

○ 臨床検査アップデート9 ○ Up date

# 単純ヘルペスウイルス、水痘・帯状疱疹ウイルスにおける核酸増幅検査

## Nucleic Acid Amplification Tests in detecting Herpes Simplex Virus and Varicella-Zoster Virus

みや た いっ ぺい てら だ き へい  
 宮 田 一 平 : 寺 田 喜 平  
 Ippei MIYATA Kihei TERADA

### はじめに

現在、単純ヘルペスウイルス、水痘・帯状疱疹ウイルスの核酸増幅による同定・定量検査は保険未記載であるが、臨床検査機関で実施可能である。これらの検査ならびに、実験室的な核酸検出手法も含めてその臨床現場におけるその意義・有用性に関して記す。

### I. 単純ヘルペスウイルス、水痘・帯状疱疹ウイルスについて

ヒトに感染するヘルペス科ウイルスはこれまでに8種類が知られている(表1)。これらは、さらに $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ ヘルペスウイルス亜科に分類され、本稿で取り上げる単純ヘルペスウイルス(Herpes simplex virus; HSV)、水痘・帯状疱疹ウイルス(Varicella-Zoster virus, VZV = HHV-3, Human Herpesvirus-3)はいずれも $\alpha$ ヘルペスウイルス亜科に分類される。単純ヘルペスウイルスには、単純ヘルペスウイルス1型

(Herpes simplex virus-1, HSV-1 = HHV-1, Human herpesvirus-1)と2型(Herpes simplex virus-2, HSV-2 = HHV-2, Human herpesvirus-2)が存在する。また、HSV-1, HSV-2, VZVのいずれに対しても抗ウイルス剤(アシクロビル(Acyclovir, ACV)およびそのプロドラッグであるバラシクロビル(Valaciclovir, vACV))が存在する。

現在、これらウイルスに解する核酸同定・定量検査は保険未記載であるが、臨床検査機関で実施可能である。これらの検査ならびに、実験室的な核酸検出手法も含めてその臨床現場におけるその意義・有用性に関して記す。

### II. ウイルスの起こす疾患

単純ヘルペスウイルス、水痘・帯状疱疹ウイルスはそれぞれ、次に挙げるような疾患を来す。また、初感染後は宿主の神経細胞内に生涯潜伏感染し、宿主の免疫状態の低下に乗じてしばしば再発して症状を呈する。

#### 1. 単純ヘルペスウイルス

単純ヘルペスウイルスは皮膚粘膜、眼、中枢神経系など様々な部位に症状を来す。

皮膚粘膜症状としては、ヘルペス性歯肉口内炎、口唇ヘルペス、顔面ヘルペス、カポジ水痘様発疹症、ヘルペス性ひょう疽、性器ヘルペスをはじめとする病像が主に挙げられる<sup>1)</sup>。

眼病変としては、一部に難治性の病型のもの含まれる角膜ヘルペスが知られる。

中枢神経系感染としては生命予後、社会的・機能的予後の不良な単純ヘルペス脳炎が知られている<sup>2)</sup>。

表1 ヒトに感染するヘルペス科ウイルス

亜科	名称	別称	抗ウイルス剤
$\alpha$ ヘルペスウイルス亜科	HHV-1	HSV-1	ACV, vACV
	HHV-2	HSV-2	
	HHV-3	VZV	
$\beta$ ヘルペスウイルス亜科	HHV-5	CMV	GCV, vGCV
	HHV-6		
	HHV-7		
$\gamma$ ヘルペスウイルス亜科	HHV-4	EBV	
	HHV-8	KSHV	

HHV, Human Herpesvirus; HSV, Herpes simplex virus; VZV, Varicella-Zoster virus; CMV, Cytomegalovirus; EBV, Epstein-Barr virus; KSHV, Kaposi's sarcoma-associated virus; ACV, acyclovir; vACV, valaciclovir; GCV, ganciclovir; vGCV, valganciclovir.

周産期感染として、皮膚・神経・眼症状を伴う先天性ヘルペス、非特異的症状で発症する新生児ヘルペスが知られる<sup>3)</sup>。

## 2. 水痘・帯状疱疹ウイルス

VZVは初感染では水痘として発症する。その後、ウイルスは脊髄後根神経節に潜伏感染し、宿主免疫の低下に乗じて帯状疱疹として再発する。顔面神経の膝神経節に潜伏感染したものが再発した場合には皮膚症状に加えて、顔面神経麻痺、難聴、めまいを伴うが、これを Ramsay Hunt 症候群と称する<sup>4)</sup>。成人においては致命的になる重篤な肺臓炎を来す場合があること、妊娠第2,3四半期にある妊婦においてその危険性が高いことにも注意を要する<sup>5)</sup>。

非典型的ではあるが、脳炎、脳梗塞に至る血管炎、急性小脳失調症、無菌性髄膜炎、横断性脊髄炎、急性網膜壊死、進行性外側網膜壊死などの病態を来すことも知られている<sup>6)</sup>。

この他、周産期の水痘に伴う胎児への感染として、妊娠第1三半期におけるVZVの胎内感染による先天性水痘症候群と、母親が分娩14日前～2日後以内に発症した場合の新生児水痘が知られている<sup>7)</sup>。前者は皮膚症状、四肢形成不全、眼病変、中枢神経異常を来すことが知られている。後者においては、母体の発症が分娩5日前～2日後であった場合に産児が経胎盤的に母体からの移行免疫を受けることができず、致命率は3割に至るとも報告されている<sup>5)</sup>。

水痘は典型的な症状を来す1～2日前から感染性を有する事に加えて、感染経路が空気感染(飛沫核感染)であることから、感染対策の観点からも注意を必要とする。

## Ⅲ. 免疫抑制者においては特に注意を要する

HSV-1, HSV-2, VZVはいずれも宿主の体内に潜伏感染するウイルスであるため、免疫が抑制された状態にある者(白血病、抗腫瘍化学療法中、ステロイドや免疫抑制剤使用中、HIV感染など)においては次のような点に対する注意も必要である。

### 1. 単純ヘルペスウイルス

免疫抑制状態の宿主においては、食道炎、肺臓炎を来すことが知られている。さらに、ときに副腎や

肝臓、骨髄や腸管への播種を来したり、広範囲に及ぶ皮膚粘膜潰瘍を来す場合もある<sup>8)</sup>。

### 2. 水痘・帯状疱疹ウイルス

免疫抑制状態の宿主における水痘は、おびただしい数の水疱を来して出血を伴う傾向があること、免疫正常な児に比べて治癒に至るまでに時間を要すること、肺臓炎をはじめとする臓器の進行性病変を伴う重症水痘を患う危険性が高いことが知られている<sup>5)</sup>。

この他、病初期に皮膚症状を欠いて重症水痘として気づかれない内向型水痘も存在することにも注意が必要である。この場合、初発症状として激しい腹痛や腰背部痛を来すものが多いことが知られている。病像の進行に伴って数日で多臓器不全・DICを来し、国内報告例をまとめた報告では3割以上が死亡に至っている<sup>9)</sup>。

## Ⅳ. 核酸検出検査の意義・課題

上述のような症状を来すHSV-1, HSV-2, VZVであるが、特に予後の不良な単純ヘルペス脳炎、早期診断・早期治療を要する免疫抑制者におけるこれらのウイルスを疑う粘膜病変や水疱性疾患において迅速性と検出感度に優れる核酸検出検査の果たす役割は大きい。核酸検出検査においては、外注する際には検体の種類が限定されるが、試料から適切にウイルスDNAを抽出することが可能ならば理論的にはどのような試料からも検査を実施することは可能である。

単純ヘルペス脳炎の診療ガイドラインにおいてはウイルス学的な診断確定に用いられる手法の1つにPCR法によるDNAの検出が挙げられている<sup>10)</sup>。

また、水痘は感染経路が空気感染であり、基本再生産数(1名の発症者から新たに感染する感受性者の数; 疾患の伝染性の指標の一種)が8～10と大きいことから<sup>11)</sup>、院内感染対策においても注意を要する病原体である。疑い症例は陰圧室への隔離を要し、接触者調査、必要に応じて接触者への受動免疫や予防投薬を考慮する必要がある。高次医療機関で水痘の事例が発生し、病棟閉鎖を要する事態に陥った際には個々の医療機関における経済的損失のみならず、医療圏への影響も大きい<sup>12)</sup>。このような医療機関においては施設内での核酸検出検査が有意

表2 単純ヘルペスウイルスに対する LAMP 法と PCR 法の検出限界の報告の比較

ウイルス	検出限界 [copy/反応]	検出限界比較	検討対象試料	文献
HSV-1/2	10	LAMPが優れる	ブドウ膜炎	(18)
HSV-1/2	10	同等	角膜炎/性器ヘルペス	
HSV-1	500	同等	水疱/歯肉口内炎	(19)
HSV-2	1000	同等	性器ヘルペス	
HSV-1	500	PCRが10倍優れる	抽出核酸	(17, 20)
HSV-2	1000	PCRが20倍優れる		

義であることを示唆する報告もなされている<sup>13)</sup>。

また、ワクチン接種歴のある患者における発症を認めた際にワクチン株由来のウイルスなのか否かの鑑別にも核酸検出法が応用可能である<sup>14)</sup>。

一方で、核酸検出法の課題としては次のものが挙げられる。保険収載がされていないこと。HSV-1, HSV-2に至っては、単純ヘルペス脳炎の診療ガイドラインにおいては確定診断に必要とされているながら保険収載されていない。基本的に外注検査であり、施設内で実施できない限り、核酸増幅技術の利点の1つである迅速性の恩恵に与ることができないこと。

感度の高い技術ではあるが、偽陰性があり得ること。単純ヘルペス脳炎の診断においてもこの点は重要であり、ガイドライン中にも注意が喚起されている<sup>8, 10, 15)</sup>。筆者も実験室的診断の実務担当者として、病初期には髄液中ウイルス DNA も抗体価も陰性であったが、経過中に髄液抗体価が陽転して診断に至った症例に関わった経験がある。この事例では、抗体陽転と同じ時期から DNA も検出可能であった。

検出感度が高い検査技術ではあるが、検出反応液中に存在しないものを検出することはできない。また、検出対象が希薄である場合にも再現性を得ることができないため、適切な病期に、適切な種類の検体を、十分量採取することが重要である。

核酸増幅技術としては、リアルタイム PCR 法をはじめとする PCR 法に基づく技術が良く知られるが、本邦で開発された LAMP 法<sup>16)</sup>は PCR 法に比べて増幅効率・特異性に優れることに加え、サーマルサイクラーを要さない恒温反応であることから導入コストの観点からも利点のある技術である。単純ヘルペスウイルスの検出に関しては LAMP 法は PCR 法に基づく技術に対して感度に劣るとも評する記載を目にする機会が多い<sup>15, 17)</sup>。しかしながら、文献的には報告者によって感度は多様であり(表2)、PCR 法同様にプライマー配列に少なからず依存している

と考えられる。

一方で、(表2)に示す通り LAMP 法は検体を直接反応液に加えた場合には PCR 法を凌駕する検出限界を示す可能性が示唆されている。核酸増幅の実務において核酸抽出処理は1時間程度を要する工程であることから、検体を直接反応液に加える事が可能である検出系の堅牢性は検体受領から検査結果を臨床現場に届けるまでの時間を短縮することに資するとも考えられる。上述の通り、現状では核酸増幅技術の利点である迅速性の恩恵に与ることが困難である。LAMP 法は導入が容易であることから、検出感度に優れた検出系が見出されることによって臨床現場に高い感度と迅速性をもたらす技術であると考えられる。

## 文 献

- 1) 松尾光馬, 尾上智彦, 伊東秀記, 本田まりこ, 中川秀己. 2010. 単純ヘルペスウイルス感染症 (1) 皮膚科領域. 化学療法の領域 **26**: 1965-1971.
- 2) 亀井 聡. 2010. 単純ヘルペスウイルス感染症 (2) 内科領域~単純ヘルペスウイルス脳炎~. 化学療法の領域 **26**: 1972-1980.
- 3) 山岸由佳, 三鴨廣繁. 2010. 単純ヘルペスウイルス感染症 (3) 小児科領域. 化学療法の領域 **26**: 1981-1987.
- 4) 萩森伸一. 2013. Ramsay Hunt 症候群 - 重症例を減らすためには何が必要か -. 病原微生物検出情報 **34**: 301-302.
- 5) Whitley RJ. 2014. Chickenpox and Herpes Zoster (Varicella-Zoster Virus), p 1731-1737. In Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ (ed), Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 8 ed. Churchill Livingstone, Philadelphia.
- 6) 寺田喜平. 2010. 水痘・帯状疱疹ウイルス感染症. 化学療法の領域 **26**: 1989-1995.
- 7) 吉川哲史. 2012. 水痘・帯状疱疹ウイルス. 日本小児感染症学会 編, 小児感染症マニュアル2012.
- 8) Schiffer JT, Corey L. 2014. Herpes Simplex Virus, p 1713-1730. In Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ (ed), Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infec-

- tious Diseases, 8 ed. Churchill Livingstone, Philadelphia.
- 9) 中野貴司. 2013. 免疫不全宿主の重症水痘 - 原因不明の激しい腹痛・腰背部痛には要注意. 病原微生物検出情報 **34** : 290-292.
  - 10) 日本神経感染症学会. 2005. 単純ヘルペス脳炎診療ガイドライン.  
<http://www.neuroinfection.jp/guideline001.html>.  
Accessed 2016/09/19.
  - 11) 寺田喜平. 2008. 各種ウイルス感染症の施設内伝播予防策. 小児感染免疫 **20** : 507-510.
  - 12) 森野紗衣子, 堀越裕歩. 2013. 病気の子どもたちを守るには - 小児病院での水痘・带状疱疹ウイルスの感染制御.  
[http://www.theidaten.jp/journal\\_cont/20130328J-41-2.htm](http://www.theidaten.jp/journal_cont/20130328J-41-2.htm). Accessed 2016/09/19.
  - 13) 船木孝則, 宮田一平, 菅原美絵, 宮入 烈. 2014. リアルタイム PCR 法の感染管理への貢献 - 水痘・带状疱疹ウイルスを例に -, 第29回 日本環境感染症学会総会・学術集会, 東京, 2014/02/15.
  - 14) Campsall PA, Au NHC, Prendiville JS, Speert DP, Tan R, Thomas EE. 2004. Detection and Genotyping of Varicella-Zoster Virus by TaqMan Allelic Discrimination Real-Time PCR. *J Clin Microbiol* **42** : 1409-1413.
  - 15) 木村 宏. 2009. 単純ヘルペス脳炎診療ガイドライン. 小児感染免疫 **21** : 19-23.
  - 16) Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, Yonekawa T, Watanabe K, Amino N, Hase T. 2000. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Res* **28** : e63.
  - 17) Kimura H, Ihira M, Enomoto Y, Kawada J-i, Ito Y, Morishima T, Yoshikawa T, Asano Y. 2005. Rapid detection of herpes simplex virus DNA in cerebrospinal fluid: comparison between loop-mediated isothermal amplification and real-time PCR. *Med Microbiol Immunol* **194** : 181-185.
  - 18) Kaneko H, Iida T, Aoki K, Ohno S, Suzutani T. 2005. Sensitive and rapid detection of herpes simplex virus and varicella-zoster virus DNA by loop-mediated isothermal amplification. *J Clin Microbiol* **43** : 3290-3296.
  - 19) Enomoto Y, Yoshikawa T, Ihira M, Akimoto S, Miyake F, Usui C, Suga S, Suzuki K, Kawana T, Nishiyama Y, Asano Y. 2005. Rapid diagnosis of herpes simplex virus infection by a loop-mediated isothermal amplification method. *J Clin Microbiol* **43** : 951-955.
  - 20) Sugiyama H, Yoshikawa T, Ihira M, Enomoto Y, Kawana T, Asano Y. 2005. Comparison of loop-mediated isothermal amplification, real-time PCR, and virus isolation for the detection of herpes simplex virus in genital lesions. *J Med Virol* **75** : 583-587.