

トキソプラズマ感染に関する研究

帝京大学医学部寄生虫学教室

常松之典・亀井喜世子
磯久恵子・宮崎道雄

1. 研究目的

トキソプラズマ症（T症）は、症状が多彩の上に不顕性感染が多いため、難診断性の疾患であって、その実態は今なお明らかではない。先天性T症に関しては、妊婦の感染が先天症児を生むリスクのある感染であるか、リスクのない慢性感染であるかを区別し、また出産児の血清試験陽性が母体よりの移入抗体ではなく、児自身によって産生された抗体である事を区別する事が非常に重要な診断の手がかりとなる場合が多い。そのためには感染初期抗体であるIgM抗体を証明する必要があり、従来行なわれていた複雑な方法にかわる、簡単な証明方法が望まれていた。

われわれは蛍光抗体法、酵素抗体法・A-蛋白吸収-LA法について検討を行ない、もっとも単純でどここの検査室でも容易に実施しうる方法としてA蛋白吸収-LA法が良いことを昭和53年度に報告した。

本年度の目標としては、A蛋白吸収-LA法を実施に応用した場合にどのような問題がおきるかを検討することを目的とした。

2. 実験材料と方法

被検血清：A検査センターからLewis-Kessel法HA陽性として分与をうけた血清。

ブドウ球菌（A蛋白保有）浮遊液：血清のIgG吸収に用いた菌液は東大医科学研究所試験製造研究施設から分与された6ロット

ラテックス凝集試験：トキソチスト-MT[®]栄研[®]

トレイ：ディスポーザブルマイクロタイター用トレイU字型（三光純薬）

3. 実験結果と考察

〔1〕蛋白A吸収-LA法の再現性について

表1にA蛋白製品の6ロットについての成績を示す。

製品の比較は同一の血清について同時的に行なうべきであるが、今回は便宜的に年令、疾患群別などについてとくに選択されていない血清について行なわれた。表中#2と#3の血清番号の部分的重なりは、#2製品が約10%の陽性血清のIgG抗体価を吸収しうるのみであることが知られた時点で破棄し、#3によりあらためて検査しなおしたことを意味する。#1, 3, 4, 6が11.0%~15.8%の範囲であり、これが日常的な数字であるとすれば#5は34.0%の高い値を示しIgG吸収能力がやや劣ることを示す。53年度の調査では、吸収前LA陽性者294名中吸収後陽性者は14名(4.6%)であることにくらべると、54年度製品が全体的にIgG吸収能が下ったきらいがあり、優秀な製品の作成と製品についての検定が今後の重要な問題と思われる。

〔2〕残存LA抗体がIgMであることの証明は、メルカプトエタノール処理あるいは抗IgM抗体添加による抗体価の消滅によって行なわれるのが普通である。われわれは前年度はメルカプトエタノール処理法とカラムクロマトグラフィーとによったが、本年度はIgMのピークを鮮明に描き出すBio-Gel A-5 m

を用いて血清中のIgM量を調べた。ここで測られるIgM量はIgM抗体量ではないが、それとの相関性が高いものとみての間接的証明法といえよう。

Bio-Gel A-5mカラムクロマトグラフィーで得た第一ピーク (IgM) は、Ficollで濃縮後、ラテックス凝集試験を行ない、特異抗体が存在する事が認められたので、A蛋白吸収後残存抗体の認められる血清は、Bio-Gel A-5mカラムクロマトグラフィーを行なって、第一ピークが高ければ、特異IgM抗体の存在を容易に確認出来る一つの方法であると言える。

図1には実際にA蛋白吸収後残存抗体があり、Bio-Gel A-5mカラムクロマトグラフィーを行なった3例の患者血清の泳動パターンを示した。左の泳動パターンは正常人血清のそれでControlである。

図2はSephadox G-200カラムクロマトグラフィーの泳動パターンで左はControlである。

表2は、上記の3例の患者のA-蛋白吸収前後のLA価の変動とIgM peakの状態を簡単にまとめてある。

文 献

K. Kamei, R. Sato and Y. tsunematsu;
A routine method for assaying the anti-Toxoplasma IgM antibodies. Latex agglutination test on human sera preabsorbed with protein-A bearing staphylococcal cells. Zbl.Bakt.Hyg., I.abt.orig.A 244, 383-390 (1979).

表1. 蛋白A吸収-LA法の再現性

ボウ球菌 ロット	血清番号	LA. Pos.	ボウ球菌菌体 による吸収後 LA. Pos.	%
# 1	1309-1398	90	12	13.3
# 2	1399-1441	41	37	90.2
# 3	1399-1542	138	21	15.2
# 4	1543-1731	101	16	15.8
# 5	1732-1877	144	49	34.0
# 6	1878-2233	353	39	11.0

表2. 蛋白A吸収残存抗体とカラムクロマトグラフィー

	LA価		IgM peak の状態	
	吸収前	吸収後	Bio-Gel A-5m	Sephadex G-200
1675	640	20	高い	高い
1712	320	40	高い	高い
1835	2560	20	高い	高い

図 1.

BioGel A-5m カラムクロマトグラフィー

OD 280

0.7

SAMPLE: A蛋白質吸収-LA NEGATIVE 血清 0.5ml

COLUMN: 2.5 x 71 CM

BUFFER: TRIS-HCL BUFFER PH 7.5

ELUTION RATE: 23.1 ML/HR.

0.6

0.5

0.4

0.3

0.2

0.1

15

25

35

45

55

フラクシヨナンバー
x 5.2 ml

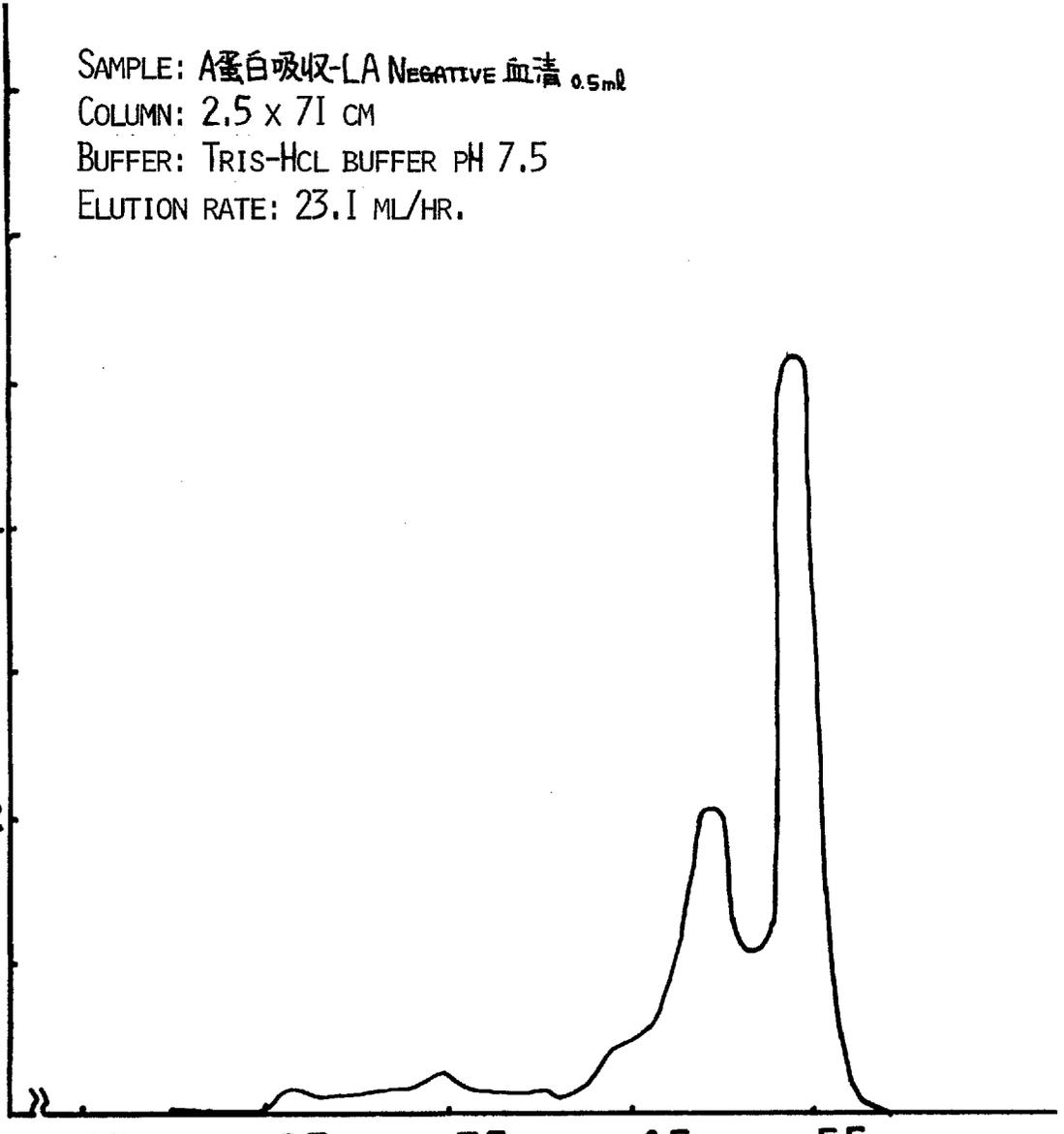
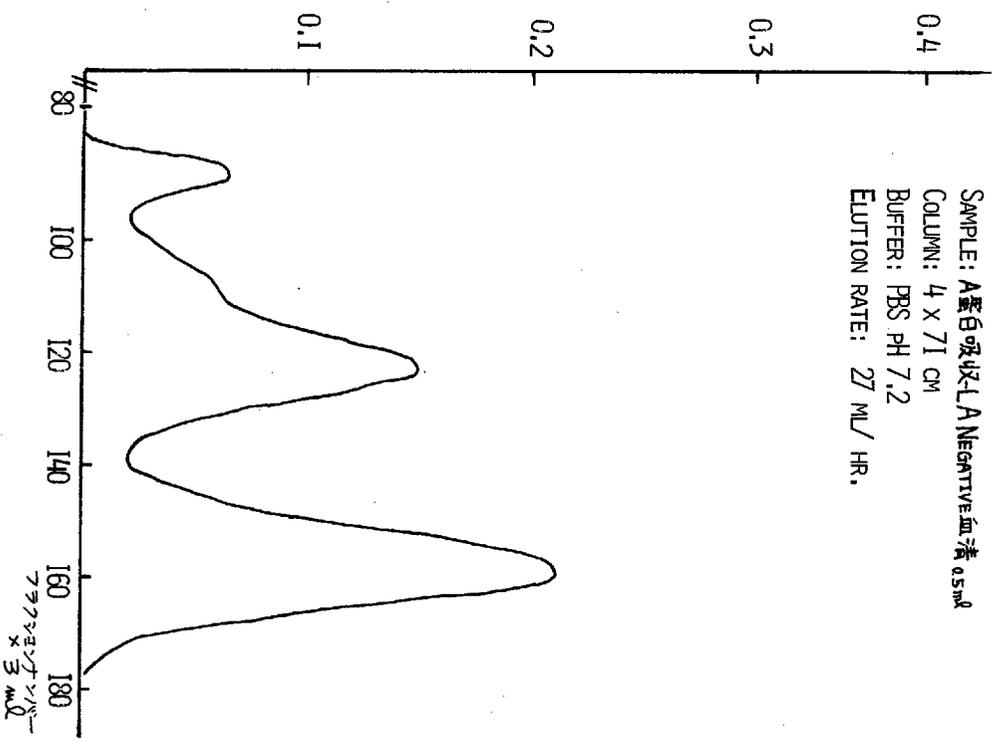


図2. SEPHADEX G-200 カラムクロマトグラフィー

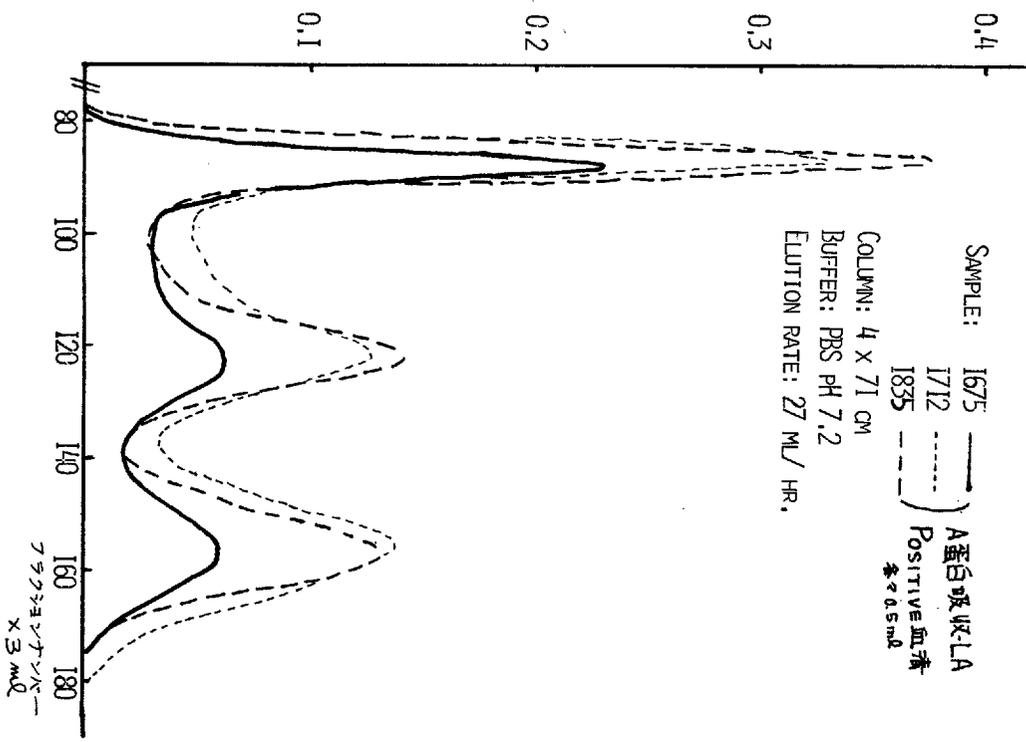
00280

SAMPLE: A蛋白吸収LA NEGATIVE血清 0.5ml
 COLUMN: 4 x 71 CM
 BUFFER: PBS PH 7.2
 ELUTION RATE: 27 ML/HR.



00280

SAMPLE: 1675 ——— A蛋白吸収LA
 1712 - - - - - POSITIVE血清
 1835 - - - - - 各々0.5ml
 COLUMN: 4 x 71 CM
 BUFFER: PBS PH 7.2
 ELUTION RATE: 27 ML/HR.



OD 280

0.7

SAMPLE: 1675 ———) A蛋白吸收-LA
1835 - - - - -)
1712 - - - - -) POSITIVE血清
各々0.5ml

0.6

COLUMN: 2.5 x 71 CM

BUFFER: TRIS-HCL BUFFER PH 7.5

ELUTION-RATE: 31.2 ML/HR.

0.5

0.4

0.3

0.2

0.1

15

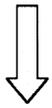
25

35

45

55

フラクショナルター
×52ml



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



1, 研究目的

トキソプラズマ症(T 症)は,症状が多彩の上に不顕性感染が多いため,難診断性の疾患であって,その実態は今なお明らかではない。先天性 T 症に関しては,妊婦の感染が先天症児を生むリスクのある感染であるか,リスクのない慢性感染であるかを区別し,また出産児の血清試験陽性が母体よりの移入抗体ではなく,児自身によって産生された抗体である事を区別する事が非常に重要な診断の手がかりとなる場合が多い。そのためには感染初期抗体である IgM 抗体を証明する必要があり,従来行なわれていた繁雑な方法にかわる,簡単な証明方法が望まれていた。

われわれは蛍光抗体法,酵素抗体法・A 一蛋白吸収一 LA 法について検討を行ない,もっとも単純でどここの検査室でも容易に実施しうる方法として A 蛋白吸収一 LA 法が良いことを昭和 53 年度に報告した。

本年度の目標としては,A 蛋白吸収一 LA 法を実施に応用した場合にどのような問題がおきるかを検討することを目的とした。