

- 4) Glickman LT, Cypess RH : *Toxocara* infection in animal hospital employees. *Am J Public Health* **67** : 1193-1195, 1977
- 5) Taylor MR, Keane CT, O'Connor P, et al : The expanded spectrum of toxocaral disease. *Lancet* **1** : 692-695, 1988
- 6) Ahn T, Houki N, Ohkura Y, et al : Serologically diagnosed toxocariasis with hemophagocytic syndrome in a patient with primary biliary cirrhosis. *Internal Medicine* **45** : 31-32, 2006
- 7) 吉川正英, 王寺幸輝, 石坂重昭ほか : イヌ回虫幼虫 Es 抗原に高い抗体価を示したネフローゼ症候群再燃例. *Clinical Parasitology* **15** : 47-49, 2005
- 8) 吉川正英, 石坂重昭, 大森佐和子ほか : 慢性関節リウマチ (Ra) 類似の臨床経過中に下腿浮腫, 好酸球増多, 低蛋白血症が出現しイヌ回虫幼虫 Es 抗原に対して高い抗体価を示した 1 例. *Clinical Parasitology* **14** : 74-76, 2004
- 9) 利岡あゆみ, 川口剛, 中村ふくみほか : 胃悪性リンパ腫で見られた抗寄生虫抗体陽性反応について. *Clinical Parasitology* **16** : 114-116, 2006
- 10) 酒井健二, 岡島泰一郎, 大内和弘 : 鶏肝の生食により発症したと考えられる内臓幼虫移行症の 1 例. *内科* **51** : 963-967, 1983
- 11) Morimatsu Y, Akao N, Akiyoshi H, et al : Case Reports : A familial case of visceral larva migrans after ingestion of raw chicken livers : The specific antibody in bronchoalveolar lavage fluid. *Am J Trop Med Hyg* **75** : 303-306, 2006
- 12) Yoshikawa M, Ouji Y, Nishiofuku M, et al : Visceral toxocariasis from regular consumption of raw cow liver. *Internal Medicine* **47** : 1289-1290, 2008
- 13) Oteifa NM, Moustafa MA, Elgozamy BM : Toxocariasis as a possible cause of allergic diseases in children. *J Egypt Soc Parasitol* **28** : 365-372, 1998
- 14) Wolfrom E, Chene G, Boisseau H, et al : Chronic urticaria and *Toxocara canis*. *Lancet* **345** : 196, 1995
- 15) Aragane K, Akao N, Matsuyama T, et al : Fever, cough, and nodules on ankles. *Lancet* **354** : 1872, 1999
- 16) Barriga OO : A critical look at the importance, prevalence and control of toxocariasis and the possibilities of immunological control. *Vet Parasitol* **29** : 195-234, 1988
- 17) Yoshida M, Shirao Y, Asai H, et al : A retrospective study of ocular toxocariasis in Japan : correlation with antibody prevalence and ophthalmological findings of patients with uveitis. *J Helminthol* **73** : 357-361, 1999
- 18) 太田秀一, 小宮山純, 城倉健 : 犬回虫による好酸球性髄膜脳脊髄炎. *臨床神経学* **34** : 1148-1152, 1994
- 19) 吉良潤一 : 寄生虫性脊髄炎. *日本内科誌* **95** : 1255-1259, 2006

医師からみたズーノーシス

～飼い主・動物医療従事者の感染予防のために～



第8回 動物由来回虫症 (Zoonotic roundworm disease)



医師からみた動物由来回虫症

赤尾信明*, 太田伸生

* Nobuaki Akao 東京医科歯科大学大学院歯学総合研究科国際環境寄生虫病学分野(東京都文京区湯島 1-5-45 〒113-8519)

はじめに

ヒトと動物が同じ病原体に感染して何らかの症状を現す時、その病気を人畜共通感染症とよんでいる。この中で、動物由来の回虫がヒトに感染して起こる病気をここでは動物由来回虫症とよぶことにする。動物由来回虫症は犬や猫の回虫 (*Toxocara canis*, *T. cati*) だけでなく、昨今、食害が大きな社会問題となっている野生化したアライグマに寄生するアライグマ回虫 (*Baylisascaris procyonis*) やクマ回虫 (*B. transfuga*) などの野生動物由来回虫類による感染症も含まれる。

動物由来回虫症は、その飼い主だけでなく動物医療従事者にも感染のおそれがある寄生虫症であり、なかには有効な治療法がないものもあるので注意が必要である。

感染源

動物由来回虫類のうち、ヒトへの感染が報告されているものと動物実験でマウスなどへの感染が証明され、ヒトへの感染の可能性のあるものを表1にまとめた。このうち症例数が最も多いのは犬回虫と猫回虫幼虫を原因とするものである。

犬回虫は母犬の体内に潜む幼虫が、妊娠を契機として胎盤を介して子宮内の胎児の肝臓内に侵入し、出産と同時に肺に移行して発育をはじめ。犬回虫ではこのような

経胎盤感染による母子間感染が主導であるが、猫回虫においては、出産後の哺乳行為によって幼虫が母猫から子猫へ移行する経乳汁感染によって感染が成立する。

犬回虫成虫は子犬の小腸に寄生しており、発育するにつれて成虫は自然に排出される。そのため1歳齢以上の犬に犬回虫の寄生をみることはまれであるが、免疫能の低下した成犬では幼虫包蔵卵の経口摂取で感染が成立し、糞便内に虫卵を排泄する。犬における犬回虫の感染状況については、齋藤らが広島県福山市内の獣医科医院を受診した家庭内飼育子犬を対象に1972年以来実施している。その調査によると、福山市の飼育犬の感染率は37.4% (1972年), 31.0% (1995年), 25.9% (2002年) と漸減傾向にあるという¹⁾。しかし、我々が2007年度に行った栃木県動物愛護センターに搬入された3カ月齢の子犬43頭の糞便検査では29頭(67%)から犬回虫卵が検出された。犬回虫感染子犬は全体的に減少傾向にあるが、飼育環境によってはなお感染率が高いことがあるので注意が必要である。

一方、猫における猫回虫については、やはり福山市内で継続して調査している齋藤らの報告によれば、11.9% (1995年), 9.2% (2002年) と、高い感染率を維持していたという²⁾。猫回虫の感染率は、子犬での犬回虫感染率と比較すると低いが、猫回虫は子猫のみならず成猫にも容易に感染あるいは再感染が成立するので、1度の糞便検査で陰性であっても安心してはならない。

表1 動物由来回虫類のヒトへの感染性とその病変

ヒトへの感染例	種類	固有宿主	ヒトでの病変
あり	犬回虫	イヌ科	肝, 眼などに寄生。多彩な症状
	猫回虫	猫	犬回虫に類似。まれに成虫が寄生
	豚回虫	豚	肝や肺の結節性病変
	アライグマ回虫	アライグマ	致死的脳炎, びまん性片眼性亜急性視神経網膜炎
	コウモリ回虫	オオコウモリ	肝炎類似疾患
	小兎唇回虫	ネコ科	頭頸部の皮下腫瘍
動物モデル (マウス) での病変			
なし	クマ回虫	クマ	アライグマ回虫に類似
	犬小回虫	イヌ科, ネコ科	犬回虫に類似
	タヌキ回虫	タヌキ	肝炎類似疾患, 幼虫は肝臓に限局
	牛回虫	牛	犬回虫に類似
	馬回虫	馬	データなし
	鶏回虫	鶏	データなし

犬・猫回虫卵のヒトへの感染経路については次の3通りが推測されている。(1) 虫卵を含んだ糞便が砂場の砂などを汚染して、虫卵の付着した砂をヒトが経口的に摂取する。(2) 虫卵が犬や猫の被毛に付着し、感染源を有した犬や猫に接触したヒトがその被毛を経口的に摂取する。(3) 犬・猫回虫の待機宿主となりうる鶏やシャモ、牛、豚などの筋肉あるいは肝臓を生食して感染する。これらの待機宿主への感染は、虫卵を摂取したミミズやゴキブリの捕食を介して起こる。

(1) の感染経路は最もよく知られたもので、日本国内でも多くの公園の砂場で調査が行われている。Ugaらは兵庫県下の公園の砂場371カ所を調査して、137カ所(37%)で虫卵の汚染を認めた。そして、検出された虫卵のほとんどが、その表面構造の特徴から猫回虫卵であった²⁾。我々も、最近、千葉県市川市の砂場から回収された虫卵について種特異的プライマーによるPCR法で検査したところ、犬回虫卵は全くみつからず、すべて猫回虫卵であることが判明した。

(2) の被毛を介した感染の可能性は、内田らが犬回虫に感染した犬の被毛をセロハンテープ法で検査した結果、肛門周囲の被毛のみならず口腔周囲や腹部の被毛にも虫卵が付着していることを見いだしたことから推測された感染経路である³⁾。また、虫卵は被毛に付着しているだけでなく、シャンプー後の排水中にもみつがっている。2003年に英国とアイルランドで行われた調査でも、60頭の犬を検査したところ、15頭の被毛に虫卵を認め、71個の虫卵

が回収できた。そのうち3個の虫卵内には完全に発育した幼虫がみられ、20個の虫卵は発育途中の生きた虫卵であったという⁴⁾。これらの報告は、犬回虫に感染した犬とヒトとの濃厚な接触が感染の機会を高めることを示唆するものである。

上記の2経路による感染では、排泄直後の糞便に虫卵が含まれていてもそれが感染源となることはない。排泄直後の虫卵は1個の卵細胞からなり、感染力がない。なぜなら、この虫卵は25~27℃の湿潤な環境下では10日前後の期間を経て幼虫包蔵卵にまで発育したのちヒトへの感染力をもつようになるからである。しかし、この時期の幼虫包蔵卵はまだ感染力は低く、さらに1~3週間経過すると十分な感染力をもつようになり、低温で湿潤条件下であれば2年以上は感染力を保持している。幼虫包蔵卵は比較的乾燥に強く、水分のない状態でも数週間は虫卵内で生存しているが、高温には弱く、70℃以上の熱水中では瞬時に死滅する。

(3) の感染経路が最近、増加している。感染源と推測される市販の鶏や牛の筋肉、肝臓から幼虫を検出することは困難であるが、Tairaらは実験的に幼虫包蔵卵を投与した豚の内臓や筋肉の一部を人工消化法により経時的に検査したところ、回収される幼虫はほとんどが肺からで、筋肉や肝臓から回収される幼虫は少なかったと報告した⁵⁾。しかし、少数とはいえ豚の筋肉や肝臓から幼虫が回収できたことは、豚がヒトへの感染源になりうることを明確に示している。また、韓国では1976年にすでに、家畜の肝臓

表2 日本国内で報告された、虫体が発見されたトキソカラ症例

	患者	雑誌名	臨床診断	病変部位	幼虫確認	報告者
確診例	8歳女児	臨床眼科	左眼の網膜腫	網膜肉芽腫	摘出眼球 幼虫断端	吉岡 (1966)
	成人女性	Lancet	好酸球性肺炎	皮疹	皮膚生検 幼虫断端	Aragane ら (1999)
	成人女性	私信	不明	頸髄	頸髄生検 幼虫断端	大津市民病院 (2008)
疑診例	成人女性	臨床眼科	ぶどう膜炎	硝子体*	硝子体手術 摘出標本	伊集院ら (1999)
	成人女性	臨床寄生虫誌	ぶどう膜炎	硝子体*	硝子体手術 摘出標本	赤尾ら (2004)

*硝子体液中の犬回虫幼虫排泄物抗原に対する抗体陽性

の生食が犬回虫症のハイリスクであることが報告されている。近年、日本国内で報告される犬回虫症の大部分が犬・猫回虫の待機宿主となる獣肉や肝臓の生食が原因の「食品媒介寄生虫感染症」である。

疫学

国内でこれまでに幼虫が確実に検出された症例は表2に示すように3例である。このほかに、幼虫様の断端がみつき、さらに抗体検査で犬回虫に対する特異抗体が検出された例が2例ある。いずれの症例も、幼虫の断端からだけでは犬回虫幼虫なのか猫回虫幼虫なのかを鑑別することはできない。しかし、どちらの回虫も *Toxocara* 属であることから、トキソカラ症として報告されることが多い。

幼虫様の断端がみつかった2例はいずれも眼型トキソカラ症といわれる病型を呈した症例で、治療を兼ねた硝子体手術時に採取された硝子体液中に、犬回虫幼虫排泄物に対する抗体が検出されている。このように、ヒトに寄生する犬回虫あるいは猫回虫の幼虫は体長が約400 μ mで体幅は約20 μ mと非常に小さく、病理組織学的検索で発見されることはまれである。それゆえ、幼虫が排泄する抗原物質に対してヒトが産生する抗体の有無を免疫学的手法により検査し診断に役立てている。

表3は、過去12年間に日本国内で報告されたトキソカラ症（および血清学的に豚回虫幼虫移行症などと診断された動物由来回虫症例を含む）と我々の研究室にトキソカラ抗体検査の依頼があった症例数を集計したものである。これによると、年間10例程度の症例が報告され、その4.5倍以上の患者がトキソカラ症を疑われ検査されると推定される。

抗体検査に用いられる幼虫排泄物抗原は、子宮内虫卵を0.5%ホルマリン水に入れ、25℃の孵卵器内で2カ月以上経過した幼虫包蔵卵から幼虫のみを回収し、D-MEM培地で幼虫を無菌的に飼育して得られた培養上清を濃縮、

表3 過去12年間のトキソカラ症例数と抗体検査依頼数

発表年	症例数 ¹	うち豚回虫幼虫が原因とされた症例	抗体検査依頼数 ²
2008	4	0	18
2007	5	0	24
2006	17	1	32
2005	11	0	39
2004	13	0	25
2003	25	3	35
2002	9	1	52
2001	6	2	70
2000	10	3	56
1999	10	0	61
1998	9	2	81
1997	10	3	36
合計	129	15	529

¹医学中央雑誌収録の論文に記載された症例数

²東京医科歯科大学に抗体検査依頼のあった症例数

凍結乾燥して作製している。幼虫はこの培養液の中で2年間は生存し、その間培養液中に代謝産物を排泄し続けている。これを犬回虫幼虫排泄物抗原 (larval excretory-secretory: LES) とよんでいる。この抗原は、成虫や幼虫から抽出した蛋白抗原に比べ特異性が高く、抗体検出に最も適した抗原であると言われている。

このLESを用いてトキソカラ症の血清疫学調査をはじめに行った報告によれば、臨床的に健康な83名のヒトの中で3名(3.6%)が抗体陽性と判定されたという。また、同じ研究者による別の報告では530名のうち20名(3.8%)でLESに対するIgG抗体が検出され、さらに大

規模な疫学調査でも、一般住民の1.6%が抗体陽性者であるという結果が報告されている。これらの抗体陽性者は既感染あるいは潜伏感染者であろうと推測されている。

豚回虫幼虫移行症と診断された15例はいずれも南九州の養豚業のさかんな地域から報告されたものであるが、豚回虫幼虫が患者から直接検出された症例はなく、血清中の抗体価が犬回虫よりも高いことが唯一の診断根拠となっている。しかし、検査に使用された豚回虫の抗原がLESと同じようにして作製された幼虫の排泄物抗原ではなく、成虫由来の抽出蛋白質抗原であることから、豚回虫幼虫LESを用いた検討が必要であると思われる。

臨床症状・症例

ここからは犬・猫回虫症（トキソカラ症）に絞って述べる。トキソカラ症は幼虫が体内を移行してさまざまな病態を引き起こすが、便宜的に内臓型、眼型、神経型、潜伏型の4型に分類されることが多い。

1. 内臓型トキソカラ症

経口的に人体内に侵入した幼虫包蔵卵は胃液により卵殻周囲の蛋白質膜が薄くなり、次いで腸の蠕動運動の間に卵殻が破壊され、腸管腔内に幼虫が脱出する。その後幼虫は腸粘膜に侵入して、大部分の幼虫は血流に乗り門脈から肝臓に至る。一部の幼虫はリンパ管性に心臓に至り全身の筋肉に移行する。肝臓を通過した幼虫は肺から心臓を通過して大循環に乗り全身に散布される。

臨床症状の程度は侵入した幼虫の多寡や宿主側の免疫応答の程度に左右されるが、発熱、全身倦怠感、肝腫大、好酸球増多などの症状がみられ、さらに全身あるいは局所の皮疹やネフローゼ症候群、関節リウマチ様関節炎、血球貪食症候群といった多彩な病態と合併することもある。

最近注目されているのは、鶏や牛といった犬回虫の待機宿主の筋肉や肝臓の生食による発症が挙げられる。Morimatsuらが報告した症例では、ニワトリの生肝を食べた親子（75歳と45歳）が3週間後に発熱と倦怠感、頭痛、呼吸困難を訴えて国立熊本病院呼吸器科に入院した⁹⁾。2人とも肺野に多発性小結節陰影がみられ、時間の経過とともに肺炎病巣が移動していったという。気管支洗浄液中に多数の好酸球がみられ、さらには血清のみならず気管支洗浄液中にもLESに特異的な抗体が検出され、トキソカラ症の診断が下された。父親は1年4カ月後にネフローゼ症候群を発症し、死亡の転帰をとった。45歳の息子はその後の血液検査でも好酸球増多が持続しており、引

き続き経過観察となっている。

2. 眼型トキソカラ症

米国の眼病理学の技術員であったWilder女史が1950年に、網膜芽腫の診断で抽出された46例の小児の眼球組織標本を数千枚作製して詳細に検査したところ、26例（56.5%）から回虫幼虫の断端を発見した。後にこれが犬回虫幼虫のものであることが明らかになって以来、眼型トキソカラ症は小児に多い疾患であると考えられてきた。しかし、Yoshidaらの報告では38例の眼型トキソカラ症のうち34例（89%）は20歳以上の成人であった¹⁰⁾。過去12年間に我々の教室に抗体検査の依頼のあった529例の中で、年齢と性別の記載があった眼型トキソカラ症を疑われた134例について集計してみたところ、12歳以下の児童の占める割合は7例（10.4%）で、眼型トキソカラ症が小児に多い感染症ではないことを示していた。

犬回虫幼虫の網膜内の移行経路については血行性と神経行性の2通りが推測されてきたが、Hayashiらは眼型トキソカラ症の動物モデルであるスナネズミの大脳内に直接注入した幼虫が視神経を介して網膜内に出現することを見だし、脳内に移行した幼虫が眼型トキソカラ症を発症させることを報告した¹¹⁾。

3. 神経型トキソカラ症

マウスやラットを使った実験から、犬回虫幼虫は容易に中枢神経系に移行し、脳内に移行した幼虫によって行動異常や迷路学習能力の低下が引き起こされることが知られている。ヒトを対象とした症例対照研究では犬回虫抗体陽性者で神経症状を呈する例はそれほど多くはない。Otaらは、21歳の女性で、発熱と前頭部痛、極端な認められた犬回虫幼虫が原因と考えられる好酸球性髄膜炎の1例を報告している¹²⁾。この例では血清中のみならず脊髄液中にもLESに対する抗体が証明された。九州大学の吉良はこのような症例について「アトピー性脊髄炎」あるいは「寄生虫性脊髄炎」という新しい疾患概念を提唱し、LESに対するアレルギー反応によるものではないかと考えている。

しかし、大津市民病院の益澤ら（2008）は最近、両肩、両上腕、両足底に痛みや知覚低下を自覚した30代の女性の脊髄生検組織内に犬回虫幼虫断端を見だし、幼虫が直接の原因となる脊髄炎が日本国内にも存在することを報告した。



図1 寒天ゲル内二重拡散法によるトキソカラ症患者血清と犬回虫幼虫排泄物抗原と他の寄生虫抗原との交叉反応

患者血清は犬回虫幼虫排泄物抗原と強く反応し(黄矢印)、豚回虫抗原とも弱く反応することがある(赤矢印)。しかし、その沈降線は犬回虫幼虫のそれとは融合せず、犬回虫のものとは異なった抗原性をもつことがわかる。

4. 潜伏型トキソカラ症

中程度の好酸球増多症があり腹痛、頭痛、倦怠感、発熱、貧血といった非特異的な症状をもつヒトで血清中のLESに対する抗体価が有意に高い場合を潜伏型トキソカラ症と分類している。喘息の既往症をもつヒトたちの中に潜伏型トキソカラ症の症状をもつヒトが多いことから、アレルギー疾患とトキソカラ症との間に相関があるのではないかと注目されている。

検査・診断

先にも述べたが、幼虫を直接検出することは困難なため、臨床的にトキソカラ症が疑われる症例ではLESを用いた抗体検査を行って感染の有無を間接的に証明する。通常行われている検査では、血清中のLES特異的IgG抗体を検出する方法が用いられているが、眼型トキソカラ症では特異的IgE抗体が病勢とよく一致すると報告されている。また、眼型トキソカラ症では硝子体液や前房水といった眼内液中にIgG抗体が検出できれば確定診断に役立つ。

抗体検出にはplate-ELISA法やdot-ELISA法が比較的短時間で結果が得られるため多用されている。しかし、短時間といってもいずれの方法も結果が得られるまでに2～3時間必要なことから、我々は検査に必要な時間がわずか3分程度でplate-ELISA法との相関も高い迅速診断キットを作製した。すでにいくつかの大学病院で実際に使用されている^{10,11)}。

検査に用いるLESは抗原特異性が高いと言われているが、やはり他の線虫類との間で交叉反応がみられる。そのため、より特異性の高い組換え抗原を用いたplate-ELISA法が試みられている。また、交叉反応の程度を定性的に判定するためには寒天ゲル内二重拡散法を用いている(図1)。我々はこれらの結果を総合してトキソカラ症の診断を下すようにしている。

治療・予防

血清抗体が陽性であっても他に自覚症状がない、いわゆる潜伏型トキソカラ症の場合には治療の必要はない。しかし、好酸球数の異常高値や活動性の感染が疑われる時には治療の対象となる。治療にはアルベンダゾール10～15mg/Kg/日、分2～3(1日分を2,3回に分けて投与)を4～8週間経口投与する。しかし、肝機能障害が高い頻度で出現するので、投薬期間中は注意深い観察が必要である。必要に応じてステロイド剤を併用する。アルベンダゾールは内臓型のみならず神経型トキソカラ症においても良好な治療効果が報告されている。

眼型トキソカラ症に対するアルベンダゾールの治療成績は一定していない。著効を示したという報告もあれば無効であったというものもある。眼型トキソカラ症の新しい動物モデルであるスナネズミを用いた我々の検討でも、眼内に出現した幼虫に対してアルベンダゾールは何ら効果を示さなかった。しかし、ステロイドの眼内注射は炎症を抑制した(未発表)。そのため、内臓型だけでなく、眼型トキソカラ症についても、駆虫薬はステロイドとともに投薬するのがよいとされている。また、網膜内に幼虫が爬行して黄斑部に病変が拡大すると急激な視力低下や失明に至ることがあるため、光凝固術や冷凍凝固術を考慮する。ぶどう膜炎が遷延した場合には硝子体手術が必要である。

トキソカラ症の予防には、ペットからの感染を防ぐために犬では子犬の時期における駆虫の徹底、猫では子猫のみならず成猫においても定期的な糞便検査と駆虫が必要である。さらに、子供の砂場遊びの後や食事の前の手洗い励行も効果的である。また、現実的には難しいが生肉や内臓の生食を中止することによって食品からの感染を未然に防止することができる。

■参考文献■

1. 齋藤哲郎, 橋口正大, 島谷和子, 他 (2004) : 2002 年度福山市内の飼育犬及び飼育猫の内部寄生虫感染状況. 獣医畜産新報, 57 : 11-14.
2. Uga, S., Matsumura, T., Aoki, N., et al. (1989) : Prevalence of *Toxocara* species eggs in the sandpits of public parks in Hyogo Prefecture, Japan. *Jpn J Parasitol*, 38 : 280-284.
3. 内田明彦, 川上泰 (1995) : 犬・猫回虫の新しい感染ルート. 第 54 回日本寄生虫学会東日本支部大会, 東京, 434.
4. Wolfe, A., Wright, I. P. (2003) : Human toxocariasis and direct contact with dogs. *Vet. Rec*, 152 : 419-422.
5. Taira, K., Saeed, I., Lind, P., et al. (2003) : Population dynamics of *Toxocara canis* in pigs receiving a single or multiple infection. *Parasitology*, 127 : 593-602.
6. Morimatsu, Y., Akao, N., Akiyoshi, H., et al. (2006) : Case Reports : A familial case of visceral larva migrans after ingestion of raw chicken livers : The specific antibody in bronchoalveolar lavage fluid. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 75 : 303-306.
7. Yoshida, M., Shirao, Y., Asai, H., et al. (1999) : A retrospective study of ocular toxocariasis in Japan : correlation with antibody prevalence and ophthalmological findings of patients with uveitis. *J. Helminthol*, 73 : 357-361.
8. Hayashi, E., Akao, N., Fujita, K. (2003) : Evidence for the involvement of the optic nerve as a migration route for larvae in ocular toxocariasis of Mongolian gerbils. *J. Helminthol*, 77 : 311-315.
9. Ota, S., Koriyama, A., Johkura, K., et al. (1994) : Eosinophilic meningo-encephalo-myelitis due to *Toxocara canis*. *Rinsho Shinkeigaku*, 34 : 1148-1152 (in Japanese).
10. Akao, N., ChuAlbert, E., Tsukidate, S., et al. (1997) A rapid and sensitive screening kit for the detection of anti-*Toxocara* larval ES antigens. In : *Parasitology International* : 189-195.
11. Dubinsky, P., Akao, N., Reiterova, K., et al. (2000) : Comparison of the sensitive screening kit with two ELISA sets for detection of anti-*Toxocara* antibodies. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, 31 : 394-398.

ヒトのトキソカラ症と新しい動物モデル

赤尾 信明

東京医科歯科大学国際環境寄生虫病学分野

Human toxocariasis and a novel animal model

Nobuaki Akao

Section of Environmental Parasitology, Graduate School of Tokyo Medical and Dental University

はじめに

ヒトの回虫は幼虫包蔵卵を経口摂取することによって感染する。消化管内で孵化した幼虫は門脈から肝臓を通過して肺臓に至る。ここで第4期幼虫にまで発育する。そして、幼虫は肺胞腔内に出て気管支を逆行し、喉頭、咽頭を経由して消化管に戻り、ここで第4回目の脱皮が起こり、その後成虫に発育する。

戦後の一時期には国民の70%以上が回虫に感染しており、国民病とも呼ばれていた。しかし、衛生環境の改善や堆肥に代わる化学肥料の使用により回虫感染者は激減した。これに反して、近年のペットブームや伴侶動物としてのイヌとヒトとの距離が縮まるにつれて、イヌ回虫によるヒトの感染症が増加してきている。また、イヌ回虫と同じトキソカラ属のネコ回虫卵が公園の砂場から高頻度に見つかり、ヒトへの感染源としての注目されている。そこで、最近ではイヌ回虫とネコ回虫によるヒトの感染症をトキソカラ症という名前で報告されることも多くなってきている。

さらに、ヒトに感染する動物由来回虫類の幼虫にはイヌ回虫やネコ回虫以外に、ブタ回虫、アライグマ回虫、コウモリ回虫、小兎唇回虫があり、またヒトの感染する可能性のある回虫類にはケマ回虫やタヌキ回虫もあげられている。このように、動物由来回虫類のヒトへの感染を巡る問題は拡大しつつある。

動物の回虫がヒトに侵入すると、肺臓内で大きく発育することなく、肺臓内の毛細血管を通り、心臓に戻り、左心室から全身の臓器、組織に散布されてしまい、成虫にまで発育することはない。そして、全身に散布された幼虫によってさまざまな病害を引き起こされる。ここでは、イヌ・ネコ回虫による感染症を中心に、発見から半世紀以上たったトキソカラ症の最近の話題について解説

する。

感染源

1. イヌ回虫の感染率

イヌ回虫はイヌ科の動物の小腸内に寄生する回虫であるが、通常、イヌでは子イヌにしか寄生できず、1歳以上に成長したイヌでは、成虫は腸管から自然に排泄されてしまう。しかし、免疫能の低下した成イヌでは糞便内に虫卵を排泄していることがある。

イヌにおけるイヌ回虫の寄生状況については、齋藤ら(2004)が広島県福山市内の獣医科医院を受診した家庭内飼育犬について、1972年以来調査を実施している [16]。それによると、福山市におけるイヌ回虫の寄生率は1972年度の37.4%から1995年31.0%、2002年25.9%と漸減傾向にあるという。しかし、2007年度に我々が行った栃木県動物愛護センターに搬入された3ヶ月齢の子イヌ43頭の糞便検査では29頭(67%)からイヌ回虫卵が検出されており、子イヌの糞便がイヌ回虫症の感染源として重要であることに変わりがないことを示していた。

2. イヌ回虫卵の感染力

排便直後の糞便内の虫卵は1個の卵細胞からなり、感染力はない。しかし、25~27℃の湿潤な環境では10日程度で幼虫包蔵卵にまで発育する。この時期の幼虫包蔵卵でもまだ感染力は低く、さらに1~3週間経過しないと十分な感染力を發揮しない。虫卵内の幼虫は低温には抵抗性を示し、湿潤状態であれば2年以上感染力を保持している。乾燥にも数週間は耐えうる。しかし、高温には弱く、70℃以上の熱水中では瞬時に死滅してしまう。回虫卵の外殻は厚いタンパク膜で取り囲まれ、手指などに虫卵が触れると剥がれやすく、粘着物質として作用する。

3. 感染経路

イヌ回虫卵のヒトへの感染経路については3通りが考えられている。(1) 虫卵を含んだ糞便が砂場の砂などを汚染し、その砂場で砂遊びをした子供の手に幼虫包蔵卵が付着し、それが経口感染する。(2) 虫卵がイヌの被毛に付着し、それがヒトへの感染源となる。(3) イヌ回虫の待機宿主となりうるニワトリやシャモ、ウシ、ブタなどの筋肉あるいは肝臓を生食して感染する。

(1) の経路は最も古くから指摘されてきた感染経路で、我が国でも多くの公園の砂場から虫卵が見つっている。宇賀ら (1989) は兵庫県下の公園の砂場371カ所を調査し、その37%で虫卵の汚染を認めた。しかし、検出された虫卵はほとんどがネコ回虫卵であったという [25]。

この経路での感染の典型的な症例を紹介する。患者は発熱と肝腫大と好酸球増多を主訴に開業医から北海道内の某市立病院に紹介のあった1歳5ヶ月の女児で、入院時末梢血好酸球の比率は73%であった。患児には以前から土などを口に入れる、いわゆる異食症が見られたという。我々の施設で行った血清学的検査からトキソカラ症が強く疑われた。そこで、患児が兄と共によく遊んでいた近所の公園の砂場を郵送してもらい検査したところ、イヌ回虫卵によく似た虫卵が多数回収された (図1)。さらにこの虫卵内の幼虫は卵殻内で動いており、生きていることが確認された。幸いなことに、兄の抗体検査では感染は証明されなかった。

(2) のイヌの被毛を介した感染も重要な感染経路のひとつである。内田ら (1995) は、イヌ回虫に感染した

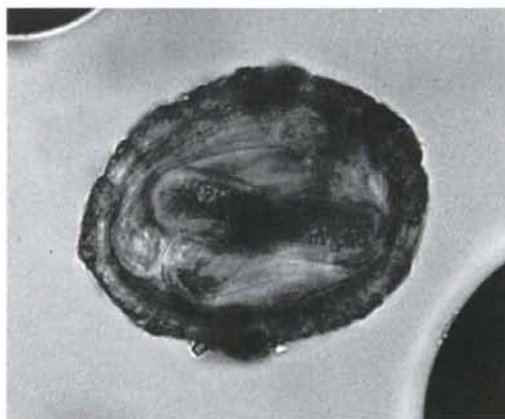


Fig.1. A *Toxocara* egg recovered from sandpit where a patient frequently played with her brother. A fully developed live larva was contained in the egg.

イヌの被毛をセロファンテープ法により検査したところ、虫卵は肛門周囲のみならず、口腔周囲や腹部の被毛からも見つかった。さらに、被毛をシャンプーしたあとの排水を検査したところ、感染イヌではすべての検体で虫卵が確認された [24]。2003年にアイルランドと英国で行われた調査でも、60頭のイヌの検査で、15頭の被毛に虫卵を認め、71個の虫卵が回収できた。そのうち3個の虫卵内には完全に発育した幼虫が見られ、20個の虫卵は発育途中の生きた虫卵であったという [26]。これらの報告は、イヌ回虫に感染したイヌとの濃厚な接触は感染の機会を高めることを示唆するものである。

イヌ回虫の待機宿主を介した (3) の経路による感染が最近非常に増えてきている。第1例は酒井らにより1983年に発表された [17]。患者は57歳の男性で、1980年8月に発熱と体重減少を主訴として福岡県内の病院を受診した。患者は6月末に同僚3名と共に、自宅で飼育していたニワトリの肝臓を生食し、直後から下痢、腹痛、嘔吐が出現したが、これらの食中毒症状は数日で軽快したため放置していたところ、主訴が出現したので来院したという。血液検査の結果、末梢血液中の好酸球数が58%を上昇しており、総IgE量も正常の10倍以上に増加していた。血清抗体反応の結果からイヌ回虫幼虫による内臓幼虫移行症が疑われた。同じグループによって、ニワトリあるいはウシの肝臓を生食後に同じような経過を辿った2症例が追加された [11]。その後も、ニワトリ、ウシ、シャモなどの肝臓を生食後に発症した『食品媒介トキソカラ症』は、我が国のみならず、諸外国からも報告されている [7, 10, 13, 18]。

しかし、感染源と推測されているこれらの獣肉や肝臓から幼虫を証明することは困難である。実験的に感染させたブタやウシの肝臓、筋肉から検出することでさえ非常に労の多い作業である。Taira (2004) は実験的にイヌ回虫幼虫包蔵卵を経口投与したブタの内臓や筋肉の一部を経時的に検査した結果、1週目には投与した虫卵の1.4%程度が回収されたが、6週目になると0.2%程度にまで減少し、しかも回収できた幼虫のほとんどは肺臓からであり、筋肉や肝臓から回収される幼虫数は少なかったと報告した [20]。しかし、少数とはいえこれらの組織から幼虫が回収できたことはヒトへの感染源になりうることを示している。

肺に移行した幼虫はヒトでも肺炎を引き起こし、咳嗽や発熱、胸部CTで境界不鮮明でハローを伴った小結節が短期間の内に出現と承知を繰り返す症例としてしばしば報告されている [28]。このようなヒトの症例では気管

支洗浄液中の抗体の証明が診断に有用である [14]。また、患者が生食したニワトリからイヌ回虫の幼虫が検出された症例もある [14]。

4. イヌ以外の感染源

欧州では今、キツネの生息域が都市部にも広がるにつれて、多包虫症だけでなく、キツネから感染する人獣共通感染症としてのイヌ回虫症が注目されている [19]。1982年から2006年までに10の研究機関で実施された調査では7139頭のキツネの42.6%にイヌ回虫の寄生が見られた (表1)。野生キツネによるイヌ回虫卵の土壌汚染は、イヌによる砂場汚染と同様にヒトへの感染源として重要であると考えられている。日本でも本州へのキタキツネの生息域拡大による多包虫症の流行が懸念されているが、同時にイヌ回虫症についても注意を向ける必要がある。

ヒトのトキソカラ症

1. 診断と検査

寄生虫感染症の診断では、寄生している虫体を直接見つけ出すことが最も確実な診断法である。しかし、トキ

ソカラ症の場合、ヒトに寄生する幼虫の大きさは体長が約400 μ m、体幅が20 μ m程度と非常に小さく、病理組織学的な検査で見つかることは稀である。国内でこれまで幼虫が確実に検出された症例は表2に示すように3例で、虫体の断片様の物体が見つかり、これを幼虫と判断した疑診例が2例とそれほど多くはない。しかし、臨床所見や血液検査に加えて、血清や眼内液中の抗体検査結果に基づいて診断された症例は過去12年間だけで129例に上っている。ただし、この中には血清学的にブタ回虫幼虫による感染が疑われた症例が15例含まれている。

抗体検査には抗原特異性の高いイヌ回虫幼虫排泄物 (*Toxocara canis* larval excretory-secretory antigen, TES) を用いてELISA法や寒天ゲル内二重拡散法、あるいは迅速診断キット [2] などが行われているが、悪性腫瘍の患者の中にはこの抗原と交叉反応を示すものもあり、注意が必要である [23]。血清抗体検査でブタ回虫幼虫移行症と診断された多くの症例は、ブタ回虫成虫抽出抗原を用いた検査が行われており、成虫抗原よりも特異性の高いブタ回虫幼虫排泄物抗原を用いた再検査が今後必要になるとと思われる。

2. 臨床症状

イヌ回虫やネコ回虫によるヒトの感染症は内臓型、眼型、神経型、潜在型の4型に分類されてきた [22]。内臓型が日本で最初に報告されたのは1963年で、患者は発熱と肝腫大、好酸球増多症等の典型的な症状が見られた14歳の男児であった。当時はまだトキソカラ症の血清診断法が確立される前であり、抗体検査などは実施されていないが、その臨床経過から国内での第1例であると考えられている [8]。これ以降、国内からも数多くの症例が報告されてきた。

それらの報告を見ると、米国で最初にこの病気が報告されたように、トキソカラ症は砂場などで遊ぶ機会の多い12歳以下の子供に多い感染症であると考えられていたが、最近の報告では子供よりもむしろ成人の報告例が増

Table 1. *Toxocara* infection of foxes in Europe

No of foxes examined	Infectivity (%)	Country	Year
587	61.6	U.K.	2003
843	55.9	U.K.	1995
139	73.7	Netherlands	1998
68	23.5	Netherlands	1996
228	44.3	Switzerland	2007
201	23.7	Spain	1995
310	8.1	Slovakia	2004
1040	59.4	Denmark	2006
3573	32.0	Germany	1982
150	44.0	French	1990

Table 2. Confirmed and suspected cases of toxocarosis detected a larva or larva-like material from the patient

	Patient	Journal	Clinical diagnosis	lesion	Identification	Report
Confirmed cases	8-y-old female	Rinsho Ganka	L) retinoblastoma	retinal granuloma	Enucleated eyeball, histopathologically	Yoshioka (1966)
	Adult female	Lancet	Eosinophilic pneumonia	skin rash	Skin biopsy, histopathology	Aragane et al (1999)
	Adult female		personal communication	cervical spinal cord	Spinal cord biopsy, histopathology	Otsu City Hospital (2008)
Suspected cases	Adult female	Rinsho Ganka	Uveitis of unknown etiology	vitreous body*	Vitrectomy, histopathology	Ijyuin et al (1999)
	Adult female	Clin Parasitol	Uveitis of unknown etiology	vitreous body*	Vitrectomy, microscopic observation	Akao et al (2004)

*Positive antibody titers for *Toxocara canis* larvae excretory were detected in vitreous fluid of the patient.

えている。眼型トキソカラ症も、半世紀以上に、米国の眼病理の専門家であったWilder (1950) が46例の小児の摘出眼球の内26眼からイヌ回虫の幼虫断端を見つけ以来、小児に多い疾患であると思われていた。しかし、Yoshidaら (1999) の集計では、38例の眼型イヌ回虫の内34例 (89%) が20歳以上の成人であった [27]。我々の研究室に過去12年間にイヌ回虫症が疑われて抗体検査の依頼のあった529例の内、性別と年齢の記載のあった444例について集計してみると、12歳以下の児童は47例と10.6%を占めるに過ぎなかった。眼型イヌ回虫症の134例だけを見ても、12歳以下患者は男女ともに7例で全症例に占める割合は10.4%であった。

このように、イヌ回虫症は、かつていわれていたような小児に多い感染症ではなく、獣肉の喫食や虫卵で汚染された被毛や土壌に触れる機会のある、どんな年齢層にも発症する可能性のある疾患であると考えなければならない。

内臓型トキソカラ症では、発熱や肝腫大、好酸球増多といった典型的な症状を呈する以外に、きわめて多彩な症状が見られる。ネフローゼ症候群や関節リウマチ様関節炎、血球貪食症候群と合併したり [1, 29-31]、アレルギー疾患を併発しやすくなり、全身に皮疹が出現したりする例も報告されている。さらには、髄膜炎や脊髄炎の原因となって重篤の神経症状を呈する例まで知られるようになってきた [12]。

眼型トキソカラ症の新しい動物モデル

トキソカラ症の病態を理解する上で、動物モデルの果たしてきた役割は非常に大きい。マウスを用いた実験では幼虫の体内移行経路や好酸球増多の機序などが解明され、感染宿主の免疫応答について詳しい解析が行われた。ウサギのモデルからは病態生理学的解析や血清抗体の推移、また、モルモットを用いた実験系からはIgE抗体の消長が明らかにされてきた。

眼型トキソカラ症の実験モデルとしては、これまでにマウスやラット、ウサギ、サルなどを用いた実験が行われてきた。マウスに幼虫包蔵卵を経口投与すると幼虫は眼内に移行するが、その頻度は極めて低い [15]。ラットやウサギ、サルを使って実験でも経口感染では眼病変を惹起することはできず、幼虫を眼内に直接注入することによって激しい炎症を起こすことが出来たという。このように、我々がスナネズミを使った新しい動物モデルを発表するまでは、ヒトの眼トキソカラ症の実用的な動

物モデルはなかった。

スナネズミを用いたイヌ回虫の研究はあったが、眼内に幼虫は見いだせなかったと報告されていた [5]。しかし、我々が小動物用の眼底カメラを用いてイヌ回虫幼虫包蔵卵を経口投与したスナネズミを経時的に観察したところ、感染後3日目以降、さまざまな網膜病変が出現すると共に、眼底に幼虫も観察できた [21]。幼虫は感染させたスナネズミの70%以上に見られ、出血や血管炎などの病変は95%以上の個体で観察できた。このような病変はイヌ回虫だけでなくネコ回虫卵の経口投与によってもスナネズミの網膜に見ることができた [3]。

さらに興味深いことには、スナネズミは眼トキソカラ症の動物モデルとしてだけでなく、神経型トキソカラ症のモデルとして有用であることが明らかになった。スナネズミ体内に侵入した幼虫は、マウスと同様に中枢神経系をはじめとして全身に分布する [6]。しかしマウスと異なり、脳内に侵入した幼虫によって不可逆性の神経症状が発症することが明らかになった [4]。また中枢神経系に侵入した幼虫が視神経を介して網膜内に出現することも明らかにすることができ、幼虫の眼内への移行経路には視神経を介するものがあること証明することができた [9]。

このように、スナネズミはイヌ回虫やネコ回虫の感染に対して高い感受性を有しており、トキソカラ症の病態を理解する上で極めて有用な動物モデルであることが明らかになった。また、感染スナネズミの眼底は経時的に観察することが可能なため、新しい眼トキソカラ症の治療薬の効果判定にも威力を発揮するのではないかと期待されている。

おわりに

イヌ回虫は先進国や開発途上国を問わず、世界中に分布する寄生虫であり、ヒトに感染すると多彩な症状を引き起こす寄生虫の原因となる。この病気が広く知られるようになって50年余りが過ぎようとしているが、いまだ解明されていない問題が多く残されている。幼虫の母子間移行機序や眼トキソカラ症の半数以上の患者で血清抗体が上昇しないのはなぜか。あるいは神経型トキソカラ症の発症機序など、まだまだ解明されなければならない問題点が残されている。

謝 辞

本稿の内容は平成20年3月29日に麻布大学で開催された第145回日本獣医学会のシンポジウムで発表した内容を基に補足してまとめた。

文 献

- Ahn, T., Houki, N., Ohkura, Y., Masui, K., Fukui, H., Shimada, K., Yamasaki, H., Nakamura-Uchiyama, F. and Yoshikawa, M. 2006. Serologically diagnosed toxocariasis with hemophagocytic syndrome in a patient with primary biliary cirrhosis. *Intern. Med.* 45 : 31-32.
- Akao, N., Chu, A. E., Tsukidate, S. and Fujita, K. 1997. A rapid and sensitive screening kit for the detection of anti-*Toxocara* larval ES antigens. *Parasitol. Int.* 46 : 189-195.
- Akao, N., Takayanagi, T. H., Suzuki, R., Tsukidate, S. and Fujita, K. 2000. Ocular larva migrans caused by *Toxocara cati* in Mongolian gerbils and a comparison of ophthalmologic findings with those produced by *T. canis*. *J. Parasitol.* 86 : 1133-1135.
- Akao, N., Tomoda, M., Hayashi, E., Suzuki, R., Shimizu-Suganuma, M., Shichinohe, K. and Fujita, K. 2003. Cerebellar ataxia due to *Toxocara* infection in Mongolian gerbils, *Meriones unguiculatus*. *Vet. Parasitol.* 113 : 229-237.
- Burren, C. H. 1972. The distribution of *Toxocara canis* larvae in the central nervous system of rodents. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 66 : 937-942.
- Cho, S., Egami, M., Ohnuki, H., Saito, Y., Chinone, S., Shichinohe, K., Suganuma, M. and Akao, N. 2007. Migration behaviour and pathogenesis of five ascarid parasites, *Toxocara canis*, *Baylisascaris procyonis*, *B. transfuga*, *Ascaris suum*, and *A. lumbricoides* in the Mongolian gerbil, *Meriones unguiculatus*. *J. Helminthol.* 81 : 43-47.
- Espana, A., Serna, M. J., Rubio, M., Redondo, P. and Quintanilla, E. 1993. Secondary urticaria due to toxocariasis : possibly caused by ingesting raw cattle meat? *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 3 : 51-52.
- 伏見純一、西村猛、村上圭司. 1963. Dithiazanine iodineの奏功した人体イヌカイチュウ症と思われる1例について. *寄生虫誌* 12 : 303-304.
- Hayashi, E., Akao, N. and Fujita, K. 2003. Evidence for the involvement of the optic nerve as a migration route for larvae in ocular toxocariasis of Mongolian gerbils. *J. Helminthol.* 77 : 311-315.
- Hoffmeister, B., Glaeser, S., Flick, H., Pornschlegel, S., Suttrop, N. and Bergmann, F. 2007. Cerebral toxocariasis after consumption of raw duck liver. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 76 : 600-602.
- 伊藤孝一郎、酒井健二、岡島泰一郎. 1986. 鶏肝や牛肝の生食により発症したと考えられる内臓幼虫移行症の3例. *日本内学会誌* 75 : 759-766.
- 吉良潤一. 2006. 寄生虫性脊髄炎. *日本内科学誌* 95 : 1255-1259.
- Kwon, N. H., Oh, M. J., Lee, S. P., Lee, B. J. and Choi, D. C. 2006. The prevalence and diagnostic value of toxocariasis in unknown eosinophilia. *Ann. Hematol.* 85 : 233-238.
- Morimatsu, Y., Akao, N., Akiyoshi, H., Kawazu, T., Okabe, Y. and Aizawa, H. 2006. Case Reports : A familial case of visceral larva migrans after ingestion of raw chicken livers : The specific antibody in bronchoalveolar lavage fluid. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 75 : 303-306.
- Ollero, M. D., Fenoy, S., Cuellar, C., Guillen, J. L. and Del Aguila, C. 2008. Experimental toxocariasis in BALB/c mice : effect of the inoculation dose on brain and eye involvement. *Acta. Trop.* 105 : 124-130.
- 齋藤哲郎、橋口正大、島谷和子、宮野寿美子、山足清、山口裕之、吉田邦恵、池田文雄、久家光雄、宇都宮敬三、頓宮康正. 2004. 2002年度福山市内の飼育犬及び飼育猫の内部寄生虫感染状況. *獣医畜産新報* 57 : 11-14.
- 酒井健二、岡島泰一郎、大内和弘. 1983. 鶏肝の生食により発症したと考えられる内臓幼虫移行症の1例. *内科* 51 : 963-967.
- Salem, G. and Schantz, P. 1992. Toxocaral visceral larva migrans after ingestion of raw lamb liver. *Clin. Infect. Dis.* 15 : 743-744.

19. Smith, G. C., Gangadharan, B., Taylor, Z., Laurenson, M. K., Bradshaw, H., Hide, G., Hughes, J. M., Dinkel, A., Romig, T. and Craig, P. S. 2003. Prevalence of zoonotic important parasites in the red fox (*Vulpes vulpes*) in Great Britain. *Vet. Parasitol.* 118 : 133-142.
20. Taira, K., Saeed, L., Lind, P., Murrell, K. D. and Kapel, C. M. 2003. Population dynamics of *Toxocara canis* in pigs receiving a single or multiple infection. *Parasitology* 127 : 593-602.
21. Takayanagi, T. H., Akao, N., Suzuki, R., Tomoda, M., Tsukidate, S. and Fujita, K. 1999. New animal model for human ocular toxocariasis : ophthalmoscopic observation. *Br. J. Ophthalmol.* 83 : 967-972.
22. Taylor, M. R., Keane, C. T., O'Connor, P., Mulvihill, E. and Holland, C. 1988. The expanded spectrum of toxocaral disease. *Lancet* 1 : 692-695.
23. 利岡あゆみ, 川口剛, 中村ふくみ, 広松賢治, 名和行文, 西桂子, 稲津東彦, 2006. 胃悪性リンパ腫で見られた抗寄生虫抗体陽性反応について. *Clin. Parasitol.* 16 : 114-116.
24. 内田明彦, 川上泰. 犬・猫回虫の新しい感染ルート. 第54回日本寄生虫学会東日本支部大会, 東京 1995 ; 434.
25. 宇賀昭二. 1994. 公園砂場におけるトキソカラ属線虫卵の汚染の現状と対策. *動薬研究* 49 : 6-14.
26. Wolfe, A. and Wright, I. P. 2003. Human toxocariasis and direct contact with dogs. *Vet. Rec.* 152 : 419-422.
27. Yoshida, M., Shirao, Y., Asai, H., Nagase, H., Nakamura, H., Okazawa, T., Kondo, K., Takayanagi, T. H., Fujita, K. and Akao, N. 1999. A retrospective study of ocular toxocariasis in Japan : correlation with antibody prevalence and ophthalmological findings of patients with uveitis. *J. Helminthol.* 73 : 357-361.
28. Yoshikawa, M., Yukiteru, O., Nishiofuku, M., Moriya, K., Kasahara, K., Mikasa, K., Mizuno, Y., Ogawa, S. and Akao, N. 2008. Visceral toxocariasis from regular consumption of raw cow liver. *Inter. Med.* 47 : 1289-1290.
29. 吉川正英, 石坂重昭, 大森佐和子, 中谷公彦, 西野俊彦, 吉本宗平, 椎木英夫, 齊藤能彦, 中村ふくみ, 名和行文. 2004. 慢性関節リウマチ (RA) 類似の臨床経過中に下腿浮腫, 好酸球増多, 低蛋白血症が出現しイヌ回虫幼虫ES抗原に対して高い抗体価を示した1例. *Clin. Parasitol.* 14 : 74-76.
30. 吉川正英, 王寺幸輝, 石坂重昭, 岩野正之, 成智熙, 齊藤能彦, 広松賢治, 中村ふくみ, 名和行文. 2005. イヌ回虫幼虫ES抗原に高い抗体価を示したネフローゼ症候群再燃例. *Clin. Parasitol.* 15 : 47-49.
31. Zotos, P. G., Psimenou, E., Roussou, M., Kontogiannis, S., Panoutsopoulos, A. and Dimopoulos, A. M. 2006. Nephrotic syndrome as a manifestation of *Toxocara canis* infection. *Nephrol. Dial. Transplant.* 21 : 2675-2676.

連絡責任者: 赤尾信明, 東京医科歯科大学大学院国際環境寄生虫学分野, 東京都文京区湯島1-5-45,
E-mail : ocha.vip@tmd.ac.jp

Correspondence : N. Akao, Section of Environmental Parasitology, Graduate School of Tokyo Medical and Dental University, 1-5-45 Yushima, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8519

Prevalence of Hepatitis E Virus (HEV) Infection in Wild Boars (*Sus scrofa leucomystax*) and Pigs in Gunma Prefecture, Japan

Chieko SAKANO¹⁾, Yukio MORITA^{2)*}, Masataka SHIONO¹⁾, Yoko YOKOTA¹⁾, Toshie MOKUDAI¹⁾, Yurie SATO-MOTOI¹⁾, Akiyo NODA¹⁾, Toshio NOBUSAWA¹⁾, Hiroyuki SAKANIWA³⁾, Akira NAGAI²⁾, Hidenori KABEYA⁴⁾, Soichi MARUYAMA⁴⁾, Shigeki YAMAMOTO⁵⁾, Hiroshi SATO⁶⁾ and Hirokazu KIMURA⁶⁾

¹⁾Gunma Prefectural Meat Inspection Laboratory, 305-7 Higoshi, Tamamura, Sawa, Gunma 370-1103, ²⁾Gunma Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences, 378 Kamioki, Maebashi, Gunma 371-0052, ³⁾Gunma Prefectural Governmental Office, Natural Environmental Division, 1-1-1 Oote, Maebashi, Gunma 371-8570, ⁴⁾Department of Veterinary Medicine, College of Bioscience Science, Nihon University, Fujisawa, Kanagawa 252-8510, ⁵⁾National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya, Tokyo 158-8501 and ⁶⁾National Institute of Infectious Disease, 4-7-1 Gakuen, Musashimurayama, Tokyo 208-0011, Japan

(Received 6 April 2008/Accepted 9 August 2008)

ABSTRACT. The prevalence of hepatitis E virus (HEV) infection in wild boars and pigs in Gunma Prefecture, Japan, was serologically and genetically examined. The positive detection rates of anti-HEV IgG and HEV RNA in the wild boars were 4.5% (4/89) and 1.1% (1/89), whereas those in the pigs were 74.6% (126/169) and 1.8% (3/169), respectively. The positive rates of anti-HEV IgG and HEV RNA on the 17 pig farms in the present study ranged from 20% to 100%, respectively. One male wild boar approximately 5 years of age was positive for HEV RNA but was negative for anti-HEV IgG. Three pigs from 2 farms were positive for HEV RNA; 2 of these pigs were negative for HEV IgG, and the other was positive. A phylogenetic analysis revealed that all of the HEV ORF1 genes detected in the present study belonged to genotype III. In Gunma Prefecture, HEV is highly prevalent and widespread, and uncooked wild boar and pig meat may have the potential to transmit HEV to humans.

KEY WORDS: hepatitis E virus, Japan, swine, wild boar.

J. Vet. Med. Sci. 71(1): 21–25, 2009

Hepatitis E virus (HEV), which belongs to the genus *Hepevirus*, is the causative agent of hepatitis E. Hepatitis E infection has been found in many developing countries in Asia, Africa and Latin America, where the disease is an important public health concern [15]. HEV is primarily transmitted by the fecal-oral route such as in waterborne epidemics.

Recent studies have suggested that HEV is divided into 4 genotypes designated as G I, G II, G III, and G IV [17]. The HEV infections in Asia and Africa are mainly caused by G I, and the majority of the GII infection have been reported in Mexico and Nigeria. On the other hand, only a single case of infection with GIII or GIV has been described in the United States, European countries, Argentina, Taiwan and China [17, 21, 22]. In Japan, most imported cases with G I have derived from epidemic areas such as Asia and Africa [2]; however, G III or G IV has also been detected in acute hepatitis patients who have never traveled to HEV epidemic areas [6, 8, 13, 14, 20, 21, 24, 29]. These patients often have a history of consuming uncooked wild boar (*Sus scrofa leucomystax*) and sika deer (*Cervus nippon*) meat and liver [5, 27, 28]. Also, HEV strains belonging to G I, G III or G IV have been detected in Japanese patients with sporadic acute or fulminate hepatitis E [8, 9, 19–22, 24, 31]. In addition, Yazaki *et al.* [31] reported that HEV RNA has been detected in 2% (7/363 packages) of sold pig liver on the market by

reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR).

In Japan, it has been suggested that the transmission route of HEV remains unclear in approximately 60% of infected patients [1]; zoonotic food-borne transmissions account for 30%, imported infection accounts for 8% and blood transfusion is responsible for 2%. In Gunma Prefecture, Japan, approximately 3,000 wild boars are annually slaughtered for meat [unpublished data], and the number of breeding pigs in the prefecture was approximately 6 million in 2005. According to the Gunma Prefectural Statistics Report (http://www.pref.gunma.jp/cts/PortalServlet?DISPLAY_ID=DIRECT&NEXT_DISPLAY_ID=U000004&CONTENTS_ID=43375), Gunma Prefecture is one of the major pork-producing areas in Japan. However, to the best of our knowledge, there have been no reports on the prevalence of HEV infection in wild boars and pigs in the prefecture to date. Here in, we report the seroprevalence of anti-HEV IgG detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and HEV RNA by RT-PCR among wild boars and pigs in Gunma Prefecture, Japan.

MATERIALS AND METHODS

Samples: From September 2004 to March 2006, blood samples from 89 wild boars were kindly provided by hunters, and these samples were placed in sterile tubes, stored at approximately 4°C and sent to the laboratory within 12 hr. The ages of the wild boars were estimated by the hunters. From September to December 2004, we collected 169 pig blood samples from 17 pig farms during viscera inspections

* CORRESPONDENCE TO: MORITA, Y., Gunma Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences, Maebashi, Gunma 371-0052, Japan.
e-mail: moritayukiojp@gmail.com

at G slaughterhouse in Gunma Prefecture, with 9 to 10 samples obtained from each farm. All pigs were approximately 6 months old. The blood samples were placed in sterile tubes, stored at approximately 4°C and sent to the laboratory within 3 hr. All blood samples were centrifuged at 1,900 × g for 20 min, and the serum was stored at -20°C until analyses.

Serologic analysis: Anti-HEV IgG was measured by ELISA as previously described with some modifications [4]. The antigen used in the ELISA was HEV-like particles composed of a truncated open reading frame 2 (ORF2) protein of genotype I HEV expressed by a recombinant baculovirus in insect cells and was suspended with 0.5 M carbonate buffer (pH 12.5) at a concentration of 1 µg/ml [3]. The antigen solution (100 µl) was added to duplicate wells of 96-well microplates (Sumiron ELISA plate type H, Sumitomo Bakelite, Tokyo, Japan). After washing with phosphate buffered saline containing 0.05% of tween-20 (PBST), the wells were coated with 5% skim milk in PBST for 1 hr at room temperature and then incubated with 100 µl of serum samples at a dilution of 1:200 in 1% skim milk in PBST for 1 hr at room temperature. The wells were washed with PBST 3 times, and the bound IgG antibodies were probed with peroxidase-labeled goat anti-swine IgG antibodies (heavy plus light chain; Kirkegaard and Perry Laboratories, Gaithersburg, MD, U.S.A.). After washing 3 times with PBST, 100 µl of substrate, for wild boar samples, TMB HRP Microwell substrate, Bio FX Laboratories, MD, USA; for swine samples, 200 µM of 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid (ABTS), Sigma, St. Louis, MO, U.S.A.) was added, and the plates were incubated for 10 min (for wild boar samples) or 30 min (for swine samples) at room temperature. Following the incubation period, 100 µl of stop solutions was added to the plates. The density at 450 nm (wild boar samples) or 415 nm (swine samples) was measured using an automatic ELISA reader (Benchmark Plus, BioRad, U.S.A.). A sample was considered positive for anti-HEV IgG when the average of OD value was greater than the cut-off value. To determine the cut-off value of the IgG, each of the 10 samples that had the lowest OD values and were negative in the western blot analysis were used as negative sera. In the present study, ODs of 2.597 and 0.197, which were calculated as three standard deviations above the mean values for the wild boar and swine negative controls, respectively, were used as the tentative cut-off values for each sample.

Extraction of RNA and reverse transcription polymerase chain reaction: Frozen serum samples were thawed at room temperature and then centrifuged at 3,000 × g at 4°C for 30 min, and the supernatants were then used for RT-PCR and sequence analysis. Total RNA was extracted from 140 µl of the re-centrifuged serum using a QIAamp Viral RNA Mini kit (Qiagen, MD, U.S.A.). The extracted RNA was then suspended in 60 µl of DNase/RNase-free water and treated with 5 U of DNase I (Takara, Tokyo, Japan). To amplify the 326-nucleotide region from open reading frame 1 (ORF1) by RT-PCR, we used genotype-specific primers as previ-

ously described [21]. The amplified DNA fragment was separated by electrophoresis on a 3% agarose gel, and the DNA fragments were purified using a QIAquick PCR Purification kit (Qiagen). The nucleotide sequence was determined using an automated DNA sequencer (ABI PRISM™ 310 Genetic Analyzer; Applied Biosystems, Foster City, CA, U.S.A.) using a Big Dye Terminator v1.1 cycle sequencing kit (Applied Biosystems). Nucleotide sequences of the partial ORF1 of HEV (positions 124 to 449: 326 bp) were analyzed phylogenetically using CLUSTALW on the DNA database of Japan (DDBJ) homepage (<http://hypernig.nig.ac.jp/homology/clustalw-e.shtml>) and TreeExplorer (Version 2.12; <http://evolgen.biol.metro-u.ac.jp/TE/>). Evolutionary distances were estimated using Kimura's two-parameter method, and phylogenetic trees were constructed using the neighbor-joining (NJ) method [16]. The reliability of the trees was estimated using 1000 bootstrap replications.

Statistical analysis: The chi-square test with Yates' continuity correction was used to compare the positive detection rates of anti-HEV IgG between male and female wild boars. Differences were considered significant when the *p* value was less than 0.05.

RESULTS

Prevalence of HEV infection in wild boars in Gunma Prefecture: Anti-HEV IgG was detected in 4 (4.5%) of the 89 wild boars (Table 1). No significant difference was found between for the male (2.9%; 1/35) and female (6.7%; 3/45) wild boars (chi-square test with Yates' continuity correction, *p*=0.7960). HEV was detected in only 1 wild boar (WBG06-01), giving a 1.1% (1/89) positive rate.

Prevalence of HEV infection in slaughtered pigs in Gunma Prefecture: Anti-HEV IgG was detected in 126 (74.6%) of the 169 slaughtered pigs (Table 2). The positive rates among the individual 17 pig farms varied from 20% to 100%. HEV RNA was detected in 1.8% (3/169) of the pigs, 1 from farm M (PG05-03) and 2 from farm H (PG05-01 and PG02-02), and the positive rates of anti-HEV IgG for these farms were 60% and 89%, respectively.

Information on HEV RNA-positive animals: We detected HEV RNA in one wild boar and three pigs. The wild boar (WBG06-01; male; body weight of about 80 kg) was estimated to be approximately 5 years of age by the hunters and was negative for anti-HEV IgG. Of the 3 pigs, 2 (PG05-01 and PG05-02) were from farm H, and the other (PG05-03) was from farm M. Farms E and L are located in the center of Gunma Prefecture and have no history of contact with wild boars. Of these 3 pigs, 2 (PG05-01 and PG05-03) were negative and 1 (PG05-02) was positive for anti-HEV IgG.

Phylogenetic analysis of the HEV isolates based on the sequences of open reading frame 1: The phylogenetic tree based on the ORF1 gene in HEV detected in Japan and other countries is shown in Fig. 1. The strains were divided into 4 genotypes as described in a previous report [17]. All 4

Table 1. Detection of anti HEV-IgG and HEV RNA in wild boars

Age (months)	Sex	Number of samples	IgG positive samples (%)	HEV RNA detection (%)
< 12	Male	4	0 (0)	0 (0)
	Female	7	0 (0)	0 (0)
13-24	Male	8	0 (0)	0 (0)
	Female	3	0 (0)	0 (0)
25-36	Male	4	1 (25.0)	0 (0)
	Female	10	0 (0)	0 (0)
37-48	Male	6	0 (0)	0 (0)
	Female	7	0 (0)	0 (0)
49-62	Male	1	0 (0)	1 ^{b)} (100)
	Female	9	1 (11.1)	0 (0)
>62	Male	5	0 (0)	0 (0)
	Female	6	1 (16.7)	0 (0)
Unknown	Male	7	0 (0)	0 (0)
	Female	3	1 (33.3)	0 (0)
	No record	9	0 (0)	0 (0)
Subtotal	Male	35	1 (2.9)	1 (2.9)
	Female	45	3 (6.7)	0 (0)
	No record	9	0 (0)	0 (0)
Total		89	4 (4.5)	1 (1.1)

a) Sample number: WBG06-01.

Table 2. Detection of anti HEV-IgG and HEV RNA in 17 pig farms

Farm	Number of samples	IgG positive samples (%)	HEV RNA detection (%)
A	10	10 (100)	0 (0)
B	10	10 (100)	0 (0)
C	10	10 (100)	0 (0)
D	10	10 (100)	0 (0)
E	10	10 (100)	0 (0)
F	10	9 (90)	0 (0)
G	10	9 (90)	0 (0)
H	9	8 (88.9)	2 ^{b)} (22.2)
I	10	8 (80)	0 (0)
J	10	7 (70)	0 (0)
K	10	7 (70)	0 (0)
L	10	6 (60)	0 (0)
M	10	6 (60)	1 ^{b)} (10)
N	10	5 (50)	0 (0)
O	10	5 (50)	0 (0)
P	10	4 (40)	0 (0)
Q	10	2 (20)	0 (0)
Total	169	126 (74.6)	3 (1.8)

a) Sample number: PG05-01 and PG05-02.

b) Sample number: PG05-03.

strains detected in the present study were classified into genotype III, which includes several genotypes of Japanese domestic animals previously reported [8, 11, 12, 20, 23, 28, 31]. The sequences of the 2 pigs (PG05-01 and PG05-02) from farm H were identical (AB362371 and AB362372) but were different from that for farm M by approximately 0.11, while the distances of the wild boar sequence (AB362374) from the sequences of boars from farms H and M were 0.1 and 0.07, respectively.

DISCUSSION

Epidemiological studies have reported that HEV infection is prevalent among wild boars [5, 12, 26, 30] and pigs [10, 25] and have suggested that consumption of the meat and liver of these animals is a risk in terms of HEV infection in Japan [5, 26, 30]. In the present study, the positive rates of anti-HEV IgG and HEV RNA (genotype III) in the wild boars were 4.5% (4/89) and 1.1% (1/89), respectively. The positive detection rates showed no relationship with the age of the animals. Sonoda *et al.* [18] reported that anti-HEV IgG is present in 8.6% (3/35) of wild boars and that HEV RNA genotype III has been detected in a 60-kg male wild boar (2.9%, 1/35) that was negative for anti-HEV IgG (presumed to be approximately 2 years of age). In other study in Japan, Michitaka *et al.* [7] reported a positive rate of anti-HEV IgG in wild boars of 25.5% (100/392), and 3.1% (12/392) of the wild boars in their study were positive for the HEV RNA genotype III. In the present study, although the seroprevalence of HEV infection in the wild boar was considerably lower than in previous reports, some of the animals in Japan are infected with GIII and may potentially serve as a source of infection in humans.

The prevalence of anti-HEV IgG in pigs depends on the age of the animals, and HEV RNA has been detected in 2- to 4-month-old pigs and less commonly in older pigs [10, 14, 23, 25]. Takahashi *et al.* [23, 25] reported detection rates of anti-HEV IgG in 6-month-old pigs that ranged from 73.5% (100/136) to 90.4% (226/250), with no HEV RNA detection from any prefecture examined in Japan to date. Although the positive rates of anti-HEV IgG in the present study were similar to those in previous reports, HEV RNA (genotype III) was detected in 1.8% (3/169) of the pig serum samples, and this suggests that HEV genotype III is highly prevalent and widely distributed in pigs. Thus, it is highly possible that pigs are a source of HEV infection in humans. A nationwide campaign prohibiting consumption of uncooked liver and meat from wild boars and pigs should be implemented to prevent HEV infection in humans.

ACKNOWLEDGMENTS. We thank Dr. Yasuhiro Yasutomi for supplying the virus-like particle of HEV. This work was supported in part by grants from the Association of Veterinary Food Hygienist in Gunma Prefecture and by Research on Food Safety, Health and Labour Sciences Research Grants from the Japanese Ministry of Health, Labour and Welfare.

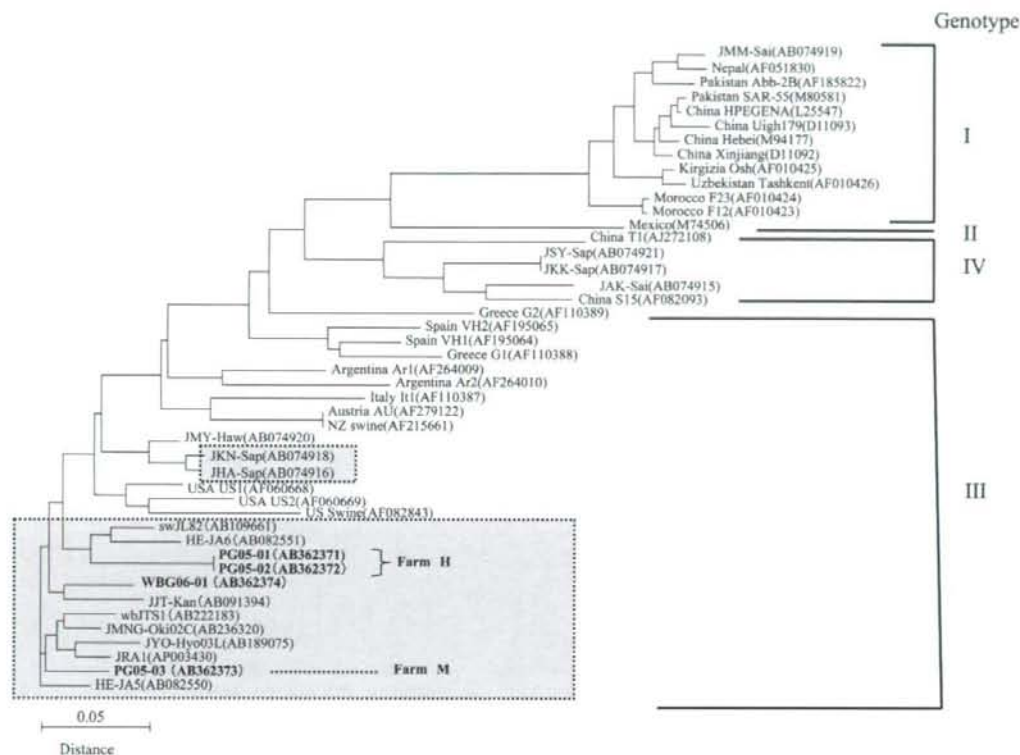


Fig. 1. Phylogenetic trees on the basis of 326 nt of the ORF1 region constructed by the neighbor-joining method [16]. The HEV strains from one wild boar and three pigs from farms are shown in bold type. In addition, genotype III strains reported in previous studies in Japan are indicated by gray boxes. The GenBank accession numbers of the identified strains are enclosed in parentheses.

REFERENCES

- Abe, T., Aikawa, T., Akahane, Y., Arai, M., Asahina, Y., Atarashi, Y., Chayama, K., Harada, H., Hashimoto, N., Hori, A., Ichida, T., Ikeda, H., Ishikawa, A., Ito, T., Kang, J. H., Karino, Y., Kato, H., Kato, M., Kawakami, M., Kitajima, N., Kitamura, T., Masaki, N., Matsubayashi, K., Matsuda, H., Matsui, A., Michitaka, K., Mihara, H., Miyaji, K., Miyakawa, H., Mizuo, H., Mochida, S., Moriyama, M., Nishiguchi, S., Okada, K., Saito, H., Sakugawa, H., Shibata, M., Suzuki, K., Takahashi, K., Yamada, G., Yamamoto, K., Yamanaka, T., Yamato, H., Yano, K. and Mishiro, S. 2006. Demographic, epidemiological, and virological characteristics of hepatitis E virus infections in Japan based on 254 human cases collected nationwide. *Kanzo* **47**: 384–391.
- Koizumi, Y., Isoda, N., Sato, Y., Iwaki, T., Ono, K., Ido, K., Sugano, K., Takahashi, M., Nishizawa, T. and Okamoto, H. 2004. Infection of a Japanese patient by genotype 4 hepatitis E virus while traveling in Vietnam. *J. Clin. Microbiol.* **42**: 3883–3885.
- Li, T.C., Yamakawa, Y., Suzuki, K., Tatsumi, M., Razak, M.A., Uchida, T., Takeda, N. and Miyamura, T. 1997. Expression and self-assembly of empty virus-like particles of hepatitis E virus. *J. Virol.* **71**: 7207–7213.
- Li, T.C., Zhang, J., Shinzawa, H., Ishibashi, M., Sata, M., Mast, E.E., Kim, K., Miyamura, T. and Takeda, N. 2000. Empty virus-like particle-based enzyme-linked immunosorbent assay for antibodies to hepatitis E virus. *J. Med. Virol.* **62**: 327–333.
- Masuda, J., Yano, K., Tamada, Y., Takii, Y., Ito, M., Omagari, K. and Kohno, S. 2005. Acute hepatitis E of a man who consumed wild boar meat prior to the onset of illness in Nagasaki, Japan. *Hepatol. Res.* **31**: 178–183.
- Matsubayashi, K., Nagaoka, Y., Sakata, H., Sato, S., Fukai, K., Kato, T., Takahashi, K., Mishiro, S., Imai, M., Takeda, N. and Ikeda, H. 2004. Transfusion-transmitted hepatitis E caused by apparently indigenous hepatitis E virus strain in Hokkaido, Japan. *Transfusion* **44**: 934–940.
- Michitaka, K., Takahashi, K., Furukawa, S., Inoue, G., Hiasa, Y., Horiike, N., Onji, M., Abe, N. and Mishiro, S. 2007. Prevalence of hepatitis E virus among wild boar in the Ehime area of western Japan. *Hepatol. Res.* **37**: 214–220.
- Mizuo, H., Suzuki, K., Takikawa, Y., Sugai, Y., Tokita, H., Akahane, Y., Itoh, K., Gotanda, Y., Takahashi, M., Nishizawa, T. and Okamoto, H. 2002. Polyphyletic strains of hepatitis E

- virus are responsible for sporadic cases of acute hepatitis in Japan. *J. Clin. Microbiol.* **40**:3209-3218.
9. Mizuo, H., Yazaki, Y., Sugawara, K., Tsuda, F., Takahashi, M., Nishizawa, T. and Okamoto, H. 2005. Possible risk factors for the transmission of hepatitis E virus and for the severe form of hepatitis E acquired locally in Hokkaido, Japan. *J. Med. Virol.* **76**: 341-349.
 10. Nakai, I., Kato, K., Miyazaki, A., Yoshii, M., Li, T.C., Takeda, N., Tsunemitsu, H. and Ikeda, H. 2006. Different fecal shedding patterns of two common strains of hepatitis E virus at three Japanese Swine farms. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **75**: 1171-1177.
 11. Nakamura, M., Takahashi, K., Taira, K., Taira, M., Ohno, A., Sakugawa, H., Arai, M. and Mishiro, S. 2006. Hepatitis E virus infection in wild mongooses of Okinawa, Japan: Demonstration of anti-HEV antibodies and a full-genome nucleotide sequence. *Hepatol. Res.* **34**: 137-140.
 12. Nishizawa, T., Takahashi, M., Endo, K., Fujiwara, S., Sakuma, N., Kawazuma, F., Sakamoto, H., Sato, Y., Bando, M. and Okamoto, H. 2005. Analysis of the full-length genome of hepatitis E virus isolates obtained from wild boars in Japan. *J. Gen. Virol.* **86** (PT 12): 3321-3326.
 13. Ohnishi, S., Kang, J.H., Maekubo, H., Takahashi, K. and Mishiro, S. 2003. A case report: two patients with fulminant hepatitis E in Hokkaido, Japan. *Hepatol. Res.* **25**: 213-218.
 14. Okamoto, H., Takahashi, M., Nishizawa, T., Fukui, K., Muramatsu, U. and Yoshikawa, A. 2001. Analysis of the complete genome of indigenous swine hepatitis E virus isolated in Japan. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **289**: 929-936.
 15. Purcell, R. H. and Emerson, S. U. 2001. Hepatitis E virus. pp. 3051-3061. *In: Fields Virology*, 4th ed. (Knipe, D. M., Howley, P. M., Griffin, D. E., Martin, M. A., Lamb, R. A., Roizman, B. and Straus, S. E. eds.), Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia.
 16. Saitou, N. and Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* **4**: 406-425.
 17. Schlauder, G. G. and Mushahwar, I. K. 2001. Genetic heterogeneity of hepatitis E virus. *J. Med. Virol.* **65**: 282-292.
 18. Sonoda, H., Abe, M., Sugimoto, T., Sato, Y., Bando, M., Fukui, E., Mizuo, H., Takahashi, M., Nishizawa, T. and 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. Suzuki, K., Aikawa, T. and Okamoto, H. 2002. Fulminant hepatitis E in Japan. *New Engl. J. Med.* **347**: 1456.
 20. Takahashi, K., Iwata, K., Watanabe, N., Hatahara, T., Ohta, Y., Baba, K. and Mishiro, S. 2001. Full-genome nucleotide sequence of a hepatitis E virus strain that may be indigenous to Japan. *Virology* **287**: 9-12.
 21. Takahashi, K., Kang, J.H., Ohnishi, S., Hino, K. and Mishiro, S. 2002. Genetic heterogeneity of hepatitis E virus recovered from Japanese patients with acute sporadic hepatitis. *J. Infect. Dis.* **185**: 1342-1345.
 22. Takahashi, K., Kang, J.H., Ohnishi, S., Hino, K., Miyakawa, H., Miyakawa, Y., Maekubo, H. and Mishiro, S. 2003. Full-length sequences of six hepatitis E virus isolates of genotypes III and IV from patients with sporadic acute or fulminant hepatitis in Japan. *Intervirology* **46**: 308-318.
 23. Takahashi, M., Nishizawa, T., Miyajima, H., Gotanda, Y., Iita, T., Tsuda, F. and 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.
 24. Takahashi, M., Nishizawa, T., Yoshikawa, A., Sato, S., Isoda, N., Ido, K., Sugano, K. and Okamoto, H. 2002. Identification of two distinct genotypes of hepatitis E virus in a Japanese patient with acute hepatitis who had not travelled abroad. *J. Gen. Virol.* **83**: 1931-1940.
 25. Takahashi, M., Nishizawa, T., Tanaka, T., Tsatsralt-Od, B., Inoue, J. and Okamoto, H. 2005. Correlation between positivity for immunoglobulin A antibodies and viraemia of swine hepatitis E virus observed among farm pigs in Japan. *J. Gen. Virol.* **86** (PT 6): 1807-1813.
 26. Tamada, Y., Yano, K., Yatsushashi, H., Inoue, O., Mawatari, F. and Ishibashi, H. 2004. Consumption of wild boar linked to cases of hepatitis E. *J. Hepatol.* **40**: 869-870.
 27. Tei, S., Kitajima, N., Ohara, S., Inoue, Y., Miki, M., Yamatani, T., Yamabe, H., Mishiro, S. and Kinoshita, Y. 2004. Consumption of uncooked deer meat as a risk factor for hepatitis E virus infection: an age- and sex-matched case-control study. *J. Med. Virol.* **74**: 67-70.
 28. Tei, S., Kitajima, N., Takahashi, K. and Mishiro, S. 2003. Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings. *Lancet* **362** (9381): 371-373.
 29. Yamamoto, T., Suzuki, H., Toyota, T., Takahashi, M. and Okamoto, H. 2004. 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.* **39**: 292-298.
 30. Yano, K. 2007. Wild boar as an important reservoir of hepatitis E virus in western Japan. *Hepatol. Res.* **37**: 167-169.
 31. Yazaki, Y., Mizuo, H., Takahashi, M., Nishizawa, T., Sasaki, N., Gotanda, Y. and 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.

9

食中毒とその予防

人の生命や健康の維持・増進にとって必要不可欠な食品は、安全性、完全性そして健全性が確保されたものでなければなりません。しかしながら、日常生活のなかでしばしば食品を介した健康危害に遭遇することがあります。

現代社会では、人口が都市に集中する傾向があるため、大規模な工場で量産された既成食品（調理済み、半調理済み）の利用が増加します。このような量産食品に製造上の問題があると、多数の消費者を巻き込んだ事故に発展する危険性があります。事実、2000（平成12）年に大阪で発生した加工乳を原因とした食中毒では13,420名もの患者を出す事件にまで発展しています。

わが国は多くの食品を輸入に頼っているため、食料自給率は消費熱量ベースで計算するとわずか39%（2006年）です。また、海外では、日本の規格にあわない食品添加物や薬品が食品に使用されていたり、食品が病原微生物や農薬などの汚染を受ける例もあります。したがって、輸入食品については、単に量の確保のみではなく、品質、特に衛生状態に重大な関心を払う必要があります。

最近では健康指向などの理由で、食塩濃度を低くしたり、食品添加物濃度を低く抑えた食品が増えています。これらの食品では、当然、保存性も低下しているので、従来品と同じ感覚で取り扱っていると食中毒の発生を招く可能性も高くなります。さらに、遺伝子組換え作物を原料とした食品も続々と開発されていますが、これらの食品による健康危害は依然として未知の状態です。

このように、食品に関わる要因が多様化している現代社会では、食品が関係する事件が発生した場合、私たちの毎日の食生活に直接影響を及ぼすため、大きな社会問題にまで発展することがあります。特に、直接健康危害に結びつく

III 食と安全

8. わが国の食の安全性 ……………〔酒井健夫〕… 68
- 8.1 食の安全性に影響する社会の要因 69
- 8.2 食品を原因とする疾患とその危険性 70
- 8.3 食品の安全性確保に向けた行政対応 73
- 8.4 食の安全性に対する国民の期待 75
9. 食中毒とその予防 ……………〔丸山総一〕… 77
- 9.1 食中毒とは 78
- 9.2 日本の食中毒の特徴 78
- 9.3 細菌性食中毒の作用機序別分類 80
- 9.4 細菌性食中毒の症状別分類 80
- 9.5 わが国の代表的な細菌性食中毒 81
- 9.6 食中毒予防上のポイント 87
10. 食を取りまく化学物質の安全対策……………〔松藤 寛〕… 89
- 10.1 食を取りまく化学物質 89
- 10.2 リスク分析 90
- 10.3 消費者と科学者、行政との考え方の違い 91
- 10.4 食品添加物の安全対策 91
- 10.5 農薬の安全対策 95
- 10.6 その他の食の安全を脅かす化学物質の安全対策 96
- 10.7 これからの食の安全 98

IV 食の魅力

11. 日本人の好きなもの ……………〔森永 康〕… 101
- 11.1 日本の食の特徴 101
- 11.2 多彩で新鮮な食材が生み出した「すし」 102
- 11.3 中国の食文化と日本の「だし」の出会いが生んだ「ラーメン」 103
- 11.4 西洋料理と似て非なる日本の発明「カレーライス」 105