

(様式3号)

学 位 論 文 の 要 旨

氏名 鶴岡恵子

〔題名〕

N-ラウロイル-サルコシン処理可溶性蛋白抗原を用いたELISAによる
血清中抗*Bartonella henselae* IgG抗体価測定的确立

〔要旨〕

【目的】*Bartonella henselae*は猫ひっかき病(Cat scratch disease:CSD)の原因菌であり、本症の診断には間接蛍光抗体(IFA)法による血清学的診断が有用である。しかし本法の特異性は高いものの、感度が低いため、新たな血清学的診断法としてELISAの開発が望まれている。今回、*B. henselae*菌体のN-ラウロイル-サルコシン(サルコシン)処理後の可溶性蛋白を使用した抗*B. henselae* IgG抗体価測定用のELISAを確立し、本法の有用性を検討した。

【材料および方法】

1) 基礎的検討：*B. henselae* ATCC49882株の3種類の処理抗原の比較検討を行なった。すなわち①菌体を超音波破碎処理したもの ②その液に0.4%サルコシン液で処理後、超遠心した沈渣(サルコシン不溶性蛋白) ③その上清液(サルコシン可溶性蛋白)について各ELISAを確立し、IFA法陽性および陰性検体各5例を用いて比較した。

2) ELISAの有用性：基礎的検討により、有用性が示唆された抗原を使用したELISAについて、その臨床的有用性を検証するため、臨床的にCSDが疑われた患者血清118例(IFA法陽性例；46例、判定保留例；34例、陰性例；38例)および健康人血清88例について、抗*B. henselae* IgG抗体価を測定しIFA法との結果を比較した。

【結果】サルコシン処理した上清液③の抗原(サルコシン可溶性蛋白)が、抗*B. henselae* IgG抗体価測定用のELISAの抗原として最も適していることが示された。このサルコシン可溶性蛋白によるELISAはIFA法を基準とすると感度95.7% (44/46)、特異性97.7% (86/88)であった。また本法とIFA法との結果が不一致の15例(IFA法陽性・ELISA陰性；2例、IFA法陰性・ELISA陽性；13例)について、ウェスタンブロット法で蛋白解析を行ったところ、不一致例全例で10.5-80kDaに明らかなバンドが認められ、これらはいずれもCSDであることが血清学的に確認された。

【結語】サルコシン可溶性蛋白を抗原としたELISAによる血清中抗*B. henselae* IgG抗体価測定法はIFA法と同程度かそれ以上の高い感度を有していた。本法は今後、CSDの新たな血清学的診断法として期待される。

学位論文審査の結果の要旨

報告番号	甲 第 1358号	氏 名	鶴岡 恵子
論文審査担当者	主査教授 岡野 こずえ		
	副査教授 野島 順三		
	副査教授 常岡 英弘		
学位論文題目名 (題目名が英文の場合は、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。)			
N-ラウロイル-サルコシン処理可溶性蛋白を用いた ELISA による血清中抗 <i>Bartonella henselae</i> IgG 抗体価測定の確立			
学位論文の関連論文題目名 (題目名が英文の場合は、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。)			
Evaluation of IgG ELISA using N-lauroyl-sarcosine-soluble proteins of <i>Bartonella henselae</i> for highly specific serodiagnosis of cat scratch disease (N-ラウロイル-サルコシン処理可溶性蛋白を用いた ELISA による血清中抗 <i>Bartonella henselae</i> IgG 抗体価測定の確立)			
掲載雑誌名: Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 第 74 巻 第 3 号 P. 230 ~ 235 (2012 年 11 月 掲載)			
(論文審査の要旨)			
<p>本学位論文は <i>Bartonella henselae</i> 感染症である猫ひっかき病 (CSD) の血清学的診断法として、初めて <i>B. henselae</i> 菌体の N-ラウロイル-サルコシン (サルコシン) 処理可溶性蛋白抗原に着目し、抗 <i>B. henselae</i> IgG 抗体価を測定する新たな ELISA を確立したものである。CSD 疑い患者 118 例と健常人患者 88 例の血清を用いて、新 ELISA で抗 <i>B. henselae</i> IgG 抗体価を測定することにより、本法がゴールドスタンダードである現行の間接蛍光抗体 (IFA) 法よりも優れていることを検証した研究である。</p> <p><i>B. henselae</i> は人畜共通感染症 CSD の起炎菌である。本菌は臨床からの分離が極めて困難なため、その診断法には遺伝学的方法や血清中の抗 <i>B. henselae</i> 抗体価測定が有用である。特に後者では IFA 法による抗 <i>B. henselae</i> IgG 抗体価測定が広く行なわれている。しかし IFA 法は特異性が高いものの、感度が低く、判定に熟練を要するため、高感度の ELISA 開発が強く望まれていた。ELISA による抗 <i>B. henselae</i> IgG 抗体価測定は諸家の報告があるものの、いずれも満足すべきものはなかった。しかし申請者らの新たな ELISA 開発はわが国のペット社会で急増している CSD 疑診例の確定診断に大きく貢献すると同時に今後、更なる CSD 実態解明の有力な手段となることが期待される。</p> <p>本研究は獨創性・新規性に優れた研究内容であり、IFA 法や ELISA の血清学的検査法・SDS-PAGE・ウェスタンブロット法など免疫学的手法に関する知識・技術に加え、データ解析能力など臨床検査医学研究の真髄であり、素晴らしい内容と判断できる。関連論文は国際誌に受理されており、博士後期課程の学位論文として十分な評価ができる。</p>			
備考 審査の要旨は800字以内とすること。			