

短報

福岡県に生息する野生動物におけるE型肝炎ウイルスの侵淫状況調査

石橋哲也、中山志幸、江藤良樹、世良暢之、千々和勝己

平成17年、福岡県内の医療機関から届け出られたE型肝炎事例では、E型肝炎ウイルスに汚染されたイノシシ肉を喫食したことが原因であることが確認された。それに伴い、福岡県内における野生動物のE型肝炎ウイルス保有状況を調査するため平成18年度、19年度に福岡県内で捕獲されたイノシシ125頭、シカ18頭についてE型肝炎ウイルス遺伝子を検出するRT-PCR試験を実施した。その結果、イノシシ16頭からE型肝炎ウイルス遺伝子が検出され、遺伝子解析の結果それらの遺伝子型はほとんどGenotype III (G III)型で1例のみG IV型であることが確認された。

[キーワード：E型肝炎、野生動物、PCR]

1 はじめに

E型肝炎ウイルス(HEV)は、主に経口感染することでヒトに急性肝炎を引き起こすRNAウイルスで、従来中国、南アジア、アフリカなどに分布することが知られていたが、近年、我が国も含むその他多くの地域にも分布していることが明らかになってきた。我が国においては、E型肝炎ウイルスの宿主は、野生のイノシシやシカ、およびブタが主だと考えられている。福岡県においても平成17年に海外渡航歴の無いE型肝炎患者の届け出があり、患者血清及び患者が喫食したイノシシ肉から同一のHEV-RNAが確認され、感染源が特定された^{1) 2)}。この結果、県内に生息するイノシシにもHEVを保有している個体が存在していることが強く示唆された。

一方、農産物や林業への野生動物による被害を防ぐ目的で有害鳥獣駆除が積極的に行われ、毎年多くのイノシシやシカが駆除されている。その際、一部の動物は、狩猟者等により喫食されている。

このような現状をふまえ、イノシシの肉等を安全に食するための県民への啓発活動の基礎データを得るため、県内で捕獲されたイノシシおよびシカにおけるE型肝炎ウイルス保有状況調査を行った。

2 方法

2・1 検査材料

検査に用いた検体は、平成18度および19年度に福岡県

猟友会会員により捕獲され、冷凍または冷蔵されたイノシシ、シカの筋肉、肝臓、血液等144検体および田川保健福祉環境事務所を通して搬入されたイノシシの血液、肝臓等63検体であった。検体の内訳は、イノシシ125頭、189検体(肝臓102、血液50、筋肉32、その他5)、シカ18頭、18検体(筋肉5、肝臓7、血液5、その他1)であった。イノシシの採取地域別搬入数は、北九州地域58検体(35頭)、福岡地域60検体(56頭)、筑豊地域63検体(26頭)、筑後地域6検体(6頭)不明2検体(2頭)であった。

2・2 検査方法

検査材料は、PBS(-)で約10%乳剤とした後、遠心分離を行った。血液は遠心分離操作のみを行った。遠心上清から市販キット(QIAamp Viral RNA Mini Kit, QIAGEN)を用いてRNA抽出を行い、次いで逆転写反応を行った。得られたcDNAを元にMizuoらの方法³⁾に従いE型肝炎ウイルスORF2領域をターゲットとして、HE044(5'-CAA GGH TGG CGY TCK GTT GAG AC-3')、HE040(CCC TTR TCC TGC TGA GCR TTC TC-3')(H = A, T, or C; Y = T or C; K = G or T)プライマーペアによる1stPCR、HE110-2(5'-GYT CKG TTG AGA CCT CYG GGG T-3', 5'-GYT CKG TTG AGA CCA CGG GYG T-3', 5'-GYT CKG TTG AGA CCT CTG GTG T-3')、HE041(5'-TTM ACW GTC RGC TCG CCA TTG GC-3')(M = A or C, W = A or T)プライマーペアによる2ndPCRを行っ

た。PCRによる増幅は、1stPCRが94℃ 2分、(94℃ 30秒、55℃ 30秒、72℃ 75秒)35サイクル、72℃ 7分、2ndPCRが94℃ 2分、(94℃ 30秒、55℃ 30秒、72℃ 60秒)35サイクル、72℃ 7分の条件で行い、PCR産物のサイズはそれぞれ506bp、458bpである。その後得られた産物について電気泳動によりバンドの有無を確認した。目標とするサイズのバンドが確認された検体については、陽性と判定し、BigDye Terminator v3.1 (Applied Biosystems)を用いてシーケンス反応を行い、3130xlGenetic Analyzer (Applied Biosystems)により塩基配列を決定した。得られた塩基配列について、レファレンス株のシーケンスを加えてClustal W法による分子系統樹解析を行い遺伝子型を決定した。

なお、検査時の陽性コントロールとして、平成17年の感染事例で搬入されたイノシシ肉乳剤上清を用いた。

3 結果及び考察

イノシシのHEV-RNA保有状況を表1に示した。

表1 地域別陽性イノシシ頭数

	18年度	19年度	合計	陽性率(%)
北九州地域	0/20	1/15	1/35	2.9
福岡地域	6/42	5/14	11/56	19.6
筑豊地域	3/13	0/13	3/26	11.5
筑後地域	0/0	1/6	1/6	16.7
不明	0/2	0/0	0/2	0
合計	9/77	7/48	16/125	12.8

検査を行った189検体(125頭)中18検体(16頭)からE型肝炎ウイルス遺伝子が確認された。これらの検体は全てイノシシであり、シカ検体からはE型肝炎ウイルス遺伝子は検出されなかった。検査を行ったイノシシのE型肝炎ウイルス保有率は12.8%であった。

次にRT-PCR産物について塩基配列を決定し、分子系統樹解析を行った結果を図1に示す。HEV128が遺伝子型GIVであった以外は、今回イノシシから検出されたHEVは全てGIII型であった。今回、E型肝炎ウイルス遺伝子が検出された検体を捕獲地域別にみると、福岡地域が11頭、筑豊地域が3頭、北九州地域が1頭で、これらの遺伝子型は全てGIII型であった。筑後地域で捕獲された1頭から検出された遺伝子型はGIV型であった。このうち福岡地域および北九州地域での陽性例12件(HEV24, 76, 77, 78, 95, 96, 133, 134, 135, 136, 137, 142)では、比較を行った429塩基が、1件(HEV24)で1塩基異なっていたものを除き100%一致していた。また、筑豊地域で捕獲された3頭(HEVT4, T8, T22)から検出された塩基配列は、一致率が97.7%から99.3%であった。E型肝炎ウイルスが検出されたイノシシの捕獲場所を図2に示した。福岡地区では背振山系および糸島半島沿岸部、筑豊地区では福智山南麓、北九州地

区では宗像市隣接地域、筑後地区では熊本県境付近の山

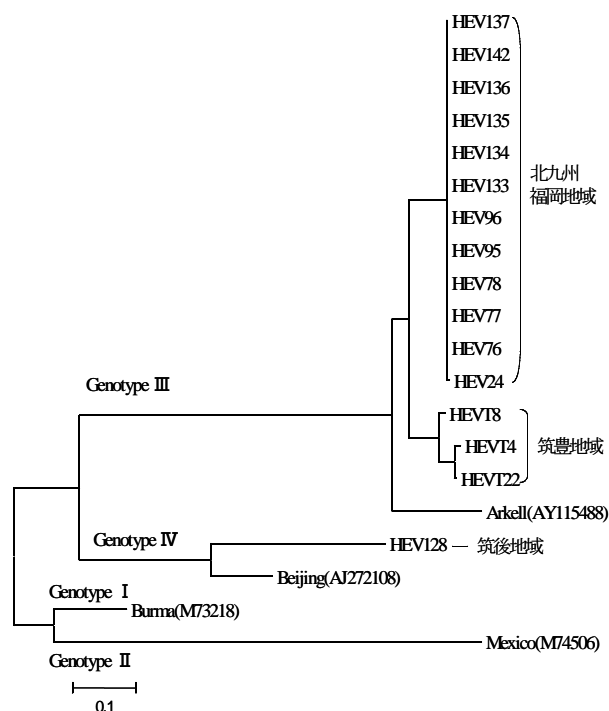


図1 福岡県で検出されたE型肝炎ウイルスの分子系統樹

中であつた。地理的に見ると、これらの地域の山地には連続性がないため、通常山地を行動圏としているイノシシの移動には制限があると考えられる。これらのことより、E型肝炎ウイルスは、県内に生息するイノシシの間

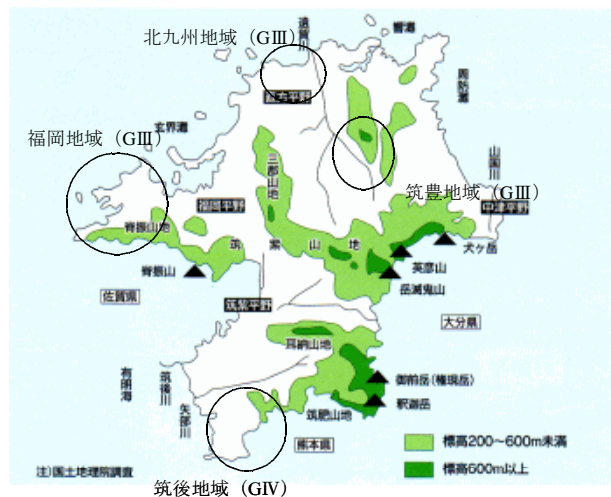


図2 E型肝炎ウイルス保有イノシシの捕獲地域

に複数の経路で侵入し、現在までは侵入した地域内のイノシシの間で継代されている可能性が高い事が推測された。

今回の調査と同様の調査を伊藤らが愛知県と長野県に

おいて行っている⁵⁾。検査を行ったイノシシ91頭、カモシカ19頭、シカ13頭中イノシシ11頭(12.1%)からHEV-RNAを検出しているが、検出された遺伝子型はG4型のみであった。また、和歌山県での調査では、9頭中1頭(11.1%)のイノシシからHEV GIII型が検出されている⁶⁾。これらのイノシシのHEV保有率は、今回の調査結果と同様の数字である。しかし、遺伝子型についてはGIII型が多くを占めた我々の結果とは多少異なっていた。

安部ら報告⁷⁾によると、2006年1月までに報告されたHEV感染者のうちHEV遺伝子型が判明した228件中138件がGIII型、82件がGIV型である。GIII型、GIV型いずれも各地で検出されているが、GIV型の多くは北海道で確認されておりそれ以外の地域ではGIII型が多く確認されている。このことは今回の調査結果と同様の傾向である。また、安部らは、遺伝子型の違いによる病原性の違いについても述べているが、それによるとGIII型よりもGIV型のほうが相対的高病原性を示す傾向があるとしている。今回の調査で福岡県内にもGIV型のHEV-RNAを保有するイノシシが確認されているので、今後、劇症型のE型肝炎患者の発生も危惧される。

4 まとめ

今回の調査結果では、県内に生息するイノシシの約1割がE型肝炎ウイルス遺伝子を保有していることが確認された。また、E型肝炎ウイルス遺伝子は、県内4地域全ての地域で生息するイノシシから検出された。

福岡県内では、県緑化推進課によると平成18年度12607頭(平成17年度9272頭)のイノシシが捕獲されていて増加傾向にある。今後も農業や林業の被害防止目的で捕獲されるイノシシの頭数は、昨年や一昨年とほぼ同様に1万頭前後で推移していくと考えられる。これらのイノ

(英文要旨)

シシ肉等を有効利用していく際には生食は避け、十分な加熱調理を行い食することが重要である。今後、今回得られたデータを元に、猟友会会員をはじめ広く県民に正しい調理のための啓発活動を行っていく必要がある。

謝辞

今回の調査に協力していただいた、保健福祉部生活衛生課、田川保健福祉環境事務所筒井博之氏、井尻潤氏、原口望氏および(社)福岡県猟友会会員の皆様に深謝します。

文献

- 1) Li TC et al. Hepatitis E virus transmission from wild boar meat. *Emerging Infect Dis*, 11, 1258-1260, 2005.
- 2) 江藤ら、病原微生物検出情報、26(10), 265-266, 2005.
- 3) Hitoshi Mizuo, et al. Polyphyletic Strains of Hepatitis E Virus Are Responsible for Sporadic Cases of Acute Hepatitis in Japan, *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*, 40, 3209-3218, 2002.
- 4) 病原体検査マニュアル、急性ウイルス性肝炎、国立感染症研究所・地方衛生研究所全国協議会、p. 44-48
- 5) 伊藤ら、野生動物からのE型肝炎ウイルス(HEV)とHEV抗体の検出および猟師らのHEV抗体保有状況、*肝臓*、47(6), 316-318, 2006.
- 6) 恒光、病原微生物検出情報、26(10), 269-270, 2005
- 7) 安部ら、本邦に於けるE型肝炎ウイルス感染の統計学的・疫学的・ウイルス学的特徴：全国254例に基づく解析、*肝臓*、47(8), 384-391, 2006.

Detection of Hepatitis E virus in wild animals living in Fukuoka Prefecture

Tetsuya ISHIBASHI, Shiko NAKAYAMA, Yoshiki ETOH, Nobuyuki SERA and Katsumi CHUJIWA

*Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences,
Mukaizano 39, Dazaifu, Fukuoka 818-0135, Japan*

In the case of human HEV infection in Fukuoka prefecture in 2005, we confirmed the patient had been infected with HEV by eating wild boar meat contaminated with HEV. Therefore, we investigated the incidence of HEV among wild animals in Fukuoka prefecture. Samples were collected from 125 wild boars and 18 deer that were caught in Fukuoka prefecture and HEV-RNA in the samples was investigated. RT-PCR showed that 16 wild boars had HEV-RNA and the genotypes were G III and G IV.

[Key words; Hepatitis E, Wild animals, PCR]