

## C. trachomatis 感染症の血清学的診断における IgA 抗体の意義

千葉大学看護学部病態学講座

吉沢 花子 原尻 真理 橋爪 壮

(昭和62年 1 月16日受付)

(昭和62年 2 月20日受理)

---

Key words : *Chlamydia trachomatis*, specific serum IgA antibodies, indirect immunoperoxidase assay

---

### 要 旨

*Chlamydia trachomatis* 感染症においては、従来 IgM 抗体の上昇を感染の指標とすることが多かったが、virus 感染と同様血中の IgA 抗体の上昇も感染の指標とされ得ることを示唆する報告もある。そこで、血清中の *Chlamydia* 特異的 IgA 抗体の上昇を *Chlamydia* 感染の指標として取り上げることの有用性について検討した。

サルを用いた  $L_2$  株感染実験では、初感染・再感染ともに血中抗 *Chlamydia* IgA 抗体の上昇を認めた。男性非淋菌性尿道炎においては、*C. trachomatis* 分離陽性者17例中16例が IgA 抗体陽性で、陽性一致率は94.1%であった。一方、分離陰性者19例では IgA 抗体陰性は15例で、陰性一致率は78.9%であった。

*C. trachomatis* が検出された肺炎乳児 4 例中 3 例に血中の IgA 抗体価の消長がみられた。これら 4 例の母親すべてから高い IgG 抗体価と IgA 抗体が検出された。

以上の結果から、血中の抗 *Chlamydia* IgA 抗体の存在は *Chlamydia* 感染の指標となり得ることが示唆された。

### はじめに

*Chlamydia trachomatis* の分離技術が確立されて<sup>1)</sup>以来、我が国でも *C. trachomatis* が性行為感染症の中で大きな部分（男性の非淋菌性尿道炎の40～50%）を占めていることが明確になって来た。また、配偶者への感染、さらに感染妊婦からの新生児への産道感染が重要視されてくるようになった。

男性の非淋菌性尿道炎の場合は、尿道擦過材料について組織培養法によって分離培養を行う<sup>2)</sup>か、あるいはモノクローナル蛍光抗体法<sup>3)</sup>および *Chlamydia*zyme 法<sup>4)</sup>によって抗原を検出することによって *C. trachomatis* の診断を確実に行うことができる。

女性検査材料ではこれらの分離法・抗原検出法

による診断の信頼性は男性尿道材料の検索の場合に比し低く、抗体測定などの補助的診断法を併せて行うことが望ましい。また、乳児鼻咽腔・咽頭からの擦過材料は不活化が早く<sup>2)</sup>、やはり抗体測定を診断の補助的手段として用いる必要があろう。

従来、血清学的診断には IgM 抗体の検出<sup>5)</sup>または IgG 抗体の上昇を指標<sup>6,7)</sup>として行ってきた。しかし、女性の場合多くは無症状であるため感染初期の血清を得ることは難しく、IgM 抗体の存在を感染の指標とすることは困難である。また、小児特に乳児では胎生期の母親からの移行抗体を有する場合が多く、IgG 抗体価の変動によって判定を行うことは難しい。

Sarov らは Cytomegalo・herpes virus などの virus 感染症の場合の IgA 抗体の意義について検討を行い<sup>8,9)</sup>、さらに *Chlamydia* 感染症の場合も血清中の IgA 抗体の上昇は active infection の指

---

別刷請求先：(〒280) 千葉市亥鼻 1-8-1

千葉大学看護学部病態学講座

吉沢 花子

標となり得ると報告している<sup>10)</sup>。

我々はサル感染実験における IgA 抗体の推移について検討を行い、さらに尿道感染症および肺炎乳児について *C. trachomatis* の分離状況と IgA 抗体の上昇について検討を行った。

## 方 法

### 1) 間接蛍光抗体法による抗体価の測定

$L_2$ 株感染細胞を塗抹固定したスライド(千葉県血清研究所製)を抗体検出用抗原として用いた。2倍段階希釈した被検血清 $4\mu\text{l}$ をスライドの抗原上(well 中)に滴下し、 $37^\circ\text{C}$  1時間加湿容器中で反応させた。りん酸緩衝食塩水(PBS)でスライドを洗滌し、風乾した。蛍光標識抗ヒト IgM ウサギ血清・抗ヒト IgA ウサギ血清・抗ヒト IgG ウサギ血清(千葉県血清研製)の中のいずれかを各 well 中に $4\mu\text{l}$ 滴下し、加湿容器中で $37^\circ\text{C}$  1時間加湿した。PBSで充分洗滌した後風乾し、非蛍光グリセリン液で封入した。蛍光顕微鏡を用いて観察し、感染細胞中の細胞質内封入体の特異的蛍光発色によって抗体の検出を行った。

### 2) 間接酵素抗体法による抗体価の測定

$L_2$ 株感染細胞塗抹スライドを抗原として、2次血清として peroxidase 標識抗ヒト IgA および抗 IgG 抗体を用いた間接酵素抗体法<sup>10)</sup>(IPA zyme Kit, Savyoh Diagnostics Ltd. Beer Sheva, Israel 使用)によって行った。2倍段階希釈した血清 $10\mu\text{l}$ を抗原スライドの well 中に滴下し、 $37^\circ\text{C}$  45分間加湿容器中で加温した。PBSで洗滌し、沱紙を用いて水分を除去した後、peroxidase 標識抗 IgA もしくは抗 IgG ヤギ血清を各 well に $10\mu\text{l}$ ずつ滴下した。 $37^\circ\text{C}$  45分間加湿容器中で加温した後、PBSで洗い、沱紙で水分を除去した。基質として Chromogen  $10\mu\text{l}$ を各 well に加え、室温で15分間反応・発色させた後、PBSで洗い、沱紙で水分を除去した後、封入剤で封入した。光学顕微鏡を用いて観察し、特異的な黒紫色の封入体の存在によって抗体の検出を行った。

### 3) 組織培養法による *C. trachomatis* の分離

男性尿道擦過綿棒もしくは小児鼻咽腔擦過綿棒を分離培養用保存液(Sucrose-phosphate-glutamate 液)<sup>11)</sup>中に入れ、 $-80^\circ\text{C}$ に保存したものを分

離材料とした。

組織培養法による分離培養は既報<sup>2)</sup>の方法によって行った。すなわち、24穴マルチプレートにカバーガラスを入れて培養した HeLa 229細胞を DEAE-dextrane によって前処理し、分離培養用擦過材料をこれに接種した。遠心吸着を行った後、 $1\mu\text{g}/\text{ml}$  cycloheximide 加 Eagle MEM 培養液(牛胎児血清10%加) $1\text{ml}$ を加えて、 $37^\circ\text{C}$  3日間培養した。カバーガラスを取り出し、メタノール固定を行った後、ヨード染色を行い、光学顕微鏡を用いて *C. trachomatis* による細胞質内封入体の検索を行った。

## 結 果

### (1) サル接種実験

*C. trachomatis*  $L_2$ 株を接種したサルについて、血中抗体価の推移をみた。抗体価の測定は間接蛍光抗体法を用いて行った。

Fig. 1は、子宮内に  $L_2$ 株を接種したミドリサルの血中抗体価の推移を示したものである。IgM 抗体は接種後1週で $2^4$ を示し、以後6週まで同値であったが7週以降は検出されなかった。一方、IgA 抗体は1週では検出されず、2週で $2^3$ を示し、以後徐々に上昇し、8週後も $2^5$ の抗体価を維持していた。IgG 抗体は1週後には $2^9$ の高値を示し、以後8週まで $2^{10}$ の高値を保持していた。

$L_2$ 株を皮下接種し、さらに4週後に眼瞼に接種

Fig. 1 Primary antibody responses of the monkey injected with  $L_2$  strain intra uterus.

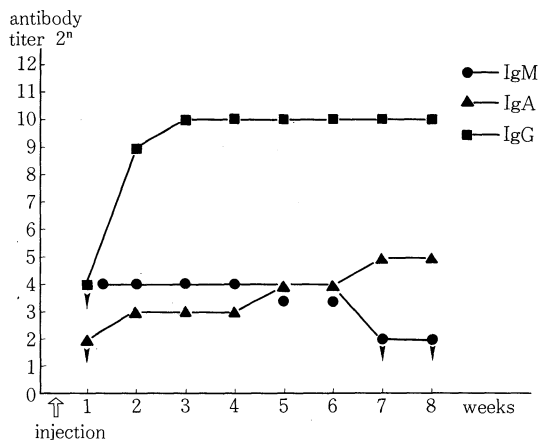
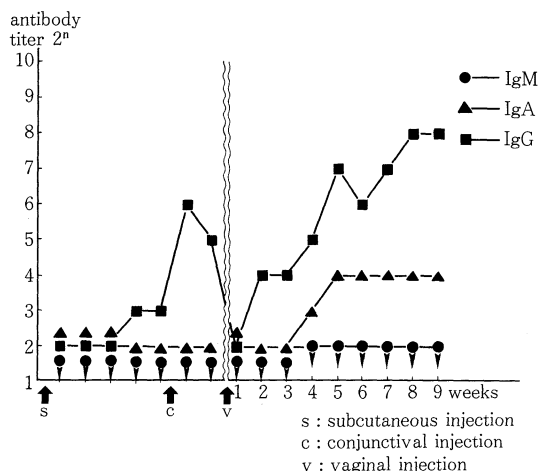


Fig. 2 Primary and secondary responses of the monkey inoculated with  $L_2$  strain.



して、IgM・IgA 抗体の上昇は認められず、IgG 抗体のみ上昇したカニクイサルに  $L_2$  株を腔内に再接種した (Fig. 2)。再接種時には IgG 抗体も検出されなかったが、1 週後には IgG 抗体は  $2^4$  を示し、以後 7 週まで上昇し続け、7 週・8 週では  $2^8$  と高値であった。IgA 抗体は再接種 2 週後までは検出されず、3 週後は  $2^3$ 、4 週以降まで  $2^4$  の値を示した。IgM 抗体は再接種後も 8 週まで検出されなかった。

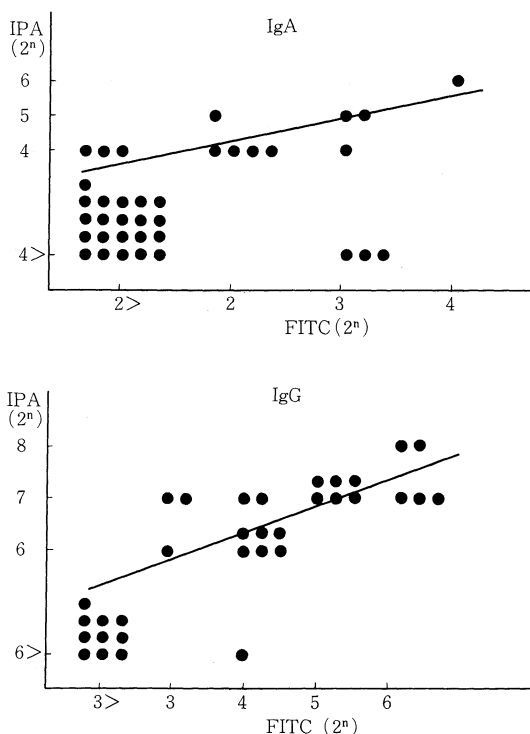
## (2) 間接蛍光抗体法と間接酵素抗体法との比較

IgA および IgG 抗体を間接酵素抗体法によって測定する *C. trachomatis* 診断用キット “IPA zyme” が開発され、これを使用する機会が与えられたので、同一血清について間接蛍光抗体法および同キットを用いた間接酵素抗体法によって IgG および IgA 抗体の測定を行った。Fig. 3-1, Fig. 3-2 に両方法によって測定した抗体価の相関を示した。IgA・IgG 抗体価ともに両方法による測定値はよく相関し、相関係数は IgA・IgG ともに約 0.8 であった。IPA zyme による測定値は、間接蛍光抗体法による測定値より高く、4 倍の値を示した。

## (3) 男性非淋菌性尿道炎患者における *C. trachomatis* 分離と血清抗体価の相関

男性尿道擦過材料からは、*C. trachomatis* の分離を確実に行うことができるので、男性非淋菌性尿道炎患者について、尿道擦過材料からの組織培

Fig. 3 Correlation of antibody titers between indirect immunoperoxidase antibody assay (IPA) and indirect immunofluorescence antibody assay (FITC).



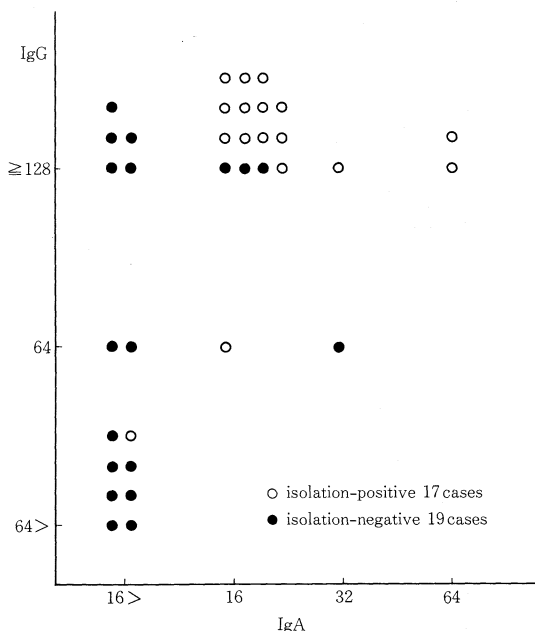
養法を用いた分離培養成績と血清中の IgA および IgG 抗体価 (IPA zyme 法) との相関性をみた。分離培養陽性 17 例と分離培養陰性 19 例についての抗体価測定成績を Fig. 4 に示した。

分離培養陽性例では、1 例を除き IgA 抗体価  $16\times$  以上、IgG 抗体価  $64\times$  以上の値を示した。抗体上昇の認められなかった 1 例は感染の機会後早期に来院した例である。

分離培養陰性の 19 例中 4 例が高い IgA および IgG 抗体価を示した。これら 4 例は培養によって *C. trachomatis* は分離することは出来なかったが、いずれも漿液性の分泌物陽性の尿道炎症状を認めた例である。

Sarov らは、IPA zyme による測定値の IgA  $16\times$  以上・IgG  $64\times$  以上の場合および IgA  $16\times$  以下でも IgG  $128\times$  以上の場合は active infection の指標とすることが出来ると報告しているが<sup>10)</sup>、我々の成績では IgA  $16\times$  以上・IgG  $64\times$  以上の場

Fig. 4 IgA and IgG antibodies of sera obtained from 17 men with *C. trachomatis* isolation-positive nongonococcal urethritis (NGU) and 19 men with *C. trachomatis* isolation-negative NGU.



合を active infection の指標と取ることが可能であると考えられた。この指標値を用いると、分離陽性者の抗体陽性指標値との一致率は94.1% (16/17) となり、また分離陰性者の抗体陰性指標値との一致率は78.9% (15/19) となる。

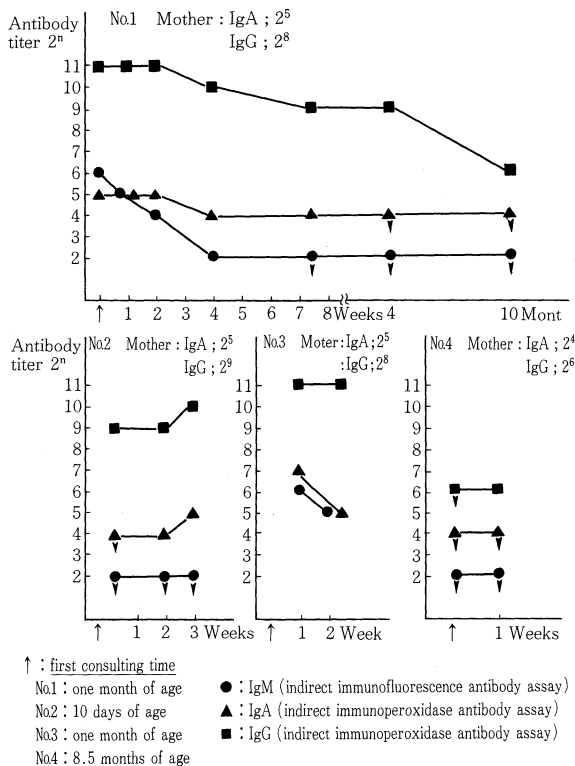
#### (4) 肺炎乳児と母親の抗体価

肺炎と診断され、*C. trachomatis* 感染の疑われた7例の乳児の中、4例の初診時鼻咽腔擦過材料より、*C. trachomatis* が検出された。

この4例について、抗体価の変動を追った成績を Fig. 5 (No. 1~No. 4) に示した。IgM 抗体は間接蛍光抗体法を用いて測定し、IgA および IgG 抗体は IPAzyme を用いて測定した。

第1例は初診時生後1カ月の患児で、初診時にすでに IgM 64 $\times$ 、IgA 32 $\times$ 、IgG 2048 $\times$ と高値であった。以後 IgM 抗体は急激に低下し、来院後4週で4 $\times$ 、7週以降は検出されなかった。IgA 抗体は7週まで持続し、4カ月後は検出されなかった。IgG 抗体は長期間持続し、やや抗体価の低下は認められたが、10カ月まで64 $\times$ と高値であった。

Fig. 5 IgA, IgG and IgM antibodies of sera from four infants with *C. trachomatis* isolation-positive pneumonia and their mothers.



↑: first consulting time

No1: one month of age

No2: 10 days of age

No3: one month of age

No4: 8.5 months of age

第2例は初診時生後10日目の患児で、初診時血清では IgG 抗体のみ高値 (512 $\times$ ) であったが、IgM および IgA は検出されなかった。IgM 抗体は来院3週後も検出されなかったが、IgA 抗体は2週後16 $\times$ 、3週後32 $\times$ であった。

第3例は初診時生後1カ月の患児で、初診時の血清は得られなかったが、来院1週後の血清では IgM 64 $\times$ 、IgA 128 $\times$ 、IgG 2048 $\times$ と高値で、2週後は IgM・IgA 抗体ともにやや低下していたが、IgG 抗体価の変化はなかった。

第4例は初診時生後8.5カ月の患児で、初診時にも、来院1週後にも IgM 抗体・IgA 抗体は検出されなかったが、IgG 抗体は1週後血清で64 $\times$ であった。この患児はその後死亡した。

これら4例の母親は、4例とも IgA 抗体16 $\times$ 以上、IgG 抗体64 $\times$ 以上で、いずれも active infection の指標に合致した。

*C. trachomatis* の分離が出来なかった 3 例では、母親はいずれも IgA 16×未満、IgG 64×未満で、抗体陰性であり、患児の抗体上昇も認められなかった。

### 考 察

Sarov らは Cytomegalo virus・Herpes simplex virus などの持続感染性 virus の感染症において、primary infection および reactivation の場合の IgA 抗体の意義について検討を行っており<sup>9)</sup>、さらに *C. trachomatis* 感染症においても IgA 抗体の存在は active infection の指標となり得るだろうと報告している<sup>10)</sup>。

今回、我々は *C. trachomatis* 感染症診断における血清抗体価測定の意義について検討を行った。

*C. trachomatis* L<sub>2</sub>株を接種したサル血清の血清抗体価の推移をみた。子宮内に接種した例では、接種後 1 週では IgM のみ検出され、2 週では IgM・IgA および IgG 抗体ともに検出された。IgM 抗体は 7 週以降は検出されなかったが、IgA および IgG 抗体は 8 週後も抗体価の低下は認められなかった。皮下接種を繰り返し行っても IgG 抗体のみ上昇し、IgM および IgA 抗体の上昇が認められなかったサルに、膣内に再接種したところ、IgG 抗体は再上昇し、IgA 抗体の上昇も認められた。しかし、IgM 抗体の上昇は認められなかった。このサルの実験結果より、IgM 抗体に比し IgA 抗体の持続が長いこと、再感染時にも IgA 抗体の上昇が生じ得ることが認められた。

間接蛍光抗体法および IPA zyme kit を用いた間接酵素抗体法の 2 方法によって、同一血清の IgA および IgG 抗体価を測定し、2 方法の測定結果はよく相関することを認めた（相関係数  $r=0.8$ ）。

非淋菌性尿道炎患者血清について間接酵素抗体法（IPA zyme）によって IgA および IgG 抗体を測定し、測定値と尿道擦過材料からの *C. trachomatis* 分離成績との相関をみた。分離陽性 17 例中 16 例が IgA 16×以上、IgG 64X 以上の抗体価を示し、分離との陽性一致率は 94% であった。IPA zyme kit では、active infection の指標値として IgA 16×以上・IgG 64×以上と IgA 16×以下・IgG

128×以上を掲げているが、我々の測定例では IgA 16×以上・IgG 64×以上を active infection の指標として採用し得ると考えられる成績であった。

*C. trachomatis* 感染症が疑われた 7 例の肺炎患児の中、4 例から *C. trachomatis* が分離された。分離陽性 4 例中 3 例で IgA 抗体が検出され、4 例全て IgG 抗体の消長を認めた。一方、分離陰性の 3 児は IgA および IgG 抗体ともに陰性であった。これら 7 例の母親について血清抗体の検索を行ったところ、分離陽性児 4 例の母親はすべて IgA 抗体 16×以上・IgG 抗体 64×以上の値であった。また、抗原陰性児 3 例の母親はすべて IgA 抗体・IgG 抗体ともに陰性であった。これら 7 例の母親はすべて *C. trachomatis* に関しては無症候であった。

以上の成績より、IgA 抗体の測定は *C. trachomatis* 感染症の診断の上で有力な補助的手段となり得ると考えられる。男性尿道炎の場合は尿道擦過材料からの *C. trachomatis* の分離もしくは抗原検出のみで比較的確実に診断を行うことが可能であるが、女性子宮頸管部擦過材料では分離もしくは抗原検出は確率が低く、1 回のみの採材では検出の精度を欠く。また、女性では無症候で終始することが多く、感染初期の血清を得ることは難しい。しかし、サルの実験成績および肺炎児の抗体追跡成績で認められたように IgA 抗体は IgM 抗体に比し長期間持続することより、無症候な女性について *C. trachomatis* 感染症の診断を行う場合、IgA 抗体の存在を active infection の有力な指標となし得ると考えられる。

抗体価測定によって *C. trachomatis* の診断を行う場合、IPA zyme Kit を用いた場合は IgA 抗体 16×以上・IgG 抗体 64×以上を active infection の指標とするのが妥当であると考えられる。また、間接蛍光抗体法を用いた場合は IgA 抗体 4×以上・IgG 抗体 16×以上を active infection とすることが妥当であろう。

これらの指標を用いて active infection の可能性有りと診断された妊婦もしくは母親については、high risk の母親と考え、これらの母親から出

生した新生児を追跡調査することも必要であろうと考えている。

# 文 献

- 1) 橋爪 壮(代表): クラミジア検査法, 厚生省クラミジア感染症研究班, 1985.
- 2) 吉沢花子, 橋爪 壮, 藤田秀雄: Chlamydia trachomatis の分離培養法の検討と分離成績, 臨床とウイルス, 14: 247—252, 1985.
- 3) 西浦常雄, 加藤直樹, 中尾 亨, 熊木悦明, 橋爪 壮, 北川龍一, 林 康之, 中村正夫, 長田尚夫, 小島弘敬, 赤尾頼夫, 荻原敏且, 藤林一平, 高瀬善次郎: FITC 標識モノクローナル抗体 (Micro Trak 法) による Chlamydia trachomatis の検出, 感染症学雑誌, 58: 1305—1314, 1984.
- 4) 吉沢花子, 原尻真理, 橋爪 壮, 大谷かおる, 村上信乃: Chlamydiazyme を用いた Chlamydia trachomatis 尿路性器感染症からの抗原検出, 臨床とウイルス, 14: 313—317, 1986.
- 5) Scheibel, J.H., Andersen, J.T., Brandenhoff, P., Geerdsen, J.P., Bay-Niels, A., Schultz, B.A. & Walter, S.: Chlamydia trachomatis in acute epididymitis. Scand. J. Urol. Nephrol., 17: 47—50, 1983.
- 6) Puolakkainen, M., Saikku, P., Leinonen, M., Nurminen, M., Vaananen, P. & Makel, P.H.: Chlamydial pneumonitis and its serodiagnosis in infants. J. Infect. Dis., 149: 598—604, 1984.
- 7) Schachter, J., Grossman, M. & Azimi, P.H.: Serology of Chlamydia trachomatis in infants. J. Infect. Dis., 146: 530—535, 1982.
- 8) Sarov, I., Levy, E., Aymard, M., Chardonnet, Y., Bosshard, S., Revillard, J.P., Friedman, M., Nord, E., Greiff, M. & Haikin, H.: Detection of virus-specific IgA antibodies in serum of kidney transplant patients with recurrent cytomegalovirus infection by enzymeimmuno and radioimmunoassay techniques. Clin. Exp. Immunol., 48: 321—328, 1982.
- 9) Sarov, I., Insler, V., Sarov, B., Cevenini, R., Rumpianesi, F., Donati, M., Kleinman, D., Piura, B., Lieberman, J., Kimmel, N., Friedman, M. & La Placa, M.: Specific serum IgA antibodies in the diagnosis of active viral and chlamydial infections. In New Horizons in Microbiology (Sanna, A. & Morace, G. ed.) p. 157—168, Elsevier Biomedical Press, Amsterdam, 1984.
- 10) Piura, B., Sarov, I., Sarov, B., Kleinman, D., Chaim, W. & Insler, V.: Serum IgG and IgA antibodies specific for chlamydia trachomatis in salpingitis patients as determined by the immunoperoxidase assay. Eur. J. Epidemiol., 1: 110—115, 1985.

## Specific Serum IgA Antibodies in Diagnosis of Chlamydia trachomatis Infection

Hanako YOSHIZAWA, Mari HARAZIRI & So HASHIZUME

Department of Pathobiology, School of Nursing, Chiba University

Serologic diagnosis in pneumonia or pelvic inflammatory diseases by *C. trachomatis* was confirmed by demonstration of rising titer of specific serum IgM antibodies. The possibility that the specific serum IgA antibodies might be a marker of active chlamydial infection had recently been suggested by Sarov. We discussed the usefulness of the serum specific IgA antibodies as a marker of active chlamydial infections.

In monkeys inoculated with  $L_2$  strain of *C. trachomatis*, it was recognized that the specific serum IgA antibodies rised in primary infection and reinfection but the IgM antibodies did not appeared in secondary infection.

Sera obtained from 17 men with *C. trachomatis* isolation-positive non-gonococcal urethritis (NGU) and 19 men with *C. trachomatis* isolation-negative NGU were studied for the presence of *C. trachomatis* specific IgG and IgA antibodies. The IgA positive-coincidence ratio was 94.1% (16/17) in isolation-positive NGU patients and the IgA negative-coincidence ratio was 78.9% (15/19) in the isolation-negative NGU patients.

The specific srum IgA antibodies had been detected in three of four *C. trachomatis* antigen detected pneumonia infants and these four mothers had high level specific serum IgA and IgG antibodies.

It is suggested from our studies that specific serum IgA antibodies may be used as a marker of active *C. trachomatis* infection.

---