

Counting Immunoassay による HB ワクチン 追加接種後の HBs 抗体の検討

木代 和美, 畑川 清美, 岩本 佳子
今野 純夫, 矢島 義昭*

まえがき

HB ワクチン接種は医療従事者の B 型肝炎感染防止のために広く行われ、獲得抗体の検出には Passive Hemagglutination (以下 PHA) 法が用いられている。Counting Immunoassay (以下 CIA) 法は抗原抗体反応によるラテックス粒子の凝集を計数技術により測定する新しい測定法で、感度、迅速性ともに優れている¹⁾。今回我々は HB ワクチン追加接種後の PHA 法陰性・CIA 法陽性例について検討することにより、HB ワクチン接種後の CIA 法による HBs 抗体測定の評価を試みたので報告する。

対 象

1994 年度の職員を対象とした HBs 抗体検査において、PHA 法によるスクリーニング検査で陰性と判定され、遺伝子組換え HB ワクチンの追加接種を受け、1 ヶ月後に抗体検査を行った 86 例を対象とした。

方 法

1. HBs 抗体測定

PHA 法はラファセル抗 HBs を用い、血清希釈倍数 8 倍以上を陽性とした。CIA 法はランリーム HBsAb を用い、免疫自動装置 PAMIA-30 にて 20 mU/ml 以上を陽性とした。CIA 法の原理は以下のとおりである。抗原抗体反応によるラテックス凝集をシースフロー中でレーザー光の散乱強度としてとらえ、凝集ラテックス粒子数 (P: ポリマー) と未凝集ラテックス粒子数 (M: モノマー)

から P/T ($T=P+M$) を演算する。標準試料を用いて得られた検量線から被検試料中の濃度を求める。CIA 法は微量蛋白の高感度で迅速な全自動測定が可能である (図 1)。

2. HBs 抗体サブタイプの検討

国際試薬 (株) に依頼した (One Step Sandwich EIA 法)。

3. HBc 抗体測定

エルジア・F-HBc 抗体を用い、免疫自動装置エルジア F・300 にてインヒビション 70% 以上を陽

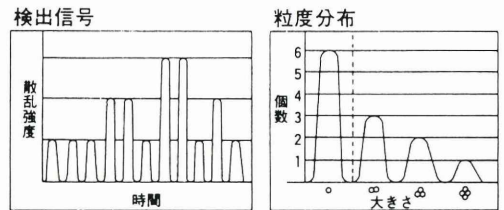
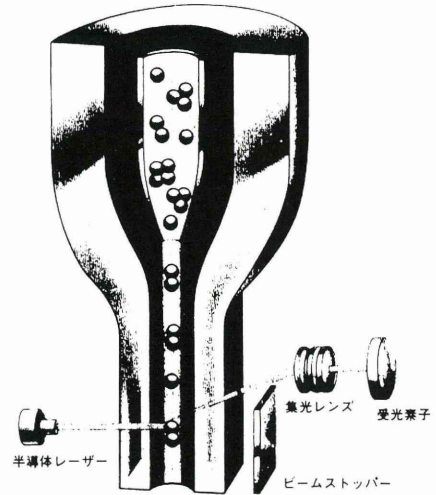


図 1. 測定原理

仙台市立病院中央臨床検査室

* 同 消化器科

性とした。

結 果

- HB ワクチン追加接種後の測定方法別の HBs 抗体陽転率
PHA 法・CIA 法ともに陽転したものが 64 例

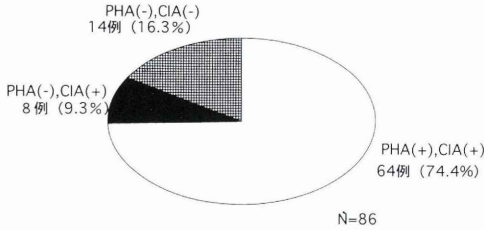


図 2. HB ワクチン追加接種後の測定方法別の陽転率 (PHA 法と CIA 法)

表 1. CIA 法による HB ワクチン追加接種前後の測定値 (PHA 法陰性・CIA 法陽性例) (mU/ml)

	接種前	接種後
1	26.7	27.0
2	40.8	25.4
3	55.1	45.4
4	5.5	38.6
5	3.7	20.5
6	16.7	28.1
7	9.1	55.1
8	0.0	20.5

20 mU/ml 以上を陽性

表 2. PHA 法陰性・CIA 法陽性 8 例の HB ワクチン歴

	87 年	91 年	92 年	93 年	94 年 CIA 法測定値 (mU/ml)
1	-			+	27.0
2	+			-	25.4
3	-			-	45.4
4		-	-	+	38.6
5		-	接種後未検査	-	20.5
6	-			-	28.1
7				-	55.1
8	-			+	20.5

(74.4%), CIA 法のみ陽転し PHA 法は陰性のままだったものが 8 例 (9.3%), PHA 法・CIA 法ともに陰性のままだったものが 14 例 (16.3%) であった (図 2)。

- HB ワクチン追加接種後 PHA 法陰性・CIA 法陽性の 8 例についての検討

- 1) CIA 法による HB ワクチン追加接種前後の測定値

3 例は接種後に測定値の上昇がみられなかった。しかし残りの 5 例は接種前の測定では陰性だったが、接種後は陽転していた (表 1)。

表 3. エルジア・F-HBc 抗体による HBc 抗体測定 (PHA 法陰性・CIA 法陽性例)

	Inhibition %	判定
1	17.9	-
2	99.5	+
3	4.6	-
4	14.8	-
5	23.5	-
6	46.2	-
7	14.9	-
8	0.5	-

インヒビション 70%以上を陽性

表 4. One Step Sandwich EIA 法による HBs 抗体サブタイプ測定 (PHA 法陰性・CIA 法陽性例) (Cut off index は 1.0 以上を陽性)

検体	固相抗原		
	adr	adw	ayw
1	9.5	5.7	5.8
2	8.8	8.0	4.2
3	22.2	15.3	9.7
4	16.2	12.6	9.6
5	6.1	8.1	4.3
6	4.8	5.6	3.1
7	11.1	9.7	6.5
8	10.0	6.6	5.5

Absorbance 492/690 nm

$$\text{Cut off index} = \frac{\text{検体の吸光度}}{\text{陰性対照の吸光度} + 0.05}$$

2) HB ワクチン歴

表中のプラスとマイナスは、その年にワクチンを接種しその後の検査において抗体を獲得したものがプラス、獲得できなかったものがマイナスである。1例を除き初回の1クール(3回)接種では抗体を獲得していなかった。追加接種により3例が抗体を獲得していた(表2)。

3) HBc 抗体測定

B型肝炎ウイルス関連抗体のうち、HBc抗体のみ陽性の症例においてはHBワクチンに対する反応が不良であるという報告²⁾がみられることから、HBc抗体測定を行った。その結果、1例のみが陽性であった(表3)。

4) One Step Sandwich EIA 法による HBs 抗体サブタイプ測定

3種類のサブタイプの固相抗原に対する反応の強さをCut off indexで表示し、それぞれの値を比較することにより存在する抗体のサブタイプを判定した。全例において3種類の固相抗原すべてに反応が認められたことから、抗a抗体が存在することが分かった(表4)。

5) この追加接種後に再追加接種を受けた1例8例目の職員は2ヶ月後と6ヶ月後に再追加接種を受け1ヶ月後にHBs抗体検査をしたところ、CIA法による測定値は215.5 mU/mlと著しい上昇を示していた。

考 察

HBワクチン接種においてワクチンに対する反応不良者が存在することと、獲得抗体価が時間の経過とともに下降することが問題となっている。反応不良者がなぜ存在するのかはまだ解明されていない。藤瀬ら³⁾はHBワクチンに対する無・低反応者と高反応者の免疫学的諸因子量に優位差がなかったことから、HBs抗原蛋白に対する特異的な反応性によるものと示唆している。また吉川⁴⁾によると、3回のHBワクチン接種でHBs抗体を獲得できなかったいわゆる無反応者へさらに3回の追加接種を実施したところ、6例中3例に抗体陽転者を認め、無反応者の判定には慎重を要するとしている。真の無反応者か低反応者かを見極める

には、PHA法では感度の面で無理があり、高感度法で確認する必要がある。

CIA法は専用自動分析装置を用いて抗原抗体反応によるラテックス粒子の凝集を計数技術により測定するので、約15分とELISA法より短時間で測定が可能である。しかも感度はPHA法よりも優れ、ELISA法に近い感度を有し、共存物質の影響も受けにくい¹⁾。このように感度、迅速性に優れたCIA法で追加接種前後のHBs抗体測定値変化を追うことは、医療事故時の速やかな対応ばかりでなく、HBワクチン接種後のHBs抗体検査に有用ではないかと検討を行った。

追加接種を受けた86例中8例(9.3%)がPHA法陰性・CIA法陽性となったが、2法間の不一致の原因は感度の差と検出する抗体のサブタイプの違いによるものと考えられる。PHA法陰性・CIA法陽性の8例はHBs抗体サブタイプ検討の結果、いずれも抗a抗体が存在することから中和抗体をもっていると思われた。また8例中7例は初め1クールで抗体を獲得できず、また獲得することができてもすぐに陰性化してしまう低反応者であることが分かった。なおHBc抗体は1例が陽性であるのみで関連は認められなかった。8例中3例においては追加接種後に測定値の上昇が認められなかったが、追加接種前においてCIA法陽性であった。この原因は目下のところ不明である。追加接種によりCIA法陽性となった5例のうち1例はさらに追加接種を受け、著しく測定値が上昇した。これはすでにリンパ球が感作されていてブースター効果を示したと考えられる。

CIA法はPHA法では感度以下の、低域でのHBs抗体値の変動をとらえることがわかった。一方、HBウイルス感染を防御し得るHBs抗体価はPHA法で16倍以上と言われている⁵⁾。HBs抗体は標準物質がないため定量値はメーカー独自のものでまだ統一化されていないが、我々が以前にPHA法の力価とCIA法の定量値の比較をしたところ、PHA法の16倍のCIA法の100 mU/mlに相当した。よって、PHA法陰性・CIA法陽性の8例は中和抗体をもっていたが、このような低HBs抗体値で感染を防御することは不十分であ

る可能性がある。しかし、これらの例はHBワクチンに対して全く反応がないのではなく、症例8にみられるように追加接種によりブースター効果をしめす可能性がある。追加接種の対象者を見出す面からも、CIA法によるHBワクチン接種後のHBs抗体測定は有意義であると思われた。

ま と め

1. HBワクチン追加接種を受けた86例中PHA法陰性・CIA法陽性は8例であった。
2. この8例はHBs抗体サブタイプ検討の結果抗a抗体が存在した。
3. 8例中5例はCIA法において測定値の上昇が認められた。
4. そのうち1例はさらに追加接種を受け著しく測定値が上昇した。
5. CIA法はPHA法では感度以下のHBs抗

体値の変化をとらえた。

この要旨は第44回日本臨床衛生検査学会(平成7年5月・山形)で発表した。

文 献

- 1) 芥川和彦 他: Counting Immunoassay (CIA) によるHBs抗原・抗体の迅速測定法の検討. 機器・試薬 **13**, 323-329, 1990.
- 2) 日本消化器病学会肝機能研究班: 肝疾患における肝炎のウイルスマーカーの選択基準. 日消誌 **91**, 1472-1480, 1994.
- 3) 藤瀬清隆 他: HBワクチン無反応および低反応例の免疫学的背景因子の検討. 感染症学雑誌 **67**, 190-195, 1993.
- 4) 吉川 明: B型肝炎ウイルス感染の予防に関する臨床的研究. 肝臓 **28**, 1413-1422, 1987.
- 5) B型肝炎研究班: B型肝炎医療機関内感染対策ガイドライン. 1982.