再発性口腔内ヘルペス感染症の分子疫学的検索

由良義明・伊賀弘起・寺嶋和義・吉田秀夫
梁川哲雄・東 雅之・林 良夫*・佐藤光信

Molecular epidemiological study of recurrent intraoral herpes simplex virus infection

Yoshiaki YURA・Hiroki IGA・Kazuyoshi TERASHIMA
Hideo YOSHIDA・Tetsuo YANAGAWA・Masayuki AZUMA
Yoshio HAYASHI*・Mitsunobu SATO

Abstract: Recurrent intraoral herpes simplex virus infection, which was first described by Griffin in 1965, is an uncommon type of herpes simplex virus (HSV) infection. To determine whether this is caused by reactivation of HSV in the oral cavity latently infected with HSV, we isolated the viruses from primary and recurrent lesions of intraoral HSV infection in the same patient and analyzed the DNA of the isolated HSV viruses.

A 48-year-old woman came to our clinic on July 15, 1982 with severe pain in the oral cavity. On examination, numerous ulcerative lesions were observed in the mucosa of lower alveolus and hard palate. HSV was isolated by tissue culture work from the swab of lesions. Although the antibodies against HSV were not detected by complement-fixation test in the serum harvested from the patient at acute phase of the disease, the titer was increased to $\times 16$ at the convalescent stage. Therefore, it was diagnosed as a primary herpetic gingivostomatitis. This disease was healed completely by topical administration of interferon- β . About 11 months later, ulcerative lesions occurred again in the lower gum and were treated with interferon- β . Virus was isolated from the lesions and proved to be HSV as demonstrated by a fluorescent antibody staining method for HSV antigen.

The two isolates obtained at different time from this patient, including standard HSV type 1 and 2, were grown in Vero cells. DNA was extracted from the infected cells according to the method of Hirt and was digested with various restriction endonucleases. The DNA fragments were submitted to agarose gel electrophoresis, stained with ethidium bromide and then the electrophoretic patterns were observed under UV illumination. The cleavage pattern of DNA from all the HSV isolates was found to be similar to that of HSV type 1, but not to the HSV type 2. Therefore, these isolates can be considered to be HSV type 1. Moreover, the two viruses isolated from the present case gave almost same DNA cleavage pattern. From these findings, it can be concluded that the intraoral HSV infection which occurred after

徳島大学歯学部口腔外科学第2講座
(主任: 佐藤光信教授)

* 徳島大学歯学部附属病院中央検査室
(主任: 林 良夫室長)

The Second Department of Oral and Maxillo-facial Surgery, Tokushima University, School of

Dentistry (Chief: Prof. Mitsunobu Sato)

* Central Laboratory for Clinical Investigation,
Tokushima University, School of Dentistry
(Chief: Yoshio Hayashi)

受付日: 昭和60年2月12日

complete remission of the primary HSV infection in the present case is caused by the same virus, implying that the second onset of intraoral HSV infection is of recurrent form.

Key words: herpes simplex virus, recurrent intraoral lesion, molecular epidemiology

緒 言

単純ヘルペスウイルス（以下 HSV と略記）は、おもに顔面、口腔に感染する 1 型と性器に感染する 2 型とに分けられている。1, 2 型に共通する HSV 感染症の特徴は、初感染症状が消退したのちも生体内にウイルスが潜伏しており、疲労、発熱、外傷などの誘因で再発することである^{1,2)}。口腔領域で最も頻度の高い HSV 再発症は口唇ヘルペスであるが、口腔粘膜に限局して再発性病変の生ずることが知られるようになってきている³⁻⁵⁾。この疾患は、Griffin³⁾ が 1965 年口腔内潰瘍病変に HSV 抗原を検出することで存在を明らかにした比較的新しいものである。病名である recurrent intraoral herpes simplex virus infection に相当する用語は統一されていないため、本報告では再発性口腔内ヘルペス感染症と呼ぶことにする。

本疾患は、HSV 初感染時のごとく全身症状を伴うことは少なく、アフタ性口内炎など口腔粘膜に糜爛や潰瘍を形成する疾患との鑑別が困難で、ウイルス分離あるいは、病変細胞にウイルス抗原を検出することによって初めて診断が下せる。したがって確定診断のついた症例はいまだ少ない。

再発性ヘルペスは、初感染ののち神経節に潜伏した HSV が、何らかの誘因で再活性化され神経軸索に沿って末梢に達し、上皮細胞で増殖することにより発症すると想像される。しかし、最近開発されたウイルス DNA の制限酵素切断パターンを比較する、いわゆる分子疫学的手法を用いることにより、HSV の初感染領域に他の HSV の再感染しうることが証明されている^{6,7)}。そのため、HSV による再発性病変は、潜伏ウイルスの再活性化だけでなく、外因性ウイルスの再感染によって起こる可能性もある。

過去における再発性口腔内ヘルペス感染症の報告で、再感染を念頭に入れてその発症機序を検討したものはみられない。そこで、本研究では、この疾患が再活性化か他のウイルスによる再感染かを明らかにするため、同一患者の初感染と再発時に分離した HSV につき、分子疫学的検索を行った。症例の概要とウイルス DNA 分析結果を報告する。

症 例

患者： 49 歳 女性。

初 診：昭和 57 年 7 月。

主 訴：口腔粘膜の疼痛。

既往歴：特記すべき事項なし。口腔内に潰瘍性病変を生じたことはなく、また口唇ヘルペスの既往もなかった。

家族歴：約 2 週間前に、係にあたる小児が咽頭炎に罹患していた。

現病歴：昭和 57 年 7 月、38°C の発熱があり、全身倦怠感を生じた。某内科にて投薬を受け下熱したが、口腔内に自発痛を認めるようになった。そのため、食事摂取が困難となり、補液と抗生剤投与を受けた。口腔内に生じた潰瘍性病変には、薬剤塗布が続けられたが症状の改善がみられず、発症 5 日後に、当科を受診した。

現 症：体格、栄養ともに中等度で、顔面ならびに全

写真 1 初診時、口腔内所見 (1)

口蓋粘膜に糜爛と白色苔の付着した小潰瘍が散在している。

写真 2 初診時、口腔内所見 (2)

下顎前歯舌側の歯頸部歯肉全域に白色苔を有する潰瘍が認められる。

写真3 初診時、口腔内所見(3)

左下顎大臼歯部の歯槽堤に広範囲に及ぶ潰瘍がみられる。

写真4 再発性病変出現時、口腔内所見

左下顎大臼歯部の歯槽堤に3個の潰瘍性病変(矢印)がみられる。

身の皮膚に発疹、水疱等の異常は認めなかった。領域リンパ節所見として、両側の顎下リンパ節は、小指頭大で各1個触知し、弾性硬、軽度圧痛を認めた。

口腔内所見：歯牙は下顎前歯部と上顎前歯部以外は欠損しており、残存する前歯も動揺が認められた。欠損部歯槽堤、残存歯牙の歯肉部および硬口蓋部の粘膜は発赤しており、表面に白色苔の付着した多数の潰瘍性病変が認められた(写真1～3)。

臨床検査所見：初診時の血液検査の結果、白血球数 $8,000/\text{mm}^3$ 、赤血球数 $498 \times 10^4/\text{mm}^3$ 、ヘモグロビン値 15.5 g/dl 、ヘマトクリット値 48.4% 、血小板数 $24.1 \times 10^4/\text{mm}^3$ で、白血球増多症はみられなかった。トランスアミナーゼをはじめ、血液化学検査値は正常範囲内であった。CRP 値は $4+$ 、赤血球沈降速度は1時間値で 62 mm と亢進していた。免疫グロブリン値は、IgG $1,830 \text{ mg/dl}$ 、IgA 305 mg/dl 、IgM 96 mg/dl で異常はみられなかった。尿検査では、蛋白 $1+$ 、アセトン体 $1+$ であった。

写真5 再発性病変における“HSV”抗原の存在

間接蛍光抗体法にて、病変部の剝離細胞内に HSV 抗原の存在を示す蛍光を認める(矢印)。

ウイルス学的検査所見：初診時に口腔粘膜に生じた潰瘍性病変ぬぐい液を培養細胞に接種することで、HSV が分離された。初診時採取した血清中の HSV に対する補体結合抗体価は4倍以下であり、検出されなかった。

臨床診断：臨床所見と検査結果より、ヘルペス性歯肉口内炎と診断した。

処置ならびに再発性病変出現までの経過：7月■入院した。疼痛のため経口摂取困難な状態が持続していたので、補液、ビタミンB複合剤の投与を行った。細菌による重感染予防の目的で、輸液内に抗生剤セフェキシム 2 g/日 を混入した。口腔内の潰瘍病変には、ヒト線維芽細胞を poly 1 : poly C で処理して調製したインターフェロン β (IFN- β) を含有する水溶性ゲル剤を塗布した⁹⁾。入院3日目には潰瘍の縮小がみられ、しだいに経口摂取可能となったため7日目に退院した。病変は初診より3週間後に、瘢痕を残さず完全に治癒した。

HSV 再発性病変の出現時所見：ヘルペス性歯肉口内炎を発症した初診時より約11か月後の昭和58年6月■、左下顎前歯に刺激痛を覚えたため、6月■に当科を再受診した。4[567相当の歯槽堤粘膜に4個の潰瘍性病変があり、刺激痛を生じた(写真4)。他の口腔粘膜ならびに口唇に異常はなく、顎下リンパ節は両側とも小指頭大で1個触知し圧痛は認めなかった。前回と同様に IFN- β 水溶性ゲル剤にて治療を行い、1週間後には潰瘍性病変の完全な消退をみた。この病変が HSV 感染によるか否かを知るため、ウイルス学的検索を行った。すなわち、病変部よりのウイルス分離と病変部剝離細胞に対し、抗 HSV 1 型家兎 IgG、FITC 結合抗家兎 IgG ブタ血清(Dakopatts 社製)を用いる間接蛍光抗体法にて、HSV 抗原の検出を試みた。その結果、HSV が分離でき、剝離細胞に HSV 抗原を認めたことから、この潰瘍性病変は、HSV によることが明らかとなった(写真5)。また、HSV に対する補体結合抗体価は16倍であった。

以上より、初診時は、HSV の初感染による ヘルペス性歯肉口内炎であり、11か月後に生じた病変は、再発性口腔内ヘルペス感染症と診断した。

分離ウイルス DNA の制限酵素切断 パターンによる比較検討

1. 研究材料と方法

細胞：ウイルス増殖のため、サル腎山来株化細胞である Vero 細胞を使用した。培養液として、5% 仔牛血清と 2 mM の L グルタミンを添加したイーグルの最小必須培地を用い、5% 炭酸ガス存在下に、37℃ にて培養した。

ウイルス：HSV 1 型の標準株として HF 株⁹⁾、2 型の標準株として UW-268 株¹⁰⁾ を使用した。新鮮分離株としては、本症例の初感染と再発時に分離した 2 株（以下 Ym-1 と Ym-2 と略記）以外に、別の成人ヘルペス性歯肉口内炎 2 症例より分離した HSV（以下 Tj と To と略記）を用いた。

ウイルス DNA の抽出：Hirt¹¹⁾の方法に準じて以下のごとく行った。Vero 細胞 (4×10^7) に、 4×10^7 ブラック形成能を有するウイルスを接種し、37℃ にて培養した。80~90%の細胞にウイルス増殖に伴う変性がみられた時点で、培養液を除去し、0.6% sodium dodecyl sulfate (SDS), 0.01M の EDTA を含む 10 mM トリス—塩酸緩衝液 (pH 7.5) 4 ml にて感染細胞を溶解した。1 時間 37℃ に加温したのち、5M の NaCl を 1 ml 加え、緩徐に混和し、4℃ にて 12 時間静置した。17,000 × g で 30 分間遠心し、染色体外 DNA に相当する上清を採取し、これに 1/20 量の 20 × NTE 緩衝液 (NTE: 0.1M NaCl, 0.01M トリス—NCl, pH 7.4, 0.001M EDTA) を加えた。Protease (sigma 社製) 500 μg/ml を 37℃ で 4 時間反応させ混入した蛋白を分解したのち、水飽和フェノール、次にクロロフォルムとイソアミールアルコール (24:1) にて DNA を抽出した。2 倍量の 95% エタノールを加えて DNA を沈澱させ、1/10 NTE 緩衝液に溶解した。50 μg/ml の RNase (Sigma) にて RNA を分解したのち最終的に 1/10 NTE 緩衝液に DNA を溶解し、OD 260 の吸光度で定量した。

DNA の制限酵素による切断と電気泳動：ウイルス DNA (3~5 μg) を制限酵素である BamH I, Kpn I, Sal I (宝酒造社製) にて切断した。反応条件は酵素により異なり、BamH I では、10 mM Tris-HCl, pH 8.0, 7 mM MgCl₂, 100 mM NaCl, 2 mM 2—メルカプトエタノール, 0.01% ウシ血清アルブミン, Kpn I では 6 mM Tris-HCl, pH 7.5, 6 mM MgCl₂, 6 mM NaCl, 6 mM 2—メルカプトエタノール, 0.02% ウシ血清アルブミン, Sal I では、10 mM Tris-HCl, pH 7.5, 7 mM MgCl₂, 175 mM NaCl, 0.2 mM EDTA, 7 mM 2—メルカプト

写真 6 制限酵素 BamH I によるウイルス DNA 切断パターン

HSV 1 型 (HF 株), HSV 2 型 (UW-268 株), 本症例の分離株 (Ym-1, Ym-2), 他の 2 症例よりの分離株 (Tj, To) から調製したウイルス DNA を BamH I で切断し、その切断片を同時にアガロースゲル電気泳動した。アルファベットは DNA 断片名を示し、矢印は本症例と他の症例よりの分離株間で DNA 断片の移動度に差のみられる箇所を示している。

エタノール, 0.01% ウシ血清アルブミンを含む溶液中で、37℃ にて 6 時間反応させた。1/10 量の反応停止液 (50% グリセロール, 1% SDS, 0.02% ブロムフェノールブルー) を加え、37℃ で 10 分間保温した。電気泳動用のアガロースゲル濃度は 0.9% で、緩衝液として 90 mM Tris-HCl, pH 8.3, 90 mM ホウ酸, 2.5 mM EDTA を含む溶液を用いた。制限酵素で切断した DNA 断片を 50 V で 12~15 時間電気泳動したのち、0.5 μg/ml のエチジウムブロマイドで染色し、UV ライト照射下に観察した。

2. 結果

HSV 1 型と 2 型の標準株、本症例の初感染と再発時に分離した Ym-1 と Ym-2, 他の患者より分離した Tj と To の計 6 株について、ウイルス DNA を調製し制限酵素 BamH I にて分析した (写真 6)。DNA 断片をアガロースゲル電気泳動すると小さな断片ほど速く移動するので、写真では下方に配列することになる。DNA 断片は、サイズの大きいものから順に Sakaoka¹²⁾, Locker¹³⁾,

写真 7 制限酵素 Kpn I, Sal I によるウイルス DNA 切断パターン

本症例の分離株 Ym-1, Ym-2 より調製したウイルス DNA を Kpn I あるいは Sal I にて切断し、その DNA 切断片を同時にアガロースゲル電気泳動した。

Ueno¹⁴⁾らの報告に従って、a, b, c と標記した。電気泳動パターンを比較したところ、本症例を含む新鮮分離株は、2 型標準株とは全く異なっており、すべて HSV 1 型と決定された。さらに、本症例より分離した Ym-1 と Ym-2 は同一のパターンを示すのに対し、他の患者由来の Tj, To とは部分的に異なっており、1 型内での株間の差を明らかにすることができた。

Ym-1 と Ym-2 は、BamH I 酵素を使用した場合きわめて類似した切断パターンを示したが、DNA の差は複数の酵素による検索で初めて検出できる可能性もあるた

め、さらに異なった制限酵素である Kpn I と Sal I による分析を行った(写真 7)。その結果、いずれの酵素を使用しても切断パターンは同一であった。したがって両ウイルスは同一株であり、初感染時に歯肉口内炎の原因となったウイルスが生体内に潜伏し、再び活性化されて再発性口腔内ヘルペス感染症を発症させたことが明らかとなった。

考 察

口腔粘膜に高頻度に発生する再発性アフタと、ヘルペス感染症との関連について多くの検索が行われたが、アフタより HSV は分離されず、その関連性は否定された^{15,16)}。そのため、一般に口腔領域での HSV の再発性病変は口唇ヘルペスであると考えられていた。しかし、1965 年 Griffin³⁾は、口腔粘膜のアフタ性病変の塗抹細胞に HSV を検出することにより、口腔粘膜に局限した HSV 再発性病変の存在を明らかにした。その後、Muller⁴⁾も口蓋に再発性病変を生じた成人の症例を報告している。この症例では、1 年間に 3～4 回の口唇ヘルペスの再発がみられ、血清中 HSV に対する補体結合抗体価は高値を示した。これらは、口唇ヘルペスの既往があり、口腔内に再発性ヘルペスを生じた症例であった。われわれの経験した症例は、初診時ウイルスが分離されたにもかかわらず、HSV に対する抗体が全く検出されず、回復期になって初めて抗体価の上昇を認めたことから、HSV 初感染と考えられた。感染経路については不明であるが、孫にあたる小児が約 2 週間前に咽頭炎に罹患したとのことで、この小児よりウイルスの伝播した可能性が高い。初診より約 11 か月後には、下顎歯槽堤に局限して HSV 再発性病変が出現し、この部位より HSV が分離され、剝離細胞に HSV 抗原が検出された。したがって、本症例は、初感染より再発時まで経過を観察しウイルス学的検索を加えることのできた貴重な再発性口腔内ヘルペス感染症の症例といえる。また、本症例では口唇ヘルペスを経験しておらず、再発時口唇に異常は認めなかった。そのため、再発性口腔内ヘルペス感染症は、口唇ヘルペスとは関連を持たずに発症しうるものと思われる。

口唇ヘルペスに比較して、なぜ再発性口腔内ヘルペス感染症の症例が少ないかは明らかでないが、唾液中の非特異的なウイルスのインヒビターや HSV に対する分泌型 IgA 抗体が、口腔粘膜での HSV 感染症の防止に役立っていると思われる^{4,17)}。あるいは、症状が軽度のため患者に気付かれずに治癒している病変が多いのかもしれない¹⁸⁾。

再発性口腔内ヘルペス感染症の発症機序については、三叉神経節に潜伏する初感染ウイルスが再活性化すること以外に、別の HSV による口腔粘膜への再感染の可能

性もある。ちなみに、Guggenheimer ら¹⁰⁾は、歯科治療中バーにて損傷した下唇粘膜に36時間後に潰瘍性病変が出現し、病変部より HSV が分離されたと報告している。この患者は過去に口唇ヘルペスの既往はあるが、口腔粘膜に潰瘍性病変を生じたことはなかった。彼らは、損傷した粘膜に同じ患者の唾液あるいは咽頭分泌物に含まれていた HSV が再感染したのではないかと考えている。また、ウイルスの再感染を示す知見として、最近、Lewis ら⁷⁾によって興味深い報告がなされている。彼らは、屍体より得た三叉神経節と神経根を *in vitro* で培養して潜伏する HSV の再活性化をはかったところ、HSV 1 型の複数の株が分離された。すなわち、同じ口腔領域でも異なった HSV 1 型が再感染して、神経組織に潜伏することが示唆されたわけである。さらに、Buchman ら⁹⁾は、同一個体の性器から異なった HSV 2 型の分離されたことを報告している。したがって、再発性口腔内ヘルペス感染症についても、HSV 再感染にて発症することを十分考慮に入れる必要があり、初感染ウイルスの再活性化であって他のウイルスの再感染でないことを証明するには、分離ウイルスが初感染と再発時とで同一であることを同定しなければならないことになる。

分離した HSV の同定は、必ずしも容易であるとはいえない。型決定の際には、ウイルスのニワトリ胎児細胞と漿尿膜での増殖能やブラック形成能の差²⁰⁾、温度に対する感受性²¹⁾、感染細胞での核内 microtubule 出現の有無²²⁾などが利用されている。最も一般的な型決定法は、1 型と 2 型に対する特異抗体のいずれによって、よりウイルス感染力価が低下するかを検索する中和試験である。この方法の問題点としては、1 型と 2 型とでウイルス構成蛋白が共通するため使用する抗体によっては、必ずしも明瞭な判定を下しえない場合のあることである²³⁾。また、これらの検査法では、型の同定は行っても同一型内での株間の差を明らかにし、ウイルスを分類することはできない。ウイルス株間の差を検出する方法としては、現在までにウイルス蛋白とウイルス DNA を分析する検査法が検討されている。Pereira ら²⁴⁾は、53 株の HSV 1 型ウイルスの構成蛋白を SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動にて分離し、その移動度の差をおおの株間で比較した。その結果 19 のグループに分類できたとしている。しかし、この方法は手技が煩雑でアイソトープが必要であり、臨床検査には応用し難い点が多い。これに対し、ウイルス DNA を制限酵素で切断しその電気泳動パターンを検討する方法は、比較的容易にウイルス間の差を検出できることが報告されている^{12-14, 25)}。

HSV の遺伝情報をにう核酸は、分子量が 85-100 × 10⁶ ダルトンの線状二重鎖 DNA で、その 82% を占める L 部分と 18% を占める S 部分より成り立っている²⁵⁾。L と S 部分の両端に存在する倒置反復配列部は、制限酵素による切断の際変化しうが、L と S の特異部分は同

一株内できわめて安定である。そのため、ウイルスの株に特有な制限酵素切断パターンは培養系や生体内での増殖の後にも変化することがなく、HSV の型分類や株間の差異を知るため有用である。とくに、アイソトープ標識しない HSV 感染細胞より抽出した全細胞 DNA を用いても、ウイルスの DNA の切断パターンを知ることができ^{12, 14)}、操作はより簡便となっている。ウイルス DNA の抽出法としては、感染細胞より全細胞 DNA とウイルス粒子より DNA を得る方法が一般的に用いられている。しかし、ウイルス以外の細胞 DNA の混入や、ウイルス精製操作の煩雑さなどの問題点がある。本研究では、ポリオーマウイルス感染細胞より直接ウイルス DNA を抽出する Hirt¹¹⁾の方法に準じて、HSV の DNA を効率よく抽出でき、良好な成績を収めることができた。今後、臨床検査レベルでも応用可能な方法と考える。

われわれが、Hirt 法にて調製した DNA を BamH I にて切断し、泳動パターンを検討した結果、1 種類の酵素を用いるだけで十分に型の判別を行うことができ、さらに 1 型内での株間の差を検出することができた。酵素としては、DNA を適当な断片に切断する特性を有したものを選択する必要がある。HSV の場合、BamH I、Kpn I、Sal I は有用な酵素であった。2 種の株の同一性を強く示唆するためには、2 つ以上の酵素で検索する必要があるが、本研究では、上記の 3 種類の酵素で同じ切断パターンが得られたことから、初感染と再発時に分離されたウイルスは同一株と考えられた。

再発性口腔内ヘルペス感染症は、明確な診断の下された症例の少ない疾患であり、その発生頻度についてもまだ明らかにされていない。過去における報告では、病変よりのウイルス分離、ウイルス抗原の検出、抗体価の測定は行われている^{3, 4)}。しかし、技術的に困難なことから、再発性病変がウイルスの再活性化か再感染のいずれにより生じたかの検索は行われていない。そのため、われわれが経験した症例は、再発性口腔内ヘルペス感染症が初感染ウイルスの再活性化により発症したことを遺伝子レベルで解析できた最初の症例と思われる。

近年、口腔と性器との間で HSV の伝播することが知られており、性器から 1 型あるいは口腔から 2 型が分離されたとの報告もみられる^{26, 27)}。また、HSV が唾液に混入し不顕性に排泄される口腔内に手指を入れる歯科医では、ヘルペス性瘰癧の罹患率が有意に高く^{28, 29)}、歯科医療従事者と患者との間で、手指を介してヘルペスが伝播する危険性も指摘されている。しかし、HSV 伝播経路は追跡が困難であり、大部分が不明のままである。今後、本研究で述べた分子疫学的手法を用い発病の原因ウイルス株を同定することにより、HSV 伝播経路の解明と感染の予防・阻止が可能になると思われる。

結 語

再発性口腔内ヘルペス感染症が、潜伏ウイルスの再活性化によるか、他のヘルペスウイルスの再感染によるかを知るため、同一症例において初感染と再発時病変より分離した2株のウイルスにつき、分子疫学的手法を用いてウイルスDNA分析を行った。その結果、両ウイルスは同一株と判明し、本症例の再発性病変は、初感染のち生体に潜伏していたヘルペスウイルスが再活性化することで生じたものと考えられた。

本研究の一部は、昭和59年度文部省科学研究費（課題番号59480393と59771524）の援助を受けて行った。

引用文献

- 1) Mandell, G.L., Douglas, R.G., et al.: Principles and Practice of Infectious disease. vol. 2 John Wiley & Son, New York, 1979, p 1283-1294.
- 2) 石川梧朗監修：口腔病理学Ⅱ。改訂版，永末書店，京都，1982，128-130頁。
- 3) Griffin, J.W.: Recurrent intraoral herpes simplex virus infection. *Oral Surg* 19: 209-213 1965.
- 4) Muller, S.A.: Recurrent herpes simplex of the hard palate. *Arch Dermatol* 98: 273-276 1968.
- 5) Sheridan, P.J. and Herrman, E.C.Jr.: Intraoral lesions of adults associated with herpes simplex virus. *Oral Surg* 32: 390-397 1971.
- 6) Buchman, T.G., Roizman, B., et al.: Demonstration of exogenous genital reinfection with herpes virus type 2 by restriction endonuclease fingerprinting of viral DNA. *J Infect Dis* 140: 295-304 1979.
- 7) Lewis, M.E., Leung, W.C., et al.: Detection of multiple strains of latent herpes simplex virus type 1 within individual human hosts. *J Virol* 52: 300-305 1984.
- 8) Sato, M., Yoshida, H., et al.: Therapeutic effect of human fibroblast interferon on premalignant lesion arising in oral mucosa: A pilot study. *Int J Oral Surg* 14: 184-194 1985.
- 9) Wheeler, C.E.: The effect of temperature upon the production of herpes simplex virus in tissue culture. *J Immunol* 81: 98-106 1958.
- 10) Wentworth, B.B., French, K.: Plaque assay of herpes virus hominis on human embryonic fibroblasts. *Proc Soc Exp Med* 131: 588-592 1969.
- 11) Hirt, B.: Selective extraction of polyoma DNA from infected mouse cell cultures. *J Mol Biol* 26: 365-369 1967.
- 12) Sakaoka, H., Aomori, T., et al.: Restriction endonuclease cleavage analysis of herpes simplex virus isolates obtained from three pairs of siblings. *Infect Immun* 43: 771-774 1984.
- 13) Locker, H., Frenkel, N., et al.: Bam I, Kpn I, Sal I restriction enzyme maps of the DNAs of herpes simplex virus strains Justin and F: Occurrence of heterogeneities in defined regions of the viral DNA. *J Virol* 32: 429-441 1979.
- 14) Ueno, T., Suzuki, N., et al.: A simple and practical method for typing and strain differentiation of herpes simplex virus using infected cell DNAs. *Microbiol Immunol* 26: 1159-1170 1982.
- 15) Blank, H., Burgoor, C.F., et al.: Recurrent aphthous ulcers. *JAMA* 142: 125-126 1950.
- 16) Griffin, J.W.: Fluorescent antibody study of herpes simplex virus lesions and recurrent aphthae. *Oral Surg* 16: 945-952 1963.
- 17) Tokumaru, T.: A possible role of gamma-immunoglobulin in herpes simplex virus infection in man. *J Immunol* 97: 248-259 1966.
- 18) Scott, T.F.M.: Acute infectious gingivostomatitis. *JAMA* 177: 999-1005 1941.
- 19) Guggenheimer, J., Ronald, D., et al.: Traumatic induction of an intraoral reinfection with herpes simplex virus. *Oral surg* 38: 546-549 1974.
- 20) Rodgers, F.G.: Growth of herpes simplex virus type 1 and type 2 in tissues of fertile hen's eggs *in vivo* and *in vitro*. *Br J Exp Path* 63: 317-322 1981.
- 21) Ratcliffe, H.: The differentiation of herpes simplex virus type 1 and type 2 by temperature markers. *J gen Virol* 13: 181-183 1971.
- 22) Ishida, N.: Differentiation of herpes simplex virus type 1 and 2 by intranuclear structures in clinical infection. *Microbiol Immunol* 25: 847-851 1981.
- 23) 川名林治，佐藤成大，他：単純ヘルペスウイルス感染の最近の話題。感染・炎症・免疫 12: 133-141 1982.
- 24) Pereira, L., Cassai, E., et al.: Variability in the structural polypeptides of herpes simplex virus 1 strains: Potential application in molecular epidemiology. *Infect Immun* 13: 211-220 1976.
- 25) Buchman, T.G., Roizman, B., et al.: Restriction endonuclease fingerprinting of herpes simplex virus DNA: A novel epidemiological tool applied to a nosocomical outbreak. *J Infect Dis* 138: 488-498 1978.
- 26) Kawana, T., Chen, J.T.: Clinical and viro-

- logical aspects of female genital herpes in Japan. in Herpesvirus, clinical, pharmacological and basic aspects. *Experta Medica*, 1982, p 339-350.
- 27) Nahmias, A.J.: Clinical aspects of infection with herpes simplex virus 1 and 2. in *The Human Herpes Viruses*. Elsevier, New York, 1981, p 3-9.
- 28) Miller, J.B.: Herpes simplex infection of the fingers of a dentist. *J Dent Child* 43: 99-102 1976.
- 29) Rowe, N.H., Heine, C.S., et al.: Herpetic whitlow: an occupational disease of practicing dentists. *JADA* 105: 471-473 1982.
-