

ブタ、サルを使用した動物実験におけるE型肝炎ウイルス（HEV）感染症の
防止に関する留意事項

国立大学法人動物実験施設協議会
バイオセーフティ委員会

A. HEVに関する基本事項について

1. HEVは動物由来感染症の一つであり、感染症法において4類感染症に分類されている。
2. 一般に、抗体陽性動物がHEVを保有あるいは排出している可能性はかなり低い。一方、HEV抗体陽性養豚場由来の感染後間もない幼ブタはウイルスを保有し、場合によっては糞便中にウイルスを排出している可能性がある。したがって、一般的な遵守事項でもある血液や臓器などとの直接的接触を避けるとともに、水洗作業などの汚物飛沫が多量に発散する作業時等に、微生物学的注意を払い、基本的飼育管理法に則っていれば、実験動物からヒトへの感染を充分防止することができる。HEVについての詳しい情報は別紙2のE型肝炎について（解説）を参考にすること。

B. 抗体検査結果の概略

今回、国動協及び公私動協傘下会員施設に飼育されていたブタ、サル由来検査材料を検査した結果、下記のHEV抗体陽性率が得られた（詳細は別紙1参照）。

・家畜ブタ：	60%
・ミニブタ：	0%
・ニホンザル：	13%
・アカゲザル：	10%
・カニクイザル：	8%

C. 留意事項

ブタ、サルを使用した動物実験におけるHEVによる感染事故を防止するための取扱いについて、基本的事項を徹底し、少なくとも次の諸点を遵守すること。

1. 入手に当たっての注意

1) HEV抗体陽性養豚場由来の感染後間もない幼ブタに注意

HEV抗体陽性養豚場由来の幼ブタは、ウイルスを保有している可能性がある。幼サルについても注意が必要である。養豚場由来家畜ブタは定期的に抗体検査を行い、HEV感染状況を把握しておく必要がある。

2) 新たに入手したブタ、サルの一般的健康状態の把握

ブタにおいてHEV感染による症状が出現したと（或いは発症）の報告はない（不顕性感染）。

また、サルにおいても報告はないが、一般的健康状態の観察・把握は必要であろう。

2. 検疫、飼育、実験に当たっての注意

1) サルについて

- (1) サルは個別ケージ、可能であれば挟体付きケージに収容
- (2) 専用マスク・実験衣・手袋・履物の使用
- (3) 飼育器材類の定期的消毒及び洗浄
- (4) 実験使用後の機器、資材の消毒、滅菌
- (5) サル由来の組織、血液等の消毒

2) ブタについて

前述したようにブタを実験に用いる場合、特に HEV 抗体陽性養豚場由来の幼ブタにおいては血中に HEV が存在する可能性があるため、手術時等の血液・臓器については特に注意すること。その他、サルの取扱いに準ずる。

3. その他

1) 報告について

実験実施者が、採血時等に受ける針刺し事故や、一般手術時（気管挿管など含む）に血液等に暴露した場合は、直ちに消毒・殺菌等行うとともに、施設にその旨報告すること。

2) 今後の検査について

国動協及び公私動協傘下会員施設を対象として、HEV の検査を継続することを検討している。なお、HEV の検査は ELISA による抗体検査のみならず、PCR 法によるゲノム診断検査法も推奨される。したがって、各々の施設における PCR 法による検査も可能である。

3) わが国のブタの HEV の由来について

わが国の HEV の起源は、富国強兵政策のとられていた 1900 年頃に英国等から輸入されたブタにまで遡ることができ、肉食文化の普及に伴い全国にウイルスが定着したとされる。このことは、きわめて厳重に微生物管理された場所でない限り、ブタ等の HEV 汚染がいつ、どこで発生しても不思議ではないことを意味している。

4. 参考文献

HEV の詳細については、以下のウェブサイトを参照すること。

<<http://www.nih.go.jp/niid/virology2/abouthepatitis.html>>

<<http://www.mhlw.go.jp/houdou/2003/08/h0801-4.html>>

<http://www.hakuyukai-med.or.jp/clinic/medic/hepatitis_E.htm>

E型肝炎ウイルス(HEV)抗体調査結果について

今回、平成 17 年度文部科学省科学研究費補助金（基盤研究(C)企画調査）を受けて、国立大学法人動物実験施設協議会及び公私立大学実験動物施設協議会傘下 27 施設の当該実験動物（ブタ、サル）及び野生生息動物について、HEV 抗体検査を行った。その結果、下記のような成績が得られた*。

○ HEV 抗体検査結果（陽性率）

<ブタ>¹⁾

- ・総合判定結果： 36/77 (46.8%)
- ・ブタ種別結果

家畜ブタ：	36/62	(58.1%)
ミニブタ：	0/15	(0%)

<サル>²⁾

- ・総合判定結果： 107/916 (11.7%)
- ・サル種別結果

カニクイザル：	9/115	(7.8%)
アカゲザル：	26/264	(9.8%)
ニホンザル：	59/457	(12.9%)
タイワンザル：	0/6	(0%)
ブタオザル：	0/2	(0%)
アフリカミドリザル：	0/1	(0%)

<その他の野生生息動物>³⁾

- ・総合判定結果： 18/170 (10.6%)
- ・種別結果

イノシシ：	17/86	(19.8%)
シカ：	1/84	(1.2%)

注)

* 陰性検体の平均値+3SD 以上の OD 値を示した検体を陽性とした。陽性率は最も抗体価が長く持続する IgG 抗体陽性の割合で示した。

¹⁾ 動物実験に使用され保管されていた（使用中を含む）ブタ血清（血漿含む）。2005 年 8 月～同年 12 月の期間に提供された検体（77 検体：12 機関）。

²⁾ 動物実験に使用され保管されていた（使用中を含む）サル血清（血漿含む）。2005 年 8 月～同年 12 月の期間に提供された検体、及び 1998 年度に国立大学動物実験施設協議会が別目的のために収集したものの一部を加えたもの（916 検体：19 機関）。

³⁾ 九州地方の一部班員による検体提供

E型肝炎について（解説）

はじめに

国立大学法人動物実験施設協議会バイオセーフティー委員会（委員長：山本博（富山大））では、実験動物の感染症とりわけ人獣共通感染症に関して、その安全対策等種々検討を行ってきたが、近年、ブタのE型肝炎に関して社会の耳目が集まっていることから今回これに関する研究を行った。とくにブタは、他の実験動物の代替動物としても近年比較的多数使われるようになってきており、その飼養者や実験実施者への労働安全衛生上の対応策がもとめられている。また霊長類に関しては、医学研究上、実験動物として極めて重要な存在であるが、E型肝炎に対しては感受性を有するとされていることから、今回の研究対象に加えた。

ここではE型肝炎ウイルス（HEV）についての正しい理解と、この疾病に関して必要と思われる安全対策についての概要を、実験動物及び動物実験関係者への周知を図るべく、本疾病に関連する情報をとりまとめた。すでに多くの資料がインターネット上でも公開されているので、詳細については各個に適切なサイトを参照して頂きたい。ここでの内容の多くは、国立感染症研究所（国立感染研）のサイトで公開されているものであるが、本稿では、極力新しい情報と実験動物及び動物実験に関する注意事項等を加筆するよう努めた。

現在までのところ、実験動物、とりわけ今回の調査で対象としている動物種において、HEVの抗体陽性動物が存在していることがすでに確認され、一部報告されている。家畜ブタについては医学・薬学研究のための動物実験にもしばしば使われていることから、その情報に関しては、動物衛生研究所のサイトを参照することを勧める。

これまでに、実験動物を介したと思われる肝炎ウイルス感染の報告は殆ど見あたらないようである。とくにE型肝炎は4類感染症として全数報告が義務付けられている疾患であり、報告のあったもの以外の発生例は考えにくい。しかし、最新の感染症発生動向総覧（2006年4月14日集計分）においても3例の報告があり、うち1例はブタレバーのホルモンがその感染源として推定されている。実験動物を生で食することは我が国ではあり得ないが、動物実験操作中に誤って、針刺し事故、外傷事故、さらには飼育管理中に経口感染する可能性は残る。ブタにおいては感染後、ウイルス血症状態の期間はそれ程長くはないようで、IgM、IgG抗体が血中で速やかに上昇し、抗体上昇後は動物からの感染の可能性は低下するものと考えられる。成獣を用いる条件では、ウイルス血症状態の実験動物に遭遇する可能性は低い。しかし、動物間の感染様式は不明な点も多く、動物実験操作の失宜による感染の可能性は否定できない。したがって、HEV陰性コロニー由来の動物を用いることが最も望ましい。本ウイルス抗体陽性動物を飼育管理中に、飼養者が感染する可能性は、通常の実験動物管理と同様にマスク等の感染防御製品を適切に用いる場合は低いものと考えられ得る。しかし大型の実験動物飼育室では、水洗作業など飛沫がでる作業も少なくないことから、適切な

防護手段を用いることが勧められる。実験終了直後の処分時においても、当該動物がウイルス血症状態にあることが確認できていれば、血液を介する感染の可能性についても注意が必要である。とくに妊婦では、感染率ならびに劇症肝炎発症率が非常に高率なものとなるので、関連作業あるいは実験に従事することについては格段の注意が必要となる。

万が一、HEV 感染が疑われる症状が発現した場合には、直ちに適切な医療機関を受診することが推奨される。ヒトへの感染一般に関しては、厚生労働省ならびに国立感染症研のサイトが詳しい。

概 要

E 型肝炎は、従来、経口伝播型非 A 非 B 型肝炎とよばれてきたウイルス性の急性肝炎で、その病原体は HEV である。E 型肝炎の致死率は A 型肝炎の 10 倍といわれ、妊婦では実に 20%に達することがある。また、日本、ヨーロッパ諸国、北米大陸においては非 A 非 B 型肝炎といえば C 型肝炎を意味するが、発展途上国では事情が異なり、大部分は E 型肝炎であるといわれる。E 型肝炎はアメリカ、日本、ヨーロッパ等の先進各国では散発的に発生し、その大半は輸入感染症と考えられてきた。しかし最近、アメリカ、日本において全く渡航歴の無い E 型急性肝炎患者がみつかるようになってきたことから、従来、非流行地と思われる地域にも HEV は既に土着していると考えられる。

疫 学

HEV はアジアにおける流行性肝炎の重要な病因ウイルスである。中央アジアでは、E 型肝炎は A 型肝炎と同じく秋にピークに達するが、東南アジアでは雨期に、特に広い範囲の洪水の後に発生する。伝播は糞口経路で、主に水系感染である。1955 年、ニューデリーで共通感染源による流行が発生したが、これは飲用上水の糞便汚染が原因であった。この流行では、黄疸性肝炎と診断された症例だけでも 29,000 人に及んだ。これに似た水系感染流行がインド、中央アジア、中国、北アフリカ、メキシコなどでも報告されている。

E 型肝炎の多発地域での IgG 抗体保有率は通常 80%以上である。一方、E 型肝炎の非流行地域と考えられている日本で、900 人の健常人の IgG 抗体保有率を ELISA 法で調べたところ、地域間に抗体保有率の差が見られたが、平均抗体保有率は 5.4%であった。ヒト以外の動物では、アメリカをはじめ、日本、台湾、中国、韓国、インド、ネパール、カナダ、オーストラリア、スペインなどの国々のブタから血中 HEV 抗体が検出されている。ブタ以外の動物ではニワトリ、イヌ、ラット、ウシ、ヒツジ、ヤギ、ニホンザルなどでやはり血中 HEV 抗体が報告されており、多くの動物が HEV に暴露されている可能性がある。一方、HEV 遺伝子が検出されたのはブタ、ラット、それにシカだけである。

現在、HEV には G1 から G4 まで 4 つの遺伝子型が報告されているが、理由は不明であるが、ブタから検出された遺伝子型は G3 と G4 だけである。

感染実験では、種を超えて HEV の感染が成立するとの報告がいくつかある。G3 と G4 のヒト由来 HEV をブタに静脈注射すると、臨床的には無症状に経過するが、肝組織は明らかな肝炎を呈し、血液、肝臓などの組織から HEV の遺伝子が検出される。ヒト HEV に対する抗体も急速に上昇する。このことから、ヒト HEV がブタで増殖することが示唆されている。興味深いことに、G1 と G2 の HEV では感染が成立しない。つまり、遺伝子型によって、HEV の宿主に対する感受性が異なることが推測される。ブタ由来の HEV がヒトに感染するかどうかはまだ明らかではないが、ブタ由来の HEV を接種したアカゲザルではウイルス血症がおこり、便にウイルスが排泄される。

わが国でも、イノシシの生レバーの摂食が原因と見られる急性肝炎での死亡例が報告されるなど、これまでに動物由来の HEV がヒトに感染することを間接的に証明する症例がいくつか報告されている。市販のブタレバーを調べた結果、1.9%から HEV 遺伝子が検出され、さらに 10 人の E 型肝炎患者についてブタレバーの摂取歴を調べたところ、発症の 2~8 週間前に 9 人の患者が生豚レバー、あるいは加熱不十分のブタレバーを食べたことがあると答えている。また、野生のシカ肉を生で食べた 4 人が E 型肝炎を発症したことが報告され、患者血清と残存したシカ肉から、ほぼ同じ配列を持つ G3 の遺伝子が検出されている。これは、動物からヒトに感染することが直接証明された初めて症例でもある。このように、E 型肝炎が人獣共通感染症である可能性が強く示唆されている。しかし、シカの抗体保有率や HEV 保有状況などはまったく把握されておらず、感染状態は依然として不透明である。

病原体

HEV は直径約 38nm のエンベロープを持たない小型球形のウイルスで、内部に約 7.2Kb のプラス一本鎖 RNA を遺伝子として持っている。形態学的にはノロウイルスに類似し、かつてカリシウイルス科に分類されていた。しかし、ウイルス遺伝子上のウイルス蛋白の配置、特に非構造蛋白の機能ドメインの配置がカリシウイルスとは全く異なることが明らかになり、2002 年の国際ウイルス命名委員会では一時的に、「E 型肝炎様ウイルス属（“Hepatitis E-like viruses”；一時的な命名であるので、ダブルクォーテーションでくくられる）に分類されている。International Committee on Taxonomy of Viruses の website では現在 Hepevirus という hepatitis E に由来する名称を与えている。

チンパンジー、タマリン、ミドリザルのほか、アカゲザル、カニクイザルなどが感受性を示す。これら感染サル胆汁中には多量のウイルスが排泄され、研究の出発材料として有用である。精製ウイルスの塩化セシウム平衡密度勾配遠心法での比重は 1.35g/cm^3 、蔗糖密度勾配遠心法での沈降定数は 176 s~183 s である。HEV が効率よく増殖する培養細胞系は確立されておらず、その複製機構はあきらかではない。

臨床症状

他の肝炎ウイルス同様、HEV にとって肝臓が主たるターゲット器官と考えられる。E 型肝炎の臨床症状は A 型肝炎と似ている。潜伏期間は 15～50 日、平均 6 週間で、これは平均 4 週間といわれる HAV 感染の潜伏期に比べ、やや長い。ボランティアに糞便材料を経口投与した実験では、投与後約 5 週間で発症が見られている。悪心、食欲不振、腹痛等の消化器症状を伴う急性肝炎を呈する。症状としては、褐色尿を伴った強い黄疸が急激に出現し、これが 12～15 日間続いた後、通常発症から 1 カ月を経て完治する。黄疸に先立ってウイルス血症が出現し、ウイルスは便へも排泄される。A 型肝炎と同様、E 型肝炎は慢性化しないが、稀に IgM 抗体が長時間持続したり、便中への排泄を伴って長期間ウイルス血症状態が続く例も見られる。

E 型肝炎の特徴の一つとして、妊婦で劇症肝炎の割合が高く、致死率が 20%にも達することがある。母子感染に関してははっきり分かっていないが、治癒した妊婦の胎児発育には影響がないとする報告がある。HEV 感染による致死率は 1～2%であるが、これも A 型肝炎に比べ 10 倍の高さである。E 型肝炎の罹患率は、大流行でも散发例でも青年と成人(15～40 歳)で高い。小児における不顕性感染は A 型肝炎と比べて低く、対照的である。E 型肝炎での肝臓の病理所見は、急性期の組織学的病変を示す。胆汁うっ滞性の肝炎像は一つの特徴である。

病原診断

各遺伝子型間でよく保存される領域の塩基配列に基づいて、共通のプライマーを設計し、これを用いた RT-PCR で遺伝子増幅が可能になっている。使われるプライマー、増幅領域は各研究グループで異なっているが、よく使われる領域は ORF1 の N 末端の 500 塩基、および ORF2 の中間部分 500 塩基である。通常、患者血清と糞便が検査材料として使われる。サンプルの採集時期によって RNA の検出率は異なるが、RNA の検出期間は発症後の 2 週間程度と考えられる。しかし、発症 1 カ月後に検出されたケースも報告されている。増幅される領域の塩基配列を系統解析することによって遺伝子型を同定できるので、ウイルスの感染源の手がかりにもなる。ただし、HEV の遺伝子は RNA であるため、検出感度はサンプルの保存条件などに左右される。

また、操作中のコンタミにも十分な注意を払う必要がある。肝炎を発症した時点で、HEV に対する特異的な血中 IgM 抗体が大量に産生されるので、診断にはこの IgM 抗体の検出が迅速、かつ最も確実である。抗原には組換えバキュロウイルスで作製した、平均密度 1.285g/cm³、直径約 23～24nm の中空粒子を用いる。この粒子を用いた ELISA によって、急性期の患者血清と感染サル血清から HEV に特異的な IgM と IgG 抗体を、回復期の患者血清と感染サル血清から IgG 抗体を検出することができる。また、この粒子を免疫原として作製した高力価血清を用いて、患者糞便から HEV 抗原を特異的に検出する ELISA も開発されている。したがって、この中空粒子は、ネイティブな粒子に近い抗原性と免疫原性を持つ粒子であることも明らかになった。

海外では Abott、Gene Lab などから診断薬が販売されているが、わが国へは輸入さ

別紙（2）

れていない。上記の中空粒子を用いた ELISA は市販されていないが、血清診断は下記で行政検査として受け付けている。

【連絡先】

国立感染症研究所ウイルス第二部第一室
〒208-0011 東京都武蔵村山市学園 4-7-1
電話：042-561-0771（内線 357）
ファクス：042-561-4729、あるいは 042-565-3315
電子メール：ntakeda@nih.go.jp

感染症法における取り扱い

E 型肝炎は 4 類感染症に定められており、診断した医師は直ちに最寄りの保健所に届け出る。報告のための基準は以下の通りとなっている。

○ 診断した医師の判断により、症状や所見から当該疾患が疑われ、かつ、以下のいずれかの方法によって病原体診断や血清学的診断がなされたもの

- ・ 血清抗体の検出
例、特異的 IgM 抗体が陽性のもの
- ・ 病原体の遺伝子の検出
例、RT-PCR 法による遺伝子の検出

References

一般向け

1. 厚生労働省

食肉を介する E 型肝炎ウイルス感染事例について（E 型肝炎 Q & A）

<http://www.mhlw.go.jp/houdou/2003/08/h0819-2a.html>

2. 動物衛生研究所

豚と E 型肝炎ウイルス

http://niah.naro.affrc.go.jp/disease/HEV/swine_hev.html

3. 横浜市衛生研究所

http://www.city.yokohama.jp/me/kenkou/eiken/infection_inf/hev1.htm

専門家向け

4. The University Virus Database of the International Committee on Taxonomy

別紙（2）

of Viruses

<http://www.ictvdb.rothamsted.ac.uk/Ictv/index.htm>

5. 霊長類フォーラム：人獣共通感染症（第134回）9/1/02

山内一也先生

E型肝炎は人獣共通感染症か？

http://wwwsoc.nii.ac.jp/jsvs/05_byouki/prion/pf134.html

6. 感染研感染症発生動向調査週報

2004年第13週号（2004年3月22日～28日）掲載

（病原体電子顕微鏡写真あり）

http://idsc.nih.go.jp/idwr/kansen/k04/k04_13/k04_13.html

7. 厚生労働省医薬食品局

食品安全部監視安全課

健感発第0801001号

食安監発第0801001号

平成15年8月1日

<http://www.mhlw.go.jp/houdou/2003/08/h0801-4.html>

8. 都道府県、保健所設置市、特別区の衛生主管部局あてに通知

食安監発第1129001号

平成16年11月29日

<http://www.mhlw.go.jp/topics/syokuchu/kanren/kanshi/041129-1.html>