

凝集因子 3,6 を保有し、因子 2,4 の保有を認めなかった。また、その保有量に差異は認められず、凝集用抗原株として現行の山口株を使用することの妥当性が検証された。その一方で、解析を行った臨床分離株には山口株よりも有意に高い凝集素価を示す菌株は見出されず、現行の山口株に代わる凝集用抗原株は存在しないことが指摘された。そのため、菌凝集素価法の精度向上には、遺伝子操作による凝集用抗原株の改良が必要と考えられた。

菌凝集素価法は簡便かつ安価なことから、特異性を高めた凝集抗原の利用価値は高いと考えられる。そこで、凝集用抗原である山口株と東浜株について種特異抗原である凝集因子 1 欠損株の作製を試みた。作製にあたり凝集因子 1 の同定を行ったところ、凝集因子 1 は Vag8 であることが判明した。そこで、東浜株および山口株の Vag8 欠損株の作製を行ったところ、東浜株で Vag8 欠損株を得ることに成功した。一方、山口株では Vag8 欠損株は得られず、この原因としてプラスミド挿入後の相同組換え頻度が山口株では低いことが挙げられた。今後、スクロースによる選択条件を再検討する必要性が指摘された。

現在、WHO では百日咳の診断は菌培養法を gold standard としており、現行の菌凝集素価法を推奨していない。しかし、培養検査法における検出率は低いこと、また遺伝子検査法と比較して簡便であることから、わが国の臨床現場では菌凝集素価法が日常的に利用されている。菌凝集素価法において特異性を高めた凝集抗原の利用価値は高いと考えられる。現在、山口株の Vag8 欠損株の作製を進めており、欠損株の取得後、両株の凝集用抗原としての有用性を評価する予定である。

E. 結論

百日咳の菌凝集素価法について再評価を行ったところ、凝集用抗原株として現行の山口株を使用することの妥当性が検証された。また、本法の精度向上を目的に、凝集用抗原である東浜株と山口株の凝集因子 1 (Vag8) 欠損株の作製を試みた。その結果、東浜株の Vag8 欠損株を得ることに成功した。

G. 研究発表

1. 論文発表 (出版図書等)

- 1) 齋藤良一, 蒲地一成: 百日咳菌 広範囲血液・尿化学検査, 免疫学的検査 (第七版), 日本臨牀, 2010 (発刊予定) .
- 2) 蒲地一成, 岡田賢司. ワクチンで予防可能な疾患の病原診断とその読み方 6 百日咳. 小児科, 50:35-41 (2009)

2. 学会発表

- 1) 蒲地一成. 分子疫学から見た百日咳流行株の細菌学的特性. 第 83 回日本細菌学会総会, 平成 22 年 3 月, 横浜 (予定)
- 2) 大塚菜緒, 蒲地一成, 豊泉裕美, 中村幸嗣, 齋藤良一, 荒川宜親. 百日咳菌における定着因子 Pm の欠損機構. 第 83 回日本細菌学会総会, 平成 22 年 3 月, 横浜 (予定)
- 3) 蒲地一成, 韓賢子, 豊泉裕美, 荒川宜親. 百日咳菌の新規タイピング法の確立とその応用. 第 82 回日本細菌学会総会, 平成 21 年 3 月, 名古屋
- 4) 蒲地一成. 百日咳毒素- 予防・診断・疫学への応用-. 第 82 回日本感染症学会総会, 平成 20 年 4 月, 島根

H. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許取得: なし
2. 実用新案登録: なし
3. その他: なし

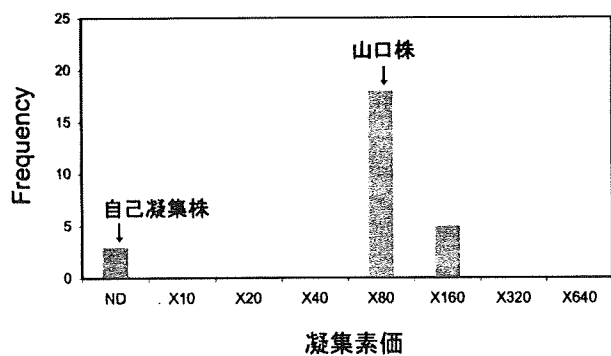


Fig. 1 臨床分離株の抗因子 36 血清に対する凝集素価 ND, 自己凝集により解析不能(3 株)

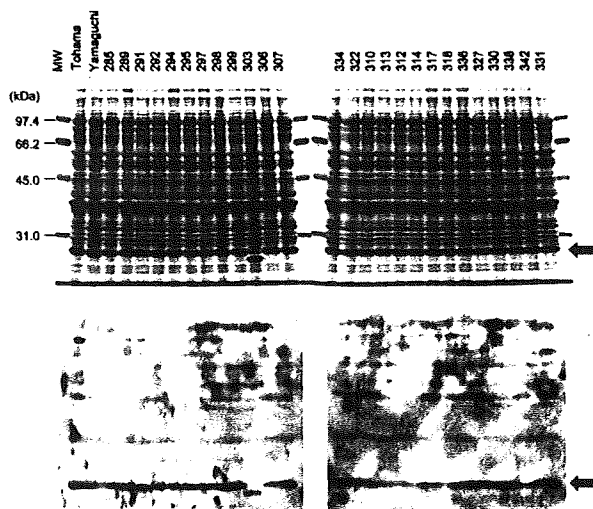


Fig. 2 臨床分離株における凝集因子 3,6 の保有状況 菌体から全タンパク質を抽出し、12.5% SDS-PAGE により分離した。上段は CBB-R250 染色、下段は抗因子 36 血清を用いたイムノブロット解析。矢印はシグナルが認められた 25 kDa protein

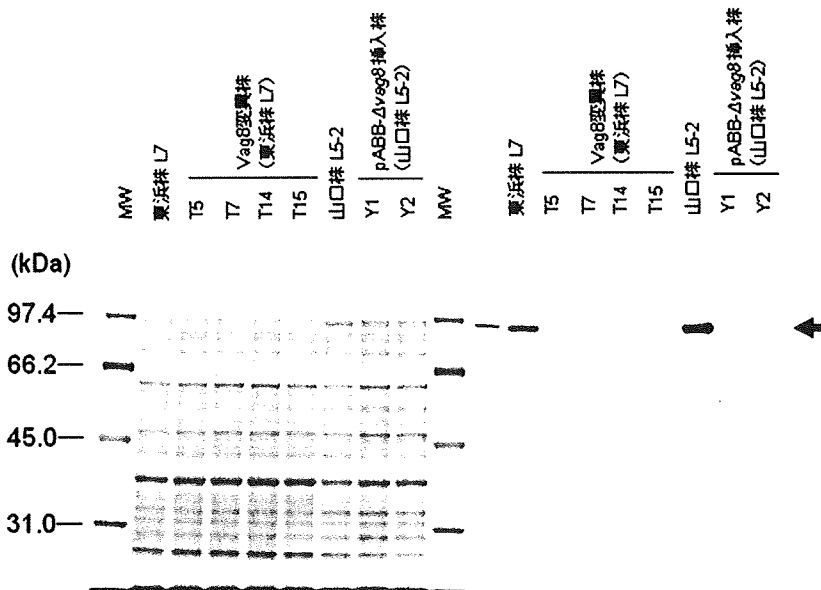


Fig. 3 Vag8 変異株(東浜株由来)および pABB- Δ vag8 挿入株(山口株由来)における Vag8 産生の確認 菌体から全タンパク質を抽出し、10% SDS-PAGE により分離した。左は CBB 染色、右は抗 Vag8 抗体(組換え H₆-Vag8 に対するマウスポリクローナル抗体)を用いたイムノブロット解析。矢印は Vag8 タンパク質(95 kDa)

厚生労働科学研究費補助金
(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)
総合研究報告書

百日咳抗体価測定試薬評価用標準参照血清並びにパネル血清作製による
評価の標準化に関する研究

研究分担者 岡田 賢司 (国立病院機構 福岡病院)
蒲地 一成 (国立感染症研究所 細菌第二部 室長)
研究協力者 小澤 賢介 (デンカ生研株式会社)
高橋 崇道 (デンカ生研株式会社)
山崎 誠 (デンカ生研株式会社)
中臣 康雄 (デンカ生研株式会社)
権平 文夫 (デンカ生研株式会社)
ウイルス検査技術連絡会

研究要旨

百日咳抗体価測定試薬の評価方法の標準化を図ることを目的とし、一次参照血清(標準血清)および二次参照パネル血清を作製した。今後、各測定施設で同一の値付けがなされた標準品を用いることにより、施設間の測定結果が標準化されることが期待できる。また、抗百日咳毒素(PT)抗体及び抗繊維状血球凝集原(FHA)抗体は、現状では、バリデートが難しいボールELISAのフォーマットを用いて測定しているが、これをコントロールしやすい、プレートEIA法を用いた試薬にて標準化を試みることにし、測定試薬の試作を行った。試作品はまだ改良の余地が残されてはいるものの、測定の標準化を目指すためには、臨床診断へ応用できるデータを蓄積していくことで、最終的には、百日咳抗体価測定法をプレートEIA法に統一していくことが望まれる。

A. 研究目的

現在、百日咳菌感染症の血清学的診断に使用されている凝集素価測定試薬は、その標準的な評価方法が確立されていない。一方、百日咳菌関連抗原である百日咳毒素(PT)および繊維状血球凝集原(FHA)に対する抗体価を測定するEIA試薬は感度、特異性に優れてはいるものの、ボールELISAという測定フォーマットのため、広く普及していないのが現状である。本研究では、百日咳凝集素価抗体測定用体外診断薬の性能評価並びに品質管理に使用する国内一次参照血清(標準血清)並びに二次参照パネル血清を作製し、百日咳抗体価測定用キッ

ト評価方法の標準化並びに体外診断薬の安定供給を図ること、及び新規EIA測定試薬を構築することにある。

B. 研究方法

- ① 一次参照血清(標準血清)作製：百日咳患者由来の血清2検体(No.1およびNo.2)につき、ウイルス技術連絡会会員研究協力施設5施設にて、百日咳凝集反応用抗原「生研」を用いて測定し、同検体の凝集素価を設定した。
- ② 二次参照パネル作製：まず二次参照パネルを表1の特性を持つ血清とデザインし、デンカ生研株式会社の定期健康診断の目的で採血された血

清の残を、本人の同意のうえ使用し、血清抗体価を①と同様に測定した。なお、検体はすべてダブルブラインドネームにて管理され、個人情報漏洩しないよう取り扱った。

表 1 二次参照パネルのカテゴリー

パネル番号	検体キャラクター
①	陰性血清
②	一次参照標準 No.1 相当 (高力価)
③	一次参照標準 No.2 相当
④	東浜株凝集価 > 山口株凝集価 (3管以上の差)
⑤	東浜株凝集価 < 山口株凝集価 (3管以上の差)
⑥	山口株凝集価において3管以上の抗原ロット差が認められるもの
⑦	東浜株凝集価において3管以上の抗原ロット差が認められるもの

③ 抗PT、抗FHA抗体測定EIA試薬の試作

百日咳菌（東浜株）より精製したPTおよびFHAを96ウェルポリスチレンプレートに結合させたものをそれぞれの抗原固相プレートとした。ペルオキシダーゼ標識抗ヒトIgG、発色基質TMBは市販のものを使用した。値付けされた標準血清は感染研より分与されたJN1H-10を使用した。対照測定法としてのボールELISAはSRLに測定を依頼した。使用した検体は百日咳と臨床的に診断された患者血清を使用した。今回の検討は、陽性検体の反応性を検討することが目的で、臨床経過や履歴は必要ないため、検体はすべてダブルブラインドネームにて個人名が特定できない状態で測定を行った。

C. 研究結果

I. 一次参照血清（標準血清）作製

ウイルス技術連絡会会員研究協力施設5施設にて一次参照血清No.1およびNo.2血清の凝集素価を測定した結果、No.1血

清は山口株/1:640~1:1280、東浜株/1:640~1:1280、No.2血清は山口株/1:80~1:160、東浜株/1:40~1:80に収束した。したがって、最頻値より、一次参照血清の凝集素価をNo.1:山口株および東浜株ともに1:1280±1管、No.2:山口株/1:160±1管、東浜株/1:80±1管と設定した。これらの血清を百日咳凝集反作用抗原「生研」山口株5ロットで反応性を評価したところ、No.1は1:640~1:1280、No.2は1:80~1:160と抗原ロットを問わず、一定の凝集素価を示した。

II. 二次参照パネル血清作製

表1のカテゴリーに当てはまる各検体の原料となる検体を選定した。これらはプール検体として作製することを考慮し、各3検体以上準備（確保）できた。

III. 抗PT、抗FHA抗体測定EIA試薬の試作

国内標準血清JN1H-10で、検量線を作成し、試作品と、ボールELISA法で得られた抗体価に対する反応性を検討したところ、良好な相関が得られたものの、判定が乖離する検体が存在した。

D. 考察

I. 凝集素価に対する標準血清の作製

現在、最も頻繁に利用されている百日咳の血清学的検査は、東浜株及び山口株に対するそれぞれの凝集素価を測定することであるが、①適当な標準物質がないこと、②凝集像を肉眼で判定するために、測定結果のばらつきの存在が指摘されてきた。本研究において、一次参照血清および二次参照パネル血清を設定したが、これらを利用することで、測定結果の均一化のみならず、市販抗原を調製する際にも、抗原（ロット）間のばらつきをコントロールでき、凝集素価測定標準化に大きく寄与するものと考えられる。

II. 抗PT、抗FHA抗体測定EIA試薬の試作

百日咳菌関連抗原である百日咳毒素（PT）および繊維状血球凝集原（FHA）に対する抗体価を測定するEIA試薬は感度、特異性に優れてはいるものの、ボールELISAという測定フォーマットのため、普及が広くなされていないのが現状である。そのため、本測定の標準化を進めるためには、一般的に広く浸透している測定フォーマットを採用することが必要であり、96ウェルプレートを用いたプレートEIA法を使用することとした。使用抗原は東浜株より精製したものとし、検討を行った。その結果、現行法と良好な相関を示したものの、測定結果が乖離する検体も存在した。これは、測定フォーマットの特性に起因する現象の可能性もあり、今後の検討課題となった。

E. 結論

百日咳患者由来の1次参照血清（標準血清）、健常人由来の2次参照パネル原液となる検体を選定、確保した。また、抗PTおよび抗FHAを測定可能なEIA試薬の改良を行った。最終的な目標は、抗百日咳抗体測定法を凝集反応からEIA法に移行させ、それを一般化、標準化

させることにある。今後は、安定した性能を示すEIA試薬を用い、臨床診断へ応用できるデータを蓄積していくことで、百日咳抗体価測定法をEIA法に統一していくことが急務となる。また、現在の国内標準血清（JN1H-10）で得られる値は、ワクチン接種前後の抗体価変動より、抗PTおよび抗FHAのカットオフ値が10EU/mLと定義されている。しかし、その値の感染診断との関連性については、データの蓄積がない。国内標準血清（JN1H-10）の値の意味づけを行うにあたっては、抗体価測定ツールとなりうる本EIA法の完成を急がなければならない。最終的には、NIBSCより市販されているWHOの国際標準血清との数値の互換性まで言及する必要がある。

G. 研究発表

1. 論文発表：なし
2. 学会発表：なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし

厚生労働科学研究費補助金
(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)
総合報告書

体外診断薬の評価パネル作製に関する国際的動向

研究分担者：水澤左衛子（国立感染症研究所 血液・安全性研究部 主任研究官）

研究要旨

IBSC が開催する SoGAT 会議と WHO 生物製剤標準化に関する専門家委員会に出席し、WHO や諸外国における標準品や標準パネルの整備に関する情報を収集した。WHO は 2007 年から「血液の安全性に関する体外診断薬のための標準品整備 5 カ年計画」を推進し、その成果を踏まえて 2009 年に改定し、新たに 12 の国際標準品等を作製することを承認。国立感染症研究所においては体外診断薬委員会を通して国際標準品作製のための共同研究に参加することが平成 20 年度に決まり、以前より広範囲の研究者が分担して 6 つの国際標準品等の共同研究に参加している。研究分担者は HBV genotype(DNA)標準パネルの国際共同研究に参加した。イギリス、ドイツ、米国においては体外診断薬のための標準品やランコントロールの整備が進められている。

A. 研究目的

本研究においては WHO や諸外国における体外診断薬のための標準品や標準パネルの整備に関する動向を把握することを目的とする。

B. 研究方法

NIBSC が開催する SoGAT 会議と WHO 生物製剤標準化に関する専門家委員会(ECBS)に出席し、WHO や諸外国における標準品や標準パネルの整備に関する最新の情報を交換した。

C. 結果

1. WHO は 2007 年から「血液の安全性に関する体外診断薬のための標準品整備 5 カ年計画」を推進し、その成果を踏まえ、新たに 12 の国際標準品等の作製を承認した。
2. WHO の 5 カ年計画に基づく国際共同

研究への本邦からの参加を円滑に進めるために、国立感染症研究所では体外診断薬委員会を通じて参加協力する体制を整備した。委員会を通じて 6 つの標準品等の共同研究に参加し、そのうち HIV-2 RNA 第一次国際標準品、HBV genotype (DNA) 標準パネルが 2009 年に ECBS で承認された。

3. 研究分担者は HBV genotype (DNA) 標準パネル作製のための国際共同研究に参加した。

D. 考察

国立感染症研究所においては体外診断薬委員会を通して国際標準品作製のための共同研究に参加することが平成 20 年度に決まり、以前より広範囲の研究者が参加した。国際共同研究への参加は国際協力に貢献であると同時に参加者にとっては最新の情報を得る良い機会である。

WHO の HBV genotype 標準パネルや米国が計画中的 HIV パネルのように、詳しく性状分析した多数の検体で構成されたパネルが作られる傾向にある。

E. 結論

WHO は 2007 年から「血液の安全性に関する体外診断薬のための標準品整備 5 カ年計画」を推進し、その成果を踏まえて 2009 に改定して新たに 12 の国際標準品等を作製することを承認した。

国立感染症研究所においては体外診断薬委員会を通して国際標準品作製のための共同研究に参加することが平成 20 年度に決まり、以前より広範囲の研究者が分担して 6 つの共同研究に参加した。

イギリス、ドイツ、米国においては体外診断薬のための標準品やランコントロールの整備が進められている。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Mizuochi, T., Mizusawa, S., Nojima, K., Okada, Y., and Yamaguchi, K. 2010. Single amino acid

substitution in the hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) "a" determinant affects the detection sensitivity of an HBsAg diagnostic kit. *Clinica Chimica Acta* 411: 605–606.

2. 学会発表

1. Mizusawa, S. and Okada, Y., 2007. Establishment of National Standards for NAT Blood Viruses and NAT Proficiency Study Program in Japan. SoGAT XX (Warsaw, Poland, 5月)
2. Mizusawa, S., Okada, Y., 2009. NAT proficiency program in Japan. SoGAT XXI (Brussels, Belgium, 5月)
3. Mizusawa, S. 2009. Preparation of Reference Panels for *in vitro* Diagnostic Tests in Japan. SoGAT Clinical Diagnostics II (Istanbul Turkey, 9月)

H. 知的財産の出願・登録状況

なし

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
庵原俊昭	小児感染症の診断	岡部信彦	小児感染症学	診断と治療社	東京	2007	21-27
齋藤良一 蒲地一成	百日咳菌		広範囲血液・尿化学検査、免疫学的検査(第7版)	日本臨牀	大阪	2010 (予定)	

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
川名 尚	五類感染症(定点把握) 性器ヘルペスウイルス感染症	日本臨牀	65	331 - 338	2007
川名 尚	単純ヘルペスウイルス	産科と婦人科	75	1490 - 1498	2008
川名 尚	研修コーナーE. 婦人科疾患の診断・治療・管理7. 外陰および膣の感染症	日本産婦人科学会雑誌	61	N47 - N53	2009
川名 尚	性器ヘルペス	日本臨牀	67	143 - 152	2009
Umene K, Kawana T, Fukumaki Y.	Serologic and genotypic analysis of a series of herpes simplex virus type 1 isolates from two patients with genital herpes.	J. Med. Virol.	81	1605 - 1612	2009
川名 尚	性器ヘルペスウイルス感染症(性器ヘルペス)	日本性感染症学会誌	20	45-49	2009
西澤美香、川名尚、西井修	新しい単純ヘルペスウイルス型特異抗体検出キットの評価	日本性感染症学会誌	20	162 - 168	2009
川名 尚、西井 修	外陰の感染症—その診断と治療	産婦人科治療	99	149 - 155	2009
庵原俊昭	人から人に感染する感染症の流行対策：現在の麻疹流行を考える	小児保健研究	66	720 - 722	2007
二井立恵、伊佐地真知子、菅谷亜弓、平田 浩、二井栄、庵原俊昭	健康成人女性における風疹抗体価と低抗体保有者に対するワクチン接種の検討	三重県小児科医会会報	74	23-33	2007
庵原俊昭	ウイルス検査法とその評価—抗体測定を中心に—	SRL宝函	別冊	S4 - S16	2007
庵原俊昭	麻疹	小児内科	40増刊号	S1110 -	2008

				S1114	
庵原俊昭	ウイルス感染症診断に必要な検査とその読み方	日本皮膚科学会雑誌	118	2727 - 2730	2008
庵原俊昭	ワクチン接種とウイルス抗体検査の評価	SRL宝函	29	41-43	2008
庵原俊昭	麻疹・風疹・ムンプス（流行性耳下腺炎）・水痘感染対策：抗体測定とその評価	CAMPUS HEALTH	45	9-14	2008
Ihara T	The strategy for prevention of measles and rubella prevalence with measles-rubella (MR) vaccine in Japan.	Vaccine	27	3234 - 3236	2009
庵原俊昭	麻疹風疹混合(MR)ワクチン－麻疹ウイルス野生株排除をめざして－	小児科臨床	61	2281 - 2286	2009
庵原俊昭、中野貴司、落合 仁、渡辺正博、二井立恵、伊佐地真知子	最近の麻疹・風疹血清疫学の特徴と麻疹・風疹混合(MR)ワクチンによる抗体反応	三重県小児科医学会報	80	4-11	2009
蒲地一成 岡田賢司	ワクチンで予防可能な疾患の病原診断とその読み方6 百日咳	小児科	50	35-41	2009
Mizuochi, T., Mizusawa, S., Nojima, K., Okada, Y., and Yamaguchi, K.	Single amino acid substitution in the hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) "a" determinant affects the detection sensitivity of an HBsAg diagnosis kit.	Clin. Chim. Acta	411	605 - 606	2010
Takahashi, Y., H. Hasegawa, Y. Hara, M. Ato, A. Ninomiya, H. Takagi, T. Odagiri, T. Sata, M. Tashiro, and K. Kobayashi.	Protective immunity afforded by inactivated H5N1 (NIBRG-14) vaccine requires antibodies against both hemagglutinin and neuraminidase in mice.	J. Infect. Dis.	199	1629 - 1637	2009
Kitada, S., K. Kobayashi, Y. Nishiuchi, K. Fushitani, K. Yoshimura, Y. Tateishi, K. Miki, M. Miki, H. Hashimoto, M. Motone, T. Fujikawa, T. Hiraga, and R. Maekura	Serodiagnosis of pulmonary disease due to <i>Mycobacterium avium</i> complex proven by bronchial wash culture	Chest	印刷中		2010 (予定)

IV. 研究成果の刊行物・別刷

D 小児感染症の診断

1 概念

ホストに病原体が感染した状態、イコール感染症ではない。生きた病原体がホストに侵入、または皮膚や粘膜表面で増殖している状態が感染であり、病原体が感染した部位や血液に運ばれてほかの部位で増殖し、ホストに臨床症状を出現させた状態が感染症である。

臨床症状は、病原体のホストへの直接侵襲と、侵入した病原体に対するホストの免疫反応から形成される。病原体の種類やホストの免疫状態により、臨床症状の主たる要因が異なっている。免疫不全者における麻疹肺炎や麻疹脳炎は麻疹ウイルスの直接侵襲による組織傷害であり、免疫健全者における麻疹脳炎は免疫反応による二次性脳炎である¹⁾。病原体の直接侵襲による臨床症状が主体のときは抗菌薬や抗ウイルス薬などの病原体の増殖を抑制する薬剤を用い、ホストの免疫反応が主体のときはステロイドなどの抗炎症薬による治療を考慮する。

感染症の診断はまず臨床症状から行い、その原因病原体が細菌なのかウイルスなのかを一般検査で判定し、病巣部位からの病原体検出によって確定診断する。病巣部位からの病原体検出が困難なときは、抗原検査や抗体検査が診断の助けとなる。

2 臨床診断

歴史上、病気の診断は臨床症状からつけられており(症候群)、麻疹と風疹、天然痘と水痘のように類似の臨床症状を呈する疾患は同一の疾患と考えられていた。その後、微生物学、病理学、臨床医学の進歩とともに、それぞれの疾患を引き起こす病原体が発見され、病原体が確定された感染症では、病原体の感染によって起こる臨床症状を呈する疾患群として感染症が診断されるようになった。

一方、咽頭炎や中耳炎のように病原体が異なっても類似の臨床症状を呈する疾患群があり、これらの疾患群では病原体による診断よりも、傷害された臓器ごとの診断名が現在も用いられている。細菌感染でもウイルス感染でも類似の症状が出現する疾患群では、適切な治療薬を選択するにあたり、一般検査や原因検査が必要である。ウイルス感染と診断したときは、原則、抗菌薬は用いない。

臨床症状により感染症の診断を行うときは、地域の流行状況、家族や集団生活の場での接触歴、各感染症の潜伏期間が、また、ワクチン予防可能疾患では予防接種歴が診断の参考になる。風疹の流行がないときの発疹性疾患に対して風疹と診断するときや、ムンプスの流行がないときの急性耳下腺腫脹例に対してムンプスと診断

するときは、ウイルス学的な検討が必要である。

下痢症の原因を考えると便性が有用である。膿粘血便のときは細菌感染症によるものであり、水様便のときはウイルス性か細菌毒素による下痢症である。下痢症の起病病原体を診断するときは、食べたものを確認する。卵料理とサルモネラ菌、鶏肉とカンピロバクター、牛肉と腸管出血性大腸菌(O157を含む)、魚介類と腸炎ピブリオ、カキなどの二枚貝とノロウイルスやA型肝炎ウイルスなどがある。数年前にはイカ菓子とサルモネラ菌感染が日本中で話題になった。また、ミドリガメなどの爬虫類からのサルモネラ菌感染も注意すべきである。

3

一般検査診断

感染症の診断に参考となる一般検査は、白血球数、血液像、C反応性蛋白(CRP)である。細菌感染症では、好中球左方移動を伴う好中球優位の白血球数増多があり、CRPが中等度から強度陽性を示す。新生児や乳児では、重症の細菌感染症に罹患すると時に白血球数の減少を認めることがあるが、血液像は好中球の左方移動を伴う好中球優位である。細菌感染症ではマクロファージが活性化されており、IL-6やIL-8などのマクロファージ関連サイトカインが上昇する。なお、細菌感染の発症からCRP陽性になるまでに数時間要するため、感染症早期ではCRPが低値を示すことがある。

マイコプラズマ感染では、白血球数は正常かやや増加するが、血液像は好中球の左方移動を伴う好中球優位のパターンである。なお、百日咳ではリンパ球優位の白血球増多となる。

一般に軽症のウイルス感染症では白血球数は正常であり、麻疹やインフルエンザなどの高熱を伴う重症ウイルス感染症では白血球数は減少する。ウイルス感染に伴うインターフェロン(IFN)による骨髄抑制が示唆されている。なお、呼吸器アデノウイルス感染症では、好中球優位の白血球増多があり、CRPも高値を示す。

細菌感染を繰り返す場合は、基礎疾患の有無を検討する。ブドウ球菌や大腸菌などのカタラーゼ非産生菌による感染を繰り返す場合は慢性肉芽腫症(CGD)を疑い、好中球の活性酸素産生能を検査する。細菌性中耳炎を繰り返す場合は、肺炎球菌やインフルエンザ菌の莢膜多糖体に対する抗体産生(IgG2分画)能が遅延または低下している危険性があり、IgG分画を検査する。IgG2欠損はまれで、多くは抗体産生能の遅延であり、4歳頃には改善する。マクロファージの細胞内殺菌能が低下していると、サルモネラ菌、リステリア菌、結核菌、非結核性抗酸菌などの細胞内寄生菌感染が重症化する。CGD以外にもマクロファージを活性化させるT細胞系やIL-12-IFN γ 系の異常に注意する。

ポリオウイルス、日本脳炎ウイルスなどの細胞融解性が強く血漿中にフリーウイルスが多く存在するウイルス感染症では、B細胞機能低下時に重症化する。一方、麻疹ウイルス、水痘・帯状疱疹ウイルス(varicella-zoster virus; VZV)などの細胞親和性が強いウイルスでは、T細胞機能が低下していると重症化する。また、NK細胞

機能が低下しているとEBウイルス(Epstein-Barr virus; EBV)感染が重症化する。各種感染症が重症化する場合は、基礎疾患の有無を検索することが大切である。

4 病原診断(分離同定, 迅速診断)

病原体を診断する方法として、感染病巣から細菌やウイルスを分離する方法、迅速診断法を用いて細菌蛋白やウイルス蛋白を検出する方法、ポリメラーゼ連鎖反応 polymerase chain reaction (PCR) 法や loop-mediated isothermal amplification (LAMP) 法などの遺伝子工学手法を用いて細菌遺伝子やウイルス遺伝子を検出する方法などがある²⁻⁵⁾。感染症診断の gold standard は感染病巣からの病原体の分離同定である。細菌培養においては、培養検査前に抗菌薬が投与されていると、目的とする細菌が培養されない危険性がある。

感染病巣から細菌やウイルスを分離する際には、適切な部位から適切な方法でサンプルを採取し、適切な方法と温度でサンプルを移送し、適切な培地や培養細胞にサンプルを接種することが大切である^{2,3)}。目的とする細菌やウイルスに応じて使用する培地や培養細胞が異なっている。適切な培養結果を得るためには、患者の背景や病態を検査室(検査機関)に伝えるとともに、症状から疑っている病原体をコメントすることも大切である。臨床症状から原因病原体としての頻度が高い細菌やウイ

表1 感染症の病態と起因病原体(1)細菌

局所で増殖して発症	
中耳炎・乳様突起炎	肺炎球菌, インフルエンザ菌, モラクセラ菌, A群レンサ球菌
上気道感染症	インフルエンザ菌, 肺炎球菌, モラクセラ菌, β レンサ球菌
下気道感染症	インフルエンザ菌, 肺炎球菌, マイコプラズマ, 肺炎クラミジア
消化器感染症	病原性大腸菌, カンピロバクター, サルモネラ菌
尿路感染症	大腸菌
皮膚軟部組織感染症	ブドウ球菌, A群レンサ球菌
生殖器感染症	クラミジア, 淋菌
局所での増殖と産出された毒素により発症	
呼吸器感染症	百日咳菌, ジフテリア菌, β レンサ球菌
消化器感染症	毒素原性大腸菌
皮膚軟部組織感染症	破傷風菌, 劇症型レンサ球菌
菌血症(敗血症)により運ばれて発症	
髄膜炎	インフルエンザ菌b型, 肺炎球菌, 髄膜炎菌, B群レンサ球菌, 大腸菌, リステリア菌
骨髄炎・関節炎	ブドウ球菌, 肺炎球菌, インフルエンザ菌, サルモネラ菌
感染性心内膜炎	α レンサ球菌

表2 感染症の病態と起因病原体(2)ウイルス

局所で増殖して発症	
呼吸器感染症	インフルエンザウイルス, RSウイルス, パラインフルエンザウイルス, ライノウイルス, アデノウイルス, メタニューモウイルス, コロナウイルス
消化器感染症	ロタウイルス, 腸管アデノウイルス, ノロウイルス, サボウイルス, アストロウイルス
結膜感染症	HSV, アデノウイルス
生殖器感染症	HSV, パピローマウイルス
局所での増殖とウイルス血症により運ばれて発症	
髄膜炎	エンテロウイルス, ポリオウイルス, ムンプスウイルス,
肝炎	A型肝炎ウイルス, E型肝炎ウイルス
ウイルス血症により運ばれて発症	
発疹性感染症	麻疹ウイルス, 風疹ウイルス, VZV, HHV-6, HHV-7, パルボウイルスB19
肝炎	B型肝炎ウイルス, C型肝炎ウイルス
脳炎	日本脳炎ウイルス, ウエストナイルウイルス
その他	ムンプスウイルス, CMV, EBV, HIV

HSV：単純ヘルペスウイルス, VZV：水痘・帯状疱疹ウイルス, HHV-6：ヒトヘルペスウイルス6型, HHV-7：ヒトヘルペスウイルス7型, CMV：サイトメガロウイルス, EBV：EBウイルス, HIV：ヒト免疫不全ウイルス

ルスを表1, 2に示した。なお、肺炎、骨髄炎、関節炎、髄膜炎の起因菌診断には、血液培養が有用である。感染病巣以外から分離された細菌やウイルスの意味づけについては、その感染症の病態や臨床検査結果などを加味し、総合的に判断する。特にヘルペス群ウイルスのように持続感染しているウイルスが検出されたときは、分離結果を慎重に評価する必要がある。

培養、迅速診断にかかわらず、上気道感染症の病原体を採取する際には、鼻咽頭からのサンプル採取がすぐれている。耳鼻科用綿棒を用いて鼻前庭より挿入し、鼻咽頭に軽く突き当てたあと、綿棒を回しながらサンプルを採取する。生理食塩水を用いて、鼻咽頭を洗浄後に吸引して採取する方法もある。

成人や高齢者では尿中肺炎球菌迅速検査が肺炎球菌感染症の診断に有用であるが、6歳以下の幼児では繰り返し肺炎球菌の感染を受けているため、診断的価値は低下する。髄膜炎起因菌の迅速診断検査は、グラム染色検査と併せ起因菌の早期同定に有用な検査である。適切な抗菌薬早期使用の指標となる。

迅速診断の感度がよくなると、検出された病原体の臨床への関わりについて判断することが大切である。同じ病原体が感染しても、ホストの免疫状態により様々なレベルの臨床症状が出現する。インフルエンザウイルス感染時、迅速診断によりウイルス蛋白が検出されたとしても、インフルエンザ様症状を呈する例や普通感冒症状を呈する例がある。

5 抗体診断

多くのウイルス感染症や百日咳、マイコプラズマ、クラミジアなどの一部の細菌感染症では、抗体検査が診断に有用である。マイコプラズマでは血中IgM抗体の迅速診断キットが市販され臨床に用いられている⁶⁾。クラミジアではIgA抗体測定が活動性感染の診断に有用である⁷⁾。また、百日咳では百日咳様症状があり、流行株、ワクチン株にかかわらず凝集反応が陽性を示す場合は、百日咳と診断する。

抗体検査でウイルス感染症を診断する方法として、①IgM抗体を検出する、②抗体の有意上昇を確認する、の二種類の方法がある。IgM抗体は主として酵素免疫測定(enzyme immunoassay; EIA)法で測定する。抗体の有意上昇とは、急性期に採取した血清と急性期から2～4週間経過した回復期に採取した血清の抗体価を同じ方法で測定し、測定誤差以上[赤血球凝集抑制試験(hemagglutination inhibition test; HI test)や中和試験(neutralization test; NT test)では2管(4倍)以上]の上昇を示すことである。EIA法での測定誤差以上の上昇とはEIA価2倍以上の上昇である。EIA法での有意上昇の定義は確立されていないが、2倍以上の抗体価上昇または、HI testなどと同様に4倍以上の抗体価上昇が用いられている。

ウイルス性髄膜炎や脳炎などの診断には、血清と同時に髄液のウイルス抗体価を測定する。血液髄液関門の破綻による血清IgGの流入を除外するために、抗体インデックス $[(\text{髄液ウイルス抗体}/\text{血清ウイルス抗体}) \div (\text{髄液IgG}/\text{血清IgG})]$ が用いられる。インデックスが2を超えると、そのウイルスが中枢神経系に感染している根拠となる⁸⁾。

血清抗体測定は、病原体に対する免疫状態を調べるときにも用いられる。このときには補体結合反応検査(complement fixation reaction test; CF test)は用いない。おもなウイルスに対する適切な抗体測定方法を表3に示した⁹⁾。EIA法は他の測定方法に比べ高価である。

血清抗体の最低陽性レベルと感染防御レベルは必ずしも一致しない。感染曝露前後やワクチン接種前後の抗体レベルの変動から、血清抗体レベルには、①感染を受けないレベル、②感染を受けて抗体価は上昇するが発症しないレベル、③感染を受けて発症するが軽症の経過をとり(修飾感染)、抗体価も上昇するレベル、④感染を受けて発症し通常の臨床経過を示し、抗体価が上昇するレベルの4段階がある。通常の臨床症状が発症する抗体レベルは抗体陰性である。麻疹や風疹における各レベルの抗体価を表4に示した⁹⁻¹¹⁾。麻疹はマイクロ中和試験で、100%細胞変性効果抑制を示す血清希釈倍数の逆数で表示したときの抗体価である。

インフルエンザにおいてHI抗体40倍では感染防御率は50%であり、抗体価が上昇するにつれ感染防御率は上昇し、発症したとしても軽症化する。また、パリズマブの臨床効果から、同じ局所性ウイルス感染症であるRSウイルスにおいても、高い抗体価を有していると軽症化する。

表3 目的に応じて選択するウイルス抗体測定法

感染症	免疫の有無*	感染の診断	
		シングル血清	シングル血清
麻疹	NT, EIA-IgG	EIA-IgM	HI, NT
VZV	IAHA, EIA-IgG	EIA-IgM	IAHA
ムンプス	EIA-IgG	EIA-IgM	HI, NT
風疹	HI, EIA-IgG	EIA-IgM	HI
EBウイルス	EBNA, VCA-IgG	EADR, VCA-IgM	VCA-IgG
CMV	FA-IgG	FA-IgM	FA-IgG, CF
インフルエンザ	HI		HI
日本脳炎	HI		HI

VZV：水痘・帯状疱疹ウイルス、CMV：サイトメガロウイルス、
 NT：中和法、EIA：酵素免疫法、HI：赤血球凝集抑制試験、IAHA：免疫粘着血液凝集法、
 FA：蛍光抗体法、CF：補体結合反応試験
 *：免疫の有無を調べるときにCFは用いない。

表4 目的に応じて選択するウイルス抗体測定法

	抗体価	
	麻疹 (mNT)	風疹 (HI)
抗体陽性	≥ 2 倍	≥ 8 倍
臨床との関係		
典型発症	< 2 倍	< 8 倍
軽症発症	≥ 2 倍 ~ < 4 倍	不明*
発症しないが抗体ブースターあり†	≥ 4 倍 ~ < 32 倍	≥ 8 倍 ~ < 64 倍
抗体ブースターなし‡	≥ 32 倍	≥ 64 倍

mNT：マイクロ中和試験、HI：赤血球凝集抑制試験
 *：風疹 HI 抗体 8 倍には時に擬陽性が含まれる。
 †：ウイルスは感染して抗体価は上昇するが、保有している免疫により発症は免れる。
 ‡：抗体の動きからウイルスは体内に侵入していない。

文献

- 1) Griffin DE: Measles virus. In: Fields BN, Howley PM, Griffin DE, et al.(eds), *Fields Virology*. 4th ed, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2001; 1401-1441.
- 2) 庵原俊昭, 豊田美香, 中野貴司・他: アメリカ微生物学会(ASM)のウイルス分離用採取ガイドラインからみたわが国コマーシャルラボの採取方法の検討. *小児感染免疫* 1999; **11**: 103-107.
- 3) 満田年宏: 細菌培養検査; 起因菌の同定と汚染菌との鑑別. *小児内科* 2005; **37**: s472-s477.
- 4) 庵原俊昭: ウイルス感染症の診断. *小児科診療* 2005; **68**: 1992-1999.
- 5) 斎藤義弘: ウイルス分離, PCR, ウイルス抗体価の利用法. *小児内科* 2005; **37**: 42-47.
- 6) 小松茂夫: マイコプラズマ検出法; マイコプラズマ抗体・寒冷凝集反応. *小児内科* 2005; **37**: s536-s541.
- 7) 山崎 勉: クラミジア血清学的診断法. *小児内科* 2005; **37**: s545-s548.
- 8) 椎原弘章: 髄液ウイルス抗体価. *小児内科* 2005; **37**: s152.
- 9) Chen RT, Markowitz LE, Albrecht P, et al.: Measles antibody; reevaluation of protective titers. *J Infect Dis* 1990; **162**: 1036-1042.
- 10) Ward BJ, Aouchiche S, Martel N, et al.: Measurement of measles virus-specific neutralizing antibodies; Evaluation of the syncytium inhibition assay in comparison with the plaque reduction neutralization test. *Virology* 1999; **33**: 147-152.
- 11) 庵原俊昭: 予防接種の方法ー望ましい接種時期と接種方法. *小児科診療* 2004; **67**: 2005-2011.

(国立病院機構三重病院小児科 庵原俊昭)

五類感染症(定点把握)

性器ヘルペスウイルス感染症(性器ヘルペス)

Genital herpes

川名 尚

Key words : 性器ヘルペス, 臨床, 抑制療法, 診断法, 感染病理

はじめに

性器の単純ヘルペスウイルス(herpes simplex virus: HSV)1型(HSV-1)または2型(HSV-2)の感染によって発症する性器ヘルペスは代表的なウイルス性性感染症である。性感染症の中で女性では性器クラミジア感染症に次いで第2位に、男性では淋菌感染症、性器クラミジア感染症に次いで第3位に位置する重要な疾患である。

潜伏感染と再活性化を繰り返すHSVの独特な感染病理のため、この感染症を完全に制御することは難しく、再発を繰り返すため臨床例は蓄積していく一方であろう。

本疾患の特徴ともいえる再発は、患者を肉体的ばかりでなく精神的にも苦しみQOLが低下する。その対策のために抑制療法が登場した。

本稿では、感染病理学、臨床、新しい検査法の動向、そして、最近の抗ウイルス療法やワクチン開発の現況などを述べたい。著者は産婦人科医であるので女性の性器ヘルペスを中心に述べることをお救し願いたい。

1. 臨床症状

性器ヘルペスは臨床的に初発と再発に分けられる。

a. 初 発

初発は、初感染初発と非初感染初発に分けられる。

1) 初感染初発

HSVに初めて感染して発症する場合である。感染の機会があってから平均3~7日(2~21日)の潜伏期の後に発症することが多い。発症前に外陰部のそう痒感などの症状を呈することがある。比較的突然に外陰部に浅い潰瘍や水疱が出現する。病変の数は数個から無数のものまでである。一般的にはまず水疱ができこれが破れて潰瘍またはびらんになるが、粘膜面は最初から潰瘍またはびらんとなることが多い。動物実験によるとHSV-1に比べてHSV-2は水疱性病変を経ないで潰瘍性病変を形成しやすいというが¹⁾、著者の経験でも性器ヘルペスの初感染では粘膜面に水疱を形成する場合はHSV-1による場合が多かった。

外陰部の疼痛は排尿や椅子に腰かけることもできないほど強く、ときに歩行も困難となる。両側のソケイ部のリンパ節の腫脹圧痛はほぼ必発である。約6~7割に発熱、全身倦怠感などの全身症状を伴う²⁾。女性では約3割に、男性では約1割に無菌性髄膜炎を併発するとされている³⁾。これらの例では、髄膜刺激症状のため頭痛や項部硬直、ときに羞明感を訴える。また、Elsberg症候群として知られている仙骨神経根

Takashi Kawana: Department of Obstetrics and Gynecology, Teikyo University Faculty of Medicine Mizonokuchi Hospital 帝京大学医学部附属溝口病院 産婦人科, Teikyo Heisei Nursing Junior College 帝京平成看護短期大学

0047-1852/07/¥40/頁/JCLS

神経障害を併発し、排尿排便困難となり、ときに尿閉に至ることもある。著者の経験では HSV-2 に初感染した例の 13.5%、HSV-1 初感染例の 0.9% に本症状がみられた。髄膜刺激症状や Elsberg 症候群は明らかに HSV-2 感染例が HSV-1 感染例よりも多く、HSV-2 の好神経性がうかがわれる。

発症時に HSV 抗体が陰性である。約 2~3 週間で自然治癒するが、後述する抗ヘルペスウイルス薬を投与すると約 1 週間でかなり軽快する。

2) 非初感染初発

無症候のうちに既に知覚神経節に感染していた HSV が再活性化され発症したものである。したがって、発症時に既に HSV 抗体は陽性である。症状は前述の初感染と同様であるが、病変の数はより少なくソケイリンパ節の腫脹の頻度も少ない。発熱などの全身所見はみられず治癒までの期間も短く全体としてより軽症であることが多い。

b. 再 発

以前に発症したことのある例が再び発症した場合を再発としている。知覚神経節に潜伏感染している HSV の再活性化によって発症する。大体同じ部位に再発することが多いが、ときに別の部位に再発することもある。病変は小水疱や潰瘍性病変が 1~数個出現する。

発熱することもなく、ソケイリンパ節が腫脹することは少ない。多くは 1 週間以内に自然治癒する。再発する前に大腿後面に神経痛様の疼痛があったり、再発する局所に違和感を感じるなどの前兆が約 30~50% の患者にみられる。HSV が再活性化し知覚神経を刺激しているためであろう。

再発の頻度は HSV-2 感染例の方が HSV-1 感染例よりもはるかに多い。著者の追跡調査では、HSV-2 感染例は 1 年以内で約 90% 再発したのに対し、HSV-1 感染例は約 25% であった⁹⁾。文献的には HSV-2 初感染例の再発頻度について 38% は年間 6 回以上で 20% は 10 回以上再発するという⁹⁾。経時的にみると再発回数は次第に減少する例のある一方で、あまり変わらないもの、逆に増えるものなどのあることが知られて

いる⁹⁾。

再発の契機となるのは、心身の疲労、風邪などの発熱、女性では月経などが多く、このことは全身や局所の免疫能の低下をもたらすからではないかと考えている(新感染症学上巻：性器ヘルペスウイルス感染症の再発の稿参照)。

再発を繰り返す患者においては、再発が心身に大きなストレスとなり QOL を著しく損ねることになる。このような観点から、後述する抗ヘルペスウイルス薬を持続的に服用し再発を抑制する抑制療法が開発された。

2. 広い臨床的なスペクトラム

性器の HSV 感染は臨床的に広いスペクトラムを有する。上述したような典型例は 50% 以下であるともいわれている。例えば病変の形であるが、浅いのが一つの特徴ではあるがときにより深いものもある。また、形は円~楕円形が多いが、ときに線状の浅い潰瘍のことがある。大きさも非常に小さいピンホール程度のこともあり、しばしば見逃されている。

外陰部には病変がみられず子宮頸部にのみ病変がみられることがある。性器には何の病変もなく尿道炎症状を呈することがある。神経症状のみを呈する Mollaret 髄膜炎のような場合もある⁷⁾。再発の前兆として大腿後面の神経通様の疼痛が特につらいという患者もいる。そこで著者は、表 1 のような初診時の性器ヘルペスの臨床分類を考えている。

更に、何ら症状を呈しないで HSV を性器に排泄している無症候性ウイルス排泄者も多い⁸⁾。性器ヘルペス患者の性的パートナーの約 70% は無症候であるといわれているが、このような事情によるものであろう。PCR 法を用いて調べると、HSV-2 抗体陽性者の 28% は性器に HSV-DNA を排出しているという⁹⁾。無症候性ウイルス排泄者が恐らく性器の HSV 感染を広めてきたと考えられている。

3. 感染病理からみた性器ヘルペス

a. HSV の型と性器ヘルペス(表 2)

35 年間に著者の経験した 698 例の性器ヘル