

原著

改良抗麻疹 IgM 抗体測定試薬の信頼性評価：
突発性発疹患児ペア血清を用いた評価吉川 哲史¹⁾ 松岡 恵里奈¹⁾ 河村 吉紀¹⁾
大橋 正博¹⁾ 西村 直子²⁾ 尾崎 隆男²⁾

要旨 改良型抗麻疹 IgM 検出試薬 (B 法) の信頼性を評価するため、突発性発疹患児から採取したペア血清を用いて現行試薬 (A 法) と比較した。A 法では 80 検体中 26 検体 (32.5%) で陽性・判定保留となったのに対し、改良法である B 法では 80 検体中 10 検体 (12.5%) が陽性・判定保留となった。改良法である B 法でも陽性・判定保留となった患児 7 例中 5 例が発症 1 カ月前以内に MR ワクチン接種を受けていた。

はじめに

2012 年の麻疹排除 (elimination) に向け、麻疹風疹混合ワクチン (MR ワクチン) の 2 回接種の徹底、麻疹の実験室診断に基づくサーベイランスシステムの確立が進められてきた。その結果 2010 年以降、日本における常在性麻疹ウイルス (D5 型) は国内で検出されておらず、現在国内で散発あるいは限定的に流行する症例はすべて海外由来の麻疹ウイルスであることから、elimination はほぼ達成されたものと考えられる¹⁾。このように感染症症例が減少してくると、診断試薬の陽性的中率が減少することは避けられないが²⁾、それに対応するような診断試薬の迅速な改良は極めて重要である。

Enzyme immunoassay (EIA) 法を測定原理とした抗麻疹 IgM 抗体検出薬においては、近年、風疹³⁾、伝染性紅斑⁴⁾、突発性発疹 (突発疹)⁵⁾、 Dengue ウイルス感染症⁶⁾などの他の発疹性ウイルス疾

患においても陽性例が報告され、単一血清での IgM 抗体を用いた麻疹の確定診断に対し偽陽性の懸念が高まった。わが国では 2008 年より、風疹とともに麻疹が全数報告の対象となったが、前述の懸念が完全に否定できないことにより、サーベイランスおよび診断の正確性を担保するため、2010 年からは確定診断として 3 種類 (咽頭拭い液、血液、尿) の検体を用いた遺伝子検査 (PCR 検査) と民間検査機関における抗麻疹 IgM 抗体検出が推奨されている。実験室診断については、遺伝子検査用の検体が適切な時期に採取できなかった場合には、IgM 抗体の検出のみで麻疹ウイルス感染の有無を判断することとなる。よって、前述のような抗麻疹 IgM 抗体の偽陽性の可能性に対し、検出試薬の改良についての要望は大きい。

デンカ生研株式会社 (以下、デンカ生研) は、この問題に対応するため改良試薬の開発を終了し体外診断用医薬品としての承認をうけた。今回の検討では、改良型製品 (麻疹 IgM 「生研」) の信

Key words : 抗麻疹 IgM 抗体, 偽陽性, HHV-6B, 突発性発疹

1) 藤田保健衛生大学医学部小児科学

〔〒470-1192 豊明市沓掛町田楽ヶ窪 1-98〕

2) 江南厚生病院こども医療センター

頼性を評価するために、突発疹患児から採取したペア血清を用いて現行抗麻疹 IgM 検出試薬（ウイルス抗体 EIA「生研」麻疹 IgM）との比較、解析を実施した。

I. 材料と方法

1. 被験検体

発熱を主訴に藤田保健衛生大学病院、江南厚生病院こども医療センターを受診し、ウイルス学的に HHV-6B 初感染が証明された突発疹患児 40 名（男 22 名，女 18 名）を対象とした。月齢（平均±SD）は 11.9±4.7 カ月。各患児の初診時（Pre）と回復期（Post）のペア血清 80 検体について解析した。

2. 抗麻疹 IgM 抗体検出法

麻疹 IgM「生研」（デンカ生研株式会社/改良品）は添付文書に従い実施した（B 法）。改良品は現行品と同じ麻疹ウイルス抗原と麻疹ウイルスモノクローナル抗体を用いているが、試薬の特異性を向上させるため、麻疹ウイルス抗原および酵素標識麻疹ウイルスモノクローナル抗体の濃度を調整することによって最適化されている。比較対照品として、現在体外診断用医薬品として承認・市販されているウイルス抗体 EIA「生研」麻疹 IgM（デンカ生研株式会社）（A 法）およびエンザイグノスト B 麻疹/IgM（シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社）（C 法）を各添付文書に準じて使用した。各 EIA 試薬は、A 法と B 法は「IgM capture 法」であり、C 法は「IgG 吸収法」を反応原理としている。

II. 結 果

現在、一般に使用されている A 法による測定結果が陽性、あるいは判定保留となった患児の各測定法の結果と HHV-6 IgG 抗体価を表 1 に示す。A 法による抗麻疹 IgM 抗体測定の結果、80 検体中 26 検体（32.5%）で陽性（21 検体）あるいは保留判定（5 検体）となったのに対し、改良法である B 法では 80 検体中 10 検体（12.5%）が陽性（6 検体）あるいは判定保留（4 検体）となった。これら陽性、判定保留検体はすべて A 法で陽性あるいは判定保留となった検体であり、A 法で陰性

であったにもかかわらず B 法で陽性あるいは判定保留となった検体はなかった。また、主に海外で頻用されている C 法については、残血清の関係ですべての検体について測定はできなかったものの、A 法で陽性あるいは判定保留となった 26 検体中 5 例で陽性、1 例で判定保留となった。患者数で比較すると、A 法では 40 名中 18 名（45%）が陽性あるいは判定保留となったのに対し、B 法では 40 名中 11 名（27.5%）が陽性あるいは判定保留となった。なお、各検体の HHV-6 IgG 抗体価も表 1 内に示したが、ポスト血清で抗体価が 4 倍と低値を示した検体はいずれも血清の採取間隔が短かった。

次に、改良法である B 法でも陽性あるいは判定保留となった患児の検体について表 2 に示す。抗体指数をみると、1.20 のカットオフ値を超える検体が 6 検体あり、なかには 5.33 や 6.53 といった非常に高い値を示す検体もあることがわかる。さらに、B 法で陽性と判定された 6 検体中 4 検体は C 法でも陽性となり、B 法で保留とされた 4 検体中の 1 例は C 法で陽性判定となった。この原因を明らかにするため、これら患児について MR ワクチン歴を調査した結果、7 例中 5 例が発症 6～29 日前にワクチン接種を受けていることが明らかとなった。接種時期が今回の被験血清採取時期の 4 カ月前となる残りの 2 例については、B 法の測定結果は陰性あるいは判定保留であり、陽性と判定された検体はなかった。また、これら 4 検体は C 法では全例陰性であった。

次に、麻疹抗体と HHV-6 抗体との交差反応性について検討するため、A 法で陽性と判定されかつワクチン接種歴のない 12 例、22 検体について、A 法の抗体指数と HHV-6 IgG 抗体価（log2）間の相関をみた結果、図に示すように正の相関を認めた。

III. 考 察

麻疹 IgM 抗体偽陽性の原因となる熱性発疹症のなかで、突発疹（HHV-6B 初感染）は最も頻度の高い熱性発疹症である。本症は乳児期から幼児期早期に好発するが⁷⁾、1 歳時に MR ワクチンを接種して間もないこの時期に麻疹ウイルスに感染

表 1 A 法で陽性あるいは判定保留となった患児血清の B 法, C 法の測定結果ならびに HHV-6 IgG 抗体価のまとめ

症例	検体	A 法		B 法		C 法		IFA
		抗体指数	判定	抗体指数	判定	抗体指数	判定	HHV-6 IgG
1	Pre	1.57	陽性	0.45	陰性	0.104	保留	<4
	Post	1.22	陽性	0.32	陰性	0.074	陰性	128
2	Pre	0.45	陰性	0.14	陰性	ND	ND	4
	Post	1.77	陽性	0.45	陰性	0.026	陰性	>256
3	Pre	1.32	陽性	0.42	陰性	0.034	陰性	<4
	Post	5.10	陽性	1.72	陽性	0.071	陰性	4
4	Pre	0.66	陰性	0.18	陰性	ND	ND	<4
	Post	2.30	陽性	0.87	保留	0.025	陰性	4
5	Pre	3.68	陽性	0.84	保留	0.052	陰性	4
	Post	3.80	陽性	0.98	保留	0.057	陰性	>256
6	Pre	0.43	陰性	0.12	陰性	ND	ND	4
	Post	2.03	陽性	0.38	陰性	0.014	陰性	>256
7	Pre	0.59	陰性	0.12	陰性	ND	ND	<4
	Post	1.61	陽性	0.44	陰性	0.039	陰性	>256
8	Pre	0.37	陰性	0.09	陰性	ND	ND	<4
	Post	0.86	保留	0.17	陰性	0.023	陰性	4
9	Pre	4.33	陽性	1.21	陽性	0.078	陰性	4
	Post	2.44	陽性	0.62	陰性	0.042	陰性	32
10	Pre	0.43	陰性	0.10	陰性	ND	ND	<4
	Post	0.81	保留	0.17	陰性	0.005	陰性	4
11	Pre	0.45	陰性	0.09	陰性	ND	ND	<4
	Post	0.81	保留	0.14	陰性	0.009	陰性	4
12	Pre	0.57	陰性	0.18	陰性	ND	ND	4
	Post	6.69	陽性	2.28	陽性	0.288	陽性	16
13	Pre	3.88	陽性	1.17	保留	0.369	陽性	4
	Post	11.61	陽性	5.33	陽性	0.556	陽性	32
14	Pre	1.19	保留	0.40	陰性	0.045	陰性	4
	Post	1.49	陽性	0.41	陰性	0.047	陰性	4
15	Pre	0.46	陰性	0.16	陰性	ND	ND	4
	Post	1.32	陽性	0.35	陰性	0.011	陰性	16
16	Pre	0.73	陰性	0.21	陰性	ND	ND	<4
	Post	0.87	保留	0.23	陰性	0.020	陰性	4
17	Pre	11.20	陽性	4.95	陽性	0.390	陽性	<4
	Post	11.98	陽性	6.53	陽性	0.464	陽性	4
18	Pre	1.81	陽性	0.46	陰性	0.031	陰性	<4
	Post	2.00	陽性	0.49	陰性	0.042	陰性	16

し発症することは極めてまれと考えられる。しかしながら, secondary vaccine failure (SVF) 症例は一般に症状が軽く突発疹に類似した臨床像を呈す

る可能性はあり, 麻疹患者数減少に伴い逆に患者発生に対し神経質になっている臨床現場で, 非典型的な臨床経過を示したような突発疹患児を診療

表 2 改良法 (B 法) で陽性あるいは判定保留となった患児検体のまとめ

症例	検体	A 法		B 法		C 法		IFA	MR ワクチン歴
		抗体指数	判定	抗体指数	判定	抗体指数	判定	HHV-6 IgG	
3	Pre	1.32	陽性	0.42	陰性	0.034	陰性	<4	-8 日
	Post	5.10	陽性	1.72	陽性	0.071	陰性	4	
4	Pre	0.66	陰性	0.18	陰性	ND	ND	<4	-4 カ月
	Post	2.30	陽性	0.87	保留	0.025	陰性	4	
5	Pre	3.68	陽性	0.84	保留	0.052	陰性	4	-4 カ月
	Post	3.80	陽性	0.98	保留	0.057	陰性	>256	
9	Pre	4.33	陽性	1.21	陽性	0.078	陰性	4	-29 日
	Post	2.44	陽性	0.62	陰性	0.042	陰性	32	
12	Pre	0.57	陰性	0.18	陰性	ND	ND	4	-10 日
	Post	6.69	陽性	2.28	陽性	0.288	陽性	16	
13	Pre	3.88	陽性	1.17	保留	0.369	陽性	4	-16 日
	Post	11.61	陽性	5.33	陽性	0.556	陽性	32	
17	Pre	11.20	陽性	4.95	陽性	0.390	陽性	<4	-18 日
	Post	11.98	陽性	6.53	陽性	0.464	陽性	4	

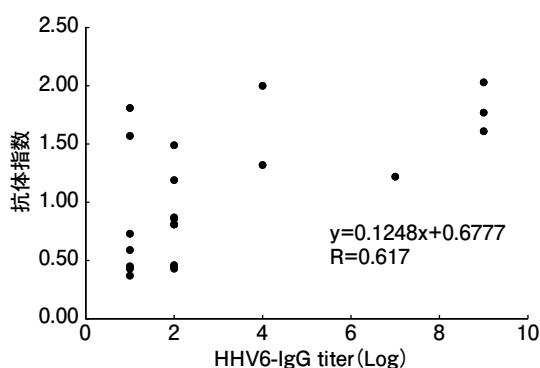


図 A 法での抗体指数と HHV-6 IgG 抗体価の相関

した際に麻疹を疑い抗麻疹 IgM 抗体測定がなされていると予想される。いずれにせよ、麻疹排除のためには SVF 症例を正確に診断するウイルス学的診断システムの確立が必須であり、一般的な小児期熱性発疹症である突発疹患児において、現在一般に使用されている測定試薬で抗麻疹 IgM 抗体が偽陽性となるのは重大な問題である。

そこで本研究では、現在わが国で広く使用されているデンカ生研社製の麻疹 IgM 抗体検出キットと比較し、突発疹患児血清を用いた際の改良品 (B 法) の有用性を検討した。改良品を評価するに

あたり、麻疹患児での抗麻疹 IgM 検出に関する感度、特異性が低下しないことを確認する必要がある。この点については、すでにベトナムの麻疹患者から採取した病歴の明確な臨床検体を用いた検討で、既存の A 法と比較して感度、特異性に差はなく、これら 2 方法の測定結果はともに WHO が示している急性期、回復期患者血清中抗麻疹 IgM 抗体検出率とも一致したことが報告されている⁸⁾。以上の結果から、B 法は少なくとも麻疹患者における抗麻疹 IgM 抗体検出能については従来法と差はないと考えられる。

突発疹患児ペア血清を従来法である A 法で調べた結果、約 35% の被験血清、45% の患児で抗麻疹 IgM 抗体陽性あるいは判定保留となったのに対し、B 法ではそれぞれ 12.5% の被験血清、27.5% の被験患児数まで低下した。さらに、この結果は海外で広く用いられている C 法とほぼ同様であった。よって、B 法は、A 法でみられた突発疹患者における偽陽性率を確実に低下させることが明らかとなった。

次に、B 法でも陽性あるいは判定保留となった患児について MR ワクチン接種歴を調べた結果、7 例中 5 例が発症 6~29 日前にワクチン接種を受けていた。よって、これらの検体で B 法、海外

で使用されている C 法で抗麻疹 IgM 抗体陽性となったのは、ワクチン接種の影響によることが示唆された。さらに、残り 2 症例の MR ワクチン接種は検体採取の 4 カ月前であり、ワクチン接種の影響はないと考えられるが、これら患児から採取された検体はいずれも陽性ではなく判定保留だった。以上より、B 法は従来からの A 法で突発疹患児にみられた抗麻疹 IgM 抗体偽陽性を減少させ、陽性の判定結果となった場合は真の抗麻疹 IgM 抗体を検出している可能性が極めて高いと考えられる。IgM capture 法を用いた麻疹ワクチン接種後の期間と IgM 陽性率に関して、接種後 10 週で 25% の陽性率 (日本)⁹⁾、9~11 週で 50% の陽性率 (エチオピア)¹⁰⁾との報告がある。したがって、熱性発疹症の小児を診療する際に MR ワクチン接種歴はもちろん聴取されると思われるが、B 法で抗麻疹 IgM 抗体陽性と判定された場合に再度 MR ワクチン接種時期を確認する必要がある。

HHV-6B は HHV-6A や HHV-7 と相同性が高く、交差抗原性があることが知られている。われわれは以前 HHV-6 と HHV-7 抗体の交差反応性を、HHV-6 抗原を用いた吸収試験により証明した¹¹⁾。今回の検討では吸収試験は実施していないが、A 法で陽性となった被検血清について抗麻疹 IgM 抗体の抗体指数と HHV-6 IgG 抗体価の相関を調べた結果、明らかな正の相関が認められた。よって、HHV-6B と麻疹ウイルス間に交差抗原性がある可能性が示唆された。今回検討した B 法で HHV-6B 抗体と麻疹ウイルス抗体間の交差反応性の影響が改善された理由として、以下の 2 つの可能性が考えられる。交差反応性抗体の抗体量が少なく検出されなくなったという抗体の量的な問題と、特異性向上に伴い特異性の低い交差反応性抗体が検出されなくなった可能性である。しかしながら、本研究結果から詳細なメカニズムを推測することは不可能であり、今後より詳細な両ウイルスの抗原解析が必要と思われる。

最後に、本研究は 3 名の非学会員共同研究者 (デンカ生研株式会社試薬研究開発部 権平文夫・

山崎誠、同 生物ウイルス試薬部 羽賀清人) との共同研究である。

日本小児感染症学会の利益相反に関する開示事項はありません。

文 献

- 1) 駒瀬勝啓, 他: 日本における麻疹ウイルス流行株の変遷 2009~2012. *IASR* 34: 36-37, 2013
- 2) 駒瀬勝啓, 他: 麻疹, 風疹, ムンプスの検査診断の現状. *臨床と微生物* 39: 656-662, 2012
- 3) Thomas HIJ, et al: Simultaneous IgM reactivity by EIA against more than one virus in measles, parvovirus B19 and rubella infection. *J Clin Virol* 14: 107-118, 1999
- 4) 要藤裕孝, 他: ヒトパルボウイルス B19 の麻疹 IgM 抗体測定に与える影響. *臨床とウイルス* 39 (2): S92, 2011
- 5) 佐藤 弘, 他: デング熱及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. *IASR* 31: 269-271, 2010
- 6) 駒瀬勝啓, 他: デング熱患者血清における麻疹 IgM 抗体の検出. *感染症学雑誌* 86: 228, 2012
- 7) Yoshikawa T, et al: Distribution of antibodies to a causative agent of exanthem subitum (human herpesvirus-6) in healthy individuals. *Pediatrics* 84: 675-677, 1989
- 8) 庵原俊昭, 他: 改良された抗麻疹 IgM 抗体検出 EIA 試薬の評価. *医学と薬学* 69 (2): 969-975, 2013
- 9) 浜端宏英, 他: 麻疹 IgM (EIA) 抗体: ワクチン接種後および偽陽性について. *外来小児科* 9(1): 48-50, 2006
- 10) Helfand RF, et al: Decline of measles-specific immunoglobulin M antibodies after primary measles, mumps, and rubella vaccination. *Clin Diagn Lab Immunol* 5 (2): 135-138, 1998
- 11) Yoshikawa T, et al: Comparison of specific serological assays for diagnosing human herpesvirus 6 infection after liver transplantation. *Clin Diagn Lab Immunol* 8 (1): 170-173, 2001

Reliability of the improved IgM anti-measles virus antibody assay analyzed by using paired serum samples obtained from exanthem subitum patients

Tetsushi YOSHIKAWA¹⁾, Erina MATSUOKA¹⁾, Yoshiki KAWAMURA¹⁾,
Masahiro OHASHI¹⁾, Naoko NISHIMURA²⁾, Takao OZAKI²⁾

¹⁾ *Department of Pediatrics, Fujita Health University School of Medicine*

²⁾ *Department of Pediatrics, Konan Kosei Hospital*

False positives from anti-measles virus IgM antibody assay are major problem for laboratory diagnosis of measles virus infection. In order to solve this problem, the improved IgM anti-measles virus antibody assay was developed recently. Anti-measles virus IgM antibody titers were measured in paired serum obtained from exanthem subitum patients by the improved (method B) and previous method (method A) to evaluate reliability of the new method. Although 26 (32.5%) of the 80 sera were either positive or borderline by method A, only 10 (12.5%) were either positive or borderline by method B. 5 patients with positive or borderline anti-IgM levels had received MR vaccine within one month prior to the onset of febrile exanthematous illness. Another two patients with borderline levels of anti-IgM had received the vaccine 6 months before onset of the illness, which was considered to have no effect on anti-IgM antibody levels. Therefore, the improved anti-measles virus IgM antibody assay is considered to be highly reliable with a low false positive rate.

(受付：2013年7月30日，受理：2013年9月25日)

2013年10月7日

会員各位

日本小児感染症学会

「小児感染症マニュアル2012」の正誤について

平素より本学会につきましましては多大なるご協力を賜り心よりお礼申しあげます。

本学会監修のもとに発行されております「小児感染症マニュアル2012」の内容で誤植のご指摘がございました。

つきましては真に申しわけございませんが下記の通り修正をお願い申し上げます。今後このようなことがないように十分注意をして参ります。

記

「小児感染症マニュアル2012」 94 ページ

「表5 抗緑膿菌作用を有する代表的な抗菌薬」

表頭の項目：

【誤】 小児の1回投与量 成人の1回投与量

【正】 小児の 1 日投与量 成人の 1 日投与量