

濾紙血液を用いる抗HTLV-I抗体の測定と その妊婦スクリーニングへの応用

Measurements of HTLV-I Antibody Using Dried Blood Samples and Its Application to Screening for Pregnant Women

福士 勝 荒井 修 水嶋 好清 佐藤 稔
清水 良夫 菊地由生子 藤本征一郎* 富樫 武弘**
高杉 信男

Masaru Fukushi, Osamu Arai, Yoshikiyo Mizushima, Minoru Sato,
Yoshio Shimizu, Yuko Kikuchi, Seiichirou Fujimoto*, Takehiro Togashi**
and Nobuo Takasugi

要 旨

乾燥濾紙血液を用いてPA法とELISA法による抗HTLV-I抗体の測定法を検討し、札幌市内の妊婦8,496名を対象としてスクリーニングを行った。乾燥濾紙血液中の抗HTLV-I抗体の安定性、測定感度及び再現性は良好であり、血清を用いる標準法との相関も認められスクリーニング法として十分使用可能であった。確認検査として血清によりIF法及びWB法を実施すると札幌市内の医療機関を受診した妊婦の抗HTLV-I抗体保有率は0.65%から0.82%となり従来の報告とほぼ一致した。

1. 緒 言

成人T細胞白血病 Adult T-cell Leukemia (ATL) の病因がヒトT細胞白血病ウイルス1型 Human T-cell Leukemia Virus Type I (HTLV-I) であり^{1,2)}、その最も重要な感染経路が母乳を介する母子間の垂直感染であることが明らかにされ、HTLV-I抗体陽性の母親の母乳遮断を行うことにより新生児、乳児へのHTLV-Iの感染によるATLの発症を未然に防止できることが報告されている^{3,4,5,6)}。そこで、札幌市におけるHTLV-Iの母子間垂直感染の調査の一環として、市内医療機関を受診する妊婦の抗HTLV-I抗体の保有率について検討

するため、1986年6月から開始した妊婦甲状腺機能検査に使用している乾燥濾紙血液を検査材料とする抗HTLV-I抗体の測定法を開発したスクリーニングを行った。検査の方法はゼラチン粒子凝集法 (PA法) と酵素免疫測定法 (ELISA法) の両者を検討するとともに、スクリーニングで抗体陽性となった一部の妊婦については確認試験である間接蛍光抗体法 (IF法) とウエスタンブロット法 (WB法) との比較を行い、PA法のカットオフ値についても検討した。

*北海道大学医学部産婦人科 **北海道大学医学部小児科

2. 方 法

2-1 対 象

スクリーニングの対象は1987年4月から1989年3月までに札幌市内の医療機関を受診し甲状腺機能検査を希望した妊婦8,496名の乾燥濾紙血液であり、その平均妊娠週数は12.9週であった。さらに、妊婦の承諾が得られた2つの医療機関ではスクリーニングで抗HTLV-I抗体陽性の妊婦33例については血清の採血も行った。

2-2 検査方法

- (1) PA法 (SERODIA-ATLA, 富士レビオ株式会社)⁷⁾は直径4.5mmの濾紙3枚にキット添付の血清希釈液0.12mlを加え3時間振とう溶出し8倍希釈液とし、血清と同様の操作を行い16倍希釈で凝集があるものを陽性とした。さらに、陽性例では定量も行った。
- (2) ELISA法 (Eitest-ATL, エーザイ株式会社)⁸⁾は直径3mmの濾紙2枚を抗原固相マイクロプレートウェルに入れキット添付の反応液0.12mlを加え、以後血清と同様の操作を行うが、第1インキュベーション時間を3時間と長くすることにより適切な感度を得た。カットオフ値は陰性コントロールの吸光度の2.5倍とし、各検体の吸光度をカットオフ値で除した値をカットオフインデックスとし、1以上を陽性とした。
- (3) IF法はMT-1細胞を用いて行い、最終希釈倍数の逆数を抗体価とした。
- (4) WB法はHTLV-Iのgag蛋白であるp-15, p-19, p-24, p-53を認識する抗体の有無を指標にして行った(本測定は富士レビオ社に依頼した)。

3. 結 果

3-1 濾紙血液抗HTLV-I抗体の安定性

抗HTLV-I抗体がPA法で64倍の濾紙血液を、4℃、25℃、37℃で4週間保存した結果、4℃では変化が認められなかった。25℃では2週間は安定で

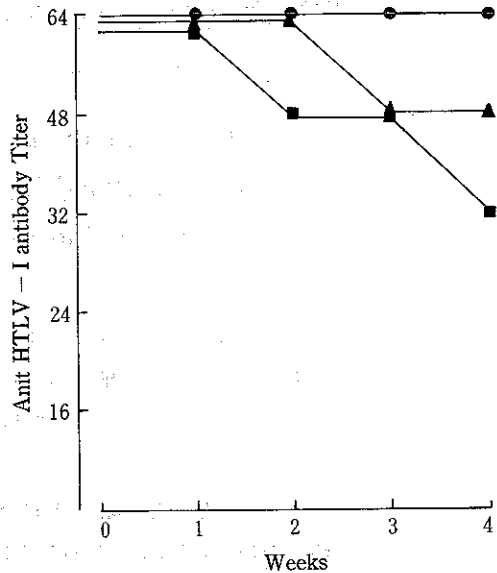


図1 乾燥濾紙血液中の抗HTLV-I抗体の安定性
保存条件 ●・4℃, ▲・25℃, ■・37℃

あったが、3週から4週で48倍に低下した。37℃では1週間は安定で、2週から4週で32倍まで低下した(図1)。

3-2 PA法とELISA法での血清と濾紙血液との相関

PA法では抗HTLV-I抗体陽性者31名の同時に採血した血清と濾紙血液との抗体価の相関係数は $r=0.97$ であり(図2), ELISA法での14名では相関係数をカットオフインデックスとして表すと $r=0.82$ であった(図3)。

3-3 スクリーニングの結果

PA法でスクリーニングされた8,496名の妊婦では103名(1.2%)が陽性となった。血清の採取が可能であった2施設のPA法陽性者にたいしては確認検査としてIF法またはWB法を行った。医療機関-1の妊婦1,214名で濾紙血液PA法陽性者は19名(1.6%), IF法陽性者は10名(0.82%)であり、医療機関-2の妊婦1,234名で濾紙血液PA法陽性者は11名(0.89%), WB法陽性者は8名(0.65%)であった。濾紙血液ELISA法での陽性者はIF法及

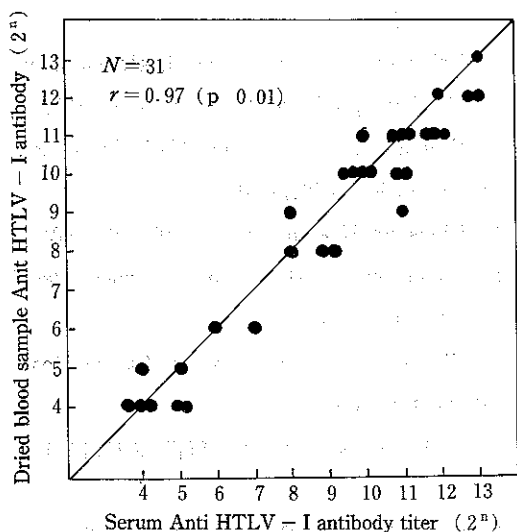


図2 PA法における血清と乾燥濾紙血との相関

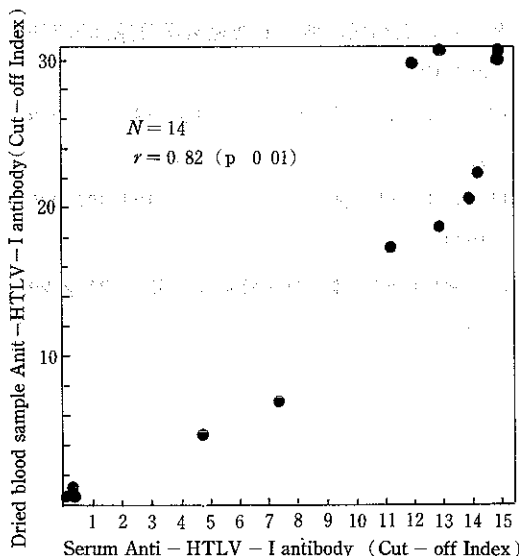


図3 ELISA法における血清と乾燥濾紙血との相関

びWB法の陽性者と一致していた(表1)。

PA法陽性者の抗体価と外の3種の測定法の陽性者を比較すると、PA法256倍以上ならば全例ELISA法、IF法、WB法のいずれも陽性であった。PA32倍でELISA法、WB法で陽性を示した1例を除き、128倍以下では全例いずれの方法でも陰性であった。

表1 札幌市における妊婦の抗HTLV-I抗体の保有率

	検査数	PA法	ELISA法	IF法	WB法
札幌市全体	8,496	103 (1.2%)			
医療機関-1	1,214	19 (1.7%)	10/19 (0.82%)	10/19 (0.82%)	
医療機関-2	1,234	11 (0.9%)	8/11 (0.64%)		8/11 (0.64%)

4. 考 察

乾燥濾紙血液中の抗HTLV-I抗体価は室温でも2週間は変化が無く安定なことから郵送による検体の収集が可能であり、さらに4℃では少なくとも4週間は安定であったことから長期間の保存も可能であり乾燥濾紙血液によるサンプリングの有用性が確認された。

乾燥濾紙血液を用いる抗HTLV-I抗体の検査法としてPA法とELISA法を比較すると、両測定法共に偽陰性例が無く100%の測定感度を有していた。一方、特異性ではPA法がIF法に対して52.6%、WB法に対して72.7%であったが、ELISA法ではIF法及びWB法のいずれに対しても100%と完全に一致しているが、操作が複雑で反応温度や反応時間に制約があることから、マススクリーニング法としては簡便で偽陰性がないことからPA法が優れていると考えられた。しかしPA法では偽陽性率が20-40%もあることから2次スクリーニングとして同一濾紙血液にてIF法及びWB法と相関の高いELISA法を行うことにより特異性をほぼ100%にすることができ、より精度の高いスクリーニングが可能となった。実際に、札幌市内の医療機関を受診した妊婦の抗HTLV-I抗体の保有率はPA法で1.2%であり、確認試験により最終的にはIF法で0.82%、WB法で0.65%となり、従来報告されている北海道全域の女性を対象とした報告の0.74%⁹⁾とほぼ一致していたことから、1次スクリーニ

ングとしてのPA法による乾燥濾紙血液を用いる抗HTLV-I抗体の検査法は信頼性があり、2次スクリーニングとしてELISA法を導入することで簡便で迅速なスクリーニングシステムとすることができる。さらに、妊婦への告知、児への母乳の遮断を勧めるためには、乾燥濾紙血液で陽性の妊婦に対して血清の採取によりIF法及びWB法で最終の確認検査を行う必要がある。

HTLV-Iのキャリアー発生の主要経路である母子間垂直感染の予防には妊婦の抗HTLV-I抗体のスクリーニングは必須であるが、PA法、ELISA法、IF法、WB法で不一致例もあることから^{10,11,12}、今後はウィルス抗原の検索も含めてさらにスクリーニング法の検討が必要であると考えられる。

5. 結 語

PA法とELISA法による乾燥濾紙血液を用いる抗HTLV-I抗体の測定法を検討した結果、スクリーニング法として有用であることが確認された。本法により行った札幌市内の医療機関を受診した妊婦の抗体保有率は最終確認検査では0.65% - 0.82%であった。

6. 文 献

- 1) Takatsuki, K. et al : Topics in Hematology, 73-77, Excerpta Medica, (Amsterdam), 1977.
- 2) Hinuma, Y. et al : Proc Natl. Acad. Sci. USA, 78, 6476-6480, 1981.
- 3) Kinoshita, K. et al : Gann, 75, 103-105, 1984
- 4) Ymanouchi, S. et al : Jpn. J. Cancer Res., 76, 481-487, 1985.
- 5) Kinoshita, K. et al : Jpn. J. Cancer Res., 79, 1174-1153, 1985
- 6) 一条元彦, 他 : 日本医事新報, 3627, 11-14, 1986.
- 7) Ikeda, M. et al : Gann, 75, 845-848, 1984.
- 8) Taguchi, H. et al : Gann, 74, 185-187, 1983.
- 9) 岩永美知代, 他 : 北海道医学雑誌, 60, 876-884, 1985
- 10) 宮本寛治, 他 : 医学のあゆみ, 134, 377-378, 1985
- 11) 吉田 勉, 他 : 医学のあゆみ, 136, 387-388, 1986
- 12) 植松俊昭, 他 : 日本輸血学会雑誌, 34, 2-29, 1988