

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 19 年度
分担研究報告書

本邦における非 ABC 型肝炎、特に E 型肝炎の動向と特徴

分担研究者 矢野 公士 国立病院機構 長崎医療センター

研究要旨：我々は、国立病院機構共同研究班による急性肝炎の全国調査を解析し、非 ABC 型と診断された症例の中から、E 型肝炎の症例を抽出し症例数の動向および臨床的解析を行っている。2007 年は新たに 40 例の非 ABC 型を含む、98 例の急性肝炎が登録された。1980～2007 年の非 ABC 型急性肝炎 1,110 例中、発症後 3 ヶ月以内の保存血清が存在した 850 例を対象とし、ELISA 法にて HEV-IgM 抗体、HEV-IgG 抗体を測定した。HEV-IgM 陽性は 45 例 (4.0%)、HEV-IgG 陽性は 113 例 (10.2%)であった。このうち、HEV-IgM 単独陽性は 8 例 (8/850, 0.9%)、HEV-IgG 単独陽性は 76 例 (76/850, 8.9%)で、両抗体陽性は 37 例 (37/850, 4.4%)であった。28 年間の期間中、年次別非 ABC 型に占める E 型肝炎発生率は、0～13%で推移し、有意な流行の時期は認めなかったものの、非 ABC 型肝炎に占める E 型肝炎の割合は 2000 年以降、10%前後と比較的高値で安定してきており、今後も注意を要すると考えられた。

共同研究者

玉田 陽子 国立病院機構長崎医療センター
八橋 弘 国立病院機構長崎医療センター
石橋 大海 国立病院機構長崎医療センター

A. 研究目的

E 型肝炎の発生年次推移について、定点観測的に行われている急性肝炎流行調査のデータをもとに検討を加え、これまで本邦で非 A 非 B 非 C 型とされてきた原因不明急性肝炎に占める E 型肝炎の発生頻度を明らかにすることを本研究の目的としている。本報告においては、昨年までに報告した 2006 年までの集計に、新たに 2007 年度分のデータを加え

る。

B. 研究方法

全国 28 施設の国立病院急性肝炎共同研究班参加施設において 1980～2007 年に散发性ウイルス性急性肝炎として登録された症例は 4,191 例(2007 年は 98 例)であり、A 型 1,578 例(37.7%)、B 型 1,152 例(27.5%)、C 型 351 例(8.4%)、非 ABC 型 1,110 例(26.5%) (2007 年は 40 例)であった。このうち、発症後 3 ヶ月以内の保存血清が存在した 850 例 (今年度追加例が 36 例) を対象に、コスミックコーポレーション社製 ELISA を用いて、IgG 型、IgM 型 HEV 抗体を測定した。両抗体陽性であるものを E 型急性肝炎の可能性が濃厚であると判定した。

C. 研究結果

E型急性肝炎の可能性が濃厚である症例は昨年報告に5例を加え37例(37/850, 4.4%)であった。男性33例、女性4例、平均年齢は48.0±13.0歳であった(図1)。

1980~2007年 E型肝炎 (28施設)

№	施設名	性別	年齢	発症時期	診断時期	診断方法	血清型	年齢	性別	発症時期	診断時期	診断方法	血清型	年齢	性別	発症時期	診断時期	診断方法	血清型	
1	1980	44	女	不明	不明	血清型	不明	21	2002	54	男	血清型	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明
2	1981	51	男	不明	不明	血清型	不明	22	2002	52	男	血清型	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明
3	1981	38	男	不明	不明	血清型	不明	21	2003	27	男	血清型	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明
4	1983	48	男	不明	不明	血清型	不明	24	2004	44	男	血清型	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明
5	1984	44	男	不明	不明	血清型	不明	25	2004	34	男	血清型	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明
6	1984	35	男	不明	不明	血清型	不明	20	2004	55	男	血清型	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明
7	1984	46	男	不明	不明	血清型	不明	21	2005	54	男	血清型	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明
8	1985	51	男	不明	不明	血清型	不明	28	2005	55	男	血清型	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明
9	1986	62	男	不明	不明	血清型	不明	29	2005	65	男	血清型	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明
10	1986	21	男	不明	不明	血清型	不明	26	2005	52	男	血清型	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明
11	1987	53	男	不明	不明	血清型	不明	31	2006	60	男	血清型	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明
12	1987	48	男	不明	不明	血清型	不明	32	2006	50	男	血清型	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明
13	1987	52	男	不明	不明	血清型	不明	33	2007	30	男	血清型	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明
14	1992	55	男	不明	不明	血清型	不明	34	2007	58	男	血清型	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明
15	1996	45	男	不明	不明	血清型	不明	35	2007	44	男	血清型	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明
16	1996	58	男	不明	不明	血清型	不明	4	2001	21	男	血清型	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明
17	1998	45	男	不明	不明	血清型	不明	37	2001	46	男	血清型	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明
18	2000	51	男	不明	不明	血清型	不明													
19	2000	59	男	不明	不明	血清型	不明													
20	2002	26	男	不明	不明	血清型	不明													

男: 女 33: 4
平均年齢 48±13 歳
国内総数(92-) 16/24 (67%)

図1. 1980~2007年の期間、非ABC型急性肝炎のうちE型急性肝炎と考えられる症例

地理的分布に関しては、これまでは、関東および九州に隔たった傾向を示していたが、2007年の5例に関しては、仙台1例、東京2例、九州2例と全国的な分布を示しE型肝炎の遍在性を示す結果となった。

1980~2006年の年次推移(図2)の検討では、E型急性肝炎発生率は1980年代から0~13%台で推移し、多発した時期は認めていない。昨年同様、2007年も非ABC型急性肝炎全体に占めるE型急性肝炎の割合は13.8%であり、2000年以降は高値で安定傾向を示す。

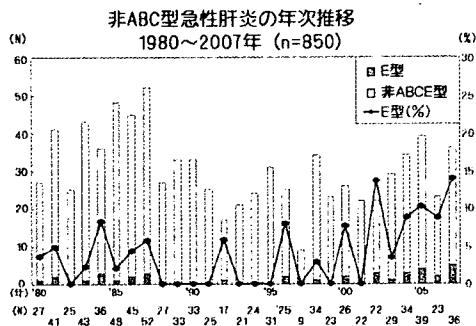


図2. 非ABC型に占めるE型急性肝炎発生

頻度年次推移。(棒は実数(左軸)折れ線は割合(右軸)を示す)

遺伝子解析においては、海外渡航歴が無く国内での感染が疑われる16例のうち不明1例を除く15症例がgenotype 3、もしくは4であった。さらにgenotype 4は2007年追加症例の1例のみであり、本研究における国内感染E型急性肝炎の遺伝子型は専らgenotype 3である(図1)。

重症度に関して、genotype 4との関連が示されているが、本研究で収集された症例がすべて通常型で軽快していることも関連が示唆される。

D. 考察

これまで、散発的に日本国内のE型肝炎症例が報告されているが、多数例、年度別発生頻度に関する知見は不足しているために、本研究のような定点観測の症例集積は極めて重要な意味を持つと考えられる。本年度の特徴としては、本研究の参加施設は西日本偏在傾向があり、E型肝炎流行地域とされる北海道からの参加は2施設(2007年度より1施設が追加)のみで、北海道全域をカバーしていない。いうなれば、E型肝炎の発生頻度という点から見れば、日本の中でも、また、世界の先進国からしても特異と思われる北海道地域を除いた、日本におけるE型肝炎発生頻度とその推移、と位置付けるのが妥当である。

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48.13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、その後はこの割合も変

動している。それ以外の地域においては非ABC型肝炎に占めるE型肝炎の割合は2000年以降、約1/10ということである。2007年度は13.8%であった。この動向は、今後も本研究班でモニターする必要がある。なお、2000年以降、国内発生ないし先進国におけるE型肝炎の研究が精力的に行われているが、本研究班での国内感染例16例のうち、女性での発病は3例のみであり、従来から劇症肝炎との関連が示唆されている妊婦での感染例が一例もない。

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、散發的発生を繰り返している

2, 最近3年間では非ABC型急性肝炎の約10分の1がE型肝炎であり、2007年の集計結果においてもこの傾向は継続していた。

F. 研究発表

1. 学会発表

① Autochthonous Hepatitis E infection in Japan

Koji Yano, Yoko Tamada, Yatsuhashi Hiroshi, Atsumasa Komori, Naota Taura, Shinya Nagaoka, Takashi Kamihira, Eisuke Ozawa, Masaru Miyazato, Masakuni Tateyama, Naruhiro Hai, Kazuyuki Ohata, Seigo Abiru, Kiyoshi Migita, Minoru Nakamura, and Hiromi Ishibashi

17th Asia-Pacific Study of Liver (APASL)
Kyoto, 27 March 2007

② Long or full genome analysis of hepatitis E virus strains derived from

Japanese patients (awarded as Excellent Poster)

Yoko Tamada, Koji Yano, Hiroshi Yatsuhashi, Hiromi Ishibashi, Kazuaki Takahashi, Shunji Mishiro

Digestive Disease Week, Washington DC, May, 2007

③国内発症E型急性肝炎14例のHEV遺伝子解析

玉田陽子、矢野公士、八橋弘、石橋大海、高橋和明、三代俊治

2007年6月1日

④国立病院急性肝炎共同研究班におけるウイルス性急性肝炎の変遷

矢野公士、玉田陽子、小森敦正、中村稔、右田清志、藤岡ひかる、八橋弘、石橋大海

2007年11月15日

2. 論文発表、総説

①矢野公士: 日本におけるE型肝炎検査と技術 2007 35(9) 879-881

②Yano K.

Wild boar as an important reservoir of hepatitis E virus in western Japan
Hepatol Res. 2007 37(3):167-9.

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・宿主域・遺伝的多様性・感染防止・診断・
 治療に関する研究**

平成19年度
 分担研究報告書

北海道におけるE型急性肝炎の臨床像とHEV伝搬経路

分担研究者 姜 貞憲 手稲溪仁会病院 消化器病センター

研究要旨：本研究班における我々の課題は、HEV高侵淫地域と考えられる北海道において発症するE型急性肝炎の臨床像を明らかにし、さらにHEV伝搬経路を究明することにより、本疾患の診療及び予防に資することである。

2007年度は、北海道E型肝炎研究会を発足し、全道的規模でHEV感染例を登録、その臨床像、治療法、HEV感染経路を検討した。

共同研究者

狩野 吉康 札幌厚生病院 第3消化器科
 水尾 仁志 札幌勤医協中央病院 内科
 前久保博士 手稲溪仁会病院 内科
 松居 剛志 同 消化器病センター
 三代 俊治 東芝病院 研究部
 岡本 宏明 自治医科大学
 感染・免疫学講座ウイルス学部門

- 1) 北海道内診療諸施設およびHEV研究施設に連絡網を形成し、前者で診断した成因不明急性肝炎症例の血清に対しHEVRNA及びHEV感染マーカーの検討を行う。
- 2) HEV感染が診断された症例における臨床的及び疫学的検討を加える。
- 3) 分離同定されたHEV株における塩基配列の検討を行ない遺伝子系統樹により、HEV侵淫の地域性有無を明らかにする。
- 4) E型肝炎の診断は、PCRによるHEVRNA陽性、recombinant抗原を用いた抗HEV IgG、IgM、IgAに対するELISAに拠った。これらは共同研究者(三代、岡本)所属施設において施行された。
- 5) 昨年に引き続き札幌市内2施設において診療したE型急性肝炎症例数に対する定点観測的推移を検討した。

A. 背景

北海道は日本国内におけるHEV高侵淫地域と見做されている。しかしながら、全道的範囲におけるE型肝炎の実態はほとんど究明されておらず、北海道内におけるHEV感染背景にも不明な点が多い。

B. 研究目的

北海道地区において発生するE型肝炎例の実態を解明し、各症例における臨床像とHEV感染背景を明らかにする。

C. 研究方法

D. 研究結果

- 1) 北海道E型肝炎研究会(道E研)の発足、全道規模におけるE型肝炎例調査の開始
 2007年1月13日道内28医療施設と日本赤

十字北海道血液センターに呼びかけ道E研の発足をみた。

2007年12月末の時点で、HEV検査登録の窓口となる世話人施設は40施設に増加し、発足後約12ヶ月間で非A非B非C急性肝炎80症例80検体に対しHEV感染markerが検討され、そのうち8例でHEV感染が診断された(表1)。

これらの一部は、2007年10月27日札幌市で開催された道E研学術集会において臨床経過が報告され診断及び治療方途に対する討論が行われた。

表1.E型急性肝炎8例の臨床像

年齢中央値、range	56	44-65
性別、男/女	5/3	
居住地	札幌 3	岩見沢 2
	網走 2	函館 1
HEV genotype 3/4	1/7	
AST, U/L	4139	598 - 5570
ALT, U/L	4000	1339 - 7658
T.bil, mg/dl	4.4	0.6 - 23
PT, %	71.5	29.9 - 123
重症型	2例	25%
飲酒歴	なし	2名
臨床経過		17-50 g/日 6名
		全例改善

2) 道E研事業を通して分離されたHEVの塩基配列の一部を比較し遺伝子系統樹による検討を行った。札幌及び岩見沢市居住患者から得られたHEV株の塩基配列は何れも近似しており、これまで同定された札幌株と同一のclusterを形成し、また網走における症例からの分離株は既報の北見網走株に近似していた(図1)。

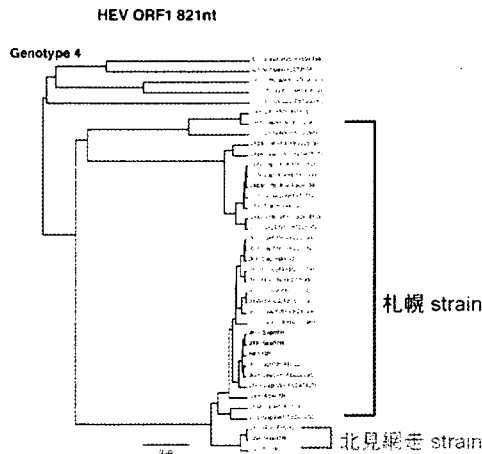


図1. 道E研により分離同定されたHEV株は既報の札幌株、北見網走株clusterに属していた

3) 手稲溪仁会病院、札幌厚生病院におけるE型急性肝炎の年次別発生数を図2に示す。E型肝炎症例数は2001年をpeakとし、その後減少しているが2007年度もその傾向に変化はなかった。本年の重症例は1例であった。

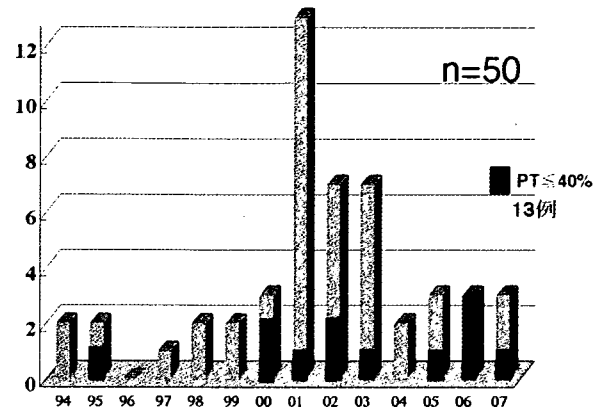


図2. 札幌市内2施設におけるE型急性肝炎症例の年次別推移 '94-'07

E. 考察

道E研は、北海道内診療機関とHEV研究施設を結び、E型肝炎の診断便宜を図るとともに、北海道全域におけるHEV侵淫状況を肝炎発症例から検討する役割を担っている。今後数年間の道E研事業により、全道規模で症例が蓄積され、その臨床像の解析と治療方途、感染背景、発症に関連するHEV株の特徴について解析が進行することが期待される。

道E研事業により同定されたHEV株の遺伝子系統樹を用いた検討から、HEVが地域限定的に循環しE型肝炎発症に関連している可能性が強く示唆された。

札幌市内における2医療施設での定点観測的なE型肝炎症例数年次別推移からは、2001-3年における症例数増加は特異であることと共に、最近4年間におけるE型肝炎症例は少数ながら毎年観察されることから、今後も発症が持続する可能性が示された。

F. 結論

道E研事業によりHEV高侵淫地域である北海道においてHEV感染症の実態が今後さらに明らかとなる可能性が存在する。

G. 研究発表

松居剛志、姜 貞憲、矢根 圭、西森 博幸、
桜井 康雄、辻 邦彦、真口 宏介、坂田 秀勝、
松林 圭二、加藤 俊明、池田 久實 輸血後 E
型肝炎の 2 例 日本肝臓学会総会 2007 年 6 月 1

日

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許申請：なし
2. 実用新案登録：なし
3. 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・宿主城・遺伝的多様性・感染防止・診断・ 治療に関する研究

平成19年度

分担研究報告書

- ① 劇症肝炎、遅発性肝不全における HEV 感染の実態調査(2006 年)
② 重症化、遷延化した E 型急性肝炎の 1 例

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：①難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究班の平成19年度劇症肝炎・LOHF全国調査(2006年の症例)では劇症肝炎73例(急性型37例、亜急性型36例)、LOHF1例が登録された。成因はウイルス性が全体の65%を占めたが、その内訳はB型(49%)が最多であり、その他のウイルスはA型5例、E型2例であった。E型2例の内訳は急性型1例、亜急性型1例で、急性型は内科的治療により救命されたが、亜急性型1例は肝不全にて死亡した。②現在北海道を中心に国内で多くのHEV感染例が報告されているが、鹿児島県においてE型急性肝炎の発生は少ない。我々は今回、重症化、遷延化したE型急性肝炎症例を経験したので報告する。本症例はHEVが排除されたにも関わらず肝炎と黄疸が持続した。肝生検検査では非アルコール性脂肪肝炎(NASH)と胆汁うっ滞の所見がみられた。E型急性肝炎の重症化、遷延化の背景にNASHの関与が示唆された。

共同研究者

桶谷 真 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
井戸章雄 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 准教授
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 助教

が、その大部分がB型(49%)であった。B型以外のウイルス性はA型5例、E型2例であった。E型劇症肝炎のうち急性型の症例は北海道から登録された43歳女性で、内科的治療により救命された。亜急性型症例は京都から登録された80歳男性で、入院後37病日に肝不全にて死亡した。これとは別に56歳男性の急性型症例が北海道から登録されたが、血液検査、肝生検組織所見より背景にB型慢性肝炎が存在したため、除外症例とした。

A. 劇症肝炎・LOHFの全国調査成績

H19年度は対象施設のうち43施設から劇症肝炎73例(急性型37例、亜急性型36例)、LOHFは1例が登録された。ウイルス性症例は全体の65%を占めた

B. 症例報告

症例：58歳男性。

主訴：黄疸

既往歴：気管支喘息、DM

生活歴：飲酒 ビール 350ml/日 喫煙なし

現病歴：平成 19 年 3 月中旬頃、倦怠感、頭痛、咳など感冒様症状あり感冒薬を服用した。4 月 3 日、黄疸に気づき近医受診したところ AST 758 IU/L, ALT 1019 IU/L と高度の肝機能異常みとめ急性肝炎の診断にて同日入院となった。IgM-HEV、IgG-HEV 抗体陽性より急性 E 型肝炎と診断された。入院後トランスアミナーゼは低下したものの、その後も肝機能は正常化せず、高ビリルビン血症が遷延したため 7 月 3 日、当院消化器内科へ転院となった。

入院時検査所見：WBC 11,500/mm³、TP 7.1 g/dL、Hb 12.1 g/dl、Plt 34.2 万/mm³、PT 93%、Alb 2.6 g/dl、AST 184 IU/L、ALT 84 IU/L、LDH 172 IU/L、ALP 756 IU/L、 γ -GTP 79 IU/L、T. Bil 17.8 mg/dl、D. Bil 12.1 mg/dl、ChE 154 IU/L、T-Cho 180 mg/dl、TG 462 mg/dL、FBS 108 mg/dL、BUN 6.5 mg/dL、Cre 0.5 mg/dL、CRP 2.7 mg/dl。肝胆道系酵素の上昇と直接型優位の高ビリルビン血症をみとめた。入院後 HEV-RNA を測定したが検出されなかった。

入院後経過：転院後も肝機能障害、黄疸が遷延したため第 116 入院病日に肝生検検査を施行した。肝実質では散在性に大滴性の脂肪沈着、肝細胞の風船様腫大とマロリー小体および小葉中心性に胆汁沈着を呈した肝細胞および炎症細胞浸潤を認めた。線維染色では細胞周囲性、中心静脈周囲性および門脈域に中等度の線維増生、架橋形成を認めた。NASH (Brunt 分類 Grade 2、Stage 3) と胆汁うっ滞の混じた所見であった。その後 SNMC、UDCA にて肝庇護療法を行なったが改善なく、第 150 入院病日から計 10 回ビリルビン吸着療法を施行した。治療開始後よりトランスアミナーゼ、総ビリルビンの低下および肝予備能の改善がみられた。その後、黄疸、全身状態も改善したため第 193 病日に退院となった。

C. 考察

本症例は急性 E 型肝炎で HEV が排除されたにも関わらず肝障害が持続、進展した。肝生検組織所見からは NASH と胆汁うっ滞の所見が見られ、5 月 1 日に前医で施行された肝生検組織と対比すると肝実質内の炎症細胞浸潤の増悪と線維化の進行がみられていた。NASH を背景に E 型急性肝炎が重症化、遷延化したと考えられるが、E 型急性肝炎が NASH 様の進展をきたした可能性も否定できない。作用機序は明らかでないが、ビリルビン吸着療法は高ビリルビン血症の改善だけでなくトランスアミナーゼの改善もきたし、有効であった。

D. 結語

重症化、遷延化の背景に NASH の関与が示唆された E 型急性肝炎を経験した。遷延する黄疸、肝障害にビリルビン吸着療法が有効であった。

E. 研究発表

1. 論文発表：なし
2. 学会発表：

小田 耕平、森内 昭博、宇都 浩文、熊谷 公太郎、重信 秀峰、玉井 努、長谷川 将、桶谷 真、井戸 章雄、藤崎 邦夫、中沼 安二、坪内 博仁
急性 E 型肝炎を契機に増悪したと考えられる NASH の 1 例

第 90 回日本消化器病学会九州支部例会

2007 年 11 月 長崎

F. 知的所有権の取得状況

1. 特許申請：なし
2. 実用新案登録：なし
3. 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・宿主城・遺伝的多様性・感染防止・診断・
 治療に関する研究**

平成19年度
 分担研究報告書

**関東地域で屠殺解体される豚の生産地およびその地域で
 流通・消費される豚肉**

分担研究者 品川邦汎 岩手大学農学部・教授

A. 研究目的

わが国においてE型肝炎は、イノシン、豚、鹿の肉もしくは内臓を生(刺身)や半生(加熱不十分)の状態にて摂取することにより発生している。2003年、野生の鹿肉を生食しE型肝炎の集団事件が発生し、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することが報告された。その後、豚肉や豚レバーを加熱不十分で摂食して発生した事件、またはその可能性が示唆される事件がいくつか報告されている。北海道で発生した事件では、焼肉店で豚のレバーおよび内臓肉を生食、もしくは不完全な加熱処理で摂食したことが明らかにされている。また、本事件から分離されたウイルスRNA断端が、神奈川県などで発生した事件から分離されたウイルス遺伝子的に一致していることが示され、日本でのE型肝炎の発生については家畜(特に、豚)や豚肉などによる伝播が示唆されている。それゆえ、日本における豚およびと殺・解体された豚肉(内臓肉を含む)の流通実態を把握することは、E型肝炎発生の原因究明および予防を行う上に重要であると考えられる。

昨年度は、北海道内で飼養される豚の生産状況、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。本年度は、豚肉消費の最も多い関東地域を中心として、

東京都内のと畜場(芝浦および八王子食肉衛生検査所)でと殺・解体される豚の搬入地域とその頭数について、また豚のと殺・解体から豚肉の流通・販売を一貫して行っている岩手県における豚の生産および豚肉の流通について調査を行った。さらに、日本食肉流通センター(神奈川県川崎市)に搬入される豚肉(枝肉、部分肉)、および本センターを経由して流通される豚肉について、その実態(仕入先および販売先の都道府県とその量)を調査した。

B. 研究方法

わが国における豚の生産実態については、社団法人日本食肉協議会編(食肉関係資料 2007年10月出版)、および畜産の情報(国内編)2008年に基づいて集計した。東京都内のと畜場(芝浦食肉衛生検査所および八王子食肉衛生検査所)でと殺・解体されている豚の搬入地域とその頭数については、平成17年および18年度東京都芝浦食肉衛生検査所事業年報のデータに基づいて集計した。さらに、豚のと殺・解体から豚肉の流通・販売を一貫して行っている岩手県について、岩手畜産流通センターK.K.の調査データ(平成14年度)を参考として、県内の飼育頭数およびと殺・解体頭数、また県外への搬出頭数および県内でと殺・解体され

た豚肉の販売地域について集計した。一方、関東地域(日本食肉流通センター、川崎市)で取り扱われる豚肉(枝肉、部分肉加工品)の仕入地域、および販売地域については、財団法人日本食肉流通センターの調査資料(平成16年1月)を参考にして集計した。

C. 結果および考察

1. わが国における豚の飼養農家数と飼養頭数

わが国における豚飼養農家戸数と飼養頭数について、平成10年から平成19年の成績を表1に示す。

表1. わが国における豚の飼養農家数および飼養頭数の年次推移

年次	戸数	頭数
10	13,400	9,904,000
11	12,500	9,879,000
12	11,700	9,806,000
13	10,800	9,788,000
14	10,000	9,612,000
15	9,430	9,725,000
16	8,880	9,724,000
17	-	-
18	7,800	9,620,000
19	7,550	9,759,000

飼養農家戸数は年々減少を示しており、平成19年度(7550戸)は平成10年(13,400戸)に比べ約44%減少を示している。それに対し、飼養頭数は大きな変化は見られない。このことは一農家当りの飼養頭数が増加したのか、大規模(1,000頭以上)飼養農家が増えてきたことを示していると考えられる。

2. 豚の飼養頭数の多い地域

平成19年度では、全国の飼養頭数は9,759,000頭で、飼養頭数の最も多い(第1位)県は鹿児島県(1,385,000頭)で全体の14.2%を占めており、次いで宮崎県、茨城県であり、北海道も第6位であった(表2)。

3. 東京都内でも殺・解体される豚の搬入地域とその頭数

東京都内の2ヶ所のと畜場(芝浦食肉衛生

検査所および八王子食肉衛生検査所)でと殺・解体される豚の搬入地域とその頭数を、平成17と18年度について表3に示す。

表2. 豚の飼養頭数の多い都道府県(平成19年度食肉関係資料)

県別	飼養頭数(頭)
全国	9,759,000
鹿児島	1,385,000
宮崎	901,100
茨城	626,700
群馬	610,200
千葉	602,000
北海道	552,900
岩手	414,000
青森	386,400
愛知	377,200
栃木	358,200

表3. 東京都内でも殺解体される豚の産地(地区)とその頭数

出荷地区	都内の食肉衛生検査所に搬入頭数(頭)					
	平成17年度			平成18年度		
	芝浦	八王子	計(%)	芝浦	八王子	計(%)
北海道	- (無)	-	-	-	-	-
東北	63,450	817	64,267 (23.1)	64,161	423	64,584 (24.1)
関東	182,063	26,035	208,098 (74.7)	173,651	24,499	198,150 (73.9)
甲信越	3,999	1,439	5,438 (1.9)	3,144	1,194	4,338 (1.6)
東海	485	58	543 (0.2)	221	490	711 (0.3)
その他 (近畿、中国、九州)	305	-	305 (0.1)	180	-	180 (0.1)
計	250,302	28,349	278,651 (100%)	241,357	26,606	267,963 (100%)

東京都：芝浦および八王子食肉衛生検査所
東北地区：青森、岩手、宮城、秋田、山形、福島県
関東地区：茨城、栃木、群馬、埼玉、千葉、東京、神奈川
甲信越：新潟、富山、石川、福井、山梨、長野県

芝浦食肉衛生検査所でもと殺・解体される頭数は、平成17年度には250,302頭、平成18年度は241,357頭であった。これに対し、八王子食肉衛生検査所では平成17年は28,349頭、平成18年は26,606頭と少数であった。これらのと畜場へ搬入される豚生産地域としては、関東地域が最も多く平成17年度、平成18年度では、全と殺・解体頭数の74.7%と73.9%を占めていた。次いで多いのは、東北地域で平成17年は23.1%、平成18年は24.1%であり、次に甲信越地域で平成17年は1.9%、平成18年は1.6%であった。また、九州地域からも毎年180-200頭搬入されているが、北海道地域からは全く搬入されていなかった。

また、搬入地域の都道府県別を見ると、茨城県が最も多く、平成17年は78,216頭(全体の28.0%)、平成18年は82,503頭(30.1%)

であり、次いで、千葉県で平成17年は60,733頭(21.8%)、平成18年は56,740(21.2%)であった。東北地域では、岩手県が最も多く平成17年は42,818頭(15.4%)、平成18年は46,339頭(17.3%)であり、その他、秋田、福島県などであった。甲信越地域では長野、山梨県から、東海地域では静岡県から、近畿地域では兵庫県から多く搬入されており、また九州地域では鹿児島県から平成17年、18年にそれぞれ180頭が搬入されていた。全国48都道府県のうち、芝浦と畜場に搬入されている県は18ヶ所であった。

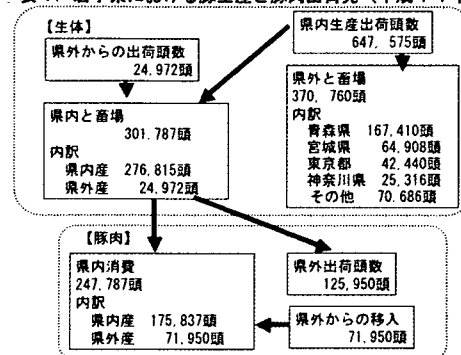
以上の調査から、東京都内のと畜場には全国各県から搬入されており、九州地域の鹿児島県からも毎年搬入されているが、北海道地域からは全くみられなかった。一般に、牛については各地域で銘柄牛が生産されており、そのと殺・解体については消費の多い都市圏のと畜場へ生体搬入が行われている。しかし豚については、それぞれの生産地またはその隣地域のと畜場でと殺・解体され、枝肉または部分加工肉として関東、関西地域などの消費地に販出されていると思われる。しかし今回の調査成績から、東京都内には各県から生体(豚)として多く搬入されており、これらの輸送費などの経費を入れても十分に経済的に成り立っていると判断される。

4. 岩手県における豚の生産および豚肉流通

岩手県で飼養される豚および県内でと殺・解体される頭数、およびこれらの豚肉流通について表4に示す。岩手畜産流通センターの調査によれば、県内で飼養され出荷された頭数は647,575頭/年であり、その内、県内と畜場でと殺・解体されたものは276,815頭(42.7%)で、県外と畜場に搬出されたものは370,760頭(57.3%)であった。その搬出先は、青森県が最も多く167,410頭(45.2%)で、関東地域の東京都のと畜場に

は42,440頭(11.5%)、神奈川県には25,316頭(6.8%)が搬出されていた。しかし、芝浦食肉衛生検査所のデータによると、近年では岩手県から搬入される豚は見られなくなっている。また、岩手県内と畜場でと殺・解体された頭数のうち、県外から搬入されたものは24,972頭(10.1%)で、このうち青森県から搬入されるものが最も多く見られた。

表4. 岩手県における豚生産と豚肉出荷先(平成14年)



他方、県内で生産された豚肉のうち、県内消費は247,787頭(58.3%)であり、県外に出荷されたものは125,950頭(41.7%)であった。また、岩手県内に他県から搬入される豚肉は71,950頭であった。なお今回の調査は、平成14年のデータであり、これ以後については畜産流通センターでも集計されておらず、その実態については十分に明らかにできなかった。今後、岩手県においても豚の生産、および豚肉消費等のデータをまとめておく必要があると思われる。

5. 関東地域における豚肉(国産)の仕入および販売地域

1) 豚肉の仕入地域

日本食肉流通センター(川崎市)における豚肉の仕入地域について、平成16年のデータを集計したものを図1に示す。仕入地域としては関東地域が最も多く、その主なところは神奈川県が204.5t、東京都が179.1t、千葉県が139.6tで、その他栃木県、埼玉県などであった。次いで、九州地域の鹿児島県が227.6t、宮崎県が33.1tで、東北地域で

は秋田県が36.9tと多かった。しかし、北海道地域からは全く仕入されていなかった。

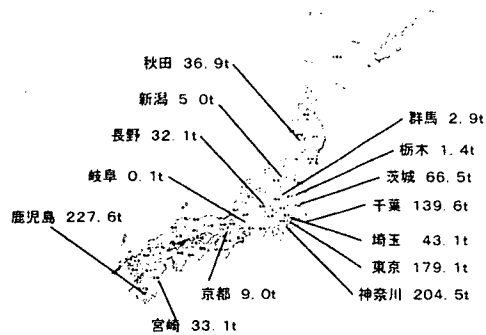


図1. 関東地域(日本食肉流通センター:川崎市)における国産豚肉の仕入地域(平成16年11月現在)

2) 豚肉の販売地域

豚肉の仕入と同様に、日本食肉流通センター(川崎市)を經由(一部は書類のみ経由)して販売される枝肉および部分肉加工品の販売地域を図2に示す。

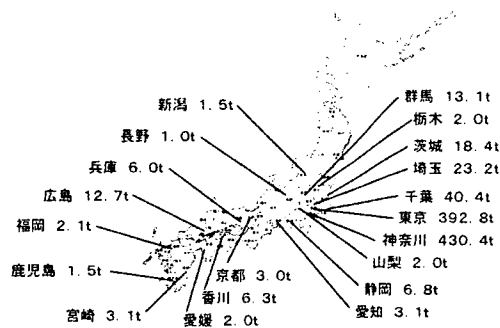


図2. 関東地域(日本食肉流通センター:川崎市)からの国産豚肉の販売地域(平成16年11月現在)

関東地域が最も多く、特に神奈川県が430.4t、東京都が392.8t、千葉県が40.4t、埼玉県が23.2tなどであり、この他、関東近隣県に販売されていた。国内全体では、北海道、東北地域を除いた各地域に販売されていることが明らかとなった。豚肉仕入を行っている九州地域において部分肉加工品として販売されていた(鹿児島県:15t、宮崎県:31t)。わが国で生産される食肉の流通は極めて複雑であり、その実態を十分に把握することは困難である。近年、牛肉ではトレーサビリティ

一制度が導入され、生産・流通履歴を判明することができるシステムが確立されているが、豚肉については本システムがまだ確立されていない。今後、食肉の安全性などを確保するためには、生産から消費までの流通経路を把握できるシステムを確立する必要があると思われる。

D. 参考資料

1. 豚肉関係資料「豚のと畜頭数」、畜産の情報(国内編)1月号、2008、(独)農畜産業振興機構編集/発行。
2. 食肉関係資料「家畜飼養農家数および飼養頭数」、(社)日本食肉協議会編、10月1日(2007)農林水産相生産局監修。
3. 東京都芝浦食肉衛生検査所「産地別と畜検査頭数」、平成17年度東京芝浦食肉衛生検査所年報、2008年2月。
4. 東京都芝浦食肉衛生検査所「産地別と畜検査頭数」、平成18年度東京芝浦食肉衛生検査所年報、2009年2月。
5. 岩手畜産流通センター「豚肉生産出荷」、平成16年岩手畜産流通センター報告書、2004年。
6. 農林水産省「食肉流通統計」「畜産統計」、平成17、18年度版。

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。

III.研究成果の刊行に関する一覧表

平成 19 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

- Michitaka K, Takahashi K, Furukawa S, Inoue G, Hiasa Y, Horiike N, Onji M, Abe N, Mishiro S. Prevalence of hepatitis E virus among wild boar in the Ehime area of western Japan. *Hepatol Res* 2007 Mar;37(3):214-20
- 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 Feb;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):181-9. Epub 2007 Jan 26
- Achwan WA, Muttaqin Z, Zakaria E, Depamede SA, Mulyanto, Sumoharjo S, Tsuda F, Takahashi K, Abe N, Mishiro S. Epidemiology of hepatitis B, C, and E viruses and human immunodeficiency virus infections in Tahuna, Sangihe-Talaud Archipelago, Indonesia. *Intervirology* 2007 50 (6): 408-11
- Takikawa Y, Yasumi Y, Sato S, Endo R, Suzuki K, et al. A case of acute hepatitis E associated with multidrug hypersensitivity and cytomegalovirus reactivation. *Hepatol Res* 2007;37:158-65
- Gotanda Y, Iwata A, Ohnuma H, Yoshikawa A, Mizoguchi H, Endo K, Takahashi M, Okamoto H: Ongoing subclinical infection of hepatitis E virus among blood donors with an elevated alanine aminotransferase level in Japan. *J Med Virol* 79:734-742, 2007
- Lorenzo FR, Tsatsalt-Od B, Ganbat S, Takahashi M, Okamoto H: Analysis of the full-length genome of hepatitis E virus isolates obtained from farm pigs in Mongolia. *J Med Virol* 79:1128-1137, 2007
- Wibawa IDN, Suryadarma IGA, Mulyanto, Tsuda F, Matsumoto Y, Ninomiya M, Takahashi M, Okamoto H: Identification of genotype 4 hepatitis E virus strains from a patient with acute hepatitis E and farm pigs in Bali, Indonesia. *J Med Virol* 79:1138- 1146, 2007
- Fukuda S, Ishikawa M, Ochiai N, Suzuki Y, Sunaga J, Shinohara N, Nozawa K, Tsuda F, Takahashi M, Okamoto H: Unchanged high prevalence of antibodies to hepatitis E virus (HEV) and HEV RNA among blood donors with an elevated alanine aminotransferase level in Japan during 1991-2006. *Arch Virol* 152: 1623-1635, 2007
- Takahashi M, Tanaka T, Azuma M, Kusano E, Aikawa T, Shibayama T, Yazaki Y, Mizuo H, Inoue J, Okamoto H: Prolonged fecal shedding of hepatitis E virus (HEV) during sporadic acute hepatitis E: evaluation of infectivity of HEV in fecal specimens in a cell culture system. *J Clin Microbiol* 45(11):3671-3679, 2007
- Okamoto H: Genetic variability and evolution of hepatitis E virus. *Virus Res* 127(2):216-228, 2007
- Matsuura Y, Suzuki M, Yoshimatsu K, Arikawa J, Takashima I, Yokoyama M, Igota H, Yamauchi K, Ishida S, Fukui D, Bando G, Kosuge M, Tsunemitsu H, Koshimoto C, Sakae K, Chikahira M, Ogawa S, Miyamura T, Takeda N, Li TC, 2007. Prevalence of antibody to hepatitis E virus among wild sika deer, *Cervus nippon*, in Japan. *Arch Virol* 152: 1375-81
- Li TC, Miyamura T, Takeda N, 2007. Detection of hepatitis e virus RNA from the bivalve *yamato-shijimi* (*corbicula japonica*) in Japan. *Am J Trop Med Hyg* 76: 170-2
- Elkady A, Tanaka Y, Kurbanov F, Hirashima N, Sugiyama M, Khan A, Kato H, Okumura A, Mizokami M. Evaluation of anti-hepatitis E virus (HEV) immunoglobulin A in a serological screening for HEV infection. *J Gastroenterol*. 42(11):911-7. 2007
- Yano K. Wild boar as an important reservoir of hepatitis E virus in western Japan. *Hepatol Res*. 2007 37(3):167-9
- 高橋和明, 安倍夏生, 道堯浩二郎, 北嶋直人, 松井高峯, 津田新哉, 新井雅裕, 三代俊治. 動物種の如何を問わず E 型肝炎ウイルス抗体を検出し得る簡便 ELISA 法 . 肝臓 2007; 48: 338-340
- 藤山洋一, 山岸由幸, 菊池真大, 下地顕一郎, 加藤真三, 永田博司, 齋藤英胤, 日比紀文, 三代俊治. 人工肝補助療法を施行し救命し得た genotype IV の E 型劇症肝炎の 1 例. 日本消化器病学会雑誌. 2007 104 (2): 219-25

(総説等は省略)

IV. 研究成果の刊行物・別刷

Editorial

Wild boar as an important reservoir of hepatitis E virus in western Japan

Hepatitis E was classically considered as a waterborne outbreak of acute hepatitis with jaundice in the tropics and subtropics. It was even regarded that most, if not all, hepatitis E cases observed in industrialized countries, including Japan, were most likely "imported." Over the last few years, however, autochthonous hepatitis E infection has been reported from economically developed countries such as the USA, Japan, Europe and Australia.¹⁻³

The hepatitis E virus (HEV) is the sole member of the genus *Hepevirus* in the family *Hepeviridae*, remotely related to *Caliciviridae* viruses.⁴ The interstrain sequence diversity of its genome allows four convenient groupings to be made. These include: genotype 1, which is regularly identified in human cases of hepatitis E in hyperendemic areas; genotype 2, characterized from human cases in an outbreak in Mexico and more recently in Nigeria; genotype 3, which is detected in humans with non-imported disease and in pigs of economically developed countries, such as the US and Japan; and genotype 4, found among humans and pigs in east Asia.^{5,6}

In 2001, an HEV strain of genotype 3 was isolated from a Japanese patient with acute hepatitis who had never been abroad.² Consequent studies revealed that a Japanese indigenous strain might be circulating in the country.^{7,8} Furthermore, a zoonotic transmission of HEV has been suggested, with both indirect⁹⁻¹¹ and direct^{12,13} evidence provided. However, the extent and impact of zoonotic transmission of acute hepatitis E occurrence has not yet been elucidated.

Anti-HEV IgG has been detected among pigs in nonendemic countries such as Australia, Canada, Germany, New Zealand, the US and Japan.^{11,14,15} Other than in pigs, a presence of antibody to HEV and/or HEV-RNA has been proven in mice, rats, cats, monkeys, goats, cows, deer, mongooses and chickens.¹⁶⁻²⁰

The zoonotic infection of HEV was first confirmed between deer and humans.¹⁷ The genomic sequence of HEV from patients of hepatitis E was identical to that found in a leftover portion of deer meat which the patients had eaten before the onset of hepatitis. Shortly after the report, two and 11 cases of hepatitis E possibly

associated to wild boar ingestion were reported.^{21,22} Accordingly, pigs, boar and deer have been considered as important reservoirs in Japan and, naturally, pigs are considered to be the likely primary reservoir among these three. Indeed, in Hokkaido, where pig meat consumption is relatively high in comparison to other parts of Japan, a higher incidence of hepatitis E has been noted.^{7,8,23}

On the other hand, sporadic cases or small outbreaks of hepatitis E reported in western Japan are often associated with boar ingestion.^{13,21,22,24-26} Therefore, information on the prevalence of anti-HEV and HEV-RNA among wild boar in western Japan appears to be of importance. Sonoda *et al.*²⁷ reported that antibody to HEV was detected in 9% of 35 wild boar and in 2% of 117 wild deer tested, and HEV-RNA was detected in a boar, thus indicating an HEV-RNA prevalence of 1/35 (2.86%) among wild boar. It was not clear from Sonoda's data whether the prevalence of HEV among boar was higher in (a) particular part(s) of Japan, probably because of limitations in the sample size.

In contrast, in this issue of this journal, Michitaka *et al.*²⁸ report a high prevalence of anti-HEV both in wild-caught (25.5%) and bred boar (71.4%) in the Ehime prefecture of Japan, where a case of hepatitis E in a woman who had cooked and eaten wild boar meat has recently been reported.²⁶ The positive rates of anti-HEV showed a significant difference between wild-caught boar and bred boar (25.5% vs. 71.4%, $P < 0.001$). Interestingly, despite the high rate of anti-HEV, none of the bred boar was positive for HEV-RNA, and these findings were similar to the reported case of bred swine, in which viremia was recognized only within 6 months of birth.¹¹ Furthermore, in some of the anti-HEV-positive boar, the genotype 3 HEV was detected, suggesting that genotype 3 HEV is prevalent among the boar in Ehime prefecture. Interestingly, most cases of sporadic hepatitis E in western Japan are associated with the HEV of genotype 3.

Such accumulated evidence therefore seems to indicate that wild boar are one of the major reservoirs of HEV in western Japan. This assumption may be biased by patients' memories, for example pork ingestion,

which is usual in Japan, is less memorable than boar ingestion, which does not appear to be a usual food item, even for those who like eating wild animals. It is possible, therefore, that the wild boar-borne transmission of HEV is overestimated, while pig-borne transmission remains underrepresented due to such a recall bias. Indeed, it has been shown that over 50% of Japanese hepatitis E patients have an unknown mode of transmission.²⁹ Nevertheless, there is no doubt that the consumption of boar meat puts individuals at a high risk of developing hepatitis E infection in western Japan. As Michitaka *et al.* concluded, boar should be regarded as an important reservoir of HEV and caution is therefore required in cooking and eating boar meat.

Koji Yano

NHO National Nagasaki Medical Center,
Clinical Research Center,
Nagasaki University Graduate School
of Biomedical Sciences,
Nagasaki, Japan

REFERENCES

- 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.
- 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.
- Buti M, Clemente-Casares P, Jardi R *et al.* Sporadic cases of acute autochthonous hepatitis E in Spain. *J Hepatol* 2004; 41: 126-31.
- Anderson DA, Cheng RH. Structure and molecular virology. In: Thomas H, Lemon S, Zukerman A, eds. *Viral Hepatitis*. Oxford: Blackwell Publishing, 2005; 603-10.
- Teo CG. Hepatitis E indigenous to economically developed countries: to what extent a zoonosis? *Curr Opin Infect Dis* 2006; 19: 460-6.
- Worm HC, van der Poel WH, Brandstatter G. Hepatitis E: an overview. *Microbes Infect* 2002; 4: 657-66.
- 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: 1342-5.
- 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: 3209-18.
- 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: 929-36.
- 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 travelled abroad. *J Gen Virol* 2002; 83: 1931-40.
- 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.
- Tei S, Kitajima N, Takahashi K *et al.* Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings. *Lancet* 2003; 362: 371-3.
- Li TC, Chijiwa K, Sera N *et al.* Hepatitis E virus transmission from wild boar meat. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 1958-60.
- Meng XJ, Dea S, Engle RE *et al.* Prevalence of antibodies to the hepatitis E virus in pigs from countries where hepatitis E is common or is rare in the human population. *J Med Virol* 1999; 59: 297-302.
- Hsieh SY, Meng XJ, Wu YH *et al.* Identity of a novel swine hepatitis E virus in Taiwan forming a monophyletic group with Taiwan isolates of human hepatitis E virus. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 3828-34.
- Hirano M, Ding X, Li TC *et al.* Evidence for widespread infection of hepatitis E virus among wild rats in Japan. *Hepatol Res* 2003; 27: 1-5.
- Hirano M, Ding X, Tran HT *et al.* Prevalence of antibody against hepatitis E virus in various species of non-human primates: evidence of widespread infection in Japanese monkeys (*Macaca fuscata*). *Jpn J Infect Dis* 2003; 56: 8-11.
- Kuno A, Ido K, Isoda N *et al.* Sporadic acute hepatitis E of a 47-year-old man whose pet cat was positive for antibody to hepatitis E virus. *Hepatol Res* 2003; 26: 237-42.
- 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: 137-40.
- 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: 501-5.
- 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.
- Tamada Y, Yano K, Yatsushashi H *et al.* Consumption of wild boar linked to cases of hepatitis E. *J Hepatol* 2004; 40: 869-70.
- Okamoto H, Takahashi M, Nishizawa T. Features of hepatitis E virus infection in Japan. *Intern Med (Tokyo, Japan)* 2003; 42: 1065-71.
- Hijioka S, Sato Y, Iwashita Y *et al.* A case of acute hepatitis E who had a history of frequent ingestion of raw meat and viscera from wild deer and boar. *Jpn J Gastroenterol* 2005; 102: 723-8.
- Shimizu Y, Yamada M, Tatematsu H *et al.* Four cases of hepatitis E after eating wild boar meats in Aichi, Japan. *Kanzo* 2006; 47: 465-73.

- 26 Inoue G, Michitaka K, Takahashi K *et al.* A case of acute hepatitis E developed in a housewife who had cooked and eaten wild boar meat a month before. *Kanzo* 2006; 47: 459-64.
- 27 Sonoda H, Abe M, Sugimoto T *et al.* Prevalence of hepatitis E virus (HEV) infection in wild boar and deer and genetic identification of a genotype 3 HEV from a boar in Japan. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 5371-4.
- 28 Michitaka K, Takahashi K, Furikawa S *et al.* Prevalence of hepatitis E virus among wild boar in the Ehime area of western Japan. *Hepatol Res* 2007; 37: 214-220.
- 29 Abe T, Aikawa T, Akahane Y *et al.* Demographic, epidemiological, and virological characteristics of hepatitis E virus infections in Japan based on 254 human cases collected nationwide. *Kanzo* 2006; 47: 384-91.

Original Article

Prevalence of hepatitis E virus among wild boar in the Ehime area of western Japan

Kojiro Michitaka,^{1,2} Kazuaki Takahashi,³ Shinya Furukawa,¹ Gaku Inoue,⁴ Yoichi Hiasa,¹ Norio Horiike,¹ Morikazu Onji,¹ Natsumi Abe³ and Shunji Mishiro³¹Department of Gastroenterology and Metabology and ²Department of Endoscopic Medicine, Ehime University Graduate School of Medicine, Ehime, ³Department of Medical Sciences, Toshiba General Hospital, Tokyo, and ⁴Internal Medicine, Uwajima Social Insurance Hospital, Uwajima, Japan

Aims: Transmission of hepatitis E virus (HEV) from wild boar to humans has been reported, particularly from Japan. We attempted to clarify this issue.

Methods: We assessed the IgG class antibodies against HEV (anti-HEV) in serum samples taken from 406 boar living in the Ehime area of western Japan from 2001 to 2004, of which 392 were captured in the wild (wild-caught boar) and 14 had been kept in a breeding farm (bred boar).

Results: Anti-HEV positive rate in the bred boar (10/14, 71.4%) was significantly higher than in the wild-caught boar (100/392, 25.5%) ($P < 0.001$). Of the 392 wild-caught boar, 12 (3.1%) were positive for HEV-RNA, 10 of which were then sub-

jected to phylogenetic analyses by sequencing an 821-nt fragment within ORF1. All the 10 isolates segregated to genotype 3, and eight of them were mutually related to form a cluster. All the eight HEV isolates in this cluster were from the wild-caught boar living in one and the same habitat within the studied area, while the other two independent isolates were from different regions.

Conclusion: HEV infection is endemic in wild boar in the Ehime area, and we should regard the wild boar as an important reservoir of HEV.

Key words: genotype, hepatitis E virus, wild boar, zoonosis

INTRODUCTION

HEPATITIS E VIRUS (HEV), a nonenveloped virus with a single-stranded RNA of approximately 7200 bases,¹ is prevalent mostly in tropical and subtropical countries, such as those located in south Asia, north and central Africa, and Mexico.² Hepatitis E in other areas had been thought to be an 'imported' infection until recently many reports described a patient(s) infected with HEV domestically in the USA, European nations or in Japan.^{3–13} While transmission via blood transfusion undoubtedly occurs,^{14–17} a significantly more important transmission route seems to be "zoonotic": from swine,^{18–24} wild boar^{25–28} and wild deer^{29,30} to humans. In wild boar, Sonoda *et al.*³¹ and Nishizawa *et al.*³² found HEV-RNA in 3% (1/35) and 2.3% (2/87), respectively. However, the numbers of boar tested in those studies

were limited, and thus the prevalence of HEV infection among wild boar is yet to be fully understood. In the present study, we assessed the prevalence of HEV in boar in western Japan on a much larger scale in order to clarify this issue.

METHODS

Subjects

WE TESTED 406 boar (*Sus scrofa*) in the Ehime area of western Japan, which is located in the north-western part of Shikoku Island. Of those, 392 were captured in the wild (wild-caught boar) from 2001 to 2004, while 14 had been kept in a breeding farm (bred boar) in the investigated area. Sixty-two of the wild-caught boar were estimated to be 0–1 years old, 65 were 1–2 years old, 130 were 2–3 years old, 41 were 3 or more years old, and 94 were age unknown: 155 were males, 150 were females and 87 were sex unknown. As for bred boar, 13 were aged 1–2 years and one was aged 2–3 years: five were males and nine were females. Serum samples were obtained from each and stored at -70°C until tested.

Correspondence: Dr Kojiro Michitaka, Department of Endoscopic Medicine, Ehime University Graduate School of Medicine, Shigenobu-cho, Toon-shi, Ehime 791-0295, Japan. Email: mich@m.ehime-u.ac.jp

Received 3 June 2006; revision 12 September 2006; accepted 15 September 2006.

Detection of anti-HEV

IgG class antibodies against HEV in the wild boar's sera were determined using an in-house enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), with some modifications from the previously reported method.³³ Briefly, we used a recombinant ORF2 protein of HEV (kindly provided by Dr Li Tian-Cheng) as capture antigen, and horseradish peroxidase-labeled anti-pig IgG (MP Biomedicals Inc., OH) as tracer antibodies.

Detection and sequencing of HEV genome

Detection and nucleotide sequencing of the HEV-RNA in the wild boar's sera were performed by the methods described previously.^{5,34} Phylogenetic analyses were done on the partial HEV-RNA sequence of 821 nucleotides (nt) in length within ORF1, which corresponds to a region coding for RNA-dependent RNA polymerase.³⁵

Statistics

Statistic analyses were done by χ^2 -test. A *P*-value of less than 0.05 was considered as significant.

RESULTS

SERA FROM 123 wild boar caught in 2004 were assayed for anti-HEV, and optical density (OD) values were analyzed to determine the cut-off value (Fig. 1). An OD value of 0.591 calculated using 3.5 standard deviations above the mean value was employed as the cut-off value.

Anti-HEV was positive in 25.5% of the wild-caught boar, with no significant difference between males and females (Table 1). The positive rate in wild-caught boar

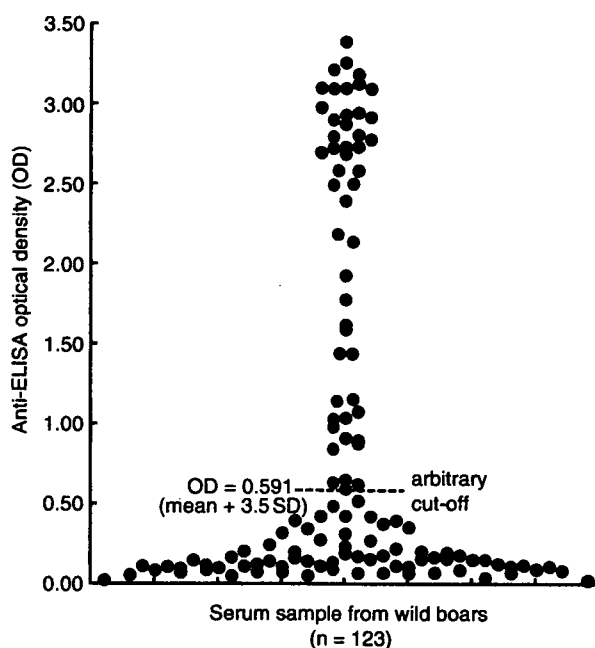


Figure 1 Optical density (OD) of anti-HEV determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

less than 1 year old was 6.4% (4/62), while it was approximately 30% in those older than 1 year. The anti-HEV prevalence differed also by place and by year of capture, as shown in Table 2, in which the investigated area (Ehime prefecture, which is approximately 5700 km²) was divided into three parts: east, central and south-west.

HEV-RNA was found in 12 (3.1%) of 392 wild boar, and nine of the 12 were also positive for anti-HEV

Table 1 Anti-HEV in the wild-caught boar in relation to estimated age and sex

	Number	Positive for anti-HEV	Anti-HEV (OD) Range (central)
Sex			
Male	155	40 (25.8%)	0.046–3.396 (0.280)
Female	150	46 (30.7%)	0.029–3.220 (0.318)
Unknown	87	14 (16.1%)	0.090–3.159 (0.245)
Age in years			
0–1	62	4 (6.4%)	0.075–3.190 (0.201)
1–2	65	21 (32.3%)	0.029–3.264 (0.274)
2–3	130	44 (33.8%)	0.046–3.181 (0.311)
3+	41	14 (34.1%)	0.160–3.396 (0.382)
Unknown	94	17 (18.1%)	0.029–3.220 (0.257)
Total	392	100 (25.5%)	0.029–3.396 (0.275)

OD, optical density.