

1988年度の北海道における AIDS 血清検査

Serological Test of AIDS in Hokkaido in 1988

泉 敏彦 野呂 新一 桜田 教夫

Toshihiko Izumi, Shinichi Noro and Norio Sakurada

当所では、1986年4月より後天性免疫不全症候群(Aquired Immunodeficiency Syndrome: AIDS)の抗体検査を酵素免疫法(Enzyme Immunoassay: EIA法)、間接蛍光抗体法(Indirect Immunofluorescence Assay: IFA法)及びウェスタンブロット法(Western Blot: WB法)を用いて行っているが¹⁾、今回は、1988年4月より1989年3月までの期間のHIV抗体検査結果について報告する。

表1にHIV抗体月別検査数(EIA法によるスクリーニング試験数とIFA法及びWB法の併用による確認試験数

の合計)とHIV抗体陽性件数を示す。検査数は期間中を通じて、おおむね月70~100件程度であった。男女別の件数の推移も男女共に期間中大きな変動は認められず、男性では月20~40件、女性では月50~60件程度であり、性別比(女性数/男性数)も期間中を通じて1.5~2程度であった。

陽性件数については、のべ15件であったが、本期間に新たに陽性と判定された件数は4件であり、いずれも男性であった。陽性者の病歴等の詳細については不明であった。

表1 HIV抗体月別検査成績

年	月	件数	(男性、女性、不明)	陽性数	(男性、女性、不明)	
1988	4	111	(43 , 61 , 7)	1	(1 , 0 , 0)	
	5	95	(28 , 60 , 7)	0	(0 , 0 , 0)	
	6	104	(30 , 68 , 6)	3	(3 , 0 , 0)	
	7	84	(32 , 49 , 3)	2	(2 , 0 , 0)	
	8	79	(21 , 51 , 7)	0	(0 , 0 , 0)	
	9	104	(39 , 61 , 4)	3	(3 , 0 , 0)	
	10	74	(21 , 46 , 7)	0	(0 , 0 , 0)	
	11	77	(21 , 52 , 5)	1	(1 , 0 , 0)	
	12	87	(25 , 58 , 4)	2	(2 , 0 , 0)	
	1989	1	98	(33 , 60 , 5)	1	(1 , 0 , 0)
	2	63	(17 , 44 , 2)	0	(0 , 0 , 0)	
	3	81	(33 , 44 , 4)	2	(2 , 0 , 0)	
総件数		1,057	(343 , 653 , 61)	15*	(15 , 0 , 0)	

*同一人物の重複を含むのべ件数

EIA法によるスクリーニング試験では、6件の偽陽性を認め、今回の確認試験法との一致率(確認試験陽性数/スクリーニング試験陽性数)は約72%であった。

IFA法では、陽性例はいずれもリンパ球の辺縁部のみが発光する典型的なIFA陽性パターンを示し、抗体価の分布

は40~1280倍であった。

WB法では、15件の陽性例の内14件にGP110及びGP41抗体が共に認められ、他の1件ではGP110抗体のみが認められた。またHIV感染の後期になると消失すると言われているP25及びP18抗体については^{2,3)}、両抗体共に認めた

もの13件、P25抗体のみ有するもの1件、両抗体共に認めなかつたもの1件であり、P18抗体のみを有するものは認められなかつた。

図1に本期間に新たに陽性と判定された4件のWB法における発色パターンを示す。4件すべてにGP110及びGP41抗体を認め、また3件にP25及びP18抗体を認めたが、1件(図1の右から2番目)についてはP25抗体は認めたものの、P18抗体は確認できなかつた。

一方、人血由來の各種臨床検査試薬(対照血清等)20件についてHIV抗体検査を実施したところ、スクリーニング試験において7件が陽性となつたが、これらはいずれも図2にも示す通り、確認試験では陰性であった。

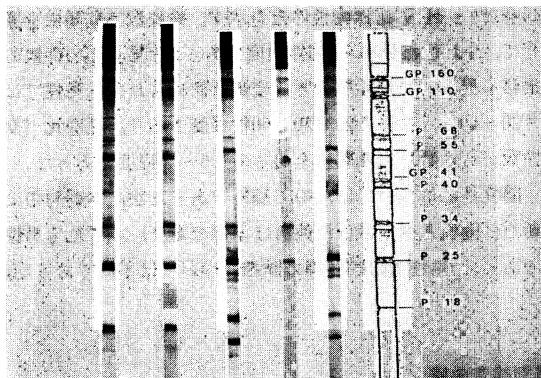


図1 HIV抗体陽性血清のWB法における発色パターン
—

右端：陽性対照血清

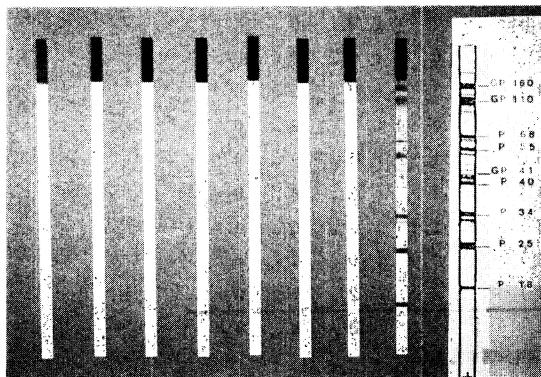


図2 人血由來の各種検査用試薬のうち、EIA法において陽性反応(いずれも確認試験では陰性)を示した例のWB法における発色パターン

右端：陽性対照血清

また、これまでに実施している検査法以外に、HIV感染者の経過観察(感染ステージの把握)の一助とする目的で、試験的にGP41&P25抗体(エンブコア抗体)及びP25抗原の測定を開始した。

GP41&P25抗体測定はダイナポット㈱のHIVエンブコア・EIA「アボット」を使用した。測定原理は競合法を利用したEIA法により検体中のHIA抗体を検出するものである。即ち、HIVエンベロープ抗原(GP41)またはP25抗原を結合させたビーズに対し検体中の抗体と酵素標識抗体とを競合反応させた後、基質を加えて発色させ、その発色の強さを492nmで測定する。

結果の判定についてはブランク(酵素基質液300μl+1N HCl 1ml)でバックグラウンド調製した後の3本の陰性コントロールの吸光度が各々0.400以上1.999以下であり、かつ陰性コントロールの相加平均値($NC\bar{x}$)の0.5~1.5倍の範囲に入ること(3本の陰性コントロールの吸光度のうち、1本が範囲からはずれた時は残りの2本で平均値を求め、2本以上はずれた時は検査をやり直す)、及び2本の陽性コントロールの吸光度が各々0.000以上かつ0.150以下であることを確認して陽性コントロールの相加平均($PC\bar{x}$)を算出し、 $NC\bar{x}-PC\bar{x}$ を求めた。この値が0.400未満の場合には検査をやり直し、0.400以上の場合には次式に従ってインヒビション%を算出した。

$$\text{インヒビション\%} = 100 \times \frac{(NC\bar{x} - \text{検体吸光度})}{(NC\bar{x} - PC\bar{x})}$$

インヒビション%が50%以上の検体は陽性と判定し、50%未満の時は陰性と判定した。また、2回の測定の結果が一致しない場合は再測定を行つた。

一方、P25抗原測定は同じくダイナポット㈱のHIV抗原・EIA「アボット」を使用した。測定原理はサンドイッチ法を利用したEIA法により検体中のHIV抗原を検出するものである。即ち、検体中の抗原をHIV抗体ビーズ(以下ビーズ)上のHIV抗体と結合させ、次に抗HIV抗体及び酵素標識抗IgG抗体を加えて、(ビーズ) — (HIV抗原) — (抗HIV抗体) — (酵素標識抗IgG抗体)という複合物を形成させる。更にこれに基質を加えて発色させ、その発色の強さを492nmで測定する。

結果の判定についてはブランク(酵素基質液300μl+1N硫酸1ml)でバックグラウンドで調製した後の3本の陰性コントロールの吸光度が各々0.010以上0.150以下であり、陰性コントロールの相加平均値($NC\bar{x}$)の0.5~1.5倍の範囲に入ること($NC\bar{x} \leq 0.012$ の時は、3本の陰性コントロールの吸光度が $NC\bar{x} \pm 0.006$ の範囲であることを確認する。なお、3本のうち1本が範囲からはずれた時は残りの2本で平均値を求め、2本以上はずれた時は検査をやり直す。)を

確認した上で、陽性コントロールの相加平均 ($PC\bar{x}$) から $PC\bar{x} - NC\bar{x}$ を求める。この値が0.400未満の時は検査をやり直し、0.400以上の場合には次式に従ってカットオフ値 (C.O.) を求めた。

$$C.O. = NC\bar{x} + 0.050$$

カットオフ値未満の検体は陰性とし、カットオフ値以上の検体はリアクティブと判定し、再検査する。再検査の結果再びリアクティブと判定された検体は陽性と判定する。

エンブコア抗体測定及びP25抗原測定結果と従来から行っているWB法によるHIV抗体測定結果を表2に示す。

これらの抗体及び抗原の測定は図3に示すように、HIV感染ステージの把握に或る程度有用であるとの見解がある^{4,5)}。

今回の測定結果では、WB法でGP41及びP25抗体が確認されたケースにおいては、エンブコア抗体測定法でも両抗体共に陽性であり、両抗体測定法の結果に一致が認めら

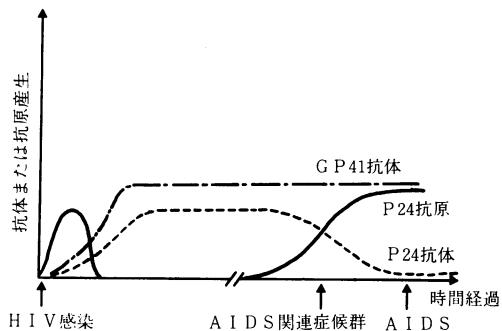


図3 HIV 感染後の HIV マーカーの推移推定図⁴⁾

れた。一方、P25抗原については全例陰性であり、特に何らかの評価を行うまでは至っていないため、今後も検査を進めつつ、幅広い症例についてデータの蓄積を行っていく必要性が示唆された。

表2 各種 HIV 抗原および抗体測定法による結果の比較

測定法	測定対象	A	B	C	D	E	F	G	H	I
HIV抗原測定	P25 Ag	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Envcore抗体測定	GP41 Ab	P	P	P	P	P	P	P	P	P
	P25 Ab	P	P	P	P	P	P	P	P	P
Western Blot法	GP110 Ab	3+	2+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+
	GP41 Ab	2+	+	+	2+	+	+	+	2+	±
	P25 Ab	4+	4+	4+	4+	4+	2+	+	4+	±
	P18 Ab	4+	2+	3+	+	4+	+	4+	2+	+

A～I：被験者
Ag：抗原
Ab：抗体
P：陽性
N：陰性
±：極めて弱い発色
+：弱い発色
2+：中程度の発色
3+：強い発色
4+：極めて強い発色

WB法の問題点として、ロット間のばらつきが比較的大きく、特に経時変化を追跡する場合には同一ロットのキットで測定を行う必要性が指摘されているが、今回行ったエンブコア抗体測定法及びP25抗原測定法は比較的の再現性が高いとの評価もあるため⁶⁾、今後も試験的な測定を行いつつ導入へ向けて検討を行っていきたい。

また、P18抗体の消長はHIV感染ステージの推移を把握する上で、P25抗体よりも鋭敏なマーカーとなりうるとの報告もあるため⁷⁾、今後はWB法においてはこのP18抗体にも注目し、前記マーカーと合わせて総合的なHIV感染ステージの把握を行うべく検討を続けていきたいと考える。

文 献

- 1) 泉 敏彦他：北海道立衛生研究所報, 38, 24 (1988)
- 2) Schüpbach, J. et al.: New Engl J Med., 312, 765 (1985)
- 3) Lange, J. M. A. et al.: Br Med J., 293, 1459 (1986)
- 4) Pedersen, C., et al.: Br Med J., 295, 567 (1987)
- 5) Allain, J. P., et al.: New Engl J Med., 317, 1114 (1987)
- 6) 八森 啓他：臨床免疫, 21, 423 (1989)
- 7) 景山誠二他：第36回日本ウイルス学会総会演説抄録, 89 (1988)