尿中の白血球の貪食能の検討

岐阜大学医学部泌尿器科学教室 前 田 真 一
(主任: 西浦常雄教授)

STUDIES ON THE PHAGOCYTIC FUNCTION OF URINARY LEUKOCYTES

Shin-ichi Maeda

Department of Urology, Gifu University School of Medicine

(Director: Prof. T. Nishiura, M.D.)

The phagocytic function of urinary leukocytes of patients with urinary tract infection (UTI) was studied.

Urinary leukocytes were alive irrespective of the type of UTI, urine osmolality or pH. The mean rate of the viability was observed to be 82%. The rate of phagocytosis, the percentage of leukocyte phagocytizing bacteria in all urinary leukocytes, was high under the urine condition of low osmolality (≤ 600 mOsm/L) and nearly neutral pH. The mean rates of phagocytosis of patients with acute cystitis, acute pyelonephritis, chronic cystitis, and chronic pyelonephritis were 3.0%, 2.1%, 13.2%, and 18.3%, respectively. The rate of phagocytosis of acute UTI was kept very low regardless of urine bacterial count; however, in chronic UTI, this rate increased in accordance with urine bacterial count.

The rate of phagocytosis of patients with indwelling catheters was higher than that of patients without catheters.

All chronic cystitis patients with indwelling catheters and 58% of chronic cystitis patients without catheters showed to have positive tests for antibody-coated bacteria (ACB). The opsonic effect of ACB could not be confirmed.

The phagocytic function of urinary leukocytes was also studied *in vitro*. By the Lab-Tek chamber method, the rate of phagocytosis was 20 to 30% in normal and infected urine regardless of urine osmolality. By the tube method, the phagocytosis was almost none in urine with osmotic pressure higher than 600 mOsm/L, and even in urine with osmotic pressure lower than 600 mOsm/L the rate of phagocytosis was lower than 5% in many cases.

However, the rate of phagocytosis apparently increased in urine with osmotic pressure lower than 600 mOsm/L by centrifuging the tubes, which means accelerated contact of leukocytes and yeasts. No difference in the rate of phagocytosis was observed between normal urine and infected urine.

The following three experiments were conducted by the transmission electron microscope; morphological study of urinary leukocytes of patients with various types of UTI, observation of phagocytosis in infected urine added with latex particles, and that of phagocytosis in aseptic pyuria added with bacteria.

The above results suggest that leukocytes in urine are not mere passive spillover as long considered but taking a part of defense function against ascending UTI.

要旨: 尿路感染症患者の尿中の白血球は平均82%が生存しており, 詳細に観察すると, 細菌を貪食しているものが少なからず認められた。全体の白血球の中で細菌を貪食している白血球が占める割合(貪食率)の高い尿は浸透圧が600mOsm/L以下, pHが7~8であった。急性膀胱炎, 急性腎盂腎炎, 慢性膀胱炎, 慢性腎盂腎炎の平均貪食率はそれぞれ, 3.0%, 2.1%, 13.2%, 18.3%であった。急性症では尿中細菌の菌数にかかわらず貪食率は低値で, 慢性症では菌数の増加に伴い貪食率が増加した。カテーテル留置例は非留置例に比し貪食率は高値であった。カテーテル留置の慢性膀胱炎患者は全例 antibody-coated bacteria (ACB) 陽性で, 非留置の慢性膀胱炎患者でも58%が陽性であった。ACBのオプソニン効果は明らかでなかった。末梢血多核球を分離し正常および感染尿中で酵母の貪食実験を施行すると,

Lab-Tek chamber 法では正常尿、感染尿とも800mOsm/L まで浸透圧にかかわらず20～30%の白血球が貪食したが、tube 法では600mOsm/L を越えると貪食は行なわれず、600mOsm/L 以下でも多くは5%以下であつた。しかし、tube を遠沈し接触機会を増加させると600mOsm/L 以下では著明に増加した。正常尿と感染尿で貪食率に及ぼす差異は認められなかつた。尿路感染症の尿中の白血球の微細構造と、感染尿に latex 粒子、無菌性膿尿に大腸菌を注入した場合の貪食状況を電子顕微鏡で確認した。以上の観察より尿中の白血球も感染防御の一役を担っているものと考えられた。

I. 結 言

従来、尿路腔へ遊出した白血球は尿の種々な条件(高浸透圧、低 pH、高尿素窒素、血清成分の極低値など)により、ほとんど機能は有さず単なる遊出産物であろうとされてきた¹⁾²⁾³⁾。一方、近年 rat の膀胱感染実験ではあるが、膀胱腔内にて多数の好中球が細菌を貪食している像が電子顕微鏡的に認められたとする報告⁴⁾や、急性膀胱炎患者の尿中の白血球を minimal essential medium に浮遊させると、40%前後の白血球が latex 粒子を貪食するという報告⁵⁾もある。臨床的には、淋病の場合に多核白血球の細胞内に多数の淋菌を認めることができるが、一般細菌に関しては上皮に付着した尿道常在菌と思われる細菌をしばしば認める程度と考えられていた。しかし、我々は慢性尿路感染症患者の尿を注意深く観察すると、細菌を貪食している白血球を認めることが少なくないことに気づいた。そこで今回、尿中の白血球の貪食能について改めて検討することとした。

まず、尿路感染症 (UTI) 患者の尿中の白血球が生存しているか否かを検討し、ついでその中に細菌を貪食している白血球がどの程度認められるかを疾患群別に検討した。さらに、白血球が尿路腔に遊出した後にも貪食が起こりうる現象であることを証明するために、ヒトの尿中の白血球がその感染尿中で貪食能を有するか否かの実験を行ない、光顕的、電顕的に観察した。また、antibody-coated bacteria (ACB) と尿中の白血球の細菌貪食率との関係を検討し、ACB のオプソニン効果についても考按した。

II. 検討対象

検討対象は、UTI を有している外来および入院患者166名で、詳細は Table 1 に示した。男性は中間尿、女性はカテーテルで採尿した尿を、routine の生化学的検査の後、その10ml を1,500回転、10分間遠沈し、decant して得た沈査を1ml 容量のプラスチックスポイトで吸排攪拌し、そのスポイトで1/2滴をスライドグラスにのせ、カバーグラスをのせ400倍で検鏡した。白血球が1視野10個以上認められ、dip slide 法による尿

Table 1 No. of cases

Clinical diagnosis		Male	Female	Total
Acute pyelonephritis		5	5	10
Acute cystitis		0	30	30
Chronic pyelonephritis	catheter not indwelt	6	19	25
	catheter indwelt	15	16	31
	total	21	35	56
Chronic cystitis	catheter not indwelt	21	22	43
	catheter indwelt	22	5	27
	total	43	27	70
Total		69	97	166

中細菌培養法で尿中細菌が10⁴cells/ml 以上であつたものを UTI 症例とし、対象として採用した。

急性腎盂腎炎 (APN) 症例とは、cost-vertebral angle (CVA) pain と38℃以上の発熱で急性発症したもの、急性膀胱炎 (AC) 症例とは、女性で排尿痛と頻尿で急性発症し、発熱、CVA pain を伴わないもの、慢性腎盂腎炎 (CPN) 症例とは、尿管留置カテーテルもしくは腎瘻が1ヵ月以上存在するもの、又、カテーテルが留置されていない症例は、男性では腎結石か尿管結石が存在し、女性では上部尿路結石(7例)、神経因性膀胱(6例)、膀胱尿管逆流(5例)、多発性嚢胞腎(1例)などが合併するものであり、排泄性腎盂造影で腎杯像の鈍化が認められ、熱発などの急性症状は認められないもの、慢性膀胱炎 (CC) 症例とは、尿管留置カテーテルもしくは膀胱瘻が1ヵ月以上存在するもの、あるいはカテーテルが留置されていない症例は、男性では前立腺肥大症(10例)、膀胱頸部硬化症(6例)、膀胱腫瘍(3例)、前立腺癌(1例)、その他(1例)、女性では神経因性膀胱(9例)、膀胱腫瘍(1例)、その他(12例)などが合併するもので、これらは上部尿路感染症の症状や所見を有さず、排泄性腎盂造影で腎盂腎杯に慢性腎盂腎炎を示す所見を認めなかつた。なお多少とも上部尿路感染の合併が疑わしい症例については尿管カテーテル挿入による尿培養や、膀胱造影による膀胱尿管逆流の有無の確認を行つた。

III. 実験方法

1. 尿中の白血球の生存確認に関する予備的検討

(1) 生存率の検討方法

8例のUTI患者(CPN患者4例, CC患者3例, AC患者1例)の膿尿を使用し, 先に述べた方法で得られた沈査に一般に細胞のviabilityを確認する目的で使用されている0.25% trypan blue, 0.1% eosin, Cyto-Diachromeをそれぞれ1滴ずつ添加して超生体染色を行い, 直ちに顕微鏡下に細胞を200個数え各染色液による白血球の生存率を測定した. なお Cyto-DiachromeはSternheimerが1975年に発表した尿沈査染色液⁶⁾で, national fast blueとpyronin Bによる超生体染色法でSternheimer-Malbin染色⁷⁾と同様に白血球の中でpale-stained cellとcolorless cellを生存白血球とした.

(2) 経時的生存率変動

13例のUTI患者(CPN患者2例, CC患者5例, AC患者6例)の膿尿を28~30℃の室温下に静置し, Cyto-Diachromeを使用したSternheimer染色で経時的にdark-stained cell (dead cell), pale-stained cell (damaged cell), colorless cell (alive cell)の割合を測定した.

(3) 温度の生存率に及ぼす影響

4名のUTI患者(全例CC患者)の膿尿を25℃と37℃下に2時間静置し, 沈査を0.25% trypan blueで超生体染色し生存率を測定した.

2. UTI患者の尿中の白血球

(1) 尿中の白血球の生存率

生存確認に関する予備的検討の結果に基づいて, UTI患者の尿中の白血球を0.25% trypan blueを使用して生存率測定を行った.

(2) 尿中の白血球の食食率

先に述べた方法にて得られた尿沈査を牛アルブミン処理したスライドグラスに1滴のせ, カバースリップ法で塗抹標本作製し, 乾燥後Wright染色し, 顕微鏡下(×1,000)で100~200個の白血球を観察し, 2個以上細菌を食食している白血球の全体の白血球に対する比率を食食率として測定した.

上清の尿はosmometerで浸透圧の測定を行う一方, 尿試験紙(ヘマコンビステックスIII)でpHの簡易測定を行った.

(3) ACB

Silverbergら⁸⁾のスライドグラス法を改変して以下の如く行つた. すなわち, 尿沈査を牛アルブミン処理

した無蛍光スライドに塗抹し, 乾燥後, 95% ethanolで5分間固定した. 0.067M PBS, pH 7.2で10分間2回洗浄後, 蛍光標識抗血清 antihuman immunoglobulins (Behringwerke)を前記PBSで6倍希釈したものの0.2mlを滴下被覆し, moist chamber内で37℃30分間incubateした. その後PBSで5分間2回洗浄し, 蒸留水で洗浄後, 蛍光顕微鏡で観察し, ACB陰性と陽性を判定した.

(4) 統計処理

尿中の白血球の生存率・浸透圧・尿中の白血球の細菌食食率, ACB陽性率などについてのUTI群間比較の統計手法としては, 対応のないt検定を用いたが, この場合危険率は両側危険率を採用し, 危険率5%を有意水準と考えた.

3. 尿中でのヒト多核球のパン酵母食食能の実験的検討

多核球の末梢血よりの採取方法は, まずヘパリン加静脈血を6% dextranと混和静置して得られたleukocyte rich plasmaを前記PBSで洗浄後, Ficol-

Fig. 1 Experimental procedures for leukocyte function in urine

Hipaque に重層し遠沈した。最下層を PBS で洗浄後、低張食塩水処理して赤血球を溶血させ、PBS で洗浄後、0.25% trypan blue で生細胞率を測定し、最終的に多核球を 1×10^6 cells/ml 含むように PBS で濃度調節した。

パン酵母は PBS に浮遊させオートクレーブにかけた後、ガーゼで濾過し、最終的にパン酵母を 1×10^7 cells/ml 含むように PBS で濃度調節した。

尿については、正常人と UTI 患者から得られた尿を直ちにミリポアフィルター (0.45μ) にかけた後、実験まで冷凍保存した。以上の実験操作は Fig. 1 に示した。

組織内もしくは尿路上皮に付着した多核球の細菌食食を模した実験系としては Lab-Tek chamber (Miles) を用いた。これは多核球と酵母が混入された尿懸濁液を、周囲がプラスチックの壁で囲まれたスライドガラスの上に注ぎ、ガラス面に付着させた多核球の酵母食食を検討するもので、Wright 染色して顕微鏡下 ($\times 1,000$) に食食率を測定した。

Tube A 法と Tube B 法は共に多核球と酵母を尿中に浮遊させ、4～5 分毎にタッピングして尿路腔における多核球の細菌食食を模したものであるが、Tube B 法は A 法での酵母食食を停止させる 4°C 冷却操作を行わず、直ちに 1,000 回転、5 分間遠沈し、酵母と多核球の接触機会を増加させた系である。Tube 法では沈査を wet-mount して 400 倍で検鏡して食食率測定を行うため、細胞内の酵母と細胞外の酵母とが判然としにくいので、0.01% fuchsin を滴下して細胞外の酵母は赤染されるようにした。使用した尿は正常人 2 名の尿と尿路感染症患者の尿で、コントロールとしては 0.067 M PBS, pH 7.2 と Hanks Balanced Sault Solution (HBSS) pH 7.2 を用いた。

4. UTI 患者の尿中の白血球の透過型電子顕微鏡 (TEM) を用いた観察

(1) 各疾患群における尿沈査の TEM 像

APN 患者 1 名、AC 患者 3 名、CPN 患者 4 名、CC 患者 3 名についてそれぞれの尿沈査の TEM 標本作製し、尿中の白血球の細菌食食状態と、細胞小器官の微細構造を観察した。同時に、Wright 染色した光顕標本も作製した。

(2) 尿路感染症患者の尿中の白血球の latex 粒子食食能

AC 患者 1 名、CC 患者 1 名、CPN 患者 2 名のそれぞれの尿を 1,000 回転 10 分間遠沈し、上清を適量除き、白

血球数が 5×10^5 cells/ml となるように調節し、latex 粒子 (Bacto-Latex 0.81; Difco) を充分量 (latex/白血球 ≈ 100) 滴下し、 37°C 30 分間培養した後、沈査を TEM 観察した。

(3) 無菌性膿尿中の白血球の *Escherichia coli* 食食能

温水ブレオマイシン療法を行つている膀胱癌患者の無菌性膿尿 (尿浸透圧 349 mOsm/L, 尿 pH 7.0) を 1,000 回転 10 分間遠沈し、上清を適量除き、白血球数 5×10^5 cells/ml とし、これに、Brain-Heart infusion 培地 (日水) で 37°C 24 時間増菌された臨床分離 *E. coli* を前記 PBS で 3 回洗浄後、充分量 (*E. coli*/白血球 ≈ 100) を加え、 37°C 30 分間培養した。同様に沈査を TEM 観察した。

(4) TEM 標本製作法

沈査に 10% acrolein を注入し、 4°C 60 分間固定し、0.1M PBS, pH 7.4 で洗浄後、1% osmium で 4°C 2 時間固定した。次いで型の如く ethanol 系にて脱水し、酸化プロピレン置換後、Epon 812 に包埋した。ultramicrotome にて超薄切片を採取し、ウラン、鉛による二重染色後、Hitachi H500 にて観察した。

IV. 成 績

1. 尿中の白血球の生存確認に関する予備的検討

(1) 生存率の検討方法

Fig. 2 Survival rate of urinary leukocytes determined by various stains

3つの異なる染色液のいずれを使用してもほぼ近似した値が得られた (Fig. 2).

(2) 経時的生存率変動

低浸透尿中の白血球が高浸透尿中のものに比しやや dark-stained cell と pale-stained cell の割合が早期に増加し、細胞の viability 維持、保存に不適であると思われた。なお、768mOsm/L 以上の高浸透尿の colorless cell には glitter cell はほとんど存在しておらず、484mOsm/L 以下の colorless cell には glitter cell の割合が高かった。しかし、いずれにしろ2時間以内は生存率に及ぼす影響は無視できるほど軽微なものであった (Fig. 3)。

(3) 温度の生存率に及ぼす影響

2時間の検討では25℃と37℃の温度による生存率の差はほとんどなく、また生存率も直後尿の生存率とほぼ等しかつた (Fig. 4)。

(4) 小括

上記の結果から UTI 患者の尿中の白血球の生存率の測定は、膀胱内蓄尿時間が2時間以内のものとし、不明の場合には排尿量が100ml 以下であれば膀胱内蓄尿時間は2時間以内とみなして、採尿後は遅くとも1時間以内に、0.25% trypan blue を使用して行うこととした。

Fig. 3-1 Hourly changes of survival rate (1)
(Cyto-Diachrome)

Fig. 3-2 Hourly changes of survival rate (2)
(Cyto-Diachrome)

2. UTI 患者の尿中の白血球について

(1) 尿中白血球の生存率

尿中の白血球の50%以上が尿浸透圧にかかわらず生存しており、全症例の平均生存率は $82 \pm 13\%$ であった (Fig. 5)。

疾患別に生存率を検討すると、AC, APN, CC, CPN における平均生存率はそれぞれ $85 \pm 10\%$, $77 \pm 12\%$, $79 \pm 16\%$, $84 \pm 13\%$ で、各疾患群の間にも、急性の UTI と慢性の UTI との間にも、さらに上部尿路感染症と下部尿路感染症との間にも平均生存率に有意差を認めなかった。

同様に尿 pH と生存率との間にも一定の傾向を認めなかった (Fig. 6)。

(2) 尿中の白血球の貪食率

尿中の白血球で細菌を貪食しているものは少なからず認められた。貪食率と尿浸透圧との関係を検討すると (Fig. 7), 600mOsm/L 未満の尿中の白血球の平均貪食率は $13.8 \pm 15.4\%$ であるが、600mOsm/L 以上の場合には平均貪食率は $6.5 \pm 9.3\%$ で有意に低値となっていた ($p < 0.01$)。そこで尿浸透圧を疾患別に検討していると、AC, APN, CC, CPN の平均尿浸透圧はそれぞれ $685 \pm 199\text{mOsm/L}$, $654 \pm 185\text{mOsm/L}$, $513 \pm$

Fig. 4 Influence of temperature on survival rate of urinary leukocytes (0.5% trypanblue)

Fig. 5 Influence of urine osmolarity on the viability of urinary leukocytes

182mOsm/L, 427 ± 160 mOsm/L で、AC と APN との間には浸透圧の有意差を認めないが、その他の各群間には有意差が認められた ($p < 0.05$)。さらに、急性の UTI では尿浸透圧が 600 mOsm/L 以下でも、慢性の UTI に比しその尿中の白血球の食食率は低値であった。次に食食率を疾患別に検討すると、Fig. 8 に示す如く、AC、APN、CC、CPN の平均食食率は、それぞれ

Fig. 6 Influence of urine pH on the viability of urinary leukocytes

Fig. 7 Urine osmolarity and rate of phagocytosis of urinary leukocytes

$3.0 \pm 4.1\%$, $2.1 \pm 1.8\%$, $13.2 \pm 13.6\%$, $18.3 \pm 15.2\%$ であった。AC と APN の群間、および CC と CPN の群間には食食率に有意差を認めず、また下部尿路感染症と上部尿路感染症との間にも有意差を認めなかった。そこで急性と慢性に分けて検討してみると、急性の UTI は平均食食率が $2.8 \pm 3.7\%$ で、慢性の UTI の平均食食率 $15.2 \pm 14.4\%$ に比し有意に低値であった ($p < 0.01$)。カテーテル留置の有無とその尿中の白血球の食食率との関係について、まず CC について検討すると、Table 2 に示す如く、カテーテル留置群の平均食食率は $20.6 \pm 16.0\%$ で、非留置群の $8.5 \pm 9.5\%$ に比し有意に高値である ($p < 0.01$)。しかし、カテーテル非留置 CC 群でも、AC の平均食食率 $3.0 \pm 4.1\%$ に比べると有意に高値である ($p < 0.01$)。同様に CPN について検討すると、カテーテル留置の CPN 群は非留置 CPN 群より有意に食食率が高い ($p < 0.01$)。しかし、非留置

Fig. 8 Rate of phagocytosis of urinary leukocytes from patients with UTI and antibody-coated bacteria

Table 2 Influence of catheter and antibody-coated bacteria on the rate of phagocytosis

Diseases	Catheter & ACB		catheter not indwelt		catheter indwelt	
	ACB (-)	ACB (+)	ACB (-)	ACB (+)	ACB (-)	ACB (+)
Acute cystitis	3.2±4.4	2.0±2.0				
	3.0±4.1					
Acute pyelonephritis	*	2.0±1.9				
	2.1±1.8					
Chronic cystitis	5.6±6.5	10.7±10.7			20.6±16.0	
	8.5±9.5				20.6±16.0	
Chronic pyelonephritis	*	12.8±11.4	*		22.8±16.6	
	12.4±10.8				22.8±16.6	

*; n ≥ 3

Fig. 9 Correlation between bacterial count and rate of phagocytosis

CPN 群でも、APN と比べると有意に高値であつた ($p < 0.01$)。以上よりカテーテルの存在は貪食率に影響を与える最大の原因で、ついで慢性の UTI をひきおこす内因性の原因 (結石、腫瘍、前立腺肥大症、神経因性膀胱など) も関連するものと思われた。

尿中細菌の菌数と尿中の白血球の貪食率との関係を検討すると (Fig. 9)、急性の UTI では菌数にかかわらず貪食率は10%以下のものがほとんどで、菌数と貪食率との相関は認められなかつた。しかし、慢性の UTI では 10^4 , 10^5 , および 10^6 cells/ml の各々と 10^7 cells/ml との間に ($p < 0.05$)、さらに 10^4 cells/ml と 10^5 cells/ml との間にも ($p < 0.05$) 平均貪食率について有意差が認

められ、菌数と貪食率との間に正の相関が伺えた。なお慢性の UTI と急性の UTI との間に菌数分布の差は認められなかつた。

尿 pH と尿中の白血球の貪食率との関係は (Fig. 10)、に示す如く、急性の UTI では1例が pH 7.0であつたが、他は全て pH 6.5以上であつた。一方、慢性の UTI では pH 7.0以上の症例が24% (25例) 存在していた。慢性症について pH 7.0以上の平均貪食率は $19.0 \pm$

Fig. 10 Correlation between urinary pH and rate of phagocytosis

17.2%で、pH 6.5以上の平均貪食率 $11.3 \pm 11.9\%$ より有意に高値であつた ($p < 0.05$).

尿中の白血球の中で好中球の占める割合についての検討は、標本が血液塗抹標本のように均一とはならず、また染色をWright染色でのみ行つたため、厳密な白血球分類は不可能であり、全例については施行していないが、25例について検討した結果では、90%程度が好中球で占められていた。なお、急性のUTIでは好中球の占める割合が90%以上と高く、慢性のUTIでも細菌の菌数が多いものではやはり好中球が90%程度を占めるが、菌数の比較的少ないものでは単核球様細胞の占める割合の高いものも散見され、又、尿管皮膚瘻患者の1例では好中球が50%程度を占めていた。

(3) ACB

ACBの陽性率を疾患別に検討してみると、AC、APN、CC、CPNの順に16.7%、80.0%、73.9%、93.8%でACにおいて有意($p < 0.01$)に低率とはいえ、ACBが上部尿路感染症に特異的なものとは言えなかつた。さらに、CCについてみると、カテーテル留置例では全例がACB陽性となり、カテーテル非留置例でも58.1%の症例が陽性であつた。前立腺炎合併の可能性を検討するため、性別に分けてカテーテル非留置CC例についてACBの陽性率を比較すると、男性では61.9% (13例/21例)、女性では54.5% (12例/22例)と有意差は認められず、前立腺炎の合併によるACB陽性という可能性は否定的であり、自他覚的所見でも前

立腺炎の合併していると推定される症例は含まれていなかった。

次にACBと貪食率との関係について検討した。まずCCについてみると、ACB陰性群(全例カテーテル非留置例)の平均貪食率は、 $5.6 \pm 6.5\%$ で、陽性群の平均貪食率 $15.8 \pm 14.5\%$ に比し有意に低値である ($p < 0.01$)。しかし、ACB陽性群にはカテーテル留置例が多いため、これを除いたカテーテル非留置ACB陽性群の平均貪食率、 $10.7 \pm 10.7\%$ と比較すれば、ACB陰性群は貪食率が低いという傾向 ($p = 0.0798$)は認めるものの有意差とは言えない (Table 2)。さらに、ACB陽性のCCやCPNの症例の中では、貪食率は高いものから低いものまで種々であり、又、ACB陽性のAPNの平均貪食率 $2.0 \pm 1.9\%$ はACB陰性のACの平均貪食率 $3.2 \pm 4.4\%$ と有意差を認めず、ACについてもACB陽性群とACB陰性群で貪食率の有意差を認めなかつた。以上の如くACBのオプソニン効果は今回の検討では明らかではなかつた。

3. 尿中でのヒト多核球のパン酵母貪食能の実験的検討

健康成人の末梢血より得た多核球のLab-Tek chamberのガラス面に付着した密度を光顕標本で観察すると、少なくとも800mOsm/Lまでは尿浸透圧による変化は認められず、また付着している多核球の酵母の貪食率を正常尿、急性および慢性の尿路感染尿、HBSS、PBSについて観察すると、いずれについても

15~40%で浸透圧にかかわらずほぼ一定した値を示した (Fig. 11).

tube 内において浮遊状態における多核球の酵母食能を検討すると (Fig. 12), 尿浸透圧が600mOsm/Lを超える尿中では高くても1%以下の食食率でしかなく, また600mOsm/L以下でも食食率が5%以下のものが81%を占めていた. 一方, 同じ tube 法で最後に遠沈させ, 酵母と多核球を密に接触させた系 (Fig. 13) では, 尿浸透圧が600mOsm/Lを超えるとやはり正常尿, 感染尿とも食食率は高くても1%以下であつたが, 600mOsm/L以下では著明に食食率が亢進しており, 正常者2名の食食率の検討で明らかのように, 200~400mOsm/Lの尿中でとくに食食率が高値とな

Fig. 11 Opsonic effect of normal and infected human urine on phagocytosis of yeasts by neutrophils (Lab-Tek chamber method)

Fig. 12 Opsonic effect of normal and infected human urine on phagocytosis of yeasts by neutrophils (Tube method-A)

Fig. 13 Opsonic effect of normal and infected human urine on phagocytosis of yeasts by neutrophils (Tube method-B)

つた.

tube 法における尿中での食食率を HBSS, PBS と比較すると, 尿中でむしろ高い食食率が示された. しかし, 慢性尿路感染症の尿と正常尿との間には食食率の差は認められなかつた. 急性尿路感染症で尿浸透圧が600mOsm/L以下の症例は少なかつたため, 急性尿路感染症の尿と正常尿との食食率に及ぼす比較は困難であつた.

4. UTI 患者の尿中の白血球の TEM を用いた観察

(1) 各疾患群における尿沈査の TEM 像

Wright 染色では食食されて多核球に取り込まれた細菌と, 細胞表面に粘着している細菌を厳密に区別することはかなり困難であるが, TEM では容易であつた. 一方, TEM では得られた画面は限られた部分の, しかも切断面であるので正確な食食率を計算することはできないが, ほぼ近似した値が推定された.

Fig. 14は APN 症例で *Escherichia coli* が 10^6 cells/ml 証明された排尿直後の新鮮尿の TEM 像であり, 食食の認められない好中球では細胞質内に1次顆粒や2次顆粒が多数存在し, 核構造も保たれ, 形態的には血中の好中球と同様でありほとんど障害を受けてないものと思われた. この症例では TEM 上, ほとんどの白血球は細菌を食食しておらず, 写真は *E. coli* を食食していると考えられる数少ない白血球の一つが示され, 顆粒の多くは内容が失なわれ空胞状となり, 細胞質も絮状構造を呈している. 同時に行つた光顕標本でも1%しか食食は認められなかつた.

Fig. 14 Transmission electron microscopic finding of freshly obtained urinary leukocytes in patient with acute pyelonephritis ($\times 7,700$).

Fig. 15はAC症例で、*E. coli*が 10^6 cells/ml証明され、4℃で4時間保存された尿のTEM像である。白血球の顆粒や、ミトコンドリアその他の細胞小器官は崩壊消失し、核構造もはつきりしなくなり、細胞質膜も崩壊しかけている。すでに崩壊した白血球の遺残物も周囲に多数散見される。*E. coli*を貪食しているものは少数散見されるのみであつたが、写真は数少ない貪食が認められたものを示した。光顕標本での貪食率は3%であつた。

Fig. 16はカテーテル留置尿管皮膚瘻患者の新鮮尿

Fig. 15 Transmission electron microscopic finding of urinary leukocytes in patient with acute cystitis. This urine specimen was stored at 4℃ for 4 hours ($\times 7,700$).

の光顕標本とTEM像である。過半数の尿中の白血球の細胞内には多数の細菌が貪食されており、顆粒や細胞小器官はほとんど消失し、細胞質は泡沫状構造を呈しているが、核構造のみは未だよく保たれている。光顕標本での貪食率は60%であつた。

カテーテル留置のCC患者の新鮮尿の光顕像とTEM像はCPN症例のFig. 16と同様な所見であつた。

以上の光顕像と電顕像との比較検討から、尿中の白血球の細菌貪食率は光顕標本が美しく仕上げれば充分

Fig. 16 Microscopic finding of freshly obtained urinary leukocytes in patient with ureteral indwelling catheter.

Left side shows light microscopic finding ($\times 1,000$) and right side is transmission electron microscopic one ($\times 7,700$).

信頼に足るものであることが確認された。又、尿路腔へ遊出し膀胱内貯留時間が2時間以内の細菌を貪食していない白血球は、排尿直後では形態的にはほとんど障害されていないが、細菌を貪食した白血球では顆粒の消失や細胞質の変性が認められた。そして保存の時間経過とともに細胞の変性、崩壊がさらに進んでいくことがTEM観察で確認された。

(2) UTI 患者の尿中の白血球の latex 粒子貪食能

TEM 観察上、AC 患者では2%、CC 患者では3%、CPN 患者では4%の尿中の白血球がその尿中で latex 粒子を貪食した。Fig. 17はCPN 患者のTEM像であり、latex 粒子が好中球の貪食空胞中に存在し、貪食空胞の周囲に顆粒が集合している。

Fig. 17 Transmission electron microscopic finding of neutrophils phagocytizing latex particles in vitro ($\times 20,000$).

(3) 無菌性膿尿中の白血球の *E. coli* 貪食能

TEM 観察上、3%程度の白血球が *E. coli* を貪食していることが確認された(Fig. 18). 細胞質基質が全般的に絮状化している像が示されている。

以上の実験で、膀胱腔での貯留時間に加えて実験に供されるまでの操作時間が経過している尿中の白血球が、その尿中でなお latex 粒子や *E. coli* を貪食することから、尿路上皮から尿路腔へと遊出した白血球は早期には尿中で充分細菌を貪食する可能性が示された。

V. 考 按

尿の白血球（とくに多核白血球）の機能に対する抑制効果については多くの報告^{1)~3)}があり、高浸透圧、血清成分の欠如、pHの低値が主たる原因と考えられてきた。Bryant³⁾は血清無添加の実験系で、血漿中での多核白血球機能を対照とすると、正常尿中では浸透圧にかかわらず遊走、付着、凝集、貪食がほぼ消失し、高張尿はとくにこれらの機能を抑制すると報告した。一方、血清でオプソナイズ処理された細菌の貪食率は、尿中(pH 5.6, 477mOsm/L)でも血漿中と同等であったと報告し、CPN 時の尿中抗体や尿中補体の存在の可能性や、蛋白尿の合併や多尿時にはわずかではあろうが尿中の白血球機能の増強の可能性を示唆している。しかしこれらも現実には無視できる程度であろうと結論している。また、Knoll ら⁹⁾は skin window 法による *in vivo* 実験で正常人の高浸透圧尿が白血球の遊走、貪食を抑制することを証明し、このために腎盂腎炎が発症しやすいのではないかと考按している。

Fig. 18 Transmission electron microscopic finding of neutrophils phagocytizing *Escherichia coli* in vitro ($\times 37,500$).

一方、最近になつて実験的検討であるが、Fukushi ら⁴⁾や西村ら⁵⁾の尿中の白血球の貪食能の存在を示す成績、さらに末梢血の多核球について、AC 患者尿中では浸透圧が200~500mOsm/L であれば、PBS 中で *E. coli* や酵母を貪食させた場合よりも高い貪食率が得られたとする実験成績の報告¹⁰⁾もみられる。

しかし、これらの成績は末梢血中の多核球についての検討、あるいは動物における実験的検討である。そこで著者は、まず UTI 患者の尿中の白血球が感染症という環境の中でどの程度生存しているものかを検討し、ついでその白血球が感染尿中で細菌の貪食という機能を果して有しているものか否かを検討した。実際に臨床的に UTI 患者の尿中の白血球のその尿における細菌貪食能を検討したものは本報告が最初かと思われる。また実験的検討として、末梢血多核球や正常尿を使用し、さらに UTI 患者の尿中の白血球や感染尿を使用し、血清無添加の実験系でできる限り現実に即するようにして検討を行つたが、これらの観察結果および成績の一部についてはすでに報告¹¹⁾している。

まず尿中の白血球の生存率に関して、従来の報告にもみられる如く、尿中は生存環境としては血液中に比し不都合と考えられるが、もし時々刻々と早急に生存率が低下するのであれば、生存率の測定は膀胱内蓄尿時間を可及的に短くし、採尿後もすみやかに測定しなければならない。この生存率の時間的経過を確認する目的で予備実験が行われたが、少なくとも膀胱内貯留時間が2時間以内では変化はなく、採尿後も1時間以内であれば生存率の判定に支障がないものと判明した。生存率測定のための染色法としては、eosin, Sternheimer 染色液, trypan blue いずれもほぼ近似した成績であることを確認したので、以後は最も一般的に viability を検討するに用いられている trypan blue を使用した。なお、市販の Sternheimer 染色液である Cyto-Diachrome 液は、染色時の back ground がやや汚くなりやすく染色性も強いので、手早く測定してしまわないと colorless cell が pale-stained cell へ、pale-stained cell が dark-stained cell へと移行してしまふ欠点を持つように思われた。宇佐美ら¹²⁾は、0.1% eosin 液と Sternheimer-Malbin 染色液ではほぼ等しい生存細胞の比率が得られたと報告しているが、今回の検討で0.25% trypan blue も使用可能と考えられた。また、予備実験の結果、低浸透圧尿中の方が高浸透圧尿中より早期に生存率が低下する傾向を認めたが、Triger ら¹³⁾も高浸透圧、低 pH の尿は保存による白血

球の崩壊が少ないと報告している。但し、白血球の諸機能が尿中で発揮されやすい浸透圧や pH と、細胞の viability を維持するに適した浸透圧や pH とは分けて考えられるべきである。

著者の0.25% trypan blue を使用した UTI 患者の尿中の白血球の生存率は82%であつた。これは Guthinger ら¹⁴⁾が細菌培養で陽性となつた膀胱炎患者の尿中の白血球を Sternheimer 染色した場合に、non-stained cell (alive cell) が75.2%を占めたとする成績にはほぼ一致するものであるが、尿中の白血球のほとんどがなお生存しているという事実は誠に意外な感がある。さらに、UTI 疾患群別でも差が認められなかつたということも驚嘆に値する。以前には Sternheimer-Malbin 染色を行い、glitter cell の多寡によつて上部尿路感染症と下部尿路感染症との区別がつけられると言われ⁷⁾、上部尿路感染症の尿中の白血球の方が、下部尿路感染症のそれより生存率が高くなるように予想されていた。最近では、glitter cell は低調尿により生ずる好中球と総括され、Berman ら¹⁵⁾は尿浸透圧が600 mOsm/L 以下に多いとしているが、今回の著者の検討では尿浸透圧については上部尿路感染症と下部尿路感染症との間に有意差が認められているにもかかわらず、生存率については差が認められなかつた。この原因としては、CC と CPN の平均尿浸透圧はそれぞれ 513 ± 182 mOsm/L, 427 ± 160 mOsm/L であるが、いずれも600mOsm/L 以下であつたこと、AC と APN の平均尿浸透圧はそれぞれ 685 ± 199 mOsm/L, 654 ± 185 mOsm/L で有意差がなく600mOsm/L 以上であつたこと、そして最大の原因としては、trypan blue での生存率は pale-stained cell の比率に相当するものであるが、glitter cell は pale-stained cell の一部にすぎず、600mOsm/L を越える高浸透圧尿では glitter cell は著者の観察でも著しく減少するが、pale-stained cell は浸透圧にかかわらず存在することが考えられた。

次に貪食率の測定には美しい標本を作り、細菌の付着と鑑別することが必要であるが、細胞質の辺縁が明瞭なるものを選び丹念に顕鏡し、一部については TEM によつて観察して確認した結果、著者の行つた方法はほぼ満足できる精度と考えられた。

貪食率では AC と APN を合計した急性の UTI の貪食率は低値で、CC と CPN を合計した慢性の UTI の貪食率は高値であつた。この原因を考えると、急性の UTI では慢性の UTI に比し尿浸透圧が有意に高く、そのために白血球の貪食が行われにくかつたこと

が考えられる。著者の tube 法での食食実験でも600 mOsm/L 以上では食食がほぼ消失している。また、尿の pH も急性の UTI で低いものが多く、食食に不適であつたと考えられる。慢性の UTI 患者は、尿量を多めにするよう指導されていることも尿浸透圧を下げる原因の一つと考えられるが、CPN については原疾患により髄質機能が障害され、濃縮能の障害が起こっているものが少なくないものと思われ、尿浸透圧が600 mOsm/L を越える症例は少なく、また、尿の酸性化の障害や *Proteus* 感染による尿の pH の上昇なども加わっているものと考えられる。そしてさらに重要な問題として膀胱内蓄尿時間についてみると、急性の UTI では頻尿のために短く、白血球が細菌と接触している時間も短いことが多いと考えられる。

細菌がどこで白血球に食食されたかという問題は重要であるが、著者らも Fukushi ら⁴⁾が報告しているように、組織内で食食されて尿路腔へ遊出したものの他に、尿路腔内で食食されたものがかなりの割合で存在するのではないかと考えている。Fig. 7 や Fig. 13 にみられる如く、諸条件が適当であれば、尿中の白血球はかなりの食食率を示し、さらに、UTI 患者の膿尿に latex 粒子を注入してさえその中の白血球が僅かながらも latex 粒子を食食することが認められたことから、白血球が尿路腔内へ遊出した早期には、尿が低浸透圧で尿中細菌も多ければ、十分尿路腔内で細菌を食食するものと考えられる。ただし、ガラス面に付着させた実験系での成績が tube A 法での成績より高く、尿浸透圧が800mOsm/L まで食食が認められていること、さらに、多核球は本来偽足を出して異物を捕食する細胞のため、浮遊状態よりも付着状態の方が食食しやすいのではないかと考えられた。しかし、人工的に振とう回数を増加させたり、今回の実験の如く遠沈して接触機会を増せば、食食率は浮遊状態でも増加することが考えられる。いずれにしろ、尿路腔内食食という中には白血球が尿路上皮に付着し、尿路腔に露出した状態のものも含まれる可能性が考えられる。Cobbs ら¹⁶⁾も rat の膀胱感染実験で、膀胱粘膜の尿路腔に接して並んだ多核球が細菌を食食している像を示し、これが感染防御を行っているのではないかと考按している。当教室の出口ら¹⁷⁾も mouse 逆行性腎盂腎炎モデルの TEM 観察で、やはり組織内多核球には細菌食食がきわめてまれなのにもかかわらず、腎盂腔内の多数の多核球には細菌が多数食食されていると報告している。

留置カテーテルや結石などの異物の存在は炎症を惹起し、感染を誘発し存続せしめるが、異物表面での細菌の増殖、残尿の発生、上皮細胞の機械的障害による感染の深部進展などによつて細菌の菌数は増加し、多数の遊走した多核球とも密に長時間接触することになる。従つてこれらの異物の存在する症例では、病巣が粘膜下程度までに限定している急性の UTI の場合よりも、尿中の白血球の食食率は高値となるものと考えられる。さらに、上皮細胞の破壊により血液中の蛋白成分などの混入する可能性も高く、これらの補助的な作用も否定できない。

次に ACB について検討すると、Thomas ら¹⁸⁾の報告後 ACB は上部尿路感染症に特異的とされたが、前立腺炎¹⁹⁾や膀胱炎²⁰⁾などでも ACB が陽性となる例や、腎盂腎炎²¹⁾でも陰性となる例がかなり存在することが明らかとなり、現在のところ腎盂腎炎と ACB の関係は絶対的なものとは言えない。

我々の検討でも AC, APN, CC, CPN, の ACB 陽性率はそれぞれ16.7%, 80.0%, 73.9%, 93.8%であり、CC の陽性率がかなり高い。また、カテーテル留置の CC 例では全例が ACB 陽性であり、安本ら²²⁾も同様な報告を行つている。Riedash ら²³⁾は rat の膀胱内に細菌と異物を同時に注入した場合には、21匹中19匹が ACB 陽性となり、膀胱粘膜の表面は欠損し、lymphocyte や plasma cell が集合していると報告し、膀胱粘膜にも local immune response が存在すると考按している。さらに、臨床例においても膀胱癌、膀胱結石、膀胱壁病変などで ACB が陽性となることを報告²⁴⁾している。著者の成績も全く彼等の成績と合致するものであり、mucosal barrier が異物や種々の病変で破壊されれば細菌が広範囲に実質組織へ侵入することになり、局所抗体産生や血中抗体の尿中への流出が生ずるものと考えられる。

ACB が一般的には下部尿路感染症で陽性率が低く、上部尿路感染症で高い理由は、膀胱粘膜上皮は6～7層と厚いため外的侵襲に強く、炎症が深部に及びにくいのに対し、腎杯粘膜上皮は2～3層と薄く炎症が容易に深部間質へ及び、局所抗体産生を促し ACB が陽性となるものと思われる。

一般に ACB は nonspecific な免疫グロブリンの付着ではなく、specific な抗体²⁵⁾が被覆されているとされるが、ACB 陽性の症例と陰性の症例とで食食率の差を比較することにより、食食作用促進のオプソニン効果の有無について検討した。カテーテル非留置 ACB

陽性 CC 群とカテーテル非留置 ACB 陰性 CC 群との間では、ACB 陽性群の方が食食率が高いという傾向 ($p=0.0798$) は認めるものの、有意に高いとは言えず、ACB 陽性の AC 群と ACB 陰性の AC 群との間にも、さらに急性の尿路感染症の間での比較として、ACB 陽性の APN 群と ACB 陰性の AC 群との間にも有意差を認めなかつたことから、ACB のオプソニン効果は明らかではなかつた。これは UTI においてはまず尿浸透圧、尿 pH、尿中細菌の菌数、白血球と細菌の接触時間などの物理的な条件がほとんど食食率を規定してしまい、さらに尿中には補体が存在しないために、細菌を特異抗体が被覆しても、血漿中の如くにはオプソニン効果が発揮されにくいと考えられる。しかし、Fig. 7 で示されるように食食率が25%を越える症例は30例であり、その中の8例はカテーテル非留置症例であるが、30例全例が ACB 陽性であつた。しかも30例中の28例は尿浸透圧が600mOsm/L 以下であることから、至適浸透圧と pH、組織中よりの血清成分の流出など各種の条件が備つた場合には尿中でもオプソニン効果が得られる可能性はあると思われた。

Suzuki ら¹³⁾は尿浸透圧が200~500mOsm/kg の AC 尿中では正常尿よりも酵母および *E. coli* の食食率が高かつたと述べているが、今回の著者の実験的検討では500mOsm/L 以下の AC 症例が2例しかなく比較はできなかつた。Suzuki らは検体としての尿の採取方法として、患者に採尿前に大量の飲水を命じて得ている。著者が行つた72例の AC 症例の尿浸透圧測定では、500 mOsm/L 以下のものは9例 (12.5%) にすぎず、排尿量の少ない場合も多く、500mOsm/L 以下の AC 尿の採取は困難であつた。しかし、少なくとも慢性尿路感染症の尿についてみる限り、Lab-Tek chamber 法でも、tube 法でも食食率に及ぼす影響は正常尿と変わらなかつた。これは細菌が多数存在していた感染症の上清を使用しているため、細菌の endotoxin や exotoxin によつて好中球機能を抑制した可能性も考えられる。

細菌の種類によつて ACB の陽性率や食食率に差を認めるか否かという検討は興味あるものと思われるが、急性の UTI では82%が *E. coli* で、他菌種が1~2株ずつと少なく、慢性の UTI では混合感染例が多く、これらについて検討は困難なため今回は見解を差し控えた。また、尿路腔内での白血球の細菌の食食が、組織内での細菌の食食と比較してどの程度の割合と感染防御の役割を演じているかについては、今後検討すべき問題と考える。

VI. 結 語

尿路感染症 (UTI) 患者の尿中の白血球の食食能について検討し、以下の結論を得た。

(1) UTI 患者の尿中の白血球はほとんどが生存しており、その平均生存率は $82 \pm 13\%$ であつた。生存率と尿浸透圧、尿 pH、疾患などと一定の関係は認められなかつた。

(2) 尿中の白血球で細菌を食食しているものは少なからず認められ、その全体の白血球に対する割合 (食食率) は尿浸透圧が600mOsm/L 以下、尿 pH が7~8 で高値であつた。急性膀胱炎、急性腎盂腎炎、慢性膀胱炎、慢性腎盂腎炎の各疾患における平均食食率はそれぞれ3.0%、2.1%、13.2%、18.3%で、下部尿路感染症と上部尿路感染症との間には食食率の差は認められなかつたが、急性の UTI は慢性の UTI より食食率が有意に低値であつた。

急性の UTI では尿中の細菌にかかわらず食食率は低値であつたが、慢性の UTI では菌数の増加につれて食食率も増加した。また、慢性の UTI でもカテーテル留置例はとくに食食率が高値であつた。

(3) 急性膀胱炎、急性腎盂腎炎、慢性膀胱炎、慢性腎盂腎炎の antibody-coated bacteria (ACB) の陽性率はそれぞれ16.7%、80.0%、73.9%、93.8%であつた。カテーテル留置の慢性膀胱炎症例は全例 ACB 陽性であり、非留置の慢性膀胱炎でも58%の症例が陽性であつた。ACB 陽性と尿中の白血球の細菌食食率との関係から ACB のオプソニン効果を検討したが決定的な結果は得られなかつた。

(4) 末梢血多核球を分離し、ミリポアフィルターを通した正常尿と感染尿中で酵母の食食実験を施行した。ガラス表面に付着した多核球の食食を検討する Lab-Tek chamber 法では、正常尿、感染尿とも800 mOsm/L まで尿浸透圧にかかわらず20~30%の多核球が酵母を食食した。tube 法では尿浸透圧が600 mOsm/L を越えると食食は行われず、600mOsm/L 以下でも食食率は5%以下であつたが、tube を遠沈し、接触機会を増加させると、600mOsm/L 以下では著明に食食率が増加した。正常尿と感染尿で食食率に及ぼす差異は認められなかつた。

(5) 各種尿路感染症患者の尿中の白血球を透過型電子顕微鏡で観察した。新鮮尿では多核球の顆粒や細胞内小器官もよく保たれていた。感染尿中へ latex 粒子、無菌性膿尿中へ *E. coli* を注入した結果、数%ではあるがこれを食食していることが電顕的に確認された。

(6) 以上の結果から、尿中の白血球は生存しており、尿浸透圧が低く、尿 pH が適当などの条件が整えば、尿中でも細菌を貪食する能力を有しているものと考えられた。

ゆえに、尿中の白血球は単なる組織からの流出産物ではなく、感染防御に寄与しているものと考えられた。

稿を終るにあたり、御指導、御校閲を賜った恩師西浦常雄教授に深甚なる謝意を表すると共に、絶えざる御助言を賜った河田助教授に深く感謝いたします。さらに、実験に御協力いただいた当教室諸兄姉、ならびに彦根市立病院、検査主任 国松昭二先生に深く感謝いたします。なお、本論文の要旨は第29回および第30回日本化学療法学会西日本支部総会にて発表した。

文 献

- 1) 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.
- 2) Norden, C.W., Green, G.M. and Kass, E.H.: Antibacterial mechanisms of urinary bladder. *J. Clin. Invest.*, **47**, 2689—2700, 1968.
- 3) Bryant, R.E., Sutcliffe, M.C. and Mc Gee Z.A.: Human polymorphonuclear leukocyte function in urine. *Yale J. Biol. Med.*, **46**, 113—124, 1973.
- 4) Fukushima, Y., Orikasa, S. and Kagayama, M.: An electron microscopic study of the interaction between vesical epithelium and *E. coli*. *Invest. Urol.*, **17**, 61—68, 1979.
- 5) 西村泰司, 金森幸界, 秋元成太, 川井 博: 前立腺液中のマクロファージに関する研究. 第1報, マクロファージの検出方法について. *日本泌尿器科学会雑誌*, **72**, 785—789, 1981.
- 6) Sternheimer, R.: A supravital cytodagnostic stain for urinary sediments. *J.A.M.A.*, **231**, 826—832, 1975.
- 7) Sternheimer, R. and Malbin, B.: Clinical recognition of pyelonephritis with a new stain for urinary sediments. *Am. J. Med.*, **11**, 312—323, 1951.
- 8) Silverg, 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.
- 9) Knoll, B.F., Johnson, A.J., Pearce, C.W. and Rebuck, J.W.: The effect of autogenous urine on leukocytic defenses in man. *Invest. Urol.*, **6**, 406—411, 1969.
- 10) Suzuki, Y., Fukushima, Y., Orikasa, S. and Kumagai, K.: Opsonic effect on normal and infected human urine on phagocytosis of *Escherichia coli* and yeasts by neutrophils. *J. Urol.*, **127**, 356—360, 1982.
- 11) Maeda, S., Deguchi, T., Kanimoto, U., Kuriyama, M., Kawada, Y. and Nishiura, T.: Studies on the phagocytic function of urinary leukocytes. *J. Urol.*, **129**, 427—429, 1983.
- 12) 宇佐美一彪, 伊藤機一: 尿沈査細胞成分の生死判定について. *交通医学*, **31**(臨時号), **36**, 1977.
- 13) Triger, D.R. and Smith, W.G.: Survival of urinary leukocytes. *J. Clin. Path.*, **19**, 443—447, 1966.
- 14) Guthinger, W.P., Pranikoff, K. and Cockett, A. T.K.: Cytochrome staining of leukocytes in urine sediment. Assessment of inflammatory state. *Urology*, **9**, 630—633, 1977.
- 15) Berman, L.B. and Schreiner, G.E.: Observation on the glitter-cell phenomenon. *N. Engl. J. Med.*, **255**, 989—991, 1956.
- 16) Cobbs, C.G. and Kaye, D.: Antibacterial mechanisms in the urinary bladder. *Yale J. Biol. Med.*, **40**, 93—108, 1967.
- 17) 出口 隆, 前田真一, 蟹本雄右, 河田幸道, 西浦常雄: マウス実験の上行性腎盂腎炎における細菌の実質内侵入経過についての電子顕微鏡的観察. 第29回日本化学療法学会西日本支部総会, 広島, 1981.
- 18) Thomas, V., Shelokov, A. and Forland, M.: Antibody-coated bacteria in the urine and site of urinary-tract infection. *N. Engl. J. Med.*, **290**, 588—590, 1974.
- 19) Jones, S.R.: Prostatitis as cause of antibody-coated bacteria in urine. *N. Engl. J. Med.*, **291**, 365, 1974.
- 20) Rumans, L.W. and Vosti, K.L.: The relationship of antibody-coated bacteria to clinical syndromes (as found in unselected populations with bacteriuria). *Arch. Intern. Med.*, **138**, 1077—1081, 1977.
- 21) Merritt, J.L. and Keys, T.F.: Limitations of the antibody-coated bacteria test in patients with neurogenic bladders. *J.A.M.A.*, **247**, 1723—1725, 1982.
- 22) 安本亮二, 岩井省三, 辻田正昭, 成山隆洋, 西島高明, 井関達男, 坂本 亘, 吉本 充, 前川正信: 泌尿器科領域における Antibody coated bacteria (ACB) の臨床的検討—続報—第32回泌尿器中部連合総会, 名古屋, 1982.
- 23) Riedasch, G., Schneider, E., Ritz, E. Bersch, W. and Möhring, K.: Antibody coating of bacteria in experimental infection of the urinary bladder. *Invest. Urol.*, **18**, 247—250, 1981.

- 24) Riedasch, G., Ritz, E., Möhring, K. and Bommer, J.: Antibody coating of urinary bacteria: Relation to site of infection and invasion of uroepithelium. *Clin. Nephrol.*, 10, 239—244, 1978.
- 25) 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.

(1983年3月18日受付)