

### 各種B19ウイルス抗体測定キットの比較試験

松永泰子

要約：ヒトパルボウイルスB19（B19ウイルス）は、伝染性紅斑の原因ウイルスであり、妊婦が感染すると、時に胎児水腫や死・流産等の障害を起こすことが知られている。多様な症状を示すB19ウイルス感染についての検査法は、現在まだ認可されたものがない。厚生省の感染症サーベイランスによれば、近年我が国では、伝染性紅斑の大流行が5～6年の間隔で発生している。B19ウイルス感染の実験室診断に対する要望が高まっているが、抗原入手が困難なことから、一部の検査室や研究所で独自に試験的に検査を行なっているのが現状である。より良い検査試薬の一日も早い導入が望まれる。今回、MRL、IBL、Biotrin、デンカ生研の4社の抗体測定用キットを入手し、ウイルス粒子を抗原としている自家の方法と比較した。4社のキットはいずれも組換え抗原を用いている。MRL、IBL社が大腸菌発現構造タンパク（VP）を用い、Biotrin、デンカは昆虫細胞発現組換え粒子抗原である。結果は、(1) IgM抗体測定キットについては、Biotrin社の製品が極端に感度が低かったが、他の3社の製品はほぼ同程度の感度、特異性を示し、ウイルス粒子を抗原としている対照試験と比べて遜色がなかった。また、リウマチ因子の影響を受けて偽陽性となった検体はなかった。(2) IgG抗体測定キットについては、やはりBiotrinに吸光度のバラツキが多く認められた。IBL社のキットではIgG抗体が検出できない血清が数例あった。その血清は他のキットではいずれも陽性であったが、IBL社キットでもIgM抗体は陽性であり、感染後比較的早期の検体であった。以上のように、今回比較したキットは、Biotrin以外はいずれも特異性が高く、感度においても優れていた。体外診断薬として十分使用に耐えると考える。

見出し語： B19ウイルス、胎児水腫、伝染性紅斑、抗体測定キット

## [材料と方法]

比較試験を行なったキットは、MRL、IBL、Biotrin、デンカ生研の4社の製品または試作品で、いずれも組換え抗原を用いている。MRL、IBL社が大腸菌発現構造タンパク(VP)を固相化したマイクロプレートを用いた間接法ELISAである。Biotrin、デンカ社は昆虫細胞発現組換えウイルス様粒子抗原を用いてIgM抗体は抗体捕捉ELISAで、IgG抗体は間接法ELISAで行なっている。それぞれのキットの特性と、反応温度・時間の一覧を表1に示した。対照試験には筆者の行なっている方法；血漿由来のウイルス粒子抗原を用いた抗体捕捉ELISAと、単クローン抗体でウイルス粒子を捕捉したマイクロプレートによる間接法ELISAを行なった。

テスト血清は、リウマチ患者およびその対照者の血清各10、伝染性紅斑流行時組血清(1.5月間隔)18組、関節炎患者シリーズ血清(1月間隔)3組、感染初期シリーズ血清2組、自家対照血清3のうちの80~85検体を用いた。これらの血清は常時-30℃で保存しておき、使用時溶解し、添付の希釈液で希釈した。アッセイ方法はそれぞれのキットの指示に従った。

## [結果]

結果の要約を表2および表3に示した。IgM抗体測定キットについては(表2)、Biotrin社の製品が極端に感度が低かった。抗体捕捉用マイクロプレートと抗原-発色系を筆

者の方法と交換して交差試験を行なったところ、いずれもBiotrin社の試薬の感度が低かった。また、Biotrin社のキットでは、筆者の陽性対照血清が陰性の結果を示した。これはこのキットが輸送・保存上の安定性に難点があると同時に、抗原の組成にも問題があると考えられる。他の3社の製品は、ほぼ同程度の感度と特異性を示し、ウイルス粒子を抗原としている対照試験と比べて遜色がなかった。また、リウマチ因子の影響を受けて偽陽性となった検体はなかった。感度についてさらに詳細に検討するために、関節炎患者のシリーズ血清での成績を3社について比較した。図1に示すように、IBL社のキットは他社のキットに比べ、感染後やや短期間でIgM抗体が検出できなくなる傾向が認められた。

一方、IgG抗体測定の結果は(表3)、Biotrin社のキットもwell間に吸光度のバラツキが大きいものの、他社のキットに近いくかなりの感度と特異性を示した。IBL社のキットではIgG抗体が検出できない血清が数例あった。それらの血清は他社のキットではいずれも陽性であったが、IBL社キットでも抗原の組成の異なるIgM抗体検出では陽性となっており、感染後比較的早い時期の血清であった。これは、IBL社でIgG抗体測定用に用いている抗原(VP1主体)の特性と考えられる。

## [考察]

B19ウイルスは組織培養での増殖が困難であり、感受性のある実験動物もない。伝染

性紅斑患者の大部分は、症状が現われる時期には既に抗体が上昇しており、患者由来のウイルスを得るのは難しい。ウイルスやウイルス抗原の入手が限られているために、抗体測定も一般化されずにきた。近年、遺伝子組換え技術を用いてウイルスの構造タンパクを産生することが容易になった。B19ウイルスについても種々の組換え抗原が作られ、欧米では既に抗体測定用試薬として用いられている。抗原の安定供給の面からのみならず、実験室内感染の危険性を考慮すれば、感染性のあるウイルス粒子を抗原とするよりも、組換え抗原を用いる方がよい。しかし、組換え抗原に対する抗体応答は、ウイルス感染に対する生体防御機能としての抗体応答と同じではない。用いる抗原毎に生体によって異なった反応を示すことは、前年度の本研究班報告書にも述べた通りである。今回比較したキットは、Biotrin社製品以外はいずれも特異性が高く、感度においても優れていたが、抗原の組成により若干の違いが認められた。広範囲に抗体を検出し得る試薬を用いて検査を行い、特殊な症例には他の方法で確認するという方策が推奨される。

感染症サーベイランスによれば、伝染性紅斑の流行は、近年5～6年間隔に発生している。患者の多発年齢は5～9歳である。一方、全国的なレベルでの抗体保有率調査によれば、20～35歳の年齢群ではB19ウイルスに対して約20%が抗体を持っているにすぎない。小児に接する機会の多い母親、保母、教師、看護婦等は、流行時には感染の危険性が大き

ある。妊娠中にB19ウイルスに感染して胎児に障害のする確率は、我が国ではまだ調べられていない。英国での研究によれば、感染してIgM抗体陽性となった妊婦の約20%に胎児への影響が認められた。

また、伝染性紅斑の発疹は成人では風疹と区別しにくいことが多い。鑑別診断のためにも、B19ウイルス感染を確実に診断することが必要と考える。よりよい検査試薬の導入が待たれる。

#### [参考文献]

- (1) 厚生省保健医療局結核・感染症対策室；平成3年感染症サーベイランス事業年報 11. 伝染性紅斑。53-56、1993
- (2) Yamashita, K. et al.; A significant age shift of the human parvovirus B19 antibody prevalence among young adults in Japan observed in a decade. *Jpn J Med Sci Biol*, 45:49-58, 1992
- (3) PHLS Working Party on Fifth disease; Study of human parvovirus (B19) infection in pregnancy. *CDR* 20:3, 1987

表1 比較試験に用いたキットの特性

会社名 (国名)	I g M		I g G	
	抗原	方法	抗原	方法
MRL (アメリカ)	大腸菌発現 VP-(?)	間接法 E L I S A 希釈液に抗ヒト IgG  室温 (20-25℃) 10' -60' -30' -10' OD <sup>450</sup>	大腸菌発現 VP-(?)	間接法 E L I S A  室温 (20-25℃) 60' -30' -10' OD <sup>450</sup>
IBL (ドイツ)	大腸菌発現 VP-2	間接法 E L I S A 抗ヒト IgG 添加  37℃, 60' -37℃, 30' - 20-25℃, 10' OD <sup>450</sup>	大腸菌発現 VP-1+2	間接法 E L I S A  左に同じ
Biotrin (アイルランド)	昆虫細胞発現 VP-2 粒子 ビオチン標識	抗体捕捉 E L I S A 室温 60' -30' -30' -10' OD <sup>450</sup>	昆虫細胞発現 VP-2 粒子	間接法 E L I S A 室温 60' -30' -10' OD <sup>450</sup>
デンカ生研 (日本)	昆虫細胞発現 VP1+2 粒子	抗体捕捉 E L I S A 室温 60' -60' -60' -30' OD <sup>492/630</sup>	昆虫細胞発現 VP-1+2 粒子	間接法 E L I S A 室温 60' -60' -30' OD <sup>492/630</sup>
対照試験 (日本・予研)	血漿由来ウイ ルス粒子抗原 対照抗原	抗体捕捉 E L I S A 37℃60' -4℃ON-37℃60' -室温 30' dOD <sup>492</sup>	血漿由来ウイ ルス粒子抗原 対照抗原	抗体捕捉 ELISA 間接法 E L I S A 左に同じ、または 37℃ 60' -60' - 室温30' dOD <sup>492</sup>

表2 I g M 抗体測定結果

対照試験		MRL	I B L	Biotrin	デンカ
+	+	21	23	5	26
	±	3	0	4	2
	-	0	5	19	0
(28)		(24)	(28)	(28)	(28)
±	+	1	0	0	0
	±	0	0	0	0
	-	1	2	2	2
(2)					
-	+	1	1	0	0
	±	4	0	0	1
	-	49	53	54	53
(54)					
感 度		87.5%	82.1%	17.9%	92.9%
特異性		90.7	98.1	100	98.1
一致率		87.5	90.5	70.2	94.0

表3 I g G 抗体測定結果

対照試験		MRL	I B L	Biotrin	デンカ
+	+	55	47	52	59
	±	1	7	0	1
	-	4	7	8	1
(61)		(60)	(61)	(60)	(61)
±	+	2	1	5	1
	±	2	1	0	0
	-	1	3	0	4
(5)					
-	+	0	0	1	1
	±	0	0	0	1
	-	19	19	18	17
(19)					
感 度		90.2%	77.0%	85.2%	96.7%
特異性		100.0	100.0	94.7	89.5
一致率		90.5	78.8	71.4	89.4

図1 I g M抗体価の推移

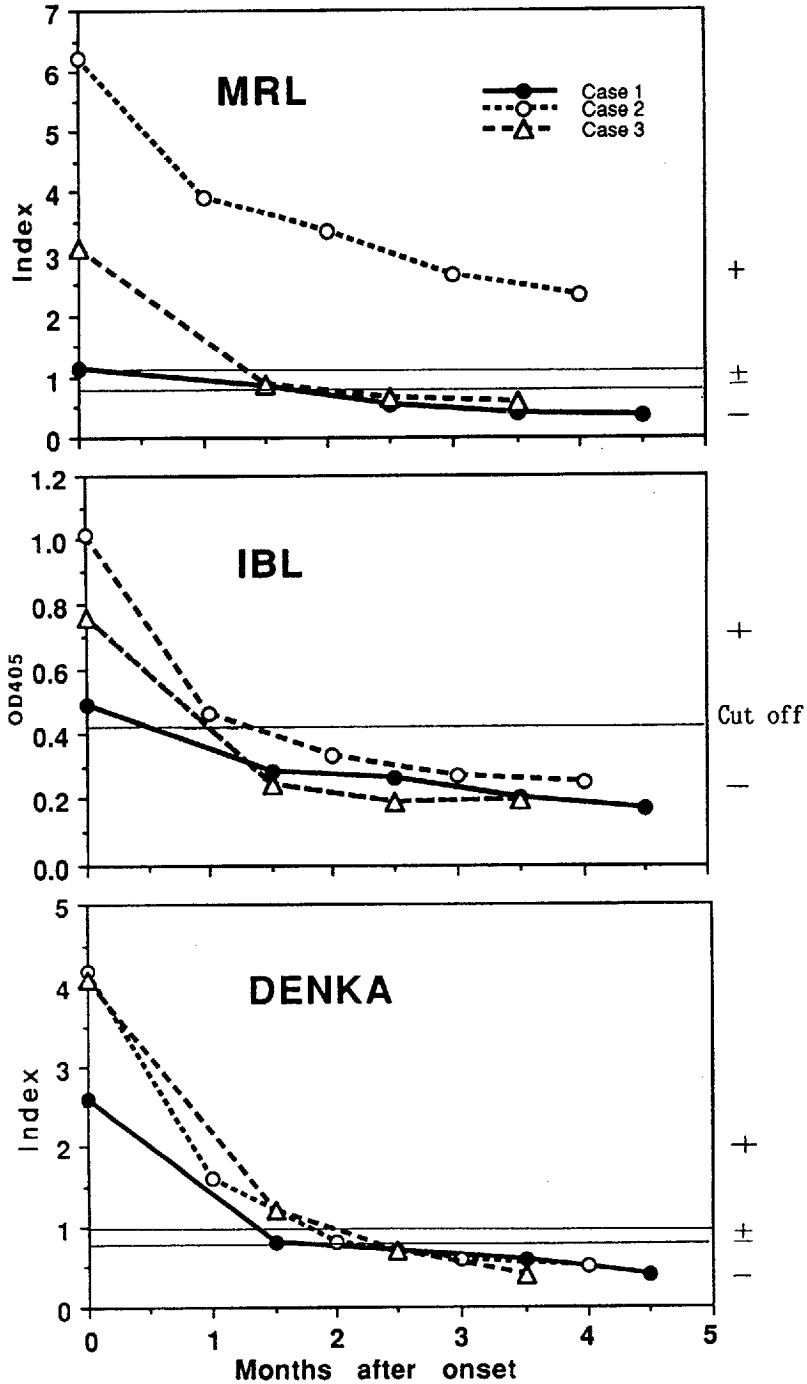
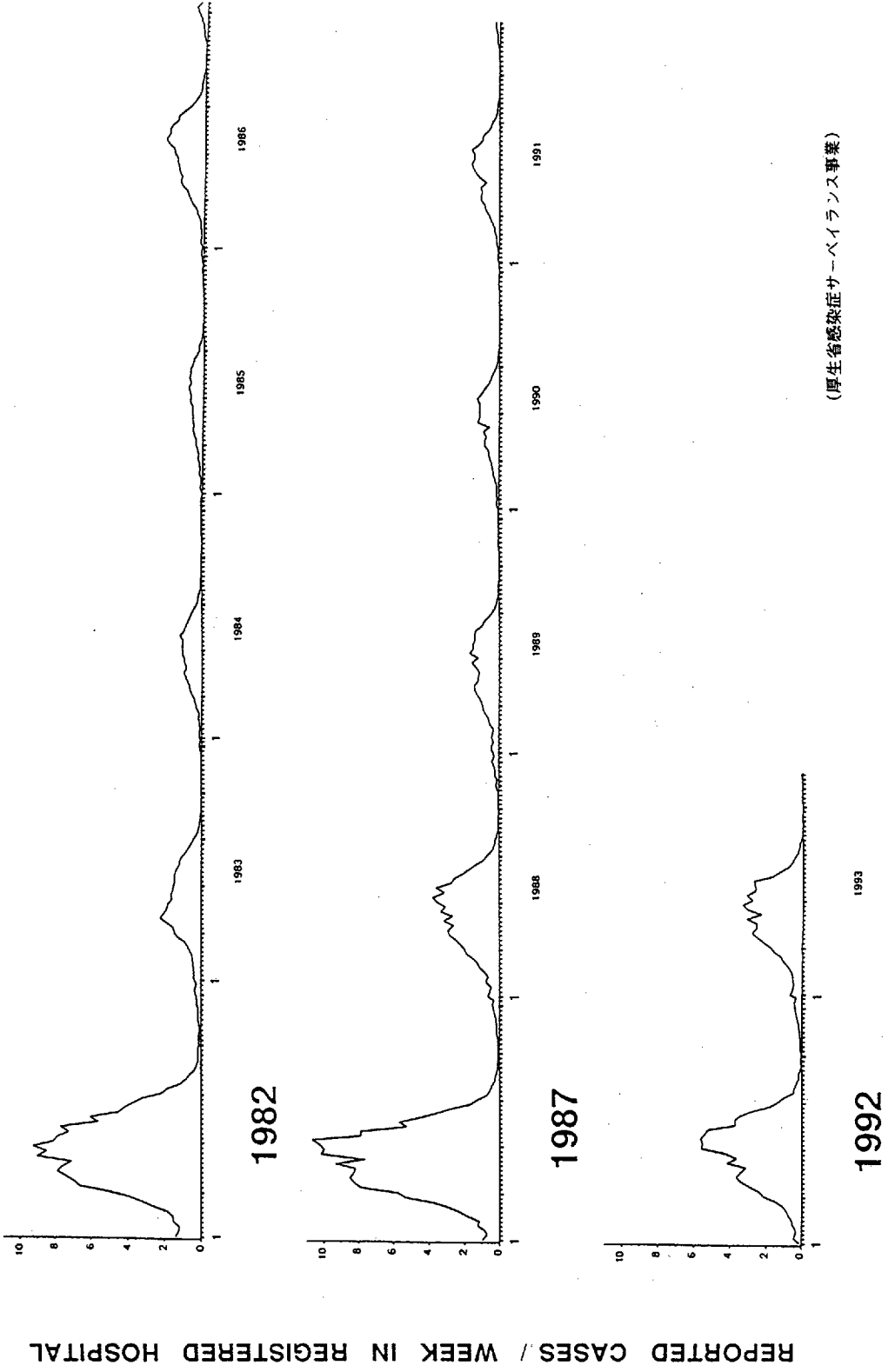


FIG.5. WEEKLY REPORTED NUMBER OF RUBELLA CASES



(厚生省感染症サーベイランス事業)



## 検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



要約:ヒトパルボウイルス B19(B19 ウイルス)は、伝染性紅斑の原因ウイルスであり、妊婦が感染すると、時に胎児水腫や死・流産等の障害を起こすことが知られている。多様な症状を示す B19 ウイルス感染についての検査法は、現在まだ認可されたものがない。厚生省の感染症サーベイランスによれば、近年我が国では、伝染性紅斑の大流行が 5~6 年の間隔で発生している。B19 ウイルス感染の実験室診断に対する要望が高まっているが、抗原入手が困難なことから、一部の検査室や研究所で独自に試験的に検査を行なっているのが現状である。より良い、検査試薬の一日も早い導入が望まれる。今回、MRL、IBL、Biotrin、デンカ生研の 4 社の抗体測定用キットを入手し、ウイルス粒子を抗原としている自家の方法と比較した。4 社のキットはいずれも組換え抗原を用いている。MRL、IBL 社が大腸菌発現構造タンパク(VP)を用い、Biotrin、デンカは昆虫細胞発現組換え粒子抗原である。結果は、(1)IgM 抗体測定キットについては、Biotrin 社の製品が極端に感度が低かったが、他の 3 社の製品はほぼ同程度の感度、特異性を示し、ウイルス粒子を抗原としている対照試験と比べて遜色がなかった。また、リウマチ因子の影響を受けて偽陽性となった検体はなかった。(2)IgG 抗体測定キットについては、やはり Biotrin に吸光度のバラツキが多く認められた。IBL 社のキットでは IgG 抗体が検出できない血清が数例あった。その血清は他のキットではいずれも陽性であったが、IBL 社キットでも IgM 抗体は陽性であり、感染後比較的早期の検体であった。以上のように、今回比較したキットは、Biotrin 以外はいずれも特異性が高く、感度においても優れていた。体外診断薬として十分使用に耐えると考えられる。