

## SLE 患者におけるトキソプラズマ間接蛍光 抗体法の偽陽性反応について

平井 徳幸\* 内田 雅子† 小林 昭夫†  
橋本 博史‡ 塩川 優一‡

(昭和56年8月28日 受領)

**Key words :** Indirect fluorescent antibody, Dye test, Systemic lupus erythematosus,  
*Toxoplasma gondii*

間接蛍光抗体法(以下 IFA)は、トキソプラズマ症(以下 Tp 症)の血清学的診断法にも応用され、その結果は色素試験(以下 DT)のそれともよく一致し、信頼性の高い方法とみなされている(Kelen *et al*, 1962; Walton *et al*, 1966). また、IFA は急性 Tp 感染および先天性 Tp 症の初期診断において重要な指標となる特異 IgM の検出にきわめて有用な方法とされ広くその利用をみている(Remington *et al*, 1968). しかし、IFA の特異性に関し Araujo *et al* (1971) は抗核抗体をもつ患者血清のあるものにおいて Tp 感染を欠くにもかかわらず IFA で偽陽性を呈する場合があることを報告した。そこで、我々は全身性エリテマトーデス(以下 SLE)として診断された患者血清多数を用い IFA 偽陽性反応出現頻度および IFA 偽陽性抗体価と抗核抗体との関係につき検討した。

### 材料および方法

#### 1. 被検血清

SLE 患者血清としては、順天堂大学医学部膠原病内科患者のうち ARA の診断基準(Cohen *et al*, 1971)を満足する 118 例の血清を用いた。対照として、慈恵医大一般外来患者血清中 SLE 以外の 113 例のものを用いた。

#### 2. 蛍光色素(FITC)標識抗ヒト血清

FITC 標識抗ヒト IgG ウサギ血清は、Hyland 社製(Lot No. 2211 Pool A1)を、また FITC 標識抗ヒト IgM ヒツジ血清としては、Wellcome 社製(Lot No.

Ko 231)を使用した。

#### 3. 間接蛍光抗体法(IFA)

IFA は、Remington *et al* (1968)の方法に準拠しておこなった。被検血清は pH7.2 の 0.1M リン酸緩衝生食水(以下 PBS-7.2 と略)を用いてまず 8 倍希釈とし、これより 2 倍希釈法によつて最高 2048 倍までの各希釈列をつくり試験に供した。FITC 標識抗ヒト血清の使用濃度は予備試験の結果にもとづき、PBS-7.2 にて抗 IgG 血清については 100 倍、抗 IgM 血清では 40 倍希釈液とした。なお IFA の抗体価は特異蛍光をしめした血清希釈倍中、最高の希釈数をもつて表わした。

#### 4. 色素試験(DT)

DT は Frenkel and Jacobs (1958)の変法(小林ら, 1968)によつて行い、DT 抗体価については IFA との厳正な比較という立場から反応系中における被検血清の終末希釈倍数をもつてあらわした。

#### 5. 間接赤血球凝集反応(IHA)

IHA は Jacobs and Lunde (1957)の原法に準拠したが、タンニン酸の濃度を 1 : 80,000 とし、抗原の濃度を最大の抗体価がえられる濃度とする変法(Kobayashi *et al*, 1971)を用いた。

#### 6. 間接ラテックス凝集反応(ILA)

ILA は栄研化学社製のトキソテスト MT を用いておこなった。

### 成 績

#### 1. 対照血清についての DT と IFA-IgG との関係

##### 1) DT と IFA-IgG との定性的一致

SLE 以外の一般外来患者血清 113 例について、DT、IFA-IgG 各血清反応によりえられた抗体価別の頻度分

\* 東京慈恵会医科大学附属病院中央検査部寄生虫科

† 東京慈恵会医科大学寄生虫学教室

‡ 順天堂大学医学部膠原病内科

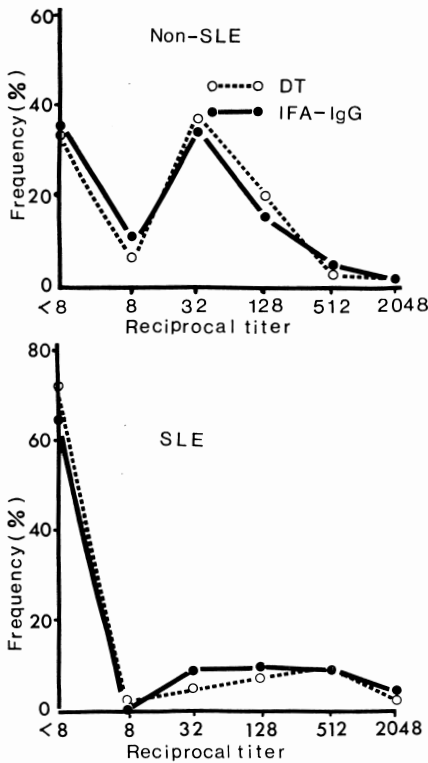


Fig. 1 Frequencies of respective antibody titers of the DT and IFA-IgG on non SLE-and SLE patients' sera.

布は Fig. 1 に示すごとくである。これによると、両反応とも 1 : 8 を谷間とする二峯性分布を示すことにより、1 : 8 以下を陰性、1 : 8 を疑陽性、1 : 32 以上を陽性とみなすことができる。DT におけるこの分布パターンは従来の著者らの成績と完全に一致する。そこで、いま両血清反応につき、陰性、陽性（疑陽性を含め）別の定性的一致率を求めてみると、Table 1 に示すように 99.1% (112/113) と極めて高い値を示した。不一致を示した 1 例は DT 疑陽性 (1 : 8)、IFA-IgG 陰性 (< 1 : 8) であった。

2) DT と IFA-IgG との定量的一致率

同上の被検血清の DT および IFA-IgG による各抗体価別の頻度について、その関係を示せば、Table 2 のごとくである。この表によれば、抗体価が両反応につき完全に一致したものは、85.8% (97/113) の高率を示し、不一致をしめした 16 例についても 1 例を除き、他は全て 4 倍希釈法で 1 管以内の範囲にとどまった。

2. SLE 患者血清における DT と IFA-IgG との関係

1) DT と IFA-IgG との定性的一致率

対照血清同様 SLE 患者と診断された 118 例の血清につき先ず DT と IFA-IgG との抗体価別の頻度分布および定性的一致率を調べた。その結果は Fig. 1 にみるごとく SLE 患者血清群においても抗体価の分布パターンは 1 : 8 を谷間とした二峯性分布を示すことが判つた。また、定性的一致率については Table 3 にしめすごとく 92.4% (109/118) と高い値として示されたが、非 SLE 群のそれに比べればやや低く、不一致を示した 9 例の内訳はいずれも DT で陰性で IFA 陽性となつたものである。

2) DT と IFA-IgG との定量的一致率

SLE 患者血清について DT および IFA-IgG による各抗体価別の頻度の関係を Table 4 に示した。それによると両者の抗体価の完全一致率は 84.8% (100/118) と比較的高く示めされたとはいえ 2 管以上の不一致をみた血清 9 例の内訳をみると、そのすべてが DT 陰性であるにもかかわらず IFA で陽性を示したものに限られ、とりわけ IFA-IgG で 1 : 128 以上の高い抗体価を示すものが 4 例含まれていた点は注目される。このことは、非 SLE (対照) 群と著しく異なる点であり偽陽性反応による結果と考えられる。

3. SLE 患者血清における IFA-IgG, IFA-IgM 偽陽性反応の出現頻度

SLE 患者血清群の血清中 DT 陰性者 86 例について、IFA-IgG, IFA-IgM の両者を実施し、偽陽性の出現頻度につき調べた。その結果は、Table 5 にみるように DT 陰性のものうち IFA-IgG, IFA-IgM の両者また

Table 1 Qualitative agreement between DT and IFA-IgG tests for *Toxoplasma* antibodies on 113 non-SLE sera

Agreement		Total (%)	Disagreement		Total (%)	Grand total (%)
DT (+)	DT (-)		DT (+)	DT (-)		
IFA(+)	IFA(-)		IFA(-)	IFA(+)		
74(65.5)	38(33.6)	112(99.1)	1(0.9)	0	1(0.9)	113(100)

Table 2 Distribution of IFA-IgG titers at each level of DT titers on 113 non-SLE sera

Test	IFA-IgG titer*						Total	
	<8	8	32	128	512	2,048		
DT titer*	<8	38					38	
	8	1	6				7	
	32		5	34	1		40	
	128		1	4	15	3	23	
	512				1	2	3	
	2,048						2	
Total		39	12	38	17	5	2	113

\* Titers are expressed as reciprocals of serum dilutions.

Table 3 Qualitative agreement between DT and IFA-IgG tests for *Toxoplasma* antibodies on 118 SLE sera

Agreement		Total (%)	Disagreement		Total (%)	Grand total (%)
DT (+)	DT (-)		DT (+)	DT (-)		
IFA (+)	IFA (-)		IFA (-)	IFA (+)		
32(27.1)	77(65.3)	109(92.4)	0	9(7.6)	9(7.6)	118(100)

Table 4 Distribution of IFA-IgG titers at each level of DT titers on 118 SLE sera

Test	IFA-IgG titer*						Total	
	<8	8	32	128	512	2,048		
DT titer*	<8	77		5	3	1	86	
	8		2	1			3	
	32			4	2		6	
	128			1	7	1	9	
	512					8	11	
	2,048					1	3	
Total		77	2	11	12	11	5	118

\* Titers are expressed as reciprocals of serum dilutions.

Table 5 False-positivity by IFA tests in DT-negative SLE cases

IFA tests	No. posi./No. exam.	% Posi.
IgG+ IgM+	3/86	3.5
IgG+ IgM-	6/86	7.0
IgG- IgM+	1/86	1.2
Total	10/86	11.6

はそのいずれかに明らかな陽性をみたものは10例 (11.6%)であつた. なおこれら10例の血清は IHA, ILA においても Tp 抗体価が DT 同様陰性の結果であつた (Table 6). また抗核抗体価と IFA 偽陽性抗体価との間にはみるべき相関関係はみとめられなかつた.

#### 考 察

我々は, SLE と診断された患者の血清の一部に本来

Table 6 Results of tests for anti-nucleic- and *anti-Toxoplasma* antibodies on 10 SLE patients with the false positive reaction

No.	Anti-nucleic antibody titer* for...		Anti-Tp antibody titer* by...				
	DNA†	Nucleus‡	DT	IHA	ILA	IFA	
						IgG	IgM
1	32(+)	64(+) peripheral	0§	0	0	32	0
2	32(+)	32(+) peripheral	0	0	0	32	0
3	64(+)	64(+) peripheral	0	0	0	128	32
4	16(-)	512(+) speckled	0	0	0	0	16
5	16(-)	64(+) speckled	0	0	0	32	8
6	16(+)	64(+) peripheral	0	0	0	128	0
7	ND	ND	0	0	0	32	16
8	128(+)	128(+) peripheral	0	0	0	32	16
9	ND	ND	0	0	0	128	0
10	16(+)	16(+) peripheral	0	0	0	512	0

\* Reciprocal antibody titer

† Determined by IHA

‡ Determined by IFA

§ Zero : <1 : 8 in DT, <1 : 8 in IFA-IgG and IFA-IgM, <1 : 16 in IHA, 1 : 16 in ILA

|| ND : Not done

Tp 症でないにもかかわらず IFA 反応において偽陽性をひきおこす可能性とその出現頻度につき検討を行った。

従来より Tp 症の血清学的診断法として利用されている IFA (IgG) は DT との相関関係も高く、信頼性が高い反応とされ広くその利用をみている (Kelen *et al*, 1962; Walton *et al*, 1966; Sulzer and Hall, 1967) 一般的にいえばこのことは今回の一般外来患者血清を用いた DT との比較検討においても確かめることができた。

しかし、ある特殊な疾患の血清中に本反応の特異性を攪乱する因子が存在することが報告されており (Araujo *et al*, 1971; Hyde *et al*, 1975), なかでも SLE 患者血清中にみられる攪乱因子については必ずしもその本質について明確にされていない。Araujo *et al* (1971) によれば、この偽陽性反応の成因の1つとして Tp の核

成分とヒトの白血球の核成分に対する抗核抗体との非特異的反応の結果であることが想定されている。すなわち免疫学的には区別しえない白血球の核成分に対する抗核抗体が Tp の膜表面上においてなんらかの反応性抗原と結合することによるものとしたが、今回の実験結果から、SLE 患者血清のすべてにこうした偽陽性反応がみられたわけではなく、また抗核抗体価と IFA (Tp) 抗体との間においても明確な相互の関係がしめされていないことより、この攪乱因子が必ずしも SLE 患者血清中の抗核抗体によるものでないと思われた。

一方、このような偽陽性反応を防ぐ目的として Pyndiah *et al* (1979) は Bio-Gel を用い被検血清をあらかじめ IgG と IgM とに分画してから IFA を実施すれば良好な結果がえられるとしているが日常の検査として一般的でない。また、Naot and Remington (1980) は Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

による Tp-IgM 抗体検出でこうした偽陽性反応がみられないことより, Tp 抗体価の検出に ELISA の方が, IFA より有用であるとしている。

SLE 患者にみられる IFA-IgG ならびに IFA-IgM に対するこのような偽陽性反応は, 今回の実験結果のかぎりでは抗核抗体を有する血清で DT および IHA, ILA のすべてが陰性を示したもののうち 11.6% にみられ, そのうち IFA-IgG において 1:128 以上の高い抗体価をしめすものが 4 例みられた。また, これら抗核抗体価と IFA 抗体価との間には明確な相関関係がみられなかつたことはこの偽陽性反応の機序についてなお検討されるべき余地が残されていることを示唆する。

### ま と め

SLE 患者血清につきトキソプラズマ IFA 反応を偽陽性にもたらし血清の出現頻度について検討し以下の結果をえた。

1. 非 SLE 一般外来患者血清 113 例における DT, IFA-IgG の各抗体価分布はいずれも 1:8 を谷間とした二峯性の分布を示し, 両反応の定性的一致率は 99.1%, 定量的一致率は 85.8% ときわめて高い値をえた。

2. SLE 患者血清 118 例における抗体価分布は DT, IFA-IgG とも 1:8 を谷間とした二峯性の分布を示し, 両反応系の定性的一致率は 92.4% であり, 定量的一致率は 84.8% と非 SLE 群の場合にくらべやや低率の傾向が示された。

3. 上記 SLE 患者血清のうち DT, IHA, ILA のいずれも陰性であった 86 例につき IFA を実施した結果は IFA-IgG, IFA-IgM のいずれか又は両者に陽性反応をみた者は 10 例 (11.6%) に達し, その内訳は IgG のみ陽性 6 例, IgM のみ陽性 1 例, IgG, IgM ともに陽性をみたもの 3 例であった。

トキソプラズマ症の血清学的診断に IFA を応用する場合に起りうるかかる偽陽性反応の意義につき考察した。

### 文 献

- 1) Araujo, F. G., Barnett, E. V., Gentry, L. O. and Remington, J. S. (1971): False-positive anti-*Toxoplasma* fluorescent-antibody tests in patients with antinuclear antibodies., *Appl. Microbiol.*, 22, 270-275.
- 2) Cohen, A. S., Reynolds, W. E., Franklin, E. C., Kulka, J. P., Ropes, M. W., Shulman, L. E. and Wallace, S. L. (1971): Preliminary criteria for the systemic lupus erythematosus. *Bull. Rheum. Dis.*, 21, 643.
- 3) Frenkel, J. K. and Jacobs, L. (1958): Ocular toxoplasmosis, pathogenesis, diagnosis and treatment. *A.M.A. Arch. Ophthalmol.*, 59, 260-279.
- 4) Hyde, B., Barnett, E. V. and Remington, J. S. (1975): Method for differentiation of nonspecific from specific toxoplasma IgM fluorescent antibodies in patients with rheumatoid factor. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 148, 1184-1188.
- 5) Jacobs, L. and Lunde, M. N. (1957): A hemagglutination test for toxoplasmosis. *J. Parasitol.*, 43, 308-314.
- 6) Kelen, A. E., Ayllon-Leindl, L. and Labzoffsky, N. A. (1962): Indirect fluorescent antibody method in serodiagnosis of toxoplasmosis. *Canad. J. Microbiol.*, 8, 545-554.
- 7) 小林昭夫・熊田三由・常松之典 (1968): トキソプラズマ色素試験の基準化に関する研究, (2) Accessory factor としての血漿の使用について. *寄生虫誌*, 17, 81-85.
- 8) Kobayashi, A., Kumada, M., Tsunematsu, Y., Kamei, K., Nobuto, K. and Hanaki, T. (1971): Comparison of the dye test and hemagglutination tests by three different techniques in the serologic diagnosis of toxoplasmosis. Results on sera from humans, dogs and cats. *Jap. J. Med. Sci. Biol.*, 24, 115-124.
- 9) Naot, Y. and Remington, J. S. (1980): An enzyme-linked immunosorbent assay for detection of IgM antibodies to *Toxoplasma gondii*: Use for diagnosis of acute acquired toxoplasmosis. *J. infect. Dis.*, 142, 757-766.
- 10) Pyndiah, N., Krech, U., Price, P. and Wilhelm, J. (1979): Simplified chromatographic separation of immunoglobulin M from G and its application to toxoplasma indirect immunofluorescence. *J. Clin. Microbiol.*, 9, 170-174.
- 11) Remington, J. S., Miller, M. J. and Brwnlee, I. (1968): IgM antibodies in acute toxoplasmosis. II. Prevalence and significance in acquired cases. *J. Lab. Clin. Med.*, 71, 855-866.
- 12) Sulzer, A. J. and Hall, E. C. (1967): Indirect fluorescent antibody tests for parasitic diseases. IV. Statistical study of variation in the indirect fluorescent antibody (IFA) tests for toxoplasmosis. *Am. J. Epidemiol.*, 86, 401-407.

13) Walton, B. C., Benchoff, B. M. and Brooks, W. H. (1966) : Comparison of the indirect fluorescent antibody test and methylene

blue dye test for detection of antibodies to *Toxoplasma gondii*. Am. J. Trop. Med. Hyg., 15, 149-152.

**Abstract**

OCCURRENCE OF FALSE POSITIVE REACTIONS IN THE INDIRECT  
FLUORESCENT *TOXOPLASMA* ANTIBODY TESTS ON SYSTEMIC  
LUPUS ERYTHEMATOSUS PATIENTS

NORIYUKI HIRAI, MASAKO UCHIDA, AKIO KOBAYASHI,  
(Clinical Laboratory, and Department of Parasitology, Jikei University  
School of Medicine, Tokyo)

HIROSHI HASHIMOTO AND YUICHI SHIOKAWA  
(Department of Internal Medicine, School of Medicine, Juntendo University, Tokyo)

Sera from SLE patients were tested by the indirect fluorescent antibody (IFA) technique for occurrence of false positive reactions to *Toxoplasma gondii*, and results obtained are as follows :

1) On serum samples from 113 non-SLE patients high agreements were shown between the dye- and IFA-IgG tests ; 99.1% in regard to positivity and negativity and 85.8% in terms of antibody titers. On the other hand, on 118 SLE patients' sera, the agreement rates were shown at 92.4% and 84.8%, respectively. These values appeared to be slightly lower than those obtained in the non-SLE control group.

2) Out of 86 SLE patients who showed negative dye-, indirect hemagglutination- and indirect latex agglutination tests, 10 patients or 11.6% manifested positive IFA test, of which 6 were positive for IFA-IgG only, 1 for IFA-IgM only and 3 for both. No correlation was observed between the antibody titers of anti-*Toxoplasma* IFA and anti-nuclear antibody titers.

A possibility to incur misdiagnosis by applying *Toxoplasma*-IFA tests on SLE patients was discussed.