技術報告

ラジオイムノアッセイキットによる
スコア判定測定への試み

——HBc 抗体——†

金森勇雄, 中野 哲, 矢橋俊丈, 吉田 宏, 樋口ちづ子, 柳瀬みき子,

岩田富貴子, 川瀬明子, 服部由美子, 山田行雄

大垣市民病院放射線科

503 大垣市南瀬町 4-86

1984年5月25日 受理

Key Words: anti HBc antibody, score judgment method

1. はじめに

B型肝炎ウイルス(HBV)感染症の診断は、通常患者血液中の HBs 抗原を検出することにより行われているが、HBs 抗原価が測定感度以下の場合や、一過性感染例では HBs 抗原の検出のみでは HBV 感染症の診断は困難であり、HBV に対する感染源抗体である HBc 抗体の測定は必須なものとされている¹⁾。

HBc 抗体の測定は immuno adherence hemagglutination method (IAHA) とラジオイムノアッセイ(RIA)が繁用されている。両者はいずれも簡便性に優れた測定法であるが、IAHA は相対的に抗体価を評価し得る点に優れ、RIA は検出感度に優れる。

RIA は HBV 関連抗原・抗体キットに共通して定量性に欠ける短所がある。RIA に携わる著者らは、この短所を少しでも改善し、長所である検出感度を損なうことのない方法を模索し続けてきた。

今回われわれは、HBs 抗原および抗体²⁾、HBe 抗原および抗体測定³⁾とはほぼ同様な方法にて RIA キットによるスコア判定を試みたので報告する。

2. 対象および方法

大垣市民病院を受診した B 型急性肝炎、急性候キャリア、HBs 抗原陽性の慢性肝炎、肝硬変、原発性肝細胞がんの患者血清を対象とした。

測定は二重測定を原則として、希釈液は同一キット内で実施し、希釈液は生理食塩水を用いた。

測定に供した RIA キットは HBc 抗体・リアキットの CORAB (ダイナボット) と PHA キット(Corecell, ミドリ十字) である。

なお、判定保留(P.J.)範囲は RIA キット取扱使用説明書に従った。

3. 結 果

3.1 希釈曲線とスコア判定の設定基準

HBc 抗体の希釈曲線の代表例を Fig. 1 に示す。HBe 抗原と HBe 抗体³⁾の希釈曲線と非常に類似しており、非常に変化に富んだ曲線で、幅広い間に分布している。

Fig. 1 Dilution curves (anti-HBc).

† Score Judgment Method of B Type Hepatitis Associated Antigen and Antibody by Radioimmunoassay Kit—Anti HBc—. Isao KANAMORI, Satoshi NAKANO, Toshitake YABASHI, Hiroshi YOSHIDA, Chizuko HIGUCHI, Mikiko YANASE, Fukiko IWATA, Akiko KAWASE, Yumiko HATTORI and Yukio YAMADA: Department of Radionuclear Medicine, Ohgaki Municipal Hospital, Minaminokawa-machi 4-86, Ohgaki-shi 503.

Table 1 Grading for the criteria by score judgment method of Anti-HBc

Score	Criteria
5	By $\times 200$ dilution, the inhibition percent showed almost the same value or a slight deceracement
4	By $\times 200$ dilution, dilution effect on the inhibition percent was observed but the inhibition percent showed above P.J. value
3	By $\times 200$ dilution, dilution effect on the inhibition percent was observed but inhibition percent showed below P.J. value
2	The inhibition percent showed within of the P.J. value
1	The inhibition percent showed below of the P.J. value

$$\text{Inhibition percent} = \frac{\text{N.C.cpm} - \text{Sample cpm}}{\text{N.C. cpm} - \text{P.C. cpm}} \times 100$$

N.C.; Negative control

P.C.; Positive control

P.J.; Pending judgment

阻害率 (inhibition%) が高い被検血清の希釈曲線は希釈前 (原血清) に比し 200 倍希釈値がほとんどで変化を示さないか, またはわずか (5-10%以内) の範囲で減少し, 以後急激に減少傾向を示す群と, 最初から良好な減少傾向を現す群との 2 群に大別することが可能である。また, 阻害率の低い被検血清, P.J. 付近の陽性被検血清はほぼ良好な希釈効果が認められた。

一方, スコア判定の設定基準は Table 1 に示すように, 希釈曲線を基本として阻害率が高い被検血清は,

%がほぼ最高峰のプラトー状態より希釈効果が現れる 200 倍希釈と原血清を対比することにより, 原血清に比し 200 倍希釈の%が, ほぼ同じかあるいはわずか (5-10%以内) に上下変動するものをスコア 5, 200 倍希釈で良好な希釈効果は示すが P.J. の上限以上の%を示すものをスコア 4, ついで P.J. の上限以下の%を示すものをスコア 3, および阻害率の低い被検血清で原血清の%が P.J. の範囲にあるものをスコア 2, 原血清で P.J. 以下の陰性をスコア 1 とすると, 5 段階のスコア判定基準を設定することが可能であった。

Fig. 2 Correlation between conventional RIA (non dilution) and PHA method (anti-HBc).

Fig. 3 Correlation between conventional RIA ($\times 200$ dilution) and PHA method (anti-HBc).

3.2 相関

3.2.1 RIA-%表示法 (キット説明書による方法) と受身赤血球凝集法 (PHA) との相関

両者間の相関はまったく認められなかった (Fig. 2)。

Fig. 4 Correlation between RIA, shown by inhibition percent, and RIA score judgment method (anti-HBc).

Fig. 5 Correlation between score judgment method by RIA and PHA method (anti-HBc).

3・2・2 RIA - 200倍希釈法と PHA との相関

両者間の相関係数は $r=0.867$ ($p<0.05$, $n=71$) であり有意な正の相関が認められた(Fig. 3)。

3・2・3 スコア判定法と RIA - 200倍希釈法との相関

両者間の相関係数は $r=0.907$ ($p<0.05$, $n=66$) であり有意な正の相関が認められた(Fig. 4)。

3・2・4 スコア判定法と PHA との相関

両者間の相関係数は $r=0.835$ ($p<0.05$, $n=71$) であり有意な正の相関が認められた(Fig. 5)。

4. 考 察

希釈曲線を基準として5段階のスコア判定をHBs 抗原とHBs 抗体²⁾, HBe 抗原と HBe 抗体³⁾とほぼ同様な方法で RIA - anti HBc キットを使用して試みた。

HBc 抗体 RIA キットが定性的判定で、検出感度に優れることは他の HBV 関連抗原・抗体 RIA キットとまったく同様であるといえる。RIA が持つ優れた検出感度を損なうことなく、PHA の持つ HBc 抗体を相対的に評価し得る方法に少しでも類似した評価法が得られれば、RIA の臨床面での評価も高まり、かつよりいっそう広く活用されることを期待し、スコア判定法を試みた。

スコア判定の段階はある程度多い方が PHA の評価段階に近づくことから良好な結果が得られることが想定されるが、スコア判定の段階が多くなることは必然的に判定法が複雑になり、明瞭なスコア判定が困難となることが考えられる。そこでわれわれは5段階のスコア判定とし、スコア判定が明瞭になし得ることを主眼とした。

なお、スコア 5, 4, 3 は阻害率の高い順にし、2 は判定保留、1 は陰性である5段階スコア判定法を設定した。スコア 5, 4, 3 は希釈曲線を基準にした希釈効果を基本として設定したが、原血清と 200 倍希釈での阻害率を対比することにより簡潔明瞭に判定することが

でき得ると考えられる。また、スコア 5 の判定で原血清と 200 倍希釈での阻害率の対比幅を 5 - 10% としたのは、キット自体の再現性の許容範囲を見込んだものであり、各施設、各術者により再現性が異なることより、この変動幅はおのずと各施設間にて多少の変動があることは当然のことであると考えられる。

しかも、スコア判定法は RIA キットのロット番号が変化しても、スコア判定を行ってあれば、同一被検血清は何回測定しても同一のスコア判定が可能であることより、各施設間での測定値の相互比較は可能になるものと考えられる。

一方、スコア判定法が HBc 抗体価のある程度段階的、相対的評価し得るかを確認するため PHA との相関を試みた。

RIA - % 表示法(キット説明書による方法)と PHA との相関は HBs 抗原²⁾, HBe 抗原³⁾ および HBe 抗体³⁾ とまったく同様で認められないが、200 倍希釈での % と PHA との相関が認められることも、また同様な傾向にあった。この原因については、文献²⁾にも述べたように、ビーズに塗布されている HBc 抗原の量が少ないこと、HBc 抗体が高力価の血清中では測定を妨害する物質が共存していたものが、希釈(約 200 倍)により妨害物質が薄められることにより、RIA 反応の抑制が除かれて測定されるためではないかと考えられる。

しからば、200 倍希釈のみでの阻害率の測定のみとすると、希釈により測定感度以下となり HBc 抗体検出不能となる検体も現れ、RIA の持つ検出感度の優れるという利点を失うことになり、両者の測定は必須なものであると考えられる。

ついで、スコア判定法と PHA との相関は HBs 抗原²⁾, HBe 抗原と同様に有意な相関が認められることより、PHA のもつ相対的な HBs 抗体価の評価に一步近づいたものと考えられる。

なお、和田ら⁴⁾は 200 倍希釈での阻害率 (inhibition %) が 90% 以上を示す被検血清は、IAHA で 2^{10} 倍以上の HBc 抗体価があり、高 HBc 抗体価血清と判定し臨床的な経過観察と予後の判定に有用な情報を提供すると報告している。しかし、今回われわれの検討では PHA で 2^{10} 以上の HBc 抗体価を示す被検血清は非常に多く 2^{25} 以上を示すものも認められるが、スコア判定はこれら 2^{10} 以上の被検検体をさらに詳細に 5, 4, 3 のスコアに分離し評価し得たことは今後大いに活用し得る方法^{5) - 7)}ではないかと考えられる。

以上のように、RIA が他の検査法に比し検出感度、再現性に優れ、手技も複雑でなく、簡便な方法も多く

開発されている⁸⁾ことは衆知の通りである。この長所をよりいっそう診療の場に活用していくことがRIAに従事する著者らの使命でもあると考えている。

5. おわりに

今回われわれが試みたスコア判定法は日常業務範囲内で実施でき、経済的で広く臨床面に応用でき得る方法であることが示唆されることより、未完成の部分も残されていると考えられるが報告する。

諸兄の追試を熱望致します。

文 献

- 1) 古川精市, 他: 肝胆脾, 8, 43 (1984)
- 2) 金森勇雄, 他: *Radioisotopes*, 34, 166 (1985)
- 3) 金森勇雄, 他: *ibid.*, 印刷中
- 4) 和田武男, 他: 医学と薬学, 3, 105 (1980)
- 5) 矢橋俊丈, 他: 核医学, 20, 883 (1983)
- 6) 児玉恭浩, 他: 同上, 20, 883 (1983)
- 7) 坪井英之, 他: 同上, 20, 884 (1983)
- 8) 金森勇雄, 他: *Radioisotopes*, 33, 303 (1984)