

HTLV-I血清診断についての検討

小野哲郎、瀧 祐一、大友信也

要約：抗HTLV-I抗体をゼラチン凝集法(PA)、間接蛍光抗体法(IF)、ウエスタンブロット法(WB)で測定する場合、程度の差はあるとしてもいずれの検査法においても特異性に問題があることが知られている。これは抗原側に問題を抱えていることが考えられる。これに関する実験として、硫酸化多糖体ゲル及びConA-Sepharoseゲルカラムを用いHTLV-I抗原の精製を行なった。硫酸化多糖体ゲルによる精製抗原には抗体と強く反応する p19、p24、p28、p40、gp46及びp53の抗原が含まれ、gp62の抗原は反応性が弱いことが確認された。ConA-Sepharoseゲルによる精製抗原は特にp40とgp46の蛋白に強く反応することが認められた。

見出し語：HTLV-I抗体、抗体検査法、HTLV-I精製、硫酸化多糖体ゲル
ConA-Sepharoseゲル

研究方法：産婦人科医療機関において、抗HTLV-I抗体検査(PA法)で陽性(16倍)と判定された妊婦血清290検体を主に対象とした。

抗HTLV-I抗体検査は市販キットを用いたPA法、MT-2/CEM細胞株を用いたIF法、さらに後述の抗原を用いたWB法で行な

った。WB法では、MT-2細胞を表面活性剤で溶解した粗ウイルス抗原及びMT-2細胞培養上清ウイルス粗抗原を使用したが、さらにそれらを硫酸化多糖体ゲルまたはConA-Sepharoseゲルによる吸着アフィニティ法で部分精製した抗原も用いて行なった。部分精製抗原についてはPA反応抑制法とIF反応抑制法でその抗原性を確かめ、さらに用意した参照血清で反応性を検討した。参照血清は日赤血液センターより

大分県公害衛生センター (Oita Prefectural
Institute of Health & Environment)

供与されたPA抗体価 2048 倍以上、IF抗体価 1280 倍以上の血清7検体を使用した。

結果：PA抗体価 16 以上の陽性血清について、IFで再検査を実施した結果、IFで陰性を示す検体は15%認められ、PA低値（16～<128）の検体では約40%がIF陰性であった。また、WB法との比較では、PA値32～128の検体でもその約50%がWB法陰性で、5%が反応バンドの特徴から判定保留とした。PA抗体価別の不一致率はIF法との比較で、PA値は16～64倍までは90%、128倍で約30%で、PA抗体価が低いほど不一致率が高くなる傾向が認められた。一方、IF法とWB法の比較において、IF法陽性でWB法陽性を認めた検体は89.4%で、IF法陽性でWB法陰性を示したものは10.6%に認められた。また、IF抗体価では40倍未満では約10%がWB法において上述の理由で判定保留となり、IF抗体価低値で不一致例が散見された。

WB法において、p19、p24、p28、p40、gp46のバンドを指標にその反応パターンを見ると、p19は検討例84例の全ての検体に認められるが、p24、p28、gp46は血清検体によっては認められるものと認められないものがあり、血清検体の性状によってはバンドの出現状況が異なることが認められた。使用する感染細胞の種類や性状によって非特異性の反応抗原バンドとして現れる抗原の存在が知られているが、p19については非特異的な要素があるようで注意が必要である。

MT-2細胞溶解抗原及びその超遠心上清

を抗原としたWB法では、p15、p19、p24、p28、p37、p40、p53、gp46、gp62、gp68と多数の抗体を検出する成績が得られるが、抗env抗体に対する発現は弱く検出しにくかった（表1）。硫酸化多糖体ゲルカラムによる部分精製抗原はp19、p24、p28、p37、p40、p53、gp46、gp62、gp68に相当するバンドを発現する。しかし、p28とgp68の反応は弱く検出しにくい、p19、p24、p40、p53、gp46に対しては比較的強く反応することが確認された（表1）。ConA-Sepharose カラムによる部分精製抗原はp40とgp46の蛋白の含有が多く、強い反応性を示すが、抗gag蛋白に対する反応は弱かった。一方、F社より供与された精製抗原と比較検討してみると、F社の精製抗原はgp46及びgp68に対する反応が非常に弱く検出は困難であった。反対にp19、p24などgag蛋白に対しては比較的強く反応した（表1）。また、ATL患者血清4例を用いて、比較検討を行ったが著明な差は認められなかった。これらの比較検討と精査は更に種々の血清の性状比較と併せ続行する予定である。

考察：今回の結果から、いずれの検査法においても少なからず特異性に問題が見られた。WB法ではgag蛋白の抗体はよく検出されるがenv蛋白の抗体は検出しにくい傾向にある。

抗体検査のさい、env抗原の反応性に難点があるのは特異性を損なう恐れがあり、WB法による抗体の解析には使用抗原の性状如何が重要である。我々は、env蛋白を多く含む抗原

について検討し、ある程度使いそうな抗原を作成することができている。今後、抗原と抗体の反応性の両面から更に検討を加えていく予定で

ある。また、各種の精製抗原を一度単離し、それを使うか、または、再ブレンドするなどの工夫も必要とするようである。

表1. 部分精製抗原における反応パターン

抗 原		W B 法									
		p15	p19	p24	p28	p37	p40	gp46	p53	gp62	gp68
MT-2 細胞溶解 抗原	溶解抗原	±	++	+	++	±	+	±	+	±	++
	超遠心上清	±	++	+	++	±	+	±	+	±	++
	硫酸化多糖体 ゲル	±	++	+	±	±	++	++	++	±	±
	ConA - Sepharose	-	±	±	±	-	++	++	-	-	-
MT-2 細胞培養 上清	硫酸化多糖体 ゲル	±	++	+	±	±	++	++	++	±	±
	ConA - Sepharose	-	±	±	±	-	++	++	-	-	-
F 社		±	++	+	+	±	-	±	+	-	-

⊗反応の強弱は参照血清の所見の総合結果を示した。



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:抗 HTLV-1 抗体をゼラチン凝集法(PA)、間接蛍光抗体法(IF)、ウエスタンブロット法(WB)で測定する場合、程度の差はあるとしてもいずれの検査法においても特異性に問題があることが知られている。これは抗原側に問題を抱えていることが考えられる。これに関する実験として、硫酸化多糖体ゲル及び ConA-Sepharose ゲルカラムを用い HTLV-1 抗原の精製を行なった。硫酸化多糖体ゲルによる精製抗原には抗体と強く反応する p19、p24、p28、p40、gp46 及び p53 の抗原が含まれ、gp62 の抗原は反応性が弱いことが確認された。ConA-Sepharose ゲルによる精製抗原は特に p40 と gp46 の蛋白に強く反応することが認められた。