

2型ヘルペス特異抗体検出法

東京大学医科学研究所ウイルス研究部

吉野 亀三郎
多田 愛子

研究目的

ヘルペスウイルスが妊婦に初感染を起こしたときに胎児に諸種の奇形を発するという報告(1~4)がある一方、また妊娠中の2型ヘルペスウイルスの感染が妊娠20週以内に起きると流産が多く、20週以後の場合は早産が多いという米国の統計(5)もある。この点を多くの産婦について調べて、日本人の場合はどうかを知り、その対応策を工夫することは目下の急務である。

そこでわれわれは日本医科大学産婦人科室岡一教授の御協力を得て、妊婦を時期を逐って採血しその血清中の1型と2型のヘルペスウイルスに対する中和抗体価を測り、これによって1型初感染の者および1型既感染で2型に新たに感染した場合の者がどのくらいの率で存在するかを見、それと出生児の体重および奇形有無がいかに関連するかを検討することにした。実際には、上の2つの場合のうち後者の方が重要であると考えられる。

ところが1型に既感染で抗1型抗体を持っている妊婦が陰部に2型の感染を受けるような場合、従来の方法ではその2型抗体の消長を正確にとらえることは出来なかつた。なぜなら1型は抗原a cで2型はb cで現わすが、このcすなわち共通抗原があるため、2型ウイルスに対する血清反応は上の場合、“C”対“抗C”反応という抗1型抗体による交差反応が出てしまうから、“b”対“抗b”の特異反応はかくれてしまつて測れないのである。

この点の解決は世界中のこの方面の研究者が望んでいることで、諸種の吸収法(6-12)が工夫されているが、まだ実用的に広く応用できるものはない。この点を解決するのが先決問題となつた。一方日医大産婦人科に於ける採血はどんどん進んでいるので、少くとも第1年度内にはどの方

式で抗体価を計るかを早く決めなくてはならないという要請があつたので、いろいろな点を基礎的に検討した。

材料と方法

ウイルス：教室保存の1型ヘルペスウイルスHF株のほか2型として米国のUW-268株・196株およびわれわれの分離して既報したもの¹³⁾数株を用いた。

マイクロプレート中和：われわれの開発した方法¹⁴⁾で1000TCID₅₀ウイルスと1単位/0.1ml補体を用いた。すなわちプレートの穴に階段稀釈血清と補体とウイルスを入れ37°C CO₂フランクに1時間納めたのち、Vero細胞浮遊液を滴下し、つぎけて同フランクに4日入れてからゲンチアナ紫フォルマリン液染色を行ない、終末値を求めた。終末値はCPE₂₊以上を示す最高稀釈の逆数で表わした。

結果

はじめにいろいろな2型株のc(common抗原)に対する抗体との反応の差を比較するため、比較的交差の強い抗1型ウサギおよびヒト患者血清との間の中和を見たのが表1で、UW-268と196株が比較的良いと考えた。

次に吸収の方法として、抗1と抗2ウサギ血清の0.1mlに(i)1型HF感染漿尿膜(CAM)20%乳剤(維持液にて製したもの)、(ii)HF株感染Vero細胞の培養液、(iii)対照維持液を各0.9ml加え、37°C1時間後氷室一夜放置し、2000回15分遠心上清を56°C30分加熱して、HF(1型)・UW-268(2型)・196(2型)と中和を行なつたところ、表2に示すごとく(i)のCAM乳剤が非常に効率よく抗cを吸収した。し

かもその際抗 b (抗 2 型特異) 抗体価は動かなかつた。

考 察

今回の方法は, 1 型抗体に隠れて探知しにくかつた 2 型微量抗体を計る有効で簡便な方法として世界で始めてのもので, 今後これを用いて, 臨床材料に応用し, 所期の目的を達しうると考える。

文 献

1. McCallum, F.O. : Virus-related mental defect and disorder. *Proc. Roy. Soc. Med.* 65 : 585-587, 1972.
2. Florman, A. L., Gershon, A.A., Blackett, P.R. and Nahmias, A.J. : Intrauterine infection with herpes simplex virus : resultant congenital malformation. *J. A.M.A.* 225 : 129-132, 1973.
3. Montgomery, J. R., Flanders, R.W. and Yow, M.D. : Congenital anomalies and herpes virus infection. *Amer J. Dis. Child.* 126 : 364-366, 1973.
4. Cibis, A. and Burde, R.M. : Herpes simplex virus-induced congenital cataracts. *Arch. Ophthalmol.* 85 : 220-223, 1971.
5. Nahmias, A.J., Josey, W.E., Naib, Z.M., Freeman, M.G., Fernandez, R.J. and Wheeler, J.H. : Perinatal risk association with primary genital herpes in pregnancy. *J. A.M.A.* 235 : 2731-2733, 1976.
6. Back, A.F. and Schmidt, N.J. : Typing Herpes virus hominis antibodies and isolates by inhibition of the indirect hemagglutination reaction. *Appl. Microbiol.* 28 : 400-405, 1974.
7. Forghani, B., Schmidt, N.J. and Lennette, E.H. : Solid phase radio-immunoassay for identification of Herpesvirus hominis types 1 and 2 from clinical materials. *Appl. Microbiol* 28 : 661-667, 1974.
8. Geder, L. and Skinner, G.R.B. : Differentiation between type 1 and 2 strains of herpes simplex virus by an indirect immunofluorescent technique. *J. Gen. Virol.* 12 : 179-182, 1971.
9. Ito, M. and Barron, A.L. : Typing of isolates of herpes simplex virus by mixed agglutination. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 146 : 41-45, 1974.
10. Jeansson, S. : Differentiation between herpes simplex virus type 1 and 2 strains by immunosorption. *Appl. Microbiol.* 24 : 96-100, 1972.
11. Jeansson, S. : Preparation of type specific herpes simplex antisera by an immunosorbent method. *Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sect. B.* 83 : 48-54, 1975.
12. Schneeweis, K.E. and Nahmias, A. J. : Antigens of herpes simplex virus type 1 and 2 immunodiffusion and inhibition passive hemagglutination studies. *Z. Immun. Forsch.* 141 : 471-487, 1971.
13. Tada, A. Sekine, N., Toba, M. and Yoshino, K. : An analysis of factors influencing the isolation rate of herpes simplex virus. *Microbiol. Immunol.* 21 : 219-229, 1977.
14. Tada, A. and Yoshino, K. A new microplate method for typing of herpes simplex virus. (*Microbiol. Immunol* in press.

表 1

CROSS NEUTRALIZATION OF HSV-1 ANTISERA WITH
VARIOUS HSV-2 STRAINS

STRAIN	RABBIT SERUM	HUMAN SERUM
HSV-1		
HF	320	320
HSV-2		
UW-268	80	80
UR	80	80
TH	80	80
HR	160	80
MS	320	320
NO	160	80
TR-88	160	160
TR-106	160	160
TR-110	80	40
TR-148	112	112
TR-196	80	80
196	40	96

表 2

ABSORPTION OF ANTI-COMMON ANTIBODY IN ANTI-HF SERUM BY
TREATMENT WITH AN EMULSION OF HF-INFECTED CAM

ABSORPTION	NEUTRALIZATION ENDPOINT OF ANTI-HF(HSV-1) SERUM AGAINST			NEUTRALIZATION ENDPOINT OF ANTI-UW-268(HSV-2) SERUM AGAINST		
	HF (HSV-1)	UW-268 (HSV-2)	196 (HSV-2)	HF (HSV-1)	UW-268 (HSV-2)	196 (HSV-2)
EMULSION OF	20	< 10	< 10	< 10	40	20
HF-INFECTED	20	< 10	< 10	< 10	40	40
CAM ^A	(20)	<(10)	<(10)	<(10)	(40)	(40)
CULTURE FLUID	160	10	10	10	20	20
OF HF-INFECTED	160	10	10	20	40	40
VERO CELLS B	(160)	(10)	(10)	(14)	(28)	(28)
MAINTENANCE	160	20	20	20	40	20
MEDIUM	320	20	20	20	40	20
	(224)	(20)	(20)	(20)	(40)	(20)
UNTREATED	160	20	20	20	40	20
CONTROL	160	20	20	20	40	40
	(160)	(20)	(20)	(20)	(40)	(28)

A. Titer was 2×10^8 PFU/mlB. Titer was 1.06×10^8 PFU/ml

↓
検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります
↓

研究目的

ヘルペスウイルスが妊婦に初感染を起こしたときに胎児に諸種の奇形を発するという報告(1~4)がある一方,また妊娠中の2型ヘルペスウイルスの感染が妊娠20週以内に起きると流産が多く,20週以後の場合は早産が多いという米国の統計(5)もある。この点を多くの産婦について調べて,日本人の場合はどうだかを知り,その対応策を工夫することは目下の急務である。