

HTLV-I感染の診断

今井浄子*, 薦田温子*, 瀬戸山陽子*, 松浦尚雄**, 畑中正一*

【要約】 HTLV-1抗体検査では、スクリーニング検査の後に他の方法で抗体の特異性を確認するという方法がとられている。現在、確認法としては、蛍光抗体法(IF)やウエスタンブロット法(WB)酵素抗体法(EIA)による吸収試験が広く用いられているが、WBは抗原転写膜の精度や判定の基準に問題があり確認試験としての価値に疑問が持たれている。今回、env抗原gp46に対する抗体の検出可能な抗原転写膜を用いて、HTLV-1特異抗体の検出を試み、他の抗体検査法との比較およびpolymerase chain reaction(PCR)によるHTLV-1DNAの検出結果との相関からWB法による確認試験の有用性や判定基準について検討した。

【見出し語】 HTLV-1抗体測定、WB法、抗gp46、PCR

【研究方法】 検体：抗体測定には、1) ATL・HAM患者血清65例、2) キヤリアー血清97例、3) PA法陽性IF法陰性血清57例、4) PA、IF共に陰性の血清48例、5) IF法で非特異反応を示した血清11例を用いた。PCRには、健康成人の末梢血130例を用いた。

方法：HTLV-1抗体測定には、1) PA法(セロディアATLAとセロディアHTLV-1) 2) IF法(MT-1) 3) WB法(ノババスATL「バイオ・ラッド」と富士レビオ提供のWB)を用いた。PCR法は、HTLV-1遺伝子のpx領域を増幅し、産物はsouthern blot hybridizationで確認した。

* 京都大学ウイルス研究所

** 京都赤十字血液センター

【結果】

1) WB法によるHTLV-1抗体の検出
env抗体gp46の検出可能な抗原転写膜
(富士レジオ提供)を用いてATL、HAM患者血清、キャリアー血清、PA法とIF法による結果が不一致の血清、抗体陰性またはIFで非特異反応強く判定不能の血清についてWBを行い検出されるバンドの分布を調べた。

HTLV-1特異抗原であるp19、p24、p28、p53、gp46に対する抗体の検出率は高く(表-1)、患者群ではp19、p53は全例、gp46は95.4%(62/65)の血清で検出された。キャリアー群ではp19は、99.0%(96/97)p53は93.8%(91/97)、gp46は83.5%(81/97)の検出率であった。p24とp28に対する抗体の検出率は他の抗体に比べてやや低い傾向にあった。これら抗体の検出率はIF抗体価80倍以上の検体では患者とキャリアーの各1例で抗gp46が検出されずキャリアーの他の1例で抗p28が検出されなかった以外は、すべてp19、p24、p28、p53、gp46のバンドが検出された。これに比べIF抗体価40倍以下のキャリアーでは検出バンドにばらつきがみられた(表-2)。また各バンドの分布を検体ごとにみると(表-3)、p19、p53、gp46の3バンドが検出された検体は、患者群では65例中62例、キャリアー群では97例中81例であり、この3バンドのうちいずれか2本が検出されたものは、患者群の3例とキャリアー群の11例であった。キャリアーのうち4例はp19バンド1

本だけが検出され他の1例はgp46の位置にバンドの痕跡を認めた。PA(+)IF(-)やPA(-)IF(-)または非特異反応の116検体では、p19とp24のバンドが検出された例はあったがp53やgp46のバンドが認められたものは1例もなかった。

2) PCRによるHTLV-1 DNAの検出
健康成人130例の末梢リンパ球からDNAを抽出しPCR法でHTLV-1 DNAの検出を行いIF法、PA法、WB法による抗体検査の結果と比較した。PA、IF法ともに陽性の81例中77例でHTLV-1のDNAが検出された。PA(+)IF(-)の16例と両法陰性の33例ではDNAは検出されなかった。このうちIF抗体価160倍以下の40例のWBによる抗体の分布は表-4に見られるようにPCR陽性の36例中32例ではp19、p53、p46の3バンドが検出されたが3例はp19とp53の2バンドのみが検出され1例はp19のみであった。抗体陽性、PCR陰性の4例についても同様のパターンが見られた。

3) 供血々血液中のHTLV-1抗体の検出
京都日赤血液センターの協力を得て供血々血液20438例についてHTLV-1抗体の検出を試みた。スクリーニングは、従来のセロディアATLAと改良品のセロディアHTLV-1の両者で行った。従来の粒子では233例、改良型粒子では103例が陽性となった。このうちIF陽性の77例はすべて両粒子で陽性でありIFとの不一致例は改良粒子で大幅に減少した。また改良粒子のプロゾーンによる偽陰性も見られなかった。改良粒子陽性IF陰性の26

例と I F 抗体価 80 倍以下の 16 例について WB 法で確認試験を行った。I F 80 倍以下の血清では、16 例中 14 例は p 19, p 53, g p 46 のバンドを示したが 2 例では g p 46 が欠けていた。P A のみ陽性の 26 例では p 19 と p 24 に弱く反応した検体が各 1 例あった。P A または I F で非特異反応の強い検体 19 例でも、6 例で p 19, p 24 または p 19 と p 24 のバンドが検出された。

【考察】

H T L V - 1 の抗体検査では、いずれの方法でも抗 e n v 抗体の検出が特異性を高めると考えられる。実際に P A 法では e n v 抗原の添加によって偽陽性が減少している。今回用いた WB では、ほとんどの H T L V - 1 感染者で p 19, p 53 および g p 46 に対する抗体の発現がみられた。しかし患者の 4. 6%, I F 抗体 160 倍以下のキャリア一群の 16% では抗 g p 46 が検出されなかった。これは抗 g p 46 が欠損しているのではなく量的に少なく、使用した WB の感度以下である可能性がある。なぜなら g p 46 陰性といってもその位置にバンドの痕

跡が認められることがあり、この場合検体量を増加すると陽性バンドの濃さになる。またこれら検体の中には P C R で H T L V - 1 D N A が検出される例があるので抗 p 19 と抗 p 53 だけが検出された場合も H T L V - 1 感染があったと考えてよいと思われる。まれに抗 g p 46 だけが検出される例もあるが g p 46 抗原に対する非特異反応は非常に少ないことから g p 46 だけが検出された場合も感染の可能性は大きい。問題は抗 p 19 バンド一本だけが検出された場合である。p 19 は非特異的反応である恐れもあり真の抗体かどうか判定することはむづかしい。従って結果は判定保留となり他の方法による再確認が必要である。これらのことから、e n v 抗体の検出感度のよい WB ならば確認試験に用いる事は可能であると思われた。

WB は、使用された抗原細胞や作成の課程の違いによって、検出され易いバンドの種類や数が異なり判定の基準や非特異反応の出現率もことなる。従ってキットの普及に先立ってキットの精度の検定の手段がとられる事が望まれる。

表 - 1 W B で の H T L V - 1 抗 体 の 検 出 率

	検 体 数	検 出 バ ン ド				
		P 1 9	P 2 4	P 2 8	P 5 3	G P 4 6
患 者	6 5 (%)	6 5 (100)	6 4 (98.5)	6 3 (96.9)	6 5 (100)	6 2 (95.4)
キ ャ リ ア ー *	9 7 (%)	9 6 (99.0)	8 7 (89.7)	8 5 (87.6)	9 1 (93.8)	8 1 (83.5)

* I F 抗 体 ≤ 1 6 0

表-2 I F 抗体価と W B による抗体の検出率

	H T L V - 1 抗体 (I F)	検体数	検 出 バ ン ド				
			P 1 9	P 2 4	P 2 8	P 5 3	G P 4 6
患 者	2 0 - 4 0	2 6 (%)	2 6 (100)	2 5 (96.2)	2 4 (92.3)	2 6 (100)	2 4 (92.3)
	8 0 - 1 2 8 0	3 9 (%)	3 9 (100)	3 9 (100)	3 9 (100)	3 9 (100)	3 8 (97.4)
キ ャ リ ア ー	1 0 - 4 0	5 2 (%)	5 1 (98.1)	4 2 (80.8)	4 1 (78.8)	4 6 (88.5)	3 7 (71.2)
	8 0 - 1 6 0	4 5 (%)	4 5 (100)	4 5 (100)	4 4 (97.8)	4 5 (100)	4 4 (97.8)

表-3 W B による検出バンドと I F 抗体価

A. 患者

I F 価	検査数	W B による検出バンド				
		P-19, P-53, GP-46	P-19, P-53	P-19, GP-46	P-19	な し
2 0	1 6	1 5	1	0	0	0
4 0	1 0	9	1	0	0	0
8 0	1 2	1 2	0	0	0	0
1 6 0	1 6	1 5	1	0	0	0
≥ 3 2 0	1 1	1 1	0	0	0	0
合 計	6 5 (%)	6 2 (95.4)	3 (4.6)	0	0	0

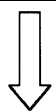
B. キャリヤー

I F 価	検査数	W B による検出バンド				
		P-19, P-53, GP-46	P-19, P-53	P-19, GP-46	P-19	な し
1 0	3	2	0	0	1	0
2 0	1 3	8	4	0	1	0
4 0	3 6	2 7	5	1	2	1
8 0	3 4	3 3	1	0	0	0
1 6 0	1 1	1 1	0	0	0	0
合 計	9 7 (%)	8 1 (83.5)	1 0 (10.3)	1 (1.0)	4 (4.1)	1 (1.0)

表－4

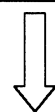
PCRとWBの結果の相関

WB PCR	検体数	検出バンド群		
		p19,p53,gp46	p19,p53	p19
(+)	36	32	3	1
(-)	4	2	1	1
合計	40	34	4	2



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 抗体検査では、スクリーニング検査の後に他の方法で抗体の特異性を確認するという方法がとられている。現在、確認法としては、蛍光抗体法(IF)やウエスタンブロット法(WB)酵素抗体法(EIA)による吸収試験が広く用いられているが、WB は抗原転写膜の精度や判定の基準に問題があり確認試験としての価値に疑問が持たれている。今回、env 抗原 gp46 に対する抗体の検出可能な抗原転写膜を用いて、HTLV-1 特異抗体の検出を試み、他の抗体検査法との比較および polymerase chain reaction(PCR)による HTLV-1DNA の検出結果との相関から WB 法による確認試験の有用性や判定基準について検討した。