抗 HTLV-I 抗体と輸血 その 3・透析患者の抗 HTLV-I 抗体陽性率の推移—特に日赤スクリーニング検査開始後の結果について—

五十嵐かおる 若杉和倫* 山根伸吾 佐々木 正明
富永和喜 延藤卓生 東 仲宣 松金 隆夫
鈴木 満

東葛クリニック 東京医科大学八王子医療センター免疫血液内科*

(平成1年5月1日受付, 同年8月21日受理)

key words : anti-HTLV-I antibody, hemodialysis, blood transfusion, particle agglutination, western blotting
〈要旨〉

透析 (HD) 患者 527 名 (1988 年 1 月) の血清中の抗 HTLV-I 抗体をゼラチン粒子凝集法 (particle agglutination test ; PA 法) および Western blotting (WB) 法にて測定し, 1984 年 5 月 332 名, 1985 年 5 月 407 名の結果と比較した。また, 1984 年, 1985 年, 1988 年の PA 陽性者の推移も合わせて検討した。1986 年 11 月より日本赤十字社にて抗 HTLV-I 抗体のスクリーニング検査が施行された。そこで, スクリーニング検査開始前, 後の抗体陽転者についても検討した。その結果,

1. 1988 年 1 月の HD 患者の PA 陽性率は 6.8% (36/527 名) で, 1984 年 5 月の 10.2% はやや高値であったが, 1985 年 5 月の 6.4% との差異は認められなかった。また, PA 陽性例の陰転化は認められなかった。
2. 1988 年 1 月の PA 陽性 36 名に WB 解析を施行したところ, WB 陽性は 30 名で WB による陽性率は 5.7% (30/527 名) であった。
3. 1985 年 5 月から 1988 年 1 月までに 5 例の PA 陽転例がみられた。5 例中 2 例は WB 陽性でいずれも日赤による抗体検査が開始された 1986 年 11 月以前の輸血による陽転と推定された。
4. また, 5 例中 3 例は WB 保留であり, 今後 PA 低力価領域でかつ WB 保留症例については経過観察とともにさらに検討を要すると思われた。

Anti-HTLV-I antibody and blood transfusion Part 3 : Changes in seropositive ratio of anti-HTLV-I antibody in hemodialysis patients—The results of after screening by the Japan Red Cross—

Kaoru Igarashi, Kazunori Wakasugi, M. D.*, Shingo Yamane, Masaaki Sasaki, M. D., Kazuyoshi Tominaga, M. D., Takuo Nobuto, M. D., Nakanobu Azuma, M. D., Takao Matsugane, Mitsuru Suzuki M. D. Tokatsu Clinic ; Department of Internal Medicine Immunohematology, Tokyo Medical College at Hachioji*

In 527 hemodialysis (HD) patients in January 1988, serum anti-human T-cell lymphotropic virus type-1 (HTLV-I) antibody was measured using particle agglutination (PA) and Western blot (WB) methods. The results were compared with those in 332 patients in May 1984 and 407 patients in May 1985. Changes in the number of PA-positive patients in 1984, 1985 and 1988 were also evaluated. Since November 1986, screening for anti-HTLV-I antibody has been conducted by the Japan Red Cross on donated units of blood products. The number of patients converted from seronegative to positive, was also compared before and after the initiation of screening of donated blood. The following results were obtained :

1. In January 1988, 36 of 527 HD patients (6.8%) showed a positive PA test result. The corresponding rate was somewhat higher, 10.2% in May 1984, and 6.4% in May 1985, with no significant difference being found

五十嵐かおる 東葛クリニック
〒271 松戸市樋野口 822 (0473-64-5121)

between that in January 1988. A positive PA reaction almost never reverts to negative.

2. In the 36 patients with a positive PA reaction in January 1988, WB analysis was performed. A positive WB response was noted in 30 patients yielding an overall rate of positive reaction of 5.7% (30/527).

3. Between May 1985 and January 1988, the PA response converted from negative to positive in 5 patients. In 2 of these 5 patients, the WB was also positive. In each of these patients, the conversion from a negative to a positive reaction was probably the result of a blood transfusion prior to November 1986.

4. In 3 of these 5 patients, the WB result was equivocal. Further studies, with a long follow-up period will be necessary to evaluate patients with a low titer PA response and an equivocal response in the WB test.

緒言

HTLV-I (human T-cell lymphotropic virus type-1) は ATL (adult T-cell leukemia) の病因ウイルスである¹⁾。その伝播様式には母子間感染²⁾、夫婦間感染³⁾があり、輸血を介する感染経路⁴⁾もある。種々の方法⁵⁻⁸⁾で、血清中の HTLV-I 関連抗原に対する抗体 (抗 HTLV-I 抗体) を検査することによって感染の有無を調べている。私共は輸血を受ける機会の多い、慢性腎不全による透析 (HD) 患者の抗 HTLV-I 抗体を調べてきた。その結果、HD 患者の抗 HTLV-I 抗体陽性率は HTLV-I の endemic area だけでなく、nonendemic area においても同地区在住の健康人に比較して高く、輸血群では非輸血群に比し著明に陽性率が高率であった^{9,10)}。

1986 年 11 月より日本赤十字社において全国的に献血者の HTLV-I、および HIV (human immunodeficiency virus) に対する抗体スクリーニング検査が実施されるようになり、それらの抗体陽性血液は輸血に供されなくなっている。そこで、1988 年 1 月現在の HD 患者の抗 HTLV-I 抗体陽性率、および陽転者の有無を 1986 年 11 月以前の結果と比較し、陽性者の年次的な推移とスクリーニング検査開始後の輸血による HTLV-I 伝播の有無を検討した。

対象および方法

通院および入院中 (1988 年 1 月現在) の HD 患者 527 名 (男性 310 名、女性 217 名) を対象とした、さらに、1984 年 5 月 332 名 (男性 196 名、女性 136 名)、および 1985 年 5 月 407 名 (男性 238 名、女性 169 名) の結果も合わせて検討した。

抗 HTLV-I 抗体の測定

1. TCL-Kan 細胞由来の HTLV-I 抗原を吸着させたゼラチン粒子を担体として用いたゼラチン粒子凝集法 (particle agglutination test ; PA 法、富士レビオ)⁶⁾にてスクリーニング検査し、未感作粒子 (最終血清希釈倍数 1 : 8) が陰性で感作粒子 (最終血清希釈倍数 1 : 16 以上) が凝集反応を示すものを陽性とした。また陽性検体については 2⁷希釈にて定量を行い、陽性を示した最終血清希釈倍数を PA 値とした。

2. PA 陽性検体はさらに Western blotting 法 (WB

法、富士レビオ)⁸⁾を施行した。TCL-Kan 細胞由来の HTLV-I 抗原を SDS-PAGE 後電気泳動的に転写したニトロセルロース膜に 31 倍に希釈した被検血清を反応させた。二次抗体に抗ヒト IgM 抗体、また IgG 抗体を用い、各々の免疫グロブリンクラスにて検出した。avidin-biotin 法にて 4-クロロ-1-ナフトール/H₂O₂ で発色後、HTLV-I 関連蛋白の p 15, p 19, p 24, p 28, および p 53 に対する抗体の band の濃淡を指標として判定した。対照として陽性対照血清、陰性対照血清を同時において、各蛋白の band の発色の強さを IgM および IgG 別に 4 段階評価で判読した。陽性対照血清 (IgG) と同程度の発色を示すときを +, band は認められるが、陽性対照血清 (IgG) に比べて薄いときを +, 僅かに発色しているが、確実性に乏しいときを ±, 全く band が認められないときを - とした。陰、陽性判定の基準は、p 53 を含む複数の band が認められ、各 band とも + 以上の発色を示すときを WB 陽性、1 つもしくは 2 つの band が認められるが WB 陽性に適合しないときを保留、また全く band が認められないか、あるいは p 24 のみが ± 程度の弱い発色を示す場合を陰性とした。

結果

1. PA 陽性率 (1988 年 1 月) および PA 陽性検体の PA 値と WB 解析

1988 年 1 月の HD 患者の 527 名中 PA 陽性者は 36 名で PA 陽性率は 6.8% であった。この 36 名に WB を施行したところ、WB 陽性者は 30 名で WB 陽性率は 5.7% (30/527 名) となった。WB 陽性を示した 30 名の PA 値は全て ×64 以上で、WB 保留は PA 値 ×16 の 3 名と PA 値 ×32 の 1 名の計 4 名、WB 陰性は PA 値 ×16 と PA 値 ×32 の各々 1 名の計 2 名であった (図 1)。

2. 各年度における PA 陽性率の推移

すでに報告した 1984 年 5 月、1985 年 5 月の HD 患者における PA 陽性率は、1984 年 10.2% (34/332 名)⁹⁾、1985 年 6.4% (26/407 名)¹⁰⁾ で、1988 年の 6.8% (36/527 名) と比較して 1984 年は高値であったが、1985 年と 1988 年の陽性率に差は認められなかった。男女別にみると、1984 年は男性 6.6%、女性 15.4%、1985 年は男性 5.9%、女性 7.1%、1988 年は男性 6.5%、女性 7.4% で各年度と

図 1 PA 陽性者 (1988 年 1 月; 36 名) の PA 値と WB 解析

PA 陽性率; 6.8% (36/527 名)
WB 陽性率; 5.7% (30/527 名)
PA ; Particle agglutination
WB ; Western blotting

表 1 各年度における PA 陽性率の推移

	1984 年 5 月	1985 年 5 月	1988 年 1 月
男性	6.6(13/196)	5.9(14/238)	6.5(20/310)
女性	15.4(21/136)	7.1(12/169)	7.4(16/217)
合 計	10.2(34/332)	6.2(26/407)	6.8(36/527)

陽性率% (陽性者数/患者数)

PA ; Particle agglutination

も女性は男性より高い陽性率であった (表 1)。

3. PA 陽性者の推移経過

1985 年 5 月の PA 陽性者 26 名のうち前年度 (1984 年 5 月) 陽性者は 18 名, 前年度未測定者は 6 名, 1984 年 5 月から 1985 年 5 月までの陽転者は 2 名であった。1988 年 1 月の PA 陽性者 36 名 (うち WB 陽性者 30 名) のうち前年度 (1985 年 5 月) の陽性者は 24 名 (23 名), 前年度未測定者は 7 名 (5 名), 新たな陽転者は 5 名 (2 名) であった。1985 年, 1988 年とも PA 陽性者の陰転化例は認められなかった (図 2)。

4. PA 陽転例の PA 値の経過

1984 年 5 月から 1985 年 5 月までに PA 陽転した 2 例のうち 1 例 (例) は 1985 年 5 月の PA 値×512 で, このとき WB は行っていない。1988 年 1 月の検査時には PA 値×8192<, WB は陽性であった。他の 1 例 (例) は 1985 年 5 月に PA 値×16 (WB 未検査), 1988 年 1 月には PA 値×32 であったが WB は陰性であった。

1985 年 5 月から 1988 年 1 月までに PA 陽転した 5 例の 1988 年 1 月の PA 値は×1024, ×64, ×32 が各々 1

図 2 PA 陽性者の推移経過

1988 年 1 月の PA 陽性検体は WB を施行した。

PA ; Particle agglutination

WB ; Western blotting

表 2 PA 陽転症例の PA 値の経過

PA 陽転症例	PA 値の推移			
	1984 年 5 月	1985 年 5 月	1988 年 1 月 (WB による判定)	
	—	512	8192<	陽 性
	—	16	32	陰 性
	NT	—	1024	陽 性
	NT	—	64	陽 性
	NT	—	32	保 留
	—	—	16	保 留
	—	—	16	保 留

NT ; Not test

1988 年 1 月の PA 陽性検体は WB を施行した。

PA ; Particle agglutination

WB ; Western blotting

例, ×16 が 2 例であった。WB の結果, PA 値×1024 (FS 例) と PA 値×64 (例) の 2 例は WB 陽性, PA 値×32 (例) と PA 値×16 (例, 例) の 3 例は WB 保留であった (表 2)。

5. PA 陽転例 (1988 年 1 月) の輸血歴

1985 年 5 月から 1988 年 1 月までに PA 陽転した 5 例のうち PA 値×1024 の 例と PA 値×64 の 例は 1985 年 5 月から 1988 年 1 月までに輸血が施行されていた。他の 3 例はこの間に輸血を受けていなかった。2 例の輸血歴を図 3 に示す。 例は 1985 年 5 月のスクリーニング検査時に PA 陰性。8 月に洗浄赤血球 2 単位, 翌年の 1986 年 3 月に濃厚赤血球 3 単位, 4 月に洗浄赤血球 2 単位を輸血していた。1986 年 11 月以前に PA を再度チェックしたとき, PA 値は×512 で陽性であった。さらに 1987 年 7 月, 10 月にも洗浄赤血球を 1 単位ずつ輸血し, 1988 年 1 月には PA 値×1024 であった。 例は, 1985 年 5 月の検査時に PA 陰性。1986 年 6 月, 7 月に洗浄赤血球を各々 2 単位ずつ輸血していた。しかし残念

図 3 PA 陽転症例の輸血歴

1985年5月から1988年1月までにPA陽転した5例のうち、この間に輸血を受けていた2例の輸血歴を示す。(－)はPA陰性、()内の数字はPA値を示す。
PA ; Particle agglutination

ながら、1985年5月以降1986年10月までにPAの測定は行っていなかった。そして、1986年11月以降輸血はなく、1988年1月にPA値は×64であった。

考案

HD患者の抗HTLV-I抗体陽性率について、endemic areaである長崎県ではその陽性率は17.0%で同地区の健康人(4.3%)に比べて高値であった¹¹⁾。また、同じendemic areaである熊本県在住のHD患者では19.7%、同地区の健康人は3.6%でHD患者の陽性率は有意に高かったと報告されている¹²⁾。一方、nonendemic areaの福井県のHD患者の陽性率は1.4%(2/142名)で、福井県の一般人口の陽性率(0.3%未満)に比べ有意に高値であったという報告もある¹³⁾。私共もnonendemic areaである千葉県でのHD患者の抗HTLV-I抗体陽性率をPA法にて1984年5月および1985年5月に調べた。その結果、1984年5月10.2%⁹⁾、1985年5月6.4%¹⁰⁾で各年度とも関東地区の健康人(0.69%)¹⁴⁾に比較して高い陽性率であった。また、1985年5月の陽性者のPA値の推移経過を短期間ではあるが観察したところ、陰転化例は認められなかった。HD患者の陽性率に地域差はあるが、どの報告も同地区在住の健康人に比し高率であった。HD患者の高陽性率の主な原因を輸血による伝播と考え、この地域差は供血者の陽性率の差に由来すると考えられる。今回日赤による抗HTLV-I抗体検査開始の前後で抗HTLV-I抗体陽性率の比較を試みた。その結果1988年1月のPA陽性率は6.8%で1984年5月(10.2%)、1985年5月(6.4%)と比較すると1984年5月はやや高値であったが、抗体検査開始前の1985年5月と後の1988年1月の陽性率に差はなかった。

1988年1月のPA陽性者36名にWBを施行したところ、PA値×64以上の30名(30/36名、83.3%)は陽

性を示したが、PA値×32以下の6名(6/36名、16.7%)は保留あるいは陰性で、PA低力価でWBの結果と一致しなかった。PA法とELISA法については以前検討した238検体のうち17検体に不一致検体が認められたことをすでに報告している¹⁵⁾。またPA法とWB法の一致率は37.7%と低く、特にPA値：×16～64で低値(21.3%)と報告されている¹⁶⁾。私共の結果では全体としての一致率は83.3%であった。WB陰性がはたして全て陰性かどうかに関してWBの感度の問題もあり、またPA陽性が全て陽性かどうかということに関しても問題があると思われる。PA法の感度以外にも他ウイルスのcross reactivityも考えられ、今後さらに検討されるべきと思われる。そこで今回はあくまでPA陽性率、WB陽性率として結果を出した。しかし現時点では一般的にPA陽性、WB陰性は抗HTLV-I抗体陰性とするべきであろうと考えている。一つの解決法としてこのような問題に対してSouthern blotting解析が進み、完全なprobeが作製されれば抗原側からの感度も上昇すると考える。

PA陽転は1984年5月から1985年5月までに2例で陽転率は0.49%(2/407名)、1985年5月から1988年1月までに5例で陽転率は0.95%(5/527名)で、1988年1月のPA陽転率は高率であった。そこで日赤による抗HTLV-I抗体調査の始まった1986年11月をはさむ、1985年5月から1988年1月までに陽転した5例のこの間の輸血歴を調べた。PA値×1024 PA値×64でWB陽性の2例は1986年11月までに赤血球系の輸血がそれぞれに7単位と4単位施行されていた。例は1986年11月のスクリーニング検査開始以前にPA陽性が確認されており、また、例は抗体検査開始以後に輸血を施行していないことから、輸血によるseroconversionと考えるならば、2例とも抗体検査開始以前の輸血による陽転と考えられた。しかし、5例中3例はこの間に輸血を全く受けていなかった。この3例のPA値は×32；1例、×16；2例で低力価であり、3例ともWBは保留であった。このような症例を私共は血液疾患症例でも経験している。長期間PA低値を持続し、WBは保留あるいは陰性である。これらのPA陽転は輸血による陽転ではなく、あるいは自然感染によるものかもしれない。腎不全患者は免疫不全、特に細胞性免疫機能の低下による易感染性が存在する。また、HTLV-I感染において、生体内で他のウイルス感染とは異なる免疫機構が働いている可能性も考えられる。今後、PA低力価、WB保留症例についてはさらに詳細な検討が必要と思われる。

結語

HD患者(1988年1月)の血清中の抗HTLV-I抗体

を PA 法および WB 法にて調べ、PA 陽性率および陽転者の有無を日赤による抗 HTLV-I 抗体スクリーニング検査開始前、後で比較した。

1) 1988 年 1 月の HD 患者の PA 陽性率は 6.8% (36/527 名)、WB 陽性率は 5.7% (30/527 名) であった。

2) 1988 年 1 月の PA 陽性率 (6.8%) を以前の結果と比較したところ、1984 年 5 月 (10.2%) はやや高値であったが、1985 年 5 月の陽性率 (6.4%) と差はなかった。

3) PA 陽性症例の陰転化例は認められなかった。

4) PA 陽転は 1984 年 5 月から 1985 年 5 月までに 2 例、1985 年 5 月から 1988 年 1 月までに 5 例みられた。

5) 1988 年 1 月の PA 陽転例 5 例中 2 例は WB 陽性でいずれも日赤による抗 HTLV-I 抗体検査開始前の輸血による陽転と推定された。

6) また、5 例中 3 例は WB 保留で、今後 PA 低力価領域でかつ WB 保留症例については経過観察とともにさらに検討を要すると思われる。

本論文の主旨は第 33 回日本透析療法学会総会で発表した。謝辞；WB キットおよび WB 法の指導をしていただいた富士レジオ中央研究所の藤野隆一氏、川戸克仁氏に深謝致します。

文献

- Yoshida M, Miyoshi I, Hinuma Y : Isolation and characterization of retrovirus from cell lines of human adult T-cell leukemia and its implication in the disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 79 : 2031-2035, 1982
- Kinoshita K, Hino S, Amagasaki T, Ikeda S, Yamada Y, Suzuyama J, Momita S, Toriya K, Kamihira S, Ichimaru M : Demonstration of adult T-cell leukemia virus antigen in milk from three sero-positive mothers. *Gann* 75 : 103-105, 1984
- Nakano S, Ando Y, Ichijo M, Moriyama I, Saito S, Sugamura K, Hinuma Y : Search for possible routes of vertical and horizontal transmission of adult T-cell leukemia virus. *Gann* 75 : 1044-1045, 1984
- Okochi K, Sato H, Hinuma Y : A retrospective study on transmission of adult T cell leukemia virus by blood transfusion : Seroconversion in recipients. *Vox Sang* 46 : 245-253, 1984
- Hinuma Y, Nagata K, Hanaoka M, Nakai M, Matsumoto T, Kinoshita K, Shirakawa S, 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 USA* 78 : 6476-6480, 1981
- Ikeda M, Fujino R, Matsui T, Yoshida T, Komoda H, Imai J : A new agglutination test for serum antibodies to adult T-cell leukemia virus. *Gann* 75 : 845-848, 1984
- Taguchi H, Sawada T, Fujishita M, Morimoto T, Niiya K, Miyoshi I : Enzyme-linked immunosorbent assay of antibodies to adult T-cell leukemia-associated antigens. *Gann* 74 : 185-187, 1983
- 若杉和倫, 坂本昌隆, 中村浩彰, 五十嵐かおる : Western blotting による抗 ATLA 抗体陽転後の経過の解析. *臨床血液* 29 : 787-794, 1988
- 若杉和倫, 山根伸吾, 小林政美, 藤野光生, 延藤卓生, 東 伸宣, 鈴木 満, 岡山和猷, 杉江三郎 : ATLA 抗体と輸血 その 1 : 透析患者の ATLA 陽性率. *腎と透析* 21 : 281-285, 1986
- 若杉和倫, 五十嵐かおる, 山根伸吾, 藤野光生, 小林政美, 延藤卓生, 東 伸宣, 鈴木 満, 岡山和猷, 杉江三郎 : ATLA 抗体と輸血 その 2 : 透析患者の ATLA 抗体価の推移. *腎と透析* 21 : 425-429, 1986
- Hino S, Kawamichi T, Funakoshi M, Kanamura M, Kitamura T, Miyamoto T : Transfusion-mediated spread of the human T-cell leukemia virus in chronic hemodialysis patients in a heavily endemic area, Nagasaki. *Gann* 75 : 1070-1075, 1984
- 松下和孝, 町田二郎, 池上奎一, 山口一成, 李 聖烈, 高月 清 : 熊本県における慢性血液透析患者の抗 ATLA 抗体についての疫学的検討. *日腎誌* 28 : 1507-1513, 1986
- 森河 浄, 黒田満彦, 秋山 敬, 河合盛光, 竹田正広 : 成人 T 細胞白血病 (ATL) 低発生地域の透析患者における ATL ウイルス関連抗原に対する抗体について. *透析会誌* 20 : 757-763, 1987
- 前田義章 : 疫学の立場から一大規模野外交渉調査より一. *日輸血会誌* 30 : 302-304, 1984
- 中村浩彰, 坂本昌隆, 若杉和倫 : 受身凝集法 (PA) と酵素免疫法による ATLA 抗体測定値について. *臨床とウイルス* 14 : 476-479, 1986
- 植松俊昭, 花田修一, 岩橋正人, 大塚真紀, 島崎 隆, 桑水流康夫, 斉藤 毅, 橋本修治, 櫻美武彦, 橋口聖一, 新原正明 : 抗 ATLA 抗体測定法 4 法 (ELISA 法, PA 法, IF 法及び WB 法) 間における抗体陽性率の比較検討. *日輸血会誌* 34 : 22-29, 1988