技術報告

HAVAB-M RIA kit による HAV-IgM 抗体の測定†

後藤 明, 奥 孝行, 足立信幸*, 広瀬 洋*, 宇土一道*

県立岐阜病院放射線科, 同第2内科*

500 岐阜市野一色4-6-1

1981年2月2日 受理

Key Words: anti-hepatitis A virus IgM, radioimmunoassay

1. はじめに

このたび, ダイナボット社によって開発されたHA-VAB-M kit は hepatitis A virus に対する IgM 抗体検出用キットで, その試用の機会を得て, 若干の基礎実験と臨床的検討を行ったので報告する。

2. 方 法

2・1 キットの内容

抗ヒト IgM 山羊抗体コートビーズ: 25個入り筒2本, ^{125}I 標識 HA 抗体: 2ml 5バイアル (放射能濃度 14MBq/l ($3.8\mu\text{Ci/ml}$) 以下), HA 抗原溶液: 10ml 1バイアル, 陽性コントロール: 0.3ml 1バイアル, 陰性コントロール: 0.3ml 1バイアル, 検体希釈液: 10ml 1バイアル, 反应用トレイ, カバーシール, 放射能測定用試験管等々で構成されている。

2・2 測定法

測定操作法は使用説明に基づき行った。検体は血清あるいは血漿を用い, 各検体 200 倍に希釈する。操作法の概略をFig. 1に示す。

2・3 結果の判定

陰性コントロールの net count の平均値 ($NC\bar{X}$) および陽性コントロールの net count の平均値 ($PC\bar{X}$) を求め, 次式により cut off 値を定める。

$$\text{cut off value} = NC\bar{X} + \frac{PC\bar{X}}{10}$$

† Detection of IgM Antibody to Hepatitis A Virus by HAVAB-M RIA Kit. Akira GOTO, Takayuki OKU, Nobuyuki ADACHI*, Hiroshi HIROSE* and Kazumichi UDO*: Department of Radiology and *Division of Internal Medicine, Prefectural Gifu Hospital, Noishiki 4-6-1, Gifu-shi 500, Japan.

Fig. 1 Assay procedure.

Cut off 値より低い net count 検体は IgM 抗体陰性, 高い net count 検体は IgM 抗体陽性と判定する。

3. 成 績

3・1 基礎実験

同一測定系内における intraassay の測定バラツキを調べたところ, Table 1 のごとく sample A では C.V.

Table 1 Variation of counting

	Sample A	Sample B
	17956	692
	18038	811
	17016	826
	20372	834
	18696	848
$\bar{X}$	18415.6	802.2
S.D.	1115.2	56.3
C.V.	6.1%	7.0%

Table 2 Reproducibility in interassay

Sample	Lot No. 19-850-HR	22-247-HR
1	6.41	7.84
2	7.21	7.56
3	7.22	7.78
4	7.01	7.67
5	6.96	6.84
6	6.55	7.16
7	0.32	0.35
8	0.33	0.34
9	0.25	0.39

Cut off index

6.1%, sample B では C.V. 7.0%であった。また異なる lot No. による interassay を行い、9本の sample についてその再現性を求めたところ、Table 2 に示すような結果を得た。

3・2 臨床的検討

(1) B型急性肝炎を除く肝炎60例の急性期血清について IgM 抗体を測定したところ、cut off index ≥ 1.0 は22例 (max: 9.37, min: 3.85, $\bar{X} \pm S.D.$: 5.69 ± 1.45) ありA型肝炎と診断した。また cut off index < 1.0 は38例 (max: 0.71, min: 0.27, $\bar{X} \pm S.D.$: 0.37 ± 0.08) あり、non A non B 型肝炎と診断した (Fig. 2)。

(2) Fig. 3 は昭和55年1～10月に当院を受診し、A型肝炎と診断された患者4名の HAVAB-M kit による anti-HA を経時的に測定したものである。発症時から約30日以内に IgM 抗体のピークが観測され、以後60～180日の間 IgM 抗体を陽性に検出できた。

(3) Fig. 4 は27歳、女性で発症直後から約6か月間の経過を観察したものである。初診時 GOT, GPT は

Fig. 2 Anti-HA in acute hepatitis by HAVAB-M kit.

Fig. 3 Follow up of anti-HA by HAVAB-M kit.

ともに1000単位以上、TTTは9.3単位、黄疸が消失しTAが正常値に下がる直前から anti-HA 抗体の上昇が見られ、cut off 値の max は8.24 (この時期 TTT は6.0単位)、その後 anti-HA は暫時下降し、約2か月間は陽性に測定された。

(4) 過去4年間の急性肝炎の年度別、型式分類を行った (Fig. 5)。昭和52年は急性肝炎18例中1例、53年は22例中4例、54年は41例中11例、55年は10月現在33

Fig. 4 Typical case of acute virus hepatitis A type.

Fig. 5 Yearly frequency of acute hepatitis.

例中6例のA型肝炎が見つかった。なお図中の囲いの中の数値は輸血による肝炎発症例を示すものである。集約すると過去4年間に、急性肝炎患者115例中から22例(約20%)のA型肝炎患者を見つけ、これらの保存血清をHAVAB-M kitで再検したところ、全例IgM抗体陽性であった。

4. 考 察

1973年 Feinstone らが HA 抗原, HA抗体を免疫電

顕法で見出し、ついで Provost らが HA 抗原の製精に成功して以来、免疫粘着反応や solid phase radioimmunoassay 等の検査法が開発されるにいたった^{1)~4)}。

現在、A型肝炎の診断には、肝炎急性期と回復期の pair 血清を用い、HA に対する IgG 抗体の有意な上昇を調べて判定を下しているが、HA に対する IgM 抗体を測定することができれば、発症初期の血清のみでA型肝炎の診断が可能である⁵⁾。今回、ダイナボット社によって開発された HAVAB-M kit はこの目的にかなった HA に対する IgM 抗体を検出する radioimmunoassay 固相法 kit で、基礎実験を行った結果、測定バラツキも少なく、再現性テストも良好と認めた。臨床的検討においては HA に対する IgM 抗体を特異的に、かつ高感度に検出できた。また HA に対する IgM 抗体を測定するのに比べ、HA に対する IgG 抗体を検出することによって、A型肝炎を早期に確定診断ができる点で、たいへん有効な検出キットであると考ええる。

試薬の提供をうけたダイナボット RI 研究所に厚くお礼を申し上げます。

文 献

- 1) 森次保雄: 厚生省特定疾患難治性の肝炎, 肝内胆汁うっ滞調査研究班, 昭和50年度報告, p. 100
- 2) 吉沢浩司: 日本臨床, **36**, 217 (1978)
- 3) Purcell, R.H., et al.: *Amer. J. Med. Sci.*, **270**, 61 (1975)
- 4) Provost, P.J., Wolanski, B.S., et al.: *ibid.*, **270**, 87 (1975)
- 5) 織田敏次, 阿部 裕, 他: 「ウイルス肝炎」内科セミナー LG1, 永井書店 (1979)