

# AMCoR

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

Clinical Parasitology (2003.02) 13巻1号:114~117.

脳有鉤囊虫症:症例報告と血清診断における最近の進歩

山崎浩, 佐藤(大竹)マルセロ, 迫康仁, 中尾稔, 伊藤亮, 中谷和宏, 荒木国興

# 脳有鉤囊虫症：症例報告と血清診断における最近の進歩

旭川医科大学 寄生虫学講座

山崎 浩・佐藤大竹マルセロ・迫 康仁・中尾 稔・伊藤 亮

同 動物実験施設

中谷和宏

東京医科歯科大学大学院 国際環境寄生虫学分野

荒木国興

**Key Words** : 脳有鉤囊虫症, 血清診断, 糖タンパク抗原, 遺伝子組換え抗原

## はじめに

脳有鉤囊虫症は有鉤条虫の幼虫, いわゆる有鉤囊虫が中枢神経系に寄生することによって惹起される寄生虫症であり, わが国では散発的に本症患者が見られるが, 欧米では流行地からの移民, 難民, あるいは旅行者によって持ち込まれるケースが報告されている<sup>1)</sup>。一方, 多くの途上国では本症は猖獗をきわめ, 深刻な状況にあることが報告され<sup>2)</sup>, 今日では, 脳有鉤囊虫症は国際新興・再興感染症として重要な寄生虫症であると認識されている。本症の診断にはCTやMRIなどの画像診断が有用であるが, 本

症流行地が途上国であることから, 画像診断による検査は流行地住民にとっては経済的負担が大きいのが現状である。画像診断の進歩と並行して, 血清診断法の開発も行われてきた<sup>3)~10)</sup>。従来, 血清診断には有鉤囊虫組織(囊虫液を含む)から lentil-lectin affinity chromatography を用いて精製された糖タンパク抗原が用いられてきたが<sup>7)</sup>, この抗原は非特異的反応を起こす成分を含んでいるためにイムノブロットにしか適用できなかった。Ito, et al. (1998) は有鉤囊虫の囊虫液のみを分取用等電点電気泳動法を用いて精製したところ, pH8~10の分画に含まれる糖タンパク質抗原(GPs)がイムノブロットの

---

## Neurocysticercosis: Brief Summary of Case Reports and Advances in Serodiagnosis

Hiroshi Yamasaki\* Marcello O. Sato\* Yasuhito Sako\* Minoru Nakao\*  
Akira Ito\* Kazuhiro Nakayama\*\* Kunioki Araki\*\*\*

\*Department of Parasitology, Asahikawa Medical College

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

\*\*\*Section of Environmental Parasitology, Graduate School, Tokyo Medical and Dental University

---

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

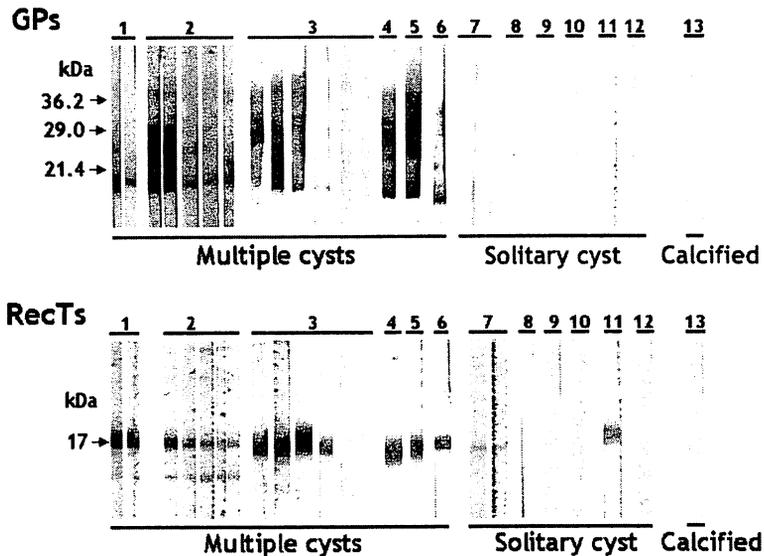


図1 イムノブロット法を用いた脳有鉤囊虫症患者の血清診断。糖タンパク抗原（上段）と遺伝子組換え抗原（下段）を用いた。

みならず酵素抗体法の抗原として優れていることを報告し、前述の問題を解決した。さらに、われわれの研究グループの迫らは、遺伝子組換え有鉤囊虫抗原 (RecTs) を開発し、その特異性と感度は等電点電気泳動で精製された GPs 抗原に匹敵することを報告している<sup>11) 12)</sup>。そこで、本研究ではわれわれが最近 6 ヶ年に経験した脳有鉤囊虫症 20 例（疑診例含む）について、等電点電気泳動法によって精製された GPs 抗原と RecTs 抗原を用いた血清診断における信頼性の比較検討を行った。ここではその結果を報告するとともに血清診断の問題点についても論議したい。

#### 材料と方法

有鉤囊虫液由来の糖タンパク質抗原の精製は Ito, et al. (1998) の方法に準じて行った。要約すると、豚より採取した囊虫より囊虫液を、等電点電気泳動 (Rotofor Cell, BioRad) によって分画し、分子量 17 ~ 40kDa の糖タンパク質を含む pH8.8 の分画を抗原として用いた。RecTs 抗原の作製にあたっては、前述の糖タンパク質は相同性の高い複数の分子として発現していることから、immunodominant な 2 種

類の糖タンパク質遺伝子を融合させ、大腸菌でキメラ抗原として発現させたものを用いた<sup>11)</sup>。検査対象として用いた脳有鉤囊虫症患者血清は合計 20 例、内訳は多発性嚢胞を有する 12 例、単一嚢虫寄生 6 例、石灰化病巣 1 例、詳細不明 1 例である。これら脳有鉤囊虫症は症候性癲癇などの臨床所見、CT や MRI による画像診断、血清検査などに基づいて診断されているが、摘出病巣の病理学的検索から脳有鉤囊虫症と確定診断された 6 例も含まれている。画像診断では嚢胞が前頭葉、側頭葉、あるいは小脳半球内に認められている。患者血清は遺伝子組換え抗原と反応させることを考慮して、大腸菌ライセートで吸収したものを用いた。血清診断法としてのウエスタンプロット法は、50  $\mu\text{g}/\text{mini gel}$  の抗原を還元条件下で電気泳動し、PVDF 膜に転写後、50 倍希釈の被検血清、1000 倍希釈したペルオキシダーゼ標識抗ヒト IgG、さらに発色基質として 4-chloro-1-nathtol を用いて行った。一方、酵素抗体法の場合には、1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  に調製した抗原をマイクロプレートに吸着させ、200 倍に希釈した被検血清、ウエスタンプロット法と同じ二次抗体、そして発色基質として ABTS を用いて行った。10 分間発色を行い、

405nmにおける吸光度を測定し、プール陰性対照血清の吸光度の3倍以上を陽性とした。

## 結果

### 1) イムノブロット

図1はGPsならびにRecTs抗原を用いたウェスタンブロットの結果の一部を示している。GPsを用いた場合、脳内に多発性嚢胞が認められた12例のうち7例でシグナルの強度に差はあるものの、概ね分子サイズ18～50kDaの範囲内に診断学的バンドが検出された。しかしながら、残り5例では多発性嚢胞が認められたにもかかわらず、シグナルは検出されなかった。単一嚢虫寄生6例のうち1例で弱いシグナル強度のバンドが検出されたが、残り5例と石灰化病巣を有する症例では特異バンドは検出されなかった。これに対して、遺伝子組換え抗原を用いた場合、多発性嚢胞12例中8例で分子サイズ17kDaの位置に特異抗体が検出されたが、GPs抗原同様、特異抗体が検出されない症例もあった。一方、単一嚢虫寄生例では特異抗体が検出された症例は6例中1例しかなく、いずれの抗原を用いても、抗体検出が困難であることが指摘された。また、患者によっては治療後のフォローアップを行っている症例があり、ある症例では薬物治療おおよそ一年後に抗体応答の明らかな低下を確認することができた(図1, 症例3)。

### 2) 酵素抗体法

GPs抗原を用いた酵素抗体法では多発性嚢胞例12例中9例、遺伝子組換え抗原を用いた場合には12例中6例がそれぞれ陽性であった。一方、単一嚢虫寄生例の場合には、GPs抗原ならびに遺伝子組換え抗原に対して特異抗体が検出された症例はいずれも1例のみであり、単一嚢虫寄生の場合、酵素抗体法同様、特異抗体の検出は困難であった。石灰化病巣の場合にはいずれの抗原に対しても抗体は検出されなかった。図には示していないが、ウェスタンブロット同様、これらの抗原を用いた酵素抗体法によって、治療後のフォローアップも可能であった。

## 考察

脳有鉤囊虫症血清診断のために、多くの研究者

らによって抗原が開発されてきたが、特異性や適用できる診断法が限られるなどの問題があったが、等電点電気泳動法による抗原精製法の確立(Ito, et al. 1998)と遺伝子組換え診断抗原の開発(Sako, et al. 2000)はこれらの問題を解決し、血清診断の進歩に大いに貢献した。本研究ではこれらの抗原を用いて、20例と限られた脳有鉤囊虫症症例について比較検討を行った。本研究では画像診断によって多発性嚢胞が認められた12例のうち10例(83%)はGPs抗原あるいは遺伝子組換え抗原のいずれかを用いた検査法で特異抗体が検出された。また、病理学的に確定診断された脳有鉤囊虫症では全例で抗体陽性であった。したがって、多発性嚢胞を有する場合、血清検査の信頼性はきわめて高いと考えられた。しかしながら、多発性嚢胞を有するにもかかわらず、血清学的検査で特異抗体が検出されなかった症例については病理学的検索がなされていないので、脳有鉤囊虫症であるのか、それ以外の疾患であるのか確定することは出来なかった。最近、われわれは画像診断によって多発性、単発性脳有鉤囊虫症と診断されたインド人患者血清を用いて検討しているが、酵素抗体法を用いた場合、多発性症例では22例中20例(90.9%)で、また単一嚢虫寄生例では41例中17例(41.5%)で特異抗体が検出されている。多発性嚢胞が認められるにもかかわらず、血清学的に特異抗体が検出されない症例に関しては、脳有鉤囊虫症を完全に否定することはもちろんできないが、むしろ他の脳疾患の可能性が高いとわれわれは考えている。単一嚢虫寄生の場合、抗体検出率が低下するが、これは嚢虫抗原量が宿主の免疫応答を刺激するのに不十分であるのか、あるいは別の要因によるのか明確ではないが、現行の血清検査の限界を示唆している。

## 文 献

- 1) Schantz, P. M. *et al.* (1998) : Immigrants, imaging, and immunoblots: the emergence of neurocysticercosis as a significant public health problem. In: *Emerging Infections 2*, Shelds W. M., Craig W. A., Hughes J. M. ed., ASM Press, Washington, pp213-242.
- 2) Simanjuntak, G. M. *et al.* (1997) : Taeniasis/cysti-

- cercosis in Indonesia as an emerging disease. *Parasitol. Today*, 13, 321-323.
- 3) Gottstein, B. *et al.* (1986) : Demonstration of species-specific and cross-reactive components of *Taenia solium* metacestode antigens. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 35, 308-313.
  - 4) Larralde, C. *et al.* (1986) : Reliable serology of *Taenia solium* cysticercosis with antigens from cyst vesicular fluid: ELISA and hemagglutination tests. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 35, 965-973.
  - 5) Parkhouse, R. M. *et al.* (1987) : Cyst fluid and surface associated glycoprotein antigens of *Taenia* sp. metacestodes. *Parasite Immunol.*, 9, 263-268.
  - 6) Baily, G.G. *et al.* (1988) : Serological diagnosis of neurocysticercosis: evaluation of ELISA tests using cyst fluid and other components of *Taenia solium* cysticerci as antigens. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 82, 295-299.
  - 7) Tsang, V. C. W. *et al.* (1989) : An enzyme-linked immunoelectrotransfer blot assay and glycoprotein antigens for diagnosing human cysticercosis (*Taenia solium*). *J. Infect. Dis.* 159, 50-59.
  - 8) Rodriguez-Canul, R. *et al.* (1997) : Comparative evaluation of purified *Taenia solium* glycoproteins and crude metacestode extracts by immunoblotting for the serodiagnosis of human *T. solium* cysticercosis. *Clin. Diagn. Lab. (Lab.) Immunol.* 4, 579-582.
  - 9) Ito, A. *et al.* (1998) : Novel antigens for neurocysticercosis: simple method for preparation and evaluation for serodiagnosis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 59, 291-294.
  - 10) Silva, A. D. *et al.* (2000) : A quantitative enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the immunodiagnosis of neurocysticercosis using a purified fraction from *Taenia solium* cysticerci. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 37, 87-92.
  - 11) Sako, Y. *et al.* (2000) : Molecular characterization and diagnostic value of *Taenia solium* low-molecular-weight antigen genes. *J. Clin. Microbiol.* 38, 4439-4444.
  - 12) Sako, Y. *et al.* (2001) : Recent advances in serodiagnosis for cysticercosis. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, 32 (Suppl. 2), 98-104.