

抗HTLV-I抗体検査の評価

渡邊 徹[#]、千田大作^{##}
三科 潤[◎]、柳田昌彦[#]

抗HTLV-I抗体測定の一検査として施行されているPA法、EIA法は偽陽性の問題があり、2次検査として用いられているWB法でもbandの非特異反応の可能性がある。我々は妊婦の-20℃凍結保存血清を用いて、これらの問題を検討した。

被検血清と方法

被検血清は1988年1月より12月までの間に-20℃で凍結保存されていた妊婦血清延べ3579検体である。抗HTLV-I抗体の一検査は粒子凝集法としてセロディアATLA(富士レビオ:以下PA法)及びセロディアHTLV-I(富士レビオ:以下新PA法)を、酵素抗体法としてエイテスト(エーザイ:以下EIAMT法)及び遺伝子組換え型抗原を用いたEIA法(協和メデックス:以下EIARE

法)を施行した。

全検体に対し上記4種類の1次検査法を施行し、いずれかでも陽性または判定保留となった検体は2次検査としてIF法を施行した。

保存検体量が十分である場合は、TCLKAN細胞由来の抗原を用いたWB法(以下WBKAN法)とMT2細胞由来の抗原を用いたWB法(以下WBMT法)も施行した。

結果

1) 1次検査法陽性検体の内訳

同一妊婦の検体が重複するが、1次検査法により延べ3579検体中98検体の陽性または判定保留を得た。PA法では抗体価16~128倍が33検体、256倍以上が48検体併せて81検体が陽性であった。PA法抗体価256倍以上の48検体では他の1次検査法でも47

都立築地産院

: 産婦人科

◎ : 小児科

: 検査科

検体が陽性を示した。PA法抗体価16~128倍の33検体では新PA法で1検体、EIAMT法で2検体、EIARE法で3検体のみが陽性であった。またPA法16倍未満であるにもかかわらず、EIAMT法で5検体、EIARE法で6検体の陽性検体があった(表1)。

2) 1次検査法陽性検体のIF法による判定

各1次検査法で得られた98検体を対象にIF法を最終判定として各方法の感度、特異度等を検討した。

①PA法と新PA法

PA法と新PA法を抗体価別に検討すると、PA法256倍以上では48検体中47検体(98%)がIF法陽性、16~128倍では33検体中4検体(12%)がIF法陽性である。PA法陰性17検体のうちにはIF法陽性はない。

新PA法256倍以上の48検体は全てIF法陽性である。新PA法16~128倍の検体はわずかに5検体となり、そのうち3検体はIF法陽性である。PA法陰性17検体のうちにはIF法陽性はない。

(図1)。

②EIARE法とEIAMT法

EIARE法吸光度別、EIAMT法Cut Off Index(以下CI)別にIF法との関係を図示した(図2)。EIARE法で陽性とされた56検体中50検体(89.3%)がIF法陽性であった。吸光度0.5以上では47検体中45検体(95.7%)がIF法陽性であった。

EIAMT法で陽性とされた54検体中49

検体(90.7%)がIF法陽性であった。CI3以上の21検体に限ると全検体がIF法陽性であった。

③2次検査法の比較

PA法、EIAMT法がいずれかでも陽性または判定保留となった49検体を対象にWBKAN法、WBMT法を施行した。PA法、EIAMT法共に陽性である23検体は全て両WB法陽性である。しかしPA法、EIAMT法の解離した26検体ではWBKAN法陽性は5検体、WBMT法陽性は8検体と結果が必ずしも一致しない。またWBKAN法では判定保留が多く15検体(57.7%)を占めた(図3・4)。

同じ49検体をIF法で判定するとPA法、EIAMT法ともに陽性の23検体ではIF法も全て陽性である。しかしPA法、EIAMT法解離26検体ではIF法陽性は1検体(3.8%)のみであった(図5)。

④WB法判定保留検体の抗体分析

PA法、EIAMT法解離検体のうちWB法判定保留とされた16検体のWB法抗体分析をみると、P19のbandの関与する率が高い(表2)。特にWBKAN法では16検体中15検体と多い。またどちらかのWB法で陽性と判定されても1+以上の発色を示した陽性band数が少ない。

3) 妊娠時期と抗体陽性頻度

妊娠15週以前の延べ1596検体中PA法で検出されたキャリア症例数は24例、新PA法12例、EIARE法17例、EIAMT法12例であった。これに対し妊娠16週以後の

延べ1983検体中ではPA法28例、新PA法18例、EIARE法18例、EIAMT法21例であり、同じ検査法で判定すれば妊娠15週以前と16週以後とで陽性頻度に差を生じなかった。またPA法は他の1次検査よりも陽性率が高い(表3)

考察

①1次検査方法

各1次検査法の結果は必ずしも一致しないので、いずれかの方法に偽陽性か偽陰性があることになる。同一症例が重複するが、IF法を最終判定と仮定して、特異度、感受度を検討してみた。

PA法は256倍以上の検体でIF法と100%一致し偽陽性の可能性は殆ど無い。しかし16~128倍の検体では33検体中4検体(12.1%)しか一致せず、PA法低抗体価陽性検体は非特異反応の可能性が高い。PA法は1次検査の定性試薬なので一般には抗体価までは求めず、16倍凝集の有無を見て判定する。今回の検体ではPA法はIF法陽性検体のすべてに凝集をみたが、逆にPA法16倍以上凝集検体の37%がIF法陰性であり特異性が低かった。PA法陽性、IF法陰性を全て偽陰性と仮定して、全検体中の偽陽性占有率は0.84%であった。

新PA法でも256倍以上の検体ではIF法と100%一致し、偽陽性の可能性は殆ど無い。PA法に比べ16~128倍の検体はわずかに5検体となった。そのうち3検体がIF法陽性で、新PA法陰性検体中にIF法陽性は無いので、PA法低抗体価の偽陽性の問題を改善して

いる。新PA法もPA法同様定性試薬であり、16倍凝集の有無を見て判定する。今回の検体では新PA法はIF法陽性検体のすべてに凝集をみた。またIF法陰性検体の95.7%を陰性として判定した。全検体中の偽陽性占有率は0.06%であった。

EIARE法はHTLV-I感染細胞培養上清を用いないので、感染細胞成分による非特異反応を無くすことが期待できる。大腸菌成分による非特異反応が全く無いのか否かは今後の検討を要する。今回の検体ではIF法陰性検体の87.2%を陰性として判定した。全検体中の偽陽性占有率は0.17%であった。

EIAMT法のCI低値陽性検体ではIF法との不一致がありIF法陰性検体の87.8%を陰性として判定した。全検体中の偽陽性占有率は0.14%であった。

各1次検査方法ともIF法陽性検体をほぼ100%検出し偽陽性は極めて少ないと考えられたが、IF法陰性検体も検出してしまうので、2次検査の必要性が未だ残る。ただし最終判定をIF法ではなくWB法で行なうと偽陽性率、偽陰性率が変わってくる。

②2次検査方法

確認試験とされているWB法とIF法の結果が必ずしも一致せず、WB法陽性、IF法陰性検体が存在した。WB法陰性、IF法陽性はなかったのでIF法の感受度が低いか、またはWB法の特異度が低いことになる。これらの不一致検体は各1次検査の低値陽性検体に集中した。ただし低値陽性検体でも1次検査間で一致して陽性であれば2次試験の結果も一致した。

同じWB法の間でもWBKAN法とWBMT法で必ずしもbandの発色が一致せず、その結果、総合判定が異なる検体があった。WBKAN法では判定保留検体でP19のbandの出現率が高く、非特異の原因になりやすいとおもわれる。出現しうる非特異bandは基になる感染細胞によって異なるので判定にあたっては感染細胞に注意が必要である。WB法判定の標準化が望まれる。

③妊娠中の抗体価の変動

妊娠15週以前と16週以後で区切って各1次検査法の陽性率をみると、同じ方法の間では有意差が得られなかった。妊娠15週以前のPA法は他法に比べ陽性率が高いが、これは妊娠初期と後期に差があるのではなく、PA法の特異性の問題と思われる。

当院では妊娠5カ月に全例にパンフレットを配布し、希望者には第1回目の採血をしている。EIA法で1次検査を行い、妊娠7カ月頃結果説明をし、再検のための第2回採血をする。PA法で再検、WB法、IF法で特異性を確認している。2次検査は基になる抗原細胞の異なる複数の方法を採用している。妊娠9カ月で最終判定を説明し母乳遮断を勧めている。

表1 1988年1年間延3579検体中の1次検査法陽性検体の内訳

P A 法		<16倍	16~128倍	256倍≤	計
		17	33	48	98
新P A 法	256倍≤	0	1	47	48
	16~128倍	0	5	0	5
	<16倍	17	27	1	45
E I A (MT) 法	陽性	5	2	47	54
	保留	6	1	0	7
	陰性	6	30	1	37
E I A (RE) 法	陽性	6	3	47	56
	陰性	11	30	1	42

表2 WBKAN法、WBMT法、IF法 解離検体の抗体分析

例 数	W B K A N 法						W B M T 法											
	I g G						I g M											
	判 定	15	19	24	28	53 他	判 定	15	19	24	28	53 他						
I	保	-	+	+	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
II	保	-	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
III	保	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IV	保	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
V	保	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VI	保	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VII	保	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VIII	保	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IX	保	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
X	保	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XI	保	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XII	保	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XIII	保	-	+	±	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XIV	保	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XV	保	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XVI	+	-	+	±	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

表3 各抗体検査法で陽性とされた症例数と妊娠時期別頻度

	PA法	新PA法	EIARE法	EIAMT法	IF法
妊娠15週以前	24例	12例	17例	12例	12例
	1.5%	0.75%	1.07%	0.75%	0.75%
妊娠16週以後	28例	18例	18例	21例	18例
	1.41%	0.91%	0.91%	1.06%	0.91%

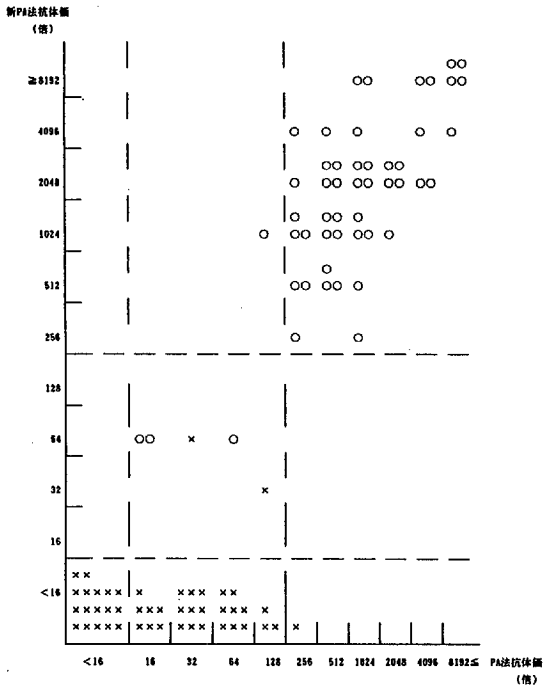


図1 PA法、新PA法抗体価とIF法の関係

○: IF法陽性 x: IF法陰性

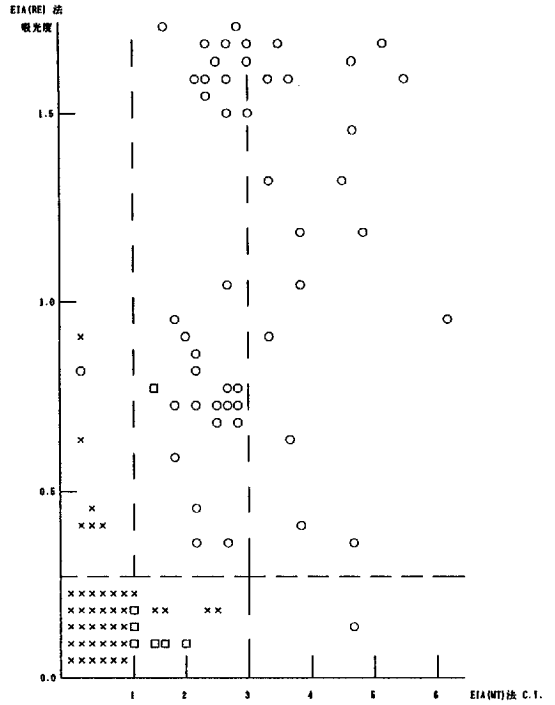


図2 EIA(RE)法吸光度、EIA(MT)法C.I.とIF法の関係

○: IF法陽性 x: IF法陰性 □: EIA(MT)法保留 □: IF法陽性・EIA(MT)法保留

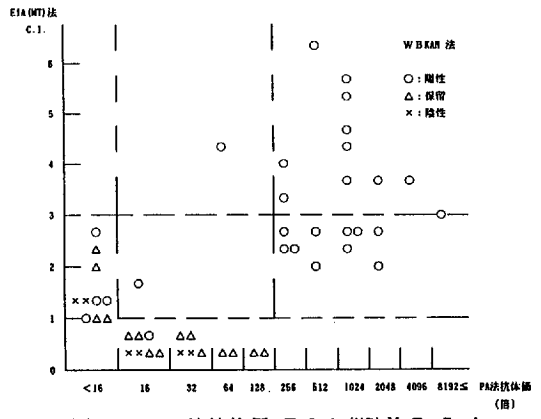


図3 PA法抗体価、EIA(MT)法C.I.とWBKAN法の関係

WBKAN法
○: 陽性
△: 保留
x: 陰性

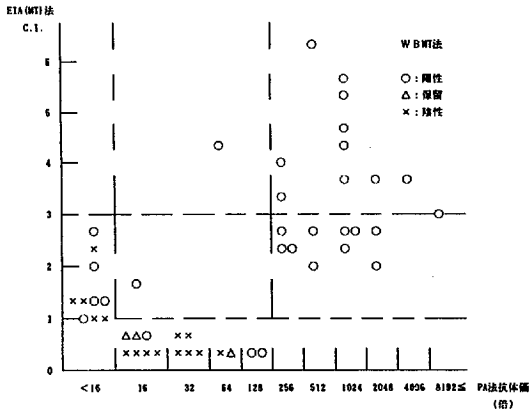


図 4 P A 法抗体価、E I A (MT) 法 C . I . と W B 法との関係

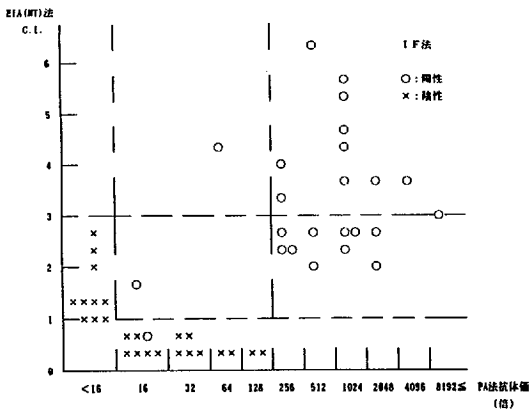
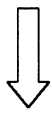


図 5 P A 法抗体価、E I A (MT) 法 C . I . と I F 法との関係



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



抗 HTLV-1 抗体測定の一 次検査として施行されている PA 法・EIA 法は偽陽性の問題があり、
2 次検査として用いられている WB 法でも band の非特異反応の可能性がある。我々は妊婦
の -20 ° C 凍結保存血清を用いて、これらの問題を検討した。