

豚病研究会会報 第7号

1985年8月1日発行 事務局 / 茨城県筑波郡谷田部町観音台3-1-1(〒305) 農林水産省家畜衛生試験場内 02975-6-7707

第28回研究集会記録

日時 昭和60年5月24日(金)午後1時から
場所 国分寺市立本多公民館
話題

1. ヒトのヘルペスウイルス感染症に関する研究の現状(45分)
東京大学医科学研究所 本藤 良
(司会 山岸 郭郎)
2. 豚の受精卵移植(45分)
農林水産省家畜衛生試験場 井上 忠恕
(司会 小笠 晃)
3. 茨城県における豚病の動向と問題点(45分)
茨城県農林水産部畜産課 菅原 茂美
(司会 柏崎 守)

ヒトのヘルペスウイルス感染症に関する研究の現状について

本藤 良

(東京大学医科学研究所病理学研究部)

はじめに

ヒトを自然宿主とする代表的なヘルペスウイルスに、単純ヘルペスウイルス1型(HSV-1)、2型(HSV-2)、水痘・帯状疱疹ウイルス(VZV)およびヒトサイトメガロウイルス(HCMV)がある。これらのウイルスは、初感染あるいは再感染のあと体内に潜伏感染を起し、種々要因により再活性化を繰り返し、人体と終生共存を営む特性を有する。この潜伏感染機構に関しては、いまだ不明な点が多く現在大きな基礎的研究テーマの一つとされている。特にHCMVでは潜伏部位すらも明らかにされていない。従って、本ウイルスの感染症に関し、臨床的な病像、臨床ウイルス学的解析および感染様式の解明に際しては、初感染や再感染のような外

的要因と潜伏感染成立後の再活性化による内的要因の2点を考慮し考察を加える必要があり解析が複雑である。

最近、本ウイルス性疾患に関する研究も従来の臨床ウイルス学的検索法に分子生物学的手法などを併用した解析が試みられるようになり大きく進展してきている。これら研究の現状と問題点について、手技面に重点をおいた臨床ウイルス学的立場から経験をもとに考察したい。

1. 感染症

HSVの感染経路は、飛沫および接触感染が主なものである。HSV-1型は主に口唇に病変を起し“口唇型”，2型は陰部感染の多いことから“陰部型”ともいわれている。以前は小児期における疾患とされていた。乳幼児期での初感染では、飛沫感染が主体をなし多くは歯肉口内炎などの軽症で経過するが、まれにカポジ型ヘルペス湿疹、髄膜炎などの重症例もみられる。不顕性感染も多く、再感染の繰り返しの後、ウイルスは感染領域の知覚神経節、顔面では三叉神経節に潜伏するに至る。潜伏ウイルスは、種々誘因により発病を繰り返す。いわゆる口唇ヘルペスや角結膜炎などの再発型の病像を呈する。しかしながら、この20年の間に初感染の受ける場が小児期から成人層に移行してきていることが本藤¹⁾による血清疫学的調査で明らかにされた。産婦人科領域では妊婦に初感染が多くなることにより胎児あるいは新生児におよぼす影響が問題とされている。事実、最近になって新生児ヘルペス感染症が増加してきていることが、当研究室での症例集積からも指摘される。²⁾新生児ヘルペス感染の多くはHSV-2型によるもので、これは陰部に2型感染が多いことに起因するものと考えられる。また、成人層での初感染はかならずしも軽症ではない。脳炎、肝炎、髄膜炎、全身感染など重症例あるいは医療従事者にみられるヘルペス性瘰癧など種々の病型を呈する。成人での感染経路は小児の場合と異なり接触感染が主体となると考えられる。最も濃厚な接触は、キスや性交などの性行為であり陰部ヘルペス感染症の増多が性病の一つとして社会問題となっている。

VZVは、ヘルペスウイルスの中でも感染症として、流行の形式をとる唯一のウイルスである。多くは、小児期において水痘として全身感染を起こす。成人での初感染（水痘）は小児に比べ重症であり、しばしば髄膜炎を併発することもある。特に幼児では白血病などの基礎疾患に伴い病院において水痘全身感染を起こすことがあり、いわゆる院内感染として問題とされている。初感染あるいは再感染の後、神経節に潜伏感染を起こすことは、HSVの場合と同様に考えられている。種々誘因により、その潜伏後根神経節の支配領域に末梢枝の走行にそって水疱を生ずる。いわゆる、带状疱疹である。このように、VZVは水痘（初感染）と带状疱疹（再発型）の2つの異なる病像を呈する。带状疱疹はHSVの場合と異なりひんぱんに再発を繰り返すことはない。ただ、基礎疾患に伴い医原性要因により再発をくりかえす場合がある。VZVは、感染系の実験動物がなく感染発病の機序は不明な点が多い。

HCMVは、巨細胞性封入体症の起因ウイルスである。唾液腺ウイルスともよばれ、新生児や乳児の唾液腺道管部上皮細胞が巨大化し、その巨細胞の核内に巨大な封入体を形成する。感染様式では、先天性の場合と後天性の場合の2つが主である。先天性では、経胎盤性感染による小頭症などの胎児奇形を起こす。また、流産の原因にもなり得ると考えられている。後天性では、出産時の産道感染がほとんどである。感染は高率で、正常新生児の60%に尿からウイルスが分離されてくる。HCMVも他のヘルペスウイルスと同様潜伏感染を起こすが、その潜伏部位あるいはその増殖と機構は不明である。現在HCMVで最も重要なことは、臓器移植、免疫不全あるいは腫瘍などの基礎疾患に伴い多彩な合併症（日和見感染）として発現することである。HSVやVZVの場合も同様であるが、これにHCMVが重複して発現することがひんぱんにみられる。

2. 血清疫学

本邦におけるHSVの感染状況を血清疫学的面から解析してみた。1型と2型を区別した中

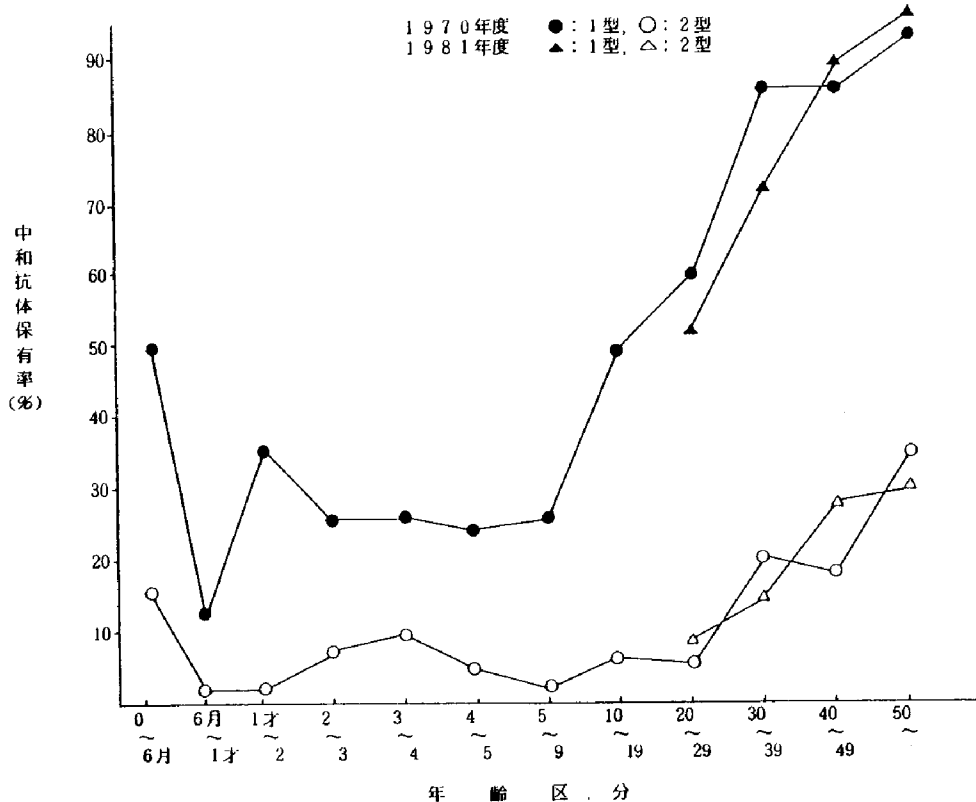


図1. HSV. 1型・2型の年齢別中和抗体保有状況

和試験の方法は本藤³⁾による1型吸収法で実施した。

図1は、1970年度、1981年度における一般人の血清1,304検体を対象にHSV-1型、2型の中和抗体の保有状況を年齢別に示したものである。1970年度での1型中和抗体の保有状況では、移行抗体と思われる抗体が生後6ヶ月未満で50%みられる。これが6~12ヶ月で消失し、この年齢層から感染が始まる。乳幼児期ではほぼ30%の保有率である。その上昇は10歳代から始まり、20歳代(60%)、30歳代(86%)と成人層において急上昇を示している。抗体の保有率の上昇に、小児期から成人層へと大きな転換がみられる。この事は、初感染あるいは再感染の“場”が以前は小児期が主であったのが10年前から成人層へと移行し幅が広がって来た事を意味する。それから10年後の現在、すなわち1981年度の成績では、20代(52%)、30代(72%)、40代(85%)、50代以上の年齢層で95%と、1970年度と同様に年齢層が高くなるにつれて保有率の上昇がみられる。総体的にみて、この10年の間に大きな変動はみられない。これは、感染様式におよぼすsocio-economicalな要因

の関与によると思われる大きな変動は1970年頃までに終りをづけ、以後の感染様式はある程度一定化し維持されているものと考えられる。しかしながら、感染の最もさかんな場と考えられる20、30歳代では、この10年間で抗体の保有率に有意な低下がみられ、無抗体者が増加の傾向にあることが示唆される。このような抗体保有状況下では、今後成人層でヘルペス感染症の増加があっても決して不思議ではないと考えられる。

2型中和抗体の保有状況では、生後6ヶ月未満で、移行抗体と考えられる抗体が17%検出される。それが、1型の場合と同様に6~12ヶ月で消失する。2歳から再び抗体は検出され、10歳以下の低年齢層で平均して5%の抗体保有率である。これは、低年齢層における2型感染の存在を示唆するものである。2型の感染形式は、一般に性交による接触感染が主体であると言われているが低年齢層における性交以外の感染形式も今後考慮する必要があるという点で重要なことと考える。

保有率の上昇は、再び20歳代以後からみられ、年齢が増すと共に上昇する。抗体価においても、

低い抗体価から年齢の上昇と共に、徐々に高い抗体価を保有するに至る。これは、この10年間で有意な変動としてはみとめられず、一般に言われる性交適齢期からの上昇パターンである。1981年度では、20代8%、30代15%、40代28%、50歳以上30%と、いずれも1型抗体に比べ低い保有率を示している。また、成人層において2型抗体陽性者のほとんどは1型抗体をも保有しており、2型単独の抗体保有者は、陽性110例中1例のみである。これは、1型に感染し抗体保有後に2型重感染の様式をとっているのではないかと考えられる。このため、一般に抗体価は低く、これが再感染あるいは回帰性のくり返しにより高い抗体価を保有するに至るものとする。

2型中和抗体では、年齢層の増加、また抗体保有率の上昇に伴い女性の方が男性よりも高い抗体保有率を示す傾向がみられる。つまり、感染の場合あるいは感染の成立が女性の方が高い傾向にあるということの意味するものと考えられる。従って、新生児ヘルペス感染症との関係からも、今後大きな問題点となるものとする。また、1型において無抗体者が増加の傾向をとっていることに伴い、今後2型感染症がますます多くなるのではないかと推測される。

3. 病理形態学

HSVは、自然界においてヒトのみを宿主としているが、ほとんどの実験動物で感染を起し、感染モデル実験が容易である。しかしながら、VZVおよびHCMVでは宿主特異性が高くヒトのみである。従って、感染モデル実験は不可能であり、症例の集積に依存せざるを得ない。近年、ホルマリン固定パラフィン包埋切片をトリプシンで処理することにより免疫蛍光法によるウイルス抗原の検出が実用化された。⁴⁾この方法は、感染モデル実験の困難なウイルスでは感染様式の解析上有効な手技となり得る。また、臨床ウイルス学的面においてもその利用範囲は大きい。

手技の手順は、①ホルマリン固定パラフィン切片を2~3 μ の厚さに作り水浴に浮かす。②スライドガラスに0.1%ネオプレン(2%ネオプレン・トルエン液、応研商事)を塗布し約2

時間乾燥後、水浴中で切片をそのスライドガラス上にのせ、55~57 $^{\circ}$ Cの温浴に移し十分に伸展する。③脱パラフィン(病理組織標本の一般手技に従い実施する)。④トリプシン処理は、脱パラフィン切片上に0.02%CaCl₂を含む0.25%トリプシン液を滴下し、37 $^{\circ}$ Cで2~3時間処理する。その後、PBSで15分間洗浄する。⑤その切片について、従来の方法で免疫蛍光間接法を実施すればよい。以上の方法で、HSV例では20年、VZV例では18年以前のパラフィン包埋材料からウイルス抗原の検出が可能であった。

図2は、新生児ヘルペス症例でパラフィン包埋保存14年5ヶ月の副腎の皮質部にみられたHSウイルス抗原である。抗原は局限しており病巣の境界は明瞭である。新生児全身感染症では、必発の標的臓器は肝と副腎のようである。また、肺、脾、腎もよく侵されている。この他にも、尿細管上皮、心臓、脳、食道などに抗原が検出され血行伝播による全身感染を示している。ヘルペス脳炎の基本的病像は側頭葉を中心とした出血壊死で、多くは両側性である。ウイルス抗原はほとんど全脳に分布してみられる。その分布は、グリアを中心としたもの、神経細胞を中心としたもの、またその両者の混合によるものに区別される。²⁾

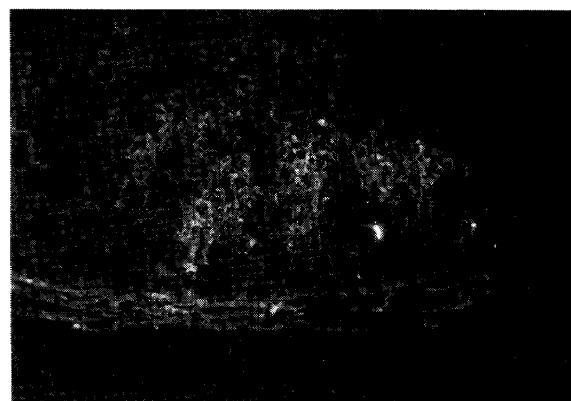


図2. 新生児ヘルペス感染症例。パラフィン包埋保存14年5ヶ月の副腎の皮質部にみられたHSウイルス抗原特異蛍光(免疫蛍光間接法)

図3は、肺癌患者に併発した带状疱疹の皮膚症例である。皮膚病巣水疱部の水疱内脱落上皮細胞と真皮内にVZウイルス特異抗原がみられる。皮膚での病変は表皮内に局限し、組織学的

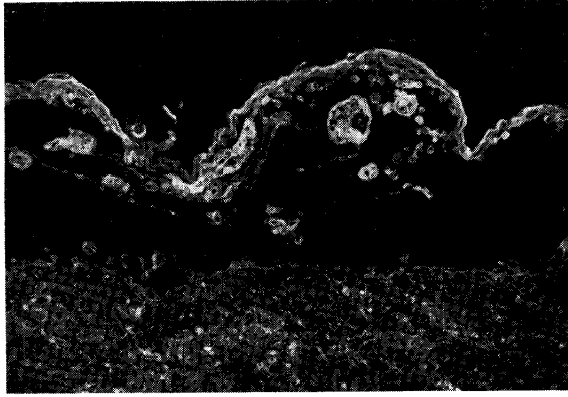


図3. VZV感染症例。带状疱疹の皮膚水疱部の水疱内脱落上皮細胞と真皮内にみられたVZウイルス抗原特異蛍光（パラフィン包埋材料，免疫蛍光間接法）

にはHSV感染の場合と区別が困難である。これら，病巣部支配領域に対応する脊髄後根神経節や三叉神経節にもウイルス抗原が検出される。水痘の全身感染の場合には，VZウイルス抗原はほぼ全臓器に検出される。皮膚粘膜部では主に上皮細胞，他の多くの臓器では結合織部に主に病変がみられる。

図4は，結核性髄膜炎にHCMVが併発した症例の直腸である。粘膜下毛細血管が腫大し，その内皮細胞にHCMウイルス抗原がみられる。重症疾患に併なってHCMVが発現する場合，その必発部位は肺である。その他にも各種臓器からウイルス抗原が検出されている。HCMVの先天性感染例では脳，肝，腎，肺，リンパ節，脾，副腎，脳下垂体，心臓などにウイルス抗原が認められた。また，20週で流産した胎盤にも，

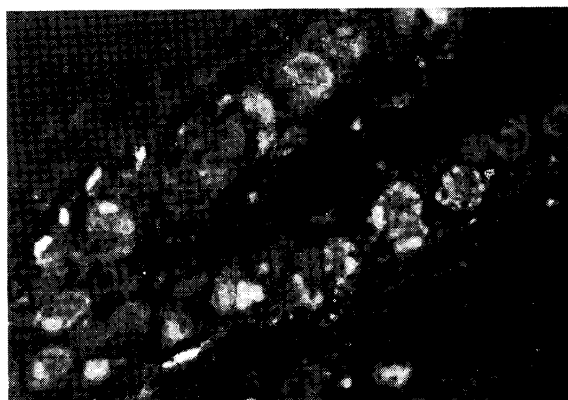


図4. HCMV感染症例。直腸の粘膜下毛細血管の腫大した内皮細胞にみられたHCMウイルス抗原（パラフィン包埋材料，免疫蛍光法）

病巣とウイルス抗原が検出されており，胎内感染とそれに伴う流産の原因との結びつき上重要な知見を得ている。

4. 分子疫学

HSV，VZVおよびHCMVの遺伝子は，いずれも線状二本鎖DNAである。HCMVが一番大きく，分子量約 158×10^6 dalton (240kbp)である。HSV・DNAは， 100×10^6 dalton (150kbp)で，VZV・DNAが 84×10^6 dalton (130kbp)である。これら，ウイルス遺伝子DNAに一定の塩基配列を認識して切断する制限酵素を作用させ，産生する切断片を電気泳動で分析すると，その泳動パターンはウイルス株特異的である。この分子生物学的手法を臨床ウイルス学的検索に応用することにより，従来の血清学的手法では区別できなかったウイルス株間の識別が可能である。現在，分離ウイルスの同定，型別，分類のみならず院内感染や流行の感染源の追求あるいは伝播様式の解析に利用されるようになり，分子疫学なる新しい分野が確立している。⁵⁾

HSVの感染様式の解析を試みた一例を図5に示した。4症例から分離した各ウイルス株DNAのBamHIによる切断パターンである。実験室株HF（HSV-1），UW₂₆₈（HSV-2）との比較から，いずれも1型であることが判定できる。また，株間では泳動パターンの5～8個の断片に差異がみられ，同じ1型でも明らかに異なっている。症例A（27才♀）はHSVの初感染で，陰部（A-1）と咽頭（A-2）から分離した株は全く同一であり，同一感染源であることが考えられる。後に，口唇ヘルペスをもつ夫からの接触感染が疑われた。症例B（5才♀）は，再発例で左角膜ヘルペス（B-1）で同時に鼻汁（B-2）からもウイルスが分離できた。両株は同一であり，角膜ヘルペスの場合鼻咽腔にもウイルスが分泌され，飛沫感染としての感染源になり得ることを示唆している。症例D（9才姉），E（8才妹）は家族内感染例である。いずれも口内炎を起こしたもので，妹の発症2週後に姉が発病した。両者分離株は泳動パターンが同一であり，飛沫あるいは

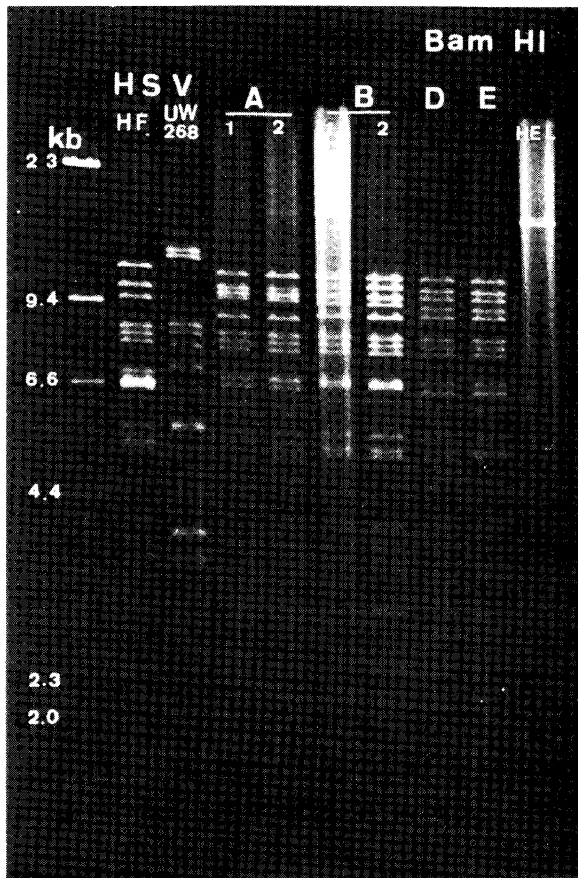


図5. HSV感染症例6株の制限酵素BamHIによる切断パターンの比較

食器類を介しての感染と考えられる。

VZVの分子疫学は、適切な酵素を用いることにより可能である。⁵⁾ 図6は、6症例の同一病巣水疱部(43, 57, 62)から複数で分離した株, 単一の分離株(H-S1, H-N3), および後根神経節(YG)とその支配領域の皮膚水疱部からの分離株(YS)を, 制限酵素Pst Iで切断したパターンである。症例間の差は非常に微小であるが, 特定の断片(C, D)のサイズの差による変動で区別される。このような変動がVZVの主な特徴である。まれに, 図6に示したH-S1とH-N3株の間にみられる二つの断片が切断点の消失により大きな断片に変わって表れる変化もPst Iの他にBam IIIで検出される。本法によるVZVの感染様式の解析を試みた。水痘由来の株と帯状疱疹由来の株間では特徴的な差はみられなかった。帯状疱疹の症例では, 同一後根神経節支配領域の病巣(水疱)から異なるウイルスが症例の約20%の割合で分離されてくる。これは, 同一病巣あるいは潜伏

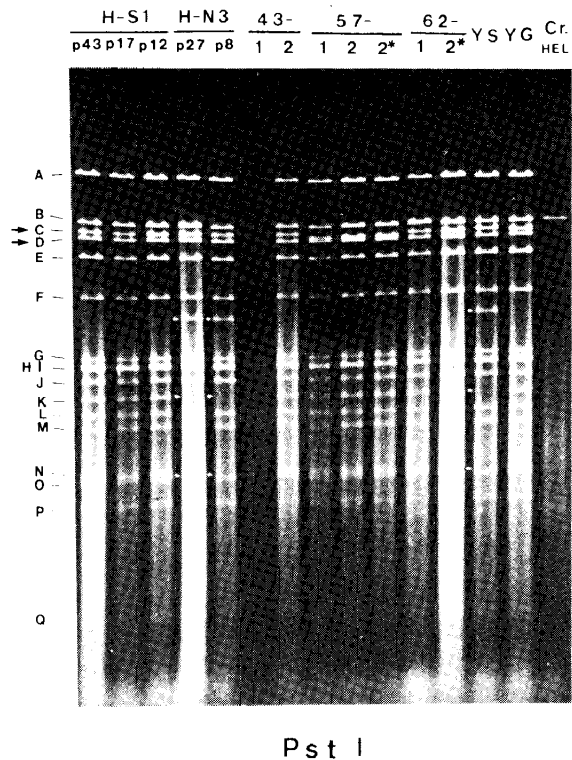


図6. VZV感染例6症例分離株の制限酵素Pst Iによる切断パターンの比較

部位に複数のウイルスが存在することを意味し, 混合感染や再感染(重複感染)あるいは生体内でのウイルスの変異などが起こり得ることを示唆するものである。

図7は, HCMV実験室株(AD₁₆₉), 腎移植患者の尿(KH)および同一剖検例で肺(OK-1), 腎(OK-2)の各株と, VZV3症例の4株をPst Iで切断したパターンである。異なる症例由来の株間には, 著しい泳動パターンの違いが認められる。この点, HCMVはVZVよりもHSVに近い。切断断片の差異はHSVと同様に, サイズの違いによるものと, 切断点の消失によるものとに区別される。図7の症例OKの肺, 腎由来の株(OK-1, OK-2)は互いに切断パターンが全く同じであることから, 同一ウイルスの感染によるものであることが理解される。このように, HCMVの場合, 株間の異同の判定は容易であると言える。しかし, 分離株の切断パターンが, 切断点地図の明らかな株AD₁₆₉のパターンとひどく異なっているので, 個々の変動断片と切断点地図上の位置との対応は不明なことが多い。本

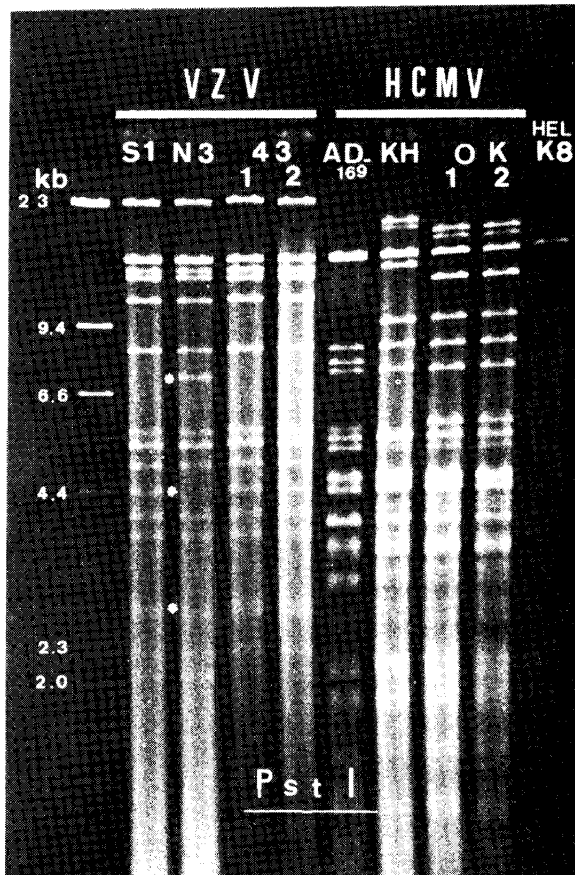


図7. HCMV症例とVZV分離株の制限酵素 Pst I による切断パターンの比較

法によるHCMVの感染様式の解析に関する報告は数多くある。同一患者から長期間にわたり経時的に分離したウイルスが互いに異なっていることから、HCMVにおいても再感染が起り得ることが指摘されている。また伝播形式の解析では、先天性サイトメガロ症が母親の持つ潜在ウイルスの再活性に伴い、垂直感染によって胎児へ感染して起り得ることも、本法により証明されている。本ウイルスの伝播形式で最近特に問題とされるのは、骨髄移植や血友病などの輸血に関係した経路である。このような、感染源の追求に関しては、本法は有効なものと考える。

おわりに

ヘルペスウイルスは、最も古くから研究されてきているにもかかわらずまだ不明な点が多く、しかも常に新たな問題を提起し続けているウイルスでもある。最近になり、生物物理化学的あるいは分子生物学的技術が大きく進歩して

きている。これにウイルス感染病理の進歩も加わり、その発病病理の解明に今後の発展が期待される。

おわりにあたり、この機会をあたえて下さった豚病研究会、藤崎優次郎会長はじめ幹事の諸先生方、座長をしていただいた山岸郭郎博士に感謝致します。

文 献

- 1) Hondo, R.: A seroepidemiological study of herpes simplex virus. *Japan. J. Med. Sci. Biol.*, **27**: 205-213, 1974.
- 2) 青山友三: ヘルペス群ウイルスによる感染症の病理学的研究. *日病会誌*; **70**: 3-22, 1981.
- 3) 本藤 良, 他: ヘルペスウイルス感染症の検査法. *産婦人科の世界*, **34**: 663-669, 1982.
- 4) Hondo, R., et al: Enzymatic treatment of formalin-fixed and paraffin-embedded specimens for detection of antigen of herpes simplex, varicella-zoster and human cytomegaloviruses. *Japan. J. Exp. Med.*, **52**: 17-25, 1982.
- 5) 本藤 良, 他: ヘルペスウイルスの分子疫学. *感染症*, **15**: 64-68, 1985.

豚の受精卵移植について

井 上 忠 恕

(農林水産省家畜衛生試験場)

豚の受精卵(胚)移植(以下ETと略す)についてKvansnickii (1951)が最初の成功例を発表している。しかし牛における実用化は1970年代に入り急速に進められたのに比べ、豚のETはあまり進められなかった。ところが最近豚のETに関する報告が見られるようになった。

豚は多胎で、妊娠期間は114日と短く、年2回以上の妊娠、分娩も可能であることから、1回の処置で一度に多数の産子を得るといった牛のようなETの利用価値には余り必要性は認められてこなかった。ところが種豚業界を中心に、この豚のETについて強い関心が寄せられるようになった。特に新しい血液導入を容易にし、豚の感染症を持ち込む危険性を防止できる可能