

# AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

Clinical Parasitology (2007.01) 17巻1号:134~137.

摘出病巣部のパラフィン包埋切片を用いたミトコンドリアDNA解析によって  
確定診断された有鉤囊虫症例

山崎浩, 迫康仁, 中尾稔, 伊藤亮, 中谷和宏

# 摘出病巣部のパラフィン包埋切片を用いた ミトコンドリア DNA 解析によって 確定診断された有鉤囊虫症例

旭川医科大学 寄生虫学講座  
山崎 浩・迫 康仁・中尾 稔・伊藤 亮  
旭川医科大学 動物実験施設  
中谷和宏

**Key Words** : 有鉤囊虫症, パラフィン包埋標本, ミトコンドリア DNA 解析

## 緒言

有鉤囊虫の寄生によって惹起される囊虫症の診断は画像検査, 血清検査, あるいは病理組織検査に基づいて行われている。旭川医科大学寄生虫学講座では2001年1月より2006年6月までの5年間に囊虫症の疑診例63例について血清学的検査を中心にを行い, 16例が囊虫症と診断された。その中には脳腫瘍との鑑別目的で開頭術が施行され, 病理組織検査が行われた7例が含まれているが, うち5例は壊死性肉芽腫を形成, あるいは石灰化によって囊虫組織を確認することができなかった(表1)。そこで, 病理組織検査で囊虫症の診断がつかなかった5例を含む7例すべてについて確定診断を行う目的で, パラフィン包埋標本から囊虫のDNA検出を試みた。

その結果, 7例すべての標本から有鉤囊虫DNAが検出され, 有鉤囊虫症との確定診断に至った。さらに, このDNA診断法はHEやPAS染色標本中の囊虫の同定にも応用することができたのであわせて報告する。

## 症例

7例の囊虫症に関する検査所見などは表1に要約しているが, 症例1, 2, 4および6についての詳細はそれぞれ文献<sup>1)~5)</sup>を参照願いたい。

### ミトコンドリア DNA 解析

脳, あるいは筋肉組織より摘出された病巣は症例7を除いて, フォルマリン固定後, パラフィン包埋標本が作製された。症例7の摘出病巣部は80%エタノールで固定後, パラフィン包埋標本を作製

---

## *Taenia solium* Cysticercosis Cases Diagnosed by Mitochondrial DNA Analysis of Paraffin-embedded Specimens

Hiroshi Yamasaki\* Yasuhito Sako\* Minoru Nakao\* Akira Ito\* Kazuhiro Nakaya\*\*

\*Department of Parasitology, Asahikawa Medical College

\*\*Animal Laboratory for Medical Research, Asahikawa Medical College

---

論文請求先: 山崎 浩 〒078-8510 旭川市緑が丘東2-1-1 旭川医科大学 寄生虫学講座

表 1 旭川医大で経験した有鉤囊虫症 7 例

症例	患者	病巣部位	血清検査	病理組織所見	DNA検査	渡航歴・生活歴	文献
1	日本人女性 (53歳)	左側頭葉	陰性	囊虫症	有鉤囊虫	東南アジア・インドなど	1
2	フィリピン人女児 (9歳)	右前頭葉	陰性	壊死性肉芽腫	有鉤囊虫	フィリピン出身	2
3	インド人女性 (28歳)	左側頭葉 左側頭葉 右前頭葉	陽性	壊死性肉芽腫	有鉤囊虫	インド出身	
4	日本人女性 (24歳)	左側頭葉	陰性	囊虫症	有鉤囊虫	インドネシア・メキシコなど	3
5	日本人女性 (38歳)	左前運動野	陰性	壊死性肉芽腫	有鉤囊虫	ネパール (JOCV派遣)	
6	日本人男性 (83歳)	全身(四肢含む)の筋肉内	陰性	石灰化	有鉤囊虫	中国北部 (約60年前)	4, 5
7	日本人男性 (87歳)	臀部~大腿後部の筋肉内	陰性	石灰化	有鉤囊虫	沖縄出身	

した。DNA抽出は基本的に市販の DNA Isolator PS kit (和光純薬) を用い、無染色パラフィン切片 (厚さ 5~10  $\mu\text{m}$ , 3~4 枚) より行った。検査対象とした遺伝子はミトコンドリアゲノムでコードされる cytochrome *c* oxidase subunit 1 遺伝子 (*cox1*) と cytochrome *b* 遺伝子 (*cob*) である。PCR に用いたプライマー、反応条件や塩基配列解析については Yamasaki *et al.* に準じた<sup>1) 2) 5)</sup>。

図 1 には症例 2, 6, および 7 について、*cox1* 遺伝子と *cob* 遺伝子の PCR による増幅結果を示している。*Cox1* 遺伝子については、パネル B (症例 6) に示したように 984bp の遺伝子断片が増幅された例があったが、多くの症例ではよりサイズの短い遺伝子断片 (93~374bp) が増幅された (パネル A, C)。ここには示していないが、症例 1 では 1.8kb の遺伝子が増幅された<sup>1)</sup>。*Cob* 遺伝子の場合も同様、パネル B に示したように全長を含む 1.3kb の産物が増幅された例があった。しかしながら、DNA 検査の主目的は囊虫種の鑑別であるので、ルーティン検査では鑑別マーカーとなる塩基を含む短い遺伝子断片 (パネル C) の増幅を試みており、このサイズの遺伝子断片は安定して増幅された。結果的には、フォルマリン固定された病理標本においても PCR 増幅産物の塩基配列解析から 7 例すべてが有鉤囊虫アジア型 (*Taenia solium*, Asian genotype) と同定された。

さらに、病理組織標本は通常 HE 染色されること

が多く、染色標本を用いて検査することが有り得る。そこで、染色標本から DNA を検出して囊虫症の診断ができるか否かについて前述の方法を用いて検討した。その結果、HE あるいは PAS 染色標本からも 112~984bp の遺伝子断片が PCR によって増幅され、その塩基配列解析によって有鉤囊虫の genotyping が可能であった (データは示していない)。

## 考 察

有鉤囊虫症の診断において、病理組織検査によって囊虫症の診断がつく場合もあるが、ここで紹介したように病巣組織の変性や石灰化のために、有鉤囊虫に特徴的な形態が観察されないことも多い。そのような場合、病理組織標本を用いたミトコンドリア DNA 検査が囊虫症の確定診断や他の疾患との鑑別診断のために極めて有用であることが証明された。また、囊虫特有の形態が確認された場合にも、囊虫種の同定が必要になる可能性も考えられる。わが国では報告されていないが、カナダやヨーロッパではキツネやイヌに寄生する *Taenia crassiceps* (肥頭条虫) の幼虫によるヒト囊虫症例が AIDS 患者での発症例を含めて 8 例報告されている<sup>6) 7)</sup>。また、ヒト免疫不全ウイルス陽性者における脳有鉤囊虫症の場合には囊胞がブドウの房状に集まった、いわゆる racemose 型囊虫に発育、あるいは囊虫が巨大化する

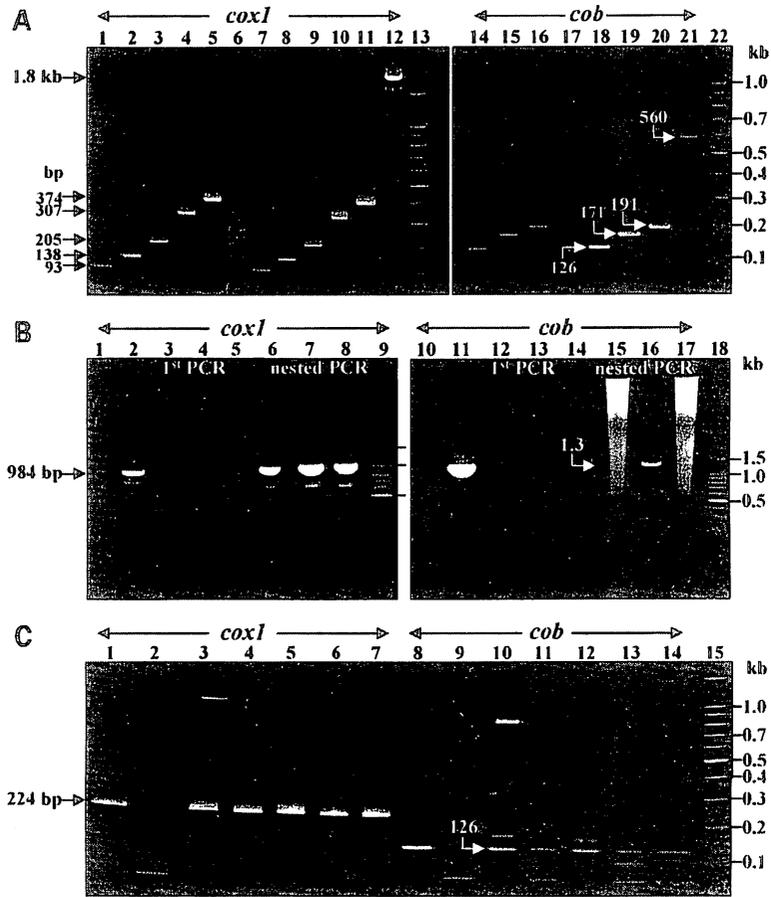


図1 PCRによる cytochrome *c* oxidase subunit 1 遺伝子と cytochrome *b* 遺伝子の増幅  
 A：症例 2. Lanes 1-6, 14-17, 病巣部 DNA；lanes 7-12, 18-21, 有鉤囊虫 DNA (コントロール). 異なるプライマーセットによる産物を示す.  
 B：症例 6. Lanes 1, 10, 鋳型 DNA (-)；lanes 2, 11, 有鉤囊虫 DNA；lanes 3-5, 6-8, 12-14, 15-17, 石灰化病巣 (3 個).  
 C：症例 7. Lanes 1, 8, 有鉤囊虫 DNA；lanes 2, 9, 鋳型 DNA (-)；lanes 3-7, 10-14, 石灰化病巣 (5 個).  
 図中の数字は増幅産物の大きさ. DNA size markers は 100 bp ladder (Promega) 使用.

など異常な発育形態をとる例が報告されていることから<sup>8)9)</sup>, 病巣が摘出された場合には確定診断のために病理組織検査とともにミトコンドリア DNA 検査の必要性を念頭に置くことが肝要であろう。

謝辞：遺伝子検査に際し，病理組織標本などの提供をいただいた東京大学医科学研究所感染免疫内科 前田卓

也，岩本愛吉 (症例 3)，自治医科大学医動物学教室 松岡裕之，同・脳神経外科 五味 玲，神田 大 (症例 4)，筑波メディカルセンター病院脳神経外科 石川栄一，小松洋治；同・病理科 菊池和徳 (症例 5)，中部徳州会病院 形成外科 津田雅由，峯龍太郎 (症例 7) の各先生方に厚く御礼申し上げる。

## 文 献

- 1) Yamasaki, H. *et al.* (2004) : Solitary neurocysticercosis case caused by Asian genotype of *Taenia solium* confirmed by mitochondrial DNA analysis. *J Clin Microbiol*, 42, 3891-3893.
- 2) Yamasaki, H. *et al.* (2005) : Molecular identification of *Taenia solium* cysticercus genotype in the histopathological specimens. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 36 (Suppl 4), 131-134.
- 3) 松岡裕之, 他 (2006) : 特異的抗体が上昇しなかった弧発性脳有鉤囊虫症の1例. *Clin Parasitol*, 17, 102-106.
- 4) 長瀬輝顕, 他 (2004) : 陳旧型全身性有鉤囊虫症の1例. *Clin Parasitol*, 15, 24-26.
- 5) Yamasaki, H. *et al.* (2006) : A case of intramuscular cysticercosis diagnosed definitively by mitochondrial DNA analysis of extremely calcified cysts. *Parasitol Int*, 55, 127-130.
- 6) Francois, A. *et al.* (1998) : *Taenia crassiceps* invasive cysticercosis : a new human pathogen in acquired immunodeficiency syndrome ? *Am J Surg Pathol*, 22, 488-492.
- 7) Maillard, H. *et al.* (1998) : *Taenia crassiceps* cysticercosis and AIDS. *AIDS*, 12, 1551-1552.
- 8) Soto-Hernandez, J. L. *et al.* (1996) : Neurocysticercosis and HIV infection : report of two cases and review. *Surg Neurol*, 45, 57-61.
- 9) Delobel, P. *et al.* (2004) : Unusual form of neurocysticercosis associated with HIV infection. *Eur J Neurol*, 11, 55-58.