単純ヘルペスの血清疫学的研究

第 1 報 諸種年齢集団における補体結合抗体の分布

Serological-epidemiological Studies of Herpes Simplex

I. Frequency Distributions of Complement-fixing Antibody for Herpes Simplex Virus in Human Populations of Various Years of Age

札幌医科大学衛生学教室 (主任 金光正次教授)

山 口 晋 吾

Shingo Yamaguchi

Department of Hygiene, Sapporo Medical College

(Director: Prof. M. Kanamitsu)

まえがき

1939年, Burnet ら¹⁾は単純ヘルペスの感染に関してきわめて興味ある見解を発表した。すなわち人間集団の単純ヘルペスウィルス (HSV) に対する血清中和抗体が “all or none” の法則に従うことから, 人間が一度本病に罹患すると治癒したのちも HSV は生体細胞中に潜在し, 適当な条件が与えられると再び活動を開始して症状の再燃を繰返すというのである。このことは本病がいわゆる感染免疫の範疇に属する特殊なウィルス病であることを暗示するが, この説に対しては異論もあり未だ決定していない。この問題を究明する方法として,

1. 病原学的方法。すなわち本病に罹患治癒した者から HSV を継続的に証明すること。

2. 血清疫学的方法。すなわち年齢および環境を異にする諸種の集団について, 本ウィルスに対する特異抗体を測定し, 抗体の保有と推移の相互関係からこれを研究すること。

が考えられる。私は後者の方法を用いて, Burnet らの成績を追試するとともに, この問題を研究しようと試みた。本報ではまず補体結合 (CF) 抗体について観察した成績を述べる。

実験方法

1) 対象集団

昭和31年2月から昭和33年5月に至る間に, 札幌市内某乳児院に収容されている乳幼児 (0~2歳), 同市内在

住のポリオ患者 (1~5歳), 就学前の幼児 (6~7歳), 市内小学校 (7~9歳)・中学校 (13~15歳)・高等学校 (16~18歳) の児童生徒, 市内在住の成人 (20~65歳) など 561名, および道内の僻村小・中学校 (7~15歳) の児童生徒 216名, 計 777名である。なお時日の経過に伴う抗体の集団の変動をみるために, 都市小学学童50名および僻村小・中学生82名については, 1年間の間隔で再度採血した。血清は56°C30分加熱したのち4°Cまたは-15°Cに保存し, 採血後可及的速やかに抗体測定をおこなった。

2) 使用ウィルス

本実験に使用したウィルスは, 1956年8月国立予防衛生研究所の吉野博士より分与された HF 401株を, 当研究室において発育鶏卵の漿尿膜接種により継代したものである。

3) CF 抗体測定術式

CF抗体測定の術式は José Sosa-Martinez ら²⁾の方法に準じ, HF株を感染させた発育鶏卵の漿尿膜を乳鉢で磨碎し, 感染漿尿液で25%乳剤とし2,000 rpm 20分遠沈した。その上清に紫外線照射³⁾ (15ワット殺菌灯 10 cm の距離で30秒間) して不活化したものを-15°Cに凍結保存, 用に臨み融かして再遠沈 (2,000 rpm 15分間) し, その上清を抗原とした。このようにしてつくった抗原は通常 1.5~2.0 倍の抗原価を示し, 抗補体性はまったく認められなかった。血清・抗原・補体などの稀釈はすべて Kolmer の食塩水を使用した。

第 1 図 都市在住の各種年齢集団における単純ヘルペス CF 抗体の分布

被検血清はあらかじめ56℃30分非動化し、抗補体性を除くために4倍に稀釈した血清をさらに60℃10分間加熱した。この稀釈血清をさらに2倍階段稀釈し、その0.1 ml にあらかじめ測定した完全2単位の補体0.1 ml と、2単位の抗原0.1 ml ずつ加え、4℃の氷室に16~18時間置いたのち、15分間室温に放置した。これに溶血系(2.5%羊血球浮遊液+等量の2単位溶血素)0.2 ml を加えてよく振盪し、38℃の湯ぶねに20~30分入れ、1単位の補体対照試験管が完全溶血を示したとき、水槽から取出して判定した。判定は完全不溶血を指標とし、その試験管における血清の初期稀釈倍数(initial dilution)をもつて抗体価を示した。

実験成績

1) 各年齢集団のCF抗体の分布

第1図は札幌市内に在住する諸種の年齢集団について、HSVに対するCF抗体の分布を観察した成績である。1歳未満の乳児群では19例中17例(約90%)は抗体陰性で、残りの2例の抗体もわずかに4倍を示すにすぎない。年齢の巾を2歳まで広げると、16倍の抗体価を示すものが5%に認められ、さらにその巾を0~5歳とすれば76%に減少するとともに、4~32倍の値を示すものが24%に現われ、16倍付近に低い山が出現するため、全体として2峰型の分布を示す。小学校入学前約1カ月の幼児群(6~7歳)では抗体陰性者は50%に減少し、他の半数は4~64倍の抗体を保有し、これまた定型的な2峰型の分布をなす。しかし後者の分布のモードは32倍に上昇し、かつその抗体分布の領域も広がっている。小学校低学年群(7~9歳)では抗体陰性者は16%と急激に減少すると同時に、16~32倍に集積する者は全体の約60%を占めている。その後、年齢の進むにつれて抗体陰性者は20~29歳群10%、30~39歳群5%に減少し、50歳以上の群では抗体陰性者は皆無となる。これに反し、抗体陽性者は年齢が進むにつれて32倍に集積する傾向が次第に強くなり、30歳以上の集団ではきわめて尖度の強い単峰型の分布型を示すようになる。殊に50歳以上の高年齢層は全員が8倍以上の抗体を保有し、分布の型も左右対称的でほぼ正規分布に近い。しかし幼児期から老年期に至るどの年齢集団においても共通なことは、分布のモードがほとんど恒常で32倍の値を維持している

すものが5%に認められ、さらにその巾を0~5歳とすれば76%に減少するとともに、4~32倍の値を示すものが24%に現われ、16倍付近に低い山が出現するため、全体として2峰型の分布を示す。小学校入学前約1カ月の幼児群(6~7歳)では抗体陰性者は50%に減少し、他の半数は4~64倍の抗体を保有し、これまた定型的な2峰型の分布をなす。しかし後者の分布のモードは32倍に上昇し、かつその抗体分布の領域も広がっている。小学校低学年群(7~9歳)では抗体陰性者は16%と急激に減少すると同時に、16~32倍に集積する者は全体の約60%を占めている。その後、年齢の進むにつれて抗体陰性者は20~29歳群10%、30~39歳群5%に減少し、50歳以上の群では抗体陰性者は皆無となる。これに反し、抗体陽性者は年齢が進むにつれて32倍に集積する傾向が次第に強くなり、30歳以上の集団ではきわめて尖度の強い単峰型の分布型を示すようになる。殊に50歳以上の高年齢層は全員が8倍以上の抗体を保有し、分布の型も左右対称的でほぼ正規分布に近い。しかし幼児期から老年期に至るどの年齢集団においても共通なことは、分布のモードがほとんど恒常で32倍の値を維持している

ことである。

2) 平均抗体価の推移

札幌市から採った対象者を年齢によつて8群に分け、各年齢集団のCF抗体の平均値の推移を示すと、第2図のごとくなる。すなわち0~10歳の間に抗体平均

第2図 札幌市における各年齢集団別ヘルペスCF抗体の平均値

値の上昇は比較的急激であるが、以後は次第に緩やかに上昇し、50歳以上に達するとその価は集団の抗体分布のモードである32倍に一致する。この成績から都市居住者では小学校を終えるまでに、大多数がヘルペスの初感染を受けるものと思われる。

第3図 都市と僻地の小・中学生におけるCF抗体の比較

第4図 都市および僻地の小・中学生におけるヘルペスCF抗体の1年後の変動

3) 都市と僻地の学童生徒におけるCF抗体分布の比較

居住環境によつてCF抗体の分布型にどのような相違が現われるかを観察するために、札幌市の小・中学生175名と、僻地の小・中学生131名についてCF抗体の分布を比較した成績は第3図に示すごとくである。すなわち小学学童群についてみれば、両群とも2峰型の分布を示すが、僻地の学童群では抗体陰性者が40%に認められるに反し、都市では16%にすぎず、CF抗体の保有率は明らかに都市の方が高い。また僻地の学童群の抗体分布は都市に比べて幼若型で、本ウィルスの侵淫度が著しく低いことを示している。しかし抗体陽性者の分布のモードは両者とも同じである。また中学生群についてみると、抗体陰性者は僻村の方がやや多い程度で、抗体分布の型もほとんど同じである。

4) CF抗体価の集団的変動

同一集団においてある一定の時日を経過したのち、抗体価が集団としてどのように変動するかを観察した。都市の小学学童50名と僻地の小・中学生82名を選び、1年間の間隔で採血して得た組血清についてCF抗体を測定して得た成績を第4図に示した。すなわち都市の学童群では全体として抗体の上昇傾向がみられるが、特に初期に抗体を欠如した者(4倍以下)において上昇が著しく、初期抗体の高さが増すにしたがつて、その上昇度も減少する。これに対し、僻地の学童群では抗体の上昇を示した者は少なく、初期の抗体の高さとその上昇度との関係もあまり明瞭でない。また初期に32倍以上の抗体を有した者では、この間にかえて低下した者もみられる。以上の成績から都市の学童では一般に抗体価の上昇が著明であるが、僻地では1年後においても抗体には著しい変化がみられなかった。

考 按

Burnet⁴⁾によればHSVは世界各地に常在し、人間を固有の宿主とし、寄生生物と宿主との関係が本ウィルスほど緊密なものは他にその類をみないという。HSVによる初感染は主に幼児期にアフタ性口内炎として発生し、その

ほか皮膚・角膜・陰部などを侵す。いつたん体内に入つたウィルスは局所の組織細胞の中に潜し、しばしば再発を繰返す性質がある。単純ヘルペスは、ムンプスやポリオなどと同じように不顕性感染が多く、Scott⁵⁾は不顕性感染率は90%に達するといっている。したがつてこれらの説によれば、成人に至るも不顕性のままにウィルスを保有する者がきわめて多いことが想像され、この点他の多くのウィルス病と著しく異なることになる。

さて、ヘルペス感染の指標としては、ウィルスの分離や各種の血清抗体を証明する方法などがある。前者は疾病の診断には有効であるが、本病の疫学を研究するに当つては、むしろ本ウィルスに対する血清抗体を集団的に測定し、その成績を各方面から検討することがきわめて重要と思われる。

単純ヘルペスのCF試験に際し考慮すべき問題は、使用するウィルス株と抗原の製法である。これについては、Hayward⁶⁾、Gajdusek⁷⁾、その他の研究者^{8)~12)}たちの報告があるが、多少の例外はあるにしても、各株間の抗原的性状には著しい相違はないと解される。本報で使つたHF株は1922年 Flexner & Amoss¹³⁾によつて分離された株で、現在HSVの標準株とみなされているものである。したがつてHF株を使用して得た本報の成績は、ヘルペスの疫学に対し普遍性の高い事実を伝えるものと思う。

次にCF試験に用いる抗原であるが、このためには古くから種々の感染動物組織の抽出液が用いられてきた^{14)~16)}。しかし近年になつて Hayward⁶⁾が感染発育卵の漿尿膜抽出液および胎児外液を抗原としてCF試験に成功して以来、この方法が広く用いられている。本抗原と従来の製法による抗原の比較については多くの報告^{2) 17) 18)}があるが、いずれも一長一短があるように思う。要は特異性が高く、抗補体性が認められず、しかも抗原価の高いものが抗原として理想的であることはいうまでもない。本報の実験では José Sosa-Martinetz¹⁹⁾の方法に準じて抗原をつくつたが、これは上記の条件にきわめて近い満足すべきものと思われる。

他のウィルスと同様、HSVを抗原としてCF試験をおこなう場合には、抗原のウィルス学的性状すなわちSおよびV抗原が問題になる。本ウィルスを感染した発育卵漿尿膜、卵液および感染マウス脳乳剤の抗原性状について、Hayward⁶⁾、Dudgeon¹⁹⁾、Brown²⁰⁾、Wildy²¹⁾らは主としてS抗原を、Fowler²²⁾はV抗原を含むと述べているが、Balducci¹⁸⁾はその両者を含むといい、これについてはなお研究の余地が少なくない。私は感染漿尿膜の

抽出液をそのまま抗原として使用したので、本報のCF抗体に対する上述の問題の検討は保留したい。

本報の成績によれば、1歳未満の乳児にはほとんどCF抗体が認められなかつた。Holzel²³⁾、Halonen²⁴⁾も臍帯血中のCF抗体保有率は57~78%であるが、生後3カ月~12カ月の間に急激に減少(2~13%)することを報告している。その後、年齢の進むにつれて抗体の保有率も上昇するが、特に就学前および小学校低学年群において、抗体保有率が急激に増加している。これは幼稚園・学校などの集団生活がHSVの感染の機会を多くしていることを示している。20歳以上の成人群では90~100%の保有率を示すが、これは Hayward⁶⁾、Holzel²³⁾らの成績に近く、Dascomb³⁾、Halonen²⁴⁾らの成績より若干高い。

抗体分布の型を年齢集団別に追求した報告はきわめて少ないが、本報の成績によれば30歳以下の各集団はいずれも定型的な2峰型分布で、抗体価が特に16倍と32倍のところに強く集積する特性が認められた。この抗体分布の型は、Hayward⁶⁾、Halonen²⁴⁾らの成績ときわめてよく一致する。しかしながら80歳以上の集団では抗体陰性者がなくなるため、いずれも単峰型の分布を示している。しかし、どの年齢集団においても共通なことは、抗体分布のモードがほぼ恒常で32倍の値を示していることで注目値する。

CF抗体の分布と社会経済状態との関係については二、三の報告^{25) 26)}があり、一般に社会的経済的水準の低い層や、人口密度が高く衛生状態のわるい地域の住民に抗体の保有率がより高いことが知られている。本報ではこの関係を都市と山村の小・中学生について比較観察したところ、山村の小学生の抗体分布型は都市に比べ明らかに幼若型を示した。すなわちこのことは山村の小学児童の間には、HSVの侵淫の度が低いことを意味している。しかし中学生群では両者に著しい差がなく、これは成人に近づくにつれて、抗体分布状態が居住環境によつて、さほど左右されないことを示すものと思う。

単純ヘルペスの家族内または病室内の小流行を報告した例⁵⁾はあるが、インフルエンザや麻疹などのごとく著明な流行をみることはきわめて稀である。その理由としては、不顕性感染率がかなり高いこと、一度罹患すると終生持続する抗体ができ、再感染を起しても亜臨床的な場合が多いこと、ウィルスの抗原構造が比較的恒常であることなどが想像されるが、この点については不明なところが少なくない。私はこの問題に対する研究方法として、ある期間における抗体の集団変動の観察を試みた。

本報では都市と山村の小学学童を対象に、1年間の間隔で抗体の集団変動を観察した結果、興味ある成績を得た。すなわち初期に32倍以上の抗体を示したものは、1年後には不変か、若干例に抗体価の低下をみた。しかし初期の抗体価が16倍以下の群では2名の例外を除き、全体として上昇傾向を示している。一方、山村においては初期に抗体のないものは、大部分が不変であつた。

北²⁷⁾はムンプスウィルスに対するH I抗体の変動を観察し、その抗体が128倍の価を中心として絶えず変動していることを見出し、その理由について考察している。本報のC F抗体においても16倍以下の抗体には上昇の傾向がみられるが、これより高い価の抗体を保有する者が少ないために、ムンプスにみられたような広い範囲にわたる抗体の変動を観察することは困難であつた。

藤谷²⁸⁾、北²⁹⁾はそれぞれインフルエンザ、ムンプスの流行間期における成人血清についてC F抗体を集団的に測定した結果、いずれも低い抗体価に集積する傾向を認めた。このことは、これらのウィルス病においては感染後血清中に現われたC F抗体が、その後時日の経過とともに次第に消失していくことを意味している。これに反し、単純ヘルペスでは32倍の価に強く集積し全体として単峰型の分布であつて、ヘルペスのC F抗体は前者と異なり長く持続することを示している。すなわち単純ヘルペスのC F抗体の分布型は前2者と明らかに質的に異なる。このことは、本病の感染発病の機序が他のウィルス病と著しく異なるという Burnet の説と対比して、きわめて興味ある成績と思う。

結 論

乳幼児より老年に至る各年齢集団についてH S V に対するC F抗体を集団的に測定し、次の結果を得た。

- 1) 都市在住の乳幼児ではほとんど抗体を認めないが、年齢が進むにつれて抗体陽性者が大となる。
- 2) 平均抗体価は小学校低学年(7~9歳)までは急激に上昇し、その後は年齢とともに上昇傾向が緩慢となる。
- 3) 抗体分布の型は20歳代までは2峰型であるが、30歳以上の集団では単峰型を示した。しかしながら抗体分布の第2峰のモードは各年齢集団を通じほとんど恒常で約32倍の値を示した。
- 4) 抗体分布の型を都市と山村について比較したところ、小学生群では山村の方が都市に比べ幼若型を示したが、中学生群では両者間に大差を認めなかつた。
- 5) 都市と山村の小・中学生について1年間にわたる

C F抗体の集団変動を観察した結果、都市の方に明らかに抗体上昇者の多いことを認めた。

拙筆に当り、終始御懇篤な御指導・御校閲を賜つた金光教授に深謝する。また本研究に用いた単純ヘルペスウィルス HF 株の分与を賜つた 国立予防衛生研究所吉野博士に感謝する。血清採取に際し御協力をいただいた小・中学校の教官各位、北海道血液銀行職員、札幌・小樽各機関区職員、市内各病院長、ならびに被検者各位にお礼申しあげ、また教室員各位の御協力を感謝する。

文 献

- 1) Burnet, F. M. & Williams, S. W.: Medical J. Australia 1, 637, 1939.
- 2) José Sosa-Martinez & Lennete, E. H.: J. Bact. 70, 205, 1955.
- 3) Dascomb, H. E. et al.: J. Lab. Clin. Med. 46, 1, 1955.
- 4) Burnet, F. M.: Virus as Organism, Monograph 51, 1945.
- 5) Scott, T. F. Mc.: Am. J. Ophth. 43, 134, 1957.
- 6) Hayward, M. E.: Lancet 1, 856, 1950.
- 7) Gajdusek, D. C. et al.: J. Am. Med. Assoc. 149, 235, 1952.
- 8) Hayward, M. E.: Brit. J. Exp. Path. 30, 520, 1949.
- 9) Slavín, H. B. & Gavett, E.: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 63, 345, 1946.
- 10) Kilbourne, E. D. & Horsfall, F. L.: J. Immunol. 67, 321, 1951.
- 11) Womack, C. R. & Hunt, B. P.: Science 120, 227, 1954.
- 12) Jawetz, E., Coleman, V. R. & Merrill, E. R.: J. Immunol. 75, 28, 1955.
- 13) Flexner, S. & Amoss, H. L.: J. Exp. Med. 41, 233, 1925.
- 14) Kraus, R. & Takaki, J.: Wien. Klin. Wchschr. 39, 624, 1926.
- 15) Bedson, S. P. & Bland, J. O. W.: Brit. J. Exp. Path. 10, 393, 1929.
- 16) Brin, R. T.: Brit. J. Exp. Path. 13, 166, 1932.
- 17) Modi, N. L. & Tobin, J. O'H.: J. Clin. Path. 8, 292, 1955.
- 18) Balducci, D. et al.: Arch. ges. Virusfor. 7, 28, 1956.
- 19) Dudgeon, J. A.: J. Clin. Path. 3, 239, 1950.
- 20) Brown, J. A. H.: Brit. J. Exp. Path. 34, 290, 1953.
- 21) Wildy, P. & Holden, H. F.: Austral. J.

- Exp. Biol. & Med. Sc. 32, 621, 1954.
- 22) Fowler, M. : Austral. J. Exp. Biol. & Med. Sc. 28, 339, 1949.
- 23) Holzel, A., Feldman, G. V. et al. : Acta Paediat. 42, 206, 1953.
- 24) Halonen, K. : Ann. Med. Exp. Biol. Fenn. 33, 9, 1955.
- 25) Burnet, F. M. & Lush, D. : Lancet 1, 629, 1939.
- 26) Rivers, T. M. : Viral and Rickettsial Infections of Man Monograph 1948, pp. 382~391.
- 27) 北 : 日本衛生学雑誌 13, 337, 1958.
- 28) 藤谷 : 札幌医学雑誌 8, 23, 1955.
- 29) 北 : 日本衛生学雑誌 13, 330, 1958.

(受付 : 1958 年 11 月 26 日, 特別掲載)