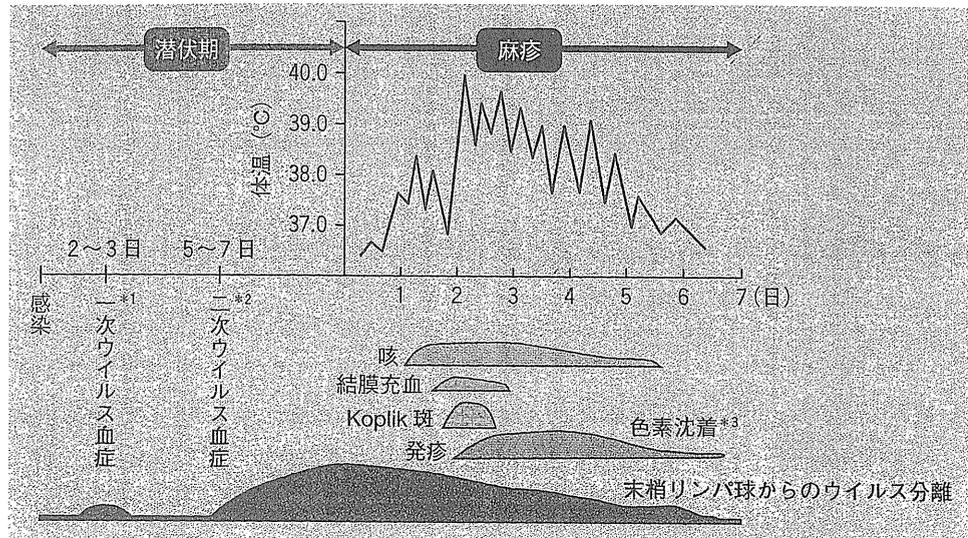


## ④ 麻疹の臨床経過



\*1 ウイルスが上気道粘膜上皮で増殖して血中に入る。

\*2 リンパ球に感染してウイルスが全身に広がる。

\*3 10～12日の潜伏期間後に眼球結膜の充血、上気道のカタル症状が出現し、二峰性発熱とともにKoplik斑、色素沈着を残す発疹が現れる。

(岡部信彦博士より)

SSPE : subacute sclerosing pan-encephalitis

\*3

## SSPE と麻疹ワクチン

- SSPEの潜伏期間は7～10年間であり、学習障害、注意力の低下、痙攣で発症する。
- 乳児が軽症の麻疹に罹患すると、SSPEを発症するリスクが高くなる。
- 治療にイノシプラノベクスなどを使用するが、予後不良である。
- 麻疹ワクチンによるSSPE発症はきわめてまれであり、麻疹ワクチンを定期接種にしているからSSPEの発症は減少している。

HIV : human immunodeficiency virus

\*4

免疫不全者では発疹が出現しないことがある(麻疹の内攻)。

● 脳炎の頻度は1/1,000であり、①自己免疫的機序による麻疹後脳脊髄炎(急性散在性脳脊髄炎)、②免疫不全者に認める麻疹封入体脳炎、③Mタンパクが変異した麻疹ウイルスの持続感染による亜急性硬化性全脳炎(SSPE)\*3の3種類がある<sup>1)</sup>。

● ビタミンA欠乏児では角膜潰瘍を発症し、失明することがある。

● 結核が蔓延している国では、麻疹からの回復後に細胞性免疫が低下し、結核が顕性化することがある。

● 麻疹の死亡率は先進国では0.2%、途上国では2.0%であり、主たる死亡原因は脳炎、肺炎と脱水である。

● 麻疹からの回復に細胞性免疫が主として関与しており、白血病患者やヒト免疫不全ウイルス(HIV)感染者、低栄養児などの細胞性免疫が低下している者では予後不良である\*4。

## 診断の進め方

● 地域での流行、麻疹患者との接触歴が診断に重要である。

● 麻疹流行地に旅行して感染する例があるので、症状から麻疹を疑ったときは流行地への旅行について確認する。

● 日本は2012年までに麻疹排除をめざしており、実験室診断に基づく全数把握が必須であり、地方衛生研究所にサンプルを送付することが勧められている(②)。

● 年齢にかかわらず、発熱、結膜炎、咳、鼻汁、発疹を認めた場合は、麻疹を疑い実験室診断が必要である。

● 麻疹の実験室診断方法には、末梢血単核球、咽頭拭い液、尿からのウイルス分離・ウイルスRNA検出、急性期血清麻疹IgM抗体検出、血清IgG抗

体陽転化・有意上昇があり、末梢血単核球や尿からは比較的長期間ウイルス RNA が検出される。

- 地方衛生研究所では、RT-PCR 法による麻疹ウイルス RNA 検出が行われている。
- 発疹出現早期には血清 IgM 抗体が検出されないことがあり、臨床経過から麻疹が疑われるときは、発疹出現 3 日後以降に再検すると同時に、風疹 IgM 抗体も測定する。
- 麻疹ワクチン接種後の二次性ワクチン不全では IgM 抗体陽性、IgG 抗体早期上昇（二次免疫応答）、一次性ワクチン不全では IgM 抗体は検出されるが、IgG 抗体は陰性または低値（一次免疫応答）である (①)。

## 治療

- 麻疹ウイルスに対する特異的な治療方法はなく、合併症に対して対症療法を行う。
- 脱水：輸液を行い、二次性の細菌性肺炎に対しては抗生物質を投与する。
- ウイルス性肺炎：酸素の投与とステロイドパルス療法が試みられている。
- 痙攣：ジアゼパム 0.3～0.4mg/kg の静注にて、まず痙攣をコントロールする。
- 麻疹による急性散在性脳脊髄炎に対するステロイドパルス療法は、理論上効果が期待されるが、実際の効果は不明である。
- 中等度以上の脱水、痙攣、意識障害、多呼吸などの全身状態が悪いときは、入院とする\*5。
- 途上国ではビタミン A の使用により、死亡率の減少が報告されており、WHO が推奨する治療量を ⑤ に示す<sup>1)</sup>。

## 麻疹患者と接触後の対策

- 麻疹患者と接触をした人に麻疹ワクチンまたは MR ワクチンを接種することは禁忌ではなく、接触後 72 時間以内に接種すれば発症予防に効果があり、120 時間以内ならば発症したとしても軽症化が期待される。
- 麻疹ワクチン・MR ワクチン接種によって誘導された特異免疫により、感染した麻疹ウイルス野生株の増殖が抑制される (⑥)。
- 接触後の緊急ワクチン接種では、発症しなくても麻疹抗体は誘導されている。
- 学校や保育所などで麻疹患者が発症したとき、抗体がないと予測される人（6 か月以上の乳児を含む）には、早期に麻疹ワクチンまたは MR ワクチン接種を受けるよう勧奨する。
- 1 歳未満で麻疹ワクチンまたは MR ワクチンを受けた小児は、特異免疫を獲得していない可能性があるため、1 歳になったら MR ワクチンを接種する。
- 生ワクチンが接種できない免疫不全児や妊婦では、接触後 6 日以内のガンマグロブリン投与が勧められている\*6。

\*5

### 入院時の感染管理

- ・入院時は原則個室を使用する。
- ・麻疹抗体陽性が確認されている医療スタッフが麻疹患者をケアする。

### ⑤ 麻疹発症児へのビタミン A 投与 (WHO)

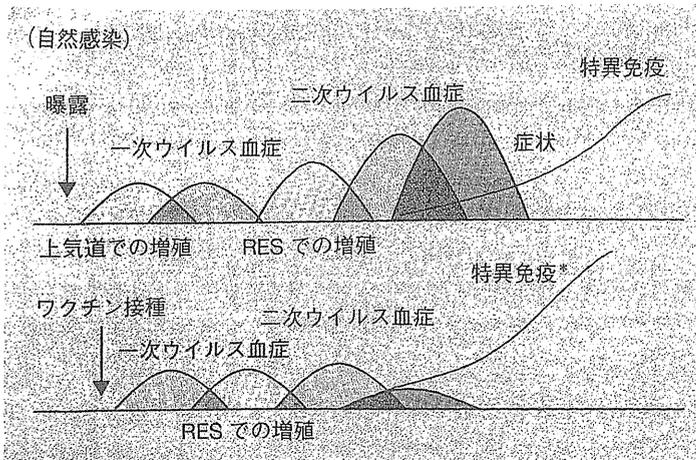
年齢	1 回投与量 (IU)
1 歳以上	200,000
6～11 か月	100,000
6 か月未満	50,000

- 1) ビタミン A を上記投与量で 2 日間連続投与すると、2 歳以下小児の死亡リスクは低下する。
- 2) いずれの国においても麻疹を発症したすべての小児にビタミン A を投与する。
- 3) 投与方法は、1 日 1 回、2 日間投与である。

\*6

筋注用ガンマグロブリンの投与量は 0.25mL/kg であり（最大 15mL）、静注用ガンマグロブリン 200mg/kg は、筋注用ガンマグロブリン投与量とほぼ同じである。免疫不全児に投与する場合は、健康児の倍量を投与する。

## ⑥ 麻疹ワクチン緊急接種時の病態



\* 緊急接種で誘導された特異免疫により野生株の増殖を抑制し発症を予防する。

RES : reticuloendothelial system

\*7  
ワクチンを受ければ登園・登校は認められる。

\*8  
日本では麻疹ワクチン、麻疹風疹混合 (MR) ワクチン、欧米では麻疹ムンプス風疹 (MMR) ワクチン。

\*9  
2008年から5年間にわたり、中学校1年生世代・高校3年生世代に、MRワクチンの定期接種が行われている。

\*10  
定期接種の期間以外にも任意接種として接種は可能である。

ITP : idiopathic thrombocytopenic purpura

\*11  
静注用ガンマグロブリンの半減期は約30日。なお米国の基準は、IVIg投与1,000mg/kgでは10か月後以降に、2,000mg/kgでは11か月後以降に麻疹ワクチン接種が勧められている<sup>1)</sup>。

IVIg : intravenous immunoglobulin

## 麻疹流行時の対応

- 麻疹ワクチンを受けていない通園児や児童生徒には、麻疹ワクチンまたはMRワクチンを受けるよう勧め、ワクチンを受けるまでは、園や学校を休むよう指導する<sup>\*7</sup>。

## 予防

- 麻疹ウイルスを含むワクチン<sup>\*8</sup>を2回皮下接種する。
- 日本では風疹の流行排除もめざしているため、MRワクチン接種が勧められる。

- 1歳の誕生過ぎ早期と小学校入学前1年間の2回接種する (定期接種<sup>\*9・\*10</sup>)。
- 各時期で期待される接種率は、麻疹の集団免疫率90~95%を超える接種率である。
- 麻疹ワクチン接種後の抗体獲得率は95%以上であるが、抗体陽転化した人の約5%は数年後に抗体価は陰転化する。
- 2回接種すると99%の人は抗体が陽性になる。
- ワクチン接種7~10日目に、接種者の20%に37.5℃以上の、5%に38.5℃以上の発熱が出現するが、持続期間は1日である。
- 麻疹ワクチン接種後に熱性痙攣を認めた場合は、他の原因による熱性痙攣と同様にまずジアゼパムを使用する。
- ワクチン接種7~10日目に10%に発疹が出現するが、一過性である。
- ワクチン接種後2か月以内に (とくに接種2~3週後)、100万人に1人の割合で血小板減少性紫斑病 (ITP) を認めるが、通常のITPの治療に反応する。

## 基礎疾患のある児への接種

- オボアルブミンを含むワクチンでアナフィラキシーを誘発するのは600ng/dose以上であり、麻疹ワクチン・MRワクチンに含まれるオボアルブミン濃度は1ng/mL以下なので、卵アレルギー児にも皮内テストを行わずに接種は可能である<sup>1,6)</sup>。
- 細胞性免疫不全児にはMRワクチンは接種不適當であるが、B細胞系だけの免疫不全児には接種が可能である。
- 静注用ガンマグロブリン200mg/kg×5日間投与後に麻疹ワクチンなどの生ワクチンを接種するときは、治療終了後6か月以上あけてから接種し、倍量の2,000mg/kgを投与したときは、投与後7か月以上あけてから接種する<sup>\*11</sup>。
- ITP 既往児に接種する場合は、ITP 再発のリスクと麻疹対策の必要性を考

慮して接種を決定する。

- 吸入ステロイドによる喘息治療中であっても、麻疹ワクチンまたは MR ワクチンの接種は可能である。
- RS ウイルス感染予防に使われるパリーブスマブ投与中に MR ワクチンを接種しても、効果的な免疫は誘導できる。

NT : neutralization test

PA : particle agglutination

EIA : enzyme immunoassay

HI : hemagglutination inhibition

CF : complement fixation



### 麻疹 IgM 抗体の非特異陽性

- 突発性発疹、伝染性紅斑、デング熱などに罹患した子どもで、時に麻疹 IgM 抗体が弱陽性 (0.8~2.0 抗体指数) になる<sup>1)</sup>。
- 非特異陽性のときは、数日後に麻疹 IgM 抗体を再検しても抗体価の上昇が認められない。

### 測定方法による麻疹抗体の読み方

- 麻疹抗体陽性の基準は、中和抗体 (NT)  $\geq 2$

倍、粒子凝集抗体 (PA)  $\geq 16$  倍、酵素免疫抗体 (EIA)  $\geq 2.0$  EIA 価であり、95%以上の人の発症予防基準は、NT  $\geq 4$  倍、PA  $\geq 64$  倍、EIA  $\geq 4.0$  EIA 価である。

- 赤血球凝集抑制抗体 (HI) は、NT、PA、EIA よりも感度は低いが、HI  $\geq 8$  倍は、発症予防レベルである。
- 麻疹免疫の診断に補体結合法 (CF) は用いてはならない。

### 修飾麻疹と異型麻疹

- 修飾麻疹は、麻疹ワクチン接種後の免疫減衰時、移行抗体残存時、ガンマグロブリン投与後の麻疹発症時に認める軽症の麻疹であり、Koplik 斑を認めないことが多い。
- SVF 例では早期に免疫二次応答が認められるため、麻疹ウイルスの増殖が抑制されて軽症化し、

移行抗体残存時およびガンマグロブリン投与後では、残存している抗体により麻疹ウイルスの増殖が抑制されて軽症化する。

- 異型麻疹は麻疹不活化ワクチン接種後の麻疹罹患例に認められた重症の麻疹であり、麻疹生ワクチン使用後は認められなくなっている。

### 文献

- 1) AAP. Measles. In : Red Book 28th. Elk Grove Village : American Academy of Pediatrics ; 2009. p.444-55.
- 2) 中山哲夫. 麻疹ワクチン. ウイルス 2009 ; 59 : 257-66.
- 3) 竹田 誠, 駒瀬勝啓. 世界麻疹排除計画と世界麻疹風疹実験室ネットワーク. 病原微生物検出情報 2010 ; 31 : 35-6.
- 4) Ihara T. The strategy for prevention of measles and rubella prevalence with measles-rubella (MR) vaccine in Japan. Vaccine 2009 ; 27 : 3234-6.
- 5) 庵原俊昭. 麻疹ウイルス. 日本小児感染症学会編. 小児感染症マニュアル 2007. 東京 : 東京医学社 ; 2006. p.247-54.
- 6) 庵原俊昭. ムンプス (流行性耳下腺炎) ワクチン. 日本ワクチン学会編. ワクチンの事典. 東京 : 朝倉書店 ; 2004. p.119-31.
- 7) 多屋馨子ほか. 2009 年度麻疹血清疫学調査ならびに予防接種率調査—2009 年度感染症流行予測調査中間報告 (2010 年 1 月現在速報). 病原微生物検出情報 2010 ; 31 : 36-9.

話題の疾患と治療

# 成人の麻疹対策とワクチン

国立病院機構三重病院院長（小児科）

庵原 俊昭

感染・炎症・免疫 第41巻 第2号 別刷

平成23年7月10日発行

東京 医薬の門社

# 【 成人の麻疹対策とワクチン 】

\*国立病院機構三重病院院長(小児科)

庵原俊昭

## はじめに

麻疹はパラミクソウイルス科モルビリウイルス属に属する麻疹ウイルスによる全身性ウイルス感染症である。麻疹は極めて感染力が強く、感染すると重篤な経過を示す感染症であり、江戸時代は「命定めめの病氣」として恐れられていた。麻疹ワクチンが開発される以前、世界で年間600万人が麻疹により死亡していたが、麻疹ワクチンが普及した2005年には麻疹による年間死亡者数は34.5万人に減少した(減少率=99.9%)。この結果を受け世界保健機関(WHO)は、麻疹ウイルス野生株排除が達成されたアメリカ地区に加え、ヨーロッパ地区、地中海地区、西太平洋地区から野生株を排除する活動を行っている<sup>1)</sup>。

本稿では、麻疹の疫学、成人の麻疹対策を中心に解説する。

## 1. 麻疹の疫学

麻疹ウイルスは主として飛沫および接触で感染し、ときに空気感染する。1人の麻疹患者が免疫のない人に感染させる数(基本再生産数)は、16~21人と感染症最大であり、流行を抑制するための集団免疫率は90~95%である<sup>2)</sup>。日本では1978年から麻疹ワクチンの定期接種が始まったが、

接種率が集団免疫率に達しないため、数年ごとに異なる遺伝子型の麻疹ウイルスによる流行を認めていた(表1)。麻疹ワクチン2回接種が始まった近年は、フィリピン、中国などからの帰国者が麻疹ウイルスを日本に持ち込んでいるが、大きな流行に至っていない。

麻疹ワクチン定期接種以前の主たる発症者は幼児であった。しかし、集団免疫率を下回る接種率で麻疹ワクチン定期接種が行われている現在の主たる発症者は、思春期から20代の若者と1歳未満の乳児である。発症した思春期から20代の若者の特徴は、麻疹にかからずしかもワク

チンを受けていなかった人か、1回麻疹ワクチンを受けた後免疫が低下した人である。

麻疹患者の周囲への感染期間は、カタル症状出現1~2日前(発疹出現3~5日前)から発疹出現4日後頃までである。麻疹患者と接触後、発熱、上気道炎症状出現までの潜伏期間は8~12日間、発疹出現までの潜伏期間は7~18日(中央値14日)である。

## II. 麻疹の臨床像

まず発熱、咳、鼻汁、結膜炎などのカタル症状が出現する<sup>3)</sup>。発熱

表1 日本の麻疹と麻疹ワクチンの歴史

江戸時代	10~40年ごとに麻疹が流行し、「命定めめの病氣」と恐れられていた
1846年	Faroe島での65年ぶりの麻疹流行と疫学調査
明治時代	都市に人が集まるようになり、麻疹が2年ごとに流行するようになる
1954年	Endersにより麻疹ウイルスの分離
1963年	米国で麻疹生ワクチンの開発
1969年	麻疹弱毒生ワクチンの接種開始(任意接種)
1977年	中学生女子を対象に風疹生ワクチン接種開始(定期接種)
1978年	幼児を対象に麻疹ワクチンの定期接種開始
1989年	幼児を対象に麻疹ムンプス風疹(MMR)ワクチンの接種開始
1990年頃	日本で遺伝子型D3の麻疹ウイルス流行
1993年	MMRワクチンの実施見合わせ*
1994年	麻疹ワクチン・風疹ワクチンを1歳から接種(定期接種)
1996年頃	日本で遺伝子型D5パラオ型の麻疹ウイルスが流行
2001年頃	日本で遺伝子型H1の麻疹ウイルスが流行
2006年	麻疹風疹混合(MR)ワクチン2期接種の開始
2006年頃	日本で遺伝子型D5バンコク型の麻疹ウイルスの流行
2008年	MRワクチン3期、4期接種の開始(5年間の時限措置)
2010年	フィリピンからの帰国者が日本で麻疹発症(遺伝子型D9)
2012年	日本から麻疹ウイルス野生株排除の目標年

\*ムンプスワクチンによる無菌性髄膜炎の頻度が予測よりも高頻度であったため

表2 麻疹ワクチンの種類と抗体価による接種基準

1) 麻疹ワクチンの種類			
起源	ワクチン株	国	遺伝子型
Edmonston株	Moraten	米国	A
	Schwartz	カナダ・フランス等	A
	Edmonston-Zagreb	クロアチア・インド等	A
	AIK-C	日本(北里研究所)	A
	Schwartz FF-8	日本(武田薬品工業)	A
田辺株	CAM70	日本(阪大微生物病研究会)	A

2) 抗体価による麻疹ワクチン接種基準		
抗体測定方法	抗体価	
	一般人	医療従事者*
中和法(NT)	≤ 2倍	≤ 4倍
粒子凝集法(PA)	≤ 32倍	≤ 64倍
酵素免疫法(EIA)	< 4.0 EIA 価	< 8.0 EIA 価

\*麻疹患者と接種するリスクが高い医療従事者。曝露量が多いときは発症予防のために高い抗体価が必要  
 注意1：麻疹の免疫の確認に補体結合法(CF)は用いない  
 注意2：赤血球凝集抑制(HI)抗体8倍以上は医療従事者でも発症予防効果がある

は2～3日後に一度解熱するが、翌日には再度39～40℃に上昇し、二峰目の発熱出現と同時に顔面から斑丘疹が出現し、下方へ拡大する。典型的な麻疹の皮疹は色素沈着を残して消退する。麻疹に特徴的な頬部に出現する粘膜疹(Koplik斑)は発疹出現前の解熱時に出現する。

合併症として、中耳炎、肺炎、クループ症候群、角膜潰瘍、下痢、脳炎がある。肺炎には免疫不全者に認める巨細胞性肺炎、ウイルス性肺炎、細菌の二次感染による細菌性肺炎がある。成人ではウイルス性肺炎を合併する頻度が高い。予後が悪い脳炎の頻度は1/1,000である。麻疹の死亡率は先進国では0.3%、途上国では3.0%であり、主たる死亡原因は脳炎、肺炎、下痢による脱水である。成人は小児よりも死亡率が高率である。

### III. 麻疹の免疫

1781年に麻疹が流行し、その後麻疹流行がなかったFaroe島で1846年に麻疹が流行した時、1781年の流行を経験した65歳以上の人は麻疹を発症しなかったが、64歳以下の人は麻疹を発症した。この報告から麻疹は一度かかると生涯免疫が持続すると考えられていた。しかし、1回麻疹ワクチンを受けた一部の人が麻疹流行時に軽症の麻疹(修飾麻疹)を発症することがあり、先進国ではワクチン後の麻疹罹患予防を目的に麻疹ウイルスを含むワクチン(measles virus containing vaccine: MCV)の2回接種を行っている。本邦でも2006年から小学校入学前の児童を対象に麻疹風疹混合(MR)ワクチンの2期定期接種が始まったが、2006年に高校性や大学生を中心に麻疹流行を認めたため、集団生活の場での麻疹流行を

早期に抑制することを目的に、2008年から5年間の時限で、中学校1年生および高校3年生世代にMRワクチン定期接種を行っている(表1)。

### IV. 麻疹ワクチン

欧米の麻疹ワクチン株や本邦のAIK-C株とFF-8株はEdmonston株由来であり、CAM70株は田辺株由来である(表2)。いずれのワクチン株も遺伝子型はAである。ワクチン接種により誘導された抗体は、遺伝子型の異なる野生株に対して有効である。麻疹ワクチン接種後の抗体獲得率は95%以上であるが、抗体陽転化した人の約5%は数年後に抗体価は陰転化する。2回接種すると99%の人は抗体が陽性になる。MCVは年齢に関係なく、任意接種として接種可能である。

### V. 成人の麻疹対策

#### 1) 通常時の対策

麻疹ワクチン接種者の抗体価は自然麻疹罹患よりも低値であり、麻疹ワクチン接種者から生まれた子どもの麻疹移行抗体も6カ月頃に消失する<sup>4,5)</sup>。日本では1978年から1歳児を対象に麻疹ワクチンの定期接種が始まっており、1977年以降に生まれた人の多くは麻疹ワクチン接種を受けた人達である。表3に麻疹に対する免疫があると推定される人を示した。1977年以降に生まれた人で明らかな麻疹罹患歴がない人、MCVを1回しか受けていない人には、年齢に関係なくMCV接種が勧められる。日本は麻疹流行排除と同時に風疹流行排除も目指しており、接種する

ワクチンはMRワクチンが勧められる。

麻疹抗体の測定結果からMCVを接種する方法もある。表2に抗体価によるMCV接種基準を示した。ウイルス曝露量が多いと発症するリスクが高いため、麻疹患者と接触する頻度が高い医療従事者は、発症予防のために高い抗体価が期待される。成人へのMCV接種後の抗体価測定は不要である。時にMCV2回接種後の抗体価が発症予防レベルよりも低い人はいるが、このような人は、接種されたワクチン株が体内で増殖しなかったために二次免疫応答が起らなかった人であり、発症リスクが低い人である。そのため、原則としてMCV2回接種を受けた人への追加接種は不要である。

## 2)曝露時の対策

免疫不全がない成人で、明らかな麻疹既往歴やMCV接種歴がない人が麻疹患者と接触した場合、接触後72時間以内にMCVを接種すれば発症予防が期待され、120時間以内ならば発症したとしても軽症化が期待される<sup>6)</sup>。免疫不全者や妊婦は生ワクチン接種が禁忌であり、 $\gamma$ グロブリンを投与する。接触後120時間以内ならば効果が期待される。筋注用 $\gamma$ グロブリン投与量は0.25 mL/kg(最大15 mL)であり、 $\gamma$ グロブリン換算すると40 mg/kgである。免疫不全者には免疫健常者の倍量を投与する。静注用 $\gamma$ グロブリン1 g中に含まれる麻疹抗体価は筋注用 $\gamma$ グロブリン1 g中に含まれる麻疹抗体価と同等である。

表3 麻疹の免疫があると考えられる人

- ① 1976年以前に生まれた人\*
- ② 麻疹流行時に麻疹に罹患したことが医師により診断された人
- ③ 発症予防レベル以上の麻疹抗体価を有していると証明された人(中和抗体 $\geq$ 4倍, 粒子凝集抗体 $\geq$ 64倍, 酵素免疫抗体 $\geq$ 4.0EIA価)
- ④ 麻疹ウイルスを含むワクチンを2回接種受けたことが証明される人(母子手帳などで確認)

\*米国では1957年以前に生まれた人

## VI. 集団における麻疹流行時の対策

麻疹は典型的な発疹が出現する前から周囲への感染力があるため、一度流行が始まると流行抑制は困難である。学校などの施設閉鎖を行う期間は、最大潜伏期間を越える期間である。現在日本ではMCVの2回接種率が高率であるので、施設閉鎖を行うよりも、2回接種を受けている人、麻疹罹患歴が明らかな人の登校を許可し、この人達以外の人の登校を停止すると同時にMCV接種を勧め、MCV接種を受けると登校を許可する方が現実的である。なお、麻疹発症者の就労・通学停止期間は、米国では発疹出現後7日間であり<sup>7)</sup>、本邦では解熱後3日間である。

## まとめ

麻疹の疫学、成人の麻疹対策について解説した。麻疹罹患歴およびワクチン歴が不明な人を含め、麻疹罹患歴がなく麻疹ワクチン歴がない人は、MCVを早期に受けるべきであり、1回MCVを受けている人は2回目のMCV接種が勧められる。

## 参考文献

- 1)竹田 誠, 駒瀬勝啓:世界麻疹排除計画と世界麻疹風疹実験室ネットワーク. 病原微生物検出情報 2010; 31: 35-36.
- 2)Nokes DJ, Anderson RM. The use of mathematical models in the epidemiological study of infectious diseases and in the design of mass immunization programmes. *Epidem Inf* 1988; 101: 1-20.
- 3)庵原俊昭:麻疹ウイルス. 小児感染症マニュアル2007. 日本小児感染症学会編, 東京医学社, 東京, 247-254, 2006.
- 4)Leuridan E, Hens N, Hutse V, *et al*. Early waning of maternal measles antibodies in era of measles elimination: longitudinal study. *Brit Med J* 2010; 340: c1626.
- 5)Ihara T. The strategy for prevention of measles and rubella prevalence with measles-rubella (MR) vaccine in Japan. *Vaccine* 2009; 27: 3234-6.
- 6)AAP: Measles. In *American Academy of Pediatrics (ed): Red Book, 28<sup>th</sup> ed*, Elk Grove Village, IL, pp444-55, 2009.
- 7)American Academy of Pediatrics: Infection prevention and control in pediatric ambulatory settings. *Pediatrics* 2007; 120: 650-65.

## 麻疹、風疹、水痘、ムンプスの患者に接触したときの感染予防措置はどうすればよいですか

庵原俊昭\*

### I. 麻疹、風疹、水痘、ムンプスの感染力

- ヒトからヒトに感染する感染症（ヒトヒト感染症）の感染力は、一人の感染した人が免疫のない周囲の人何人に感染させるかの数（基本再生産数： $R_0$ ）で表される。
- 感染症の流行を止める集団免疫率は  $(1-1/R_0) \times 100$  で求められ、基本再生産数が高い感染症ほど感染力が強く、高い集団免疫率が必要である（表1）。
- また、ヒトヒト感染症では曝露された病原体の量と曝露時間が、周囲の人への感染に関係している。曝露量が多い顔と顔が向き合った状態では短時間で感染し、同じ室内にいる場合は曝露量が少ないため長時間の曝露時間が必要である。
- 水痘の場合、顔と顔が向かい合った場合は5分間、同じ部屋にいた場合は60分間で他人に感染させる<sup>1)</sup>。基本再生産数が高い感染症ほど短

時間の曝露で周囲に感染する。

- 麻疹、風疹、水痘、ムンプスにおいて感染を受けても発症しないと予測される状態は、流行時の明らかな既往、文書で証明された2回のワクチン歴、発症予防以上の抗体価の保有、である。
- 既往歴が不明の場合は免疫がないとして対応し、1回しかワクチンを受けていない人で確実な発症予防を希望する場合は、2回目のワクチン接種が勧められる。
- 麻疹、水痘などの患者との接触時の感染予防措置の原則は、生ワクチン接種可能者にはできるだけ早期にワクチンを接種し、生ワクチンが接種できない者には $\gamma$ グロブリンの投与が、とくに免疫不全者では倍量の投与が考慮される。

### II. 麻疹の感染予防措置

- 麻疹患者と接触後72時間以内に麻疹ワクチンを接種すれば発症予防効果が、120時間以内な

表1 麻疹・風疹・水痘・ムンプス・インフルエンザの基本再生産数・集団免疫率と感染に要する接触時間

感染症	基本再生産数	集団免疫率 (%)	接触時間*	
			向かい合わせ	同室内
麻疹	16~21	90~95	NA	≥20分間
風疹	7~9	80~85	NA	NA
水痘	10	90	≥5分間	≥60分間
ムンプス	11~14	85~90	NA	NA
インフルエンザ	1.4~2.4	50	≥15分間	≥24時間 <sup>†</sup>

NA: not applicable

集団免疫率  $\approx (1-1/\text{基本再生産数}) \times 100$

\*各病原体がヒトヒト感染するために要する時間

<sup>†</sup>感染者が動いた場合。おとなしくしていると、もっと長い時間が必要

\*Ihara Toshiaki

国立病院機構三重病院小児科〔〒514-0125 津市大里窪田町357〕

TEL 059-232-2531 FAX 059-232-5994 E-mail: ihara@mie-m.hosp.go.jp

表2 種々生ワクチンの曝露後接種の効果

項目	麻疹	水痘	風疹	ムンプス
潜伏期間 (日)	10~14	14~16	16~18	16~18
症状出現前のウイルス排泄	あり	あり	あり	あり
ウイルス血症のピーク (主症状出現との関係)	出現時	出現時	出現時	出現前?
ワクチン後の反応				
副反応出現 (日)	7~10	14~	7~14	18~21
CMI 出現 (日)	7~10	5~13	10~14	14~
曝露後接種*	有効	有効	有効?	無効
接種までの期間	72 時間以内	72 時間以内	理論上	当日 <sup>†</sup>

CMI : cell mediated immunity (細胞性免疫)

\*ワクチン接種により誘導された免疫により、先に感染した野生株の増殖を抑制し、発症を予防する。72 時間以内ならば発症予防が、120 時間以内ならば発症したとしても軽症化が期待される。

<sup>†</sup>家族内曝露当日の有効率は 57%。発症したとしても軽症化する。

らば発症したとしても軽症化が期待される (表 2)。ワクチン接種世代の乳児では移行抗体の量が少ないので、生後 6 か月以降はワクチン接種が勧められる<sup>2)</sup>。

- 発症予防メカニズムは、麻疹ワクチン接種によって誘導された特異免疫により、感染した麻疹ウイルス野生株の増殖を抑制するものであり、接触後早ければ早いほど高い予防効果が期待される。この方法では、麻疹を発症しなくても麻疹抗体は誘導されている。
- 生ワクチンが接種できない人では、接触後 6 日以内の  $\gamma$  グロブリン投与が勧められている。筋注用  $\gamma$  グロブリン (IMIG) の投与量は 0.25 mL/kg ( $\gamma$  グロブリン 40 mg/kg, 最大 15 mL) であり、静注用  $\gamma$  グロブリン (IVIG) では 50 mg/kg が IMIG 投与量にほぼ匹敵する。免疫不全児に投与する場合は健常児の倍量 (IMIG : 0.5 mL/kg, IVIG : 100 mg/kg) を投与する<sup>2)</sup>。

### III. 風疹の感染予防措置

- 風疹ワクチンの曝露後接種の効果は証明されていない。しかし、風疹ワクチンでは、野生株感染から発症までの期間よりも早期に特異免疫が誘導されるので、理論上接触後早期の風疹ワクチン接種の効果が期待されている (表 2)<sup>3)</sup>。
- ワクチン接種が可能な人には、接触後早期に風

疹ワクチンまたは MR ワクチンを接種する。 $\gamma$  グロブリンの風疹発症予防効果に関して一定の見解は得られていない。

- 麻疹における IMIG や IVIG の効果をみると、IVIG 投与後の抗体価が健常者の発症予防抗体価の 4 倍以上の抗体価に到達すると予防効果が期待されるので、風疹では IVIG 100 mg/kg 以上投与すれば理論上効果が期待される (表 3)。IMIG を 0.55 mL/kg ( $\gamma$  グロブリン 88 mg/kg) 投与すると発症予防が期待されるという報告もある<sup>3)</sup>。

### IV. 水痘の感染予防措置

- 水痘患者と接触後 72 時間以内に水痘ワクチンを接種すれば発症予防効果が、120 時間以内ならば発症しても軽症化が期待される<sup>1)</sup>。
- 発症予防メカニズムは曝露後の麻疹ワクチン接種時と同様である。
- 欧米では带状疱疹患者の回復期血清から製造された筋注用水痘带状疱疹ウイルス抗体高単位  $\gamma$  グロブリン (ZIG) を接触後 96 時間以内に投与しているが、わが国では ZIG は市販されていない。
- IVIG を用いるならば、麻疹での有効性から理論上推察すると、免疫健常児ならば 100 mg/kg、免疫不全児ならば 200 mg/kg 投与すれば効果

表3 献血スルフォ化 IVIG® に含まれる各種抗体価と投与後に予測される血中抗体価

感染症	IVIG (2010年製造)		予測される血中抗体価*						発症予防抗体価
	平均抗体価	単位	IVIG投与量 (mg/kg)						
			50	100	200	500	1,000	2,000	
麻疹	6,300	mIU/mL <sup>†</sup>	572	1,050	1,800	3,150	4,200	5,040	120*
風疹	153.5	EIA 価	14.0	25.6	43.9	76.8	102.3	122.8	5.0~7.5 <sup>‡</sup>
水痘	126.2	EIA 価	11.5	21.0	36.1	63.1	84.1	101.0	4.0
ムンプス	43.3	EIA 価	3.9	7.3	12.4	21.7	28.9	34.6	4.0

\*人のγグロブリン濃度は500 mg/kg, 抗体陰性者に各量のIVIGを投与したときの理論上の抗体価=IVIG抗体価×IVIG投与量/(500 mg/kg+IVIG投与量)。献血スルフォ化IVIGを2,000 mg/kg投与後の血中抗体価は、ほぼ麻疹(中和)128倍, 風疹(HI)256倍, 水痘(IAHA)256倍である。

<sup>†</sup>麻疹抗体6,300 mIU/mLは中和抗体128倍に相当する。

<sup>‡</sup>麻疹抗体120 mIU/mLは, 中和抗体4倍, PA抗体64倍, EIA抗体4.0EIA価にほぼ相当し, 風疹抗体15 IUはHI抗体16倍, EIA抗体7.5EIA価にほぼ相当する。

が期待される(表3)。米国では400 mg/kg投与を推奨する意見もある<sup>1)</sup>。

- 水痘ワクチン接種やIVIG投与が困難なときは, アシクロビル(ACV)を患者と接触後7~10日目から7日間, 40~80 mg/kg/日を1日4回, 経口投与する。発症予防または軽症化が期待される。

ムンプス野生株増殖による症状出現時期とはほぼ同時期のため, 緊急接種の効果が低いと考えられている。

- また, IVIG中に含まれるムンプス抗体価は麻疹や水痘と比べ低値のため, 接触後のγグロブリン投与も効果は期待できない(表3)。

#### 文献

- 1) American Academy of Pediatrics: Varicella-Zoster infection. In Red Book, 28th ed, American Academy of Pediatrics, Elk Grove Village, pp714-727, 2009
- 2) American Academy of Pediatrics: Measles. In Red Book, 28th ed, American Academy of Pediatrics, Elk Grove Village, pp444-455, 2009
- 3) American Academy of Pediatrics: Rubella. In Red Book, 28th ed, American Academy of Pediatrics, Elk Grove Village, pp579-584, 2009
- 4) 庵原俊昭: ムンプス(Mumps). 臨床とウイルス **30**: 28-32, 2002

## V. ムンプスの感染予防措置

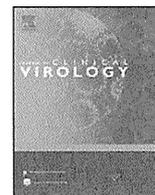
- 家族内接触後のムンプスワクチン緊急接種の発症予防効果は, 麻疹や水痘に比べて低率であるが, 接触後72時間以内ならば発症したとしても軽症化が期待される<sup>4)</sup>。
- 麻疹や水痘では, 野生株による臨床症状出現よりも先にワクチンにより免疫が誘導されるが, ムンプスではワクチンによる免疫誘導時期が,

\* \* \*



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Clinical Virology

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/jcv](http://www.elsevier.com/locate/jcv)

Short communication

## Kinetics of cytokine and chemokine responses in patients with primary human herpesvirus 6 infection<sup>☆</sup>

Tetsushi Yoshikawa<sup>a,\*</sup>, Yuri Kato<sup>a</sup>, Masaru Ihira<sup>b</sup>, Naoko Nishimura<sup>c</sup>, Takao Ozaki<sup>c</sup>, Takuji Kumagai<sup>d</sup>, Yoshizo Asano<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Department of Pediatrics, Fujita Health University School of Medicine, Toyoake, Aichi 4701192, Japan

<sup>b</sup> Faculty of Clinical Engineering, Fujita Health University School of Health Sciences, Toyoake, Aichi, Japan

<sup>c</sup> Department of Pediatrics, Konan Kosei Hospital, Konan, Aichi, Japan

<sup>d</sup> Kumagai Pediatric Clinic, Sapporo, Hokkaido, Japan

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 7 July 2010

Received in revised form

18 September 2010

Accepted 23 September 2010

#### Keywords:

HHV-6

Exanthem subitum

Primary infection

Cytokine

Chemokine

### ABSTRACT

**Background:** Cytokines and chemokines induced by human herpesvirus 6 (HHV-6) infection may play an important role in the observed HHV-6-associated clinical complications. However, basic data for cytokine and chemokine synthesis in primary HHV-6 infected patient without complication is lacking.

**Objective:** Aim of this study was to elucidate basic kinetic data for expressions of cytokines and chemokines in patients with primary HHV-6 infection without complication.

**Study design:** Twenty-six patients suffering from fever were enrolled in this study. Fourteen biomarkers were measured in 74 serially collected sera samples from 26 patients. Additionally, serum samples obtained from 14 healthy children were used for control.

**Results:** Twenty of the 26 patients were diagnosed with primary HHV-6 infection based on viral isolation and serological analysis. The mean age ( $P=0.1289$ ) and proportion of males to females ( $P=0.9999$ ) between the patients with and without primary HHV-6 infection were not statistically different. At the acute phase of the disease, three cytokines (IFN- $\gamma$ ;  $P=0.0046$ , IL-2;  $P=0.0366$ , and IL-4;  $P=0.0255$ ) and one chemokine (MCP-1;  $P=0.0019$ ) were significantly higher in patients with primary HHV-6 infection compared to those without infection. Interleukin-5 levels during the convalescent period were significantly higher in patients with HHV-6 infection ( $P=0.0205$ ). By 1 month post-infection, cytokine and chemokine expression had returned to almost basal levels.

**Conclusion:** As suggested by the previous *in vitro* studies, present *in vivo* analysis also suggests that HHV-6 has potency for induction of cytokines and chemokines.

© 2010 Elsevier B.V. All rights reserved.

### 1. Background

Primary human herpesvirus 6 (HHV-6) infection can cause exanthem subitum in infants and young children.<sup>1</sup> Although the disease is generally a benign febrile illness with self-limiting clinical course,<sup>2</sup> several severe complications, such as encephalitis,<sup>3</sup> have been reported. It has been suggested that several cytokines might be involved in causing HHV-6 encephalitis.<sup>4</sup> Additionally, our recent studies suggested that several inflammatory cytokines were upregulated by HHV-6 reactivation and these may contribute to the associated clinical manifestations in transplant recipients<sup>5,6</sup> and patients with drug induced hypersensitivity syndrome.<sup>7</sup> More-

over, *in vitro* studies demonstrated that HHV-6 can modulate host immunity by several mechanisms, including killing lymphocytes and controlling cytokine synthesis.<sup>8–12</sup> Thus, the cytokines and chemokines induced by HHV-6 infection may play an important role in the observed HHV-6-associated clinical manifestations.

### 2. Objective

Aim of this study was to elucidate basic kinetic data for expressions of cytokines and chemokines in patients with primary HHV-6 infection without complication.

### 3. Study design

#### 3.1. Patients and sample collection

Twenty-six patients suffering from fever, who visited Kumagai Pediatric Clinic, were enrolled in this study. Patients were consented by their guardians for participation in this study. This study

**Abbreviations:** HHV-6, human herpesvirus 6; IL, interleukin; IFN, interferon; TNF, tumor necrosis factor; MCP, monocyte chemoattractant protein.

<sup>☆</sup> Grant support: This work was supported in part by a grant from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan.

\* Corresponding author. Tel.: +81 562 939251; fax: +81 562 952216.

E-mail address: [tetsushi@fujita-hu.ac.jp](mailto:tetsushi@fujita-hu.ac.jp) (T. Yoshikawa).

**Table 1**  
Cytokine levels in serially collected sera samples in patients with and without primary HHV-6 infection.

Sampling days	Cytokines (pg/ml)	Normal control	With primary HHV-6 inf.		W/O primary HHV-6 inf.		P-Value <sup>a</sup>
		Mean ± SD	Median (25–75%)		Median (25–75%)		
Days 0–5 (acute)	IL-1β	0.0 ± 0.0	0.0	(0.0–0.0)	0.0	(0.0–0.0)	0.3921
	<b>IL-2</b>	0.0 ± 0.0	<b>24.1</b>	<b>(15.7–26.8)</b>	<b>8.4</b>	<b>(0.0–17.6)</b>	<b>0.0366</b>
	<b>IL-4</b>	0.0 ± 0.0	<b>13.5</b>	<b>(0.0–23.0)</b>	<b>0.0</b>	<b>(0.0–0.0)</b>	<b>0.0255</b>
	IL-5	0.0 ± 0.0	11.5	(8.9–12.2)	9.5	(2.3–10.1)	0.2227
	IL-6	1.1 ± 4.2	14.2	(0.0–21.2)	7.8	(0.0–22.5)	0.8001
	IL-10	3.9 ± 4.8	40.3	(18.9–64.0)	9.0	(0.0–25.5)	0.0513
	IL12p70	0.0 ± 0.0	0.0	(0.0–0.0)	0.0	(0.0–0.0)	0.3237
	<b>IFN-γ</b>	0.0 ± 0.0	<b>168.2</b>	<b>(119.1–291.7)</b>	<b>66.7</b>	<b>(38.0–85.5)</b>	<b>0.0046</b>
	TNF-α	0.0 ± 0.0	0.0	(0.0–9.3)	0.0	(0.0–6.6)	0.0874
	Days 6–15 (convalescent)	IL-1β	0.0 ± 0.0	0.0	(0.0–12.4)	0.0	(0.0–0.0)
IL-2		0.0 ± 0.0	23.6	(6.9–33.5)	7.8	(0.0–16.4)	0.0701
IL-4		0.0 ± 0.0	18.5	(0.0–21.7)	0.0	(0.0–0.0)	0.0535
<b>IL-5</b>		0.0 ± 0.0	<b>10.9</b>	<b>(8.4–13.4)</b>	<b>0.0</b>	<b>(0.0–6.2)</b>	<b>0.0205</b>
IL-6		1.1 ± 4.2	0.0	(0.0–17.5)	4.2	(0.0–9.0)	0.4503
IL-10		3.9 ± 4.8	0.0	(0.0–15.4)	0.0	(0.0–0.0)	0.0653
IL12p70		0.0 ± 0.0	0.0	(0.0–0.0)	0.0	(0.0–0.0)	0.4173
IFN-γ		0.0 ± 0.0	45.8	(35.2–52.0)	13.4	(0.0–45.2)	0.3033
TNF-α		0.0 ± 0.0	15.9	(6.6–19.7)	8.8	(0.0–17.7)	0.6276
1 month after onset of illness		IL-1β	0.0 ± 0.0	0.0	(0.0–0.0)	0.0	(0.0–0.0)
	IL-2	0.0 ± 0.0	22.2	(9.6–29.5)	17.2	(4.2–17.8)	0.6367
	IL-4	0.0 ± 0.0	0.0	(0.0–13.9)	0.0	(0.0–7.8)	0.7676
	IL-5	0.0 ± 0.0	10.8	(0.0–14.1)	9.6	(1.7–13.5)	0.9729
	IL-6	1.1 ± 4.2	0.0	(0.0–0.0)	0.0	(0.0–0.0)	0.6859
	IL-10	3.9 ± 4.8	0.0	(0.0–1.8)	0.0	(0.0–4.7)	0.8627
	IL12p70	0.0 ± 0.0	0.0	(0.0–0.0)	0.0	(0.0–0.0)	0.4945
	IFN-γ	0.0 ± 0.0	31.1	(9.8–43.7)	16.1	(3.3–21.2)	0.3625
	TNF-α	0.0 ± 0.0	5.6	(0.0–16.9)	0.0	(0.0–11.4)	0.8853

Inf.: infection, W/O: without.

Bold value indicates the biomarkers, in which there were significant difference between the 2 groups.

<sup>a</sup> Comparison between patients with and without primary HHV-6 infection.

was approved by the review boards of Fujita Health University. EDTA-treated peripheral blood and serum were serially collected from the patients at the initial visit to the clinic (days 0–5, acute), days 6–15 (convalescent), and 1 month after onset of the illness. Meanwhile, 1 ml of serum was collated from 14 healthy controls in Konan Kosei Hospital.

### 3.2. Virus isolation and serological analysis

The procedures for the isolation and identification of HHV-6 have been described elsewhere.<sup>2</sup> IgG antibody titers to HHV-6 were measured using an indirect-immunofluorescence assay as described previously.<sup>2</sup> We defined the patients with either seroconversion or HHV-6 viremia as the patients with primary HHV-6 infection.

### 3.3. Measurements of cytokines and chemokines

Serially collected serum samples were processed immediately after collection and stored at –70 °C for the subsequent measurement of cytokines and chemokines. The quantification of nine cytokines (interleukin 1β (IL-1β), IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12p70, interferon-γ (IFN-γ), and tumor necrosis factor-α (TNF-α)) and five chemokines (IL-8, regulated on activation normal T-cell expressed and secreted (RANTES), monokine induced by interferon-γ (MIG), monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1), interferon inducible protein-10 (IP-10)) in serum were determined by the cytometric bead array kit (BD Biosciences, CA, USA). Assays were carried out according to the manufacturer's instructions.

### 3.4. Statistical analysis

Demographic factors and clinical data were compared between patients with and without primary HHV-6 infection by Fisher's

exact test or Student's *t*-test. Mean peak cytokine and chemokine levels were compared between the two groups using the Mann–Whitney *U*-test. The statistical analysis was performed with StatView software, version J-5.0.

## 4. Results

### 4.1. Virological analysis and demographic factors

Seroconversion of HHV-6 IgG antibody titers was observed in 20 of the 26 (76.9%) patients. Additionally, HHV-6 was isolated from 13 of the 20 patients that had seroconverted. All of the patients with primary HHV-6 infection showed the typical clinical course of exanthem subitum. None of the patients had complications such as febrile seizure and hepatitis. No skin rash was observed in the patients without primary HHV-6 infection. In these patients, initial hematological examinations revealed normal range of leukocyte counts and C-reactive protein. The mean age of the patients with and without primary HHV-6 infection was 9.1 months (ranged between 6 and 16 months) and 12 months (ranged between 7 and 16 months), respectively ( $P=0.1289$ ). The proportion of males to females was not statistically different between the two categories (with primary HHV-6 infection, 6/14; without primary HHV-6 infection; 2/4,  $P=0.9999$ ).

### 4.2. Cytokine and chemokine levels

A total of 74 serially collected sera samples (days 0–5, 25 samples; days 6–15, 24 samples; 1 month after the onset of the illness, 25 samples) were analyzed in this study. The cytokine levels for the patients with and without primary HHV-6 infection are reported in Table 1. The expression of three cytokines (IFN-γ, IL-2, and IL-4) at days 0–5 were significantly higher in patients with primary HHV-6 infection than those without primary HHV-6 infection. The level of

**Table 2**  
Chemokine levels in serially collected sera samples in patients with and without primary HHV-6 infection.

Sampling days	Chemokines (pg/ml)	Normal control	With primary HHV-6 inf.	W/O primary HHV-6 inf.	P-Value <sup>a</sup>
		Mean ± SD	Median (25–75%)	Median (25–75%)	
Days 0–5 (acute)	IL-8	12.3 ± 4.2	30.7 (23.0–44.2)	31.1 (24.6–36.0)	0.8313
	RANTES	19,238.3 ± 6592.1	2745.4 (724.3–19,822.6)	3513.3 (2302.2–18,470.3)	0.5839
	MIG	648.9 ± 499.4	859.9 (534.9–1204.8)	850.1 (539.0–1569.6)	0.6701
	<b>MCP-1</b>	148.1 ± 72.7	<b>974.7 (732.1–1385.0)</b>	<b>296.6 (250.6–519.7)</b>	<b>0.0019</b>
	IP-10	660.1 ± 333.5	3130.8 (2560.3–3985.5)	1977.6 (1448.5–3678.1)	0.2733
Days 6–15 (convalescent)	IL-8	12.3 ± 4.3	28.6 (17.7–43.0)	28.0 (18.1–30.3)	0.4836
	RANTES	19,238.3 ± 6592.1	3506.0 (2059.8–22,030.1)	12,459.2 (3229.5–22,535.5)	0.6057
	MIG	648.9 ± 499.4	339.0 (189.9–842.5)	615.8 (450.6–1195.8)	0.2267
	MCP-1	148.1 ± 72.7	402.1 (310.4–455.5)	315.6 (274.8–353.0)	0.1046
	IP-10	660.1 ± 333.5	792.6 (489.7–1066.4)	517.7 (268.6–832.1)	0.1815
1 month after onset of illness	IL-8	12.3 ± 4.3	25.9 (9.7–40.8)	18.0 (15.9–21.3)	0.4611
	RANTES	19,238.3 ± 6592.1	3893.5 (858.0–22,256.7)	12,463.3 (1524.4–24,455.6)	0.3412
	MIG	648.9 ± 499.4	325.7 (202.7–482.7)	503.0 (440.0–561.6)	0.2849
	MCP-1	148.1 ± 72.7	469.1 (333.1–611.8)	394.8 (288.5–440.8)	0.2040
	IP-10	660.1 ± 333.5	548.7 (425.2–687.8)	444.8 (384.6–505.1)	0.5475

Inf.: infection, W/O: without.

Bold value indicates the biomarkers, in which there were significant difference between the 2 groups.

<sup>a</sup> Comparison between patients with and without primary HHV-6 infection.

IL-5 during the convalescent period (days 6–15) was significantly higher in patients with primary HHV-6 infection than those without primary HHV-6 infection ( $10.0 \pm 5.2$  pg/ml vs.  $3.2 \pm 5.0$  pg/ml,  $P=0.0205$ ).

The chemokine levels are shown in Table 2. MCP-1 expression was significantly higher in patients with primary HHV-6 infection than those without primary HHV-6 infection ( $1028.2 \pm 459.3$  pg/ml vs.  $385.2 \pm 224.0$  pg/ml,  $P=0.0019$ ). No other chemokine levels were statistically different between the patients with primary HHV-6 infection and those without primary HHV-6 infection.

## 5. Discussion

At the time of the acute phase of disease (days 0–5), the expression of 3/9 cytokines (IFN- $\gamma$ , IL-2, and IL-4) and 1/5 chemokines (MCP-1) were significantly higher in patients with primary HHV-6 infection than those without HHV-6 infection, which might contain various type of viral infections. Additionally, IL-5 levels during the convalescent period (days 6–15) was significantly higher in patients with primary HHV-6 infection. Moreover, as shown in Table 1, all of the cytokines and chemokines analyzed in this study were returned to normal levels by 1 month after onset of the illness, such that there was no statistical difference between the patients with and without primary HHV-6 infection. Therefore, the upregulation of cytokines and chemokines observed during the acute and convalescent periods of the disease are considered to be specific finding. Many in vitro analyses have been carried out to determine whether HHV-6 can modulate with cytokine and chemokine production,<sup>8–12</sup> however, to our knowledge, this is the first study, which analyzed cytokine and chemokine expression in vivo, specifically in patients with primary HHV-6 infection.

Interpretation of increased levels of cytokines or chemokines in patients with HHV-6 infection might be difficult because of the complex cytokine and chemokine networks in vivo. It has been demonstrated that IL-2, which is strong T-cell activator, is necessary for efficient HHV-6 replication in cultured lymphocytes.<sup>13</sup> Therefore, upregulation of IL-2 in patients with primary HHV-6 infection may enhance viral replication in vivo. However, a previous in vitro study reported reduced IL-2 production by HHV-6 infected T-cells, which may contribute to immune suppression.<sup>14</sup> These conflicting data suggest that the in vitro findings may not fully recapitulate the cytokine and chemokine responses to primary HHV-6 infection in vivo. Meanwhile, an increase in production of IL-4 and IL-5, which

are associated with allergic reaction, has been demonstrated in patients with drug induced hypersensitivity syndrome with HHV-6 reactivation.<sup>15</sup> However, no remarkable observation with regard to these cytokines has been reported on the basis of in vitro experiments. Thus, further in vitro and in vivo analysis is needed to the functional biological relevance of the expression of these cytokines and chemokines during HHV-6 infection.

Upregulation of MCP-1 has been demonstrated in HHV-6 infected human peripheral blood monocytes in vitro.<sup>11</sup> Thus, our observation of increased MCP-1 levels in patients with primary HHV-6 infection is consistent with the previous in vitro study. MCP-1 is strong mediator of monocyte chemoattraction. As it has been suggested that HHV-6 can latently infect monocytes/macrophage cells after primary infection,<sup>16</sup> upregulation of this chemokine might be beneficial for efficient establishment of HHV-6 latency. Furthermore, it has been demonstrated that HHV-6 encodes viral chemokines,<sup>17</sup> which can mediate monocyte chemoattraction. Collectively, these data suggest that HHV-6 might use various mechanisms to establish latency in monocytes/macrophage.

## Conflict of interest

The authors do not have any commercial or other associations that might pose a conflict of interest.

## Ethical approval

This study was approved by the review boards of Fujita Health University.

## References

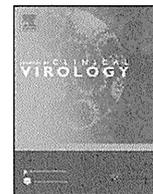
1. Yamanishi K, Okuno T, Shiraki K, Takahashi M, Kondo T, Asano Y, et al. Identification of human herpesvirus-6 as a causal agent for exanthem subitum. *Lancet* 1988;1:1065–7.
2. Asano Y, Yoshikawa T, Suga S, Kobayashi I, Nakashima T, Yazaki T, et al. Clinical features of infants with primary human herpesvirus 6 infection (exanthem subitum, roseola infantum). *Pediatrics* 1994;93:104–8.
3. Suga S, Yoshikawa T, Asano Y, Kozawa T, Nakashima T, Kobayashi I, et al. Clinical and virological analyses of 21 infants with exanthem subitum (roseola infantum) and central nervous system complications. *Ann Neurol* 1993;33:597–603.
4. Ichiyama T, Ito Y, Kubota M, Yamazaki T, Nakamura K, Furukawa S. Serum and cerebrospinal fluid levels of cytokines in acute encephalopathy associated with human herpesvirus-6 infection. *Brain Dev* 2009;31:731–8.
5. Fujita A, Ihira M, Suzuki R, Enomoto Y, Sugiyama H, Sugata K, et al. Elevated serum cytokine levels are associated with human herpesvirus 6 reactivation in hematopoietic stem cell transplantation recipients. *J Infect* 2008;57:241–8.

6. Ohashi M, Sugata K, Ihira M, Asano Y, Egawa H, Takada Y, et al. Human herpesvirus 6 infection in adult living related liver transplant recipients. *Liver Transpl* 2008;**14**:100–9.
7. Yoshikawa T, Fujita A, Yagami A, Suzuki K, Matsunaga K, Ihira M, et al. Human herpesvirus 6 reactivation and inflammatory cytokine production in patients with drug-induced hypersensitivity syndrome. *J Clin Virol* 2006;**37**(Suppl. 1):S92–6.
8. Flamand L, Gosselin J, D'Addario M, Hiscott J, Ablashi DV, Gallo RC, et al. Human herpesvirus 6 induces interleukin-1 beta and tumor necrosis factor alpha, but not interleukin-6, in peripheral blood mononuclear cell cultures. *J Virol* 1991;**65**:5105–10.
9. Flamand L, Stefanescu I, Menezes J. Human herpesvirus-6 enhances natural killer cell cytotoxicity via IL-15. *J Clin Invest* 1996;**97**:1373–81.
10. Grivel JC, Ito Y, Faga G, Santoro F, Shaheen F, Malnati MS, et al. Suppression of CCR5- but not CXCR4-tropic HIV-1 in lymphoid tissue by human herpesvirus 6. *Nat Med* 2001;**7**:1232–5.
11. Arena A, Stassi G, Speranza A, Iannello D, Mastroeni P. Modulatory effect of HHV-6 on MCP-1 production by human monocytes. *New Microbiol* 2002;**25**:335–40.
12. Smith A, Santoro F, Di Lullo G, Dagna L, Verani A, Lusso P. Selective suppression of IL-12 production by human herpesvirus 6. *Blood* 2003;**102**:2877–84.
13. Frenkel N, Schirmer EC, Katsafanas G, June CH. T-cell activation is required for efficient replication of human herpesvirus 6. *J Virol* 1990;**64**:4598–602.
14. Flamand L, Gosselin J, Stefanescu I, Ablashi D, Menezes J. Immunosuppressive effect of human herpesvirus 6 on T-cell functions: suppression of interleukin-2 synthesis and cell proliferation. *Blood* 1995;**85**:1263–71.
15. Aihara Y, Ito SI, Kobayashi Y, Yamakawa Y, Aihara M, Yokota S. Carbamazepine-induced hypersensitivity syndrome associated with transient hypogammaglobulinaemia and reactivation of human herpesvirus 6 infection demonstrated by real-time quantitative polymerase chain reaction. *Br J Dermatol* 2003;**149**:165–9.
16. Kondo K, Kondo T, Okuno T, Takahashi M, Yamanishi K. Latent human herpesvirus 6 infection of human monocytes/macrophages. *J Gen Virol* 1991;**72**(Pt 6):1401–8.
17. Isegawa Y, Ping Z, Nakano K, Sugimoto N, Yamanishi K. Human herpesvirus 6 open reading frame U12 encodes a functional beta-chemokine receptor. *J Virol* 1998;**72**:6104–12.



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Clinical Virology

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/jcv](http://www.elsevier.com/locate/jcv)

## Different characteristics of human herpesvirus 6 encephalitis between primary infection and viral reactivation

Yoshiki Kawamura<sup>a</sup>, Ken Sugata<sup>a</sup>, Masaru Ihira<sup>b</sup>, Takateru Mihara<sup>c</sup>, Tatsuro Mutoh<sup>c</sup>, Yoshizo Asano<sup>a</sup>, Tetsushi Yoshikawa<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Department of Pediatrics, Fujita Health University School of Medicine, 1-98 Dengakugakubo, Kutsukake-cho, Toyoake, Aichi 4701192, Japan

<sup>b</sup> Faculty of Clinical Engineering, Fujita Health University School of Health Sciences, Toyoake, Aichi, Japan

<sup>c</sup> Department of Neurology, Fujita Health University School of Medicine, Toyoake, Aichi, Japan

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 3 July 2010

Received in revised form

28 December 2010

Accepted 7 February 2011

#### Keywords:

Human herpesvirus 6

Encephalitis

Cerebrospinal fluid

Cytokine

Primary infection

Post-transplant encephalitis

### ABSTRACT

**Background:** Pathogenesis of human herpesvirus 6 (HHV-6) encephalitis, in particular difference between HHV-6 encephalitis at the time of primary infection and reactivation remains unclear.

**Objectives:** To elucidate the mechanism of HHV-6 encephalitis at the time of primary infection and reactivation.

**Study design:** Twenty-two HHV-6 encephalitis patients at the time of primary infection, 6 febrile convulsion (FC) patients caused by HHV-6 infection, and 14 FC patients without HHV-6 infection (non HHV-6 FC) were enrolled. Additionally, 7 stem cell transplant recipients with HHV-6 encephalitis and eight adult controls were also enrolled in this study. Cerebrospinal fluid (CSF) HHV-6 DNA copy numbers and biomarkers levels were compared.

**Results:** Low copy number of CSF HHV-6 DNA was detected in 7 of the 22 patients with HHV-6 encephalitis in primary infection, whereas all seven CSF samples collected from post-transplant HHV-6 encephalitis patients contained high viral DNA copy numbers ( $P < 0.001$ ). CSF concentrations of IL-6 ( $P = 0.032$ ), IL-8 ( $P = 0.014$ ), MMP-9 ( $P = 0.004$ ), and TIMP-1 ( $P = 0.002$ ) were significantly higher in patients with HHV-6 encephalitis in primary infection than non-HHV-6 FC. CSF IL-6 ( $P = 0.008$ ), IL-8 ( $P = 0.015$ ), and IL-10 ( $P = 0.019$ ) concentrations were significantly higher in patients with post-transplant HHV-6 encephalitis than adult controls.

**Conclusion:** The present study suggests that the characteristics of HHV-6 encephalitis are different between HHV-6 encephalitis at the time of primary infection and reactivation in transplant recipients.

© 2011 Elsevier B.V. All rights reserved.

### 1. Background

Primary human herpesvirus 6 (HHV-6) B infection (exanthem subitum)<sup>1,2</sup> is considered a benign febrile illness that rarely causes neurological complications such as febrile convulsion and encephalitis. According to a recent survey,<sup>3</sup> an annual incidence of exanthem subitum-associated encephalitis/encephalopathy was estimated at 60 cases per year in Japan, and the prognosis of the disease was unexpectedly poor. In addition to primary infection, it has been suggested that HHV-6 reactivation can cause encephalitis in transplant recipients<sup>4–8</sup> and patients with drug-induced hypersensitivity syndrome.<sup>9–11</sup>

**Abbreviations:** HHV-6, human herpesvirus 6; PCR, polymerase chain reaction; CSF, cerebrospinal fluid; CNS, central nervous system; IL, interleukin; TNF, tumor necrosis factor; MMP, matrix metalloproteinase; TIMP, tissue inhibitor of metalloproteinase.

\* Corresponding author. Tel.: +81 562 939251; fax: +81 562 952216.

E-mail address: [tetsushi@fujita-hu.ac.jp](mailto:tetsushi@fujita-hu.ac.jp) (T. Yoshikawa).

1386-6532/\$ – see front matter © 2011 Elsevier B.V. All rights reserved.  
doi:10.1016/j.jcv.2011.02.002

Highly sensitive nested polymerase chain reaction (PCR) detected HHV-6 DNA in cerebrospinal fluid (CSF) collected from HHV-6 encephalitis patients<sup>12–14</sup> and exanthem subitum patients with febrile convulsion,<sup>15</sup> suggesting direct invasion of the virus into central nervous system (CNS). Furthermore, both viral DNA and viral antigens were detected in the postmortem brain tissues<sup>16</sup> and brain tissues collected from mesial temporal lobe epilepsy patients.<sup>17</sup> In addition, HHV-6 also infects neuroglial cell lines and modulates cytokine synthesis in HHV-6-infected an astrocytoma cell line.<sup>18</sup> Collectively, these findings highlight the neurovirulence of HHV-6. However, the pathogenesis of HHV-6 encephalitis, in particular the difference between HHV-6 encephalitis at the time of primary infection and viral reactivation remains unclear.

### 2. Objective

In the present study, we assessed viral copy number and expression of several biomarkers in CSF samples collected from HHV-6 encephalitis patients to elucidate the mechanism of

**Table 1**  
Characteristics of the patients.

	HHV-6 encephalitis at primary inf. (n=22)	FC with HHV-6 inf. (n=6)	FC w/o HHV-6 inf. (n=14)	Post-transplant HHV-6 encephalitis (n=7)	Adult controls (n=8)
Mean age $\pm$ SD (years old)	0.7 $\pm$ 0.8	0.8 $\pm$ 0.8	1.1 $\pm$ 0.6	43.9 $\pm$ 15.2	66.9 $\pm$ 11.0
Gender (M/F)	11/11	2/4	4/10	5/2	4/4

FC; febrile convulsion, inf.; infection.

Adults controls: 2 patients with involuntary movement, 2 patients with spinocerebellar degeneration, 1 patient with frontotemporal dementia, 1 patient with normal pressure hydrocephalus, 1 patient with progressive supranuclear palsy, 1 patient with Parkinson disease.

HHV-6 encephalitis at the time of primary infection and reactivation.

### 3. Study design

#### 3.1. Patients

Twenty-two patients with HHV-6 encephalitis at the time of primary infection (HHV-6 encephalitis in primary infection) were enrolled. Thirteen of the 22 patients had convulsions and became comatose within a few days after the onset of fever, and 9 of the 22 patients had cluster convulsions at the eruptive phase. As control groups, six patients with febrile convulsion due to primary HHV-6 infection (HHV-6 FC) and 14 patients with febrile convulsion without HHV-6 infection (non HHV-6 FC) were also examined. The viral reactivation group included seven allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients with HHV-6 encephalitis. Eight adult control patients were enrolled. Patient demographics are summarized in Table 1. This study was approved by the review boards of Fujita Health University. Guardians or the patients consented to their participation in this study.

Primary HHV-6 infection was defined on the basis of viral isolation or detection of viral DNA in serum and serological analysis. HHV-6 encephalitis in primary infection was defined as the patients with stupor and/or convulsion at the time of primary HHV-6 infection. To exclude patients with a severe form of febrile convulsion, abnormal radiological examinations were required for diagnosis of HHV-6 encephalitis in this study. Reactivation of HHV-6 was confirmed by a presence of HHV-6 IgG antibody and either detection of viral DNA in serum or viral isolation from peripheral blood at the time of disease onset in transplant recipients. All seven post-transplant HHV-6 encephalitis patients had typical clinical symptoms and radiological findings for limbic encephalitis.

#### 3.2. Measurement of CSF cytokines, MMP-9 and TIMP-1

CSF samples were collected from patients within 48 h of the onset of neurological symptoms and stored at  $-70^{\circ}\text{C}$ . The concentrations of interleukin (IL)-8, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ , and IL-12p70 in CSF were determined using the cytometric bead array kit according to the manufacturer's instructions (BD Biosciences, CA, USA). Matrix metalloproteinase (MMP)-9 (pro- and active forms) concentrations in the CSF (1:5 dilution) were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (Amersham Biosciences, Buckinghamshire, UK) according to the manufacturer's instructions. Tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP)-1 concentration in CSF (1:8 dilution) was also determined by enzyme-linked immunosorbent assay (Invitrogen, CA, USA).

#### 3.3. DNA extraction and real-time PCR

DNA was extracted from 200  $\mu\text{l}$  of CSF or serum using QIAamp Blood Kit (QIAGEN, Chatsworth, CA) and eluted in 50  $\mu\text{l}$  of elution buffer, then stored at  $-20^{\circ}\text{C}$ . The details of the real-time PCR methods for measuring viral DNA copy numbers have been

described elsewhere.<sup>19</sup> Detection limit of the real-time PCR was 125 copies/ml.

#### 3.4. Statistical analysis

CSF viral DNA copy number or concentration of the biomarkers between the two different groups of the patients were compared: (1) HHV-6 encephalitis in primary infection vs HHV-6 FC; (2) HHV-6 encephalitis in primary infection vs non-HHV-6 FC; (3) HHV-6 FC vs non-HHV-6 FC; (4) HHV-6 encephalitis in primary infection without neurological sequelae vs HHV-6 encephalitis in primary infection with neurological sequelae; (5) HHV-6 encephalitis in primary infection vs post-transplant HHV-6 encephalitis; and (6) post-transplant HHV-6 encephalitis vs adult control. The statistical comparison of age and gender was evaluated by Student's *t*-test and Fisher's exact test, respectively. The statistical comparison of CSF biomarkers levels was evaluated by Mann-Whitney *U*-test. *P* < .05 was considered to be statistically significant. The statistical analysis was performed with StatView software, version J-5.0.

### 4. Results

#### 4.1. Patients

As shown in Table 1, there was no significant age and gender difference among 22 patients with HHV-6 encephalitis in primary infection, 6 patients of HHV-6 FC, and 14 patients of non-HHV-6 FC. Although only one encephalitis patient had mild pleocytosis (13 cell/ $\mu\text{l}$ ), CSF cell counts were normal in the remaining 19 patients. Seven of the 22 HHV-6 encephalitis patients with primary infection had severe neurological sequelae such as hemiplegia (2 cases), quadriplegia (2 cases), and mental retardation (3 cases). The 13 patients revealed no severe neurological sequelae. No detail information about sequelae was available from remaining the two cases. All seven post-transplant HHV-6 encephalitis patients were adult. Although no statistical gender difference was demonstrated between post-transplant encephalitis patients and adult control (*P* = 0.608), mean age of the controls (66.9  $\pm$  11.0 years) was significantly higher than post-transplant HHV-6 encephalitis patients (43.9  $\pm$  15.2 years) (*P* = 0.008). In order to exclude possibility for chromosomal integration of the HHV-6 genome in post-transplant HHV-6 encephalitis patients, copy numbers of HHV-6 DNA was measured in serum or CSF samples collected after antiviral treatment. CSF HHV-6 DNA decreased to undetectable level in 3 of the 7 patients. No viral DNA in serum was demonstrated in the remaining 4 recipients (data not shown). These results suggested that the 7 post-transplant HHV-6 encephalitis patients were not chromosomal integrated HHV-6 patients.

#### 4.2. HHV-6 DNA copy numbers in CSF

Detection rate and copy numbers of HHV-6 DNA in CSF samples are shown in Table 2. Small amounts of HHV-6 DNA was detected in CSF from 7 of the 22 patients (31.8%) with HHV-6 encephalitis in primary infection (median, interquartile range

**Table 2**  
Copy numbers and detection rate of HHV-6 DNA in cerebrospinal fluid.

	Number of positive cases/ number of tested (%)	Copy numbers of HHV-6 DNA; mean ± SD (copies/ml)	P-value
HHV-6 encephalitis at primary infection	7/22 (31.8)	13.22 ± 39.16	} a } } b } c } d
HHV-6 FC	1/6 (16.7)	48.75 ± 119.41	
Non HHV-6 FC	0/14 (0)	0 ± 0	
Post-transplant HHV-6 encephalitis	7/7 (100)	464090.4 ± 1185622.0	} e
Adult controls	0/8 (0)	0 ± 0	

(a) Comparison between patients with HHV-6 encephalitis at primary infection and those with HHV-6 FC ( $P=0.648$ ). (b) Comparison between patients with HHV-6 FC and those with non-HHV-6 FC ( $P=0.127$ ). (c) Comparison between patients with HHV-6 encephalitis at primary infection and those with non-HHV-6 FC ( $P=0.021$ ). (d) Comparison between patients with HHV-6 encephalitis at primary infection and those with post-transplant HHV-6 encephalitis ( $P<0.001$ ). (e) Comparison between patients with post-transplant HHV-6 encephalitis and adult controls ( $P<0.001$ ).

(IQR; 0, 0–3.8 copies/ml), and in 1 of the 6 patients (16.7%) with HHV-6 FC (292.5 copies/ml). However, no HHV-6 DNA was detected from CSF in any patients with non-HHV-6 FC (control group). In contrast to HHV-6 encephalitis in primary infection, all seven CSF samples collected from post-transplant HHV-6 encephalitis contained high copy of HHV-6 DNA (median, IQR; 1820.0, 848.3–46120.8 copies/ml), which was significantly higher than the patients with HHV-6 encephalitis at primary infection ( $P<0.001$ ).

**4.3. CSF concentrations of cytokines, MMP-9, and TIMP-1**

Comparison of the biomarkers among HHV-6 encephalitis at primary infection, HHV-6 FC, and non-HHV-6 FC is presented in Fig. 1. CSF IL-8 concentrations were significantly higher in patients with HHV-6 encephalitis at primary infection (median, IQR; 291.0, 115.1–801.6 pg/ml) than those with HHV-6 FC (median, IQR; 63.5, 56.2–173.2 pg/ml,  $P=0.025$ ) or those with non-HHV-6 FC (median, IQR; 105.5, 77.6–196.8 pg/ml,  $P=0.014$ ). CSF IL-6 concentrations were also significantly higher in patients with HHV-6 encephalitis at primary infection (median, IQR; 22.6, 9.2–64.0 pg/ml) than those with non-HHV-6 FC (median, IQR; 10.7, 7.9–16.5 pg/ml,  $P=0.032$ ). Moreover, the concentration of MMP-9 (median, IQR; 7.9, 7.1–8.3 pg/ml) and TIMP-1 (median, IQR; 110.2, 87.0–153.3 pg/ml) was significantly higher in patients with HHV-6 encephalitis at primary infection than those with non-HHV-6 FC (MMP-9, median, IQR; 6.3, 4.7–7.3 pg/ml,  $P=0.004$ ; TIMP-1, median, IQR; 55.2, 47.9–77.5 pg/ml,  $P=0.002$ ). Additionally, HHV-6 encephalitis in primary infection patients had a significantly higher concentration of TIMP-1 (median, IQR; 110.2, 87.0–153.3 pg/ml) than patients with HHV-6 FC (median, IQR; 71.6, 65.9–82.1 pg/ml,  $P=0.025$ ).

Interestingly, CSF IL-6 concentrations were significantly higher in patients with HHV-6 encephalitis at primary infection with neurological sequelae (median, IQR; 29.7, 22.6–127.4 pg/ml) than those without neurological sequelae (median, IQR; 13.3, 5.5–25.6 pg/ml,  $P=0.017$ ) (Fig. 2). No other biomarkers were significantly different between the two groups.

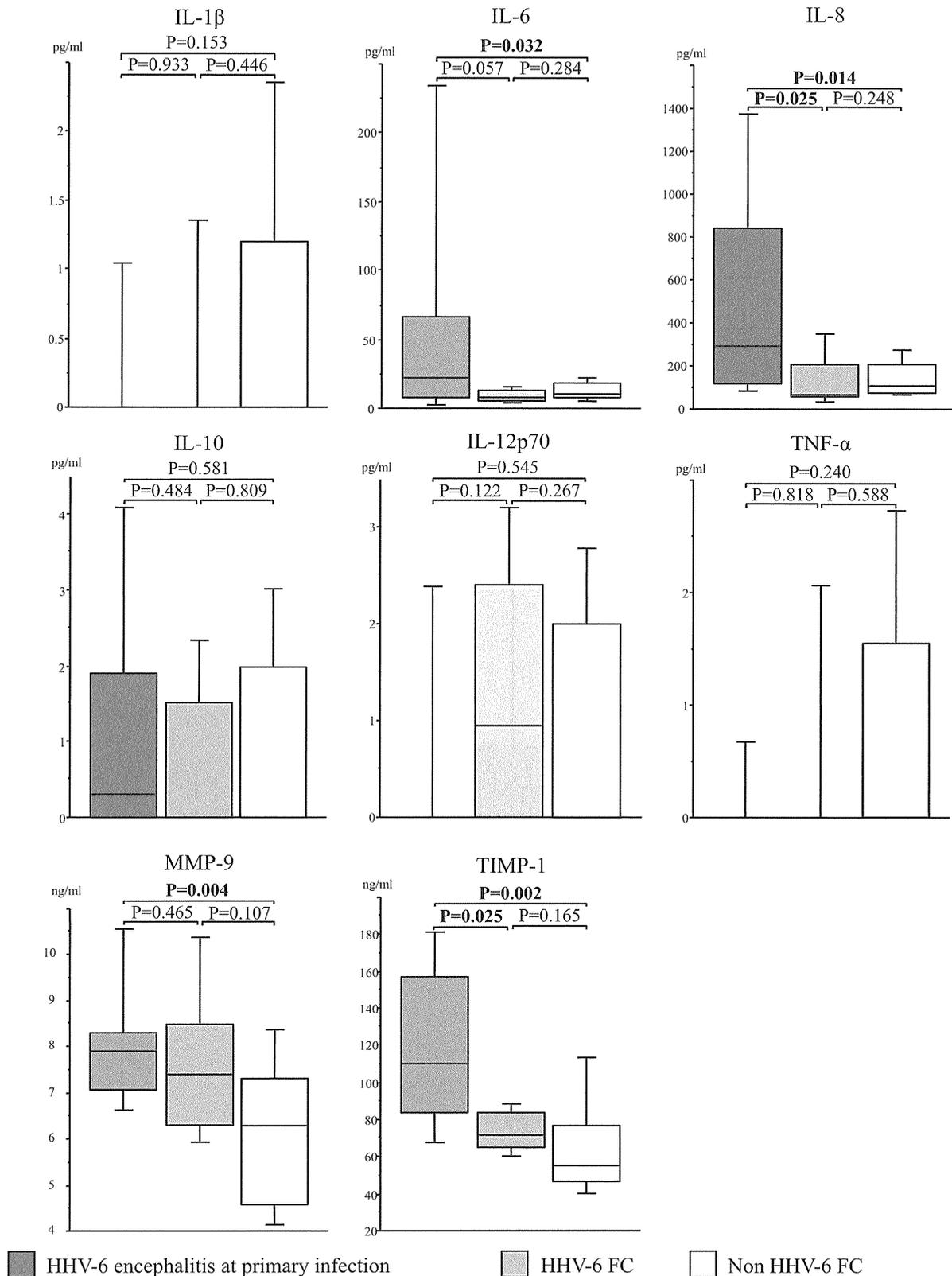
Next, concentrations of CSF biomarkers were compared between post-transplant HHV-6 encephalitis patients and adult

controls or patients with HHV-6 encephalitis at primary infection (Fig. 3). CSF IL-8 (median, IQR; 200.0, 107.1–316.5 pg/ml vs 60.3, 41.7–74.6 pg/ml;  $P=0.015$ ), IL-6 (median, IQR; 23.8, 7.8–143.3 pg/ml vs 2.7, 2.3–4.1 pg/ml;  $P=0.008$ ), and IL-10 (median, IQR; 2.5, 0.9–5.1 pg/ml vs 0.0, 0.0–0.0 pg/ml;  $P=0.019$ ) concentrations were significantly higher in post-transplant HHV-6 encephalitis than adult controls. No statistical difference was observed in all of the biomarkers between post-transplant HHV-6 encephalitis patients and HHV-6 encephalitis at primary infection patients. Although CSF MMP-9 concentrations were not significantly different between post-transplant HHV-6 encephalitis patients and adult controls, MMP-9 concentrations were significantly lower in post-transplant HHV-6 encephalitis (median, IQR; 4.2, 3.6–6.0 pg/ml) than HHV-6 encephalitis at primary infection (median, IQR; 7.9, 7.1–8.3 pg/ml;  $P=0.01$ ). In contrast to MMP-9, its inhibitor, CSF TIMP-1 was significantly higher in post-transplant HHV-6 encephalitis patients (median, IQR; 207.4, 180.1–221.8 pg/ml) than either adult controls (median, IQR; 77.7, 66.8–95.0 pg/ml;  $P=0.001$ ) or HHV-6 encephalitis at primary infection (median, IQR; 110.2, 87.0–153.3 pg/ml;  $P=0.001$ ).

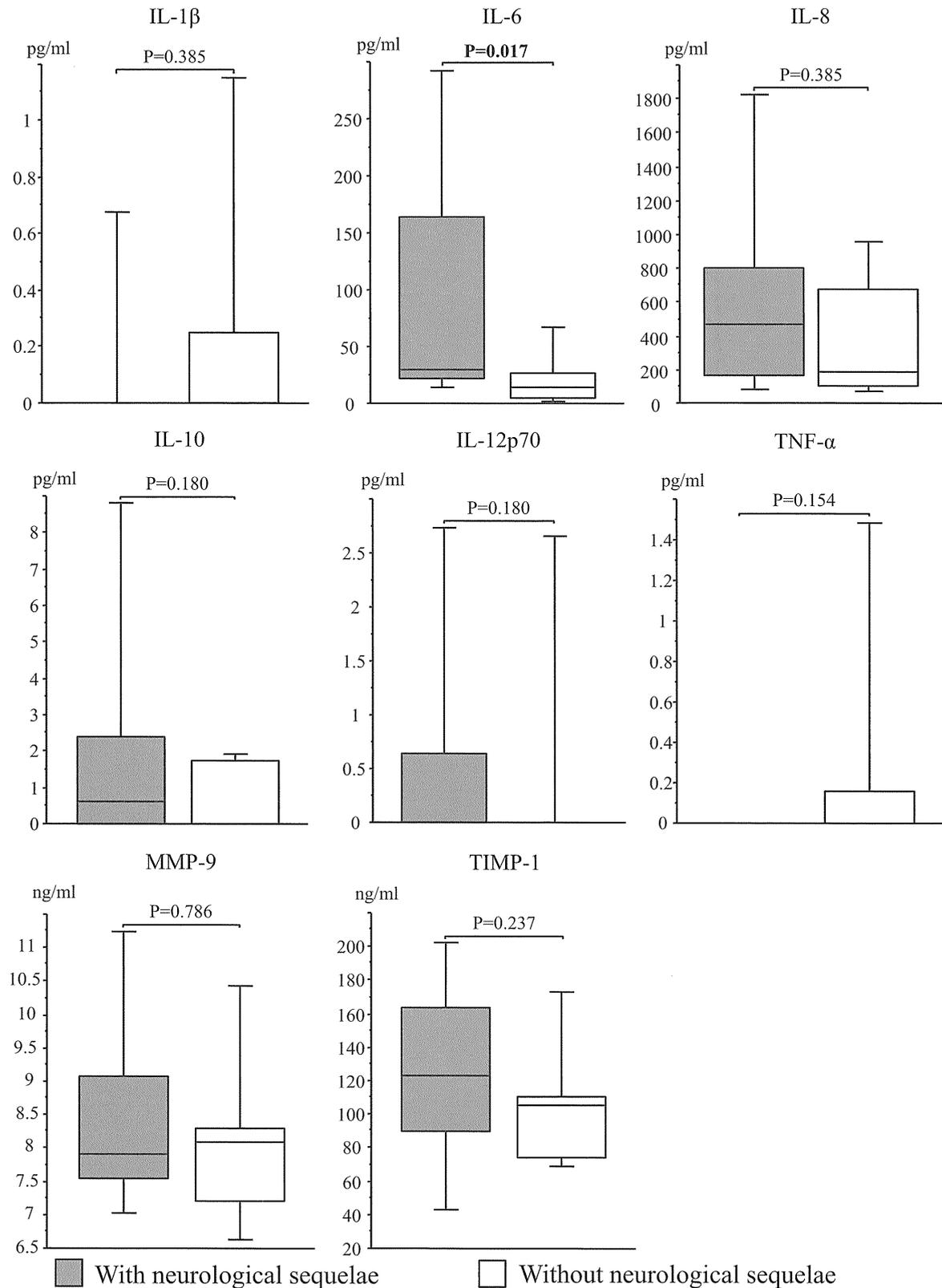
**5. Discussion**

Quantification of viral DNA copy number in CSF using real-time PCR provided valuable information regarding the pathogenesis of HHV-6 encephalitis. Although high copy numbers of HHV-6 DNA have been detected in CSF collected from post-transplant HHV-6 encephalitis,<sup>8,17,20,21</sup> to our knowledge, this is the first report demonstrating a difference in CSF HHV-6 DNA copy numbers between HHV-6 encephalitis in primary infection and post-transplant HHV-6 encephalitis patients using same real-time PCR method. These data suggest that replication of HHV-6 in the CNS plays an important role in the pathogenesis of post-transplant HHV-6 encephalitis. However, it seems that direct viral replication in the brain tissue is not main pathological mechanism for HHV-6 encephalitis in primary infection. Thus, the pathogenesis of HHV-6 encephalitis would be different between primary infection and reactivation in transplant recipients.

Elevation of two (IL-6 and IL-8) of the six cytokines in CSF was striking in patients with HHV-6 encephalitis in primary infec-



**Fig. 1.** Comparison of the eight cerebrospinal fluid (CSF) biomarkers (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, TNF- $\alpha$ , MMP-9, and TIMP-1) levels among patients with HHV-6 encephalitis in primary infection ( $n=22$ ), febrile convulsion due to primary HHV-6 infection (HHV-6 FC) ( $n=6$ ), and febrile convulsion without HHV-6 infection (non HHV-6 FC) ( $n=19$ ). Data are shown as box plots, where the boxes represent the first through third quartiles, the lines within the boxes represent the median, and the lines outside the boxes represent the minimum and maximum values.



**Fig. 2.** Comparison of the eight cerebrospinal fluid (CSF) biomarkers (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, TNF- $\alpha$ , MMP-9, and TIMP-1) levels between HHV-6 encephalitis patients (at primary infection) with neurological sequelae ( $n=7$ ) and those without neurological sequelae ( $n=13$ ). Data are shown as box plots, where the boxes represent the first through third quartiles, the lines within the boxes represent the median, and the lines outside the boxes represent the minimum and maximum values.

tion. Recently, Ichiyama et al.<sup>22</sup> reported similar findings in HHV-6 encephalitis in primary infection. These findings suggest that IL-6 may play an important role in the pathogenesis of HHV-6 encephalitis in primary infection. Furthermore, significantly higher

concentration of CSF IL-6 was observed in HHV-6 encephalitis in primary infection with severe neurological sequelae. Similar observations have been demonstrated in herpes simplex virus encephalitis patients<sup>23</sup> and Japanese encephalitis patients.<sup>24</sup>