

北海道におけるシカ肝臓・血清中の微量元素濃度と地域性

萩原克郎¹、能田 淳¹、久世みその¹、鈴木一由¹、世良耕一郎²

¹酪農学園大学獣医学群
069-8501 北海道江別市文京台緑町 582

²岩手医科大学サイクロトンセンター
020-0603 岩手県滝沢市留が森 348-58

1 はじめに

北海道内には、多くの野生エゾシカが生息する。これらのシカは、毎年繁殖し過去数十年の間に農林業被害を及ぼすまで増加した。北海道は、その対策として駆除並びにそれら鹿肉の食料利用を推進し、スーパーの店頭にも鹿肉を目にするようになった。一方で、鹿肉は獣医師によると畜場検査を介さず食用に供されることから、公衆衛生上の課題として今後対応する必要がある。エゾシカは、生息環境の植物に依存して生育していることから、環境要因により体内への感染病原体、有害微量元素の取り込みが行われる。このように食肉需要が増す中で、本研究ではエゾシカの体内に含まれる各種微量元素の含有量を明らかにし、食材としてのヒトに対する有害微量元素等の蓄積に関する問題点が無いか否かを調査すると同時に、人獣共通感染症としてシカに感染している E 型肝炎ウイルス (HEV)^{1,2)} 感染にともなう微量元素の濃度変化について肝臓を検査臓器として採取し、非感染個体と比較考察した。

2 材料と方法

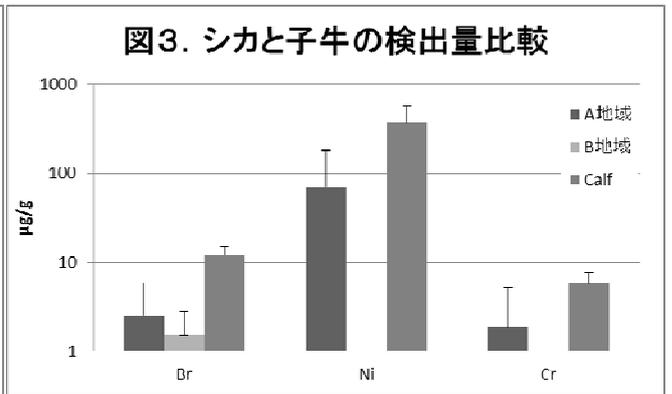
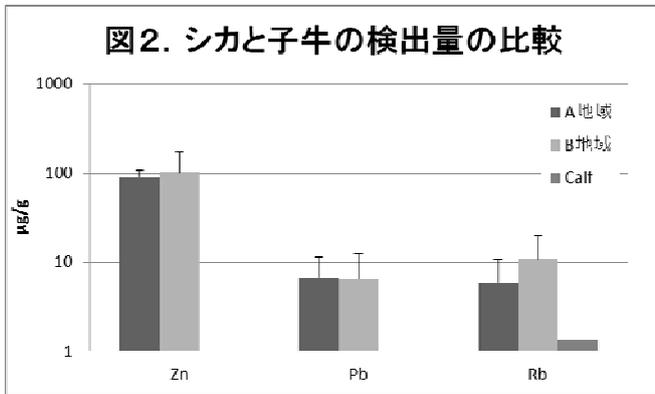
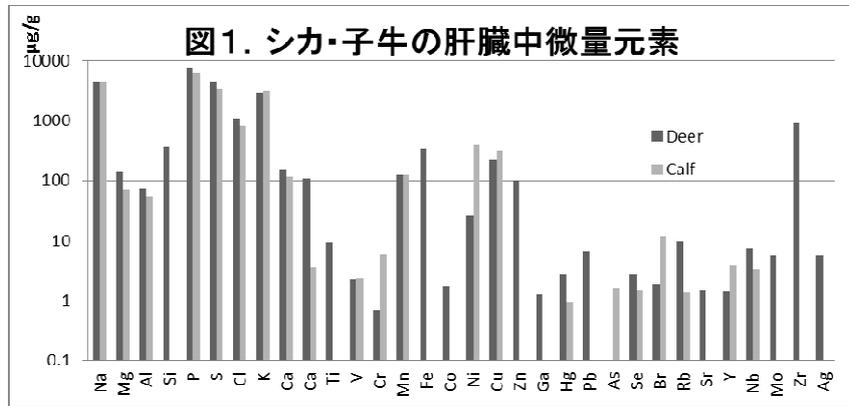
エゾシカ (*Cervus nippon yesoensis*) は、北海道に生息する野生個体 91 頭 (2-5 歳) を狩猟後 4 時間以内に解体し、血清と肝臓を採取した。シカの捕獲地域により道北地区を A 地域 (33 頭)、日高地域を B 地域 (58 頭) とした。シカ肝臓サンプルは、冷蔵便にて大学に搬送して一部は HEV 検査のため RNA を抽出し、RT-PCR 法にて HEV ORF-1 領域を増幅するプライマーを用いて肝臓中の HEV 遺伝子を増幅し、電気泳動にて目的増幅バンドを確認した³⁾。Particle Induced X-Ray Emission (PIXE) 測定には、血清と肝臓サンプルを岩手医科大学へ送付後、ホモジナイズしたのち定法に従い微量元素 32 項目について測定した。また、対照として子牛 (10 頭) の肝臓も同様に採取し PIXE で測定した。

3 結果・考察

3.1 エゾシカ・子牛肝臓中の微量元素

PIXE で測定した全 32 項目の測定データを図 1 に示した。肝臓試料から微量元素が測定されたが、血清からは評価に値する測定値は得られなかった。肝臓中の測定値は、項目毎にウシ・シカ間で検出量が異なり、シカ間でも地域性に違いのある元素が確認された (図 1)。動物種による検出元素の違いでは、亜鉛 (Zn)、ルビジウム (Rb)、鉛 (Pb) は子牛では検出されない個体が多く (図 2)、逆に臭素 (Br)、

ニッケル (Ni)、クロム (Cr) は子牛では比較的多く検出され、Ni、Cr に関しては A 地域のシカでは、検出される個体が散見されるが、B 地域では検出されなかった (図 3)。



次に、野生のエゾシカは生息環境中の植物を主たる栄養源としているため、生息地域の土壌成分の影響を間接的に受ける事が懸念される。そこで、土壌汚染対策法に係る第二種特定有害物質の肝臓中検出量を比較した。第二種特定有害物質 (土壌含量基準 mg/kg) は、水銀 (Hg 15)、鉛 (Pb 150)、クロム (Cr 250)、ヒ素 (As 150) 及びセレン (Se 150) について表に示した様に、土壌含有基準を大幅に下回る数値であった。水銀、鉛、クロム、セレンについては、シカの検出料が子牛を若干上回ったが、ヒ素は検出限界以下であった (表 2)。

表 2 特定有害物質検出量比較 (平均値 µg/g)

	Hg	Pb	Cr	As	Se
Deer	2.65	6.55	6.5	ND	2.75
Calf	0.92	ND	5.75	1.64	1.46

今回の検出量は、クロアチアで調査された鉛や水銀量(Pb 0.0656、Hg 0.1463 µg/g) より高値であった⁴⁾。フィンランドにおけるウシ・ブタの肝臓中鉛量は、ウシで 0.036-0.066 µg/g で、ブタでは 0.021µg/g であり、我が国のシカ肝臓中の濃度が比較的高い事が示された⁵⁾。これらの背景には、水・餌を介しての蓄積が考えられる事から今後環境中の要素である水・餌の分析を実施する必要がある。

シカの生息地域における微量元素を比較した結果、A 地域ではセレン、臭素、クロムの検出量が B 地域より高い傾向を示し、逆にルビジウム、モリブデンは B 地域が高い傾向を示した(表 3)。これらの地域性の違いは、土壤中、環境中の餌となる植物に含まれる微量元素に影響されるものと推察される。詳細を明らかにするために、各地域の植物サンプルについての解析を進めて地域性の要因を検証したい。

表 3 微量元素の生息地域比較 (µg/g)

	Se	Br	Rb	Mo	Cr
A 地域	4.36	3.40	5.94	4.56	6.5
B 地域	1.66	1.83	10.79	6.04	ND

3.2 E 型肝炎と肝臓微量元素

E 型肝炎 (HEV) は、人獣共通感染症で感染した動物の生或いは未加熱肉を喫食することで感染し、A 型肝炎と類似した臨床所見を呈する肝炎の病原ウイルスである^{1,2)}。このウイルスは、小型球形(約 30 nm) で家畜(ブタ)をはじめ野生動物ではイノシシ、シカ等に感染が確認されている。ヒトへの感染事例から、イノシシやシカの感染肉(レバー)等が感染源であることが指摘されている^{6,7,8,9)}。本研究では、これまで調査してきたエゾシカ肝臓における HEV 感染による肝臓微量元素の変化を比較調査した。その結果、下表 4 に示す様 K、Ca、Mn、Co において感染の有無により検出値が異なる事が示された。その中でも特に、Mn については平均で 4 倍ほどの検出値の違いが確認された。

表 4 HEV 感染と微量元素比較 (平均値 µg/g)

	K	Ca	Mn	Co
Positive n=39	3125.18	158.47	29.94	2.14
Negative n=41	2655.02	143.91	118.62	1.67
P	0.021	0.04	0.069	0.053

Mn は、慢性肝疾患や肝機能障害(肝硬変など)においてマンガンの胆汁排泄が不十分であることや、マンガンが肝臓を経由せずに体循環に入ることから、血液中のマンガン濃度が高くなる傾向が報告(カナダ保健省 2010 ; U.S.DHHS 2008)されているが、今回の結果はそれとは逆に、HEV 陽性肝臓で減少していることから胆汁排泄とは関係ない他の要因によるものと推察され、多検体の試料解析と *in vitro* 細胞による解析により感染と Mn の関係を調査していきたい。

4 総括

以上、本研究において以下の知見が得られた。

1. 子ウシ、シカ肝臓から PIXE により微量元素が検出された。今回の試料調整で測定を継続可能であることが確認された。
2. 子ウシとシカで検出されない元素が存在した。Zn、Rb、Pb は、シカに多い傾向、Br、Ni、Cr は、子ウシに多い傾向であった。これらの違いは、飼養環境（餌）等に影響されている要因と考えられた。
3. シカにおいて5種の微量元素に地域差が認められた。その中で、Se、Br、Rb、Mo、Cr が地域性の要因を追跡する元素として、餌となる草等の解析について検討を続けていきたい。
4. 第二種特定有害物質（Hg、Pb、Cr、Se）は、極微量検出されたが子牛の検出量と類似していた。シカ肝臓における As は検出限界以下であった。よって、食肉利用でこれら有害物質の影響を受ける可能性は極めて低いと考えられた。
5. HEV 感染した肝臓において Mn の検出量が低値を示すことが明らかとなったが、その要因は不明である。感染に伴う宿主の反応か否かは今後詳細な検討をすすめる予定である。

本調査で、食料利用されているエゾシカの微量元素量を地域別に比較することが出来た。また、有害物質の含有量も低く食肉利用による影響は低いことが明らかとなった。測定値の比較では、家畜との微量元素含有量の違いや、同じエゾシカにいても地域性や HEV 感染による違いが認められたことから、環境複合要因をモニターするツールとしても野生動物の肝臓サンプルは、有用なサンプルであることが示された。

引用文献

1. Tei S, Kitajima N, Takahashi K, Mishiro S. 2003 Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings. *Lancet*. Aug 2;362(9381):371-3.
2. Matsuda H, Okada K, Takahashi K, Mishiro S. 2003 Severe hepatitis E virus infection after ingestion of uncooked liver from a wild boar. *J Infect Dis*. 188(6): 944.
3. Kanai Y, Miyasaka S, Uyama S, Kawami S, Kato-Mori Y, Tsujikawa M, Yunoki M, Nishiyama S, Ikuta K, Hagiwara K. Hepatitis E virus in Norway rats (*Rattus norvegicus*) captured around pig farm. *BMC Res Notes*. 2012 Jan 5; 5(1): 4.
4. Srebočan E1, Janicki Z, Crnić AP, Tomljanović K, Sebečić M, Konjević D. Cadmium, lead and mercury concentrations in selected red deer (*Cervus elaphus L.*) tissues from north-eastern Croatia. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng*. 2012;47(13):2101-8
5. Tahvonen, R. Kumpulainen, J. Lead and cadmium contents in pork, beef and chicken, and in pig and cow. liver in Finland during 1991. *Food Additives and Contaminants* 1994: 11-4, 415-426.
6. Sonoda H, Abe M, Sugimoto T, Sato Y, Bando M, Fukui E, et al. 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(11): 5371-5374.
7. 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. 2007 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* 48: 338-340.
8. Meng XJ. 2005. Hepatitis E virus: cross-species infection and zoonotic risk. *Clin Microbiol Newsletter* 27:43-48.
9. Mizuo H, Suzuki K, Takikawa Y, Sugai Y, Tokita H, Akahane Y, Itoh K, Gotanda Y, Takahashi M, Nishizawa T, 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.

謝辞：本研究の一部は、科学研究費補助金(課題番号 23580427)を受けて実施した研究である。

Microelement concentrations and regionality in deer liver and serum in Hokkaido

Katsuro Hagiwara¹, Jun Noda¹, Misono Kuze¹, Kazuyuki Suzuki¹
and Koichiro Sera²

¹School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University
582 Bunkyo-dai, Ebetsu, Hokkaido 069-8501, Japan

²Cyclotron Research Center, Iwate Medical University
348-58 Tomgamori, Takizawa, Iwate 020-0603

Abstract

We analyzed 32 microelements in livers from 91 Ezo deer (*Cervus nippon yesoensis*) by Particle Induced X-Ray Emission (PIXE). In addition, ten calves were also analyzed to compare with the results from deer examined. The results indicated different levels of six microelement levels in deer and calf livers. Among the deer samples, different habitat areas indicated various levels of five microelements of Se, Br, Rb, Mo, and Cr. The low concentration of harmful elements found in liver indicates deer meat consumption is considered to be a safe practice. Microelements comparison between hepatitis E virus (HEV) infected and non-infected deer groups indicated the infected group with lower levels of Mn. In conclusions, the level of microelements found in liver from the wild deer has been affected by their biotope (habitat area) and possibly the infection status of HEV.