

Chlamydiae と *Bartonella henselae* の血清学的交差性の解析

池上 元保

Chlamydia trachomatis 感染症の診断の多くは血清学的になされているが、クラミジア属とバルトネラ属間の血清学的交差反応が報告された。*C.trachomatis* 感染症患者15例の血清及び免疫家兎血清の *Bartonella henselae* との交差性を調べたところ、*B.henselae* に対して15例中7例の患者血清が抗体価16~256倍の交差を認めた。これら患者血清を *C.trachomatis* で吸収すると、6例では *B.henselae* 抗体価が除去されたが、残り1例では不変であった。この結果から1例の患者血清の抗 *C.trachomatis* 抗体価は *B.henselae* との交差性による偽陽性であったことが示唆された。免疫ブロット解析によって抗 *C.trachomatis* 血清は *B.henselae* の 40, 48, 60 kDa 蛋白に対する抗体を含むこと、抗 *B.henselae* 血清は *C.trachomatis* の 48 kDa 蛋白と反応する抗体を含むことが判明した。これらの結果は抗 *C.trachomatis* 抗体測定に先立って *B.henselae* 菌体で被検血清を吸収し、交差性による偽陽性を排除する必要があることを示している。

(平成11年9月16日受理)

Analysis of Serological Cross-Reaction between *Chlamydiae* and *Bartonella henselae*

Motoyasu IKEGAMI

The diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infection in many cases continues to rely on serology. However, serological cross-reaction between members of the genera *Chlamydia* and *Bartonella* have been documented. Sera from 7 of 15 patients with *C.trachomatis* infection and anti-*C.psittaci* rabbit serum reacted with *B.henselae* at titers ranging from 1:16 to 1:256. Absorption of these sera with *B.henselae* removed anti-*B.henselae* antibody from six patients, whereas absorption with *C.trachomatis* did not remove it from the serum of a patient who was originally diagnosed as having *C.trachomatis* infection. The antibody titer to *C.trachomatis* in this patient's serum was thus false positive resulting from the cross-reaction between anti-*B.henselae* and *C.trachomatis* antigens. Immunoblot analysis indicated that seven patients' sera contained antibodies reactive with 40, 48 and 60kDa proteins in *B.henselae* organisms and that antibodies reactive with 48kDa protein in *C.trachomatis* organisms were contained in the serum of the patient with *B.henselae* infection. The results strongly suggest that serum absorption with *B.henselae* antigens prior to detection of the anti-*C.trachomatis* antibody is important in excluding the false positive results in the serodiagnosis. (Accepted on September 16, 1999) *Kawasaki Igakkaishi* 25(4): 247-255, 1999

Key Words ① *Bartonella henselae* ② *Chlamydiae* ③ Serodiagnosis

弱し、マイナーバンドは消失した。この結果は Ct で吸収し得た Bh の 34 kDa, 36 kDa, 40kDa, 48 kDa, 60 kDa, 69 kDa, 及び 75 kDa 蛋白が Ct と共通抗原性を有していることを示唆している。

6. 吸収前後の Ct 抗原に対する患者血清の反応

Ct 吸収後も比較的強い反応性を示した患者血清 8, 9 及び 10 について, Bh 及び Ct による吸収前後の Ct 抗原との反応を検討した (Fig. 3). その結果, 患者血清 8 では吸収前に反応した Ct 48 kDa 蛋白との反応は Bh 吸収によって消失した。患者血清 9 では吸収前は 42 kDa, 48 kDa, 60 kDa のバンドと反応したが, Bh 吸収後 48 kDa のバンドのみ反応性がやや減弱した。患者血清 10 では吸収前は 42 kDa, 48 kDa, 49 kDa, 70 kDa, 72 kDa のバンドと反応したが, Bh 吸収後も反応性に変化はなかった。Ct 吸収では 3 症例とも全てのバンドの反応性が消失した (Fig. 3, lanes c)。この結果は Ct 48 kDa 蛋白に対する患者血清中の抗体には Ct, Bh いずれの抗原とも反応するものがあること, 症例 10 に含まれる抗 48 kDa 抗体は Ct 48 kDa 蛋白の Ct エピトープと反応すること, 症例 8 の血清は Ct 48 kDa 蛋白の Bh エピトープと反応すること, 症例 9 の血清は両方のエピトープと反応することなどが推測される。すなわち, Ct 48 kDa 蛋白は Bh との交差性を担う抗原であることが強く示唆された。

7. Bh 及び Ct による吸収前後の Bh 抗原に対する CSD 患者血清の反応

吸収前の Bh 抗原に対する CSD 患者血清の反応は Figure 4, lane a に示すごとく, 24 kDa, 28 kDa, 38 kDa, 40 kDa, 75 kDa の主要バンドと 60 kDa, 69 kDa のマイナーバンドと反応し, Bh 吸収後 (Fig. 4, lane b) は全てのバンドが消失した。Ct 吸収後 (Fig. 4, lane c) では Bh 40 kDa 蛋白の反応のみ消失した。この結果は Bh 40 kDa 蛋白が共通抗原性を担うことを示唆している。また, 吸収前の Bh 抗原に対する CSD 患者血清の反応パターンは Bh 抗原に対す

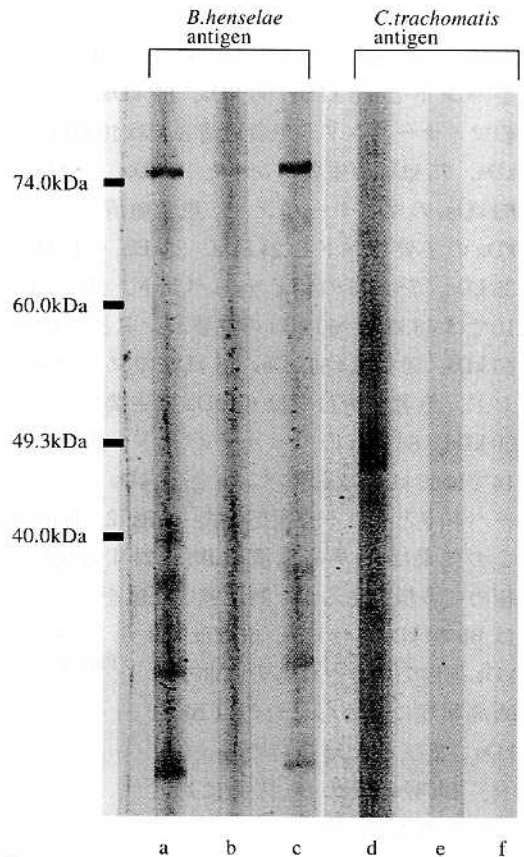


Fig. 4. Immunoblotting analysis of cat scratch disease patient serum before and after absorption with *C. trachomatis* (Ct) and *B. henselae* (Bh) antigens
 a. reaction of Bh and serum before absorption
 b. reaction of Bh and serum after absorption with Bh
 c. reaction of Bh and serum after absorption with Ct
 d. reaction of Ct and serum before absorption
 e. reaction of Ct and serum after absorption with Bh
 f. reaction of Ct and serum after absorption with Ct

る Ct 患者血清 8 の反応パターンと類似しており, 7 バンド中 5 バンド, すなわち 38 kDa, 40 kDa, 60 kDa, 69 kDa, 75 kDa 蛋白が一致した。

8. 吸収前後の Ct 抗原に対する CSD 患者血清の反応

吸収前の Ct 抗原に対する CSD 患者血清の反応は Figure 4, lane d に示すごとく, Ct 48 kDa 蛋白と反応し, Ct (Fig. 4, lane f) や Bh (Fig. 4, lane e) で吸収すると Ct 48 kDa 蛋白は消失した。この結果から Ct 48 kDa 蛋白は Bh との

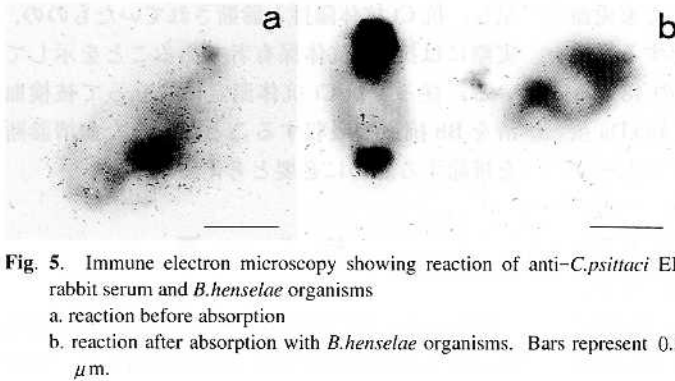


Fig. 5. Immune electron microscopy showing reaction of anti-*C.psittaci* EB rabbit serum and *B.henselae* organisms
a. reaction before absorption
b. reaction after absorption with *B.henselae* organisms. Bars represent 0.5 μm .

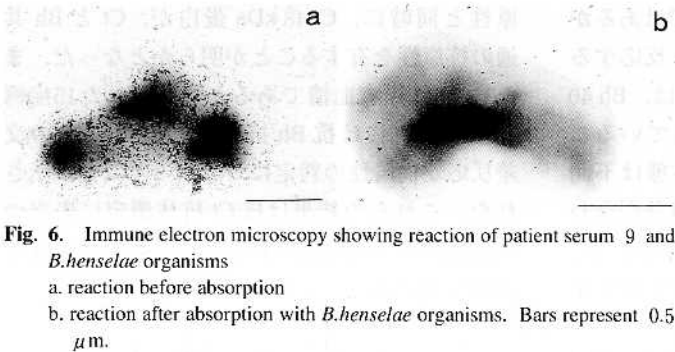


Fig. 6. Immune electron microscopy showing reaction of patient serum 9 and *B.henselae* organisms
a. reaction before absorption
b. reaction after absorption with *B.henselae* organisms. Bars represent 0.5 μm .

交差性を担う抗原であることが示唆された。

9. 免疫電子顕微鏡による吸収前後の抗血清と菌体反応の検討

吸収前の抗 Cps 家兎血清を Bh 菌体に反応させた結果、Bh 菌体表面は金粒子で強くラベルされた (Fig. 5a)，この血清を Bh で吸収すると金粒子の結合は著しく低下した (Fig. 5b)。吸収前の患者血清 (症例 9) の Bh 菌体に対する反応は家兎血清同様に強かった (Fig. 6a)。しかし、この血清を Bh で吸収すると金粒子の結合は消失した (Fig. 6b)。これらの結果は免疫プロット法で Bh と反応した蛋白のいずれかが Bh 菌体表面に分布している事を示唆している。

考 察

C.trachomatis (Ct) による性感染症 (STD) は、特に先進諸国では広く蔓延し、重視されている^{10), 11)}。この場合は本邦でも例外ではなく、

今日では Ct による STD が最も多い¹²⁾。Ct 感染症の診断には臨床材料からの菌体の分離をはじめ、モノクローナル抗体による菌体検出に加え、DNA プローブ法¹³⁾、PCR¹⁴⁾、LCR¹⁵⁾等の遺伝子診断法がすでに定着している。しかしこれらの診断法は患者の病態の全てに対応できるものではなく、しばしば抗 Ct 抗体検出による血清診断が実施されているのが現状である。従来、抗体検出には MIF 法⁸⁾をはじめ MFA 法¹⁶⁾、EIA 法¹⁷⁾等が用いられているが、いずれも Ct 抗原と抗体の反応を原理とする。従って当然のことながら血清抗体が Ct 抗原に対して特異的であることが基本的条件である。Dranconrt ら¹⁸⁾は *Bartonella quintana* 心内膜炎患者血清が *C.pneumoniae* (Cpn) や *C.psittaci* (Cps) と反応

すること、この血清の *B.qintana* 菌体による吸収で Cpn、Cps との交差性を完全に除去できることを報告した。同様に Maurin ら¹⁾は *B.qintana* 心内膜炎患者血清が Cpn と反応し、*B.qintana* と Cpn との間に共通抗原が存在することを報告した。これらの報告ではいずれも共通抗原性を担う抗原の特定には至っていないが、*Bartonella* 属と *Chlamydia* 属間に、抗体検出の標準的方法である MIF 法によって強い反応性が認められ、その結果誤診につながる可能性を強く示唆している。事実、Maurin ら¹⁾は Cpn 心内膜炎と診断されていた患者が *B.qintana* 心内膜炎であったことを報告した。今回得られた結果は抗 Cps 免疫家兎血清や Ct 感染症患者血清はいずれも Bh と反応することを示した。この事実は免疫電子顕微鏡による結果と共に、吸収試験による MIF の結果で示された。Jürgen ら¹⁹⁾は *Bartonella* と *Chlamydia* 間の交差は LPS (lipopolysaccharide) が関与していると報告しているが、今回の結果との関連は明らかでない。

免疫ブロット法による解析結果によって家兎血清では、Bhの48 kDa蛋白に強く反応する家兎血清をBhやCpsで吸収すると、この48 kDa蛋白との反応が消失したことからBh 48 kDa蛋白が抗Cps、抗Bh抗体に対応するエピトープを持っていることが強く示唆された。一方、Ct感染と診断された患者血清では、CtあるいはBhに対する反応は極めて多様であったが、少なくともCtで吸収されたBh 34 kDa, 36 kDa, 40 kDa, 48 kDa, 60 kDa, 69 kDa, 75 kDa蛋白はCt, Bhに対応するエピトープを持っていることが示唆される。また、1例のみではあるがCSD患者血清では、Bh 40 kDa蛋白と反応する抗体がCt吸収により除去された結果は、Bh 40 kDaがCt共通抗原エピトープを担っていることを示している。Bh 60 kDa蛋白の本態は不明であるが、これに反応する患者血清は強弱合わせて8症例中7症例(症例3, 5, 7, 8, 10, 11, 14)と多く、60 kDa蛋白が熱ショック蛋白である可能性を否定できない。

興味あることは症例8血清のCt 48 kDa蛋白との反応が、Bh及びCtで吸収すると消失したが、症例10血清のCt 48 kDa蛋白との反応はBh吸収後も残り、症例9血清はBh吸収後Ct 48 kDa蛋白のみ反応性がやや減弱したことである(Fig. 3)。この結果は症例10の抗48 kDa抗体はCt 48 kDa蛋白のCtエピトープに反応し、症例8のそれはCt 48 kDa蛋白のBhエピトープに反応し、症例9のそれは両方のエピトープに反応したと推測される。換言すればCt 48 kDa蛋白はBhとCt両方の抗原性を担う蛋白であることを示唆している。さらに、吸収前では全クラミジア種及びBhに対して同一抗体価を示した症例8血清(Table 1)はCt吸収後の抗Bh抗体価が不変で、Bh吸収により抗Bh抗体が除去された事実は、この患者が尿道炎症状を

呈し、抗Ct抗体陽性と診断されていたものの、実際には抗Bh抗体保有者であることを示している。従って抗Ct抗体測定に先立って被検血清をBh抗原で吸収することが誤った血清診断を排除するために必要と考えられる。

結 語

*B.henselae*と*Chlamydia*属間に血清学的交差を示す多くの蛋白があることが判明した。特にCtの48 kDa蛋白とBhの40 kDa蛋白の共通抗原性と同時に、Ct 48 kDa蛋白が、CtとBh共通の抗原性を有することが明らかとなった。またCt抗体保有血清であると診断された15症例中1例の抗体は抗Bh抗体で、そのCtとの交差反応が偽陽性の判定につながったことが示された。これらの結果は抗Ct抗体測定に先立つ被検血清のBh抗原による吸収の必要性を強く示唆している。

謝 辞

稿を終えるにあたり、多大なる御指導と御校閲を賜った微生物学教室松本 明教授に深謝いたします。また、本研究にご指導いただいた微生物学教室員並びに組織電子顕微鏡センター各位に感謝いたします。また、本研究にご協力頂いた産婦人科学教室員各位、並びに泌尿器科学教室員各位に厚く御礼申し上げます。

なお本論文は日本電子顕微鏡学会第54回学術講演会(1998年5月, 仙台)、日本性感染症学会第11回学術大会(1998年11月, 東京)、及び第87回日本泌尿器科学会総会(1999年4月, 大阪)で発表された。

本研究は平成9年度川崎医科大学プロジェクト研究費(9-505)、並びに平成8年度及び平成9年度大学院重点特別経費によったことを付記し、感謝の意を表します。

文 献

- 1) Maurin M, Eb F, Etienne J, Raoult D: Serological cross-reactions between *Bartonella henselae* and *Chlamydia* species: Implications for diagnosis. *J Clin Microbiol* 35: 2283-2287, 1997

- 2) 岡崎武二郎, 町田豊平, 小野寺昭一, 清田 浩: クラミジア尿道炎および関連疾患におけるクラミジアの検出率. 日本性感染症学会誌 5: 43-45, 1994
- 3) 藤原道久, 河本義之, 田中敬一: 当科外来患者における STD の現況 (第2報: 1995~1996年). 日本性感染症学会誌 8: 122-126, 1997
- 4) 黒田 俊, 井上武夫, 黒田 考, 澤村良勝, 松島正浩: 感染源からみた STD 患者の臨床的検討 (第2報). 日本性感染症学会誌 9: 94-98, 1998
- 5) 丸山総一: Bartonella henselae とネコひっかき病. 臨床検査 39: 1047-1049, 1995
- 6) Kemper CA, Lombard CM, Deresinski SC, Tompkins LS: Visceral bacillary epithelioid angiomatosis: Possible manifestation of disseminated cat scratch disease in immunocompromised host. Am J Med 89: 216-222, 1990
- 7) Tamura A, Higashi N: Purification and chemical composition of meningopneumonitis virus. Virology 20: 596-604, 1963
- 8) Wang SP: Trachoma and Related Disorders Caused by Chlamydial Agents. Nichols RL (Ed.), Amsterdam, Excerpta Medica. 1971, pp 273-288
- 9) Birkelund S, Lundemose AG, Christiansen G: Immunoelectron microscopy of lipopolysaccharide in Chlamydia trachomatis. Infect Immun 57: 3250-3253, 1989
- 10) Urban MA, Coury DP, Reichman RC: Results of a screening program for Chlamydia trachomatis infection in men attending a sexually transmitted diseases clinic. Sex Transm Dis 24: 587-592, 1997
- 11) Hughes G, Simms I, Rogers PA, Swan AV, Catchpole M: New cases seen at genitourinary medicine clinics: England 1997 Commun Dis Rep CDR Suppl 8: 1-11, 1998
- 12) 熊本悦明, 佐藤隆志, 広瀬崇興, 西村昌宏, 小六幹夫, 村上信乃, 齊藤 功, 小島弘敬, 岡崎武二郎, 川村信夫, 久住治男, 河田幸道, 前田真一, 守殿貞夫, 大森弘之, 熊澤浄一, 大井好忠, 石川睦男, 藤本征一郎, 片桐清一, 高橋克幸, 松田静治, 高田道夫, 菅生元康, 野口昌良, 岡田弘二, 中野仁雄, 本村龍太郎: 尿路性器 Chlamydia trachomatis 感染症の疫学調査. 性感染症誌 5: 32-42, 1994
- 13) Miyashita N, Matsumoto A: Establishment of a particle-counting method for purified elementary bodies of Chlamydiae and evaluation of sensitivities of the IDEIA Chlamydia kit and DNA probe by using the purified elementary bodies. J Clin Microbiol 30: 2911-2916, 1992
- 14) Miyashita N, Iijima Y, Matsumoto A: Evaluation of the sensitivity and specificity of polymerase chain reaction test kit, AMPLICOR Chlamydia trachomatis. Microbiol Immunol 38: 81-85, 1994
- 15) Miyashita N, Matsumoto A, Niki Y, Matsushima T: Evaluation of the sensitivity and specificity of a ligase chain reaction test kit for detection of Chlamydia trachomatis. J Clin Pathol 49: 515-517, 1996
- 16) 別所敏子, 松本 明: Chlamydia psittaci の封入体を抗原とした簡単な抗体価測定法. 醫學のあゆみ 128: 571-572, 1984
- 17) 松本 明, 別所敏子, 岸本寿男, 副島林造, 渡辺博夫, 川越清隆: 抽出抗原を用いた Chlamydia trachomatis 感染者抗体測定用キット (ヒタザイム®クラミジア Ab) の開発. 感染症誌 66: 584-591, 1992
- 18) Drancourt M, Mainardi J, Brouqui P, Vandenesch F, Carta A, Lehnert F, Etienne J, Goldstein F, Acar J, Raoult D: Bartonella (Rochalimaea) quintana endocarditis in three homeless men. N Engl J Med 332: 419-423, 1995
- 19) Jürgen K, Bialek R, Müller G, Asmus P: Common surface epitope of Bartonella bacilliformis and Chlamydia psittaci. Am J Trop Med Hyg 39: 427-433, 1988