

蛍光抗体吸収) 試験がある。カルジオリピン抗体検査法は昔からあるワッセルマン反応(補体結合反応)のほか、緒方法(補体結合反応)、ガラス板(沈降)法、RPR (rapid plasma reagin) カードテスト(凝集法)、梅毒凝集法などがあり、STS法 (serological tests for syphilis) と総称されているが、厳密な意味では、STS法は梅毒血清反応すべてを指している。緒方法は、手技が煩雑なため用いられていない。現在は、RPRカードテストやガラス板法などが広く用いられているが、ガラス板法は2009年度をもって中止となった。髄液試料にはRPRカードテストは適さないため、梅毒凝集法などが用いられる。梅毒トレポネーマ抗体検査法とカルジオリピン抗体検査法は、用手法による従来の検査法は人件費や再現性などの問題から自動分析装置を使用した自動化が行われるようになり、各社でキットを発売するようになった。しかしこれら倍数希釈法と自動分析装置による検査法での各キット間の相関性を十分に検討したデータは存在しないのが現状である。

TPHA 試験

1. 検査の具体的な内容・方法

ホルマリン・タンニン酸処理ヒツジ血球に Nichols 株 T.p の菌体成分を吸着させた感作血球を抗原とする間接血球凝集反応である。試験管の底に生ずる特有な血球凝集像で判定され、血球凝集が起これば陽性と判定する。血清は最終血清濃度 1:40 倍から希釈開始され、1:80 未満を陰性とする。血清を使用し、抗凝固剤を使用した場合は、非特異的凝集を示すことがある。近年、血球を用いずにゼラチン粒子を用いた PA (particle agglutination) 法、ラテックスを用いた LA (latex agglutination) 法などがあり、それぞれ TPPA、TPLA と、または総称して TPHA とよばれている。

基準範囲

定性 (-)

定量

用手法 80 倍未満 (陰性)

自動化法 (TPLA)

10.0 TU 未満 (陰性)

10.0 ~ 20.0 TU 未満 (判定保留)

表 1 血清反応の基準値

定性法:

陰性 (ただし、TPLA は 10TU 未満)

定量法:

ガラス板法: 1 倍未満

梅毒凝集法: 1 倍未満

RPR: 1 倍未満

1R.U. 未満 (自動化法)

TPHA: 1:80 倍未満

TPLA: 10TU 未満

FTA-ABS: 20 倍未満

FTA-ABS-IgM: 5 倍未満 (20 未満)

TPLA: *treponema pallidum* latex agglutination

RPR: rapid plasma reagin card test

TPHA: *treponema* hemagglutinin test (間接赤血球凝集反応)

FTA-ABS: fluorescent *treponema* antibody absorption test (蛍光抗体法)

日本臨牀 68巻 増刊号6 (2010年6月20日発行) 別刷

広範囲 血液・尿化学検査 免疫学的検査

—その数値をどう読むか—

[第7版]

(3)

IX. 免疫学的検査 E. 感染症関連検査(抗原および抗体を含む)

非ウイルス性感染症

梅毒血清反応(STS, FTA-ABS法, IgM-FTA-ABS法,
TPHA法)

本田まりこ

IX. 免疫学的検査 E. 感染症関連検査(抗原および抗体を含む)

非ウイルス性感染症

梅毒血清反応(STS, FTA-ABS法, IgM-FTA-ABS法, TPHA法)

Serologic test for syphilis(STS, FTA-ABS, IgM-FTA-ABS, and TPHA)

本田まりこ

Key words

カルジオリピン抗体検査法(非特異的トレポネーマ抗体検査法), RPRカードテスト, 梅毒トレポネーマ抗体検査法, FTA-ABS法, TPHA法

1. 概 説

梅毒は梅毒トレポネーマ(*Treponema pallidum* subsp. *pallidum*, *T. pallidum*)の感染による全身性、慢性の性感染症である。梅毒の診断は、病原体である *T. pallidum* の検出と血清反応によるが、梅毒は無症状の時期が長く、一般的に梅毒血清反応が利用される。梅毒の血清学的検査としては、*T. pallidum* 抗原を用いる梅毒トレポネーマ抗体検査法と梅毒脂質(カルジオリピン)抗原を用いるカルジオリピン抗体検査法(非特異的トレポネーマ抗体検査法)がある。*T. pallidum* 抗原はウサギの精巣で植え継がれた *T. pallidum* Nichols株より作製する。TPHA(*T. pallidum* hemagglutination)法とFTA-ABS(fluorescent treponemal antibody absorption test, 梅毒トレポネーマ蛍光抗体吸収)法がある。カルジオリピン抗体検査法は昔からある Wassermann反応(補体結合反応)のほか、緒方法(補体結合反応)、ガラス板(沈降法)、RPR(rapid plasma reagin)カードテスト(凝集法)、梅毒凝集法などがあり、STS(serological tests for syphilis)と総称されている。緒方法は、手技が煩雑なため現在では用いられない。従来RPRカードテストやガラス板法などが広く用いられ

ていたが、ガラス板法は2009年度をもって中止となった。髄液試料にはRPRカードテストは適さないため梅毒凝集法などが用いられる。

カルジオリピン抗体検査法は、治療の判定に必要な検査法で、8倍以下になった場合治癒と見なす。また、用手目視による倍数希釈値で表される方法(以下、倍数希釈法)が一般的であったが、近年新しい自動分析装置による検査法が一般的になりつつある。更に倍数希釈法で問題となる用手目視に必要な人件費、非効率性のため自動化法のみを採用する検査会社が今後も増加し、倍数希釈法が委託できなくなることが予測される。しかしこれら倍数希釈法と自動分析装置による検査法での抗体価の相関性を十分に検討したデータは存在しないのが現状で、その乖離も指摘される。また感染症法においては梅毒の無症状病原体保有者の届け出の基準としてカルジオリピン抗体法で16倍以上という規定がある。これは倍数希釈法による測定値を想定したものであり、自動分析装置による方法での届け出基準を判断するデータは存在しないが、RPRの場合16R.U.以上のものを届けることになり、治癒は15.9R.U.以下とした。

*T. pallidum*に感染後約1週間でまず *T. pallidum* に対するIgM抗体が産生され、続いて2-5

Mariko Honda: Department of Dermatology, Aoto Hospital, Jikei University School of Medicine 東京慈恵会医科大学附属青戸病院 皮膚科

0047-1852/10/¥40/頁/JCOPY

表1 抗体価の相互関係

	カルジオリピン抗体法		梅毒トレポネーマ抗体検査法	
	RPRカードテスト	RPR(自動分析装置)(R.U.)	TPHA	TPLA(T.U.)
N(陰性)	0	0~<1	0	0~<20
L(低い)	1, 2, 4, 8	1~<10	80, 320	20~<900
M(中等度)	16, 32	10~<40	1,280	900~<3,500
H(高い)	64<	40<	5,120<	3,500<

(川井和久, 大里和久: メディエース RPR, TPLA を用いた梅毒病期の判別可能性について, 医療と検査機器・試薬 26(4): 301-304, 2003 より改変)

週後カルジオリピンに対する IgM 抗体, IgG 抗体, 最後に *T. pallidum* に対する IgG 抗体が産生される。一般的にその陽転順序はまず IgM-FTA-ABS 抗体が陽転し, 次に FTA-ABS とカルジオリピン抗体法がほぼ同時に陽転し, TPHA 法が最も遅く陽転する傾向がみられる。近年用いられるようになった自動分析装置での測定法の陽転期は TPHA 法より少し早いか同程度である。一般の梅毒のスクリーニング(ふるい分け)検査にはカルジオリピン抗体法が用いられるが, 梅毒だけではなく, 膠原病や肝臓病, 妊娠などでも陽性となる(生物学的偽陽性)ことがあるので, 更に TPHA 法を行い, これも陽性であれば梅毒と診断する(表1)。

カルジオリピン抗体法が陽性で TPHA 法が陰性の場合, 更に FTA-ABS を行い, これが陽性であれば梅毒と診断される。検査結果が陰性と出ても, 疑わしい場合には3-4週間後に改めて検査を行う。先天性梅毒を疑う場合, 生後6カ月間は母親からの移行抗体があるため感染がなくても陽性となるため, IgM-FTA-ABS 抗体を検出する方法が有用である。

2. カルジオリピン抗体法

RPR カードテストと自動分析装置によるランリウム STS, メディエース RPR, メディエース RPR「N」, イムノティクルス RPR オート3, LASSAY RPR の5キットが承認され, 販売されている。

A. RPR カードテスト¹⁾

1) 目的

T. pallidum の感染によって生じる脂質抗原に

対する抗体の血清または血漿からの検出ならびに測定。

2) 試料の採取方法, 保存条件

採血後24時間以内に使用。使用できない場合, 遠心分離後血清を-20℃以下に冷凍。血漿の場合, 2-8℃に保存。使用時室温に戻す。溶血, 汚染, 濁りの激しい検体は使用不可。また, 脊髄液検査には使用できない。

3) 測定方法

T. pallidum に交差反応性を有するカルジオリピンに精製レシチンを加えることにより抗原性を上げたもので, カルジオリピン・レシチン抗原を吸着させたカーボン粒子を, 梅毒患者の血清または血漿中に存在する抗体様物質「レアギン」と反応させると凝集反応を起こし, プラスチックコートが施されている白い反応カードの表面に黒い凝集塊が現れるのを白熱灯または明るい日光のもとで湿っている間に肉眼で判定する。反応はローテーターに恒温カバーをして100±2rpmで8分間回転させて行う。定性試験で陽性のもは検体を2倍希釈で反応させる。

4) 基準値

陽性: 大小の凝集塊が認められるもの。

陰性: 凝集塊が認められないか, または粒子がわずかに粗い感じのするもの。

5) 生理的変動(測定に影響を及ぼす因子)

レアギンは, しばしば急性疾患, 慢性疾患患者の血清または血漿中からも検出される(生物学的偽陽性)。プロゾーン現象(抗原過剰性反応)は二期梅毒患者の1-2%で起こり, これらの検体は, わずかに粗い感じの粒子の陰性パターンを示す。希釈すると反応性は増加するが,

滴定濃度エンドポイントに近づくと、反応性は減少する。ざらざらした外観となった検査検体は更に、詳しい評価を行う。カルジオリピン抗体法では、梅毒の潜伏初期と末期で偽陰性を呈することがある。

6) 臨床的意義(異常値を示す疾患)

伝染性単核細胞症、ハンセン病、マラリア、種痘疹とウイルス性肺炎、麻薬中毒と紅斑性狼瘡などの自己免疫疾患も偽陽性反応を示すことがある²⁾。ピンタ、いちご腫、ベジェルなどのトレポネーマによる疾患は、この検査で陽性反応を示す。

7) 関連検査項目

ガラス板法や梅毒凝集法があるが、ガラス板法は行われなくなった。

B. 梅毒凝集法³⁾

1) 目的

T. pallidum の感染によって生じる脂質抗原に対する抗体の血清または血漿からの検出ならびに測定。

2) 試料の採取方法、保存条件

混濁や溶血が強いときは、測定にあたって、生理食塩液で 1:5 に希釈した後で、遠心分離を行う。恒温槽中に、56°C で 30 分間もしくは 62°C で 3 分間おいて、血清に含まれる補体成分を不活化する。前日に不活化済みの場合は、測定の直前に、56°C で 10 分間加温する。髄液を検体とする場合は、希釈も不活化もせずにそのまま使用する。ただし、血球その他の有形成分を含んでいるときには遠心分離を行う。

3) 測定方法

T. pallidum と交差抗原性を有するリン脂質であるカルジオリピンを用いて、検体中の梅毒抗体を検出する。すなわち、カルジオリピンの抗原性を高めるために適量のレシチンを加えたカルジオリピン・レシチン抗原に、増感剤としてカオリン粒子を吸着させた抗原浮遊液を用い、検体中の梅毒抗体との結合により生ずる抗原粒子の凝集塊の有無を肉眼で判定する。すなわち、検体を系統的に希釈し、これらに抗原浮遊液を加え、恒温槽中に 37°C 30 分放置後遠心。上清を捨て、試験管を振って凝集の有無をみる。

4) 基準値

3: 凝集塊の大きさが平均 1mm くらいに達しており中間液は透明。

2: 3 と 1 との中間の強さ。

1: 凝集塊は極めて小さいが、対照に比べると、粒子全体が粗いことが肉眼で明らかに認められる。

?: ごく一部の粒子が粗いと認められるが、大部分の粒子は細かく浮遊して、肉眼ではほんやり濁っている。

0: 粒子の凝集が全く認められない。

3本の試験管の凝集の強さにより、1本でも異常を呈するものを陽性とし、?のある場合、抗体過剰による地帯現象の可能性があるので、希釈して再検する。

5) 生理的変動(測定に影響を及ぼす因子)

他の疾患(肝疾患、自己免疫疾患、ウイルス感染症など)による抗体についても反応することがある(生物学的偽陽性)。免疫グロブリンを含む血液製剤を投与されている患者血清では、投与された製剤による陽性反応を呈する場合があります。

6) 臨床的意義(異常値を示す疾患)

髄液検査には最も適する。

C. 自動分析装置によるカルジオリピン

抗体法

いずれもラテックス凝集法であるランリーム STS、メディエース RPR、メディエース RPR [N]、イムノティクルス RPR オート 3、LASSAY RPR のうち測定法が異なるメディエース RPR とランリーム STS について述べる。

1) メディエース RPR

人工担体であるラテックス粒子を用い、ラテックス比濁法を利用した原理によって血清中の梅毒抗脂質抗体を迅速に自動分析装置で測定する試薬で、血清中の抗 *T. pallidum* 抗体を検索する試薬もある。検体量 20 μ L、測定単位は R. U. (RPR UNITS) であり、1 R. U. は RPR カード法の 1 倍に相当する。治癒後、早期に陰性化する。

2) ランリーム STS

特殊な免疫凝集測定装置を使用し、検体量は 10 μ L、反応時間わずか 15 分の微量・迅速測定

ができる。すなわち、抗原抗体反応による個々の凝集ラテックスを、シースフロー中で直接カウントして解析するため、微量の蛋白も高感度に測定できる。非特異反応がほとんどなく、低濃度域から高濃度域まで、正確な測定が行える。定性および定量が行える。1SU以上が陽性で、測定範囲1-16SU/mL。

3. 梅毒トレポネーマ抗体検査法

A. TPHA (*Treponema pallidum* hemagglutination) 法

梅毒トレポネーマ抗体検査法は *T. pallidum* 菌体成分を抗原に主に凝集反応による測定試薬が使用されている。凝集反応には動物の赤血球を用いた hemagglutination (HA) 法やゼラチン粒子を用いた PA (particle agglutination) 法、ラテックスを用いた LA (latex agglutination) 法などがあり、それぞれ TPHA、TPPA、TPLA と呼ばれている。または、総称して TPHA 法と呼ばれている。TPHA 法では、主に IgG 抗体を検出するため、カルジオリピン抗体法に比べて初期感染では陽性化するのが遅いといわれている。*T. pallidum* 抗原反応は梅毒に対する特異性が極めて高いので、梅毒の診断には有用であるが、治療の適応あるいは治療効果の判定などには不適当である。有効治療が加えられても容易に抗体価の低下がみられず、また半永久的に陽性を持続する。なお IgM-TPHA は測定試薬の製造・販売が中止となっている。

1) 目的

血清中の *T. pallidum* 抗体の測定。

2) 試料の採取方法、保存条件

採血は溶血を避け、早朝空腹時(食後12-14時間)に行う。

3) 測定方法

菌体成分の一部に対する間接赤血球凝集反応である。

マイクロプレートに吸収液をたらし、その後検体を25 μ L入れ、2穴目から2倍希釈を行う。非感作血球を第2穴目に75 μ L、別のドロップパーを用いて感作血球を第3穴目から第8穴目(最終穴)まで、75 μ Lずつ滴下する。マイクロ

プレートをミキサーにかけ、30秒程度十分に混和後、蓋をして室温に静置し、2時間後に判定する。

微細な凝集を見落とさないように十分に観察する必要があるため、判定用ビューアの上で判定する。

4) 基準値

判定は、1:80倍で(1+)以上を示すものを陽性とする。

陰性(-): 血球はボタン状またはリング状に集まり、外縁はなめらかな円形を示す。

疑陽性(±): 血球はボタン状またはリング状となるが、外縁は不鮮明な部分が認められる。疑陽性には陰性(-)と陽性(1+)の中間形を含む。

陽性(1+): 血球リングが陰性対照よりも明らかに大きく薄く、周辺に多くの血球凝集がみられる。

陽性(2+): 凝集が明らかにみられ、底全体に血球が膜状に沈着する。

陽性(3+): 膜状に沈着した血球が一部中心に向かってスリップした状態を示す。

5) 生理的変動(測定に影響を及ぼす因子)

抗凝固剤を使用した場合は、非特異的凝集を示すことがある。

6) 臨床的意義(異常値を示す疾患)

本試験陽性者は、*T. pallidum* 感染または既感染者であるが、免疫グロブリンを含む血液製剤を投与されている患者血清では、投与された製剤による陽性反応を呈する場合がある。まれにプロゾーン現象を呈することがあるので、その場合希釈して用いる。

7) 関連検査項目

自動分析装置による測定法が近年行われてきている。また、化学発光免疫測定法(chemiluminescent immunoassay: CLIA法)は被検血清にアルカリホスファターゼ標識 *T. pallidum* リコンビナント抗原と反応させ、化学発光基質である AMPPD を加えることによりアルカリホスファターゼの触媒作用で分解され光が放出される。専用アナライザーで発光の量により定量する方法である。IgG抗体とIgM抗体を同時に検出し、

表 2 FTA-ABS 測定結果の判定法

BV 励起方式		UV 励起方式		判定
1:5	1:20	1:5	1:20	
4+~3+	4+~3+	4+~2+	4+~2+	陽性
3+~2+	3+~2+	2+~1+	2+~1+	
2+	1+~±	1+	±~-	±
1+	1+~±	±	±~-	陰性
±	±~-	-	-	
-	-			

高感度かつ高特異性をもつ。

インフルエンザウイルス試験のようにイムノクロマトグラフィによる迅速診断も可能になっている。

B. FTA-ABS (fluorescent treponemal antibody absorption test)

1) 目的

血清中の *T. pallidum* 抗体の検出。菌体すべてを抗原とする。

2) 試料の採取方法, 保存条件

被検血清は新鮮なものを使用する。被検血清は赤血球やその他の有形成分を含まないものを用いる。

3) 測定方法

T. pallidum (Nichols 株) 塗抹固定スライド(菌数 30 個以上/視野)と FITC 標識-抗ヒト IgG ヤギ抗体(ポリクローナル抗体)0.5-5 μ L を使用した間接蛍光抗体法。

抗原スライドを湿箱内に並べ、希釈した血清を 20 倍、5 倍希釈の順でスライドウェル内に約 20 μ L 滴下する。湿箱を 37 $^{\circ}$ C フラン器に置き、45-60 分間反応。PBS で洗浄。FITC 標識-抗ヒト IgG ヤギ抗体を約 20 μ L ずつ滴下。再び湿箱を、37 $^{\circ}$ C フラン器に置き、45-60 分間反応。洗浄後、蛍光顕微鏡(400 倍)で BV 励起方式、あ

るいは UV 励起方式で観察(表 2)。

4+: 極めて強い蛍光像が認められるもの。

3+: 強い蛍光が認められるもの。

2+: 明らかに特異蛍光が認められるもの。

1+: 弱い特異蛍光が認められるもの。

±: 特異蛍光は認められないがトレポネーマの存在がわかるもの。

-: 特異蛍光もトレポネーマの存在もわからないもの。

4) 基準値

定性: 陰性(-) 定量: 20 倍未満

5) 生理的変動(測定に影響を及ぼす因子)

免疫グロブリンを含む血液製剤を投与されている患者血清では、投与された製剤による陽性反応を呈する場合がある。

6) 臨床的意義(異常値を示す疾患)

まれに口腔トレポネーマなどにより偽陽性を呈することがある。また SLE などの血清中に存在する抗核抗体が *T. pallidum* の核を染色させることがある。

7) 関連検査項目

IgM-FTA-ABS は二次抗体に FITC 標識-抗ヒト IgM ヤギ抗体を反応させ、*T. pallidum* に対するヒト IgM 抗体を検出する。先天性梅毒の診断に重要である。

■ 文献

- 1) [http://www.bdj.co.jp/pdf/48-RPR-insert.pdf#search='RPR カードテスト'](http://www.bdj.co.jp/pdf/48-RPR-insert.pdf#search='RPR%20カードテスト')
- 2) A Manual of Tests for Syphilis (ed by Larsen SA, et al). 8th ed. American Public Health Association, Washington DC, 1990.
- 3) <http://www.dspbio.co.jp/seihinjouhou/c04/image/c04.pdf>
- 4) http://www.info.pmda.go.jp/tgo/pack/15300EZZ00918000_A_01_01/

1. 単純ヘルペスウイルス感染症

(1) 皮膚科領域

2108

松尾 光馬*¹⁾ 尾上 智彦*²⁾ 伊東 秀記*³⁾ 本田 まりこ** 中川 秀己*⁴⁾

単純ヘルペスウイルスはヒトヘルペスウイルスの中でα亜科に属し、単純ヘルペスウイルス1型 (herpes simplex virus type 1: HSV-1), 2型 (HSV-2) に分けられる。HSV-1はおもに三叉神経節, HSV-2は腰仙骨神経節領域に再発するという傾向はあるものの、実際には体のいずれの部分にも感染し、再発しやすい場所が、上半身、下半身になると考えられる。また臨床病態として、HSV感染症は大きく初発と再発に分けられる。初発とは始めてヘルペスの症状を自覚した時と定義されるが、初発はさらに初感染初発と既感染初発に分類され、初感染時に重篤な症状を呈しやすい。本稿においては、HSV感染症のさまざまな臨床、その診断、治療、予防法について解説する。

Key Words : 単純ヘルペスウイルス1型 (herpes simplex virus type 1 : HSV-1) / 単純ヘルペスウイルス2型 (HSV-2) / 無症候性排泄

I 病因・病態

HSV (herpes simplex virus: 単純ヘルペスウイルス) は皮膚、粘膜に感染後、局所で増殖し初感染病巣を形成する。その後、知覚神経終末から侵入したウイルス粒子は、軸索内を上行して神経細胞の核に到達し潜伏感染する。潜伏感染とは、感染性ウイルス粒子は検出されないが、ウイルスを産生する能力を保持した状態で、HSVは、より安定な環状ウイルスゲノムの形で存在している。再発は、発熱、紫外線、ストレス、疲労、月経、性交などの刺激や細胞性免疫の低下などで潜伏ウイルスが増殖を開始し、知覚神経を下行して皮膚あるいは粘膜の細胞内で増殖して生じる。初感染の

ように症状は重篤でなく、片側に生じ、皮疹も少数である。また、発現場所は初感染の部位に限定されず、近傍に出現することもある。

II 臨床症状

HSV感染症のおもな臨床病型としては、以下の疾患があげられる。

1. ヘルペス性歯肉口内炎

乳幼児の初感染としてみられることが多い。初感染は重篤となることが多く、前駆症状として、不機嫌、発熱、扁桃痛が2~3日続いた後、高熱とともに口腔粘膜や舌などに小水疱が多発し、所属リンパ節腫脹をともなう。すぐに、びらんとなり、疼痛、流涎や口囲の水疱、びらんを認めるこ

Herpes simplex virus infection : dermatological standpoint

*東京慈恵会医科大学皮膚科学講座 ¹⁾ 講師 Koma Matsuo ²⁾ Tomohiko Onoe ³⁾ Hideki Ito

⁴⁾ 教授 Hidemi Nakagawa

**東京慈恵会医科大学皮膚科青戸病院 教授 Mariko Honda

(1965) 25

表 単純ヘルペスの臨床病型とウイルスの型

臨床病型	HSV-1	HSV-2
歯肉口内炎	24	0
カボジ水痘様発疹症	202	3
口唇ヘルペス	455	0
顔面ヘルペス	220	4
耳・頭部のヘルペス	10	0
ヘルペス性ひょう疽	36	20
軀幹・上肢のヘルペス	27	9
急性型性器ヘルペス	71	34
再発型性器ヘルペス	17	265
恥丘・肛門ヘルペス	4	19
陰囊のヘルペス	0	4
臀部のヘルペス	6	121
下肢のヘルペス	1	34

東京慈恵会医科大学附属病院を1982～2002年までに受診したHSV感染症の臨床病型を示す。HSV-1によるものは急性型性器ヘルペスを除いて上半身に多いことが分かる。

HSV：単純ヘルペスウイルス

HSV-1：単純ヘルペスウイルス1型

HSV-2：単純ヘルペスウイルス2型

(筆者作成)

ともある。発熱は3～5日続き、全経過2～6週間で治癒する。近年、わが国ではHSV抗体保有率の低下がみられ、30歳代でも50%弱であることから、成人にもみられるようになった。

2. 口唇ヘルペス

俗に言うヘルペスとはこの症状を示すことが多く、“風邪の華”とも呼ばれる。初感染では約90%が無症状であり、我々が診察するのはほぼ再発型で、HSV-1 (herpes simplex virus type 1: 単純ヘルペスウイルス1型)により生じる(表)。発熱、日光、ストレス、疲労などを誘因として、初感染後、三叉神経節に潜伏していたウイルスが口唇周囲に再発をくり返す。再発型では、掻痒感、違和感などの前駆症状の後に浮腫性の紅斑が出現し、

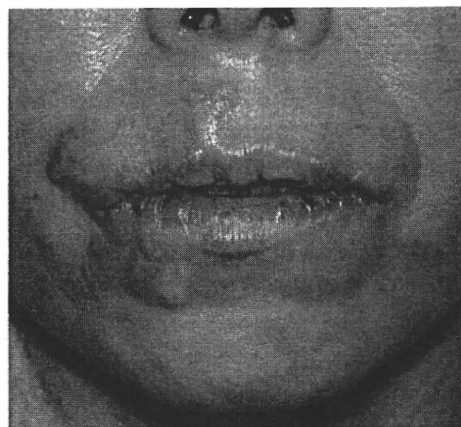


図1 HSV-1による口唇ヘルペス初感染
再発型に比べ、個疹は大きく広範囲にみられる。
HSV：単純ヘルペスウイルス

(筆者提供)

小水疱、びらん、痂皮となり、5日～2週間で治癒するが、抗ヘルペス薬を内服した場合、治癒までの期間は短縮される。初感染で症状が出る場合、再発型と比べて水疱は大きく、症状も重篤となる(図1)。

3. 顔面ヘルペス

口唇以外の額部や頬部、下顎部などの顔面にみられ(図2)、多くは再発型だが、まれに初感染、あるいは再感染(他の部位にHSVの感染をしているにもかかわらず、感染を起こすこと)としてみられる。HSV-1によることが多く、口唇ヘルペスあるいはヘルペス性角膜炎に引き続いて、口囲、眼囲に拡大することもある。

4. カボジ水痘様発疹症

HSVが、アトピー性皮膚炎、脂漏性皮膚炎、ダリエー病など、皮膚のバリア機能が破壊された疾患において経皮的に接種されて生じる。初感染、再発型ともにみられ、細菌感染が続発することも多い。突然、中心臍窩を有する小水疱が集簇、多発し、周辺部では播種状に散在する。水疱は3、4日で痂皮を形成するが、発熱や所属リンパ節腫

HSV (herpes simplex virus ; 単純ヘルペスウイルス)

HSV-1 (herpes simplex virus type 1 ; 単純ヘルペスウイルス1型)

26 (1966)



図2 HSV-1による再発型小児顔面ヘルペス

初感染と異なり皮疹は限局している。個疹も初感染と比べると小さい。

HSV：単純ヘルペスウイルス

(筆者提供)

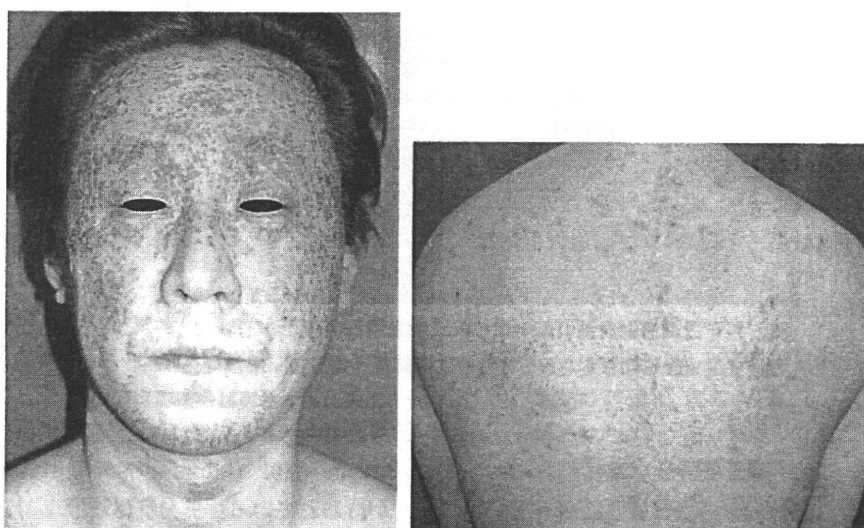


図3 HSV-1によるアトピー性皮膚炎患者に生じたカボジ水痘様発疹症

経皮感染によりHSVが既存の皮膚病変上に接種され、広範囲に皮疹がみられる。基礎疾患としてアトピー性皮膚炎が最も多く、Darier病、熱傷などでも起こる。

HSV：単純ヘルペスウイルス

(筆者提供)

(1967) 27

脹をともなうことが多く、新旧の皮疹に混在して拡大していく(図3)。一部では伝染性膿痂疹(とびひ)と鑑別を要する症例もみられるが、Tzanck smearによりウイルス性巨細胞を確認し、ヘルペスウイルス感染症と診断する。

5. 性器ヘルペス

性差をみると女性が男性より1.5倍程多く、好発年齢は女性が20代、男性では30代となっている。また、女性では10代の早い時期での感染も目立つ。2006年の厚生労働省の感染症動向調査によると、女性ではクラミジアに次いで第2位、男性では第3位と漸増傾向にある。臨床症状は初発と再発に分けられ、さらに初発は、初感染初発と既感染初発に分類される。我々の施設(東京慈恵会医科大学)における2002年までの過去20年間の集計では、初感染の約70%はHSV-1によって起きている。このような傾向は最近、米国、カナダ、ヨーロッパ諸国でも報告されており¹⁾、これはHSV-1感染のない若年者で、妊娠、感染を避けるためにオーラルセックスが一般化してきていることによると考えられる。しかし、その後の再発は表に示すようにHSV-2(herpes simplex virus type 2:単純ヘルペスウイルス2型)によるものが94%と圧倒的に多く、他の報告でも同様の傾向がみられる。

また性器ヘルペスでは、症状がみられない状態でウイルス排泄を起こす無症候性ウイルス排泄も多い。性器のHSV感染患者において70%のパートナーは無症状と言われており、患者の多くはパートナーの無症候性ウイルス排泄からの感染である²⁾。さらに、HSV-2感染者のわずか10~25%しか感染に気づいていないという報告もあり³⁾、早期の診断、適切な治療が重要である。

感染経路としては、性行為によることが多いものの、乳幼児では母親や医療従事者などの手指を介することがある。臨床症状は初感染、特にHSV-1による場合、発熱、リンパ節腫脹、膀胱・尿道炎、頸管炎などがみられ、重篤となることもある。

感染機会の2~10日後に、男性では亀頭、陰茎、恥骨部が、女性では陰唇、膣、恥骨部、会陰部が浮腫性に腫脹して小水疱が多発する。その後、びらんとなり、融合し不規則な形を呈する。また女性では、特徴的なkissing ulcerと呼ばれる両側の陰唇が合わさる場所に潰瘍がみられ、疼痛のため歩行障害を生じることがある。初感染では、抗ウイルス薬の投与を行っても治癒まで1~2週間を要するが、再発型での症状は軽く、4日~1週間で治癒する。性交、月経、過労などが誘因となり、再発の1、2日前から神経痛様の症状がみられることが多い。

III 診断

HSV感染症の診断には既往の有無を詳しく問診することが不可欠である。小児の場合は、両親、兄弟からの感染が多く、家族の既往の有無も確認する。初感染の水疱は5mm前後と、再発型の1~2mm大の水疱に比べ大きいのも特徴である。また、水疱は中央部が陥凹する所見が参考となるが、受診時には痂皮化していることも多い。

検査法としては、抗体検査、Tzanck test、抗原検査、核酸増幅、ウイルス培養があげられ、そのうち抗体検査以外の4法は病変部にウイルスが存在することを示す病原診断法である。Tzanck testはウイルス性巨細胞の検出を行うもっとも簡便な検査法で、水疱部の細胞診をギムザ染色にて行い診断する。10~15分程で結果が出るため、外来での迅速診断に適する(図4)。ただし、水痘・帯状疱疹ウイルス(VZV)との鑑別はできない。抗原検査に関しては、これまでさまざまな方法が検討されており、蛍光抗体法、酵素抗体法、ELISA(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)法などが行われている。蛍光抗体法は1時間程度で診断が可能な迅速性、簡便性に加えて型判定が可能なこと(図5)、HSV、VZVにおいて保険適応があるという利点がある。

また最近では、インフルエンザウイルス等の検

HSV-2 (herpes simplex virus type 2; 単純ヘルペスウイルス2型)

VZV (水痘・帯状疱疹ウイルス)

ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)

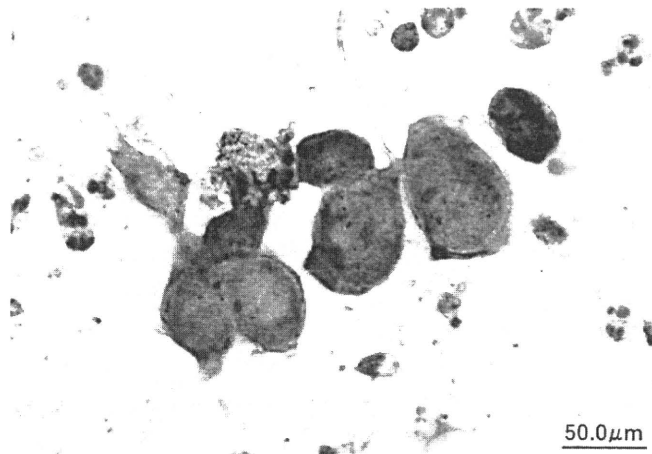


図4 HSV-1 感染細胞 Tzanck test 所見
ウイルス感染巨細胞がギムザ液にて染色されている。
HSV: 単純ヘルペスウイルス

(筆者提供)

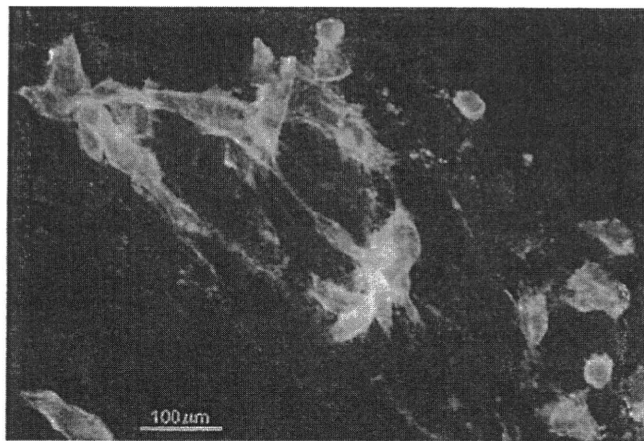


図5 HSV-1 感染細胞モノクローナル抗体染色陽性所見
HSV 感染細胞は蛍光顕微鏡で観察すると、緑色の特異蛍光を発生し、
非感染細胞は赤色に染色される。
HSV: 単純ヘルペスウイルス

(筆者提供)

出で用いられるイムノクロマト法を用いて検出するキットも発売されている。特殊な機器は要せず、15分程でHSV-1, 2型の判定ができるため、今後は外来診療の場で広く用いられる可能性が高い。同法においては感度についても検討がなさ

れ、HSV-1では 1.56×10^5 PFU/mL、HSV-2では 1.95×10^4 PFU/mL以上で検出が可能であり、臨床株の試料中に $10^4 \sim 10^6$ PFUのウイルスがいることを考えると、十分に検出可能である⁴⁾。核酸増幅法は感度がよく、PCR (ポリメラーゼ連鎖

PCR (ポリメラーゼ連鎖反応)

(1969) 29

反応)法, real-time PCR法, LAMP (Loop-Mediated Isothermal Amplification)法などがある。痲皮など、他の病原診断法では検出しにくい病変において用いられることが多い。

抗体検査は迅速性には欠けるが、病変部からウイルス、ウイルス抗原が採取できない(病原診断を行えない)施設において頻用される。CF(補体結合反応)、NT(中和反応)、EIA/ELISA(酵素抗体法)が用いられるが、保険上すべての検査を同時に行うことはできない。初感染時のIgM(免疫グロブリンM)抗体価上昇は診断価値があるが、HSVは他のウイルスと違い再発をくり返すため、IgM抗体の上昇のみを追っていると誤診することになる。また、VZV既感染者がHSVに感染すると、VZV抗体が先に上昇する症例もみられ、確定診断には病原診断法を併用する方がよい。型判定を抗体検査で行う場合、NTは役に立たず、ウイルスエンベロップのglycoprotein G(gG)に対する抗体測定法(ELISA)が用いられる。保険で行えないこと、gGはウイルスの存続にとって必須のタンパクではないためgG欠損株が存在すること、抗原性が低いため感染後の抗体上昇時期が遅く、初期診断には適さないなどの欠点はあるものの、特異度は高く利用価値がある。

IV 治療

どの病態であっても抗ウイルス薬の内服が基本となる。アシクロビル(ACV:ゾピラックス®)はグアノシン誘導体で、ガンシクロビルやペンシクロビルと類似した化学構造を示す。三リン酸化されてウイルスのDNA鎖に組み込まれることにより、ウイルスの増殖を抑制する。ウイルス由来のTK(チミジンキナーゼ)が最初のリン酸化を行うため、感染細胞でのみ効果を示し、特異性、安全性ともに高い。しかし、消化管からの吸収は不

完全で、その生物学的利用率は15~20%に過ぎない。再発型では200mg×5、5日間。小児ではアシクロビル(40%ゾピラックス®顆粒)、20mg/kg×4/日を投与する。初感染時は潜伏ウイルス量を減らすことによって再発回数が減るというデータもあるため⁵⁾、再発型よりも長期の投与が勧められる。

CDC(米国疾病予防管理センター)のガイドラインでは、初感染の場合、アシクロビル(ゾピラックス®)400mg×3/日(経口)を7~10日、もしくはアシクロビル200mg×5/日(経口)を7~10日、ファムシクロビル(ファムビル®:わが国では帯状疱疹のみに適応あり)250mg×3/日(経口)を7~10日、バラシクロビル(VACV:バルトレックス®)1g×2/日(経口)を7~10日投与が勧められている。ただし、わが国の保険で行える方法はアシクロビル200mg×5/日(経口)を7日、もしくはバラシクロビル500mg×2/日(経口)を7~10日のみである。また重症例では、アシクロビルの点滴静注5~10mg/kgを1日3回、8時間ごとに1時間以上かけて投与するが、急速な投与は腎尿細管に結晶が析出するため、250mL以上の補液で希釈する必要がある。なお、アシクロビルの外用は潜伏感染するウイルス量を減らさないことから、単独での使用は推奨されない。

バラシクロビル(VACV:バルトレックス®)はアシクロビルのプロドラッグであり、最大の特徴は経口投与後の優れた消化管吸収性と言える。その生物学的利用率はプロドラッグ化により約3~5倍増強し、1日2回の投与ですみ、1日5回服用を必要とするアシクロビルに比較し、コンプライアンスの向上にも有用である。再発型では500mg×2、5日間投与するが、初感染では10日投与が認められている。また年6回以上、再発

LAMP (Loop-Mediated Isothermal Amplification)

NT (中和反応)

ACV (アシクロビル)

CDC (米国疾病予防管理センター)

BCNAs (Bicyclic pyrimidine nucleoside analogues)

30 (1970)

CF (補体結合反応)

IgM (免疫グロブリンM)

TK (チミジンキナーゼ)

VACV (バラシクロビル)

をくり返す性器ヘルペスでは、1日量500mg内服を継続する再発抑制療法が2006年9月から保険で認められた。同法では、有意差をもって投与群でパートナーへの感染は減少し、感染者におけるウイルス排泄率も同様に減少しており、有用な方法である⁶⁾。また、小児においてもアシクロビル20mg/kg×4の抑制療法が2010年6月より認められた。ただし、再発抑制療法を行っても、HSVの性器への排泄を完全になくすことはできず、コンドーム等による予防は必須である。本療法により、60～70%の患者では再発を抑制できるが、年10回以上再発する患者では、服用中に再発することもある。

ビダラビンは核酸塩基のアデニンのアナログで、ウイルスのDNAポリメラーゼを阻害することにより抗ウイルス作用を発現する。注射剤は単純ヘルペス脳炎と免疫抑制患者における帯状疱疹に、外用剤は単純ヘルペス、帯状疱疹に適応がある。適応が限られるためそれほど用いることはないが、HSVのTK欠損株や変異株のアシクロビル耐性株に有効である。

その他、ウイルスDNA合成阻害剤としてVZVに対し、ピリブジンより10～20倍の効果がみられるピリブジンに構造が良く似た一連のBicyclic pyrimidine nucleoside analogues (BCNAs)が見出されたこと⁷⁾、HSV-1, 2の増殖をアシクロビルよりはるかに効果的に抑制するhericase/primase複合体抑制化合物阻害剤が見出されたこと⁸⁾などは、治療における選択肢の幅を広げることになり、喜ばしい。また、ウイルスのカプシドへのパッケージの阻害化合物など、新たなタンパクを標的とした治療薬も開発されつつある。

V 予 防

口唇ヘルペス、カボジ水痘様発疹症など、本人が症状に気づきやすいものは接触感染の予防をおもに行えばよい。問題となるのは、症状に気づかない無症候性ウイルス排泄の状態では、これは性器ヘルペスにおいて特に問題となる。無症候性ウイルス排泄は、その50%が症候性再発の前後2週間に起こることが多い。再発前は困難であろう

が、少なくとも再発後の活発な性活動は控える方がよく、適切かつ継続的なコンドームの使用が望まれる。治療としては、再発抑制療法がもっとも有用である。保険では認められていないものの、あらかじめ抗ウイルス薬をもっていき、前駆症状が現れた時点で内服を開始するpatient-initiated treatmentも、治療までの期間の短縮、さらには出現させないこともあるため、再発後に内服を行うより感染予防の面で優れている。

文 献

- 1) Roberts CM, Pfister JR, et al : Increasing proportion of herpes simplex virus type 1 as a cause of genital herpes infection in college students. *Sex Transm Dis* **30** : 797-800, 2003
- 2) Brown ZA, Benedetti J, et al : Neonatal herpes simplex virus infection in relation to asymptomatic infection at the time of labor. *N Engl J Med* **324** : 1247-1252, 1991
- 3) Sizemore JM Jr, Lakeman F, et al : The spectrum of genital herpes simplex virus infection in men attending a sexually transmitted disease clinic. *J Infect Dis* **193** : 905-911, 2006
- 4) 堀場千尋, 大黒徹ほか: イムノクロマト法と測定原理とする単純ヘルペスウイルス抗原検出キットの基礎的性能評価. *日本感染症学会誌* **21** : 128-133, 2010
- 5) Sawtell NM, Thompson RL, et al : Early intervention with high-dose acyclovir treatment during primary herpes simplex virus infection reduces latency and subsequent reactivation in the nervous system *in vivo*. *J Infect Dis* **18** : 964-971, 2001
- 6) Corey L, Wald A, et al : Once-daily valacyclovir to reduce the risk of transmission of genital herpes. *N Engl J Med* **350** : 11-20, 2004
- 7) Balzarini J, McGuigan C : Bicyclic pyrimidine nucleoside analogues (BCNAs) as highly selective and potent inhibitors of varicella-zoster virus replication. *J Antimicrob Chem* **50** : 5-9, 2002
- 8) Crumacker CWS, Schaffer PA : New anti-HSV therapeutics target the helicase-primase complex. *Nature Med* **8** : 327-328, 2002

(1971) 31

LAMP 法によるウイルス性皮膚疾患の診断*

松尾 光馬*¹・伊東 秀記*¹・本田まりこ*²・中川 秀己*¹

要約 LAMP (loop-mediated isothermal amplification) 法は遺伝子増幅法の1つであり、6領域を認識するプライマーを用いるため特異性が非常に高いこと、鎖置換型 DNA ポリメラーゼを用いた増幅反応であり、60~65°Cの等温で反応が進むこと、増幅産物が多いため増幅の有無を目視下でも確認可能なことが特徴である。皮膚科領域のウイルス性疾患においてはキットの作製はなされていないものの、研究室レベルでの検討は行われてきている。外来診療の場では典型的でない皮疹を呈する帯状疱疹と単純疱疹などを早急に鑑別し、治療を開始したい場合も時にみられる。ヘルペスウイルスのウイルス抗原を検出するモノクローナル抗体の検出率が低いことを考えると、今後、迅速診断法の一手段としてこのような簡単な方法が普及することが望まれる。

キーワード LAMP 法, 等温増幅法, 迅速診断, 免疫クロマトグラフィー

松尾光馬, 他: 臨皮 64 (5 増): 70-74, 2010

はじめに

ウイルス感染症と診断するには、ウイルスそのものを検出するウイルス分離培養や、ウイルス由来の成分である、ウイルス抗原、ウイルス核酸の検出が用いられることがあり、核酸の検出法としては Southern blot 法, PCR (polymerase chain reaction) 法や, RT-PCR 法, リアルタイム PCR 法, LAMP (loop-mediated isothermal amplification) 法が挙げられる。また、ウイルス感染によって生じた宿主側の変化を調べる方法としては、外来診察の場で頻繁に行われ、ウイルス特異的抗体産生をみる血清診断、病理変化(細胞変性効果)をみる病理診断、Tzanck テストや、

皮膚病変からの臨床診断が挙げられる。

LAMP 法は新規核酸増幅法として栄研化学により開発された方法である¹⁾。PCR 法と比べると迅速性、簡便性、高特異性を併せ持つが、どこでも、誰にでも実施できるというわけにはいかない。ウイルス性疾患でキット化されているものでは、確かに迅速診断は可能であるが、簡便性においてはインフルエンザウイルス迅速検査等で使用されている免疫クロマトグラフィー法に劣ることは否めない。ただし、感度、特異度については PCR 法以上、nested-PCR 法と同等の場合もあり、魅力のある検査ではある。しかし、皮膚科でよく遭遇するウイルス性疾患において LAMP 法

* Rapid diagnosis of viral skin diseases by a loop-mediated isothermal amplification

¹ Koma MATSUO, Hideki ITO and Hidemi NAKAGAWA: 東京慈恵会医科大学皮膚科学講座(主任: 中川 秀己教授) Department of Dermatology, The Jikei University School of Medicine, Tokyo, Japan (Director: Prof H NAKAGAWA)

² Mariko HONDA: 東京慈恵会医科大学皮膚科青戸病院(主任: 本田まりこ教授) Department of Dermatology, The Jikei University School of Medicine Aoto Branch, Tokyo, Japan (Director: Prof M HONDA) (論文責任者) 松尾 光馬: 東京慈恵会医科大学皮膚科学講座(〒104-8461 東京都港区西新橋 3-25-8)

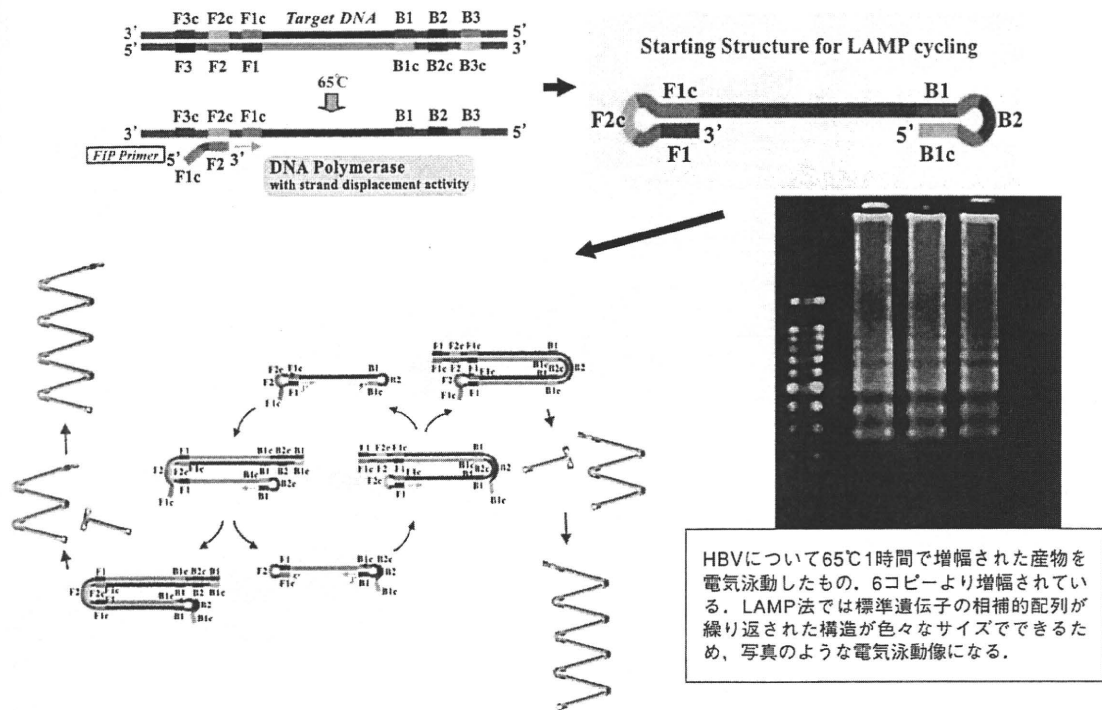


図1 LAMP法の原理(Eiken GENOME SITEより抜粋)

でキット化されたものではなく、Loopamp H5 亜型インフルエンザ検出試薬と、Loopamp SARS (severe acute respiratory syndrome) コロナウイルス検出キットの2疾患、呼吸器感染症のみで商業ベースでの使用が可能である。SARSの診断にはRT-LAMPを行い、70分で診断できる。保険点数はSARSのみ設定され、480点であり、今後インフルエンザウイルスについても保険での検査が可能となる予定である。

目的・適応疾患

皮膚科で比較的頻回に遭遇するウイルス性疾患としては、単純ヘルペス (herpes simplex virus: HSV)、水痘、帯状疱疹 (varicella-zoster virus: VZV)、伝染性単核球症 (human herpes virus 4, Epstein-Barr virus: EBV)、薬剤過敏性症候群でのヘルペスウイルス群 (human herpes virus 6: HHV-6, human herpes virus 7: HHV-7, EBV, cytomegalovirus: CMV)、尋常性疣贅、尖圭コンジローマ (human papilloma virus: HPV)、麻疹 (measles virus)、風疹

(rubella virus)、伝染性紅斑 (B19 parvovirus) などが挙げられ、外来診療の場で迅速診断が行えればその利用価値は計り知れない。また、前述のようにLAMP法は局所でのウイルスの存在をみるため、宿主側の変化をみる抗体検査よりも迅速かつ診断価値が高い。しかし、ヘルペスウイルス群のように再活性化による病態をみる場合、リンパ球に潜伏感染するEBV, HHV-6, 7などでは血球を用いて核酸増幅を行うと陽性となる。病態に関与しているかをみるにはウイルスの定量が行えるリアルタイムPCR法や、抗体価の上昇などを組み合わせて判断する必要がある。また、これらの疾患においてLAMP法による迅速診断を行う場合は、一部の医療機関や研究施設で保険適応外にて行うこととなる。

検査・診断の実際

特定の核酸を増幅するPCR法は2本鎖DNAをはがし (denature)、プライマーと結合させ (annealing)、プライマーを起点としたDNA鎖の伸長 (extension) の反応を繰り返すことにより行わ

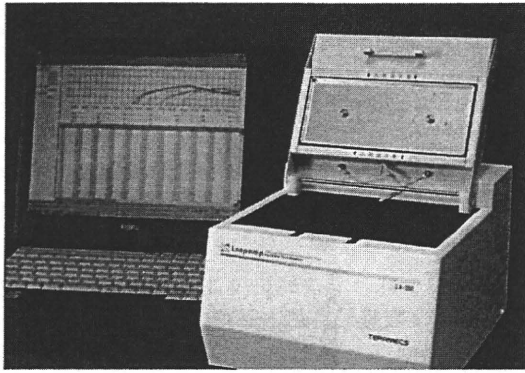
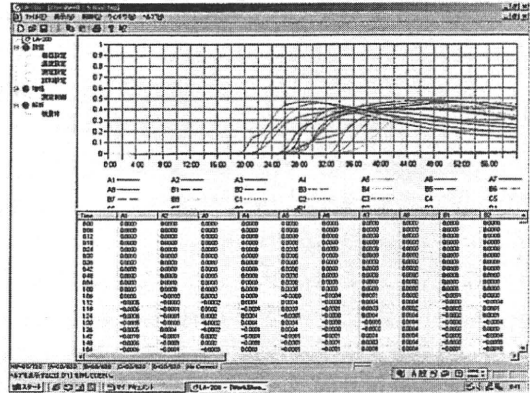


図2 リアルタイム濁度測定装置(LA200: TERAMECS 社) PCを接続することによりその場で核酸の増幅が確認できる。

れる。それぞれの過程で適する温度が異なるため温度変化をプログラムし、自動的に繰り返す thermal cycler が必要であるが、研究室レベル、コマーシャルベースの検査を含めてかなりの普及がみられる。

LAMP法の大きな特徴は denature, annealing, extension の温度変化を必要とせず 60~65°C の一定温度で反応が進行することである¹⁾。鎖置換型 DNA ポリメラーゼ (Bst DNA polymerase) を用い、RNA の場合でも DNA 増幅試薬に逆転写酵素を添加しワンステップで増幅を行うことが可能である²⁾。プライマーの設計も独創的であり、それにより高い特異度、増幅効率を可能にしている。ターゲット DNA の外側に 6 か所の領域を設定し、F3, B3 プライマー、LAMP 法の特徴であるループを形成するために必要な F1 領域の相補配列 (F1C) に F2 配列をつなげた FIP プライマーと、B1 領域の相補配列 (B1C) に B2 配列をつなげた BIP プライマーの 4 種類を設計する (図 1)。また、ループプライマーを添加することにより更なる増幅核酸量の増加、反応の迅速化が図れる³⁾。ループ構造の形成、DNA 増幅の過程は栄研化学ホームページのアニメーションを参照していただくほうがわかりやすいであろう (<http://www.loopamp.eiken.co.jp/lamp/anim.html>)。プライマーの設定に関し



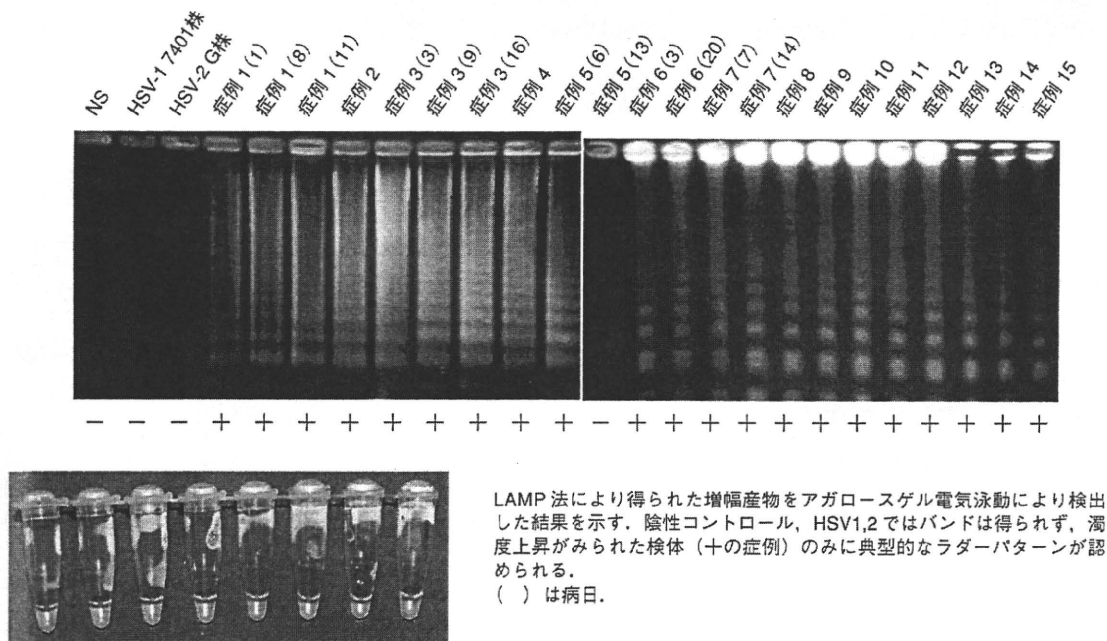


図4 増幅産物の電気泳動による確認(VZV)

とも可能である(図2, 3)。濁度測定装置は種々あり、LA-320 CとLA-200は反応チューブ8本連結×4セットの32サンプルを同時に測定できる。ただし、LA-320 Cは8サンプルごとの温度設定ができないため、キットが販売されているもので、至適温度の検索がなされているウイルスの検出に適する。主に、病院、検疫所などに設置されることが多い。われわれが使用しているLA-200の場合、8サンプルごとの温度設定が行え、新たにプライマーを設定した場合の検討に適しており、研究室での使用頻度が高い。値段はそれぞれ200万、160万円程度である。その他、RT-160 Cは8サンプル×2セットの16サンプルが同時に検討でき、8サンプルごとの温度設定もできるため、症例数が少ない場合などには重宝し、値段も安価である。

われわれもHSV、VZV感染症症例においてLAMP法を施行し、特異性、感度を検討した。HSVに関してはEnomotoら⁴⁾の設定したHSV-1、HSV-2それぞれの糖蛋白G領域に設定したプライマーを用い、VZVに関しては、Okamotoら⁵⁾の報告に基づきORF 62領域にプライマーを設定した。また、測定時間は60分とした。HSV

感染症では特異度は100%であり、感度においては、HSV-1感染症では抗原検査では陰性になる痂皮病変でも8/11病変で濁度での検出が可能であった。また、DNA抽出の過程を省略してもLAMP法で検出できることは既に報告されているとおりであり、HSV-2を検出した検体ではHSV-1検出例よりも短時間で確定できる症例が多くみられた。VZV感染症では帯状疱疹症例の検体を用いたが、HSV-1の症例と同様、痂皮病変においても、7/8検体、最大20病日において濁度での検出が可能であった(図4)。また、濁度による検出では陽性21検体中、16検体で30分以内に検出が可能であった。このようにVZV、HSV-2の臨床検体では比較的早期に検出される傾向にあった。HSV-1ではDNA抽出例で30分以内に検出できたものはなかったが、60分以内の検出は可能であり、迅速検査としては十分耐えうるものであった。

■ ■ ■ 考 按

LAMP法を用いた迅速診断は、ウイルス性皮膚疾患を含めたさまざまなウイルス性疾患において臨床応用されはじめている。最近では麻疹⁶⁾、

HIV⁷⁾, HHV-6⁸⁾, VZV でのワクチン株と野生株との鑑別⁹⁾, CMV¹⁰⁾, HHV-8¹¹⁾, HPV-6, 11, 16, 18 型¹²⁾ などの検出も実験室レベルでは行われている。

現在, 種々の方法による迅速診断検査キットが市販され, 不確実な臨床診断, 迅速性のない抗体産生に基づく血清診断に対し, 早急に結果を診療の場に反映させることが可能となった。PCR 法や LAMP 法などの核酸検出法は迅速かつ, 高感度であること, 免疫クロマトグラフィー法や酵素抗体法などの抗原検出法は迅速かつ, より簡便なことがそれぞれメリットとなる。

免疫クロマトグラフィー法は, PCR 法の検出感度が $10^3 \sim 10^4$ CFU/ml に対し, $10^5 \sim 10^7$ CFU/ml とその感度は落ちる。しかし, 特別な装置が不要かつ, 3~30 分と迅速であること, 目視にて診断可能であることから, 特にインフルエンザウイルスの診断において頻用されている。本法は PCR 法のように DNA 抽出を要さない点でも外来での迅速診断には非常に適しているが, ウイルス量が多くない初期には判定できないことがあるため, 感度の面で改良は必要と考える。LAMP 法も今回の検討でなされたように, DNA の抽出を省略できればかなり簡便な方法といえる。ただし, マスターミックスの調製はクリー

ンペンチ内で行う必要があり, 簡便さでは免疫クロマトグラフィー法にはかなわない。しかし, HSV, VZV 感染症において痂皮病変でも診断できるという感度が高いことは大きな利点であり, また, PCR 後に行う nested-PCR 法のように反応チューブを一度開けて反応液を調整する必要がないためコンタミネーションの危険性が少ないことも高感度な検査としては望ましい。さらに, LAMP 法を利用した簡便な検査法として, LAMP 法による増幅と電気泳動による検出, 分析を一枚のチップ上で行った報告もあり¹³⁾, 今後, さまざまな疾患で実用化される可能性がある。

文 献

- 1) Natomi T, et al: Nucleic Acids Res 28: e63, 2000
- 2) Parida M, et al: J Clin Microbiol 42: 257, 2004
- 3) Nagamine K, et al: Mol. Cell 16: 223, 2002
- 4) Enomoto Y, et al: J Clin Microbiol 43: 951, 2005
- 5) Okamoto S, et al: J Med Virol 74: 677, 2004
- 6) Nagai M, et al: J Med Virol 81: 1094, 2009
- 7) Hosaka N, et al: J Virol Methods 157: 195, 2009
- 8) Ihira M, et al: J Virol Methods 154: 223, 2008
- 9) Hashimoto Y, et al: J Clin Microbiol 46: 2665, 2008
- 10) Fukushima E, et al: J Virol Methods 151: 55, 2008
- 11) Kuhara T, et al: J Virol Methods 144: 79, 2007
- 12) Hagiwara M, et al: J Med Virol 79: 605, 2007
- 13) Hatooka Y, et al: Anal Chem 77: 2140, 2005

性器ヘルペスウイルス感染症

本田まりこ 東京慈恵会 医科大学付属青戸病院 皮膚科

性器ヘルペスウイルス感染症 (genital herpes virus infections) は、性器に単純ヘルペスウイルス (herpes simplex virus, HSV) 1型または2型が感染によって性器に浅い潰瘍性または水疱性病変を形成する疾患で、本邦では単に性器ヘルペスと云われているが、感染症法では性器ヘルペスウイルス感染症が用いられている。1967年に Nahmias AJ がすでにこの性器ヘルペスウイルス感染症という疾患名を使用している¹⁾。また、米国 Centers for Disease Control and Prevention (CDC) でも使用している。

HSV は、性器に感染すると、神経を伝って上行し、腰仙髄神経節を主として潜伏感染する。潜伏感染した HSV は、発熱、日光暴露、性交、生理、過労、ストレス、時差、機械的刺激などの何らかの刺激によって再活性化され、神経を伝って下行し、再び皮膚や粘膜に現れ、病変を形成する。皮膚や粘膜の表皮真皮境界部の神経末端部位に HSV 特異的 CD8陽性細胞が監視し、監視から逃れたときに再発が起こると云われている²⁾。再発の頻度は、月に2～3回から、年に1～2回と様々であるが、2型感染者の方が1型感染者より再発の頻度が高い³⁾。また、無症状にウイルスだけを性器に排泄する無症候性ウイルス排泄が時々みられ、特に初感染後1年以内の HSV-2感染者に多くみられる⁴⁾。また、ヒト免疫不全ウイルス Human Immunodeficiency Virus (HIV) 感染者に多い⁵⁾。初感染の性器ヘルペス患者の多くはパートナーが無症候性ウイルス排泄の時に感染しているという報告もみら

れる⁶⁾。現在のところ神経節に潜伏感染した HSV を取り除くことはできない。このように初感染後潜伏感染し無症候性ウイルス排泄をふくめた再活性化という HSV の life cycle が、性器ヘルペスウイルス感染症の蔓延に大きく関与している。

1. 性器ヘルペスの疫学

米国では、急激な性器ヘルペス患者の増加から1982年米国の TIME 紙が、ヘルペスと題して性器ヘルペスを大々的に報道したが、その後、AIDS が社会的な問題になり、性器ヘルペスは忘れた感があった。しかし、現在でも米国では性感染症 (sexually transmitted infections, STI) の中で一番多い疾患となっている。一方本邦では、性器ヘルペスは横ばい状態で、STI 中男性では性器クラミジア感染症が最も多く、淋菌感染症次いで性器ヘルペスまたは尖圭コンジローマの順に多く、女性では性器クラミジア感染症がもっとも多く、次いで性器ヘルペスウイルス感染症が多い (図1)。固定したカップルの間での感染率は、1年間に約10%といわれている⁷⁾。男性が性器ヘルペスにかかって、妊婦に HSV 抗体がない場合は、約30%に感染するといわれている⁷⁾。また、性行為のパートナー数が多いものほど感染機会が多くなる。

2. 臨床的特徴

初感染型、非初感染初発 (誘発) 型、再発型がある。

Genital herpes virus infection

Mariko HONDA, Department of Dermatology, Aoto Hospital of Jikei University School of Medicine

別刷請求先: 本田まりこ 〒125-8506 東京都葛飾区青戸6-41-2 東京慈恵会医科大学付属青戸病院 皮膚科

Tel: 03-3603-2111(ex3341)