

水痘および帯状疱疹の抗体レスポンス

—ブドウ球菌の生物学的活性を応用した抗体の解析—

川崎医科大学 微生物学教室 (主任: 村上栄教授)

小野 義三, 高橋 千恵

川崎医科大学 皮膚科学教室 (主任: 野原望教授)

三好 薫, 成本 澄子

野原 望

(昭和50年12月27日受付)

Antibody Response in Varicella and Herpes Zoster

—Analysis of Specific Viral Antibodies with Application
of Biological Properties of *Staphylococcus Aureus*—

Yoshizo Ono and Chie Takahashi

Department of Microbiology, Kawasaki Medical School

Kaoru Miyoshi, Sumiko Narimoto

and Nozomi Nohara

Department of Dermatology, Kawasaki Medical School

(Accepted on Dec. 27, 1975)

水痘および帯状疱疹患者113例について、ブドウ球菌を使って、非特異的に血清中の免疫グロブリンの吸収を行ない、**Varicella-Zoster Virus (VZV)** 抗体について吟味した。ブドウ球菌吸収処理を行なうことによって、帯状疱疹では、54例中50例(92.6%)は、CF抗体が陰性になった。しかしながら、水痘では、40例中15例(37.5%)であった。すなわち、水痘と帯状疱疹では血清中のCF抗体活性のブドウ球菌への吸着のおこりかたに、明らかな違いがみられた。蛍光抗体法によって、ブドウ球菌処理後の血清について、**Specific IgM** 抗体の検索を行なってみた結果、水痘では、**Specific IgM** 抗体を検出することができたが、帯状疱疹では、**Specific IgM** 抗体の証明をすることができなかった。本報告は、水痘と帯状疱疹のあいだの抗体レスポンスに、質的な違いがあることを、ブドウ球菌の生物学的活性を利用することによって見出した最初の報告である。

Staphylococcal (*S. aureus* strain Cowan type 1) adsorption of non-specific immunoglobulins was applied to the detection of antibodies to Varicella-Zoster Virus (VZV) in sera of 113 patients with varicella and herpes zoster.

Complement-fixing (CF) antibodies was disappeared in 50 of 54 (92.6%) sera

of herpes zoster patients and 15 of 40 (37.5%) sera of varicella patients. This experiment shows that CF antibody adsorption is clearly different between varicella and herpes zoster. Furthermore indirect immunofluorescent technique was used for the detection of specific Ig-M antibodies to VZV, Specific Ig-M antibody was not detected in sera of herpes zoster, but was found in sera of varicella.

This is a first report showing that the antibody response of varicella was different from that of herpes zoster by staphylococcal assay.

はじめに

全身に散布性発疹を生ずる水痘 (Varicella) と一定の神経支配領域に局限して皮膚病変を発生する帯状疱疹 (Herpes Zoster) という二つの臨床的に異った疾患が同一のウイルスの感染によっておこることは周知のとおりである。すなわち、水痘は Varicella-Zoster Virus (VZV) の初感染によるものとされており、帯状疱疹は通常、水痘感染後、時を経て発症し Latent VZV の再燃 (reactivation) によっておこる疾患とされている。VZV の初感染と再燃時における免疫応答には、差異があるものと考えてよいであろう。最近、水痘と帯状疱疹の回復期血清中の抗体には質的な違いがあるという報告¹⁾²⁾が見られるようになってきている。今回、私たちが行った実験は、水痘と帯状疱疹患者の血清を、ブドウ球菌 (Staphylococcus aureus Cowan 1 型菌、以下ブ菌と略す) を使って処理し、IgG を非特異的に吸収して VZV に対する抗体レスポンスを、補体結合反応 (CFT) と蛍光抗体法 (FAT) によって測定したものである。その結果、水痘と帯状疱疹では、その抗体の性状に明らかに質的な違いを認めうる新しい知見がえられたので報告する。

実験材料および方法

1) ブドウ球菌の培養と吸収用菌液の調製法

Staphylococcus aureus Cowan 1 型株 (埼玉医大、新井義夫助教授より分与を受け当教室で継代保存) を Lind らの方法³⁾⁴⁾⁵⁾にしたがって培養し、菌液を調製した。培地は Glucose (0.1%), Polypepton (1.0%), Beef extract

(0.5%), Sodium Chloride (0.1%), Sodium Phosphate (0.2%) に Noble Special Agar (1.0%) を加えた固型培地を使った。37°C で18時間培養を行った菌に PBS (pH 7.2) を加えて菌苔をかき集め、3% ホルマリン加 PBS に再浮遊させて30分間放置後、PBS で3回洗い、PBS で50% 菌液 (v/v) を作成して吸収用菌液として実験に使用した。この菌液を保存する場合には0.02% Sodium Azide を加えた PBS に再浮遊させて4°C に保存した。

2) ブドウ球菌による被検血清の吸収処理方法

被検血清 0.1 ml と上記 50% 菌液 0.3 ml を混合して、37°C 10分間 incubation させた。反応終了後、ただちに 3000 rpm 20分の遠心分離を行って、えられた血清を4倍稀釈された、吸収処理血清として実験に使用した。

3) 対象患者血清

CFT によって VZV に対する抗体が陽性の水痘患者血清 40 例、帯状疱疹患者血清 54 例、汎発性帯状疱疹血清 19 例、総数 113 例の血清について上記 2) の実験方法によって、ブ菌を使って吸収処理を行った。それぞれ、未処理血清を対照として同時に実験に使用した。

4) 補体結合反応 (CFT)

ヒト胎児肺初代培養細胞 (HEL) を用いて、水痘由来 VZV の培養を行い、その cell lysate から CF 抗原を作成して、microtiter 法によって CF 抗体の測定を行った。術式の詳細についてはすでに報告⁶⁾しているので省略する。

5) 蛍光抗体法 (FAT)

蛍光抗体間接法 (IFAT) によって血清中の抗体の検索を行った。術式の詳細についてはす

でに報告⁷⁾しているのを省略する。

実験成績

1) ブドウ球菌によって吸収される血清中の免疫グロブリンについて

ブ菌の50%菌液を使用して血清の吸収を行い、吸収処理前後の血清中のIgG量をパルチゲンプレート (Behringwerke, AG) によって測った結果、血清中のIgGの約9/10は37°C 10分で非特異的にブ菌に吸着されることがわか

Table 1. IgG in human serum adsorbed with Staphylococcus various condition.

| Condition | Untreated serum | Adsorbed serum | | |
|-----------|-----------------|----------------|-----------|------------|
| | | 37°C—10 min. | 37°C—1 h. | 4°C—18 hs. |
| Case 1 | 1670* | 190 | 170 | 150 |
| Case 2 | 990 | 100 | 60 | 40 |
| Case 3 | 1250 | 110 | 60 | 40 |

* mg/dl.

った。(表1) 同一の実験条件でIgMは2/3 IgAは1/3がブ菌に吸着された。(表3参照)

2) ブドウ球菌吸収処理前後の水痘および帯状疱疹患者血清中のVZV抗体について

i) 水痘患者のCF抗体

図1および表2に示すごとく、水痘患者血清中のVZVに対するCF抗体は、検体(血清)40例中、15例(37.5%)がブ菌処理を行うことによって陰転化した。(図1の点線より下)。しかしながら25例はブ菌処理を行ってもCF抗体活性は残存する。

ii) 帯状疱疹患者のCF抗体

図1および表2に示すごとく、帯状疱疹患者のVZVに対するCF抗体は検体(血清)54例中50例(92.6%)がブ菌処理を行うことによって陰転化した。汎発性帯状疱疹患者の血清では19例中13例(69.0%)がブ菌処理によって陰転化した。

iii) ブ菌処理後に残存する抗体の性状について

VZVに対するCF抗体価は総じてブ菌処理によって低下はするが、未処理血清のCF抗体価とブ菌処理後のそのあいだには相関性はみられなかった。

(表2および3参照)また、水痘患者では一般にブ菌処理によ

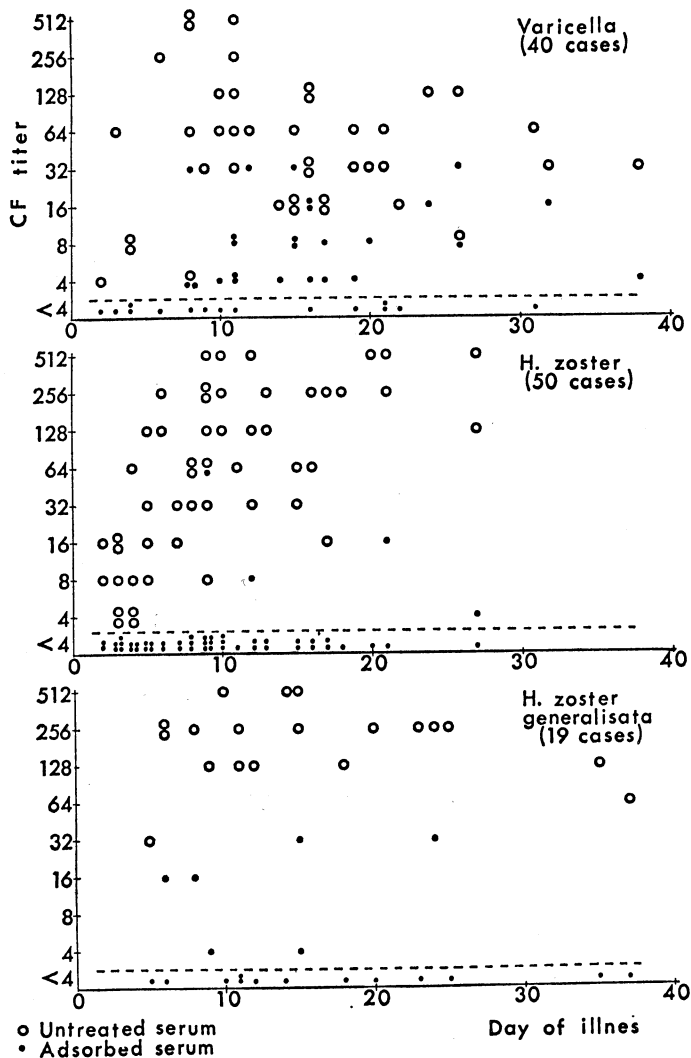


Fig. 1. Different response of serum antibody from varicella and herpes zoster patient on Stahylococcal adsorption.

Table 2. Different response of serum antibody from varicella and herpes zoster patient on Stahylococcal adsorption.

| Clinical diagnosis | No. of VZV antibody present serum | No. of VZV antibody absent serum after adsorption with SpA | Adsorption rate (%) |
|------------------------|-----------------------------------|--|---------------------|
| Varicella | 40 | 15 | 37.5 |
| H. zoster | 54 | 50 | 92.6 |
| H. zoster generalisata | 19 | 13 | 69.0 |

Table 3. Relationship between VZV antibody titres and immunoglobulin class before and after Staphylococcal adsorption.

| Serum No. Diagnosis | Untreated serum | | | | Adsorbed serum | | | | |
|------------------------|-----------------------|---|----------------|------------|-----------------------|---|----------------|------------|------------------|
| | Immunoglobulins mg/dl | | Antibody titer | | Immunoglobulins mg/dl | | Antibody titer | | |
| | | | CFT | IgM FAT | | | CFT | IgM FAT | |
| Varicella | 299 | G | 2050 | 64 | N. D. | G | 140 | 32 | × 20, 200 ± - |
| | | A | 416 | | | A | 260 | | |
| | | M | 134 | | | M | 43 | | |
| | 250 | G | 2210 | 128 | " | G | 140 | 4 | ± - |
| | | A | 260 | | | A | 160 | | |
| | | M | 127 | | | M | 36 | | |
| | 220 | G | 1480 | 256 | " | G | (40) | 8 | + + |
| | | A | 142 | | | A | 80 | | |
| | | M | 235 | | | M | 82 | | |
| | 233 | G | 1945 | ≥ 512 | " | G | 120 | 4 | + + |
| | | A | 338 | | | A | 224 | | |
| | | M | 213 | | | M | 92 | | |
| H. zoster generalisata | 235 | G | 2315 | 256 | " | G | 160 | 16 | - - |
| | | A | 224 | | | A | 132 | | |
| | | M | 245 | | | M | 92 | | |
| | 111 | G | 2540 | 512 | " | G | 200 | 6 | - - |
| | | A | 282 | | | A | 172 | | |
| | | M | 181 | | | M | 64 | | |
| | 251 Myeloma | G | >4000 | 256 | " | G | 615 | 32 | - - |
| | | A | 50 | | | A | 36 | | |
| | | M | 28 | | | M | <20 | | |
| H. zoster | 241 | G | 2370 | 512 | " | G | 225 | 16 | - - |
| | | A | 458 | | | A | 272 | | |
| | | M | 82 | | | M | <20 | | |

る抗体価の変動が少ない。ブ菌処理後に残存する抗体の性状を FAT によって検索した結果、水痘の場合 specific IgM 抗体陽性の血清が、

帯状疱疹に比較して明らかに多くみられた。(表 3) また採取血清の病日と、ブ菌による VZV 抗体の吸収のされかたのあいだには、関連性を

見出すことができなかつた。

考 察

VZV 感染症では実験動物を使つての感染モデル実験を行なうことが、不可能であることなどから、その免疫学的背景に関しては、不明な点が多い。私たちは、今回、ブドウ球菌 (*S. aureus* Cowan type 1) の細胞表面に存在する Protein A と IgG FC portion の結合性を利用して、血清中の IgG をブ菌によって非特異的に吸収すると、VZV 感染症の場合、水痘と帯状疱疹のあいだで、VZV に対する抗体レスポンスに何らかの差異を見いだすことができるかも知れないと考えた。私たちは、水痘および帯状疱疹患者の中から VZV に対する CF 抗体陽性血清をえらびだし、ブ菌を使つて、あらかじめ定めた実験条件で吸収処理を行い、VZV 抗体の活性を測定した。その結果、水痘と帯状疱疹患者血清では、ブ菌処理後の抗体レスポンスに明らかな差異を認めることができた。最近、Skaug らは単純ヘルペスウイルス (HSV) 感染症の血清についてブ菌処理を行ない CFT と FAT を行なうことによって新しい感染 (Recent infection) と古い感染 (Earlier infection) を簡単に区別することができたと報告⁹⁾している。また、水痘では FAT, PHA, NT, などで VZV に対する IgM 抗体が証明されるが、帯状疱疹では IgM 抗体が証明されないという報告¹¹⁾²⁹⁾がある。私たちもすでに、水痘ならびに汎発性帯状疱疹では Specific IgM 抗体が証明されたが、帯状疱疹の症例では Specific IgM 抗体を証明することができなかつたことを報告⁷⁾している。しかしながら Ross らは帯状疱疹 40 例中 20 例の回復期血清に IgM 抗体を証明して VZV 感染症において Specific IgM 抗体が存在するのは初感染に限らないと報告¹⁰⁾している。私たちの今回の実験成績では、ブ菌処理前後の血清中の IgG, IgM, IgA, の量と VZV に対する CF 抗体価のあいだには相関性は見られない。ブ菌処理によって生じた、この水痘と帯状疱疹のあいだの CF 抗体レスポンスの差異

は、両疾患のウイルス抗原に対する特異的な抗体が質的に違つたところがあることを意味するものであろう。しかしながら、何故に、水痘患者血清の CF 抗体活性はブ菌によって吸収されにくいのに、帯状疱疹のそれは殆んどのが吸収されてしまうのか、さらに水痘患者の血清のみに限定してみた場合においても、ブ菌への吸着のおこり方に差異が認められる点などについては、今回の私たちの実験では説明ができない。水痘では IFAT を行なうとブ菌処理後 CF 抗体価に関係なく FAT により Specific IgM が効率よく検出できる。しかしながら帯状疱疹および汎発性帯状疱疹の場合には CF 抗体が陽性であっても Specific IgM 抗体は証明されにくい。FAT を行なう場合血清のブ菌処理を行なうことによって Specific IgM 抗体が検出されやすくなるのは、IgG によるブロックが除外されるためであろう。ブ菌を使った血清の処理は簡単に行なえる実験である。したがって多数の症例について Specific IgM 抗体の検出を目的とした実験を行なうときの手段としては、すぐれた方法である。しかしながら今回、私たちが行なつた実験条件では、血清中の IgG のブ菌への吸着と同時に IgM の吸着もおこっていることがわかつたので、今後この点についての検討も行なわなければならない。汎発性帯状疱疹患者のブ菌処理血清の CFT および FAT での抗体の動態は、水痘と帯状疱疹の中間型のパターンを呈することがわかつた。この報告はブ菌を使つて VZV 抗体の解析を試みた初めての実験である。

ま と め

水痘 54 例、帯状疱疹 40 例、汎発性帯状疱疹 19 例 (総数 113 例) の患者血清について、*S. aureus* Cowan 1 型菌を使用して、吸収処理を行ない、VZV に対する抗体レスポンスの性状について考察した。水痘と帯状疱疹では、ブ菌処理後の VZV に対する CF 抗体活性に明らかに差異を認めることができた。血清のブ菌処理を行なうことによって、水痘の場合、帯状疱疹に比較し

て Specific IgM 抗体が、よく証明された。汎発性帯状疱疹患者の CF および FA の抗体レスポンスは水痘と帯状疱疹との中間型のパターンを呈した。本報告は、同一のウイルス感染によっておこる水痘と帯状疱疹のあいだの抗体レスポンスに、質的な遅いがあることを、ブ菌の生

物学的活性を利用することによって見いだした最初の報告である。

本論文の要旨は、第28回日本細菌学会中国四国支部総会（1975年10月16日、広島市）において発表した。本研究は、川崎医大、昭和50年度プロジェクト研究費によって行った。

文 献

- 1) Leonard, L. L., Schmidt, N. J. and Lennette, E. H.: Demonstration of viral antibody in two immunoglobulin G subclasses in patients with varicella-zoster virus infection. *J. Immunol.*, 104: 23—27, 1970.
- 2) 茂田士郎, 大田瑛子, 三浦 裕, 飯島 進: 水痘および帯状疱疹の抗体レスポンス; ウィルス, 24: 78—80, 1974.
- 3) Lind, I. and Mansa, B.: Further investigation of specific and non-specific adsorption of serum globulins to *Staphylococcus aureus*. *Acta path. microbiol. scandinav.*, 73: 637—645, 1968.
- 4) Lind, I.: Protein A production in different strains of *Staphylococcus aureus* under varied growth conditions. *Acta path. microbiol. scand. Sect. B*, 82: 821—828, 1974.
- 5) Lind, I. and Mansa, B.: Production of anti-IgG antibodies by means of IgG adsorbed to *Staphylococcus aureus* cowan type 1, *Acta path. microbiol. scand. Sect. B*, 82: 829—834, 1974.
- 6) 小野義三, 高橋千恵, 三好 薫, 他: Varicella-Zoster Virus の補体結合反応による血清疫学的研究. 日感染会誌, 49: 18—25, 1975.
- 7) 三好 薫, 土屋敏子, 野原 望, 小野義三, 高橋千恵: 帯状疱疹. 水痘における Varicella-Zoster Virus の流血抗体について, 川崎医学会誌, 1: 39—47, 1975.
- 8) Skaug, K. and Tjøtta, E.: Diagnosis of herpes simplex infection. *Acta path. microbiol. scand. Section B*, 82: 323—328, 1974.
- 9) Furukawa, T. and Plotkin, S. A.: Indirect hemagglutination test for varicella-zoster infection. *Infect. and Immunit.*, 5: 835—839, 1972.
- 10) Ross, C. A. and McDaid, R.: Specific IgM antibody in serum of patients with herpes zoster infections. *Brit. Med. J.*, 4: 522—523, 1972.