

Chlamydia trachomatis の FITC 標識モノクローナル抗体 (MicroTrack™) を用いた尿道炎患者からの検出

金沢大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 久住治男教授)

大 川 光 央
徳 永 周 二
島 村 正 喜*
久 住 治 男

DETECTION OF *CHLAMYDIA TRACHOMATIS* WITH A DIRECT SPECIMEN TEST (MICROTRACK™) IN URETHRITIS PATIENTS

Mitsuo OHKAWA, Shuji TOKUNAGA,

Masayoshi SHIMAMURA and Haruo HISAZUMI

From the Department of Urology, School of Medicine, Kanazawa University

(Director: Prof. H. Hisazumi)

The urethral smear specimens from 197 male urethritis patients attending our department and 4 affiliated hospitals were examined for *Chlamydia trachomatis* between April, 1984 and May, 1985, using fluorescein-labeled monoclonal antibodies (Direct Specimen Test; MicroTrack™, Syva Co., USA). *C. trachomatis* was detected in 7 (25.0%) out of 28 patients with gonococcal urethritis, and 83 (49.1%) out of 169 patients with nongonococcal urethritis. The detection rates were almost comparable to those of other reports that used the cell culture method. The direct test is a time-saving, non-culture method useful for the diagnosis of chlamydial infection.

Key words: *Chlamydia trachomatis*, Fluorescein-labeled monoclonal antibodies, Male urethritis

はじめに

非淋菌性尿道炎 (以下, NGU) の罹患率は, 淋菌性尿道炎 (以下, GU) を上回り, いわゆる性行為感染症の中で重要な位置を占めていることは周知の事実である. NGU を惹起する病原微生物として, *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma genitalium*, Herpes simplex virus, *Trichomonas vaginalis*, *Candida albicans*, 一般細菌などが考えられている. これらの微生物のうち, *C. trachomatis* は検出頻度の高いことから最も注目されており, 欧米での報告では NGU 患者の約 30~60%¹⁻⁶⁾

から検出されており, 本邦でも最近になってようやくその重要性が指摘され, 欧米とはほぼ同程度の検出率が報告されている⁷⁻⁹⁾.

著者は, 尿道炎患者の直接塗抹標本について, FITC 標識モノクローナル抗体を用いて *C. trachomatis* の検出を行なったので, その成績を報告する.

対象及び方法

1. 対象

対象は, 1984年4月からの1年間に金沢大学及び北陸地方の4関連病院を受診した男子尿道炎患者197例で, その内訳は GU 症例28例及び NGU 症例169例であった.

2. *C. trachomatis* の検出方法

* 現: 石川県立中央病院泌尿器科

Table 1. Detection rates of *Chlamydia trachomatis* from urethritis patients.

Patients group	No. patients	No. <i>Chlamydia</i> -positive patients (%)
Gonococcal urethritis	28	7 (25.0)
Nongonococcal urethritis	169	83 (49.1)

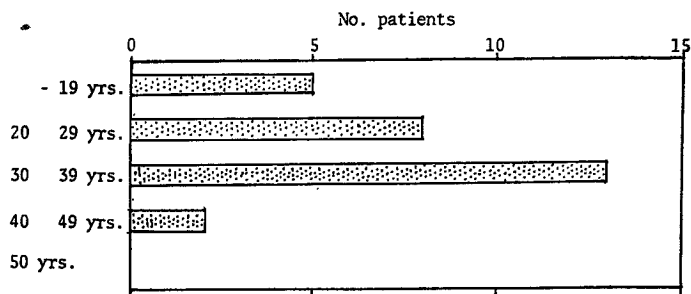


Fig. 1. Age distribution of gonococcal urethritis patients.

外尿道口より滅菌消毒済ナイロン swab (メンティップ®; 日本綿棒, 東京) を 2~4 cm 挿入し, 粘膜上皮細胞をはがすように回転させて尿道 smear を採取した. 引き抜いた swab より検体を *Chlamydia trachomatis* Specimen Slide (Syva Co., USA) 上の well 内に塗布し, 風乾後 acetone にて固定し, 検査時まで -20°C で保存した. 検査時, 検体を室温まで戻した後, FITC 標識モノクローナル抗体 (*Chlamydia trachomatis* Direct Specimen Test ; MicroTrack™, Syva Co., USA) の 30 µl を滴下し, 室温下湿潤箱内で 15 分間反応させた. 更に, 蒸留水で洗浄し, 風乾後蛍光顕微鏡 (落射蛍光装置 XF-EFD, 日本光学, 東京) を用いて観察した. 励起フィルターは B とし, 赤色に染まった細胞成分とともに点状に apple green の蛍光を発する *C. trachomatis* の基本小体が 5 個以上観察された場合を陽性と判定した.

成 績

1. *C. trachomatis* の検出率

尿道 smear 中の *C. trachomatis* は, GU 28 症例中 7 例 (25.0%) 及び NGU 169 症例中 83 例 (49.1%) で陽性と判定された (Table 1)

2. 症例の背景因子

1) 年齢分布

GU 症例では, 30 歳代が 13 例と最も多く全体の 46.4% を占め, 次いで 20 歳代, 10 歳代の順で (Fig. 1), 最年長者は 41 歳, 最年少者は 17 歳であった. NGU 症例では, 20 歳代が 69 例と最も多く全体の 40.8% を占め, 次いで 30 歳代, 10 歳代の順で (Fig. 2),

最年長者は 66 歳, 最年少者は 17 歳であった.

2) 感染源

感染源のほぼ明らかな GU 22 症例及び NGU 89 症例の sex partner を, ① regular partner (いわゆる girl friend を含む), ② かりそめの partner (いわゆる素人), ③ 特殊浴場の女性, ④ ホステスなどのいわゆる玄人, ⑤ 外国の prostitute, に分けて集計した. GU 症例では, ③ が 13 例と最も多く 59.1% を占め, 次いで ④, ⑤ の順であった (Fig. 3). NGU 症例では, GU 症例と同じく ③ が 29 例と最も多く, 次いで ①, ④, ⑤, ② の順であった (Fig. 4).

3) 潜伏期間

感染機会があってから発症までの期間がほぼ明らかな GU 23 症例, NGU 86 症例の潜伏期間について集計した. GU 症例では, 7 日以内が 14 例と半数以上を占めたが, 8~14 日の症例も 39.1% に認められた (Fig. 5). NGU 症例では, 8~14 日が 30 例 (34.9%) で最も多く, 次いで 7 日以内と続き, 22 日以上の症例も 14 例 (16.3%) 認められた (Fig. 6). なお, NGU 症例の潜伏期間を *C. trachomatis* 陽性, 陰性例に分けてまとめると Fig. 7 のとおりで, 7 日以内の短い潜伏期間を有する症例の占める割合は, 陽性例では 15.8% であるのに比し, 陰性例では 39.6% と高率であった.

考 察

1982 年米国疾患統制センターの集計によると, 米国における淋病患者発生数は年間約百万例となっているが¹⁰⁾, 実数はその倍の約 2 百万例に達するものと推定

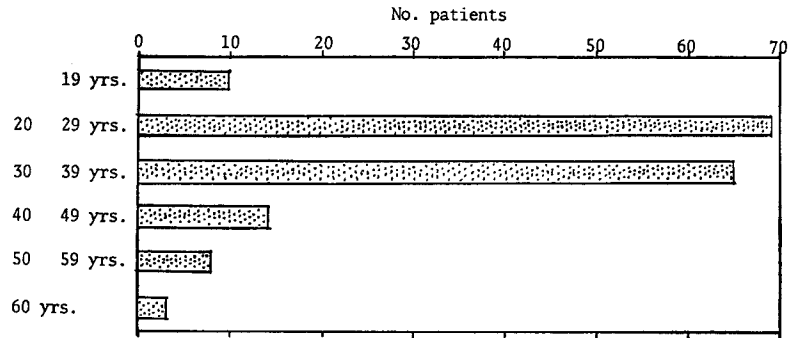


Fig. 2. Age distribution of nongonococcal urethritis patients.

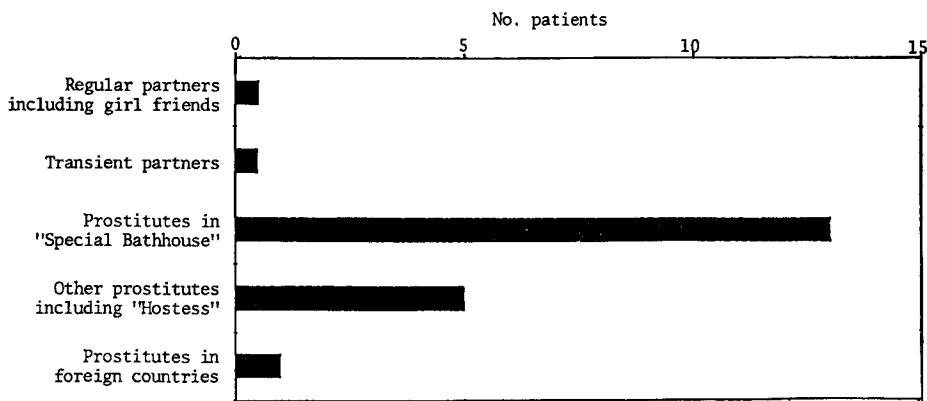


Fig. 3. Sex partners of gonococcal urethritis patients in terms of infectious source.

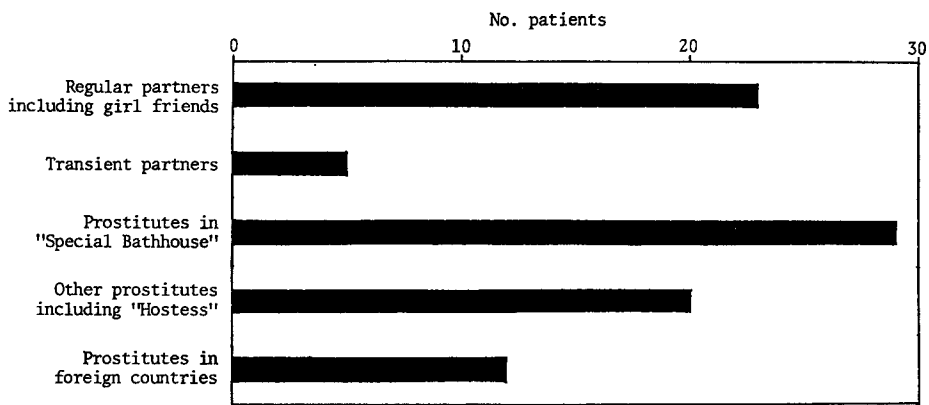


Fig. 4. Sex partners of nongonococcal urethritis patients in terms of infectious source.

されている¹¹⁾ 一方、米国での *C. trachomatis* 感染症の正確な集計はないが、毎年5百万～1千万の患者が発生しているとの推測もあり¹¹⁾、社会的にも大きな問題となっている。本邦においては、*C. trachomatis* の検出そのものが最近ようやく実施されるようになり、疫学的検討はこれからというのが現状である。*C. trachomatis* の検出法として、従来は直接塗抹標本

をギムザ染色して鏡検する方法や細胞培養法⁷⁾ などが用いられてきたが、検出率が低かったり、手技的に難しかったりなどの理由で一般検査として普及するに至らず、これが本邦における *C. trachomatis* 感染症の臨床的研究のネックになっていたことは否めない。

C. trachomatis は、biovar trachoma, biovar lymphogranuloma venereum 及び biovar mouse

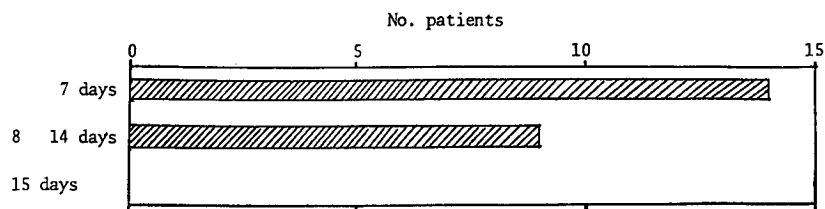


Fig. 5. Incubation periods in gonococcal urethritis patients.

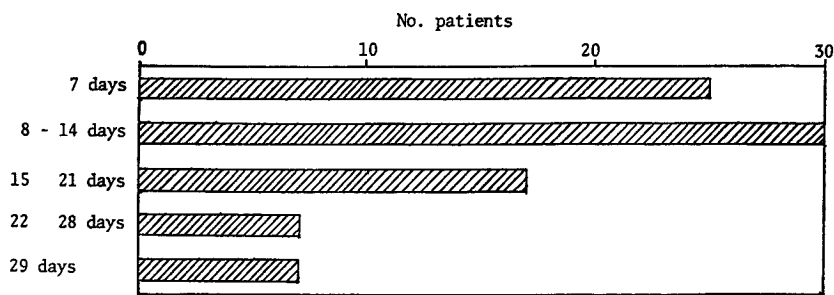
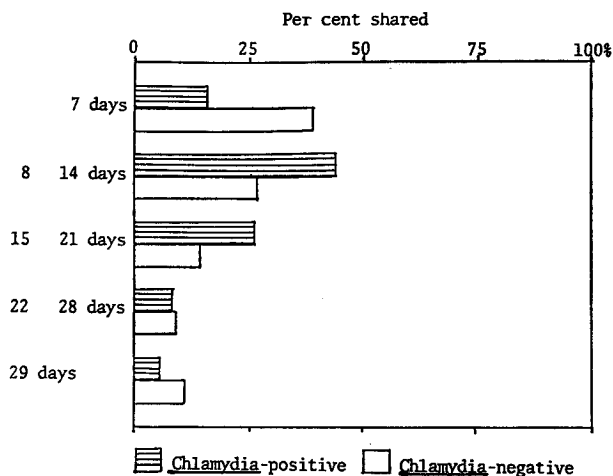


Fig. 6. Incubation periods in nongonococcal urethritis patients

Fig. 7. Incubation periods in *Chlamydia*-positive and *Chlamydia*-negative patients with nongonococcal urethritis.

の3つに分けられ、更に抗原性の違いから、biovar trachoma はA～Kまでの12種また biovar lymphogranuloma venereum は L₁～L₃ の3種の serovar に分けられている¹²⁾。最近になってこれら15種の serovar に共通する抗原に対するモノクローナル抗体が作られ¹²⁾、これに蛍光標識したキットが本邦においても利用できるようになった。このモノクローナル抗体は、*Chlamydia psittaci* とは反応せず、また細胞封入体のみならず小さな基本小体の検出をも可能とした。これを利用することにより、直接塗抹標本でも迅速かつ特異的に *C. trachomatis* を検出できるよう

になった。今回著者が用いた診断用モノクローナル抗体の検出率に関して、細胞培養法との比較で陽性一致率及び陰性一致率とも極めて高く、*C. trachomatis* 検出法として有用であることが報告されている^{8,14-16)}。著者は今回の経験から、本法による検出率を高めるための要点は、極めて基本的なことではあるが検体採取法にあると考えている。すなわち、swab を尿道内へ十分に挿入し、ゆっくりと回転させて、尿道分泌物ではなく上皮細胞を擦過採取することが重要で、またこの検体をスライドガラス上の well 内へ確実に塗抹する必要のあることは言うまでもない。蛍光顕微鏡下の

観察においては、非特異的な反応を見誤る危険性もあり、10個以上の *C. trachomatis* の基本小体が認められた場合に陽性と判定する方法がよいとされている¹⁴⁾。著者は、特徴的な apple green の蛍光と、基本小体の大きさなどかなり特徴的であり、陽性標本を見慣れればそれ以下でも判定は可能と考えている。しかし、習熟するまでにはある程度の時間を要することや、時にまぎらわしい粒子が観察されることも事実であり、今回は細胞成分が含まれた smear 中に基本小体が5個以上認められた場合を陽性と判定した。

欧米では NGU 患者の約半数から *C. trachomatis* が検出されることは前述したが、本邦における報告をみると、細胞培養法を用いた検討で加藤ら⁷⁾は59例中30例(50.8%)、恒川ら⁸⁾は21例中8例(38.1%)、また Direct Specimen Test を用いた検討で西浦ら¹⁵⁾は516例中195例(37.8%)、恒川ら⁸⁾は60例中24例(40.0%)より検出している。著者の成績もこれらの報告と類似しており、今回対象となった患者のほとんどは北陸地方在住者であることを考えると、その検出率に地域差は余りないことが推察された。

一方、GU 患者からの *C. trachomatis* の検出率は、欧米では10~30%^{2-5,17)}と報告されている。本邦においては細胞培養法を用いた検討で加藤ら⁷⁾は98例中22例(22.4%)、恒川ら⁸⁾は23例中5例(21.7%)、また Direct Specimen Test を用いた検討で西浦ら¹⁵⁾は161例中27例(16.8%)、恒川ら⁸⁾は61例中13例(21.3%)より *C. trachomatis* を検出している。著者の成績をも考え合わせると、GU 患者の約20%で *C. trachomatis* が混合感染しているものと考えられ、後述するごとく NGU の潜伏期間が GU より長いことを考慮すれば合併頻度は更に高くなることが予想された。この高い合併率は GU 治療の際問題となり、米国疾患統制センターから発刊されている STD 治療指針¹⁸⁾は、この点をも考慮して GU 治療のための抗菌剤としてペニシリン系抗生剤とともにテトラサイクリン系抗生剤の使用を推奨している。

尿道炎患者の背景因子について検討した報告は少ない。最近では、熊本ら¹⁹⁾の GU 患者についての報告がある。この報告によれば、年齢分布は20歳代が最も多く、高齢になるにしたがい減少しているが、10歳代の症例が20.3%を占めていることが注目され、最年少は15歳であったという。著者の成績では、この報告に比し30歳代の割合が多くなっている。また、GU 症例と NGU 症例の比較では、NGU 症例で比較的高齢者にまで分布していた。全症例に対する10歳代の占める割合は、GU で17.9%、NGU で

5.9%と前者で高率であった。

GU 症例の感染源に関して熊本ら¹⁹⁾は、10歳代の sex partner のほとんどはいわゆる girl friend で、年齢が高くなるにつれホステスや特殊浴場の女性の占める割合が高くなると報告しているが、著者の検討では特殊浴場の女性及びホステスが全体の81.9%で大半を占めていた。GU 症例と NGU 症例の比較では、主たる感染源には大差はないが、NGU における regular partner 及び外国の prostitute の占める割合が高くなっていた。ただし、regular partner であるとされた23例中12例は10歳代、20歳代症例におけるいわゆる girl friend であり、この12例中7例(58.3%)から *C. trachomatis* が検出された。これは若年者間にも *C. trachomatis* 感染が広がっていることを示唆する成績とも考えられ、社会的見地からも注目されよう。

潜伏期間については、一般に GU は7日以内、NGU は1~3週間程度といわれているが、今回も GU 症例で短く、NGU 症例で長い傾向が認められたしかし、GU 症例でも8日以上を示した例が39.1%に見られ、熊本ら¹⁹⁾も10日以上潜伏期間を示した。GU 症例が3割弱に見られ、更に一部ではあるが3~4週間以上の症例が認められたことを報告している。近年、米国において病原性の強い淋菌の減少とともに、無症候性淋疾の増加及び症候性症例における潜伏期間の延長が指摘されており²⁰⁾、GU 診断の際に注意する必要がある。なお、NGU における7日以内の短い潜伏期間を有する症例は *C. trachomatis* 陰性例に多い傾向が認められた。この理由として、鏡検及び培養検査で淋菌が false negative となった症例が一部含まれている可能性も考えられるが、真の理由は不明といわざるをえない。NGU における更なる病原微生物の検索が今後の課題であろう。

ま と め

GU 患者28例及び NGU 患者169例の計197例を対象として、FITC 標識モノクローナル抗体を用いて尿道 smear 中の *C. trachomatis* の検出を試み、GU 症例で25.0%、NGU 症例で49.1%の陽性率を得た。

稿を終わるにあたり、検体採取に御協力いただいた福井市稲葉医院稲葉 穂院長、市立小松総合病院亀田健一泌尿器科医長、石川県立中央病院宮城徹三郎泌尿器科医長及び加賀中央病院奥村良二泌尿器科医長に感謝する。

なお、本論文の要旨は第326回日本泌尿器科学会北陸地方会にて発表した。

文 献

- 1) Oriel JD, Reeve P, Powis P, Miller A and Nicol CS : Chlamydial infection. Isolation of Chlamydia from patients with non-specific genital infection. Br J Vener Dis 48: 429~436, 1972
- 2) Holmes KK, Handsfield HH, Wang SP, Wentworth BB, Turk M, Anderson JB and Alexander ER . Etiology of nongonococcal urethritis. N Engl J Med 292: 1199~1205, 1975
- 3) Schachter J, Hanna L, Hill EC, Massad S, Sheppard CW, Conte JE Jr, Cohen SN and Meyer KF Are chlamydial infections the most prevalent venereal disease? JAMA 231: 1252~1255, 1975
- 4) Oriel JD, Reeve P, Wright JT and Oven J : Chlamydial infection of the male urethra. Br J Vener Dis 52: 46~51, 1976
- 5) Jacobs NF, Arum ES and Kraus SJ : Non-gonococcal urethritis : the role of *Chlamydia trachomatis*. Ann Intern Med 86 : 313~314, 1977
- 6) Terho P : *Chlamydia trachomatis* in non-specific urethritis. Br J Vener Dis 54 : 251~256, 1978
- 7) 加藤直樹・伊藤康久・出口 隆・兼松 稔・坂義人・河田幸道・西浦常雄・鄭 漢彬・土井達朗・酒井俊助・松田聖士 *Chlamydia trachomatis* の尿道炎患者からの分離. 感染症誌 58 : 29~38, 1984
- 8) 恒川琢司・熊本悦明・酒井 茂 : FITC 標識 monoclonal antibody を用いた直接塗抹標本蛍光染色による *Chlamydia trachomatis* 尿路性器感染症の臨床的検討. 感染症誌 59 : 478~485, 1985
- 9) 斉藤 功 : 性行為感染症 (STD) の診断と治療. IV. クラミジア, ウレアプラズマ. 臨泌 39 : 293~299, 1985
- 10) Centers for Disease Control: Morbidity and Mortality Weekly Report, Vol 31, No 37, 1982
- 11) Nowinski RC, Tam MR, Goldstein LC, Stong L, Kuo C, Corey L, Stamm WE, Handsfield HH, Knapp JS and Holmes KK : Monoclonal antibodies for diagnosis of infectious diseases in humans. Science 219: 637~644, 1982
- 12) 橋爪 壮 : STD-病因・診断・治療. 1. クラミジアの細菌学. 臨床と細菌 (臨時増刊) : 55~61, 1984
- 13) Stephens RS, Tam MR, Kuo C and Nowinski RC : Monoclonal antibodies to *Chlamydia trachomatis* : Antibody specificities and antigen characterization. J Immunol 128 : 1083~1089, 1982
- 14) Allen M and Courter P : *Chlamydia trachomatis* Direct Specimen Test. Summary report, clinical study No 3, Syva Co, Palo Alto, USA, 1983
- 15) 西浦常雄・加藤直樹・中尾 享・熊本悦明・橋爪壮・北川龍一・林 康之・中村正夫・長田尚夫・小島弘敬・赤尾頼幸・萩原敏且・藤林一平・高瀬善次郎 : FITC 標識モノクローナル抗体 (Micro Track™) による *Chlamydia trachomatis* の検出. 感染症誌 58 : 1306~1314, 1984
- 16) 角井 徹・大西喜夫・中野 博・金本康生 : *Chlamydia trachomatis* 感染症における Micro-Track™ の有用性の検討. 感染症誌 59 : 670~673, 1985
- 17) Terho P : *Chlamydia trachomatis* in gonococcal and postgonococcal urethritis. Br J Vener Dis 54: 326~329, 1978
- 18) Centers for Disease Control: Morbidity and Mortality Weekly Report, Vol 31, No 2S, 1982
- 19) 熊本悦明・酒井 茂・玉手広時・郷路 勉・猪野毛健男・田端重男・丹田 均・坂 丈敏・辺見泉・生垣舜二・田村利勝・佐藤良美・出口浩一 : 淋菌性感染症の疫学的・治療学的研究. (I) 一持続性アモキシシリン (L-AMPC) による検討一. 泌尿紀要 29 : 1537~1564, 1983
- 20) Handsfield HH, Lipman TO, Harnisch JP, Tronca E and Holmes KK : Asymptomatic gonorrhea in men. Diagnosis, natural course, prevalence and significance. N Engl J Med 290: 117~123, 1974

(1985年10月14日受付)