

Demographic, epidemiological, and virological characteristics of hepatitis E virus infections in Japan based on 254 human cases collected nationwide

Toshinori Abe¹⁾, Tatsuya Aikawa²⁾, Yoshihiro Akahane³⁾, Masahiro Arai⁴⁾, Yasuhiro Asahina⁵⁾, Yoshinari Aтарashi⁶⁾, Kazuaki Chayama⁷⁾, Hideharu Harada⁸⁾, Naoaki Hashimoto⁹⁾, Akiko Hori¹⁰⁾, Takafumi Ichida¹¹⁾, Hiroki Ikeda¹²⁾, Akihisa Ishikawa¹³⁾, Takayoshi Ito¹⁴⁾, Jong-Hon Kang¹⁵⁾, Yoshiyasu Karino¹⁶⁾, Hideaki Kato¹⁷⁾, Masaru Kato¹⁸⁾, Mari Kawakami¹⁹⁾, Naoto Kitajima²⁰⁾, Tsuneo Kitamura²¹⁾, Naohiko Masaki²²⁾, Keiji Matsubayashi²³⁾, Hiroyuki Matsuda²⁴⁾, Atsushi Matsui²⁵⁾, Kojiro Michitaka²⁶⁾, Hiroshi Mihara²⁷⁾, Katsuhiko Miyaji²⁸⁾, Hiroshi Miyakawa²⁹⁾, Hitoshi Mizuo³⁰⁾, Satoshi Mochida³¹⁾, Mitsuhiko Moriyama³²⁾, Shuhei Nishiguchi³³⁾, Katsuo Okada³⁴⁾, Hidetsugu Saito³⁵⁾, Hiroshi Sakugawa³⁶⁾, Minoru Shibata³⁷⁾, Kazuyuki Suzuki³⁸⁾, Kazuaki Takahashi⁴⁾, Gotaro Yamada³⁹⁾, Kazuhide Yamamoto⁴⁰⁾, Taro Yamanaka⁴¹⁾, Hiroaki Yamato⁴²⁾, Koji Yano⁴³⁾, Shunji Mishiro⁴⁾

To know the reality of hepatitis E virus (HEV) infections in Japan, quite obscure until a few years ago, we have collected a total of 254 human cases of HEV infection, and analyzed for demographic, epidemiological, and virological characteristics. As a result, we now know [i] HEV has penetrated nationwide from Hokkaido to Okinawa; [ii] hepatitis E is a disease of middle-aged people (approx. 50 years old in average) with a predominance of male over female (approx. 3.5 vs 1); [iii] HEV strains of genotype 3 and 4 are autochthonous in Japan, but the latter is present almost exclusively in Hokkaido; [iv] the older the age the severer the disease; [v] HEV genotype 4 is associated with more obvious and severer clinical manifestations than genotype 3; [vi] no seasonality in its incidence; and [vii] transmission routes remain obscure in most cases (approx. 60%), whereas about 30%, 8%, and 2% are ascribable to zoonotic food-borne transmission, imported infection, and via blood transfusion, respectively.

Kanzo 2006; 47: 384—391

1) Isshin Hospital, 2) Aikawa Naika Hospital, 3) Kofu Municipal Hospital, 4) Toshiba General Hospital, 5) Musashino Red Cross Hospital, 6) Toyama Medical University, 7) Hiroshima University School of Medicine, 8) NHO Tokyo Hospital, 9) Tokyo Teishin Hospital, 10) Kokuho Central Hospital, 11) Juntendo University Shizuoka Hospital, 12) Kansai Medical University, 13) Hitachi General Hospital, 14) Showa University School of Medicine, 15) Teine Keijinkai Hospital, 16) Sapporo Kosei Hospital, 17) Toyokawa Municipal Hospital, 18) Hokkaido University School of Medicine, 19) Tottori University School of Medicine, 20) Kasai City Hospital, 21) Juntendo University Urayasu Hospital, 22) International Medical Center of Japan, 23) JRC Hokkaido Blood Center, 24) Matsuda Naika Clinic, 25) Shisei Hospital, 26) Ehime University School of Medicine, 27) Takaoka Municipal Hospital, 28) Osaka Medical College, 29) Teikyo University School of Medicine at Mizonokuchi, 30) Kin-ikyo Chuo Hospital, 31) Saitama Medical University, 32) Nihon University School of Medicine, 33) Hyogo Medical University, 34) Tottori Prefectural Central Hospital, 35) Keio University School of Medicine, 36) Heart-life Hospital, 37) NTT East Japan Kanto Hospital, 38) Iwate Medical University, 39) Kawasaki Medical University, 40) Okayama Saiseikai General Hospital, 41) Itabashi Chuo Hospital, 42) Kitami Red Cross Hospital, 43) NHO Nagasaki Medical Center

<短 報>

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

中村 正治¹⁾ 平良 勝也²⁾ 大野 惇²⁾ 平良 雅克¹⁾
佐久川 廣³⁾ 高橋 和明⁴⁾ 三代 俊治⁴⁾*

緒言: Hepatitis E virus (HEV)によって惹起されるE型肝炎は、従来我が国では、流行地からの帰国後に発症する輸入感染症と考えられてきたが、近年、海外渡航歴のない発症例¹⁾や動物肉の生食による発症事例²⁾が報告され、地域土着HEV株の存在や、本症が動物由来感染症の一つであることが分かってきた。また、多くの動物から抗HEV抗体やHEV-RNAの検出が報告されており、中でもブタやイノシシは高率にHEVを保有する動物として注目されている。今回我々は、沖縄県の八重山諸島西表島に棲息するリュウキュウイノシシにおけるHEV保有状況を把握するために、イノシシ血清からのHEV-RNA検出を試みたので報告する。

材料と方法: 2000年に西表島で捕獲されたリュウキュウイノシシ(*Sus scrofa riukiuanus*)15頭(推定年齢6か月~5歳)の血清を使用した。RNA抽出キット(QIAamp Viral RNA Mini Kit:キアゲン)を使用してウイルスRNAを抽出後、既報告のプライマー³⁾を用いてHEVのORF1領域の一部326ntを標的としてRT-PCRを実施した。PCR陽性検体は、ABI 310 DNA sequencer (Applied Biosystems)を使用して塩基配列を決定し、既知HEV株との相同性の比較及び系統解析を実施した。

結果: イノシシ血清15検体中2検体(推定年齢8か月齢, 7か月齢)からHEV-RNAが検出され、リュウキュウイノシシもHEVを保有していることが確認された。検出された2株(wbOK126, wbOK128)相互間のORF1領域326ntにおける相同性は、塩基レベルで96.9%、アミノ酸レベルでは100%で、両者は近縁であった。既知のHEV32株と比較すると、genotype 1~3のHEV15株に対しては75.2~80.1%、genotype 4のHEV17株に対しては83.1~88.7%の相同性であった。また、我が国のイノシシ由来2株^{4, 5)}(JBOAR1-Hyo04:兵庫県, wbJSG1:佐賀県)との

相同性は77.0~77.9%、イノシシ肉や肝臓の生食によりHEVに感染したヒト由来株ENK-NGS03(317nt, 長崎県)及びJSF-Tot03(鳥取県)とは夫々78.2~79.2%, 84.4~84.7%の相同性であった。世界全体で見ても、wbOK126と最も相同性が高かったのは、中国ブタ由来swCH25株の88.0%、wbOK128の場合も、中国ヒト由来T1株の88.7%でしかなく、比較した既報32株の中に90%以上の塩基相同性を示す株は存在しなかった。ORF1領域326ntの分子系統樹をFig. 1に示した。wbOK126, wbOK128株はGenotype 4に分類され、中国やベトナム由来のHEV株とクラスターを形成した。前述したイノシシに関連したHEV株を含め、我が国のHEV株とは異なる枝に分類された。

考察: 養豚場で群飼育されるブタは、低月齢のうちにHEVに感染してHEV-RNA陽性となるが、5~6か月齢では90%以上が抗HEV-IgG陽性となりウイルス血症は消失すると報告されている⁶⁾。このことから、市場へ流通する約6~7か月齢のブタ肉からHEVが検出される可能性は低いと推察される。しかし野生イノシシは、ブタと同様に高感受性の動物ではあるが、自然界では単独または母子単位で棲息しており、ブタに比べるとHEVに曝露される機会が少ないことから、恐らく感染する月齢は飼育ブタより遅く、HEV-RNAの検出される月齢もブタに比べ高くなるものと思われる。今回15頭中2頭(13.3%)、8か月齢と7か月齢の個体からHEVが検出されたこともこの推測に反しない。従って、狩猟されたイノシシは、市場に流通するブタ肉よりもウイルス血症のステージにある確率が高く、その生食はブタ肉より危険であると言える。

相同性検索及び系統解析結果は、wbOK126及びwbOK128株が、部分的な塩基配列の比較ではあるが、我が国の他の地域で分離されたイノシシ由来株やイノ

¹⁾沖縄県中央食肉衛生検査所, ²⁾沖縄県衛生環境研究所, ³⁾琉球大学医学部付属病院輸血部, ⁴⁾東芝病院研究部

*Corresponding author: shunji.mishiro@toshiba.co.jp

<受付日 2005年12月15日> <採択日 2006年1月20日>

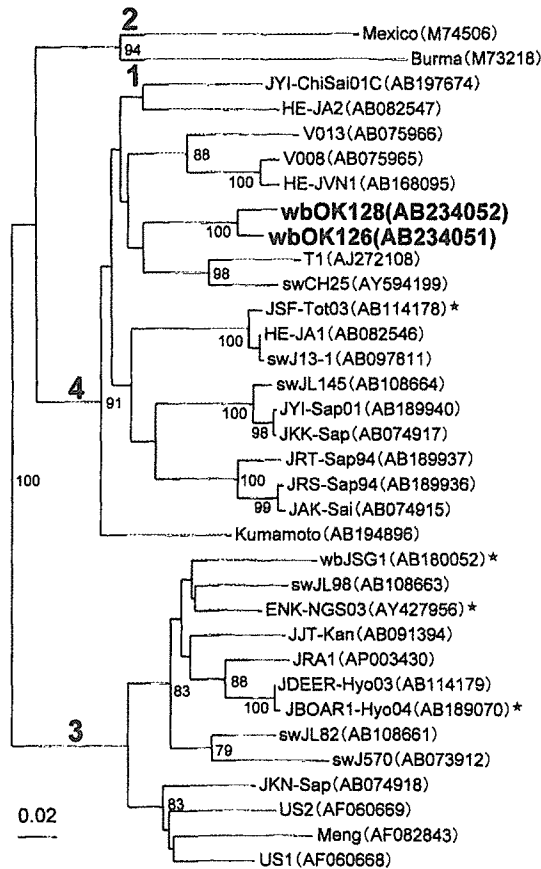


Fig. 1 Phylogenetic tree (NJ method) based on 326 nt within ORF1. In addition to wbOK126 and wbOK128 obtained in this study (in bold-face), 32 known human and swine HEV isolates of genotype 1~4 are included for comparison. The asterisk shows HEV isolates related to wild boar. Numbers at each node indicate bootstrap values greater than 70%.

シシ肉の生食により発症したヒト由来株とは、異なる特徴を有していることを示した。一方、分子系統樹上では、中国のヒト及びブタ由来 HEV 株とクラスターを形成したが、塩基配列の相同性は 90%未満であり近縁とは言い難かった。西表島のイノシシに保有される HEV 株がいつ頃、何処から侵淫してきたかは不明であるが、九州鹿児島県から台湾へ連なる南西諸島の最南西部に位置し、日本の他の地域に比べると中国や東南アジアに近い西表島の地理的背景は、日本株よりは寧ろ中国株に近い独特な HEV が其処に存在する理由の一つかもしれない。

西表島を含む八重山地域では、毎年狩猟により多くのイノシシが捕獲され、行事や祭事において、その肉が生食されることも少なくないとの情報もあるが、現在までに西表島住民における E 型肝炎患者の発生報告はない。しかし、HEV の検査法が確立されてきたのは極く最近であり、症例が見過ごされてきた可能性もある。今後は、沖縄県における E 型肝炎患者のサーベイランスを強化すると共に、ヒトや家畜、野生動物の疫学及び分子疫学調査を実施していくことが E 型肝炎の感染環を知る上で重要であると思われる。

索引用語：E 型肝炎ウイルス、西表島、リュウキュウイノシシ

文献：1) Takahashi K, Iwata K, Watanabe N, et al. *Virology* 2001; 287: 9-12 2) Tei S, Kitajima N, Takahashi K, et al. *Lancet* 2003; 362: 371-3 3) Takahashi K, Kang JH, Ohnishi S, et al. *J Infect Dis* 2003; 185: 1342-5 4) Takahashi K, Kitajima N, Abe N, et al. *Virology* 2004; 330: 501-5 5) Sonoda H, Abe M, Sugimoto T, et al. *J Clin Microbiol.* 2004; 42: 5371-4 6) Takahashi M, Nishizawa T, Miyajima H, et al. *J Gen Virol* 2003; 84: 851-62

英文要旨

Hepatitis E virus isolates of genotype 4 recovered from wild boars in the Iriomote Island, Okinawa

Nakamura M¹⁾, Taira K²⁾, Ohno A²⁾, Taira M¹⁾, Sakugawa H³⁾, Takahashi K⁴⁾, Mishihiro S⁴⁾*

¹⁾ Okinawa Prefectural Meat Hygiene Inspection Center, ²⁾ Okinawa Prefectural Institute of Health and Environment, ³⁾ Transfusion Section, University of the Ryukyus School of Medicine, ⁴⁾ Department of Medical Sciences, Toshiba General Hospital, Japan

We investigated for HEV-RNA in serum samples obtained from 15 wild boars in the Iriomote Island of Okinawa Prefecture, and 2 of 15 (13.3%) were positive for HEV-RNA. Sequence analysis of a part of ORF1 region (326 nt) indicated that the 2 isolates from the Iriomote's boars (wbOK126 and wbOK128) were fairly remote from known strains: none of known sequences showed a nucleotide similarity greater than 90%. In phylogenetic tree analyses, however, the wbOK126 and wbOK128 isolates segregated to genotype 4, and formed a cluster with Chinese strains, rather than with Japanese ones interestingly. Regarding the geographical situation of the Iriomote Island (i.e., nearer to China than to Japan's main lands), our present results provide a clue to the origin of Japan-indigenous HEV strains.

Kanzo 2006; 47: 161-162

<症例報告>

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

井上 学¹⁾ 道堯浩二郎^{2)*} 高橋 和明³⁾ 安倍 夏生³⁾
岡 清仁¹⁾ 布井 弘明¹⁾ 上田 晃久¹⁾⁵⁾ 島瀬 公一⁴⁾
日浅 陽一⁵⁾ 堀池 典生⁵⁾ 三代 俊治³⁾ 恩地 森一⁵⁾

要旨：症例は、54歳の女性。全身倦怠感と黄疸と肝機能異常(T.Bil 2.9mg/dl, AST 1143IU/l, ALT 1767IU/l, γ -GTP 158U/l)により急性肝炎と診断。入院後、安静のみで経過観察し、劇症化、遷延化することなく軽快退院した。海外渡航歴、薬剤服用歴はなく、A, B, C型肝炎ウイルスマーカー陰性、抗核抗体陰性。発症1カ月前にイノシシ肉を摂取していたため、E型肝炎ウイルス(HEV)マーカーを測定したところ、IgM型HEV抗体及びHEV-RNAが陽性であり、急性E型肝炎と診断した。HEV genotypeは3型であった。当初はイノシシ肉の摂食による感染が疑われたが、調理行為により感染した可能性も考えられた。海外渡航歴のない国内発症の急性E型肝炎としては、本例が四国からの初報告例となる。

索引用語： E型肝炎ウイルス イノシシ 急性肝炎 人獣共通感染症

はじめに

E型肝炎ウイルス(HEV)は主として経口感染するRNAウイルスで、南アジアやアフリカに分布することが知られていたが¹⁾²⁾、近年他の多くの地域にも分布していることが明らかになってきた³⁾⁴⁾。本邦でも海外渡航歴のない急性E型肝炎例が報告され、日本土着のHEVの存在が確認されている^{5)~12)}。また、ブタ、イノシシ、シカの肉や肝臓を摂取後に発症した例が北海道、本州、九州より報告されている^{13)~18)}。四国ではこれまで海外渡航歴のない急性E型肝炎例の報告がなかったため、四国に土着するHEVの存否は不明であった。著者らは、イノシシ肉の調理、摂取後に急性E型肝炎を発症した例を経験し、保存されていたイノシシ肉からもHEVを検出し、土着化したHEVが四国にも存在することを

確認したので、報告する。

症 例

症例：54歳、女性、保育園勤務。

主訴：全身倦怠感、黄疸。

家族歴：特記事項なし。夫が狩猟愛好家。

既往歴：特記事項なし。薬物服用歴なし。飲酒歴なし。約30年前にハワイに旅行した以外は海外渡航歴なし。

現病歴：生来健康で肝機能異常を指摘されたことはなかった。2003年11月に夫が5頭のイノシシを捕獲し、肉を数百グラムの大きさのブロック約50個に分けて冷凍保存。月1回程度調理して摂取しており、最後に食したのは2004年5月中旬で、カレーに入れて摂取した。イノシシ肉は生食していないが、解凍した肉を直接手で触れて調理した。その際に明らかな外傷はなかったが、手あれ程度の小さな傷もなかったかどうかは記憶されていない。なお、肉を調理した際に用いた調理器具で生野菜サラダをつくり、夫とともに摂取した。2004年6月上旬より全身倦怠感出現、近医受診し、肝機能異常を指摘され、6月17日(12病日)紹介入院。

入院時現症：意識清明、手掌紅斑なし、眼球結膜結軽度黄染あり、眼瞼結膜貧血なし。胸部異常所見なし。

1) 宇和島社会保険病院内科

2) 愛媛大学光学医療診療部

3) 東芝病院研究部

4) しませ医院

5) 愛媛大学大学院先端病態制御内科学

*Corresponding author: mich@mehime-u.ac.jp

<受付日2006年5月23日><採択日2006年9月15日>

Table 1 Laboratory data on admission (Jun 17, 2004)

T.bil	2.9 mg/dl	WBC	5800 / μ l	IgM-anti-HA	(-)
AST	1143 IU/l	Seg.	55.5 %	HBsAg	(-)
ALT	1767 IU/l	Lym.	34.2 %	IgM-anti-HBc	(-)
LDH	555 IU/l	Mon	12.5 %	HBV-DNA	< 2.6 Log c/ml
γ -GTP	158 U/l	Eos.	1.3 %	anti-HCV	(-)
Ch.E	222 IU/l	Bas.	0.4 %	HCV-RNA	(-)
ZTT	12 U	RBC	433 $\times 10^4$ / μ l	EBV VCA-IgG	(+)
TFT	7 U	Hb	12.8 g/dl	EBV VCA-IgM	(-)
T.protein	7.2 g/dl	Ht	38.4 %	EBV EBNA	(+)
Albumin	4.0 g/dl	Platelet	20.6 $\times 10^4$ / μ l	anti-CMV IgM	(-)
T.Chol.	163 mg/dl	CRP	0.91 mg/dl	anti-HSV IgM	(-)
Fe	174 μ g/dl	PT	85.4 %		
Cu	175 μ g/dl			Urine	
Ferritin	1220 μ g/ml	ANA	< 40	Bil.	(+)
Ceruloplasmin	48.3 mg/dl	AMA	< 20	Urobil.	(++)
		IgG	1650 mg/dl	glucose	(-)
		IgA	141 mg/dl	protein	(-)
		IgM	322 mg/dl		

Table 2 HEV markers of the patient and her husband

	patient		husband
	Jun 17, 2004	Jun 29, 2004	Jun 28, 2004
IgM-anti-HEV	+	+	-
IgG-anti-HEV	+	+	+
HEV-RNA	+	+	-

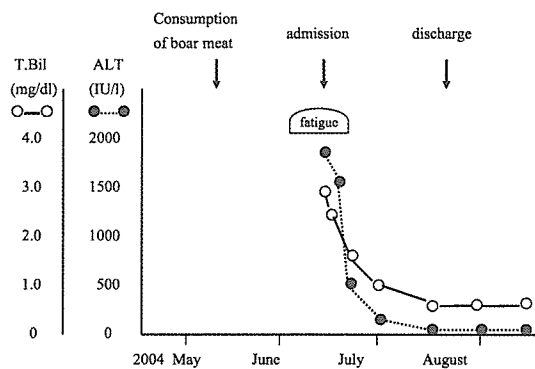


Fig. 1 Clinical course of the patient.

腹部平坦，軟，腹水なし，肝脾触知せず，下腿浮腫なし。神経学的異常所見なし。

入院時検査成績：T Bil 2.9mg/dl，AST 1143IU/l，ALT 1767IU/lであった。A，B，C型肝炎ウイルスマーカーは陰性で，自己抗体も陰性であった(Table 1)。イ

ノシシ肉を摂取した病歴があったため，IgM型HEV抗体，IgG型HEV抗体をELISA法¹⁹⁾，HEV-RNAを既報の方法⁵⁾²⁰⁾で検索したところ，IgM型HEV抗体，IgG型HEV抗体，HEV-RNAすべて陽性であった(Table 2)。なお，一緒にイノシシ肉を摂取した患者の夫はIgG型抗体のみ陽性であった。検査成績と臨床経過より急性E型肝炎と診断した。

臨床経過 (Fig. 1)：入院後自覚症状はすみやかに消失し，肝機能検査値もすみやかに改善。重症化，遷延化することなく肝機能は正常化し，約1カ月の経過で退院した。

HEV 遺伝子解析

患者血清由来 HEV 株：ORF1 の 5' 端に位置する 326 nt の塩基配列 (JNH-Ehi04, DDBJ/EMBL/GenBank accession AB200240) を既報配列と比較したところ，本例由来 HEV 株は，genotype 3 に属してはいたが，本邦から過去に報告された多くの HEV の配列とは大きく異なっており，寧ろギリシャから報告された株 (Grk G

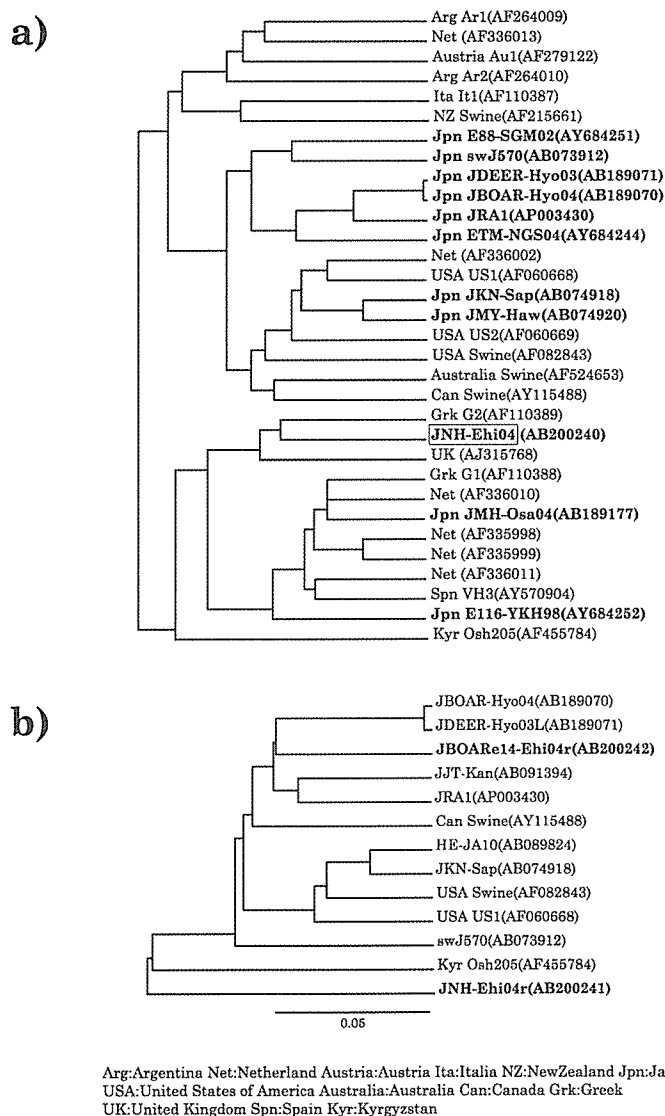


Fig. 2 Phylogenetic tree (NJ method) of HEV genotype 3 based on 326 nt within ORF1. a) JNH-Ehi04 isolated from the patient in the present study, isolates from Japanese patients and those from boars caught in Japan which are shown by bold letter, and isolates from other countries are shown. b) JBOARe14-Ehi04r isolated from the boar in the present study was found to be distinct from JNH-Ehi04.

2) に近似していた (Fig. 2a).

イノシシ肉由来 HEV 株：夫が捕獲した 5 頭のイノシシの年齢は不明であるが、5 頭とも成獣で子供のイノシシは含まれていなかった。肉は当初、約 50 個のブロックに分けて冷凍保存されたが、そのうちの約 35 ブロックは既に消費されており、調査時に残存していたのは

15 ブロックのみだった。そのうちの 1 ブロックが HEV RNA 陽性と判明したが、上述した患者株と同じ領域を増幅し得なかったため、ORF1 の 3' 端に位置する 414 nt の増幅を試みたところ成功した (患者株についても同領域を増幅し直した)。その結果、イノシシ肉ブロック由来 HEV 株 (JBOARe14-Ehi04r, AB200242) と患

者由来 HEV 株 (JNH-Ehi04r, AB200241) は、同じ genotype 3 に属しながらも明らかに別系統であることが判明した (Fig. 2b).

考 察

本例は四国で初めて診断された、海外渡航歴のない急性 E 型肝炎例であり、また四国のイノシシに HEV-RNA が検出されたことから、四国にも HEV の感染源が土着していることが確認された。従前本邦のイノシシから検出された HEV は、沖縄の琉球イノシシから分離された genotype 4 株²¹⁾を除けば全て genotype 3 であるが、本例で調査したイノシシ由来 HEV も genotype 3 であった。肝炎の重症度と HEV の genotype との関連に関しては、本邦例の全国集計より genotype 4 が genotype 3 より重症化率が高いことが報告されており²²⁾、本例も genotype 3 による通常の (重症でない) 肝炎例であった。なお、genotype 3 のなかに重症化に関与する特定の塩基配列または subgenotype が存在するか否か今後の検討課題である。

本例は野生イノシシ肉を調理して摂取した後に発症しており、イノシシが感染源であった可能性が高いと推察されたが、患者由来 HEV 株と、今回調査し得た限りでの保存イノシシ肉由来 HEV 株の配列は大きく異なっていたので、感染源を特定する直接証拠を得ることは出来なかった。

しかし、残存していなかった (即ち患者等によって食べられてしまった) 約 35 ブロックのイノシシ肉の中に、患者由来 HEV 株の塩基配列に一致する HEV 株が存在していた可能性は充分にある。何故なら、我々が別途に行った四国棲息野生イノシシ HEV 感染実態調査によれば、四国の野生イノシシが保有する HEV genotype 3 の中には、少なくとも 3 種の独立する系統が存在するから²³⁾、本症例の夫が捕獲した 5 頭のイノシシが複数の系統の HEV に感染していて、そのうちの 하나가患者由来 HEV 株と同系統であった可能性も十分に考えられるからである。なお、今回分離されたイノシシからの HEV の配列は、本邦から分離された多くの HEV 株と類似しているのに対し、本例から分離された HEV 株の配列は大きく異なっており、四国には本州、九州から過去に報告された HEV とは異なる系統の HEV が存在する可能性が推定される。

患者の夫は IgG 型 HEV 抗体が陽性であったから、過去に HEV の感染 (発病の記憶がないので不顕性感染) を受けた既往があると推察される。妻だけが発症した理由として、夫は感染の既往があるために HEV に対し

て耐性があり、そのために同じ料理を食べたにもかかわらず、発症しなかった可能性が先ず考えられる。しかし、HEV に二度も三度も反復感染する例がインド等で経験されている (Drs Panda & Acharya, personal communications) ことに鑑みれば、夫が感染しなかった理由を抗体陽性という事実だけで説明するのは片手落ちである。別の説明として、調理の際に感染した可能性を、我々は考える。本例ではイノシシ肉が (カレー料理として煮込まれ) 充分加熱されて摂食されていたから、食卓での感染は考え難い。寧ろ、イノシシ肉が生の状態 で存在していた調理場での調理者の感染を考える方が自然である。即ち、調理器具や手に付着したイノシシ体液から経口的に感染した可能性や、調理者体表の傷口から経皮的に感染した可能性が推定される。Li ら²⁴⁾も、夫婦が一度は二人で、一度は友人 9 人と同じイノシシ肉を食べたにもかかわらず、妻だけが急性 E 型肝炎を発症した例を報告している。動物実験で、胃ゾンデを用いた経口接種よりは注射針を用いた経皮接種の方が遥かに容易に HEV を感染せしめ得た (Dr Meng, personal communication) という知見も得られているから、調理の際の傷口からの感染の可能性にも留意する必要がある。イノシシ肉料理の際は、肉の十分な加熱に加え調理器具の十分な洗浄を行うとともに、手に傷のある際には調理の際に手袋をするなどの注意が必要と考えられた。

患者由来の株とは異なっていたものの、イノシシ肉から HEV-RNA が検出されたことより、四国にも土着の HEV が存在し、その宿主の一つはイノシシであることが明らかになった。尚、本患者は保育園勤務者であるが、今回の HEV 感染後に勤務先の園児に二次感染による発病者が出たとの報告は得られていない。これは、A 型肝炎に於いては家族内あるいは学校内の二次感染が比較的頻繁にみられるが、E 型肝炎に於いてはそれが非常に稀であることと、たとえ感染したとしても低年齢者の場合には無症状であることが多いという本感染症の特徴を反映したものと思われる²²⁾。

文 献

- 1) Purcell RH, Emerson SU. Hepatitis E virus. In: Fields Virology, Edited by DM Knipe, PM Howley, DE Griffin, et al. 4th ed, Lippincott, Williams, and Wilkins, Philadelphia, 2001, p3051—3061
- 2) Reyes GR, Purdy MA, Kim JP, et al. Isolation of a cDNA from the virus responsible for enterically

- transmitted non-A, non-B hepatitis. *Science* 1990; 16: 1335—1339
- 3) Schlauder GG, Dawson GJ, Erker JC, et al. 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* 1998; 79: 447—456
 - 4) Buti M, Clemente-Casares P, Jardi R, et al. Sporadic cases of acute autochthonous hepatitis E in Spain. *J Hepatol* 2004; 41: 126—131
 - 5) Takahashi K, Iwata K, Watanabe N, et al. Full-genome nucleotide sequence of a hepatitis E virus strain that may be indigenous to Japan. *Virology* 2001; 287: 9—12
 - 6) Takahashi M, Nishizawa T, Yoshikawa A, et al. Identification of two distinct genotypes of hepatitis E virus in a Japanese patient with acute hepatitis who had not traveled abroad. *J Gen Virol* 2002; 83: 1931—1940
 - 7) Takahashi K, Kang JH, Ohnishi S, et al. Genetic heterogeneity of hepatitis E virus recovered from Japanese patients with acute sporadic hepatitis. *J Infect Dis* 2002; 185: 1342—1345
 - 8) Yamamoto T, Suzuki H, Toyota T, et al. Three male patients with sporadic acute hepatitis E in Sendai, Japan, who were domestically infected with hepatitis E virus of genotype III or IV. *J Gastroenterol* 2004; 39: 292—298
 - 9) Suzuki K, Aikawa T, Okamoto H. Fulminant hepatitis E in Japan. *New Engl J Med* 2002; 347: 1456
 - 10) Ohnishi S, Kang JH, Maekubu H, et al. A case report: two patients with fulminant hepatitis E in Hokkaido, Japan. *Hepatol Res* 2003; 25: 213—218
 - 11) Aikawa T, Kojima M, Takahashi M, et al. Identification of indigenous hepatitis E virus from a Japanese patient who contracted sporadic acute hepatitis in 1982. *J Infect Dis* 2002; 186: 1535—1536
 - 12) 渡邊尚子, 岩田滉一郎, 中尾國明, 他. E型肝炎ウイルス日本土着株に感染し発症したと推定される急性肝炎の1例. *肝臓* 2003; 44: 80—84
 - 13) Matsuda H, Okada K, Takahashi K, et al. Severe hepatitis E virus infection after ingestion of uncooked liver from a wild boar. *J Infect Dis* 2003; 188: 944
 - 14) Tamada Y, Yano K, Yatsushashi H, et al. Consumption of wild boar linked to cases of hepatitis E. *J Hepatol* 2004; 40: 869—870
 - 15) Tei S, Kitajima N, Takahashi K, et al. Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings. *Lancet* 2003; 362: 371—373
 - 16) Masuda JI, Yano K, Tamada Y, et al. Acute hepatitis E of a man who consumed wild boar meat prior to the onset of illness in Nagasaki, Japan. *Hepatol Res* 2005; 31: 178—183
 - 17) Yazaki Y, Mizuo H, Takahashi M, et al. 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* 2003; 84: 2351—2357
 - 18) 脇岡 範, 佐藤幸浩, 岩下裕一, 他. 野生シカ, イノシシを頻回に生食した猟師に生じた E 型急性肝炎の1例: E 型肝炎ウイルスの分子系統樹解析. *日本消化器病学会雑誌* 2005; 102: 723—728
 - 19) Li TC, Zhang J, Shinzawa H, et al. Empty virus-like particle-based enzyme-linked immunosorbent assay for antibodies to hepatitis E virus. *J Med Virol* 2000; 62: 327—333
 - 20) Takahashi K, Kang JH, Ohnishi S, et al. Full-length sequences of six hepatitis E virus isolates of genotype III and IV from patients with sporadic acute or fulminant hepatitis in Japan. *Intervirology* 2003; 46: 308—318
 - 21) 中村正治, 平良勝也, 大野 惇, 他. 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
 - 22) 阿部敏紀, 相川達也, 赤羽賢浩. 本邦における E 型肝炎ウイルス感染の統計学的・疫学的・ウイルス学的特徴: 全国 254 例における解析. *肝臓* 2006; 47: 384—391
 - 23) Michitaka K, Takahashi K, Furukawa S, et al. Prevalence of hepatitis E virus among wild boars in Ehime area of western Japan. *Hepatol Res*, in press
 - 24) Li TC, Chijiwa K, Sera N, et al. Hepatitis E virus transmission from wild boar meat. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 1958—1960

A case of acute hepatitis E developed in a housewife who had cooked and eaten wild boar meat a month before

Gaku Inoue¹⁾, Kojiro Michitaka^{2)*}, Kazuaki Takahashi³⁾, Natsumi Abe³⁾,
Kiyohito Oka¹⁾, Hiroaki Nunoi¹⁾, Akihisa Ueda¹⁾⁵⁾, Kouichi Shimase⁴⁾,
Yoichi Hiasa⁵⁾, Norio Horiike⁵⁾, Shunji Mishiro³⁾, Morikazu Onji⁵⁾

Here we report a 54 year-old woman who was admitted to our hospital due to jaundice and liver dysfunction. Virological markers for hepatitis A, B, and C viruses were negative, but later, it was revealed that she was positive for IgM and IgG antibodies against hepatitis E virus (HEV) as well as for HEV RNA of genotype 3. She did not have a history of traveling abroad in the past 30 years, but had a history of handling, cooking and eating wild boar meat one month before the onset of her disease. Since her husband, who had eaten the boar meat together, did not develop hepatitis E, and since the boar meat was served well-cooked, we suspected that the patient might have got infected with HEV by handling with raw boar meat in the kitchen, not by eating the well-done meat. HEV RNA of genotype 3 was recovered also from a piece of the boar meat that was left-over and kept frozen.

Kanzo 2006; 47: 459—464

-
- 1) Internal Medicine, Uwajima Social Insurance Hospital
 - 2) Department of Endoscopic Medicine, Ehime University Graduate School of Medicine
 - 3) Department of Medical Sciences, Toshiba General Hospital
 - 4) Shimase Clinic
 - 5) Department of Gastroenterology and Metabology, Ehime University Graduate School of Medicine
- *Corresponding author: mich@m.ehime-u.ac.jp

<症例報告>

愛知県内で捕獲された野生イノシシ摂食後に発症した E 型肝炎の 4 例

清水 裕子^{1)*} 山田 雅彦²⁾ 立松 英純¹⁾ 石原 誠¹⁾ 森田 敬一¹⁾
 石黒 義浩²⁾ 片野 義明³⁾ 後藤 秀実³⁾ 高橋 雅春⁴⁾ 岡本 宏明⁴⁾

要旨：愛知県内で捕獲された野生イノシシの肉・内臓を摂食し、約 1~2 カ月後に E 型肝炎を発症した症例を 2005 年と 2006 年に 2 例ずつ合計 4 例経験した。いずれも中高年男性であり、3 例に飲酒歴を認め 1 例に薬剤服用歴を認めた。4 例いずれも著明な肝逸脱酵素の上昇を示し、2 例で劇症化が懸念されステロイドパルス治療を施行、うち 1 例は血漿交換療法を施行した。分離された HEV 株の遺伝子型はいずれも 4 型であり、互いに 98.8~99.8% の塩基配列一致率を示すと同時に、最近愛知県内の野生イノシシから分離された HEV 株とも 99.1~100% の一致率を示した。一方、これまでに北海道を中心に他県で分離されている 4 型 HEV 株との一致率は 85.4%~89.3% に過ぎなかった。以上の結果より、野生イノシシを感染源とする土着 HEV の感染が愛知県内で広がりつつあることが危惧され、感染予防の観点から、早急の感染実態の調査・把握が重要である。

索引用語： E 型肝炎 イノシシ 重症化 genotype 4 zoonosis

はじめに

ごく最近まで E 型肝炎は、赤道周囲の衛生環境不良地域で糞口感染する肝炎として認識されていた。先進諸国においては流行地への旅行後のいわゆる「輸入感染症」として散発的に報告されるのみであり、常在するウイルスではないと考えられていた¹⁾²⁾。しかし近年、日本をふくむ先進諸国にも流行地域とは遺伝子型の異なる E 型肝炎ウイルス (HEV) 株による国内感染例が存在すること³⁾⁴⁾、加えて E 型肝炎が人獣共通感染症であることも明らかにされている^{5)~7)}。HEV には少なくとも 4 種 (1 型~4 型) の遺伝子型があり⁸⁾、日本で分離された HEV の多くは 3 型か 4 型である。その分布には明らかな地域差があり、症例の多い北海道では 4 型が多く、本州では 3 型が多い傾向にある⁹⁾。遺伝子型と重症度の関連も認められており、4 型に重症例が多いとされている¹⁰⁾¹¹⁾。また、高齢や飲酒歴、薬剤服用歴も重症化の因子ではないかとの報告もある¹²⁾。今回我々は野

生イノシシが感染源であると想定される E 型肝炎 4 症例を経験したが、4 例いずれも遺伝子型は 4 型であり、うち 2 例は重症例であった。近年報告例が増加している E 型肝炎について、その臨床像や拡散機序を考える上で貴重な症例と思われる報告する。

症例 1

48 歳男性。愛知県在住で建築会社勤務。既往歴に特記すべき事項なし。輸血歴、鍼治療歴、渡航歴、薬剤服用歴なし。飲酒歴は機会飲酒で、ウイスキーを少量。2005 年 2 月初旬に愛知県北設楽郡設楽町在住の友人 (猟師) の自宅で、友人が裏山で捕獲したイノシシ肉の焼肉を加熱不十分な状態で食べた (それまでも頻回の摂食歴があったが、加熱の有無は不明)。2 月下旬より感冒様症状あり、次第に全身倦怠感・皮膚の黄染を自覚し、3 月 7 日近医受診。肝逸脱酵素の上昇を認め同日紹介入院となった。入院時意識は清明で、右季肋部に肝を 2 横指触知、眼球結膜に黄疸を認めた。

入院時検査所見 (Table 1)：肝逸脱酵素の著明な上昇と凝固能の低下を認めた。腹部超音波検査、腹部 CT では限局性の脂肪肝を認めたが map sign は認めなかった。

入院後経過 (Fig. 1)：第 3 病日に意識状態が悪化し傾眠傾向となり、肝性脳症 (昏睡度 II) を呈した。PT も 41% と低下し、劇症化が懸念されたためステロイド

1) 公立陶生病院消化器科

2) 愛知県厚生連安城更生病院内科

3) 名古屋大学医学部消化器内科

4) 自治医科大学医学部感染・免疫学講座ウイルス部門

*Corresponding author: public@tosei.or.jp

<受付日2006年7月27日><採択日2006年9月20日>

Table 1 Laboratory data on admission of Case 1

CBC		Chemistry		Viral Marker	
WBC	9800 / μ l	TP	8.0 g/dl	HBsAg	(-)
RBC	528 \times 10 ⁴ / μ l	Alb	4.4 g/dl	HBc Ab	(-)
Hb	16.9 g/dl	T-Bil	5.2 mg/dl	HCV Ab	(-)
Plt	18.5 \times 10 ⁴ / μ l	D-Bil	3.4 mg/dl	HCV-RNA	(-)
		AST	4710 IU/l	HAV-IgM Ab	(-)
Coagulation		ALT	6550 IU/l	EBV VCA-IgM Ab	(-)
PT	19.3 sec	ALP	876 IU/l	EBV VCA-IgG Ab	(+)
PT%	56 %	γ -GTP	492 IU/l	CMV-IgM Ab	(-)
APTT	25.7 sec	LDH	2456 IU/l	CMV-IgG Ab	(+)
		BUN	10.6 mg/dl	HEV-IgM Ab	(+)
		Cr	0.7 mg/dl	HEV-IgA Ab	(+)
		NH ₃	69 μ mol/l	HEV-RNA	(+)

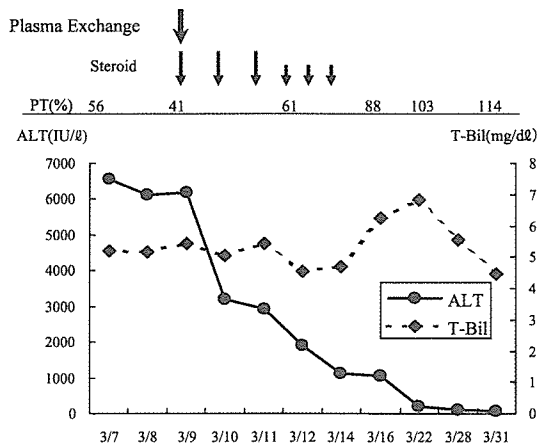


Fig. 1 Clinical course of Case 1

パルス療法と同時に血漿交換を行った。血漿交換は1回にて離脱，その後速やかに肝機能は改善した。イノシシ肉の摂取歴があることよりE型肝炎を疑い入院時の保存血清にてHEV-RNA, IgM-HEV抗体, IgA-HEV抗体を調べたところいずれも陽性であり，E型肝炎と診断した。その後経過良好で，第26病日に退院となった。

症例 2

67歳男性。愛知県在住の電気保安技師。2002年に回盲部腫瘍の切除術を受けている。輸血，鍼治療歴，薬剤服用歴なし。1985年にインドネシアに約半年間赴任した以外は渡航歴なし。飲酒歴は1日に日本酒1合。1995年頃から時々野生イノシシやシカの肉を摂食していたが最後に食べたのは2004年12月頃で，「しし鍋」として食べたとのこと。2005年2月1日に褐色尿に気付き受診，肝逸脱酵素の上昇を認め同日入院となった。

入院時検査所見 (Table 2) : 血液検査では著明な肝逸脱酵素の上昇と凝固能の低下を認めた。

入院後経過 (Fig. 2) : 肝逸脱酵素の上昇と凝固能の低下を認めたためステロイドパルス療法を施行，その後速やかに肝機能は改善し第30病日に退院となった。イノシシ，シカ肉の摂取歴があることより入院時の保存血清にてHEV-RNA, IgM-HEV抗体, IgA-HEV抗体を調べたところ，IgM-HEV抗体は陰性であったが，HEV-RNAとIgA-HEV抗体はともに陽性であり，E型肝炎と診断した。第22病日に行った肝生検では，肝小葉内にリンパ球浸潤とKupffer細胞の局所性増生を散在性に認めるものの肝小葉構造の改築は認めず，急性肝炎の回復期の像であった (Fig. 3)。

症例 3

66歳男性。愛知県在住の元社員で発症時は退職。2006年2月に内視鏡的大腸ポリープ切除術を受けている。渡航歴，輸血歴，鍼治療歴，薬剤服用歴なし。毎日ビール大瓶2本の飲酒歴あり。2006年1月21日地元猟友会メンバーの友人からもらったイノシシ肉で「しし鍋会」(肉は煮炊き，肝臓や他の内臓はバーベキュー，腸管はドテ煮)を行った。3月1日より嘔気・食思不振出現。その後38℃台の発熱と尿の黄染に気付き3月7日近医を受診。採血にて肝逸脱酵素の上昇を指摘され同日紹介入院となった。

入院時右季肋部に叩打痛を認め，血液検査ではT. Bil 7.8mg/dl, AST 2476IU/l, ALT 3192IU/lと上昇を認めたが凝固能の低下は認めなかった。

入院後経過：全身状態良好であり，安静のみにて肝機能は自然に軽快，第44病日に退院となった。イノシシ肉の摂取歴があることより入院時の保存血清にて

Table 2 Laboratory data on admission of Case 2

CBC		Chemistry		Viral Marker	
WBC	10300 / μ l	TP	7.8 g/dl	HBsAg	(-)
RBC	489×10^4 / μ l	Alb	4.3 g/dl	HBc Ab	(-)
Hb	16.3 g/dl	T-Bil	2.1 mg/dl	HCV Ab	(-)
Plt	6.8×10^4 / μ l	D-Bil	1.2 mg/dl	HCV-RNA	(-)
Coagulation		AST	3844 IU/l	HAV-IgM Ab	(-)
PT	18.1 sec	ALT	4245 IU/l	EBV VCA-IgM Ab	(-)
PT%	54 %	ALP	666 IU/l	EBV VCA-IgG Ab	(+)
APTT	38.2 sec	γ -GTP	184 IU/l	CMV-IgM Ab	(-)
		LDH	1871 IU/l	CMV-IgG Ab	(+)
		BUN	16 mg/dl	HEV-IgM Ab	(-)
		Cr	0.81 mg/dl	HEV-IgA Ab	(+)
		NH ₃	69 μ mol/l	HEV-RNA	(+)

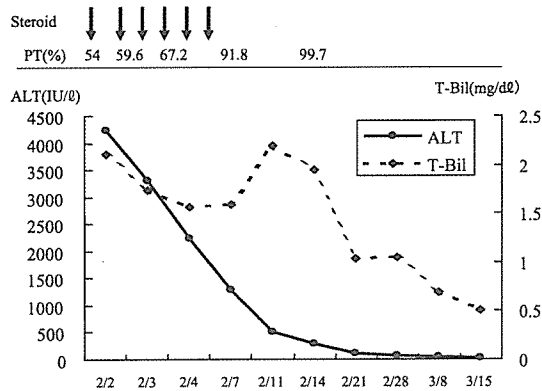


Fig. 2 Clinical course of Case 2

HEV-RNA, IgM-HEV 抗体, IgA-HEV 抗体を調べたところいずれも陽性であり, E 型肝炎と診断した。

症例 4

62 歳男性. 愛知県在住の会社員. 1997 年左腎嚢胞に対し経皮的エタノール注入による固定術, 1998 年胆石にて腹腔鏡下胆嚢摘出術, 1999 年内視鏡的大腸ポリープ切除術を受けている. 渡航歴, 輸血歴, 鍼治療歴なし. 毎日ビール大瓶 2-3 本の飲酒歴あり. 2006 年 2 月初旬より微熱, 咽頭痛などの感冒様症状あり, 約 3 週間症状が持続したため近医で処方された感冒薬や市販の感冒薬などを規定用量を超えて内服していた. 感冒様症状は消失するも全身倦怠感強くなったため 2 月 23 日近医を受診, 採血にて肝逸脱酵素の上昇を指摘され同日紹介入院となった。

入院時理学的所見には異常認めず. 血液検査にて T-Bil 3.3mg/dl, γ -GTP 515IU/l, ALP 815IU/l, AST

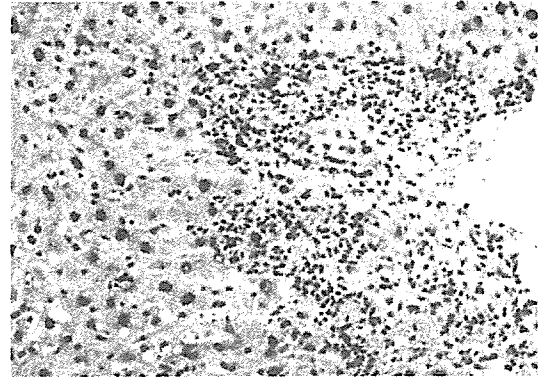


Fig. 3 Histological findings on liver biopsy specimens obtained from Case 2 on the 22nd hospitalized day, when T. Bil. decreased to 0.85 mg/dl (H.E., $\times 100$).

563IU/l, ALT 2202IU/l と肝胆道系酵素の上昇を認めたが凝固能の低下は認めなかった. 複数の薬剤を多量に内服していたことより当初は薬剤性肝障害を疑った. 内服中の薬剤をすべて中止したところ肝機能は速やかに改善し, 第 21 病日に退院となった. 後に症例 3 の患者と交友関係にあり, ともに「しし鍋」を食べたことが判明した (この「しし鍋会」には 20 名の参加者があり, そのうち我々の 2 例以外にも 1 例の HEV 感染が後日判明し, 他院にて入院加療を受けていた). 入院時の保存血清にて HEV-RNA, IgM-HEV 抗体, IgA-HEV 抗体を調べたところいずれも陽性であり, E 型肝炎と診断した. 第 13 病日に行った肝生検ではリンパ球浸潤と軽度の壊死炎症反応と門脈域の線維化を認め, 急性肝炎回復期の所見に加えて慢性肝障害の存在が示唆され

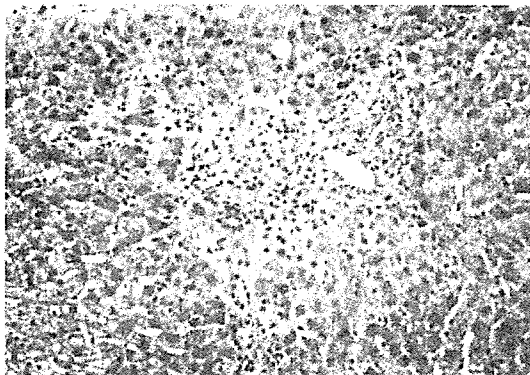


Fig. 4 Histological findings on liver biopsy specimens obtained from Case 4 on the 13th hospitalized day, when T.Bil. decreased to 0.96 mg/dl (H.E., ×100).

た (Fig. 4).

HEV 抗体・HEV-RNA の検出とその解析

IgM-HEV 抗体および IgA-HEV 抗体は入院時の保存血清を用い、カイコ蛹で発現・精製した HEV 抗原 (ORF2 発現産物) を固相とする ELISA 法¹³⁾ によって測定し、それぞれ OD 値 0.440, 0.642 をカットオフ値とした。

HEV-RNA の検出は入院時の保存血清を用い、既報¹⁴⁾ に準拠して行なった。すなわち、血清 100 μ l より RNA を抽出し cDNA に変換後、ORF2 領域のプライマーを用いた nested PCR (ORF2-PCR) を施行し、HEV-RNA を検出した。また、HEV-RNA の存在を確認のために、ORF1 領域のプライマーを用いた nested RT-PCR (ORF1-PCR) も追加施行した。

PCR 増幅産物の塩基配列を、BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA) を用い、direct sequencing 法により決定した。決定した塩基配列の長さは、ORF1-PCR および ORF2-PCR において、ともに 412 塩基長 (両末端のプライマー配列を除く) である。4 株の DDBJ/GenBank/EMBL databases の accession nos. は、AB265194-AB265197 (ORF1 配列) と AB265198-AB265201 (ORF2 配列) である。

症例 1~症例 4 から分離された HEV 株 (HE-Aichi-C1, HE-Aichi-C2, HE-Aichi-C3, HE-Aichi-C4) は互いに類似性が高く、4 型に属し、ORF2 領域の 412 塩基長の配列において、4 株は互いに 98.8%~99.8% の一致率を示した。また同様に、ORF1 領域の 412 塩基長の配列において、4 株は互いに 99.3~99.8% の高い一致率を示

した。一方、既知の 4 型に属する 55 株との比較 (ORF2 領域の 412 塩基長) では、塩基配列の一致率は 85.4%~89.3% と低く、我々の 4 症例から分離された 4 型 HEV 株は既報の 4 型株とは異なる系統に属することが示された。ORF2 領域の 412 塩基長の配列に基づいて作成した分子系統樹 (Fig. 5) は、以上の結果を支持している。すなわち、これまでに当該領域の塩基配列が決定されている 59 の 4 型 HEV 株のなかで、本研究で得られた 4 株はそれらのみで構成される mini-cluster を形成し (Fig. 5)、ユニークな株であることを示している。

症例総括

Table 3 に 4 症例のまとめを示す。いずれも中高年の男性であり、飲酒歴や薬剤服用歴を認めた。発症は、年度は違うものの 4 例とも 2 月に集中していた。潜伏期と推定されるイノシシ肉摂食から発症までの期間は、症例 2 ではやや長く約 60 日で、他の 3 例は 30~40 日前後であった。自覚症状には目立った差異は認められなかった。症例 1 は生焼け状態の焼肉として食べており、加熱が不十分だったと思われるが、残りの 3 例はすべて充分加熱した状態で摂食したと考えられた。症例 1, 2 は重症例でステロイドパルス療法や血漿交換療法を行ったが、全例順調に回復し 21~44 病日に退院した。

考 察

近年 HEV がブタ、イノシシ、シカ、マンガースなどのヒト以外の動物から検出されることが明らかとなり^{5)~7), 11), 15)~19)}、またそれらの動物の生肉や内臓を摂食後に発症した E 型肝炎が報告されるようになり^{6), 7), 11), 20)~22)}、E 型肝炎は現在、人畜共通感染症の一つとして注目されている。今回我々が経験した 4 症例のうち症例 1 から 3 では初診時の問診にて野生イノシシやシカの摂取歴が得られ E 型肝炎を疑うに至ったが、症例 4 では当初薬物性肝障害の疑いとして入院となった。入院時の詳細な問診が重要であると改めて思われたが、充分に加熱処理した食材であったため感染源にはならないであろうとの患者の自己判断により摂食歴を聴取できなかったものと思われる。また症例 4 について、2004 年 DDW-J によって示された薬剤性肝障害ワークショップのスコアリング²³⁾ を行くと 11 点であり、薬剤性肝障害の「可能性が高い」と判定した。原因と疑われた薬剤には漢方薬も含まれていたが、萬谷ら²⁴⁾ が漢方薬による薬剤性肝障害における DLST の信頼性は低いと報告しているため、本例では DLST を実施しなかった。症例 4 での肝障害の主体は E 型肝炎によるものと考えられるが、

Table 3 Summary of 4 cases with sporadic acute hepatitis E in Aichi

	Case 1	Case 2	Case 3	Case 4
Background				
Age/sex	48/M	67/M	66/M	62/M
Onset	Feb 2005	Feb 2005	Mar 2006	Feb 2006
Occupation	Builder	Builder	Office worker	Office worker
Alcohol	(-)	(+)	(+)	(+)
Drug	(-)	(-)	(-)	(+)
Intake of meat				
Animal species	Wild boar	Wild boar/deer	Wild boar	Wild boar
Way of cooking	Grilled	Boiled	Grilled/boiled	Grilled/boiled
Condition of cooking	Undercooked	Well cooked	Well cooked	Well cooked
Symptom				
Fever	(+)	(+)	(+)	(+)
Fatigue	(+)	(+)	(+)	(+)
Nausea/appetite loss	(+)	(+)	(+)	(+)
Jaundice	(+)	(+)	(+)	(-)
Consciousness disorder	(+)	(-)	(-)	(-)
Duration from ingestion of boar meat to disease onset (days)	Around 30	Around 60	39	Around 30
Clinical data				
Peak ALT (IU/l)	6550	4245	3192	2202
Peak AST (IU/l)	4710	3844	2476	563
Peak T-Bil (mg/dl)	7.0	2.1	16.3	3.3
Lowest PT (%)	41	51	86	88
Therapy				
Steroid	(+)	(+)	(-)	(-)
Plasma exchange	(+)	(-)	(-)	(-)
Hospitalized day	26	30	44	21
Prognosis				
	Survived	Survived	Survived	Survived
IgM anti-HEV (OD value)	2.320 (+)	0.384 (-)	2.871 (+)	2.509 (+)
IgA anti-HEV (OD value)	2.190 (+)	1.628 (+)	> 3.000 (+)	2.543 (+)
HEV genotype	4	4	4	4

薬物性肝障害との鑑別が問題となった症例²⁵⁾や薬物性肝障害に E 型肝炎を合併し重症化した症例²⁶⁾の報告に鑑みて、本例においても E 型肝炎の顕性化に薬物が何らかの影響を与えた可能性は残る。

また今回我々の経験した 4 例のうち、アルコール性肝障害の診断基準となる常用飲酒家(1 日 3 合 5 年以上)に当たる例は 1 例のみであったが、他の 2 例でも毎日の常用飲酒を認めた。新井ら²⁷⁾は飲酒が HEV を顕性化する可能性を推察しているが、本例においても同様の可能性が示唆された。飲酒歴の他に肝炎の顕性化、重

症化に関わる因子として、高齢者、遺伝子型 4 型などが挙げられている¹⁰⁾¹¹⁾が、自験例でも症例 1 をのぞいていずれも 60 歳以上であり、遺伝子型はすべて 4 型であった。

感染予防に関する本邦での行政対応では、市販豚レバーからの HEV 検出の報告⁷⁾を受け厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課より各自治体に、平成 15 年 8 月 15 日付で豚レバーなど豚由来食品について生食を避け、摂食する場合には「充分に加熱」するよう通達している。その中では、HEV は 63°C 30 分間と同等以

上の熱処理で感染性を失うため、市販の豚レバーや野生イノシシ、シカ等を食べる際には十分に加熱処理を行えば安全であるとされている。症例 1 では明らかに加熱不十分な状態で摂食したことを自覚していたが、他の 3 例は「しし鍋」として十分に煮込んだ状態で食べており一般的には充分加熱したと考えられる状態であった。特に、症例 3 と症例 4 は多量に飲酒をしていたとはいえ、地元猟友会からは充分な加熱調理を指導されている。動物由来と考えられる感染の成立については、過去の報告においても豚レバーや野生イノシシ、シカ肉など危険食材の生食や加熱不十分での摂食が原因とするのが大多数であるが、最近の加熱調理に関する調査では、患者自身が充分な加熱処理を意識して調理しているにも関わらず、罹患していることも報告されている。詳細は不明だが少なくとも煮炊きしたものに関しては「沸騰状態での数分間の加熱」は達成されていたと想像されるので、「HEV を不活化するに充分な加熱」とは具体的にどのような処理を指すのか今後明確にしていく必要があると思われる。また今回の 4 例のうち最も重症であった症例 1 は 4 症例のうち最も若年者であり常用飲酒歴もなかったが、他の 3 例に比べ調理法としては明らかに加熱不十分であった。この 4 症例における HEV 株はその塩基配列の一致率が高く、ほぼ同一株と考えてよいことをふまえると、加熱不十分であったことが、感染性を保持した HEV が体内に大量に入り込む原因となり、ひいては重症化の誘因になった可能性も考えられる。

また感染経路としては、食材自体の摂取以外にも調理の過程で汚染された調理器具や手指等によって経口的に体内に入り込む可能性も考えられる。食材の加熱時間、温度の問題以外にも、調理過程においても徹底した感染防護策が必要であろう。

今回我々が経験した 4 例から分離された HEV の遺伝子型はすべて 4 型であったが、これまでに北海道を中心に国内で分離されている 4 型 HEV 株との一致率は 85.4%~89.3% と低く、明らかに異なる株であった。最近、伊藤ら²⁸⁾は愛知県(設楽、岡崎地区)と長野県(上伊那地区)で捕獲されたイノシシにおける HEV 感染に関する調査を実施し、野生イノシシの約 12% (11/91) に HEV-RNA が検出され、その遺伝子型はすべて 4 型であったと報告している。本症例報告を執筆している段階で、3 つのイノシシ HEV 株について ORF1 領域の 327 塩基長の配列が公開されており (AB245437-AB245439)、我々の 4 症例からの分離株との一致率が、

共通配列 (ORF1 領域の 327 塩基長) において 98.8-99.7% であった。我々の地域を含め愛知県の一部の地方では 11 月から翌年の 2 月までの猟期にイノシシを摂食することが習慣化しており、今回報告した 4 症例が示唆する如く、狩猟したイノシシからの HEV 感染が県内に広がりつつある可能性が考えられる。即ち、同一系統と看做される「4 型 HEV 愛知株」が既に愛知県内の野生イノシシ集団の中で蔓延・拡散しており、その一部が“zoonotic food-borne transmission” という感染経路でヒトに伝播しているものと推測される。当該地域におけるヒトおよび野生イノシシを含む各種動物の HEV 感染実態の把握とその周知、並びに有効な感染予防対策の実施が急務である。

文 献

- 1) 田中栄司, 清澤研道. E 型肝炎. 肝臓 2001; 42: 114-119
- 2) Worm HC, van der Poel WH, Brandstatter G. Hepatitis E: an overview. *Microbes Infect* 2002; 4: 657-666
- 3) Kwo PY, Schlauder GG, Carpenter HA, et al. Acute hepatitis E by a new isolate acquired in the United States. *Mayo Clin Proc* 1997; 72: 1133-1136
- 4) Takahashi K, Iwata K, Watanabe N, et al. Full genome nucleotide sequence of a hepatitis E virus strain that may be indigenous to Japan. *Virology* 2001; 287: 9-12
- 5) Meng XJ. Novel strains of hepatitis E virus identified from humans and other animal species is hepatitis E a zoonosis? *J Hepatol* 2000; 33: 842-845
- 6) Tei S, Kitajima N, Takahashi K, et al. Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings. *Lancet* 2003; 362: 371-373
- 7) Yazaki Y, Mizuo H, Takahashi M, et al. 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* 2003; 84: 2351-2357
- 8) Schlauder GG, Mushahwar IK. Genetic heterogeneity of hepatitis E virus. *J Med Virol* 2001; 65: 282-292
- 9) Okamoto H. Features of hepatitis E virus infection in Japan. *Intern Med* 2003; 42: 1065-1071
- 10) Mizuo H, Yazaki Y, Sugawara K, et al. Possible risk factors for the transmission of hepatitis E virus and

- the severe form of hepatitis E acquired locally in Hokkaido, Japan. *J Med Virol* 2005; 76: 341—349
- 11) 三代俊治. 本邦に於ける E 型肝炎の診断・予防・疫学に関する研究(平成 17 年度総括研究報告書). 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. 平成 18 年 4 月
 - 12) 熊谷一郎, 葛西幸穂, 宮坂昭生, 他. E 型肝炎の重症例. *肝胆臓* 2005 ; 51 (1) : 61—67
 - 13) Takahashi M, Kusakai S, Mizuo H, et al. Simultaneous detection of immunoglobulin A (IgA) and IgM antibodies against hepatitis E virus (HEV) is highly specific for diagnosis of acute HEV infection. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 49—56
 - 14) Mizuo H, Suzuki K, Takikawa Y, et al. Polyphyletic strains of hepatitis E virus are responsible for sporadic cases of acute hepatitis in Japan. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 3209—3218
 - 15) Okamoto H, Takahashi M, Nishizawa T, et al. Analysis of the complete genome of indigenous swine hepatitis E virus isolated in Japan. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 289: 929—936
 - 16) 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—862
 - 17) Takahashi K, Kitajima N, Abe N, et al. Complete or near-complete nucleotide sequences of hepatitis E virus genome recovered from a wild boar, a deer, and four patients who ate the deer. *Virology* 2004; 330: 501—505
 - 18) Sonoda H, Abe M, Sugimoto T, et al. 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* 2004; 42: 5371—5374
 - 19) Nakamura M, Takahashi K, Taira K, et al. 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: 137—140
 - 20) Matsuda H, Okada K, Takahashi K, et al. Severe hepatitis E virus infection after ingestion of uncooked liver from a wild boar. *J Infect Dis* 2003; 188: 944
 - 21) Tamada Y, Yano K, Yatsunami H, et al. Consumption of wild boar linked of hepatitis E. *J Hepatol* 2004; 40: 869—873
 - 22) Li TC, Chijiwa K, Sera N, et al. Hepatitis E virus transmission from wild boar meat. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 1958—1960
 - 23) 滝川 一, 恩地森一, 高森頼雪, 他. DDW-J 2004 ワークショップ薬剤性肝障害診断基準の提案. *肝胆臓* 2005 ; 46 : 85—90
 - 24) 萬谷直樹, 小暮敏明, 貝沼茂三郎, 他. 漢方薬による肝障害に対する薬物性肝障害診断基準の感度と特異度. *肝胆臓* 2004 ; 45 : 345—349
 - 25) 岩室雅也, 川口光彦, 寺田 亮, 他. 薬物性肝障害との鑑別が問題となった E 型急性肝炎の一例. *肝胆臓* 2005 ; 46 : 512—515
 - 26) 及川寛太, 宮坂昭夫, 佐藤慎一郎, 他. 薬剤性肝障害に E 型肝炎を合併し重症化した一例. *肝胆臓* 2002 ; 43 (Suppl.3) : A 491
 - 27) 新井雅裕, 橋本直明, 宮川 浩, 他. 京阪地区 E 型肝炎国内感染例 10 例の疫学的特長と HEV 分離株塩基配列. *肝胆臓* 2005 ; 46 : 224
 - 28) 伊藤 雅, 小林愼一, 山下照夫, 他. 野生動物からの E 型肝炎ウイルス (HEV) と HEV 抗体の検出および猟師らの HEV 抗体保有状況. *肝胆臓* 2006 ; 47 : 316—317

Four cases of hepatitis E after eating wild boar meats in Aichi, Japan

Yuko Shimizu¹⁾*, Masahiko Yamada²⁾, Hidezumi Tatematsu¹⁾, Makoto Ishihara¹⁾,
Keiichi Morita¹⁾, Yoshihiro Ishiguro²⁾, Yoshiaki Katano³⁾, Hidemi Goto³⁾,
Masaharu Takahashi⁴⁾, Hiroaki Okamoto⁴⁾

We experienced 4 cases (2 in 2005 and 2 in 2006) of hepatitis E, where the patients developed their disease one or two months after eating meats and/or entrails of wild boars captured in Aichi prefecture, Japan. All 4 were middle-aged men, and 3 had a history of significant alcohol drinking. One of them developed hepatic coma, received corticosteroid administration and plasma exchange therapy, and survived eventually. Another patient also suffered severe form of hepatitis but not encephalopathy. Hepatitis E virus (HEV) of genotype 4 was detected in all. Interestingly, the nucleotide sequences of HEV from the 4 patients showed quite a high degree of similarity to each other (98.8-99.8%) as well as to those from wild boars in Aichi (99.1-100%), despite showing only a significantly lower similarity to those reported as genotype 4 from other areas in Japan (85.4-89.3%). These findings suggest that an indigenous strain of HEV genotype 4 is now spreading in Aichi, and warrant a need for immediate countermeasures.

Kanzo 2006; 47: 465—473

-
- 1) Department of Gastroenterology, Tosei General Hospital
 - 2) Department of Internal Medicine, Anjo Kosei Hospital
 - 3) Department of Gastroenterology, Nagoya University School of Medicine
 - 4) Division of Virology, Department of Infection and Immunity, Jichi Medical School
- *Corresponding author: public@tosei.or.jp

<症例報告>

分子疫学的解析により感染地を特定しえた旅行者 E 型急性肝炎の 1 例

相川 達也^{1)*} 宮本久仁子¹⁾ 上野ちさと¹⁾ 小島 眞樹¹⁾
 高橋 雅春²⁾ 津田 文男³⁾ 岡本 宏明²⁾

要旨：患者は 30 歳男性。2006 年 1 月から 4 カ月間中国の雲南省とチベット自治区、ネパール、およびタイの順に旅行し、タイに移動後間もなく褐色尿と黄疸に気づき帰国した。患者血清からは E 型肝炎ウイルス (HEV) RNA が検出され、遺伝子型は 1 型と判定された。取材旅行であったことより日々の飲食を全て記録しており、生ものや生水の摂取は旅行中一切無かったが、ネパールでの水かけ祭「ホーリー」に参加し、泥水を誤飲したことが感染契機になったとみられた。さらに、1 型の既知全クローンとの比較から、感染した HEV 株は 2005 年 12 月にネパールで分離された HEV 株と 100% の一致率を示し、ネパールで感染したことが HEV クローンの遺伝子解析から裏付けられた。ネパールでは 2006 年春においても同種株の流行が続いていたことが推測された。

索引用語： E 型肝炎 輸入肝炎 遺伝子解析 遺伝子型

緒 言

今世紀に入りわが国において土着ウイルスによる E 型肝炎が存在することが明らかとなり^{1,2)}、従来の輸入肝炎を含めて、急性肝炎の診療は分子疫学的視点からなされるべき時期となった³⁾。アジア各地を旅行して E 型肝炎を発症した症例について、分離した E 型肝炎ウイルス (HEV) RNA の遺伝子クローンの解析を行ない遺伝子型のサブタイプまで決定して、感染地を特定することができた。国内感染 E 型肝炎が注目される昨今、旅行者 E 型肝炎も急性肝炎の診断上常に念頭に置くべき疾患であることを改めて実感するとともに、旅行者への更なる注意喚起の重要性と分子疫学的アプローチの感染地特定への有用性を認め、ここに報告する。

症 例

患者：30 歳男性。
 主訴：全身倦怠感、食欲不振、右季肋部痛、黄疸。
 既往歴：特記することはない。
 現病歴：患者は 2006 年 1 月 23 日より中国雲南省、

チベット自治区を経て 3 月 10 日にネパール・カトマンズに入った。4 月上旬から下痢がはじまり、全身倦怠感も加わった。4 月 30 日にタイに移動してから濃厚尿、黄疸に気づき 5 月 3 日に帰国した。5 月 8 日、黄疸が強まるため、本院外来を受診し、急性肝炎として即日入院となった。

入院時現症：身長 165cm、体重 67.2kg、体温 36.2℃、血圧 122/70mmHg、脈拍 61/min 整、心雑音はなく会話は正常、振戦等の神経学的異常所見はない。皮膚は湿潤で黄染し、眼球結膜に黄疸を認めた。表在リンパ節は触れなかった。腹部触診では腫瘤は触れず、肝は右肋弓下に一横指触知し、辺縁は鋭、硬度は軟であった。

入院時検査成績 (Table 1)：生化学検査で総ビリルビン 9.73mg/dl、直接ビリルビン 7.72mg/dl、ALT 1067 IU/l と高値、アルブミン 3.31g/dl、総コレステロール 98mg/dl、コリンエステラーゼ 144IU/l と低下を認めた。血液学的検査では血小板数のわずかな減少を認めたが、プロトロンビン時間の延長は認めなかった。尿検査でウロビリノーゲン (+)、ビリルビン (3+) であった。

ウイルス学的検査 (Table 1)：IgM クラス HAV 抗体、HBs 抗原、IgM クラス HBe 抗体および HCV 抗体は陰性であった。in-house の試薬⁴⁾による ELISA 法で、IgG、IgA、IgM 各クラスの HEV 抗体が陽性であった。

ORF2 領域のプライマーを用いた RT-PCR 法⁵⁾により、

1) 相川内科病院
 2) 自治医科大学感染・免疫学講座ウイルス学部門
 3) 東芝病院研究部

*Corresponding author: aikawahp@ops.dti.ne.jp
 <受付日2006年9月15日><採択日2006年11月6日>

Table 1 Laboratory data on admission

Peripheral Blood		Blood chemistry		Serological test	
RBC	526 × 10 ¹ /mm ³	LDH	336 IU/l	IgM anti-HAV	(-)
Hb	16.5 g/dl	AST	960 IU/l	HBsAg	(-)
Ht	48.1 %	ALT	1067 IU/l	IgM anti-HBc	(-)
WBC	5740 /mm ³	γ-GTP	205 IU/l	Anti-HCV	(-)
Neut	67.6 %	ALP	591 IU/l		
Eosino	1.7 %	Total bilirubin	9.73 mg/dl	IgM anti-HEV	2.664 (+)
Baso	0.5 %	Direct bilirubin	7.72 mg/dl	IgG anti-HEV	> 3.000 (+)
Lymph	23.9 %	ChE	144 IU/l	IgA anti-HEV	2.435 (+)
Mono	6.3 %	T-Chol	98 mg/dl	HEV RNA	(+)
Plt	11.3 × 10 ¹ /mm ³	Total protein	5.8 g/dl	Subgenotype	1a
Coagulofibrinolysis		Alb	3.31 g/dl		
PT	> 100 %	α1-Glb	0.26 g/dl		
APTT	35.8 sec	α2-Glb	0.43 g/dl		
Urine Analysis		β-Glb	0.49 g/dl		
Protein	30 mg/dl	γ-Glb	1.51 g/dl		
Bilirubin	(3 +)	Na	139.4 mEq/l		
Urobilinogen	(+)	K	4.52 mEq/l		
Occult blood	(-)	Cl	105.5 mEq/l		

Table 2 Comparison of the HE-JA06-1017 isolate with the reported HEV isolates of genotypes 1-4 whose entire or nearly entire sequence is known

Genotype/ subgenotype	Accession no.	Country	Identity (%) (412 nt within ORF2)
1a	M73218	Myanmar	95.1
	D10330	Myanmar	94.2
	X99441	India	93.2
	AF076239	India	94.2
	AF051830	Nepal	94.4
	AF185822	Pakistan	93.0
1b	D11092	China (Uighur)	90.5
	M94177	China (Hebei)	91.3
	D11093	China (Uighur)	90.0
	L08816	China (Uighur)	91.3
	L25595	China	91.0
	AF444003	Pakistan	91.3
1c	X98292	India	90.5
1d	AY230202	Morocco	86.7
1e	AY204877	Chad	87.1
2	M74506	Mexico	78.8
3	AF060668	USA	78.6
4	AJ272108	China (Beijing)	78.1

初診時血清より HEV RNA を検出した。その PCR 断片の塩基配列を決定し、genotype 1-4 の既知 HEV 株と比較した結果、本症例から分離された HEV 株 (HE-JA

06-1017) の遺伝子型は 1 型であることが分かった (Table 2)。Genotype 1 は暫定的に 1a から 1e までの 5 種類のサブゲノタイプに分類されていることから⁶⁾、サブゲ