

- 55/No.RR-11
- 9) Kimberlin DW : Neonatal herpes simplex infection. *Clin Microbiol Rev* 17(1) : 1~13, 2004
 - 10) Baldwin S, Whitley RJ : Intrauterine herpes simplex virus infection. *Teratology* 39 (1) : 1~10, 1989
 - 11) Malm G : Neonatal herpes simplex virus infection Seminars in Fetal & Neonatal Medicine 14 : 204~208, 2009
 - 12) Read JS, Cannon MJ, Stanberry LR et al : Prevention of Mother-to-child transmitted of viral infections *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care* 38 : 274~297, 2008
 - 13) 川名 尚 : 単純ヘルペスウイルスの母子感染—産婦人科の立場から—. *日本周産期・新生児医学学会誌* 44 : 902~905, 2008
 - 14) Prober CG, Sullender WM, Yasukawa LL et al : Low risk of herpes simplex virus infections in neonates exposed to the virus at the time of vaginal delivery to mothers with recurrent genital herpes simplex virus infections. *N Engl J Med* 316(5) : 240~244, 1987
 - 15) Royal College of Obstetricians and Gynecologists : Management of genital herpes in pregnancy. RCOG Green-top Guideline No.30, 2007
 - 16) Roberts SW, Cox SM, Dax J et al : Genital herpes during pregnancy : no lesions, no cesarean. *Obstet Gynecol* 85 : 261~264, 1995
 - 17) Hollier LM, Wendel GD : Third trimester antiviral prophylaxis for preventing maternal genital herpes simplex virus (HSV) recurrences and neonatal infection. *Cochrane Database Syst Rev* 23(1) : CD004946, 2008
 - 18) Kimberlin DW, Lin CY, Jacobs RF et al : Safety and efficacy of high-dose intravenous acyclovir in the management of neonatal herpes simplex virus infections. *Pediatrics* 108 (2) : 230~238, 2001
 - 19) ACOG Committee on Practice Bulletins : ACOG Practice Bulletin. Clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists. No. 82 June 2007. Management of herpes in pregnancy. *Obstet Gynecol* 109(6) : 1489~1498, 2007
 - 20) Gutierrez KM, Whitley RL, Arvin AM : Herpes Simplex Virus Infections in "Infectious diseases of the fetus and newborn infant" ed by Remington & Klein Elsevier, 7th ed. p.813~833, 2010
 - 21) Jones CA : Vertical transmission of genital herpes : prevention and treatment options. *Drugs* 69(4) : 421~434, 2009
 - 22) Brown ZA : HSV-2 Specific serology should be offered routinely antenatal patients *Rev Med Virol* 10 : 141~144, 2000

☆ ☆ ☆ ☆ ☆ ☆

単純ヘルペスウイルス

川名 尚

はじめに

妊娠中の単純ヘルペスウイルス (Herpes simplex virus : HSV) の感染による児への影響には、胎内感染による胎芽や胎児の異常と分娩時感染による新生児ヘルペスがある。HSV の感染経路は接触感染が主で、ウイルス血症はごく稀であるため幸いに前者の頻度は低く、専ら性器のHSV 感染である性器ヘルペスによる新生児ヘルペスが問題となる。我が国における新生児ヘルペスの症例は年間14,000~20,000 出生に1 例程度と計算されており、それほど高い頻度ではない。しかし、有効な抗ヘルペスウイルス薬が開発された今日でも全身型の約30%は死の転帰をとり、生存しても重症な障害が残るという重大な疾患である¹⁾。

性器ヘルペス合併妊婦では、分娩時に児が産道を通る際に接触感染することがあるので、分娩時に性器ヘルペスを合併する例では帝王切開にて経腹的に分娩させて新生児ヘルペスの発症を予防することが行われている。この際、新生児ヘルペス発症のリスクを考慮して分娩様式を選択するのが妥当であろう。

本稿では、性器ヘルペスの感染病理に基づいたHSV の母子感染のメカニズムとその予防ならびに筆者らの新しい試みを述べてみたい。

性器ヘルペスの感染病態と診断

性器に感染したHSV は、局所で増殖して間もなく知覚神経を上行して後根の知覚神経節である仙

髄神経節に至り、ここで増殖した後潜伏感染する。潜伏感染しているHSV は何らかの刺激により再活性化して複製(増殖)し感染性のウイルスが産生され知覚神経を下行して再び性器に出現する。出現する部位はS2~4 の支配領域で、外陰だけでなく子宮頸管からもHSV が排泄される。

性器ヘルペスは臨床的には初発と再発に分けられている。初発とは初めて発症した場合であり、再発とは以前に発症した経験がある場合である。さらに初発には初めて感染した場合と、すでに不顕性感染していたHSV が再活性化され症状が出現する場合とがある。前者を初感染初発、後者を非初感染初発と呼んでいる。前者は発症時に血清抗体は陰性であり、7~10 病日にIgM 抗体が出現する。後者は発症時に血清抗体(IgG 抗体)が陽性であるので前者と鑑別できる。臨床症状から前者と後者をクリアカットに区別することは困難である。激しい症状を呈するものは初感染が多いが、初感染でも比較的軽い症状を呈するものや時に無症状のこともあり、血清抗体の結果をみて判断せざるを得ない。再発は身体的・精神的ストレス、発熱、全身的・局所的な免疫抑制状態、女性では月経や妊娠を契機に起こることが多い。性器ヘルペスの既往がある女性では妊娠すると再発しやすい。

HSV には1 型(HSV-1)と2 型(HSV-2)があり、性器にはこの両方が感染する。その上前述のように初発と再発に分けられる。そこで、性器ヘルペスの感染病態を感染したHSV の型と発症時の抗体をHSV-1 抗体とHSV-2 抗体に分けて検出して、その免疫学的背景を考慮すると表1 のように九つに分類されかなり複雑である。後述するように、母子感染のリスクにこれらの感染病態が関連して

かわな たかし 帝京大学医学部附属溝口病院産婦人科
〒213-8507 神奈川県川崎市高津区溝口3-8-3
E-mail address : tkawana@med.teikyo-u.ac.jp

表1 性器ヘルペスの感染病態

臨床分類	発症時の抗体		感染 HSV	感染病態	発症時の抗体	感染病態
	型別抗体による				型別でない HSV 抗体	型別でない HSV 抗体による分類
	HSV-1 抗体	HSV-2 抗体		型別抗体による分類		
初発	-	-	HSV-1	HSV-1 初感染	-	初感染
	-	-	HSV-2	HSV-2 初感染	-	
	+	-	HSV-1	HSV-1 非初感染初発	+	非初感染
	-	+	HSV-2	HSV-2 非初感染初発	+	
	+	-	HSV-2	HSV-2 初感染	+	
	+	+	HSV-2	HSV-2 非初感染初発	+	
再発	+	-	HSV-1	HSV-1 の再発	+	再発
	-	+	HSV-2	HSV-2 の再発	+	再発
	+	+	HSV-2		+	

いるので妊婦では型別を考慮した感染病態まで決めることが望ましい。ただ、我が国では現在 HSV-1 抗体と HSV-2 抗体を分けて測定することは保険ではできず、この両者を分けずに HSV 抗体として検出することで代用するしかないの、表にはこの場合の分類も示した。この場合は、HSV-1 抗体存在下の HSV-2 初感染を見逃すことになる。

性器ヘルペスの皮膚・粘膜の病変は、浅い潰瘍性病変が水疱が主である。病変の範囲は、外陰全体に及ぶものから時にはピンホール程度のものである。このような粘膜病変を呈するのは HSV 感染だけでなく、急性外陰潰瘍(Lipschütz 潰瘍)、真菌、接触皮膚炎、細菌感染などでもよく似た病変を形成するので、これらを鑑別するために HSV を直接検出する病原診断が必須である。病原診断にはウイルスの分離培養、ウイルス DNA の検出、感染細胞の検出法(保険適用あり)などがある。ただ小さい病変では感染細胞の採取は困難であるので、保険で行える検査の感度は低い。ゴールドスタンダードはウイルスの分離培養であるが、時間と費用がかかる。これに対し感度と特異度が大変よい HSV-DNA の核酸増幅法として、PCR 法や LAMP 法が開発されている。最近、簡単な器械でベッドサイドで2時間で結果を得ることのできる LAMP 法を用いた簡易キットが開発され、臨床の現場での使用が可能になりつつある²⁾。ウイルスの病原検査は外陰だけでなく子宮頸管からも行っ

てウイルスの感染範囲を明らかにすることが望ましい。

一方、母体の中和抗体を調べ、陽性の場合この抗体が胎盤を通過することのできる IgG 抗体であるか否かもみておくといよい。可能ならば、型特異抗体も測定し、表1の感染病態のどれに相当するかをみておく。特に妊娠末期ではこの点は重要である。

筆者が経験した性器ヘルペス合併妊娠例は75例あり初感染初発が21例、再発・非初感染初発が54例であった³⁾。HSVの型をみると初感染初発では HSV-1 が10例、HSV-2 が11例であるが、再発・非初感染初発では54例中43例(80%)が HSV-2 であった。これらの分布は非妊婦の性器ヘルペスにおける臨床型と HSV の型の分布とほぼ同じである。

妊娠の時期による分布は、初期・中期・末期で大きな差はなく、どの時期でも発症する。産褥に発症した例が4例あった。

単純ヘルペスウイルスの胎内感染

HSV の胎内感染による症例は稀であるが知られている。文献検索によって Baldwin ら⁴⁾は71例を報告している。その症状の特徴として、皮膚症状(癬痕、皮疹など)、眼症状(小眼症、脈絡網膜炎など)、神経症状(小頭症、脳軟化症など)の三つが

あげられている。

文献検索によって世界で71例ということはごく稀にしか起こらないことを意味している。以前に、妊娠中のヘルペスウイルス感染は流産に至ることが多いといわれていたが、現在では否定的である。Brownらによれば、米国で妊娠中にHSV-2に感染する頻度は2%にも及ぶという。しかし、ほとんどすべてが正常な児を出産していると報告しているため、胎内感染は妊娠中の初感染の中でも極めて稀な事例と考えられるので、妊娠中の性器ヘルペス合併では妊娠中絶の適応とはならないと考えている。

新生児ヘルペスのリスク因子

以上のように胎内感染による異常児の発症はごく稀であるので、性器ヘルペス合併妊婦の管理の重要な点は新生児ヘルペスの発症予防である。

従来より、分娩時に性器ヘルペスを合併していると初感染の場合はその50%が、再発では0~2%に新生児ヘルペスを発症するといわれている。このような病型による新生児ヘルペスの発症率の違いは次のように説明される。まず、病巣の広さと感染ウイルス量が初感染では再発型に比べてはるかに広く、また多量である。外陰だけでなく子宮頸管からHSVが分離されるのは、前者では50~70%もの症例にみられるのに対し後者では5%以下と少ない。次に母体の血清抗体をみると、前者では急性期では抗体が陰性であり、したがって児への移行抗体はないのに対して、後者では高いIgG抗体を有しているためこれが児に移行して受動免疫を賦与することになる。Proberら³⁾は、再発型性器ヘルペス合併妊婦では新生児ヘルペスを発症することはほとんどないとして、その理由に母体からの中和抗体の移行によるとしている。筆者も再発型43例について妊娠36週以降に母体の中和抗体を測定しているが8~16倍以上の抗体価を有していた。これらの例から新生児ヘルペスの発症は1例もなく、移行抗体が何らかの予防に働いているのではないかと考えている。Brownら⁶⁾は、母体の感染病態と新生児ヘルペス発症の関連を調べた結果、初感染初発では80%、HSV-1

表2 性器ヘルペス合併妊婦における新生児ヘルペス発症のリスク因子

	因子	臨床的判断材料
1) 母体	a) ウイルス量 b) ウイルス排泄部位 c) 再発頻度	病型：初発>再発 子宮頸管>外陰 再発頻度
2) 胎児	a) 移行抗体 b) 胎齢	母体の中和抗体 妊娠週数
3) 感染効率	a) 接触時間 b) 皮膚の傷	子宮頸管>外陰 分娩時間 頭皮電極、吸引・鉗子分娩

抗体が陽性であるがHSV-2に感染した例では30%に、再発例で2%に新生児ヘルペスが発症したとしている。

筆者は新生児ヘルペスのリスク因子を表2のように母体因子、胎児因子、感染しやすさの三つの因子について考慮して管理法を決めている。

性器ヘルペス合併妊婦の管理

筆者は、以下のような管理を行ってきた。

1. 発症時

妊娠中に性器ヘルペスと思われる症状が出現した場合、まず病原診断により診断を確定し同時に血清抗体を測定し、感染病態を決定する。アシクロビルやバラシクロビルの胎児毒性が低いことが判明しているため、治療は抗ウイルス薬を用いて表3のように行っている。ただし、妊娠初期はアシクロビル軟膏などを用いて局所療法を行っている。

2. 妊娠経過中

筆者は、HSV感染の病態を詳しく把握しつつ新生児ヘルペス発症のリスク因子を探すべく妊婦管理を行っているので、外陰と子宮頸管からHSVの分離かLAMP法によるHSV-DNA検出を28~35週まで2週に1回、36週以降は1週に1回行っている。無症候でHSVを排出していることがあるのと子宮頸管からの上行性感染のリスクを考えてこのようにしている。

表3 妊娠中の性器ヘルペスの治療

妊娠初期	5%アシクロビル軟膏, 局所塗布
中～末期	
・初発	アシクロビル 1,000 mg 分5, 5～10日間, 経口 バラシクロビル 1,000 mg 分2, 5～10日間, 経口
・重症例	アシクロビル 5 mg/kg 1回, 1日3回, 5～7日間, 点滴静注
・再発	アシクロビル 1,000 mg 分5, 5日間, 経口 バラシクロビル 1,000 mg 分2, 5日間, 経口

一方, 母体の中和抗体を測定し, これがIgG抗体であることをELISA法により確認する。中和抗体が8倍未満の場合はリスクが高くなるのではないかと考えている。中和抗体は補体を用いない時の抗体価を用いるようにしている。

3. 分娩様式の選択(表4)

分娩時に外陰病変があれば帝王切開を行う。外陰病変がなくても初感染では発症より1カ月以内, 再発では発症より1週以内はやはり帝王切開を行う。初感染では1カ月以上, 再発では1週以上経ていて外陰病変がなくウイルス検出が陰性であれば経膈分娩を行う。なお, 新生児は出生時に目, 鼻, 口, 耳, 性器よりHSVの分離やDNA検出を行うとともに臍帯血のIgG抗体, IgM抗体を測定する。7日以上は入院管理とする。

前述した性器ヘルペス合併妊婦についてこの管理方式を行ったが, 新生児ヘルペスを発症した例はなかった。最近では後述する管理方式を行っている。

再発性器ヘルペス合併妊婦の管理

妊娠中に性器ヘルペスが再発した例や再発性器ヘルペスの既往のある例をどのように管理するかについては, いろいろな考え方がある。その理由は, 分娩時再発例の経膈分娩による新生児ヘルペスの発症が0～2%と報告により多少差はあるが, いずれにしてもかなり低率であるからであろう。

表4 性器ヘルペスの合併妊娠の管理: 分娩様式の選択

①分娩時に外陰病変あり→帝切
②分娩時に外陰病変なし
a. 初感染 発症より1カ月以内→帝切 発症より1カ月以上→経膈
b. 再発型または非初感染初発 発症より1週間以内→帝切 発症より1週以上→経膈

オランダでは, 分娩時に再発していても経膈分娩を行っているようだし, 前述のProberの報告でも再発例では新生児ヘルペスを発症することはまじくないと報告している。分娩時に再発していても経膈分娩による新生児ヘルペス発症のリスクはかなり低いとみてよいであろう。

英国の2007年のガイドラインをみると, 分娩時に再発している場合, 産婦に対して新生児ヘルペスの発症のリスクは非常に低いことを告げるようにすべきで帝王切開をルーチンに勧めることはないという立場をとっている⁷⁾。このような考えに至る背景には, 英国では新生児ヘルペスは6万出生に対して1例と非常に低い頻度であることも関連しているであろう。

米国では外陰に病変があれば帝王切開を選択している⁸⁾。この考えに従えば分娩時の再発を抑えればよいことになる。米国では, 性器ヘルペスによる帝王切開がかなり頻繁に行われているようであり, これに対して分娩時の再発を抑えるべく性器ヘルペスの再発抑制療法を妊娠36週より行って帝王切開しないですむようにしようという考えがある。再発抑制療法とは, 妊婦が妊娠36週から分娩までアシクロビル200mg×4回, またはバラシクロビル500mg×2回を毎日服用する方法である。この量は, 非妊婦に行われている再発抑制療法の2倍量である。最近, 米国のACOGやカナダはこの方法を推奨している⁹⁾。

最近, 再発性器ヘルペスを有する妊婦に妊娠36週以降の再発抑制療法を行った七つの研究(抑制療法646例, 対照594例)のメタアナリシスが行われた¹⁰⁾。その結果, 本療法は分娩時の再発を減らすので帝王切開分娩を減らすことができたとしている。しかし, 新生児ヘルペスを減らしたというデータはないとしている。その理由は, 対照

群 594 例に症候性の新生児ヘルペス例が 1 例も出ていないからであると述べている。筆者は、対照群に新生児ヘルペスが 1 例も出ていない事実に注目したい。さらに、新生児への副作用はなかったと報告されているが、長期にわたる安全性についてのデータが示されていないことが問題であるとも述べている。実際、新生児に高濃度のアシクロビルを投与することにより好中球減少をもたらしたとする報告もある。最近、これらの状況を踏まえて妊娠末期の再発抑制療法を一般的に行うことには慎重にするべきであるという識者の意見もある¹¹⁾。

筆者は、分娩時に再発していて経膈分娩を行っても新生児ヘルペスは発症しないというオランダの経験や、前述の Prober の報告、そして筆者も再発性器ヘルペス例についてほとんどの例で経膈分娩を行ったが新生児ヘルペスの発症例はなかったなどの経験もあり、妊娠 36 週からの抑制療法を再発性器ヘルペス合併妊婦や性器ヘルペス既往のある妊婦の全例に行うことには賛成しかねる。アシクロビルは高濃度に胎児や羊水に移行することが知られているので、1 カ月にもわたって通常の 2 倍量を毎日服用する抑制療法が長期的にみて胎児の腎機能(アシクロビルは腎より排泄される)や骨髄機能に影響がないのか、やはり不安である。さらにもし胎児に腎機能障害があった場合でも問題はないのか、という疑義を投げかけている専門家もいる。ただ、抑制療法は妊娠末期に子宮頸管からの HSV 分離が陽性の例や妊娠 10 カ月に入ってから頻りに再発を繰り返す例、母体の中和抗体が低い例などの新生児ヘルペス発症のハイリスクと考えられる場合や、再発を恐れて精神的に不安定になっている妊婦などにはそれなりの意義はある。

分娩管理の新しい試み

前述の再発抑制療法は、いつ再発するかわからないから妊娠 36 週から行っているわけである。一方、臨床症状から再発を疑って帝王切開したものの中から振り返ると約 2/3 は誤診していたという報告もある。これらには、分娩時(入院時)に性

器に再発または HSV が感染していることを迅速に知ることのできる方法がないことが大きく関連している。

筆者は、迅速で感度・特異度ともにより核酸増幅法である LAMP 法が性器ヘルペスの診断に有効であることを確認した。この方法は 2 時間以内に結果を出せ、培養法とほぼ同じ感度である。そこで、入院時に外陰と子宮頸管から LAMP 法にて HSV-DNA の検出を行い陰性の場合は経膈分娩を行う。陽性の場合には母体の中和抗体が 8 倍未満か、8 倍以上でもウイルス量が多い場合は帝王切開で分娩させるが、ウイルス量が少ない場合で中和抗体が 16 倍以上あれば経膈分娩を試みる。出生した児については、直ちに目、鼻、口、耳、性器について LAMP 法を施行し、陽性ならば直ちに抗ウイルス療法を行う。陰性ならば経過観察とする。産褥 3 日目にも母体の外陰と子宮頸管と児について検査を行う。

この管理方法は未だ始まったばかりであるが、現在のところ新生児ヘルペス発症例はない。

おわりに

現在、性器ヘルペスを診断するための感度・特異度ともに優れた病原診断法がないために正確な診断が難しい。さらに、型特異抗体の測定もできないので、性器ヘルペスの正しい感染病態も診断できない。これらの方法が保険で使用できるようになることを切望している。

そして最後に最も重要なことは、新生児ヘルペスを発症した児を出生した母体の約 70% は性器ヘルペスの症状は全くなかったということである。いかにこのような無症候ではあるがリスクのある妊婦を抽出して、HSV の母子感染を予防するかが今後の大きな課題である。

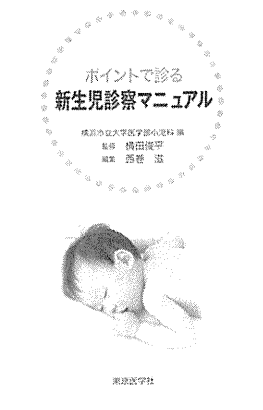
文献

- 1) Kimberlin DW : Neonatal herpes simplex infection. Clin Microbiol Rev 17(1) : 1-13, 2004
- 2) 東出誠司, 保坂憲光, 太田嘉則, 他 : 新しい核酸抽出法を用いた LAMP 法による単純ヘルペスウイルスの検出. 日本感染症学会誌 21(1) : 120-127, 2010
- 3) 川名 尚 : 単純ヘルペスウイルスの母子感染—産婦人

- 科の立場から一、日本周産期・新生児医学会誌 44 : 902-905, 2008
- 4) Baldwin S, Whitley RJ : Intrauterine herpes simplex virus infection. *Teratology* 39(1) : 1-10, 1989
 - 5) Prober CG, Sullender WM, Yasukawa LL, et al : Low risk of herpes simplex virus infections in neonates exposed to the virus at the time of vaginal delivery to mothers with recurrent genital herpes simplex virus infections. *N Engl J Med* 316(5) : 240-244, 1987
 - 6) 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* 289 : 203-209, 2003
 - 7) Royal College of Obstetricians and Gynecologists : Management of genital herpes in pregnancy. RCOG Green-top Guideline No. 30, 2007
 - 8) Roberts SW, Cox SM, Dax J, et al : Genital herpes during pregnancy : no lesions, no cesarean. *Obstet Gynecol* 85 : 261-264, 1995
 - 9) ACOG Committee on Practice Bulletins : ACOG Practice Bulletin. Clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists. No. 82 June 2007. Management of herpes in pregnancy. *Obstet Gynecol* 109(6) : 1489-1498, 2007
 - 10) Hollier LM, Wendel GD : Third trimester antiviral prophylaxis for preventing maternal genital herpes simplex virus (HSV) recurrences and neonatal infection. *Cochrane Database Syst Rev* 23 : (1) : CD004946, 2008
 - 11) Corey L, Wald A : Maternal and neonatal herpes simplex virus infections. *N Engl J Med* 361(14) : 1376-1385, 2009

* * *

カラー写真・イラストと簡潔な解説でポイントを理解する。



ポイントで診る 新生児診察マニュアル

横浜市立大学医学部小児科 編
監修 横田俊平 / 編集 西巻 滋

新生児の毎日の診察で「何か問題が起こっていないか」を確認することが欠かせません。本書はそんな時に役立つマニュアルとして、治療を必要とする疾患を見逃さないように、どこに注意すれば良いかを体の部位別にポイントごとにまとめました。カラー写真やイラストを多用して、見て分かりやすいように心掛けました。本書「ポイントで診る新生児診察マニュアル」は産科病棟の新生児室でお使い下さい。

新書判変型
ビニールクロス表紙
カラー版140頁
定価2,940円
(本体 2,800円+税 5%)
ISBN978-88563-183-2



東京医学社

〒101-0051 東京都千代田区神田神保町2-20-13 Y'sコーラルビル
TEL 03-3265-3551 FAX 03-3265-2750
URL <http://www.tokyo-igakusha.co.jp> E-mail: hanbai@tokyo-igakusha.co.jp

LAMP 法に簡易核酸抽出法 (PURE 法) を 組み合わせた PURE-LAMP 法による単純ヘル ペスウイルスの簡易迅速検出法の臨床評価

川名 尚 土屋裕子 西井 修 西澤美香
東出誠司 保坂憲光 太田嘉則 神田秀俊

金原出版株式会社

治 験

LAMP 法に簡易核酸抽出法 (PURE 法) を組み合わせた PURE-LAMP 法による単純ヘルペスウイルスの簡易迅速検出法の臨床評価

川名 尚^{*1} 土屋裕子^{*1} 西井 修^{*1} 西澤美香^{*1}
東出誠司^{*2} 保坂憲光^{*2} 太田嘉則^{*2} 神田秀俊^{*2}

単純ヘルペスウイルスの簡易核酸増幅法として開発された PURE-LAMP 法について主に性器ヘルペス患者より得た臨床検体を用いて評価した。分離培養法陽性 130 検体のうち 126 検体 (96.9%) が PURE-LAMP 法で陽性であった。分離培養法陰性の 47 検体のうち PURE-LAMP 法で 39 検体 (83.0%) は陰性であったが 8 検体が陽性となった。しかしこれらは PCR 法ですべて陽性であったことより、分離培養法よりも PURE-LAMP 法のほうがやや感度がよいことが推察された。また、HSV の型は分離培養法と完全に一致した。

本法は検体の保存・運搬が容易であり約 1 時間半で型別に HSV-DNA の検出が可能で器具も簡易な装置でよい。以上よりベッドサイドでも用いることができる遺伝子増幅法として高く評価できる。

緒 言

単純ヘルペスウイルス (herpes simplex virus; HSV) は人体の広い範囲に感染し、様々な疾患の原因となる。性器の HSV 感染である性器ヘルペスは HSV の 1 型 (HSV-1) または 2 型 (HSV-2) の感染により発症し病変を形成するがその臨床症状は多彩である。一方これらの病変とよく似た変化が HSV の感染以外にもしばしばみられる¹⁾。したがって性器ヘルペスの確定診断には病原診断が必須である²⁾。性器ヘルペスは HSV の型により臨床的な経過が異なるので HSV の型を決めることは有意義である³⁾。

臨床検査には高い精度、迅速性、簡易性が求められる。特に単純ヘルペスウイルスには著効を示す抗ヘルペスウイルス薬があるので迅速性が重要である。従来、HSV 感染の病原診断の gold standard は培養であったが核酸増幅法である PCR 法が開発されて以来、核酸増幅法が第一選択となりつつある²⁾。

われわれはわが国で開発された新しい核酸増幅法である loop-mediated isothermal amplification (LAMP) が性器ヘルペスの病原診断に有効であることをすでに報告した¹⁾。LAMP 法は短時間で DNA を感度よく検出できる点は評価できると考えている。今回より感度と特異度を上げるべく検体から DNA を簡便に抽出する器具 (procedure for ultra rapid extraction; PURE) を開発し、これを用いて DNA を抽出したものについて LAMP 法を用いて HSV-DNA を増幅して検出する PURE-LAMP 法を開発した³⁾。今回は PURE-LAMP 法としてキット化したものを用い臨床検体数を増やしその精度を培養法と PCR 法と比較しつつ検証した。

1. 対象と方法

■ 臨床検体

2005~2010 年に帝京大学医学部附属溝口病院産婦人科外来を訪れ HSV を分離して診断した女性性器ヘルペス患者 65 例 (HSV-1 による

*1 Takashi Kawana, Hiroko Tsuchiya, Osamu Nishii, Mika Nishizawa 帝京大学医学部附属溝口病院産婦人科
*2 Satoshi Higashide, Norimitsu Hosaka, Yoshinori Ota, Hidetoshi Kanda 栄研化学株式会社生物化学研究所

もの29例、HSV-2によるもの36例)ならびに性器ヘルペス合併妊婦2例、外陰に性器ヘルペスと類似の症状を呈した6例の患者(年齢は18~82歳、平均37.9歳)と性器ヘルペス合併妊婦より出生した新生児1例を対象とした。性器ヘルペス患者では初発例が25例で外陰から41検体、子宮頸管から20検体を得た。再発例が44例(初発例との重複4例)で外陰から65検体、子宮頸管から26検体を得た。PURE-LAMP法用検体は外陰病変を細い綿棒で擦過しPURE-LAMP法用の精製水2mlにて濯ぎPURE-LAMP法に供し、同じ綿棒で再度外陰病変を擦過しMEMに5%仔牛血清とペニシリン(2,500 U/ml)、ストレプトマイシン(1,000 μ /ml)、アンフォテリシンB (12.5 μ g/ml)を含有した培養液1mlに濯いだものを分離培養用に供した。別の細い綿棒を用い子宮頸管を擦過してPURE-LAMP法用検体を次に培養用検体を採取した。合わせると外陰から114検体、子宮頸管より53検体を得た。また臀部より7検体、背、指、性器ヘルペス合併妊婦より出生した新生児の鼻よりそれぞれ1検体を得た。これらの検体を採取するに際し口頭で病原診断を培養法と核酸増幅法で行うことを話し了解を得た。なおLAMP法の開発に関する研究について帝京大学医学部附属溝口病院の倫理委員会の承認を得ている。(2006年2月23日)

2 ウイルス分離培養と同定と型の決定

臨床検体は採取後4℃に保管し4時間以内に分離を行った。検体を2,000 rpm 5分間遠心し上清約0.5 mlをR-66細胞(5×10^5 /ml) 5 mlと混合して37℃の5%炭酸ガスインキュベーターで培養した。細胞変性効果(CPE)を毎日観察しCPEが50~80%に広がったところで感染細胞を採取し、HSV-1またはHSV-2に対するマウスモノクローナル抗体(ヘルペス1・2 FA 試薬「生研」)により同定と型の決定を行った。

3 PURE-LAMP 法

臨床検体は4℃に保存後直ちにまたは-60℃に保存し融解後アッセイに供した。

PURE-LAMP法は、新規な核酸抽出法である

PURE法(「Loopamp[®] PURE DNA抽出キット」と、核酸増幅法であるLAMP法(「Loopamp[®] 単純ヘルペスウイルス(HSV-1/2)検出試薬キット」)を組み合わせた遺伝子検出法である(図1)。PURE法は患部擦過液100 μ lをアルカリ変性剤を含む検体処理チューブに添加後、攪拌してウイルスを溶解した。吸着剤チューブに検体処理チューブを装着後攪拌し、阻害物を吸着させた。滴下注入キャップを装着し、吸着剤チューブの本体中央部分を押すことで核酸を含む抽出液を乾燥試薬の付着した反応チューブに直接30 μ l滴下し、乾燥試薬を溶解してLAMP反応を開始した。乾燥LAMP法試薬は、HSV-1またはHSV-2検出用プライマー、基質、酵素などLAMP法に必要な成分を含んだ乾燥試薬として反応チューブのフタ裏に付着させてあり、PURE法抽出液を直接HSV-1とHSV-2検出用プライマーを含んだ乾燥試薬の付着したチューブに滴下し、試薬を溶解して遺伝子増幅を行った。LAMP反応にはLoopampリアルタイム濁度測定装置(LA-320C)を用い、65℃で60分間反応した。時間とともに反応が進むと濁度が増すので専用ソフトウェアを用いて濁度を測定し0.1を超えた場合を陽性とし、その時間をthreshold time (Tt) 値とした。

4 PCR 法

PCR法は、LightCycler HSV 1/2 Detection Kit (Roche)を用いた。QIAampDNA Mini Kit (QIAGEN)を用いて核酸を抽出し、抽出液3 μ lをPCR法に用いてキットの使用説明書に従い、LightCyclerによる蛍光検出を行った。

5 ゲノム感度

ゲノムの感度試験には、HSV-1およびHSV-2検出系ともにウイルスから抽出したコピー数が既知のゲノムDNAを用いて、LAMP法とPCR法で使用説明書に従い検出した。HSV-1に対する検出感度は、LAMP法で2.5コピー、PCR法では10コピーであった。HSV-2ではLAMP法、PCR法ともに5コピーであった。

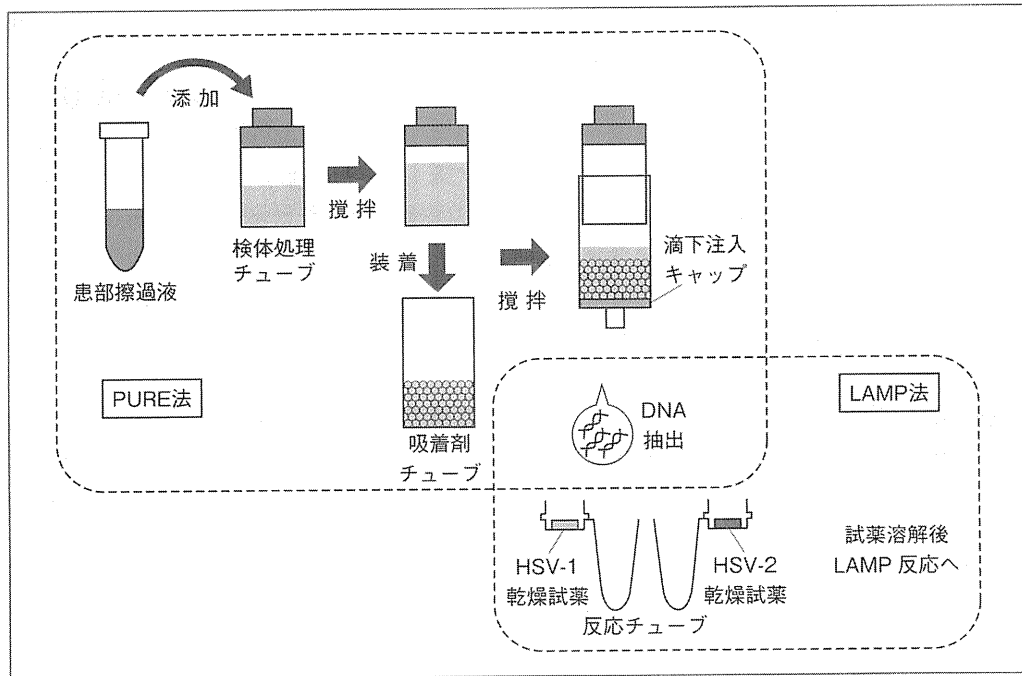


図1 PURE-LAMP 法の概略

表1 臨床検体採取部位と培養陽性率

臨床診断	感染 HSV の型	分離部位 (培養陽性/検体)						計
		女性性器		臀部	背	指	鼻	
		外陰	子宮頸管					
性器ヘルペス	HSV-1	49/52	12/23	2/2				63/77
	HSV-2	53/54	7/23	5/5	1/1	1/1		67/84
外陰炎など	不明	0/8	0/7				*0/1	0/16
		102/114	19/53		9/10			130/177

* : 新生児鼻 1 例

2. 結果

1 検体からの HSV 分離培養陽性率 (表 1)

全体を通じ 177 検体中 130 検体 (73.4%) が分離培養陽性となり 47 検体が陰性であった。HSV-1 による性器ヘルペス患者より採取した 77 検体のうち 63 検体 (81.8%) が分離培養で陽性となった。HSV-2 による性器ヘルペス患者より採取した 84 検体のうち 67 検体 (79.7%) が陽性であった。検体採取部位別にみると外陰より得た検体では 114 検体中 102 検体 (89.5%) が、子宮頸管より得た 53 検体中 19 検体 (35.8%)

が陽性であった。その他、臀部・背・指・鼻から採取した計 10 検体のうち 9 検体 (90%) が陽性となった。これらの臨床例から同時に採取した検体について PURE-LAMP 法を用いてその感度、特異度を検討した。

2 PURE-LAMP 法の結果

臨床検体に PURE-LAMP 法を用いた場合の濁度の変化の結果を示す (図 2)。177 検体中 HSV-1 プライマー反応チューブで 67 検体の濁度は 0.1 以上となり陽性となった。HSV-1 は Tt 値はすべて 30 分以内であった (平均 17.9 分)。HSV-2 プライマー反応チューブで 67 検体が陽

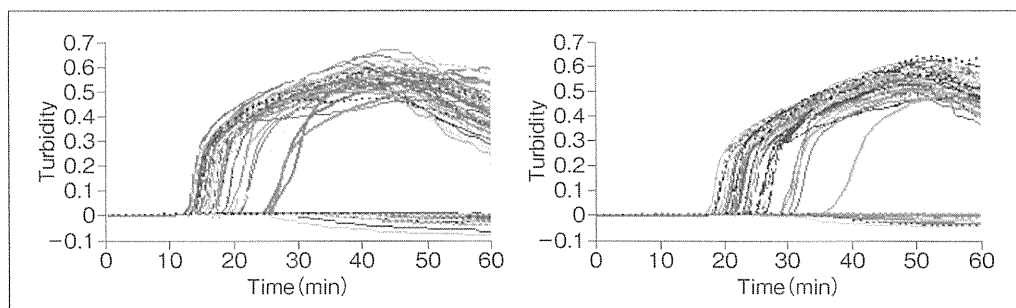


図2 PURE-LAMP 法による HSV-DNA 検出

表2 分離培養法と PURE-LAMP 法の比較

		PURE-LAMP 法		計
		+	-	
分離培養法	+	126	4	130
	-	8	39	47
計		134	43	177

性となった。Tt 値はほとんどが 35 分以内（平均 25.0 分）であったが、1 検体のみ Tt 値が 40 分であった。同検体を PCR 法による検出を試みたが、Ct 値が 40cycle 以降での検出であったことからこの検体はごく少量のウイルスしか含まれていないことが推察された。

3 分離培養法と PURE-LAMP 法の検出感度の比較（表 2）

分離培養法陽性 130 検体中 126 検体（96.9%）が PURE-LAMP 法で陽性となり 4 検体が陰性であった。分離培養法陰性 47 検体中 PURE-LAMP 法では 39 検体（83.0%）が陰性となり 8 検体が陽性であった。分離培養法を gold standard とすると感度は 96.9%，特異度は 83.0% となる。

4 分離培養法と PURE-LAMP 法の比較（表 3）

分離培養法と PURE-LAMP 法について感度を以下の項目について比較検討した。

1. 臨床型

性器ヘルペスの初発例と再発例に分けて感度を比較した。初発から得た 63 検体では培養法が 53 検体（84.1%），PURE-LAMP 法では 56 検体（88.9%）が、再発例から得た 98 検体では培養法が 77 検体（78.6%），PURE-LAMP 法では 78

表3 分離培養法と PURE-LAMP 法の感度の比較

項目		分離培養法	PURE-LAMP 法
臨床型	初発	84.1% (53/63)	88.9% (56/63)
	再発	78.6% (77/98)	79.6% (78/98)
検体採取部位	外陰	96.2% (102/106)	94.3% (100/106)
	子宮頸管	41.3% (19/46)	54.3% (25/46)
HSV の型	HSV-1	81.8% (63/77)	87.0% (67/77)
	HSV-2	79.8% (67/84)	79.8% (67/84)

検体（79.6%）がそれぞれ陽性でほぼ同じ感度であった。

2. 検体採取部位

外陰から得た 106 検体では分離培養法が 102 検体（96.2%），PURE-LAMP 法では 100 検体（94.3%）が陽性となりほぼ同等であった。一方、子宮頸管から得た 46 検体では分離培養法が 19 検体（41.3%）が陽性であったのに対し PURE-LAMP 法では 25 検体（54.7%）が陽性となり PURE-LAMP 法が有意に高感度であった。

3. HSV の型による比較

HSV の型による陽性率はほぼ同等であった。

5 PURE-LAMP 法の型特異性の検討（表 4）

分離培養法で HSV-1 と判定した 62 検体中 62 検体が PURE-LAMP 法でも HSV-1 と判定され

表4 PURE-LAMP法の型特異性の検討

	PURE-LAMP法	PURE-LAMP法		
		HSV-1	HSV-2	
分離培養法	HSV-1	62	0	62
	HSV-2	0	64	64
	計	62	64	126

HSV-2とされたものではなく、同じく分離培養法でHSV-2と判定された64検体中64検体がPURE-LAMP法でHSV-2と判定されHSV-1と判定されたものはなかった。型特異性については100%分離培養法と一致した。

6 乖離例の解析

分離培養法とPURE-LAMP法の間に乖離がみられた検体が12検体あった。

1. 分離培養法 (+) PURE-LAMP法 (-) の4検体

まずこれらについてすでに分離培養法で得られていたこれらの例のHSVについてLAMP法で改めて検討を行ったところ、すべて陽性反応を示したことからプライマーの問題ではないと考えられた。次に検体へ既知の標的遺伝子を添加しPURE法を行ったところ、対照として用いた精製水とまったく同じ結果が得られたので検体由来成分による抽出・検出阻害、ゲノムDNAの分解はないと考えた。さらにPURE法で抽出した液に標的遺伝子を添加し対照の精製水と比較したところ、同等の結果が得られたことからLAMP反応が抑制されたとは考えにくい。

一方、これらの検体をPCR法にて検討したところ1例が辛うじて陽性となったが残りの3例は陰性であった。以上により検体採取において培養用の検体にはHSVがあったがPURE-LAMP法の検体にはPURE-LAMP法の検出限界以下の少量のウイルスしかなかったと考えられた。

2. 分離培養法 (-) PURE-LAMP法 (+) の8検体

これらについてPCR法を行ったところ全例陽性となった。

表5 分離培養法 (-) PURE-LAMP法 (+) 検体の解析

No.	検体	型	HSV-1		HSV-2	
			PURE-LAMP	PCR	PURE-LAMP	PCR
7	C	1	18.9	30.1	—	—
9	V	1	17.4	27.9	—	—
10	V	1	27.6	33.5	—	—
15	C	1	28.8	36.3	—	—
39	C	2	—	—	32.9	30.8
107	C	1	18.2	28.6	—	—
139	C	2	—	—	28.2	34.8
143	C	2	—	—	29.7	34.4

cut off : PURE-LAMP ; 40 (min.) PCR ; 40 (cycle)

C : 子宮頸管, V : 外陰。

しかも型特異性もPURE-LAMP法とPCR法はすべて一致した(表5)。これらの検体を得た症例はすでに分離培養法により性器ヘルペスと診断され原因となったHSVの型も判明していた症例で、今回の検体は発症後時を経た経過観察中に採取したものである。8例中6例が子宮頸管からの検体であった。外陰の例では発症後時間が経った例であった。以上よりPURE-LAMP法のほうが培養法よりも感度がややよい可能性が示された。

7 細菌・真菌のコンタミネーション例

細菌や真菌の混在のため通常行っている分離培養法でHSVの検出が困難であった7例について検討したところ、5例がPURE-LAMP法とPCR法で陽性であった。なお、これらの検体について濾過滅菌後に改めて培養したところ、5例が陽性となり型も遺伝子増幅法と一致した。

3. 考 察

LAMP法はわが国で開発された新しい方式による核酸増幅法で多くの感染症で応用されている⁶⁾。単純ヘルペスウイルスDNAの検出にもすでに応用されている⁷⁾。われわれは性器ヘルペスの診断に有用であることを発表した⁴⁾。当

初、簡便性を求めて臨床検体を精製水にて濯いだものを直接 LAMP 法の系に入れて増幅を行ったが、主に子宮頸管からの検体のなかには混在する英雑物のために LAMP 法を阻害する例がみられた。この点を回避するとともに、臨床検体における感度と特異性をさらに上げるべく PURE 法により臨床検体より DNA を簡単に迅速に抽出する方法を組み合わせた方法を開発した⁵⁾。今回は PURE-LAMP 法のキット化を試み、その臨床の有用性を症例数を追加して検討したところ、従来の gold standard である分離培養法に比べて感度は 96.9% であった。一方特異度が 83.0% と低かったがこれは分離培養法が陰性であった 47 検体のうちで PURE-LAMP 法では 8 検体が陽性となったためであった。これらについて同時に行った PCR 法でもこの 8 検体は陽性であったことから、PURE-LAMP 法の偽陽性反応ではなく培養法よりも感度がよい可能性を示すものと考えられた。文献的にも分離培養法と PCR 法を比較した研究では PCR 法が 4.1 倍感度がよいという報告⁸⁾や、また分離培養法は PCR 法の 70% の感度であるとの報告もある⁹⁾。今回の検討で性器ヘルペス患者の検体を用いた理由の一つは性器ヘルペスの 40% が HSV-1、60% が HSV-2 の感染によって発症することから¹⁰⁾ HSV-1 と HSV-2 の型特異的検出法を評価するための臨床検体としては好都合であると考えたからである。

単純ヘルペスウイルスの型を診断することは HSV-1 の自然感染部位が上半身と下半身であるのに対し HSV-2 はほとんどすべて下半身であり、また HSV-2 は性行為感染によって伝播するなどの疫学的、感染病理学的に違いがある。また HSV-2 による性器ヘルペスは HSV-1 による場合に比べはるかに再発しやすいなど予後にも関係することからカウンセリングのあり方にも違いがある¹¹⁾。これらのことから HSV の型を決めることが臨床的に大切である。HSV の型についても PURE-LAMP 法は培養法と完全に一致した。

培養法で陽性でありながら PURE-LAMP 法

で陰性となった検体については PCR 法でも陰性であったことからウイルス量が少なすぎたためではないかと考えている。

従来、分離培養法が gold standard であったが最近では核酸増幅法である PCR 法のほうが感度がよく短時間で結果が出せるし臨床検体の保存・運搬も容易であることなどから PCR 法などの核酸増幅法が取って代わる傾向にある²⁾。わが国では PCR 法を用いて多くの性器ヘルペス症例の診断について検討した報告はないが、われわれの開発した LAMP 法ではわが国で分離した 41 株について完全に検出できており今回用いているプライマーはわが国の HSV 株をほとんど検出できる優れたものであると考えている。また、本法を用いて今回検討した陽性例の検出時間はすべて 40 分以内であったことから、40 分の反応時間で判定が可能であると考えている。

女性の性器ヘルペスでは、外陰だけでなく子宮頸管にも HSV が感染することがあり¹¹⁾ また性器ヘルペスを合併した妊婦の管理においては子宮頸管の HSV 感染の有無が母子感染のリスクを規定する重要な因子でもあるので¹²⁾ 子宮頸管から得た臨床検体について PURE-LAMP 法を評価した。子宮頸管には子宮頸部や腔壁からの分泌物があり、細菌や真菌などの常在菌もいるため英雑物も多いので LAMP 法の系を阻害することが危惧されたが、PURE-LAMP 法では子宮頸管から検出した分離培養陽性の 19 検体のすべてが陽性になったばかりでなくさらに分離培養で陰性であった 6 検体が陽性になった点は PURE 法により HSV-DNA がよりきれいな形で抽出できたからではないかと考えている。

性器ヘルペスの診断には実験室診断により確認することが必須であることが世界的に勧められている。その方法としては核酸増幅法が分離培養法であるが前者のほうが感度がよいといわれている²⁾。わが国で唯一保険診療が認められている蛍光抗体法による感染細胞の検出は感度が悪く、また性器ヘルペスでは時に非常に小さい病変を形成するため感染細胞が採取されず偽

陰性となることも多いので世界的には推奨されていない²⁾。今回開発したPURE-LAMP法は分離培養法と同等かより優れており、PCR法ともほぼ同じ感度・特異度であり日常のHSV遺伝子検出法として十分使用できる。

PURE-LAMP法は、PURE法におけるDNA抽出、LAMP法における反応系がすべて閉鎖系でできるのでコンタミネーションを防ぐため特別な部屋がなくてもよく、またLAMP法はPCR法のように温度を変化する必要がなく一定の温度に加温するだけでよいので器具も簡易装置でよく小型のものでよいことから日常の臨床の場で遺伝子診断を可能にした点に大きな意義がある。われわれはこの高い精度、迅速性、簡易性を可能にしたPURE-LAMP法を性器ヘルペス合併妊婦の管理に応用して好結果を得ている¹³⁾。

今回開発したHSV-DNA検出のための、PURE-LAMP法は感度・特異度はよく結果が出るまで2時間以内で器具も簡易で臨床の現場でも使える。さらにDNAを検出するので検体の保存・運搬も容易である。真菌・細菌などのコンタミネーションや糞雑物が混在する検体でも十分検出できる。以上よりHSVの迅速診断キットとして十分臨床で使えると考えられる。ただ、本法は感度が非常によいので無症候のわずかな量のHSV排泄をも検出する可能性もあるがこのような例をどのように取り扱うかの臨床的な判断は症例を重ねて検討する必要がある。

文 献

- 1) 性感染症 診断・治療 ガイドライン2008, 潰瘍性病変(女性). 日性感染症会誌19: 21-23, 2008
- 2) CDC, Genital HSV Infections. Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines, 2010 MMWR Dec. 17, 2010/vol 59/No. RR-12, 20-25.
- 3) Kawana T et al: Clinical and virological studies on genital herpes. Lancet 2: 964, 1976
- 4) 塚越 静香 ほか: Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) 法による性器ヘルペス迅速診断. 日性感染症会誌17: 104-109, 2006
- 5) 東出 誠司 ほか: 新しい核酸抽出法を用いたLAMP法による単純ヘルペスウイルスの検出. 日性感染症会誌21: 120-127, 2010
- 6) Notomi T et al: Loop-mediated isothermal amplification of DNA. Nucleic Acids Res 28: E63, 2000
- 7) Kaneko H et al: Sensitive and Rapid Detection of Herpes Simplex Virus and Varicella-Zoster Virus DNA by Loop-Mediated Isothermal Amplification. J Clin Microbiol 43: 3290-3296, 2005
- 8) Wald A et al: Polymerase chain reaction for detection of herpes simplex virus (HSV) DNA on mucosal surfaces: Comparison with HSV isolation in cell culture. J Infect Dis 188: 1345-1351, 2003
- 9) Severini A et al: Nucleic acid amplification tests and culture isolation for the detection of HSV in genital herpes. A literature review. Can J Infect Dis Med Microbiol 18: 87 (Abst), 2007
- 10) 川名 尚: 性器ヘルペス. 日臨67: 143-152, 2009
- 11) Kawana T et al: Clinical and virologic studies on female genital herpes. Obstet Gynecol 60: 456-461, 1982
- 12) Brown ZA et al: Effect of serologic status and cesarean delivery on transmission rates of herpes simplex virus from mother to infant. JAMA 289: 203-209, 2003
- 13) 川名 尚: 母体感染症 up to date, 単純ヘルペスウイルス. 周産期医 41: 189-194, 2011

ウイルス性性感染症のワクチン戦略

川名 尚

日本性感染症学会誌
Vol.22, No.1

ウイルス性性感染症のワクチン戦略

Vaccine strategy against viral sexually transmitted infections

帝京大学医学部附属溝口病院産婦人科

Department of Obstetrics and Gynecology, Teikyo University Faculty of Medicine Mizonokuchi Hospital

川名 尚

Takashi KAWANA

ウイルス性性感染症は現在のところウイルスを排除できる薬剤はなく感染源となっている者の多くが無症候である。このような状況にあるウイルス性性感染症の制御にはワクチン戦略が重要な手段となる。ワクチンは1~数回の接種で持続的な予防が可能となる。

急性B型肝炎の半数以上が性的接触により感染している。B型肝炎ウイルスに対するワクチンは既に市販されているが、現在本邦ではB型肝炎ウイルスキャリアである妊婦から出生した児に母子感染予防のために接種され良い効果を挙げている。多くの国では全ての新生児にB型肝炎ワクチンを接種しており結果的に性的接触によるB型肝炎の発症を抑制している。わが国でも近い将来に universal vaccination が行われることが望まれる。

性器ヘルペスの予防ワクチンとして人での大規模実験が行われているものが二種類ある。いずれも単純ヘルペスウイルス2型の糖蛋白であるgDとgBを、又はgDを抗原として用いるコンポーネントワクチンである。これらのうちgDにalum+MPLをアジュバントとして加えたワクチンがHSV抗体陰性の女性の70%に性器ヘルペスの発症予防効果を40%に感染予防効果を認めている。ただ、男性や女性でもHSV-1抗体をもっているものには無効である。不十分ではあるが一歩前進したと云える。

ヒトパピローマウイルス(HPV)6または11型の感染によって発症する尖圭コンジローマの予防に著効を示すワクチンが開発され既に世界的に用いられている。子宮頸がんの原因であるHPV-16、18に尖圭コンジローマの原因であるHPV-6、11型を加えた4価HPVワクチンが尖圭コンジローマの予防に著効を示している。これらはHPVの表面にあるL1蛋白を用いてウイルス様粒子(VLP)を作成し抗原として用いている。オーストラリアでは若い女性の70%以上に投与したところ、この年代の尖圭コンジローマが激減しており同時にこの年代の女性をパートナーとする男性の尖圭コンジローマも減少傾向にある。これらのことはウイルス性性感染症の予防にワクチン戦略が有力な手段であることを示したもので、わが国でも4価HPVワクチンの早期承認が望まれる。

While no drug can eliminate viruses from infected individuals, vaccines against viral sexually transmitted infections (STI) have an important potential role in controlling STIs. More than 50% of acute hepatitis B (HB) were reported to be caused by the sexually transmitted HB virus. In Japan, HB Vaccine has been used only for babies born to HBV carrier mothers which resulted in preventing HBV infection in neonates, while in many countries universal vaccination for neonates has been performed to prevent HBV infection in childhood and adulthood including sexually transmission.

Universal vaccination of HB vaccine is highly expected in Japan too.

Two types of subunit vaccine using glycoprotein B or D of Herpes simplex virus type2 to prevent genital herpes have been developed and studied in humans. One of these prevented genital herpes in 70% and HSV-2 infection in 40% of women without preexisting antibody to HSV-1 and HSV-2, but had no effect in men and women with HSV-1 antibody.

Though imperfect, this HSV vaccine has made slight progress.

Contrary to HSV-2 vaccine, vaccine against the human papilloma virus (HPV) has made a great success.

Two types of HPV vaccines, bivalent and quadrivalent, were developed using virus like particles (VLPs) which were produced by genetically engineered technology.

The remarkable efficacy of quadrivalent vaccine containing HPV 6, 11, 16, 18 (VLPs) for preventing condyloma

acuinatam has been demonstrated. In Australia, more than 70% of young women received quadrivalent HPV vaccine since 2007, resulting in recent significant decrease in condyloma cases in young women and slight decrease in men.

This HPV vaccine program clearly demonstrated that vaccine strategies for the prevention of viral STI are effective and promising.

Key words : Vaccine strategy, HB vaccine, HSV vaccine, HPV vaccine

はじめに

感染症の制御にはワクチンが有効である。特に、ウイルス感染の制御には有効な薬剤がないこともあり最も重要な手段である。既に、天然痘、ポリオなどが人類の英知によって生み出されたワクチンによって撲滅されたという輝かしい歴史がある。

性感染症の中にもエイズ、B型肝炎、性器ヘルペス、尖圭コンジローマなどウイルスによって発症するものがある。しかも、これらは残念ながら増加傾向にある。これらを制御する有力な手段としてワクチンに大きな期待がかかっている。幸いなことに性感染症に対するワクチン戦略は急速な進歩を遂げつつある。B型肝炎ウイルスに対するワクチンは既に開発され、多くの国で用いられている。尖圭コンジローマの原因であるヒトパピローマウイルス (*Human papilloma virus*, HPV) に対する有効な予防効果を示すワクチンが開発された。性器ヘルペスに対するワクチンは、今一步というところまで来ている。エイズウイルスは、従来知られているウイルスとは異なった感染病理を有するため、従来のワクチン戦略と違ったコンセプトで開発する必要があり、残念ながらその成功には程遠い現状である。

ワクチンには、その目的から予防ワクチンと治療ワクチンがある。予防ワクチンは未感染者が対象になる。治療ワクチンは既感染者を対象とし、病気の進行を抑えたり発症を防ぐことを目的としており、現在までに成功したものはないが、精力的な研究が行われている。

本稿では、これらの性感染症に対するワクチンが現在どこまで達成されているかを概観し、その課題についても言及したい。

1. ウイルス性性感染症対策

性感染症の中でもウイルス性のものは、感染しても気

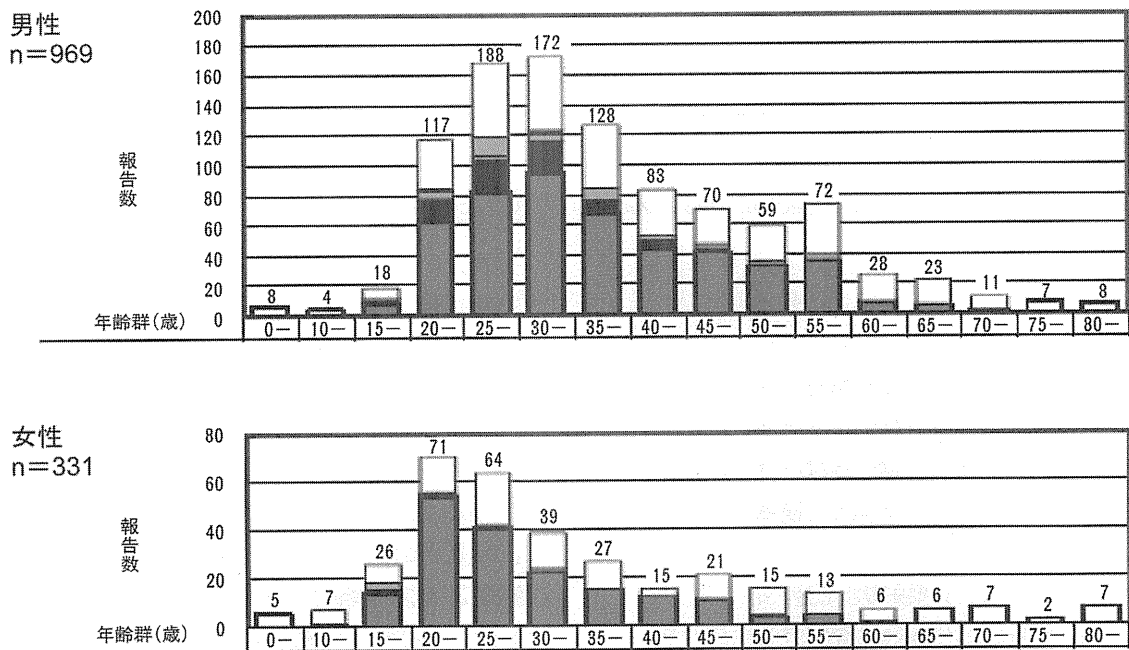
付かないことが多く、いつの間にか広まってしまう可能性がある。また、現在のところウイルスを排除できる薬剤もない。コンドームが推奨されているが、その使用は限られているだけでなく、尖圭コンジローマや性器ヘルペスのように感染している部位を完全に被うことができない疾患もあり、満足できる効果は期待できない。

このような中でワクチン戦略は、ウイルス性性感染症の制御に有力な武器となる。ワクチンは1~数回接種すればよく、また、持続性がある。さらに、ワクチンは個人を感染から守るだけでなく、多くの人が接種されればそのウイルスをこの世から撲滅することが可能であり、結果的には集団防衛につながる。

2. B型肝炎ウイルスワクチン

厚生労働省の研究班によると2003~2008年に届出されたB型肝炎1300例についての年齢分布は、男性は25~30歳台を、女性は20~25歳台をピークとなっており、性感染症の年齢分布と酷似している(図1)。感染経路でも性的接触が最も多く、61%(男性63%、女性56%)を占めている。しかも、男女共国内での異性間性的接触が大半を占めている。年次別にみると、性的接触例の占める割合が1999年43%から2008年では66%と増加している¹⁾。今やB型急性肝炎は、性行為感染症の一つとして考えてよい。

B型肝炎ウイルス (*Hepatitis B Virus*, HBV) は、母子感染により永々として人類に受け継がれてきた²⁾。母子感染により感染した児は、キャリアー(保菌者)になり、その一部は慢性肝炎、肝硬変、肝癌へと進展していく。一般的に母子感染の予防は極めて困難であるが、1986年に国の事業で始まった高力価免疫グロブリン(HBIG)とB型肝炎ワクチンの組合せによるB型肝炎母子感染予防戦略は、キャリアーの発生を約10分の1に抑えることに成功した³⁾。しかし、B型肝炎ウイルスの撲



感染症発生動向調査2010年1月5日現在

図1 B型肝炎の性別・年齢群別分布
2003~2008年(1300例)

減を考えると前述のような性行為感染による感染経路があるので、その対策を考える必要がある。特に最近、欧米型の genotype A といわれる B 型肝炎ウイルスが急増していて、この型の約 10% が慢性化するという。当初は同性愛者である若年男性だけでの感染であったが、最近では異性間性的接触でもみられている。このような性的接触による B 型肝炎ウイルスの伝播を制御するには、ワクチン戦略が最もよいと思われる。

既に遺伝子組換えによる HB ワクチンが市販されている。0.5ml を皮下または筋肉内に注射するもので初回、1 カ月後、6 カ月後の 3 回接種する(小児は半量)。安全性も高く効果も 95% と高い。世界的にみると 158 カ国(82%) において B 型肝炎ウイルスワクチンを全ての新生児に接種する universal vaccination が行われている。その結果、当然、性行為による HBV の感染も防ぐことになる。カナダの British Columbia では 1992 年に HB ワクチンを grade 6 の学生を対象に行い、その後乳児全般に行ったところ、B 型肝炎の頻度が 1992 年では 7.4/10 万であったものが、2003 年には 1.4/10 万に激減し、思春期の急性 B 型肝炎はほとんどなくなったと

報告している⁴⁾。わが国においては、B 型肝炎ウイルスキャリアの母から生まれた児に対してしかワクチン接種は行われていない。肝臓の専門家の多くが小児期までの universal vaccination を推奨している⁵⁾。もし、これが実現すればわが国でも HBV の性行為感染は激減するであろう。ただ、小児期に接種しただけで性活動が活発になる成人になっても果たして予防効果があるかを見届けなければならない課題がある。

3. 単純ヘルペスウイルスワクチン(性器ヘルペスワクチン)

ウイルス性性感染症の最も重要なものに、性器ヘルペスがある。わが国では年間約 7 万人が発症している。この疾患は、単純ヘルペスウイルス (*Herpes simplex virus*, HSV) の 1 型または 2 型の感染による。性器ヘルペスの初感染では、外陰の激しい疼痛、排尿困難、時に発熱などの全身症状を伴うこともある⁶⁾。このウイルスは感染すると知覚神経を上行し、知覚神経節に潜伏し、一生排除できない。面倒なことは、これが再活性化し再

発をくり返すことで2型の感染例では90%以上にも達する。再発すれば心身の大きなストレスになる。妊婦が性器ヘルペスに罹患すると、分娩時の産道感染により新生児ヘルペスを発症することがある⁹⁾。この疾患の全身型では、抗ヘルペスウイルス薬が開発された今日においても、約30%は死の転帰をとる。また、HSV-2に感染している女性では3倍、男性では2倍、同性愛者では1.7倍エイズウイルス(HIV)に感染しやすいといわれている⁹⁾。

HSVは宿主の免疫攻撃から逃れるために種々な機構を有している。例えば、感染細胞における抗原呈示を妨害したり、抗体の作用に際して補体の作用を抑える機能がある。免疫の及びにくい知覚神経節の中で増殖する⁹⁾。知覚神経節の中で潜伏感染しているHSVは、時々再活性化され、再び知覚神経節を下行して再び皮膚粘膜に出現する。この際、発症することもあるが、無症候のことが多い¹⁰⁾。無症候でHSVが排泄されることがこのウイルスが蔓延していく重要な機序となっている¹¹⁾。このようなHSVの感染病理学を考えると、性器ヘルペスの制御には発症時に抗ウイルス薬により治療するだけでは不十分であり universal vaccination による予防戦略が最も賢明であることは明らかである。

米国において、性器ヘルペスは2型によることが多いので、HSV-2に対する感染予防ワクチンが開発され、大

表1 組換え蛋白によるHSVのコンポーネント(糖蛋白)ワクチン

報告年	抗原	アジュバント	投与回数	会社 (商品名)
1999	gD+gB (HSV-2)	MF59	0、1、6ヵ月	Chiron (Biocine)
2002	gD (HSV-2)	alum d MPL	0、1、6ヵ月	GSK (Simplirix)

規模なヒトでの治験が行われている。HSVのDNAには発がん遺伝子が含まれていることが動物実験で判明しているため、DNAを入れないようにするために、ウイルスの中和に必須である表面の糖蛋白のうちD(gD)とB(gB)を遺伝子組換え技術により作成し、免疫原として用いている。HSV-2を用いているのは、性器ヘルペスはHSV-1またはHSV-2の感染によって発症するが、HSV-1とHSV-2は抗原的な交差があり、HSV-2抗体はHSV-1とHSV-2を同程度に中和できる。そこで、HSV-2のgDとgBが抗原として用いられている。現在までに二種類のワクチンが開発され、大規模な臨床実験が行われた(表1)。一つは、Chiron社の開発したgD+gBにアジュバントとしてMF59を用いたもの¹²⁾、もう一つはGSK社の開発したgDにアジュバントとしてア

(縦の破線は最終ワクチンまたは対照製剤投与)

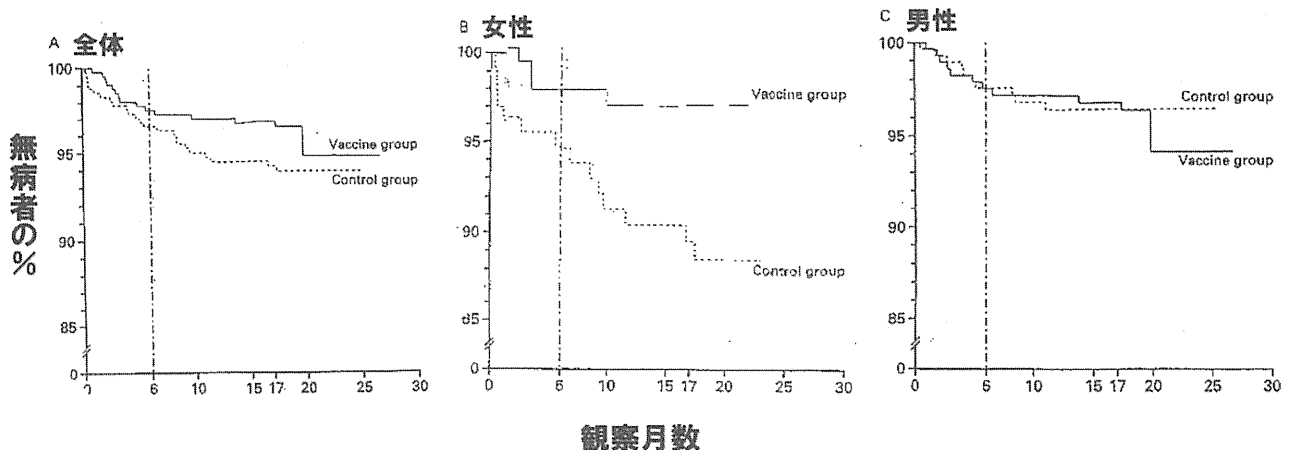


図2 HSV-1及びHSV-2に対する抗体陰性者におけるKaplan-Meier法による性器ヘルペス発症者の追跡調査