

新型コロナウイルス感染症患者におけるイムノクロマトを原理とした 抗体検査キットによる血清抗体の検討

¹⁾九州大学大学院医学研究院 病態修復内科(第一内科) ²⁾九州医療センター感染症内科

³⁾九州大学病院 救命救急センター ⁴⁾九州大学病院 検査部

⁵⁾九州大学病院 グローバル感染症センター ⁶⁾株式会社リチエルカクリニカ

⁷⁾日本臨床内科医会インフルエンザ研究班

鄭 湧¹⁾ 谷 直樹¹⁾ 有水 遥子²⁾ 渡部 遥¹⁾ 深町由香子¹⁾
米川 晶子¹⁾ 岩坂 翔^{1,3)} 西田留梨子^{1,4)} 江里口芳裕¹⁾ 三宅 典子¹⁾
下田 慎治¹⁾ 長崎 洋司²⁾ 下野 信行^{1,5)} 池松 秀之^{6,7)} 赤司 浩一¹⁾

はじめに

中国武漢市から報告された新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) は日本国内でも流行が拡大してきている。2020年3月以降、欧米でも爆発的に患者が増加し、パンデミックと認定されている。SARS-CoV-2感染後に産生される宿主の抗体については、検討が進められており、幾つかの検査機器・試薬が国内外で既に上市され、COVID-19診断に対する有用性について検討が進んでいる。また、COVID-19についての疫学調査や、現在多くの国で実施されている行動制限の解除において、抗体の検査が有用となることが期待されている。今回、COVID-19がPCRにて確定されている症例において、イムノクロマトを原理とした抗体検査キットである本製品を用いて、血清の抗体を検査した。若干の考察を加えて報告する。

方 法

今回、2019-nCoV IgG/IgM Rapid Test Cassette (Hangzhou Alltest Biotech Co. Ltd., China) を用いて検討が行われた。検体には、鼻咽頭ぬぐい液を用いたPCR検査にて陽性となりCOVID-19の診断により入院となった10名の患者の残血清を使用した。IgM抗体、IgG抗体を同時に検出可能である本迅速診断キットのプロトコールに従い¹⁾、検査を実施し、結果は目視にて判定された。10名の患者はすべて有症状患者(37.5度以上の発熱もしくは中等度以上の呼吸器症状あり)であり、これらの症状の初発日を発症日とした。

Table 1. IgM and IgG detection of the rapid immunochromatographic antibody kit

Case No.	Age	M/F	Day from onset	IgM	IgG	PCR
1	69	M	day 7	-	-	+
			day 9	-	-	
			day 10	-	+	
			day 13	-	+	
			day 16	-	+	
			day 18	-	+	+
			day 23	-	+	
2	66	F	day 30	-	+	-
			day 33	-	+	-
			day 4	-	-	+
			day 6	-	-	
			day 11	-	+	
3	35	M	day 16	-	+	-
			day 18	-	+	-
			day 22	-	+	
			day 4	-	-	+
			day 7	-	-	
4	46	M	day 8	-	+	+
			day 11	-	+	
			day 13	-	+	+
			day 14	-	+	
			day 6	-	-	+
5	53	M	day 7	-	-	+
			day 10	-	-	
			day 12	-	+	
			day 14	-	+	
6	69	M	day 7	-	+	+
			day 11	-	+	
			day 14	-	+	
			day 7	-	-	+
7	46	M	day 8	-	-	
			day 11	-	-	
			day 12	-	-	+
			day 13	-	+	
			day 16	-	+	+
			day 18	-	+	+
			8	63	M	day 2
day 3	-	-				
day 8	-	-				
day 10	-	-				
day 12	-	+				
day 15	-	+				-
9	26	F	day 2	-	-	+
			day 3	-	-	
			day 8	-	-	
			day 12	-	+	
			day 15	-	+	-
10	60	F	day 6	-	+	+
			day 8	-	+	
			day 10	-	+	
			day 14	-	+	-

結 果

IgM 抗体について、発症 3 日目から 33 日目までの検討にて、すべて陰性の結果であった (0/39, 0.0%) (Table 1)。10 例中 8 例において、IgG 抗体の陽転化を認め、症例 1 から 5 においては、抗体の陽転化後、持続的に IgG 抗体の検出を認めた (Table 1)。さらに、症例 1、2、及び 10 では、PCR 陰性化後において IgG 抗体の検出が確認された。発症後日数ごとの IgG 抗体の陽性率について Table 2 に示した。発症 9 日目までの検体では、IgG 抗体の検出率は～20%にとどまり低値であった。一方、発症 10 日目以降、急激に検出頻度は上昇し、13 日目以降では、100.0% (13/13) の検出率であった。

Table 2. IgG detection sensitivity of the rapid immunochromatographic antibody kit

Case No.	Days 1-6	Days 7-9	Days 10-12	Days 13-
1	NA	0/2	1/1	6/6
2	0/2	NA	1/1	1/1
3	NA	0/1	1/1	1/1
4	NA	0/1	1/1	1/1
5	NA	0/1	1/2	1/1
6	NA	1/1	1/1	1/1
7	NA	0/1	0/1	1/1
8	0/1	0/1	1/2	NA
9	0/1	0/1	1/1	NA
10	NA	1/1	1/1	1/1
Total	0/4(0.0%)	2/10(20.0%)	9/12(75.0%)	13/13(100%)

NA, not available

考 察

今回の抗体検査キットの検討では、IgM 抗体の検出は極めて感度が低かった。IgM 抗体は一般的に IgG 抗体よりも早期に産生されるとされているが、SARS-CoV-2 に対する特異抗体の ELIZA 法での検討では、抗原の違い（この研究では nucleocapsid 蛋白抗原）はあるものの、中央値 5 日で 85%の症例で IgM 抗体が検出されている²⁾。この報告では、2 週目以降さらに IgM 抗体価は上昇しており、初期の 4w 程度は十分に検出可能であった。今回の検討と同じく他の抗体キットを用いての検討では(使用抗原不明)、発症後 7 日目までの IgM 抗体の検出は～10%程度にとどまっていた³⁾。本キットの性能報告では、IgM 陽性例も多数検出されているが、今回の検討では異なる結果となった¹⁾。国立感染症研究所における他の抗体キットの検討にても、発症初期の IgM 抗体の検出はきわめて低く、それ以降も IgM 抗体の検出はすべて IgG 抗体と同時検出であった⁴⁾。以上より、現時点で、抗体検

査キットにて、感染初期に IgG 抗体よりも先に IgM 抗体を単独で検出することは難しいかもしれない。

一方、IgG 抗体については、発症 10 日目以降から急激に検出頻度が増加し、13 日目以降では、100%の検出となった。上述の他の抗体キットを用いた検討においても、発症から 14 日以降ではほぼ 100%近い検出となっており^{3,4)}、本キットにおいても同様の結果を得ることができた。今回の検討では、特異度の検討はできてはいないが、陽転化前の発症初期の結果から偽陽性率はかなり低いものと推察され、本キットの性能報告においても、特異度は 90.6%と報告されている¹⁾。正確な偽陽性率については、非特異反応なども含めて今後の研究が待たれるが、疑陽性が懸念される原因の一つに、従来のコロナウイルスに対する特異抗体を検出する可能性が挙げられる (cross reactivity)。

本キットでは、抗原に spike (S) 蛋白の受容体結合領域が使用されているが¹⁾、S 蛋白の従来のコロナウイルスとの相同性は 50%程度との報告がある⁵⁾。これは、本キットにおいて検出された IgG 抗体が、SARS-CoV-2 の S 蛋白に対して極めて特異度の高い抗体として検出された可能性を示唆している。実際に今回の検討では、IgG 抗体の陽転化を確認できていることから、感冒の原因となる従来のコロナウイルス罹患後の特異的 IgG 抗体を検出する可能性は低いと推察される。

今回の検討から、IgM 抗体の検出感度を考慮すると、急性期における COVID-19 の診断には、有用性は乏しいかもしれない。しかしながら、発症から 10 日程度以上経過している症例においては、抗体検査キットの迅速性や簡便性から PCR 検査を補完する役割はあると思われる。一方で、より長期的な視点では、医療従事者や COVID-19 患者の接触者における感染や免疫獲得の有無の評価に対して、有益な情報を供するかもしれない⁶⁾。また不顕性感染者の有無については不明な点が多く、医療政策上の面からも抗体検査の情報に興味深い⁶⁾。今後は、抗体検査キットに使用される抗原蛋白の抗原原性や誘導される中和抗体の質の評価、臨床面では、抗体陽性が長期的に維持されるのか、抗体陽性者の再感染は起こりうるのか、など検討すべき課題として挙げられる。

文 献

- 1) Li Z, Yi Y, Luo X, *et al.* Development and clinical application of a rapid IgM-IgG combined antibody test for SARS-CoV-2 infection diagnosis. *J Med Virol.* 2020 Feb 27. [Epub ahead of print]
- 2) Guo L, Ren L, Yang S, *et al.* Profiling Early Humoral Response to Diagnose Novel Coronavirus Disease (COVID-19). *Clin Infect Dis.* 2020 Mar 21. [Epub ahead of print]
- 3) Pan Y, Li X, Yang G, *et al.* Serological immunochromatographic approach in diagnosis with SARS-CoV-2 infected COVID-19 patients. *J Infect.* 2020 Apr 10. [Epub ahead of print]
- 4) 迅速簡易検出法（イムノクロマト法）による血中抗 SARS-CoV-2 抗体の評価. 国立感染症研究所.
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/coronavirus/2019-ncov.html>
- 5) Petherick A. Developing antibody tests for SARS-CoV-2. *Lancet.* 2020;395:1101-1102.
- 6) Patel R, Babady E, Theel ES, *et al.* Report from the American Society for Microbiology COVID-19 International Summit, 23 March 2020: Value of Diagnostic Testing for SARS-CoV-2/COVID-19. *mBio.* 2020;11:e00722