

## 妊婦のトキソプラズマ感染と児への影響

伊勢やよい 有滝千恵子 飯田孝  
佐藤功栄 鈴木貴和 嶋田孝吉

(昭和56年9月14日 受領)

**Key words:** *Toxoplasma* infection, pregnancy, anti-*Toxoplasma* IgM antibody, membrane antigen, latex agglutination test

### 緒言

妊婦のトキソプラズマ(以下トキソ)感染は、流産あるいは先天性トキソ症の原因として注目されている。このように妊婦のトキソ感染は、危険度が高いにもかかわらず、この原虫の感染がほとんど症状を示さない、いわゆる不顕性であるため等閑視されており、我が国における妊婦のトキソ感染状況の報告も少ない(折田, 1976; 竹中ら, 1979)。

我々は、東京都の産院より提供を受けた妊婦血清につき、抗トキソ抗体、特に抗トキソ IgM 抗体を測定検討し、東京都での妊婦のトキソ感染の頻度を追求した。併せて臍帯血や新生児血清をも調べ、出産児への影響などを検索した。

### 検査対象

1977年5月から1979年12月の間に築地産院外来を受診した妊婦7,350人から採血した血清13,255検体および臍帯血678検体を対象とした。妊婦に関しては、原則として妊娠3カ月、6カ月および分娩時に採血した。

### 検査方法

#### 1) 赤血球凝集反応(HA法)

抗原作成は医科研法(常松, 1963)に従い、血球感作方法並びに術式はLewis and Kessel (1961)に準拠して行つた。測定はマイクロタイター法により実施し、32倍以上を陽性とした。

#### 2) ラテックス凝集反応(LA法)

抗原は、虫体膜を Triton X-100の存在下でフレンチ  
東京都臨床医学総合研究所(生体防衛)

プレスにより破碎後遠心し、得られた上清をゲル濾過して使用した(有滝ら, 1981)。ラテックス( $\phi$  0.9 $\mu$ , 武田薬品)への感作は坪田, 小沢(1977)の方法に従つた。陽性限界は32倍とした。

#### 3) IgM 抗体検出法

##### a) Protein A による抗トキソ IgM 抗体の検出

亀井(1978)の方法により行つた。すなわち protein A を多く含むブドウ球菌(*Staphylococcus aureus* 248  $\beta$ H 株)の菌体で、被検血清の IgG を吸収し、吸収前後の血清について抗体価を測定した。さらに残存抗体については、2-メルカプトエタノール(2-ME)処理により IgM 抗体であることを確認した。

##### b) ショ糖密度勾配遠心法

Vesikari and Vaheri (1968)の方法に従い、10%から40% (w/v) の sucrose gradient 4.5ml に対して2倍に希釈した血清0.2ml を重層し、100,000 $\times$ g で16時間遠心した。

#### 4) 血清グロブリンの定量

ヒト血清グロブリンの定量には、アガロース・イムノプレート(ヘキスト社)を使用した。臍帯血の IgM 量測定には、Fahey *et al.* (1965)の方法により低濃度用のアガロースプレートを作成し使用した。

### 結果

#### 1) 妊婦のトキソ抗体陽性率

妊婦の血清につき HA 法, LA 法で抗体価を測定した結果、表1のように、HA, LA 法の両法とも陽性の妊婦は1,237人(16.8%)、HA 法陰性で LA 法陽性の妊婦は330人(4.5%)、HA 法および LA 法ともに陰性の妊婦は5,783人(78.7%)で、HA 法陽性で LA 法陰性の

表 1 妊婦血清中の抗トキソ抗体保有率

HA 法	LA 法	例 数 (%)
+	+	1,273 (16.7%)
-	+	330 ( 4.6%)
+	-	0 ( 0%)
-	-	5,873 (78.7%)
計		7,350

妊婦は見られなかった。

2) HA 法と LA 法の相関性についての検討

図 1 は HA 法と LA 法の抗体価の相関関係を示したものである。抗体価の高いところではよく相関しているが、低値では相関せず、HA 法陰性で LA 法陽性例が多数認められた。

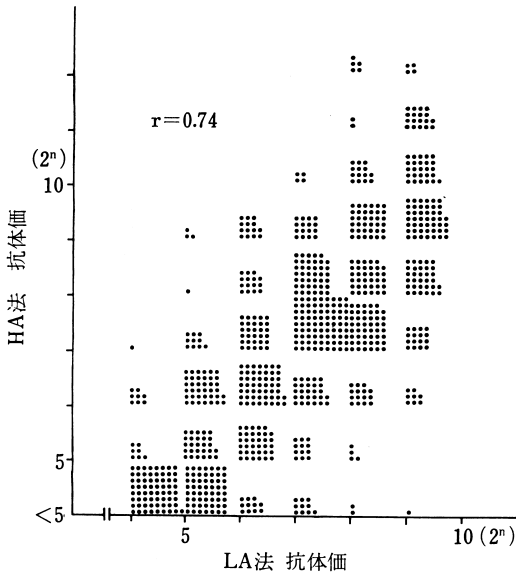


図 1 HA 法と LA 法との相関

上述の HA および LA 法での結果の異なる例についてその抗体の特異性を調べるために、色素試験およびトキソ原虫による吸収試験を行った。表 2 はその結果の一部を示したが、いずれも色素試験陽性でさらにトキソ原虫により抗体が吸収された。

3) 抗トキソ IgM 抗体の検索

Protein A を有するブドウ球菌の菌体で IgG を吸収した血清の残存抗体は、主に IgM 抗体であると思われる。この protein A 吸収法により抗トキソ IgM 抗体

表 2 HA 法陰性で LA 法陽性の検体の特異性検査

血清 No.	LA 法	色素試験	吸収試験*
1	32	64	—
2	64	64	—
3	128	256	—
4	64	256	—
5	512	256	—
6	64	16	—

\* ホルマリン固定したトキソ原虫により血清中の特異抗体吸収後 LA 法にて抗体価を測定

を測定した。ところが、この protein A 吸収後の残存抗体は HA 法では全く検出できなかった。従つて表 3 には LA 法による測定結果を示した。

表 3 LA 法陽性妊婦のトキソ IgM 抗体保有率

LA 法	HA 法	IgM 抗体
+	+	80 ( 6.4%)*
+	-	54 (16.4%)†

\* 総数 1,273 † 総数 330

抗トキソ IgM 抗体は全妊婦の 1.8% に検出された。これらの妊婦のうち HA 法および LA 法の両法に陽性の妊婦では抗トキソ IgM 抗体の保有率は 1,237 人中 80 人 (6.4%) である。これに対し、HA 法陰性で LA 法陽性であった妊婦では、330 人中 54 人 (16.4%) と高率に IgM 抗体が検出された。

トキソ感染時の抗トキソ IgM および IgG 抗体の出現時期並びに HA および LA 法での検出度を知るため、実験室内感染者および不顕性感染者の血清の抗体についても検討した。表 4 の No. 1, 2 は実験室内感染後 7 日目と 8 日目の血清で、HA 法で陰性、LA 法では陽性を示し、protein A による吸収後でも抗体価は残存していた。No. 3, 4 はその 2 カ月後の血清で、HA 法、LA 法の両法で陽性を示し、protein A による吸収後では、LA 法のみ陽性であった。No. 5, 6 は不顕性感染者の血清で、HA 法および LA 法共に陽性であり、protein A による吸収後では、HA 法、LA 法共に陰性となった。それぞれの血清をショ糖密度勾配遠心法により分画を行った場合、図 2-a に示した如く、No. 1 および 2 の血清では 19s 画分のみに LA 法による抗体価が見られ、

表 4 HA 法, LA 法によるトキソ IgM 抗体の検出

血清 No.	HA 法		LA 法	
	未吸収*	吸収†	未吸収*	吸収†
1	—	—	512	512
2	—	—	512	512
3	256	—	512	128
4	512	—	512	64
5	1,024	—	512	—
6	512	—	256	—

\* 未吸収血清: PBS で1:8に希釈

† 吸収血清: 10% 菌体浮遊液0.5ml を遠心した沈渣につき希釈血清0.5ml 加えた.

No. 3 および 4 の血清では 7s 画分には HA 法と LA 法両法による抗体活性が, また 19s 画分には LA 法のみによる抗体活性が認められた. 一方, No. 5 および 6

の血清では 7s 画分のみ HA 法および LA 法の両法による抗体活性が見られた. これらの血清を protein A で吸収後, ショ糖密度勾配遠心法により分画すると, No. 1, 2, 3, 4 の血清の 19s 画分のみ LA 法による抗体活性が見られ, またこれらの活性は 2ME 処理により消失した (図 2-b).

#### 4) 出生児の抗トキソ抗体

分娩時に採血した母体血と臍帯血のトキソ抗体価を調べたところ, 図 3 のように臍帯血の抗体価は, ほとんど母体血と同値であった. これらの児の抗体価の変動を図 4 に示した. 抗トキソ抗体はそのほとんどの血清から, 生後 3 カ月おそくとも 6 カ月までに消失している.

#### 5) 臍帯血の免疫グロブリン

母体内で児に感染が起ると臍帯血の免疫グロブリン量, 特に IgM 量が上昇するので, これを調べ表 5 に示した. 抗トキソ抗体陽性群と陰性群との間で有意差が認められず, IgM 量が 20mg/dl 以上のものの頻度にも有

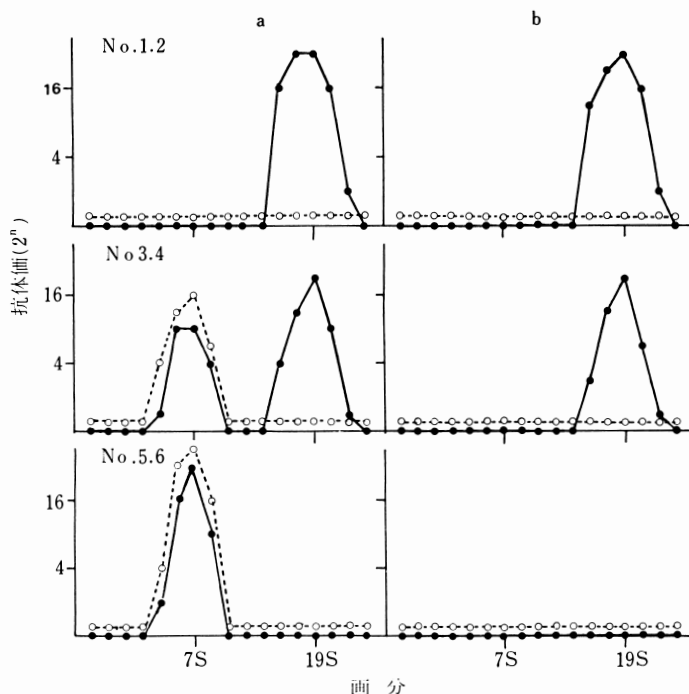


図 2 トキソ感染と抗体の変遷: 密度勾配遠心法による分析  
PBS で 2 倍に希釈した血清を 10~40% (w/v) 濃度の sucrose gradient 4.5ml の上に重層し, 100,000×g 16時間遠心した後分画し, 得られた各画分について HA 法および LA 法にて抗体価を測定した. a: 未吸収血清, b: protein A 吸収血清 (○) HA 法, (●) LA 法

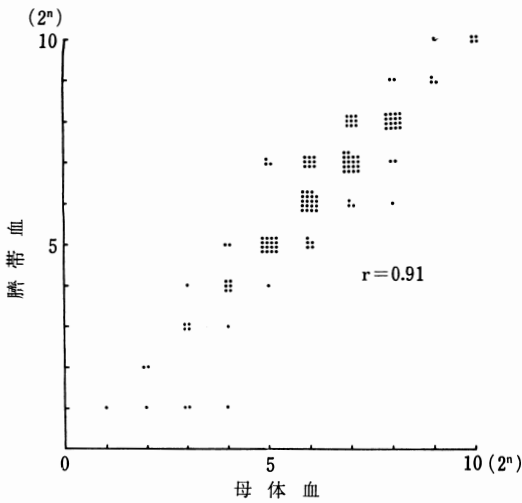


図 3 臍帯血と母体血におけるトキソ抗体価の相関

意差がなかった。またこれらの臍帯血中には抗トキソ IgM 抗体は全く認められなかった。

6) 異常産と妊婦のトキソ抗体保有率

異常産についても、抗トキソ抗体陽性群と陰性群との間に有意の差が認められず、流産の頻度は、陽性群よりむしろ陰性群で高い傾向を示した。また抗トキソ IgM 抗体陽性群では異常産は認められなかった。ただ妊娠中、陽性になったグループで奇形が 4.5%と高率に見られた。しかしながらこれらの奇形は、口蓋裂、合趾症、食道閉鎖症などで、従来、先天性トキソ症に典型的な症状として考えられている異常ではなかった(表 6)。

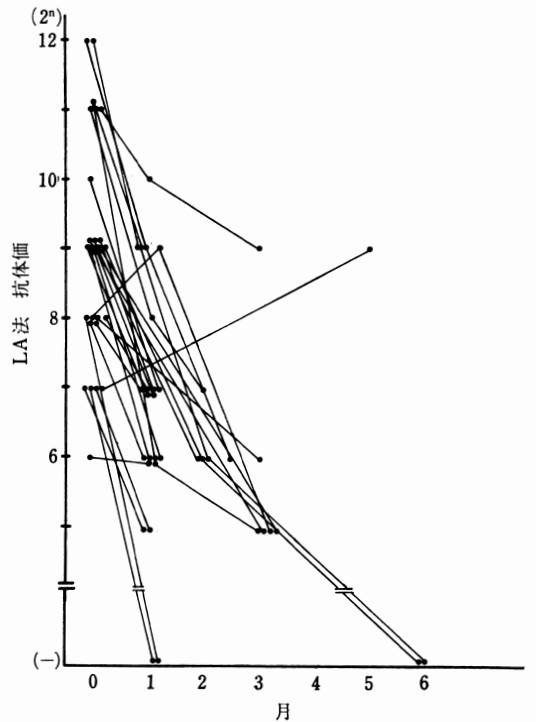


図 4 児におけるトキソ抗体価の経時的変化

考 察

妊婦のトキソ抗体保有率は検査法、地域、年齢などによってその報告にかなりの相違が見られるが(小宮, 小林, 1961; Kimball *et al.* 1971; Ruoss and Bourne, 1972), これまでのデータから我が国の妊婦ではトキ

表 5 臍帯血におけるトキソ抗体の有無と各種免疫グロブリン含量

	IgG(mg/dl)	IgM (mg/dl)	IgA(mg/dl)	n*
陰 性 群	1,157±236†	9.9±6.3†(3%)‡	0	202
陽 性 群	1,170±257†	9.8±5.7†(4%)‡	0	552

\* 検体数

† 平均値±標準偏差

‡ IgM 20mg/dl 以上の頻度

表 6 妊婦のトキソ抗体と異常産との関連性

	自然流産	人工中絶	胞状奇胎	死 産	奇形
陽性群	5.3%	0.9%	0.3%	0.3%	0.1%
IgM 抗体陽性群	0	0	0	0	0
陽転群	0	0	0	0	4.5%
陰性群	7.4%	2.2%	0.2%	0.4%	0.5%

ノ抗体の保有率は10~25%と考えられている。

今回、我々は抗体検出法として、原虫を蒸留水に入れ抽出した抗原を用いた HA 法、原虫の膜を主に含む抗原を用いた LA 法により 築地産院より 提供を受けた妊婦血清中のトキソ抗体価を測定した。陽性率は LA 法では21.3%、HA 法では16.8%であった。

LA 法と HA 法での陽性率の差は、HA 法陰性にもかかわらず LA 法陽性の血清が高率 (23%) に見られたためである。HA 法陰性で LA 法陽性の血清は、色素試験で陽性であり、しかもトキソ原虫により吸収されることから、この抗体はトキソプラズマに対する特異抗体である。HA 法でこの抗体が検出できないのは、用いられている抗原の差によるものと考えられる。即ち、HA 法に使用した抗原は、トキソを蒸留水で抽出して得た抗原であり、原虫の細胞内成分のうち水溶性成分を主に含んでいる。これに対して、LA 法に使用した抗原はトキソ膜分画に、Triton X-100 (界面活性剤) を加えてフレンチプレスにより破碎して得た抗原であり、原虫の膜成分を多量に含んでいる。従って、後述するように、LA 法のみでトキソ膜抗原に対する抗体は検出され、HA 法ではこれが検出されない。上述の HA 法、LA 法による妊婦の抗体検出率の差は、このためと考えられる。

従来、IgM 抗体の検出法には、抗ヒト IgM 標識抗体を用いての免疫蛍光抗体法 (Remington *et al.* 1968)、ラジオイムノアッセイ法 (Warren *et al.* 1976)、酵素抗体法 (Voller *et al.* 1976, Kenneth *et al.* 1977) などが用いられているが、これらは煩雑であるために、スクリーニング検査法として不適である。我々はより簡単で、多量の検体処理が可能な protein A を利用する亀井 (1978) の方法を用いた。本法は protein A を多量にもつドブ球菌菌体で IgG を吸収し、吸収前後の血清について抗体価を測定する方法である。また残存抗体陽性の血清について、ショ糖密度勾配遠心法、メルカプトエタノール法により IgM 抗体であることを確認した。本法での結果では、全妊婦中 1.8% に抗トキソ IgM 抗体が検出された。即ち、東京都の妊婦は約 56 人に 1 人の割合で妊娠中あるいはその直前にトキソプラズマに感染しているものと考えられる。

ところで、protein A で吸収後の残存抗体は LA 法のみで検出され、HA 法では検出できなかった。この LA 法のみで検出された抗体は、トキソ原虫による吸収などからトキソに対する特異抗体であることが確認された。更に、実験室内感染者の血清検査成績から、初期に

は、LA 法のみ陽性の抗体が出現し、しかもこれは IgM 抗体であり、遅れて HA 法陽性抗体が検出されるようになるが、これは IgG 抗体であることが確認された。上述の IgM 抗体は色素試験でも陽性であり、前述したように、LA 法に使用したトキソ抗原には膜成分が多量に含まれており、HA 法での抗原は、これをほとんど含んでいないことから、トキソ感染初期に検出される抗トキソ IgM 抗体は主に膜成分に対する抗体であると考えられる。今回調査した妊婦中、LA 法および HA 法ともに陽性の妊婦では、IgM 抗体保有率が 6.4% であったのに対し、LA 法のみ陽性の妊婦では IgM 抗体は 16.4% と高率であったことも、上述の考えから説明し得る。即ち、後者の妊婦はトキソ感染初期群であったことを意味している。

一方、妊婦がトキソに初感染すると、児に高率に先天性トキソ症を起こすと言われている。ところで妊婦のトキソ初感染を検出するには、前述の実験室内感染者の抗体検査結果から明らかなように、抗トキソ IgM 抗体の検出がよく、このスクリーニング法としては亀井 (1978) の protein A を用いる方法と我々の膜抗原を多く含むトキソ抗原を使用した LA 法を組合せた方法が最適であると考えられる。

児への感染を調べるため臍帯血のトキソ抗体を調べたが、臍帯血の抗体価はほとんどが母体血と同値であった。しかもこれらの抗体は IgG 抗体であり、IgM 抗体は検出されず、2 例を除き 6 カ月後にはすべて消失した。この結果から児の血清中に検出された抗体は母体から移行した胎内抗体で、検査対象の 678 人の児にはトキソは感染しなかつたものと考えられる。

更にこれらの児にトキソ胎内感染がなかつたことを確認するために、臍帯血の IgM 量を測定したが、IgM 量にはトキソ抗体陽性群と陰性群との間で有意の差がなく、子宮内感染が疑われるとされている 20mg/dl (Alford *et al.* 1967) 以上のものの頻度も両者で有意差がなかつた。また IgM 20mg/dl 以上の血清からも抗トキソ IgM 抗体は見られなかつた。

抗トキソ抗体陽性と異常産との関連性については異論が多い。Kimball *et al.* (1971) は色素試験でトキソ抗体価と散発性流産との間に相関性を認めている。田中 (1966)、黄ら (1972)、Lolis *et al.* (1978) 等は流産患者について (HA 法および蛍光抗体法による) 陽性率を調べ、対照婦人に比べ有意に高いと報告している。一方、常松 (1968)、小林ら (1974)、青木 (1974)、折田 (1976) などは異常産を経験した人と、正常産の人との

間に、トキソ抗体陽性率の差はなかつたと報告した。

今回我々の調査では、早死産については陽性者と陰性者との間に有意差は見られず、流産ではむしろ陰性者で高い傾向を示した。ただ妊娠中、トキソ抗体陽性となつたグループで、奇形が4.5%と多く注目された。しかしこれらの奇形は口蓋裂、合趾症、食道閉鎖、クモ指症で、先天性トキソ症として代表的な症状とされる網脈絡膜炎、脳石灰化、脳水腫または小頭症、中枢神経障害等(小林, 1963)は認められなかつた。しかし、さらに症例を増し検討を要する問題である。

### ま と め

従来の水溶性抗原に代え、膜抗原を多く含むトキソ抗原をラテックス粒子に感作し、妊婦および児の血清検査(13,933検体)を施行した。抗トキソ陽性妊婦は21.2%であつた。抗トキソ IgM 抗体は本法でのみ検出され、従来の HA 法では検出されなかつた。尚、抗トキソ IgM 抗体陽性妊婦は1.8%であつた。臍帯血の抗体価は母体血の抗体価とほとんど同値であり、IgM 抗体が検出されないことから、すべて母体から移行した IgG 抗体と考えられた。従つて、これらの児へのトキソ胎盤感染の可能性は極めて少ないと思われる。また臨床的検索においても現在のところ先天性トキソ症と思われる子供は見られていない。

### 謝 辞

稿を終るにあたり、血清の提供および本研究に多大の御協力をいただきました築地産院の堀口貞夫先生(現在、愛育会病院)に深謝いたします。また *Staphylococcus aureus* 248  $\beta$ H 株を供与された帝京大学医学部寄生虫学教室の亀井喜世子先生に御礼申し上げます。

### 文 献

- 1) 青木豊治(1974): 妊婦におけるトキソプラズマ抗体保有率の検索。産婦の世界, 26, 673-675.
- 2) Alford, C. A., Schaefer, J., Blankenship, W. J., Straumfjord, J. V. and Cassady, G. (1967): A correlative immunologic microbiologic and clinical approach to the diagnosis of acute and chronic infections in newborn infants. New Eng. J. Med., 277, 437-449.
- 3) 有滝千恵子・伊勢やよい・飯田 孝・佐藤功栄・鈴木貴和・嶋田孝吉(1981): トキソプラズマ虫体膜の抗原成分について。寄生虫誌, 30, 557-562
- 4) Fahey, J. L. and McKelevery, E. M. (1965):

Quantitative determination of serum Immunoglobulins in antibody-agar plate. J. Immune., 94, 84-90.

- 5) 亀井喜世子(1978): Staphylococcus Protein A を用いてのトキソプラズマ IgM 抗体検出法について。寄生虫誌, 27, 453-461.
- 6) Kenneth, W. W., Bullock, S. L. and Donna, K. E. (1977): Used of the enzyme-linked immuno-absorbant assay(ELISA) and its microadaptation for the serodiagnosis of toxoplasmosis. J. Clin. Microbiol., 5(3), 273-277.
- 7) Kimball, A. C., Kean, B. H. and Fuchs, F. (1971): Congenital toxoplasmosis: A prospective study of 4,048 obstetric patients. Am. J. Obstet. Gynecol., 111, 211-218.
- 8) 黄 麗珠・元山清子・大内広子・白坂龍曠・大須賀道代(1972): 当大学病院におけるトキソプラズマの凝集反応検査成績, 特に妊産婦の赤血球凝集反応について。東女医大誌, 42, 738-743.
- 9) 小林昭夫(1963): 人のトキソプラズマ症。モダンメディア, 9, 456-462.
- 10) 小林昭夫・熊田三由・秋田美千代・大村忠夫(1974): 妊産婦および新生児におけるトキソプラズマ感染調査 —とくに先天性感染の頻度について—。寄生虫誌, 23, 383-390.
- 11) 小宮義孝・小林昭夫(1961): 日本におけるトキソプラズマ症 —人トキソプラズマ症の仮想感染源としてのブタ肉について—。日本医事新報, 1966, 6-12.
- 12) Lewis, W. P. and Kessel, J. F. (1961): Hemagglutination in the diagnosis of toxoplasmosis and amebiasis. Arch. Ophth., 66, 471-476.
- 13) Lodi, D. V., Tzigounis, V., Micalas, S., Koumentakou, E. and Kaskalelis, D. (1978): Toxoplasma antibodies and spontaneous abortion. Int. J. Gynaecol., Obstet., 15(4), 299-301.
- 14) 折田勝郎(1976): 妊婦トキソプラズマ症の疫学的観察。日産婦誌, 28, 1453-1459.
- 15) Remington, T. S., Miller, M. J. and Bronnee, I. (1968): IgM antibodies in acute toxoplasmosis: I. Diagnostic significance in congenital cases and a method for their rapid demonstration. Pediatrics. 41, 1082-1092.
- 16) Ruoss, C. F. and Bourne, G. L. (1972): Toxoplasmosis in pregnancy. J. Obstet. Gynaecol. Brit. Cwlth., 79, 1115-1118.
- 17) 竹中静広・仲地広順・有村 徹・新崎盛雄(1979): 妊婦とトキソプラズマ症。産婦治療, 38(3),

- 310-314.
- 18) 田中暁暎 (1966) : 産婦人科疾患及び妊産婦における *Toxoplasma* 抗体の分布並びに胎盤よりの原虫検出について. 阪市大誌, 16, 529-555.
- 19) 坪田宣之・小沢 光 (1977) : トキソプラズマラテックス凝集反応に関する研究 (第1報) マイクロタイター用試薬の調整条件と安定性. 寄生虫誌, 26, 276-285.
- 20) 常松之典 (1963) : トキソプラズマ症の診断について. モダンメディア, 9, 443-449.
- 21) 常松之典 (1968) : トキソプラズマ症. 小児医学, 1, 56-74.
- 22) Vesikali, T. and Vaheri, A. (1968) : Rubella: a method for rapid diagnosis of recent infection by demonstration of the IgM antibodies. Brit. Med. J., 1, 221-223.
- 23) Voller, A., Bidwell, D. E., Batlet, A., Fleck, D. G., Perkens, M. and Oladehin, B. (1976) : A microplate enzyme immunoassay for toxoplasma antibody. J. Clin. Pathol., 29, 150-153.
- 24) Warren, D., Gehle, K., Smith, O. and Fuccilo, D. A. (1976) : Radioimmunoassay for toxoplasmosis. Infect. and Immunol., 14, 1253-1255.

**Abstract**

TOXOPLASMA INFECTION AMONG PREGNANT WOMEN AND  
THEIR BABIES IN TOKYO DISTRICT

YAYOI ISE, CHIEKO ARITAKI, TAKASHI IIDA, KOHEI SATO,  
TAKAKAZU SUZUKI AND KOHKICHI SHIMADA

*(Division of Body Defence, Tokyo Metropolitan Institute of  
Medical Sciences, Tokyo, Japan)*

Sera of pregnant women and their babies (13,935 samples) in Tokyo were examined for the presence of anti-*Toxoplasma* antibodies by means of latex indirect agglutination (LA) test using *Toxoplasma* antigens rich in membrane fractions. Anti-*Toxoplasma* IgM antibodies were also studied according to Kamei's method using Protein A.

The LA test was positive in 21.2% of the pregnant women and IgM antibodies were detected in 1.8% of them.

Titers of *Toxoplasma* antibodies in the sera from the cord blood were almost the same as those from their mothers. Occurrence of the placental infection of *Toxoplasma* was thought to be unlikely, since there were found no appreciable amount of IgM in the cord blood nor clinical signs suggestive of congenital toxoplasmosis in these babies.