尿路感染症における混合感染の免疫学的研究

岐阜大学医学部泌尿器科学教室 堀 江 正 宣
(主任: 西浦常雄教授)

IMMUNOLOGIC STUDIES ON POLYMICROBIAL URINARY INFECTIONS

Masanobu Horie

Department of Urology, Gifu University School of Medicine

(Director: Prof. T. Nishiura)

Significance of polymicrobial infections of the urinary tract was investigated immunologically in 20 patients with long term indwelling catheter.

Relation between bacterial counts in the urine and the serum or urinary antibody levels were studied. Serum and urine-recoated antibody coated bacteria were detected in relation to the serum or urinary antibody levels and the urinary immunoglobuline levels.

The results obtained were as follows:

- 1) The serum antibody titers to autologous antigens derived from patients' own feces were below 64. Therefore, the significant titer of serum antibody was considered 128 or higher.
- 2) There was a significant correlation between the serum antibody titers to homologous antigens and the bacterial counts in urine.
- 3) The serum antibody titers tended to rise in two weeks in cases with increasing bacterial counts.
- 4) There was a significant correlation between the response of serum antibody and the positivity of S-R.ACB of IgG class, and also between the response of urinary antibody and U-R.ACB of IgG class. The positive rate of S-R.ACB to IgG and IgA was higher than that to S-IgA and IgM, and the positive rate of U-R.ACB to IgG and S-IgA was higher than the others.
- 5) There was no significant difference in the urinary immunoglobulin levels of IgG and IgA between U-R.ACB positive and negative cases. The levels of urinary immunoglobulin were related to the positivity of U-R.ACB to S-IgA, and IgM of which the positive rate was low.
- 6) The positive rate of the urinary antibody was 25% of 12 cases who had had indwelling-catheter for a long time. In all of the urinary antibody positive cases, U-R.ACB to IgG class could be detected. Many organisms isolated from one urinary tract produced their own serum and urinary antibody response and showed positive reaction in R.ACB detection.

要旨: 長期カテーテル留置混合感染症例の20例で、尿中分離菌の個別菌数、血清抗体価、尿中抗体価、Recoated・antibody coated bacteria (R・ACB) の検出、および尿中免疫グロブリンの測定を行ない、以下の結論を得た。

1. 患者の自己糞便分離菌の血清抗体価の測定から、尿路感染症の抗体価陽性限界値を128倍以上とした。
2. 一尿路より分離された複数分離菌の血清抗体価は、菌数に比例して高値となる傾向を認めた。
3. 2週間の間隔を置く2時点の抗体価の変動も菌量の増減に比較的良好に同調する傾向を認めた。
4. R・ACBの検討で、IgGのS-R・ACBは血清抗体価とU-R・ACBは尿中抗体価と相関する傾向を認めた。抗体分析の結果は、S-R・ACBではIgG、IgAで陽性率が高く、U-R・ACBではIgG、S-IgAで陽性率が高値を示した。
5. U-R・ACB陽性の尿中免疫グロブリンはS-IgAで高値を示し、陽性率は低い。IgMでも高値を示し

た。IgG, IgA では尿中免疫グロブリン量と U-R・ACB 陽性間に相関を認めなかつた。

6. 尿中抗体価陽性率は12症例中3例(25%)であつた。尿中抗体価陽性株は全例 IgG の U-R・ACB が陽性であつた。一尿路の分離菌のうち複数の分離菌が、血清抗体価、尿中抗体価、R・ACB 陽性であつた。

緒 言

近年の抗生物質の発展は、各種感染症の治療に関しては偉大な力を発揮してきた。泌尿器科領域においても、単純性尿路感染症の治療に関してはほぼ問題がないと言えよう。反面、尿路系に何らかの基礎疾患を伴う複雑性尿路疾患の治療は、各種抗生剤が横溢した現状にあつても難渋することが多い。たとえば、留置カテーテル症例に認められる細菌尿は、抗生剤で完全に消退せしめることは不可能に近いばかりでなく、その病的意義すら不明のままに放置されているのが現状である。このような複雑性尿路感染症は、腎盂腎炎を進行させ、腎機能低下の原因になるものと考えられるが、一方これらは多種菌株による混合感染のかたちをとることが多く、また容易に菌交代を起す。したがつて、まず混合感染に於けるこれら個々の菌株が尿路感染に於いて如何なる病的意義を有しているのかを検討することが必要である。

慢性カテーテル留置症例における尿路感染症は、混合感染のかたちをとることが多く、UTI 薬効評価基準の疾患病態群によると第5群に属し、難治性感染症であることが多い¹⁾。各種泌尿器科疾患で尿路変更術を余儀なくされた患者の予後に影響を与えるものは、基礎疾患の軽重もさることながら、尿路変更術後にもたらされる慢性複雑性尿路感染症であつて、看過出来ない問題である。

そこで著者は、尿路感染症における混合感染について検討するに当り、このカテーテル留置混合感染症例を対象とし、それらの尿から分離される個々の菌株について、それぞれの病原的意義を、主として、菌株毎の血清抗体価、および形式的には分離菌別 ACB とも言える再生 ACB (Recoated. antibody coated bacteria 以下、R・ACB) を用いて検討したので報告する。

検討対象および材料

検討対象は、混合尿路感染を有している岐阜大学泌尿器科外来における各種尿路変更患者で、尿管皮膚瘻9例(男7, 女2)、腎瘻3例(女3)、膀胱瘻3例(男1, 女2)、尿道留置5例(男5)の計20症例とした。基礎疾患は、尿管皮膚瘻では膀胱腫瘍7例、直腸腫瘍2例、腎瘻では子宮癌1例、先天性水腎症2例であり、膀胱瘻では、尿道癌1例、神経因性膀胱2例であつて、尿道留

置症例は、前立腺癌2例と前立腺肥大症の3例である。材料は、隔週に来科する患者の尿と血液で、尿は採取当日に菌株別に定量培養を行ない、残りの尿は遠沈およびミリポアフィルターで除菌後、原尿、25倍濃縮尿として -80°C で凍結保存し、血液も遠心分離後同様に保存した。

実験方法

1. 血清および尿中抗体の検出

a) 菌体抗原の作成

菌体抗原作成法には種々の方法があるが、著者は Kunin²⁾ の方法に準じて作成した。すなわち、尿中分離菌を HI 寒天培地(栄研)で分離し、TSB (Trypticase Soy Broth, BBL) で増殖させ、生食にて8,000rpm 20分間遠心により3回洗浄し、およそ $1 \times 10^9/\text{ml}$ の浮遊液にして、その10ml を2時間煮沸後、3,000rpm 30分間遠心した上清を antigen として使用した(図1)。

図1 Method

b) 感作赤血球の作成

O型健康人赤血球を、3.8%クエン酸ソーダ0.1ml 添加で採取し、phosphate buffered saline (PBS pH 7.0) にて3回洗浄し、約2%赤血球浮遊液になるように調整

後、先に作成した抗原液と等量で混合し、37°C30分間、恒温槽で振盪 incubate する。これを PBS で3回洗浄して、再び PBS で2%赤血球浮遊液に調整したものを感作赤血球として使用した。

c) 抗体価の測定

56°C30分間 incubate により非働化した被検血清および尿を microplate (Cooke Engineering Co) 上で2倍希釈を行ない、先の感作赤血球を等量 (50 μ l) 加え、37°C 3時間 incubate 後、4°Cで1晩放置した後凝集反応を観察した。以上の概略を図1に示す。

2. 尿中細菌の分離および定量培養

分離用培地としては、ドリガルスキー改良培地、HI 寒天培地、NAC 寒天培地、SF 培地 (以上栄研)、DNA 寒天培地 (日水) を用い、尿を滅菌水にて、 10^{-2} 、 10^{-4} 、 10^{-6} に希釈しその0.1ml を検体につき各2枚ずつの培地に添加し、37°C20時間培養する。菌数の算定は、ドリガルスキー改良培地と HI 寒天培地 での集落数を平均した。

3. Recoated. antibody coated bacteria (R-ACB) の検出

前述の如く分離した菌株を、TSB にて増殖させ被覆抗体の除去をおこない、その後 PBS (pH 7.2) にて洗浄後、プレパラート上で空気乾燥させ塗抹標本を作成した後、アセトンにて固定する。次に、Minicon-B 15 (Amicon) にて25倍濃縮させた検体尿 0.2ml で上記標本と反応させ、37°C30分間 incubate する。ついで PBS で free の尿中抗体を除去後、Behringwerke 社製の市販の蛍光標識抗血清 anti IgG, IgA, IgM 0.2ml で treat し同様 incubate する。PBS で充分洗浄した後、蛍光顕微鏡で観察する。S-IgA の観察については、正確を期するために、蛍光標識抗 S-IgA 血清を用いずに、Anti-SC (free secretory component) で treat 後、蛍光標識抗ウサギ・ヤギ血清 (FITC-labelled anti-rabbit γ -globulin of goat: Behring werke 社) を用いた。この場合、3抗体法になるが、第1抗体反応時は正常人尿を用いて第1コントロールとし、第2抗体使用時は、normal rabbit serum を用い、第3抗体使用時は、non-labelled anti-rabbit γ -globulin of goat origin をそれぞれのコントロールとした。

以上の操作の結果、観察し得た細菌を、原尿の沈査で作成する Thomas³⁾ の antibody coated bacteria (以下 ACB) に対して、recoated. antibody coated bacteria (以下 R-ACB) と称する。このうち、分離菌に尿中抗体

を被覆させたものを、Urine-recoated-antibody coated bacteria (以下 U-R-ACB) と称し、血清を用いた場合、Serum-recoated-antibody coated bacteria (以下 S-R-ACB) と呼称する。以上、U-R-ACB 作成の概略について述べたが、S-R-ACB 作成操作も同様である (図2)。

図2 R-ACB 検出法

4. 尿中免疫グロブリンの測定

尿中免疫グロブリンの測定に関しては、栗山⁴⁾が開発した Enzyme-linked Immunosorbent Assay (E.L.I.S.A.) 法に基づいた。概略を栗山の論文から引用し図3に示す。すなわち、検体を10,000rpm 10分間遠心分離後その上清を用い、0.1MPB pH 7.0で2倍希釈後、このうちの0.1ml に5~10倍希釈した不溶化抗体 (Ab-BrCN Sepharose 4B) 0.1ml を添加して1時間室温で incubate する。ここへ50~100倍希釈した pox 標識抗原 (Ag-pox) を0.1ml 加え、室温で2時間4°Cで12時間 incubate する。この後0.5ml の PB を加えて、3,000rpm 30分間遠心分離し、上清 0.2ml に Pox reagent (1% O-dianisidine and 0.3% H₂O₂) 3ml を添加して1時間室温で反応後の OD 403を測定する。S-IgA の測定も、これと同様に、anti-SC を用いて測定した。また、両側尿管皮

図3 E.L.I.S.A. 法による尿中免疫グロブリンの測定

尿瘻の場合は、分腎尿毎に原尿にて測定した。

実験成績

1. 患者自己糞便に対する血清抗体価

今回の検討対象症例が、尿路変更前に担癌状態であったことが多いことから、血清抗体価陽性限界値の見当をつけるため、患者の糞便より分離された菌株の抗体価の測定を試みた。8症例より4菌種、14株分離され、*E. coli* が8株と最も多く認められた。血清抗体価は表1の如く、最高64倍であった。したがって尿路感染菌株に対する抗体価陽性限界値を128倍とした(表1)。

2. 血清抗体価変動因子の検討

慢性尿路感染症患者に於いて、経過中に認められた尿路分離菌に対する血清抗体価の推移を検討してみると、それぞれに対する血清抗体価は、約半年の経過を観察した範囲では、高抗体価を持続させる菌株以外に、新たに上昇する菌株を認めた(図4)。慢性の抗原刺激のなかにあっても抗体価の上下動を示す事実より、抗体価に変動をもたらす因子の検討が必要である。

a) 分離菌別、尿瘻別血清抗体価

そこで先ず、分離菌別に経過観察中の最高血清抗体価の検討を行なった(図5)。資料の統計的解析はWilcoxonの順位検定を用いて行ない、主要な検定結果は図に示した。分離菌のうち代表的な *E. coli* と、緑膿菌を除くブドウ糖非発酵性グラム陰性桿菌(NF-GNR)の抗体価

表1 糞便分離菌と抗体価

症例	糞便分離菌	菌量 (cell/g)	抗体価
A. M.	<i>E. coli</i>	2×10^7	32
	<i>P. mirabilis</i>	5×10^4	4
	<i>Enterobacter</i>	1×10^6	4
S. O.	<i>E. coli</i>	1×10^8	8
K. A.	<i>E. coli</i>	1×10^7	64
	<i>Enterobacter</i>	1×10^5	8
H. T.	<i>E. coli</i>	6×10^7	32
	<i>K. pneumoniae</i>	3×10^6	32
	<i>Enterobacter</i>	1×10^6	8
A. M.	<i>E. coli</i>	2×10^7	16
	<i>Enterobacter</i>	1×10^7	8
K. W.	<i>E. coli</i>	1×10^7	8
K. K.	<i>E. coli</i>	2×10^7	8
G. S.	<i>E. coli</i>	3×10^6	64

図4 症例 55才♂ Bladder cancer (Total cystectomy with blt. ureterocutaneostomy S. 49. 6)

図5 菌種別及び留置部位別最高血清抗体価

の検定は、 $t=3.0080$, $p=0.0026$ となり、*S. faecalis* との検定では $t=3.8142$, $p=0.0001$ となって、いずれも危険率 1%以下で有意の差を認めた。また、NF-GNR と *S. faecalis* 間の検定でも $t=2.8184$, $p=0.0048$ となつて有意の差であつたが、*E. coli* と、*S. faecalis*, NF-GNR 以外の菌群との間に有意の差を認めなかつた。以上より、グラム陽性球菌と NF-GNR 以外は、すべて高抗体価を示す傾向を認めた(図5)。また、低抗体価を示す2群のなかで、NF-GNR と、*S. faecalis* を代表とするグラム陽性球菌との間にも有意差を認めた。グラム陽性菌については、後に考按の部分で触れるが、Hemagglutination 法で測定する限り、低抗体価しか示さない。これは、グラム陽性球菌が単なる汚染菌で尿路感染症の起炎菌たり得ていないというよりも、むしろ測定法に問題があるのではないかと考えている。詳細は後にゆずる。以上の見解より、*S. faecalis* に代表されるグラム陽性球菌群を以下の検討対象からはずし別に取り扱うことにする。

次に、尿瘻別に抗体価の検討を行なってみると、グラム陽性菌を除いて図5の右端のコラムに示した如くである。ここでも Wilcoxon の順位と検定を行なってみると、上部尿瘻と下部尿瘻間の最高血清抗体価には、 $t=4.4633$, $p<0.0001$ となつて危険率 1%以下で有意の差を認め、下部尿瘻と尿道留置間でも $t=3.6455$, $p=0.003$ で同様有意の差を認めた。上部尿瘻と尿道留置間では、 $t=0.3372$, $p=0.7359$ で有意の差ではなかつたが、一応、尿瘻間の抗体価の比較では、上部尿瘻が最も高く、ついで尿道留置、下部尿瘻の順で抗体価を示したと言えよう。すなわち、各尿路を免疫反応の場として考えた場合、上部尿路が最も強い反応の場と言えよう。また、尿道留置の5症例はいずれも男子で、下部尿瘻と抗体価で差を認めたのは、前立腺部が免疫反応の場として何らかの役割を荷なつていると考えられる。以下の検討で各尿瘻間での抗体価の差を除外するために、検討対象を症例の一番多い上部尿瘻の慢性腎盂腎炎症例のみとする。

b) 薬剤耐性と血清抗体価

検討対象の上部尿瘻(尿管皮膚瘻、腎瘻)症例は、尿路変更後の経過期間は1年から6年にわたっており、この間各種抗生剤にさらされている。そこで Disk 法でみた薬剤耐性別に最高血清抗体価を比較してみた。なお、薬剤耐性としたものは、Disk 感受性で(-)を示したものを用いた。ペニシリン耐性株とアミノ配糖体系薬

剤耐性株の抗体価の間の検定は、 $t=3.3930$, $p=0.0007$ となつて危険率 1%以下で有意の差を認めた。全ての期間の検定結果は、アミノ配糖体系抗生剤耐性以外は差を認めなかつた(図6)。

c) 菌数と血清抗体価

図7は、混合感染症で可能な限り感染菌を分離し、分離菌別の菌数と抗体価の測定値をプロットしたものである。10⁴/ml 以下で分離された菌は手技上わずか8

図9 薬剤耐性と最高血清抗体価

図7 菌数と血清抗体価

(≥ 128) ※ Wilcoxon の順位と検定

株に過ぎない。ここでも菌数毎に抗体価の群間比較を Wilcoxon の順位と検定で行なうと、 $10^4/\text{ml}$ と $10^5/\text{ml}$ の間では、 $t=0.7912$, $p=0.4288$ となつて有意の差を認めなかつたが、 $10^5/\text{ml}$ と $10^6/\text{ml}$ 間は、 $t=4.0763$, $p<0.0001$ となり 1% 以下の危険率で有意差を認めた。以下 $10^6/\text{ml}$ と $10^7/\text{ml}$, $10^7/\text{ml}$ と $10^8/\text{ml}$ 間でも同様に有意の差を認めた。また 128 倍以上を抗体価陽性とした陽性率で各群間の比較を行なうと、陽性率は $10^4/\text{ml}$ は 0% で菌数の増加とともに陽性率は上昇し、 10^8 の order では全例陽性となつた。

次に、菌量の推移と血清抗体価の変動を検討してみた。2 週の間隔を持つ或る 2 時点で菌量の変化と抗体価の変動を図 8 に示す。抗体価の上昇を示したものは上向きの矢印、下降を示したものは下向きの矢印、とくに 2 管以上の変動を認めたものは太字で示した。また破線は、菌数の変動が 1 order 以内を示す。多くの場合は、菌量の変動が 1 order 以内に留まること、1 order 以上の変動では菌量の変動に従つて血清抗体価が上下動する傾向を認めた。

図 8 菌量の推移と血清抗体価の変動

3. 再生 ACB (R・ACB) と血清抗体価の検討

図 9 は、*Klebsiella pneumoniae* の U-R・ACB を蛍光顕微鏡下で 400 倍にて観察したものである。特徴は、原尿を用いた ACB と異つて、尿中白血球等の細胞成分が染色されないことである。

図 9 $\times 400$ U-R・ACB (*K. pneumoniae*)

まず抗 IgG 血清を用いた R・ACB の検討では、分離菌 66 株中、56 株が S-R・ACB 陽性で陽性率は 80% であつた (図 10)。また S-R・ACB を、蛍光の発し具合により (-)~(+), (+), (++)~(+++) の 3 段階に分け、血清抗体価の偏り具合を、Wilcoxon の順位と検定で検討してみると、(-)~(+) 群と (+) 間では、 $t=3.3641$, $p=0.0008$ となつて 1% 以下の危険率で有意差を認めた。しかし (+) 群と (++)~(+++) 群の間では、 $t=0.2237$, $p=0.8230$ となつて有意差を認めなかつた。したがつて、(+) 以上を陽性と判定した。また、S-R・ACB 陽性群と陰性群の血清抗体価陽性率を比較してみると、陽性群は 56 株中 51 株が抗体価陽性でその陽性率は 91.1% であり、陰性群のそれは 10 株中 3 株 30% であつて、S-R・ACB 陽性群で明らかに高抗体価を示した。次に U-R・ACB は、分離菌 62 株中、48 株が陽性で陽性率は 74% であつた。また、U-R・ACB と血清抗体価の関係は、U-R・ACB (-)~(±) 群と (+) 群間との検定結果は、 $t=0.8089$, $p=0.4186$ で有意差を認めず、(+) 群と (++)~(+++) 群間も同様に有意差を認めなかつた。これを抗体価陽性率で検討してみると、陽性群は 48 株中 38 株 79% であり、陰性群は、16 株中 13 株陽性で抗体価陽性率は 80% となつて、両群間でやはり血清抗体価に差を認めなかつた。以上の成績から U-R・ACB の抗体 (尿中抗体) が単なる血中からの漏出抗体ではないことが示唆された。また、抗 IgG 血清を用いた S-R・ACB, U-R・ACB のいずれの陽性率も 70~80% と高く、血清中、尿中とも IgG が重要な役割を荷なつていと考えられる (図 10)。

抗 IgA 血清を用いた検討では、S-R・ACB, U-RACB の陽性率はそれぞれ、80%, 55% であつた。しかし血清

図10 R・ACB (Anti-IgG) と血清抗体価

との関係は、 $t=0.3085$, $p=0.7577$ となり有意の差を認めず、U-R・ACB も同様の結果であつた。慢性尿路感染症においては、免疫反応で IgM は主要な役割を負っていないことがわかる (図12)。

図12 R・ACB (Anti-IgM) と血清抗体価

抗 SC 血清を用いた、S-IgA の R・ACB の検討では、S-R・ACB では陽性率が30%と IgM の場合より更に低率であるが、U-R・ACB の陽性率は80%と高値を示し、尿中局所免疫における役割は無視出来ない。また血清抗体価との関係は、S-R・ACB 陽性群と陰性群の検定結果は $t=1.2499$, $p=0.2113$ となつて有意差を認めず、血清抗体価と、S-IgA の S-R・ACB との間には明らかな関係を認めなかつた。同様に U-R・ACB との関係でも有意差を認めなかつた (図13)。

以上より、抗 IgG 血清を用いた S-R・ACB の陽性、陰性と血清抗体価の多寡がよく相関することから、S-R・ACB は血清抗体価の定性反応であること、慢性腎盂腎炎に於いて血清抗体価の主役は IgG であることが示唆された。また、U-R・ACB で陽性率が高値を示した IgG、S-IgA が尿中局所免疫でかなり重要な役割を荷なつていと考えられる。

4. U-R・ACB と尿中免疫グロブリンの検討

U-R・ACB に結合する尿中免疫グロブリンは、U-R・ACB 作成時のコントロールで既に specific なものと考えられるが、nons-specific antibody (尿中免疫グロブリン)

図11 R・ACB (Anti-IgA) と血清抗体価

図13 R・ACB (Anti-SIgA) と血清抗体価

ン) が単に cover しているものかもしれないとの観点から、尿中免疫グロブリン量と、U-R・ACB の関係を検討した。

まず、慢性カテーテル留置症例の尿中免疫グロブリン値を図14に示した。正常値は、教室の栗山⁹⁾の測定値に基づいた。●印は腎臓および尿管皮膚瘻の慢性腎盂腎炎症例である。尿中 IgG は、上部尿瘻検討症例12例中11例迄が、正常値 $352\mu\text{g/dl}$ 以上で平均 $27,214\mu\text{g/dl}$ (27.2mg/dl) を示した。IgA は14例中10例が正常値 $122\mu\text{g/dl}$ 以上を示し、最高は 1mg/dl 以上の高値を示した1例を認めた。尿中 S-IgA は、 1mg/dl 以上が14例中8例で、 10mg/dl 以上の異常高値を示した2例は、同一症例の右腎尿と左腎尿でそれぞれ 26mg/dl , 16.5mg/dl であった。

図14 カテーテル留置症例の尿中免疫グロブリン

カテーテル留置症例の S-IgA の平均は、 $6,500\mu\text{g/dl}$ (6.5mg/dl) で正常値の $90\mu\text{g/dl}$ を大きく上まつた。一方、尿中 IgM は、14例中10例迄が正常値 $42\mu\text{g/dl}$ 以下に留まり、異常値を示したのは4例のみであった。総じて、慢性腎盂腎炎症例では、尿中免疫グロブリン値はいずれも高値を示した。

次に、尿中免疫グロブリンと U-R・ACB との関係を図15に示した。図の症例は全て、尿管皮膚瘻の慢性腎盂腎炎の症例であり、いずれの症例も混合感染例で複数の菌が分離されている。成績は分離菌毎に dot map で示した。まず IgG の検討では、U-R・ACB 陽性群22株中、19株が正常以上の免疫グロブリン値を示す尿路から分離され、平均 30mg/dl であった。陰性群は8株で、平均 23mg/dl であった。陽性群と陰性群の尿中免疫グロブリン値の t 検定を行なうと、 $p=0.6080$ となつて両群間に有意の差を認めなかつた。IgG のコラム上方にある5コの dot は同一患者の左右の尿管皮膚瘻から分離された菌で、詳述すると、右腎尿の尿中 IgG は 112mg/dl で、分離菌は、*K. pneumoniae* と *E. coli* でありいずれも U-R・ACB 陽性であった。左腎の尿中 IgG は 89.6mg/dl で、分離菌のうち *K. pneumoniae*, *E. coli* は U-R・ACB 陽性で、*P. aeruginosa* は陰性であった。すなわち、IgG の U-R・ACB の陽性・陰性は、尿中 IgG の多寡によるというよりも、分離菌が尿路で感作されたか否かによると考えられる。上記 *P. aeruginosa* は、或る時点においては左腎尿路に於ける起炎性への関与は少ないと言えよう。同様のことは、コラム下段にみられるが如く、尿中 IgG が低値を示していても U-R・ACB 陽性という症例でも言える。

IgA についても、U-R・ACB 陽性群と陰性群で尿中 IgA 値の平均は、それぞれ $332\mu\text{g/dl}$, $220\mu\text{g/dl}$ とな

図15 U-R・ACB と尿中免疫グロブリン

り t 検定で有意差を認めなかつた ($p=0.2234$)。IgA についても、U-R・ACB 陽性、陰性は尿中免疫グロブリン量とは無関係に、分離菌株の条件のみで感作、非感作される結果に基くものと考えられる。一方、S-IgA と IgM については、U-R・ACB 陽性群と陰性群で明らかな差を認めた。S-IgA の U-R・ACB 陽性群23株が分離された尿中 S-IgA の平均は、 $2,840\mu\text{g/dl}$ であり、陰性群のそれは $721\mu\text{g/dl}$ で、 $p=0.0081$ となつて両群間で危険率 1%以下で有意差を認めた。IgM でも同様に、陽性群の平均は $503\mu\text{g/dl}$ で陰性群のそれは、 $13.9\mu\text{g/dl}$ となり、 $p<0.0001$ と著明な差を認めた。また IgM の U-R・ACB が陽性を示した 8 株は、4 尿路 3 症例から分離されたが、採尿時にとくに慢性腎盂腎炎の急性増悪期を思わせる episode は認めていない。

以上をまとめると、IgG、IgA では U-R・ACB 陽性、陰性群間に免疫グロブリン量の量的差を認めないが、S-IgA、IgM では、U-R・ACB 陽性群で免疫グロブリンは高値を示した。

5. R・ACB と尿中抗体価の検討

尿中抗体価の検討は、U-R・ACB 検出時に25倍濃縮尿を使用したため、尿中抗体価との関係を検討する必要性から、抗体価測定にあたつても25倍濃縮尿を第1管として使用した。尿中抗体価の表示は、25倍濃縮尿を第1管とし、倍々希釈の管数で行ない、第5管がほぼ原尿に相当する。また表中に記載の U-R・ACB は抗 IgG 血清によるものである。

尿中抗体価陽性症例は、カテーテル留置慢性腎盂腎炎 12 例中、表 2 の如く 3 例 (25%) であつた。表に示した 3 症例は、いずれも長期留置カテーテルの慢性腎盂腎炎症例で、Case 1, 3 は両側尿管皮膚瘻症例であり、Case 2 は右腎瘻の症例である。尿中抗体価の陽性限界値を何処に置くかは問題であるが、著者の正常人濃縮尿を用いた 5 例の検討では、第1管でも凝集を認めなかつた。しかし、Pearsall ら⁹⁾の報告では原尿の 2 倍希釈尿以上で凝集を認めた場合を陽性としている。これに従うと、著者の測定法では 6 以上になる。この見解に従つて表の成績をみてみると、尿中抗体価陽性 (6 以上) 株は 8 株認め全株とも U-R・ACB 陽性であつた。逆に、U-R・ACB 陽性でありながら尿中抗体価陰性例は、抗体価測定法に問題のある *S. faecalis* を除くと、11 株中 4 株 (36%) 認めた。概して、尿中抗体価と、U-R・ACB はよく相関するようで、S-R・ACB の陽性、陰性とは関係が認められなかつた。また各症例は混合感染例であるが、表の

表 2 尿中抗体価と R・ACB

(Case 1)

分 類 菌	血清抗体価	尿中抗体価*	R・ACB	
			serum	urine
<i>E. coli</i>	2048	6	++	++
<i>K. pneumoniae</i> (rt)	4096	8	+++	++
<i>P. aeruginosa</i> (rt)	512	0	+	—
<i>E. coli</i> (lt)	1024	7	++	++
<i>C. freundii</i> (lt)	1024	6	+++	++
<i>K. pneumoniae</i>	2048	7	+++	++

* : 25 倍濃縮尿を第 1 管として倍々希釈の管数で表記

(Case 2)

	血清抗体価	尿中抗体価*	R・ACB	
			serum	urine
<i>Serratia</i>	1024	7	+++	++
<i>P.morganii</i>	128	0	++	±
<i>S. faecalis</i>	32	0	++	++

* : 25 倍濃縮尿を第 1 管として倍々希釈の管数で表記

(Case 3)

分 離 菌	血清抗体価	尿中抗体価*	R・ACB	
			serum	urine
<i>C. freundii</i> (rt)	512	0	+++	—
<i>P. mirabilis</i> (rt)	256	0	++	—
<i>P.morganii</i> (rt)	1024	2	+	+
<i>P. rettgeri</i> (rt)	256	3	+++	+
<i>S. faecalis</i> (rt)	16	0	+	±
<i>C. freundii</i> (lt)	512	0	+++	—
<i>Enterobacter</i> (lt)	512	0	+++	+
<i>P. vulgaris</i> (lt)	256	0	—	—
<i>P. rettgeri</i> (lt)	32	7	+	++
NF-GNR (lt)	512	8	+++	++

* : 25 倍濃縮尿を第 1 管として倍々希釈の管数で表記

如く分離菌のうち複数の細菌が血清抗体価、尿中抗体価、および R・ACB に陽性にあつて、特定の一菌種に限っていないことから、分離菌の殆どの菌が起炎性に関与しているものと考えられる。また血清抗体価が 512 以上の抗体価をとる 12 株中、尿中抗体価陽性例は 7 株 (58%) であつて陰性例も 5 株認められた。逆に Case 3 の *P. rettgeri* のように血清抗体価が 32 と低値を示したもので尿中抗体価が 7 と陽性になる例も認められた。血清抗体価と尿中抗体価が比較的同調する場合もあるが、両者は相関するとは言い難い。

考 按

一般に Indirect hemagglutination において細菌菌体成分の中、多糖体分画が感作抗原となること、および尿路感染症において血中抗体が検出されることが知られている。本法は Neter⁶⁾ ら (1952) が、antibody の検索に細菌凝集反応に替る方法として紹介して以来、一般的になつた。血中抗体価を語る場合、生体側からみると防禦能の程度であるが、微生物側からみると、生体側への侵襲の反映であつて起炎性の軽重の指標になると考えられる。

1. 血中抗体価陽性限界値について

Indirect hemagglutination 法にて、尿路感染症で起炎性を言々する場合、陽性限界値が問題になつてくる。山本⁷⁾は、自己糞便分離菌に対する血中抗体価で80倍以上は1例も認めなかつたとして、陽性限界値を80倍以上としている。Needle⁹⁾、Pearsall⁹⁾は、正常人コントロールの95%以上が128倍以下を示したとしている。また Percival⁹⁾、および Pujol¹⁰⁾は、160倍を限界値としている。一方上田¹¹⁾の報告では、コントロールは25倍以下としていて諸家の報告毎に一定していない。著者も、今回の検討対象が尿路変異患者が主体で、術前に担瘤状態であつて、免疫反応に修飾があるかもしれないと考え、患者の自己糞便分離菌に対する血清抗体価を測定してみた。8症例で分離された14株は全て64倍以下に留まつたので、著者の場合は、128倍以上を抗体価陽性限界値の目安とした。諸家の報告をみても128倍前後が一応妥当な線と考えられる。

2. 分離菌別血清抗体価について

慢性尿路感染症で分離される菌の血清抗体価は、*S. faecalis* で代表されるグラム陽性球菌と *NF-GNR* 以外は等しく高抗体価を示したことより、上記2組の例外を除くと、分離菌間で起炎性に偏りはないと言えよう。しかし、Cater¹²⁾は *Proteus* が *E. coli* よりよく反応すること、*Aerobacter* で抗体価の上昇を認めないことを報告していることや、Scarpelli¹³⁾、*Pseudomonas* の Immunogenicity が高いとの報告等、グラム陽性球菌以外で菌種間での抗体価の差を強調する報告も認められる。著者が検討した範囲では、*S. faecalis* は菌量が充分のもとで分離されておりながら、最高血清抗体価は全て64倍以下であつた。山本⁷⁾の報告でも、*S. aureus* が40倍以下、*S. epidermidis* が320倍と160倍が各1株ずつ、多数は80倍以下に留まつたとしている。そこで山本⁷⁾は、グラム陽性菌の作成抗原に問題があるのではないかと考

えたが、家兎に免疫することで抗原の正当性を確認している。そこで著者もまず、抗原作製法の検討を若干試みた。図16は超音波破碎法と加熱法で抗体価の titer を比較した実験成績である。両者に有意の差を認めない。また、Lancefield¹⁴⁾の指摘により、菌体浮遊液の pH を酸性側で pH 2, 4, 6 でそれぞれ加熱法にて抗原作成を試みたが、titer に差を認めなかつた。なお酸性 buffer としては pH 2 の KCl-HCl buffer を使用した。以上よりグラム陽性菌の抗原作成方法では差を認めないようであるので、次に血清抗体価測定法についても若干の検討を加えた。著者の私見では、混合感染症に於けるグラム陽性菌の血清抗体価が高値を示さないのは、この菌群が単なる汚染菌というよりも、グラム陽性球菌の菌体抗原がO型赤血球に感作され難いのではないかと考えている。グラム陽性球菌の細胞壁の基本構造が、glycosaminopeptide と teichoic acid の結合体である¹⁵⁾ことから、アミノ酸のN末端に注目し、 ϵ -aminocaproic acid を spacer とし latex に菌体抗原を化学的に結合させられないかと考え、若干の検討を加えた。本法は原理的にも方法論的にも問題が残るようで参考データを附するに留める (図17, 18)。この、Immuno latex 法によると、*S. faecalis* は最高2,048倍迄の測定値を示し、グラム陽性球菌は単なる汚染菌に留まるものではないことが示唆された。今後の検討が必要であると考えている。

3. 尿瘻別血清抗体価について

尿瘻間の抗体価の上昇程度は、上部尿路留置、尿道留置、下部尿路留置の順となつたが、これは、Hewstone

図16 菌体抗原抽出法の比較

図17 Immunolates 法

1. 50 mg/ml の latex 粒子懸濁液 4 ml を 10 ml ピーカに入れる。
2. ピーカ内をスターラーでかく拌しつつ 5 mg の ϵ -ACA (ϵ -aminocaproic acid) と 20 mg の EDC (1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide HCl) を加える。
3. pH を 7.0 とし、4℃ で 2 hrs かく拌する。
4. 反応終了後透析チューブに入れ、0.1 M NaCl にて一晚透析する。
5. 10,000 rpm で 2.0 分遠心分離。
6. 沈査に 5 ml の 0.01 MPB (pH 7.0) を加える。
7. 粒子 50 mg に対して菌体抗原液 1 ml を加える。
8. 10℃ 5 hrs スターラーでかく拌して反応させる。
9. 12,000 rpm 2.0 分遠心分離
10. 沈査を 0.01 MPB (pH 7.0) で 3 回洗浄

↓
microplate にて抗体価の測定

図18 凝集反応の担体の比較 (Immuno latex 法と Haemagglutination 法)

ら¹⁶⁾, Ehrenkranz ら¹⁷⁾, Clark ら¹⁸⁾の上部尿路感染症で有意に血清抗体価が上昇するという成績に一致している。尿道留置例で比較的高抗体価を示したのは、検討対象が男子のみに限られた長期留置患者であつて、前立腺部が免疫反応の場として示唆される。これは、ACB の検出が上部尿路感染症と下部尿路感染症の判別に用いられる以外に、最近 Jones¹⁹⁾ が報告しているように前立腺炎で ACB 陽性になることを考えあわせると興味深い。ただ ACB 検出率だけからいうと、Thorley ら²⁰⁾の報告では尿道留置例の ACB 陽性率は36%と必ずしも高くない。この場合、留置期間の平均が22日と比較的短期間であること、および女子症例が含まれているためと思われる。また Stamey ら²¹⁾によると、尿道留置例の55%に上部尿路疾患を合併していることから、尿瘻間の抗体価の比較は必ずしも容易ではない。

4. 薬剤耐性別血清抗体価について

ディスク感受性の3濃度法で(一)以下を耐性とした場合の薬剤耐性別の血清抗体価の検討では、アミノ配糖体系薬剤耐性以外はすべて同程度で差を認めなかつた。アミノ配糖体系抗生剤耐性株は全株 *S. faecalis* で、これも先に述べた如くグラム陽性球菌群の問題である。検討対象の殆どの症例は長期留置症例で臨床症状が安定しており薬剤の投与は最近行なわれていないことが、薬剤耐性別検討で抗体価の上昇に差を認めなかつた原因であろうと思われる。

5. 菌数と血清抗体価について

菌数と抗体価の検討では、著者の成績では、菌数が 10^4 /ml の抗体価陽性率は0%で、 10^5 /ml で43%、 10^6 /ml、 10^7 /ml で70~80%、 10^8 /ml で100%と菌数の増加とともに抗体価陽性率の上昇を認めた。 10^4 /ml で分離された菌の株数が少ないために断言は出来ないが、抗体価からの評価でも、Kass²²⁾の起炎菌の判定基準の 10^5 /ml 以上を支持する結果となつた。検討対象の全例がカテーテル留置混合感染例で、分離菌毎の菌数の算定は繁雑を極め、 10^4 /ml で分離されたのは僅か8株に過ぎず 10^5 /ml 以下での分離菌は認められなかつた。河田ら²³⁾の報告によると、混合感染の *in vitro* の実験で、*E. coli* と *S. epidermidis* を用いた場合、両者間に 10^3 /ml 以上の菌数のひらきがあると、菌数の少ない側の *S. epidermidis* の検出が不能であるとしている。著者の検討対象症例の分離総菌数は多くの場合 10^7 /ml 程度であるので、河田ら²³⁾の見解に従えば、 10^4 /ml が分離の限界値であろうかと思われる。著者の検討例で明かなように 10^4 /ml で分離されることは稀で、殆どの分離菌は 10^5 /ml 以上で分離され、分離菌の大半が抗体価の上昇を認め慢性腎盂腎炎の病態に深く関与しているものと考えられる。塚田ら²⁴⁾も *Candida albicans* による実験的腎盂腎炎の作成上、菌量は重要であると報告している。同様に血清抗体価の上昇と感染菌の菌数との関係は、山本⁷⁾, Carter ら¹²⁾もよく相関するとしている。以上より、カテーテル留置感染症に於ける治療法の原則としては、菌量を可及的に減少させることであつて、今回の成績では、抗体価陽性値をとらない 10^4 /ml 以下に少くとも菌量を抑えることであろう。この意味で、腎盂洗浄は有用なものと思われ、また菌量増加時の一時的化学療法の意味が認められるが、根本的には tubeless の状態が望ましいことは言うまでもない。

6. 菌量の推移と血清抗体価について

菌量の推移が抗体価に及ぼす影響を検討してみた場合、2週の間中に菌量の増減とともに抗体価が上下動する傾向を認めた。勿論、逆相関の関係で動くものも認められたが、菌量が1 order 以上の変化を示す場合は、抗体価の変動は菌量の増減によく一致した。このことは、抗体価の持続は抗原による慢性刺激が必要であることを表わしているものと思われる。

以上の検討の結果、抗体価の変動に影響を与える因子としては菌量の絶対数と変動であることが明らかになった。カテーテル留置感染症に於ける細菌尿は放置されているのが現状ではあるが、わるくとも菌量の増減の監視が必要で、さらに菌株毎に別個に菌数を測定することが望ましく、異常増加傾向の認められた時には直ちにその菌株に対する化学療法を行なうことが必要であろう。

7. 再生 ACB (R・ACB) と血清抗体価について

1974年、Thomas ら³⁾が上部尿路感染巣由来の細菌は、感染病巣局所で産生される抗体で被覆されており蛍光免疫染色により検出出来ることを報告して以来、antibody-coated bacteria (ACB) についての研究報告が内外で多数認められるようになった。現在の処、ACB の意義は感染部位診断に有用ということにある。これまでの感染部位決定法である、glitter cell の検索²⁵⁾、尿管カテーテル法²¹⁾、いわゆる Fairley 法²⁶⁾ (bladder wash-out test)、simplified water-loading test²⁷⁾ 等に替る、簡便で患者に苦痛を与えない方法として評価はかたまりつつある。

細菌に抗体が結合しているということは、その細菌によつて生体に免疫反応が起こされていることを示し、したがつてその菌株が生体に対して病原的意義を有するということを示していることになる。ACB の応用例の1つとして、混合感染症において複数の分離菌のいずれの菌株が ACB 陽性なのか判別することであるが、これでそれぞれの菌株が感染菌か汚染菌かに選別できる可能性がある。しかし、形態のみによつて菌株の同定は困難であり、また培養を行なうと被覆抗体は取れてしまう。したがつて少なくとも原法によつて混合感染菌を選別することは現在の処手技上不可能であるが、混合感染の実体の解明に興味をもたれる点でもある²⁸⁾。ACB の研究報告は多種彩々であるが、1977年 Smith ら²⁹⁾の家兎の実験的腎盂腎炎に於ける ACB の発現の時期と血清抗体、尿中抗体の発現時期についての検討は興味深い。彼らの成績によると、ACB が80%以上陽性になる時期は腎盂腎炎作成後11～12日目であり2週以後は100%陽性になっている。また、血清抗体は8日までには上昇を認め尿

中抗体は血清抗体出現に遅れること3日、すなわち11日目に検出可能で15日目以後は80%以上陽性になったとしている。すなわち、腎盂腎炎では、血清抗体、ACB、尿中抗体の順で検出可能であり、いずれは2週間以内で反応の極値に達するということである。しかし、教室の蟹本ら³⁰⁾によると、逆行性感染の腎盂腎炎(家兎)では感染後3日以内に ACB が検出されている。とにかく今回の検討で、検体の採取を2週毎にしたのは患者の通院の都合であるが、2週間という interval は免疫反応の time lag を十分に補つたもので理にかなつているものと言えよう。また、ACB がおよそ1週目より検出されはじめ2週で100%検出可能であるという成績の報告は重要であつて、種々の尿路疾患で諸家より ACB 陽性率が報告されているが、測定時期を明確にしないと一概に論じられないことになる。この問題に関しては Jones ら³¹⁾の頻回培養時の ACB 検出率の報告があつて、観察期間中に ACB 陽性化例および陰性化例を認めたとしている。

今回の著者の検討では、慢性腎盂腎炎では ACB は全例陽性であつた。今回の主目的は尿路疾患別の ACB 陽性率の検討ではなく、混合感染症における1症例内の分離菌別 ACB の検討である。ただし、方法としては ACB に似て非なる R・ACB にて検討することになったのであるが、同様の方法は、Smith ら²⁹⁾、湯浅ら³²⁾、Kwasnik ら³³⁾が試みている。さて R・ACB は、ACB の被覆抗体が specific antibody と仮定して生まれた検出法であるが、間接的に血清中あるいは尿中抗体の証明法になると考えて支障ない。この際、treat させる血清および尿の濃度は問題があつて、今回の検討では、血清は原血清、尿は25倍濃縮尿を用いた。湯浅ら³²⁾によれば、U-R・ACB の場合10倍濃縮尿と20倍濃縮尿で蛍光の程度に変わりなかつたとしている。しかし、U-R・ACB の検出が尿中抗体の検出に関係があるとすれば、treat する尿の濃度は問題であつて今後の検討課題である。また、R・ACB 作成にあつて、血清、尿および蛍光標識抗血清との incubation をスライド上に塗布した検体で操作して、Thomas ら³⁾の原法と異なる方法を採用したが、この点については Silverberg ら³⁴⁾がすでに slide glass 上で smear と抗血清を反応させる方法を報告しており、著者ら³⁵⁾も酵素抗体法による ACB の検出を検討しており問題はない。本法は濃縮尿と抗血清は少量で充分で抗血清の節約になる優れた方法と考えている。

R・ACB の抗体別検討で、IgG による S-R・ACB は血中抗体価と有意の相関を認めたことより、S-R・AC

は血清抗体の検出法であり血清抗体価の定性版的要素を持つていると考えられる。また、U-R・ACB と血清抗体価の間には相関を認めなかつたが、慢性腎盂腎炎に於ける血清抗体価と ACB 検出度の相関については、諸家の報告がある。Thomas ら³⁾は、Indirect fluorescent 法にて ACB 陽性例で血清抗体価上昇例が多いことを認めているし、Pujol ら¹⁰⁾も上部尿路感染症で血清抗体価の上昇と ACB 陽性化との間に有意の相関をみとめている。中下³⁹⁾も同様に腎盂腎炎症例の抗体価は全例160倍以上を示し、特に ACB 陽性例では320倍以上であつたとしている。以上より、ACB に直接の類似を思わせる U-R・ACB は IgG の場合、血清抗体価との関連性からは ACB とかなりの懸隔を認める。しかし、抗体分析で各免疫グロブリンの ACB と U-R・ACB の陽性率をみるとかなり似かよつた成績を示した。上田ら¹¹⁾は IgG は14例全例が陽性で一部に IgM 陽性例を認めたが IgA 陽性例を認めなかつたとしているが、中下³⁹⁾の慢性腎盂腎炎における成績では IgG 100%, IgM 22.8%, IgA 33.3%の陽性率で、U-R・ACB の陽性率は、直接の比較にならないが IgG 74.1%, IgA 55.0%, IgM 15.6%となつて各免疫グロブリンの陽性率の順序は両者同様である。

また、血清抗体価が高値のものが必ずしも U-R・ACB 陽性ではないという成績は、尿中抗体が単なる血中からの漏出ではなく、上部尿路とくに腎実質での局所産生が示唆される。この点に関しては、Aoki ら³⁷⁾はヒトの細菌性腎盂腎炎の生検標本で間質組織、尿細管、尿細管上皮、macrophage、血管壁に細菌や無定形の細菌抗原を認め、さらに abacterial pyelonephritis の際にも細菌抗原を認めている。上田ら¹¹⁾も慢性腎盂腎炎症例の腎生検材料で尿細管間質に細菌抗原を認め、リンパ濾胞様細胞浸潤を認める局所に IgG、IgM の局在を認めたとしている。慢性腎盂腎炎の成立は、腎病巣局所へ細菌抗原の固着とそれに続く免疫反応の惹起が重要であると考えられるが、腎組織内の免疫反応と U-R・ACB とが直結しているものか否かについては疑問が残る。

今回の分離菌別 R・ACB の1尿路内での検討では、R・ACB 陽性となる菌は1菌種だけに限定されるということは少く、分離菌の大半が陽性となつた。この事は、混合感染で分離された菌の多くが単なる汚染菌ではなく起炎菌として意味をもつものであると言えよう。

免疫グロブリン別には、IgG が S-R・ACB、U-R・CB で陽性率が最も高いことから、血清、尿中抗体の

主役であり、IgA は補足的に関与し、IgM は少なくとも慢性尿路感染症では関与の度合いが少ないと考えられる。また S-IgA は血中より尿中での役割が重要ということになる。この点に関しては、O抗体は初めは19S 抗体 (IgM Class) のみと考えられていたが、Hanson²⁸⁾は 2-mercaptoethanol で処理後に残る 7S 抗体 (IgG, IgA class) で抗体価の測定が可能であつた報告や、Vosti ら³⁹⁾の腎盂腎炎では 7S 抗体の上昇が特徴的であるとする報告に一致している。

8. 尿中免疫グロブリンと U-R・ACB について

カテーテル留置症例の尿中免疫グロブリンは、14例中正常域に留まる症例は、IgG 2例 (16%), IgA 4例 (28%), IgM 10例 (71%), S-IgA 3例 (21%) で IgM を除くとすべて高値を示し、正常範囲に留まることが多い IgM も異常高値を示す症例があることが明らかになつた。慢性腎盂炎の尿中免疫グロブリンについては、中下³⁹⁾も SRID 法で測定しており異常高値を示したものは IgG で3例 IgA で1例であり、IgM は全例 0.1mg/dl 以下としている。著者の検討例でもバルチゲン法であれば中下の測定値に近いものと思われるが、E.L.I. S.A. 法によつたため μ g 単位での比較が可能となつた。Thomas ら⁴⁰⁾の報告でも IgG は最高34.9mg/dl、IgA では15mg/dl で、IgM は大半は測定不能であつたとしているが 0.2mg/dl、1mg/dl、41mg/dl の高値をとる3症例を報告しており、IgM でも異常高値を示す症例があることは明らかである。

次に、尿中免疫グロブリンの多寡と U-R・ACB の関係では、IgG と IgA では陽性群と陰性群の間で免疫グロブリンの量的差を認めず、IgM と S-IgA で明らかに U-R・ACB 陽性群で高値を示した。このことは、IgG と IgA に関しては尿中に non-specific な natural antibody が多く、IgM と S-IgA ではより specific な免疫グロブリンで占められていること、および前者が腎実質内部で感作を受けるのに対し、後者はこれよりさらに尿路に面した部位、例えば尿細管あるいは腎盂で感作されるのではないかという推測がなされる。少なくとも免疫の場が異なる印象がもたれる。また、尿中の分離菌に specific な antibody は感作部位 (腎尿細管) で産生され尿中に分泌され、一方 non-specific antibody (natural antibody) は炎症反応に伴つて主として腎間質組織を中心に増産され、血清中にも増加したこれらの尿中への増加は慢性腎盂腎炎の尿細管障害の結果として血中からの漏出抗体と考え、血清中濃度の高い IgG と IgA で尿中免疫

グロブリンに non-specific な抗体が多く、反対に血清濃度の低い IgM と S-IgA では尿中に natural antibody が少くてより specific な抗体で占められているという上記の実験成績が理解される。また、specific antibody の IgG と IgA class の尿中免疫グロブリンは分離菌感作の結果であると考えられるが、IgM と S-IgA に関しては、U-R・ACB 作成の事実から流尿中での免疫反応も充分考えられる。

9. 尿中抗体価と U-R・ACB について

尿路感染症における尿中抗体価については、1966年 Pearsall ら⁵⁾が最初に報告していて、原尿の2倍以上を抗体価陽性としている。彼らの成績によると54例中12例(22%)が尿中抗体価陽性例で最高でも16倍であつたとしている。著者の成績では、濃縮尿を使用したため浸透圧の関係で測定不能となる case も認めたがこれを陰性と考えると12例中3例(25%)が尿中抗体価陽性ではほぼ同様の成績であった。U-R・ACB と尿中抗体価の関係については、*S. faecalis* を除く17株中8株が抗体価陽性例で8株すべて U-R・ACB 陽性であつた。これは、S-R・ACB が血清抗体価の定性反応であると同様、U-R・ACB が尿中抗体価の定性試験という可能性が強いと考えられる。さらに、1尿路から分離された複数の菌が血清抗体価、尿中抗体価および R・ACB で陽性を示すことが多いという実験成績は、混合感染症の分離菌に均等の起炎性を附与するものである。また、尿中抗体価と血清抗体価との間に必ずしも相関関係を認めなかつたが、Pearsall ら⁵⁾は尿中抗体が局所で産生されることに原因を求めている。また、血清抗体価の感染防禦の意義としては、Williamson ら⁴¹⁾は in vivo では antigen が mask され直接の抗体結合が妨害され血清抗体は慢性腎盂腎炎の進行を防止するものではないとしている。同様に in vivo で免疫反応を障害するものとしては、Beeson ら⁴²⁾の腎での ammonia 産生による anticomplimental effect, あるいは Chernew ら⁴³⁾の尿の高浸透圧による phagocytosis 抑制効果等の報告がある。しかし、著者の成績では血清抗体価の低い患者の尿に specific antibody を認めており、Pearsall ら⁵⁾は尿中抗体が上行感染を防止し腎盂腎炎の抑制に重要な役割をはたしているのではないかと推測している。同様に血清抗体が防禦効果を認めたとする報告には Kaijser ら⁴⁴⁾の家兎の血行性腎盂腎炎作成に際し、O6 抗体と K13 抗体の防禦効果を認めたが HI 効体には認めなかつたとする報告もある。また Glynn ら⁴⁵⁾の K 抗原が phagocytosis および補体の殺菌作

用を妨害しているために感染成立を容易にするという報告から K 抗原が注目され、Hanson ら³⁸⁾の rat の上行性腎盂腎炎の作成で K 抗体のほうが O 抗体より防禦効果を認めるという報告がある。

また、尿中抗体の origin としては Neil ら⁴⁶⁾および Vosti ら³⁹⁾の血清抗体の尿路への漏出説に対し、局所産生説として古くは Naylor ら⁴⁷⁾の urinary typhoid carrier における膀胱での抗体産生、Lehmann ら⁴⁸⁾の rabbit の実験的腎盂腎炎における局所での IgG 産生、Hand ら⁴⁹⁾の同じく rabbit の実験的膀胱炎での IgG 産生の報告がある。また臨床例においても Uehling ら⁵⁰⁾の再発性女子尿路感染症での尿中免疫グロブリン増加の報告等があるが、著者は先に述べたように両方由来の抗体が存在するものと推測している。

一方、呼吸器、消化器における分泌型 IgA (S-IgA) が尿中にも認められることを Benenstock ら⁵¹⁾が最初に報告しているが、最近栗山⁵²⁾は、E.L.I.S.A. 法にて正常尿路各部における S-IgA の測定の報告をしている。それによると、S-IgA の分泌は、腎尿管、膀胱、尿道と下部尿路へ行く程分泌量が多いとしている。著者の U-R・ACB と免疫グロブリンの検討で S-IgA と IgM がよく似た成績を示していて、共通の免疫反応の場が推測される。また ACB が腎などの実質性感染の場合にのみ陽性になることから考えると、尿道や膀胱で多量分泌される自然抗体と異なつて ACB にみられる特異抗体の産生には局所免疫の場が存在するわけであるが、通常の膀胱炎では何故局所免疫の場が作られないのか今後解明すべき問題であろう。

10. 尿路混合感染における起炎菌の推定

山本⁷⁾は、尿中分離菌に対する血清抗体の証明は尿路感染症における起炎菌決定に有用であるとしているが、著者の成績も同様であつて、さらに尿中抗体、R・ACB の検討で明確になるものとする。今回の検討対象である腎盂内カテーテル留置症例では、分離菌は複数であることが多く、カテーテル留置という特殊条件下で、カテーテル付着細菌およびカテーテル交換時の stoma 周囲の付着菌混入は避けられない。このため尿中分離菌のうち、真の起炎菌と汚染菌の鑑別は容易ではない。著者はこの点について若干の検討を試みた。表3の如く、尿中の分離菌とカテーテルおよび stoma からの分離菌は必ずしも一致していないこと、同種の菌種でも strain が異なると血清抗体価が違ふこと、stoma、カテーテルからの分離菌にも血清抗体価陽性の株を認めるという成績を

表3 ストーマ、カテーテルよりの分離菌と尿分離菌との比較

	尿	ストーマ	カテーテル
右腎	E.coli (4096) P.mirabilis (64) P.morganii (64) P.rettgeri (<8) S.faecalis (<8)	P.mirabilis (256) S.faecalis (<8) P.aeruginosa (128)	E.coli (512) P.mirabilis (64) P.aeruginosa (128)
左腎	E.coli (4096) P.mirabilis (64) S.faecalis (<8) NF-GNR (<8)	E.coli (64) P.mirabilis (128) S.faecalis (<8) P.aeruginosa (128)	P.mirabilis (64) S.faecalis (<8)

()：血清抗体価

尿分離菌との一致率

	ストーマ	カテーテル
右腎	1/3 = 33%	1/3 = 33%
左腎	2/4 = 50%	2/2 = 100%

得た。血清抗体価から考えると、本症例の真の起炎菌は E. coli であつて、その他の菌は汚染菌であると考えられる。stoma、カテーテルからの分離菌で抗体価陽性菌を認めるが、これは以前に尿中に存在した起炎菌と考えられる。カテーテル留置症例においては、カテーテル交換毎に瘻孔内外の菌が入れ替りを繰り返えし、複雑な様相を呈する混合感染症になつているものと言えよう。中下³⁶⁾もこの点に関して、尿中から 10⁵/ml 以上で分離された菌で ACB が 1/4 の症例で陰性であつたとしている。また、本症例ではたまたま E. coli という一菌種のみが抗体価陽性を示しているが、一般的には複数の菌が抗体価陽性になることが多いのは既述の如くである。

これまでの検討で、混合感染例における起炎性の決定は、血清抗体価と U-R・ACB の検索が最も重要であろうかと思われる。血清抗体価と U-R・ACB との違いは局所免疫反応の場の相違によるものと思われるが、逆行性感染では一般に U-R・ACB の場より、より深部の実質へとその場が波及して血清抗体を産生するようになり、さらには菌血症を起こすことによつて血清抗体の著明な上昇が認められるものと思われる。S-R・ACB の IgG はほぼ血清抗体価で代用出来るし、その他の免疫グロブリンによる S-R・ACB は意味が不明である。また、尿中抗体価は U-R・ACB と同様局所免疫反応をみる点で意義深いが、現在の hemagglutination 法では測定不能例も生じること、IgG の U-R・ACB ではほぼ代用出来ること、および IgM、S-IgA の U-R・ACB はその他の尿中局所免疫反応をみられる点で U-R・ACB の検出を

推奨したい。しかし尿中細菌の菌数を個別に測定することによつてもある程度の選別は可能である。

結 語

カテーテル留置混合感染症例で、尿中分離菌の個別菌数、血清抗体価、尿中抗体価、R・ACB の検出、および尿中免疫グロブリンの測定を行ない以下の結果を得た。

1. 患者の自己糞便分離菌の血清抗体価の測定から、抗体価陽性限界値を 128 倍以上とした。S. faecalis や NF-GNR を除くと分離菌別および薬剤耐性別には血清抗体価の差を認めなかつた。カテーテル留置部位別には、上部尿路、尿道、下部尿路留置の順に血清抗体価は高値を示した。

2. 一尿路より分離された複数分離菌の血清抗体価は、菌数に比例して高値となる傾向を認めた。2 週間の間隔を置く 2 時点の抗体価の変動も菌量の増減に比較的良好に同調する傾向を認めた。

3. R・ACB の検討で、IgG の S-R・ACB は血清抗体価と、U-R・ACB は尿中抗体価と相関する傾向を認めた。抗体分析の結果は、S-R・ACB では IgG、IgA で陽性率が高く、U-R・ACB では IgG、S-IgA で陽性率が高かつた。慢性腎盂腎炎では、IgM の関与は少ないと思われた。

4. 尿中免疫グロブリンを E.L.I.S.A. 法で測定し U-R・ACB との相関を検討した。カテーテル留置症例の各種免疫グロブリンはいずれも高値を示した。U-R・ACB 陽性の尿中免疫グロブリンは S-IgA で高値を示し、陽性率は低い。IgM でも高値を示した。IgG、IgA

では尿中免疫グロブリン量と U-R・ACB 陽性間に相関を認めなかった。

5. 尿中抗体陽性率は12症例中3例(25%)であつた。尿中抗体価陽性株は全例 IgG の U-R・ACB は陽性であつた。一尿路の分離菌のうち複数の分離菌が、血清抗体価、尿中抗体価、R・ACB 陽性であつた。

6. 血清抗体価、尿中抗体価、R・ACB は分離菌の起炎性決定に有用な検査であることが示唆された。

7. 慢性の混合感染症で分離される菌のうち、少くとも尿の通常の培養法で検出される菌株については汚染菌の占める割合は少なく、分離菌の殆どが起炎菌と考えるべきで、生体側への侵襲の程度としてみた血清抗体価に菌量と与える影響には重大なものがあつた。したがつて臨床上一可及的に菌量の減少をはかるべきものと考えられた。なお免疫反応がある程度菌数に比例した事実より、混合感染では菌株別に菌数を測定して観察することが必要であると考えられた。

本論文の要旨は第26回日本化学療法学会西日本支部総会および第67回日本泌尿器科学会総会で発表した。

稿を終るに臨み、終始懇切なる御指導と御校閲を賜つた恩師西浦常雄教授と河田幸道助教授に深甚の謝意を表わすと共に、種々の御協力をいただいた医局員諸兄に感謝いたします。

文 献

- 1) 河田幸道, 西浦常雄: 尿路感染症における化学療法剤の薬効評価基準について II. 複雑性尿路感染症における薬効評価基準. 日泌尿会誌, **70**, 534—545, 1979.
- 2) Kunin, C.H.: Antibody distribution against non enteropathic *E. coli*. Arch. Intern. Med., **110**, 676—686, 1962.
- 3) Thomas, V., Shelokov, A. and Forland, M.: Antibody-coated bacteria in the urine and the site of urinary tract infection. New Engl. J. Med., **290**, 588—590, 1974.
- 4) 栗山 学: E.L.I.S.A. 法による尿中免疫グロブリンの測定. 日泌尿会誌, **70**, 228—233, 1979.
- 5) Pearsall, N.N. and Sherris, J.C.: The demonstration of specific urinary antibodies in urinary tract infections caused by gram-negative bacilli. J. Path. Bact., **91**, 589—595, 1966.
- 6) Neter, E., Bertram, L.F., Zak, D.A., Murdock, M.R. and Arbesman, C.E.: Studies on hemagglutination and hemolysis by *Escherichia coli* antisera. J. Exp. Med., **96**, 1—15, 1952.
- 7) 山本隆司: 尿路感染症の免疫学的研究. 第1編

正常人血清及び急性膀胱炎患者血清抗体(赤血球凝集素価). 日泌尿会誌, **55**, 386—395, 1964.

- 8) Needell, M.H., Neter, E., Staubitz, W.J. and Bingham, W.A.: The antibody (Hemagglutinin) response of patients with infections of the urinary tract. J. Urol., **74**, 674—672, 1955.
- 9) Percival, A., Brumfitt, W. and Louvois, J.: Serum-antibody levels as an indication of clinically inapparent pyelonephritis. Lancet., **II**, 1072—1033, 1964.
- 10) Pujol, A., Linares, F., Munoz, J., Rusconi, A., Orejas, V.: A new method for detection and localization of urinary infection: The fluorescence antibody test. Eur. Urol., **2**, 145—148, 1976.
- 11) 上田 泰, 大森雅久, 井原裕宜: 腎疾患の免疫組織学的アプローチ 4. 腎盂腎炎と免疫. 日腎誌, **19**, 835—839, 1977.
- 12) Carter, M. J. and Ehrenkrantz, N.J.: Immunologic studies in urinary tract infections. Correlation of hemagglutinin response with bacteriuria following catheterization. J. Lab. Clin. Med., **67**, 13—22, 1966.
- 13) Scarpelli, P.T., Bigioli, F., Masini, G., Majo, E. De. and Romeo, B.: The antibody response in chronic pyelonephritis. Clin. Nephrol., **12**, 7—13, 1979.
- 14) Lancefield, R.C.: A serological differentiation of human and other groups of hemolytic streptococci. J. Exp. Med., **57**, 571—595, 1933.
- 15) 津田恭介, 野上 寿: 微生物薬品化学, 医学薬品開発基礎講座 IV, p. 35—41, 地人書館, 東京, 1971.
- 16) Hewstone, A.S. and Whitaker, J.: The correlation of ureteric urine bacteriology and homologous antibody titer in children with urinary infection. J. Pediatr., **74**, 540—543, 1969.
- 17) Ehrenkrantz, N.J. and Carter, M.J.: Immunologic studies in urinary tract infections. J. Immun., **92**, 798—805, 1964.
- 18) Clark, H., Ronald, A.R. and Turck, M. et al.: Antibody response in renal versus bladder bacteriuria. J. Infect. Dis., **123**, 539—543, 1971.
- 19) Jones, S.R.: Prostatitis as caused antibody-coated bacteria in urine. New Engl. J. Med., **291**, 365, 1974.
- 20) Thorley, J.D., Barbin, G.K. and Reinartz, J.: The prevalence of antibody-coated bacteria in urine. Amer. Med. Sci., **275**, 75, 1978.
- 21) Stamey, T.A., Govan, D.E. and Palmer, J.M.: The localization and treatment of urinary tract infections. The role of bactericidal urine

- level as opposed to serum level. *Medicine*, **44**, 1—36, 1965.
- 22) Kass, E.H.: Bacteriuria and the diagnosis of infections of urinary tract. *Arch. Int. Med.*, **100**, 709—714, 1975.
 - 23) 河田幸道, 西浦常雄: 尿路感染症における菌交代. *最新医学*, **34**, 1759—1768, 1979.
 - 24) 塚田 修, 岸 洋一, 新島端夫, 山口英世: *Candia albicans* による実験的腎盂腎炎の作成. 第67回日本泌尿器科学会総会(演), 東京, 1979.
 - 25) Poirier, K.P. and Jakson, G.G.: Characteristics of leukocytes in the urine sediment in pyelonephritis. *Amer. J. Med.*, **23**, 579—543, 1975.
 - 26) Fairley, K.F., Bond, A.G., Brown, R.B. and Habersberger, P.: Simple test to determine the site of urinary tract infection. *Lancet*, **2**, 427—428, 1967.
 - 27) Dontas, A.S., Marketos, P.C., Papanayiotou, P.C., Tsekos, G.N. and Malamos, B.K.: Simplified water-loading test in bacteriuria. *Nephron*, **12**, 121—128, 1974.
 - 28) 河田幸道: 腎盂腎炎. 診断と治療, **65**, 44—47, 1977.
 - 29) Smith, J.W., Jones, S.R. and Kaijser, B.: Significance of antibody-coated bacteria in urinary sediment in experimental pyelonephritis. *J. Infect. Dis.*, **135**, 577—581, 1977.
 - 30) 蟹本雄右, 堀江正宣, 栗山 学, 出口 隆, 河田幸道, 西浦常雄: 家兎を用いた上行性実験的腎盂腎炎(第Ⅱ報), 第68回日本泌尿器科学会総会(演), 神戸, 1980.
 - 31) Jones, S.R. and Johnson, J.: Further evaluation of the test for detection of antibody-coated bacteria in urinary sediment. *J. Clin. Microbiol.*, **5**, 510—513, 1977.
 - 32) 湯浅正明, 上間健造, 藤村宣夫, 黒川一男: 複雑性腎盂腎炎における Antibody coated bacteria の意義. 第26回日本化学療法学会西日本支部総会(演), 名古屋, 1978.
 - 33) Kwasnik, I., Klauber, G. and Tilton, R.C.: Clinical and laboratory evaluation of the antibody-coated bacteriatest in children. *J. Urol.*, **121**, 658—661, 1979.
 - 34) Silverberg, D.S., Jackson, F.L. and Bryan, L.E.: Antibody coated bacteria in the urine of preschool and school-aged girls with asymptomatic bacteriuria. *CMA Journal*, **115**, 1091—1093, 1976.
 - 35) 栗山 学, 堀江正宣, 蟹本雄右, 河田幸道, 西浦常雄: 酵素抗体法による Antibody coated bacteria の検出. *臨床免疫*, **10**, 887—892, 1978.
 - 36) 中下英之助: 上部尿路感染症の免疫学的研究. *日泌尿会誌*, **69**, 1219—1229, 1978.
 - 37) Aoki, S., Imamura, S., Aoki, M. and McCabe, W.R.: “Abacterial” and bacterial pyelonephritis. Immunofluorescent localization of bacterial antigen. *New Engl. J. Med.*, **281**, 1375—1382, 1969.
 - 38) Hanson, L.A. and Winberg, J.: Demonstration of antibodies of different immunoglobulin types to the O-antigen of the infecting *E. coli* strain in infants and children with pyelonephritis. *Nature*, **212**, 1495—1496, 1966.
 - 39) Vosti, K. and Remington, J.S.: Host-parasite interaction in patients with infections due to *Escherichia coli*. III. Physicochemical characterization of specific antibodies in serum and urine. *J. Lab. Clin. Med.*, **72**, 71—83, 1968.
 - 40) Thomas, V.L., Forland, M. and Shelokov, A.: Immunoglobulin levels and antibody-coated bacteria in urines from patients with urinary tract infections. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **148**, 1198—1201, 1975.
 - 41) Williamson, J., Brainerd, H., Scaparone, M. and Chueh, S.P.: Antibacterial antibodies in coliform urinary tract infection. *Arch. Intern. Med.*, **114**, 222—231, 1964.
 - 42) Beeson, P.B. and Rowley, D.: The anticomplemental effect of kidney tissue. *J. Exp. Med.*, **110**, 685—697, 1959.
 - 43) Chernew, I. and Braude, A.I.: Depression of phagocytosis by solutes in concentrations found in the kidney and urine. *J. Clin. Invest.*, **41**, 1945—1953, 1962.
 - 44) Kaijser, B. and Olling, S.: Experimental hematogenous pyelonephritis due to *Escherichia coli* in rabbits: The antibody response and its protective capacity. *J. Infect. Dis.*, **128**, 41—49, 1973.
 - 45) Glynn, A.A. and Brumfitt, W. and Howard, C.J.: O antigen of *Escherichia coli* and renal involvement in urinary-tract infections. *Lancet*, **i**, 514—516, 1971.
 - 46) Neill, J.M., Baspari, E.L. and Mosley, R.A.: Loss of immune substances from the body. *J. Immunol.*, **20**, 347—369, 1931.
 - 47) Naylor, R.G.E. and Galdwell, R.A.: The Origin of urinary antibodies. *J. Hyg. (Camb.)*, **51**, 245—257, 1953.
 - 48) Lehmann, J.D., Smith, J.W., Miller, T.E., Barneff, J.A. and Sanford, J.P.: Local immune response in experimental pyelonephritis. *J. Clin. Invest.*, **47**, 2451—2455, 1968.
 - 49) Hand, W.L., Smith, J.W., Miller, T.E., Barneff, J.A. and Sanford, J.P.: Immunoglobulin synthesis in lower urinary tract infection. *J. Lab. Clin. Med.*, **75**, 19—29, 1970.

- 50) Uehling, D.T.: Immunoglobulin excretion in women with recurrent urinary tract infection. J. Urol., **109**, 302—303, 1973.
- 51) Bienenstock, J. and Tomasi, T.B. Jr.: Secretory γ -A in normal urine. J. Clin. Invest., **47**, 1162—1172, 1968.
- 52) 栗山 学: 尿中分泌型 IgA の研究 (1) 尿路における局在性について. 日泌尿会誌, **70**, 1129—1141, 1979.

(1980年10月20日受付)