

が妥当である。

これまでに報告されているように、発生例は圧倒的に男性に多く、平均年齢は 50.0 歳と他のどの急性肝炎のカテゴリー（A 型肝炎、B 型肝炎、C 型肝炎、非 ABCD 型肝炎）よりも高いのが特徴である。

また、2000 年以降の増加傾向は、顕著ではないが確かに認められ、2004 年以降は 10% 内外で固定した感がある。すなわち、北海道地区では原因不明の急性肝炎の約 1/3 が E 型肝炎と報告されたが、それ以外の地域においてはその割合が 1/10 ということである。この動向は、今後も本研究班でモニターする必要がある。

E. 結論

1, E 型急性肝炎の発生状況は、80 年代から 20 余年にわたって、少数ながら持続的に、散発的発生を繰り返していた

2, 最近 3 年間では非 ABC 型急性肝炎の約 10 分の 1 が E 型肝炎である。

F. 研究発表

1. 学会発表

① わが国の E 型肝炎の疫学的動向 本邦における E 型肝炎の疫学的動向
矢野公士, 玉田陽子, 八橋弘
第 36 回 肝臓学会東部会 2006 年 12 月 8 日

② 千葉県で経験された E 型肝炎 2 例 かたや札幌こなた大阪の HEV 株と塩基配列が類似 北村庸雄, 丸山俊秀, 玉田陽子, 矢野公士, 高橋和明, 新井雅裕, 三代俊治
第 36 回 肝臓学会東部会 2006 年 12 月 8 日

2. 論文発表、総説

①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 全国集計 254 例に基づく解析

阿部敏紀, (略) 矢野公士, 三代俊治
肝臓 2006 ; 47 (8) : 384-391,

②矢野公士, 八橋弘: 各種肝疾患の高齢化の病態と対策「劇症肝炎・急性肝炎」
肝胆膵 2006 ; 53 (1) : 95-100

③矢野公士, 八橋弘: 「A 型、B 型、C 型以外のウイルス型肝炎」
消化器の臨床 2006 ; 9 (3) : 261-264

④矢野公士, 八橋弘: 「急性肝炎における非 B 非 C 型肝炎」
臨床消化器内科 2006 ; 21 (12) : 1595-1600

G. 知的所有権の取得状況

特許申請 :

実用新案登録 : なし

その他 : なし

厚生労働科学研究費補助金(肝炎等克服緊急対策研究事業)

E型肝炎の感染経路・宿主体・遺伝的多様性・感染防止・診断・治療に関する研究

平成18年度

分担研究報告書

劇症肝炎、遅発性肝不全におけるHEV感染の実態調査(2005年)

分担研究者:坪内 博仁 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科健康科学専攻人間環境学
講座消化器疾患・生活習慣病学 教授

研究要旨:日本におけるE型肝炎劇症化例はまだ症例が少なく、その実態はまだ十分解明されていない。難治性肝・胆道疾患に関する調査研究班の2005年劇症肝炎・LOHF全国調査では劇症肝炎91例(急性型44例、亜急性型37例)、LOHF10例が登録された。成因はウイルス性が全体の53%を占めており、その内訳はB型(47%)が最多であり、その他のウイルスはA型2例、C型1例、EBV1例、HSV1例であり、E型劇症化例の報告はみられなかった。京都大学探索医療センターにてE型劇症肝炎亜急性型症例に対し組換えヒトHGFの第I/II相臨床試験実施例を経験した。組換えヒトHGFを13日間投与し、その後14日間の経過観察を行ったが、直接有害となる事象は認められなかったが、治験終了後4週後に死亡した。今後はE型肝炎による急性肝不全例も含めた、劇症肝炎の実態調査を行い、症例の蓄積と解析を行う必要がある。

共同研究者

桶谷 真 鹿児島大学医学部・歯学部附属病院
消化器内科 講師
井戸章雄 京都大学医学部附属病院
探索医療センター 助教授
宇都浩文 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科
消化器疾患・生活習慣病学 講師
森内昭博 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科
消化器疾患・生活習慣病学 助手

要である。

2. 研究の目的、期待された成果

厚生労働省、難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究班では消化器病学会、肝臓学会評議員の所属する施設を対象に全国調査を実施しており、このうちE型劇症肝炎と診断された症例に対して追跡調査を行い、その感染経路、劇症化要因について検討を行う。

3. 研究成果

1. 劇症肝炎・LOHFの全国調査成績

H18年度は対象施設のうち55施設から劇症肝炎81例(急性型44例、亜急性型37例)、LOHFは10例が登録された。ウイルス性症例は全体の53%を占めたが、その大部分がB型(47%)であった。B型以外のウイルス性はA型2例、C型1例、EBV1例、HSV1例であった。H18年度においてはE型劇症肝炎例の登

1. 研究の意義

HEVは劇症肝炎の原因のひとつであるが、何がHEV感染の増悪要因であるかは十分明らかにされていない。特に海外で報告されている妊婦における感染と劇症肝炎との関連も我が国においてはその因果関係は証明されていない。日本におけるE型劇症化例の実態調査を行い、その背景、予後などを解析することは今後の予防対策や治療方法を検討するうえで重

録はみられなかった。

2. HGF 治験例

京都大学探索医療センターでは組換えヒト HGF の第 I/II 相臨床試験を実施しているが、E 型劇症肝炎の治験例を経験した。2006 年 1 月 5 日、心窩部違和感、発熱にて発症し、発症 13 日後に近医受診し、トランスアミナーゼ高値(ALT 3000、AST 2960)、高ビリルビン血症(T-bil 18.6)および凝固能の低下(PT 30%)より急性肝不全と診断され T 病院に入院、発症 15 日後に肝性脳症Ⅱ度で劇症肝炎亜急性型と診断された。1 月 25 日に京都大学探索医療センター転院となった。IgM-HEV 抗体、IgG-HEV 抗体ともに陽性であり、E 型劇症肝炎と診断された。1 月 27 日より HGF を投与開始し 13 日間投与した。HGF 投与中、肝機能、凝固能、脳症の明らかな増悪や改善なく経過した。治験観察期間 14 日後に前医に転院となった。治験期間中、直接有害となる事象は認められなかったが、治験終了約 4 週後に転院先病院で死亡した。

4. 次年以降の課題

(1) HEV の劇症肝炎例は HBV や HAV と比べ少なく、解析には症例の集積が必要である。また肝性脳症を

伴わない重症化例は劇症肝炎・LOHF の全国調査では拾い上げ困難であり、今年度から劇症肝炎分科会ワーキンググループで実施されている急性肝不全全国調査の対象症例も検討に加える必要がある。

(2) HEV の感染経路、劇症化の要因を明らかにするには HEV の遺伝子解析を含めたウイルスおよび宿主要因の解析を行う必要がある。

5. 行政施策への貢献の可能性

海外での報告では妊婦が HEV に罹患すると高率に劇症肝炎となることが報告されているが、我が国における HEV 感染の増悪因子はまだ明らかでない。本研究により劇症化の高リスク要因が明らかにされれば、その予防対策や治療方法を講じやすい。

6. 発表論文・ガイドライン・マニュアル

- 1) 坪内博仁、桶谷 真、井戸 章雄、宇都 浩文. 劇症肝炎及び遅発性肝不全の全国集計(2005 年). 厚生労働省特定疾患対策事業「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究班」平成 18 年度 総括・分担研究報告書, 印刷中.

厚生労働科学研究費補助金(肝炎等克服緊急対策研究事業)
**E 型肝炎の感染経路・宿主城・遺伝的多様性・感染防止・診断・
 治療に関する研究**

平成 18 年度
 分担研究報告書

北海道で生産される家畜(特に豚)および食肉(豚肉、内臓)の流通

分担研究者 品川邦汎 岩手大学農学部・教授

概要

E 型肝炎疫学の検討のため、豚肉の生産・流通について調査した。北海道において、豚生産の中心は、網走・上川・石狩・胆振支庁と考えられた。北海道中央部の 4 支庁(石狩、後志、空知、胆振)では支庁を越えた豚の流通があったが、他の支庁では、域内で食肉処理される割合が非常に高かった。ロース・ヒレ等日本人の豚肉に対する嗜好の問題から、豚肉は高需要部位の生産量が少ないために輸入肉に依存していた。したがって豚肉の流通は地域内にとどまり、不足分を輸入肉で補うという形態が示唆された。網走支庁管内と畜場の豚搬入先はと畜場毎に出荷市町村に差があったが、年度により市町村毎に大きい差はみられず、豚生産者は出荷先と畜場を固定化していることが推測された。

A. 研究目的

E 型肝炎は E 型肝炎ウイルス(HEV)の感染により発生する疾病であり、社会基盤整備の遅れた発展途上国において患者が多発している。公衆衛生の発達した欧米や日本においては、E 型肝炎多発地域への旅行による輸入感染症と考えられていた。近年、日本において多発地域への渡航歴のない E 型肝炎患者が発生し、すでに土着している可能性が指摘されている。

日本において E 型肝炎は、イノシシ、豚、鹿の肉もしくは内臓を生や半生の状態で摂取することにより発生すると考えられている。2003 年兵庫県において、野生の鹿肉を生食し E 型肝炎の集団事件が発生した。本事件では、鹿肉および患者から分離された E 型肝炎ウイルスの RNA 断端が遺伝子的に一致した。また、豚肉(内臓肉含む)や豚レ

バーを加熱不十分で摂食し、E 型肝炎発生の可能性が示唆される事件が見られる。北海道において発生した E 型肝炎事件では、焼肉店での豚のレバーおよび内臓肉の生食もしくは不完全加熱で摂食したことが示されている。また、本事例と神奈川県などで発生した事件からの分離ウイルスの RNA 断端が遺伝子的に一致していることが示され、日本における家畜(特に、豚)の移動や食肉の流通実態を把握する必要性が提起された。

そこで、日本における豚および処理加工された豚肉(内臓肉を含む)豚肉の流通について調査を行い、E 型肝炎発生における疫学について検討することとした。

今回は、北海道で生産される豚の生産および豚肉(内臓肉含む)処理とその流通について調査を行った。

B. 研究方法

豚の生産実態については、農林水産省北海道農政事務所 統計部で集計した畜産統計データを用いた。また、豚肉(枝肉など)生産については、北海道内の主な食肉衛生検査所7カ所と殺解体された豚頭数について、平成16年度と17年度を対象に調査した。さらに、生産豚または子豚などの流通実態については、北海道における食肉処理事業者や食肉加工・流通業者からの聞き取り調査、ならびに賀来・深瀬(2002)らの報告に基づいて行った。

C. 研究結果および考察

(1) 北海道養豚の特徴ならびに豚生体の移動

北海道は14支庁に分かれており、支庁単位で統計が集計されていた。北海道内の豚飼養農家戸数は、平成16(2004)年では382戸であった(表1・図1)。19年前の昭和60(1985)年には3,090戸、10年前の平成6(1994)年には1,090戸であった。10年単位でほぼ三分の一ずつ減少したことになる。全ての支庁で豚飼養戸数が減少し、増加した支庁はなかった。減少率が最も高い支庁は留萌支庁であり、北海道の平均減少率より高い支庁は留萌・後志・空知・檜山・上川であった。北海道の平均的飼養戸数である支庁は、石狩・渡島・網走であった。

飼養頭数の減少は飼養戸数の減少に比べて著明ではなく、一戸当たりの飼養頭数の増加(多頭化)が考えられる(表1)。北海道の平均的な一戸当たり飼養頭数が大きい支庁は、釧路・渡島・後志・網走であった。一方、平均より小さい支庁は、空知・檜山・石狩・留萌・日高であった。なお、平均的な飼養頭数の支庁は、網走・上川であった。

一戸当たりの肥育豚飼養規模別戸数構成比を全国平均と比較すると、飼養頭数1〜299頭(全国36.5%、北海道44.1%)と飼養頭

数2,000頭以上(全国12.1%、北海道16.2%)で全国平均を上回っていた(表2)。これは、小規模養豚と超大規模養豚が全国平均より多いことを示しており、企業養豚の大規模化と零細養豚の残存ならびに中規模養豚の減少を示している。なお、子取り用めす豚(繁殖用豚)飼養頭数別の規模別飼養戸数をみても同様のことが認められた(表3)。

飼養戸数に基づくと、北海道における豚の主生産地としては網走支庁(65戸)、上川支庁(61戸)、石狩(46戸)、胆振(41戸)と考えられる。これらの生産地は、網走支庁を除いて、札幌市(人口189万人)や旭川市(人口35.8万人)などの消費地に近く、都市型養豚であると考えられる。一方、網走支庁には大都市が存在せず(北見市12.9万人、網走市4万人)、郊外型養豚はであると考えられる。

賀来と深瀬ら(2002)は全国を10の地域に分割し、地域別の豚飼養割合と、と殺割合を示している(表7)。関東地方でと殺割合が飼養割合を超えており、周辺地域から豚の流入が考えられ、中国地方は1ポイント以上と殺割合が少なく周辺地域に豚が流出していると考えられる。北海道は飼養割合に比べてと殺割合が0.5ポイント少なく、北海道外に流出していることが示唆されたが、飼養(肥育過程を含む)期間中の損耗を考慮しなければならない。肥育豚の育成率(豚出荷数/豚産子数)は全国で71〜96%であるため、育成・肥育中の損耗によりと殺まで至らない豚が相当数存在していることが考えられる。北海道の養豚では損耗率は10〜15%程度といわれており、0.5ポイントの差は殆ど損耗によるものと考えられる。また、移動時間と生体にかかるストレスには相関性があり、ストレス豚ではと殺後の肉質低下につながる。牛に比べて価格が低い豚を長距離移動することは経済価値のさらなる低下を意味し、現実的でないと考えられる。

(2) 北海道における豚肉の流通

国内でと殺・処理される豚肉は、冷蔵やチルドの状態に流通し、90%以上が家計消費（テーブルミート）にまわる。日本人は豚肉の全ての部位を均等に消費されているわけではなく、主としてヒレ・ロース・肩ロースが消費されている。これらの部位は国内の豚で全て供給できるわけではなく、部分肉の輸入が行なわれないと需要に応じることができない。部分肉の流通状況を見ると、ヒレ・ロースの輸入比率が79.2%・74.0%と非常に高く、肩ロースも32.9%とほぼ三分の一を占めている（表8）。したがって、冷蔵状態で流通される国内産の豚肉は、と殺解体される地域を主体に流通されており、輸入されたチルドもしくは冷凍の豚肉は、調整肉として需要に対応されていると考えられる。

北海道内で処理された豚の頭数は、平成16年94.3万頭、平成17年92.0万頭であった。調査した施設における豚処理頭数は、平成16年では71.4万頭（全処理頭数の75.7%）、平成17年では70.3万頭（全処理頭数の76.4%）であり、北海道内の生産豚の約四分之三を調査したことになる。

これらの最も処理の多い施設は早来町の24.1万頭、次いで八雲町の20.2万頭（平成16年）であった（図2）。網走支庁管内の比較的近距离に位置する3処理場の豚処理頭数合計は18.8万頭であり、それらが北海道内の主要な豚の産地とともに豚肉生産の主産地でもあったと考えられた。

北海道内で生産された豚（生体）は、と畜場へ搬入のため支庁を越えて移動する場合がある。北海道中央部（石狩・空知・胆振・後志支庁）では、4支庁の中で大規模と畜場は1箇所だけであるため、長距離移動をされる豚が多数存在する。また、札幌市という大消費地が控えているため、北海道内各支庁から搬入されていた（表6）。一方、それ以外の地域では殆どの豚は肥育された支庁と同一の支庁内でと殺解体処理されていた（表5・

表6）。これは、輸送ストレスによる豚肉質の低下や、輸送中の突然死による損耗を防ぐための有効手段と考えられる。支庁を超える輸送は時によって数百キロメートルにおよぶ場合が見られる。近隣のと畜場に豚を搬入することは、生体の損耗や格落ちを防ぐだけでなく、輸送コストの低減により価格競争力のある豚肉を生産するために有効な手段である。関東近辺のように枝肉相場により、異なる食肉処理施設に生体が集まることはないと考えられる。

以上から、北海道において豚は近隣の食肉処理場に搬入されと殺解体後、主としてその地域内流通・地域内消費されていると推定される。豚肉流通において、枝肉・カット肉の一部は本州に流通するといわれているが、統計的データからは見られなかった。現在の食肉流通は部分肉流通が主であり、脱骨されないまま枝肉が流通することは考えられない。カットされた部分肉は、北海道外に流通する可能性があるものの、日本人の豚肉に対する嗜好と大量の輸入肉流通から、北海道内において豚は食肉処理後精肉として地域内消費され、一部は加工品として流通しているものと考えることが妥当である。また、内臓は保存期間（消費期限）が食肉に比べて遥かに短く、単価も低いこと、日本人は未だ内臓食に寛容ではないことから、域外流通はきわめて少ないと考えられる。

(3) 網走支庁の豚肉

北海道網走支庁管内で発生したE型肝炎について、原因施設として焼肉店が疑われた。この焼肉店で提供された豚肉（内臓肉含む）は網走支庁内で飼育され、またこの地区でと殺・解体されたものではないかと推測されたことから、網走支庁内の各市町村で飼育出荷された豚頭数について調査した（図3）。

網走市（90,320頭：H16）、北見市（14,852頭：H16）、東藻琴村（13,667頭：H16）、美

幌町(10,439頭: H16)、女満別町(6,772頭: H16)、佐呂間町(5,462頭: H16)、斜里町(4,630頭: H16)、小清水町(3,776頭: H16)と東部の市町村に中一大規模農場が分布している(いずれも、合併前の旧市町村名で表記)。

東藻琴村のと畜場では、網走支庁管内生産農家からまんべんなく集荷しており、網走支庁管内農家から出荷した豚(地域豚)の占有率は94.9%(H16)と高かった。網走市のと畜場は、商社系のため限られた市町村から集荷し、地域豚の占有率は77.8%(H16)と比較的低かった。北見市のと畜場は、主として網走支庁西部の養豚家から集荷し、地域豚の占有率は94.3%(H16)であった。占有率については平成17年度も同様であることから、と畜場別の地域豚占有率は一定であると考えられる。また、市町村単位でも搬入頭数はあまり大きく変化していないことから、調査した平成16および17年では、養豚業者が豚を出荷すると畜場は一定であることを示唆している。これは他のと畜場搬入豚の市町村別頭数をみても同様であり、北海道における養豚家は出荷先を変えない傾向があるといえる。

以上のことから、次のことが考えられる。(1)北海道において養豚農家は出荷先と畜場をほぼ固定化している。(2)豚の支庁を超えた移動は北海道中央部を除いてあまりなく、地域の中で育成・肥育・と殺・解体処理されている。(3)北海道産豚肉、豚内臓はもっ

ぱら域内流通・域内消費が行われていると推測される。

しかし、食肉・内臓の流通は非常に複雑であり、小規模の流通が北海道と本州との間で行われていることを否定はできない。今後、国内の食肉流通を細部にわたって把握し、詳細な議論を行うことが大切であると考えられる。

D. 参考資料

- 農林水産省「畜産統計」「食肉流通統計」
- 北海道保健福祉部食品衛生課「食肉衛生事業概要(平成16年度・平成17年度版)」
- 北海道早来食肉衛生検査所、帯広食肉衛生検査所、東藻琴食肉衛生検査所、八雲食肉衛生検査所「事業概要(平成16年度・平成17年度版)」
- 賀来康一・深瀬誠(2002):「日本の豚肉生産・流通・消費・価格形成-豚肉先物取引の基礎研究-」,先物取引研究,7(1),65pp,日本商品先物振興協会

E. 研究発表

1. 論文発表:なし
2. 学会発表:なし

F. 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.

(図表は次ページ以降に)

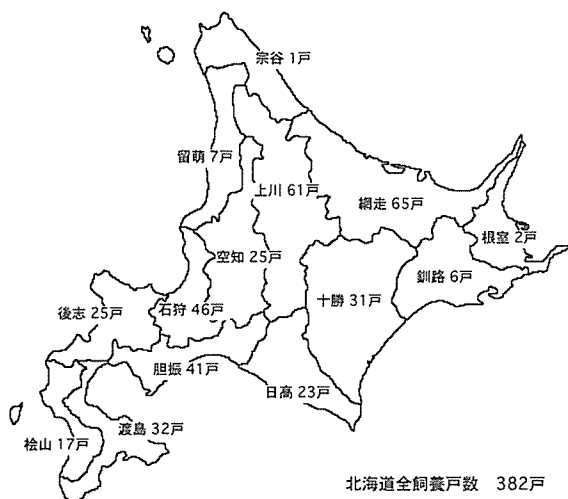


図1.豚の支庁別飼養戸数(平成16年)

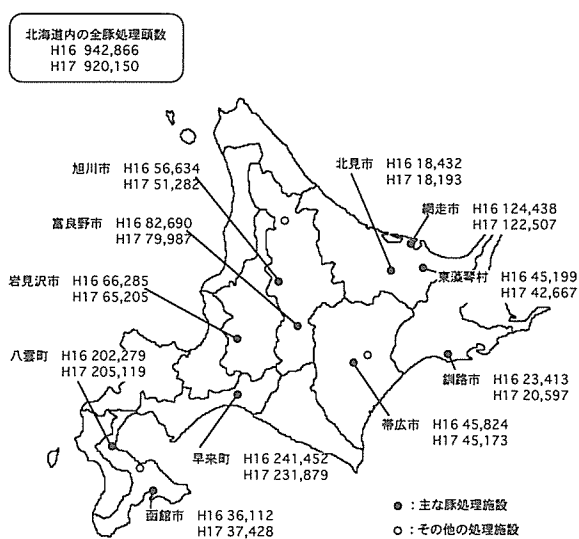


図2.屠畜場別処理頭数(平成16・17年)

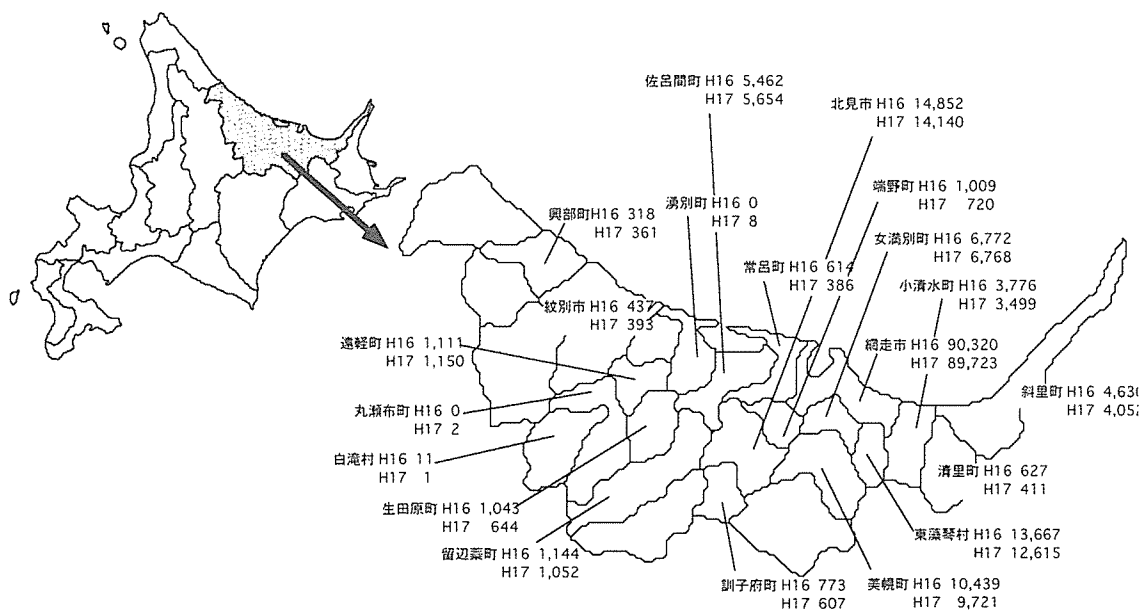


図3.網走支庁の市町村別豚処理頭数(平成16・17年)

表1-1. 豚の支庁別飼養戸数

	H11	12	13	14	15	16
石狩	70	60	60	50	50	46
渡島	50	40	40	40	40	32
檜山	30	30	20	20	20	17
後志	40	40	40	30	30	25
空知	40	40	30	30	30	25
上川	100	90	80	70	70	61
留萌	20	20	10	10	10	7
宗谷	10	0	0	-	-	-
網走	110	100	90	80	80	65
胆振	60	50	50	50	40	41
日高	40	30	30	30	20	23
十勝	40	40	40	40	30	31
釧路	10	10	10	10	10	6
根室	-	0	0	-	-	-
計	610	550	490	450	420	382

農林水産省「畜産統計」

表1-2. 豚の支庁別飼養頭数

(x 1000)

	S50	S60	H7	11	12	13	14	15	16
石狩	62.1	60.0	41.3	31.1	31.2	26.1	27.4	29.1	27.6
渡島	27.5	85.1	108.7	105.6	107.1	111.8	115.6	115.4	108.1
檜山	14.1	16.0	21.1	18.5	17.1	16.4	16.3	14.9	14.5
後志	50.2	59.9	68.5	66.9	64.5	60.6	61.5	62.7	63.9
空知	60.1	39.4	18.8	17.7	17.3	20.1	21.5	21.2	20.9
上川	71.5	102.1	83.3	85.6	79.9	81.9	79.4	79.6	82.3
留萌	14.4	18.9	8.8	7.0	6.3	6.7	6.4	5.0	3.3
宗谷	1.2	2.4	0.6	0.6	-	-	-	-	-
網走	57.2	83.0	106.4	101.8	100.2	100.2	98.4	99.1	94.5
胆振	35.8	39.6	46.4	46.4	49.1	49.6	50.3	50.7	49.1
日高	9.1	13.3	10.2	9.8	9.1	8.3	8.2	8.4	8.6
十勝	35.8	59.8	50.0	38.8	44.9	43.6	42.3	43.4	43.2
釧路	8.6	23.5	18.6	18.7	18.3	18.4	17.9	18.8	18.3
根室	0.5	1.0	-	-	-	-	-	-	-
計	448.1	604	582.7	548.5	545.0	543.7	545.2	548.3	534.3

農林水産省「畜産統計」

表2. 肥育豚飼養頭数規模別戸数とその占有率(6自治体と全国集計)-平成16年

都道府県	計	1~299頭	300~499	500~999	1,000~1,999	2,000以上
全国	7,420	2,710	1,050	1,640	1,120	897
Share (%)		36.5	14.2	22.1	15.1	12.1
北海道	358	158	47	46	49	58
Share (%)		44.1	13.1	12.8	13.7	16.2
茨城県	633	262	82	140	83	66
Share (%)		41.4	13.0	22.1	13.1	10.4
群馬県	477	118	52	156	98	53
Share (%)		24.7	10.9	32.7	20.5	11.1
千葉県	444	125	87	95	64	73
Share (%)		28.2	19.6	21.4	14.4	16.4
宮崎県	492	107	60	148	93	84
Share (%)		21.7	12.2	30.1	18.9	17.1
鹿児島県	745	333	111	127	85	89
Share (%)		44.7	14.9	17.0	11.4	11.9

農林水産省「畜産統計」

表3. 子取り用雌豚飼養頭数規模別飼養戸数とその占有率-平成16年

都道府県	計	1~19頭	20~29	30~49	50~99	100以上
全国	7,560	1,720	675	1,110	1,790	2,270
Share (%)		22.7	8.9	14.7	23.7	30.0
北海道	343	94	31	54	50	114
Share (%)		27.4	9.0	15.7	14.6	33.2
茨城県	605	176	68	96	119	146
Share (%)		29.1	11.2	15.9	19.7	24.1
群馬県	471	78	29	46	170	148
Share (%)		16.6	6.2	9.8	36.1	31.4
千葉県	428	55	42	64	99	168
Share (%)		12.9	9.8	15.0	23.1	39.3
宮崎県	666	147	51	107	181	180
Share (%)		22.1	7.7	16.1	27.2	27.0
鹿児島県	807	243	65	129	175	195
Share (%)		30.1	8.1	16.0	21.7	24.2

農林水産省「畜産統計」

表4. 北海道における食肉生産

年	屠畜頭数	枝肉生産量 (トン)	1頭当たり (kg/頭)
S45	570,870	37,479	65.7
50	797,722	57,400	72.0
59	1,112,779	81,735	73.5
60	1,181,566	87,096	73.7
61	1,247,509	91,745	73.5
62	1,255,254	92,306	73.5
63	1,239,143	91,816	74.1
H1	1,212,054	89,976	74.2
2	1,176,885	87,376	74.2
3	1,128,034	84,153	74.6
4	1,085,377	81,068	74.7
5	1,106,228	82,931	75.0
6	1,074,461	79,915	74.4
7	1,042,362	78,187	75.0
8	984,579	73,920	75.1
9	971,134	73,146	75.3
10	987,902	74,345	75.3
11	959,544	72,573	75.6
12	952,362	72,326	75.9
13	925,081	70,213	75.9
14	936,761	71,391	76.2
15	947,949	72,662	76.7
16	946,107	72,790	76.9

農林水産省「食肉流通統計」

表5.網走支庁における食肉処理場の豚搬入先

	東藻琴村		網走市		北見市	
	H16	H17	H16	H17	H16	H17
北見市	574	368			14,278	13,772
網走市	4	10	90,316	89,713		
紋別市	434	393			3	
東藻琴村	11,606	10,502	2,061	2,113		
女満別町	4,813	4,800	1,959	1,968		
美幌町	8,027	8,108	2,412	1,613		
津別町						
斜里町	4,630	4,052				
清里町	627	411				
小清水町	3,776	3,499				
端野町	1,009	720				
訓子府町	457	361			316	246
置戸町						
留辺蘂町	433	366			711	686
佐呂間町	5,273	5,653			189	1
常呂町	614	386				
生田原町	280	254			763	390
遠軽町		10			1,111	1,140
丸瀬布町		2				
白滝村					11	1
上湧別町						
湧別町						8
滝上町						
興部町	318	361				
西興部村						
雄武町						
網走支庁計	42,875	40,256	96,748	95,407	17,382	16,244
渡島支庁						
上川支庁			11,218	13,080	1,050	1,949
宗谷支庁						
胆振支庁						
十勝支庁			16,472	14,020		
釧路支庁	1,150	1,072				
根室支庁	1,174	1,339				
合 計	45,199	42,667	124,438	122,507	18,432	18,193

表6-1. その他の代表的な食肉処理場における豚産地

	帯広市			早来町	
	H16	H17		H16	H17
帯広市	17,870	16,618	室蘭市	717	636
音更町		4	苫小牧市	11,658	8,426
上十幌町	357	300	登別市	372	249
鹿追町	9,486	9,144	伊達市	9,910	9,284
新得町	359	232	豊浦町	17,575	16,779
清水町	5,981	6,721	虻田町	769	701
芽室町	3,544	3,044	洞爺村	105	80
中札内村	6,427	7,268	白老町	468	
大樹町	908	1,029	早来町	16,257	15,857
広尾町	4	7	厚真町	11,168	9,160
幕別町		1	鶴川町	7,399	7,702
池田町	868	754	胆振支庁計	76,398	68,874
豊頃町		2	平取町	3,256	2,981
本別町	15	42	門別町	6,161	5,817
足寄町		2	新冠町	2,388	2,001
十勝支庁計	45,819	45,168	静内町	22	52
上川支庁	5	5	三石町	2,186	2,148
合 計	45,824	45,173	浦河町	68	
			日高支庁計	14,081	12,999
			渡島支庁	6,148	6,175
			檜山支庁	10	
			石狩支庁	43,774	39,980
			空知支庁	26,981	26,490
			後志支庁	69,750	73,131
			上川支庁	2,358	2,726
			留萌支庁	1,612	1,202
			網走支庁	20	92
			十勝支庁	30	134
			釧路支庁	60	
			根室支庁	150	76
			道外	80	
			合 計	241,452	231,879

表6-2. その他の代表的な食肉処理場における豚産地

	八雲町		函館市	
	H16	H17	H16	H17
函館市	128	61	6,135	5,907
松前町				15
知内町			1	
本吉内町			3	
七飯町			2,922	1,404
砂原町	55,927	56,117		
森町	51,832	53,822	18,232	22,376
八雲町	37,217	36,117		
長万部町	3,230	3,358		
渡島支庁計	148,334	149,475	27,293	29,702
江差町	652	995	1,231	1,149
上ノ国町	3,258	3,072	1,022	744
瀬棚町		1	10	45
北檜山町			5,465	4,881
今金町	14,235	14,490		
檜山支庁計	18,145	18,558	7,728	6,819
寿都町	96	34		
黒松内町	31,361	30,631		
留寿都村	300			
ニセコ町	1,355	1,553		
京極町	2,568	2,995	1,091	907
後志支庁計	35,680	35,215	1,091	907
胆振支庁	120	1,871		
合 計	202,279	205,119	36,112	37,428

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

平成 18 年度厚生労働科学研究費補助金(肝炎等克服緊急対策研究事業)
E 型肝炎の感染経路・宿主域・遺伝的多様性・感染防止・診断・治療に関する研究
研究成果の刊行に関する一覧表

- Nakamura M, Takahashi K, Taira K, Taira M, Ohno A, Sakugawa H, Arai M, Mishiro S. Hepatitis E virus infection in wild mongooses of Okinawa, Japan: Demonstration of anti-HEV antibodies and a full-genome nucleotide sequence. *Hepatol Res.* 2006;34(3):137-40.
- Tanaka Y, Takahashi K, Orito E, Karino Y, Kang JH, Suzuki K, Matsui A, Hori A, Matsuda H, Sakugawa H, Asahina Y, Kitamura T, Mizokami M, Mishiro S. Molecular tracing of Japan-indigenous hepatitis E viruses. *J Gen Virol.* 2006;87(Pt 4):949-54.
- Ohnishi S, Kang JH, Maekubo H, Arakawa T, Karino Y, Toyota J, Takahashi K, Mishiro S. Comparison of clinical features of acute hepatitis caused by hepatitis E virus (HEV) genotypes 3 and 4 in Sapporo, Japan. *Hepatol Res.* 2006;36(4):301-7.
- Tamura A, Shimizu YK, Tanaka T, Kuroda K, Arakawa Y, Takahashi K, Mishiro S, Shimizu K, Moriyama M. Persistent infection of hepatitis E virus transmitted by blood transfusion in a patient with T-cell lymphoma. *Hepatol Res.* 2007;37(2):113-20.
- Koike M, Takahashi K, Mishiro S, Matsui A, Inao M, Nagoshi S, Ohno A, Mochida S, Fujiwara K. Full-length sequences of two hepatitis E virus isolates representing an Eastern China-indigenous subgroup of genotype 4. *Intervirology.* 2007;50(3):181-189.
- Fujiyama Y, Yamagishi Y, Kikuchi M, Shimoji K, Kato S, Nagata H, Saito H, Hibi T, Mishiro S. A case of fulminant hepatitis E treated with artificial liver support. *Nippon Shokakibyo Gakkai Zasshi.* 2007; 104(2): 219-25.
- Inoue J, Nishizawa T, Takahashi M, Aikawa T, Mizuo H, Suzuki K, Shimosegawa T, Okamoto H: Analysis of the full-length genome of genotype 4 hepatitis E virus isolates from patients with fulminant or acute self-limited hepatitis E. *J Med Virol* 78:476-484, 2006
- Mitsui T, Tsukamoto Y, Hirose A, Suzuki S, Yamazaki C, Masuko K, Tsuda F, Endo K, Takahashi M, Okamoto H: Distinct changing profiles of hepatitis A and E virus infection among patients with acute hepatitis, patients on maintenance hemodialysis and healthy individuals in Japan. *J Med Virol* 78:1015-1024, 2006
- Inoue J, Takahashi M, Ito K, Shimosegawa T, Okamoto H: Analysis of human and swine hepatitis E virus (HEV) isolates of genotype 3 in Japan that are only 81-83% similar to reported HEV isolates of the same genotype over the entire genome. *J Gen Virol* 87:2363-2369, 2006
- Inoue J, Takahashi M, Yazaki Y, Tsuda F, Okamoto H. Development and validation of an improved RT-PCR assay with nested universal primers for detection of hepatitis E virus strains of significant sequence divergence. *J Virol Methods* 137(2):325-333, 2006
- Tsatsralt-Od B, Takahashi M, Endo K, Agimaa D, Buyankhuu O, Okamoto H. Comparison of hepatitis A and E virus infections among healthy children in Mongolia: evidence for infection with a subgenotype IA HAV in children. *J Med Virol* 79:18-25, 2007
- Tanaka T, Takahashi M, Kusano E, Okamoto H. Development and evaluation of an efficient cell-culture system for *Hepatitis E virus*. *J Gen Virol* 88:903-911, 2007
- Nakai I, Kato K, Miyazaki A, Yoshii M, Li TC, Takeda N, Tsunemitsu H, Ikeda H: Different fecal shedding patterns of two common strains of hepatitis e virus at three Japanese Swine farms. *Am J Trop Med Hyg* 2006;75:1171-1177.
- Mochizuki M, Ouchi A, Kawakami K, Ishida T, Li TC, Takeda N, Ikeda H, Tsunemitsu H: Epidemiological study of hepatitis E virus infection of dogs and cats in Japan. *Vet Rec* 2006;159:853-854.

- Li TC, Saito M, Ogura G, Ishibashi O, Miyamura T, Takeda N: Serologic evidence for hepatitis E virus infection in mongoose. *Am J Trop Med Hyg* 2006;74:932-936.
- 中村正治, 平良勝也, 大野惇, 平良雅克, 佐久川廣, 高橋和明, 三代俊治. 西表(イリオモテ)の野生リュウキュウイノシシから検出された genotype 4 HEV. *肝臓* 2006; 47: 161-162
- 井上学, 道堯浩二郎, 高橋和明, 安倍夏生, 岡清仁, 布井弘明, 上田晃久, 島瀬公一, 日浅陽一, 堀池典生, 三代俊治, 恩地森一. イノシシ肉の摂食あるいは調理行為によって感染した疑いのある主婦に発生した急性E型肝炎の1例. *肝臓* 2006; 47: 459-464
- 阿部敏紀, 相川達也, 赤羽賢浩, 新井雅裕, 朝比奈靖浩, 新敷吉成, 茶山一彰, 原田英治, 橋本直明, 堀皿希子, 市田隆文, 池田広記, 石川晶久, 伊藤敬義, 姜貞憲, 狩野吉康, 加藤秀章, 加藤将, 川上万里, 北嶋直人, 北村庸雄, 正木尚彦, 松林圭二, 松田裕之, 松井淳, 道堯浩二郎, 三原弘, 宮地克彦, 宮川浩, 水尾仁志, 持田智, 森山光彦, 西口修平, 岡田克夫, 齋藤英胤, 佐久川廣, 柴田実, 鈴木一幸, 高橋和明, 山田剛太郎, 山本和秀, 山中太郎, 大和弘明, 矢野公士, 三代俊治. 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: 全国集計 254 例に基づく解析. *肝臓* 2006; 47: 384-391
- 大西幸代, 姜貞憲, 荒川智宏, 狩野吉康, 豊田成司, 前久保博士. 札幌地域 E 型肝炎症例における HEV 感染リスクアンケート調査. *肝臓* 2006; 47: 163-164.

(総説等は省略)

IV. 研究成果の刊行物・別刷

SEROLOGIC EVIDENCE FOR HEPATITIS E VIRUS INFECTION IN MONGOOSE

TIAN-CHENG LI,* MIKA SAITO, GO OGURA, OSAMU ISHIBASHI, TATSUO MIYAMURA, AND NAOKAZU TAKEDA

Department of Virology II, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan; Division of Molecular Virology and Oncology, Department of Microbiology, Graduate School of Medicine, University of the Ryukyus, Okinawa; Laboratory of Subtropical Zoology, Faculty of Agriculture, University of the Ryukyus, Okinawa

Abstract. Although pig and wild boar are considered to be the reservoirs of hepatitis E virus (HEV) in Japan, the spread of HEV to other animals is unknown. Serum samples from 84 mongooses (Small Asian mongoose; *Herpestes javanicus*) collected in Okinawa, Japan were examined for antibodies to HEV by enzyme-linked immunosorbent assay and RNA was analyzed by reverse transcription–polymerase chain reaction. Seven (8.3%) of 84 mongooses were positive for IgG antibodies to HEV, and the antibody-positive rate increased with body weight and size, whereas HEV RNA was not detected in these samples. These results are consistent with the possibility that mongooses in Okinawa are occasionally infected with HEV; however, they are not considered the major zoonotic reservoir of HEV.

INTRODUCTION

Hepatitis E virus (HEV) is the most important cause of acute hepatitis in many developing countries in Asia, the Middle East and north Africa,¹ and was recently classified as the sole member of the genus *Hepevirus* in the family *Hepeviridae*.² Hepatitis E was first recognized when a large waterborne hepatitis outbreak occurred in India in 1955, where the antibody-positive rate of hepatitis A virus is extremely high in all age groups.³ Because HEV is transmitted via an oral-fecal route, contaminated drinking water and food are the primary source of the infection. Although hepatitis E is self-limiting and neither chronic nor persistent infection is observed in the adult population in general, a high mortality rate of 15–20% is reported in pregnant women.⁴

Hepatitis E virus is a nonenveloped, single-stranded positive-sense RNA virus.⁵ Phylogenetic analysis has identified at least four major genotypes of HEV.⁶ Genotype 1 (G1) HEV was isolated from Asia and Africa,^{1,4} genotype 2 (G2) from Mexico,⁷ and genotypes 3 (G3) and 4 (G4) from the United States, European countries, China, Japan, and Vietnam.^{8–13} These viruses are believed to compose a single serotype.¹⁴

Although most cases were imported into developed countries, recent studies have showed that hepatitis E occurred in patients who had never been abroad.^{9,10} Genetically similar G3 and G4 HEVs isolated from pigs, deer, and wild boars,^{8,15,16} and serum antibodies to HEV in a variety of animals including pigs, deer, wild boars, wild rats, dogs, cats, and cows^{17,18} suggest that hepatitis E is a zoonosis. Recently, direct evidence of G3 HEV transmission from deer and wild boar meats to humans was clearly provided in Japan, suggesting that wild animals are the zoonotic reservoir of HEV in this country.^{15,16} Transmission from visceral organs of pigs to humans has also been suspected.¹⁹

Okinawa is located southwest of Japan, where mongoose (Small Asian mongoose; *Herpestes javanicus*), an exotic animal, was introduced from India in 1910 for the control of a poisonous snake (habu) and rats. The number of mongooses and their living area increased quickly because there was no natural predator of this animal in Okinawa. This caused a disruption of the ecology. Since wild boars also live on this island, mongooses have an opportunity to be exposed to HEV from infected boars.

To find HEV reservoirs other than pigs, deer, and wild boars, and to determine whether HEV spreads to other wild animals, we analyzed serum samples from 84 mongooses captured in Okinawa for antibodies to HEV and viral RNA. IgG antibodies to HEV were found in 8.3% of the mongooses, suggesting that although HEV infection may occur among mongooses, they are not the major zoonotic reservoir of HEV.

MATERIALS AND METHODS

Mongoose sera. Wild *H. javanicus* (54 males and 30 females) were captured between July 2004 and May 2005 in Okinawa. The mongooses were transferred to the laboratory and anesthetized. Their sex was identified, and their body weights and head and body length (body size) were measured. Blood was collected by cardiac puncture under anesthesia, and allowed to clot at room temperature for one hour. The serum fraction was collected by centrifugation and stored at –20°C until use.

Preparation of recombinant virus-like particles. A recombinant baculovirus, Ac5480/7126, that harbors the G1 HEV capsid protein gene with a 111-amino-acid deletion at the N-terminal was constructed as previously described.²⁰ Briefly, Tn5 cells (High Five™; Invitrogen, Carlsbad, CA) were infected with Ac5480/7126 at a multiplicity of infection of 10 and incubated at 26.5°C for 7 days. The intact cells and cell debris were removed from the culture medium, and the recombinant virus-like particles (VLPs) with a molecular mass of 53 kD were concentrated by centrifugation at 100,000 × g for 2 hours in an SW28 rotor (Beckman Instruments, Inc., Fullerton, CA). The VLPs were further purified by isopycnic binding in a CsCl gradient.²¹ Recombinant baculoviruses that express N-terminal truncated capsid proteins of G3 and G4 HEV were similarly prepared, and the 53-kD VLPs were also prepared (Li T-C and others, unpublished data).

Detection of antibodies to HEV in mongoose. Flat-bottom 96-well polystyrene microplates (Immulon 2; Dynex Technologies, Inc., Chantilly, VA) were coated with the purified VLPs (1 µg/mL, 100 µL/well). The plates were incubated overnight at 4°C. Unbound VLPs were removed, and the wells were washed twice with 10 mM phosphate-buffered saline containing 0.05% Tween 20 (PBS-T) and blocked at 37°C for 1 hour with 200 µL of 5% skim milk (Difco Laboratories, Detroit, MI) in PBS-T. After the plates were washed four times with PBS-T, mongoose serum (100 µL/well) was added in duplicate at a dilution of 1:200 in PBS-T containing 1%

* Address correspondence to Tian-Cheng Li, Department of Virology II, National Institute of Infectious Diseases, Gakuen 4-7-1, Musashi-Murayama, Tokyo 208-0011, Japan. E-mail: litc@nih.go.jp

skim milk. The plates were incubated at 37°C for 1 hour and washed four times as described above. The wells were incubated with 100 μ L of peroxidase-conjugated goat anti-cat IgG (heavy plus light chain) (1:4,000 dilution) (Kirkegaard and Perry Laboratories, KPL, Guildford, United Kingdom) or anti-cat IgM (1:1,000 dilution) (Kirkegaard and Perry Laboratories) in PBS-T containing 1% skim milk. The plates were incubated at 37°C for 1 hour and washed four times with PBS-T. One hundred microliters of substrate (*o*-phenylenediamine; Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) and H₂O₂ was added to each well. The plates were incubated in the dark at room temperature for 30 minutes and 50 μ L of 4 N H₂SO₄ was added to each well. After the plates were incubated at room temperature for 10 minutes, the absorbance at 492 nm was measured.

Western blot assay. Approximately 1 μ g of VLPs was separated by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) and electrophoretically transferred onto a nitrocellulose membrane. The membrane was blocked with 5% skim milk in 50 mM Tris-HCl, pH 7.4, and 150 mM NaCl and incubated with mongoose serum (1:500 dilution), followed by horseradish peroxidase (HRP)-conjugated goat anti-cat IgG (heavy plus light chain) (1:1,000 dilution). The membrane was treated with electrogenerated chemiluminescence detection reagent (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ) according to the manufacturer's instruction and exposed to FP-3000B45 film (Fuji, Tokyo, Japan).

Detection of HEV RNA by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). Total RNA was extracted with RNAzol-LS reagent (Tel-Test Inc., Friendswood, TX) using 200 μ L of the mongoose serum and resuspended in 20 μ L of DNase-, RNase-, and proteinase-free water. Reverse transcription was performed at 42°C for 50 minutes and 70°C for 15 minutes with 1 μ L of oligo (dT) primer, 1 μ L of superscript II reverse transcriptase (Gibco-Bethesda Research Laboratories, Gaithersburg, MD), 0.5 μ L of 0.1 M dithiothreitol, 4 μ L of 5 \times reverse transcription buffer, and 1 μ L of 10 mM deoxynucleoside triphosphates. Two microliters of the resulting cDNA were amplified in a 50- μ L nested PCR with ExTaq DNA polymerase (Takara Shuzo Co. Ltd., Kyoto, Japan) with an external sense primer HEV-F1 (5'-GGBGTBGCNGAGGAGGAGGC-3', nucleotide residues 5903-5922 of the G1 Myanmar strain D10330) and an anti-sense primer HEV-R2 (5'-TGYTGGTTRTCRTARTCTG-3', nucleotide residues 6486-6467 of the G1 Myanmar strain, GenBank accession no. D10330) using the GeneAmp PCR System 9700 (Perkin Elmer Biosystems, Foster City, CA). Each cycle consisted of the denaturation at 95°C for 30 seconds, primer annealing at 55°C for 30 seconds, and extension at 72°C for 60 seconds, followed by a final extension at 72°C for 7 minutes. The nested PCR was conducted with the internal sense primer HEV-F2 (5'-TAYCGHAAYCAAG-GHTGGCG-3', nucleotide residues 5939-5958) and the internal antisense primer HEV-R1 (5'-CGACGAAATYAAT-TCTGTGCG-3', nucleotide residues 6316-6297) using the same conditions.¹⁶

RESULTS

Detection of mongoose IgG and IgM with anti-cat IgG and IgM. Because no peroxidase-conjugated antibody to mon-

goose IgG or IgM is commercially available, we explored the cross-reactivity of mongoose IgG and IgM with those of other animals. Since the mongoose is in the family *Herpestidae* order *Carnivora*, the reactivity between mongoose IgG or IgM and anti-cat IgG or IgM was evaluated.

Two-fold dilutions of pooled mongoose sera were used to coat the microplate. After blocking, peroxidase-conjugated goat anti-cat IgG or IgM was added to determine whether anti-cat antibodies are capable of binding to the mongoose antibodies. Peroxidase-conjugated goat anti-rabbit IgG or IgM was added to the control wells. As shown in Figure 1, the mongoose serum reacted with both HRP-goat anti-cat IgG and IgM. The control well did not show any reactivity with these antibodies. These results indicated that the anti-cat antibodies cross-reacted with mongoose IgG and IgM, and that the HRP-goat anti-cat IgG and IgM are useful as the second antibody in detecting mongoose IgG and IgM by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

Detection of IgG and IgM antibodies to HEV in mongoose sera. The mongoose serum samples were tested for IgG and IgM antibodies to HEV at a dilution of 1:200 by ELISA. The distribution of optical density (OD) values is shown in Figure 2. The OD values for IgM antibodies to HEV ranged from 0.09 to 0.321, and one serum sample with a titer of 200 had an OD value greater than 0.20. The OD values for IgG antibodies to HEV ranged from 0.011 to 3.751, and 7 sera whose titers ranged from 200 to 12,800 had OD values greater than 0.20 (Table 1).

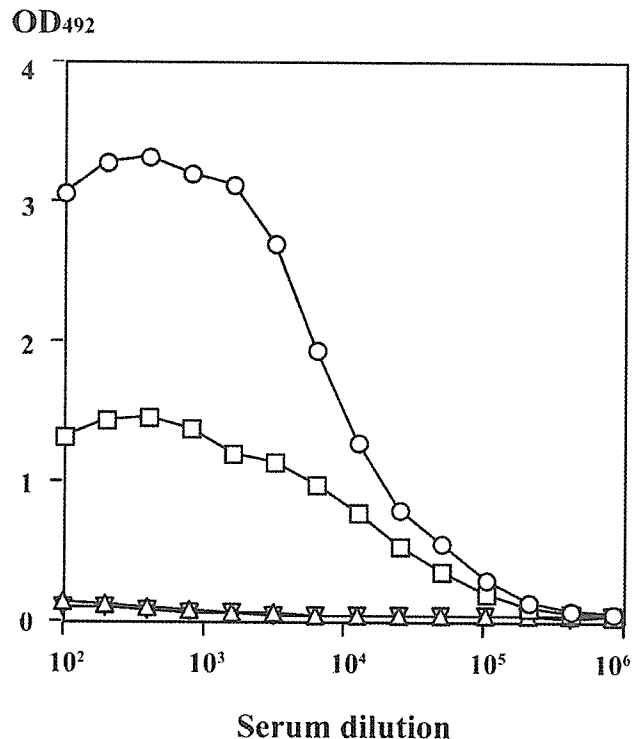


FIGURE 1. Detection of mongoose IgG and IgM with anti-cat IgG and IgM by enzyme-linked immunosorbent assay. Two-fold dilutions of pooled sera from 10 mongooses were used to coat a 96-well microplate. The reactivity of peroxidase-conjugated goat anti-cat IgG (○) and IgM (□) or horseradish peroxidase-conjugated goat anti-rabbit IgG (△) and IgM (▽) was measured. OD₄₉₂ = optical density at 492 nm.

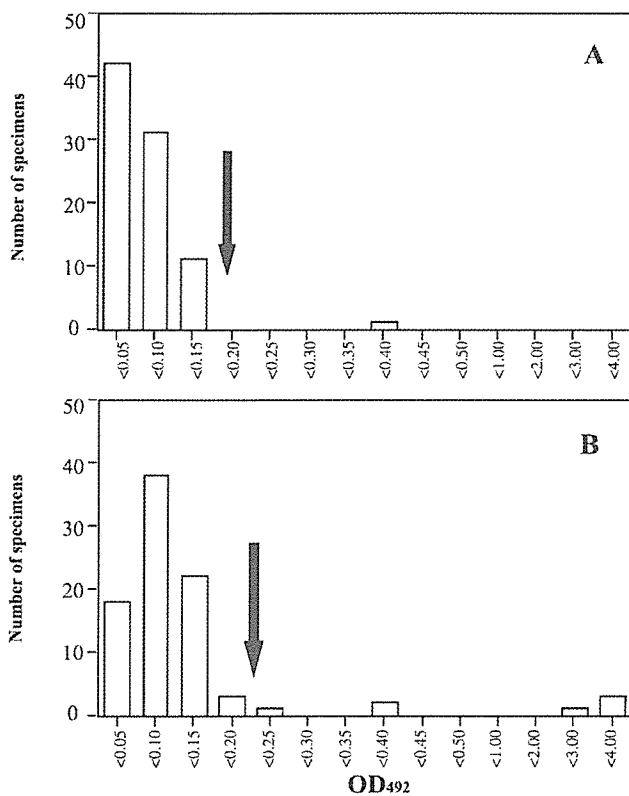


FIGURE 2. Distribution of mean optical density values at 492 nm (OD_{492}) of mongoose IgM (A) and IgG (B) antibodies. Serum samples from 84 mongooses were tested, and the values were plotted as a frequency distribution. The arrows indicate the cut-off values.

Specificity of IgG antibody in mongoose sera. To determine whether the IgG antibody detected in mongoose sera was specific for HEV, nine serum samples were selected and examined by Western blot assay. The G1, G3, and G4 VLPs were separated by SDS-PAGE and electrophoretically transferred onto a nitrocellulose membrane. A serum dilution of 1:500 was used for the assay. As shown in Figure 3, strong bands with a molecular mass of 53 kD corresponding to G1, G3, and G4 VLPs were detected with in serum samples 8, 39, 58, and 66. The OD values of these sera ranged from 2.529 to 3.751, as determined by ELISA. Weak bands were detected with in serum samples 52 and 65 whose OD values were 0.383 and 0.387, respectively. No bands were detected in serum samples 60, 41, and 10, which had low OD values, 0.204, 0.175, and 0.065, respectively, as determined by ELISA. These re-

TABLE 1
OD values and antibody titers in mongoose sera*

Serum sample	OD values (IgG/IgM)	Antibody titers (IgG/IgM)
No. 8	3.751/0.321	12,800/200
No. 39	3.268/0.065	6,400(< 200)
No. 52	0.383/0.047	400(< 200)
No. 58	3.268/0.103	12,800(< 200)
No. 60	0.204/0.049	200(< 200)
No. 65	0.387/0.067	400(< 200)
No. 66	2.529/0.098	3,200(< 200)

* OD = optical density.

sults indicated that the IgG antibodies to HEV detected in mongoose serum by ELISA were specific for HEV.

Prevalence of IgG and IgM antibodies to HEV in mongoose sera. The cutoff value of IgG for the ELISA was determined with 78 antibody-negative serum samples. The OD values for IgG antibodies to HEV in these serum samples ranged from 0.011 to 0.204 (mean \pm SD value = 0.086 ± 0.037). The cutoff value (mean + 3SD) was 0.196 (Figure 2). When this value was used, the prevalence of IgG antibodies to HEV was 8.3% (7 of 84). The antibody-positive rate was 3.3% in females and 11.1% in males; however, the difference between sexes was not statistically significant ($P > 0.05$). The average body weight and body size were 565.3 grams (range = 182.5–1,037.9) and 553.8 mm (range = 402–654), respectively.

When the antibody-positive rate was analyzed according to body weight, the antibody-positive rate for IgG to HEV was 11.1% in animals with body weights of 500–599 grams, 12.5% in animals with body weights of 600–699 grams, 11.1% in animals with body weights of 700–799 grams, 20% in animals with body weights of 800–899 grams, and 33.3% in animals with body weights greater than 900 grams. IgG antibody to HEV was not detected in animals with body weights less than 500 grams. Thus, the antibody-positive rate increased with body weight.

The antibody-positive rate for IgG to HEV was 11.1% in animals with a body size of 550–599 mm and 21.2% in animals with a body size of 600–654 mm. IgG antibody to HEV was not detected in animals with body sizes less than 500 mm, which shows that antibody-positive rate also increased with the body size. The mean \pm SD OD value of IgM antibody to HEV in these 78 sera was 0.062 ± 0.031 . The cutoff value was 0.155 ($0.062 + 3 \times 0.031$). When analyzed with this cutoff value, one mongoose serum sample (no. 8) was positive for IgM antibody; the prevalence rate was 1.2% (1 of 84).

Detection of HEV RNA by RT-PCR. All 84 mongoose serum samples tested by RT-PCR were negative for HEV RNA.

DISCUSSION

The mongoose is a small, cat-like carnivore that is a member of the family *Herpestidae*. It is between one and four feet in length, and inhabits in Asia, the Caribbean, and southern Europe, comprising more than 30 species. Although the small Asian mongoose was introduced into Okinawa for the control of habu snakes and rats, this animal eats not only habu snakes and rats, but also other small animals.

An ELISA with recombinant HEV VLPs was used to detect IgG and IgM antibodies to HEV in the mongoose. This assay was capable of detecting antibodies to HEV in human sera with high sensitivity and specificity.²² Although only one serotype was recognized and four genotypes were identified in HEV, we used G1, G3, and G4 VLPs as antigens to compare the reactivity. No significant difference was found between the genotypes. The specificity of the ELISA was confirmed by Western blot assay. Among seven samples positive for IgG antibodies to HEV by ELISA, one sample (no. 60) was negative by Western blot assay, a result that was probably due to a low antibody titer in the ELISA (OD value of the 1:200 serum dilution = 0.204 and antibody titer = 200) and the lower sensitivity of the Western blot assay.

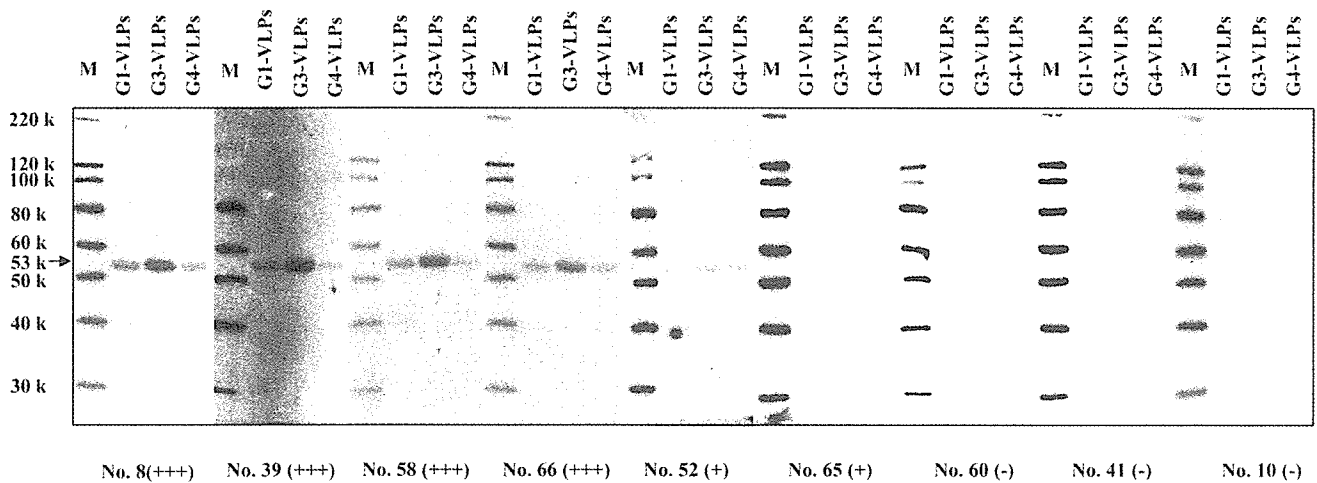


FIGURE 3. Specificity of the IgG antibody determined by Western blot assay. The G1, G3, and G4 virus-like particles (VLPs) were used as the antigens, and nine mongoose sera with different optical density values were evaluated. Strong bands (+++), weak bands (+), and no bands (-) by Western blot assay are indicated. Lane M = molecular weight marker.

In this study, only one mongoose was positive for IgM antibodies to HEV and the titer was low (200). We were not able to amplify any HEV sequence in these 84 mongoose serum samples, including the sample positive for IgM antibodies to HEV. Therefore, the genotype of the HEV-infected mongoose in Okinawa is unknown. In experimentally infected monkeys, the period of the viremia was very short, and HEV RNA was detected in serum only 1–2 weeks after seroconversion.²³ This could be one of the reasons why the HEV genome was not detected in serum.

The prevalence of antibodies to HEV was high in domestic pigs and wild boar; they are considered to be possible reservoirs of HEV in Japan. In contrast, the prevalence of IgG antibodies to HEV in mongooses (8.3%) was lower than that in pigs (58%), wild rats (44–94%), or wild boars (44%)^{24,25} (Li T-C and others, unpublished data). This finding suggests that mongooses may not be the major reservoir of HEV in Okinawa, but may occasionally be infected with HEV. The current source and route of infection are not clear. Since many wild boars inhabit Okinawa and were eventually infected with HEV, the virus might spread to the surrounding environment by means of animals' stool. Mongooses also inhabit the region that wild boars inhabit, and might thus be exposed to HEV. Because mongooses catch insects, crabs, worms, lizards, and other small creatures for food, transmission of HEV may occur if these creatures are infected. The positive rate for IgG antibody to HEV increases with body weight and size, indicating that the exposure to HEV increases with age.

It has been reported that HEV is excreted in low concentrations by humans,²⁶ and that a small amount of HEV is excreted in experimentally infected monkeys. This may explain the lower efficiency of the transmission of HEV, and may result in the lower prevalence of antibodies to HEV in the mongoose.

In summary, mongooses in Okinawa were infected with HEV; however, the source of infection, the routes of transmission, and their genotype are still unknown. Further serologic and genetic investigations with larger number of specimens are needed.

Received November 14, 2005. Accepted for publication January 23, 2006.

Acknowledgments: We thank Tomoko Mizoguchi for secretarial work.

Financial support: This study was supported in part by grants for Research on Emerging and Re-Emerging Infectious Diseases, Research on Hepatitis, and Research on Food Safety from the Ministry of Health, Labor and Welfare, Japan.

Authors' addresses: Tian-Cheng Li, Tatsuo Miyamura, and Naokazu Takeda, Department of Virology II, National Institute of Infectious Diseases, Gakuen 4-7-1, Musashi-Murayama, Tokyo 208-0011, Japan. Telephone: 81-42-561-0771. Fax: 81-42-561-4729. E-mails: litc@nih.go.jp, tmiyam@nih.go.jp, and ntakeda@nih.go.jp. Mika Saito, Division of Molecular Virology and Oncology, Department of Microbiology, Graduate School of Medicine, University of the Ryukyus, 207 Uehara, Nishihara, Okinawa 903-0215, Japan. Telephone: 81-98-895-1132, Fax: 81-98-895-1410, E-mail: mikas@med.u-ryukyu.ac.jp. Go Ogura and Osamu Ishibashi, Laboratory of Subtropical Zoology, Faculty of Agriculture, University of the Ryukyus, 1 Senbaru, Nishihara, Okinawa 903-0213, Japan. Telephone and Fax: 81-98-895-8779, E-mail: ogurago@agr.u-ryukyu.ac.jp.

REFERENCES

1. Purcell RH, Emerson SU, 1999. Hepatitis E virus. Mandel GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. Fifth edition. New York: Churchill Livingstone, 5424–5436.
2. Emerson SU, Anderson D, Arankalle A, Meng XJ, Purdy M, Schlauder GG, Tsarev SA, 2004. Hepatitis E virus. Fauquet CM, Mayo MA, Maniloff J, Desselberger U, Ball LA, eds. *Virus Taxonomy, VIIIth Report of the ICTV*. London: Elsevier/Academic Press, 851–855.
3. Jameel S, 1999. Molecular biology and pathogenesis of hepatitis E virus. *Expert Rev Mol Med* 1999: 1–16.
4. Kane MA, Bradley DW, Shrestha SM, Maynard JE, Cook EH, Mishra RP, Joshi DD, 1984. Epidemic non-A, non-B hepatitis in Nepal. Recovery of a possible etiologic agent and transmission studies in marmosets. *JAMA* 252: 3140–3145.
5. Tam AW, Smith MM, Guerra ME, Huang CC, Bradley DW, Fry KE, Reyes GR, 1991. Hepatitis E virus (HEV): molecular cloning and sequencing of the full-length viral genome. *Virology* 185: 120–131.
6. Schlauder GG, Mushahwar IK, 2001. Genetic heterogeneity of hepatitis E virus. *J Med Virol* 65: 282–292.

7. Velazquez O, Stetler HC, Avila C, Ornelas G, Alvarez C, Hadler SC, Bradley DW, Sepulveda J, 1990. Epidemic transmission of enterically transmitted non-A, non-B hepatitis in Mexico, 1986–1987. *JAMA* 263: 3281–3285.
8. Meng XJ, Purcell RH, Halbur PG, Lehman JR, Webb DM, Tsareva TS, Haynes JS, Thacker BJ, Emerson SU, 1997. A novel virus in swine is closely related to the human hepatitis E virus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94: 9860–9865.
9. Schlauder GG, Dawson GJ, Erker JC, Kwo PY, Knigge MF, Smalley DL, Rosenblatt JE, Desai SM, Mushahwar IK, 1998. The sequence and phylogenetic analysis of a novel hepatitis E virus isolated from a patient with acute hepatitis reported in the United States. *J Gen Virol* 79: 447–456.
10. Takahashi K, Iwata K, Watanabe N, Hatahara T, Ohta Y, Baba K, Mishiro S, 2001. Full-genome nucleotide sequence of a hepatitis E virus strain that may be indigenous to Japan. *Virology* 287: 9–12.
11. Wang Y, Zhang H, Ling R, Li H, Harrison TJ, 2000. The complete sequence of hepatitis E virus genotype 4 reveals an alternative strategy for translation of open reading frames 2 and 3. *J Gen Virol* 81: 1675–1686.
12. Hijikata M, Hayashi S, Trinh NT, Ha le D, Ohara H, Shimizu YK, Keicho N, Yoshikura H, 2002. Genotyping of hepatitis E virus from Vietnam. *Intervirology* 45: 101–104.
13. Takahashi K, Kang JH, Ohnishi S, Hino K, Mishiro S, 2002. Genetic heterogeneity of hepatitis E virus recovered from Japanese patients with acute sporadic hepatitis. *J Infect Dis* 185: 1342–1345.
14. Purcell RH, Emerson SU, 2001. Hepatitis E virus. Knipe DM, Howley PM, eds. *Fields Virology*. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins. 3051–3061.
15. Tei S, Kitajima N, Takahashi K, Mishiro S, 2003. Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings. *Lancet* 362: 371–373.
16. Li TC, Chijiwa K, Sera N, Ishibashi T, Etoh Y, Shinohara Y, Ishida M, Sakamoto S, Takeda N, Miyamura T, 2005. Hepatitis E virus transmission from wild boar meat. *Emerg Infect Dis* 11: 1958–1960.
17. Meng XJ, 2000. Novel strains of hepatitis E virus identified from humans and other animal species: is hepatitis E a zoonosis? *J Hepatol* 33: 842–845.
18. Sonoda H, Abe M, Sugimoto T, Sato Y, Bando M, Fukui E, Mizuo H, Takahashi M, Nishizawa T, Okamoto H, 2004. Prevalence of hepatitis E virus (HEV) infection in wild boars and deer and genetic identification of a genotype 3 HEV from a boar in Japan. *J Clin Microbiol* 42: 5371–5374.
19. 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.
20. Li TC, Yamakawa Y, Suzuki K, Tatsumi M, Razak MA, Uchida T, Takeda N, Miyamura T, 1997. Expression and self-assembly of empty virus-like particles of hepatitis E virus. *J Virol* 71: 7207–7213.
21. Li TC, Suzaki Y, Ami Y, Dhole TN, Miyamura T, Takeda N, 2004. Protection of cynomolgus monkeys against HEV infection by oral administration of recombinant hepatitis E virus-like particles. *Vaccine* 22: 370–377.
22. Li TC, Zhang J, Shinzawa H, Ishibashi M, Sata M, Mast EE, Kim K, Miyamura T, Takeda N, 2000. Empty virus-like particle-based enzyme-linked immunosorbent assay for antibodies to hepatitis E virus. *J Med Virol* 62: 327–333.
23. Meng XJ, Halbur PG, Haynes JS, Tsareva TS, Bruna JD, Royer RL, Purcell RH, Emerson SU, 1998. Experimental infection of pigs with the newly identified swine hepatitis E virus (swine HEV), but not with human strains of HEV. *Arch Virol* 143: 1405–1415.
24. Takahashi M, Nishizawa T, Miyajima H, Gotanda Y, Iita T, Tsuda F, Okamoto H, 2003. 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* 84: 851–862.
25. Kabrane-Lazizi Y, Fine JB, Elm J, Glass GE, Higa H, Diwan A, Gibbs CJ Jr, Meng XJ, Emerson SU, Purcell RH, 1999. Evidence for widespread infection of wild rats with hepatitis E virus in the United States. *Am J Trop Med Hyg* 61: 331–335.
26. Ticehurst J, Popkin TJ, Bryan JP, Innis BL, Duncan JF, Ahmed A, Iqbal M, Malik I, Kapikian AZ, Legters LJ, P RH, 1992. Association of hepatitis E virus with an outbreak of hepatitis in Pakistan: serologic responses and pattern of virus excretion. *J Med Virol* 36: 84–92.