

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) による県内のムンプス抗体調査

— 血液吸着濾紙からの抗体測定とその応用 —

山西 重機・山本 忠雄

I はじめに

従来ムンプスウイルス抗体価(ムンプス抗体価)の測定には、血球凝集抑制反応、補体結合反応、中和(NT)反応、蛍光抗体(FAT)法などが用いられ^{1) 2) 3)}、なかでもブランク減少法を用いたNT法(国立予防衛生研究所標準法)⁴⁾および補体を添加するNT法⁵⁾は感度のよいことが報告されている。しかし特に多数の検体を扱う疫学調査では、さらに簡便で鋭敏な抗体測定法が望まれている。このため近年 Enzyme-Linked immunosorbent assay (ELISA法)が普及しつつあり、ムンプス抗体価の測定に関してもすでにいくつかの報告がなされている^{6) 7) 8) 9) 10)}。

ELISA法は反応条件のわずかな差異によって吸光度が変動すること¹¹⁾、孵化鶏卵から調整したムンプスウイルスを抗原として使用した場合には、抗原に混入している卵成分が被検血清中に含まれる卵成分に対する抗体(卵抗体)と反応して為陽性となること¹²⁾など疫学調査に応用する上での問題点が指摘されている。

そこで著者らはまずこの点について従来のNT法、FAT法と比較し測定条件の検討を行い、ELISA法を香川県内のムンプス抗体保有状況等の疫学調査に応用して、この方法の有用性を検証した。

また著者らは、ELISA法の感度が高いことから、ごく微量の検体の測定ができることに注目して、先天性代謝異常症スクリーニングのために¹³⁾香川県衛生研究所へ日常的に送付される生後7日目の新生児から採血した血液吸着濾紙からムンプス抗体価の測定を試みた。この目的のために、測定条件を検討するとともに、通常の血清中の抗体価との比較を試みた。さらに生後7日目の新生児血中の抗体価がその母親からの移行抗体を反映しているものと考え¹⁴⁾、この方法により妊娠可能年齢層女子の抗体保有状況の調査が可能ではないかとの想定のもとに、疫学調査への応用性を検討した。

本論文では以上の実験および調査に関連して、現在までに得られた成績について報告する。

II 材料および方法

1. ELISA法

(1) 抗原

ムンプスウイルス抗原(ムンプス抗原): ムンプスウイルス Enders 株感染孵化鶏卵漿尿液を分別遠心および不連続蔗糖密度勾配法で精製したものを国立予防衛生研究所より分与された。

鶏卵由来抗原(卵抗原): 孵化鶏卵漿尿液を2,400×g15分間遠心した上清を6,000×g15時間遠心し、その沈渣をPBS(-)で再浮遊して用いた。

抗原はいずれもLowry法で蛋白質量を定量し、0.5μg/mlに調整して用いた。

(2) ペルオキシダーゼ標識抗体

ペルオキシダーゼ標識ヒトIgG(H鎖およびL鎖特異)ヤギ抗体(Cappel Laboratories社)を用いた。

(3) 被検血清

検査対象より採血後、血清を分離し、測定まで-20℃に保存した。前処理として、卵抗体検討のための実験を除き、血清に孵化鶏卵漿尿液をPBS(-)に24時間透析した液(吸収用卵抗原液)を25%の割合に添加し、4℃一夜吸収したのち、ELISA法による測定を行った。

(4) 測定法

ELISA法はImmuno II flat plates (Dynatech)を用い、坂田らの方法¹¹⁾に準拠し、反応温度、時間を一部変更した。すなわち被検血清とペルオキシダーゼ標識抗体との反応時間を37℃1時間、基質との反応時間を遮光して室温1時間とした。Micro ELISA Auto Reader MR 580 (Dynatech)により、主波長490nm、対照波長570nmでおこなった。

(5) ELISA 価の算定

坂田らの方法¹¹⁾によって行った。すなわち国立予防衛生研究所より分与された各希釈段階の標準血清について、ELISA法で吸光度を測定し、ELISA単位に対して検量線を作製した。被検血清についても同様に吸光度を測定し、検量線から対応するELISA単位を求めた。

2. 中和抗体価 (NT 抗体価) の測定

山西らの方法によって行った¹⁵⁾。u 底マイクロプレート (Linbro 社) に被検血清の 2 倍段階希釈系列を作製した。各穴にムンプスウイルス三宅株 100 TCID₅₀ を加え、振盪後 37°C 1 時間、さらに 4°C 一夜静置したのち、各穴に LLC-MK₂ 細胞 (2×10^4 cell/0.1ml) を加え、37°C で 6~7 日間培養した。培養液をすてたのち、各穴に 0.5% モルモット赤血球浮遊液を加え、室温 30 分間静置後、赤血球吸着の有無を HI 反応と同様の管底パターン法で判定した。

3. 螢光抗体価 (FAT 抗体価) の測定

抗原としてムンプスウイルス占部株感染 Vero 細胞を用いた。2 倍段階希釈した被検血清を感染細胞に重層し、37°C 1 時間反応させ、洗浄後、2 次抗体として FITC 標識抗ヒト γ グロブリンうさぎ IgG (阪大微生物病研究会観音寺研究所より分与) を加え、更に 37°C、1 時間反応、洗浄後、螢光顕微鏡で観察した。特異螢光の認められた被検血清の最大希釈増数を FAT 抗体価とした。

4. 被検血清中の卵抗体に関する検討

(1) 卵抗体の年齢別保有状況

前述の卵抗原を用い、376 例の被検血清中の卵抗体を ELISA 法によって測定し、その吸光度を年齢別に集計した。

(2) 卵抗体の吸収

被検血清に 25% の割合に、吸収用卵抗原液を添加し、4°C 一夜吸収した。吸収前後の被検血清について各々ムンプス抗原、卵抗原を用い、ELISA 法によって、吸光度を測定した。また卵抗体吸収後の被検血清に、再び 25% の割合に吸収用卵抗原液を加え、4°C 一夜置いたのちムンプスウイルス抗原を用いて再吸収前後の吸光度を測定した。

5. ムンプス抗体価測定法における ELISA 価と NT 価および FAT 価との比較

同一の血清 85 例について ELISA 法および NT 法により、同一の血清 89 例について ELISA 法および FAT 法によってそれぞれムンプス抗体価を測定し、結果の相関性について検討を加えた。

6. ムンプスの疫学調査

(1) ムンプス発生状況

ムンプス患者数は、香川県感染症サーベイランス事業実施要綱に基づき、県下に設置された小児科定点 17 か所から報告される患者発生数を集計した。

(2) ムンプス抗体の年齢別保有状況の調査

香川県下の定点病院を 1983 年 6 月から 1984 年 5 月までに各種疾患で受診した患者から採血した 260 例の血清について、ELISA 法により抗体価を測定し年齢別に集計した。なお前述の ELISA 価と NT 価および FAT 価との比較、卵抗体保有状況の調査にもこの血清を用いた。

(3) 若年成人女子のムンプス抗体保有状況

1984 年 5 月に香川県下の J 女子短期大学生 (J 短大生) 73 名より採血し、ELISA 法により血清中のムンプス抗体価を測定した。

(4) ムンプス抗体保有とワクチン接種歴、罹患歴との関係

高松市内の(2)には含まれない一定小児科医院をムンプス以外の疾患で、1983 年 6 月から 1984 年 4 月までに受診した 189 名の患者について、血清を採取し ELISA 法によってムンプス抗体価を測定するとともに、調査表によってワクチン接種歴および罹患歴を調査した。

7. 先天性代謝異常症スクリーニング用採血濾紙から溶出した血液成分中の ELISA 法による ムンプス抗体価の測定

(1) 濾紙

測定には、先天性代謝異常症スクリーニング用採血濾紙(c)クレチン症併用型 (東洋濾紙社: 以下濾紙) を用いた。

(2) 測定条件の検討

測定条件を検討する目的で以下の実験をおこなった。前記 J 短大生から採血した血液のうち、50 μ l を濾紙に吸着、乾燥させた。吸着約 10 日後に、GEM Paper Punch (Mcgill Metal Product 社) を用いて、血液吸着痕の ①中心付近 ②①に接して外側 ③外縁に接して内側 ④外縁上 ⑤外縁に接して外側の 5 か所を各々直径 3mm の円形に

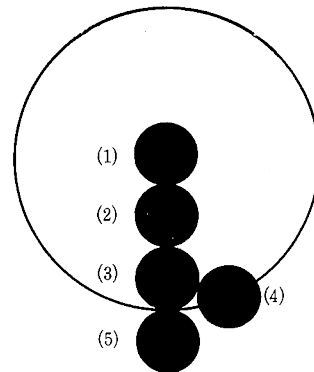


図 1. 濾紙吸着血からのパンチ片採取位置

打ちぬき、その濾紙片を検体とした。(図1)

各濾紙片を0.05% Tween 20および0.1%ウシ血清アルブミンを含むPBS150 μ lに浸漬し、途中1~2回振盪しながら37°C 1時間溶出し、卵抗体を吸収するために、吸収用卵抗原液を50 μ l加えて4°C一夜静置したのち、前記のELISA法によるムンプス抗体価の測定をおこなった。

①~⑤の打ち抜き部立の抗体価を検討した結果、②の部位が最も適していると考え、以下の測定にはこの部位を選んだ。

ELISA 価の算定は、検体の濾紙片には吸着痕の面積と打ち抜いた濾紙片の面積比から計算して約2 μ lの血液が吸着しているものとした。さらにこれは先天性代謝異常症スクリーニングで推定しているように¹⁶⁾、1 μ lの血清量に相当するものとして抗体価を算定した。

(3) 血液吸着濾紙と通常の測定法による抗体価の相関
相関を調べる目的でJ短大生から採血した73例の各々の血液の一部を濾紙に吸着させ、残りの血液から血清を分離してそれぞれELISA法によってムンプス抗体価を測定した。

(4) 濾紙に吸着した新生児血液中とその母親の血清中の抗体価の比較

血液吸着濾紙を用いて測定した新生児とその母親のムンプス抗体価との相関を知る目的で、出産約1週間前にあらかじめ母親から採取しておいた11例の血清につき、ELISA法で抗体価を測定し、その母親から出生した新生児(生後7日目)の血液吸着濾紙からの抗体価と比較した。

(5) 疫学調査への応用

この方法の疫学調査への応用性を知る目的で、(4)と同じく1984年6月~7月に採血し先天性代謝異常症スクリーニングのために、送付された255例の新生児(生後7日目)の血液吸着濾紙から、血液成分を溶出し、ムンプス抗体価をELISA法で測定して抗体保有状況を調査した。

Ⅲ 結 果

1. 被検血清中の卵抗体に関する検討

(1) 卵抗体の年齢別保有状況

卵抗原を用いてELISA法による吸光度を測定すると、1才以下ではほとんどの検体で低い吸光度しか示さなかったが、2~3才以上では高い吸光度を示す検体が増加し始めた。1才未満で最も高い吸光度を示す検体を陰性限界と仮定すると、4~5才以上ではほぼ半数以上が卵抗体陽性とみなし得た。(図2)

(2) 卵抗体の吸収

被検血清に25%の割合に吸収用卵抗原液を加え、4°C一夜置いて卵抗体を吸収した。図3は、X軸にムンプス

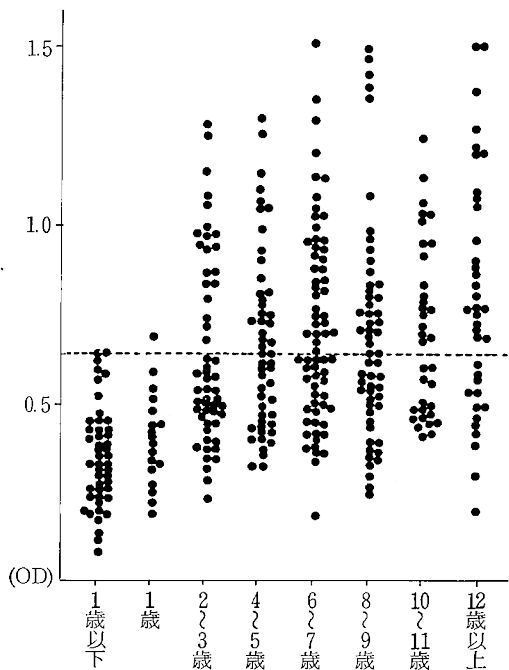
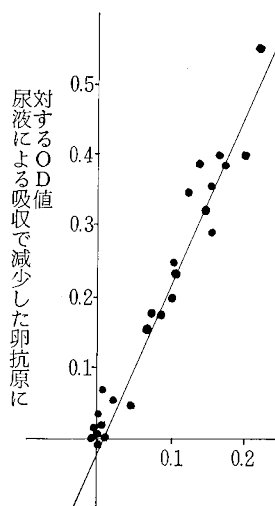


図2. 卵成分に対する年齢別抗体保有状況



尿液による吸収で減少したムンプス抗原に対するOD値

図3. 尿液吸収によるムンプス抗原および卵抗原に対するELISA法OD値減少の相関

抗原、Y軸に卵抗原をそれぞれ用いて測定したELISA法による吸光度の吸収前後の差を示した相関図である。卵抗体の吸収と平行して、ムンプス抗原に対する吸光度の低下が認められた。両者の相関係数は0.979であり、回歸直線の傾きは約0.414となった。

次にすでに卵抗体を吸収した被検血清を、再び同条件で吸収用抗原液で吸収し、卵抗体を測定した。その結果、再吸収前後で吸光度に変化を認めなかった(図4)。このことより、上記の条件で十分かつ特異的に卵抗体の吸収が行われたことが示された。

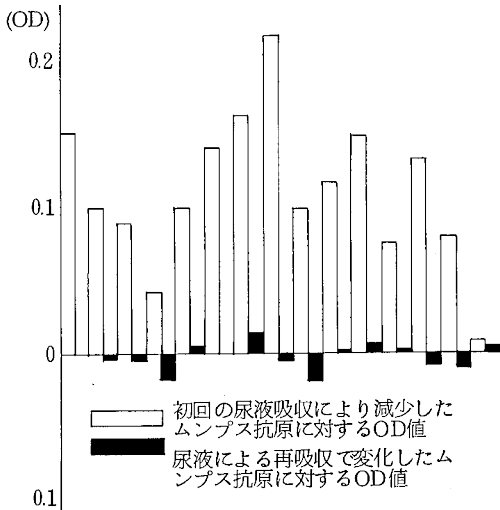


図4. 尿液吸収によるムンプス抗原に対するELISA法OD値の変化

2. ELISA法によるムンプス抗体価測定法の検討

同一の血清85例について、ELISA法およびNT法によってムンプス抗体価を測定した。NT価で2倍未満の検体でも、ELISA法では、100~200ELISA単位3例、200~400ELISA単位6例、400ELISA単位以上が3例(最高値:560ELISA単位)などの検体を認めた。しかし逆にELISA法で100ELISA単位以下の検体ではNT価はず

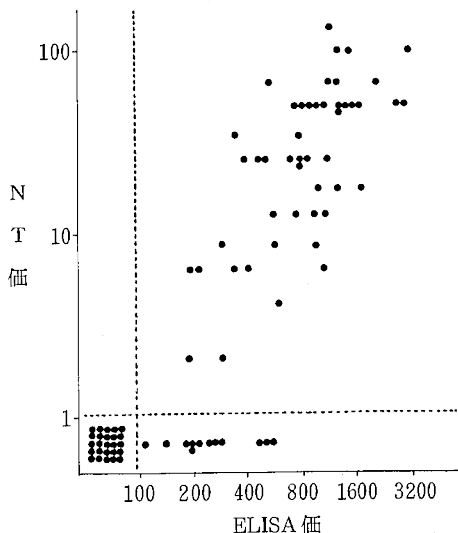


図5. ムンプス抗体価測定におけるELISA値とNT値の相関

べて2倍未満であった。ELISA値とNT値の相関係数は0.852(危険率1%以下、以下同様)であった(図5)。

また、同一の血清89例についてELISA法およびFAT法によってムンプス抗体価を測定した。NT法と同様、FAT値が40倍未満の検体でもELISA法では100~200ELISA単位3例、200~400ELISA単位4例、400ELISA単位以上2例(最高値480ELISA単位)の検体を認めた。しかしELISA法で100ELISA単位以下で、FAT法40倍以上のものは1例(FAT値40倍)であった。ELISA法とFAT法の相関係数は0.844であった(図6)。

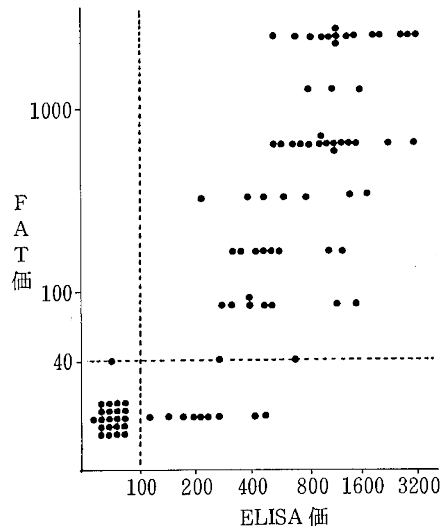


図6. ムンプス抗体価測定におけるELISA値とFAT値の相関

3. ELISA法による香川県におけるムンプスの疫学調査

(1) ムンプス患者の発生状況

県内の小児科定点を受診したムンプス患者を月別に集計し、図7に示した。調査期間中1979年6月をピークとする流行、1982年の初夏から1983年の夏にかけての流行と1985年10月からの流行の3回の流行期とその他の非流行期に区別できた。

(2) ムンプス抗体の年齢別保有状況

260例の血清について、ムンプス抗体価を測定し年齢別に集計した(図8)。

なお疫学調査では400ELISA単位以上を抗体陽性とした¹¹⁾。1才以下では1例が陽性で、抗体保有率は、2~3才から上昇し41.6%となった後、6~7才76.0%、8~9才62.8%、10~11才68.9%、12才以上63.0%となった。

(3) 若年成人女子のムンプス抗体保有状況

J短大生から採血した184例(平均年齢18.6才)につ

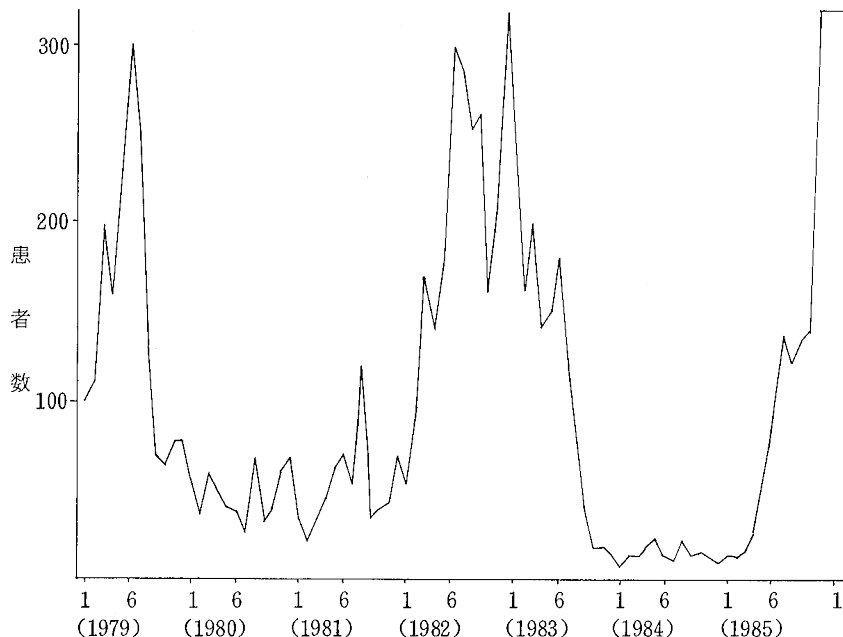


図7. ムンプス患者発生状況

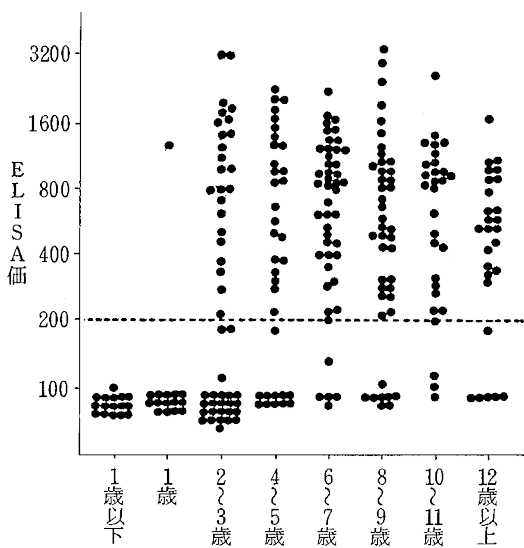


図8. ムンプスELISA抗体の年齢別状況

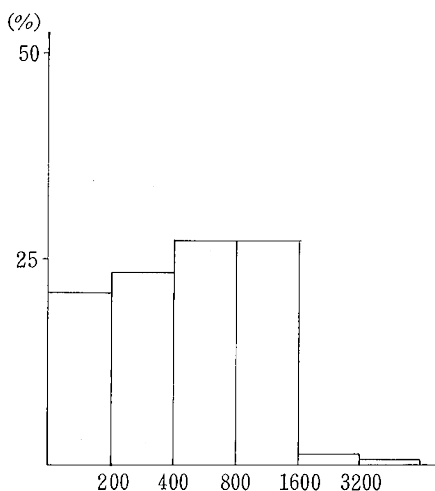


図9. J短大生のムンプス抗体保有状況

いて、ムンプス抗体価を測定した。抗体陽性率は56.5% (104例)であった(図9)。

(4) ムンプス抗体保有とワクチン接種歴およびムンプス罹患歴の関係

調査した189例の年齢構成は、1才未満7例、1才11例、2~3才39例、4~5才45例、6~7才44例、8~9才14例、10~11才18例、12才以上(最年長15才)11例

例であった。抗体陽性例は127例(67.2%)であり、年齢別抗体保有状況は(2)の調査と同傾向を示した。抗体陽性例のうち、調査表にムンプス罹患歴ありと解答した者は、75例(59.0%)、ムンプスワクチン接種歴ありとした者33例(25.9%)、罹患歴、ワクチン接種歴ともになしとした者19例(14.9%)であった。さらに調査表の解答ごとに抗体価を集計した(図10)。

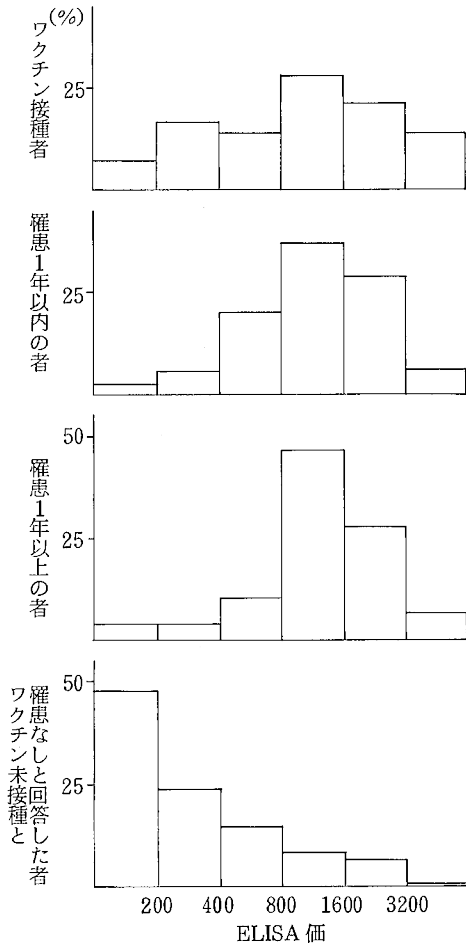


図10. ワクチン接種者と罹患者別抗体保有状況

罹患歴1年以内、1年以上とした者の間、および罹患歴のある者とワクチン接種歴のある者の抗体価および抗体陽性率には有意の差を認めなかった。

4. 濾紙から溶出した血液成分を用いた抗体価の測定

(1) 測定法の検討

J短大生より採血した血液50 μ lを濾紙に吸着させたところ、直径約15 mmの血液吸着痕を形成した。1枚の濾紙から、①～⑤の5か所を直径3 mmに打ち抜き(図1)、各々の濾紙片から溶出した血液成分について、ELISA法によりムンプス抗体価を測定した。表1に8検体について打ち抜き部位ごとの吸光度を示した。吸着した血液成分は、吸光度から推定すると、吸着痕の中心付近で少なく、辺縁部に近づくほど多く、吸着痕の外側へもわずかににじみ出していると考えられた。そこで各濾紙について①～④までの吸光度の平均に対する打ち抜き部位ごとの吸光度の偏差率を百分率で表わした値を、8検体について相加平均したとこと①-16.6%(標本標準偏差(OD \times 10³) S = 8.3)②-5.3%(S = 3.0)③15.7%(S = 7.1%)④5.7%(S = 3.6%)となった。この結果②の部位が最も平均値に近く、ばらつきも少ないので抗体価測定のための打ち抜き部位として選んだ。さらに測定の再現性を確認するために、濾紙ごとに②の部位を3か所打ち抜き、吸光度を比較した(表2)。測定値の変動率は \pm 10%以内となり、再現性が確保されることが示された。

(2) 濾紙を用いた方法と通常の方法によるELISA抗体価測定の比較

J短大生から採血した73例の血液について、各検体の一部を濾紙に吸着、乾燥したのち血液成分を溶出したものと、血液から直接常法により血清を分離したものと

表1. 濾紙片採取の場所によるムンプス抗体測定値

パンチ片採取位置	血清試料							
	A	B	C	D	E	F	G	H
1	0.91	0.99	0.84	0.89	0.95	0.94	0.60	0.84
2	0.96	1.17	0.96	0.98	1.03	1.04	0.89	0.91
3	1.15	1.36	1.24	1.12	1.34	1.15	1.23	1.07
4	1.12	1.20	1.05	1.10	1.17	1.09	1.06	1.01
5	0.40	0.10	0.10	0.09	0.25	0.15	0.11	0.10

パンチ片採取位置は図1に示す番号による。

(数字はOD値を示す。)

表 2. パンチ片採取位置 2 における再現性

回数 \ 血清試料	A	B	C	D	E	F	G	H
1 回目	0.96	1.17	0.97	0.98	1.04	1.05	0.89	0.92
2 回目	1.01	1.17	1.04	1.02	1.02	1.06	0.90	0.96
3 回目	0.98	1.15	0.99	0.97	0.95	1.07	0.91	0.95

A～Hの8種の血清試料を各3回測定した。(数字はOD値を示す。)

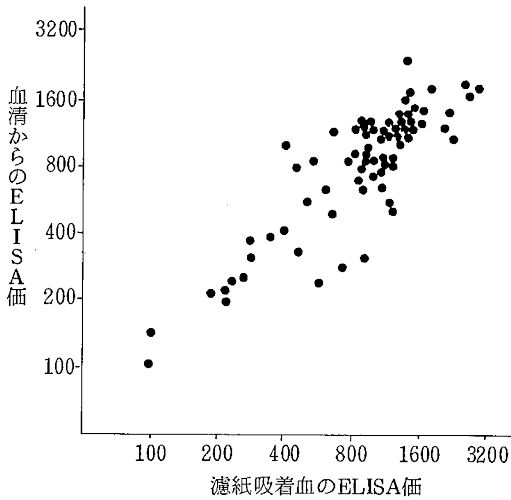


図11. 血清と濾紙吸着血を材料とした場合のELISA法によるムンプス抗体価の相関

を、それぞれELISA法により測定した。両法による測定値の相関係数は、0.866となり高い相関が認められた。またそれぞれの幾何平均抗体価は、血清から測定したものの765 ELISA単位、濾紙から測定したものの748 ELISA単位であった(図11)。

(3) 濾紙に吸着した新生児血液とその母親の血清中の抗体価の比較

11検体について比較したところ相関係数は0.993となり、生後7日目の採血では極めて忠実に母親からの移行抗体を反映していることが認められた(図12)。

(4) 濾紙を用いた方法の疫学調査への応用の試み

新生児の血液を吸着した濾紙255例について、血液成分を溶出し、ムンプス抗体価を測定した。陽性率は54.5%(139例)であった。内訳は400 ELISA単位未満は116例(45.5%)、400～799 ELISA単位70例(27.5%)、800～1599 ELISA単位50例(19.6%)、1600～3199 ELISA単位19例(7.4%)であった(図13)。

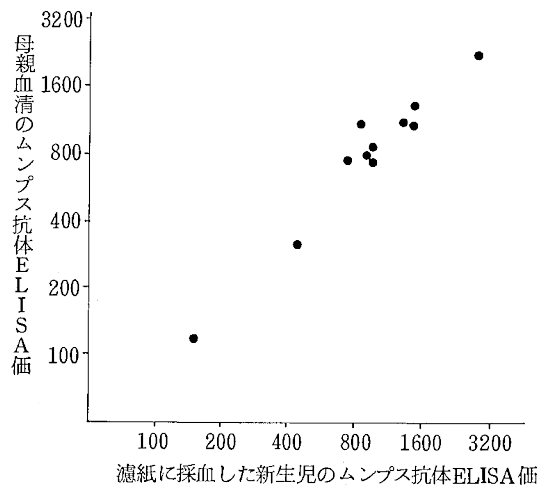


図12. 母親血清と濾紙採血による新生児のムンプス抗体ELISA価との相関

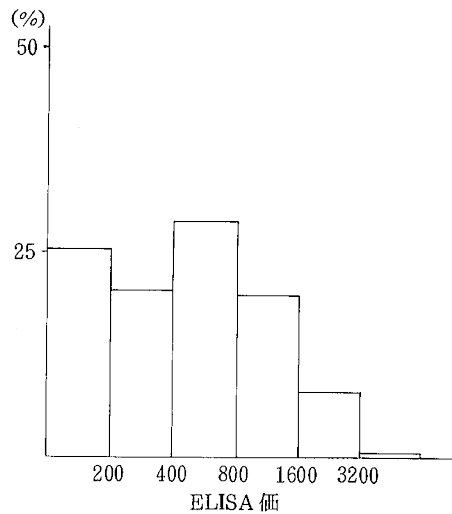


図13. 濾紙採血による新生児のムンプス抗体保有状況

Ⅳ 考 察

ELISA法は、坂田らの方法¹¹⁾に準拠したが反応温度、時間については比較、検討した結果に差を認めなかったので検査時間の短縮をはかるため一部を改変した。またムンプス抗体価の算定は、国立予防衛生研究所から分与を受けた標準血清によって行った。この方法は、被検血清の力価を標準血清の力価に対する相対的な値として表現するもので¹¹⁾、再現性が高く、多量の検体を測定する疫学調査に特に適していると考えられた。

今回卵抗体の保有状況を調査したところ、4～5才以上では半数以上の検体に検出された。卵抗体が生じる理由は、インフルエンザワクチンなど孵化鶏卵を用いて作製したワクチンの接種¹²⁾に由来するものと推定されるが、分与された抗原も含め孵化鶏卵由来のムンプスウイルス抗原を用いるELISA法には、Tsujiraが指摘するように¹²⁾、卵成分に対する抗体が重大な影響を与えるものと考えられた。しかし吸収用卵抗原液を25%の割合に加え4℃一夜吸収すれば卵抗体は十分にかつ特異的に除去され、卵抗体の吸収操作が前処理として不可欠であることが示された。

ELISA法と従来のNT法、FAT法との両者の成績に高い相関性が示された。しかしELISA単位が高くNT価またはFAT価で陰性となった検体がいくつか認められた。これらの検体については、さらに詳細な検討が必要であるが、NT価は低値であってもELISA陽性は有意であること²⁾、NT価が陰性であっても電気泳動によりウイルス特異抗体を認める検体のあること¹⁰⁾¹¹⁾の報告からこの測定結果は、ELISA法の感度が高いためと考える。以上によりELISA法は、疫学調査に応用しても、NT法と同様またはそれ以上に十分に信頼性が認められると考えた。

ムンプス抗体の年齢別保有状況の調査では、保有率は2～3才から上昇し、6～7才以上で約70%に達してのちほぼ一定となった。1才および1才未満児で抗体保有率が特に低いのは、ムンプス患者の発生状況調査で明らかかなように調査時期が流行期満了後1年間であるためと推定された。他の測定法と比較すると、春山らのNT法による報告では¹⁷⁾、1才以下8.3%、3～4才41.7%、5～6才72.0%、9～10才83.0%で同じ傾向にあった。

ムンプス抗体保有状況とムンプス罹患歴またはワクチン接種歴との関係の調査では、ワクチン接種例を除く94例の抗体陽性例のうち約30%にあたる34例が罹患・ワクチン接種歴ともになしと解答した。調査に若干の誤差を含むとしても、ほとんどの例が不顕性感染によるものとみなすことができた。この不顕性感染例の全感染例に対する割合は、一般に知られている約 $1/3$ と¹⁸⁾、ほぼ同様であった。またこの調査ではワクチン接種者、罹患患者間

に抗体保有率、抗体価ともに有意の差は認められなかった。

次にELISA法が感度が高く微量な検体でも測定が可能であることから濾紙に吸着している血液から血液成分を溶出して抗体を測定する方法について検討した。採血した血液を濾紙に吸着、乾燥しておく方法は、採血量が少量でよいこと(たとえば耳朶採血でも可能)、検体の保存、輸送が容易であることなどの利点を有している¹⁹⁾。著者らは特に新生児の血液が吸着した先天性代謝異常症スクリーニング用濾紙からの抗体測定に着目した。新生児の抗体保有状況を知ることができれば、新生児の抗体価はその母親からの移行抗体が反映していると考えられるので¹⁴⁾、妊娠可能年令層の抗体保有状況を知ることができると想定されるからである。先天性代謝異常症スクリーニング用濾紙からの抗原または抗体の微量測定については、すでにB型肝炎ウイルスについての受身血球凝集反応および逆受身血球凝集反応²⁰⁾や風疹ウイルスについての血球凝集抑制反応を用いた測定法²¹⁾の検討が試みられている。また一部ではすでに、この方法を用いたELISA法による風疹ウイルス抗体に関する疫学調査が試みられている²²⁾。今回はELISA法によるムンプス抗体価測定をモデルとして詳細に検討を加えた。まず測定条件を検討するために、血液を濾紙に吸着させ、各部分を打ち抜いて測定し、検体を打ち抜くべき部位を決定する実験を行った。その結果、血液吸着痕に含まれる血液成分は一樣でないことが示された。そのため吸着痕内の代表的な部位4か所に含まれる抗体価の平均に近く、検体ごとのばらつきの最も少ない部位を測定のための打ち抜き部位として選んだ。これは先天性代謝異常症検査のために打ち抜く部位とほぼ同じである。ELISA法の算定には、血液吸着痕と検体として打ち抜いた濾紙片の面積比から、吸着している血液量を推定した。吸着血液量のバラツキが少なく、平均的な部位を選択したとはいえ、採血の方法により、吸着血液量の多少、吸着血液の分布のかたより等に起因して、抗体価にかなりのバラツキを生じることが予想された。しかし実際には、同一の73例の血液材料を、血清を用いて測定した結果と濾紙から測定した結果を比較してみると、幾可平均抗体価はそれぞれ765 ELISA単位、748 ELISA単位となり、濾紙からの測定値の方が血清からの測定値よりややバラツキが大きい傾向は認められたが、この両法による幾可平均抗体価は、統計学的に同一の母集団に属することを棄却できない(有意水準5%)と推定された。また両法による測定値の相関係数は0.866と高い相関が認められ、濾紙を用いた抗体価測定法は疫学調査を行うに足る十分な再現性と信頼性を有すること、また例数は少ないが濾紙から測定した新生児の抗体価と血清から測定したその母親の抗体価の比

較で、両者の相関係数は 0.993 と極めて高い相関を認めた。新生児の抗体価にはその母親からの移行抗体を忠実に反映している。

次に実際にこの濾紙による方法を衛生研究所に集められる検体について疫学調査に応用し、新生児のムンプス抗体保有状況の調査を試みた。その結果、抗体陽性例は 255 例中 139 例 (54.5%) であり、若年成人女子の 56.5% と近いものであった。

以上の結果から、日常的に香川県衛生研究所へ送付される先天性代謝異常症スクリーニング用検体の検査済みの濾紙から、妊娠可能年令層女子の抗体調査ができることが示された。この方法を用いれば、特別な目的のための採血を要さず、比較的偏りのない対象から、多数の検体を得て、測定することが可能である。たとえば香川県内だけで、1 年間に約 1 万件以上の検体が収集されているからである。実用化には、測定法の定量性の向上、検体の輸送、保存に伴う特に季節による温度、湿度の抗体価に及ぼす影響、他の感染症に対する応用の可能性等に対する検討が必要である。ELISA法を用いたこの方法が B 型肝炎ウイルス、単純ヘルペスウイルス、サイトメガロウイルス、風疹ウイルス等、母子間感染、周産期感染が問題となる感染症の抗体調査に広く用いることができれば、その疫学的意義は特に大きいものと考えられる。今後はさらに以上の点に関し、検討を進めたい。

文 献

- 1) 芦原義守：ムンプスウイルス、微生物検査必携、ウイルス・リケッチャ検査、第 2 版、厚生省監修、日本公衆衛生協会、東京、1978、P 357-364
- 2) Hopps, H. E. & Parkman, P. D.: Chapter 20 Mumps virus, In Diagnostic procedures for viral, rickettsial and chlamydial infections, 5th edition, ed. Lennette, E. H. and Schmidt, N. J., American Public Health Association Inc., Washington D. C. U. S. A., 1979, P. 633-653
- 3) Brown, G. G., at al: Development and duration of mumps fluorescent antibodies in various immunoglobulin fractions of human serum, J. Immunol., 104: 86-94, 1970
- 4) Sato, H., at al: Sensitive neutralization test for virus antibody. Arch. Virol., 58: 301-311, 1978
- 5) 鈴木利壽：ムンプスウイルスの補体添加マイクロ中和法に関する研究、臨床とウイルス, 12: 65-73, 1984
- 6) Leinikki, P. O., at al: Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for mumps virus antibodies. Proc. Soc. Exp. Med., 160: 363-367, 1979
- 7) Ukkonen, P., at al: Enzyme-linked immuno-

- sorbent assay for mumps and parainfluenza type 1 immunoglobulin G and immunoglobulin M antibodies. J. Clin. Microbiol., 11: 319-323, 1980
- 8) Popow-Kraupp, T.: Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for mumps virus antibodies. J. Med. Virol., 8: 79-88, 1981
- 9) Ukkonen, P., at al: Mumps-specific immunoglobulin M and G antibodies in natural mumps infection as measured by enzyme-linked immunosorbent assay. J. Med. Virol., 8: 131-142, 1981
- 10) Sakata, H., at al: Enzyme-linked immunosorbent assay compared with neutralization tests for evaluation of live mumps vaccines. J. Clin. Microbiol., 10: 21-25, 1984
- 11) 坂田宏子ほか：Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) によるムンプス抗体、臨床とウイルス, 12: 81-86, 1984
- 12) Tsuji, M., at al: Improved enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of mumps virus antibodies. Kitasato Arch. of Exp. Med., 56: 137-147, 1983
- 13) 厚生省児童家庭局母子衛生課監修 先天性代謝異常検査等の実施について、母子法令通知集、昭和 57 年、母子衛生研究会、東京、P. 136-142, 1982
- 14) Hodes, D. & Brunell, P. A.: Mumps antibody: Placental transfer and disappearance during the first year of life. Pediatrics, 45: 99-101, 1970
- 15) Yamanishi, K., at al: Studies on live mumps vaccine. V. Development of a new mumps vaccine "AM 9" by plaque cloning. Biken J., 16: 161-166, 1973
- 16) 成瀬 浩：微生物を用いた先天性代謝異常症スクリーニング法、ぶんせき, 7: 413-419, 1977
- 17) 春山長治：ムンプスに対する中和抗体測定の簡便法とその疫学への応用について、感染症学雑誌, 58: 173-179, 1984
- 18) Feldman, H. A.: Mumps, Patterns of host response, ed. Evans, A. S., In Viral infections of humans, second edition, Plenum Publishing Corporation, New York, U. S. A., 1982, P. 429
- 19) 宮沢博ほか：固相酵素免疫測定法 (ELISA) へのヘマトクリット毛細管ろ紙採血法の応用 - 麻疹 1 g G 抗体測定について - , 臨床とウイルス, 13: 363-366, 1985
- 20) 北住武昭ほか：濾紙片採血 (Blood disc) 法による HBs 抗原、抗体の微量測定法の研究、臨床病理, XXI X 12: 1259-1262, 1981
- 21) 北住武昭ほか：濾紙片採血 (Blood disc) 法による風疹 HI 抗体の微量測定法の研究、医学のあゆみ, 121: 285-288, 1982
- 22) Sander, J. & Niehans, C.: Screening for rubella IgG and IgM using an ELISA test applied to dried blood on filter paper. J. Pediatrics., 106: 457-461, 1985