

## 第 42 回日本小児感染症学会ミート・ザ・エキスパート

## 抗体検査：目的・結果・次にすることは

庵原俊昭\*

**要旨** 抗体検査法は、測定原理から血清を 2 倍階段希釈して測定する方法と一定の濃度に希釈後測定する方法の 2 種類がある。測定方法による互換性がわかるように WHO は抗体価を国際単位で表示することを勧めている。抗体検査は感染症の診断と各感染症の免疫保有状態の検索に用いられる。各感染症とも抗体陽性抗体価、発症予防抗体価、感染予防抗体価は異なっており、発症予防抗体価でワクチン予防可能疾患の感染対策が行われている。

## はじめに

抗体検査は、感染症の診断、各感染症に対する免疫保有状態の検索、ワクチン開発における有効性の指標に広く用いられている。抗体検査を有効に利用するためには、抗体測定方法の原理を理解し、結果を感染症の病態に応じて弾力的に解釈することが大切である。抗体検査の原理および抗体検査の臨床応用について解説する。

## I. 抗体測定方法の原理と測定方法 (表 1)

血清抗体測定方法は測定原理から大きく分けて 2 種類に分類される<sup>1)</sup>。一つは「階段血清希釈法」と呼ぶ方法で、血清を 2 倍階段希釈後、ウイルスまたは抗原を添加し、所定の時間反応させたあと、反応結果である抗原抗体複合体を粒子の凝集〔粒子凝集法 (PA)：ウイルス抗原を付着させたラテックス粒子などを使用〕、反応後添加した蛍光標識させた二次抗体の蛍光〔間接蛍光抗体法 (IFA)〕、反応後添加したヒト O 型赤血球の凝集〔免疫付着赤血球凝集法 (IAHA)〕などで判定する方法と、反応後に残ったウイルスの増殖〔中和法

表 1 抗体測定の方法と測定方法

- |                            |
|----------------------------|
| 1. 階段血清希釈法                 |
| 1) 抗原抗体反応を検出               |
| ・粒子凝集法 (PA)                |
| ・間接蛍光抗体法 (IFA)             |
| ・免疫付着赤血球凝集法 (IAHA)         |
| 2) 反応せずに残ったウイルス、抗原または補体を検出 |
| ・中和法 (NT)                  |
| ・赤血球凝集抑制法 (HI)             |
| ・補体結合法 (CF)                |
| 2. 一定濃度血清希釈法               |
| 検量線から算出                    |
| ・酵素免疫法 (EIA)               |
| ・放射性免疫測定法 (RIA)            |
| ・化学発光免疫測定法 (CLIA)          |
| ・ラテックス凝集比濁法 (LA)           |

階段血清希釈法は手作業で行われ、目視で判定される。抗体価は「倍」で表示される。一方、一定濃度血清希釈法は機械化が可能であり、多数の検体を測定するのに適している。抗体価は「単位」で表示される。

(NT)〕、残った赤血球凝集抗原を反応後添加した動物赤血球の凝集〔赤血球凝集抑制法 (HI)〕、抗原抗体反応時に添加した補体の残存による反応後

**Key words**：抗体、IgM 抗体、抗体有意上昇、抗体陽性、発症予防抗体価

\* 国立病院機構三重病院小児科  
〔〒514-0125 津市大里窪田町 375〕

添加した赤血球の溶血〔補体結合法 (CF) : 溶血素で標識したヒツジ赤血球 (感作赤血球) を添加〕で判定する方法などがある。HI 抗体測定に用いる動物赤血球は、測定するウイルスによって異なっている。判定基準も、反応を 50% 認めた血清希釈倍数で表示する場合と、100% 認めた血清希釈倍数で表示する場合とがあり、判定基準により抗体価は異なってくる。測定多くの部分は手作業で行われ、判定も目視で行われる。抗体価は通常「倍」で表示される。

もう一つの血清抗体測定方法は「一定濃度血清希釈法」と呼ぶ方法で、複数の標準血清の測定値から検量線を作製し、測定値から抗体価を求める方法である。血液生化学検査やホルモン検査などと同じ測定原理である。一定濃度に希釈した血清を一定濃度のウイルス抗原と反応させたあと、抗原に付着した抗体量を、発色色素で標識された二次抗体で測定する方法〔酵素免疫法 (EIA)〕、ラジオアイソトープで標識された二次抗体で測定する方法〔放射性免疫測定法 (RIA)〕、化学発光物質で標識された二次抗体で測定する方法〔化学発光免疫測定法 (CALI)〕、ラテックス粒子の濁度でみる方法〔ラテックス凝集比濁法 (LA)〕などがある。手作業で行われるときもあるが測定の機械化が可能であり、多数の検体を測定するのに適している。測定結果は連続した数字で表示される。なお、反応する抗原量が限定されているため、高い抗体価は低く表示される傾向があり、ときに測定限度以上になることがある。測定限度以上になった検体は、測定値が検量線にフィットするようさらに希釈して測定する。測定された抗体価は、通常「単位」で表示される。

## II. 抗体価の分布と標準化

「倍」で表示された抗体価も「単位」で表示された抗体価も、集団における陽性抗体価は対数変換すると正規分布する。抗体価を群間比較するとき、「倍」で表示される抗体価は、習慣上 2 を底とする対数に変換後検定を行い、「単位」で表示される抗体価は、10 を底とする対数または 2 を底とする対数に変換後検定を行っている。

いろいろな測定方法で測定された抗体価を比較

するためには、統一された抗体価表示が必要である。世界保健機関 (WHO) は血清抗体価表示の統一化を目指し、値付けした標準血清を作製し、B 型肝炎ウイルス (HBV)、麻疹、風疹などの抗体価を国際単位 (IU) で表示することを求めている。わが国では HBs 抗体は国際単位が使用されており、風疹抗体価および麻疹抗体価も国際単位表示への動きがある。ちなみに、風疹 HI 抗体価 8 倍は 8 IU に、風疹 EIA 抗体価 4.0 EIA 価は 8 IU に相当し、麻疹 NT 抗体 256 倍は 10,000 mIU に相当する<sup>2)</sup>。

## III. 抗体の有意上昇

抗体価の有意上昇とは、測定誤差以上の抗体価の上昇である。2 倍階段血清希釈法で測定された抗体価では、測定抗体価の上下 2 倍 (1 管の差) までの抗体価は誤差範囲であり、4 倍 (2 管) 以上の上昇が測定誤差以上の上昇である。一方、一定濃度血清希釈法で測定される抗体価では誤差範囲の幅は狭く、2 倍以上の抗体上昇は誤差範囲以上の上昇である。

## IV. 抗体による感染症の診断

感染症診断の基本は、病巣からの病原体検出 (ウイルス分離、細菌培養同定) である<sup>3)</sup>。その他の診断方法として、ウイルス蛋白またはウイルス遺伝子の検出、血清 IgM 抗体の検出、血清抗体 (IgG 分画) の有意上昇がある。ウイルス血清抗体価は、体内で増殖したウイルス量に応じた免疫反応であり、時間の経過とともに IgG 抗体も IgM 抗体も上昇する。1 回の血清 IgM 抗体検査で感染症を診断するためには、発症 48 時間以降に測定することが望ましい。なお、血清 IgM 抗体はときに非特異陽性を示すことがあり、臨床経過からその感染症が否定的な場合は再検すべきである。非特異陽性の場合には、時間の経過による IgM 抗体の上昇が認められない。伝染性紅斑、突発性発疹、デング熱では麻疹 IgM 抗体が非特異陽性になる<sup>4,5)</sup>。

ウイルス抗体は、ワクチン後の感染および再感染の診断にも用いられる。このような症例では、症状出現時にすでに二次免疫応答が始まっており、IgG 抗体は上昇し、ウイルス増殖の程度に応

表 2 ムンプスウイルス分離陽性例の急性期 IgM・IgG 抗体価

症例	年齢	V 歴	病日	V 分離	IgM 抗体	IgG 抗体
1	9	—	1	+	3.71	2.1
2	6	—	1	+	11.99	14.0
3	9	—	1	+	0.16	2.5
4	5	—	1	+	3.26	7.5
5	9	—	3	+	12.55	8.5
6	4	—	3	+	14.82	16.3
7	4	—	3	+	13.05	12.1
8	5	+	1	+	0.55	26.6
9	6	+	1	+	1.26	41.9
10	5	+	1	+	0.74	29.1
11	6	+	2	+	0.44	35.7
12	6	+	2	+	0.40	2.2
13	5	+	3	+	1.43	31.4

じて IgM 抗体が検出される。表 2 にムンプス初感染時およびワクチン後のムンプス発症時の抗体パターンを示した。表 2 の症例 12 は一次性ワクチン不全 (primary vaccine failure : PVF) であり、他の 5 例は二次性ワクチン不全 (secondary vaccine failure : SVF) である。なお、デンカ生研のムンプス IgM 抗体検査試薬や麻疹 IgM 抗体検査試薬で測定された IgM 抗体価は定量性があり、14.0~15.0 抗体指数が測定限界である。この抗体価以上の抗体価を測定するときは、血清を希釈して再測定する必要がある。

ウイルス抗体の検査結果を読むときは、時間的経過を考慮することが大切である。また、地域での流行や園や学校での流行を確認することも大切である。

#### V. 抗体陽性抗体価、発症予防抗体価、感染予防抗体価

抗体測定方法により陽性閾値は異なっており、測定感度が高い抗体測定方法を用いると、少ない抗体量まで検出できる。同じ感度の測定方法を用いても抗体量が少ないと、ときに測定方法により結果が異なることがある。このような場合は陰性として対応する。抗体判定基準に (± : 同等, 判定保留) を含む測定方法では、(±) と判定された場合も多くは陰性として対応する。

表 3 抗体測定方法による麻疹・風疹各種抗体価

	単位	陽性レベル	発症予防レベル	感染予防レベル
麻疹				
国際単位	mIU/ml		120~200	500~1,000
NT	倍	2	4	32
PA	倍	16	64	256
EIA	EIA 価	2.0	4.0	16.0
HI	倍	8	8	16
風疹				
国際単位	IU/ml	4	10	15~25
LA	IU/ml	4	10	15~25
HI	倍	8	16	32
EIA	EIA 価	2.0	5.0	12.5

NT : 中和法, PA : 粒子凝集法, EIA : 酵素免疫法  
HI : 赤血球凝集抑制法, LA : ラテックス凝集法

ウイルスの 50% 細胞変性効果 (cytopathic effect : CPE) 抑制を判定基準として判定された NT 抗体 2 倍は抗体陽性であるが、発症予防抗体価ではない。また、ウイルス感染症には全身性ウイルス感染症と局所性ウイルス感染症がある。全身性ウイルス感染症では、ウイルスが感染後増殖して症状が出現するまでの間に、免疫記憶細胞が誘導されていると早期に二次免疫応答が始まり、結果として発症が予防される。感染予防抗体価とは、感染したウイルスの増殖を抑制する抗体価であり、病態的には二次免疫応答を誘導させない抗体価である。全身性ウイルス感染症では、感染予防抗体価のほうが発症予防抗体価よりも高値である。

一方、局所性ウイルス感染症では、ウイルス感染後二次免疫応答による症状発現抑制よりも先に症状が出現するため、発症予防には高い抗体価が必要である。発症予防抗体価と感染予防抗体価は一致する。

感染症ごとに、また抗体測定方法ごとに抗体陽性抗体価、発症予防抗体価、感染予防抗体価は異なっている。表 3 に麻疹および風疹の抗体測定方法による抗体陽性レベル、発症予防レベル、感染予防レベルの抗体価を示し<sup>2,6)</sup>、表 4 に代表的なワクチン予防可能疾患の発症予防抗体価を示した<sup>7,8)</sup>。なお、この抗体価は多くの人の発症を予防する抗体価であり、曝露されたウイルス量が多い

表 4 代表的なワクチン予防可能疾患の発症予防レベル

ワクチン	抗体測定方法	必要な抗体価
ジフテリア	中和	0.01~0.1 IU/ml
A 型肝炎	EIA	10 mIU/ml
B 型肝炎	EIA	10 mIU/ml
Hib 結合型	EIA	0.15 $\mu$ g/ml
インフルエンザ	HI	40 倍
日本脳炎	中和	10 倍
麻疹	マイクロ中和	120 mIU/ml
ムンプス		not defined
百日咳	EIA (PT)	5 単位
肺炎球菌	EIA	0.20~0.35 $\mu$ g/ml (小児)
	opsonophagocytosis	8 倍
ポリオ	中和	4~8 倍
狂犬病	中和	0.5 IU/ml
ロタウイルス		not defined
風疹	免疫沈降	10~15 IU/ml
破傷風	中和	0.1 IU/ml
水痘	FAMA	64 倍
	gp ELISA	5 IU/ml
黄熱	中和	5 倍

(文献 6) より引用, 一部改変)

と, 発症予防のためにはこの抗体価よりも高い抗体価が必要である。また, 抗体価が高いほど発症予防効果は優れている。

感染予防には液性免疫だけではなく, 粘膜免疫や細胞性免疫も働くため, 発症予防抗体価よりも低い抗体価でも発症しないことがあり, 抗体価だけで発症予防を判断することは困難である。しかし, 抗体価は容易に測定できるため, 一般には抗体測定により免疫保有状態の検索が行われている。なお, 免疫保有状態の検索には, 感受性の高い抗体測定方法を用いるべきである。費用を考えなければ EIA 法が優れており, CF 法は用いるべきではない。発症予防レベル以下の人にはワクチン接種が勧められる。

#### VI. Low responder (低抗体反応者)

発症予防レベル以下の抗体価の人にワクチンを接種しても, 発症予防レベル以上の抗体価上昇が認められないときがある。生ワクチンの場合, 細胞性免疫などでウイルス増殖が抑制される人

あり, 発症が予防される人である。また B 型肝炎ワクチンなどの不活化ワクチンでも, 規定通りのプライミングとブースティングを行っても抗体価が上昇しない人がある。このような人は low responder と呼ばれ, 遺伝的因子が関与している。Low responder は感染しても発症しない人と考えられている。

2 回麻疹ウイルスを含むワクチンを接種しても, 発症予防レベル以上の抗体価に達しない人がある。このような人への追加接種は理論上不要であるが, 社会的要因によって 3 回目の接種が勧められる場合がある。

#### VII. 感染後・ワクチン後の免疫持続

1781 年に麻疹が流行し, その後麻疹流行がなかった Faroe 島で 1846 年に麻疹が流行したとき, 1781 年の流行を経験した 65 歳以上の人たちは麻疹を発症しなかったが, 64 歳以下の人たちは麻疹を発症した。この報告から麻疹は一度かかると生涯免疫が持続すると考えられていた。

一方, 麻疹ワクチンを受けた一部の人たちが麻疹流行時に軽症の麻疹 (修飾麻疹) を発症することがあり, すべの人が生涯発症予防レベル以上の抗体価を持続することがないことが示され, 先進国では SVF 予防に麻疹ウイルスを含むワクチンの 2 回接種を行っている。しかし, 2 回接種を受けた人でもまれに麻疹発症が認められている<sup>9)</sup>。なお, 麻疹だけではなく水痘やムンプスにおいても, ワクチン後の自然罹患例の臨床経過は, ワクチンを受けていない自然罹患例と比べ軽症である。

SVF の病態を図に示した。感染予防レベルの抗体価がないためウイルスは感染し, 感染したウイルス増殖と同時に初回ワクチン接種により誘導された免疫細胞が刺激され二次免疫応答は開始するが, 二次免疫応答により産生される抗体などの特異免疫が不十分なため, 発症抑制が間に合わず症状は出現する。しかし, 症状出現後も免疫応答は働き, 結果として症状が早期に消失し軽症化する。

全身性ウイルス感染症に対する生ワクチン接種後の抗体価の半減期は 3~4 年である。ワクチン後の抗体の持続は自然感染による免疫賦活 (自然



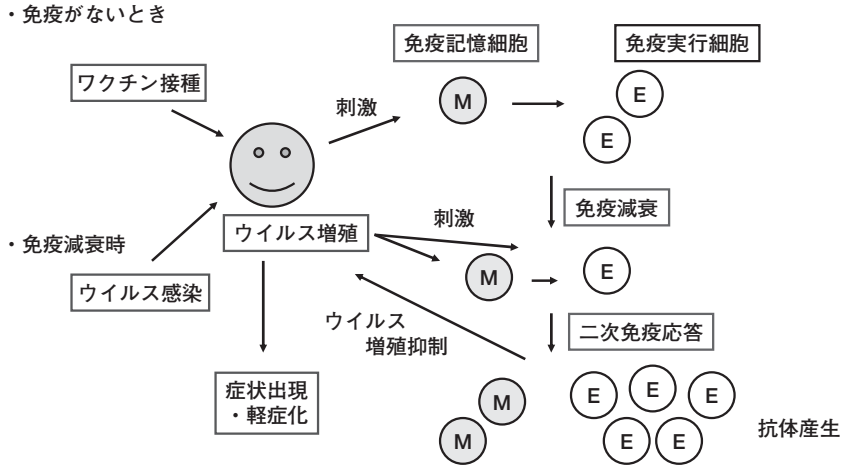


図 二次性ワクチン不全 (SVF) の病態

高い抗体価だと感染が予防され, 中等度の抗体価だと二次免疫応答により発症が予防され, 低い抗体価だと発症するか軽症化する (修飾感染).

ブースター) であり, 自然ブースターがなければ抗体価はそのまま減衰を続け, 多くの方は流行時に再感染すると考えられていた. 一方, 長期間の経年的な抗体価測定結果から, 流行がなくても抗体価は長期に維持されるという報告もある<sup>10,11)</sup>.

Amanna らが示す抗体価の半減期を表 5 に示した<sup>10)</sup>.

これらの結果から, B 細胞には memory B cells dependent short-lived plasma cells (記憶 B 細胞依存性短命プラズマ細胞) と memory B cells dependent long-lived plasma cells (記憶 B 細胞依存性長命プラズマ細胞) の 2 種類があると考えられている. ワクチン後の抗体価の半減期や Faroe 島の経験から, 自然感染後やワクチン後早期の抗体産生細胞は主として前者が, 自然感染後やワクチン後数年以降の抗体産生細胞は主として後者が関係していると考えると理解しやすい. また, 自然感染後やワクチン後の抗体価が高いほど長期に維持される抗体価も高く, 自然ブースターがなくても高い抗体価が維持されると考えると, Faroe 島の経験が説明できる. 実際, 麻疹流行規模が小さくなった近年でも, 麻疹ワクチン世代と比べ麻疹自然感染世代の麻疹抗体価は高値である<sup>12)</sup>.

表 5 抗体の半減期

抗原	予防レベル (IU/ml)	抗体半減期 (年)	
		男性	女性
破傷風	0.01	12 (10~16)	10 (8~14)
ジフテリア	0.01	26 (17~51)	14 (8~42)
麻疹	0.2	369 (67~∞)	減衰なし (74~∞)
風疹	10	85 (43~∞)	190 (35~∞)
水痘	NA	63 (28~∞)	41 (23~212)
ムンプス	NA	124 (53~∞)	減衰なし (89~∞)
天然痘	3.8	99 (48~∞)	85 (31~∞)

NA : not applicable

Memory B cells dependent short-lived plasma cells による抗体産生と Memory B cells dependent long-lived plasma cells による抗体産生

(文献 10) より引用, 一部改変)

### VIII. インフルエンザ抗体価

ウイルス抗体価測定の基本は NT 法である. しかし, インフルエンザウイルスが分離された当時, 効率的に増殖できる培養細胞がなく, インフルエンザウイルス増殖には発育鶏卵が用いられていた. このため NT 抗体の測定が困難であり, HI 法が広く用いられた. インフルエンザウイルスが効率的に増殖する MDCK 細胞が見つかった現在でも, 手間と時間がかかる NT 法よりも HI 法がイ

表 6 インフルエンザ HI 抗体測定結果の解釈

1) インフルエンザワクチン株			
シーズン	A/H1N1	A/H3N2	B
2008/09	ブリスベン/59/2007	ウルグアイ/716/2007	フロリダ/4/2006
2009/10	ブリスベン/59/2007	ウルグアイ/716/2007	ブリスベン/60/2008
2010/11	カリフォルニア/7/2009	ビクトリア/210/2009	ブリスベン/60/2008

2) 同じ血清の各シーズンの HI 抗体価			
HI 抗体価	A/H1N1	A/H3N2	B
2009/10 シーズン	80	160	40
2010/11 シーズン	<10	10	40

3) 説明：インフルエンザ HI 抗体価は、そのシーズンに用いられるワクチン株から作製した HA 抗原を用いて測定される。2009/10 シーズンと 2010/11 シーズンと比較すると、A/H1N1 は抗原性が大きく異なる株が、A/H3N2 も抗原性が 16 倍異なる株が用いられている。このため、同じ血清でも抗原性が変異すると、抗体価も相対的に低下する。

ンフルエンザ抗体測定に広く用いられている。HI 法 10 倍は測定原理上抗体陽性であるが発症予防効果がないため、50%の発症予防効果がある HI 抗体 40 倍を、インフルエンザでは抗体陽性閾値と定義している。インフルエンザ抗体陽性率は HI 抗体 40 倍以上の人の割合である。

インフルエンザウイルスは変異が早いウイルスであり、世界各地から分離されたインフルエンザウイルスの抗原性の検討から毎年の南半球および北半球のインフルエンザワクチン株が決定されている。毎年のインフルエンザワクチンには A/H1N1, A/H3N2, B 型の 3 種類のウイルスが含まれており、インフルエンザ抗体価はその年のワクチン株由来のヘマアグルチニン (HA) 抗原を用いて測定されている。この結果、抗原性が異なるワクチン株が導入されると、同じ血清でも前年測定した抗体価と当年測定した抗体価が異なる結果となる (表 6)。ちなみに 2010/11 シーズンの A/H1N1 と A/H3N2 のワクチン株の抗原性は、2009/10 シーズンと大きく異なっている。なお、ワクチン後のインフルエンザ抗体価は、ウイルスの抗原性がかわらなければ半年～1 年後に約 1/2 に低下する。また、B 型の HA 抗原性は低いため、HI 抗体価は低めに表示される。

## ま と め

ウイルス抗体を中心に抗体検査の原理、抗体検査結果の解釈、および抗体の持続について解説した。抗体価は免疫反応や免疫力の一つの指標であり、単に抗体価の数字にとらわれることなく臨床経過全体で判断することが大切である。

## 文 献

- 1) 庵原俊昭：ウイルス感染症の診断。小児科診療 68：1992-1999, 2005
- 2) 庵原俊昭，他：風疹・麻疹抗体測定法の標準化に関する研究：抗体測定方法の互換性と感染予防レベルの検討。ウイルス感染症の体外診断薬の再評価に関する基盤整備に関する研究（研究代表者：小林和夫）平成 21 年度総括・分担研究報告書，2010，19-25
- 3) 庵原俊昭：小児感染症の診断。小児感染症学（岡部信彦編）。診断と治療社，東京，2007，21-27
- 4) 田中敏博，他：伝染性紅斑の成人患者における血清中の麻疹ウイルス IgM 抗体価の変動。病原微生物検出情報 31：268-269, 2010
- 5) 佐藤 弘，他：デング熱および突発性発疹と考えられる症例における麻疹 IgM 抗体陽性例。病原微生物検出情報 31：269-271, 2010
- 6) 庵原俊昭：ワクチンと免疫。小児保健研究 69：830-832, 2010

- 7) Plotkin SA : Correlates of protection induced by vaccination. *Clinical and Vaccine Immunology* 17 : 1055-1065, 2010
- 8) Plotkin SA : Correlates of vaccine-induced immunity. *Clin Infect Dis* 47 : 401-409, 2008
- 9) Chen T, et al : Measles outbreak associated with an international youth sporting event in the United States, 2007. *Pediatr Infect Dis J* 29 : 794-800, 2010
- 10) Amanna IJ, et al : Duration of humoral immunity to common viral and vaccine antigens. *N Engl J Med* 357 : 1903-1915, 2007
- 11) Slifka MK, et al : Long-term humoral immunity against viruses : revisiting the issue of plasma cell longevity. *Trends Microbiol* 4 : 394-400, 1996
- 12) Ihara T : The strategy for prevention of measles and rubella prevalence with measles-rubella (MR) vaccine in Japan. *Vaccine* 27 : 3234-3236, 2009

---

### Antibody examination : the purpose, the results, and the next steps

Toshiaki IHARA

*Department of Pediatrics, National Hospital Organization, Mie National Hospital*

According to the manners of serum dilution, two methods of detecting the antibodies are present. One is that the serially two-fold diluted sera are used, and the other is that sera are used after settled dilution. World Health Organization recommends antibody titers are represented by international units (IU) for comparison with the titers detected by different methods. Antibody examination is widely used to make diagnosis of infectious diseases and to detect seropositivity. The positive titers, symptom preventable titers, and infection preventable titers are different in each infectious disease. The symptom preventable titers are indicated to prevent the diseases by vaccination.

\* \* \*