

Wu, J.-C., Chen, C.-M., Chiang, T.-Y., Tsai, W.-H., Jeng, W.-J., Sheen, I.-J., Kin, C.-C. & Meng, X.-J. (2002). Spread of hepatitis E virus among different-aged pigs: two-year survey in Taiwan. *J Med Virol* **66**, 488–492.

Yazaki, Y., Mizuo, H., Takahashi, M., Nishizawa, T., Sasaki, N., Gotanda, Y. & Okamoto, H. (2003). Sporadic acute or fulminant hepatitis E in Hokkaido, Japan, may be food-borne, as suggested by the presence of hepatitis E virus in pig liver as food. *J Gen Virol* **84**, 2351–2357.

特集II 本邦におけるE型肝炎の実態

動物に感染している E型肝炎ウイルス*

池田 秀利**

Key Words : hepatitis E virus, pigs, chickens, animals

はじめに

E型肝炎の非流行地である日本では、急性E型肝炎の発生は散発的である。日本人がE型肝炎ウイルス(HEV)に感染する機会は少なくとも3通り明らかにされている。すなわち、①外国のE型肝炎流行地域旅行中の感染、②豚肉、鹿肉、猪肉など生肉の摂食を介した感染、③輸血を介した感染、である。そのうち動物が直接関与するのは②の動物肉を介した感染であり、これが直接の原因と考えられる症例は世界全体では少ないが、日本からの報告が飛びぬけて多いのが注目される。日本をはじめ世界のE型肝炎非流行地(欧米のほとんどの国)の一般的傾向として、急性E型肝炎患者が少ないにもかかわらず、抗HEV抗体保有率は以外に高く、不顕性感染が多いと考えられている。一方、動物、とくに養豚、での抗体保有率は非常に高く、HEVまたはHEV様ウイルスが蔓延していることは明らかである。しかし、養豚ではいまだHEV感染と関連づけられる疾患は認められず、獣医領域では今までこのウイルスの存在に気づけなかった、というのが実情である。

動物E型肝炎ウイルス発見の経緯

HEVの存在は1983年に明らかにされた¹⁾。HEV

は今でも細胞培養系で増殖させることが困難で、感染性ウイルスを使った古典的ウイルス学が発達していない。しかし、1990年にHEVゲノムがクローニングされたのをきっかけに、組換えウイルス蛋白が作製され、抗HEV抗体の検出系が確立された。それによっていろいろな動物からも抗HEV抗体が検出され、動物にもHEVあるいは類似のウイルスが存在するのではないかと疑われはじめた。そして、1997年ブタから最初の動物HEVが発見された²⁾。

今までに抗HEV抗体が検出された動物種を表1に示した。この中で、実際にHEV遺伝子が検出された動物種は、養豚、イノシシ、シカ、ドブネズミ、ニワトリである。ニワトリで見つかったウイルスはavian HEV(aHEV)と呼ばれ、それ以外の哺乳類で見つかった1~4型HEVとは同じHepeviridae科に属すが明らかに別群に分類される(図1)。しかも、Hepeviridae科は多様ないくつかのグループが存在するにもかかわらず、すべて抗原性が交叉することから、抗体が検出されている動物種が、既知のHEVに感染しているのか、または未知の近縁ウイルスに感染しているのかは今のところ分からない。

Avian HEVはオーストラリアで1980年に発見されたBig liver and spleen disease、カナダ・米国で1991年に発見されたhepatitis-splenomegaly症候群(Big liver and spleen diseaseと類似疾患と思われる)のニワトリからヒト・ブタHEV様遺伝

* Hepatitis E virus carried by animals.

** Hidetoshi IKEDA, Ph.D.: 独立行政法人農業・生物系特定産業技術研究機構動物衛生研究所(〒305-0856 つくば市観音台3-1-5); National Institute of Animal Health, Tsukuba 305-0856, JAPAN

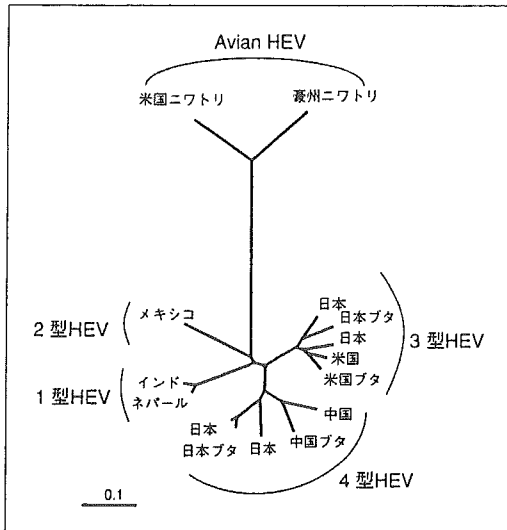


図1 Hepeviridae科ウイルスの分子系統樹。ORF1 526塩基を基にNJ法で解析した無根系統樹。ウイルス遺伝子は検出された国名と動物種名を記載し、動物名の記載のないものはヒトから検出された遺伝子である。

子が検出された。本稿ではまとめてaHEVとする。米国で野外調査が行われ、抗aHEV抗体陽性養鶏場は73% (54/76)、抗体陽性鶏は農場によって差があるが15~100%と高い[Huang, 2002]。野外のaHEVの核酸配列を調べると、ヒト-ブタHEVと同様に多様性をもったaHEV群が存在することが分かってきた³⁾⁴⁾。ヒト-ブタHEVとは核酸配列で約30~50% (一致率: ORF1で48~51%, ORF2で46~48%, ORF3で29~34%), アミノ酸配列で約23~54% (一致率: ORF1で54%, ORF2で49%, ORF3で23%)の一致率しかないが、血清学的には交叉反応する。aHEVは七面鳥にも感染し、動物種を越えた感染性を示すが[Sun, 2004], 類人猿(アカゲザル)への感染は成立せず、ヒトへの感染の可能性はきわめて少ないと考えられる³⁾。ウイルスは増えるものの宿主に病変を起こさないブタHEVとは異なり、類人猿以外で実験可能なヒト急性肝炎の貴重な実験モデルとして期待される。

日本ではaHEVやhepatitis-splenomegaly症候群がどの程度あるのかまだ分かっていない。少なくともニワトリで流行性肝炎が集団発生しているという認識はないようである。日本の養鶏は

表1 抗HEV抗体が検出された動物種と検出されたHEV遺伝子型

抗HEV抗体が検出された動物種	検出されたHEV遺伝子型
ヒト	1, 2, 3, 4
ブタ(養豚)	3, 4
イノシシ	3, 4
シカ	3
ドブネズミ	1
ウシ	—
ネコ	—
サル	—
ニワトリ	avian HEV

欧米由来の系統が多く、多数の感染性疾患を共有しているため、aHEVがすでに日本に存在しているとしても不思議ではない。

動物種と遺伝子型と地理的分布

哺乳類から検出されたHEVは4つの遺伝子型があり、感染動物や地域分布が異なる。ヒトでは、1, 2型HEVはE型肝炎流行地(1型は東南アジアから中近東、アフリカ各国、2型はメキシコ)に常在し大流行、散発的流行の原因となっている。3, 4型は非流行地域の散発的E型肝炎発生の原因となる。一方、ブタからは、1, 2型は分離されず、3, 4型だけが分離されている(表1)。各国の養豚から分離された遺伝子型をみると、3, 4型はさらに地域分布があるように思われる(図2)。3型はヨーロッパ、北米、アジアの一部(タイ、台湾、韓国、日本)のブタから分離され、4型はインド、インドネシア、中国、台湾、日本で分離されているが、欧米からの分離例は今のところない。東アジアでは3型と4型の両方が分離されているが、4型の方がインド、インドネシア、中国と広い地域から検出されているように思われる。一方、日本国内では混在しているが、3型をもつ農場が多数を占めているようである⁵⁾。台湾の研究者が興味深いことを述べている。台湾のブタでは、もともとほとんどが4型であったが、1997~1998年、台湾のブタに口蹄疫が大流行したため大量に殺処分され、その後補給のため欧米から輸入された養豚系統から3型HEVが分離されるようになったという⁶⁾。日本の養豚にいつどのようにして、3, 4型HEV浸潤したかは

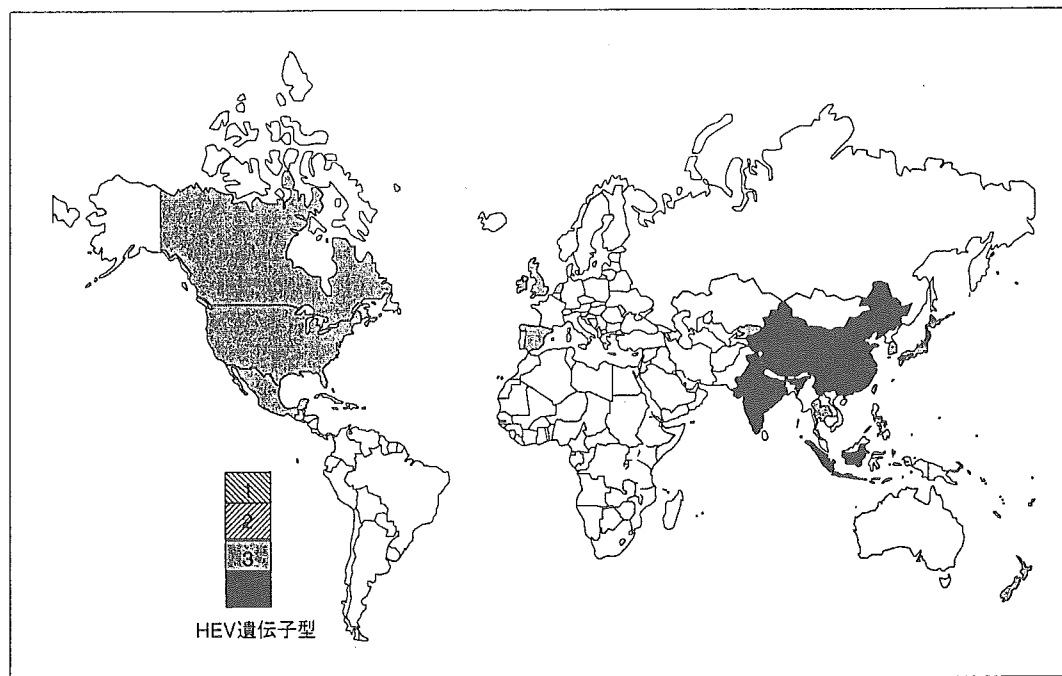


図2 養豚から検出されたHEV遺伝子型の地域分布
 各国で調べられたのは限られた地域の少数の個体であるが、便宜上国全体を着色した。日本と台湾は3型と4型がともに検出されているので斑模様にしてある。1型と2型はブタから検出されていない。

表2 各国のヒトとブタから検出されたHEV遺伝子型

流行地域	国	HEV遺伝子型		ブタに関する文献
		ヒト	ブタ	
流行地域	中国	1, 4	4	[Wang, 2002]
	インド	1	4	[Arankalle, 2002] [Arankalle, 2003]
	メキシコ	2	3	[Cooper, 2005]
非流行地域*	日本	3, 4	3, 4	[Takahashi, 2003]
	台湾	3, 4	3, 4	[Hsieh, 1999] [Wu, 2002]
	タイ	(1) (3)	3	[Cooper, 2005]
	スペイン	3	3	[Pina, 2000]
	英国	3	3	[Banks, 2004]
	米国	3	3	[Meng, 1997]

*非流行地域のヒトでは、流行地域を施行中に感染したと思われる。いわゆる輸入感染症例を除いた。

不明であるが、歴史的に台湾のような状況を経てきたのかも知れない。100年前まではほとんど豚肉を食べなかった日本人が大正、昭和期に急速に食生活を変化させ、日本は生産性の高い欧米養豚品種を輸入して欧米型畜産を推進してきた。その過程で、もともと在来動物(イノシシなど)は4型をもっていたが、輸入された欧米品種とともに3型HEVが浸潤し広まった、との推理

も可能ではなかろうか。

各国のヒトとブタのHEV遺伝子型の違いを表にした(表2)。ブタが3型ないし4型に感染しているのは全世界共通している。非流行国では、流行地域からの輸入感染症例を除くと、ヒトはおおむねブタと同じ遺伝子型であり、各国内のヒトとブタのHEV遺伝子の近縁度は他国のそれより高いことは多くのデータに支持され、3型と

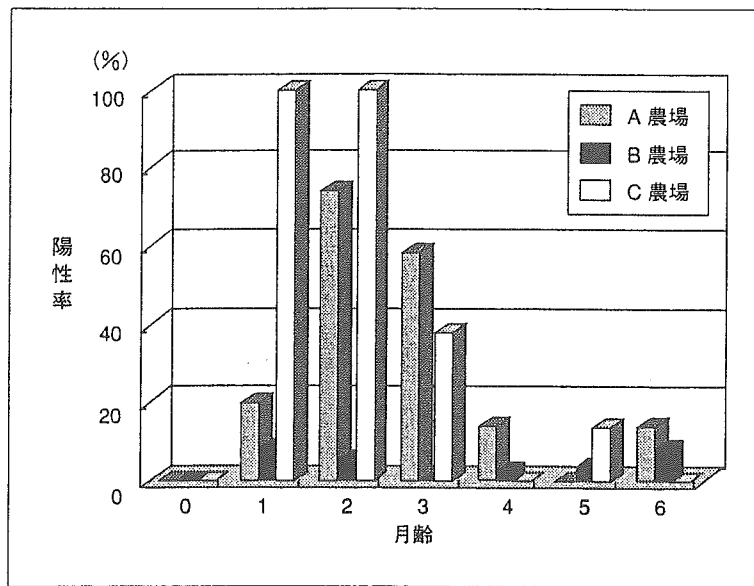


図3 3養豚農場におけるHEV糞便排泄率

4型は人獣共通感染症であることを示す傍証の一つになっている。一方、流行地域では動物に感染性がないと考えられる1,2型が流行し、ブタHEV型より優勢になっている。したがって、流行地と非流行地の違いは単に衛生状態の善し悪しだけではなく、常在するHEV型の問題でもあろう⁷⁾。

動物への実験感染では、1型HEVはアフリカミドリザル、チンパンジー、カニクイザル、ヨザル、アカゲザル、タマリン、ラットへの感染が成功している。初期の研究でブタとヒツジにヒト由来HEV(1型)が感染したと報告されたが、他の研究者は追試できなかった⁸⁾。したがって、1型HEVは人獣共通感染症とは一般的に認められていない。3型HEVは、ヒト由来でもブタ由来でも種の壁を越えてサルとブタに感染することが示されている⁹⁾。サルには肝炎を発症させるが、ブタには臨床的変化は起こさない⁹⁾。

養豚へのHEV浸潤状況

各国からブタの抗体保有率の報告がある。抗体陰性農場はあるが、陰性国はない。保有率の違いはあるが、アッセイ法や調査したブタの月齢の違い⁵⁾が大きいのと思われる。ブタの抗体保有率とヒトE型肝炎の流行、非流行国との関係は

薄い。

2003年自治医科大学高橋らは、日本全国の25養豚場、各養豚場100頭計2,500頭を対象にした詳細な調査を報告している⁵⁾。それによると①すべての養豚場で抗体が検出される、②血中抗体陽性率は2~4か月齢で上昇し始め、6か月齢で80~100%に達する、③血中HEV遺伝子検出率は、3~4か月齢がピークで平均13~15%である、④HEV3型と4型が検出される、⑤同一農場内のHEV遺伝子は似ている、⑥日本人から分離されたHEVに非常に近いものも分離される、などの特徴を明らかにしている。これまで報告された外国での養豚の抗体保有調査は高橋らの報告に比べ断片的であるが、抗体保有率やウイルスの遺伝子型など多少の違いはあるにせよ、共通点が多いと考えられる。恐らくこの報告は世界の養豚場の典型を示していると考えてもよいであろう。

図3はわれわれが行った調査の結果で、3養豚農場の養豚糞便中(各月齢6~44頭)のHEVゲノム検出頻度である。A, C養豚場は全体的に似た排泄パターンを示し、1~3か月齢にもっともHEV排泄頻度が高く、ピークはA養豚場で2か月齢豚[75%(15/20)]であり、C養豚場では1,2か月齢で全頭(16/16, 20/20)が陽性であった。それに対し、B農場は6か月齢を通して低い排泄率で

明らかな排泄ピークが分からなかった。3 養豚場とも食肉処理される 6 か月齢になっても、少数のブタ[3 農場合わせて 8% (3/36頭)]からウイルスが検出されたのが注目される。

3 養豚場の状況からみて、HEVの糞便排泄パターンは農場間で少し違っているようである。調査した養豚場は 7~17km離れていて、お互い交流はないが、検出されたHEV遺伝子の核酸配列を調べると、3 農場は 2 種の 3 型HEVを共有していた。したがって、排泄パターンの違いはウイルス株の違いというよりは、環境、宿主などウイルス以外の要因を考えた方がよいかも知れない。

養豚場でのHEV感染環

HEVは経口感染で水平伝播すると考えられる。養豚場ではHEVはどのような感染環で保持されるのであろうか。われわれが10頭が同居する豚房を経過観察していた際、全頭が一斉に同じHEVを糞便中に排泄することがあった。いつ感染したのかは分からないが、豚房内の水平感染は容易に急速に起こっている例と思われる。実験的にも感染豚と非感染豚を単純に同居しただけで比較的容易に感染(同居感染)が成立するといわれる。

日本の養豚場の多くはHEVが常在している。養豚場内では突発的な流行によって、感染個体と非感染個体が分かれているパターンではなく、ほとんどの個体が増齢とともにまれなく感染していくパターンである。今までの調査報告をみると、抗体価の上昇やウイルス血症・ウイルス糞便排泄については、月齢変化に農場を越えた一般的傾向があるように思える。

生後 0~2 か月は抗HEV抗体が低いままかたくなという状況は、世界で共通している。抗体が陽転する時期は農場によって多少差があるが、自治医大の報告では 2~4 か月に集中している⁹⁾。ウイルス血症の時期は、同報告で 3~4 か月であり⁹⁾、ウイルス糞便排泄もわれわれのデータでは 1~3 か月が多い。自然感染においてHEV感染から抗体上昇、ウイルス排泄までの期間は確かではないが、多くの養豚場では生後 1~3 か月齢が初感染の時期と一応推察している。

この時期に初感染する理由は、可能性として、

a) 移行抗体の消失, b) 豚の感受性, c) 感染しやすい環境変化(同居, 餌, 飼育者), が考えられる。ブタにとって移行抗体は重要である。多くの子豚の感染症は移行抗体の消失する 1~2 月齢頃から起こる。養豚場ではその対策として、この時期にいろいろなワクチンを接種して衛生管理している。HEVに対するブタの感受性が月齢で異なるという報告はないが、ヒトでは抗体保有率や肝炎の重篤度が高齢になるほど高いという年齢依存現象も思い出される。養豚を取り巻く環境は成長過程でいろいろ変化するので、養豚場でのブタの育成方法について若干触れてみたい。

養豚は家畜であり、養豚場では消費者のニーズに合わせて安価でしかも質の高い畜産物を生産するために、いろいろな飼育管理がなされている。日本の養豚場は規模や設備がさまざまで、飼育方法も衛生管理も違っているが、近年のごく一般的な養豚場を例にすると、まず、繁殖母豚は自然交配や人工授精で種付けされ、分娩間際になって 1 頭ずつが独立した柵に入れられる。この柵は、出産後、多数の子豚が授乳できるように、また子豚を踏みつぶさないような仕組みになっている。一腹の子豚は約 3~4 週間授乳のために母豚だけと同居し、他の子豚と接触することはない。約 1 か月の哺乳期間を過ぎると、何十頭もの兄弟以外の子豚と同じ豚房に同居して飼育される。その後、約 6 か月齢で食肉処理されるまで、2~3 回豚房を移されつつ飼育される。豚房を変えるのは、子豚の成長に伴い同じ豚房では手狭になり、1 豚房当たりの頭数を減らし、個体の再組み合わせを行うためである。このように生後 1~3 か月齢は、離乳し、異なる豚房集団と同居し始め、移行抗体の減少する時期にあたる。この時期はいろいろな他の感染症にも罹患しやすい時期である。

子豚の感染源として、a) 母豚, b) 新しい同居豚パートナー, c) 飼育者, d) 空気, 水, などあらゆる可能性がある。

ブタへの実験感染

ヒトで大流行する E 型肝炎と同様に、養豚場でも糞便-経口感染で伝播しているのだろうと考

えられる。しかし、実験的に経口感染が十分裏づけられたわけではない。今まで、静脈注射での感染は比較的容易なのに、経口感染は不成功だったが、最近実験経口感染が一部成功した⁹⁾。この論文で、経口感染は静脈注射に比べて、感染成立に必要なウイルスゲノム量は10⁴程度多く必要ではないかと推測している。

妊娠豚への感染実験が行われた¹⁰⁾。これはヒトでは一般人のE型肝炎死亡率が約1%なのに対し、妊婦が感染すると20%程度に増加することを受けて調べられたが、ブタ胎児感染の兆候はなく、発育になんら影響はみられなかった。アカゲザルを使った実験でも、HEVを接種した妊娠期のサルは非妊娠ザルと同様に感染し軽微な肝炎変化がみられたが、重篤な肝炎には至らず、胎児に感染することもなかった、という報告[Tsarev, 1995]と似ている。

おわりに

抗HEV抗体保有率は非流行国でも一般人で数%あるが、養豚従事者、動物接触者がそれより有意の高いという報告が、台湾、米国、モルドバ共和国から出されている。一般人も含めて感染源の特定は今後の課題である。

謝辞：本稿を校閲していただいた動物衛生研究所 恒光 裕氏に深謝致します。

文 献

- 1) Balayan MS, Andjaparidze AG, Savinskaya SS, et al. Evidence for a virus in non-A, non-B hepatitis transmitted via the fecal-oral route. *Intervirology* 1983 ; 20 : 23-31.
- 2) Meng XJ, Purcell RH, Halbur PG, et al. A novel virus

in swine is closely related to the human hepatitis E virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997 ; 94 : 9860-5.

- 3) Huang FF, Sun ZF, Emerson SU, et al. Determination and analysis of the complete genomic sequence of avian hepatitis E virus (avian HEV) and attempts to infect rhesus monkeys with avian HEV. *J Gen Virol* 2004 ; 85 : 1609-18.
- 4) Sun ZF, Larsen CT, Dunlop A, et al. Genetic identification of avian hepatitis E virus (HEV) from healthy chicken flocks and characterization of the capsid gene of 14 avian HEV isolates from chickens with hepatitis-splenomegaly syndrome in different geographical regions of the United States. *J Gen Virol* 2004 ; 85 : 693-700.
- 5) Takahashi M, Nishizawa T, Miyajima H, et al. Swine hepatitis E virus strains in Japan form four phylogenetic clusters comparable with those of Japanese isolates of human hepatitis E virus. *J Gen Virol* 2003 ; 84 : 851-62.
- 6) Wu JC, Chen CM, Chiang TY, et al. Spread of hepatitis E virus among different-aged pigs : two-year survey in Taiwan. *J Med Virol* 2002 ; 66 : 488-92.
- 7) Emerson SU, Purcell RH. Hepatitis E virus. *Rev Med Virol* 2003 ; 13 : 145-54.
- 8) Meng XJ, Halbur PG, Shapiro MS, et al. Genetic and experimental evidence for cross-species infection by swine hepatitis E virus. *J Virol* 1998 ; 72 : 9714-21.
- 9) Kasorndorkbua C, Guenette DK, Huang FF, et al. Routes of transmission of Swine hepatitis e virus in pigs. *J Clin Microbiol* 2004 ; 42 : 5047-52.
- 10) Kasorndorkbua C, Thacker BJ, Halbur PG, et al. Experimental infection of pregnant gilts with swine hepatitis E virus. *Can J Vet Res* 2003 ; 67 : 303-6.

* * *

Serological Markers of Hepatitis B, C, and E Viruses and Human Immunodeficiency Virus Type-1 Infections in Pregnant Women in Bali, Indonesia

I Gede Putu Surya,¹ Karkata Kornia,¹ Tjok Gde Agung Suwardewa,¹ Mulyanto,² Fumio Tsuda,³ and Shunji Mishiro^{3*}

¹Department of Obstetrics and Gynecology, Udayana University, Bali, Indonesia

²Department of Immunology, Mataram University, Lombok, Indonesia

³Department of Medical Sciences, Toshiba General Hospital, Tokyo, Japan

Except for hepatitis B virus (HBV), there have been few data on serological markers of hepatitis viruses such as hepatitis C virus (HCV) and E virus (HEV), and human immunodeficiency virus type-1 (HIV) in Bali, Indonesia. During 5 months from April to August 2003, sera were collected from 2,450 pregnant women at eight jurisdictions in Bali, and they were tested for markers of these viruses. Only one (0.04%) was positive for antibody to HCV, but none for antibody to HIV. Hepatitis B surface antigen (HBsAg) was detected in 46 (1.9%) at a prevalence significantly lower than that in 271 of the 10,526 (2.6%) pregnant women in Bali surveyed 10 years previously ($P < 0.045$). The prevalence of hepatitis B e antigen in pregnant women with HBsAg decreased, also, from 50% to 28% during the 10 years ($P < 0.011$). Antibody to HEV (anti-HEV) was examined in 819 pregnant women who had been randomly selected from the 2,450. The overall prevalence of anti-HEV was 18%, and there were substantial regional differences spanning from 5% at Tabanan district to 32% at Gianyar district. Furthermore, the prevalence of anti-HEV differed substantially by their religions. In the Sanglah area of Denpasar City, for instance, anti-HEV was detected in 20 of the 102 (20%) Hindus, significantly more frequently than in only 2 of the 101 (2.0%) Muslims ($P < 0.001$). Swine that are prohibited to Muslims, therefore, is likely to serve as a reservoir of HEV in Bali. In conclusion, HBV is decreasing, HCV and HIV have not prevailed, as yet, while HEV is endemic probably through zoonotic infection in Bali. *J. Med. Virol.* 75:499–503, 2005. © 2005 Wiley-Liss, Inc.

KEY WORDS: Bali; hepatitis B e antigen; hepatitis B virus; hepatitis C virus; hepatitis E virus; human

immunodeficiency virus type-1; pregnancy; zoonosis

INTRODUCTION

Bali is an island in Southeast Asia, between the Bali sea and the Indian Ocean, and has approximately 3 million inhabitants. The prevalence of infection with hepatitis C virus (HCV) has not been examined, as yet, although there are a few reports on serological markers of hepatitis B virus (HBV) and hepatitis E virus (HEV) in Bali [Brown et al., 1985; Wibawa et al., 2004]. Nor is it known whether the population in Bali is affected by human immunodeficiency virus type-1 (HIV), except in commercial sex workers [Ford et al., 2000].

Since 1993, pregnant women in Bali have been tested for hepatitis B surface antigen (HBsAg) in serum, and those positive for HBsAg were examined further for hepatitis B e antigen (HBeAg). Babies born to pregnant women carrying HBsAg along with HBeAg have received the passive and active immunoprophylaxis with hepatitis B immune globulin and vaccine [Tada et al., 1982]; it is found highly efficacious in preventing the persistent HBV carrier state in high-risk babies in Japan [Noto et al., 2003].

Grant sponsor: Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan; Grant sponsor: The United States–Japan Cooperative Medical Science Program (USJCMSP); Grant sponsor: Toshiba International Foundation (TIFO).

*Correspondence to: Shunji Mishiro, MD, Department of Medical Sciences, Toshiba General Hospital, 6-3-22 Higashi Oh-i, Shinagawa-ku, Tokyo 140-8522, Japan.

E-mail: shunji.mishiro@po.toshiba.co.jp

Accepted 15 November 2004

DOI 10.1002/jmv.20314

Published online in Wiley InterScience
(www.interscience.wiley.com)

Taking advantage of routine screening for HBsAg of pregnant women in Bali, sera were tested for serological markers of HBV, HCV, HEV, and HIV. The results highlighted decreasing HBV infection, rare infection with HCV and HIV, and a high exposure to HEV that depends on habits and religions of the Balinese.

MATERIALS AND METHODS

Pregnant Women in Bali

During 5 months from April to August 2003, sera were obtained from 2,450 pregnant women, at major hospitals in the eight jurisdictions of Bali (Fig. 1), on routine surveys for HBsAg for preventing the perinatal transmission of HBV. Their mean age was 27 ± 5 (SD) years (range: 16–45 years). The sera were tested for HBsAg, antibody to HCV (anti-HCV) and antibody to HEV (anti-HEV), as well as antibody to HIV (anti-HIV). HBeAg was examined only in sera positive for HBsAg. Sera from all pregnant women were tested for serological markers of these viruses, except for anti-HEV which was examined in approximately 100 each randomly selected in the eight jurisdictions. Anti-HEV was tested in an additional 90 sera from Muslim pregnant women living in the Sanglah area of Denpasar City, in an attempt to find any differences in the prevalence between Hindus and Muslims. The design of the serological survey was in accord with the 1975 Declaration of Helsinki, and approved by Ethics Committee of institutions. Every pregnant woman gave an informed consent.

Serological Tests for Markers of HBV, HCV, HEV, and HIV

HBsAg was tested by hemmagglutination and immunochromatography (Entebe HBsAg RPHA and Entebe HBsAg Strip, respectively: Hepatika Laboratory, Mataram, Indonesia) and HBeAg by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (HBeAg ELISA: Institute of Immunology, Tokyo, Japan). Anti-HCV was determined by the dipstick method (Entebe Anti-HCV Dipstick: Hepatika Laboratory). Anti-HEV of IgG class was determined by ELISA with use of a recombinant HEV capsid protein of genotype IV by the method of Mizuo

et al. [2002], and anti-HIV by immunochromatography (Entebe Anti-HIV Strip: Hepatika Laboratory).

HEV RNA was determined by the polymerase chain reaction with primers deduced from the nucleotide sequences in the open reading frame 2 that are preserved irrespective of genotypes [Mizuo et al., 2002].

Statistical Analyses

Categorical variables were compared between groups by the Chi-square test, and continuous variables by the Welch's *t*-test. Differences with a *P* value < 0.05 were considered significant.

RESULTS

HBsAg in Pregnant Women in Bali

Frequencies of HBsAg, anti-HCV, anti-HEV, and anti-HIV in the eight jurisdictions in Bali are listed in Table I. Overall, HBsAg was detected in 46 of the 2,450 (1.9%) pregnant women during 5 months from April to August 2003. This prevalence of HBsAg was significantly lower than that in 271 of the 10,526 pregnant women in Bali surveyed 10 years before in 1993 (1.9% vs. 2.6%, $P < 0.045$).

The prevalence of HBsAg in Negara in the west (Fig. 1) was by far the highest at 4.5% (6/132), in remarkable contrast to 0.6% (1/161) in Tabanan and 0.8% (1/133) in Singaraja. Differences fell short of being significant, however, due to low numbers of pregnant women examined.

Figure 2 illustrates age-specific frequencies of HBsAg and HBeAg. The prevalence of HBsAg stayed constant in a range from 1.6% to 2.5%, while HBeAg decreased with age; it was most frequent in pregnant women aged younger than 25 years (53% [8/15]). Of 46 pregnant women who carried HBsAg, the 13 with HBeAg in serum were significantly younger than the 33 without HBeAg (24 ± 4 vs. 29 ± 6 years, $P < 0.0190$).

Anti-HCV and Anti-HIV in Pregnant Women in Bali

Infection with HCV or HIV was very infrequent in pregnant women in Bali. Anti-HCV was detected in a single pregnant woman in Denpasar, while anti-HIV was not in any. Thus, the prevalence of anti-HCV was 0.04% and that of anti-HIV less than 0.04%.

Anti-HEV in Pregnant Women in Bali

Anti-HEV was examined in all the 41 pregnant women from Karangasem, and 86–196 randomly selected among those from the other districts. Anti-HEV was detected in 151 of these 819 (18%) pregnant women, producing an overall prevalence of 18%. The mean absorbancy in ELISA on the 151 sera positive for anti-HEV was low at 0.79 ± 0.61 . HEV RNA was not detected in any of the 20 sera with a high absorbancy (> 1.50).

There were marked regional differences in the prevalence of anti-HEV. It was low in Tabanan (4.7% [4/86])

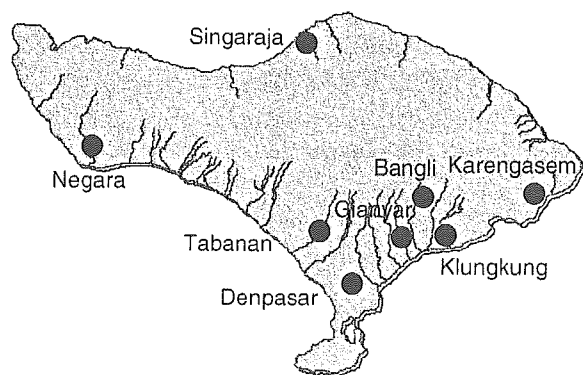


Fig. 1. Map of Bali with eight districts where markers of hepatitis viruses and HIV among pregnant women were surveyed.

TABLE I. Serological Markers for HBV, HCV, HEV, and HIV Infections in the Eight Jurisdictions of Bali

Jurisdictions	HBsAg	Anti-HCV	Anti-HEV	Anti-HIV
Bangli	2/115 (1.7%)	0/115	25/93 (27%)	0/115
Denpasar	29/1,594 (1.8%)	1/1,594 (0.06%)	35/196 (18%)	0/1,594
Gianyar	3/151 (2.0%)	0/151	32/101 (32%)	0/151
Karangasem	1/41 (2.4%)	0/41	6/41 (15%)	0/41
Klungkung	3/123 (2.4%)	0/123	19/98 (19%)	0/123
Negara	6/132 (4.5%)	0/133	11/100 (11%)	0/133
Singaraja	1/133 (0.8%)	0/132	19/104 (18%)	0/132
Tabanan	1/161 (0.6%)	0/161	4/86 (4.7%)	0/161
Total	46/2,450 (1.9%)	1/2,450 (0.04%)	151/819 (18%) ^a	0/2,450 (<0.04%)

^aAnti-HEV was examined in only 819 samples, randomly extracted from among inhabitants from each jurisdiction, except for Karangasem all pregnant women from where were examined.

and high in Gianyar (32% [32/101]) and Bangli (27% [25/93]); the difference between Tabanan and Gianyar was statistically significant ($P < 0.0001$). Frequencies of anti-HEV in the other five districts were much the same and ranged from 11% to 19%. There were no differences in the mean age among pregnant women from distinct religions.

The prevalence of anti-HEV differed with regard to the religion of the pregnant women (Table II). Overall, anti-HEV was detected in 149 of the 769 (19%) Hindus, at a frequency significantly higher ($P < 0.012$) than that in two of the 50 (4.0%) non-Hindus (mostly Muslims). The frequency of anti-HEV higher in Hindus than non-Hindus held in pregnant women from all the eight jurisdictions. In Denpasar where more women were examined than the other seven districts, anti-HEV occurred more often in Hindus than non-Hindus (19% [33/175] vs. 9.5% [2/21]); the difference fell short of being significant due to small numbers examined.

For evaluating the influence of religions on HEV infection, pregnant women living in the Sanglah area of

Denpasar City were examined for the prevalence of anti-HEV; inhabitants in this narrow area were surveyed in an attempt to exclude environmental factors such as water quality and sanitation. Anti-HEV was significantly more frequent in Hindus than Muslims there (20% [20/102] vs. 2.0% [2/101], $P < 0.001$).

DISCUSSION

In surveys for serological markers of HBV and HCV infections among blood donors performed in 1991 in Jakarta, Indonesia, HBsAg was detected in 5.8% and anti-HCV in 17.7% [Sastrosoewignjo et al., 1991]. HBV and HCV strains indigenous to Indonesia are reported in blood donors and hepatitis patients there [Sastrosoewignjo et al., 1991; Hadiwandowo et al., 1994; Mulyanto et al., 1997]. Data are still inadequate, however, on serological markers of HBV and HCV infections, as well as HIV infection, in the general population in Bali that is isolated from the other Indonesian archipelagos by the sea. Nor are there any data available for the exposure to HEV in Bali, except for a recent report by Wibawa et al. [2004] on 276 family members of chronic liver disease and 797 voluntary blood donors.

Taking advantage of the routine screening for HBsAg, 2,450 pregnant women in Bali were tested for serological markers of HBV, HCV, and HEV infections, and HIV infection. The prevalence of HBsAg examined during 5 months in 2003 was significantly lower than that in 1993 (1.9% vs. 2.6%, $P < 0.045$). It is not certain, however, how the prevalence of HBV markers surveyed

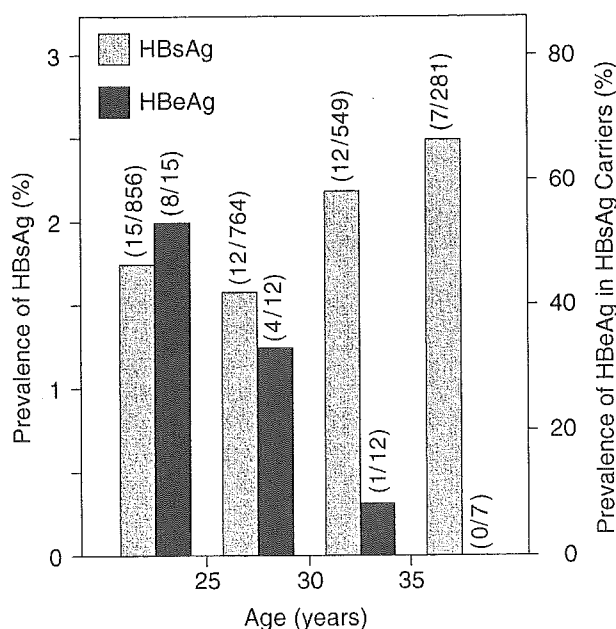


Fig. 2. Age-specific prevalence rates of HBsAg and HBeAg in 2,450 pregnant women in Bali.

TABLE II. Frequencies of Anti-HEV in Hindu and Non-Hindu Women in Various Districts of Bali

Districts	Hindu	Non-Hindu	Differences
Bangli	25/92 (27%)	0/1	NS ^a
Denpasar	33/175 (19%)	2/21 (9.5%)	NS
Gianyar	32/100 (32%)	0/1	NS
Karangasem	6/39 (15%)	0/2	NS
Klungkung	19/91 (21%)	0/7	NS
Negara	11/90 (12%)	0/10	NS
Singaraja	19/99 (19%)	0/5	NS
Tabanan	4/83 (4.8%)	0/3	NS
Total	149/769 (19%)	2/50 (4.0%)	$P < 0.012$

^aNot significant.

in pregnant women who give birth to their babies in hospitals is extended to the general population in Bali, where the majority of deliveries are conducted by midwives at home. Wibawa et al. [2004] detected HBsAg in 38 of the 797 (5%) voluntary blood donors and 18 of the 276 (7%) family members of patients with chronic liver disease from Bali. Their results stand at a substantial variance with ours.

Anti-HCV in pregnant women in Bali was low at 0.04%, in contrast to the detection of anti-HCV in 17.7% of voluntary blood donors in Jakarta [Sastrosoewignjo et al., 1991]. Although data are lacking for the prevalence of anti-HCV in the Balinese, it is reasonably expected to be low in the general population of Bali; Wibawa et al. [2004] detected anti-HCV in 6 of the 796 (0.8%) blood donors. With rapid increases of immigrant and tourists into Bali, however, the exposure to HCV may expand in the foreseeable future. In support of this view, the prevalence of anti-HIV among female sex workers in Bali is reported to be higher for immigrants than the Balinese [Ford et al., 2000].

To address possible concerns on the sensitivity of locally produced assays for HBsAg and anti-HCV, the Entebe kits for these viral markers have been used during the past 18 and 8 years since 1986 and 1996 for HBsAg and anti-HCV, respectively, for screening blood units at many blood centers in Lombok and other islands of Indonesia. Indisputable decrease (to practically zero) in the incidence of posttransfusion hepatitis B and C since then would indicate a high sensitivity of these tests.

HIV infection has become very rare in female sex workers in Bali (0.2%), although the frequencies of sexually transmitted disease such as gonorrhoea (60.5%), chlamydia (41.3%), and human papilloma virus (37.7%) remain very high [Ford et al., 2000]. The reasons for such a low exposure to HIV in the Balinese, even in high-risk groups, are not clear. It is a surprise, especially because a pandemic of HIV is expected in Indonesia [Anonymous, 1996]. Isolation from the other areas of Indonesia, surrounded by sea, may have prevented exposure to HIV and HCV that have been introduced more recently than HBV. In addition, heavy punishments imposed on the use of illegal drugs may have prevented the spread of these blood-borne viruses there.

Overall, anti-HEV was detected in 18% of pregnant women living in eight jurisdiction, at a frequency comparable to 18%–20% recently reported in Bali [Wibawa et al., 2004]. Previous findings point to the zoonotic food-borne transmission that may play an important role in HEV infection among Japanese people. For instance, some individuals who ate sashimi prepared from deer caught in the wild [Tei et al., 2003] or feral boar's liver in the raw [Matsuda et al., 2003] developed acute or fulminant hepatitis E. In addition, Yazaki et al. [2003] have suggested the ingestion of pig's liver as a major risk factor for hepatitis E among residents of Hokkaido, Japan. These observations in Japan instigated us to look into whether zoonotic food-borne transmission of HEV also occurs in inhabitants of Bali where anti-HEV has

not been surveyed extensively. As the results, the prevalence of anti-HEV was found to be more frequent in Hindu than Muslim residents of Bali. Muslims are strictly prohibited from eating or touching pigs, while Hindus have no such restrictions.

When the prevalence of IgG anti-HEV was compared among pregnant women in eight districts of Bali, significant differences were found among them in a range from 4.7% (4/86) in Tabanan to 32% (32/101) in Gianyar. An even more striking difference was noted in pregnant women between Hindus and non-Hindus (mostly Muslims and a few Christians) (19% [149/769] vs. 4.0% [2/50], $P < 0.012$).

Since the religion of Bali is predominantly Hindu, a random sampling of the Balinese would hardly reflect the anti-HEV status in non-Hindus, as in the study of Wibawa et al. [2004] and ours. Furthermore, the exposure to HEV may be influenced by sanitary conditions and water quality that differ in various areas of Bali. These factors taken into considerations, pregnant women living in a restricted area of Denpasar City (Sanglah) were examined for evaluating the influence of religion on HEV exposure. As the results, anti-HEV was significantly more frequent in Hindus than Muslims (20% [20/102] vs. 2.0% [2/101], $P < 0.001$).

The observed differences in the prevalence of anti-HEV would be attributed to distinct life-styles of the Balinese in association with their religions. Among many differences dependent on religions, those in the dietary habit are prominent. Hindu families in Bali typically keep pigs within the household, as a source of food, and often eat grilled pork that can be undercooked. In contrast, Muslims are rigorously prohibited from tasting or even touching pigs by their religion. Thus, it would be reasonable to implicate close contacts with pigs, along with the ingestion of domestic pork, in a high exposure to HEV among Hindus living in Bali. Although "water-borne" transmission of HEV has been reported in Indonesia [Corwin et al., 1997], the results obtained in this study suggest an alternative mode of HEV transmission in Bali that is "pig-borne." In actuality, pigs in Bali are highly contaminated with HEV; anti-HEV is detected in more than 70% of them [Wibawa et al., 2004]. Furthermore, zoonotic infections are common among children and teenagers in Bali [Chomel et al., 1993].

Women in Bali appear to have been exposed to HEV long before the pregnancy. The absorbancy for anti-HEV in ELISA was mostly low and HEV RNA was not detectable in any of 20 sera with a high absorbancy (>1.50). Hence, the risk of developing fulminant hepatitis by HEV infection during the pregnancy would be lower in Bali than in India [Kar et al., 1997].

REFERENCES

- Anonymous. 1996. Indonesia and Vietnam may face AIDS pandemic. *AIDS Wkly Plus* 28:13.
- Brown P, Breguet G, Smallwood L, Ney R, Moerdowo RM, Gerety RJ. 1985. Serologic markers of hepatitis A and B in the population of Bali, Indonesia. *Am J Trop Med Hyg* 34:616–619.

- Chomel BB, Kasten R, Adams C, Lambillotte D, Theis J, Goldsmith R, Koss J, Chioino C, Widjana DF, Sutisna P. 1993. Serosurvey of some major zoonotic infections in children and teenagers in Bali, Indonesia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 24:321–326.
- Corwin A, Putri MP, Winarno J, Lubis I, Suparmanto S, Sumardiati A, Laras K, Tan R, Master J, Warner G, Wignall FS, Graham R, Hyams KC. 1997. Epidemic and sporadic hepatitis E virus transmission in West Kalimantan (Borneo), Indonesia. *Am J Trop Med Hyg* 57:62–65.
- Ford K, Wirawan DN, Reed BD, Muliawan P, Sutarga M. 2000. AIDS and STD knowledge, condom use and HIV/STD infection among female sex workers in Bali, Indonesia. *AIDS Care* 12:523–534.
- Hadiwandowo S, Tsuda F, Okamoto H, Tokita H, Wang Y, Tanaka T, Miyakawa Y, Mayumi M. 1994. Hepatitis B virus subtypes and hepatitis C virus genotypes in patients with chronic liver disease or on maintenance hemodialysis in Indonesia. *J Med Virol* 43:182–186.
- Kar P, Budhiraja S, Narang A, Chakravarthy A. 1997. Etiology of sporadic acute and fulminant non-A, non-B viral hepatitis in north India. *Indian J Gastroenterol* 16:43–45.
- Matsuda H, Okada K, Takahashi K, Mishiro S. 2003. Severe hepatitis E virus infection after ingestion of uncooked liver from a wild boar. *J Infect Dis* 188:944.
- Mizuo H, Suzuki K, Takikawa Y, Sugai Y, Tokita H, Akahane Y, Itoh K, Gotanda Y, Takahashi M, Nishizawa T, Okamoto H. 2002. Phylogenetic strains of hepatitis E virus are responsible for sporadic cases of acute hepatitis in Japan. *J Clin Microbiol* 40:3209–3218.
- Mulyanto, Tsuda F, Karossi AT, Soewignjo S, Roestamsjah, Sumarsidi D, Trisnamurti RH, Sumardi, Surayah, Udin LZ, Melani W, Kanai K, Mishiro S. 1997. Distribution of the hepatitis B surface antigen subtypes in Indonesia: Implications for ethnic heterogeneity and infection control measures. *Arch Virol* 142:2121–2129.
- Noto H, Terao T, Ryou S, Hirose Y, Yoshida T, Ookubo H, Mito H, Yoshizawa H. 2003. Combined passive and active immunoprophylaxis for preventing perinatal transmission of the hepatitis B virus carrier state in Shizuoka, Japan during 1980–1994. *J Gastroenterol Hepatol* 18:943–949.
- Sastrosoewignjo RI, Sandjaja B, Okamoto H. 1991. Molecular epidemiology of hepatitis B virus in Indonesia. *J Gastroenterol Hepatol* 6:491–498.
- Tada H, Yanagida M, Mishina J, Fujii T, Baba K, Ishikawa S, Aihara S, Tsuda F, Miyakawa Y, Mayumi M. 1982. Combined passive and active immunization for preventing perinatal transmission of hepatitis B virus carrier state. *Pediatrics* 70:613–619.
- Tei S, Kitajima N, Takahashi K, Mishiro S. 2003. Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings. *Lancet* 362:371–373.
- Wibawa IDN, Muljono DH, Mulyanto, Suryadarma IG, Tsuda F, Takahashi M, Nishizawa T, Okamoto H. 2004. Prevalence of antibodies to hepatitis E virus among apparently healthy humans and pigs in Bali, Indonesia: Identification of a pig infected with a genotype 4 hepatitis E virus. *J Med Virol* 73:38–44.
- Yazaki Y, Mizuo H, Takahashi M, Nishizawa T, Sasaki N, Gotanda Y, Okamoto H. 2003. Sporadic acute or fulminant hepatitis E in Hokkaido, Japan, may be food-borne, as suggested by the presence of hepatitis E virus in pig liver as food. *J Gen Virol* 84:2351–2357.

総説

肝炎ウイルスの遺伝子型

緒言	三代 俊治
1. 座談会(ジェノタイプ研究の有用性と将来展望)	
2. A型肝炎ウイルスの遺伝子型	矢野 公士
3. Hepatitis C virus	田中 靖人
4. Hepatitis D virus	佐久川 廣
5. Hepatitis E virus	岡本 宏明

<特 集>

肝炎ウイルスの遺伝子型

緒 言

三代 俊治

肝炎ウイルスの遺伝的多型を追究する学問は、1980年代半ばにPCRが出現する迄は殆ど存在しなかった、比較的新しい学問分野である。最初は、どちらかと言えば『趣味的』にスタートした研究領域であるが、HCVのgenotypeがインターフェロン治療有効性に大きく関与していることが判明するに及んで、俄然『実学』としてのレゾナートルを世の中から認知され、今日に至っている。

本特集では、A型からE型までの5種肝炎ウイルスの夫々について、ジェノタイプ研究の過去と現状を振り返ると共に将来を展望することをも試みた。総説の執筆者(であると同時に座談会の出席者)の人選は全く企画者である筆者の責任によって此れを選んだ。適切でなかったという御批判がもしあるとすれば、責めは全て筆者にある。

座談会の後に4編の総説を配置した。溝上雅史氏が執筆する筈だったB型の総説が欠如しているのは、同氏の怠慢によるのでは全然ないことを、同氏の名誉の為に特記しておく。座談会でB型を集中砲火的にやり過ぎたから、総説を割愛することにしたのである。

喋り過ぎて損したことは数多あるが喋り過ぎて得したのはこれが初めてだ、との溝上氏の述懐を付記して緒言を閉じる。

1. 座 談 会

ジェノタイプ研究の有用性と将来展望

三代 俊治^{1)*} 溝上 雅史²⁾ 岡本 宏明³⁾
佐久川 廣⁴⁾ 田中 靖人²⁾ 矢野 公士⁵⁾

(アルファベット順)

(*司会 & corresponding author)

¹⁾東芝病院, ²⁾名古屋市立大学, ³⁾自治医科大学, ⁴⁾琉球大学, ⁵⁾国立病院機構長崎医療センター

<収録 2005. 6. 17 17:30-19:30 於リーガロイヤルホテル大阪>

三代: 肝臓学会総会と、付随の様々な行事で皆さん大変御忙しい中を、雑誌『肝臓』が企画したこの座談会に御出席頂きまして、誠に有難うございます。今日のこの部屋には我々以外には誰もいませんから、周りの目を気にすることなく存分に語って頂きたいと思います。但し、ここに二つ、マイクロフォンが貼り付けてありますよね。録音の器械と録音担当者は別室に存在しており、つまり我々は盗聴されておる訳です(笑)。一寸スリルがありますね。もうテープは回っているのかなあ?

溝上: 5時半から録音を開始するって係の人がさっき来て言っていましたよ。もう5時半を過ぎてるから、大丈夫でしょう。

三代: あっ、失礼しました、私と矢野先生は前のセッションが長引いて、ここには遅刻して来たのでした。扨て、本日は5人の方々に出席して頂きました。HAVを矢野先生に、HBVを溝上先生、HCVが田中先生、HDV佐久川先生、そしてHEVを岡本先生という具合に、一応は責任領域を分担して頂く形にはなっておりますが、皆さんAからEまで全般にわたって御興味と御経験がある訳ですから、担当領域以外へのヨコヤリ発言も大歓迎です。

さあ、では始めますよ。

ジェノタイプとセロタイプ

三代: いつの頃からか我々は、ウイルスの個体識別をウイルス・ゲノムの塩基配列の違いを見ることで行うようになった訳ですが、昔は、ゲノムまでは

見ずに、抗原性の違いで見てた訳ですよ。血清学的な手法を用いてね。

で、genomeによるtypingで幾つかのグループに分かれて来るので、genotypeとそれを呼んだ。そうすると、セロロジカルな手法によって分類された方はセロタイプ(serotype)と呼びたくなりますよ、自然にね。ところが、ここに一つ問題がありましてですね、古典的なウイルス学者が使っているセロタイプという言葉の定義は、「同一ウイルス種に属するが相互間の交叉中和性を欠如する複数のグループ」という非常に限定的なものなんです。例えば、デング熱ウイルスには複数のセロタイプがあるから同一人が複数回罹患する、なんていう文脈の中で使われる言葉なんです。ですから、肝炎ウイルスでも、特にHCVで、セロタイプという言葉が使われることがままありますが、それは誤解の種になる可能性がありますから注意が必要です。今日のこの座談会では、以後、セロタイプという言葉を専ら古典的定義で用いることにします。

ところで、ウイルスを分類するにゲノムを以てする、という戦略は、もうこれは最終戦略なんですよ。ヒトを区別するには顔を見ればいい。わざわざゲノムまでみなくても、ミゾカミとミシロの区別はつく訳です。十人十色だから。でもウイルスには顔がない。抗原性で幾つかのタイプには分類できるが個体識別までは無理。でもゲノムの塩基配列を調べれば完璧に個体識別出来る。もう行き着くところまで行っちゃってる訳です、ウイルスの分類は……。

三代：時間がないので、急ぎますけどね、矢野先生、今日の先生達のポスターで全国国立病院の過去 20 年間の、あれで、A 型が何 100 例ありましたっけ？

矢野：ええーっと、3000 いくつかの中の 40%だから、1000 例ぐらいは……。

三代：そのうち、急性期の血清が残ってるのを片っ端からシークエンシングして行ったらどうですか。168 nt なんていうんじゃない、もっと長く。

溝上：矢野君とこでやるんでしょう？ウチがやるんじゃないんでしょう？だったらいいけど。

三代：え？オカネの心配してんの？

溝上：だって、先立つものは……。

三代：急性肝炎の研究班を来年度から立ち上げて、その中でやればいい訳ですよ。もし、本当に HAV の劇症が増えているというトレンドがあるとするとするなら、これは大きな問題ですよ。HAV のシークエンスがそのトレンドに沿ってどう変わって来たかを見る価値があります。

溝上：あのお、保存血清の場合にはね、例えば HCV の場合、マイナス 80 度で保存してても、タイターがどんどん下がるでしょう。だから、矢野先生達の保存血清、使えますかねえ。HAV は envelope ないんだし。

三代：凍結融解が繰り返されてさえいなければ大丈夫だと思うけど、HEV の経験験では。

溝上：あ、そうですね。

三代：ええ、凍結融解で無茶苦茶、落ちる。だから、最初に分注してあって、それがそのまま残されてあれば、大丈夫だと思うけど。

溝上：でもねえ、マイナス 70 度で 10 年間置いてあったサンプルで、随分落ちてましたよ、HCV のタイターが。

三代：ほんと？それ、誰かが触ったんじゃない？途中で。

矢野：そういう失活の問題はあるかも知れませんが、20 数年間というタイム・スパンの中で HAV のシークエンスを調べることは、充分検討する価値があると思います。

HEV

三代：では愈々今日の最後の話題。岡本先生、残り時間が少なくなって申し訳ないですけど、E の話を御願います。

岡本：マキが入っているようですから簡潔に話をした

いと思いますが、HEV は I 型から IV 型までの 4 種類の遺伝子型に分かれています。今はこの HEV は極めて多様性に富むウイルスであるとの認識がありますが、つい最近までは、アジア・アフリカ型の I 型と、メキシコ型の II 型、この 2 種類であると。で、アジア・アフリカ型に限って言うと、違っても 7%ぐらいであって、非常に似通ったウイルスであると思われていた訳ですが、アメリカを最初とする先進国です。輸入によるのではない domestic infection の存在が認識されるようになって、それを解析することによって、HEV は極めて多様性に富むウイルスであることが明らかになった訳です。

遺伝子型の分布には地域特異性がある、それが非常に顕著なんです。アジア・アフリカの endemic な地域に存在するのが I 型、メキシコの 1986 年の流行から採られたのが II 型。この II 型はずうーっとメキシコ株 1 本だったんですが、アフリカのナイジェリアで 1997 年から 1998 年にかけて、10 例なんですけども、散発性の E 型肝炎の症例がありまして、それから II 型が採れました。III 型は、1997 年のアメリカからの報告を最初にして、日本では三代先生のところからののが最初ですけれども、主として欧米から採れました。そして IV 型。これは中国・台湾・ベトナムといったところの東アジアから採れた。

日本ではどうかといいますと、III 型以外に IV 型もあることが分かって、その両方に感染している例さえ見つかってまして、まあ、この 2 つの遺伝子型が日本のメジャーです。

このウイルスについて特記すべきことは、肝炎ウイルスの中では唯一の、人畜共通感染症ウイルスだつてことで、動物からも採れる。一番蔓延しているのはブタなんですけどもですが、野生のイノシシとか、シカからも III 型あるいは IV 型の HEV が採れている。特にブタに関して言いますと、遺伝子型の分布に関して大変面白い特徴があるんです。つまり、発展途上国では、ヒトから採れる遺伝子型とブタから採れるそれとの間に乖離があるんですね。例えば、インド。ヒトでは I 型なのに、ブタでは IV 型です。タイでも同様に、ヒトが I 型でブタが IV 型。メキシコは、ヒトでは II 型なのにブタでは III 型。

三代：インドなんかでは、ヒト株として報告されているのは殆んどがアウトブレイクから採れた株ですよ。だから一様に I 型。もし、インドでも、スポラディックなケースからウイルスを採って解析したら、ブタ

とおんなじのが見つかるんでしょうね。

岡本：そうだと思います。中国の場合も、アウトブレイクはI型ですが、スボラディックのケースの中にはブタと同じIV型もいましたから。

三代：そうでしたね。

岡本：で、発展途上国の場合は概してヒト株とブタ株の間に乖離が見られた訳ですけれども、それと対照的に、日本を含む先進国では、ヒトから分離される株とブタから分離される株が、非常に似通っているということが言えると思います。野生動物から分離されるのもですね。

三代：大規模なアウトブレイクから採られたHEVは殆どI型で、まあ、メキシコのII型はあれもアウトブレイクからなんですけど、III型とIV型でアウトブレイクってのは、これまで一度もないですね。

岡本：そうですね。

三代：Water-borne hepatitisと呼ばれたアウトブレイクの原因に、I型とII型はなり得るけれども、III型とIV型はなり得ないとかっていう、何かそここのところに理由はあるのだろうかって、ウイルス学的なね……(モシモシ、まだ今も続いているですよ。あ、先生は今どこにいますか。はい。じゃあ、あとで其処へ)……大変失礼しました。

岡本：I型、II型に関して言いますと、水系感染ってことですから、それがその地域に拡がっている。しかし、先進諸国の場合にはいずれもスボラディックですから、常にヒトでウイルスが維持されてるってことではなくて、感染源は寧ろ動物で、そこからヒトが時々感染するっていう、広がり方の違いがあるのじゃないかと。

三代：あのお、これは矢野先生のオトーサン(前出)がおっしゃってたんだけど、A型肝炎の場合は、患者が1人発生すると、家族の中で、潜伏期間だけ時期がずれて二次感染が起こるんだ、と。つまり、human-to-human infectionが割合よく起こるんだと。なのに、我々が見ているE型ではそれが殆ど無いですよ。

岡本：はい。

三代：でね、それは、僕たちが日本にいて、III型とIV型しか見てないからそうなんじゃないかと。もし、I型が日本にいたら、human-to-humanも経験してたんじゃないかなあって、思ったりもしてるんです。

溝上：発展途上国でもhuman-to-humanが無いんですか？

岡本：A型ほどにはないと言われています。

三代：でもそれはハッキリしていません。僕が気になっているのはですね、I型からIV型まであるけども、どこかで線が引けるんじゃないかなって。引けるとすれば、I・II型とIII・IV型の間、あるいはI・II・III型とIV型の間。僕が今日の座談会の冒頭で言った、セロタイプの問題がありそうな気がするんですけども。例えば、インドなんかでは、1人で2度3度感染する人達がいるよって、Pandaなんかは言ってるし。

岡本：そうですね。そこが非常に不思議なところなんですけれども、抗体のアッセイ系に関して言うと、I型に感染している人であれ、III型IV型に感染している人であれ、I型の抗原を使ってちゃんと抗体が測れる。III型の抗原を使っても同じ。IV型の抗原を使っても同じ。だから、血清型ということでは、昔から言われているように、1種類だっただけでいいのかな、と。

三代：ただ、交叉中和性云々という古典的な定義でのセロタイプはね、また別問題だと思うんですよ。もしセロタイプが複数あるならば、Panda達が経験しているような2度あり、3度ありが説明しやすいし。

溝上：昔、HBVのワクチンでこういうことがありましたよね。チンパンジーにワクチンを射って抗体を作らしめて、そこに輸血で大量にウイルスを入れてやったら、感染して急性肝炎を起こしたと。だから、スクリーニングに金を使うよりはワクチンで予防した方が安上がりだっただけ考えは駄目なんだと。だから、HEVの場合に、2度感染するってのは、抗体はあったけれども、入ったウイルス量が多すぎた、って可能性はないですか？

三代：中和抗体が弱いつて可能性は確かにあるんですけども、僕がセロタイプにこだわっている理由の一つはね、IV型ってのがI、II、III型とgenetic structureが一寸違うんですよ。ORFのframe usageなんか。

岡本：そうですね。IV型は、あのニワトリから分離されているavian HEVに似通ったgeneticな特徴を、I、II、III型よりは多く持っていますし。

溝上：Avian以外に他にはないんですか？

三代：ある可能性はある。

溝上：いやいや、シークエンスはないですか？

岡本：今のところないです。

田中：Avian HEVって、ニワトリに、ホントにああ

う肝脾腫症候群ってのを起こすんですか？

岡本：無症候性もあるみたいですけどね。Meng らの論文に記載されています。

三代：本題に戻りましょうか。

岡本：はい。ジェノタイプと病態との関連の問題についてですが、三代先生が研究班の報告書にも書いておられますけども、III 型と IV 型で較べると、どうも IV 型の方が重症肝炎とのアソシエーションが強くありそうだと、これは私達もそのような観察をしております。三代先生の解析よりは数が少ないんですけども、北海道の E 型肝炎 32 例を対象に調べてみたら、その中の 7 例が III 型、25 例が IV 型でした。初診時の ALT を比較すると、統計学的に有意に IV 型が高い。ピーク時の ALT 値も同様。ビリルビンも IV 型が高い。プロトロンビン時間も IV 型の方が延長している。そういうことからすると、やはり IV 型の方が肝炎の重症度が高そうだと。実際に、劇症肝炎になった症例についてみてみると、IV 型の比率が、急性肝炎よりは明らかに高い。

三代：なんとなく、北海道が HEV の endemic area に見えている理由の一つは、あそこは IV 型が多いので、症状が出やすくて、その分だけ病院に来る人が多いんだという、そういう説明も可能なんです。

溝上：あのおー、ウチのデータで、I, II, III, IV の中で、どれが一番古かったっけ？、田中！

田中：いや、そういう計算はしてないですよ(笑)。

溝上：じゃあ、どれが一番 Avian に近かったんだっけ？

田中：いや、どれも一様に遠いですよ。どれが近いとは言えないぐらい、充分遠い。

溝上：ああそうか、だから、もう一つないと駄目だなあ、って言ってたんだ。

田中：もう一寸近いのを探さないと無理だって。

溝上：そうそうそうそう、思い出した。あのお、一般的には、激しい症状を出すやつの方が新しいんですよ。

田中：起源ということでは無しに、最近増えたのは IV 型ですよ。

三代：最近になって北海道でスプレッドしたのがね。

田中：この 20 年ぐらいで、バーッと。ところが III 型は、昔からゆっくりと。

三代：ワクチンが、いいワクチンが、なかなか出来なさそうなんですよ。

溝上：あれ、結局駄目だったんですか？ネパールでやってたやつ。

三代：あれは、いまだに情報が公開されないところを見ると、かんばしくなかったんじゃないかと。

岡本：それは、ネパールでフィールド・トライアルをやったワクチンの話ですよ。

溝上：ネパールは今、ドンパチやってますからね。

三代：ドンパチの所為ではないよ。その前だもん。本来なら昨年、いやもう一昨年になるのかな、そう。2003 年末に decode される予定だったんですよ、そのトライアルは。

岡本：カニクイザルを使って調べた DNA vaccine の効果は、なかなかよいと報告されてますよね。

三代：そうですね。でも、human のフィールドで使ったらどうなのかですからね。最終は、あのネパールでやってるワクチンだって、動物実験ではいい成績だったんだから。でね、もしも、I 型から IV 型まで、一律に有効なワクチンが出来難いってことであればね、最初は IV 型に絞ってもいいのかな、と。……今日は、5 種類の肝炎ウイルスの夫々についてジェノタイプのことを論じて来た訳だけど、病態との関連に限っては、HEV が一番ハッキリしてるんじゃないかと、III と IV を較べてみて思う訳ですよ。その間に線が引けそうだと。Genetic にもね。

溝上：うん。

三代：あと、もう一つは、こんだけ多様性が高度なんだから、我々が未だ知らないやつがもっとあってもいいんじゃないかと。例えばね、それは検体の劣化というような要素もあるかもしれないけども、IgM も IgG も陽性なのに RNA が出ないってのが、まだ結構あるんですよ。

岡本：経過をずっと追ってもですか？

三代：シリーズが揃ってんのは滅多にないけれども、出てもいい時期の検体なのに RNA が出ないってのがね。あるんですわ。

全員：……。

三代：矢野先生とこの、あれは何分の幾つでしたっけね？

矢野：ええーっと、11/25 だったでしょうか。ただ、検体が古くなって要素がありますので。

三代：でもね、可能性はありますよ。

岡本：New strain ってことではなくても、genetic variant という可能性を含めてですね？

三代：ええ、たまたまプライマーのところがっていうのもあるでしょうから。

溝上：あのおー、岡本先生に御聞きしたいんですけど

も、例えばインド辺りの検体で、それを測った時にどのようになってくるかを是非御聞きしたいんですけども、そういうのは、所謂発展途上国で、いつもいつも抗原刺激を受けてとるような人です、それがどうなってくるかをですね。

三代：その「それ」って、抗体のこと？

溝上：抗体が。

三代：あっ、それはね、インドまで行く必要ないですよ。僕は抗体陽性なんです。経時検体があるんですけどね、並べて測ると、抗体価がフラクチュエートしてる。

溝上：おおー。はあーっ、なるほどっ。

三代：しょっちゅうゲテモノ食ってる所為か、そうなんですよ。

岡本：そんな時に、トータルのIgGも変動してるってことはないんでしょうか？

三代：ああ、それは見てないなあ。

岡本：例えば、A型肝炎の時に、IgMが増えたりしますよね。

三代：じゃあ、HBVの抗体のタイターを測って、それを基準にしますか。

矢野：本当にboostされてるかどうかですね？ひょっとするとviremiaもあったかもしれない(笑)。

溝上：それなんです、僕が聞いたかったのは。

三代：じゃあ、今度ゲテモノを食べる時には、そのあと、こまめに採血しておくことにしますよ(笑)。

矢野：先ほど、北海道のE型肝炎が目立つ理由の一つは、IV型だからだ、という御話がありましたけれども、岡本先生達は北見での御経験で、HEV感染と食事との関係を示唆するデータを出された訳ですよ。だから、北海道に多いということの理由のもう一つは、食事じゃないかと思うのですが。

岡本：食習慣というのはものすごく地域差があると思うんです。ブタ肝臓摂食後のE型肝炎患者が初めて見つかった北海道の、特に北見というところは、三代先生も書かれていますけど、あのお、焼肉店が……。

溝上：アッハッハッハッ(笑)。

岡本：焼肉店が全国一多いところで……。

三代：そう。よく憶えていますよ、朝日新聞の記事を。人口11万人の街に約70軒の焼肉店があるって書いてあった。

岡本：しかも、食べ方が他の地域とかなり違っててですね、ナマに近いようなものとか、ホルモンでも輪切りにしたものを山積みにして七輪の金網の上に……。

三代：「マルホル(=豚の腸の輪切り)」ってやつですね？

岡本：ええ。

溝上：山積みにしたら火が通らないじゃない。

三代：あのね、その朝日新聞のルポ記事に書いてあったのはね、「少し焼けた肉を順次、下から上に移して重ねる」と。それが北見の流儀だと。

岡本：まあ、それを食習慣と呼んでいいかどうかは分かりませんが、そういう食べ方の違いというのは、感染のリスクを高める大きな要素の一つではないかと。

溝上：それ、ブタのホルモンなんでしょう？

岡本：ブタです。

溝上：ウシはないんでしょう？

三代：あのね、ブタとウシのどっちを多く食べるかってのも、地域差があるんですよ。で、やっぱり北海道は、本州、特に西日本に較べるとブタを食べる割合が格段に高いんだそうですよ。

溝上：ほーっ。

三代：これは、ある研究会でE型のことを喋った時に、聴衆の一人から指摘されたことなんですけども、関東で「肉マン」と称するものを関西では「豚マン」と呼ぶ。その理由は、関西では「肉」といえば無条件に「牛肉」を意味するから、単に「肉マン」と言うと、その中身は牛肉ということになる。しかし、実際には豚肉が入っているのであるから「豚マン」と呼ぶ。つまり、牛肉なんです、関西は、基本が。

溝上：ああーっ、そういう違いは大きいね。九州でも「豚マン」って言いますよ。

三代：日本列島は縦に長いから、色んなことにグラジエントがありますね。歴史的にも、関東及びその北、関西及びその西、色んなことが違いますよ。

溝上：九州から東京に出てきて吃驚したことは色々ありますよ。

三代：扱って、時間なので、そろそろ締めますが、何か喋り残したことはありませんか？……あ、そうだ、佐久川先生、マンガースのことを一寸紹介して下さいよ。

佐久川：ええ？僕もあまり詳しくは知らないですけどね、まだ1頭だけですけれどね、沖縄のマンガースからIII型のウイルスが採れた。

溝上：マンガースは何を食うんですか？ネズミ？

佐久川：んまあ、ネズミとか、

三代：マンガースはネコ科ですか？