

眼内組織におけるヘルペス群ウイルス DNA の検出

薄井紀夫

東京医科大学眼科学教室

要 約

ヘルペス群ウイルスにより引き起こされる眼内炎の発症機序を解明する一つのアプローチとして、herpes simplex virus (HSV), varicella-zoster virus (VZV), Epstein-Barr virus (EBV), human cytomegalovirus (HCMV), human herpesvirus-6 (HHV-6) の各ウイルス DNA の眼内各組織における存在の有無あるいは存在部位を polymerase chain reaction (PCR) を用いて検索した。その結果、対象とした15眼中、3眼の網膜色素上皮から HSV DNA を、2眼の網膜色素上皮および1眼の網膜から VZV DNA を、2眼の虹彩・毛様体、4

眼の網膜、2眼の網膜色素上皮および1眼の脈絡膜から EBV DNA を、1眼の網膜および脈絡膜から HCMV DNA を検出した。以上の結果は、ヘルペス群のウイルスが網膜ならびに網膜色素上皮を中心とした眼内組織に親和性を有している可能性を示すものである。(日眼会誌 98: 443-448, 1994)

キーワード：ヘルペス群ウイルス，眼内組織，Polymerase chain reaction

Detection of Herpesvirus DNA in Intraocular Tissues

Norio Usui

Department of Ophthalmology, Tokyo Medical College

Abstract

To elucidate the pathogenic mechanism of endophthalmitis due to viruses of the herpes family, one approach is to utilize the polymerase chain reaction (PCR) method for detection of the viral DNA. Using PCR, we examined 15 human eyes for the presence and distribution of DNA of the herpes simplex virus (HSV), varicellazoster virus (VZV), Epstein-Barr virus (EBV), human cytomegalovirus (HCMV), and human herpesvirus-6 (HHV-6). HSV DNA was found in the retinal pigment epithelium (RPE) of 3 eyes, VZV DNA was found in the RPE of

2 eyes and the retina of 1 eye, EBV DNA was found in the iris and ciliary body of 2 eyes, the retina of 4 eyes, the RPE of 2 eyes, and the choroid of 1 eye, and HCMV DNA was found in the retina and choroid of 1 eye. These results indicate the possibility that herpes family viruses have an affinity for intraocular tissues, particularly the retina and the RPE. (J Jpn Ophthalmol Soc 98: 443-448, 1994)

Key words: Herpes family viruses, Intraocular tissues, Polymerase chain reaction

I 緒 言

角膜移植に際しての安全性の検討という研究に基づいて、これまでに角膜移植提供眼球における感染因子 (human immunodeficiency virus: HIV, B型肝炎ウイルス) の検索が行われてきた¹⁾。今回は検索ウイルスの対象を拡大して、ヘルペス群のウイルスについて検討を行った。ヘルペス群ウイルスは眼内炎を引き起こす最も頻度の高いウイルスである。単純ヘルペスウイルス

(herpes simplex virus: HSV), 水痘帯状疱疹ウイルス (varicellazoster virus: VZV) による前部ぶどう膜炎や急性網膜壊死、免疫抑制状態の宿主に発症をみる human cytomegalovirus (HCMV) による網膜炎、さらに、近年 Epstein-Barr virus (EBV) によるぶどう膜炎についても注目されはじめている。本研究では、ヘルペス群の各ウイルスが眼内組織において存在する可能性があるのか、またあるとすれば、いずれのウイルスがどの組織に親和性を有するのかについて検討するために、

別刷請求先：160 東京都新宿区西新宿6-7-1 東京医科大学眼科学教室 薄井 紀夫

(平成5年10月25日受付，平成6年1月14日改訂受理)

Reprint requests to: Norio Usui, M.D. Department of Ophthalmology, Tokyo Medical College, 6-7-1 Nishishinjuku, Shinjuku-ku, Tokyo 160, Japan

(Received October 25, 1993 and accepted in revised form January 14, 1994)

polymerase chain reaction (PCR) を用いて眼内各組織におけるヘルペス群ウイルスの DNA の検索を行った。すでに角膜ヘルペスの発症機序解明を目的として、角膜内における HSV の潜在状態についての研究は積極的に行われている。しかし、角膜以外の眼内組織についてヘルペス群ウイルスの存在を検索した報告は少ない。すなわち今回の研究は、角膜移植提供眼の安全性の検討を目的とすると同時に、ウイルス性眼内炎の発症機序解明を目的としたものである。

II 実験方法

1. 対象

角膜移植に提供された、眼内炎の既往のない眼球 20 眼を対象とした。眼球は、保存液とともに -20°C に凍結保存されていたものである。感染因子の検索を行うことにより角膜移植用提供眼の安全性を検討することを目的とした本研究は、角膜移植眼の提供を受けた東京大学医学部の研究倫理審査委員会の承認を受けている。

2. 組織の分離

まず、角膜輪部から約 7 mm 後極側の部位において赤道面と平行に割を入れ、虹彩・毛様体部を分離した。続いて硝子体を除去し、網膜（感覚網膜）を剝離後、スポットで 10% 非働化牛胎児血清 (FCS, GIBCO 社) を加えた RPMI 1640 培地 (GIBCO 社) を用いてピペッティング操作を行うことにより網膜色素上皮細胞を回収、さらに脈絡膜を強膜から剝離した。

3. DNA の抽出

分離した各組織の約 2/3 からフェノール・クロロホルム法で DNA を抽出し、残りの 1/3 は、10% FCS 加 RPMI 1640 培地に浮遊後、ウイルス分離用に -80°C に凍結保存した。

4. Polymerase chain reaction (PCR)

各組織から抽出した DNA の $1\mu\text{g}$ 相当を PCR の検体として用いた。各検体に PCR 用溶液を加え、最終濃度として 50mM KCl, 10mM Tris-HCl (pH 8.3), 1.5mM MgCl_2 , 0.1% gelatin, 200 μM の各 deoxyribonucleotide (dATP, dGTP, dCTP, dTTP) (TAKARA),

0.2 μM の各プライマーとなるように調整後、最後に 2.5 単位の Taq polymerase (GIBCO 社) を加え計 100 μl とし、DNA Thermal Cycler (Cetus 社) で増幅を行った。

1) Internal control

Internal control として、各検体に対してミトコンドリア D-ループ (displacement-loop) 領域を標的とするプライマー (プライマー 1 : 16093~16110, プライマー 2 : 16416~16399)²⁾ を用いて PCR を行った。330 塩基対 (base pair : bp) の陽性バンドが得られれば、PCR に用いる検体に DNA が確かに存在すること、ならびに PCR における酵素反応を阻害する因子の混入がなかったことを概ね確認できる。

2) プライマー

各ウイルス DNA を検出する目的で使用したプライマーの塩基配列を表 1 に示す。HSV は、DNA ポリメラーゼをコードする HSV 1 型, 2 型の双方に完全に一致する 330 bp を³⁾、VZV は、EcoRI D 断片上の Pst I 制限酵素切断点変異部位を含む 642 bp を⁴⁾、EBV は、EBV DNA の BamHI W に相当する IR I (Internal repeat I) 領域中の 125 bp を⁵⁾、HCMV は、HindIII E 断片中の Immediate Early (IE) 領域の 1 つのイントロンをはさむ 2 つのエクソン (IE 2 と IE 3) 上の 346 bp を⁶⁾、human herpesvirus-6 (HHV-6) は、Major nucleocapsid protein 領域の 492 bp を⁷⁾ それぞれ標的とするプライマーを使用した。

3) 陽性対照と陰性対照

陽性対照として、HSV は HF 株、VZV は YS 株、EBV はパーキットリンパ腫細胞株である Namalwa 細胞、HCMV は AD 169 株、HHV-6 は橋本株から個々に抽出した DNA を使用した (P)。また陰性対照として、DNA 抽出時の汚染を検定する目的として、眼内各組織から DNA を抽出する際に同時に同様の操作で抽出した EBV 陰性のパーキットリンパ腫細胞株である Ramos 細胞の DNA (N_1) と、増幅反応時における汚染を検定する目的で滅菌水 (N_2) を使用した。

4) 増幅反応およびアガロースゲル電気泳動

増幅反応の温度条件および反応時間に関しては、熱変

表 1 プライマーおよびプローブの標的領域と塩基配列

ウイルス	標的領域	プライマー	プローブ
HSV	DNA polymerase gene	5'-CAGTACGGCCCCGAGTTCGTGACCGGG-3' 5'-GGCGTAGTAGGCGGGGATGTGTCGCG-3'	5'-ATGGTGAACATCGACATGTACGG-3'
VZV	Eco RI D fragment	5'-TTCAGCCAACGTGCCAATAAA-3' 5'-GACGCGCTTAACGGAAGTAAC-3'	642 bp amplified segment
EBV	Bam HI W fragment	5'-CGGTGCGCCAGTCCCTACCAG-3' 5'-CCTGGAGAGGTCAGGTTACT-3'	5'-AAGCGGTTACCTTCAGGGG-3'
HCMV	Immediate early region	5'-CAAGAGAAAGATGGACCCTGAT-3' 5'-CAGGACATCTTCTCGGGGTTTC-3'	5'-GGTTCCTGCAGACTATGTTG-3'
HHV-6	Major nucleocapsid protein region	5'-CCTTGTGTAGGTGGTCAATGCGAC-3' 5'-ACAGCGCAGCAACATGTTTCAGAGC-3'	5'-GAGATGTACTGGGAG AGTATGTTGGTGAGT-3'

性-94°C/1分, プライマーのアニーリング-67°C (HSV), 55°C (Internal control, VZV, EBV, HCMV), 62°C (HHV-6)/2分, DNA の合成-72°C/2分とした。Internal control に関しては 35 サイクルの, 各ウイルス DNA の検出に関しては 40 サイクルの増幅を行ったのち, PCR 後産物の 10 μ l を 2.5% NuSieve GTG アガロース-1% SeaKem LE アガロース (TAKARA) を用いて電気泳動を行った。

5. Southern blot hybridization

電気泳動後のアガロースゲルを Denature 液 (1.5 M NaCl, 0.5 N NaOH) に 30 分浸した後, バキュームトランスファー装置 (BC-600 型: パイオクラフト社) を用いて PCR 後産物をナイロンメンブレンに転写した。続いて紫外線照射によりメンブレン上に DNA を固定後, ハイブリダイゼーション溶液 (6 \times SSC, 0.5% SDS, 5 \times Denhardt's 溶液) に 100 μ g/ml サケ精子 DNA を加え, 42°C 2 時間のプレハイブリダイゼーションを行った。今回ハイブリダイゼーションに用いたプローブとして, VZV のみ陽性対照の PCR 後産物 25 ng を Random Primer DNA ラベリングキット (TAKARA) により α -³²P で標識し, 他の HSV, EBV, HCMV, HHV-6 に関しては, 標的領域に特異的な合成 DNA プローブ (表 1) 10 pmol の 5' 末端に MEGALABEL (TAKARA) を用いて γ -³²P を標識した。標識プローブを用いて 42°C で 8 時間のハイブリダイゼーションを行った後, メンブレンを洗浄し, 6~12 時間のオートラジオグラフィを行った。

6. ウイルスの分離培養

10% FCS 加 RPMI 1640 培地に浮遊した状態で凍結保存してあった組織を解凍後, その一部はドライアイス/アセトンで再度急速に凍結した後に融解し, 上清を感受性細胞に接種し分離培養を試みた。また, 残りの一部の組織は細かく切離した後に感受性細胞とともに培養 (共生培養) を行った。感受性細胞には, 臍帯血リンパ球およびヒト胎児肺線維芽細胞を使用し, 臍帯血リンパ球においてはトランスフォーメーションをもって⁸⁾, ヒト胎児肺線維芽細胞については細胞変性効果 (CPE) をもってウイルス分離の指標とした。

III 結 果

1. ヘルペス群ウイルス DNA の検出 (図 1)

抽出した DNA が Internal control および各ウイルスの系の PCR を行うのに不十分な量であった場合, あるいは Internal control としての PCR の結果が陰性であった場合は, その眼球は今回の検討から除外した。今回用いた 20 眼球のうち, 最終的に 15 眼球を対象に各ウイルスの系の PCR を施行した。眼球提供者の死亡年齢および主な死因について表 2 に示す。

1) HSV

No. 7, No. 9 および No. 15 の網膜色素上皮から HSV DNA が検出された。

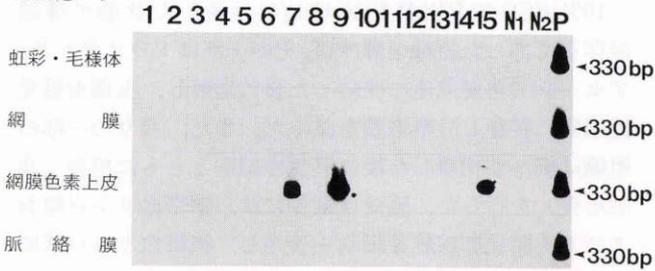
2) VZV

No. 9 の網膜ならびに網膜色素上皮および, No. 11 の網膜色素上皮から VZV DNA が検出された。

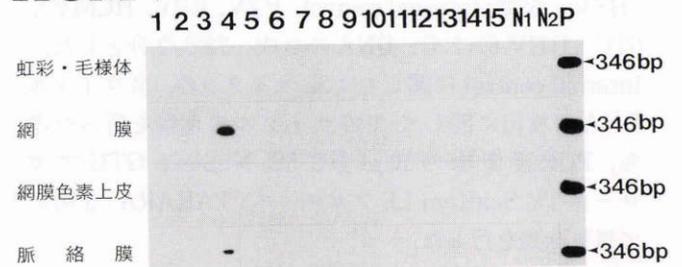
表 2 ヘルペス群ウイルス DNA の検出結果

No.	年齢	性別	死 因	虹彩・毛様体	網 膜	網膜色素上皮	脈絡膜
1	50	女	心不全		EBV		
2	55	男	心不全				
3	60	男	膵臓癌				
4	61	男	胃 癌		HCMV		HCMV
5	63	男	慢性骨髄性白血病				
6	68	男	心不全				
7	78	男	心不全	EBV	EBV	HSV EBV	EBV
8	80	女	心筋梗塞		EBV		
9	80	男	結腸癌		VZV	HSV VZV EBV	
10	83	女	脳梗塞		EBV		
11	84	男	心不全			VZV	
12	87	女	老 衰				
13	89	女	老 衰	EBV			
14	89	男	肺 炎				
15	89	女	老 衰			HSV	

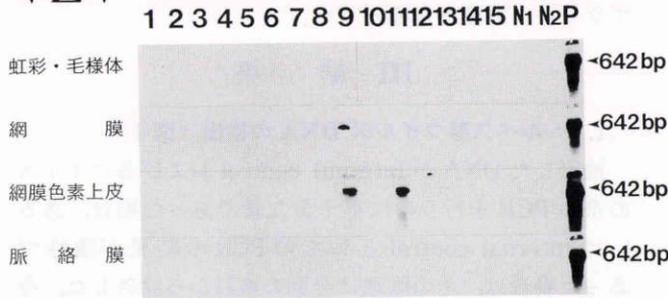
HSV



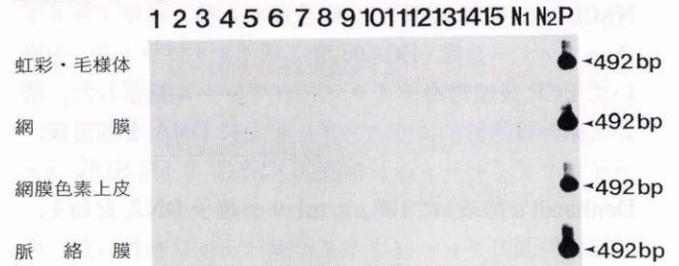
HCMV



VZV



HHV-6



EBV

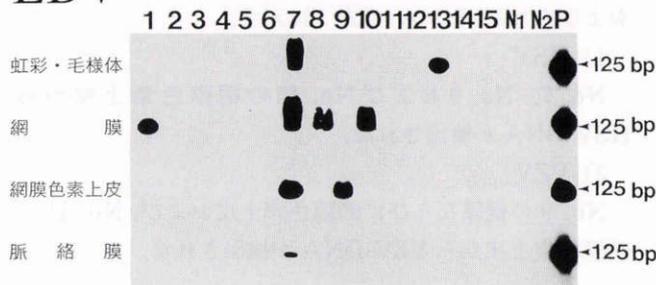


図1 PCR施行後の Southern blot hybridization.

N₁: 陰性対照…Ramos 細胞から抽出した DNA, N₂: 陰性対照…滅菌水, P: 陽性対照…HSV: HF 株から抽出した DNA, VZV: YS 株から抽出した DNA, EBV: Namalwa 細胞から抽出した DNA, HCMV: AD 169 株から抽出した DNA, HHV-6: 橋本株から抽出した DNA

3) EBV

No. 1, No. 8 および No. 10 の網膜, No. 7 のすべての組織, No. 9 の網膜色素上皮, No. 13 の虹彩・毛様体から EBV DNA が検出された。

4) HCMV

No. 4 の網膜および脈絡膜から HCMV DNA が検出された。

5) HHV-6

今回の検索では、いずれの組織からも HHV-6 DNA は検出されなかった。

以上の陽性結果を、各眼球別に表 2 にまとめた。15 眼中 9 眼において、いずれかのウイルス DNA が検出された。なかには No. 7, No. 9 にみられるように 1 眼中に複数のウイルス DNA が認められたものもあり、特に No. 9 の網膜色素上皮では、HSV, VZV, EBV と 3 種のウイルス DNA が陽性となった。

2. ウイルスの分離培養

今回、PCR で陽性結果の得られた組織についてウイルス分離培養を試みたが、いずれの組織からもウイルスは分離されなかった。

IV 考 按

ヘルペス群ウイルスのきわだった生物学的特性は、潜在感染能を有することと、再活性化により再発を起こすことである⁹⁾。過去における様々な検証により、HSV および VZV は神経節細胞に^{10)~13)}、EBV は主に B リンパ球に⁸⁾、HHV-6 はマクロファージを中心とした末梢血単核球に¹⁴⁾、それぞれ潜在感染していることが知られている。一方、HCMV については、リンパ球、腎臓、生殖器、唾液腺、前立腺などが候補に挙げられているものの、潜在感染時にいずれの細胞にウイルスが存在するかについては未だ明確にされていない⁹⁾。本研究は、眼内組織にへ

ルペス群のウイルスが潜在感染している可能性について検討を行ったものである。結果として、HSV DNA は3眼の網膜色素上皮から検出された。今までにも、例えば実験的にマウスの網膜視細胞内や角膜に HSV の潜在感染が成立したという報告や¹⁵⁾¹⁶⁾、ヒトの角膜において HSV の潜在感染を認めたとする報告など¹⁷⁾、神経節のみならず眼組織においても HSV が潜在感染する可能性が示されている。また、動物への接種実験により、網膜あるいは網膜色素上皮と HSV との親和性も認められている¹⁸⁾¹⁹⁾。さらに臨床報告としても、ヘルペス脳炎と網膜炎の同時発症例における網膜色素上皮や AIDS 患者の網膜全層にそれぞれ HSV を証明したとする報告がある²⁰⁾²¹⁾。今回、網膜色素上皮において HSV DNA が検出されたことは、過去のそれらの報告と矛盾しない結果であった。VZV に関して、2眼の網膜色素上皮に DNA が検出された。このうち1眼(No. 9)は、網膜にも弱い陽性所見を認めたが、VZV DNA の主な存在部位も HSV 同様に網膜色素上皮と考えられた。EBV DNA は、多数の組織から検出された。なかでも HSV や VZV と同様に網膜色素上皮を中心に陽性所見が得られたが、EBV のみ虹彩・毛様体においても DNA が検出された。この結果は、既に報告した、EBV のレセプターでもある C3d レセプター、すなわち Complement receptor type 2 (CR 2: CD 21) が毛様体の一部ならびに網膜色素上皮周辺に発現しているという結果²²⁾と合致している。また、今回1眼の網膜に HCMV DNA の存在が示されたことは、HCMV による眼内炎の主たる病像は壊死性網膜炎であり、病変の主座は網膜にあるとする従来の説²³⁾を支持するものであった。以上のように、今回の各ウイルス DNA の検出部位は、飽くまでも肉眼的に分離した組織とはいえ、既に判明している眼内炎の病変部位やレセプターの発現部位と概ね一致していた。同一症例における血液を用いた対照実験を行っていない以上飽くまでも推測ではあるが、今回の PCR の結果において血液成分の豊富な脈絡膜や虹彩・毛様体よりも網膜および網膜色素上皮においてウイルス DNA が多数検出されたことは、血液からのウイルス DNA の混入によるものではないことを示すと考えられた。

では、今回の結果を眼内におけるヘルペス群ウイルスの潜在感染の根拠といえるのであろうか。そもそも潜在感染とは、ウイルス遺伝子は細胞内に存在するが、感染性ウイルス粒子は、再活性化の時期を除いて作られないような感染様式と定義される⁹⁾。その定義によれば、PCR によりウイルス DNA が陽性となり、かつウイルス分離培養が陰性であった今回の結果は HSV, VZV, EBV, HCMV の眼内組織における潜在感染の可能性を示すものではある。しかし、通常ヘルペス群ウイルスが潜在感染している場合、細胞中にはウイルスのすべての gene が存在するとされているが²⁴⁾、本研究では、ウイルスの全

gene が存在することを証明したわけではないばかりか、高感度な PCR により単にウイルス DNA の「かけら」を検出したに過ぎないことも否定はできない。また、潜在感染していれば、組織の homogenate でウイルスの分離培養が陰性でも、共生培養により分離培養が可能であるとされるが²⁵⁾、今回の検討では共生培養によってもウイルスは分離されず、したがって潜在ウイルスの存在を肯定できなかった。さらに今回の検討では、被験者の詳細な病状について調査ができず、そのため死亡前の免疫状態などが不明であり、果たして今回の結果が一般の健康人にもあてはまるものであるのかについても疑問である。例えば、HCMV DNA が検出された No. 4 の症例や、複数のウイルス DNA が検出された No. 9 の症例はともに悪性腫瘍が死因であり、全身の免疫状態の低下あるいは眼内における免疫能の低下が、陽性結果の要因となった可能性もある。潜在感染の有無が不明である以上、角膜移植における安全性についても結論は出せない。HIV や B 型肝炎ウイルスと異なり、ヘルペス群のウイルスは殆どの成人に潜在感染している。そのために PCR のような高感度な検出方法を用いた今回の検討でウイルス DNA が検出されたこと自体は病的な意味合いをもつことにならず、したがって移植に際しての危険性に直結する結果ではない。しかし、仮に眼内組織にヘルペスウイルスが潜在感染していることが証明されれば、何らかの要因によりこれらのウイルスが活性化する可能性は十分にあり、よって移植に際して当然ウイルス粒子が移行する可能性はあるといえる。今回対象としなかった角膜を含めて、潜在感染に対する十分な検討を要する。

以上述べたように、今回の結果を眼内組織におけるヘルペス群ウイルスの潜在感染の根拠とするには、種々の問題点や追試を要する。しかしながら、ヘルペス群の各ウイルスが眼内のいずれの組織に親和性を有しているかについては、興味ある結果が得られた。ヘルペス群ウイルスの潜在感染と再活性化のメカニズムについては、近年ようやく明らかにされつつある。ウイルス性眼内炎の発症機序解明を行うに際し、今後は、それらを踏まえながら、ウイルスの眼内での存在様式をさらに詳細に検討することが課題と考えられる。

本稿の要旨は第96回日本眼科学会総会(横浜)において薄井が報告した。

稿を終えるに臨み、懇切なる御指導をいただいた白井正彦教授に深く感謝します。また、数々の御助言をいただいた坂井潤一助教授、東京医科大学微生物学教室水野文雄教授、ルナール純子助教授、北海道大学医学部癌研究施設ウイルス部門大里外誉郎教授、今井章介講師、眼球の提供に協力して頂いた東京大学増田寛次郎教授、日本大学澤 充教授に衷心よりお礼を申し上げます。

文 献

- 1) 島 潤: アイバンク Update. 坪田一男, 他(編): 眼科学アップデート. 診断と治療社, 東京, 151-156, 1993.
- 2) 塚本 哲, 吉井富夫, 山田良広, 福井謙二, 石山昱夫: クローン化ミトコンドリアD-ループ遺伝子シーケンスによる分析困難な法医鑑定試料からの個人識別. 日本法医学雑誌 45: 233-241, 1991.
- 3) 木村 宏, 後藤雅彦, 葛島清隆, 花田直樹, 山田一恵, 柴田元博, 他: Polymerase chain reaction 法の新生児ヘルペス診断への応用. 医学のあゆみ 154: 731-732, 1990.
- 4) Inouye S, Hondo R: Microplate hybridization of amplified viral DNA segment. J Clin Microbiol 28: 1469-1472, 1990.
- 5) 薄井紀夫, 今井章介, 水野文雄, 大里外誉郎, 坂井潤一, 白井正彦, 他: PCR法を用いた原田病患者髄液よりのEBウイルスのDNAの検出. 眼臨 85: 882-887, 1991.
- 6) Nagata N, Yoshida K, Shimada M, Numazaki K, Chiba S, Fujinaga K: Detection of human cytomegalovirus immediate early gene-specific mRNA by reverse transcription polymerase chain reaction. 札幌医学雑誌 62: 193-201, 1993.
- 7) 近藤一博, 向井 徹, 山西弘一: ヒトヘルペスウイルス6 (HHV-6) のPCRによる検出と制限酵素DNA断片分子多型について. 感染症-遺伝子診断と分子疫学. 日本臨床 50: 176-182, 1992.
- 8) 今井章介: 健康人におけるEBウイルス不顕性感染のウイルス学的・免疫学的研究: 免疫抑制患者および伝染性単核症患者との比較検討. 北海道医学雑誌 65: 481-492, 1990.
- 9) 林皓三郎: ヘルペスウイルスの潜在と再活性化. 眼科 33: 1281-1292, 1991.
- 10) Bastian FO, Rabson AS, Yee CL, Tralka TS: Herpesvirus hominis: Isolation from human trigeminal ganglion. Science 178: 306-307, 1972.
- 11) Baringer JR, Swoveland P: Recovery of herpes-simplex virus from human trigeminal ganglions. N Engl J Med 288: 648-650, 1973.
- 12) Croen KD, Ostrove JM, Dragovic LJ, Straus SE: Patterns of gene expression and sites of latency in human nerve ganglia are different for varicellazoster and herpes simplex viruses. Proc Natl Acad Sci USA 85: 9773-9777, 1988.
- 13) Gilden DH, Vafai A, Shtram Y, Becker Y, Devlin M, Wellish M: Varicellazoster virus DNA in human sensory ganglia. Nature 306: 478-480, 1983.
- 14) Kondo K, Kondo T, Okuno T, Takahashi M, Yamanishi K: Latent human herpesvirus 6 infection of human monocytes/macrophages. J Gen Virol 72: 1401-1408, 1991.
- 15) Openshaw H: Latency of herpes simplex virus in ocular tissue of mice. Infect Immun 39: 960-962, 1983.
- 16) Cook SD, Batra SK, Brown SM: Recovery of herpes simplex virus from the corneas of experimentally infected rabbits. J Gen Virol 68: 2013-2017, 1987.
- 17) 下村嘉一, 森 康子, 井上幸次, 切通 彰, 大橋裕一, 真鍋禮三: 単純ヘルペスウイルスの角膜内潜伏感染について. 日眼会誌 94: 731-735, 1990.
- 18) 吉岡正樹, 大熊 紘, 宇山昌延, 谷村英紀, 大山昭夫: 単純ヘルペスウイルスによる実験的網膜炎. 第1報. 感染初期の変化. 日眼会誌 94: 367-376, 1990.
- 19) 吉岡正樹, 大熊 紘, 宇山昌延, 蝶良愛郎, 大山昭夫: 単純ヘルペスウイルスによる実験的網膜炎. 第2報. 感染初期の酵素抗体法による検索. 日眼会誌 94: 705-714, 1990.
- 20) Minckler DS, Mclean EB, Shaw CM, Hendrickson A: Herpesvirus hominis: Encephalitis and retinitis. Arch Ophthalmol 94: 89-95, 1976.
- 21) Pepose JS, Hilborne LH, Cancilla PA, Foos RY: Concurrent herpes simplex and cytomegalovirus retinitis and encephalitis in the acquired immune deficiency syndrome (AIDS). Ophthalmology 91: 1669-1677, 1984.
- 22) 薄井紀夫, 坂井潤一, 白井正彦, 今井章介, 大里外誉郎: 正常眼内組織におけるEpstein-Barr virus (EBV)レセプターの発現. あたらしい眼科 10: 435-440, 1993.
- 23) 坂井潤一: サイトメガロウイルス感染症. 眼科 33: 1385-1393, 1991.
- 24) Rock DL, Fraser NW: Detection of HSV-1 genome in central nervous system of latently infected mice. Nature 302: 523-525, 1983.
- 25) 下村嘉一: 角膜ヘルペスにおけるHSVの潜伏感染と再活性化. 眼紀 35: 1984-1988, 1984.