トキソプラズマ感染に関する研究

長崎大学熱帯医学研究所内科
松本慶蔵・鈴木　寛
土橋賢治・宮崎昭行
中島ひとみ

妊婦がトキソプラズマ(Tp)原虫の感染をうけると流産・死産・奇形児出産の可能性があるとされている。しかし本邦では，まだ，その病原性の発見の実態は充分に研究されているとは言えない。胎児への影響は妊娠初期の初感染の場合に強いとされるが，Tp原虫感染の大部分が不顕性感染として経過するために，臨床症状から本原虫の急性感染を知ることは困難である。

現在我々はTp原虫の急性感染をIgM抗体の検出によって，主に診断せんとしているが，その方法に多くの問題点が今日指摘されている。今回我々は，IgM抗体検出法に関して，間接赤血球凝集法(IHA法)，(ラテックス凝集法(LA法))，酵素抗体法(ELISA法)の両者を併用し，23名に特異IgM抗体を検出した。さらに，この抗体陽性者中妊婦に関しては，アンケート調査を施行して妊娠経過，出産後の母児の経過を追求した。

I　IHA法によるIgM抗体の検出

昭和54年9月から3年間に得た3,371検体についてIHA法(トキソHA—KW・協和)にてTp抗体価を測定し，主に1280倍以上の高い抗体価を示した189検体についてProteinA(アブソーブG・化血研)処理後IHA法にてIgM抗体の検出を行った。処理後IHA法で80倍以上の値を示した検体は3症例6検体で，特異IgM抗体の存在が疑われた。なお，検体中にIgGが残存していないことをHyland社のLaser nephelometer法及びIgG ELISA法(トキソエライザ・テスト・キット　旭メディカル)にて確認した。

本法にて陽性となった6検体について蔗糖密度勾配法にて13分画に分け，各分画中のTp抗体価をIHA法にて測定し，更にIgG・IgM量をLaser nephelometer法にて測定した。その結果，IgM分画中にすべてTp抗体は検出されなかった。従って先に検出された6検体は非特異的反応であるとも考えられた。

非特異的反応か否かを確認するために，最も特異性感度が優れているとされるDye test(小林の変法)を施行した。結果は6検体すべてが陰性となり，非特異的反応であることを支持する結果となった。

従って上記のIHA法では特異IgM抗体を検出することはできなかった。

II　LA法による特異IgM抗体の検出

近年伊勢ら(1981)は，特異IgMの検出にはLA法が優れていると報告し，一方，沼崎ら(1982)は，LA法は多量のIgM抗体で非特異的凝集反応をきたすため，特異LgMの検出に本法を用いてはならないとしている。

我々は先に述べたProtein A処理189検体を対象にLA法(トキソテスト—MT，栄研)にて再検査を施行した。10症例16検体にIgM抗体の存在を示す成績が得られた。なお，この場合もLaser nephelometer法及びIgG ELISA法にて，IgGの残存は否定している。

次にDye test及び蔗糖密度勾配法を施行した。Dye testでは全例陰性となったが，蔗糖密度勾配法では1症例2検体でIgM分画中にLA法にて抗体の存在をみとめた。

本症例は，IHA法でもProtein A処理後の抗体価は160倍，320倍と陽性であり，Tp lgM抗体の存在を強く示唆する検体であった。

本検体についてトキソ虫体による吸収試験を施行したところ吸収前後の抗体価は，IHA法で160x→<40x，LA法で640x→< 10xに明らかに低下していた。これは吸収前検体中に確かに特異Tp抗体が存在していることを示すものであった。

以上の結果よりTpIgM抗体の検出法としてIHA法よりLA法が幾分優れていると言える。しかし，LA法は多量のIgM及びHBs抗原によって偽陽性を示すことも知られており，さらに確実で感度の高い検策法の開発が心要であると痛感された。又，問題点として現在Tp症の血清学的診断法として最も優れているとされるDye testが，Protein A処理検体中のIgM抗

体の測定においては，IHA法・LA法より感度が劣っていた。その原因に関して今後検討する必要がある。

Ⅲ　ELISA法によるIgM抗体の検出

IHA法・LA法によってIgM抗体の存在が強く示唆された1症例2検体を用いて，IgM—ELISA法の検討を行った。すなわちProteinA処理検体をIgM抗体陽性コントロール，トキソ虫体による吸収処理後検体を陰性コントロールとして種々の予備実験を行い下記の方法を確立した。

現在旭メディカル社より特異IgG抗体を測定する目的で市販されているトキソ・エライザ・テストキットを用いて，抗ヒトIgGアルカリフォスファターゼ標識抗体を用いたものである。操作法の大筋は本キット操作法に従うが，検体としては10倍希釈されたProtein A処理血清を20μl加え反応時間も1時間，反応温度を37°Cとした。抗ヒトIgMアルカリフォスファターゼ標識抗体は，SIGMA社の製品をPBSにて500倍に希釈した上，250μlずつを37°C1時間反応させることとした。なお基質液は20°C・45分間作用発色させ0.4N NaOH 250μlにて反応を停止させて測定した。本法を用いてProtein A処理179検体中のIgM抗体量を測定した。(Table 1)。

Protein A処理前の血清Tp抗体価がIHA法で陰性とされる80倍以上のIgM ELISA値0.16±0.13と，IHA 320倍以上の検体では有意の差が見られた。そこで，IHA法陰性検体の平均値に2倍量の標準偏差値を加えたI.D.0.42以上を示す検体をIgM陽性検体とした。現在まで7年間にわたって追跡調査を行っているTp症患者で，IHA抗体価・IgG及びIgM ELISA値の推移をみると，IHA抗体価及びIgG EISA値は臨床経過に一致して急性増悪時に上昇したが，IgM ELISA値は，初回感染時に陽性を示すのみであった。

この成績から我々の用いたIgM—ELISA測定法は，本症感染の診断法として信頼しうるものであると推定される。

Ⅳ　IgM—ELISA陽性者に関する検討

IgM—ELISA法にて検討を行った，179IHA陽性を主としたProteinA処理後の検体中0.42以上の値を示す陽性検体は36検体・23症例であった。その内分けは妊婦20人，リンパ節炎1人，その他2人であった。

その内，妊婦に関して妊娠経過及び出産後の経過をアンケート調査した(Table 2)。妊婦20人中回答を得たのは13人であったが，1名が人工流産を行い，1名に2度の自然流産が見られ，残りの11名は，妊娠経過及び出産後の経過は，母児共に異常がなかった。

今後，母児の精密検査を行い先天性感染の有無を明確にさせ，追跡調査を施行する予定である。

Table.1 Comparison with IHA titer and IgM ELISA value against Toxoplasma antigen

IHA titer	No. in group	ELISA mean value	Level of significance
≦80 x	6	0.16 ± 0.13	
160 x	7	0.27 ± 0.13	p : 0.15
320 x	17	0.30 ± 0.16	p : 0.07
640 x	32	0.27 ± 0.15	p : 0.10
1280 x	47	0.31 ± 0.16	p : 0.02
2560 x	22	0.32 ± 0.14	p : 0.02
>2560x	48	0.28 ± 0.16	p : 0.08

Table.2 Progress of mother and child

Name	Age	IHA titer	IgM ELISA value	Progress
M.K.	35	≧2560X	0.565	Healthy
E.N.	27	≧2560X	0.571	
S.I.	37	2560X	0.424	
T.Y.	28	1280X	0.474	
K.S.	26	640X	0.498	
E.Y.	28	1280X	0.614	
M.I.	27	5120X	0.580	
M.T.	30	5120X	0.717	
A.H.	24	640X	0.425	
Y.M.	27	320X	0.527	
H.K.	29	1280X	0.426	
K.Y.	38	2560X	0.502	Artifitial abortion
C.N.	34	10240X	0.542	Abortion

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

妊婦がトキソプラズマ(Tp)原虫の感染をうけると流産・死産・奇形児出産の可能性があるとされている。しかし本邦では,まだ,その病原性の発見の実態は充分に研究されているとは言えない。胎児への影響は妊娠初期の初感染の場合に強いとされるが,Tp 原虫感染の大部分が不顕性感染として経過するために,臨床症状から本原虫の急性感染を知ることは困難である。

現在我々は Tp 原虫の急性感染を IgM 抗体の検出によって,主に診断せんとしているが,その方法に多くの問題点が今日指摘されている。今回我々は,IgM 抗体検出法に関して,間接赤曲球凝集法(IHA 法),(ラテックス凝集法(LA 法)),酵素抗体法(ELISA 法)の両者を併用し,23 名に特異 IgM 抗体を検出した。さらに,この抗体陽性者中妊婦に関しては,アンケート調査を施行して妊娠経過,出産後の母児の経過を追求した。