

日本性感染症学会第30回学術大会 ランチョンセミナー

# 実地臨床における 梅毒抗体検査結果の 読解法

— 用手法から自動化法への架橋 —



座長

**石地 尚興**先生東京慈恵会医科大学  
皮膚科学講座 教授

演者

**古林 敬一**先生

そねざき古林診療所

梅毒は梅毒トレポネーマ(TP)菌の感染により生じる疾患であるが、病原菌検索が難しく、脂質抗原とTP菌由来の抗体検査を組み合わせる方法により感染や病状判定がなされている。従来、検査の主流はRPRカードテストなどの用手法(2倍系列希釈法)であったが、近年、自動分析器による自動測定を可能とする検査方法が登場し、血清中の抗脂質抗体および抗TP抗体を迅速に測定する試薬も登場している。今回は、梅毒抗体検査の概要と結果の読解法について、古林敬一先生に解説いただいた。

共催

日本性感染症学会第30回学術大会 / 積水メディカル株式会社

## 梅毒抗体検査について

梅毒抗体検査は、梅毒の診断をはじめ感染症法に基づく届出対象の確認や、ペニシリン等による治療効果判定を目的として用いられている。その方法は大きく RPR (rapid plasma reagin) と TP 抗体に二分され、RPR は脂質複合体に対する抗体、TP 抗体は梅毒トレポネーマ (*Treponema pallidum*; TP) が有する特異抗原に対する抗体を検出すると考えられている。したがって、梅毒抗体検査では、由来の異なる 2 種類の抗体を調べて総合判断することになる。

従来、用手法といわれる検査法は、カードテストと TPHA を指す。カードテストは抗体価 1 倍以上が陽性で、2 の n 乗倍の希釈系列のどこまで凝集反応を確認できたかを確認する。TP 抗体は、TPHA 法の非特異反応の改善を目的にゼラチン粒子担体を用いた TPPA に変更されることが多いが、検査会社も TPHA として表記し続けている場合がある。TPHA は抗体価 80 倍以上が陽性で、TPHA から TPPA に切り替わると 2~4 倍、感度が高くなるため、同一症例でも数値が動く点に注意が必要である。また、TP 抗体については複数の検査会社が自動化法を開発しており、会社により単位が異なる。さらに TP 抗体の抗原抗体反応による迅速検査法 (イムノクロマト法) は、陽性、陰性で結果が表示される。

近年、RPR のシェアは用手法が減少し、自動化法が増加している (図 1)。TP 抗体 (イムノクロマト法を除く) については圧倒的に自動化法が多い状況であるが (図 2)、大手のコ

マーシャルラボ (検査センター) では依然として用手法を用いる施設があり、一定の検査件数が存続していると推測される。

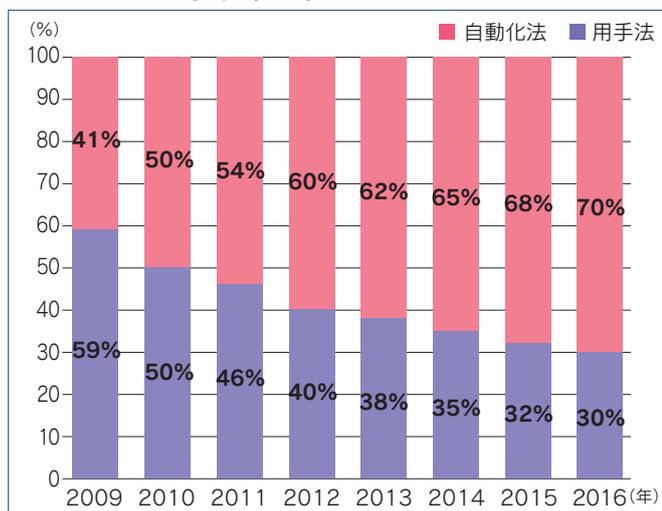
## 梅毒検査用試薬について

RPR 自動化法の主要な試薬は 5 社から出されており、そのうち 1 社の製品が専用装置を必要とする以外、各社の試薬は汎用自動分析装置での使用が可能である。単位や測定範囲は各社で異なり、CV (変動係数, %) は大きな差はないが、同一検体を複数回測定した場合の誤差範囲については 10% ないし 15% の変動がありうる。

一方、TP 抗体の自動化法では、専用装置を必要とするのは 2 社の製品で、汎用自動分析装置用への適用が可能なものは 5 社の製品である。定量性に関し、専用試薬については定性となっているが、汎用装置用試薬は単位がさまざままで測定範囲も異なるため、陽性レベルの数値が大きく異なる点に注意が必要である。専用装置が必要な試薬には、定性試薬ではあるものの陽性レベルを切っていて性質が少し異なると考えられるものと、もう一方は CV (%) を表示しておらず、定量的でないことを意味しているものがある。

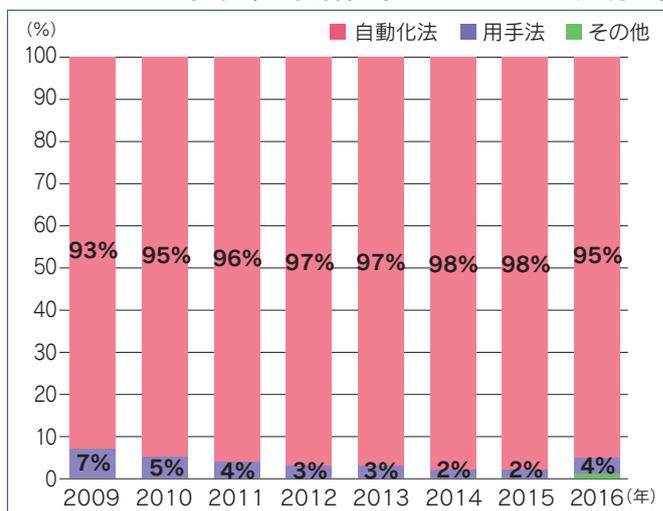
抗体についても専用試薬は磁性粒子を使っており、抗原成分も組換体となっている。また、メディエーズ® TPLA® ともう一方の製品は native の TP から精製した菌体成分を使用しているが、それ以外は遺伝子組み換えにより抗原蛋白を作製して試薬に用いている。こうした抗原の差によっても試薬の特性が異なると考えられる。

図 1 ■ シェアの推移 (RPR)



日臨技 (日本臨床衛生検査技師会) サーベイデータより作成

図 2 ■ シェアの推移 (TP 抗体) (イムノクロマト法を除く)



日臨技サーベイデータより作成

梅毒抗体検査の定量については、用手法ではRPR16倍以上が活動性、16倍未満は陳旧性とみなされてきたが、現在、自動化法に変わりつつあるなかでその相関性が問題とされるようになった。多数例の検討の結果、メディエース®RPRについてはカードテストとの読み替え係数は1、TPHAの場合は×0.4を提案している<sup>1)</sup>。メディエース®RPR以外の各試薬についても検討が必要であるが、現在のところ続報はみられない。

## 用手法と自動化法の相関性について

2倍系列希釈法と自動化法との相関性については、いまだ議論の絶えないところである。用手法検査のRPRテスト“三光”の試薬添付文書を見ると、同時再現性について「定量試験法に従い検体を同時に8回測定するとき、それぞれの凝集価のパラッキは、最頻値の±1管以内である」と記載されている。

そこで、RPRカードテストで11検体について5重測定を試みた。分散値ではあるが、比較のためにあえて変動係

数(CV)を示すと、カードテストでは常に3割程度の変動があった(表1)<sup>1)</sup>。メディエース®RPR(自動化法)での5重測定データに比べ、変動がかなり大きいことがわかる(表2)<sup>1)</sup>。

測定誤差は自動化法のほうが少ないことがわかったため、相関グラフは一般的に用手法をX軸にするところ、自動化法をX軸に表示してみた。そうすると、RPRの相関係数は1回測定では1.3で、5重測定平均では1.0に近づいた。TP抗体はもっとばらつきが大きいものの、5重測定の平均値が回帰直線の周囲に集まっているのがわかる。この結果から、用手法と自動化法の相関をみる場合は、多重測定の平均による検討が妥当と考えられた。

## RPR用手法のベルヌーイ過程応用

さらにRPRカードテストの5重測定データを見ると、それぞれの検体について、 $2^n$ あるいは $2^{n+1}$ のデータとなっている。そこで、RPR用手法の多重測定の平均値と自動化法の平均値は、係数がほとんど1であることから $Y = X$ のグラフに乗ることを意味し、これは自動化法の平

SEKISUI

体外診断用医薬品

## 梅毒スクリーニング検査の自動化を実現

メディエース® TPLA®

トレポネーマ抗体キット 製造販売承認番号20900AMZ00373000

メディエース® RPR

非トレポネーマ脂質抗体キット 製造販売承認番号21200AMZ00424000

### 特長

- ◆ ラテックス凝集免疫比濁法を測定原理としています。
- ◆ 汎用自動分析装置に適用、約10分で測定可能です。
- ◆ 客観的評価が可能で、計量データのため精度管理に有用です。

製造販売元

積水メディカル株式会社

〒103-0027 東京都中央区日本橋二丁目1番3号

【お問合せ先】コールセンター：0120-249-977

<http://www.sekisui-medical.jp/>

均値が真値を示しているのではないかとの考えにいたった。

図3はメディエース®RPRの管理血清で、同一検体を多数回測定した場合の分布データである。正規分布に近い分布を示し、平均値は1.85だが、最も頻度の高いところが真値を示していると考え、自動化法の平均値はおおむね真値とみなしてよいと考えた。そうすると、用手法の多重測定は二値データになっており、用手法の多重測定はすなわちベルヌーイ過程(二項分布)\*であるという仮説を立て

ることができた。Microsoft Excelでベルヌーイ過程のシミュレータをつくると、10回試行では理論値よりずれたが、30回試行で当てはまりがよくなり、繰り返すことで二項分布に近づくと考えられた。

仮に5回測定してその平均値が25になった場合、表の出る回数がm回、裏がn回のデータセットとなり、その平均値が25であるということである。これを回数ではなく確率で示すと、表が出る回数が確率P、残りが1-Pという確率となり、得られたデータは真値25のときの確率

表1 ■ 用手法(RPRテスト“三光”)の5重測定データ

						CV(%)
A	1	1	1	保留	保留	-
B	2	1	1	1	1	37.27
C	2	2	2	1	2	24.85
D	4	2	4	2	2	39.12
E	8	8	8	8	8	0.00
F	16	16	16	16	16	0.00
G	16	16	16	16	8	24.85
H	32	16	16	16	16	37.27
I	64	32	32	32	64	39.12
J	64	64	64	64	32	24.85
K	128	64	64	128	128	34.23

山本啓裕, ほか. 日性感染症会誌. 2016; 27: 91-5. より改変

表2 ■ 自動化法(メディエース®RPR)の5重測定データ

						CV(%)
A	0.7	0.7	0.6	0.8	0.7	10.10
B	1.1	1.1	1.1	0.8	1.0	12.78
C	3.1	3.1	3.1	3.1	3.1	0.00
D	3.3	3.3	3.3	3.2	3.3	1.36
F	6.5	6.4	6.9	6.3	6.4	3.61
G	7.4	7.3	7.5	7.2	7.4	1.55
H	13.3	12.9	12.7	13.0	13.2	1.83
I	15.7	15.3	14.8	15.3	14.4	3.34
J	43.6	42.8	44.2	43.5	44.5	1.51
K	52.7	53.1	54.2	52.5	51.7	1.73
L	97.1	93.0	91.7	92.5	99.3	3.49

山本啓裕, ほか. 日性感染症会誌. 2016; 27: 91-5. より改変

図3 ■ メディエース®RPR ヒストグラム

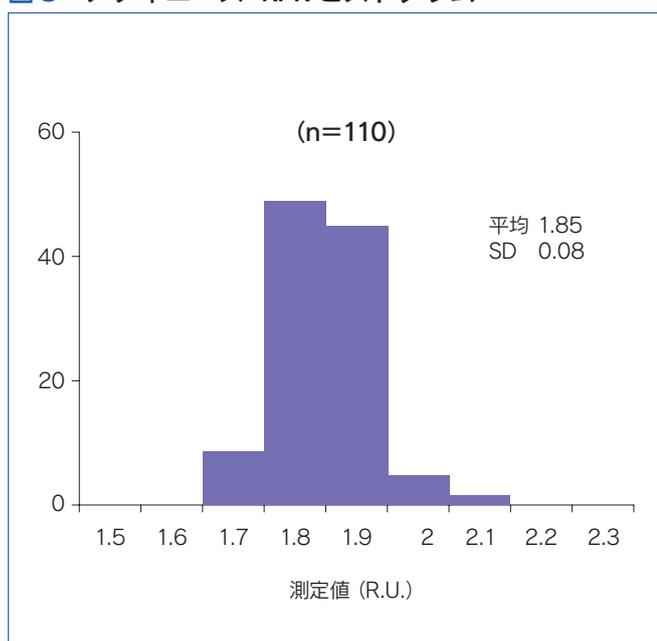
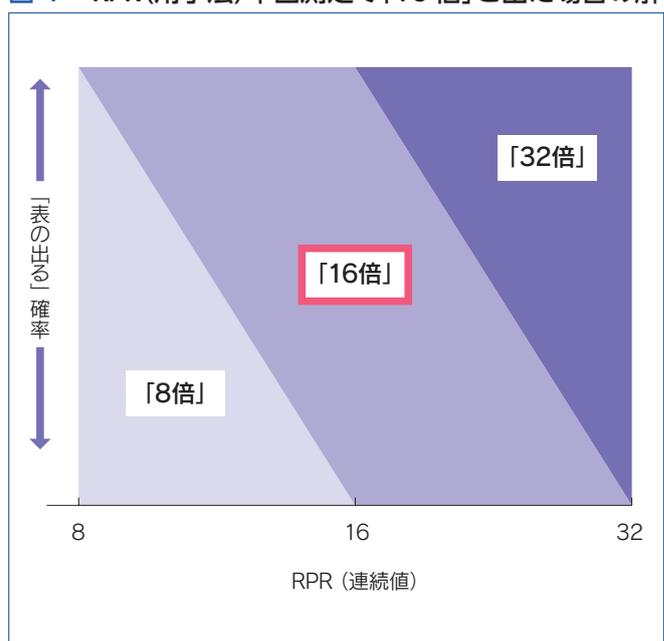


図4 ■ RPR(用手法)単回測定で「16倍」と出た場合の解釈



※ベルヌーイ過程

統計上の二項分布を指す用語。決まった確率pで表が出るコインをn回トスして表の出る回数を集計した場合、「n回トスしたときに表が出る回数の期待値」は、np回となる。仮に表が出る確率が0.7とすると、5回トスした場合の確率は直線を示す。すなわち決まった確率pで表が出るコインのn回トスを1試行とし、m回の試行で表の出る回数をグラフ化すると、mを大きくすれば二項分布に近づき、1試行時に表が出る回数の期待値はnp回となる。

Pに基づくベルヌーイ過程の結果とみなすことが可能と考えられる。さらに、もう少し一般化し、 $P_x = (2a - X)/a$  という確率の関数を考えると、真値が  $a$  のときに確率が 1、真値が  $2a$  のときに確率が 0 という直線となる。

そこでベルヌーイ過程の RPR 用手法バージョンをつくるため、表に  $a$ 、裏に  $2a$  と書かれたコインを用意し、決まった確率  $p$  で表( $a$ )が出るものとする。コインの  $n$  回トスを 1 試行と考え、「1 試行時に  $a$  が出る回数」の期待値は  $np$  回となる。また、RPR(用手法)の多重測定を  $a$  か  $2a$  のいずれかの値をとるベルヌーイ過程であるとする。真値を  $X$ 、測定結果が  $a$  と出る確率を  $P_x$  とし、 $P_x = (2a - X)/a$  (①式)の関係が成り立つと仮定すると、 $n$  回測定したときに  $a$  と出る回数の期待値はベルヌーイ過程の性質により  $n \cdot P_x$  回であり、 $2a$  と出る回数の期待値はこの  $n \times (1 - P_x)$  回となる。したがって「 $n$  回測定したときの平均」の期待値は、この 2 つを複合させた平均値の計算式で得られるため、①式を代入すると  $X$  だけ残り、 $n$  回測定したときの平均の期待値は真値と等しくなることが示せる。用手法の多重測定データは、 $2^n$  と  $2^{n+1}$  の二値データとなっており、その平均値が自動化法の真値とほぼ一致する事実と、以上の初等数学的考察から、用手法の多重測定はベルヌーイ過程(二項分布する母集団からの標本抽出)とみなせる。

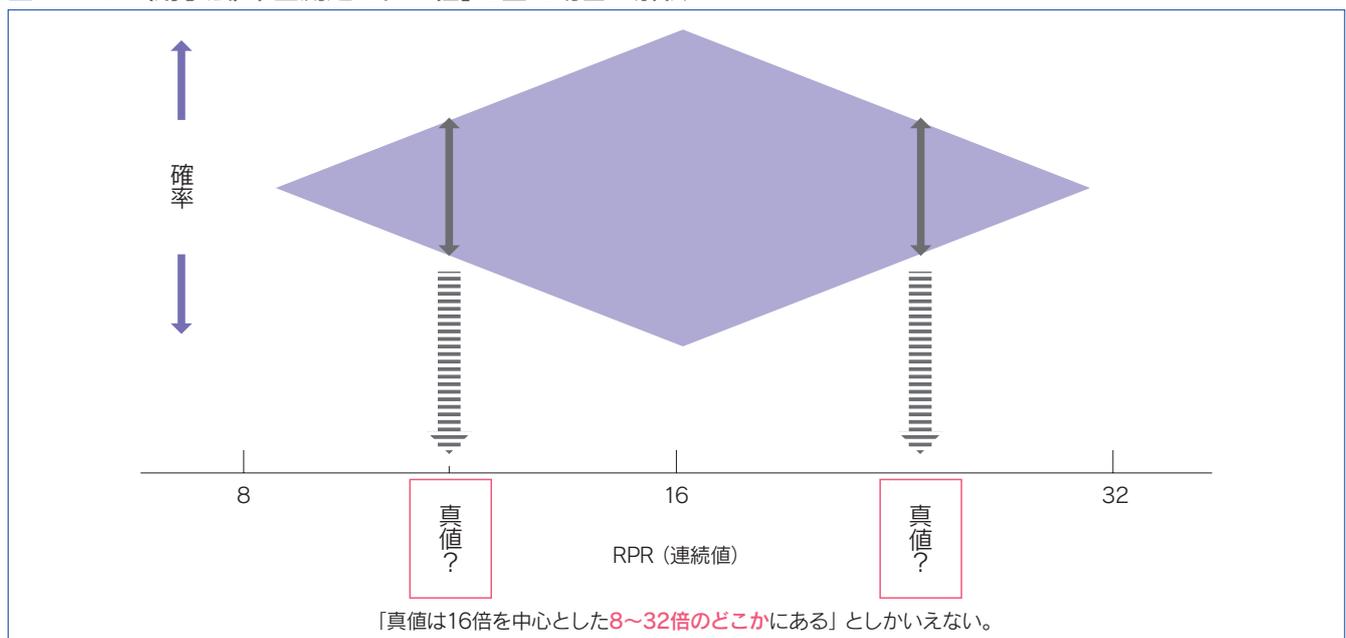
### 単回測定と多重測定の関係について

通常はそれほど多重測定をしていないため、用手法の単回測定で仮に 16 倍と出た場合、それをどのように解釈するかが問題となる。グラフのどこかに真値があるわけだが、「16 倍」にあたる部分の平行四辺形(図 4)の面積を変えずに変形させたひし型(図 5)からも、真値は 16 倍を中心とした 8~32 倍のいずれかにあるとしかいえず、単回測定による限界がわかる。したがって、用手法の単回測定( $2^n$ )は本質的に  $2^{n-1}$  から  $2^{n+1}$  倍までの不確実性をもっており、多重測定(ベルヌーイ過程)によって二項分布の性質が現れ、その平均値が真値の期待値となると考えられる。

あらためて RPR テスト“三光”の添付文書を読み返すと、「8 回測定したとき、凝集価のばらつきは最頻値の  $\pm 1$  管以内」というのは、 $+1$  管か  $-1$  管のどちらかに限定されると解釈すべきである。用手法では 4 倍(2 管)以上の変動がないと有意といえない理由は、確率の分布が 8 倍と 32 倍程度にまで離れていないと、真値が異なるとはいえないためである。

たとえばある症例で治療後の抗体価が下がる傾向をみると、メディエーズ® RPR と RPR カードテストではズレが生じている。これを用手法の単回測定の不確実性仮説で解

図 5 ■ RPR(用手法)単回測定で「16 倍」と出た場合の解釈



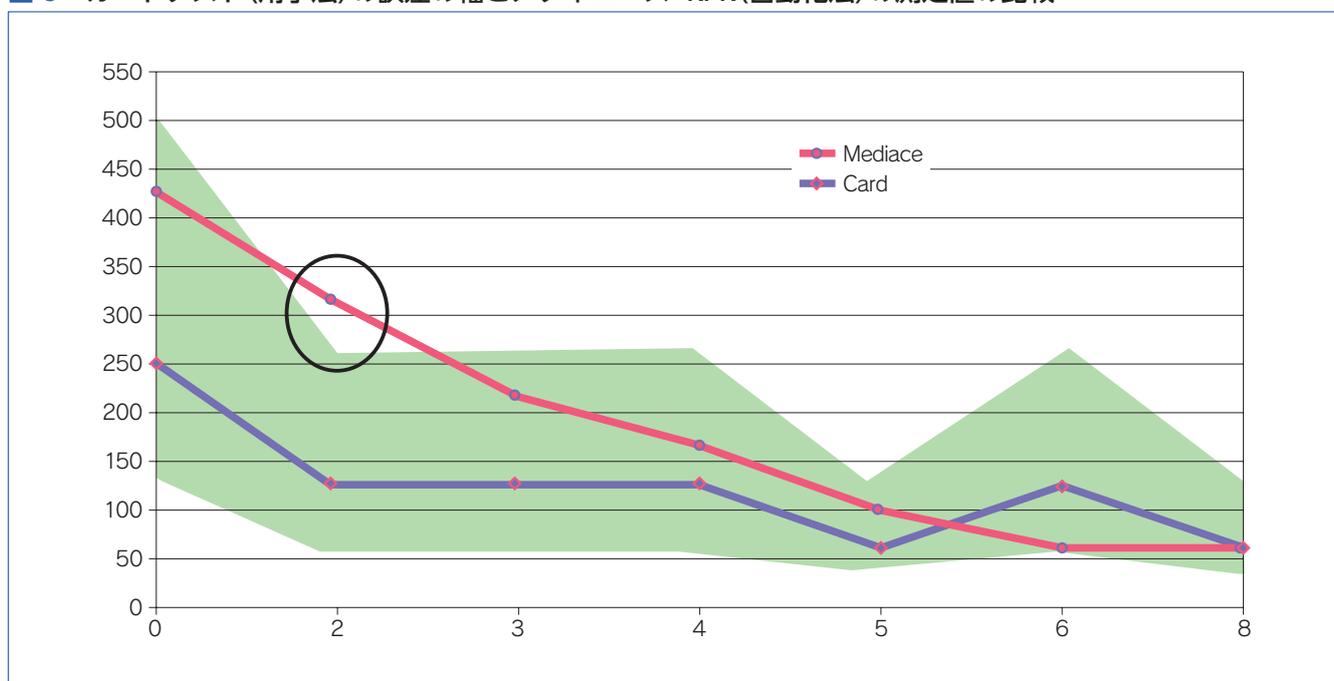
釈し直すと、カードテストは2倍もしくは2分の1倍のどちらかに真値があるため、本来は一定の誤差の幅をもっていると考えられる。メディエース®RPRの直線は、誤差の幅である緑のオビの幅の内側にほぼ収まる(図6)<sup>2)</sup>。このことから、用手法と自動化法のデータ間では、多少のズレはあっても実際には大きな齟齬はないと理解できる。

したがって、用手法と自動化法の相関性を議論する場合は、それぞれの多重測定データの平均値を使うべきと考えられる。用手法の単回測定が不確実とする仮説は、用手法から自動化法への架橋と捉え、測定誤差の少ない自動化法に慣れていくことが望ましい。

実際に自動化法を使えば、その使い勝手のよさに納得できるはずである。自動化法で得られた知見も蓄積されつつあり、今後は自動化法が広く普及していくことが期待される。従来の用手法でRPRの抗体価が下がらず、長期の抗生剤投与にいたるケースもありうるが、自動化法で測定すると徐々にでも低下していくケースが圧倒的に多いことを実感している。また、RPRだけで活動性をみずに、TP抗体の自動化法も併用すると情報が増え、耐性菌を疑うことが少なくて済むメリットがあると考えられる。

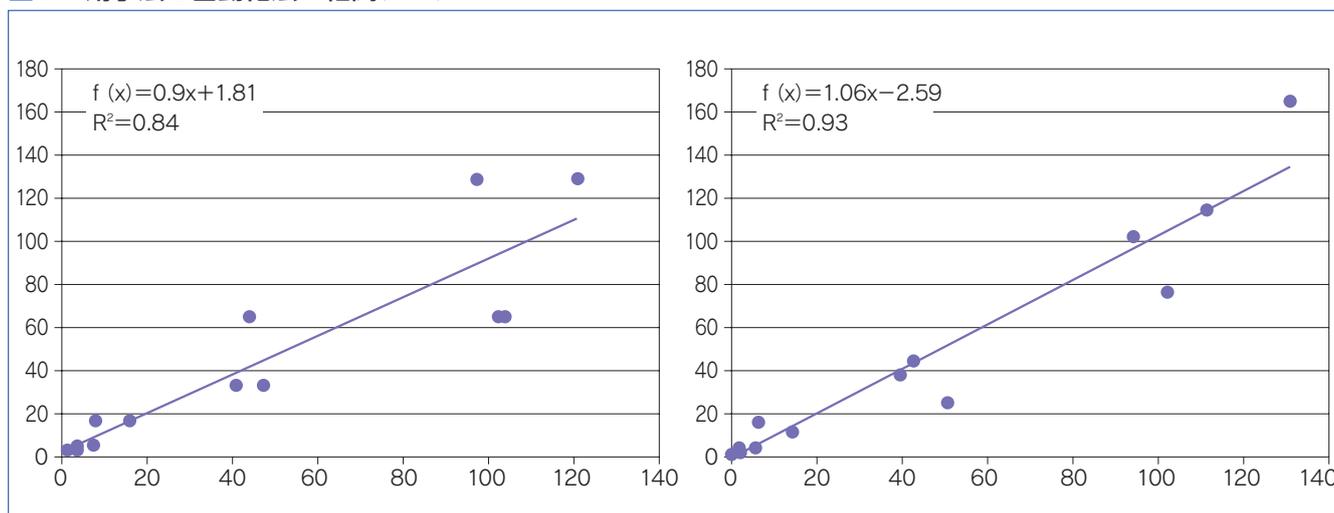
さらにRPRについて検体を増やして検討すると、単回測定同士のデータ、5回測定の平均値同士の相関データで

図6 ■ カードテスト(用手法)の誤差の幅とメディエース®RPR(自動化法)の測定値の比較



尾上智彦, ほか. 臨皮. 2017; 71: 388-92. より改変

図7 ■ 用手法と自動化法の相関データ



は、やはり後者で回帰直線周囲のまとまりがよくなっている。ただし、自動化法のRPRは用手法に比べ治療後の下がり方が速く、治療前後のデータを検討すると差が大きくなるため、治療前のデータのみ抽出して相関をとり直すと当てはまりがよくなり、1.0近くにまで向上した良好な決定係数が得られる(図7)。TP抗体の検討においても、TP抗体は数値が大きくばらつきが広がる傾向にあるが、それでも単回測定同士、5回測定同士の相関において、回帰直線周囲のまとまりがよいことがわかる。

自動化法の用手法に対する優位性は、使っていると実感できる。本セミナーではそれを裏づけるデータをお示しした。梅毒感染者が増加しているなか、早期発見から適切な治療を行うには自動化法を適切に利用し、迅速かつ正確な診断により早期治療介入につなげることが重要である。

## 質疑応答

**Q1** 治療後の値の変化について、カードテストでは2管以上の変化(4分の1への低下)を重要視しますが、自動化法では必ずしも4分の1にこだわる必要はないでしょうか。

**A** 私はそのように考えています。

**Q2** 診断や治療の評価において、自動化法にアドバンテージがあるという印象を受けました。自動化法に踏み切れるための障壁があるとすればどのようなものでしょうか。

**A** 検査を引き受けるコマーシャルラボの多くが、まだ自動化法に踏み切れていないのが現状と思われまます。ガイドラインや届出上の感染症法の規則でも、用手法で何倍という記載が中心のため、先生方が困惑される場合も多いのではないのでしょうか。また、自動化法と両方併用するとデータがずれるために、躊躇される先生もおられるかと思いまます。

**Q3** 自動化法への移行に関する国際的な状況はいかがでしょうか。

**A** TPは先進国ではほぼ自動化法にシフトしていますが、RPRの自動化法は日本のみで、国際的にはほとんど行われていません。また、費用的に、用手法のほうが試薬などの点で安価という現状もあります。サンプル数が増えれば自動化法のメリットが生かされてくるため、将来は世界的

にも自動化法に移行していくと思います。自動化法になれば、特にTPの自動化法は治療効果判定や再感染時に大きなメリットがあると思います。

**Q4** 自動化法を採用する場合、届出の基準や治療効果判定の基準においてどのような数値を利用すべきとお考えでしょうか。

**A** 届出基準については、読み替え係数が1なら従来通りで問題ないと思います。ただ、最近は届出基準の「RPR陽性かつTP抗体陽性」という基準を満たさない早期梅毒の出現も多く認められています。早期で硬性下疳が認められ、伝染力が強いのに現在の基準では届出の必要がないということになり、その点、どのようにすべきかが難しいと感じています。ペニシリン投与の打ち切りについては、自動化法であれば治療前値の2分の1に達するのを指標として、1ヵ月後に自然に抗体価が低下するのを観察するとよいと思います。

**Q5** 当院では、半年で60例近く梅毒を診て、報告したのは53例です。そのなかに硬性下疳が認められるのに血液検査のデータが出せず、保健所に届け出られなかったケースがありますが、先生のところではいかがでしょうか。

**A** 当院も同じくらいの統計です。初期の梅毒で届出にいたらなかったケースがおおよそ1割あります。

**Q6** 初期梅毒で硬性下疳や潰瘍性病変があるのに検査で陰性の場合はどうすればよいでしょうか。

**A** 暗視野顕微鏡でTPを検出する方法がありますが、非常に難しい検査です。硬性下疳のスワブに対し検査できる梅毒のPCR法が実用的です。ただ、明らかに硬性下疳で血液検査から梅毒は間違いないと考えられるにもかかわらず、PCRがうまく出ないケースもあります。絶対的な抗原検査法はないと考え、硬性下疳があれば検査結果にかかわらず治療を始めたほうがよいと考えています。また、診断を行ううえでは梅毒の見逃しをなくすことが重要です。近年、梅毒症例が急増していますので、無駄な治療になると躊躇するより、見逃しをせず診断し治療を行う姿勢が重要になってくると思います。

## References

- 1) 山本啓裕, ほか. 日性感染症会誌. 2016; 27: 91-5.
- 2) 尾上智彦, ほか. 臨床. 2017; 71: 388-92.



製造販売元

## 積水メディカル株式会社

〒103-0027

東京都中央区日本橋二丁目1番3号

【お問合せ先】 コールセンター：0120-249-977

<http://www.sekisuimedical.jp/>

北海道営業所	〒060-0005	札幌市中央区北五条六丁目2番2号	TEL 011(272)7288
東北営業所	〒980-0014	仙台市青葉区本町一丁目1番1号	TEL 022(263)8560
東日本営業所	〒330-3802	さいたま市大宮区宮町一丁目114番地1	TEL 048(729)5460
首都圏営業所	〒135-0063	東京都江東区有明三丁目5番7号	TEL 03(5520)1360
中部営業所	〒460-0003	名古屋市中区錦一丁目5番11号	TEL 052(209)7714
西日本営業所	〒532-0003	大阪市淀川区宮原三丁目3番31号	TEL 06(6350)6581
中四国営業所	〒732-0052	広島市東区光町一丁目10番19号	TEL 082(261)7862
九州営業所	〒812-0011	福岡市博多区博多駅前三丁目26番29号	TEL 092(451)0511

ME07

1804MR3000