

# 宮城県における E 型肝炎ウイルスの侵淫状況調査

## Epidemiological Study of Hepatitis E Virus in Miyagi Prefecture

植木 洋 菊地 奈穂子 山木 紀彦  
後藤 郁男 沖村 容子 秋山 和夫

You UEKI, Naoko KIKUCHI, Norihiko YAMAKI  
Ikuo GOTO, Youko OKIMURA, Kazuo AKIYAMA

人獣共通感染症の一つである E 型肝炎ウイルス (Hepatitis E virus=HEV) の宮城県内における侵淫状況を調査することを目的として、平成17年1月に食肉流通センターに搬入され、と畜検査時に肝臓に病変が認められたブタ30頭 (月齢約6ヶ月) を対象にRT-PCR法を用いてウイルス遺伝子の検出を行った結果、HEV遺伝子は検出されなかった。また、平成10年度に県内のと畜検査所、家畜保健衛生所、動物愛護センターおよび保健所に勤務する獣医師や関係職員から採血した血清を用いてELISA法でHEV IgG抗体の検出を行った結果、抗体保有率は19.4% (抗体陽性者/対象者=18/93) であった。この結果は過去にHEV感染があったことを示しており、県内にも E 型肝炎ウイルスが侵淫している可能性が示唆された。

キーワード：E 型肝炎ウイルス；侵淫状況；抗体保有率；

**Keywords** : Hepatitis E Virus (HEV) ; Epidemiological Study ; Distribution of antibodies against HEV

### 1 はじめに

E 型肝炎は従来、経口伝播型非 A 非 B 型肝炎とよばれてきたウイルス性の急性肝炎で、E 型肝炎ウイルス (以下HEV) が病原体である。E 型肝炎の死亡率は同じく経口感染する A 型肝炎の10倍といわれ、妊婦では20%に達することもある<sup>1)</sup>。わが国でも近年輸入感染症や人獣共通感染症として発生がみられ、1990年以降 E 型肝炎感染により3人の死亡が確認されている。さらに、2003年にはシカ生肉の摂食により7名の発症が確認されている<sup>2)</sup>。一方、国立感染症研究所の李らは、健康人の約5.4%がHEV抗体を保有していると報告している<sup>3)</sup>。E 型肝炎の感染ルートについては、Yazakiらによれば市販豚レバーの1.9%から、HEV遺伝子が検出され、その中には患者から検出されたウイルスと遺伝子が一致する症例も確認しており、感染経路の一つとしてブタからヒトへの感染を示唆している<sup>4)</sup>。本研究において、我々は県内産のブタからのHEVの検出と、家畜や愛玩動物に接触する機会の多い職業従事者を対象にHEVの抗体保有状況調査を行ったので報告する。

### 2 材料と方法

#### 2.1 材料

ブタは月齢6ヶ月以上で平成17年1月に県内でと畜検査され、検査時に肉眼所見で肝臓に何らかの病変のある30頭を検査対象とした。

血清は平成10年度の県内のと畜検査所、家畜保健衛生所、保健所、動物愛護センターに勤務する獣医師、と畜検査所のと畜検査補助員および保健所の狂犬病予防業務に従事する野犬捕獲人 (以下抗体検査対象者) を対象に行ったトキソプラズマ症抗体検査に用いた血清の内93件を対象とした。なお、いずれの検査材料も検査直前まで - 80 で保存した。

#### 2.2 方法

##### 2.2.1 ブタからの抗原検出

ブタからの抗原検出は武田らの E 型肝炎検査マニュアルに準じて行った。

すなわち、と畜検査の際に摘出したブタの肝臓を蒸留水で10%とし、4,500rpm, 1 分間細胞破碎処理し10%乳剤とした。乳剤を10,000rpm, 10分間遠心した上清をウイルス抽出液とした。ウイルスRNAの抽出はQIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) を用い添付のプロトコールに従って行った。抽出したRNAはDNase処理後、逆転写反応よりcDNAを作成しPCRを行った。PCRはウイルスRNAの構造蛋白をコードしているORF2の一部の領域を増幅するために設計されたプライマーである HEV-F1, HEV-R2 を 1st PCRに使い、HEV-F2とHEV-R1をNested PCRに用いた。PCRによって得られた増幅産物をアガロースゲルで電気泳動後、エチジウムブロマイドで染色し増幅産物の有無を確認した。

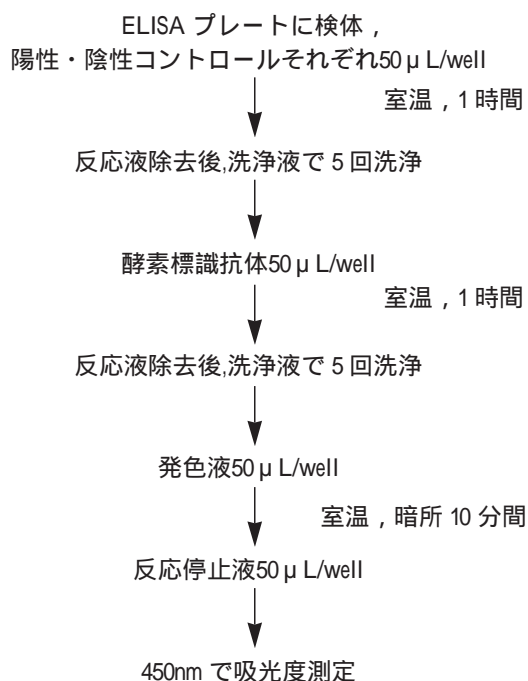


図1 ELISA法によるHEV IgG抗体測定方法

## 2.2.2 ヒト血清からの抗体検出

ヒト血清中のE型肝炎IgG抗体の検出はVariant HEV-Ab (ヒトIgG)(有限会社ティーアイティー)のELISAキットを用いて行った。検査方法を図1に示す。なお、カットオフインデックスと判定基準は添付プロトコールに従い設定した。

## 3 結果と考察

## 3.1 ブタからのウイルス遺伝子検出

表1に今回検査材料として用いたブタの肝臓所見を示す。30頭の内訳は肉眼所見で寄生性の間質性肝炎と診断されたブタ12頭, 同じく退色肝8頭, 包膜炎6頭, 寄生性以外の間質性肝炎3頭, 退色肝かつ寄生性間質性肝炎が確認されたブタ1頭であった。RT-PCR法を実施した結果, 1st PCRおよびNested PCRともに肝炎ウイルス遺伝子由来の増幅産物は確認されなかった。一般に集団で飼育されているブタのHEV遺伝子の検出率は2, 3ヶ月齢が高く, 6ヶ月齢では低いと報告されている。一方ブタの平均HEV抗体保有率については, 生後6ヶ月には90%が抗体を保有していると報告している例もある。定らが行ったブタのHEV保有状況調査によれば, 月齢約6ヶ月の発育正常ブタ血清からのHEV遺伝子の検出率は0.16%であった。また, ウイルスが検出されたブタの内臓検査において, 特に異常は確認されなかったことも併せて報告している<sup>5)</sup>。しかし, Yazakiらは市販ブタレバーを対象に調査を行った結果, 1.9%からHEV遺伝子が検出されたと報告している。さらに, Mengらはヒト由来のHEVをブタに接種した結果, 臨床的には無症状であったが, 肝組織は明らかな肝炎を呈し血液や肝臓からHEV遺伝子が検出されたことを確認している<sup>6)</sup>。この点を考慮し, 今回は月齢6ヶ月以上でかつ肉眼所見で肝臓に病変が確認されたブタを対象にHEV遺伝子の検索を行ったが, 遺伝子は確認されなかった。しかし, HEVのヒトへの感

表1 HEV遺伝子検出検査対象としたブタの所見

検体番号	性別	肝臓所見	検体番号	性別	肝臓所見
1	去勢	退色肝	16	去勢	間質性肝炎(寄生性)
2	去勢	退色肝	17	雌	間質性肝炎(寄生性)
3	雌	包膜炎	18	雌	間質性肝炎(寄生性)
4	去勢	間質性肝炎(寄生性)	19	去勢	間質性肝炎(寄生性)
5	去勢	包膜炎	20	雌	包膜炎
6	去勢	間質性肝炎(寄生性)	21	去勢	退色肝
7	雌	間質性肝炎(寄生性)	22	去勢	退色肝
8	去勢	退色肝	23	去勢	間質性肝炎
9	雌	間質性肝炎(寄生性)	24	雌	間質性肝炎
10	去勢	間質性肝炎(寄生性)	25	雌	包膜炎
11	去勢	退色肝	26	雌	間質性肝炎
12	雌	退色肝, 間質性肝炎(寄生性)	27	去勢	間質性肝炎(寄生性)
13	雌	退色肝	28	去勢	包膜炎
14	去勢	退色肝	29	去勢	包膜炎
15	雌	間質性肝炎(寄生性)	30	去勢	間質性肝炎(寄生性)

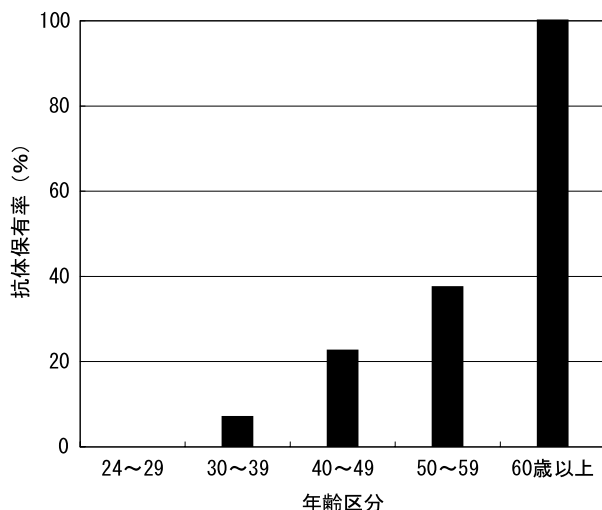


図2 年齢別 HEV IgG 抗体保有率

染経路の一つとして、ブタ～ヒト感染を示唆する報告も多い。HEV 感染を防止する上で、従来から指摘されているようにブタ肉やレバーの十分な加熱処理についての注意を喚起する必要がある。

### 3.2 ヒト血清からの HEV 抗体検出検査

抗体検査対象者の HEV 抗体保有率は、19.4% (抗体陽性者/対象者=18/93) であった。この結果県内にも HEV が侵淫している可能性が強く示唆された。年齢区分別抗体保有率を図 2 に示す。HEV 抗体保有率は 24 歳から 29 歳までの年齢区分が 0% (0/13)、30 歳から 39 歳までが同じく 11.4% (4/35)、40 歳から 49 歳が 24.1% (7/29)、50 歳から 59 歳が 35.7% (5/14)、60 歳以上は 100% (2/2) であった。このように HEV 抗体保有率は年齢とともに高くなる傾向が示された。また、性別の抗体保有率は、男性が 22.2% (抗体陽性者/男性対象者=14/63) であったのに対し女性は 13.3% (抗体陽性者/女性対象者=4/30) と男性に比較し少し低かった。李らがわが国で 900 人の健常者を対象に HEV IgG 抗体調査を ELISA 法で行った結果、地域間に差が認められたが平均 5.4% であった<sup>3)</sup>。一方、Meng らが台湾のブタに接する機会の多い養豚従事者を対象に行った抗体保有調査では、HEV IgG 抗体の保有率は 26.7% であったと報告しており<sup>7)</sup>、本調査の保有率 (19.4%) とほぼ同じ値であった。今回 HEV IgG 抗体保有例を確認したことにより、県内でも HEV が侵淫している可能性が示唆された。このように、家畜や愛玩動物に接触する機会の多い職業従事者の HEV 抗体保有率は既報の一般健常人の保有率と比較すると、明らかに高いことが確認

された。今後 HEV に感染する機会が多いと考えられる職業従事者に対して、何らかの予防策を講ずる必要がある。

## 4 まとめ

県内における HEV の侵淫状況を調査することを目的として、と畜検査で肝臓に病変が認められたブタ 30 頭 (月齢約 6 ヶ月) を対象に RT-PCR 法を用いてウイルス遺伝子の検出を行った結果、HEV 遺伝子は検出されなかった。また、家畜や愛玩動物に接触する機会の多い職業従事者から採血した血清を用いて ELISA 法で HEV IgG 抗体の検出を行った結果、抗体保有率は 19.4% (18/93) であった。抗体保有率は、性別による顕著な差は認められなかったが年齢とともに高くなる傾向が確認された。抗体保有状況調査結果より、過去に HEV 感染があった可能性を示す例が確認され、県内に HEV が侵淫している可能性が強く示唆された。

## 謝 辞

本研究を行うにあたり、検体採取ならびに臨床所見に関する情報を提供していただいた宮城県食肉衛生検査所の佐藤正男所長、宍戸義典技術次長ならびに熊谷光技師に感謝いたします。また、PCR 用の陽性コントロールを分与していただきました国立感染症研究所ウイルス第 2 部の李天成主任研究官、武田直和室長にお礼申し上げます。

## 参 考 文 献

- 1) Khuroo MS, Teli MR, Skidmore S, Sofi MA, Khuroo MI : *Am J Med*, 70(2), 25(1981).
- 2) Tei S, Kitajima K, Takahashi K, Mishiro S : *Lancet*, 362(9381), 371(2003).
- 3) T-C Li, Zhang J, Shinzawa H, Ihibashi M, Sata M, Mast EE, Kim K : *J Med Virol*, 62, 327(2000).
- 4) Yazaki Y, Mizuno H, Takahashi M, Nishizawa T, Sasaki N, Gotanda Y, Okamoto H : *J Gen Virol*, 84(9), 2351(2003).
- 5) 定 孝, 井上 治, 吉野民子, 前田良博 : JAPHV 平成 16 年度報告, 22(2004).
- 6) Meng XJ, Halbur PG, Shapiro MS, Govindarajan S, Bruna JD, Mushahwar IK, Purcell RH, Emerson SU : *J Virol*, 72(12), 9714(1998).
- 7) Meng XJ, Wiseman B, Elvinger F, Guenette DK, Toth TE, Engle RE, Emerson SU, Purcell RH : *J Clin Microbiol*, 37, 3828(1999).