

症を主訴としないが何らかの症状が含まれていたことも否定できない。しかし既に「産婦人科に足を運ぶ」という行動から、「性感染症を調べたい」という動機のある者が集中した影響も考えられる。これらの協力医療機関はそれぞれの地区において若年者の性の問題に関わっており、若年者にとっては「気軽に受診できる医療機関」として信頼されていることや、医療機関へ受診経験のある者もあり、自己検査への抵抗感が低かったと思われる。また、学校が窓口の場合は大学生が多く、医療機関が窓口の場合は高校生が中心で、他の年齢層より高い10代の陽性率が反映された。

#### 若年者が実施している性感染症予防について

若者にとって「特定のパートナー」の意味は現在進行形のパートナーで、過去にさかのぼればパートナー数は複数であり、性感染症予防のメッセージとして、啓発冊子などでよく用いられる「セックスパートナーは特定の1人にしましょう」は、リスクを避けるための有効な表現ではないと思われる。「コンドームの使用」が性感染症予防として積極的に選ばれていなかったことについて、「最初は妊娠も性感染症も大丈夫だったから次も大丈夫」「1回限りの相手であれば大丈夫」という根拠のない思い込みが、コンドームの使用を妨げていると推測する。13～19歳までを対象とした調査<sup>9)</sup>では、本人あるいはパートナーがHIV感染していることが明らかであればコンドーム使用が増えるが、感染の有無を知らない場合には有意に使用が少ないことが示されている。性感染症について自覚がなく、無症状であれば予防行動をとらずに性交渉を続けてしまうことが考えられる。コンドームの性感染症予防効果は、男性の淋菌性尿道炎について腔性交で10分の1、フェラチオで約6分の1に減少するが、1990年頃からむしろコンドームなしのフェラチオは増加傾向であることが指摘されている<sup>9)</sup>。今回のアンケートでは、オーラルセックスでのコンドーム使用は女性の5%に留まり、男性では誰もこの予防方法を選択していなかった。口腔を介した性器クラミジア感染症や淋菌感染症の発生状況は、指定医療機関からの定点報告による現在の発生動向調査からは把握が全くできないが、性感染症拡大には、注意すべき感染経路であるため、実情を知る必要がある。

#### 相談相手や検査・治療への希望

性のトラブルとして性感染症は、家族内の近親者へも秘密にしておきたい気持ちであり性感染症予防を進めるにあたってはデリケートな部分が多いことを考慮して対策をとる必要がある。医療関係者や教師に対する期待は、その相手から得られる情報内容やその信頼性によっても高まる可能性があり、信頼できる教師や熱心な養護教諭がいれば、相談希望が多くなると考えられる。「携帯メール・インターネットでの相談」は、日常的に携帯メールやインターネットを利用してその利便性に慣れている場合、特に高校生などには期待されている。IT利用経験の無い対象で要望が少ない場合は、携帯電話やコンピューター等のツールを使える環境にないのか、使ったことがないための不安が等、その解釈には留意が必要だが、携帯電話やインターネットの使い方については、高校生の2割が出会い系サイトを利用したことがあり、その半数が実際にそのサイトで知り合った人と会っている報告もあるため<sup>10)</sup>、リスクの高い性行動が促進されないよう指導や自主規制が必要である。

検査や治療への要望では、「プライバシー保護」が最も多く、専門家である医療者へは、診察、治療の場において丁寧な対応が求められている。また、スクリーニング検査を学校など教育機関で行う場合は、教師、生徒ともに医療機関よりプライバシー保護には十分に配慮する必要があると思われるが、信頼が得られれば学校での検査を希望する者も増え、条件によっては常時、保健室や健康管理センターなどで希望者が検査を受けられるような体制づくりも可能であろう。若年者は「気軽に受診できる医療機関」について、検査から治療や相談について信頼できる医療機関を切望している。受診にいたる経過や性行動について、「お説教をしない」「非難しない」ことを求めており、女性にとっては「医師が同性である」ことも条件である。また、検査や治療の内容や費用が明確であり、予想ができることで安心感が得られる。女性は、避妊、性感染症、妊娠、出産についての情報源を求める傾向があり<sup>11)</sup>、将来、自分が経験する可能性や男性と比べてリスク回避の意味でも具体的な情報を必要としている。

#### 保健所の課題

保健所での検査希望はどの地区においても少なかつた

が、全国の保健所で無料、匿名で HIV 抗体検査が受けられることを知らなかったり、知っていても学生や若年者が利用しやすい時間帯の設定ではなかったり、性感染症検査を実施している保健所が少なかったり、行政のサービスガニーズに合っていないことは現実である。HIV 抗体検査受診者は受診する保健所を選択していることから、地域によって保健所の対応の差が認められており<sup>12)</sup>、保健所の HIV 抗体検査を他の性感染症予防対策にも有効な機会にするためには、検査日時や方法に課題があり、予算や体制面からの見直しも必要である。

#### 「自分の問題」として医療機関へ足を運ぶために

若年者にとって、性感染症が「気になる程度の他人事」ではなく「自分に関係する問題」として認識され、コンドームを「正しく」使えなければ、確実な性感染症予防は行えない。また、感染がわかり治療が自分に必要となったときに、適切な医療につながり、再発防止やパートナーへの感染が防げなければ、同世代へ感染の輪が広がる。今回のアンケートは、参加者にとって自らの性行動をふりかえり、性感染症予防について考える動機づけになったのではないかと考えられる。医療を必要とする者への対応には、受け皿としての医療機関（婦人科・泌尿器科）が、受診する若年者やそのパートナーを否定せず、説教や叱咤が治療に先行するのではなく、信頼関係の上で、適切な医療的処置と再発および二次感染防止の具体策を示すべきである。また、「保険証を使いにくい」ため受診を控えると「治療は最大の予防」という感染症対策の基本が遂行できない。治療が必要な場合には、公費負担を可能とする制度を切望する。性感染症の蔓延を防止するには、若年者が受診する壁を低くする条件整備が必要であり、そのために医療従事者が果たす役割は大きい。

#### まとめと提言

14~25歳の無症候性器クラミジア病原体保有状況（PCR 陽性率）は女性で 11%、男性 9%であった。ただし、医療機関を窓口とした調査から、より若い年齢層では PCR 陽性率が高く、性感染症リスクも高いことが示唆された。以下、蔓延防止の具体的な対策について提言する。

1. 感染リスクを軽減する効果的な予防教育をすること（自己の感染リスクの認識と行動変容を目的とする）。

2. スクリーニング検査として、自己採取による病原体検査（PCR 等）を導入すること。

3. 公衆衛生活動による予防や早期発見から医療への連携を具体的にを行うこと（適切な相談窓口の開設と医療機関の確保）。

そして、これらの対策には公的な予算が確保され、行政がわが国の性感染症をコントロールする役割を持つべきことを改めて強調する。本調査の成果を生かし、今後、リスクアセスメントの方法、スクリーニングの対象者の選定、医療を必要とする者への対応モデルを示し、学校等教育機関や保健・医療の連携を図り、地域における若年者の性感染症予防対策を推進する必要がある。

#### 付記

本研究は平成 15~17 年度厚生労働科学補助金（新興・再興感染症研究事業）「性感染症の効果的な蔓延防止に関する研究」を受け実施した。日本性感染症学会第 18 回学術大会（北九州 2005 年 12 月 4 日）で一部発表したものを加筆修正した。主任研究者：小野寺昭一 研究協力者：家坂清子（いささか産婦人科医院）上村茂仁（ウイメンズクリニックかみむら）早乙女智子（ふれあい横浜クリニック）鋸陽子（結核予防会結核研究所国際部）中瀬克己（岡山市保健所）野々山未希子（筑波大学看護科学系）による共同研究である。

#### 文献

- 1) 病原微生物検出情報 (IASR) : 国立感染症研究所, 2004 ; 25 (8.294) : 1-2.
- 2) 熊本悦明ほか : 日本における性感染症の流行—若い女性を中心としたクラミジア感染症大流行の実態—, 総合臨床, 2001 ; 50(10) : 2676-2685.
- 3) 性感染症に関する特定感染症予防指針 : 厚生労働省告示第 15 号, 管報代 2800 号, 平成 12 年 2 月 2 日
- 4) 後天性免疫不全症候群に関する特定感染症予防指針 : 厚生労働省告示第 217 号, 管報号外第 193 号, 平成 11 年 10 月 4 日
- 5) 木原正博ほか : ネットワーク化する若者の性行動と HIV/STD 感染リスク, 保健婦雑誌, 2001 ; 57 : 490-493.
- 6) 齋藤益子ほか : 陰分泌液自己採取法による *Chlamydia*

- trachomatis* のスクリーニングと性行動との関連性—看護学生を対象として, 日性感染症会誌, 2002; 13(1): 96-103.
- 7) 佐々木優佳子ほか: 膣分泌物自己採取検体による *Chlamydia trachomatis* および *Neisseria gonorrhoeae* 検索の臨床的検討, 日性感染症会誌, 2003; 14(1): 85-89.
- 8) Sturdevant, MS, et al.: The relationship of unsafe sexual behavior and the characteristics of sexual partners of HIV infected and HIV uninfected adolescent females. J. Adolescent. Health, 2001; 29S: 64-71.
- 9) 大里和久ほか: コンドームの STD 感染予防効果, 日性感染症会誌, 2000; 11(1): 115-120.
- 10) 「青少年の性意識と性行動に関する調査研究報告書」: 兵庫県, 財兵庫県ヒューマンケア研究機構家庭問題研究所, 平成 14 年度
- 11) 飯 陽子: 福岡県の定時制高校 5 校における性行動・性意識調査, 日性感染症会誌, 2003; 14(1): 42-51.
- 12) 渡辺晃紀ほか: HIV 抗体検査受診者の特性についての保健所間差, 厚生学の指標, 2005; 52(4): 12-16.

性感染症に関する「特定感染症予防指針」に基づく取り組み状況の検討  
—全国の自治体、保健所を対象としたアンケート調査—

白井千香、中瀬克己、小野寺昭一

# 性感染症に関する「特定感染症予防指針」に基づく 取り組み状況の検討—全国の自治体、保健所を対象 としたアンケート調査—

Evaluation of preventive actions at local government agencies according to National Prevention Guidelines for STD (sexually transmitted diseases) and AIDS

—Questionnaires were sent to all local governments and public health centers in Japan—

白井千香<sup>1)</sup> 中瀬克己<sup>2)</sup> 小野寺昭一<sup>3)</sup>  
Chika SHIRAI Katsumi NAKASE Shoichi ONODERA

性感染症に関する特定感染症予防指針策定5年後の見直しに際し、対策の評価を試みるため全国の自治体127及び保健所576、地方衛生研究所75にアンケートを行い、各々109、354、46の回答を得た。HIV感染症は都市部に集中し63%の保健所は年間報告0であった。保健所での発生動向調査の分析は15%、届出指定医療機関(定点)の選定がよいとしたのは25%と低かった。保健所の検査はHIV 99%、梅毒/HSV/HCV 70%、性器クラミジア 45%、淋菌は6%で行われていた。啓発用コンドームは70%の保健所で配布されていたが、健康教育後に回収する場合もあった。性感染症予防計画のある自治体は少なく、保健所の予算、人材、組織には限界がある。国への要望は発生動向調査の強化や予算確保、厚労省と文科省の統一指針、マスメディアの活用等が挙げられていた。今回の調査より、国及び自治体のイニシアチブを示した新たな予防指針が必要であると思われた。

Prevention Guidelines for STD and AIDS of Japan were published in 2000, 5 years ago, and will be renewed. To evaluate current preventive actions at the local level, the questionnaires were sent to local governments, public health centers (PHCs), and local institutes of public health. Replies were mailed back from 109 out of 127 local governments, 354 out of 576 PHCs, and 46 out of 75 local institutes of public health, respectively.

Human immunodeficiency virus (HIV) reports were concentrated in the urban areas, and 63% of the PHCs had no report in the previous year. Only 15% of the PHCs analyzed the STD report, and 25% of the PHCs recognized that the selection of STD reported medical facilities were appropriate. Voluntary counseling and testing services were offered by PHCs as follows: 99% for HIV, 70% for syphilis/HSV/HCV, 45% for genital chlamydia, and 6% for gonorrhea. Seventy percent of the PHCs supplied condoms at STD education lectures, but some took them back after the lectures.

Only a few local governments made an STD prevention plan. Many PHCs are worried about preventive measures based on their current local conditions due to limited budget, human resources, and organization at their PHCs. Therefore, they strongly recommended the following to the national government: improvement of the national analysis of STD surveillance, a secure budget, a unified STD and HIV education guidance between the Ministry of Health and the Ministry of Education, and collaboration with mass media, etc. We recommend

1) 神戸市兵庫区保健福祉部: Hyougo-ku Health and Welfare department of Kobe City

2) 岡山市保健所: Okayaka Public health center

3) 東京慈恵会医科大学感染制御部: Division of Infection Control, Jikei University School of Medicine

平成18年3月14日受付、平成18年3月30日掲載決定

(〒652-8570) 兵庫県神戸市兵庫区荒田町1-21-1 神戸市兵庫区保健福祉部 白井千香

that the initiatives of central and local governments be clearer in the new national Prevention guidelines for STD and AIDS.

**Key words :** National Prevention Guidelines for STD and AIDS, Local government, Public health centers, STD surveillance

## 緒言

近年のわが国における性器クラミジア感染症や後天性免疫不全症候群の発生状況は、他の先進国に類を見ず、増加傾向が危惧されている<sup>1)2)</sup>。1999年に現行の感染症法(感染症の予防及び感染症の患者の医療に関する法律)の施行に伴い、発生動向調査の改正と性感染症及び後天性免疫不全症候群に関する「特定感染症予防指針」がそれぞれ定められた。両指針はこれらの感染症に対する国の対応の基本をまとめたものであり、性感染症に関する特定感染症予防指針の前文には「性的接触によって誰もが感染する可能性がある感染症であり、生殖年齢にある男女を中心とした大きな健康問題の一つである」と明記され、限られた対象の疾患ではなく、国民一人一人の注意が必要なが示されている。この指針には国及び都道府県等の役割とともに日本性感染症学会にも学問的基盤づくりなど大きな期待を寄せられている<sup>3)</sup>。策定から5年を経過した今、自治体で行われているそれぞれの対策が現行の予防指針に沿っているものであるか、自治体の現状や対策の現場の問題点を把握し、予防対策の成果と現状を踏まえた評価を試みた。本研究では、後天性免疫不全症候群を含めた性感染症対策について、課題を明らかにすると共に、各自治体における予防対策がより効果的に行われるよう提言し、両予防指針を再検討するための基礎資料とする。

## 対象と方法

全国の127自治体(都道府県及び指定都市・中核市・保健所政令市・東京都23区)及び全保健所(2003年度末576カ所)、地方感染症情報センターを含む全地方衛生研究所75を対象にした。性感染症及び後天性免疫不全症候群に関する「特定感染症予防指針」に挙げられている内容に基づき、質問項目を記載した自記式アンケート用紙を2004年8月にそれぞれの所属の感染症対策部署の担当者へ郵送し、記入後の回答を依頼した。質問

項目は、現行の予防指針に沿って、両指針に共通する内容の項目に準じて以下のとおりとした。1. 原因の究明 2. 発生の予防および蔓延の防止 3. 医療の提供 4. 関係機関との連携強化 5. 研究開発の推進 6. 人権の尊重 7. 保健所の機能強化。

回収されたアンケートを集計後、項目ごとに現在の施策の評価を行い、それらの分析から新予防指針への提言を行った。なお、全国の自治体へのアンケート実施にあたり、予め質問項目の様式や回答方法を検討するため、全国保健所長会会長に諮り、協力可能な7カ所の保健所を選び予備調査を行った。

## 成績

アンケートの回答数(配布数)と有効回答率については、次のとおりである。

回答数:自治体109(127)、保健所354(576)、地方衛生研究所46(75)有効回答率:都道府県本庁87%、保健所61%、指定都市本庁100%、保健所58%、中核市及び政令市(本庁及び保健所含む)89%、東京都特別区(本庁及び保健所含む)70%、地方衛生研究所48%。なお、本庁とは自治体の予算、企画に関する事務局部門である。

アンケートの集計結果について、1. 原因の究明 2. 発生の予防および蔓延の防止 3. 医療の提供 4. 関係機関との連携強化 5. 研究開発の推進 6. 人権の尊重 7. 保健所の機能強化に分けて順次、述べる。

### 1. 原因の究明について

発生動向調査からの発生状況の把握とその活用、情報提供の現状を調べた。

#### 1) 発生状況の把握

全数報告の対象である後天性免疫不全症候群(HIV感染症)について、保健所の年間報告受理数は224カ所(63%)が0件、都道府県・中核市等自治体単位では42自治体(53%)が1~5件、21件を超える自治体は6都

道府県、3 指定都市、4 特別区(東京都)と、都市部に集中していた。発生届を受けた保健所自らが、発生動向調査の統計処理・分析をしているのは、全数報告(HIV 感染症・梅毒)について 51カ所、定点報告(性器クラミジア感染症、淋菌感染症、性器ヘルペス、尖圭コンジローマ)について 59カ所といずれも 15%程度であった。保健所の約 60%は、発生動向調査の統計を地方感染症情報センター(及び地方衛生研究所)で、約 35%が本庁(感染症担当所管部署)で行うと回答していた。保健所での分析内容は、性別、年齢階級別が主で、経時的变化は都道府県で 50%を超えていたが、個別施策層の分析は HIV 感染症についてのみ都道府県・指定都市で 30%程度であった。

地方感染症情報センターを設置している地方衛生研究所では、性感染症は 41カ所(89%)で分析していたが、HIV 感染症は 32カ所(69%)に留まり、HIV 感染症については業務外という回答が多かった。

届出指定医療機関(性感染症定点)の選定について、設置基準等に配慮したのは 36 自治体(33%)であったが、「定点のバランスは良い」と回答したのは、31 自治体(28%)、90 保健所(25%)に留まり、「いいえ」「わ

からない」が過半数であった(Fig. 1)。地方感染症情報センターでは「良い」の回答は 5カ所(14%)であった。

## 2) 発生動向調査以外の調査

独自調査をしていたのは 6 自治体(都道府県 5、中核市 1)であった。独自調査の内容は、地域の医療機関対象の年間または期間を限った性感染症の全数調査や性感染症検査の受検者の属性や意識調査等であった。

## 3) 発生動向調査の結果の活用と情報公開

HIV 感染症及び性感染症について、サーベイランス情報を施策へ活用している自治体は約 70%で、中核市・政令市・保健所では 90%が市民への情報提供に活用していた。情報提供の方法は健康教育が主で、広報誌や自治体 HP への掲載は 30~40%であった。HIV 感染症の方が性感染症より情報提供の機会が多かった(Table 1)。

## 2. 発生の予防および蔓延の防止について

### 1) 普及啓発の方法

- (1) 学校への講師派遣は、102 自治体(94%)、303 保健所(86%)で実施していた。
- (2) 教師や指導者等への研修は、65 自治体(60%)、151 保健所(43%)で実施していた。
- (3) ピアエデュケーションの育成は、34 自治体(32%)、65 保健所(18%)であった。
- (4) 女性・妊婦向けの情報提供は、26 自治体(24%)、47 保健所(13%)であった。
- (5) 個別施策層向けの情報提供は、30 自治体(28%)、23 保健所(7%)であった。
- (6) 外国人向け情報提供は、39 自治体(36%)、47 保健所(13%)であった。

なお、(5)(6)については、大都市である指定都市の 5~6 割が実施していた。

- (7) 予防方法としてのコンドーム使用の推奨について、コンドームの適正な使用を勧めるため、258カ所(73%)の保健所で啓発用コンドームを配布しており、

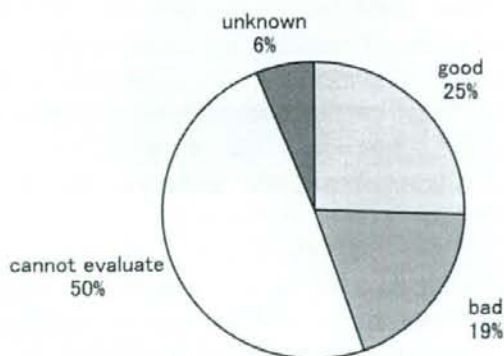


Fig. 1 Do your area good selection of medical facilities STD reported for trend surveillance?

Table 1 Information ways of HIV and STD trend surveillance from PHCs (public health centers)

	Leaflet or booklet		Common paper		Homepage of local government		Health education		Any committee		other		Total
	number	%	number	%	number	%	number	%	number	%	number	%	
HIV	75	23.7	105	33.2	141	44.6	256	81.0	115	36.4	57	18.0	316(100%)
STD	63	19.9	75	23.7	118	37.3	232	73.4	102	32.3	64	20.3	

Table 2 Sort of voluntary screening tests of STD on PHCs (public health centers)

HIV		Syphilis		Genital chlamydia		Gonorrhoea		HBV/HCV		other		Total	
number	%	number	%	number	%	number	%	number	%	number	%	number	%
349	98.6	239	67.5	160	45.2	22	6.2	264	74.6	6	1.7	354	100

その主な機会は啓発イベントや学校の性教育、検査相談日であった。学校や保護者への影響を考慮して、コンドームを見せてから、健康教育のあとに回収するという場合もあった。

## 2) 検査の推奨と検査機会の提供

(1) 保健所で実施している検査項目は、HIV 抗体検査 349カ所 (99%)、何らかの性感染症の検査は 326カ所 (92%) でその内容は、ウイルス性肝炎 264カ所 (75%)、梅毒 239カ所 (68%)、性器クラミジア感染症 106カ所 (45%) で実施、病原体検査が必要な淋菌感染症は 22カ所 (6%) で実施していた (Table 2)。

## (2) 保健所での検査日時と検査方法

HIV 抗体検査の実施は、平日昼間のみ 339カ所 (97%)、夜間 66カ所 (19%)、土日祝日 7カ所 (2%)、特定日やイベント時は 62カ所 (18%) であった。方法は抗体検査 315カ所 (90%)、迅速検査 42カ所 (12%)、検体郵送受付 3カ所、NAT (ウイルス核酸増幅検査) は 4カ所で実施していた。

性感染症検査の実施は、平日昼間のみ 237カ所 (73%)、夜間 45カ所 (14%)、土日祝日 6カ所 (2%)、特定日やイベント時は 36カ所 (11%) であった。方法は血中抗体検査が 309 保健所 (95%) と多く、HIV 抗体検査と検体を共有していた。従来方法以外では、迅速検査 9カ所、検体郵送受付 2カ所、PCR 検査は 5カ所で実施していた。

(3) 保健所以外での検査は、19 自治体で実施しており、その全ては HIV 抗体検査で、性感染症検査は部分的であった。8 指定都市では、日時は夜間または土日祝日に繁華街で検査場所を設けていた。

## 3) 保健所の相談体制

性感染症や HIV の相談の充実のため、職員への研修実施は 274 保健所 (77%) で、研修を受けた職員を性感染症・HIV 対策担当へ配置しているのは 241 保健所 (68%)、担当職員の専任は 144 保健所 (41%) で、専任の職員の内訳は保健師 92%、医師 47%、カウンセラー等心理職は 2% であった。

相談に関しては「県エイズカウンセラー派遣制度」が 127 保健所 (36%)、他に精神保健センターや臨床心理士会の援助などの記載があり、「利用できる援助がない」と答えたのは 83 保健所 (23%) であった。検査前後の相談については、207 保健所 (59%) で個別カウンセリングやプライバシーを保たれる相談室の確保など体制の充実をしていた。

## 3. 医療の提供について

### 1) HIV 検査陽性者の紹介について

124 保健所 (36%) がエイズ診療拠点病院へ紹介していた。「経験なし」は 226 保健所 (65%) で、昨年 1 年間の報告数が 0 である保健所が 224カ所 (63%) であることとほぼ合致していた。

### 2) 診断・治療の指針の普及について

15 都道府県と 2 指定都市で診断・治療について性感染症学会、エイズ学会作成によるガイドラインなどを普及していた。ただし、両方とも自治体から医療機関へ配布しているのは 4 自治体であった。

### 4. 関係機関との連携の強化等について

1) 性感染症と HIV 感染症についての予防対策は、自治体の所管課・係がほぼ同じであるため 95 自治体 (87%)、292 保健所 (83%) で連携していた。連携の内容は、健康教育で同時に啓発 228 保健所 (78%)、検査で同時実施 214 保健所 (73%)、イベントで協力 132 保健所 (45%)、施策立案で連携 66 保健所 (22%) であった。

2) 性感染症及び HIV 感染症について、地域のネットワーク体制があるのは、47 自治体 (44%)、99 保健所 (28%) で、主に行政内部、医療機関、学校、NGO 等から構成される連絡会議を実施していた。

3) NGO との連携について、67 自治体 (62%)、96 保健所単位 (27%) が主に健康教育やイベントの際に協力していた。

4) 保健所におけるエイズ医療の推進の具体策について

①患者・家族向け医療情報、②患者・家族向け心のケ



ア、③外国人への医療提供、④個別施策層への医療提供、について、具体的な関わりをしている保健所は、① 23カ所、② 18カ所、③ 7カ所、④ 9カ所、と少なく、318 保健所(90%)は①～④いずれの項目にも関わっていない。

## 5. 研究開発の推進

調査研究には、17 自治体(16%)、43 保健所(12%)、13 地方衛生研究所(36%)が関わっており、その半数は厚生労働省科学研究費に関わる事業であった。

## 6. 人権の尊重

プライバシー保護のための相談窓口は、216 保健所(61%)で設置され、195 保健所(55%)が人権学習など差別偏見防止に取り組んでいた。

## 7. 性感染症及びエイズ対策に関連した保健所の機能強化について

### 1) 国への要望

発生動向調査の強化、予算の確保、厚生労働省と文部科学省との国レベルでの「統一した」指針、学校教育で性教育の強化、マスメディアへの働きかけ、などが挙げられた。

### 2) 保健所の機能強化について、

- (1) エイズ・性感染症対策における機能強化について、3 都道府県 15 中核市及び政令市、6 特別区で具体的な計画があると回答しているが、指定都市では皆無で、機能強化の方針を設定しているのは 67 保健所(19%)であった。
- (2) 保健所での具体的な計画や数値目標は 109カ所(31%)で設定していた。
- (3) 組織統合の影響については、6 都道府県(15%)、6 中核市及び政令市(15%)、3 指定都市(23%)、87 保健所(25%)が「影響あり」としていた。
- 3) 健康日本 21 や子育てプラン等へのエイズ・性感染症対策について、149 保健所(42%)が「明記されている」、と回答していた。
- 4) 担当職員は 80%以上の保健所で他の感染症対策の担当を兼ね、エイズ・性感染症対策の担当部署が独立しているのは 5%であった。
- 5) 都道府県の感染症予防計画について
  - (1) 「参考になる」と答えたのは 22 都道府県(54%)、

20 中核市及び政令市(51%)、148 保健所(41%)であった。76 保健所(22%)は「見ていない」、8 指定都市(62%)は都道府県の予防計画は「参考にならない」と回答していた。

(2) 予防計画での数値目標については、4 自治体(4%)、22 保健所(6%)で設定していたが、「数値目標はない」「見ていない」が大多数であった。

### 6) 評価・将来性・課題など

これらについては、自由記載を求めたところ、多くの意見が寄せられた。

「性感染症や HIV 感染症は若年者で増加といわれながら、保健所など対策の現場では啓発も含めて具体的に重点的な対応にいたっていない。」「予防活動の強化、充実を求められるが、予算や人材の確保がない。」「また、保健所単位では届出が無いところもあり、「性感染症定点からの届出数だけでは、地域の発生動向の特徴をつかむことが難しい。」「学校や教育委員会と保健所の方針があわないので予防啓発しにくい。」「受診者の立場を考えると、性感染症やエイズのことで「地元の保健所に行きにくい」「いつでも受けられる検査体制になっていない」など、取り組みの困難さが挙げられた。以上、国への要望と重なるところも多いが、所属する自治体や保健所内部での課題も挙げられた。

## 考 察

### 1. 原因の究明(発生動向調査)について

HIV 感染症については、全数報告にも関わらず、60%を超える保健所で全く届出がないことは、届出元の医療機関(多くはエイズ治療拠点病院)のある保健所管内に報告が集中していることや、都市部を除けば、保健所の HIV 抗体検査では陽性率が低いことが考えられる。受診者としても地元をあえて避け、隣接する都市部の医療機関や居住地以外の保健所を利用する傾向があると思われる。

梅毒を除き、法に基づく性感染症(4 疾患)の発生動向調査は、届出指定医療機関(定点)からの報告のみであり、年次推移は得られても、その医療機関の受診者数や性比、標榜科などが公表されていないため、定点の数や標榜科について均質性や地域の代表性が確保されているとはいえず、地域特性を知ることは困難である<sup>9)</sup>。定点と

なる医療機関の選定に関して「わからない」としているのは、管内に定点が全くない保健所も多く、経由事務もないため、判断できないことも考えられる。

発生動向調査の結果を利用した情報提供は、国立感染症研究所からの全国情報が主であり、地域の特徴を示す資料は少ないため、受け手にとって身近な地域の情報としては利用しにくく、「自分の問題として考える」ための予防啓発の説得力に欠ける。

地方感染症情報センターは、都道府県本庁の感染症担当部署か地方衛生研究所のいずれかに設置されているが、保健所に届けられた性感染症の情報を地方感染症情報センターが総合して統計処理し、情報を還元することによって、保健所はその分析結果を加工し啓発資料などに利用できるのではないかと。今後、地方感染症情報センターと保健所など対策の現場との連携を可能とするため、感染症対策に責任を持つ公的機関として共通点を見出すことから始め、国立感染症研究所や地方感染症情報センターどうしの連携も含め情報センター機能の拡充を望む。

## 2. 発生の予防および蔓延の防止

### 1) 検査について

性感染症の早期発見は HIV 感染症の予防にもつながるため<sup>9)</sup>、保健所の 99%で行われている HIV 抗体検査と同様に、性器クラミジアや淋菌の検査も提供すべきである。また、性器クラミジア感染症については、抗体検査による過去の感染ではなく、新たな感染としての発生動向を把握するため、また無症状の段階で早期発見をするため、病原体検査による自己スクリーニング検査の導入も検討課題であろう<sup>9)</sup>。

### 2) 啓発について

学校へ講師派遣をしている保健所は多かつたが、一校に対して年に 1 回程度に過ぎない。単発の健康教育に留まらず、学校へは啓発資料や方法論の紹介などを継続して支援するよう、教職員、指導者への研修や若者どうしによるピアエデュケーション育成をすべきであり<sup>9)</sup>、地域での子育てや思春期の健康問題への支援の一環として、性感染症予防を推進する視点が必要である。

コンドームの普及啓発のための配布には保健所では「感染防止」の意義があり、抵抗が少ないが、受け手（学校、市民）にとっては、コンドームは日常的に公の場で手に取るものではない、という意識に配慮すべき場合も

あろう。ただ配布するだけではコンドームの使用が広がる効果はあまり期待できない。性感染症予防の唯一のツールであるコンドームを正しく使用するよう促すには、マスメディアやコマースベースの情報も活用し、市民権を得た世論を待つ必要もあろう。

## 3. 医療の提供について

学会等の診断・治療のガイドラインの普及に取り組む自治体は少ないため、医療については医学会が主導して臨床現場へのガイドラインの普及を行うことが現実的である。しかし治療のみならず、カウンセリングや行動変容、生活支援の必要性から、地域医療連携の一環として行政が性感染症及び HIV 感染症に関する医療体制に関わることは重要である。

## 4. 関係機関との連携強化や研究開発の推進について

保健所を性感染症およびエイズ対策の拠点とするなら、地域の医療機関や教育及び研究機関等との調整やネットワークを構築することにより、公衆衛生としての予防活動と医療の提供を円滑につなげていく必要がある。

性感染症に関する特定感染症予防指針では、発生動向調査以外の追加調査も重要としているが、独自に調査を行っている自治体は稀であり自治体に調査研究の主体を求めることは難しい。現状を正確に把握したり効果的な施策形成に役立てたりするよう調査研究能力を高めるには、研究専門機関の協力が必要である。

## 5. 保健所の機能強化について

近年、保健所には感染症対策を含む健康危機管理の拠点として、機能強化の期待が高まるにも関わらず、エイズ・性感染症対策に関しては、行政組織の毎年の機構改革や予算および人員の削減が危惧される<sup>9)</sup>。住民にとっては市町村合併や保健所の統廃合などが影響し、保健所が身近な存在ではなくなっている。今後、検査体制を整備するには「保健所での検査」に固執せず、受検者の利便性を考慮し役所以外の場所で夜間や休日の検査を提供し、行政は相談機能の充実を含めその質の管理を行い、早期発見から適切な医療へ結びつける連携システムを構築する役割をもつべきである。

届出のない HIV 感染症や性感染症予防対策について、施策方針や予算上の位置づけは低く、保健所の日常業務

の優先度も、高齢者の介護や子育て支援の業務量<sup>9)</sup>から比べると当然低くなる。学校等での性教育と連携するとしても、指導要領の制限から具体的な感染予防策を示しにくい場合もあり、性感染症の全国的な蔓延を公衆衛生的アプローチだけで、歯止めをかけることは困難である。

さらに都道府県の感染症予防計画への内部評価は厳しく、各自治体における感染症予防計画についても見直しの時期であり、性感染症予防のためには何をすべきか、対策の現場に活かせる具体的な目標をもった予防計画が必要である。

現指針において、特に見直すべき事項を、以下に提言する。

#### 指針見直しへの提言

##### 1. 地域の性感染症の実情を把握できるよう、発生動向調査の方法を改善すること。

発生の頻度や感染の広がり方など疾病の特徴を考慮して、全数報告と定点報告の方法を検討すべきである。

##### 2. 性感染症対策とエイズ対策に共通する施策について、より総合的に連携すること。

性感染症とエイズについて、厚生労働省内では所管課が異なるが、自治体や保健所など対策の現場では、感染症予防として一元的に施策を企画する必要がある。性感染症とエイズについては対応する予算や組織に格差がないよう十分に連携すべきであり、将来的には両指針が一体化することを望む。

##### 3. 学校等における性教育と保健所等における感染症予防教育の整合性をはかること。

児童生徒など若年者の健康問題の解決について、文部科学省と厚生労働省とで一致すべき「性」についての見解に相違がないよう、対策の現場で困難が生じないよう、省庁間での十分な調整を図るべきである。

##### 4. 公衆衛生としての予防活動から医療の提供を円滑にし、性感染症の拡大を最小限にすること。

感染症に対しては早期発見早期治療が、二次的な感染の防止のための最大の予防である。啓発から治療までが一貫した予防活動であることを保健所も医療機関も共通の認識とすべきである。

##### 5. 国は性感染症およびエイズ対策について、政策および財政的に責任を持つこと。

法に基づく感染症対策の要は、予防指針に国の基本方

針を示すことである。この基本方針は理想に掲げられるだけでなく、実現するための具体策につなげるよう、政策への反映や必要な財政的確保をすべきである。

結語として、性感染症および後天性免疫不全症候群(HIV感染症)対策については、医療機関が果たす役割を強化しつつ、全ての感染症対策の拠点である保健所が担うべき具体的役割を示した新しい予防指針の作成にこの調査結果が反映され、実際の予防対策が効果的に進められるよう、国および自治体のイニシアチブを期待したい。

この調査研究は、平成16年度厚生労働省科学研究費補助金新興・再興感染症研究事業「性感染症の効果的な蔓延防止に関する研究」(主任研究者 小野寺昭一 東京慈恵会医科大学教授)により実施した。ご協力いただいた各自治体、保健所、地方衛生研究所に深謝いたします。

本論文の要旨は、日本性感染症学会第18回学術大会(2005年北九州)において発表した。

#### 文 献

- UNAIDS: AIDS epidemic update. 2005; 12月.
- 厚生労働省エイズ動向委員会: 2004(平成16)年エイズ発生動向年報. 2005; 4月.
- 川名 尚: 解説「性感染症に関する特定感染症予防指針」. 日性感染症会誌, 2000; 11: 15-16.
- 橋戸 円ほか: 主要な性感染症の動向. 治療学, 2003; 37: 798-802.
- CDC: HIV Prevention Through Early Detection and Treatment of Other Sexually Transmitted Diseases—United States Recommendations of the Advisory Committee for HIV and STD Prevention, July 31, 1998.
- 白井千香ほか: 若年者における無症候性器クラミジア感染症の実態把握と蔓延防止システムについて. 日性感染症会誌, 2005; 16: 39.
- 飯 陽子: 話してみよう! エッチ・愛・カラダ—学ぶ/教える/リアプロダクティブ・ヘルス/ライツ. 明石書店, 東京, 2004.
- 阿彦忠之: 保健所の組織構造面からの検討. 公衆衛生, 2006; 70: 180-184.
- 糸数 公ほか: 地域保健行政活動の評価について. 厚生指標, 2005; 13: 17-24.

# 初発性器ヘルペスの感染病態

Pathogenesis of clinical first episode of genital herpes

帝京平成看護短期大学  
Teikyo Heisei Nursing Junior College

川名 尚  
Takashi Kawana

日本産科婦人科学会千葉地方部会会誌 第1巻 第1号 別刷

平成 20 年 1 月

## 原 著

## 初発性器ヘルペスの感染病態

Pathogenesis of clinical first episode of genital herpes

帝京平成看護短期大学

Teikyo Heisei Nursing Junior College

川名 尚

Takashi Kawana

**概要** 性器ヘルペスは、臨床的に初発と再発に分けられる。初発は、さらに初感染初発と非初感染初発に分けられる。今回、女性性器ヘルペスの初発 185 例について、初診時の型特異 IgG 抗体と IgM 抗体の検出することにより解析した。

単純ヘルペスウイルス 1 型 (HSV-1) を分離した 101 例では、初感染が 85 例 (84.2%)、非初感染が 16 例 (15.8%) であり、HSV-2 を分離した 84 例では、初感染が 56 例 (66.7%)、非初感染が 28 例 (33.3%) であり、併せて 185 例中初感染が 141 例 (76.2%)、非初感染が 44 例 (23.8%) であった。

HSV-2 感染例の方が HSV-1 感染例に比べて非初感染の割合が有意に高かった。

初発例を初感染と非初感染に分類することは感染時期の推定や性器ヘルペス合併妊婦の管理に有用である。

**Key words:** 初発性器ヘルペス, 初感染, 非初感染

## 緒 言

性器ヘルペスは、単純ヘルペスウイルス (Herpes simplex virus, HSV) の 1 型 (HSV-1) または 2 型 (HSV-2) の感染によって発症する代表的なウイルス性感染症である。

2002 年をピークとして性器クラミジア感染症や淋菌感染症が減少傾向にあるなかで性器ヘルペスは漸増している。この背景には、HSV はヒトに感染すると知覚神経節に潜伏感染し、潜伏感染している HSV がしばしば再活性化されて再び皮膚・粘膜表面に表われて感染源となるという独特な感染病態がある。潜伏している HSV はヒトに備わっている免疫力やアシクロビルやバラシクロビルのような抗ヘルペスウイルス薬によっても排除できないため長期にわたる慢性の経過を辿るだけでなく性器ヘルペスの制御を困難にしている。

性器ヘルペスは、臨床的には初発と再発に分類されている<sup>1)</sup>。初発とは、初めて発症した場合であり、再発とは既に発症した経験のあるものが再び発症した場合と定義される。初発は、初感染初発と非初感染初発に分類される。初感染初発は発症時に HSV に対する抗体が陰性の場合、非初感染初発は発症時に感染した HSV と同じ型の抗体を有している場合と定義される<sup>2)</sup>。

今回、筆者の経験した初発性器ヘルペスについて初

感染と非初感染の割合を検討したので報告する。

## 方 法

## 1. 対象

1989 年～2004 年に東大分院、帝京大学医学部附属溝口病院産婦人科を訪れ、単純ヘルペスウイルスを分離して性器ヘルペスと診断した初発例 185 例を対象とした。HSV-1 を分離した患者は 101 例、HSV-2 を分離した患者は 84 例であった。

## 2. ウイルス分離と同定

細い綿棒で外陰の病変を擦過したものをペニシリン 2,500IU/ml、ストレプトマイシン 1mg/ml、アンフォテリシン B 12.5μg/ml、仔牛血清 5% を含む Eagles' MEM 中にてすすぎ、これを遠心後、上清を Vero 細胞または R-66 細胞に接種した。毎日細胞効果の出現を観察し、陽性となったものについては感染細胞を HSV-1 または HSV-2 に対するマウスモノクローナル抗体に蛍光標識したキット (Micro Trak Herpes, Syva Co. またはデンカ生研) を用いて同定と型の決定を行なった。

## 3. 血清抗体

初診時に採取した血清について以下の方法で抗体を測定した。

a) 型特異抗体: HSV の gG-1 または gG-2 を抗原として用いている ELISA キット (HerpeSelect HSV-1 または HSV-2, Focus 社) を用いて型特異抗体を測定

した。方法は添付文書に従って行い、抗体値1.1以上を陽性と判定した。

b) HSV IgM 抗体: HSV 特異的 IgM 抗体は、デンカ生研社製 HSV IgM 抗体測定キットを用いた。

方法は添付文書に従い行なった。1.2以上を陽性と判定した。

#### 4. 初感染と非初感染の判定

初診時に抗 HSV-1 抗体、抗 HSV-2 抗体共に陰性を初感染とした。分離された HSV の型と同型の血清抗体の陽性の場合には非初感染とした。発症してから受診までに時間を経ている場合、同型の型特異抗体が陽性であっても IgM 抗体が陽性の場合には初感染に分類した。

### 成 績

#### 1. HSV-1 分離例

101 例のうち 72 例は初診時に HSV-1 抗体、HSV-2 抗体共に陰性であり初感染に分離した。3 例は HSV-2 抗体が陽性であったが、HSV-1 抗体が陰性であったので初感染に分類した。HSV-1 抗体陽性が 26 例あったが、10 例は IgM 抗体が陽性のため初感染に分類した。その結果、16 例 (15.8%) を非初感染初発と判断した。

#### 2. HSV-2 分離例

84 例のうち 39 例は HSV-1 抗体、HSV-2 抗体共に陰性で初感染とした。HSV-2 抗体陽性が 45 例あったが 17 例は IgM 抗体が陽性であったため初感染に分類した。その結果、28 例 (33.3%) を非初感染初発とした。

まとめると初発 185 例のうち全体では 44 例 (23.8%) が非初感染初発であった。また HSV-1 分離例と HSV-2 分離例における非初感染初発の頻度は、HSV-2 の方が有意に高かった ( $p=0.0053$ )。

### 考 察

初めて性器ヘルペスを発症した場合、一般的には性行為などによる感染の機会があつてから 3~10 日の潜伏期の後に発症したと考えられているが、中にはかなり以前に感染していた HSV が免疫力の低下などを契機に再活性化されて発症する場合のあることが判っている (非初感染初発)。そこで今回は初発例の中での位の割合で非初感染初発例があるのかを検討した。

非初感染初発例は潜伏していた HSV が再活性化されて発症するので分離された HSV の型と同じ型の抗体を有している必要がある。そこで、今回は型特異的抗体を検出できる HerpeSelect キットを用いた。本キットの精度は、感度 96~100%、特異性 97~100%と云われている<sup>3)</sup>。

表 1 初発性器ヘルペスの感染病態

分離 HSV の型	初感染初発	非初感染初発	計
1 型	85	16	101
2 型	56	28	84
計	141	44	185

初感染の判定であるが、初診時 HSV-1 抗体、HSV-2 抗体共に陰性は初感染と判定した。初診時に同型の抗体が陽性であれば非初感染初発と考えられるが、初感染でも受診する時期が感染後 7~10 日以上経ていると抗体が陽性になることもあるのでこのような例は IgM 抗体が陽性であれば初感染に分類した。

本研究では、初発の 23.8% が非初感染初発であり、HSV-1 感染例では 15.8%、HSV-2 感染例では 33.3%であった。文献的にみると、Bernstein らは HSV-2 感染初発例の約 25% が非初感染初発と報告しており今回の研究とはほぼ同じである<sup>4)</sup>。Diamond らは少なくとも 10% 以上は非初感染初発としている<sup>5)</sup>。

HSV-1 感染例に比べて HSV-2 感染例に有意に非初感染初発が多い理由は不明であるが、性器の感染には HSV-2 の方が HSV-1 より親和性が高く<sup>6)</sup>、また感染してもその多くが無症候であることが関連していると思われる<sup>7)</sup>。

初発の臨床症状は、発熱・全身倦怠などの全身症状を伴い外陰のヘルペス性病変は広範囲にわたる重症例から全身症状も無くまた病変の範囲も比較的狭い症状のみの場合まで広いスペクトラムを有する。一般的には重症例は初感染が多く、軽症例には非初感染が多いようである。

初発例について初感染と非初感染を分けることの臨床的意義は、第 1 に感染時期が初感染では多くは 2 週間以内と考えられるが非初感染はかなり以前と考えられる点である。つまり、初発イコール初感染とは必ずしも云えず、従って 2 週間以内に性的接触があつたパートナーが必ずしも感染源であるとは一概に云えないことになる。第 2 に HSV の母子感染において、分娩時に妊婦が初感染の場合その約 50% に児に感染するのに対し、非初感染では 2% 以下の感染と云われている<sup>8)</sup>。従って妊婦では初発例について初感染か非初感染かを分けて管理する必要がある。その際、分離されたウイルスの型と型特異的な血清抗体の測定が必要となるが、現在は型特異抗体の検出は保険ではできないので便宜的には ELISA 法を用いて IgG 抗体、IgM 抗体を検出することで初感染か非初感染の判別をすることになろう。

### 結 論

初発性器ヘルペスの23.8%は非初感染初発であり、HSV-1感染例に比べてHSV-2感染例にその傾向がより強かった。

### 文 献

- 1) 性感染症 診断・治療 ガイドライン 2006. 日本性感染症学会誌 2006; 17 supp: 44-47
- 2) Corey L, Wald A. Genital herpes. In: King K, Mardh P, Sparling PF, eds. Sexually Transmitted Diseases, 3<sup>rd</sup> ed. New York: Mc Graw-Hill, 1999; 285-312
- 3) Wald A, Ashley-Morrow R. Serological Testing for Herpes Simplex Virus (HSV)-1 and HSV-2 Infection. Clinical Infectious Diseases 2002; 35: S173-S182
- 4) Bernstein DI, Lovett MA, Bryson YJ. Serologic analysis of first-episode nonprimary genital herpes simplex virus infection. Presence of type 2 antibody in acute serum samples. Am J Med 1984; 77: 1055-1060
- 5) Diamond C, Selke S, Ashley R et al. Clinical course of patients with serologic evidence of recurrent genital herpes presenting with signs and symptoms of first episode disease. Sex Transm Dis 1999; 26: 221-225
- 6) Kawana T, Kawagoe K, Takizawa K et al. Clinical and virologic studies on female genital herpes. Obstet Gynecol 1982; 60: 456-461
- 7) Fleming DT, McQuillan GM, Johnson RE et al. Herpes simplex virus type 2 in the United States, 1976 to 1994. N Engl J Med 1997; 337: 1105-1111
- 8) Brown ZA, Wald A, Morrow RA et al. Effect of serologic status and cesarean delivery on transmission rates of herpes simplex virus from mother to infant. JAMA 2003; 289: 203-209

## Discrimination of Herpes Simplex Virus Type 2 Strains by Nucleotide Sequence Variations<sup>▽</sup>

Hisatoshi Kaneko,<sup>1</sup> Takashi Kawana,<sup>2</sup> Ken Ishioka,<sup>1</sup> Eiko Fukushima,<sup>1</sup> and Tatsuo Suzutani<sup>1\*</sup>

*Department of Microbiology, Fukushima Medical University School of Medicine, Fukushima 960-1295,<sup>1</sup> and Department of Obstetrics and Gynecology, University Hospital, Mizonouchi, Teikyo University School of Medicine, Kawasaki 213-8507,<sup>2</sup> Japan*

Received 13 August 2007/Returned for modification 4 October 2007/Accepted 20 November 2007

**We determined the polymorphous 400-bp regions in UL53, US1, and US4 for the discrimination of herpes simplex virus type 2 (HSV-2) strains. Thirty-six HSV-2 clinical strains could be differentiated into 35 groups using these three regions and into 36 groups by additional analysis of three noncoding regions previously reported as polymorphous.**

Herpes simplex virus type 2 (HSV-2) often causes genital herpes and, occasionally, meningitis, neonatal infections, and acute retinal necrosis. The study of the relationships between these diseases and virus strains, and the analysis of transmission between individuals, requires accurate and reproducible typing and phylogenetic analyses of clinical strains (4, 9). To achieve this, molecular technologies, in particular restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis, have been widely employed (12, 13, 14). However, the RFLP assay is relatively troublesome, and comparison of results obtained in different laboratories is difficult.

DNA sequencing is much easier to use and is more sensitive

than the RFLP assay in the detection of minor variations between strains. Using this technique, nucleotide sequences are subjected to comparative analysis, and evolutionary relationships between strains are validated. Moreover, the advantage of sequencing is that the results are easily stored and shared electronically; therefore, they can be utilized in laboratories worldwide.

Among human alphaherpesviruses, some genes in both HSV-1 and varicella-zoster virus have already been identified as possessing many nucleotide polymorphisms (1, 2, 6, 8). Recently, polymorphic regions in the noncoding region in HSV-2 were also reported (7), but none have been identified in the

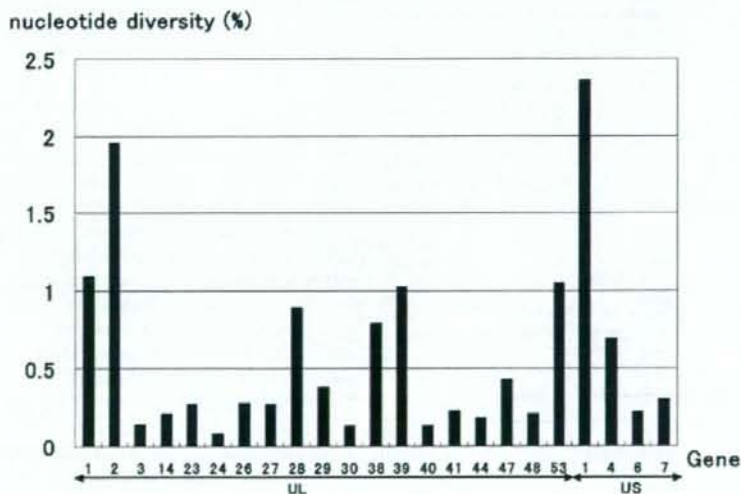


FIG. 1. Nucleotide diversity of each HSV-2 gene. The diversities of 19 UL and 4 US genes were analyzed using sequence data registered in GenBank.

\* Corresponding author. Mailing address: Department of Microbiology, Fukushima Medical University School of Medicine, 1 Hikari-gaoka, Fukushima 960-1295, Japan. Phone: 81-24-547-1158. Fax: 81-24-548-5072. E-mail: suzutani@fmu.ac.jp.

<sup>▽</sup> Published ahead of print on 12 December 2007.



TABLE 1. Positions of and variations in polymorphic sites in 400-bp regions from the UL53, US1, and US4 genes and three noncoding regions, NC1, NC3, and NC4, from 36 fsHSV-2 clinical strains and strain HG52

Gene or region	Position <sup>a</sup>	Variation(s) (no. of strains)	
UL53	113584	C (36), T (1)	
	113593	A (36), G (1)	
	113611	C (33), T (4)	
	113713	C (33), G (4)	
	113720	A (35), G (2)	
	113765	T (31), C (6)	
	113805	C (36), G (1)	
	113834	A (33), G (4)	
	113847	A (25), G (12)	
	113864	G (36), A (1)	
	113922	G (36), T (1)	
	113926	T (36), C (1)	
	113944	T (35), G (2)	
	113974-113975	TA (25), CG (11), TA (1)	
	US1	133785	C (35), T (2)
		133807	A (30), G (7)
133817		T (36), G (1)	
133882		A (33), C (4)	
133892-133900		TCCTCGACC (32), CCCTCGACC (3), ACC (1), deletion (1)	
133910		G (36), A (1)	
133932		G (36), C (1)	
133955		C (32), G (4), T (1)	
134041-134043		CGA (33), TGA (3), deletion (1)	
134049-134054		ATGATG (29), ATGATGATG (3), ATG (2), deletion (2), ATCATGATG (1)	
134082		C (34), A (3)	
134089		T (33), C (4)	
134102		C (36), T (1)	
134117		C (31), G (6)	
134124		C (36), A (1)	
US4	138749	A (31), G (6)	
	138755-138757	TCG (36), deletion (1)	
	138768	G (36), A (1)	
	138783	C (36), G (1)	
	138807	T (29), C (8)	
	138809	C (36), T (1)	
	138890	G (35), T (2)	
	138911	C (36), T (1)	
	138932	C (36), T (1)	
	138966	C (35), G (2)	
	139011	C (35), T (2)	
	139031	C (36), T (1)	
	139060	A (34), G (3)	
	139092	G (35), C (2)	
	139100	C (36), T (1)	
	139107	C (36), T (1)	
	139145	T (32), C (5)	
	NC1	40609	G (36), A (1)
40681		A (35), G (2)	
40684-40687		5A (27), 4A(10)	
40699		A (36), C (1)	
40708		A (36), G (1)	
40735-40737		3A (36), 2A (1)	
40811		T (35), C (2)	
40865		C (36), T (1)	
40866-40871		6C (29), 5C (7), 7C (1)	
NC3		48802	C (29), T (8)
	48803-48811	8C (10), 9C (9), 7C (7), 6C (4), 10C (4), 4C (1), 5C (1), 11C (1)	
	48812	T (36), C (1)	
	48918	C (34), A (3)	
	48956	T (34), C (3)	
	48957-48963	7C (19), 6C (13), 5C (4), 8C (1)	
NC4	84796-84803	4GT (12), 5GT (10), 6GT (9), 8GT (4), 3GT (1), 7GT (1)	
	84808	G (33), A (4)	
	84809-84812	4G (14), 7G (10), 5G (8), 4G (4), 9G (3), 3G (2)	
	84813	C (36), G (1)	
	84861	C (27), T (10)	

<sup>a</sup> Positions of polymorphic sites on HSV-2 strains. The numbering of positions corresponds to that of the HSV-2 strain HG52 total sequence (4).

TABLE 2. Primers and conditions used in PCR-directed sequencing

Gene	Primer	Size of PCR product (bp)	Position*	Sequence	PCR conditions
UL53	HSV2-UL53(F)	1,256	112920-112940	GTCGGGACCAACAACCGCCTA	95°C/3 min, (95°C/30 s, 55°C/60 s, 72°C/90 s) × 40, 72°C/10 min
	HSV2-UL53(R)			CGACGTGCGAGGGTGCCTA	
US1	HSV2-US1(F)	1,481	133649-133667	CGATCCCAACATCCGCGCT	95°C/3 min, (95°C/30 s, 55°C/60 s, 72°C/120 s) × 40, 72°C/10 min
	HSV2-US1(R)			CATTACACGTACGAGCGGTGTCCG	
US4	HSV2-US4c(F)	747	138694-138714	AGCCTGTGGTGGGGATTACG	95°C/3 min, (95°C/30 s, 55°C/60 s, 72°C/60 s) × 40, 72°C/10 min
	HSV2-US4c(R)			139440-139417	

\* Position of the primer sequence on the DNA sequence of the HSV-2 genome (4).

open reading frames (ORFs). In this study, we identified 400-bp regions with many nucleotide polymorphisms in the HSV-2 genes, the nucleotide sequences of which can be determined with one sequencing reaction.

We used 36 HSV-2 clinical isolates (referred to here as strains 1 to 36) from 36 epidemiologically unrelated Japanese patients with genital herpes infections for more than 20 years. All strains were isolated in Vero cells and stored after a few passages. Virus DNA was extracted from the infected cells or clinical samples by proteinase K treatment and phenol-chloroform extraction.

First, we checked all HSV-2 nucleotide sequence data registered in the GenBank database, and sequence alignments were constructed using Web-based Clustal W alignment programs. Sequence information from partial regions in the ORFs was also analyzed, but data from regions shorter than 400 bp were excluded from the analyses.

Nucleotide sequences of 28 unique long (UL) genes and 8 unique short (US) genes from more than two strains of HSV-2 were registered in the GenBank database, and the nucleotide diversity of these 36 genes was evaluated. No polymorphism was observed in 13 genes (UL4, UL5, UL22, UL42, UL43, UL45, UL54, UL55, UL56, US2, US3, US5, and US8), which were therefore excluded as candidate genes. Of the remaining 23 genes, we then examined the 8 genes that showed more than 0.5% nucleotide diversity (Fig. 1) and the 400-bp regions with large numbers of polymorphic sites in 6 of the 8 genes, excluding UL28 and UL38. To evaluate the frequency of polymorphic sites in the candidate regions among the clinical isolates, we sequenced the target regions of five HSV-2 clinical strains by a PCR-directed sequencing method, as described previously (5). The homology of the regions from UL1 and UL39 was 100% for all five strains, and just one nucleotide substitution in one strain was identified in the region from UL2. On the other hand, the numbers of polymorphic sites in the 400-bp regions from the UL53, US1, and US4 genes were 8, 3, and 4, respectively. We regarded these 400-bp regions as highly polymorphous regions and carried out sequence analysis of these regions for the other 31 strains (Table 1). The primers and conditions used in PCR for the three regions are summarized in Table 2.

As a result, polymorphisms at 14, 15, and 17 sites among the 36 strains studied were observed in the regions from UL53, US1, and US4, respectively (Table 1). On the basis of the polymorphisms in the three regions, the 36 strains were classified into 35 groups (Table 3). In contrast, six isolates obtained from different recurrent episodes over 20 years for one genital

herpes patient were found to be identical strains (data not shown).

Phylogenetic analyses of the 36 strains and strain HG52 (3) for each of the three regions were carried out using the neighbor-joining method and visualized by MEGA, version 3.1. The shapes of the phylogenetic trees differed from each other; the strains that formed a genetically related cluster in the analysis of one region were dispersed in the phylogenetic trees obtained from the analyses of the other regions. These results indicated that the three target regions are not genetically linked (Fig. 2A, B, and C).

To confirm the accuracy and reliability of our three test regions, we analyzed the sequences of three noncoding regions, noncoding region 1 (NC1), NC3, and NC4, located between the UL19 and UL20, the UL24 and UL25, and the UL37 and UL38 genes, respectively, and reported as target regions for the discrimination of HSV-2 strains (7). The 36 HSV-2 strains were classified into 34 groups by using these three noncoding regions. Moreover, we could differentiate and classify all 36 Japanese strains through additional analysis of the three noncoding regions with more than two different sites between two closely related strains (Table 3).

Furthermore, we analyzed our 36 HSV-2 strains in comparison with 26 American strains registered in GenBank (7) and strain HG52 (3). Phylogenetic analysis of the NC1 (data not shown), NC3 (Fig. 2D), and NC4 (data not shown) sequences found that no specific clusters formed among the 36 Japanese or the 26 American strains. This observation was different from

TABLE 3. Classification of 36 HSV-2 clinical strains with sequence variations in 400-bp regions from the UL53, US1, and US4 genes and three noncoding regions

Region	No. of groups classified	No. of polymorphic sites*
UL53	16	0-8
US1	20	0-8
US4	19	0-7
UL53 + US1 + US4	35	0-14
NC1	11	0-5
NC3	21	0-5
NC4	17	0-4
NC1 + NC3 + NC4	34	0-11
Combination of all six regions	36	2-18

\* For every 2 strains among the 36 HSV-2 strains.

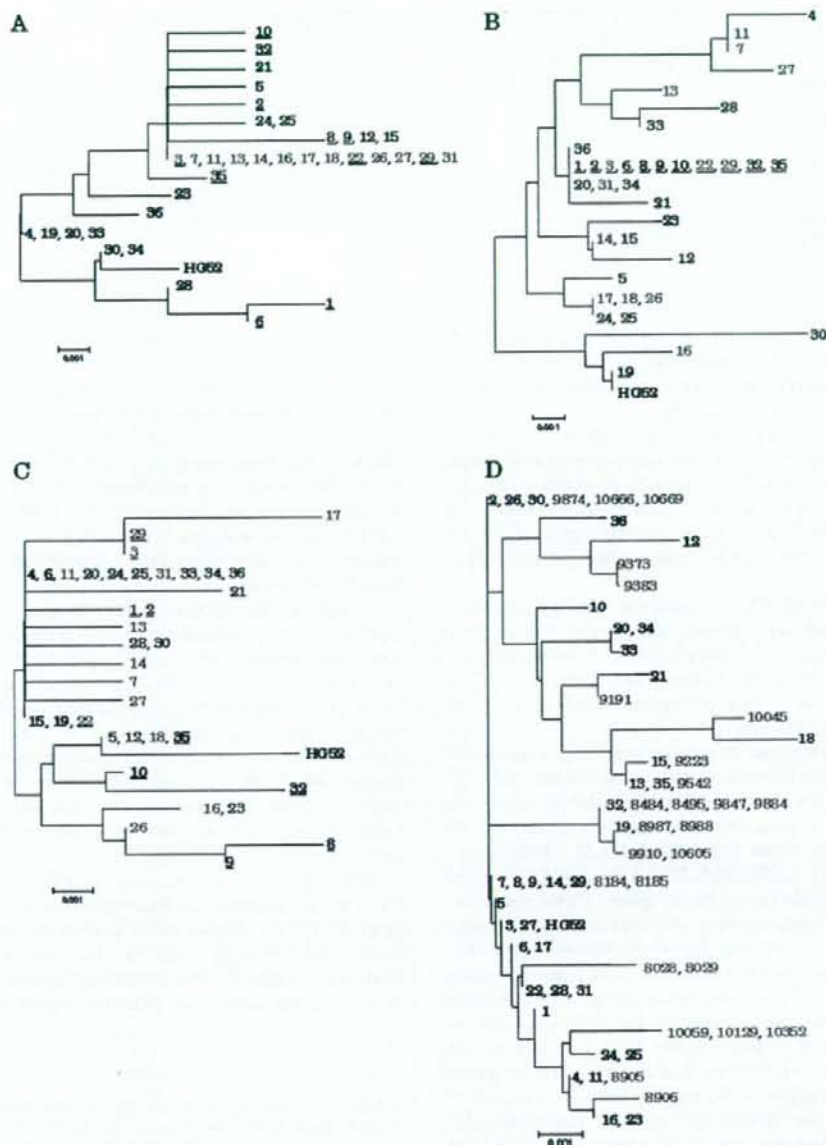


FIG. 2. Phylogenetic analyses of 400-bp regions in the UL53 (A), US1 (B), and US4 (C) genes and in NC3 (D). Sequence data from all 36 HSV-2 clinical strains (shown as strains 1 to 36) and strain HG52 (3) were analyzed by the neighbor-joining method. The names of strains with common sequences in the 400-bp regions from UL53 and US4 are shown in red and underlined, respectively. The 26 American strains registered in GenBank (7) were added for the phylogenetic analysis of NC3. These American strains are shown in blue.

those for other human alphaherpesviruses, HSV-1 and varicella-zoster virus, which formed regional genotypes (1, 6, 10, 11). Moreover, our observations described in this report represent common characteristics among HSV-2 strains and provide a method that is applicable worldwide.

In conclusion, the identification and discrimination of HSV-2 strains by three ORF regions were both accurate and

reliable. These results suggest that our method might also have sufficient sensitivity for application to etiological studies worldwide.

**Nucleotide sequence accession numbers.** The nucleotide sequences determined in this study have been registered in the DDBJ database under accession no. AB290460 to AB290514.

## REFERENCES

- Barrett-Muir, W., F. T. Scott, P. Aaby, J. John, P. Matondo, Q. L. Chaudhry, M. Siqueira, A. Poulsen, K. Yamanishi, and J. Breuer. 2003. Genetic variation of varicella-zoster virus: evidence for geographical separation of strains. *J. Med. Virol.* 70(Suppl. 1):S42-S47.
- Chiba, A., T. Suzutani, M. Saijo, S. Koyano, and M. Azuma. 1998. Analysis of nucleotide sequence variations in herpes simplex virus types 1 and 2, and varicella-zoster virus. *Acta Virol.* 42:401-407.
- Dolan, A., F. E. Jamieson, C. Cunningham, B. C. Barnett, and D. J. McGeoch. 1998. The genome sequence of herpes simplex virus type 2. *J. Virol.* 72:2010-2021.
- Hammerberg, O., J. Watts, M. Chernesky, I. Luchsinger, and W. Rawls. 1983. An outbreak of herpes simplex virus type 1 in an intensive care nursery. *Pediatr. Infect. Dis.* 2:290-294.
- Kaneko, H., T. Iida, K. Aoki, S. Ohno, and T. Suzutani. 2005. Sensitive and rapid detection of herpes simplex virus and varicella-zoster virus DNA by loop-mediated isothermal amplification. *J. Clin. Microbiol.* 43:3290-3296.
- Loparev, V. N., A. Gonzalez, M. Deleon-Carnes, G. Tipples, H. Fickenscher, E. G. Torfason, and D. S. Schmid. 2004. Global identification of three major genotypes of varicella-zoster virus: longitudinal clustering and strategies for genotyping. *J. Virol.* 78:8349-8358.
- Martin, E. T., D. M. Koelle, B. Byrd, M.-L. Huang, J. Vieira, L. Corey, and A. Wald. 2006. Sequence-based methods for identifying epidemiologically linked herpes simplex virus type 2 strains. *J. Clin. Microbiol.* 44:2541-2546.
- Nagamine, M., T. Suzutani, M. Saijo, K. Hayashi, and M. Azuma. 2000. Comparison of polymorphism of thymidine kinase gene and restriction fragment length polymorphism of genomic DNA in herpes simplex virus type 1. *J. Clin. Microbiol.* 38:2750-2752.
- Rotzman, B., and M. Tognon. 1983. Restriction endonuclease patterns of herpes simplex virus DNA: application to diagnosis and molecular epidemiology. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 104:273-286.
- Sakaoka, H., T. Aomori, O. Honda, Y. Saheki, S. Ishida, S. Yamanishi, and K. Fujinaga. 1985. Subtypes of herpes simplex virus type 1 in Japan: classification by restriction endonucleases and analysis of distribution. *J. Infect. Dis.* 152:190-197.
- Sakaoka, H., H. Saito, K. Sekine, T. Aomori, L. Grillner, G. Wadell, and K. Fujinaga. 1987. Genomic comparison of herpes simplex virus type 1 isolates from Japan, Sweden and Kenya. *J. Gen. Virol.* 68:749-764.
- Sakaoka, H., T. Kawana, L. Grillner, T. Aomori, T. Yamaguchi, H. Saito, and K. Fujinaga. 1987. Genome variations in herpes simplex virus type 2 strains isolated in Japan and Sweden. *J. Gen. Virol.* 68:2105-2116.
- Sakaoka, H., K. Kurita, Y. Iida, S. Takada, K. Umene, Y. T. Kim, C. S. Ren, and A. J. Nahmias. 1994. Quantitative analysis of genomic polymorphism of herpes simplex virus type 1 strains from six countries: studies of molecular evolution and molecular epidemiology of the virus. *J. Gen. Virol.* 75:513-527.
- Sakaoka, H., K. Kurita, T. Gouro, Y. Kumamoto, S. Sawada, M. Ihara, and T. Kawana. 1995. Analysis of genomic polymorphism among herpes simplex virus type 2 isolates from four areas of Japan and three other countries. *J. Med. Virol.* 45:259-272.