

第30回麻布環境科学研究会 一般演題8

貝類からのE型肝炎ウイルスの検出状況

柴崎 美穂¹, 平田 典子¹, 森田 重光¹, 岸田 直裕², 秋葉 道宏²¹麻布大学生命・環境科学部環境科学科, ²厚生労働省国立保健医療科学院水道工学部

1. はじめに

E型肝炎ウイルス(HEV)は水や食品を介して伝播すると報告されている。ヒトが感染すると黄疸, 倦怠感などA型肝炎と同様の症状を示すが, 妊婦が感染した場合は15~25%が劇症肝炎となり死亡するという報告もある。これまでに我々が実施した調査の結果から, プタは高い率でHEVに感染しており, 養豚廃水中からHEVが検出される頻度も高いことが明らかとなってきている。そこで本研究では, 養豚廃水の処理水が流入する河川水を対象として, HEVの濃度レベルを調査するとともに, その河川の河口域(汽水域)に生息する貝類中の濃度レベルを調査し, 濃縮係数を試算した。

2. 材料及び方法

材料: 養豚廃水処理水が流入している2河川を対象として, 8地点から河川水29試料を採取した。なお, 河口の河川水は海水の割合が高いが, 本研究では河川水とした。また, 両河川の河口域で貝類を26試料(牡蠣・イガイ類18試料, アサリ類4試料, 巻貝4試料)採取した。

方法: 河川水100~1000 mlを陰電荷膜吸着・酸洗浄・アルカリ誘出法¹⁾を用いて10 mlに濃縮した後, Centriprep YM-50 (Millipore)を用いて遠心濃縮し, 約700 μ lの濃縮液を得た。そして濃縮液からRNAを抽出した後に逆転写してcDNAを合成し, リアルタイムPCR法²⁾で定量した。また, 得られたcDNAをNested-PCR法³⁾で増幅し, 増幅産物をシークエンス解析した。

貝類は中腸腺と中腸腺以外の可食部に分け, それぞれをホモジネート後に超音波処理し, 遠心分離法でマトリクスを除去してから河川水と同様な方法で

表1 河川水中のHEV濃度レベル

河川	採取地点	採取月	n	濃度 (PDU \cdot l ⁻¹)
I	上流	7,8月	3	N.D.
		11月	2	1.9E+02 - 3.3E+02
	中流	8月	2	N.D.
		11月	2	2.1E+02 - 4.0E+02
	下流	7,8月	3	N.D.
		11月	2	1.6E+02 - 2.1E+02
	河口	7,8月	2	N.D.
		11月	3	N.D. - 8.9E+01
II	上流	8月	1	N.D.
		12月	1	6.1E+02
	中流	8月	1	N.D.
		12月	1	2.0E+02
	下流	8月	1	N.D.
		12月	1	2.9E+02
	河口	8月	1	N.D.
		12月	3	N.D. - 1.1E+02

N.D.: 非検出

濃縮して定量した。

3. 結果および考察

河川水中のHEVの定量結果を表1に示す。調査した29試料のうち12試料からHEVが検出され, 濃度レベルはN.D.~4.0 \times 10² PDU \cdot l⁻¹であった。検出された月はすべて冬期(11, 12月)であり, 夏期(7, 8月)には検出されなかった。

これまでの調査で, 畜産廃水中のHEV濃度レベルは夏期に比べて冬期に3オーダーほど高くなること, 活性汚泥法でおおよそ99.99%程度除去されるが, 処理に不備があると90%以下しか除去されないことなどが明らかとなっている。また, 各河川水から検出されたHEV-RNAと各河川の流域に点在する農家において採取したブタ糞便中のHEV-RNAの相同性は極めて高いことも明らかとなっている。これらの

表2 貝類中腸腺中のHEV濃度レベルと中腸腺への濃縮係数

河川	種類	採取地点	n	中腸腺中濃度 (PDU・wet-g ⁻¹)	濃縮係数
I	牡蠣	河川水中	4	N.D. - 2.7E+02	3030
		河岸潮干帯	5	N.D. - 9.2E+02	10300
	イガイ	堤防潮干帯	3	N.D. - 7.8E+02	8760
	アサリ	砂 中	2	N.D.	-
	巻貝	河岸潮干帯	2	N.D.	-
II	牡蠣	堤防潮干帯	2	N.D.	-
	イガイ	堤防潮干帯	4	N.D.	-
	アサリ	砂 中	2	N.D.	-
	巻貝	堤防付近	2	N.D.	-

N.D.: 非検出

結果から、河川水から検出されるHEVの起源は畜産廃水であり、処理工程で除去できなかったHEVが河川に流入しているものと考えられる。

貝類中のHEVの定量結果を表2に示す。調査した26試料中10試料からHEVが検出されたが、巻貝類やアサリ類からは検出されず、牡蠣・イガイ類からのみ検出された。濃度レベルはN.D.~ 9.2×10^2 PDU・wet-g⁻¹であり、河川水中における濃度レベルと同様に冬期に高い傾向が認められた。また、河川水中に常に浸漬している貝よりも、潮干帯に生息する貝中の濃度レベルの方が明らかに高かった。コロイドの形態をとる化学物質の貝類による濃縮係数は、潮干帯に生息する場合、特に高くなることが知られているが、HEVの場合も同様の傾向を示した。

牡蠣・イガイ類の中腸腺中の濃度と河川水中濃度との比から算出した濃縮係数は10000以上となることもあり、また、可食部に占める中腸腺の割合から算出した可食部への濃縮係数も100以上となること

を確認した。

河川水および貝類から検出されたHEVをシーケンス解析した結果、遺伝子型はすべてG IIIであった。それらの塩基配列の相同性は非常に高く（平均96.2%）、貝類が生息する河川水中のHEVが濃縮されていることが確認された。

4. 結論

河川水および牡蠣・イガイ類からHEVが検出された。いずれの濃度レベルも冬期に高くなることが明らかとなり、また、濃縮係数は特に潮干帯に生息している場合に高くなることを確認した。極めて低い濃度レベルのHEVをモニタリングするための生物として、牡蠣・イガイ類が有効であるものと考えられる。

謝辞

本研究は日本学術振興会科学研究費補助金基盤研究(B)「排水処理による新興病原微生物の制御に関する研究」の一環として実施したものである。ここに記して謝意を表す。なお、本発表は第44回日本水環境学会(2010年、福岡)で講演した内容を要約したものである。

参考文献

- 1) Katayama *et al.* (2003) *Appl. Environ. Microbiol.*, 68(3), 1033-1039.
- 2) 影山ら (2004) 第52回日本ウイルス学会学術集会講演集, p.178
- 3) Li *et al.* (2005) *Emerg. Infect. Dis.* 11(12), 1958-1960.