

1. ヘルペスウイルス

1-a 妊娠年令前後の年令層に於けるヘルペス2型特異抗体分布 —— 妊婦感染診断のための基礎データ ——

東京大学医学研究所ウイルス研究部

本藤 良・吉野 亀三郎
阿部 和子・青山 友三

研究目的

単純ヘルペスウイルス (HSV) とくにその2型の女性陰部感染と胎児および新生児との関係は要約すれば第1は妊娠中の初感染が児の発育に催奇性あるいは出産後の精神身体両面の影響を及ぼすか否かを明らかにすることであり、第2は無抗体の母からの出産児が妊娠時の母体感染のための排泄ウイルスによる致死的感染を受ける場合をいかに防ぐかということに盡きる。

第1の点に関して言えば、過去数年のわれわれの班の研究により、妊娠中のHSV 1型初感染は1~3%であり、2型初感染は少くとも現在までの調査では見つからなかつたので、有ったとしてもおそらく1%以下であると思われる。そして1型初感染でも出産児とくに異常を認めていないので、この点は余り心配ないと考えられる。ただし2型に関しては全人口の抗体獲得の年令的推移が判っていないので、果して本当に妊娠年令での2型抗体陽転例が多数有りうるか否かを知ることが出来ない。その主な理由は従来用いられた1型吸収法^{1,2)}が材料手数がかかり過ぎること、それに代ってよく用いられる抗1抗2型抗体価の比較から抗2型抗体を算定する方法³⁻⁵⁾が或は低い抗2型抗体を見損ったり或は1型の交差反応を特異的抗2型と見誤ったりして信頼度に欠けるからであった。

この点は前年度の報告で示したように、われわれの開発したマイクロ中和システムに於けるウエル内吸収法が非常に能率よく型共通抗体を吸収ししかも特異的2型抗体は正しく把握できることが判った。⁶⁾今回はこの方法の感度を上げるべくさらに工夫を行ない、それによって一般正常人の年令別性別抗HSV 2型抗体の分布を調べた。その結果抗2型抗体は矢張り豫期されたように性交年令から上昇し始めること、およびその年令での抗体価分布が比較的低いことが判った。この年令別陽性率変遷から、性交年令での(または妊娠年令での)初感染率を推定することが出来る。

次に第2の重要な点すなわち新生児の産道感染の問

題に就いては、確実なウイルス学的診断を迅速に行う工夫と同時に、サブユニットワクチンの応用のための基礎実験が目下進行中である。これは次回に報告したい。

材料と方法

マイクロ中和法は川名・吉野の方法⁶⁾に従ったが、今回は以下に述べるような検討を経て若干術式の改良を行なった。すなわち、先ず吸収源としてHSV 1型HF株で感染したVero細胞から凍結融解により約 10^7 TCD/0.025 mlのウイルス液を作り、2段予備検定を行なった。第1段ではそれがインディケーターウイルスに干渉しないこと、紫外線15分照射で完全に不活化することを確かめ、第2段では標準1型ウサギ血清を充分に吸収し同2型血清の価には影響しないことを確かめた。

本試験ではトランスファープレートで希釈した血清0.025 mlと吸収源0.05 mlをマイクロプレート (Faellcon, Micro, Test II)のウエル内で混ぜ、37°C炭酸ガスふらん器に3日納めた後紫外線15分照射し、次に1型HF株あるいは2型UW-268株をインディケーターウイルスとして1000 TCDを含む0.025 ml液として加え、氷室一夜放置後補体加Vero細胞液を0.025 ml加えた。補体濃度は1溶血単位/0.1 mlで、細胞は 5×10^5 / mlである。そして4~5日後に常法の通り染色した。希釈液はすべて2%非働化コウシ血清加MEM培地 (MM)を用いた。

予備実験に用いたウサギ血清はHF株のHeLa細胞培養液を頻回静中して得たものであり、本実験に用いたヒト血清は本藤⁷⁾がヘルペス抗体分布の検索に使用したものである。血清はすべて-20°Cに保存し、非働化は56°C30分加熱によった。

結 果

前回の吸収法⁵⁾にさらに氷室一夜感作で補体要求性中和抗体を感度よく計る法⁸⁾を加え、さらに感作後Vero細胞と補体(C')を同時に加える工夫をした。表1は吸収なしでウサギ血清によるマイクロ中和

を行なう際、従来の方法より氷室一夜感作の方が感度がよいこと、およびC'と細胞は同時に入れてもよいことを示している。

表-1 プレート中和法の異なる術式の影響

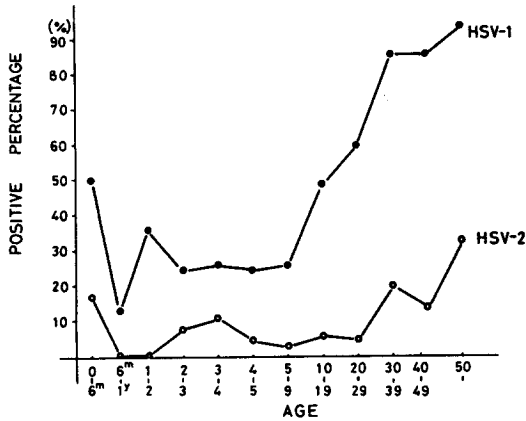
Virus (TCD)	Standard ^{a)}	Overnight Sensitization at 4°C	
		Successive ^{b)}	Simultaneous ^{c)}
10 ⁵	80	320	320
10 ⁴	160	640	640
10 ³	320	1280	1280
10 ²	640	1280	1280

- a) Virus + serum → 37°C 1hr, Vero
- b) " → 24 hr in an ice box, C' → 37°C 30min, Vero
- c) " → " , C' and Vero

表-2 HSV 2型特異中和抗体の年齢性別保有分布

Age	0-6 ^m		6 ^m -1 ^y		1-2		2-3		3-4		4-5		5-9		10-19		20-29		30-39		40-49		50-	
	m	f	m	f	m	f	m	f	m	f	m	f	m	f	m	f	m	f	m	f	m	f	m	f
160 ^x																							1	1
80																			1					5
40																			2	1	2	1	3	5
20	2											1		1	2	1	2	2	4	2	9	10		
10							2	1	1	1	2	1	2	1	1	1	5	7	3	3	7	11		
<10	5	5	9	6	11	11	13	9	13	4	13	6	62	40	36	27	53	38	48	32	61	32	66	42
	10	15	22	22	22	17	19	102	63	91	80	93	108											
Total	7	5	9	6	11	11	13	11	14	5	14	6	65	41	38	29	56	40	57	43	70	38	86	74
	12	15	22	24	19	20	106	67	96	100	108	160												

図— 1. HSV 1 型 2 型中和抗体の年齢別陽性率 (10×以上)



この方法で749人の正常人血清中の抗HSV 1型および2型抗体を計った結果を表2に示し、その陽性率の年齢別変動を図1に示す。

豫期されたように30才前後の性交年齢で特異2型抗体が上りはじめ、男女の差はない。その上り始めは比較的抗体価が低い。

考 察

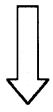
上の図から見て20才以上で抗2型抗体陽性率の上昇は1年に1%以下であろう。すなわち、妊娠婦人の妊娠中での陽転率もその程度と思われる。また今回の実験で、多数血清サンプルのHSV 2型抗体が比較的容易に計りうる目安がついたことは大きな成果であったと考える。

文 献

1. Skinner, G. R. B., Hartley, Ch. and Whitney, J. E.: Detection of type-specific antibody against herpes simplex virus type 1 and 2 in human sera by complement-fixation test, *Arch. Virol.* 50:323-333, 1976.
2. Ohashi, M. and Ozaki, Y.: Application of indirect hemagglutination test to measurement of type-specific antibody to herpes simplex virus in human sera. *Microbiol. Immunol.*

23:801-804, 1979.

3. Rawls, W. E., Iwamoto, K., Adam, E. and Melnick, J. L.: Measurement of antibodies to herpesvirus types 1 and 2 in human sera. *J. Immunol.* 104: 599-606, 1970.
4. Nahmias, A. J., Josey, W. E., Naib, 2. M., Luce, C. F. and Duffey, A.: Antibodies to Herpesvirus hominis types 1 and 2 in humans. I. Patients with genital herpetic infections. *Am. J. Epidemiol.* 91:539-546, 1970.
5. Kawana, T., Yoshino, K. and Kasamatsu, T.: Estimation of specific antibody to type 2 herpes simplex virus among patients with carcinoma of the uterine cervix. *Gann* 65: 439-445, 1974.
6. Kawana, T. and Yoshino, K.: Estimation of type-specific neutralizing antibody to herpes simplex virus type 2 in uterine cervical cancer patients by a new absorption method. *Microbiol. Immunol.* 24:1163-1174, 1980.
7. Hondo, R.: A seroepidemiological study of herpes simplex virus. *Japan. J. Med. Sci. Biol.* 27: 205-213, 1974.
8. Yoshino, K. and Isono, N.: Studies on the neutralization of herpes simplex virus. IX. Variance in complement requirement among Ig G and Ig M from early and late sera under different sensitization conditions. *Microbiol. Immunol.* 22:403-414, 1978.



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

単純ヘルペスウイルス(HSV)とくにその2型の女性陰部感染と胎児および新生児との関係は要約すれば第1は妊娠中の初感染が児の発育に催奇性あるいは出産後の精神身体両面の影響を及ぼすか否かを明らかにすることであり,第2は無抗体の母からの出産児が妊娠時の母体感染のための排泄ウイルスによる致死的感染を受ける場合をいかに防ぐかということに盡きる。

第1の点に関して言えば,過去数年のわれわれの班の研究により,妊娠中のHSV1型初感染は1~3%であり,2型初感染は少くとも現在までの調査では見つからなかったもので,有ったとしてもおそらく1%以下であると思われる。そして1型初感染でも出産児にとくに異常を認めていないので,この点は余り心配ないと考えられる。ただし2型に関しては全人口の抗体獲得の年令的推移が判っていないので,果して本当に妊娠年令での2型抗体陽転例が多数有りうるか否かを知ることが出来ない。その主な理由は従来用いられた1型吸収法(1・2)が材料手数がかゝり過ぎることと,それに代ってよく用いられる抗1抗2型抗体価の比較から抗2型抗体を算定する方法(3-5)が或は低い抗2型抗体を見損ったり或は1型の交差反応を特異的抗2型と見誤ったりして信頼度に欠けるからであった。

この点は前年度の報告で示したように,われわれの開発したマイクロ中和システムに於けるウエル内吸収法が非常に能率よく型共通抗体を吸収ししかも特異的2型抗体は正しく把握できることが判った。6)今回はこの方法の感度を上げるべくさらに工夫を行ない,それによって一般正常人の年令別性別抗HSV2型抗体の分布を調べた。その結果抗2型抗体は矢張り豫期されたように性交年令から上昇し始めること,およびその年令での抗体価分布が比較的低いことが判った。この年令別陽性率変遷から,性交年令での(または妊娠年令での)初感染率を推定することが出来る。

次に第2の重要な点すなわち新生児の産道感染の問題に就いては,確実なウイルス学的診断を迅速に行う工夫と同時に,サブユニットワクチンの応用のための基礎実験が目下進行中である。これは次回に報告したい。