受身赤血球凝集反応による供血者抗 Au 抗体の検出頻度

滝 本 義 一 津 田 文 男 竹 本 好 夫*

Blumberg によるオーストラリア抗原 (以下 Au 抗原と略す) の発見¹⁾以来, Au 抗原の分布やこれを手がかりとするウイルス性肝炎の疫学や病理学的研究が広く行われてきた²⁾。しかし抗 Au 抗体に関しては, その臨床上の意義について大きな関心もたれていたにもかかわらず, それに関する報告が少ない。これは主に, 簡便で感度のすぐれた抗 Au 検出法がなかったことによると考えられる。しかるに, 近年, G. N. Vyas ら³⁾ (1970) や今井ら⁴⁾ (1971) は, 精製 Au 抗原で感作したヒト O 型血球, またはヒツジ血球を用いた受身赤血球凝集反応 (以下 PHA と略す) 法により, きわめて感度よく抗 Au を検出できることを報告した。我々はこの PHA 法を主とし, その他電気泳動法 (以下 IES 法と略す) や一元免疫拡散法 (以下 SRID 法と略す) を用いて, 供血者集団 3,768 名につき抗 Au の検出を行う一方, 免疫粘着反応 (以下 IA 法) や SRID 法を用いて Au 抗原の検出を行い, 抗 Au および Au 抗原の検出頻度などに興味ある知見を得たので報告する。

材料および方法

1) 被検試料

秋田県における供血者 3,768 名 (昭 46.12~昭 47.2) の血清について実施した。

2) 抗 Au 抗体の検出法

PHA 法: 今井らの報告⁴⁾に準じて, 供血者由来精製 Au 抗原をヒツジ赤血球に感作した。精製 Au 抗原の調製は, J. L. Gerin らの方法⁵⁾の変法によった。検出される抗 Au 抗体の特異性は, 部分精製 Au 抗原による凝集阻止反応により確認した。

IES 法: 東大病院輸血部の実施法⁶⁾に準じた。ただし, 検出感度を上げるために, 試料を入れる穴は直径 4mm とした。

SRID 法: 関根らの報告⁷⁾に基づき, 部分精製 Au 抗原を 1.2% アガロースを含む 0.01M トリス塩緩衝液と混合し, 厚さ 1mm になるようにゲル化したのち,

直径 3mm の穴をあけて試料を入れた。試料穴のまわりに沈降リングが認められる場合に陽性と判定した。

3) Au 抗原の検出法

IA 法: Mayumi らの報告⁸⁾に準じた。検出用抗体としては, ヒト由来抗 Au (信州抗体) およびモルモットに精製 Au 抗原を免疫して得た抗体の 2 種類を用いた。

SRID 法: 市販の Au 抗原検出用プレートを用いた。

結 果

1) 検出方法による検出頻度の差

Au 抗原および抗 Au の検出頻度を検出方法により比較すると, 表 1-a および表 1-b のようになった。抗

表 1. 検出方法による検出頻度の差

a. Au 抗原の場合

項目		被検体数	Au 陽性数	検 出 率
検出方法	モル抗体	3768	134	3.56%
	信州抗体	"	125	3.31
SRID 法		"	66	1.75

b. 抗 Au 抗体の場合

項目		被検体数	抗体陽性数	検 出 率
検出方法	PHA 法	3768	937	24.87%
	IES 法	"	53	1.41
	SRID 法	"	23	0.61

図 1. IES 法および SRID 法にて検出される抗体の PHA 価分布

* G. Takimoto: エーザイ株式会社研究本部; F. Tsuda: 東大医科研究免疫研究部; Y. Takemoto: 秋田日赤血液センター。

Au に関しては, PHA 法の検出率がきわめてすぐれており, IES 法の約 17 倍, SRID 法の約 40 倍であった. IES 法および SRID 法の検出限界は図 1 にみるように, PHA 価 128 倍近辺にあるといえるが, 被検抗体によっては PHA 価 32 倍のものを IES 法や SRID 法で検出することもあり, また, PHA 価 4,000 倍に達する高力価抗体を他の 2 法では検出できないことがあった.

Au 抗原に関しては, IA 法による検出率は SRID 法の約 2 倍であった. しかし IA 法の検出頻度は, すでに著者ら⁹⁾が報告したように, 使用する抗体の種類によって差が認められた. また, 信州抗体で検出される被検抗原はすべてモル抗体でも検出されたが, モル抗体によってのみ検出される抗原の中にはモル抗体での抗原価が 2 倍から 2,000 倍に達するものまでであった. これらの事実は, 抗原および抗体の特異性に帰せられるものであろう.

2) 供血者における Au 抗原および抗 Au の力価分布

供血者 3,768 名より検出された Au 抗原 134 例および抗 Au 937 例について, IA 法による抗原価分布および PHA 法による抗体価分布をみると図 2 のようになった.

図 2. 供血者にみられる抗原および抗体の力価分布

検出される抗原の 50% 以上は IA 価 1,000 倍以上を示す高力価のものであり, IA 価 32 倍以下の低力価抗原は少ないのに対し, 抗 Au に関しては, 逆に PHA 価 256 倍以下の低力価のものが大部分であり, 1,000 倍以上を示すものは少なかった.

3) Au 抗原および抗 Au の性別・年代別分布

Au 抗原および抗 Au の性別・年代別分布をまとめると表 2 のようになった. Au 抗原に関しては, 男性の保有率 3.8% に対し女性 2.4% であり男性のほうが高かった. 年代別分布では若年層ほど高い保有率を示し, 高令になると減少する傾向がみられた. このような成績は過去の多くの報告と一致する⁹⁾.

表 2. Au 抗原および抗 Au の性別・年代別分布

項目 年代	男 性			女 性		
	例数	Au 陽性	抗 Au 陽性	例数	Au 陽性	抗 Au 陽性
16~19	813	4.6%	20.9%	298	3.0%	19.5%
20~29	995	3.8	26.2	290	3.1	16.6
30~39	594	3.5	31.8	136	0.7	27.9
40~49	384	3.1	28.4	102	1.0	15.7
50以上	119	2.5	26.9	37	2.7	32.4
合 計	2905	3.8%	26.2%	863	2.4%	19.9%

抗 Au についての性別分布は, 男性 26.2%, 女性 19.9% であり, Au 抗原の場合と同様に男性のほうが高かった (この性差は, χ^2 検定で 1% 危険率で有意である). 抗 Au の年代別分布では, 男性と女性では傾向が異なっていて, 男性では 10 代がもっとも低く, その後上昇傾向をとり, 30 代でもっとも高率となり, それ以後は下降する傾向を示した (10 代と 20 代間, および 20 代と 30 代間では 5% 危険率で有意差を認めた). 女性の場合は, 各年代間に一定の傾向を認めなかった.

次に, 年代別に抗原価および抗体価のスコア平均をとってみると, 表 3 に示すように, 抗原および抗体とも若

表 3. 年代別にみた抗原価および抗体価の分布 (スコア平均)

項目 年代		IA 価	PHA 価
10 代		10.44	5.56
20 代		9.17	5.13
30 代		8.74	5.00
40 代		8.00	4.72
50 以上		6.50	4.69

年層に高い傾向がみられ, Au 抗原に関してその傾向が著しかった. また, 陽性者の中で IA 価または PHA 価が 1,000 倍以上を示す高力価の保有者の割合を年代別にみると図 3 のようになり, 抗原・抗体ともに若年者に高い傾向がみられた.

4) Au 抗原および抗 Au 抗体保有者の GOT 分布

Au 抗原または抗体の保有率を GOT 値別にみると表 4 のようになった. 抗原については, 被検例が少ない GOT 値 31 以上の場合を除けば, GOT 値の上昇とともに陽性率が高くなり, 一方, 抗 Au についても同様に, GOT 上昇とともに保有率が高まる傾向が認められ

図 3. 高力価の抗原または抗体保有者の年代別分布

(注) 表中の数値は、各年代における陽性者のうち、IA 価または PHA 価が 1,000 倍以上を示す人の割合を示す。

表 4. GOT 値と Au 抗原および抗 Au の陽性率

項目	被検例	Au 抗 原		抗 Au	
		陽性者	%	陽性者	%
GOT 値					
0~10	1503	44	2.93	357	23.75
11~20	1667	55	3.30	416	24.96
21~30	503	30	5.96	132	26.26
31~40	61	0	0	24	39.34
>41	29	4	13.79	6	20.69

た。

考 案

Micro-Ouchterlony 法や IES 法を用いて供血者の抗 Au スクリーニングを行うと、検出率は約 1% 前後である⁹⁾のに対し、前述のように、PHA 法では抗 Au 検出率は約 20 倍も高められる。また、供血者の抗 Au 抗体価は一般に低いといわれていた⁹⁾が、我々の成績でも PHA 価 256 倍以下の低力価抗体が大部分を占め、高力価の多い抗原の場合と対照的であった。なお我々の経験によれば、PHA 法の検出感度は、感作血球の調製法、たとえばグルタルアルデヒド固定処理条件やタンニン酸処理条件、材料血球のロットおよび感作時期、および感作抗原の調製法などによって影響を受けることがわかっており、したがって、調製した感作血球のロット差を考慮する必要があるが、今後さらに検討を加えることに

よって、より感度のすぐれた感作血球を調製することが可能と考えられる。

Au 抗原および抗 Au の年代別分布の結果は、主に Au 抗原との接触機会および生体側の免疫機能の変化によって説明されるかもしれない。すなわち、男性の場合を例にとると、感染は若年層でかなり広くおこるが、一部の carrier を除けば抗体産生とともに抗原が消失し、その後は持続的に抗体を保有するようになると考えられる。女性の場合は、男性のような一定の傾向を示さなかったが、男女による社会生活の相違などもあり、今後の検討をまたねばならない。若年層に高力価抗体を保有する人が多いのは、抗体産生能という因子の他に、免疫効果に十分な量の Au 抗原との接触機会に関連づけられるかもしれない。

終わりに、本研究にあたり東大病院輸血部大河内先生および自治医大免疫教室真弓先生、山下先生のご指導をいただいたことを記し厚く感謝の意を表す。

文 献 1) Blumberg, B. S., Alter, H. J. & Visnich, S.: A "new" antigen in leukemia sera, JAMA 191: 541, 1965. 2) 市田文弘: 肝炎の病原体をめぐる問題点, 綜臨 20: 700, 1971. 3) Vyas, G. N., & Shulman, N. R.: Hemagglutination assay for antigen and antibody associated with viral hepatitis, Science 170: 332, 1970. 4) 今井光信, 高橋隆, 真弓忠, 大河内一雄: 受身赤血球凝集反応による Au 抗体の検出, 医学のあゆみ 78: 759, 1971. 5) Gerin, J. L., Holland, P. V. & Parcell, R. H.: Australia antigen: Large-scale purification from human serum and biochemical studies of its proteins. J. Viral. 7: 569, 1971.

6) 滝本義一, 竹本吉夫: Au 抗原検出の問題点—抗体による検出頻度の差, 医学のあゆみ 80: 19, 1972. 7) 関根暉彬, 多田愛子: Australia 抗原およびその抗体の Single radial immunodiffusion による検出, 医学のあゆみ 76: 738, 1971. 8) Mayumi, M., Okochi, K. & Nishioka, K.: Detection of Australia antigen by means of immune adherence hemagglutination test. Vox. Sang. 20: 178, 1971. 9) 小島健一: オーストラリア抗原輸血と肝炎, 綜臨 23: 718, 1971.