

マルホ皮膚科セミナー

2015年2月26日放送

「第38回日本小児皮膚科学会③」

シンポジウム4 最近話題のウイルス性疾患

新しいウイルス感染症の検査と診断

福岡大学 皮膚科
教授 今福 信一

はじめに

ウイルス感染が関与すると考えられている皮膚病変は極めて多彩です。これらの特徴を大別すると、ひとつは典型的な麻疹や風疹などのように発疹症を呈するタイプで、発熱、咽頭痛、リンパ節腫脹など全身性の急性感染の初感染像としてみられるものがあります。これは免疫のない体に初めてウイルスが入ってきて、そのウイルスが起こす細胞障害とそれに対する生体の反応性を見ていると言えます。一方、ヘルペス、手足口病、伝染性軟属腫などはウイルス感染そのものが皮膚病変の主体を成します。ウイルスが感染して細胞を変成させる細胞変性効果(cytopathic effect, CPE)を観察していると言えます。この分け方はウイルス感染の検査法を考える上で重要となります。検査に入る前に、両者の最も大きな違いは前者は全身症状を伴い、皮疹が左右対称であること、後者は一般に左右非対称な像を取ることで

表1
ウイルス感染症の皮膚症状と検出方法

病態	感染症	主な検出方法
初感染像が皮膚病変の中心である場合	麻疹**、風疹、伝染性紅斑、突発性発疹、伝染性単核球症、ジアンソッティ病・症候群、	血清ウイルス抗体価
ウイルスのCPE*が皮膚病変である場合	ヘルペス、水痘、帯状疱疹、手足口病、尋常性疣贅、伝染性軟属腫	ウイルス抗原検査 ウイルスゲノム検査 塗抹・病理組織検査

*CPE, cytopathic effect. ウイルス感染による細胞変性効果

**麻疹は皮膚病変にウイルス粒子が存在することが証明されているが、rashの形態を取り、生検や抗原検査には適さない

ウイルス感染を証明する

一般的にウイルス感染症を証明する場合、1) 血清抗体価を測定する方法と、2) ウイルス粒子の証拠を捕らえる方法があります。1) は全身性の急性感染症に有用で、2) は病変部に直接ウイルスが証明できるものに有用です。

血液検査は手技的に簡単ですが、血清抗体価にはいろいろな検査方法があるので、ウイルス感染の病態と検査の原理をよく理解してオーダーし、解釈する必要があります。

大原則として初感染の場合、IgM 抗体価の上昇で診断できます。また補体結合反応(CF)、IgG では 2 週間を空けたペア血清をとり 4 倍以上の上昇がみられれば初感染があったと考えられます。

補体結合反応 (CF)

患者血清と標的抗原が免疫複合体を作るとそれに補体が結合して消費されるために、本来起きるはずの赤血球の溶血反応が起きなくなる現象を利用します。IgM, IgG の両者を反映し、感染症の病勢を反映しやすいこと、感染後 1 年程度経つと陰性化することが最大の特徴で、感度・特異度は高くありませんが診断的価値が高いと言えます。通常の既感染では陰性になりますが、HSV, CMV においては常に陽性となるので注意が必要です。結果は倍数希釈で表され、ペア血清で 4 倍以上の上昇がみられれば感染を考えます。

血球凝集素抑制反応 (HI)

血球凝集素抑制反応 (HI) は麻疹など血球凝集素 (ヘムアグルチニン) を持つウイルスで有用で、患者血清を添加してその凝集を抑制する効果をみることで抗体価を推測します。早期に陽転化し、生涯持続するので既感染の診断に有用です。

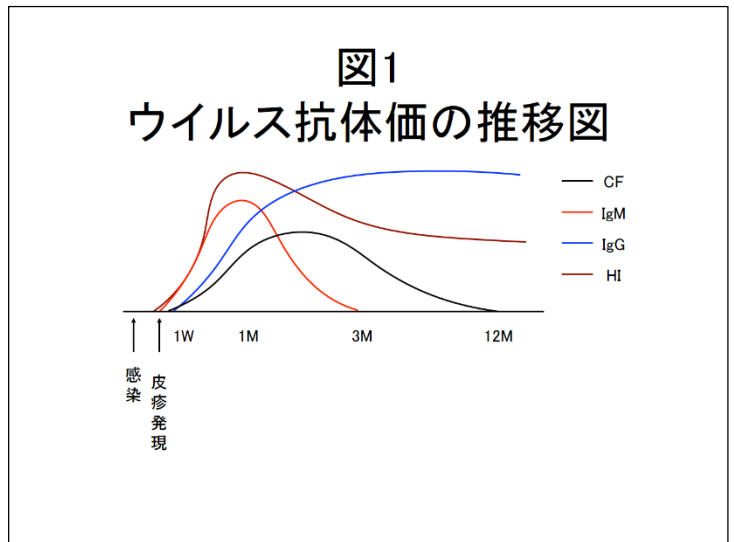


表2
ウイルス抗体価の測定法

種類	感度	特異度	時期	特徴	単回で陽性なら	ペア血清
CF	低い	低い	やや遅れる	約1年で陰性化感染期に測定	1年以内の感染	4倍以上上昇で感染を考える
HI	高い	高い	早期	HAを持つもののみ可。持続するので既感染の診断に有利	初感染または既感染	4倍以上上昇で感染を考える
NT	高い	高い	早期	型特異性が高い	初感染または既感染	4倍以上上昇で感染を考える
EIA	高い	高い	IgMは早期、IgGはやや遅れる	クラス別	IgMが陽性なら初感染、IgM陰性、IgG陽性なら既感染	上昇で感染を疑うが明確な基準なし

CF, 補体結合反応; HI, 赤血球凝集抑制反応; NT, 中和反応; FA, 蛍光抗体法; EIA, 酵素抗体法

中和反応 (Neutralization test, NT)

中和反応 (Neutralization test, NT) はウイルス粒子と特異的に結合して感染能力を失活させる抗体で、通常別のウイルス型とは反応しないため、ウイルスの型別判定に用いることが出来ます。コクサッキーウイルスのように血清型が非常に多いウイルスでも、CF法で測定すると複数の種類の抗体価が上昇する場合がありますが、NT法では正確に感染したウイルスの抗体価の上昇のみがみられます。但し、HSV-1 と 2 は交叉反応がみられるため、正確な診断は出来ません。検査会社のリストには載っていますが、注意が必要です。HSV-2 のNTが陽性だからといってHSV-2 に必ず感染しているとは言えないわけです。

EIA (Enzyme linked immune assay)法

EIA (Enzyme linked immune assay)法はウイルス抗原をプレート上に固定し、患者血清と結合させ、洗浄した後に抗原と結合して残った抗体を定量的に検出する方法です。EIA法では色素の吸光度を直接判定するので、倍数希釈の結果とは異なり何倍という表現ではなく数字が出てきます。EIA法は感度、特異度ともに高く信頼性がありますが、ペア血清の際にどの程度の上昇を有意と捕らえるか難しい場合があります。また、EIA法のIgM抗体には少し注意が必要です。IgMは初感染の診断価値が高いものですが、非特異反応も多く、低値陽性の場合には注意が必要です。検査はいつも100%正確ではありませんから、他の検査と相容れない結果の場合はまずはIgM抗体価を疑ってみることも必要な場合があります。

ウイルス粒子の証拠を証明する方法

ウイルス粒子は光学顕微鏡で直接観察することができないので①ウイルスの抗原を抗体で検出する方法、②ウイルスのゲノム (DNA, RNA) を証明する方法、③ウイルスが感染した細胞の形態学的変化を細胞診や病理組織像で捕らえる、の主に3つの方法があります。①の抗原検出はウイルス抗原に対する特異的なモノクローナル抗体を用いて行います。検体が塗抹 (スミア) 標本、病理組織の場合は標識したモノクローナル抗体を用いた免疫染色法で、体液 (咽頭ぬぐい液、唾液、涙液など) が検体の場合は免疫クロマトグラフィー法を用いて検出することがあります。免疫クロマトグラフィー法はインフルエンザウイルスの迅速キットなどで用いられています。

②のウイルスゲノムの検出は polymerase chain reaction 法をはじめとした遺伝子増幅技

表3
単純ヘルペスウイルスの検出方法

	所要時間	HSVの型別判定	保険適用
Tzanckテスト	15分	×	あり (細胞診)
塗抹標本 抗原検査	2~4日	◎	あり 上皮細胞中ウイルス 抗原精密測定
PCR法	3~5日	×	なし
ウイルス培養	数週間	○	なし
クロマトグラフィー	すぐ	×	あり(角膜ヘルペス のみ)
病理組織検査	3~5週	×	あり(皮膚生検)

術の普及に伴い非常に感度の高い検査が可能になってきました。しかし一般的には保険適用がなされていません。③の病理組織検査においてはまず典型的な病理像を学習しておくことが必要で、皮膚病理学の知識が不可欠です。ウイルス感染症の特徴的な病理像は典型的な臨床像から得られる場合が多く、従って通常は生検されない場合が多いということになります。生検は診断に迷う場面で行われる場合が多く、このような場合には臨床像が典型で無い、病変が遷延化しているなどの場合が多く、そのような「個性」がある症例が特徴的な所見があるかどうかは慎重に判断する必要があります。そしてウイルス感染症の多くは急性で病理像も短時間で変化するので、病態の経時変化をよく考察して、どの時期に生検したかの情報も含めた判断が必要になります。

HSV, VZV 感染症の検査

単純ヘルペス、水痘、帯状疱疹はいずれもごくありふれた疾患で、典型例では診断は難しくありませんが、診断に迷った時に迅速検査に決め手を欠きます。いずれも内因性の再帰感染ですが、HSV の CF 抗体価が常に陽性であるのに対して、VZV では一般には帯状疱疹発症早期は CF 抗体価が陰性でその後陽転化してきます。血清学的な診断は難しいので、いずれの疾患とも水疱底の塗抹標本、スメアからウイルスを検出する方法がもっとも確実になります。また HSV に関しては核膜ヘルペス、性器ヘルペスについては免疫クロマトグラフィー法による迅速診断キットが保険承認されましたので、これを利用するのも一つの方法でしょう。

HSV/VZV抗原検査



- ・ ウイルス糖タンパクに対するモノクローナル抗体
- ・ 感染で必ず発現する
- ・ HSVの確実な型別が可能
- ・ HSVとVZVとの鑑別が可能
- ・ 実施料 240, 検査判断料 144
(上皮細胞中ウイルス抗原精密測定)

HSVの迅速検査(核膜ヘルペス用)



チェックメイトヘルペスアイ 操作方法

■ 検体採取 / 試料調製

① 付属のスポーン棒にて
患部の再発部を患部
採取する
② 採取した患部を患部
採取容器の上段
に挿入してください

注意 手袋の使用や指内感染の
防止に努めてください。

① 検体のスポーン棒を
採取容器に挿入する
② 検体のスポーン棒を
採取容器に挿入する
③ 検体のスポーン棒を
採取容器に挿入する

④ 検体のスポーン棒を
採取容器に挿入する

⑤ 検体のスポーン棒を
採取容器に挿入する

■ 試料調下 / 判読

① 検体採取後の白色のキャップを外し
ます。
② 検体のスポーン棒を患部に挿入し
ます。
③ 検体のスポーン棒を患部
の下段に挿入し検体を採取
します。

注意 反応シートは使用前に開封して
ください。

注意事項

① 自身のキャップを他の検体、異検体
のスポーン棒に使用しないでください。
② 判定は鏡上から観察してください。
③ 判定結果は検査結果のラインが
出ない場合は検査不成立です。別
の反応シートで再検してください。

④ 判定は鏡上から観察してください。
⑤ 判定結果は検査結果のラインが
出ない場合は検査不成立です。別
の反応シートで再検してください。

⑥ 判定は鏡上から観察してください。
⑦ 判定結果は検査結果のラインが
出ない場合は検査不成立です。別
の反応シートで再検してください。

⑧ 判定は鏡上から観察してください。
⑨ 判定結果は検査結果のラインが
出ない場合は検査不成立です。別
の反応シートで再検してください。

⑩ 判定は鏡上から観察してください。
⑪ 判定結果は検査結果のラインが
出ない場合は検査不成立です。別
の反応シートで再検してください。

⑫ 判定は鏡上から観察してください。
⑬ 判定結果は検査結果のラインが
出ない場合は検査不成立です。別
の反応シートで再検してください。

⑭ 判定は鏡上から観察してください。
⑮ 判定結果は検査結果のラインが
出ない場合は検査不成立です。別
の反応シートで再検してください。

⑯ 判定は鏡上から観察してください。
⑰ 判定結果は検査結果のラインが
出ない場合は検査不成立です。別
の反応シートで再検してください。

⑱ 判定は鏡上から観察してください。
⑲ 判定結果は検査結果のラインが
出ない場合は検査不成立です。別
の反応シートで再検してください。

⑳ 判定は鏡上から観察してください。
㉑ 判定結果は検査結果のラインが
出ない場合は検査不成立です。別
の反応シートで再検してください。

⑳ 判定は鏡上から観察してください。
㉒ 判定結果は検査結果のラインが
出ない場合は検査不成立です。別
の反応シートで再検してください。

㉓ 判定は鏡上から観察してください。
㉔ 判定結果は検査結果のラインが
出ない場合は検査不成立です。別
の反応シートで再検してください。

㉕ 判定は鏡上から観察してください。
㉖ 判定結果は検査結果のラインが
出ない場合は検査不成立です。別
の反応シートで再検してください。

㉗ 判定は鏡上から観察してください。
㉘ 判定結果は検査結果のラインが
出ない場合は検査不成立です。別
の反応シートで再検してください。

㉙ 判定は鏡上から観察してください。
㉚ 判定結果は検査結果のラインが
出ない場合は検査不成立です。別
の反応シートで再検してください。

㉛ 判定は鏡上から観察してください。
㉜ 判定結果は検査結果のラインが
出ない場合は検査不成立です。別
の反応シートで再検してください。

㉝ 判定は鏡上から観察してください。
㉞ 判定結果は検査結果のラインが
出ない場合は検査不成立です。別
の反応シートで再検してください。

㉟ 判定は鏡上から観察してください。
㊱ 判定結果は検査結果のラインが
出ない場合は検査不成立です。別
の反応シートで再検してください。

㊲ 判定は鏡上から観察してください。
㊳ 判定結果は検査結果のラインが
出ない場合は検査不成立です。別
の反応シートで再検してください。

㊴ 判定は鏡上から観察してください。
㊵ 判定結果は検査結果のラインが
出ない場合は検査不成立です。別
の反応シートで再検してください。

㊶ 判定は鏡上から観察してください。
㊷ 判定結果は検査結果のラインが
出ない場合は検査不成立です。別
の反応シートで再検してください。

㊸ 判定は鏡上から観察してください。
㊹ 判定結果は検査結果のラインが
出ない場合は検査不成立です。別
の反応シートで再検してください。

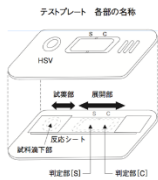
㊺ 判定は鏡上から観察してください。
㊻ 判定結果は検査結果のラインが
出ない場合は検査不成立です。別
の反応シートで再検してください。

㊼ 判定は鏡上から観察してください。
㊽ 判定結果は検査結果のラインが
出ない場合は検査不成立です。別
の反応シートで再検してください。

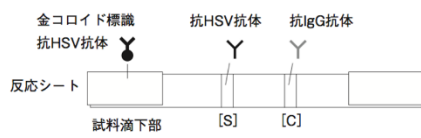
㊾ 判定は鏡上から観察してください。
㊿ 判定結果は検査結果のラインが
出ない場合は検査不成立です。別
の反応シートで再検してください。

㊿ 判定は鏡上から観察してください。
判定結果は検査結果のラインが
出ない場合は検査不成立です。別
の反応シートで再検してください。

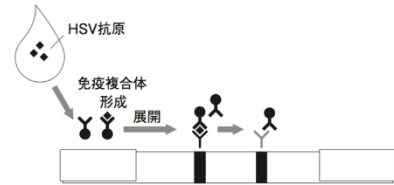
免疫クロマトグラフィー法



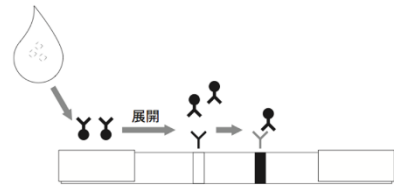
単純ヘルペスウイルス検出原理



1. 検体中にHSV抗原を含む場合



2. 検体中にHSV抗原を含まない場合



以上、ウイルスの検査について総論的に話し致しました。ウイルスの特性をよく理解して適切な検査、結果の解釈を行って下さい。