

〔原 著〕

カルジオライピン抗原およびライター
抗原による梅毒血清診断について

東京女子医科大学病院中央検査室血清部

助教授 長 田 富 香 ・ 高 橋 敬 子 ・ 宮 下 く み 子
オサ タ マ フ カ タカ ハシ ケイ コ ミヤ シタ シ ミ

(受付 昭和38年12月28日)

緒 言

梅毒の血清学的検査は、1906年ワッセルマン反応が創案され、その抗原として牛の心臓のアルコール・エキストラクトにコレステリンを加えたものが長いこと使用されていた。その後1941年Mary C. Pangborn により牛の心臓からカルジオライピンが単離され、カルジオライピン・レシチン (CL) が抗原として使用されるようになり、その鋭敏度と特異度は著しく向上した。しかしカルジオライピンは脂質抗原であり、現在行なわれている梅毒反応はこの脂質抗原と反応する Reagin を証明するもので、梅毒病原体そのものを抗原とする反応でないため、本反応が陽性でも必ずしも梅毒陽性と断定することはできない。また実際に梅毒以外の疾病で陽性反応を呈する場合があることを常に考慮しなければならない。すなわち結節癩では60%、種痘後数週間後に20~40%、原発性異型肺炎、伝染性単核症、エリテマトーデス、鼠咬症等の場合に20%、流行性肝炎10%、麻疹、水痘5%、後天性溶血性貧血10~15%、リウマチ性疾患で5%またはそれ以上、妊娠の場合に0.5~10%位の梅毒反応陽性率をしめすといわれ¹⁾、これらを生物学的偽陽性反応 (BFP) と呼んでいる。かゝる場合真の梅毒陽性と鑑別するには梅毒

病原体を抗原とした抗原抗体反応が行なわれなければならない。この目的のために1953年 G. D' Alessandro²⁾ らが梅毒トレポネーマの変異株であるReiter株を抗原として補体結合反応を行なうRPCFテストを発表して以来多くの研究者により追試研究され³⁾⁴⁾⁵⁾、ようやく実用に供される段階に達した。そこでわれわれは現在厚生省編纂衛生検査指針により標準法とされているカルジオライピン・レシチンを抗原とした凝集法・ガラス板法・緒方法に併せて、人工培養可能な梅毒トレポネーマReiter株の菌体蛋白抽出物を抗原としたReiter Protein Complement-Fixation (RPCFと略) test を併用し、生物学的偽陽性と真の梅毒陽性の鑑別につき検討を行なつた。

実験材料および方法

当院中央検査室において38年3月から8月までの間に梅毒反応検査を行なつた血清のうち、標準3法とも陽性を示した79例、3法のうちいずれか1~2法が陽性を示した88例、3法とも陰性を示した133例、計300例の血清につきRPCFテストを行なつた。標準3法は衛生検査指針に従つて凝集法・ガラス板法・緒方法を併用した。RPCFテストは日本凍結乾燥研究所より市販されたライター抗原を使用し、米陸軍軍医学校法 (抗体減量法) および緒方法 (抗原減量法) により補体結

Fuka OSADA, Keiko TAKAHASI and Kumiko MIYASITA (Central Clinical Laboratory, Tokyo Women's Medical College): On the serodiagnostic test for syphilis with special reference to comparison between Cardiolipin reaction and Reiter protein complementfixation test.

合反応を行なった。

実験結果

表1に見る如く標準3法のいずれかに陽性を示した108例と、3法とも陰性の131例につきRPCFテストを行なった結果を見ると、3法とも陰性のものはRPCFテストにおいても98.5%において陰性で非常によく一致した。3法とも陽性の51例については、その90.2%がRPCFテストにおいても陽性を示し、これも極めてよい一致を示した。3法不一致例においては、ガラス板法陽性・

表1 標準3法とRPCF陽性率の比較

凝ガ緒	ライター抗原				合計
	+		-		
	数	%	数	%	
+++	46	90.2	5	9.8	51 (100%)
++-	15	48.4	16	51.6	31 (100%)
-+-	12	46.2	14	53.8	26 (100%)
---	2	1.5	129	98.5	131 (100%)

注：凝は凝集法，ガはガラス板法，緒は緒方法。

表2 標準3法とRPCF陽性率の比較(300例)

術式	成績	陽性数	陰性数	陽性率	χ ² 検定
標準3法	ガラス板法	167	133	55.6%	19.527***
	凝集法	131	169	43.6%	2.238
	緒方法	84	216	28.0%	6.356*
RPCF		113	187	37.7%	

緒方法陰性で凝集法が陽性の31例のうち、RPCFテスト陽性は48.4%に対し、同じくガラス板法陽性・緒方法陰性で凝集法陰性の26例の場合のRPCFテスト陽性は46.2%である。

表2に示す如く、総計300例について陽性率を比較した結果は、RPCFテストの陽性率37.7%に比し、ガラス板法は55.6%で、両者の比率の差の検定を行なうと、χ²が19.5で0.1%以下の危険率で明らかに有意の差が認められ、ガラス板法の陽性率は最も高いといえる。凝集法の陽性率は43.6%であるが、RPCFテストの陽

表3 CL抗原とRP抗原による梅毒反応検査成績

凝ガ緒	RP抗原				合計
	+		-		
	数	%	数	%	
+++	60	76.0	19	24.0	79 (100%)
++-	29	55.7	23	44.3	52 (〃)
-+-	15	48.4	16	51.6	31 (〃)
-++	5	100.0	0	0	5 (〃)
---	4	3.1	129	96.9	133 (〃)
合計	113		187		300

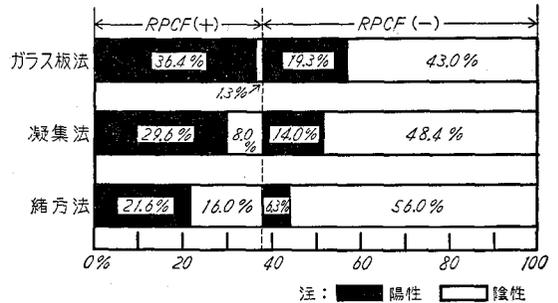


図1 標準3法とRPCF陽性率の比較

性率との間に有意の差は認められなかつた。緒方法の陽性率は28.0%で、RPCFテストの陽性率に比べるとχ²が6.4で0.5%以下の危険率で有意の差が認められ、緒方法はRPCFテストに比し明らかに陽性率が低いといえる。表3はカルジオリイペン(CLと略す)抗原による3法相互間の成績と、RPCFテストによる成績の300件についての比較を示している。これによるとCL抗原による3法とも陽性の79件においては、RPCFテスト陽性が76.0%、陰性が24.0%であるが、凝集法およびガラス板法陽性で緒方法陰性の52件においては、RPCFテスト陽性率は55.7%に低下し、ガラス板法のみ陽性を示す31例においては、RPCFテスト陽性率はさらに48.4%に低下した。CL抗原による3法不一致の問題の血清中の約半数はRPCFテスト陽性であ

表4 CL・RP 抗原による補体結合反応成績
不一致例の検討

CL	RP		計	
	—	+	弱陽性	強陽性
0+	8		弱陽性	10
1+	2			
2+	2			
3+	6		強陽性	9
4+	1			

凝 集 法	RPCF			
	0+	1+	2+	3+
— — —	4	0	0	0
++ —	14	9	3	3
— + —	9	3	2	1
計	弱陽性 39		強陽性 9	

つた。3法陰性の133件においては、96.9%がRPCFテスト陰性を示した。図1は上記の成績をグラフで示したものであるが、ガラス板法・RPCFテストともに陽性のものは36.4%で、ガラス板法陰性・RPCFテスト陽性は1.3%である。凝集法・RPCFテストともに陽性のものは29.6%で、凝集法陰性・RPCFテスト陽性が8.0%である。緒方法・RPCFテストともに陽性のもの

は21.6%で、緒方法陰性・RPCFテスト陽性は16%で、3法の間ではガラス板法が最も鋭敏度が高いものと推定される。ガラス板法陽性でRPCFテスト陰性が19.3%を占めるのに対し、緒方法陽性でRPCFテスト陰性のものは6.3%で、3法の間では緒方法が最も特異度が高いものと推定される。

表4に見るごとく、CL抗原による補体結合反応と、ライター(RPと略す)抗原による補体結合反応との成績の一致しない例について見ると、CL抗原で陽性反応を示すけれども、RP抗原では陰性のもの19例のうち、CL抗原で弱陽性のものは10例で、強陽性のものは9例で、ほぼ同数であった。これに反しRP抗原で陽性反応を示し、CL抗原で陰性のものは48例で、そのうちRP抗原で弱陽性のものは39例、強陽性のものは9例であった。このことからRP抗原による補体結合反応(RPCFテスト)は、CL抗原による補体結合反応(緒方法)より鋭敏度、特異度ともに高度であることが推定できると思う。表5・表6により個々の症例の代表的なものについて見ると、斉○ではCL抗原による3法ともに強陽性であったが、RPCFテストでは陰性であった。かゝる例は3法陽性者51名中に5名(9.8%)認められ

表5 症例(1)

氏名	年月日	CL抗原			RPCF	備考
		凝集法	ガラス板法	緒方法		
齊 ○	38. 2. 7	3+	2+	2+	— —	心 研 MS
	2. 21	3+	2+	2+		
	3. 20	3+	2+	3+		
小○保	38. 5. 13	2+	3+	0+	— —	整外 変形性股関節症
	5. 30	2+	2+	0+		
中 ○	36. 3. 6	—	1+	—	— — —	心 研
	4. 22	1+	1+	—		
	38. 7. 31	—	2+	—		
霜 ○	38. 8. 14	2+	2+	—	— —	整外 足の異物
	8. 22	1+	3+	—		
坂 ○	38. 2. 20	—	2+	—	3+ 1+	眼科 中心性網脈絡膜炎
	5. 13	—	2+	—		
	6. 19	—	1+	—		
深 ○	38. 4. 24	1+	2+	—	— 2+ 0+	眼科 両側視力障害
	5. 14	1+	4+	—		
	5. 31	2+	2+	—		
小 ○	38. 5. 15	1+	2+	—	0+ 0+	内科 冠動脈硬化症
	5. 29	—	3+	—		
	6. 18	1+	3+	—		

表6 症例(2)

氏名	年月日	CL 抗原			RPCF	備考
		凝集法	ガラス板法	緒方法		
山 ○	37. 4. 17	2+	3+	—	—	婦人科 SS
	5. 29	1+	3+	—		
	38. 1. 17	—	4+	0+		
	6. 4	—	3+	0+		
	6. 11	—	3+	0+		
	7. 23	—	2+	—		
8. 26	—	2+	—	1+		
平 ○	38. 3. 26	1+	2+	1+	2+	婦人科 SS
	4. 27	1+	3+	0+	1+	
	5. 28	1+	3+	0+		
	7. 16	2+	2+	—		
	7. 25	1+	3+	—		
	8. 26	1+	3+	—		
鈴 ○	38. 7. 30	2+	3+	0+		—
	8. 22	2+	2+	—	0+	
松 ○	38. 4. 30	3+	3+	4+	3+	眼科 ビマン性網脈絡膜炎
	7. 15	2+	3+	3+	3+	
	8. 26	3+	3+	3+	3+	

た。3法のうち2法または1法陽性のものの中には RPCF テスト陽性のものと、陰性のものと、不定のものがあった。これらは古い梅毒で過去に梅毒の治療を受け現在では完全治癒とみなされるもの、或いは梅毒と無関係に CL 抗原により生化学的偽陽性反応を示すものなどが考えられる。したがって臨床所見、家族歴、既往歴と CL 抗原および RP 抗原による血清反応の成績を総合することにより、従来の CL 抗原のみによる梅毒反応の不一致例のうちに梅毒か、非梅毒かを推定しうるものが少なくないと予想される。

総括および考察

現在厚生省衛生検査指針により、梅毒反応の標準法とされている CL 抗原による梅毒凝集法・ガラス板法・緒方法の3法に併せて、新しい梅毒反応として登場した非病原性梅毒トレポネーマを抗原とした RPCF テストを行ない、RPCF テストの実用的価値について検討を行なった。その結果 300例の検査における CL 抗原による3法の成績と、RP 抗原による RPCF テストの成績の一致率を見ると、陰性一致率は98.5%、陽性一致率は90.2%であり、極めて満足すべきものと思われる。諸家の報告においても、皆見ら⁶⁾の3法陰性に対する RPCF 一致率 100%、善養寺ら⁷⁾の

92.4%の一致率が見られる。

著者らの 300例について RPCF の陽性率と、凝集法・ガラス板法・緒方法の陽性率を比較すると、ガラス板法が最も高く、緒方法が最も低く、RPCF テストの陽性率に対し、いずれも有意の差が認められた。したがってガラス板法は最も鋭敏度が高いものと思われる。また RPCF テスト陰性でガラス板法陽性を示すものは19.3%で最も高く、RPCF テスト陰性で緒方法陽性を示すものは 6.3%で最も低い点より、3法のうち特異度は緒方法が最も高いものと思われる。しかし水岡⁸⁾の述べている如く、補体結合反応で検出できる抗体と、沈降反応で検出できる抗体とは互に全く別のものである可能性が存在するという事も考慮されねばならない。

また CL 抗原による補体結合反応(緒方法)と、RP 抗原による補体結合反応(RPCF テスト)の成績の不一致例を検討すると、緒方法陽性・RPCF 陰性のものの中には、緒方法弱陽性を示すものと、強陽性を示すものがほぼ同数の10件と9件とがある。また緒方法陰性・RPCF 陽性のものを見ると、RPCF 弱陽性が39件で強陽性は9件である。それ故に鋭敏度・特異度ともにRPCF は緒方法より高度であると思われる。標準3法ともに陽性の51例中に 9.8%の RPCF 陰性が認

められ、また3法不一致の57例中に約半数のRPCF陰性が認められた。これらの中には非梅毒患者でありながら、いわゆる生物学的偽陽性反応を示すもの、あるいはかつて治療が行なわれた古い梅毒の痕跡としての反応や、現在治療により抗体の減少しつつあるものなどが含まれていると想像される。これらの生物学的偽陽性反応の判断、あるいは梅毒の治癒判定に向つて梅毒トレポネーマを抗原としたRPCFテストは極めて有力な診断法と思われる。梅毒反応としてCL抗原が用いられる場合には、脂質抗原に対するReagin反応を見ているため常に生物学的偽陽性反応を考慮しなければならない。Montgomery & Creight⁹⁾は全身性Erythematodes 286例について梅毒反応を検し、偽陽性反応は最低44%であつたと述べている。また藤野¹⁰⁾によれば、微研法・緒方法・ガラス板法・凝集法の併用で判定保留となつたもののうち、非梅毒陽性例の疾患別を見るとかような例は特定の疾患に限られることなく、あらゆる疾患に広く分布しているという。善養寺らによれば、妊婦の5.9%、癌患者2.17%、癩患者30%がCL偽陽性とみられた。これらの点より生物学的偽陽性反応が梅毒以外の他の疾患の診断への足掛りとなることも考えられるが、梅毒の血清学的診断の現段階としては脂質抗原としてのCL抗原と、梅毒抗原としてのRP抗原の両者による反応を併用し、その方法としては、陽性率が明らかに高く手技が容易で短時間に成績の得られるガラス板法で先ずスクリーニングテストを行ない、本法陽性の場合にCL抗原とRP抗原の両者を用いて補体結合反応を行なうならば、より合理的な正しい梅毒反応の結果を期待し得られるのではなからうかと思われる。

結 論

1) 現在厚生省衛生検査指針により標準法とされているCL抗原を使用する梅毒凝集法・ガラス板法・緒方法の3法にあわせて、RP抗原を使用するRPCFテストを行ない比較すると、CL抗原による3法とも陰性のものはRPCFテストにおいても98.5%陰性を示し、3法とも陽性のものは90.2%がRPCFテストにおいても陽性を示し、

極めてよく一致することを認めた。

2) CL抗原による3法不一致例のうち、2法陽性のものはRPCFテストにおいて48.4%陽性を示し、1法のみ陽性のものはRPCFテストにおいて46.2%陽性を示した。

3) RPCFテストの陽性率に比し、ガラス板法の陽性率は0.1%以下の危険率で明らかに高く、緒方法の陽性率は0.5%以下の危険率で明らかに低いといふことができる。

4) RPCFテストの結果により、CL抗原による3法それぞれの成績を比較した結果、特異度では緒方法が最も高く、鋭敏度ではガラス板法が最も高いことを認めた。また緒方法とRPCFテストの不一致例を、弱陽性不一致と強陽性不一致につき比較すると、RPCFテストは緒方法に比し鋭敏度・特異度ともに高度であるようであつた。

5) 以上の結果より梅毒の血清学的診断にあつては、CL抗原を用いたガラス板法で先ずスクリーニングテストを行ない、陽性のものについてはCL抗原による緒方法と、RP抗原を用いるRPCFテストを併用し、さらに臨床的事項を参照し、これらを総合判断することによつて、より合理的に正しい梅毒診断が期待できるのではないかと思う。

終りに臨み、恩師平野憲正教授の御指導、御校閲を深謝いたします

(本稿の要旨は昭和38年10月、東京女子医科大学々会第29回総会において発表した。)

文 献

- 1) Moore, J.E. and C.F. Mohr: JAMA 150 467 (1952)
- 2) D'Alessandro, G. and L. Dardanoni: Amer J Syph Gonorr Ven Dis 37 137(1953)
- 3) 水岡慶二: 東医誌 70 44 (1962)
- 4) 富沢孝之・笠松重雄・石坂公成・山屋俊一: 日皮会誌 72 587 (1962)
- 5) Cannefax, G.R. & W. Garson: J Immun 82 198 (1959)
- 6) 皆見紀久男・幸田 弘・都外川幸雄: 皮と泌 25 93 (1963)
- 7) 善養寺 浩・西条頼広・平良富美子: 日伝染会誌 37 159 (1963)
- 8) 水岡慶二: 臨床検査の進歩 第1集(下) (1963) 61頁
- 9) Montgomery, H. and W.C. McCreight: Arch Dermat & Syph 60 356 (1949)
- 10) 藤野恒三郎・三輪谷俊夫: 治療 16 772(1963)