

リュウキュウイノシシから検出された HEV 遺伝子

中村正治・平良勝也・糸数清正・久高 潤・安里龍二
大野 惇¹⁾・大城哲也²⁾・宮城国太郎²⁾

Detection of Hepatitis E virus Genome from Wild Boars in Okinawa Prefecture

Masaji NAKAMAURA, Katsuya TAIRA, Kiyomasa ITOKAZU,
Jun KUDAKA, Ryuji ASATO, Atsushi OHNO¹⁾, Tetsuya OSHIRO²⁾, Kunitaro MIYAGI²⁾

1) 沖縄県動物愛護センター, 2) 沖縄県中央食肉衛生検査所

Abstract : To determine the prevalence of hepatitis E virus (HEV) of wild animals in Okinawa prefecture, we tested serum samples obtained from 37 wild boars (22 from northern area of Okinawa main island, 15 from Iriomote island) for the presence of HEV RNA by RT-PCR. Two of the 15 (13.3%) wild boars from Iriomote were positive for HEV RNA. Sequence analysis revealed that the 2 wild boars HEV isolates shared 85 to 89% nucleotide sequence identities with the known human and swine strains of genotype HEV. Phylogenetic tree constructed based on the ORF2 sequence of 412 nucleotides confirmed that the 2 wild boars HEV isolates belonged to genotype HEV. The findings suggest that HEV has already made inroads in Okinawa prefecture.

Key words : Hepatitis E Virus, Wild Boar, Genotype HEV, Okinawa prefecture

はじめに

E型肝炎はHEV (hepatitis E virus) の経口感染によって起こる急性肝炎で、アジア、アフリカなどの途上国では、水系感染による大流行が報告されている¹⁾。一方、わが国を含む先進国では、主に流行地域への旅行後に発症する輸入感染例と一部に感染経路が不明な国内感染例があり、従来から豚由来HEVとの関連が指摘されていた。2003年になって、わが国においてイノシシ肉の生食による感染、死亡例が発生し²⁾、また、シカ肉の生食後に発症した事例において患者と残存したシカ肉から同一配列のHEV遺伝子が検出されたことから、E型肝炎が人獣共通感染症である可能性が強く示唆されている³⁾。

本県においても家畜、野生動物のHEV保有状況およびヒトとの関連性を調査することは、感染防御対策上重要であると思われることから、今回リュウキュウイノシシ血清からのHEV検出を試みたので報告する。

材料および方法

1998～99年に本島北部地域、2000年に西表島で有害鳥獣駆除または狩猟により捕獲されたリュウキュウイノ

シシ (*Sus scrofa riukiuanus*) の血清37検体を使用した。RNA抽出キット (QIAamp Viral RNA Mini Kit : キアゲン) を使用してウイルスRNAを抽出後、Mizuoらの報告⁴⁾ しているプライマーを用いてHEVのOPF (open reading frame) 2領域 (458bp) を標的としてRT (reverse transcription) - PCRを実施した。PCR陽性検体は、ダイレクトシーケンス法 (BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit : Applied Biosystems) により塩基配列 (412bp) を決定し、DDBJ (DNA Data Bank of Japan) 登録株との相同性を比較した。またClustalWによる遺伝子解析後、Tree viewを使用して分子系統樹を作成した。

結果および考察

検査結果をTable 1, に示した。西表島産イノシシ血清15検体中2検体 (13.3%) からHEV遺伝子が検出され (wbOK126, wbOK128), 本県のイノシシもHEVを保有していることが初めて確認された。2株の相同性は、96.4%で、登録株 (DDBJ) との比較で最も近縁であったのは、中国ヒト由来のT1株 (Genotype HEV) で、塩基レベルでwbOK126と88.6%, wbOK128と89.1%の相同

性であった。日本のヒトおよび豚由来株 (Genotype) とは、85.0 ~ 87.9%の相同性であった (Table 2)。HEV - ORF2領域 (412bp) の系統樹解析では2株はGenotype に分類された (Fig. 1)。

これらの株がヒトへの感染性を有しているかどうかは不明であるが、今後、同地域の急性肝炎患者におけるHEV 検索を実施することにより、その関連性を明らかにすることが可能であると思われる。HEV は動物肉の生食により感染する可能性があり、特に妊婦では劇症化し死亡する確率も高いとの報告⁵⁾もあることから、イノシシ肉を生食する習慣のある地域においては、十分な注意が必要である。

今回の調査において、本島北部地域産イノシシからHEV は検出されなかったが、血清の保存方法や検査数の問題もあることから、今後新たな調査が必要である。また、本県に棲息する野ネズミは高率にHEV 抗体を保有しているとの報告⁶⁾もあることから、野生動物をはじめ家畜やヒトにおけるHEV 保有状況を調査することは、感染防止対策を確立していく上で重要であると思われる。

参考文献

- 1) 国立感染症研究所・厚生労働省保健医療結核感染症課 (2002) E型肝炎.病原微生物検出情報月報;23 (11) :275-276
- 2) Matsuda H., et al (2003) Severe hepatitis E virus infection after ingestion of uncooked liver from a wild boar. J Infect Dis, 186 (6) :944
- 3) Tei S., et al (2003) Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings. Lancet, 362 (9381) :371-373
- 4) Mizuo H., et al (2002) Polyphyletic strains of hepatitis E virus are responsible for sporadic cases of acute hepatitis in Japan. J. Clin. Microbiol, 40 (9) :3209-3218
- 5) Khuroo M.S., et al (1981) Incidence and severity of viral hepatitis in pregnancy. Am J Med, 70:252-255
- 6) Hirano M., et al (2003) Evidence for widespread infection of hepatitis E virus among wild rats in Japan. Hepatol Res, 27 (1) :1-5

Table 1. Prevalence of HEV RNA in the serum of wild boars in Okinawa prefecture

Location	Year of sample collection	No. of samples	No. of HEV RNA positive	Positive rate (%)
Northern area of Okinawa main island	1998 ~ 1999	22	0	0
Iriomote island	2000	15	2	13.3

Table 2. Comparison of the 412-nucleotide sequences of the ORF2 gene of 2 wild boars HEV isolates identified in this study with the known human and swine HEV isolates

Geno type	Known isolates (No. of isolates)	Isoletes from wild boars in Iriomote island	
		wbOK126	wbOK128
	T1/China/human	88.6	89.1
	JPN/human(7)	85.0 ~ 87.4	85.4 ~ 87.9
	swine(3)	85.4 ~ 86.4	86.7 ~ 87.4
	human(5)	77.9 ~ 79.1	77.7 ~ 78.6
	human(1)	76.5	76.9
	human・swine(5)	78.9 ~ 82.3	78.9 ~ 82.5

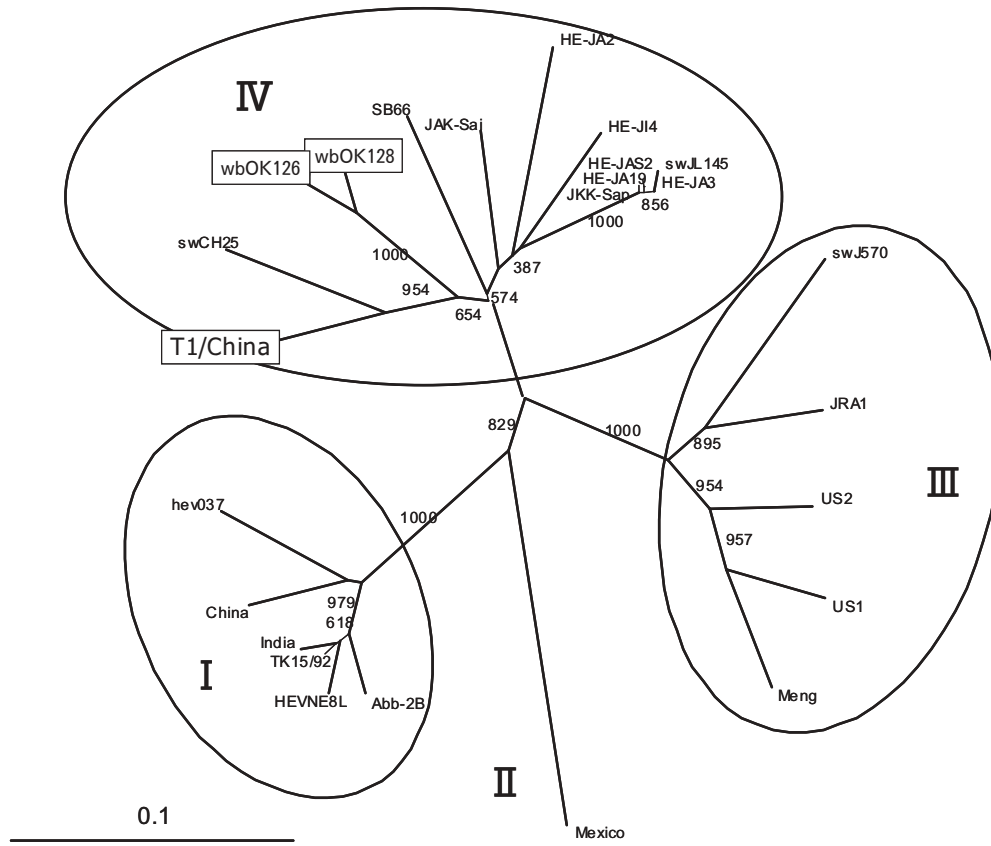


Fig.1 Phylogenetic tree based on the nucleotide sequences of a 412bp within the ORF2 gene of HEV (neighbour-joining method)