九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

抗HTLV-I抗体陽性血清におけるIgMクラス抗体とリウマチ因子の検討

山田, 巌
九州大学医療技術短期大学部

古萠鮮, 艾沙
新疆医学院附属病院検査科

澤江, 義郎
九州大学医療技術短期大学部名誉教授 : 国家公務員共済組合連合会新小倉病院院長

https://doi.org/10.15017/286

出版情報：九州大学医療技術短期大学部紀要. 27, pp.63-67, 2000-03. Kyushu University School of Health Sciences Fukuoka, Japan
バージョン：
権利関係：

九州大学医療技術短期大学部紀要，2000，第27号，63 − 67
Memoirs Kyushu U. Sch. Health Sci., 2000, vol. 27, 63 − 67

抗HTLV-Ⅰ抗体陽性血清におけるIgMクラス抗体とリウマチ因子の検討

山田　巌*　古蒴鮮艾沙**　澤江　義郎***

Studies on IgM Class Antibody and Rheumatoid Factor in Anti-HTLV-Ⅰ Antibody Positive Samples

Iwao Yamada, Aisha Gulixian, Yoshiro Sawae

SUMMARY

The purpose of this study is to measure anti-human T-cell lymphotropic virus type-Ⅰ (anti-HTLV-Ⅰ) antibody and rheumatoid factor, and amounts of immunoglobulin and 2-mercaptoethanol (2ME) sensitive anti-HTLV-Ⅰ antibody in the anti-HTLV-Ⅰ antibody positive samples.

As the results,the following findings were obtained.

1. The Immunoglobulin amounts of anti-HTLV-Ⅰ positive sera were approximately the same as those of anti-HTLV-Ⅰ negative sera.
2. The rheumatoid factor which reacts to denatured human γ-globulin was 48.5% in anti-HTLV-Ⅰ antibody positive sera and 40% in negative sera. On the other hand, the rheumatoid factor which reacts to denatured rabbit IgG was 27.3% in the former and 3.3% in the latter.Therefore,the specific rheumatic factor was more frequently detected in anti-HTLV-Ⅰ positive sera.
3. The rate of IgM class antibody in anti-HTLV-Ⅰ antibody positive sera which were 4 or more sensitive to 2ME was 84.5%.

Key Words : anti-human T-cell lymphotropic virus type-Ⅰ (anti-HTLV-Ⅰ) antibody, rheumatoid factor, 2-mercaptoethanol (2ME) sensitivitive antibody

はじめに

1981年にHinumaら[1]は，特異な病像を呈する疾患としてわが国ではじめて確立された成人T細胞性白血病(adult T-cell leukemia: ATL)[2]から分離された細胞株のMT-1細胞と反応する抗体がATL患者血清中に存在することを明らかにした。この抗体は，1980年にRobert Galloら[3]が見出していたⅠ型ヒトT細胞性白血病ウイルス(human T-cell lymphotropic virus type-Ⅰ：HTLV-Ⅰ)と反応する抗体であることからHTLV-Ⅰ抗体と命名され，血清疫学的に，さらにはウイルス学的，細胞学的な面から研究がなされてきた。

今回，われわれは抗HTLV-Ⅰ抗体検査に提出された抗HTLV-Ⅰ抗体陽性と陰性の患者血清を用いて，免疫グロブリンの定量とHTLV-Ⅰ関連疾患に関節障害を高率に合併するとの報告[4]を踏まえてリウマチ因子の測定を試み，さらに抗HTLV-Ⅰ抗体陽性血清における2-メルカプトエタノール(2ME)感受性IgMクラス抗体の有無について検討したので報告する。

* 九州大学医療技術短期大学部
** 新彊医学院附属病院検査科
*** 九州大学医療技術短期大学部名誉教授・国家公務員共済組合連合会 新小倉病院 院長

実験対象と方法

実験対象

福岡市内の検査センターに抗HTLV-I抗体検査のため提出された63検体を用いた。

実験方法

抗HTLV-I抗体測定法：ポリアミノ酸を粒子化したものにHTLV-I抗原を結合させた感作粒子を，リン酸緩衝食塩液(PBS)でつくった検体血清の倍数希釈列に加えて凝集の有無を判定する間接凝集反応によるニューセロクリット®-抗HTLV-I(PA法)(化血研製)と，スライドグラスにアセトン固定したHTLV-I感染細胞にPBSで10倍に希釈した患者血清5μlを反応させて，間接蛍光抗体法により抗体の有無を判定するHTLV-I抗体検出用IF試薬(IF法)(日本赤十字社製)を用いて測定した。前者では室温2時間静置後凝集の有無を判定し，後者では一次反応(HTLV-I感染細胞と患者血清の反応)，二次反応(一次反応での抗原抗体複合体とFITC標識抗ヒト血清の反応)とも37℃30分で行い，蛍光顕微鏡(200倍)で観察して判定した。

免疫グロブリンの定量法：一元免疫拡散法により血清中蛋白量を測定するN-イムノリング(日水製薬製)を用いて，血清中のIgG，IgM，IgA量を測定した。すなわち，ウエルに患者血清の原液を5μl加え，37℃で50時間以上反応後，沈降輪の直径を測定し換算表より蛋白量を求めた。なお，基準範囲はIgGが870~1700mg/dl，IgMでは男性33~190mg/dl，女性46~260mg/dl，IgAでは110~410mg/dlとして評価した[5]。

リウマチ因子検出法：スライドグラス上でラテックス粒子に変性したヒトγ-グロブリンを吸着させた試薬と，患者血清の原液を0.05ml混和して1分後に凝集の有無を判定するRA77(栄研製)と，ゼラチンを粒型化した担体に変性ウサギIgGを感作したものを，検体血清の倍数希釈列に加えて室温に3時間静置後，凝集の有無を判定する間接凝集反応によるセロディア®-RA(富士レビオ製)を用いて測定した。

2ME処理法：抗HTLV-I抗体陽性血清0.1mlに，0.2Mの2ME液(pH7.3のPBSに0.2Mの割合に2MEを混和したもの)を0.1ml加えてよく混和後，37℃に2時間インキュベートしてIgMを分解した。[6]

結　果

1. 抗HTLV-I抗体の陽性率(表1)

実験対象63検体のうち，33検体はPA法，IF法ともに陽性であり，30検体は陰性であった。

表1　抗HTLV-I抗体の陽性率(63検体)

PA法	IF法	検体数(%)
+	+	33 (52.4)
−	−	30 (47.6)

2. 抗HTLV-I抗体陽性，陰性血清の免疫グロブリン量(表2)

IgGについてみてみると，抗HTLV-I抗体陽性血清では1701mg/dl以上の高値ものが33検体中11検体(33.3%)で，基準範囲内のものが22検体(66.7%)に認められ，抗HTLV-I抗体陰性血清の成績と差異は少なかったが，抗HTLV-I抗体陽性血清の方がむしろやや高値であった。

IgMについてみてみると，261mg/dl以上の高値のものは抗HTLV-I抗体陽性血清では7検体(21.2%)で，抗HTLV-I抗体陰性血清でも6検体(20%)で，いずれも女性由来の検体であった。基準範囲内のものも前者が26検体(78.8%)，後者が24検体(80%)と同様の成績であった。

IgAについてみると，抗HTLV-I抗体陽性血清では100%に，陰性血清でも28検体(93.3%)のもの

表2　抗HTLV-I抗体陽性血清と陰性血清の免疫グロブリンの定量値

免疫グロブリン (mg/dl)		抗HTLV-I 陽性33検体	抗HTLV-I 陰性30検体
IgG	869 ≧	0	0
	870 ~ 1700	22 (66.7%)	21 (70.0%)
	1701 ≦	11 (33.3%)	9 (30.0%)
	Mean ± SD	1469.73 ± 117.98	1438.69 ± 110.56
IgM	32 ≧	0	0
	33 ~ 260	26 (78.8%)	24 (80.0%)
	261 ≦	7 (21.2%)	6 (20.0%)
	Mean ± SD	201.40 ± 23.33	198.19 ± 26.52
IgA	109 ≧	0	0
	110 ~ 410	33 (100%)	28 (93.3%)
	411 ≦	0	2 (6.7%)
	Mean ± SD	262.20 ± 16.22	247.0 ± 22.52

が基準範囲内にあったが，抗HTLV-I抗体陽性血清の方がやや高値であった。

なお，いずれの免疫グロブリンにも基準範囲以下の低値のものは認められなかった。

3. 抗HTLV-I抗体陽性，陰性血清のリウマチ因子陽性率(表3)

RA77による変性ヒトγ-グロブリンと反応するリウマチ因子は，抗HTLV-I抗体陽性血清の33検体中16検体(48.5%)に，陰性血清の30検体中12検体(40%)に検出され，両者に明らかな有意差は認められなかった。

表3　抗HTLV-I抗体陽性血清と陰性血清のリウマチ因子検出率

検査方法	陽性血清(%)	陰性血清(%)
RA77 (+) セロディア-RA (+)	9 (27.3) ┐ 16 (48.5)	1 (3.3) ┐ 12 (40.0)
RA77 (+) セロディア-RA (−)	7 (21.2) ┘	11 (36.7) ┘
RA77 (−) セロディア-RA (−)	17 (51.5)	18 (60.0)
計	33 (100)	30 (100)

一方，セロディア-RAによる変性ウサギIgGと反応するリウマチ因子は，抗HTLV-I抗体陽性血清では9検体(27.3%)に対して，抗HTLV-I抗体陰性血清では1検体(3.3%)にすぎず，両者の間に明らかな有意差が認められた($P < 0.01$)。すなわち，抗HTLV-I抗体陽性例では変性ヒトγ-グロブリンと反応するリウマチ因子が半数に認められ，さらに，慢性関節リウマチに特異的ともいえるリウマチ因子がその半数を占めており，抗HTLV-I抗体陰性血清とは明らかに差異が認められた。

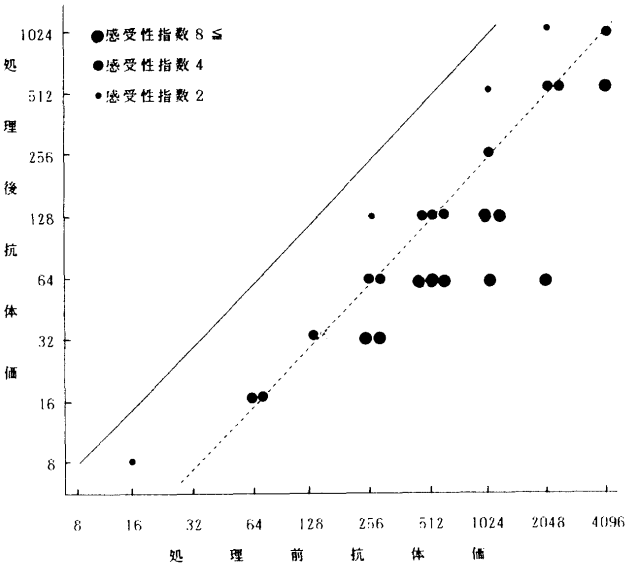

図1　抗HTLV-I抗体陽性血清における2-メルカプトエタノール感受性IgMクラス抗体について

4. 抗HTLV-I抗体陽性血清(26検体)のIgMクラス抗体

2MEで処理した血清の抗HTLV-I抗体価と，処理前の抗体価をPA法により測定した。ここでは，(2ME処理前の抗体価/2ME処理後の抗体価)から求めた指数を2ME感受性指数とし，4以上をIgMクラス抗体が有意に多いと認められたものとして評価した。

なお，未処理血清についてはIF法の二次抗体として蛍光色素を標識した抗ヒトIgM血清を用いた成績では10倍希釈まで陽性であったが，2ME処理により陰性化し，同時にリウマチ因子も陰性化していた。

図1に示したように，感受性指数4以上のものが26検体中22検体(84.6%)に認められ，抗HTLV-I抗体価256倍以上のものでは22検体中19検体(86.4%)が感受性指数4以上で，しかも感受性指数8以上のものが10検体(52.7%)と過半数を占めた。しかし，2ME感受性抗体は，抗体価の大きさと平行しなかった。また，2ME感受性指数8以上のものについてみると，表4に示したように，変性ヒトγ-グロブリンと反応するリウマチ因子がすべて陽性で，その中の6検体(60%)は変性ウサギIgGと反応するものであった。

表4　2ME感受性指数8以上(10検体)のリウマチ因子

検査法(抗原)		RA77(ヒトγ-グロブリン) +	RA77(ヒトγ-グロブリン) −	計
セロディア-RA(ウサギIgG)	+	6 (60%)	0	6 (60%)
	−	4 (40%)	0	4 (40%)
計		10 (100%)	0	10 (100%)

考　察

抗HTLV-I抗体は，ATLやHTLV-I関連ミエロパティ(HTLV-I associated myelopathy: HAM)およびキャリアなどに認められる。同時に抗HTLV-I抗体陽性者はHTLV-Iウイルスを有していることが明らかになった[7,8]。そこで，抗HTLV-I抗体検査はスクリーニング検査として必要不可欠なものとなっている。

今回，われわれは抗HTLV-I抗体陽性血清33検体と陰性血清30検体を用い，免疫グロブリンの定量とリウマチ因子の有無および抗HTLV-I抗体陽性血清の2ME感受性抗体について検討した。

免疫グロブリンの定量は，液性の生体防御機能の指標として測定されるが，抗HTLV-I抗体陽性血清と陰性血清の測定値は基準範囲内のものが70~80%を占め，基準範囲以上のものが20~30%で，両者間に殆んど差異はなかったが，Mean値でみる限り，いずれの免疫グロブリン量も抗HTLV-I抗体陽性例が高値であった。一方，いずれの免疫グロブリンでも基準範囲より低値のものは認められなかった。単に抗HTLV-I抗体陽性血清というだけでは免疫グロブリン量に変化は認められず，後天性免疫不全症候群のような免疫不全に至るようなT細胞の変化は進行していないといえる。田口[9]や高月[10]も抗HTLV-I抗体陽性の疾患で免疫グロブリンはほぼ基準範囲内にあったと述べている。

血清中のIgMクラス抗体の代表的なものとしてリウマチ因子がある。1989年にKitajimaら[4]はHAM患者に関節障害を高率に合併することを認め，その後，滑膜細胞よりHTLV-Iのプロウイルスを証明した[11]。今回，われわれはこれを踏まえて抗HTLV-I抗体陽性血清と陰性血清のリウマチ因子検出を試みた。その結果，変性ヒトγ-グロブリンと反応するリウマチ因子は陽性血清で48.5%，陰性血清で40%の検出率であり，両者間に有意差は認められなかった。しかし，変性ウサギIgGと反応する特異的リウマチ因子についてをみると，抗HTLV-I抗体陽性血清では27.3%の検出率であったのに対して，陰性血清では3.3%で明らかに差異が認められた。抗HTLV-I抗体陽性患者では滑膜細胞でのプロウイルスの増殖に伴って生じる変化により，慢性関節リウマチに特異的なリウマチ因子が産生されて関節障害をきたしやすいのかも知れない。

つぎに，2ME処理によりIgMクラス抗体を分解したときの抗体価の変動をみた。抗HTLV-I抗体陽性血清では感受性指数4以上のものが84.6%と高頻度に認められ，しかも抗HTLV-I抗体価が256倍以上のものでは感受性指数が8~32の範囲に広がり，IgMクラス抗体の増加していることがわかった($P < 0.01$)。このIgMクラス抗体の検出率について，ATLでは20~26.3%であり，HAMでは85~100%との報告があり[12,13,14]，今回，われわれが用いた検体の成績は感受性指数4以上のIgMクラスのものが84.6%で，しかも多くの検体でリウマチ因子が認められていることから，HAMの合併してくる確立が高いともいえる。さらに西村ら[15]，上平ら[16]によれば，IgMクラス抗体は抗HTLV-I抗体が高力価のもので出現率が高くなると述べているが，われわれの成績では必ずしも一致しないものであった。

一般に，感染症においてはIgMクラス抗体が早期に出現し，IgGクラスが高くて，長く持続するといわれているが，HTLV-I感染においては持続感染のためかIgMクラス抗体が多く，しかもリウマチ因子を伴うものが多いようである。この現象を如何に理解するか，さらに詳細な解析が必要であると思われる。

結　語

抗HTLV-I抗体陽性血清33検体と陰性血清30検体を用いて，免疫グロブリンの定量とリウマチ因子の有無を，そして，抗HTLV-I抗体陽性血清の2ME感受性抗体の測定を試み，つぎのような成績を得た。

1. 免疫グロブリン量は抗HTLV-I抗体陽性血清と陰性血清との間で著明な差異はみられず，しかも基準範囲以下の低値のものは全く認められなかった。

2. 変性ヒトγ-グロブリンと反応するリウマチ因子は，抗HTLV-I抗体陽性血清の48.5%，陰性血清では40%と陽性率にあまり差異がみられなかったが，変性ウサギIgGと反応する特異的リウマチ因子は前者が27.3%，後者が3.3%と明らかな差異が認められた。

3. 抗HTLV-I抗体陽性血清中のIgMクラス抗体は，2ME感受性指数4以上のものが84.6%と高率に認められ，しかも，PA法の抗体価が256倍以上のものでは感受性指数8以上のものが過半数を占

め，同時にリウマチ因子も陽性であった。

謝辞：患者血清の収集にご協力いただいた福岡市医師会臨床検査センター尾形幸子技師，株式会社リンテック大隈章平技師に，そしてHTLV-Ⅰ抗体検出用IF試薬の調達にご配慮たまわりました福岡県赤十字血液センター佐藤博行先生，桐山佳子技師に深謝いたします。

文　献

1) Hinuma, Y., Nagata, K., Hamaoka, M. et al: Adult T-cell leukemia: Antigen in an ATL cell line and detection of antibodies to the antigen in human sera. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A, 78: 6476-6480, 1981
2) Takatsuki, K., Uchiyama, T., Sagawa, K. et al: Adult T-cell leukemia in Japan. Topix in Hematology, Amesterdam: Exerpta Media. pp73-77, 1977
3) Poizes, B. J., Ruscetti, F.W., Frazder, A.F. et al: Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patients with cutaneous T-cell lymphoma. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A, 77 : 7415-7419, 1980
4) Kitajima, I., Maruyama, I., Maruyama, Y. et al: Polyarthritis in human T-lymphotropic virus Ⅰ associated myelopathy. Arthritis Rheum., 32: 1342-1344, 1989
5) 金井泉，金井正光：免疫血清検査．臨床検査法提要 第31版，金原出版 pp823-827，1998
6) 中島公雄：2-メルカプトエタノール処理法．検査と技術，13: 844-847，1985
7) Gotoh, H., Suganuma, K., Hinuma, Y. : Healthy carriers of human retrovirus adult T-cell leukemia virus (ATLV), demonstration by clonal culture of ATLV-carrying T-cell from peripheral blood. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 79: 4780 -4782, 1982
8) Yoshida, M., Miyoshi, I., Hinuma, Y. : Isolation and characterization of retrovirus from cell lines 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
9) 田口博國：成人T細胞白血病．検査と技術，12: 870-875，1984
10) 高月清：ATLの臨床像．臨床とウイルス，10: 277-283，1982
11) Kitajima, I., Yamamoto, K., Sato, K. et al: Detection of human T-cell lymphotropic virus type Ⅰ proviral DNA and its gene expression in synovial cells in chronic inframmatory arthropathy. J. Clin. Invest., 88: 1315-1322, 1991
12) 西村要子，清川哲志，山口一成他：抗HTLV-Ⅰ抗体測定におけるWB法の有用性について－IF法，EIA法とPA法との不一致例の検討－．臨床病理，37: 385-389，1989
13) 田口博國，藤松順一，沢田高志：ウエスタンブロット法によるHTLV-Ⅰ抗体の測定　－IF法，EIA法との比較検討－．臨床検査，33: 1090-1094，1989
14) 藤松順一，本田康之，沢田高志他：ウエスタンブロット法によるHTLV-Ⅰ抗体測定試薬の開発　－測定条件の検討および臨床試験成績－．臨床検査，34: 1231-1238，1990
15) 西村要子，山口一成：HTLV-Ⅰ検査の確認試験での組み合わせ．検査と技術，17: 1021-1022，1989
16) 上平憲，早田史，樅田三郎他：Human T-lymphotropic virus type-Ⅰ (HTLV-Ⅰ)持続感染者のIgM抗 adult T-cell leukemia associated antigen (ATLA)抗体について．日内会誌，77: 481-486，1988