

抗ストレプトキナーゼ価測定法の検討：マイクロタイター法用測定試薬の有用性

山田, 巖
九州大学医療技術短期大学部衛生技術学科助手

澤江, 義郎
九州大学医療技術短期大学部教授

<https://doi.org/10.15017/139>

出版情報：九州大学医療技術短期大学部紀要. 11, pp.29-33, 1984-03-01. 九州大学医療技術短期大学部
バージョン：
権利関係：

抗ストレプトキナーゼ価測定法の検討

— マイクロタイター法用測定試薬の有用性 —

山田 巖^{*}, 沢江 義郎^{**}

Studies on antistreptokinase titration
— Usefulness of microtiter method reagent —

Iwao Yamada and Yoshiro Sawae

はじめに

リウマチ熱，猩紅熱，急性糸球体腎炎などの，A群溶血性連鎖球菌（溶連菌）感染の続発症では，いずれも先行する溶連菌の感染を血清学的に証明する必要がある。細菌学的に溶連菌を証明することも重要ではあるが，咽頭培養によって必ずしも検出されるとはかぎらないし，保菌状態のものとの鑑別も容易ではない。従って，リウマチ熱診断に関する Jones の再改訂規準⁶⁾も溶連菌感染の血清学的診断の必要性を明記している。

溶連菌感染症の血清学的診断方法としては，溶血阻止法による抗ストレプトリジンO(ASO)価の測定および受身赤血球凝集反応による抗ストレプトキナーゼ(ASK)価の測定が，今日では広く用いられている。

臨床検査件数の急増に伴って，臨床検査の微量化，自動化が進行しているが，ASO 価測定については，かなり以前よりマイクロ化が実施されているところが多い。一方，ASK 価測定についても早くからマイクロ化が望まれてきたが，このたびマイクロタイター法用抗ストレプトキナーゼ(マイクロASK)価測定試薬(富士レビオ製)が開発された。

今回，われわれはこのマイクロASK 価測定試薬を使用する機会を得たので，従来よりのA

SK 価測定試薬(マクロASK)による抗体価およびASO 価との比較を行い，その有用性について検討したので，その成績を報告する。

実験対象および方法

血清：昭和58年3月4日から3月25日の間に，九州大学医学部附属病院検査部にASO 価測定のため提出された第1内科入院患者20例，内科外来患者120例の検査血清を用いた。また，経時的変動をみるために昭和58年3月4日から8月20日までに経時的に検査された16例の血清を用いた。

ASO 価の測定法：富山のマイクロタイター法⁸⁾の一部を改変した方法で実施した。すなわち，血清希釈列を16倍から2048倍までと，20倍から2560倍までの2列法で行った。

マクロASK 価の測定法：キナーゼテスト(富士レビオ製)を用い，使用説明書通りに実施した。

マイクロASK 価の測定法：マイクロタイター法により0.025 mlの10倍から1280倍までの血清希釈列を作り，これに着色したゼラチン粒子に抗原であるバリダーゼを感作したものを0.025 ml添加し，室温で18時間反応後，凝集が認められた最高希釈倍数を抗体価とした。

成績

1) ASK 価およびASO 価(図1)
患者140例の血清すべてについてのASO

* 九州大学医療技術短期大学部衛生技術学科助手
** 同 教授

抗ストレプトキナーゼ価測定法の検討

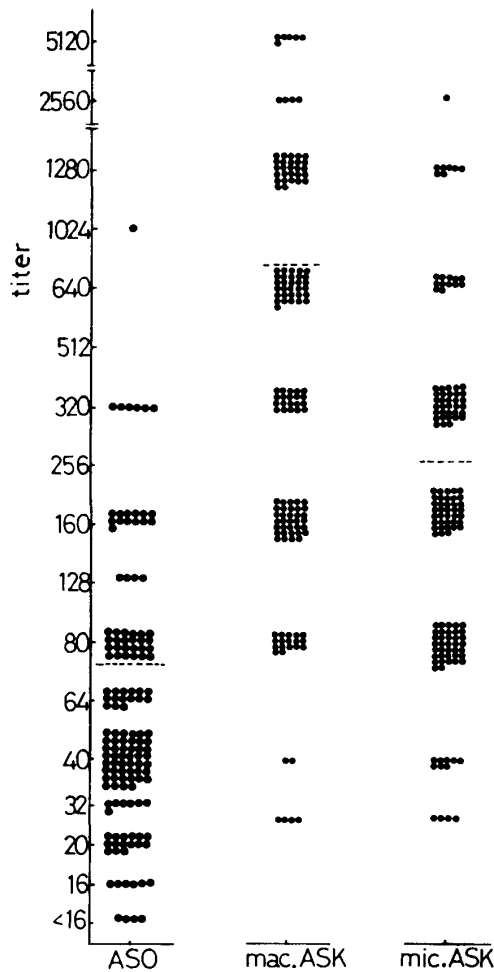


図1 ASK価およびASO価

価の平均値は 76.8 ± 104.6 Todd 単位であり、大部分の 85 検体 (60.7%) は 40 から 80 Todd 単位であったが、160 Todd 単位のものが 13 検体 (9.3%)、320 Todd 単位のものが 6 検体 (4.3%) あり、1024 Todd 単位のものが 1 検体 (0.7%) 認められた。

マクロ ASK 価の平均値は 773.1 ± 1072.0 で、大部分が 80 倍から 1280 倍であり、2560 倍と 5120 倍のものがそれぞれ 4 検体 (2.9%)、6 検体 (4.3%) に認められた。

マイクロ ASK 価の平均値は 279.4 ± 345.8 倍で、1 検体を除いて 1280 倍ないしそれ以下であった。しかも、大部分が 80 倍から 640 倍で、1280 倍のものが 7 検体 (5.0%) に認められた。

2) マイクロ ASK 価と ASO 価

マイクロ ASK 価と ASO 価との相関をみたものが図 2 である。

ASO 価が 160 Todd 単位以上の 20 検体についてみてみると、ASK 価が 1280 倍以上のものは 7 検体 (35.0%) にすぎず、その多くの 11 検体 (55.0%) は 320 倍から 640 倍で、80 倍から 160 倍のものもあった。一方、ASO 価の 128 Todd 単位のものに、マイクロ ASK 価が 1280 倍のものが 1 検体認められた。

これらの成績から両者は必ずしも平行して動いておらず、ごくわずかのものに ASK 価のみ上昇しているものがあった。

しかし、この両者間には $Y = 66.3 + 2.76X$ の相関式が得られ、相関係数 0.84 と比較的良好な相関であった。

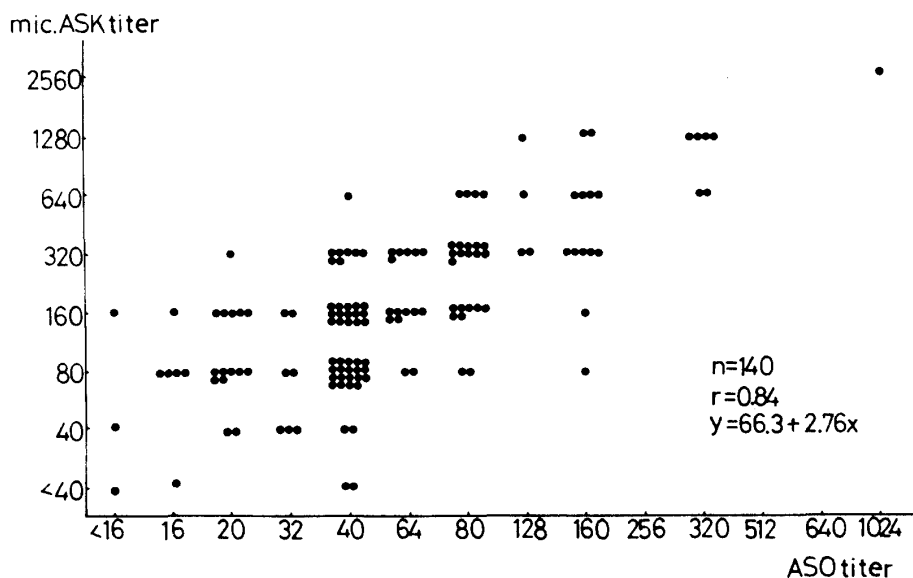


図2 マイクロASK価とASO価

3) マイクロASK価とマクロASK価

マイクロASK価とマクロASK価との相関をみてみると、図3に示したごとく両者が一致しているものは140例中24例(17.1%)、1管差のものが70例(50%)、2管差のものが44例(31.4%)、3管差のものが2例(1.4%)で、いずれもマクロASK価の方が高値であった。

この両者間には $Y = 13.5 + 2.73X$ の相関式が得られ、相関係数 0.88 と比較的良好な相関であった。

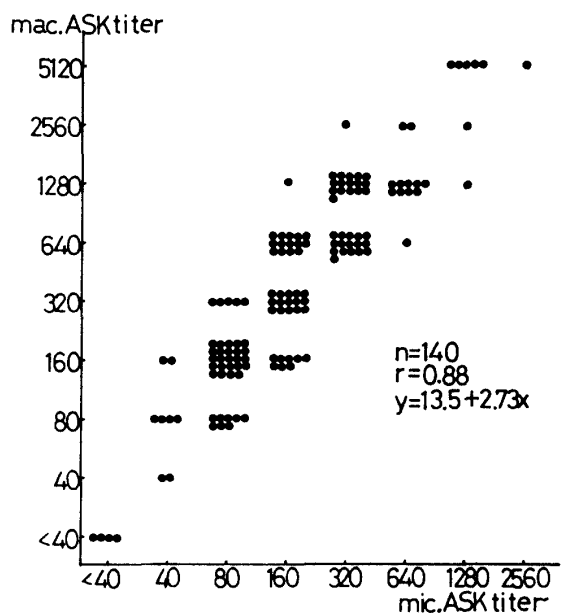


図3 マイクロASK価とマクロASK価

4) 抗体価の経時的変動

マイクロASK価とASO価の経時的変動を、昭和58年3月から8月の6カ月の間に1カ月以上にわたり、経時的に検査された16例について比較検討してみた。

マイクロASK価においては図4に示したように、比較的長期間同じ値が続いたり、1管差の間を抗体価が上下しながら経過している症例が多くみられた。また、経過中に2管以上の有意の抗体価変動が認められた症例は3例であった。

一方、ASO価においては図5に示したように、同じ値が持続する症例はマイクロASK価

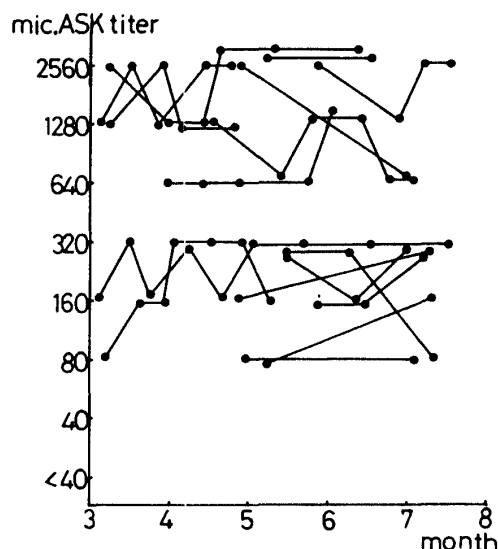


図4 マイクロASK価の経時的変動

の場合に比べかなり少く、そのうえ抗体価の変動が明らかであった。経過中に2段階以上の抗体価変動がみられた症例は7例であったが、抗体価そのものが4倍以上となったものは1例にすぎなかった。

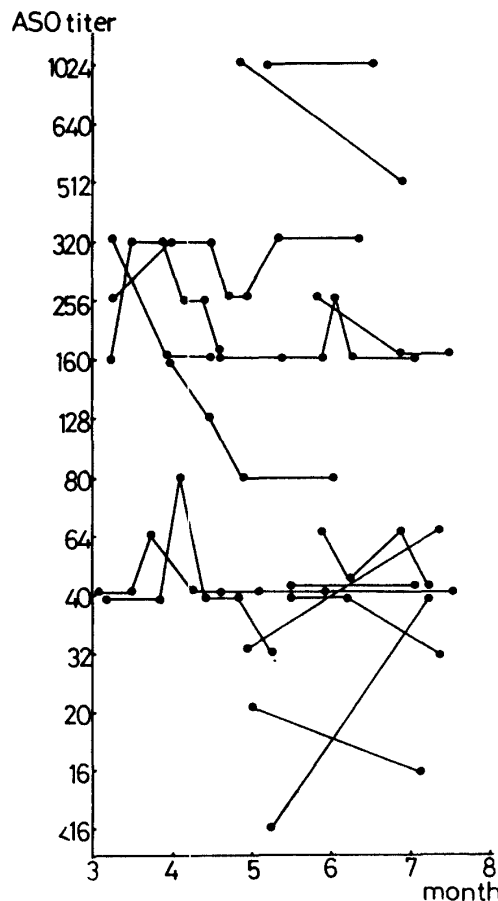


図5 ASO価の経時的変動

考 察

溶連菌は各種の菌体外産物および菌体表在性産物を産生するため、血清学的にこれらに対する抗体を検出して、本菌による感染症を診断する方法が以前から応用されてきた。とくに、Todd⁷⁾以来のASO価測定法が今日では広く利用されている。

しかし、溶連菌感染症を確実に、しかも100%に診断するためには、数多くの抗体について検出を試みる必要があるといわれているが⁵⁾¹⁰⁾今日のように増加の一途をたどる検体数を、限られた人員で処理していくためには、どうしても臨床検査の微量化、自動化が要求される。

このような観点から、われわれはこのたび新たに開発されたマイクロASK価測定試薬の有用性について種々検討を試みた。

マイクロASK価とASO価の相関については、ASO価が128 Todd単位、160 Todd単位でありながら、マイクロASK価が1280倍の高値を示した検体がそれぞれ1検体(0.7%)、2検体(1.4%)に認められたにすぎず、著者らがマクロASK価とASO価についてさきに報告³⁾した成績と比べ、両者の抗体価は平行して動いていた。

また、坪倉ら⁹⁾はマクロASK価とASO価の相関について、 $r = 0.873$ と報告しており、著者らの成績でもマイクロASK価とマクロASK価が $r = 0.88$ で、マイクロASK価とASO価は $r = 0.84$ であり、いずれも比較的良好な相関であった。

マイクロASK価の抗体価変動は、抗体価の高さとは無関係に比較的長期間同じ値か1管差の間を上下しながら持続する傾向がうかがわれ、Kwapinskiら¹²⁾やStollermanら⁵⁾、Wannamakerら¹⁰⁾が述べているような、感染後2から3カ月後にはASO価より早期に低下するような症例は、今回の実験対象には認められなかった。これには、時期的に急性の溶連菌感染症の少ない3月の血清についてのみ検査したことが関係していると思われる。

一方、ASO価の場合はこれまで多用されて

いるように、マイクロASK価の抗体価変動に比し著明であり、非常に有用な検査法である。

これはマイクロASK価の抗体価が倍数希釈によって表現されているのに対して、ASO価のTodd単位が2列希釈法により細分されて表現されるため、抗体価が適確にとらえられ、しかも抗体価の変動が大きく表わされることによるとと思われる。したがって、マイクロASK価についても血清希釈倍数を細分して抗体価測定を試みても必要があるのかも知れない。

九大病院検査部ではすでにマイクロ化されており、この場合には、われわれがマクロASK価測定に用いた試薬の感作赤血球の濃度を6倍に希釈することにより、これまでの成績とよく一致する成績が得られている。今回の場合も、ルーチン検査で行われたマイクロ化された検査法での成績と全く一致していた。¹²⁾

マイクロASK価測定試薬では着色されたゼラチンを担体として用いているのに対して、マクロASK価測定試薬では抗原活性をもつヒツジ赤血球を担体として用いており、マイクロASK価測定試薬の方が非特異的反應の影響を回避できると考えられる。

また、この担体に感作されているバリダーゼが、ストレプトキナーゼのみならずストレプトドルナーゼなども同時に含有していることが関係してか、著者ら³⁾がさきに報告したように、ASK価が全体的に高値であるために、抗体価変動が著明でないのかも知れない。

一方、ASO価測定法については著者ら⁴⁾¹¹⁾も報告したように、血清中のコレステロールによる非特異的反應を受け易く、また検出される抗体は7Sグロブリンのみといわれており¹⁾、溶連菌感染症の診断に血清学的診断法を利用する場合、Stollermanら⁵⁾あるいはWannamakerら¹⁰⁾も述べているように、ASO、ASK、抗ヒアルロニダーゼ、抗DNase Bなどの測定を併用することが必要である。

また、技術的にみた場合、マイクロASK価測定法はマイクロタイター法を利用しているので省力化に有用で、さらに着色されたゼラチンが使用されているので凝集像、非凝集像の判定の

山田 巖, 沢江 義郎

見分けが容易で、しかも安定しており、マクロ A S K 価測定法の場合にみられたような主観による判定誤差は解消できるものと考えられる。

したがって、マイクロ A S K 価測定法はマクロ A S K 価測定法に代わる臨床検査方法として利用できるものと考えられる。

結 語

マイクロ A S K 価測定試薬の有用性について検討を試み、つぎのような成績を得た。

1) マイクロ A S K 価測定法の平均値は 279.4 ± 345.8 で、マクロ A S K 価測定法の平均値 773.1 ± 1072.0 よりかなり低値であった。

2) マイクロ A S K 価測定法と A S O 価測定法の間には $Y = 66.3 + 2.76 X$ の相関式が得られ、相関係数 0.84 と比較的良好であった。

3) マイクロ A S K 価測定法とマクロ A S K 価測定法の間には $Y = 13.5 + 2.73 X$ の相関式が得られ、相関係数 0.88 と比較的良好であった。

4) マイクロ A S K 価は A S O 価に比べ、抗体価の変動を明瞭にとらえきれない面はあるが、測定法としての精度は高く、しかも技術的にみて、現在の臨床検査室で利用しやすい検査法であり、臨床検査方法として利用できると考えられる。

rheumatic fever, *Am. J. Med.* 20: 163 ~ 169, 1956

- 6) Stollerman, G. H., Markowitz, M., Taranta, A., Wannamaker, L. W., Whittemore, R.: Jones criteria (revised) for guidance in the diagnosis of rheumatic fever, *Circulation*, 32: 664 ~ 668, 1965
- 7) Todd, E. W.: Antihemolysin titers in hemolytic streptococcal infection and their significance in rheumatic fever, *Brit. J. Exp. Path.* 13: 248 ~ 259, 1932
- 8) 富山哲雄: マイクロタイターの活用法, 臨床検査, 16: 123 ~ 132, 1972
- 9) 坪倉篤雄, 河村和子: CRP, RA, A S O 検査の再検討, 臨床病理, 30: 718 ~ 724, 1982
- 10) Wannamaker, L. W., Ayoub, E. M.: Antibody titers in acute rheumatic fever, *Circulation*, 21: 598 ~ 614, 1960
- 11) 山田巖, 沢江義郎: マイクロタイターによる A S O 価測定法の基礎的検討, 九大医短部紀要, 6: 57 ~ 61, 1979
- 12) 山田巖, 沢江義郎: 未発表データ

文 献

- 1) 熊谷直秀: 溶連菌感染の診断(2), 診療と保険, 14: 1242 ~ 1254, 1972
- 2) Kwapinski, J. B. and Snyder, M. L.: *The immunology of rheumatism*, 80 ~ 91, Appleton centry crofts, New York. 1962
- 3) 沢江義郎, 久富都実栄, 竹田史恵: キナーゼテストによる Antistreptokinase 価の検討, 臨床と研究, 48: 1802 ~ 1806, 1971
- 4) 沢江義郎, 山田巖: 溶連菌抗体, 臨床病理, 26: 104 ~ 109, 1978
- 5) Stollerman, G. H., Lewis, A. J., Schultz, I.: Relationship of immune response to group A streptococci to the course of acute, chronic and recurrent