

山梨県における単純ヘルペスウイルスの血清疫学的研究

—受身血球凝集法による抗体保有状況—

小澤 茂 跡部里香 三木 康
渡辺由香里*1 佐藤 譲*2 横山 宏*3

Seroepidemiological Study of Herpes Simplex Virus (HSV) in Yamanashi Prefecture
—Survey of HSV Antibody by Passive Hemagglutination Assay—

Shigeru OZAWA, Rika ATOBE, Yasushi MIKI,
Yukari WATANABE, Yuzuru SATOH
and Hiroshi YOKOYAMA

単純ヘルペスウイルス (HSV) には1型 (HSV-1) と2型 (HSV-2) があり, 1型は主として口唇, 眼, 皮膚に病変を起こし, 2型は主として陰部に感染を起こす。かつては, 人口の70~90%が小児期までにHSV-1の初感染を受け, そのうち大部分は不顕性感染のまま経過し, 発症しても多くは軽症の歯肉口内炎で, まれに脳炎, 角膜炎, ヘルペス湿疹などを起こすに過ぎないといわれていた¹⁾。近年, 生活環境の改善により, HSVの初感染年齢が幼ないしは小児期より成人層に移行しつつある。このため成人の接触感染, 母体からの移行抗体を持たない新生児のHSV全身感染症などが増加し, HSVが重篤な種々の症状をもたらすウイルスとして注目されている²⁾。

著者らは1982年に山梨県住民のHSV中和抗体保有状況を調査し, 20歳代の女性に約40%の抗体陰性者が存在し, これらの者から生まれる新生児がHSVに初感染を受けると致命的全身感染症を起こす危険性があることを報告した³⁾。

今回, HSV-1の糖タンパクを固定ヒツジ赤血球に感作した受身血球凝集反応 (PHA) のキットを使用する機会を得たので, 中和反応 (NT法), 補体結合反応 (CF法) との比較検討を行うと共に, 前回の調査から8年経過した後の山梨県住民のHSV抗体保有状況を調べる目的で, PHA法によるHSV抗体測定を実施した。

材料および方法

1. 調査対象血清

1989年10月から1990年3月の間に採血された山梨県住民の血清298件を使用した。抗体測定法の比較には1部1982年の調査³⁾で採血された血清を用いた。血清は抗体測定を行うまで-20℃で保存した。

2. PHA法

PHA法には「ファッセイ-HSV」(化学及血清療法研究所製造)を使用した。本法にはA・Bの2通りの操作方法があるが, 血清抗体測定の標準法であるA法を使用説明書に従って行った。PHA法で測定される抗体価(以下, PHA抗体価)は1:100以下を陰性とした。

3. NT法

HSV-1の標準ウイルス株としてVero細胞で増殖したHF株を用いた。方法は前報³⁾で示したマイクロトレイを用いた微量中和法で行った。すなわち, マイクロトレイで56℃, 30分非働化した被検血清を1:5から2段階希釈し, それに1,000TCID₅₀の標準ウイルス液を加え, 4℃, 1夜放置後, Vero細胞浮遊液を加えた。37℃, 4日培養後, 0.2%ゲンチアナ紫液で固定染色し, CPEを判定した。抗体価は1:5以下を陰性とした。

4. CF法

HSV-1 CF抗原, 正常抗原, 溶血素, 補体, 緬羊血球はデンカ生研製を用いた。56℃, 30分非働化した被検血

*1: 県立中央病院, 現在 衛生検査センター

*2: 日下部保健所, *3: 県立中央病院

清を1:4から2段階希釈し、方法はマイクロタイター法⁹⁾で行った。抗体価1:4以下を陰性とした。

結 果

1. PHA法とNT法との比較

55例の被検血清について、PHA法とNT法で測定したHSV抗体価を比較した結果を図1に示した。両法間には、相関係数 $r=0.84$ 、回帰式 $Y=0.63X+0.84$ [$Y=\log_2$ (NT価), $X=\log_2$ (PHA価/50)]と良好の相関を認めた。PHA法で抗体陰性の9例はNT法でも全例陰性であった。

2. PHA法とCF法との比較

54例の被検血清について、PHA法とCF法で測定したHSV抗体価を比較した結果を図2に示した。両法間の相関係数は $r=0.72$ 、回帰式は $Y=0.32X+1.51$ [$Y=\log_2$ (CF価), $X=\log_2$ (PHA価/50)]で、PHA法とNT法間の相関に比べやや良好ではなかった。PHA法で抗体陽性の46例のうち、CF法で陽性を示したものは36例、陰性を示したものの10例であり、またPHA法で陰性の8例はCF法でも全例陰性であり、一致率は81.5%であった。

3. 山梨県住民のHSV抗体保有率

1989年10月から1990年3月にかけて採血された山梨県住民の血清298件について、PHA法でHSV抗体の測定を実施した。その結果を表1に示した。年齢別抗体保有率

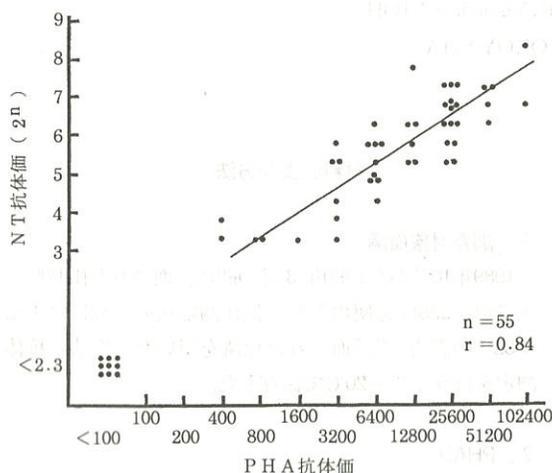


図1 PHA法とNT法の相関

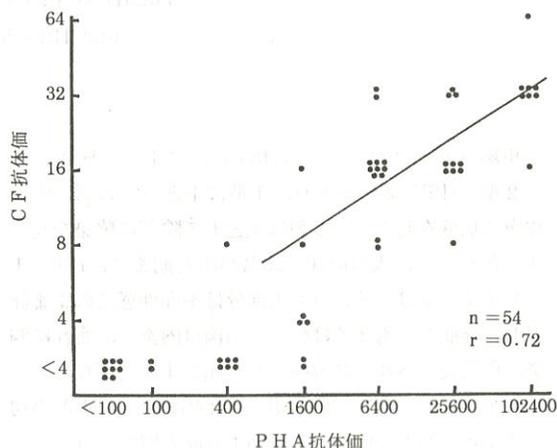


図2 PHA法とCF法の相関

表1 単純ヘルペスウイルス (HSV)の年齢別抗体保有状況 (1989-1990)

年 齢 歳	被検者数	H S V P H A 価							抗体保有率 %	平均抗体価
		<100	100	400	1,600	6,400	25,600	≥102,400		
< 1	4	3		1					25.0	400
1~ 2	11	7				2	2		36.4	12,800
3~ 4	9	8		1					11.1	400
5~ 9	25	10	1		2	4	8		60.0	8,440
10~14	30	16		1	7	2	4		46.7	3,910
15~19	30	16		2	1	6	4	1	46.7	4,970
20~24	30	15	1		3	8	3		50.0	4,850
25~29	45	22	1	2	3	6	8	3	51.1	8,140
30~34	32	18			1	7	6		43.8	10,490
35~39	30	7		2	3	7	11		76.7	8,140
40~49	30	5	1			9	13	2	83.3	13,900
50~	22	1			1	3	16	1	95.5	19,650
計	298	128	4	9	21	54	75	7	57.0	13,500

を見ると、1～4歳は25%、5～9歳では60%と保有率が高くなり、10～19歳、20～24歳、25～29歳、30～34歳までの各年齢層では44～51%とほぼ同じ保有率であった。35～39歳では77%で、加齢とともに抗体保有率が上昇し、50歳以上の年齢層では96%とほとんどの者がHSV抗体を保有していた。

今回の年齢層別抗体保有率を82年の中和抗体保有率³⁾と比較したものを図3に示した。82年においては、20～24歳で55%と初めて抗体保有率も50%を越え、25～29歳60%、30～34歳65%、35～39歳71%と加齢と共に保有率も上昇した。しかし今回の調査では、82年に比べ20歳代で保有率が若干低下し、また30～34歳の保有率が82年の65%に対して今回は44%と低率であった。一方、1～4歳の低年齢層において、82年と90年では抗体保有率には差異が見られなかったが、5～9歳において、82年に23%の保有率であったものが90年には60%と上昇した。

性別の抗体保有率は、男性152名中82名53.9%、女性146名中88名60.3%で、性別による有意な差は認められなかった。また20～29歳の妊娠可能年齢層の女性における抗体保有率は54.8%であった。

4. 山梨県住民におけるHSV抗体の分布

被検者298名のうち抗体保有者170名におけるPHA法による抗体価の分布をみると、表1に示すように、

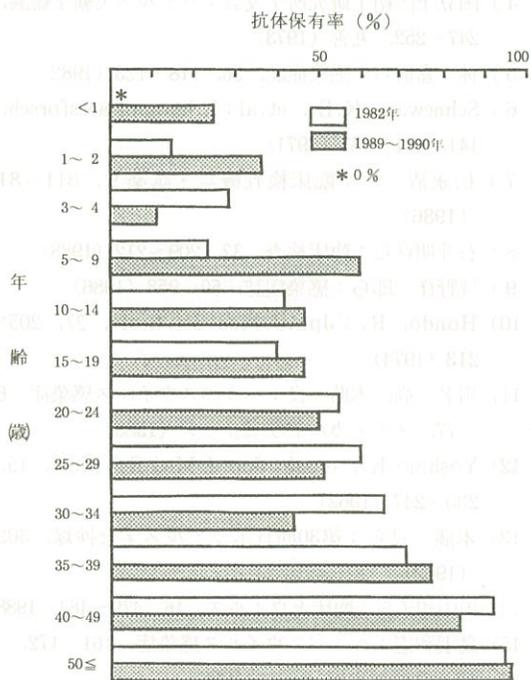


図3 1982年と1989～90年の年齢別HSV抗体保有率
1982年：中和抗体保有率 (≥ 1 : 5),
1989～90年：PHA抗体保有率 (≥ 1 : 100)

100倍 4名 2.3%、400倍 9名 5.3%、1,600倍 21名 12.3%、6,400倍 54名 31.8%、25,600倍 75名 44.1%、102,400倍以上 7名 4.1%で、抗体保有者の80%が6,400倍以上の抗体価を保有していた。

年齢別抗体価の分布を見ると、10歳代では1,600倍、6,400倍、25,600倍の抗体価を持つ者は同数であるが、20歳代には6,400倍をピークとする分布に変わり、30歳代では、6,400倍の抗体保有者より25,600倍の抗体価を持つ者が少し多く認められた。40歳以上の年齢層では、6,400倍の抗体価を持つ者が減少し、多くの者が25,600倍の抗体価を保有していた。9歳以下の年齢層では、30歳代に類似した抗体分布が認められた。このような加齢とともに高い抗体価を保有する傾向は年齢別平均抗体価を見ても明らかで、10歳代 5,249倍、20歳代 6,635倍、30歳代 8,962倍、40歳代 13,900倍、50歳代 19,650倍と年齢が高くなるにつれて平均抗体価の上昇が認められた。1～9歳では7,875倍と比較的高い平均抗体価であった。

考 察

HSV抗体測定には、従来からNT法、CF法が使用されてきた。NT法は特異性が高く、信頼性の高い方法であるが、操作が煩雑である。一方CF法は非特異的反応が存在し、しかも水痘ウイルスと共通抗原による交差反応が存在する。近年、高感度でNT法ともよく相関する⁵⁾ELISA法が利用されている。PHA法はSchneeweisら⁶⁾などにより報告されているが、HSV抗体測定法としてはあまり利用されなかった。最近、HSV感染細胞から防御抗原である糖蛋白gBを分離精製し、これをホルマリン固定ヒツジ血球に吸着させ、これを用いてPHA法を行う簡便なキットが開発された。

このPHA法のキットとELISA法との相関関係は、松永ら⁷⁾、石井ら⁸⁾が極めて良く一致することを報告している。しかしNT法との比較については、報告が少ない。このキットを開発した城野ら⁹⁾はPHA価が相関係数 $r = 0.94$ でNT価とよく一致すると報告している。今回の我々のPHA法とNT法と比較した成績でも $r = 0.84$ で、城野らの成績より少し相関係数が低下するもののPHA抗体価とNT抗体価は良好に相関し、かつ不一致例が認められなかった。

一方、PHA法とCF法との比較では、松永ら⁷⁾は $r = 0.89$ と良好の相関を認め、石井ら⁸⁾は $r = 0.75$ と報告しているが、我々の成績は石井らとほぼ同じ相関を示した。しかし一致率については、松永らは91%、石井らは95%と報告しているに対し、我々の成績では82%と少し低率であった。従来からCF法は感度が低く、CF抗体の持続期間が短いので、頻繁に再発を繰り返さない場合、NT

抗体は陽性であるが、CF抗体が消失している例が見られること、またこのような例は高齢層に多くみられることが報告¹⁰されている。今回、我々がPHA法とCF法の比較するために使用した血清のなかにはPHA法による抗体が陽性でもCF抗体が低下、あるいは消失しているものがあり、両法間の相関係数や一致率が低下したものと考えられる。

上述のように、PHA法がNT法と良好に相関し、かつ一致率も100%であるので、このことを利用して1982年の住民の中和抗体保有率⁹⁾と今回のPHA法による抗体保有率とを比較検討した。なお、これらの抗体測定に用いたHSV 1型の抗原には、2型抗体にも反応する共通抗原が存在するので、前回と今回の調査の抗体保有率は、1型と2型を合わせた抗体保有率である。しかし日本の場合、2型抗体保有者のほとんどがすでに1型抗体を有している現状¹¹⁾から、ここで得られた抗体保有率はほぼ1型の抗体保有率と考えてさしつかえないと思われる。

HSVの抗体の陽転が小児期より成人期に移行しはじめたのは1970年頃からである。東京都における都民の50%の人の陽転年齢層をみると、1960年¹²⁾は4～5歳であったが、69年¹⁰⁾は10～19歳、81年¹³⁾は20～29歳と高齢層に移動している。山梨県では82年の県民の抗体保有状況は81年の東京都の抗体保有状況と類似していた。

今回の調査結果で前回の結果に比べて大きく異なる点は、30～34歳年齢層の抗体保有率が44%と低率であったことである。これは、成人のヘルペス感染症が増加しつつあるにもかかわらず、82年当時22～26歳であった無抗体者の大部分がその後8年間にHSVの感染を受けること無く、30歳代になった可能性が考えられる。今回の調査では、20歳代の抗体保有率も少し低下しており、20歳から30歳前半の年齢層に1982年当時よりも多くのHSV無抗体者が存在しているものと考えられる。このことから、無抗体の女性から生まれた新生児が母体由来の防御抗体がないため、全身ヘルペス感染症で死亡する危険性、重篤な成人のヘルペス感染症が増加する危険性が以前にも増して高くなって来ているものと考えられる。

一方、82年に比べもう1つ大きく異なる点は、5～9歳児で抗体保有率が高率であることである。田中ら¹⁴⁾は大阪の調査で、6～7歳児までは年齢と共に保有率が上昇し、男43%、女53%で、7歳以後は一旦低下することを観察している。また、鳥羽ら¹⁵⁾の成績でも5～9歳で約40%、10歳以後の年齢層では保有率が一旦低下している。赤見らの報告¹⁶⁾では、小学児童のHSV抗体陽転時期が小学校3年までに集中している。これらの傾向は、小児期の中でこの年齢層がHSVの初感染を受ける機会が比較的多いことを示唆していると考えられる。しかし田中ら、鳥羽らの報告に比べ、我々の成績で、5～9歳の

抗体保有率が高率であったことは対象例の偏り、あるいは対象例数が少なかったことに起因する可能性もあり、この年齢層については再度検討したいと考えている。

PHA抗体価の分布については、抗体保有者の80%が6,400倍以上の高い抗体を保有し、加齢とともに高い抗体価を保有する傾向が見られた。これは82年の中和抗体の分布にも見られた傾向で、潜伏ウイルスの活性化や再発を繰り返すたびに抗体の応答が起り、高い抗体価を持続²⁾しているものと考えられる。

ま と め

受身血球凝集 (PHA) 法の単純ヘルペスウイルス (HSV) 抗体測定法キット「ファッセイ-HSV」は中和法と良く相関し、両法による陽性と陰性はすべて一致した。このキットを使用して山梨県住民のHSVに対する抗体を測定した結果、20歳代から30歳前半の年齢層では約半数がHSV抗体陰性者であった。

文 献

- 1) 吉野亀三郎：感染症誌，54，49～50（1980）
- 2) 吉野亀三郎：感染症，52～66，朝倉書店（1982）
- 3) 渡辺由香里ら：山梨衛公研報，27，4～6（1983）
- 4) 国立予防衛生研究所学友会：ウイルス実験学総論，247～252，丸善（1973）
- 5) 林 嘉信ら：感染症誌，56，118～123（1982）
- 6) Schneeweis, K. E., et. al : Z. Immunitaetsforsch., 141, 471～487（1971）
- 7) 松永清二ら：臨床検査機器・試薬 9，811～815（1986）
- 8) 石井明彦ら：臨床検査，32，209～212（1988）
- 9) 城野洋一郎ら：感染症誌，60，958（1986）
- 10) Hondo, R. : Jpn. J. Med. Sci. Biol., 27, 205～213（1974）
- 11) 川名 尚，本藤 良：ヘルペスウイルス感染症，65～77，メディカルトリビューン（1986）
- 12) Yoshino, K., et. al : Jpn. J. Med. Sci. Biol., 15, 235～247（1962）
- 13) 本藤 良ら：第30回日本ウイルス学会抄録，3028（1982）
- 14) 田中和子ら：臨床とウイルス，16，479～484（1988）
- 15) 鳥羽和憲：ヘルペスウイルス感染症，161～172，メディカルトリビューン（1986）
- 16) 赤見正行ら：群馬衛公研報，20，30～34（1988）