

# ヘルペスウイルス感染に関する研究

東京大学医科学研究所ウイルス研究部

吉野 亀三郎・磯野 法子  
浦山 万里・多田 愛子

## 1. 研究目的

ヘルペスウイルスが妊婦に初感染を起こした際あるいは2型ヘルペスウイルスの陰部の回帰性疱疹のある場合に、それが胎児にどのような影響を与えるかということはまだほとんど判っていない。このウイルスの胎内感染で小頭症・脈絡網膜炎・脳炎・指奇形・心疾患・白内障・骨病変・頭蓋内石灰沈着・肝石灰化・発育遅延などがあったという報告は外国にあるが、症例としては10例に満たない(1~7)、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週以後だと早産が多いという報告もある(8)。そこでこれらの点を日本の多くの妊婦について調査することが必要である。

この調査には1つの方法としては実際に妊婦のヘルペスウイルス初感染例および陰部回帰性疱疹例を臨床的にウイルス学的方法でとらえてその出産児を追求する方法と、一般妊婦の妊娠中の特異抗体陽転者をとらえてその出産児について同様に追求する方法とがあり、われわれは第2の方法を用いた。国立仙台病院沼崎義夫博士によって集められた血清について、妊娠中の抗体陽転率がどの位であるか、すなわち初感染率がどの位かを1型に就いて調べた。また従来2型ヘルペス抗体に就いては、1型による交差に災されて今までほとんど正確な疫学統計が無いが、前年度にわれわれの開発した吸収法をさらに改良して、非常に簡便で実用的なものにすることが出来たので、それを応用して上記血清中の2型ヘルペス抗体を測定した。

## 2. 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株と、2型ヘルペスウイルスUW 268株のVero細胞培養液を標準として用いた。ウサギ免疫にはこれらのHeLa細胞培養を用いた。

妊婦血清：国立仙台病院ウイルスセンター分与の100人の妊婦の妊娠前期・中期・後期の血清を防腐剤なしで-20°C保存した。

ウサギ血清：HF株とUW 268株のそれぞれで数回静脈内接種で得た超免疫血清を56°C30分非働化して用いた。

中和反応：多田らの方法(9)でマイクロプレート中和法を行なった。稀釈液は細胞維持液(MM)でMEM培地に非働化コウシ血清を2%に加えたものである。先ず被検血清をMMで5倍に稀釈し56°C30分非働化した。それをトランスファープレートを使ってMMで倍倍稀釈して10倍~10,240倍の稀釈列にし、対照にMMのみを置き、主プレートには1,000TC Dのウイルス1滴(0.025ml)と補体またはMM1滴の混合を置き、トランスファープレートを重ねて混合した。補体にはモルモット新鮮血清をMMで1溶血単位/0.1mlに稀釈したものをを用いた。37°C1時間後 $5 \times 10^5/ml$ のVero細胞浮遊液を1滴づゝ滴下混合し、炭酸ガスふらん器に4日置いた後0.2%ゲンチアナ紫加10%フォルマリン液で固定染色し、CPE 2++までを中和陽性とし、終末点稀釈の逆数で中和指数を表した。2列に行った場合はその幾何平均を計出した。

1型による吸収中和反応：吸収源としてはVero細胞にHF株をうえ、CPEの出たとき凍結融解3回で出るウイルスを液に集めたものをを用いた。マイクロプレート定量で10TC D/0.025ml前後の値のものが得られた。これを主プレートのwellに0.05ml宛入れ、上記同様にトランスファープレートで稀釈した血清を重ねて混合し、そのまゝ炭酸ガスふらん器に3日置いた。対照は血清対照のほか10倍正常ウサギ血清のwellを設けこれは細胞対照とした。3日の吸収終了後10cmの距離で紫外線殺菌灯(100W)の下で15分間ゆっくり動かしつゝ吸収源中のウイルスを不活化した。次に0.025ml中に1,000TC Dのウイルスまたはそれと補体を入れたものを各wellに滴下した、但し細胞対照のwellにはMMを1滴入れた。あとは上の中和と全く同様に行なった。

## 3. 結果

100人の妊婦の妊娠前・中・後期の1型と2型ヘルペスウイルスに対する中和抗体は図1で示される。19人は全期を通じて全部陰性だったので図から外してある。多くは妊娠中の抗体価変動がなかったが、Na99の妊婦では明かに妊婦中陽転があり、Na78とNa80の妊婦

では前期から中期にかけて著しい補体要求性中和抗体 (CRN) の出現があった。No.9とNo.11の2名もCRNが認められた。この5人は恐らく妊娠中に初感染を受けたものであろう。

たゞこの中でNo.29の妊婦のように2型ヘルペスの抗体が1型抗体より高い例は稀で、従来の諸家の意見では両抗体がある程度接近していれば特異的2型抗体陽性と考えてもよいというような可成り乱暴な解釈が多かったが、これら2型中和値が単なる1型の交差かどうかを見る必要がある。そこで新しくわれわれの開発した吸収法を用いてみた。これは基礎的にウサギ免疫血清で試すと表1のように選択的に1型および2型血清内の1型交差分を吸収するが、1型血清の中和抗体価が非常に高いとその2型交差分も少し残るという程度で、一方2型血清中の特異的2型抗体には余り影響はない。

この吸収法を用いて上の妊婦血清全部を試した結果を要約すると表2のようになった。すなわち、図1で見た抗2型の抗体の大部分はこの吸収でとられるもの即ち異型交差分であった。残った特異2型抗体についていうと、妊娠中に陽転したものはいなかった。

#### 4. 考 察

マイクロトレイの中和システムが確立してから多数の血清サンプルを取扱うことが非常に楽になった。加えて今回開発した吸収法は従来のいかなる吸収法よりも簡便で吸収源も少量で済むという点で非常に優れていると思われる。今回の100人の妊婦に関しては、妊娠中抗体陽転者がはっきりしたもの1名、その他CRN検出で初感染を疑ったもの4名で、2型抗体陽転者はいなかった。たゞ、はっきり言えるのは従来多くの学者が2型抗体といていたのは大部分1型交差分を言っていたわけで、この吸収法の応用で今後本当の2型感染の実態が判ってくるであろう。なお、1型感染の5名の出産児については今後何年も監視する必要がある。

#### 文 献

1. Mc Callum, 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. Komorous, J.M., Wheeler, C.E., Briggaman R.A. and Caro, I.: Intrauterine herpes simplex infections. Arch. Dermatol. 113:918-922, 1977.
6. Chalhub, E. G., Baenziger, J, Feigen, R. D., Middlekamp, J. N. and Shackelford, G. D, Congenital herpes simplex type II infection with extensive hepatic calcification, bone lesions and cataracts: complete postmortem examination Derm. Med. Child. Neural. 19:527-534, 1977.
7. Amstey, M. S. : Maternal viral infection with adverse results: cytomegalovirus and herpes virus. Semin. Perinatol. 1:1-10, 1977.
8. Nahmias, A. J., Josey, W. E., Naib, Z., Freeman, M. G., Fernandez, R. J., and Wheeler, J. H.: Perinatal risk associated with primary genital herpes in pregnancy. J. A. M. A. 235: 2731-2733, 1976
9. Tada, A. and Yoshino, K: A new microplate method for typing of herpes simplex virus. Microbiol. Immunol. 22:415-426, 1978

図1 妊婦血清中の抗ヘルペスウイルス中和抗体価，100人中陰性者19人を除いた残り，横軸下の数字は妊婦番号，その各につき左から妊娠前期・中期・後期の血清抗体価を，左は抗1型右は抗2型で表わす。点線は補体加で増強した分で，×印は補体による増強のなかったもの，1番上欄の5例は妊婦中初感染のあった疑いのもの。

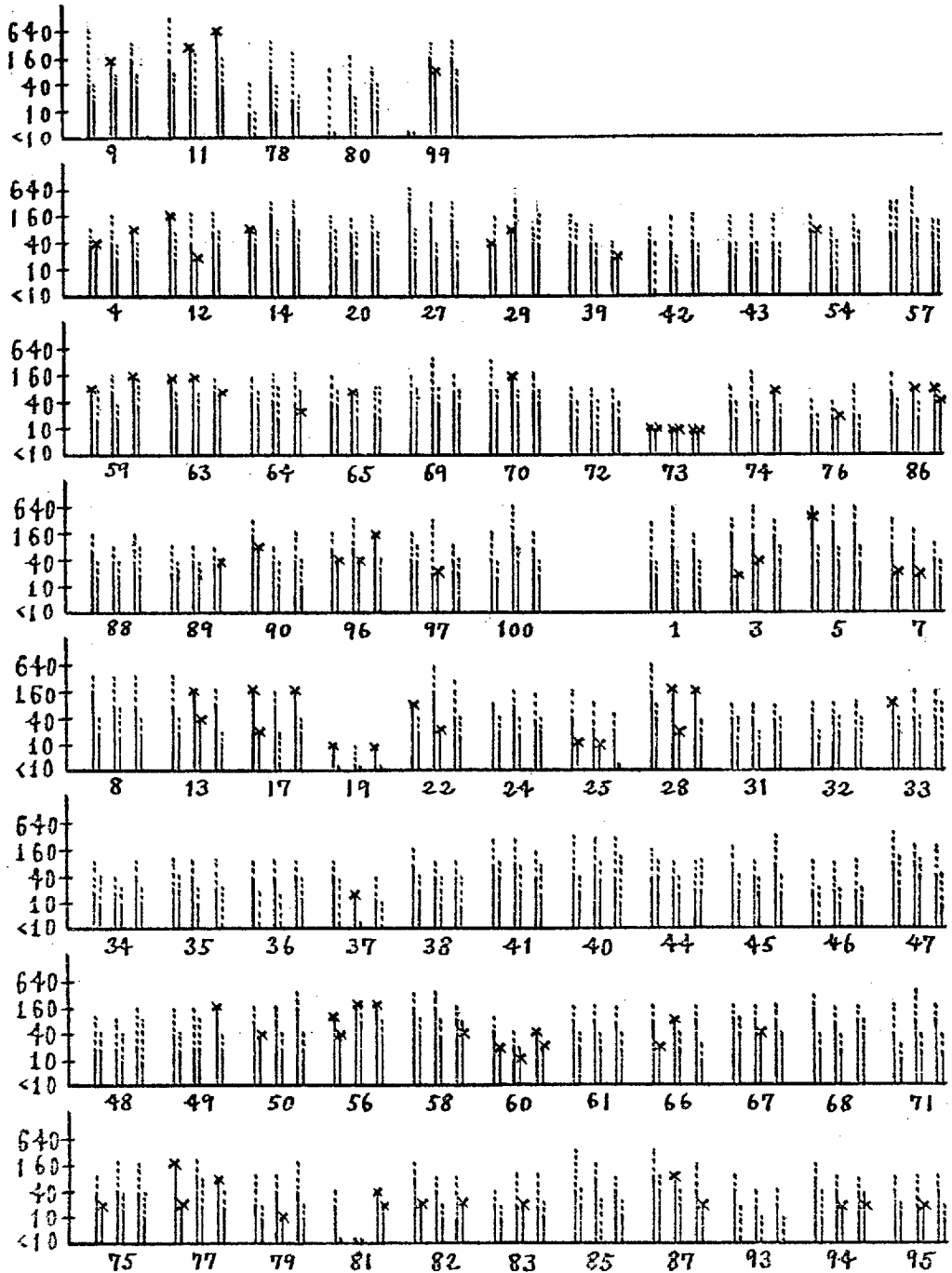


表 1. ウサギ免疫血清に対する新抗体吸収法の中和抗体価に及ぼす影響

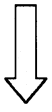
抗血清	吸収	HSV-1		HSV-2	
		C'+	C'-	C'+	C'-
抗HSV-1	+	40	40	10	10
	-	1,280	640	80	56
抗HSV-2	+	0	0	80	56
	-	80	28	160	80

HSV-1: 1型ヘルペスウイルスHF株, HSV-2: 2型ヘルペスウイルスUW-268株。吸収源は  $7 \times 10^6$  TCD/0.05ml, -はMMによるmock absorption。0は<10を表わす。

表 2. 妊婦血清のHSV-1による吸収前後における抗HSV-2中和抗体価の変動

吸収前の値 (C+)	吸収後の値 (C+)				
	80	40	20	10	0 (<10)
320	2*	0	0	2	0
160	2	0	1	1	4
80	0	0	2	9	49
40	0	1	1	10	86
20	0	0	1	2	50
10	0	0	0	0	12
0 (<10)	0	0	0	0	67

\* 数字はこの抗体価変動を示した血清サンプルの数を示す。



## 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



### 1. 研究目的

ヘルペスウイルスが妊婦に初感染を起こした際あるいは2型ヘルペスウイルスの陰部の回帰性疱疹のある場合に、それが胎児にどのような影響を与えるかということはまだほとんど判っていない。このウイルスの胎内感染で小頭症・脈絡網膜炎・脳炎・指奇形・心疾患・白内障・骨病変・頭蓋内石灰沈着・肝右灰化・発育遅延などがあったという報告は外国にあるが、症例としては10例に満たない(1~7),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週以後だと早産が多いという報告もある{8}。そこでこれらの点を日本の多くの妊婦について調査することが必要である。