

## エゾシカにおける E 型肝炎ウイルスの疫学調査

研究分担者 岡崎 克則 北海道医療大学薬学部 教授  
研究協力者 鈴木 正嗣 北海道大学大学院獣医学研究科 助教授  
松浦友紀子 北海道大学大学院獣医学研究科 客員研究員

研究要旨：北海道ではエゾシカ有効活用推進事業の一環としてシカ肉の普及が図られつつある。しかしながら、衛生検査等に関わる法的規制はなく、衛生管理システムの構築が急がれている。また、2003 年には兵庫県において野生シカの生肉を感染源とする E 型肝炎患者例が報告された。このような状況下、エゾシカにおける E 型肝炎ウイルスの感染状況を調べるため、抗体調査を実施した。北海道日高地方で捕獲されたエゾシカ 31 頭から得た血清を組換えバキュロウイルスによって産生された E 型肝炎ウイルス様中空粒子を抗原とする ELISA に供したところ、感染が疑われる個体が 1 例認められた。本検体に関しては Western blotting によって反応特異性の確認を行うとともに、さらに多くの検体を調べる必要がある。

### A. 研究目的

E 型肝炎ウイルス (HEV) は感染者の糞便中に排泄され、それに汚染された水などが主な感染源で、東南アジアや中米、アフリカなど熱帯、亜熱帯地域で散発的に流行してきた。日本を始めとする先進国での E 型肝炎発生例の大部分は発展途上国で感染を受けた輸入感染であるが、近年、日本や米国などで海外渡航歴の無い E 型肝炎の散発的な発生例が報告されている。このような中、兵庫県において野生シカの生肉を感染源とする E 型肝炎患者が報告された。さらに、北海道で市販されていた豚レバーから HEV 遺伝子が検出され、食肉が日本における散発例の原因である可能性が示された。

エゾシカはニホンジカの 1 亜種で、本州で見られる「ホンシュウジカ」とは同じ種に属する。北海道ではエゾシカ有効活用推進事業の一環として肉の普及が図られつつあるが、衛生検査

等に関わる法的規制はなく、衛生管理システムの構築が必要となっている。エゾシカ肉は、ルイベ（凍結生肉の刺し身）あるいはカルパッチョとして生で食される機会も少なくなく、エゾシカにおける HEV の保有状況の解明は急務である。

2003～2005 年に道東地域のエゾシカを対照に実施した北海道大学の調査 (n=100) では、抗体陽性個体は認められていない。本研究では、道東地域とは個体群が異なる日高地方で捕獲されたエゾシカ 31 頭について HEV に対する抗体調査を実施した。

### B. 研究方法

1. 血清：2006 年 2 月、北海道日高地方で捕獲されたエゾシカ成獣 31 頭の血清を試験に供した。陽性対照血清として組換えバキュロウイルス発現 HEV 様中空粒子 (VLP) 高度免疫エゾシ

カ血清を用いた。陰性対照は同エゾシカの免疫前血清を用いた。これらの対照血清は北海道大学大学院獣医学研究科高島郁夫博士から分与を受けた。

2. ELISA: 抗原の VLP は、国立感染症研究所ウイルス第二部武田直和博士から分与を受けた。96 穴プレートに抗原を固相化後、3% BSA でブロック処理をした。0.5% BSA を含む PBS で 1:200 に希釈した被験血清を加え、室温、1 時間反応させ、0.05% Tween20 加 PBS で洗浄した。これに HRP0 標識抗シカ IgG ウサギ抗体を加え、室温、1 時間反応させた。洗浄後、基質として 100 $\mu$ l の SIGMAFAST OPD を加え、室温、暗所に 20 分放置した。2.5M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 50 $\mu$ l を加えて反応を止め、490nm における吸光度を測定した。

### C. 研究結果

図 1 に示すように、No. 365 が陰性対照に比べ明らかに高い OD 値を示した。他に 4 検体 (Nos. 339, 348, 358, 360) が陰性対照の 2 倍以上の値を示した。

### D. 考察

2006 年 2 月に北海道日高地方で捕獲されたエゾシカ成獣 31 頭のうち、少なくとも 1 頭 (3.2%) が HEV に感染していたことが示唆された。他に比較的高い OD 値を示した 4 頭を含め、Western blotting によって抗体の特異性を確認する必要がある。

各月齢層のブタ血清 1,271 例について調べた動物衛生研究所の報告では、約 66% が抗 HEV 抗体陽性であった。また国内における野生ネズミの調査では、ドブネズミ 362 匹のうち 114 匹 (31%)、クマネズミ 90 匹のうち 12 匹 (13%) から抗 HEV 抗体が検出されている。一方、道東地方のエゾシカ 100 頭では抗体は検出されず、日高地方でも抗体陽性率は低いものであった。

したがって、エゾシカの HEV 感染頻度はブタ、ドブネズミ等に比べて低いものと考えられる。

1999-2005 年に報告された HEV 国内感染患者 87 例のうち、ブタ、イノシシおよびシカの肉または内臓が感染源と推定されたものは各々 16 例 (18%)、13 例 (15%) および 7 例 (8%) であった。保存されていたイノシシ肉およびシカ肉から HEV 遺伝子が検出された例もあり、エゾシカ肉を含むシカ肉の生食は HEV 感染防止のため避ける必要がある。

### E. 結論

野生のエゾシカが HEV に感染している可能性が示された。ヒトへの感染を防ぐため、生食を避ける必要がある。

### F. 健康危険情報

特に無し

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

1) Okazaki, K., Fujii, S., Takada, A., Kida, H.: The amino-terminal residue of glycoprotein B is critical for neutralization of bovine herpesvirus 1. *Virus Res.* 115, 105-111, 2006.

2) Hasebe R, Kimura T, Nakamura K, Ochiai K, Okazaki K, Wada R, Umemura T. Differential susceptibility of equine and mouse brain microvascular endothelial cells to equine herpesvirus 1 infection. *Arch. Virol.* 151, 775-786, 2006.

3) 岡崎克則: 野鳥とインフルエンザウイルス 北海道野鳥だより 141, 9-10, 2005.

4) 岡崎克則：ヘルペスウイルスの病原性発現機構 「ヘルペスウイルス学-基礎・臨床研究の進歩-」 日本臨床. 日本臨床社. (印刷中)

## 2. 学会発表

1) 岡崎克則：仮性狂犬病ウイルス gB 糖蛋白の開裂はシンシチウム形成に関与する. 第 53 回日本ウイルス学会学術集会、2005 年 11 月 (横

浜)

## H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

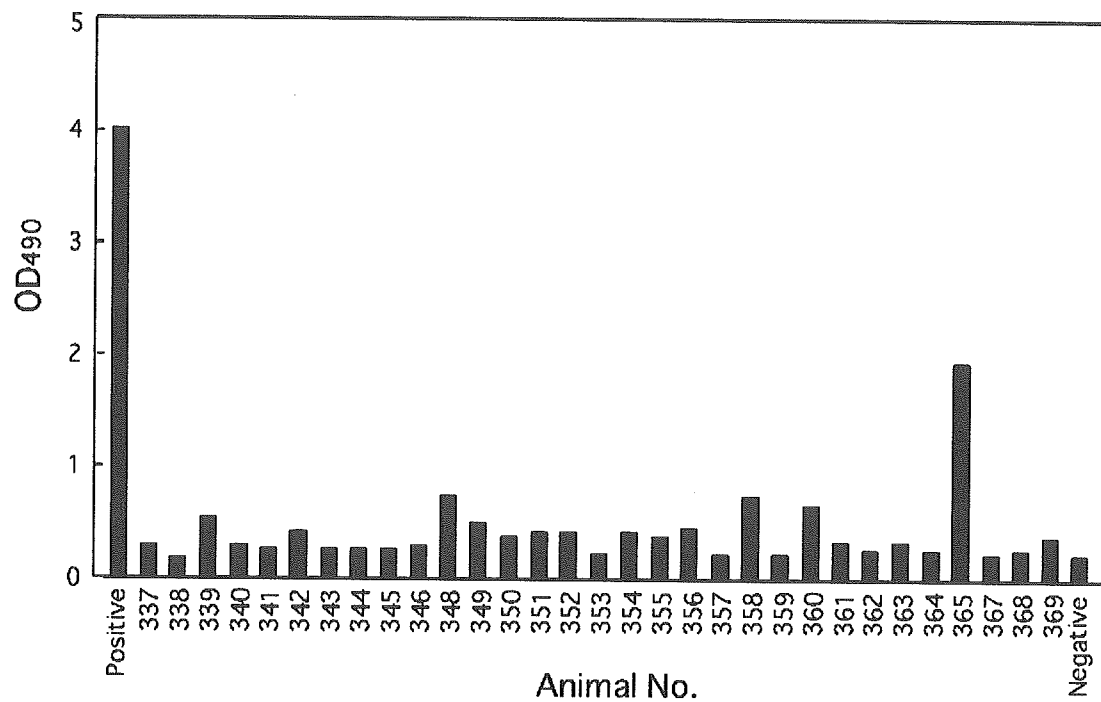


図1. エゾシカ血清中の抗HEV抗体の検出

HEV-VLPを抗原としたELISAによってエゾシカ血清中の抗HEVIgGを検出した。

### Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻	ページ	出版年
澤邊京子, 星野啓太, 伊澤晴彦, 佐々木年則, 林利彦, 津田良夫, 倉橋 弘, 棚林清, 堀田昭豊, 山田章雄, 西藤岳彦, 小淵正次, 田代真人, 小林睦生	2004年高病原性鳥インフルエンザ国内流行地で採集されたクロバエ類からのH5N1亜型インフルエンザウイルスの検出と分離	病原微生物検出情報	26	119-121	2005
Sawabe K., Isawa H., Hoshino K., Sasaki T., Tanabayashi K., Hotta A., Yamada A., Hayashi T., Tsuda Y., Kurahashi H., Saito T., and Kobayashi M.	Detection and isolation of highly pathogenic H5N1 avian influenza A viruses from blow flies collected in the vicinity of an infected poultry farm in Kyoto, Japan, 2004.	Am J Trop Med Hyg			In press
Okazaki K., Fujii S., Takada A., and Kida H.	The amino-terminal residue of glycoprotein B is critical for neutralization of bovine herpesvirus 1.	Virus Res.	115	105-111	2006
Hasebe R., Kimura T., Nakamura K., Ochiai K., Okazaki K., Wada R., and Umemura T.	Differential susceptibility of equine and mouse brain microvascular endothelial cells to equine herpesvirus 1 infection.	Arch. Virol.	151	775-786	2006
岡崎克則	野鳥とインフルエンザウイルス	北海道野鳥だより	141	9-10	2005

岡崎克則	ヘルペスウイルスの病原性発現機構 「ヘルペスウイルス学-基礎・臨床研究の進歩-」	日本臨床			印刷中
杉山誠, 高木愛香, 源宣之, 伊藤直人, 浅野 玄, 坪田敏男, 石黒直隆, 伊藤 雅, 山下照夫, 榮賢司	国内の野生動物における日本脳炎ウイルスに対する血清疫学調査-イノシシが日本脳炎ウイルスの増幅動物である可能性-	獣医畜産新報	4		2006 (印刷中)
Yoshii M., Kaku Y., Murakami Y., Shimizu M., Kato K., Ikeda H.	Genetic variation and geographic distribution of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Japan.	Arch Virol.	150	2313-2324	2005
池田秀利	動物に感染している E 型肝炎ウイルス	消化器科	141	173-178	2005
Shinya K., Sutou A., Kawakami M., Sakamoto H., Umemura T., Kawaoka Y., and Ito T.	Neurovirulence of H7N7 influenza A virus: Brain stem encephalitis accompanied with aspiration pneumonia in mice.	Arch. Virol.	150	1653-1660	2005
Kogure T., Suzuki T., Takahashi T., Miyamoto D., Hidari K.I.P.J., Chao-Tan G., Ito T., Kawaoka Y., and Suzuki Y.	Human trachea primary epithelial cells express both sialyl-2-3-Gal receptor for human parainfluenza virus type 1 and avian influenza viruses, and sialyl-2-6-Gal receptor for human influenza viruses.	Glycoconjugate J.	23	99-104	2006

Horimoto T., Takada A., Fujii K., Goto H., Hatta M., Watanabe S., Iwatsuki-Horimoto K., Ito M., Tagawa-Sakai Y., Yamada Y., Ito H., Ito T., Imai M., Itamura S., Odagiri T., Tashiro M., Lim W., Guan Y., Peiris M., and Kawaoka Y.	The development and characterization of H5 influenza virus vaccines derived from a 2003 human isolate.	Vaccine				(in press)
Nishiguchi A., Yamamoto T., Tsytsui T., Sugizaki T., Mase M., Tsukamoto K., Ito T., and Terakado N.	Outbreak of highly pathogenic avian influenza in Japan in 2004 caused by an H5N1 subtype.	Scientific and Technical Review of the OIE	24			(in press)
Ito H., Ito T., Hikida, M., Yashiro, J., Otsuka, A., Kida, H., and Otsuki K.	Outbreak of highly pathogenic avian influenza in Japan and anti-influenza virus activity of povidone-iodine products.	Dermatology				(in press)
伊藤壽啓	インフルエンザウイルスのレセプター特異性と膜	膜	30	62-67	2005	
伊藤壽啓	高病原性鳥インフルエンザ発症と人への感染	食品の包装	36	84-90	2005	
伊藤壽啓	インフルエンザ講座16。鳥インフルエンザとは。	インフルエンザ	6	56-59	2005	
伊藤壽啓	家禽ペストとインフルエンザ。	インフルエンザ	6	5-6	2005	



伊藤啓史、伊藤壽啓	インフルエンザウイルスの種間伝搬	獣医畜産新報	58	861-864	2005
伊藤壽啓	高病原性鳥インフルエンザの現状	感染症	36	in press	2006