

ATL 母子感染における防止対策について HTLV-I 抗体検索における偽陽性反応について

一条元彦, 安藤良弥

要約 HTLV-I抗体検索法には偽陽性反応の存在していることは、これまでも各種の抗体検索法の間でその結果が異なることより指摘されてきた問題である。このような偽陽性反応の混在は、母子感染防止の観点からもキャリアの検索に混乱を引き起こすばかりでなく、その結果の重大性よりできる限り避けなければならない。このような偽陽性反応に関与する蛋白の同定とともにその抗原に対する抗体の作成を行い、妊婦における非特異反応の存在機序についての考察を加えた。

見出し語:HTLV-I, 非特異反応, 妊婦, TCL-Kan

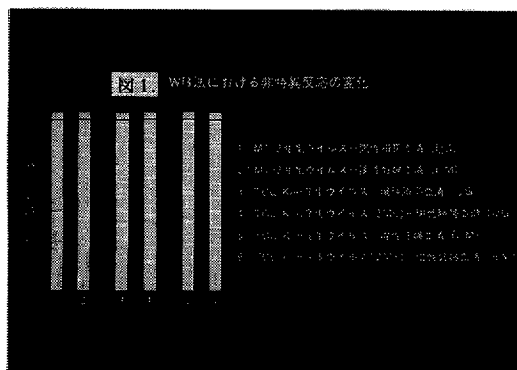
〔目的、研究方法〕HTLV-I抗体の検索法それぞれにおいて結果の異なることは、各機関より献血検体においての成績が報告されているが、妊婦においても検査法の差異により結果が異なるとともに非特異反応と思われる検体では妊娠週数によりその抗体価に変動が見られ、かつ非特異反応を呈する検体の割合が妊娠週数により変化することは我々がすでに報告してきたことである。昨年までの研究により、PA法のみ陽性で他の検査法IF法、EIA法で陰性であったいわゆる非特異反応を呈した検体をTCL-Kan, MT-2それぞれの細胞が産生するHTLV-Iウイルスを硫酸化

セルロファインを用いて採取し、DOCにより可溶化したうえでポリエチレングリコールで濃縮した蛋白を二次元電気泳動にて展開し、先きの非特異反応であると考えられた妊婦血清検体を用いてその反応パターンを解析した。TCL-Kanを展開した場合にのみ認められた非特異反応に関与する蛋白部分をGelより切り出し、complete adjuvantとともにrabbitに免疫した。免疫した蛋白に対する抗体が産生されたか否かについては、TCL-Kan産生ウイルスを用いたWestern blotting membrane上で判定し、HTLV-I抗原特異的抗原蛋白に対する抗体でないことを確認し

奈良県立医科大学産婦人科
(Dept. of Obstet. Gynec., Nara Med. Univ.)

た。妊婦における非特異反応を解析するために、rabbitで作成した先の抗体を用いTCL-Kan, MT-2それぞれの細胞の塗抹標本を染色するとともに、妊娠初期絨毛の凍結切片上における反応を観察した。

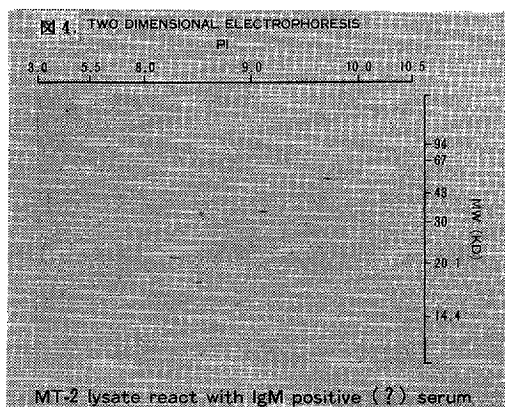
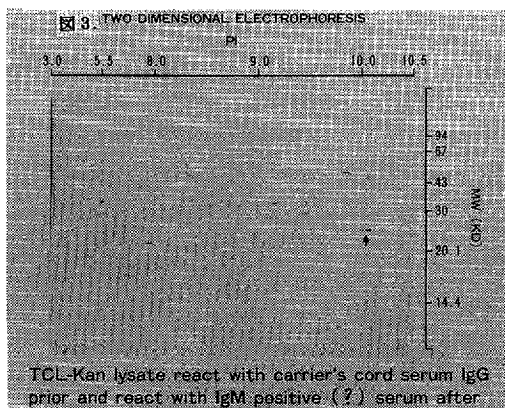
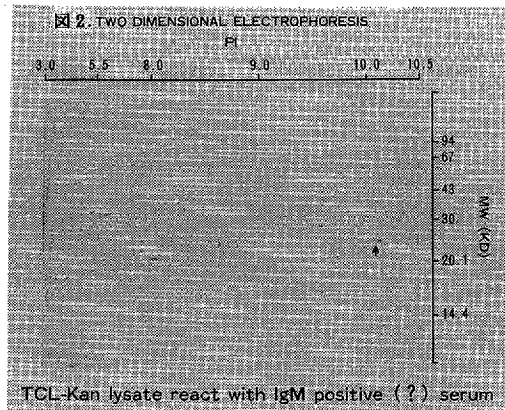
〔結果〕1) MT-2, TCL-Kan 産生ウイルスとTCL-Kan 産生ウイルスを2-mercaptoethanol(2ME)処理した抗原を用いてWestern blottingを実施した抗原膜とHTLV-I陽性臍帯血清より採取したIgG 分画を反応させた染色像、IF法, EIA法ともに陰性であった妊婦血清を用いて反応させIgM 抗体の反応の部位をみた染色像、ならびに2ME 処理後の抗原の泳動位置について検討した成績を図1に示す。



この図の如く、HTLV-I特異的と見なされるgag蛋白は2ME 処理によってもその電気泳動度に変化は認められなかったが、非特異反応に参与すると思われるTCL-Kan 由来p24 蛋白の一部は移動度が変化することが判明し、TCL-Kan 産生ウイルスにも非特異反応を呈する原因となる蛋白の混在していることが証明された。

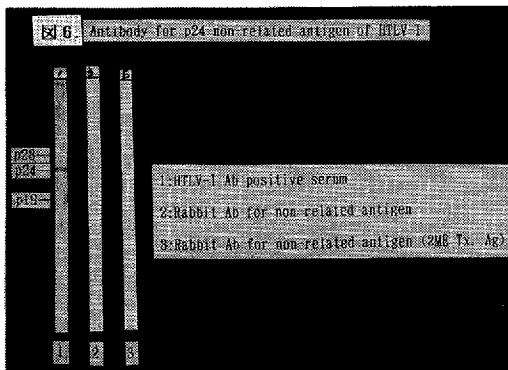
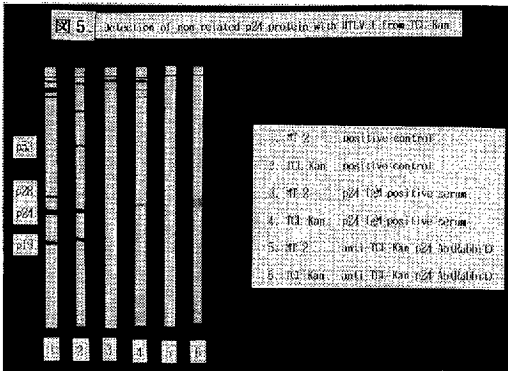
2) TCL-Kan産生ウイルスを可溶化した後、2次元電気泳動法により非特異反応を呈する抗原蛋白

の検索を試みた結果を図2. 3. 4 に示す。



この図を対比すると図中に矢印で示した蛋白がHTLV-I抗体検索上、非特異反応に参与するp24蛋白であることが推定出来た。この蛋白の部位のgel を取り出し、rabbitに免疫して作成させた抗体をMT-2, TCL-Kan由来抗原と反応させた像

を図5.6 に示す。この結果からrabbitにより作られた抗体はTCL-Kan p24 蛋白のうち、HTLV-I 特異的抗原蛋白ではなく非特異反応に関与する蛋白に対する抗体であることが証明される。



3) 妊婦においての非特異反応の原因を検索するにあたり、MT-2、TCL-Kan細胞とrabbitに作成させた抗体との反応について検討するとともに、妊娠週数により非特異反応を呈する割合が変動することに注目し妊娠初期絨毛に存在する蛋白とこの抗体の反応性について検索した。各細胞株における反応性では、rabbitの抗体はTCL-Kan の一部の細胞の表面に対応する抗原の存在が認められたがMT-2では全く反応しなかった。同時に、妊婦で非特異反応と思われる反応を示した血清を用いて同様な方法で染色した像では、TCL-Kan のにおいてはrabbitの抗体で染色した

場合と同じ反応像であった。対照としてTCL-Kan をHTLV-I抗体陽性臍帯血清IgG と反応させた像を示す(図7.8.9)。

図7. MT-2細胞とrabbit産生抗体との反応

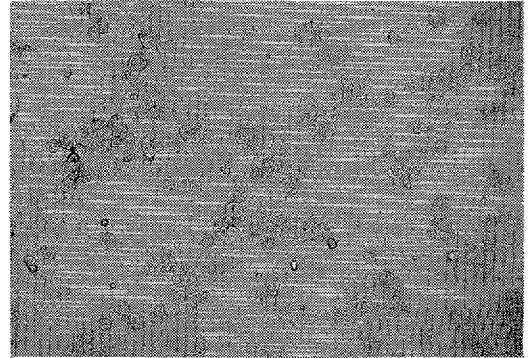


図8. TCL-Kan 細胞とrabbit産生抗体との反応

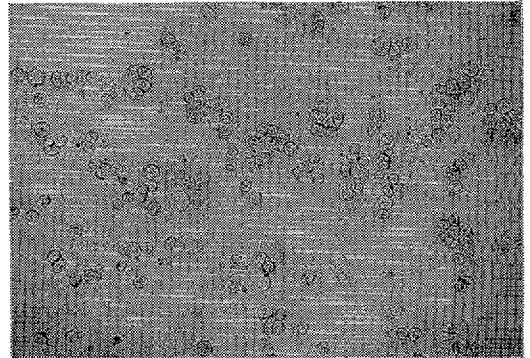
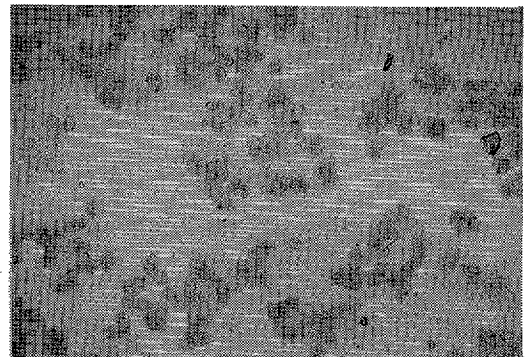
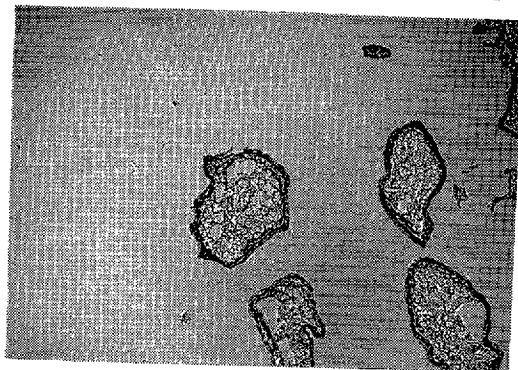


図9. TCL-Kan 細胞と抗HTLV-I抗体IgG との反応



妊娠初期絨毛とrabbitとの抗体の反応像を図10に示すが、この図より非特異反応に関与するHTLV-I抗原とは異なるp24 蛋白の存在が絨毛表面に認められ、さらにこの蛋白はsyncytiotrophoblastにのみ存在していることが判明した。

図10. 妊娠初期臍毛とrabbit産生抗体との反応

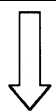


〔考察〕 HTLV-I抗体検索において、妊婦の非特異反応による判定の混乱は憂慮する問題となる。現在の抗体検索法において、非特異反応の存在はある程度の確率で発生することは避けえないことではあるが、このような非特異反応を呈した検体をどのようにして排除するかについては抗体の特異性試験に頼らざるを得ない。抗体スクリーニング法の精度を上昇させることにより、非特異反応検体の排除を進めることで抗体検査法の信頼性を高めるとともに煩雑な特異性試験により最終的な判定を下さざるを得ない検体を減少させることが可能となる。今回の成績は、この非特異反応の一端を解明したものであり結果に示したことから類推して、抗原産生細胞の選択を実施することによりHTLV-I特異抗原の採取が可能になることも考えられる。

文献

1) Ando, Y. et al.: p24 protein of a human T-lymphotropic virus type-I (HTLV-I) producing cell line (TCL-Kan) reacts with some normal pregnant women's sera. Acta. Obst. Gynec. Jpn., 42, 1251-1255, 1990.

2) 安藤良弥: 妊婦血清を中心にしたHTLV-I抗体測定における非特異反応. 臨床検査, 34, 1818-1820, 1990.



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 HTLV-1 抗体検索法には偽陽性反応の存在していることは、これまでも各種の抗体検索法の間でその結果が異なることより指摘されてきた問題である。このような偽陽性反応の混在は、母子感染防止の観点からもキャリアの検索に混乱を引き起こすばかりでなく、その結果の重大性よりできる限り避けなければならない。このような偽陽性反応に関与する蛋白の同定とともにその抗原に対する抗体の作成を行い、妊婦における非特異反応の存在機序についての考察を加えた。