

457 合成抗原を用いた2種の抗ヒトパルボウイルス B19 抗体検査法の成績

富山医薬大

岡 秀明, 山川義寛, 新居隆, 泉 陸一

[目的] ヒトパルボウイルス B19 (以下 B19 と略) の胎内感染は非免疫性胎児水腫の病因として広く知られるようになったため, 血清を用いた抗 B19 抗体検査による母体 B19 感染の確定診断が重要となってきた。我々は, 天然抗原を用いた ELISA 法 (以下 native ELISA と略) にて抗 B19 抗体検査を行ってきたが, B19 には適切な培養実験系がないためこの抗原の安定供給が不可能である。しかし, 近年の遺伝子工学の進歩により, 合成抗原を用いた Western blot 法 (以下 recombinant Western blot と略), 並びに合成抗原用いた ELISA 法 (以下 recombinant ELISA と略) による抗 B19 抗体検査が臨床で可能となってきた。今回我々は, 上記3法を比較検討した。[方法] native ELISA にて抗 B19 IgG 抗体の有無が判明している成人血清 54 検体と, 抗 B19 IgM 抗体の有無が判明している成人血清 28 検体で, recombinant Western blot 及び recombinant ELISA による抗 B19 IgG, 並びに IgM 抗体検査を行った。[成績] 抗 B19 IgG 抗体検査においては, 3法すべてでの一致率が 81% であった。また, recombinant Western blot は, native ELISA に比較すると, 敏感度 86%, 特異度 100%, recombinant ELISA は, 敏感度 86%, 特異度 78% であった。抗 B19 IgM 抗体検査においては, 3法すべてでの一致率が 64% であった。また, recombinant Western blot は, native ELISA に比較すると, 敏感度 100%, 特異度 91% であったが, recombinant ELISA は, 敏感度 50%, 特異度 77% にすぎなかった。[結論] native ELISA に比較して, recombinant Western blot は, ほぼ同様の成績が得られたが, recombinant ELISA は, IgM 抗体検査において, 特に敏感度に改良の余地があると考えられた。

458 Nested PCR を用いたヒトパルボウイルス B19 感染の DNA 診断法について

富山医薬大

山川義寛, 岡 秀明, 新居 隆, 泉 陸一

[目的] 簡便かつ迅速な高感度の DNA 診断法である nested PCR を用いて, ヒトパルボウイルス B19 (以下 B19 と略) による胎内感染を早期に診断する方法を確立することを目的とした。

[方法] B19 構造蛋白である VP1 および VP2 をコードしている領域より 2 組のプライマーを選択し, 2 段階に増幅を行う nested PCR 法を用いた。増幅された DNA の検出は電気泳動法によって行った。① pGEM-1 B19 より EcoRI で切り出した B19 DNA を TE buffer によって 10 倍ずつ段階希釈し, nested PCR の感度を測定した。② In situ hybridization 法によって B19 胎内感染が確認された胎児水腫 2 例の胎児腹水, 胎児血液, 胎児肝臓, 胎盤, および既存のあらゆる検査にて B19 胎内感染が否定された原因不明の胎児水腫 2 例の羊水, 胎児腹水, 胎児血清, さらに乳び胸による胎児水腫 1 例の羊水, 胎児胸水より DNA を抽出し nested PCR を行った。[成績] ① First PCR, Nested PCR とともに予想される増幅産物が得られ, 前者では 1.8 fg の B19 DNA (約 650 ゲノム相当) まで検出可能であり, 後者ではさらに 10^6 倍の高感度が得られ, 1 ゲノムでも検出可能な感度に高めることができた。② B19 胎内感染による胎児水腫例では腹水, 血液, 肝臓, 胎盤などすべての検体から B19 DNA が検出された。一方, B19 胎内感染が否定されたいずれの検体からも B19 DNA は検出されなかった。[結論] 今回われわれが開発した, ヒトパルボウイルス B19 感染を診断するための高感度の nested PCR 法は, 簡便かつ迅速に行うことができ, 羊水, 胎児血液などを用いて B19 胎内感染を早期に診断することが可能であると考えられた。