

酵素免疫測定法 (ELISA法) による 風疹特異血清抗体の測定

渡辺由香里 三木 康 小澤 茂
佐藤 譲 高塚 明*

風疹の血清学的診断は、現在主に予研法による赤血球凝集抑制試験 (HI 法) が行われている。われわれもこの方法で風疹の抗体価を測定してきたが、近年酵素免疫測定法 (ELISA 法または EIA 法) が簡便で鋭敏な方法としてクローズアップされてきている。とくに風疹の場合一番問題になるのは IgG 抗体と IgM 抗体を分けて測定することの重要性であり、従来の方法では血清の蔗糖密度勾配遠心法、あるいはプロテインAによるIgG吸収法が行われているが、前者は技術的煩雑さから、後者は吸収不十分による誤診の可能性の高いことから、いずれも実用化にはまだ問題が残されている¹⁾。この点ELISA法はIgG抗体とIgM抗体を簡便に分けて計ることができるので大きな利点があると考えられる。

われわれは今回アボット・ラボラトリーズ社製のEIAキットにより風疹のIgG抗体とIgM抗体を検出する機会を得たので、従来のHI法とその感度等を比較検討した。その結果、地方衛研や病院レベルで実用化できると思われる成績を得たので報告する。

材料および方法

1. 血 清

昭和57年度に風疹有料検査として依頼された12血清と、昭和56年3月の風疹集団発生時に小学校児童から採血した9ペア血清で、 -20°C に凍結保存されていたものを用いた。

2. 方 法

HI法は予研法²⁾に基づいて実施し、抗原は、武田薬品の診断用乾燥風疹HA抗原を使用した。

ELISA法は、アボット社のRUBAZYME・G法 (風疹IgG抗体測定用)、およびRUBAZYME・M法 (風疹IgM抗体測定用) キットを用いた。測定手順は、キットの使用書に従い、吸光度を専用分光光度計 (Quantum 1, 波長492nm) で2回測定して平均値を求めた。結果はこの平均値と低力価コントロールの吸光度に対する比を計算した指数 (RUBAZYME値) で判定した。RUBAZYME・IgG値は、指数1.000未満をRUBAZYME・IgM

値は指数0.910未満を陰性とした。

成績と考察

1. HI価とRUBAZYME・IgG値との相関

HI法で風疹抗体を測定した12検体について、各HI価とRUBAZYME・IgG値との関係を図1に示した。

萩原ら³⁾は、RUBAZYME・G法は再現性があり、HI法とよく相関するとしているが、われわれの実験結果も検体数が少なく相関係数は求められなかったが、良好な直線勾配を示した。HI価8倍は、抗体の有無を問われるところであるが、そのRUBAZYME・IgG値は、全て陰性であった。

HI価とRUBAZYME・IgG値の相関はほぼ満足する成績であると考えられる。

2. 集団発生時のHI価、RUBAZYME・IgG、IgM値の比較

風疹が集団発生した小学校の児童のペア血清について、HI価、RUBAZYME・IgG値およびIgM値を測定した成績を図2に示した。集団発生時に第1回目の採血 (急性期) を、13日後に第2回目の採血 (回復期) を行った。

急性期の血清についてみるとHI価は16倍から512倍の抗体価を示していたが、RUBAZYME・IgG値は、1.408以下の低値または陰性を示していた。RUBAZYME・IgM値はIgG値よりも優位で高い値を示しており、HI価、RUBAZYME・IgG、IgM値はそれぞれ極めてクラス特異的な抗体価を示していた。この結果はHI法ではIgGとIgM抗体を併せて測定していると考えられ、また、感染初期early IgGは、宮沢ら⁴⁾が述べているように完成されたものでないため、結合力が弱くRUBAZYME・G法では一旦抗原・抗体反応がおきても洗浄の操作で脱落するため測定値が低くなるのではないかと推測される。

急性期から回復期の抗体推移は、HI価、RUBAZYME・IgG値ともいちじるしい抗体上昇が認められるが、RUBAZYME・IgM値は、ほぼ横ばいであった。

* 山梨県立中央病院検査部

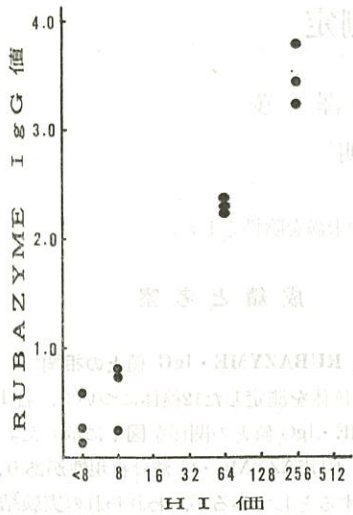


図1 風疹の HI 値と RUBAZYME·IgG 値との相関

回復期の血清の HI 値は1,024倍から、非常に高値である16,384倍とさまざまな値を示しており、IgG+IgM の値が考えられる。ELISA 法の RUBAZYME·IgG 値は、最高値が3.702、IgM 値は4.219で、この時の回復期血清ではクラス別免疫グロブリンは IgG<IgM であった。ま

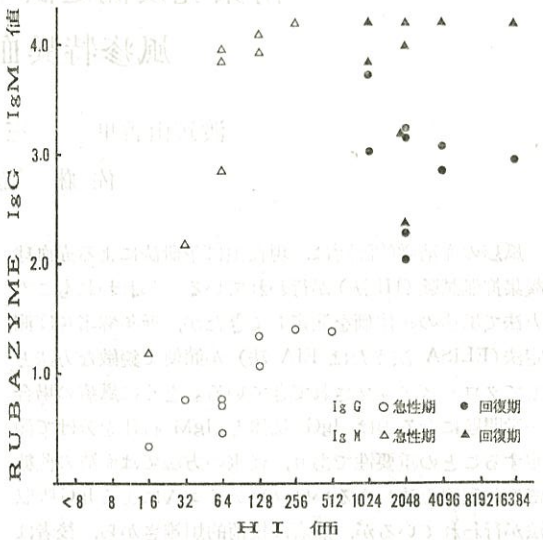


図2 風疹の集団発生時の HI 値、RUBAZYME·IgG、IgM 値

た、IgG、IgM 値とも変動幅が小さく、上限が定められているような値を示していた。これは抗原・抗体反応が、限られた表面積のビーズに付着した抗原と、単一希釈による抗体でおこっているの、血清中に抗体が多量に含まれていても抗原レセプターがなく、反応ができた。

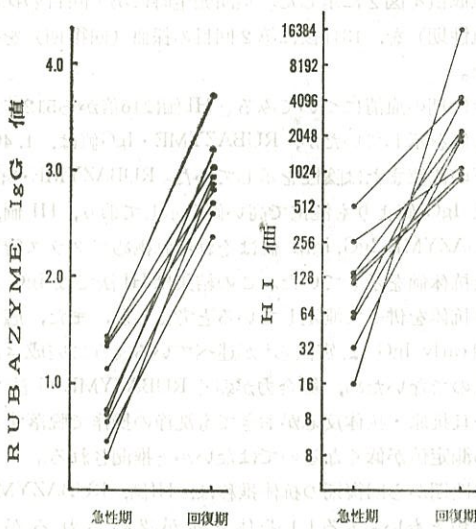


図3 急性期から回復期にかけての風疹の HI 値と RUBAZYME·IgG 値の推移

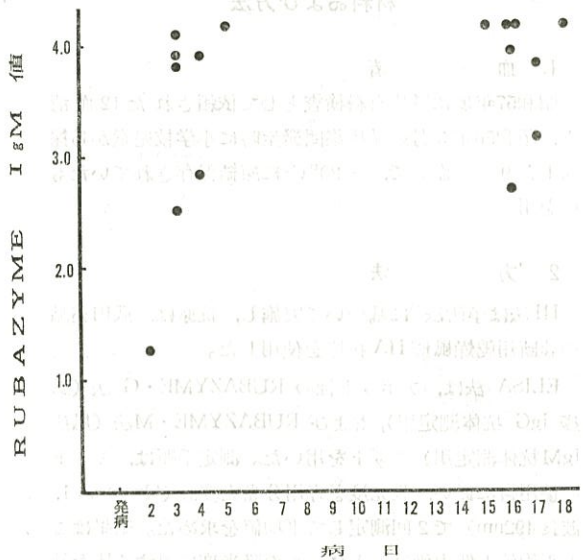


図4 風疹の発病日数と RUBAZYME·IgM 値

いためと考えられる。

図3に示したHI価とRUBAZYME・IgG値について、急性期と回復期の抗体出現状況を見るとほぼ同様な抗体推移を示していた。ペア血清においては血清学的診断はどちらの方法で検査しても可能であるが、急性期に注目すると、HI価は新たに獲得したIgM抗体を示しており、RUBAZYME・IgGは陰性かまたは低い値と、はっきりとした相違をみせていた。このことから感染早期に採血するならば、単一血清だけの検体採取でも感染の状況がある程度判定することができると思われる。

図4に病日とRUBAZYME・IgM値の抗体推移を示した。RUBAZYME・IgMは発病3日でほぼ最高に達して、17病日の血清までそのレベルが保たれていた。IgMは新鮮感染を考える場合、問題視されるところであるが、今回の成績から、急性期の血清について、RUBAZYME・G法と平行して実施することにより、有効的に感染経過を推定することができると思われる。

3. 考 察

HI価とRUBAZYME・IgG値は満足すべき相関を示すので、単一血清の過去における風疹の既応を確認する意味での抗体チェックについては、ELISA法を今後積極的に実用化すべきものとする。またHI価8倍がRUBAZYME・IgG値では陰性の値を示していたが、HI法のカオリン処理では血清中のインヒビターを除去しきれない⁵⁾で抗体偽陽性として現われるといわれており、この点から考えるとELISA法の値の方が正しいと評価されると思われる。

集団発生時の児童が抗体を産生する過程で、感染早期に、HI価とRUBAZYME・IgG値では特徴的な相違が認められた。HI価では感染2~4日で16~128倍の抗体価を示し、単一血清しか採取できない場合に最も判定に苦しむところであるが、この時期のRUBAZYME・IgG値は0.317~1.408と低い値を示しており、良い時期に検体を得られたときは、HI法とRUBAZYME・G法を併用す

れば新しい感染の存在を推定できると思われる。またRUBAZYME・M法も併せて検査すれば、さらに詳細な感染時期の推定も可能になると思われる。従ってスクリーニング的にこれらの検査を実施すれば短時間のうちに結果が求められ、もしもさらに決定的な判定を必要とする臨床材料などの場合には、このスクリーニングのあとで蔗糖密度勾配遠心法などにより精査をすることにすれば、精査を要する件数を大幅に減らすことが可能になると思われる。

ま と め

単一血清の抗体チェックと集団発生時のペア血清について、従来のHI法による風疹抗体測定とELISA法によるそれとを比較し、簡便さと、感度と、非特異反応除去の状態、および抗体のクラス特異性判定で、スクリーニング法としてHI法に代わるべきもの、あるいは少なくともHI法と併用すべきものとするのできる成績を得た。

今回は試料の関係でかぎられた検体数のみの検査結果をまとめてみたが、検体数を増やして再度検査をする予定である。またこの報告のアボット社のEIAキットはビーズ法であったが、一度に多数の検体を処理することができるプレート法である旭メディカル社のEIAキットとの比較検討、さらにプレートに抗原をコーティングして当衛公研独自の風疹抗体価検査法を確立することを計画している。

文 献

- 1) 吉川ひろみ：ウイルス 28, 87~102 (1978)
- 2) 国立予防衛生研究所：マイクロタイター法による風疹HI試験の術式指針 (1970)
- 3) 萩原 薫ら：臨床とウイルス 11, 53~59 (1983)
- 4) 宮沢 博ら：臨床病理 30, 269~272 (1982)
- 5) 国立予防衛生研究所学友会編：ウイルス実験学改訂二版, 218, 丸善 (1973)

察 考 と 果 語

論文の要約

風疹の診断に用いられる血清学的検査法として、従来のHI法とELISA法とを比較し、簡便さと感度と、非特異反応除去の状態、および抗体のクラス特異性判定で、スクリーニング法としてHI法に代わるべきもの、あるいは少なくともHI法と併用すべきものとするのできる成績を得た。今回は試料の関係でかぎられた検体数のみの検査結果をまとめてみたが、検体数を増やして再度検査をする予定である。またこの報告のアボット社のEIAキットはビーズ法であったが、一度に多数の検体を処理することができるプレート法である旭メディカル社のEIAキットとの比較検討、さらにプレートに抗原をコーティングして当衛公研独自の風疹抗体価検査法を確立することを計画している。

キーワード

風疹、抗体価、スクリーニング法、ELISA法、HI法

摘 文

- 1) 藤田 隆夫、山田 隆夫、山田 隆夫、山田 隆夫 (1981) 77-78
- 2) 山田 隆夫、山田 隆夫、山田 隆夫、山田 隆夫 (1978) 77-78
- 3) 山田 隆夫、山田 隆夫、山田 隆夫、山田 隆夫 (1981) 77-78
- 4) 山田 隆夫、山田 隆夫、山田 隆夫、山田 隆夫 (1981) 77-78