EIA 法による AIDS ウイルス (HIV) 抗体測定法とその確認法

小 林 進 山 本 直 樹

山口大学医学部寄生虫学教室

(昭和61年11月25日受付)

EVALUATION AND CONFIRMATION OF THREE ENZYME IMMUNOASSAYS FOR ANTIBODIES TO HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS (HIV)

Susumu Kobayashi and Naoki Yamamoto

Department of Virology and Parasitology, Yamaguchi University School of Medicine,
Ube, Yamaguchi-ken, Japan 755

The transmission of human immunodeficiency virus (HIV) with blood transfusion or blood products can be preventable with elimination of anti-HIV positive blood. For this purpose, we evaluated three enzyme immunoassay (EIA) kits for anti-HIV antibodies, Abbott, Behring and Pasteur, using a number of sera from various sources. Comparative studies was carried out with indirect immunofluorescence (IF) assay. The frequencies of anti-HIV with three assay kits in total 308 samples of the individuals belonging to high risk group (116 Japanese hemophiliacs, 119 American patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) or AIDS-related complex (ARC), 54 American homosexual men and 19 Japanese homosexual men) were 184 (59.7%), 176 (57.1%), 172 (55.8%) and 168 (54.5%) by Abbott, Behring, Pasteur and IF, respectively. The coincidence rate of the results with each kits of Abbott, Behring and Pasteur and IF were 91.3%, 95.4%, 97.6%, respectively. The frequencies of anti-HIV antibodies with the three kits in total 722 samples of non-risk group of Japanese (85 hemodialysis, 26 SLE, 57 patients with malignancy, 398 anti-ATLA positive individuals, 26 patients with another diseases and 130 controls) were 26 (3.6%), 51 (6.9%), 5 (0.7%) by Abbott, Behring and Pasteur kits, respectively. However, all of them sera were found to be negative by IF method. The sera that were positive by IF were also positive by the three kits consistently. Frequency of the IF positive sera in those positive by the three EIA was 98.8% (168/170). However, two sera positive by all three EIA kits were negative by repeated test with Abbott and Behring kits. Rate of false positive of sera which were but negative by IF was 89.6% (86/96) positive by at least one of the three EIA kits. Thus, in the laboratory where IF, Western blot or radioimmunoprecipitation methods are not available, it is recommended to apply more than three kits concomitantly for the screening of the anti-HIV antibodies. Use of plural different kits is expected to provide the same level of specificity and sensitivity as the IF method.

AIDS (後天性免疫不全症候群)は1981年にアメリカで最初に確認され、報告された¹⁾。その後の疫学的研究により、男性同性愛者、静注による麻薬常習者、血友病患者、などが high risk 者であること、また AIDS 患者との性的接触者、汚染血液の輸血を受けた者にも発症することが報告されている²⁾。

アメリカでは1986年1月までに輸血が原因とさ

れる AIDS 患者が261名、ウイルスで汚染された血液製剤が原因と考えられる血友病患者で124名の AIDS 患者が報告されている³⁾。日本では輸血による AIDS の報告はまだないが、1986年9月現在21名の AIDS 患者が報告されており、血友病患者が11名 (うち8名、死亡)、男性同性愛者10名 (うち5名死亡) となった。

日本では1986年2月 Abbott 社の HTLV-III-

EIA キットが輸入許可され、日赤血液センターでは献血者の抗 HIV (Human immunodeficiency virus) 抗体のスクリーニングが東京、大阪で開始されている。すでに献血者89万検体の中から6名の抗体陽性者が検出されている。現在、わが国で輸入、認可がすすめられている検査キットはEIA法11社、凝集法1社である³⁾⁴⁾。EIA法による検査キットはいずれも多かれ少なかれ偽陽性 (false positive) を示す検体があることが指摘されている⁵⁾⁶⁾¹⁴⁾。各メーカーはいずれもこの false positive と真の陽性検体を確認する方法に苦慮しているのが現状である。

今回我々は供血者のスクリーニング用検査キットとして開発された3社のキットの評価および真の HIV 抗体を確認する方法について検討した。

材料と方法

1. 血清

High risk 者血清として血友病患者血清116検体、アメリカ人 AIDS 及び ARC 患者血清119検体、アメリカ人男性同性愛者血清54検体、日本人男性同性愛者血清19検体、計308検体、non-risk 者血清として頻回輸血歴のある透析患者血清85検体、全身性エリテマトーデス (SLE) 患者血清26検体、急性白血病、慢性白血病、悪性リンパ腫などを含む悪性疾患患者血清57検体、ATLA 抗体陽性血清398検体、免疫不全患者、頻回輸血患者、血友病患者家族などを含む、その他血清26検体、医学部学生・教室員血清130検体、計722検体、合計1,030検体を用いた。これらの血清は全て-20℃に保存したものを用いた。

2. EIA キット

Abbott の HTLV-III・EIA「アボット」、Behring の Enzygnost-Anti-HTLV-III および Diagnostics Pasteur の ELAVIA の3種のキットの提供を受け、使用方法は全て各キットの添付説明書に従って実施した。

High risk 者血清については同一検体を3種の EIA キットと間接蛍光抗体 (IF) 法で抗 HIV 抗体測定を行なった。Non-risk 者血清については同一検体を3種 EIA キットで測定し、いずれかのキットで陽性を示した検体については IF 法で確認を

行なった。測定は実践に即した方法で各キットを評価する目的で原則として再検査は行っていない。

3. 間接蛍光抗体 (IF) 法

HTLV-III 感染 H9細胞⁷⁾を抗原として、被検血清を PBS で10倍希釈し、FITC 標識抗ヒト IgG 抗体を用いて、日沼ら⁸⁾の方法に従って行った。HTLV-III 感染 H9細胞は全細胞の5~10%の細胞がウイルス抗原を発現しており、抗 HIV 抗体陽性血清と反応して特異的蛍光像を示し、大部分 (95~90%) の細胞は陰性像を示した。これらのことから HTLV-III 感染 H9細胞は未知検体の特異的蛍光像を判定するのに適した細胞である。なお IF 法には HIV 抗体陽性の血友病患者血清を陽性対照として用い、同時に同様に処理した。

4. Radioimmunoprecipitation (RIP) 法

HTLV-III 感染 MOLT-4細胞⁹⁾を50 μ Ci/ml, ³H-leucine 存在下で16時間培養後、培養上清から³H-leucine 標識ウイルスを蔗糖濃度勾配遠心法で精製し、小柳ら¹⁰⁾の方法に従って RIP 法を行った。判定は HTLV-III のエンベロープ蛋白、gp120 に対する特異反応を指標にした。

結 果

1. 3 種 EIA キットの抗 HIV 抗体陽性率

血友病患者血清116検体、アメリカ人 AIDS 及び ARC 患者血清119検体、アメリカ人男性同性愛者血清54検体、同日本人血清19検体の high risk 者血清について、Abbott, Behring, Pasteur の各 EIA キット及び IF 法を用いて、同一検体について抗 HIV 抗体検査を実施した。その結果を表1に示した。

血友病患者血清116検体中 Abbott, Behring, ELAVIA の各 EIA キットではそれぞれ45 (38.8%), 45 (38.8%), 43 (37.1%) 例が陽性を示し、IF 法では41例が陽性を示し、1例は非特異反応が強く判定が困難であった。この検体については IF 法より感度及び特異性の高い RIP 法を行った結果陽性を示した。この検体も入れると IF 法による血友病患者の抗 HIV 抗体陽性率は36.2%であった。

アメリカ人 AIDS 及び ARC 患者血清119検体

表1 High risk 者の各測定キットの抗 HIV 抗体陽性率

検体名	検体数	Abbott	Behring	ELAVIA	IF
血友病 1985以前	53	10(18.9)	10(18.9)	9(17.0)	9(17.0)
1985以後	63	35(55.6)	35(55.6)	34(54.0)	32+1 ^R (52.4)
合 計	116	45(38.8)	45(38.8)	43(37.1)	41+1 ^R (36.2)
アメリカ人 AIDS & ARC	119	116(97.5)	117(98.3)	116(97.5)	115(96.6)
男性同性愛者 アメリカ人	54	16(29.6)	10(18.5)	10(18.5)	8(14.8)
日本人	19	7(36.8)	4(21.1)	3(15.8)	3(15.8)
合 計	73	23(31.5)	14(19.2)	13(17.8)	11(15.1)
総 合 計	308	184(59.7)	176(57.1)	172(55.8)	167+1 ^R (54.5)
IF 法との一致率		91.3%	95.4%	97.6%	100.0%

+1^R: RIP(+)

表2 Non-risk 者の各測定キットの抗 HIV 抗体陽性率

検体名	検体数	Abbott	Behring	ELAVIA	IF
透析患者	85	0(0.0)	4(4.7)	1(1.2)	0(0.0)
SLE 患者	26	0(0.0)	1(3.8)	0(0.0)	0(0.0)
悪性疾患患者	57	5(8.8)	2(3.5)	0(0.0)	0(0.0)
ATLA 抗体陽性者	398	10(2.5)	35(8.8)	4(1.0)	0(0.0)
その他血清	26	6(23.1)	5(19.2)	0(0.0)	0(0.0)
医学部学生・教職員	130	5(3.8)	3(2.3)	0(0.0)	0(0.0)
合 計	722	26(3.6)	51(6.9)	5(0.7)	0(0.0)

ではそれぞれの EIA キットで116 (97.5%), 117 (98.3%), 116 (97.5%) 例が陽性を示し, IF 法では115 (96.2%) 例が陽性を示した。男性同性愛者血清73検体ではそれぞれ23 (31.5%), 14 (19.2%), 13 (17.8%) 例が陽性を示し, IF 法では11 (15.1%) 例が陽性を示した。

これらの High risk 者血清308検体では3種 EIA キットでそれぞれ184 (59.7%), 176 (57.1%), 172 (55.8%) 例が陽性を示し, IF 法では168 (54.5%) 例が陽性を示した。3社の各 EIA キットで陽性を示めた検体の IF 法との一致率はそれぞれ91.3%, 95.4%, 97.6%であった。3社の EIA キットは IF 法で陽性を示した検体はいずれもすべて陽性を示した。IF 陽性・EIA 陰性を示す検体, いわゆる false negative を示す検体は1例も検出されなかった。しかし, いずれのキットも EIA 陽性・IF 陰性を示す検体, いわゆる false positive を示す検体が検出された。

頻回輸血歴のある透析患者血清85検体, SLE 患者血清26検体, 急性白血病, 慢性白血病, 悪性リンパ腫などを含む悪性疾患患者血清57検体, ATLA 抗体陽性血清398検体, 免疫不全患者, 頻回輸血者, 血友病患者家族などを含むその他血清26検体, 医学部学生・教職員血清130検体, 計722検体の non-risk 者血清について3社の EIA キットを用いて抗 HIV 抗体スクリーニングを行ないいずれかのキットで陽性を示した検体については IF 法で確認を行なった。その結果を表2に示した。

透析患者血清85検体では Behring, ELAVIA のキットではそれぞれ4, 1例が, SLE 患者血清26検体では Behring のキットで1例が, 悪性疾患患者血清57検体では Abbott, Behring のキットでそれぞれ5, 2例が, ATLA 抗体陽性血清398検体では Abbott, Behring, ELAVIA のキットでそれぞれ10, 35, 4例が, その他血清26検体では Abbott,

表3 Abbott CI 値の分布

表4 Behring CI 値の分布

CI 値	High risk 者			Non-risk group	合計
	血友病患者	AIDS & ARC 患者	男性同性愛者		
<0.2	5			15	20
0.2-0.3	13		8	99	120
0.3-0.4	23		1	135	159
0.4-0.5	13		7	154	174
0.5-0.6	8	2	12	127	149
0.6-0.7	3		7	84	94
0.7-0.8	3		6	50	59
0.8-0.9	2		7	18	27
0.9-1.0	1	1	2	14	18
1.0-1.1			0/1*	0/8	0/9
1.1-1.2	0/2		0/2	0/3	0/7
1.2-1.3		0/1	0/2	0/1	0/4
1.3-1.4	0/1		0/1	0/4	0/6
1.4-1.5			0/1	0/2	0/3
1.5-1.7	1/1	1/1	0/1	0/1	2/4
1.7-2.0			0/2	0/4	0/6
2.0-2.5	1/1		0/2		1/3
2.5-3.0	1/1	1/1		0/2	2/4
3.0-4.0			2/2	0/1	2/3
4.0-5.0	1/1	4/4			5/5
5.0-7.0	1/1	15/15			16/16
7.0-10.0	7/7	50/50	4/4		61/61
10.0-15.0	20 ^R /20	44/44	5/5		69 ^R /69
≥15.0	10/10				10/10
合 計	116	119	73	722	1030
EIA(+)	45	116	23	26	210
IF 法(+)	41+1 ^R	115	11	0	167+1 ^R

* : IF(+)/EIA(+), 1^R : RIP(+)

CI 値	High risk 者			Non-risk group	合計
	血友病患者	AIDS & ARC 患者	男性同性愛者		
<0.2	1				1
0.2-0.3	6		6	13	25
0.3-0.4	22		12	126	160
0.4-0.5	27	1	14	184	226
0.5-0.6	8		14	145	167
0.6-0.7	4	1	5	97	107
0.7-0.8	3		7	50	60
0.8-0.9			1	36	37
0.9-1.0				20	20
1.0-1.1	0/1*			0/14	0/15
1.1-1.2				0/8	0/8
1.2-1.3		0/1	0/1	0/6	0/8
1.3-1.4	0/1			0/1	0/2
1.4-1.5			0/1	0/2	0/3
1.5-1.7	0/1			0/1	0/2
1.7-2.0				0/2	0/2
2.0-2.5			1/1	0/3	1/4
2.5-3.0		0/1	0/1	0/2	0/4
3.0-4.0		7/7	1/1	0/5	8/13
4.0-5.0	3/3	17/17	1/1	0/1	21/22
5.0-7.0	4/4	34/34	6/6	0/1	44/45
7.0-10.0	17/17	27/27	2/2	0/2	46/48
10.0-15.0	10 ^R /10	17/17		0/2	27 ^R /29
≥15.0	8/8	13/13			21/21
合 計	116	119	73	722	1030
EIA(+)	45	117	14	50	226
IF 法(+)	41+1 ^R	115	11	0	167+1 ^R

* : IF(+)/Behring(+), 1^R : RIP(+)

Behring のキットでそれぞれ 6, 5 例が, 医学部学生・教室員血清130検体では Abbott, Behring のキットでそれぞれ 5, 3 例が陽性値を示した。これらの EIA 法で陽性を示した検体を IF 法で確認した結果すべて陰性を示した。これらの Non-risk 者血清722検体中 Abbott, Behring, ELAVIA の各キットでそれぞれ26 (3.6%), 51 (6.9%), 5 (0.7%) 例が陽性を示したがいずれも IF 法で陰性であることから false positive と考えられる。これらの検体の多くは同一キットで再検査をすると陰性化することから EIA 法は感度が高く, 操作法が煩雑であることから technical error を発生し易いことを示している。

2. Abbott EIA 法の抗体価分布

Abbott EIA キットの cut off 値は実験毎に多少変動を示すので, 抗体価は測定値を cut off 値で割った cut off index (CI 値) で表わした。すなわち, CI 値が1.0以上は陽性, 1.0未満は陰性を表わしている。今回測定した検体を high risk group と non-risk group に別けて CI 値分布を表3に示した。

今回測定した1,030検体の CI 値分布は EIA 法陰性検体では CI 値0.4~0.5を中心にほぼ正規分布を示し, 陽性検体では CI 値10.0~15.0を中心に分布し, 全体では 2 峰性の分布を示した。EIA 陽性・IF 陽性を示す検体は CI 値1.5以上に分布し, EIA 陽性・IF 陰性を示す検体は CI 値1.0~4.0の範囲に分布し, その大部分は CI 値1.5

以下に分布していた。EIA 陽性・IF 陰性を示す検体は男性同性愛者、日本人の non-risk 者が大部分であった。

3. Behring EIA 法の抗体価分布

Behring EIA キットも Abbott EIA キットと同様に実験毎に cut off 値は多少変動を示すので、抗体価は cut off 値で割った cut off index (CI 値)で示した。CI 値が1.0以上は陽性、1.0未満は陰性を表わしている。今回測定した1,030検体の抗体価の分布を表4に示した。

EIA 法陰性検体はCI 値0.4~0.5を中心にほぼ正規分布を示し、陽性検体はCI 値7.0~10.0を中心に分布し、全体では2峰性の分布を示した。EIA 陽性・IF 陽性を示す検体の大多数はCI 値2.0以上に、EIA 陽性・IF 陰性を示す検体の大多数はCI 値2.0以下に分布していた。これらの検体の大部分は男性同性愛者と日本人の non-risk 者であった。

4. ELAVIA キットの抗体価分布

ELAVIA キットは LAV (Lymphadenopathy associated virus) 感染細胞から調整した LAV・Ag 陽性抗原とウイルス未感染細胞から同様に調整した LAV・Ag 陰性抗原を固相化した well の2本立てになっており、LAV・Ag (+) の吸光度から LAV・Ag (-) の吸光度を差引いた値 (ΔA) が0.3以上を示す検体を陽性、0.3未満を陰性と判定している。吸光度差 (ΔA) が負の値を示す検体は LAV・Ag (+) well の吸光度よりも LAV・Ag (-) well の吸光度が大きいことを示している。

1,030検体の吸光度の分布を表5に示した。
EIA 陰性を示す検体は吸光度差 (ΔA) -0.05~0.05を中心にほぼ正規分布を示し陽性検体は1.50~2.00を中心に分布し、全体では2峰性の

表5 ELAVIA 吸光度の分布

吸光度差 (ΔA)	High risk 者			Non-risk group	合計
	血友病 患者	AIDS & ARC 患者	男性同 性愛者		
-1.00-0.50				1	1
-0.50-0.40					
-0.40-0.30				1	1
-0.30-0.20				1	1
-0.20-0.10	7	1	3	16	27
-0.10-0.05	5			36	41
-0.05-0.00	29		18	302	349
0.00-0.05	26		23	305	354
0.05-0.10	4	1	14	37	56
0.10-0.20	2	1	1	13	17
0.20-0.30			1	5	6
0.30-0.40	1/1*		0/1	0/1	1/3
0.40-0.50			0/1	0/2	0/3
0.50-0.75	2/3				2/3
0.75-1.00	3*/3	2/2	1/1		6*/6
1.00-1.50	12/12	19/20	5/5	0/1	36/38
1.50-2.00	11/11	39/39	1/1	0/1	51/52
2.00-2.50	8/8	23/23	3/3		34/34
≥2.50	5/5	32/32	1/1		38/38
合 計	116	119	73	722	1030
ELAVIA (+)	43	116	13	5	177
IF (+)	41+1*	115	11	0	167+1*

* : IF(+)/ELAVIA(+), 1* : RIP(+)

表6 3種 EIA キットの反応パターン

EIA キット			IF	High risk 者			Non-risk 者	合 計
Abbott	Behring	ELAVIA		血友病 患 者	AIDS & ARC	男性同 性愛者		
+	+	+	+	41	115	11	0	167
+	+	+	-	1*	1		1	1*+2
+	+	-	-			1	7	8
+	-	-	-	2		11	18	31
-	+	+	-	1				1
-	+	-	-	2	1	2	42	47
-	-	+	-			2	4	6
-	-	-	-	69	2	46	650	767
合 計				116	119	73	722	1030

1* : RIP(+),

図1 3種EIAキットの反応パターン

分布を示した。EIA陽性・IF陽性を示す検体は吸光度差0.50以上に分布し、EIA陽性・IF陰性を示す検体はcut off値をわずかに越えた0.5以下の範囲に分布していた。

5. 3種EIAキットの反応パターン

今回テストした1,030検体の反応パターンについて検討した結果を表6に示した。

IF法で陽性を示す検体はAbbott, Behring, ELAVIA 3種キットが3種共に陽性を示し、それ以外の組み合わせではIF陽性を示す検体は1例も検出されなかった。3種キットが共に陽性でIF法陰性を示す検体は3例検出された。1例はIF法で非特異反応が強く、判定困難であった検体であり、RIP法で陽性と確認された。他の2例はアメリカ人AIDS患者血清1例と日本人ATLA抗体陽性血清1例であり、再検査の結果2例共にAbbott, Behringの2種キットで陰性を示した。

2種のキットで陽性を示した検体はAbbottとBehringのキットで陽性を示したものが8例、BehringとELAVIAキットで陽性を示したものが1例であった。

単独のキットのみが陽性を示す検体は、Abbottのキットでは31例、Behringのキットでは47例、ELAVIAのキットでは6例であった。

以上の3種EIAキットの反応パターンを模式図で示したのが図1である。

3種キットが共に陽性を示す検体は、RIP法で

陽性と確認された1例を含む98.8% (168/170) がIF法陽性を示した。EIA陽性・IF陰性を示す検体、false positiveを示す検体を詳細に比較検討した結果false positiveを示した検体の90.3% (84/94)は単独のキットでのみ陽性値を示していた。これらの結果からfalse positiveを示す要因の1つにはEIAキットの抗原調整に用いた宿主細胞由来の抗原物質が夾雑物として含れており、これと非特異的に反応し、その結果陽性値を示すものと考えられる。またこれらの検体の中には再検査を繰り返すと陰性を示す検体があることからEIA法は感度が高く、操作法が煩雑であるためtechnical errorを生じ易いことを示している。

考 察

AIDSがHIVで汚染された血液及び血液製剤の輸注により伝播することが明らかにされたことから供血者の抗HIV抗体スクリーニング用の検査キットがアメリカ、フランス、イギリス、西ドイツなどで開発されており、欧米諸国では既に供血者のスクリーニングが行なわれている。わが国では1986年2月Abbottのキットの輸入許可があり、東京、大阪を中心に献血者のスクリーニングが開始されている。その結果約90万人の中から6名の抗体陽性者が確認されている。厚生省のAIDS調査検討委員会及び日赤血液センターでは抗体陽性者に知らせる方針である。現在供血者の抗体スクリーニングは世界的にELISA法で行なわれている。

ELISA法によるスクリーニングではfalse positiveの出現が問題になっている¹¹⁾。真の抗HIV抗体を確認する方法としてはIF法、Western blot (WB)法、RIP法などがあるが、IF法は自己免疫疾患患者血清(SLE, RAなど)では非特異反応が強く用い難い場合がある。WB法も特異性の問題が解決されていない面がある¹²⁾¹³⁾。RIP法はアイソトープを使用するので一般の施設では実施が困難である。

今回我々はAbbott, Behring, Pasteurの抗HIV抗体測定用EIAキットを入手する機会をえたのでこれらの3種キットの評価とfalse positiveを示す検体について詳細に比較検討を行なっ

た。血友病患者、アメリカ人 AIDS および ARC 患者、アメリカ人および日本人男性同性愛者などの high risk 者血清計308検体を用いて、同一血清について3種 EIA キットと IF 法を用いて比較検討を行った結果 Abbott, Behring, Pasteur の各キットで陽性を示した検体の IF 法との一致率はそれぞれ91.8%, 95.4%, 97.6%と良い成績を示した。また IF 法で陽性を示す検体はいずれのキットも全て陽性を示し、IF 陽性・EIA 陰性を示す検体 (false negative) は1例も検出されないことからいずれのキットも献血者のスクリーニング用には適したキットであると考えられる。次に透析患者、SLE 患者、悪性疾患患者、ATLA 抗体陽性、医学部学生・教室員血清などの non-risk 者の血清722検体を用いて、同一検体を3種 EIA キットで測定し、いずれかのキットで陽性を示した検体は IF 法で確認し、3種キットの評価と false positive を示す検体について詳細に比較検討を行った。日本人の non-risk 者血清では EIA キットで陽性を示した検体は IF 法で確認した結果全て陰性を示し、IF 法陽性を示す検体は1例も検出されなかったことから各 EIA キットの陽性率は false positive の出現率を示している。Abbott, Behring, Pasteur の陽性率はそれぞれ3.6%, 6.9%, 0.7%であり、いずれのキットも多かれ少なかれ false positive を示す検体が検出されている。

各 EIA キットの抗体価分布について見ると、Abbott のキットでは false positive を示す検体の多くは抗体価が cut off 値の1.5倍以下の範囲に分布し、日本人男性同性愛者、悪性疾患患者、ATLA 抗体陽性、その他血清のグループで検出されていた。Behring のキットでは false positive を示す検体の多くは抗体価が cut off 値の2.0倍以下の範囲に分布し、ATLA 抗体陽性、その他血清のグループで多く検出されていた。

日本人男性同性愛者およびその他血清の大部分は医療機関や検査センターから確認検査を依頼された検体であり、Abbott のキットで IF 法の結果と不一致を示す検体が多く含まれていたものと思われる。ATLA 抗体陽性血清は山口県内の医療機関で一般検査に用いられた残りの血清約6,000検

体から PA 法¹⁴⁾でスクリーニングし、抽出した検体であり、その中には非動化された検体も相当数含まれていたものと思われる。EIA 法では56℃、30分加熱すると非特異反応が起こりやすく、吸光度の上昇が認められ cut off 値以上の値を示すものが多数検出されることを小林ら⁶⁾¹⁵⁾が既に報告している。非動化の影響は Abbott, Behring のキットでは直接的に現われる。Pasteur のキットでは LAV・Ag (+) と LAV・Ag (-) の2本立になっているので吸光度の上昇は両者と同様に表われるが、ELAVIA の判定は LAV・Ag (+) と LAV・Ag (-) との吸光度差 (ΔA) で表わされるので非動化による影響は相殺され、判定結果にはほとんど表われないことを小林ら¹⁵⁾が報告している。

今回テストした1,030検体の3種キットにおける反応パターンを詳細に比較検討した結果、IF 法陽性を示す検体は全て3種キット共に陽性を示し、それ以外の組み合わせで IF 法陽性を示す検体は1例も検出されなかったこと、3種キットが共に陽性を示し、IF 法陰性を示す検体は3例検出されたが、1例は IF 法で非特異反応が強く判定困難を示した例であり、RIP 法で陽性と確認されている。他の2例は EIA 法の再検査の結果陰性を示したこと、EIA 法で偽陽性、false positive を示す検体の90%以上は単独のキットでのみ陽性を示していること、これらの結果から IF 法、WB 法、RIP 法などの確認検査の実施が困難な施設では3種以上のキットを併用すれば IF 法と同程度の感度と特異性で抗 HIV 抗体を検出することが可能であると考えられる。

要 約

1. 血友病患者、AIDS 及び ARC 患者、男性同性愛者などの high risk 者血清308検体と透析患者、SLE 患者、悪性疾患患者、ATLA 抗体陽性血清、医学部学生・教室員血清、その他の血清などの non-risk 者血清722検体合計1,030検体について Abbott, Behring, Pasteur の開発した3種の EIA キットおよび間接蛍光抗体 (IF) で AIDS ウイルス抗体測定を行い、3種 EIA キットの評価を行った。

2. high-risk 者血清308検体では IF 法で陽性を示す検体は 3 種 EIA キット共に陽性を示し、偽陰性 false negative を示す検体は 1 例も検出されなかった。EIA 法で陽性を示した検体の IF 法との一致率は Abbott, Behring, Pasteur のキットではそれぞれ 91.3%, 95.4%, 97.6% と良い一致を示した。

3. Non-risk 者血清722検体については、3 種 EIA キットで抗 HIV 抗体測定を行いいずれかのキットで陽性を示した検体は IF 法で確認を行った。Abbott, Behring, Pasteur の各キットではそれぞれ 26 (3.6%), 51 (6.9%), 5 (0.7%) 例が陽性を示したが、IF 法ではこれらの検体はすべて陰性を示した。

4. 3 種 EIA キットの反応パターンは、IF 法陽性を示す検体は全て 3 種キット共に陽性を示し、それ以外の組み合わせで、IF 陽性を示す検体は 1 例も検出されなかった。3 種キット共に陽性を示し、IF 法陰性、又は判定不能を示す検体は 3 例検出された。その内の 1 例は IF 法で非特異反応が強く判定困難であったが、RIP 法で陽性を示し、他の 2 例は 3 種キットの再検査で、Abbott, Behring のキットで共に陰性を示した。

5. 偽陽性 false positive を示す検体の 90% 以上は単独のキットのみに陽性を示した。これらの検体のうち Abbott のキットで陽性のものは CI 値が 1.5 以下に、Behring のキットでは 2.0 以下に、Pasteur のキットでは吸光度差 (ΔA) が 0.6 以下に分布していた。またこれらの検体の多くは再検査によって陰性化した。

6. 3 種キットの結果を重ね合わせ 3 種共に陽性を示す検体の 98% 以上は IF 陽性を示すことから、IF 法、WB 法、RIP 法などの確認検査の実施の困難な施設では 3 種以上のキットを併用すれば IF 法と同程度の感度と、特異性で抗 HIV 抗体を確認することが可能である。

文 献

1) Center for Disease Control: Pneumocystic pneumonia in los angeles. M.M.W.R., 30: 250, 1981.

2) Curran, J.W., Morgan, M., Hardy, H.A., Jaffe, H.W., Darrow, W.W. and Dowdle, W.R.: The epidemiology of AIDS: Current status and future prospects. Science, 229: 1352—1357, 1985.
 3) Centers for Disease Control: Update: Acquired immunodeficiency syndrome-United states. M.M.W.R., 35: 17, 1986.
 4) 吉原なみ子, 東海林寿子: 抗体測定キットの検討. 日本輸血学会誌, 32: 207, 1986.
 5) 吉原なみ子: AIDS 検査の現状と問題点について. モダンメディア, 32: 434—444, 1986.
 6) 小林 進, 山本直樹: EIA 法を用いた AIDS ウイルス抗体測定. 臨床とウイルス, 14: 231—236, 1986.
 7) Hahn, B.H., Shaw, G.M., Arya, S.K., Popovic, M., Gallo, R.C. and Wong-Staal, F.: Molecular cloning and characterization of the HTLV-III virus associated with AIDS. Nature, 312: 166—169, 1984.
 8) Hinuma, Y., Nagata, K., Hanaoka, M., Nakai, M., Matsumoto, T., Kinoshita, K., Shirakawa, S. and Miyoshi, I.: Adult T-cell leukemia: Antigen in an ATL cell line and detection of antibodies to the antigen in human sera. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 78: 6476—6480, 1981.
 9) Koyanagi, Y., Harada, S., Takahashi, M., Uchino, F. and Yamamoto, N.: Selective cytotoxicity of AIDS virus infection toward HTLV-I transformed cell lines. Int. J. Cancer, 36: 445—451, 1985.
 10) Koyanagi, Y., Hinuma, Y., Schneider, J., Chosa, T., Hunsmann, G., Kobayashi, N., Hatanaka, M. and Yamamoto, N.: Expression of HTLV-specific polypeptides in various human T cell lines. Med. Microbiol. Immunol., 173: 127—140, 1984.
 11) 栗村 敬: 輸血による AIDS の感染とその対策. Immunohaematology, 8: 165—168, 1986.
 12) 栗村 敬: 日本における LAV/HTLV-III の抗体からみた疫学調査. Pharma Medica, 4(5): 35—39, 1986.
 13) Ward, J.W., Grindon, A.J., Feorino, P.M., Schable, C., Parvin, M. and Allen, J.R.: Laboratory and epidemiologic evaluation of an enzyme immunoassay for antibodies to HTLV-III. J.M.M.A., 256: 357—361, 1986.
 14) 小林 進, 吉田 勉, 山本きよみ, 藤田一之, 渡辺和彦, 山本直樹: ATLA 抗体検出のための新しい凝集反応試薬の評価. 臨床検査, 30: 1143—1146, 1986.
 15) 小林 進, 吉田 勉, 広重幸雄, 山本直樹: 健康人の ATLA 抗体スクリーニングにおける PA 法, EIA 法の評価. 日本血液学会誌, (印刷中).
 16) 小林 進, 山本直樹: EIA 法による AIDS ウイルス (HIV) 抗体測定. ELAVIA キットの評価と実用について. 日本輸血学会誌, 33: 27—37, 1987.