



Title	赤痢アメーバ ( <i>Entamoeba histolytica</i> ) 主要抗原 ポリペプタイドの診断的価値の検討
Author(s)	木村, 明生
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37798">https://hdl.handle.net/11094/37798</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・(本籍)	木	村	あき	生
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	9851	号	
学位授与の日付	平成3年6月29日			
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当			
学位論文名	赤痢アメーバ ( <i>Entamoeba histolytica</i> ) 主要抗原ポリペプタイ ドの診断的価値の検討			
論文審査委員	(主査) 教 授	藤尾 啓		
	(副査) 教 授	上田 重晴	教 授	木下タロウ

### 論文内容の要旨

#### 〔目的〕

腸管寄生原虫である赤痢アメーバ (*Entamoeba histolytica*) によるアメーバ症の診断には、糞便材料塗抹標本の顕微鏡的検査による栄養型あるいは囊子の検索及び同定が必須であるが、血清材料を用いた免疫学的診断法も重要である。現在では、無菌培養した栄養型を抗原として酵素抗体法(ELISA) 等が用いられているが、虫体抗原の詳細な解析は、免疫学的診断法の特異性や感度を向上させるための基礎的な研究として重要である。幾つかの研究において、患者によって主要抗原として認識される数種のポリペプタイドの存在が報告されているが、それらがアメーバ症の診断の基準となりうるかどうかという点については、依然不明な部分が残されている。そこで本研究では Western-blotting 法を行い、虫体の複雑な抗原蛋白質の中から、免疫学的診断の際に基準となり、かつ診断用抗原として用いることのできる主要抗原ポリペプタイドの存在を明らかにすることを目的とした。同時に、虫体より抽出した mRNA *in vitro* 翻訳産生物の抗原性についても同様の検討を加えた。

#### 〔方法〕

赤痢アメーバ HM-1:IMSS 株栄養体の全虫体成分を SDS-PAGE によりゲル中に展開後、PVDF 膜に電気的に転写した。これに免疫ウサギ血清および47例のアメーバ症患者血清と、陰性対照として正常ウサギ血清および3例の健康人血清と反応させ、出現バンドの観察と、その出現頻度、各バンドの相互関係および臨床像との関連について検討した。さらに同栄養型から mRNA を精製し、これをウサギ網状赤血球ライセートを用い *in vitro* において翻訳させた。この翻訳産生物と、免疫ウサギ血

清および、47例の患者血清中でELISAにおいて高い抗体価を示した22例の患者、そして3例の健康人血清との免疫沈降物のSDS-PAGE フルオログラフィーを行ない、出現バンドの解析、およびWestern-blotting法による解析結果との比較検討を行なった。

#### 〔成 績〕

1. 全虫体成分を用いた、免疫ウサギ血清および患者血清のWestern-blottingでは、分子量160Kd, 58Kd, 52Kd, 40Kd, 37Kd, 35Kd, 33Kd, 31Kd, 26Kd, 25Kd, 22Kd, 19Kdの12種のバンドが出現した。このうち160Kd(89.3%), 58Kd(93.6%), 33Kd(80.9%)のバンドの出現頻度が高く、かつ明瞭であった。また抗体価が高い血清では、本数も多く明瞭なバンドを形成する傾向が認められた。なお、臨床像とバンド数との関連性は認められなかった。
2. 虫体精製mRNAの*in vitro*翻訳産物と免疫ウサギ血清の免疫沈降では、分子量58Kd, 52Kd, 40Kd, 33Kd, 25Kd, 22Kd, 19Kd, 13Kdの8本、22例の患者血清とでは、45Kd, 42Kd, 40Kd, 33Kd, 31Kd, 26Kd, 25Kd, 22Kd, 19Kd, 13Kd, 12Kdおよび9Kdの12本の主要なバンドが認められた。患者血清において出現したバンドのうち、40Kd, 26Kd(81.8%), 25Kd(95.5%), 22Kd(90.9%)、および13Kd, 12Kd, 9Kd(100%)の出現頻度が高かった。
3. 分子量58Kd, 52Kd, 40Kd, 33Kd, 31Kd, 26Kd, 25Kd, 22Kd, 19Kdの9種のポリペプタイドが、全虫体成分および虫体精製mRNAの*in vitro*翻訳産物において、共通して免疫ウサギ血清および患者血清と反応した。

#### 〔総 括〕

1. 全虫体成分と患者血清とのWestern-blotting法により高頻度に出現した、分子量160Kd, 58Kd, 33Kdのポリペプタイドが、アメーバ症の免疫応答にとって重要な主要抗原であることが明らかになった。特に93.6%の頻度で出現した58Kdのポリペプタイドは、Western-blotting法における感染の指標となり、また診断用抗原として価値の高いものであることが示唆された。
2. *in vitro*において翻訳されたポリペプタイドのうち、患者血清との免疫沈降で80%以上の頻度で出現した7種が免疫応答にとって重要であり、特に全患者血清と反応した分子量13Kd, 12Kd, 9Kdのポリペプタイドの診断的価値が高いことが示唆された。
3. 虫体精製mRNAの*in vitro*翻訳産物が、全虫体成分と分子量58Kdから19Kdの範囲で9種の共通の抗原性を示したこととは、今回精製したmRNAが主要な抗原性の大部分をカバーしている可能性が高いことを示した。

#### 論文審査の結果の要旨

最近増加傾向にある赤痢アメーバの診断には従来の顕微鏡的検査に加えて、他の感染症同様、ア

メーバー由来の特異抗原、及びそれに対する免疫応答の解析が重要である。本論文は47名のアーベー赤痢患者血清を材料として、無菌培養した虫体からの抽出抗原、及び虫体抽出により得た mRNA の試験管内翻訳産物中から、アーベー患者血清の90%以上に対し免疫反応陽性を示す、数種のポリペプタイド抗原を明らかにした。本知見は赤痢アーベーの簡易診断法の確立、あるいは本感染症の詳細な解析に有用であると考えられる。