

## 東京都内におけるA型肝炎ウイルスの検出状況と亜型分類

浅倉 弘幸<sup>a</sup>, 永野 美由紀<sup>a</sup>, 矢尾板 優<sup>a</sup>, 長島 真美<sup>a</sup>, 原田 幸子<sup>b</sup>, 小田 真悠子<sup>c</sup>  
林 志直<sup>a</sup>, 長谷川 道弥<sup>a</sup>, 根岸 あかね<sup>a</sup>, 熊谷 遼太<sup>a</sup>, 河上 麻美代<sup>a</sup>, 北村 有里恵<sup>a</sup>, 加來 英美子<sup>a</sup>,  
宗村 佳子<sup>d</sup>, 新開 敬行<sup>e</sup>, 千葉 隆司<sup>a</sup>, 貞升 健志<sup>f</sup>

A型肝炎は、A型肝炎ウイルス（HAV）に汚染された飲食物等の喫食や感染者との接触により感染する急性ウイルス性肝炎である。日本におけるA型肝炎の発生は散発的であったが、近年、増加傾向にある。2016年から2018年に都内医療機関にてA型肝炎と診断され、積極的疫学調査により当センターへ搬入された検体461件について分子疫学解析を行った。その結果、都内A型肝炎患者由来のウイルスはIA型が多くを占め、さらに東京都独自のサブグループ分類により複数のサブグループに分類された。また、遺伝子型による推定感染経路を見ると、2016年と2017年は国外でHAVに汚染された食品を介する経口感染、2018年は国内の性的接触によるものが多いと推測された。

**キーワード**：A型肝炎ウイルス、遺伝子型、系統樹解析

### はじめに

ヒトがA型肝炎ウイルス（Hepatitis A virus, HAV）に感染すると2～6週間（平均4週間）の潜伏期を経た後、発熱、倦怠感、肝機能障害（黄疸、肝腫脹、灰白色便等）等の症状を呈する。HAVは感染者の糞便中に多量に排泄され、患者糞便への接触や汚染された飲食物を介して感染する。一般に、上下水道等の衛生インフラが不十分な地域では、A型肝炎は水系感染により大規模な流行となる場合がある。一方、衛生状態が向上した現在の日本ではほとんどが散発的な発生であり、主な感染経路はHAVに汚染された二枚貝等の喫食やHAV流行地への渡航である。

東京都では2010年4月以降、感染症法に基づく積極的疫学調査として都内医療機関にてA型肝炎と診断された患者検体についてHAVの遺伝子検査を行っている<sup>1)</sup>。現在、A型肝炎の遺伝子型はI～VIに分けられており、そのうち、ヒトからはI～III型が検出され、それぞれAとBのサブタイプに亜分類される。また、これら遺伝子型の分子疫学解析は、潜伏期が長く感染源の特定が困難なA型肝炎において感染源推定に有効である<sup>2)</sup>。そこで本報では2016年から2018年に当センターへ搬入されたHAV患者検体について、患者の疫学情報と併せて遺伝子学的解析を行い、東京都内におけるHAV感染の実態調査を行った。

### 実験方法

#### 1. 材料

2016年～2018年に都内医療機関においてA型肝炎と診断

され、当センターに積極的疫学調査により搬入された患者461件（血液57件、血清394件および糞便10件）を対象とした。

#### 2. 遺伝子検査

##### 1) RT-PCR

血液および血清検体については直接、また、糞便については10%乳剤とした後にQIAmp Viral RNA mini Kit（QIAGEN）を用いてRNAを抽出した。抽出したRNAについてVP1-2A領域のRT-PCR<sup>3)</sup>を行った後、アガロースゲル電気泳動によりPCRの増幅（668bp）を確認した。また、増幅が見られなかったものについてはNested PCRを行い、再度増幅の有無を確認した（615 bp）。RT-PCRおよびNested PCRにより増幅バンドが確認できたものをPCR陽性とした。

##### 2) ダイレクトシーケンス法による塩基配列の決定

PCR陽性となったものについて、目的サイズのバンドを切り出した後、QIAquick PCR purification Kit（QIAGEN）で精製した。精製したPCR産物はBigDye v3.1 Cycle Sequencing Kit（Applied Biosystems）でシーケンス反応を行い、ABI PRISM 3500 Genetic Analyzer（Applied Biosystems）で塩基配列を決定した。

##### 3) 分子系統樹解析

得られた塩基配列について、遺伝子解析ソフトMEGA7を用いて系統樹解析を行い、I～III型、およびA、Bのサブタイプに分類した。また、検出されたHAVの遺伝子型

<sup>a</sup> 東京都健康安全研究センター微生物部ウイルス研究科  
169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

<sup>b</sup> 東京都健康安全研究センター微生物部食品微生物研究科

<sup>c</sup> 東京都健康安全研究センター精度管理室

<sup>d</sup> 東京都健康安全研究センター企画調整部

<sup>e</sup> 東京都健康安全研究センター企画調整部健康危機管理情報課

<sup>f</sup> 東京都健康安全研究センター微生物部

がIA型であった場合、新開らの分類法<sup>4)</sup>を参考に、表1に示すHAV参照株とともに系統樹解析を行い、サブグループ分類（S1～S22，S15およびS19は欠番）を行った。

3. 患者疫学情報

遺伝子検査で陽性となった患者について、海外渡航歴および推定感染経路の疫学情報を保健所の調査票および感染症サーベイランスシステム（NESID）から収集した。

結 果

1. 月別搬入検体数

都内医療機関でA型肝炎と診断され、2016年1月から2018年12月までに当センターに搬入された検体数は、2016年58件、2017年54件、2018年349件であった。月別にみると、2016年と2017年は3月～5月に搬入数が多く、また、2018年は2月から8月までの間では搬入検体数は急激に増加した（図1）。

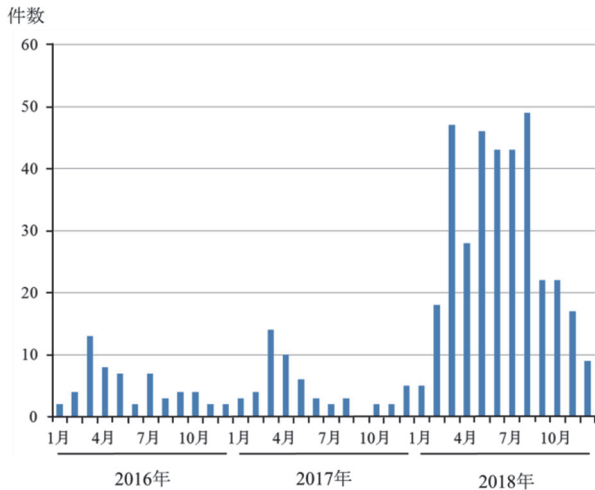


図1. HAV月別検体搬入数（2016～2018年）

2. 遺伝子検査

1) 陽性検体数及び遺伝子型内訳

2016年は搬入件数58件中52件がHAV遺伝子検査陽性となった（陽性率89.7%）。内訳はIA型が47件（90.4%），IB型が1件（1.9%），IIIA型が4件（7.7%）であった。2017年は搬入件数54件中48件がHAV遺伝子検査陽性となった（陽性率88.9%）。内訳はIA型が45件（93.7%），IB型が1件（2.1%），IIIA型が2件（4.2%）であった。2018年は搬入件数349件中346件がHAV遺伝子検査陽性となった（陽性率99.1%）。内訳はIA型が344件（99.4%），IB型が1件（0.3%），IIIA型が1件（0.3%）であった（表2）。

なお、いずれの年もII型，IIIB型については検出されなかった。

表2. HAV陽性検体数とHAV遺伝子型内訳（2016年～2018年）

	2016年	2017年	2018年	計
搬入数	58	54	349	461
陽性数	52	48	346	446
遺伝子型				
IA	47	45	344	436
IB	1	1	1	3
IIIA	4	2	1	7

2) サブグループ分類

遺伝子型がIA型の検体436件について、サブグループ分類（S1～S22，S15およびS19は欠番）を行った。

2016年から2018年の3年間で最も多く検出されたのはIA/S13で348件、次いでIA/S9の60件であった。年別に比較すると2016年はIA/S9が最も多く、他にもIA/S5，IA/S6，IA/S8，IA/S11，IA/S18，IA/S20，IA/S21など様々なサブグループが見られた（図2）。2017年もIA/S9が31件と最も多く、次いでIA/S13の9件であった。2017年3月から8月にかけて検出されたIA/S9 26件のうち、9件の塩基配列が100%一致した。2018年はIA/S13が334件（97%）と大半を占め、3年間に検出されたIA/S13 348件のうち、塩基配列が100%一致したものは343件（98.6%）であった。

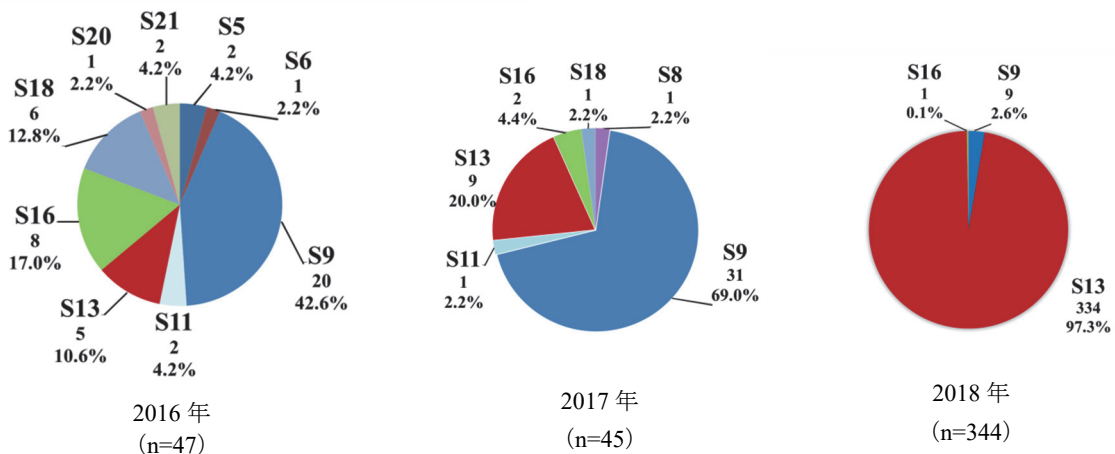


図2. IA型サブグループ分類（2016年～2018年）

表1. サブグループ分類に使用したHAVの塩基配列

	株名	参照配列 (accession No.)	備考*
S1	2001-2-Tokyo-330126-S1 kd-2-Tokyo-330127-S1	LC506550 LC506551	
S2	2001-5-Tokyo-330128-S2	LC506552	
S3	h1382 2001-7-Tokyo-330129-S3 HA13-2172	KX151467 LC506553 AB971716	
S4	a34	FJ445805	
S5	SA-26/03/99 FIN-1-95 MA_365 Pt_773_PODE_3_Mar18 CU-RFS F14-554-Tokyo-330130-S5 10-3735-Tokyo-330131-S5	AF386860 GQ844759 AY322993 MH271377 AJ245522 LC506554 LC506555	
S6	a1 KON-1-Tokyo-330132-S6	FJ445855 LC506556	
S7	2001-4-Tokyo-330133-S7	LC506557	
S8	HAJTS-SinKan11 h796 084SER_ISR2013 RM 238	AB819869 KX151415 KU230507 L07698	
S9	1610-907-Tokyo-330068-S9 1710-072-Tokyo-330074-S9 1710-073-Tokyo-330075-S9 10-1480-Tokyo-330134-S9 12-902-Tokyo-330135-S9	LC388409 LC388415 LC388416 LC506558 LC506559	IA-1 G3 IA-1 G1 IA-1 G2
S10	HAJ94-5 Nagasaki 04	AB258578 AB038279	
S11	Mie 91 h801	L20549 KX151416	
S12	SHA-7-Tokyo-330136-S12	LC506560	
S13	1644-039-Tokyo-330072-S13 1703-050-Tokyo-330073-S13 12-8824-Tokyo-330137-S13 VW3-330138-S13	LC388413 LC388414 LC506561 LC506562	IA-3 IA-3
S14	Nagasaki 24	AB038291	
S16	1615-008-Tokyo-330069-S16 1615-009-Tokyo-330070-S16 F14-907-Tokyo-330139-S16	LC388410 LC388411 LC506563	IA-2 IA-2
S17	Ch26	AB643802	
S18	1621-015-Tokyo-330071-S18	LC388412	IA-4
S20	HAJHM-PapTok11	AB909123	
S21	Pt_505_GASO_7571_May17	MH271366	
S22	1912-367-Tokyo-33140-S22	LC506564	

※小田ら7)のIA型分類

### 3. 患者疫学調査

#### 1) 推定感染地

HAV陽性検体446件のうち、海外渡航歴が確認できたものは約1割の49件であり、それ以外の患者の推定感染地は国内であった。海外渡航歴が認められた患者は2016年に24件 (49.0%)、2017年は11件 (22.4%)、2018年は14件 (28.6%) であった。

渡航先が判明している検体について検出遺伝子型を比較すると、IA/S13が16件と最も多く検出された (表3)。そのうち、渡航先では台湾が7例と最も多かった。次いで多かったのはIA/S16の11件 (2016年に8件, 2017年に2件, 2018年に1件) であった。11件中7件がフィリピンへの渡航

歴があった。また1件はアレルギー治療のためにフィリピンから取り寄せた回虫卵を摂取していたことから、IA/S16は海外の渡航先、特にフィリピンとの関連が強く示唆された。その他、IA/S5, IA/S11, IA/S20が散発的に検出された。IBが検出された3件は全員複数国への渡航歴が確認された。1件はカンボジア, ベトナム, エジプト, 1件は南アフリカ共和国, UAE, トルコ, 1件はモロッコ, アメリカ, イタリアへ渡航していた。IBは北アフリカや中東地域で流行しているという報告<sup>5)</sup>がある。IIIA型が検出された7件中4件に海外渡航歴が存在し、インド, タイ, ネパール, バングラデシュであった。インドではIIIAが主流の遺伝子型となっているという報告<sup>6)</sup>がある。

表3. HAV検出遺伝子型と渡航先  
(2016年~2018年)

遺伝子型	S分類 (IA型のみ)	渡航先	患者数
IA	S5	ベルー, ボリビア, モロッコ	2
IA	S9	中国, 台湾, 韓国, 北朝鮮, インドネシア, 南アフリカ共和国, スペイン, ドイツ, フランス	9
IA	S11	フィリピン	1
IA	S13	台湾, 韓国, インドネシア, カンボジア, フィリピン, ベトナム, タイ, アメリカ	16
IA	S16	フィリピン, マレーシア, ハワイ	11
IA	S20	バブアニューギニア	1
IB		エジプト, カンボジア, ベトナム, 南アフリカ, UAE, トルコ, モロッコ, アメリカ, イタリア	3
IIIA		インド, タイ, ネパール, バングラデシュ	5

同一人物による複数渡航先を含む

## 2) 推定感染経路

HAVが検出された446例の推定感染経路について、「(食品等の)経口感染」、「性的接触」、「経口感染または性的接触」、「家族内感染」、「不明」に分けて比較した。2016年および2017年は「経口感染」がそれぞれ36件(69.2%)、30件(62.5%)と最も多かったが、2018年は「性的接触」によるものが177件(51.2%)と最も多く(図3)、「経口感染」は82件(23.7%)であった。また、経口感染148件のうち、原因と疑われた食品として記載があったものではカキが47件(31.8%)と最も多く挙げられた。

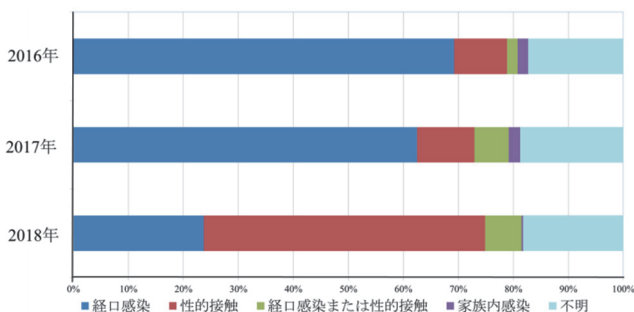


図3. HAV遺伝子陽性例の推定感染経路 (2016年~2018年)

## 考 察

A型肝炎は衛生環境が整備されている日本では比較的発生が少なくなり、主な感染機会がA型肝炎の流行地への渡航であると考えられてきた。しかしながら、今回の調査では海外渡航歴のない国内感染例が多数を占めていた。世界的に最も多く検出される遺伝子型はIAであり、東京都においても同様の傾向が見られた。

東京都の積極的疫学調査開始以降、2018年は搬入検体数は349件と過去最多となった。東京都ではIA型についてサブグループ分類を実施している。そのうち334件がIA/S13の同一クラスターに分類され、2016年に台湾の男性同性間

性的接触者(MSM)の間で流行の見られたRIVM-HAV16-090株と同じクラスターに分類された。IA/S13は、都内では2016年に初めて台湾で同性間の性的接触があった患者から検出されている<sup>7)</sup>。MSMによるHAVの感染は、台湾の他にもヨーロッパやアメリカなどで流行し、世界中で報告されている<sup>8),9)</sup>。

IA/S9に分類された検体はIA/S13に次いで多く検出された。その多くは国内での経口感染が疑われ、特に、今回の調査ではカキが推定原因食品として多く挙げられていたがいずれも、食中毒事例としては届出はされていない。カキを含む二枚貝へのHAV汚染機序として、HAV感染者の糞便中のHAVが下水を経て二枚貝の生育海域へ流入し、二枚貝中に蓄積されていくものと考えられている。日本国内で過去に発生したHAVによる食中毒事例では、ウチムラサキ(2002, 東京<sup>4)</sup>)やアサリ(2018, 宮崎<sup>10)</sup>)による報告がある。さらに、海外では、オレンジジュース<sup>11)</sup>や青ネギ<sup>12)</sup>、ザクロ<sup>13)</sup>や半乾燥トマト<sup>14)</sup>など様々な食品によるA型肝炎の集団食中毒事例も報告されている。A型肝炎流行地に渡航する際は、生水や生野菜等にはHAV汚染のリスクがあるため、十分な加熱調理および、渡航前のワクチン接種による予防が重要であると考えられる。

一方で、調理従事者を介したHAVによる食中毒事例の報告があり、日本では寿司店の従業員が感染源となった事例(2002, 東京<sup>4)</sup>)や蕎麦店の従業員が感染源となった事例(2017, 長野<sup>15)</sup>)がある。A型肝炎は発症前から大量のウイルスを便中に排出するため、調理従事者は自覚症状がないまま感染を拡大させる恐れがある。予防には調理従事者の手洗い等の衛生管理やワクチン接種が重要と考えられる。

A型肝炎は潜伏期間が長いことから、原因食材の検査や聞き取りによる感染源の特定は困難である。今回行った患者の疫学調査においても「経口感染が疑われるが原因食材は不明」が最も多かった。2017年3月から8月にかけて検出されたIA/S9 26件のうち、9件の塩基配列が100%一致した。いずれも散发例で、6件は食品の喫食による感染が疑われ、同一の感染源の存在が示唆されたが、感染源の特定には至っていない。

A型肝炎は潜伏期間が長く、感染経路が多岐に渡るため、原因特定は困難な場合が多い。そこで患者の疫学調査と合わせたHAVの分子疫学調査は原因究明に有用であると考えられた。A型肝炎の散发例は原因不明として処理されることが多いが、当センターのIA型をS1~S22に分類する分子疫学解析により同一株の広域感染の把握が可能になると考えられる。近年、ヒトや生鮮食品等の国際的な移動や流通が活発になったことにより、従来のHAVの分布が大きく変化する可能性がある。今後、感染経路の探索や感染動向の解析にはHAVの遺伝子型のデータ収集と解析の必要性がより増大していくものと思われる。

## ま と め

2016年1月から2018年12月にかけて東京都内の医療機関にてA型肝炎と診断されて積極的疫学調査により搬入された検体について分子疫学調査を行った。さらに保健所の調査票及び感染症サーベイランスシステム (NESID) から患者の疫学情報を得た。その結果, A型肝炎の感染者数は海外よりも国内感染例の方が多かった。遺伝子型の解析の結果, IA型が最も多く, サブグループ分類の結果, 10種類に分かれ, IA/S13とIA/S9が多かった。感染経路は2016年と2017年は経口感染が多く, 2018年は性的接触による感染が多かった。A型肝炎は潜伏期間が長く, 感染経路が多岐に渡ることから, 感染源や感染経路の特定にA型肝炎ウイルスの分子疫学調査は有用であった。

## 文 献

- 1) 長島真美, 原田幸子, 吉田 勲, 他 : *IASR*. **36**, 5-6, 2015.
- 2) 石井孝司, 清原知子, 脇田隆字, 他 : *IASR*, **36**, 3, 2015.
- 3) Ishii, K., Kiyohara, T., Yoshizaki, S., *et al.* : *Vaccine*, **33** (45), 6029-6036, 2015.
- 4) 新開敬行, 貞升健志, 中村敦子, 他 : 東京健安研七 年 報, **54**, 36-39, 2003.
- 5) 入谷展弘, 久保英幸, 改田 厚, 他 : *IASR*. **31**, 296-297, 2010.
- 6) Moumita, B., Sujoy B., Anjan, S. : *J. Med. Virol.* **87**, 1218-1224, 2015.
- 7) 小田真悠子, 宗村佳子, 永野美由紀, 他 : 食衛誌, **59**, 257-264, 2018.
- 8) Freidl, G.S., Sonder, G.J., Bovee, L.P., *et al.* : *Euro Surveill.* **22**(8), 30468, 2017.
- 9) Chen, W.C., Chiang P.H., Liao Y.H., *et al.* : *Euro Surveill.* **24**(14), 1560-791, 2019.
- 10) 厚生労働省医薬・生活衛生局 食品監視安全課長 : 薬生食監発0222 第2号, A型肝炎ウイルスによる食中毒の予防について(通知), 平成30年2月22日.
- 11) Frank, C., Walter, J., Muehlen, M.: *Euro Surveill.*, **10**(23), 2005.
- 12) Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *MMWR*, **52**(47), 1155-1157, 2003.
- 13) Melisa, G, C., Yury, E, K., David, S.: *THE LANCET Infectious Diseases*, **14** (10), 976-981, 2014.
- 14) Pettrignani M, Harms M, Verhoef L.: *Euro Surveill.* **5**(20): 19572. 2010.
- 15) 小林広記, 和田由美, 北野和子, 他 : *IASR*, **39**, 25-26, 2018.

**Detection Status and Subtype Classification of Hepatitis A Virus in Tokyo**

Hiroyuki ASAKURA<sup>a</sup>, Miyuki NAGANO<sup>a</sup>, Yuu YAOITA<sup>a</sup>, Mami NAGASHIMA<sup>a</sup>, Sachiko HARADA<sup>a</sup>,  
Mayuko ODA<sup>a</sup>, Michiya HASEGAWA<sup>a</sup>, Yukinao HAYASHI<sup>a</sup>, Ryota KUMAGAI<sup>a</sup>, Akane NEGISHI<sup>a</sup>,  
Mamiyo KAWAKAMI<sup>a</sup>, Yurie KITAMURA<sup>a</sup>, Emiko KAKU<sup>a</sup>, Yoshiko SOMURA<sup>a</sup>, Takayuki SHINKAI<sup>a</sup>,  
Takashi CHIBA<sup>a</sup>, and Kenji SADAMASU<sup>a</sup>

Hepatitis A is an acute viral hepatitis that is transmitted by the consumption of food contaminated with the hepatitis A virus (HAV) or contact with a HAV-positive patients. The occurrence of hepatitis A in Japan is increasing, as such molecular epidemiological analysis was conducted on positive samples in Tokyo from 2016 to 2018. The results showed that viruses from HAV-positive patients accounted for the majority of type IA, which were further classified into multiple subgroups according to the Tokyo subgroup classification. The estimated transmission route by genotype was ascribed to oral infection by the consumption of foods contaminated with HAV overseas in 2016 and 2017, and domestic sexual contact in 2018.

**Keywords:** Hepatitis A virus (HAV), genotype, phylogenetic tree analysis

---

<sup>a</sup> Tokyo Metropolitan Institute of Public Health  
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan