



## Paul-Bunnell 反応

名古屋大学大学院 医学系研究科小児科学 木村 宏

### はじめに

Paul-Bunnell 反応は Epstein-Barr (EB) ウイルスの初感染である伝染性単核球症の古典的な診断方法であり、標準的な教科書・医学書にも記載が多い。しかし近年、EB ウイルス特異的抗体診断方法の普及や核酸診断法の進歩もあいまって、Paul-Bunnell 反応が日常の臨床に用いられることは少なくなっている。本稿では同法の歴史的背景、原理と手技、問題点等につき概説する。また、Paul-Bunnell 反応に置き換わりつつある新しい検査法についても述べる。

### I. Paul-Bunnell 反応の歴史

EB ウイルスの初感染を受けると、患者血清中に一過性に出現する異種動物の赤血球を凝集させる抗体 (heterophil antibody: 異染性抗体) を検出するのが Paul-Bunnell 反応検査である。

1932年、Paul と Bunnell は伝染性単核球症の患者血清中にヒツジの赤血球を凝集させる抗体が多量に出現していることを見出した<sup>1)</sup>。その後、この抗体はヒツジ赤血球のみならず、ウマ、ウシ、およびヤギの赤血球も凝集させることが判明した。この抗体は、赤血球を凝集させることから赤血球凝集素と呼ばれ、この凝集素価検査が伝染性単核球症の診断に利用されるようになった。

### II. 検査方法

ヒツジの赤血球を用いた熊谷の変法により凝集素価を測定する<sup>2,3)</sup>。以下にその概略を示す。

(1) 市販のヒツジ赤血球を生理食塩水でよく洗浄

し、最後に2,500回転5分間遠心したものをもとに0.5%赤血球浮遊生理食塩液を作製する。

- (2) 患者より採血後、血清を分離し、56℃、30分間加温して補体を不活性化する。
- (3) 小試験管を用いて7倍から1,792倍の被検血清希釈系列を作り、0.5%ヒツジ赤血球浮遊生理食塩液を加える。
- (4) 振盪混和後10～20℃に一晩放置し、赤血球凝集反応の有無を観察する。凝集を示す最高希釈倍数をもって凝集素価とする。

### III. 検査値の解釈

正常者では112倍以下であり、224倍以上は陽性と判定する。ただし、112倍以下であっても1～2週間の間隔をおいて、初回検査時の4倍以上の凝集素価上昇が認められた場合には陽性と解釈してよい<sup>3)</sup>。

Niederman らによれば白人の伝染性単核球症でヒツジ赤血球を用いた場合の Paul-Bunnell 反応陽性率は、発病第1週が38%、第2週が60%であり、第3週以降は80%の陽性率であったという<sup>4)</sup>。

ヒツジ赤血球を凝集させる異染性抗体は、伝染性単核球症以外の免疫や正常人の血清中でも認められる。これら種々の異染性抗体の鑑別には、1937年に Davidsohn が報告したモルモット腎煮沸抽出液とウシ赤血球煮沸抽出液を用いた患者血清の吸収試験が行われる<sup>5)</sup>。

Paul-Bunnell 反応により異染性抗体が陽性で、しかも Davidsohn 吸収試験によって患者血清中のヒツジ赤血球凝集素が Paul-Bunnell 特異的であることが確認されれば、その患者が伝染性単核球症である確率は極めて高い。

#### IV. Paul-Bunnell 反応の問題点

本法は簡便に行い得ること、特殊な機器を必要としないなどの利点があり、長期にわたり伝染性単核球症の診断法として用いられてきた。

しかし、典型的な伝染性単核球症と考えられる症例でも日本人の場合 Paul-Bunnell 反応が陰性に出ることが少なくない。このことは白人の伝染性単核球症患者では、80%が Paul-Bunnell 反応陽性となることと相反する。また、発症後早期の感染が必ずしも高くないため、急性期の診断法としては不十分であることは否めない。各種抗 EB ウイルス抗体の詳細な検索が可能となった現在では、以前に比較して Paul-Bunnell 反応の臨床的意義は薄れつつある。

#### V. その他の EB ウイルス感染症診断法

##### 1. EB ウイルス特異的抗体

図に EB ウイルス初感染後のウイルス特異的抗体反応の推移を示す。病初期には viral-capsid antigen (VCA)-IgM および IgG 抗体と early antigen (EA) 抗体が出現し、次いで現れる VCA-IgG 抗体は終生持続する。EB virus nuclear antigen (EBNA) 抗体は初感染後、1～数カ月を経て出現し、やはり終生

持続する。これら EB ウイルス関連抗原に対する抗体反応の組み合わせにより、EB ウイルス初感染・既感染の診断が行われる。VCA-IgM 抗体陽性の場合、初感染が強く疑われる。また、VCA-IgG 抗体が陽性かつ EBNA 抗体が陰性の場合にも初感染が示唆される。VCA-IgG 抗体、EBNA 抗体ともに陽性の場合には既感染を、ともに陰性の場合には未感染を示す。VCA-IgG 抗体の急性期から回復期にかけての有意な上昇も、初感染を示す指標となる。一方、EA 抗体は EB ウイルス初感染初期に認められるが、健常既感染者においても 20～30%で陽性となる。

ウイルス特異的抗体測定は、Paul-Bunnell 反応に置き換わって、現在では EB ウイルス初感染診断の最も標準的な検査法と言える。しかし、欧米では EB ウイルス初感染の指標とされる VCA-IgM 抗体が、わが国では必ずしも陽性にならないこと、殊に乳児期では定型的な抗体反応をとらないことなど血清学的診断には限界もある。

従来これらの EB ウイルス感染抗体は、VCA 抗体・EA 抗体は蛍光抗体法、EBNA 抗体は蛍光抗体補体法で測定されることが多かった。蛍光抗体法は、IgG、IgM などのクラス別に測定できる、定量性があるなどの利点がある。一方、蛍光抗体法は手技が煩雑であること、非特異的反応があること、検査者によって結果が異なる可能性があるなどの欠点もある。近年、蛍光抗体法に代わり酵素抗体法

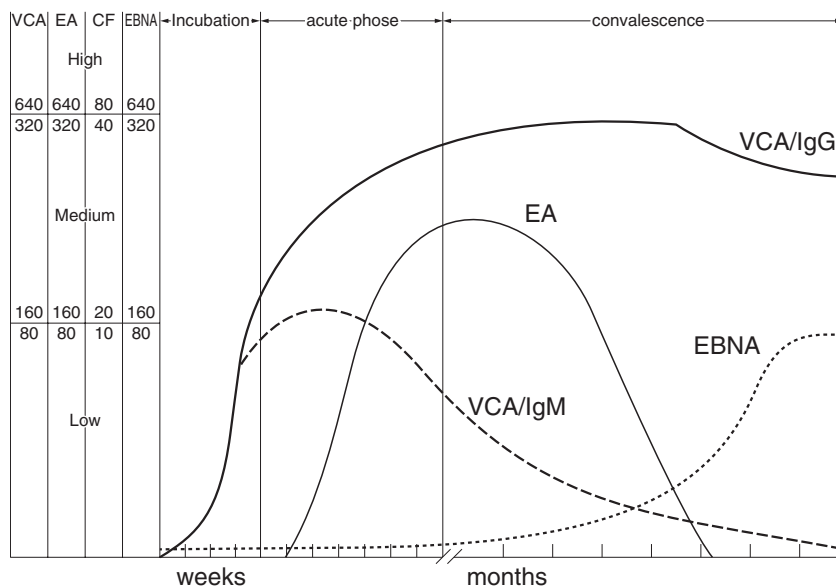


図 EB ウイルス初感染後の抗体反応 (The G: Viral oncology, Raven Press, 1980)

(EIA法)がしばしば用いられるようになってきた。同法は比較的簡便で感度に優れ、検査者間での結果のばらつきが少ないという利点がある。しかし、EIA法は定量性に欠け、キット、検査会社が異なる場合、値を比較できないなどの問題もある。以上より、既往の有無をワンポイントで調べるにはEIA法が優れているが、経時的な変化をみるには蛍光抗体法が望ましいと考えられる。

## 2. 核酸診断法

近年、伝染性単核球症患者血清中にEBウイルスDNAが存在するとの報告が相次いでいる。EBウイルスはB細胞に潜伏感染するため、健常既感染者でも血球中にEBウイルスDNAが認められることは多い。しかし、通常血清中にはウイルスDNAは存在しない。このことを利用して、伝染性単核球症の急性期診断にPCR法などの核酸診断を応用することが可能である。

われわれは、発熱などで救急外来を受診した小児のわずか2%にしか血清中EBV-DNAが認められないこと<sup>6)</sup>、一方伝染性単核球症患者血清中にはほぼ100%EBV-DNAが検出されることを報告した<sup>7,8)</sup>。定量的解析により、伝染性単核球症患者急性期では平均 $10^{2.4}$ copies/mlのEBVが検出され、通常の場合、発症から約45日間以内には血清から消失する。PCR法は感度も高く、陽性診断率も極めて高い。

一方、同法は施行可能な施設に限られること、健保採用されていないことなど、今後EBウイルス感染症診断法として普及するには問題点も多い。

## 文 献

- 1) Paul J.R., Bunnell W.W.: Presence of heterophilic antibodies in infectious mononucleosis. *Am J. Med. Sci.* **183**: 90-104, 1932.
- 2) 熊谷直秀: 伝染性単核球症(腺熱)の血清診断(1). *日新医学* **38**: 679-684, 1951.
- 3) 厨 信一郎: Paul-Bunnell 反応「広範囲血液, 尿化学検査, 免疫学的検査」. *日本臨床* **53**: 243-245, 1995.
- 4) Niederman J.C.: Heterophil antibody determination in a series of 166 cases of infectious mononucleosis listed according to various stages of the disease. *Yale J. Biol. Med.*; **28**: 629, 1956.
- 5) Davidsohn I.: Serologic diagnosis of infectious mononucleosis. *JAMA* **108**: 289-295, 1951.
- 6) Hara S., Kimura H., Hoshino Y., Tanaka N., Nishikawa K., Ihira M., Yoshikawa T., Morishima T.: Detection of herpesvirus DNA in the serum of immunocompetent children. *Microbiol Immunol* **46**: 177-180, 2002.
- 7) Kimura H., Morita M., Yabuta Y., Kuzushima K., Kato K., Kojima K., Matsuyama T., Morishima T.: Quantitative analysis of the Epstein-Barr virus load using a real-time PCR assay. *J. Clin. Microbiol.* **37**: 132-136, 1999.
- 8) Kimura H., Nishikawa K., Hoshino Y., Sofue A., Nishiyama Y., and Morishima T.: Monitoring of Cell-Free Viral DNA in Primary Epstein-Barr virus infection. *Med Microbiol Immunol* **188**: 197-202, 2000.