

新規結核診断用抗原の検索と血清診断への応用

吉留 厚子 神田 靖士 林 猪都子 西山 利正

関西医科大学 医学部 公衆衛生学

【目的】わが国の結核は平成9年より新規結核登録患者数、罹患率が増加に転じ、平成11年には「結核緊急事態宣言」が出され結核対策が緊急の課題となった。また、発展途上国における結核問題も深刻で多剤耐性菌の出現もみられ早期診断・治療の対応が臨まれている。発展途上国の結核に対する対応はDOTSを行なうことが基本的戦略であり、発展途上国における結核対策において活動性結核の簡便な診断法の開発は必要である。今回我々は、患者血清に対して感度の良い抗原を応用できるスクリーニング法を開発することを目的として、BCG cDNA libraryを作成し、患者血清とのscreeningにて特異的に反応する抗原を検出し、免疫学的特性を検討したので報告する。

【方法及び結果】患者血清は大阪府津田病院に入院中の活動性結核患者に研究のインフォームドコンセントを行なった後、研究参加の同意書を得て患者から血清を採取した。BCG cDNA libraryの作成は*Mycobacterium bovis*, BCG Tokyoよりtotal RNAを抽出した後、cDNAを合成し、発現ベクター pGEX 4T-3にクローニングした。こうして作製したBCG cDNA libraryを用いて患者血清でスクリーニングを行った結果、陽性反応を有するクローン1ヶをピックアップした。このクローンのsequenceを解析した結果、Conserved Hypothetical Proteinであると推定された。この遺伝子は*Mycobacterium bovis*と*Mycobacterium tuberculosis*との間で非常に相同性の高い領域であった。この遺伝子をGSTとのfusion proteinとして発現させ、患者血清を用いてウエスタンブロッティングを行った結果、この抗原は活動性結核患者の血清と特異的に反応し、今後スクリーニングとして使用が可能であると確認した。さらに、cDNA libraryを用いたスクリーニングにより、ファーストスクリーニングとしての感受性を備え特異性の高い新規結核抗原の検索を行っていく予定である。

Research of the antigen for the new tuberculosis diagnosis and application to the serodiagnosis

ATSUKO YOSHIDOME

Dept. of Public Health, Kansai Medicine Unibersity, Osaka, Japan