

ヘルペスウイルス

迅速診断法とサブユニットワクチンの開発

東京大学医科学研究所

吉野 亀三郎

研究目的

過去数年にわたる当班の研究で、妊婦のヘルペスウイルス（HSV）初感染または再発が胎児に及ぼす影響はほとんど問題にならないほど稀である一方、無抗体児の新生児 HSV 感染が恐るべき危険を及ぼすという現実問題がクローズアップされてきた。

この致死的新生児感染を予防するには、第一に妊婦の血清中の HSV 中和抗体を調べてその陰性者には出産児の隔離その他特別な注意をすること、第二には特に産婦の陰部 HSV 感染が疑われる場合に迅速な診断を下して帝王切開指示などの適切な処置をとること、そして第三には妊婦にワクチンを用いて IgG 抗体を作らせ間接に胎児を守ることが考えられる。とくに最後のワクチンに関しては、1 型 HSV 抗体保有妊婦の子は両型 HSV の新生児期感染に可成り抵抗力のあることが知られている。¹⁾ たゞワクチンに関しては生ワクチンと同様に発がん性を危惧して、サブユニットワクチンの開発が行われている。この点も検討した。

今回とくに意を用いたのは迅速で正確な診断法で、これは顕性感染者のみならず、不顕性感染者の唾液や腔分泌液あるいは回帰的にそれら分泌液に出てくるウイルスをも適確にとらえるためにマイクロ中和法を用いて患部材料の直接中和同定法を試みて著しく良い成績を得た。

材料と方法

東京女子医大皮膚科林葉子氏により HSV 感染を疑われた患者の患部スワブぬぐい液を 20% 非働化コウシ血清加組織培養メヂウム（YLE または MEM）に絞り出した検体を、一部は従来通りミリポア除菌後 Vero 細胞に接種し CPE 発現時の液を採取して、それを中和テストに使用した（培養アッセイ）。また一部は培養のステップを省略して直接検体をウイルス液として用いて中和テストを行った。

中和同定の方法は多田吉野の法⁵⁾に従い、ウイルス 10 倍階段稀釈列に 1.0 単位 / 0.1 ml 補体 1 滴と抗 1 型

または抗 2 型 HSV モル免疫血清 2 中和単位を 1 滴加え、37°C 1 時間後分散 Vero 細胞 10^6 / ml 液 1 滴添加、炭酸ガスふらん器 3 日培養後、10% フォルマリン 0.2% ゲンチアナ紫染色により、対照に比してどちらの抗体がより大きくウイルス感染価を下げるかで同定および型決定を行った。

サブユニットワクチンは先ず 1 型 HSV の HF 株を Vero 細胞で培養し、Cappel^ら³⁾ の法でウイルスタンパク部を精製して、それを 2% コウシ血清加 MEM 培地にタンパク量で 20 γ / ml に浮遊したものを原液とした。その抗原量決定は川名^らが 1 型抗体吸収に用いたマイクロ板による吸収法を用い、抗血清の中和値を 8 分の 1 に下げ I 抗原量を 1 単位（AAU）とした。モルモットには 0.5 ml 腹腔内または両後肢足蹠各 0.1 ml 接種、5 週後同方法でブースター接種し、1 週間後採血し、マイクロ中和法で抗体を測定した。

結 果

(1) HSV 感染症の迅速診断法

マイクロ中和法による分離ウイルスの同定および型決定は極めて明瞭で、その例を図 1 に示す。スワブゆすぎ液を直接このテストにかけても 50 検体中 46 サンプルで同定が可能であり、そのうち 41 サンプルでは型決定が可能であった。（表 1）。

(2) サブユニットワクチン

生ウイルス（32・8・2 AAU）、紫外線不活化ウイルス（8・2 AAU）、サブユニットワクチン（8・2 AAU）を腹腔または足蹠接種免疫したモルモットで、何れもサブユニットワクチンは著しく免疫能が悪かった（表 2）。

考 察

迅速診断に関しては、今回試みた直接中和法はすべて 3 日で決定したので画期的な成果を挙げたと言いうる。ワクチンの方は他の研究者はアジュバンドを用いているが、われわれはアジュバンドを用いるのは反対

で、その代わりに皮内接種法で免疫力を上げることを考えている。

文 献

1. Yeager, A. S., Arvin, A. M., Urbani, L. J. and Kemp, J. A., II: Relationship of antibody to outcome in neonatal herpes simplex infections. *Infect. Immun.* 29: 532-538, 1980.
2. Skinner, G. R. B., Williams, D. R., Buchan, A., Whitney, J., Harding, M. and Bodfish, K.: Preparation and efficacy of an inactivated subunit vaccine (NFU₁BHK) against type 2 herpes simplex virus infection. *Med. Microbiol. Immunol.* 166: 119-132, 1978.
3. Cappel, R., de Cuyper, F. and Rickaert, F.: Efficacy of a nucleic acid free herpetic subunit vaccine. *Arch. Virol.* 65: 15-24, 1980.
4. Kitces, E. N., Morahan, P. S., Tew, J. G. and Murray, B. K.: Protection from oral herpes simplex virus infection by a nucleic acid-free virus vaccine. *Infect. Immun.* 16: 955-960, 1977.
5. Tada, A. and Yoshino, K.: A new microplate neutralization test for typing of herpes simplex virus. *Microbiol. Immunol.* 22: 415-426, 1978.
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.

図1. マイクロ中和法による HSV 同定と型決定

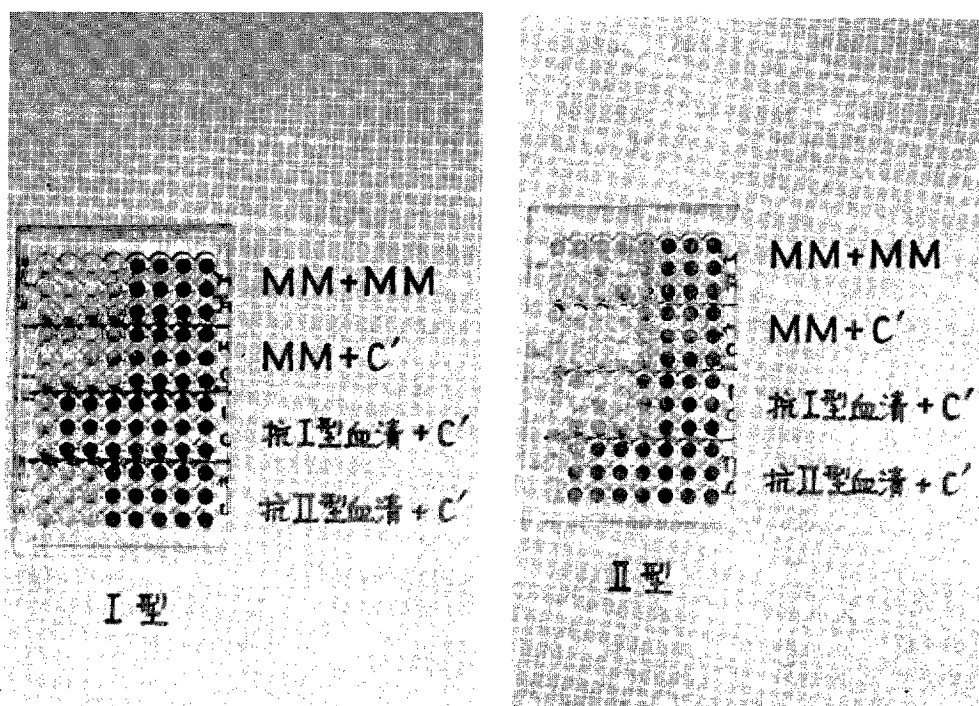
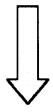


表1. 直接法と培養法の効率比較

直接法による判定	従来式培養法による判定		計 (50例)
	1 型	2 型	
1 型	25	0	25
2 型	0	16	16
HSVと同定 型不明	4	1	5
判定不能	3	1	4

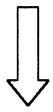
表2. モルモットに於ける HSV サブユニットワクチンの効果

免疫原	濃度	方 法	中和抗体(補体加)
生ウイルス	32 AAU	腹腔内 0.5 ml × 2	640, 320, 320, 320, 160, 160, 80, 80
”	8	”	320, 160, 80, 20, 20
”	2	”	160
紫外線不活化ウイルス	8	”	80, 40, 20, 10, <10
”	2	”	40, 40, 20, <10, <10
サブユニット	8	”	<10, <10, <10
”	2	”	10, <10, <10
生ウイルス	8	後足蹠 0.2 ml × 2	>320, >320, >320, >320, >320
紫外線不活化ウイルス	8	”	160, 80, 80, 80, 40, <10
サブユニット	8	”	<10, <10, <10



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

過去数年にわたる当班の研究で、妊婦のヘルペスウイルス(HSV)初感染または再発が胎児に及ぼす影響はほとんど問題にならないほど稀である一方、無抗体児の新生児 HSV 感染が恐るべき危険を及ぼすという現実問題がクローズアップされてきた。この致死的新生児感染を予防するには、第一に妊婦の血清中の HSV 中和抗体を調べてその陰性者には出産児の隔離その他特別な注意をすること、第二には特に産婦の陰部 HSV 感染が疑われる場合に迅速な診断を下して帝王切開指示などの適切な処置をとること、そして第三には妊婦にワクチンを用いて IgG 抗体を作らせ間接に胎児を守ることが考えられる。とくに最後のワクチンに関しては、1 型 HSV 抗体保有妊婦の子は両型 HSV の新生児期感染に可成り抵抗力のあることが知られている。)たゞワクチンに関しては生ワク不活化ワクチンとも癌原性を危惧して、サブユニットワクチンの開発が行われている。この点も検討した。

今回とくに意を用いたのは迅速で正確な診断法で、これは顕性感染者のみならず、不顕性感染者の唾液や膣分泌液あるいは回帰的にそれら分泌液に出てくるウイルスをも適確にとらえるためにマイクロ中和法を用いて患部材料の直接中和同定法を試みて著しく良い成績を得た。