

合成ペプチドによる抗 HTLV-I 及び-II 検出

白木 洋¹⁾, 黒田直敬¹⁾, 鷺谷由紀子¹⁾,
前田義章¹⁾, 佐藤博行²⁾, 大河内一雄²⁾

要約 HTLV-I 保有者(献血者、ATL 及び HAM 患者)血清の抗体と最も高頻度に反応する合成ペプチドは p19 蛋白の C 末端 30 アミノ酸残基と gp46 蛋白の 175 から 199 に対応する領域のものである。この 2 種の合成ペプチドを抗原とした EIA で抗 HTLV-I 抗体検査を行うと、その感度及び特異性は IF のそれと極めて近く、判定結果はほぼ一致した。更に、この 2 種のペプチドと HTLV-II 蛋白上のそれらに対応するペプチドを抗原として用いれば、HTLV-I 及び HTLV-II 感染の血清学的診断が可能である。メキシコで採取した PA 陽性 IF 陽性血清 7 検体を本法にて、4 検体は HTLV-I 感染、他の 3 検体は HTLV-II 感染血清と明確に区別し得た。本法を用いた PA 陽性 IF 陽性日本人献血者血清 186 の抗体検査では全て抗 HTLV-I 抗体陽性で、抗 HTLV-II 抗体のみ陽性の検体はなかった。

見出し語：抗 HTLV-I 抗体、抗 HTLV-II 抗体、合成ペプチド

研究方法

- 1) ペプチド：Merrifield らの方法に従い固相法で合成した。
- 2) 酵素抗体法(EIA)：96穴プレートを用いて合成ペプチド(20-38アミノ酸残基長)を抗原として行った。
- 3) ゼラチン凝集法(PA)：Serodia HTLV-I (フジレビオ社製)を用いて行った。
- 4) 間接蛍光抗体法(IF)：HTLV-I 抗原陽性細胞 MT-1、MT-2、KT252 を用いて行った。

結果

HTLV-I 感染者血清中の抗体分布：HTLV-I 構造蛋白の p19、p24、gp46、p20E 蛋白の全額を網羅する 46 種のペプチドを合成し、これを抗原とした EIA で HTLV-I 保有者血清(献血者血清 96、ATL 48、HAM 14)の抗体と反応するペプチドを検索した。その結果、p19 に 2 種、p24 に 2 種、gp46 に 8 種、及び p20E に 6 種のペプチドが HTLV-I 保有献血者の抗体反応することを見いだした。特に p19 蛋白 C 末端 30 アミノ酸長に対応する p19/100-130 と gp46

1) 福岡県赤十字血液センター(Fukuoka Red Cross Blood Center)

2) 九州大学医学部付属病院検査部(Clinical Laboratory, Kyushu University Hospital)

蛋白の175-199に対応するペプチは HTLV-I 保有献血者の90%以上の血清中の抗体と反応した。同様の結果が ATL 及び HAM 患者血清でも得られた。

合成ペプチドによる抗体検出：ペプチド p19/100-130 及び gp46/175-199 を抗原とした EIA を作成し、献血者血清を対象とした抗体検査を行った。即ち1990年4月-5月に採血した献血者血清21894検体から PA 陽性と判定された438検体及び PA 陰性血清より任意に抽出した1228検体を対象とした。PA 陽性438検体のうち IF 陽性と判定される379検体は全て EIA でも陽性、IF 陰性59検体は1検体のみ EIA 陽性で、他は全て EIA 陰性であった。IF 陰性 EIA 陰性蛋白の175-199に対応するペプチは HTLV-I 保有献血者の90%以上の血清中の抗体と反応した。同様の結果が ATL 及び HAM 患者血清でも得られた。

合成ペプチドによる抗体検出：ペプチド p19/100-130 及び gp46/175-199 を抗原とした EIA を作成し、献血者血清を対象とした抗体検査を行った。即ち1990年4月-5月に採血した献血者血清21894検体から PA 陽性と判定された438検体及び PA 陰性血清より任意に抽出した1228検体を対象とした。PA 陽性438検体のうち IF 陽性と判定される379検体は全て EIA でも陽性、IF 陰性59検体は1検体のみ EIA 陽性で、他は全て EIA 陰性であった。IF 陰性 EIA 陽性検体は PCR 法及びウェスタンブロット法 (WB) でも陽性であった。PA 陰性1228検体中1検体のみ EIA 陽

性で他は全て陰性であった。この PA 陰性 EIA 陽性検体は PCR 及び WB 陰性で、本 EIA での非特異反応検体と考えられた。これらの結果から、合成ペプチドを抗原とした EIA による抗体検出の感度及び特異性は IF のそれに極めて近いことを示している。

HTLV-I 及び HTLV-II 感染者の血清学的識別：HTLV-I と HTLV-II とのゲノムの相同性は高く、その蛋白上の抗原性発現領域は類似していると予想された。HTLV-I 保有者血清の抗体との反応性が高いペプチド p19/100-130 及び gp46/175-199 は、それぞれが対応する HTLV-I 及び HTLV-II の蛋白の領域とは相同性が低いことを見いだした。そこで HTLV-II の対応した領域のペプチドを合成し、HTLV-I 及び HTLV-II 保有者血清との反応性を検討した。その結果、gp46に対応したペプチドはそれぞれの抗体に対して高い反応特異性を示し、交差反応は全く認められなかった。p19の対応したペプチドはそれぞれの血清の抗体に弱い交差反応が認められたが、抗体結合量には明かな差があることを見いだした。これらの結果を踏まえて、メキシコで採取された PA 陽性血清の抗体検出を本 EIA を用いて行った。PA 陽性血清13検体のうち、IF 陽性は7検体で、そのうち4検体には抗 HTLV-I 抗体、残りの3検体では抗 HTLV-II 抗体のみを検出された。IF 陰性血清の6検体のうち1検体に HTLV-II / gp46 のペプチドに反応する抗体を検出したが、他血清は全て EIA 陰性であ

った。なお、PA陽性IF陽性日本人献血者血清186検体について同様の検査を行ったが、全て抗HTLV-I抗体陽性で、抗HTLV-II抗体のみ陽性の血清はなかった。

考察

合成ペプチドp19/100-130及びgp46/175-199の2種を抗原としたEIAでの抗HTLV-I抗体の検出は非特異反応の少ない再現性の良い検査法であり、その判定結果はIFのそれと極めて近い一致率を示した。この結果は本検査法がHTLV-Iの抗体検査におけるIFの代りとして使用することが可能であることを示唆していると思われる。

ウイルス蛋白を抗原とした種々の抗HTLV-I抗体検査では同時に抗HTLV-II抗体も検出していると考えられる。これらの検査で、抗HTLV-I抗体と抗HTLV-II抗体との区別が必要な場合にはHTLV-IとHTLV-IIの対応する領域のペプチドを抗原としたEIAでそ

の血清学的診断は可能である。本法を用いて、日本人献血者のPA陽性IF陽性血清の抗HTLV-II抗体の有無を検索したが、HTLV-I単独感染の血清はなかった。この結果は、HTLV-IとHTLV-IIの重複感染の可能性を否定するものではないが、少なくとも日本人献血者にはHTLV-I単独感染者の存在は少なく、存在したとしても極めて稀であることを示している。

文献

- 1)Sato, H., and K. Okochi. Transmission of HTLV-I through blood transfusion and its prevention. 3 : 235-245.1990.
- 2)Kuroda, N., Y. Washitani, H. Shiraki, H. Kiyokawa, M. Ohno, H. Sato and Y. Maeda. Detection of antibodies to human T-lymphotropic virus type I by using synthetic peptides. Int. J. Cancer 45 : 865-868. 1990.

A b s t r a c t

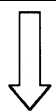
Detection of antibodies against HTLV-I and HTLV-II using synthetic peptides

Hiroshi Siraki¹⁾, Naotaka Kuroda¹⁾, Yukiko Washitani¹⁾, Yoshiaki Maeda¹⁾, Hiroyuki Sato²⁾
and Kazuo Okochi²⁾

Using 46 sequential peptides over the structural protein of HTLV-I, we analyzed the antibody profiles of HTLV-I infected individuals (blood donors, ATL and HAM patients). 18 of 46 peptides (2 in the p19 gag protein, 2 in the p24 gg protein, 8 in the gp46 env protein and 6 in the p20E env protein) reacted with antibodies in sera from HTLV-I infected individuals. Particularly, two peptides corresponding to amino acids 100 to 130 from the amino-terminal portion of p19 and 175 to 199 of the env protein reacted with more than 90 % of sera from seropositive blood donors. When we used the two peptides as antigens in antibody screening by enzyme immunoassay (EIA), all 379 PA- and IF-positive sera of 21894 blood donors gave positive results.

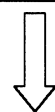
In the group of 1228 PA-negative sera which are randomly extracted from all of the PA-negative specimens in 21894 donors, 1227 gave a negative result and one serum sample gave a false positive result. These observations suggested that the two peptides were useful for detecting antibodies against HTLV-I, and the specificity and sensitivity the EIA were very close to those of IF.

The peptides from amino acids 100-130 of the HTLV-I gag protein, 175-199 of the HTLV-I env, and the corresponding peptides of HTLV-II (amino acids 106-135 of the gag protein and 171-196 of the env) were useful antigens in detecting specific antibodies in sera from HTLV-I or HTLV-II infected individuals. When we used the four peptides as antigens in the EIA, antibodies against HTLV-I could be clearly distinguished from those of HTLV-II in various sera from Mexicans. When the EIA was applied for detecting the antibodies to HTLV-II in approximately one hundred of Japanese blood donors, we observed no positive results.



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 保有者(献血者、ATL 及び HAM 患者)血清の抗体と最も高頻度に反応する合成ペプチドは p19 蛋白の C 末端 30 アミノ酸残基と gp46 蛋白の 175 から 199 に対応する領域のものである。この 2 種の合成ペプチドを抗原とした EIA で抗 HTLV-1 抗体検査を行うと、その感度及び特異性は IF のそれと極めて近く、判定結果はほぼ一致した。更に、この 2 種のペプチドと HTLV-11 蛋白上のそれらに対応するペプチドを抗原として用いれば、HTLV-1 及び HTLV-11 感染の血清学的診断が可能である。メキシコで採取した PA 陽性 1F 陽性血清 7 検体を本法にて、4 検体は HTLV-1 感染、他の 3 検体は HTLV-11 感染血清と明確に区別し得た。本法を用いた PA 陽性 1F 陽性日本人献血者血清 186 の抗体検査では全て抗 HTLV-1 抗体陽性で、抗 HTLV-11 抗体のみ陽性の検体は無かった。