



Prevalence of antibodies against Simkania negevensis in a healthy Japanese population determined by the microimmunofluorescence test

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-24 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 山口, 徹也 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/262

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 442号	学位授与年月日	平成17年 3月15日
氏 名	山 口 徹 也		
論文題目	Prevalence of antibodies against Simkania negevensis in a healthy Japanese population determined by the micro-immunofluorescence test (マイクロイムノフルオレッセンス法による日本の健常者における Simkania negevensis 抗体保有率の検討)		

博士(医学) 山口 徹 也

論文題目

Prevalence of antibodies against *Simkania negevensis* in a healthy Japanese population determined by the microimmunofluorescence test

(マイクロイムノフルオレッセンス法による日本の健常者における*Simkania negevensis*抗体保有率の検討)

論文の内容の要旨

〔はじめに〕

Simkania negevensis (*S. negevensis*) は細胞内偏性グラム陰性菌でクラミジア目シムカニア科に属している。小児では細気管支炎に、成人では市中肺炎に関与しているとされる。イスラエルや北アメリカ、西ヨーロッパから感染の報告があるが、日本を含むアジアからはない。*S. negevensis*感染の証明は培養やPCR、ELISAで行われているが、今のところ標準的な診断法はない。一方、近隣微生物であるクラミジアでは最も優れた感染の血清学的診断法にマイクロイムノフルオレッセンス(MIF)法があるが、これまでに*S. negevensis*抗体を検出し得るかは示されていない。そこでまずMIF法が*S. negevensis* IgG抗体を検出し得るか評価し、感染が日本に存在することを明らかにして健常者における抗体保有率の検討を行った。

〔材料ならびに方法〕

被検血清は下関在住の健常者588人で、年齢分布は19歳以下296人、20～39歳95人、40～59歳77人、60～79歳80人、80歳以上40人であった。陽性および陰性対照血清はFriedmanから提供を受けた。抗原はそれぞれの標準株である*S. negevensis* Zと*Chlamydomonas pneumoniae* (*C. pneumoniae*) AR-39を使用した。以下のように抗原の作製を行った。*S. negevensis*は単層Vero細胞で5日培養し、これを回収し30%ウログラフィンに載せ遠心し、得られた沈渣を精製抗原として使用した。*C. pneumoniae*は、Wangらの方法で精製抗原を作製した。MIF法は被検血清と精製抗原を反応させた後にFITC標識抗ヒトIgG抗体で反応させ検鏡した。抗体価は明らかに蛍光陽性と認める最高希釈濃度から決定した。抗体価が8倍以上のものを陽性と判定した。また両抗原の交差反応性を調べるためMIF法で*S. negevensis*抗体陽性と判定された血清をそれぞれの抗原で吸収操作を行った。ウェスタンブロット法はLaemmliの方法でSDS-PAGEを行い、Towbinらの方法にしたがって行った。

〔結果〕

被検血清を使って*S. negevensis* IgG抗体の検出をMIF法で行ったところクラミジアと同様の陽性反応を認めた。また対照血清でも同様の陽性反応を認めた。抗体保有率は588人中25人の4.3%で、加齢とともに上昇した。小児期の陽性率は極めて低く、中年期で急上昇し老年期で15%となった。成人の陽性率は7.5%であった。抗体価の分布は8倍が6人、16倍が10人、32倍が6人、64倍が3人と陽性25人中16人が16倍以下であった。

このMIF法で検出した*S. negevensis* IgG抗体の特異性を評価するため、陽性6検体を用いて*S. negevensis*と*C. pneumoniae*を抗原として吸収試験を行い、その前後における抗体価の変化を測定した。陽性検体を*S. negevensis*抗原で吸収したときMIF法で*S. negevensis*抗体は検出されなかったが、同検体の*C. pneumoniae*抗体価はほとんど変化が認められなかった。一方*C. pneumoniae*抗原で吸収したとき*C. pneumoniae*抗体価

はほぼ2管以上の減弱を認めたが、*S. negevensis*抗体価はほとんど変化が認められなかった。

ウェスタンブロット法ではすべての陽性検体が64kDaの抗原と反応し、約80%の陽性検体が110、94、46kDaの抗原と反応していた。これらの反応は*S. negevensis*抗原で吸収した血清では消失したが、*C. pneumoniae*抗原で吸収した血清では変化しなかった。

〔考察〕

今回、初めてMIFによる血清学的検査を行い、*S. negevensis*特異的IgG検出に本法が有用であることが示された。また本感染が日本を含めた世界に広く存在することが示された。吸収試験とウェスタンブロット法を行い、MIF検出抗体の特異性は極めて高いことが示された。特にヒト液性免疫の主な標的と考えられる64kDaや、110、94、46kDaの抗原に反応していることが初めて明らかになった。一方抗体価はELISA法による海外からの報告と比較して低かった。この理由として、使用した検査方法の違いによる可能性、日本で広く感染を起こしている株と標準株とで抗原性が異なっている可能性が考えられた。日本ではこれまで報告された標準株と異なる株が存在することが示唆された。

〔結論〕

MIF法は*S. negevensis*特異的IgG抗体を検出することが可能であることを初めて証明した。検出された特異抗体は主に64kDaの抗原と反応していた。また*S. negevensis*感染が日本を含めた世界に広く存在することが示唆された。今回報告した血清診断法により*S. negevensis*の病原的役割が明らかになると考えられる。

論文審査の結果の要旨

審査委員会は、本論文の研究関連領域及び専門分野全般について、次のような試問を行った。

- 1) 偏性細胞内寄生菌の種類について
- 2) クラミジア目全体を検出する方法は
- 3) 細気管支炎の起因病原体について
- 4) シムカニアが肺炎、細気管支炎の起因菌である根拠は
- 5) クラミジア感染で組織が硬化する理由は
- 6) 妊娠中のクラミジアトラコマティス感染が胎児に与える影響について
- 7) シムカニアのゲノム解析は行われているか
- 8) シムカニアの血清型について
- 9) 細胞内寄生体感染に対する細胞性免疫の役割について
- 10) 現在、迅速診断が可能な感染症は

これらの質問に対する申請者の解答は適切であり、問題点もよく把握しており、博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者 主査 小 出 幸 夫

副査 金 山 尚 裕 副査 千 田 金 吾