 168-173.
  27. Satake M, Matsubayashi K, Hoshi Y, Taira R, Furui Y, Kokudo N, Akamatsu N, Yoshizumi T, Ohkohchi N, Okamoto H, Miyoshi M, Tamura A, Fuse K, Tadokoro K. Unique clinical courses of transfusion-transmitted hepatitis E in patients with immunosuppression. *Transfusion.* 2017, 57, 280-8.
  28. Miura M, Inoue J, Tsuruoka M, Nishizawa T, Nagashima S, Takahashi M, Shimosegawa T, Okamoto H. Full-length genomic sequence analysis of new subtype 3k hepatitis E virus isolates with 99.97% nucleotide identity obtained from two consecutive acute hepatitis patients in a city in northeast Japan. *J Med Virol.* 2017, 89, 1116-20.
  29. Miura Y, Kanda T, Yasui S, Takahashi K, Haga Y, Sasaki R, Nakamura M, Wu S, Nakamoto S, Arai M, Nishizawa T, Okamoto H, Yokosuka O. Hepatitis A virus genotype IA-infected patient with marked elevation of aspartate aminotransferase levels. *Clin J Gastroenterol.* 2017, 10, 52-6.
  30. Nwe Win N, Kanda T, Nakamura M, Nakamoto S, Okamoto H, Yokosuka O, Shirasawa H. Free fatty acids or high-concentration glucose enhances hepatitis A virus replication in association with a reduction in glucose-regulated protein 78 expression. *Biochem Biophys Res Commun.* 2017, 483, 694-9.
  31. Jiang X, Kanda T, Haga Y, Sasaki R, Nakamura M, Wu S, Nakamoto S, Shirasawa H, Okamoto H, Yokosuka O. Glucose-regulated protein 78 is an antiviral against hepatitis A virus replication. *Exp Ther Med.* 2017 (in press)
  32. Kakisaka K, Kataoka K, Suzuki Y, Kuroda H, Takikawa Y. Appropriate timing to start and optimal response evaluation of high-dose corticosteroid therapy for patients with acute liver failure. *J Gastroenterol.* 2017 (in press)

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 全国国立病院機構・定点観測による A 型および E 型急性肝炎の病態, ワークショップ 口頭, 山崎一美, 阿比留正剛, 八橋 弘, 第 52 回日本肝臓学会総会, 2016/5/19-20, 国内.
2. 高齢化するわが国における A 型急性肝不全の動向, ワークショップ 口頭, 中尾将光, 中山伸朗, 持田 智, 第 52 回日本肝臓学会総会, 幕張, 2016/05/20, 国内
3. 肝移植を実施した急性肝不全症例の予後を規定する要因: 全国調査による検討, 口頭, 中山伸朗, 持田 智, 第 41 回日本肝臓学会東部会, 東京, 2016/12/07, 国内
4. 肝がんの疫学, 口頭, 田中純子, 第 24 回日本がん検診・診断学会総会, 2016/9/16, 国内.
5. 急性肝炎を繰り返し, 民間療法による薬物性肝障害と診断した 1 例, 高橋幸治, 神田達郎, 熊谷純一郎, 安井 伸, 芳賀祐規, 中村昌人, 佐々木玲奈, 新井誠人, 横須賀收, 第 42 回日本急性肝不全研究会 ホテルザ・マンハッタン 2 階「ルーナ」. 2016/5/18, 国内.
6. 急性肝不全の感染性合併症発生にステロイド使用は影響をおよぼすか--- 肝炎症例での検討, 安井伸, 藤原慶一, 芳賀祐規, 佐々木玲奈, 中村昌人, 新井誠人, 神田達郎, 横須賀收, 第 52 回日本肝臓学会総会 第 5 会場 (ホテルニューオータニ幕張 2 階 ステラ), 千葉市美浜区幕張, 2016/5/20, 国内.
7. 再燃をきたした A 型肝炎の一例, 丸田四季子, 安井伸, 神田達郎, 飯野陽太郎, 高橋幸治, 芳賀祐規, 中村昌人, 新井誠人, 横須賀收, 第 343 回日本消化器病学会関東支部第 343 回例会 第 1 会場 (海運クラブ), 東京, 2017/2/4, 国内.
8. わが国の臓器移植患者における E 型肝炎ウイルスの感染実態, 口演, 大和田洋平, 大城幸雄, 稲垣勇紀, 高野恵輔, 湯沢賢治, 大西浩史, 長嶋茂雄, 高橋雅春, 岡本宏明, 大河内信弘, リーガロイヤルホテル大阪, 2016/4/14, 国内.
9. わが国の腎移植患者における E 型肝炎ウイルス感染の全国実態調査 ~全国スクリーニング中間報告~, 口演, 大和田洋平, 大城幸雄, 稲垣勇紀, 高野恵輔, 湯沢賢治, 大西浩史, 長嶋茂雄, 高橋雅春, 岡本宏明, 大河内信弘, 姫路日航ホテル, 2016/5/27, 国内.
10. わが国の心・腎移植患者における E 型肝炎ウイルス感染の全国実態調査 ~全国スクリーニング中間報告~, 口演, 大和田洋平, 大城幸雄, 稲垣勇紀, 高野恵輔, 湯沢賢治, 大西浩史, 長嶋茂雄, 高橋雅春, 岡本宏明, 大河内信弘, グランドプリンスホテル新高輪, 2016/9/30, 国内.
11. わが国の腎移植患者における E 型肝炎ウイルス感染の全国調査, 口演, 大和田洋平, 大城幸雄, 稲垣勇紀, 高野恵輔, 湯沢賢治, 大西浩史, 長嶋茂雄, 高橋雅春, 岡本宏明, 大河内信弘, 神戸国際会議場, 2017/2/17, 国内.
12. 腎移植患者における E 型肝炎ウイルス感染状況, 口演, 和田吉生, 大和田洋平, 大城幸雄, 岡本宏明, 原田浩, 北海道大学臨床講義棟, 2016/11/19, 国内.
13. 腎移植患者における E 型肝炎ウイルスの感染状況~当科 502 例のまとめ~, 口演, 和田吉生, 大和田洋平, 大城幸雄, 岡本宏明, 福澤信之, 原田浩, 神戸国際会議場, 2017/2/17, 国内.
14. 病初期 IFN $\lambda$ 3 量が E 型急性肝炎の病態に与える影響, 口頭, 姜貞憲, 狩野吉康, 村田一素, 第 52 回日本肝臓学会総会, 2016/5/20, 国内
15. 急性肝不全を呈した A 型急性肝炎の夫婦例, 口頭, 宇都宮蘭, 松居剛志, 姜貞憲, 山本恭史, 辻邦彦, 真口宏介, 第 120 回日本消化器病学会北海道支部例会, 2017/3/4, 国内
16. 急性肝障害患者における治療介入の指標並びに治療目標としての PT 値の意義, 口頭, 森内昭博, 片岡晃二郎, 大場史記, 兼清道雄, 河野 鉄, 滝川康裕, 井戸章雄, 坪内博仁, 第 42 回日本急性肝不全研究会, 2016/5/18, 国内.
17. 急性肝不全の予後予測における画像診断の意義 肝硬度と肝容積の比較検討, 口頭, 黒田英克, 滝川康裕. 第 52 回日本肝臓学会総会, 2016/5/20, 国内.
18. 北東北における急性肝障害の動向, 口頭, 宮本康弘, 滝川康裕. 第 41 回日本肝臓学会東部会, 2016/10/8, 国内.
19. 地方都市における急性肝炎の動向と病態, 口頭, 姜貞憲, 松居剛志, 第 41 回日本肝臓学会東部会, 2016/10/8, 国内.
20. 家族内発生した A 型肝炎ウイルス感染による急性肝不全昏睡型の一例, 口頭, 吉田雄一, 鈴木彰子, 柿坂啓介, 宮本康弘, 宮坂昭生, 滝川康裕. 第 7 回北東北肝疾患調査・治療研究会, 2017/3/4, 国内.
21. ラットを用いた E 型肝炎ウイルス感染モデルの確立, 口頭, 國田 智, 高橋雅春, 岡本宏明, 第 63 回日本実験動物学会総会, 2016/5/19, 国内.



22. E型肝炎ウイルスによる劇症肝炎に対し生体肝移植を施行した1例, ポスター, 嶋田圭太, 山本栄和, 内田皓士, 川端誠一, 磯野香織, 本田正樹, 林田信太郎, 阪本靖介, 猪股裕紀洋, 岡本宏明, 第116回日本外科学会定期学術集会, 2016/4/14, 国内
23. 同一のウイルスに汚染された豚レバーを全く違う経路から喫食して感染したと思われるE型急性肝炎の2例, 口頭, 鶴岡未央, 三浦雅人, 井上 淳, 岡本宏明, 第41回日本肝臓学会東部会, 2016/12/8, 国内
24. 当院におけるE型急性肝炎症例の検討, 口頭, 水野 恵, 芳賀弘明, 仁科武人, 勝見智大, 奥本和夫, 齋藤貴史, 岡本宏明, 上野義之, 第41回日本肝臓学会東部会, 2016/12/8, 国内
25. 急性肝炎の動向 E型急性肝炎30例の臨床的、ウイルス学的特徴, ワークショップ 口頭, 山崎勇一, 長沼篤, 岡本宏明, 第41回日本肝臓学会東部会, 2016/12/8, 国内
26. Characterization of hepatitis E virus cell entry, 口頭, 長嶋茂雄, 小林富成, Tanggis, 高橋雅春, 西澤 勉, 岡本宏明, 第64回日本ウイルス学会学術集会, 2016/10/25, 国内
27. Development of a plasmid-based reverse genetics system for hepatitis E virus, 小林富成, 長嶋茂雄, 西澤 勉, Tanggis, 高橋雅春, 岡本宏明, 第64回日本ウイルス学会学術集会, 2016/10/25, 国内
28. Production of monoclonal antibodies against the rat hepatitis E virus ORF3 protein and their application for studies of the ORF3 proteins, Tanggis, 高橋雅春, 小林富成, 長嶋茂雄, 西澤 勉, 岡本宏明, 第64回日本ウイルス学会学術集会, 2016/10/23, 国内.
29. Hepatitis E virus infection in heart and kidney transplant recipients in Japan ~progress report~, ポスター, 大和田洋平, 大城幸雄, 稲垣勇紀, 高野恵輔, 湯沢賢治, 大西浩史, 長嶋茂雄, 高橋雅春, 岡本宏明, 大河内信弘, 第64回日本ウイルス学会学術集会, 2016/10/23, 国内.
30. Clinical impact of asymptomatic HEV infection proved by screening on blood donation in Hokkaido, Japan, ポスター, Kang JH, Yamamoto Y, Karino Y, Watanabe M, Yoshizaki N, Katsuki S, Matsubayashi K, The International Liver Congress 2016, EASL (欧州肝臓会議), 2016/4/14, 国外(Barcelona)
31. Acute liver failure caused by hepatitis A virus (HAV) infection in Japan: Recent status based on nationwide surveys, ポスター, Nakayama N, Uchida Y, Nakao M, Tsubouchi H, Takikawa H, Mochida S, The International Liver Congress 2016, EASL (欧州肝臓会議), 2016/04/14, 国外(Barcelona)

### (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 早期実用化に向けたE型肝炎治療薬の開発, 岡本宏明, 平成28年度肝炎等克服実用化研究事業公開報告会「肝炎研究 今、未来」, 2017/3/11, 国内
2. ウイルス性肝炎に関する疫学, 田中純子, 平成28年度ひろしま肝疾患コーディネーター養成講座, 2016/10/8, 国内.
3. ウイルス性肝炎に関する疫学, 田中純子, 平成28年度ひろしま肝疾患コーディネーター養成講座, 2016/10/22, 国内.
4. 「患者さんの出番ですよ」～肝炎対策の現状と見通し～, 田中純子, 広島肝友会 公開講演会, 2016/12/18, 国内
5. 肝臓の働きと病気～沈黙の臓器: 肝臓他, 遠藤龍人, 吉田雄一, 宮坂昭生, 及川隆喜, 滝川康裕, 日本肝臓学会市民公開講座, 2016/6/26, 国内.

### (4) 特許出願

該当なし

## 平成28年度医療研究開発推進事業費補助金 (肝炎等克服緊急対策研究事業) 成果報告書

### I. 基本情報

事業名： (日本語) 肝炎等克服緊急対策研究事業  
(英語) Program for Basic and Clinical Research on Hepatitis

補助事業課題名： (日本語) 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  
(英語)

補助事業担当者 (日本語) 国立感染症研究所 ウイルス第二部 室長 石井 孝司  
所属 役職 氏名： (英語) Koji Ishii, Section Chief, Department of Virology II, National  
Institute of Infectious Diseases

実施期間： 平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日

分担研究課題名： (日本語) A型肝炎の動向調査と感染源解析、HAワクチン接種を含めた効果的な感  
染予防対策の構築  
(英語) Establishment of efficient hepatitis A vaccination system by  
surveillance of acute hepatitis A in Japan

補助事業分担者 (日本語) 石井 孝司、国立感染症研究所・ウイルス第二部・室長  
所属 役職 氏名： (英語) Koji Ishii, Section Chief, Department of Virology II, National  
Institute of Infectious Diseases

## II. 成果の概要（総括研究報告）

- ・ 補助事業分担者による報告の場合

補助事業代表者：自治医科大学・医学部・岡本宏明 総括研究報告を参照。

## III. 成果の外部への発表

- (1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 1 件、国際誌 7 件）

1. Ruchusatsawat K., Wongpiyabovorn J., Kawidam C., Thiemsing L., Sangkitporn S., Yoshizaki S., Tatsumi M., Takeda N. and Ishii K. An Outbreak of Acute Hepatitis Caused by Genotype IB Hepatitis A Viruses Contaminating the Water Supply in Thailand. *Intervirology* 59: 197-203 (2017) DOI: 10.1159/000455856
2. Li T.C., Yoshizaki S., Kataoka M., Ami Y., Suzaki Y., Doan Y.H., Haga K., Ishii K., Takeda N. and Wakita T. Genetic and physicochemical analyses of a novel ferret hepatitis E virus, and clinical signs of infection after birth. *Infection, Genetics and Evolution* 25: 153-159 (2017) DOI: 10.1016/j.meegid.2017.03.026.
3. Yokokawa H., Higashino A., Suzuki S., Moriyama M., Nakamura N., Suzuki T., Suzuki R., Ishii K., Kobiyama K., Ishii KJ., Wakita T., Akari H. and Kato T. Induction of humoral and cellular immunity by immunisation with HCV particle vaccine in a non-human primate model. *Gut in press* (2016) pii: gutjnl-2016-312208. doi: 10.1136/gutjnl-2016-312208.
4. Dahanayaka N., Kiyohara T., Agampodi S., Samaraweera P., Kulasoorya G., Ranasinghe J., Semage S., Yoshizaki S., Wakita T. and Ishii K. Clinical features and transmission pattern of hepatitis A: an experience from a hepatitis A outbreak caused by two co-circulating genotypes in Sri Lanka. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 95: 908-914 (2016)
5. Miyoshi M., Kakinuma S., Tanabe Y., Ishii K., Li T.C., Wakita T., Tsuura Y., Watanabe H., Asahina Y., Watanabe M. and Ikeda T. A Case of Chronic Hepatitis E Infection in a Persistently Immunosuppressed Patient Unable to be Eliminated after Ribavirin Therapy. *Internal Medicine*, 55: 2811-2817 (2016)
6. Li T.C., Yang T., Yoshizaki S., Ami Y., Suzaki Y., Ishii K., Kishida N., Shirakura M., Asanuma H., Takeda N. and Wakita T. Ferret Hepatitis E Virus Infection Induces Acute Hepatitis and Persistent Infection in Ferrets. *Veterinary Microbiology*, 183: 30-36 (2016) DOI: 10.1016/j.vetmic.2015.11.014
7. Motoya T., Nagata N., Komori H., Doi I., Kurosawa M., Keta T., Sasaki N and Ishii K. The high prevalence of hepatitis E virus infection in wild boars in Ibaraki Prefecture, Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*, 77: 1705-1709 (2016) DOI:10.1292/jvms.15-0173
8. 石井孝司 E型肝炎の増加と今後の対策 検査と技術 44: 1138-1141 (2016)

- (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Ishii K. Epidemiological and genetic analyses of recent hepatitis A virus infection in Japan. The 10th China-Japan-Korea Forum for Communicable Disease Control and Prevention. Beijing, China, December 19-20, 2016
2. Ishii K. Epidemiology and molecular genetic analysis of hepatitis A in Japan. 中日合作交流成果汇报会, Guangzhou, China, December 6, 2016
3. Shiota T., Li T.C., Yoshizaki S., Nishimura Y., Shimizu H., Shimojima M., Saijo M., Wakita T. and Ishii K. Molecular characterization of the hepatitis E virus receptor candidate. The 64th Annual Meeting

of the Japanese Society for Virology, Sapporo, Japan, October 23-25, 2016

4. Imagawa T., Li T.C., Shiota T., Yoshizaki S., Ishii K. and Wakita T. Heat inactivation of Hepatitis E virus. The 64th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology, Sapporo, Japan, October 23-25, 2016
5. 石井孝司 : A 型肝炎と E 型肝炎の動向と対策、平成 28 年度新潟県臨床検査技師会研修会、平成 28 年 12 月、新潟
6. 石井孝司 : 日本における A 型肝炎、E 型肝炎の最近の話題、平成 28 年度静岡県獣医師会公衆衛生部会、平成 28 年 10 月、静岡
7. 宗片圭祐、安井文彦、伊藤 靖、石井孝司、喜田 宏、小笠原一誠、小原道法 : ワクチニアウイルス DIs 株を母体としたインフルエンザ HA 組換えワクチンのカニクイザルでの発症防御効果の検討、第 20 回日本ワクチン学会、平成 28 年 10 月、東京

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

(4) 特許出願

## 平成28年度医療研究開発推進事業費補助金

### (肝炎等克服実用化研究事業 肝炎等克服緊急対策研究事業) 成果報告書

#### I. 基本情報

事業名：(日本語) 肝炎等克服実用化研究事業 肝炎等克服緊急対策研究事業  
(英語) Program for Basic and Clinical Research on Hepatitis

補助事業課題名：(日本語) 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、治療等に関する研究  
(英語) Research on Infection Prevention, Elucidation of Pathogenesis and Treatment of Orally-transmitted Viral Hepatitis A and E

補助事業担当者 (日本語) ウイルス第二部・主任研究官・李天成  
所属 役職 氏名：(英語) Department of Virology 2, Senior Researcher, Tiancheng Li

実施期間：平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日

分担研究課題名：(日本語)  
(英語)

補助事業分担者 (日本語)  
所属 役職 氏名：(英語)

#### II. 成果の概要(総括研究報告)

補助事業代表者：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 総括研究報告を参照。

#### III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧(国内誌 件、国際誌 8 件)

1. Tian-Cheng Li, Sayaka Yoshizaki, Michiyo Kataoka, Yasushi Ami, Yuriko Suzaki, Yen Hai Doan, Kei Haga, Koji Ishii, Naokazu Takeda, and Takaji Wakita. Genetic and physicochemical analyses of a novel ferret hepatitis E virus, and clinical signs of infection after birth. *Infection, Genetic and evolution*. 2017 Mar 25;51:153-159.

2. Tian-cheng Li, Yoshizaki S, Ami Y, Suzaki Y, Johne R, Wakita T. No evidence of rat hepatitis E virus excretion into urine of rats. *Jpn J Infect Dis*. 2017. 70: 00-00.

3. Tian-Cheng Li, Zhou X, Yoshizaki S, Ami Y, Suzaki Y, Nakamura T, Takeda N, Wakita T. Production of Infectious Dromedary Camel Hepatitis E Virus by a Reverse Genetic System: Potential for Zoonotic Infection. J Hepatol. 2016 Jul 19. pii: S0168-8278(16)30337-3. doi: 10.1016/j.jhep.2016.07.013.
4. Ricco G, Bonino F, Lanza M, Scatena F, Alfieri CM, Messa P, Marchisio E, Mascolo G, Romanò L, Galli C, Tian-Cheng Li, Wakita T, Miyamura T, Brunetto MR. New immunoassays for total, IgA and IgM antibodies against hepatitis E virus: Prevalence in Italian blood donors and patients with chronic liver or kidney diseases. Dig Liver Dis. 2016 Feb 10.
5. Miyoshi M, Kakinuma S, Tanabe Y, Ishii K, Tian-Cheng Li, Wakita T, Tsuura Y, Watanabe H, Asahina Y, Watanabe M, Ikeda T. A Case of Chronic Hepatitis E Infection in a Persistently Immunosuppressed Patient Unable to be Eliminated after Ribavirin Therapy. Internal Medicine 2016.
6. Shima R, Tian-Cheng Li, Sendai Y, Kataoka C, Mori Y, Abe T, Takeda N, Okamoto T, Matsuura Y. Production of hepatitis E virus-like particles presenting multiple foreign epitops by co-infection of recombinant baculovirus. Sci Rep. 2016 Feb 24;6:21638.
7. Tian-Cheng Li, Yang T, Sayaka Yoshizaki, Kataoka M, Ami Y, Suzaki Y, Kishida N, Shirakura M, Imai M, Asanuma H, Takeda N, Wakita T, Ferret Hepatitis E Virus Infection Induces Acute Hepatitis and Persistent Infection in Ferrets. Vet Microbiol. 2016. Feb 1;183:30-6.
8. Tian-Cheng Li, Sayaka Yoshizaki, Tingting Yang, Kataoka M, Tomofumi Nakamura, Yasushi Ami, Yuriko Suzaki, Naokazu Takeda, and Wakita Takaji. Production of infectious ferret hepatitis E virus in a human hepatocarcinoma cell line PLC/PRF/5. Virus Research. 2016. Feb 2;213:283-8..

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 李天成、周顕鳳、吉崎佐矢香、網康至、須崎百合子、中村朋史、脇田隆字。リバスジェネティック法による DcHEV の作製およびその人獣共通感染の可能性の検討。第 64 回日本ウイルス学会学術集会、2016 年 10 月札幌。
2. 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 型肝炎ウイルスレセプター候補の分子特徴。第 64 回日本ウイルス学会学術集会、2016 年 10 月 札幌。

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

(4) 特許出願