

## *Chlamydia trachomatis* による尿路性器感染症 患者血清中の特異的 IgA の検出

川崎医科大学 微生物学教室  
(指導: 松本明助教授)

趙 文 明

(昭和61年3月31日受付)

### Detection of IgA in Sera of Patients with Urogenital Infection of *C. trachomatis*

Wen-Ming Zhao

Department of Microbiology, Kawasaki Medical School  
(Directed by A. Matsumoto)  
(Accepted on March 31, 1986)

*Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*) が確認された非淋菌性尿道炎患者 62 例から採取した血清 86 検体を MFA による IgG, IgM 検出結果に基づいて 3 群に分けた。すなわち I 群: IgG 陽性 IgM 陽性群, II 群: IgG 陽性 IgM 陰性群, III 群: IgG 陰性 IgM 陰性群である。これらの抗 *C. trachomatis* IgA および IgG を間接ペルオキシダーゼ抗体法 (IPA) を原理とする Ipazyme Chlamydia キットで測定して, IgA と IgG および IgM の関係を検討して, 以下の結果を得た,

- 1) IgA 検出率は I 群で 65.4%, II 群で 27.6%, III 群で 9.7% を示し, I 群が他の二群より高い検出率を示した。
- 2) Ipazyme Chlamydia による IgG 検出感度は MFA と同程度であった。

Eighty-six sera collected from 62 patients with *Chlamydia trachomatis* positive urethritis were divided into 3 groups depending on the results of IgG and IgM detection by the microplate immunofluorescent antibody technique (MFA). Group I contained sera positive for both IgG and IgM antibodies. Group II sera were positive for IgG but negative for IgM. Group III sera were negative for both IgG and IgM. The IgA antibody to *Chlamydia trachomatis* was assayed by the Ipazyme Chlamydia kit which is based on the indirect immunoperoxidase assay (IPA). The results may be summarized as follows: (1) The detection rate for IgA was 65.4% in Group I, 27.6% in Group II and 9.7% in Group III. The rate in Group I was significantly higher than those in the other groups. (2) The sensitivity of the Ipazyme Chlamydia kit was identical to that of the MFA for IgG detection.

\* 現住所: 中国北京市右安門外 首都医学院微生物学教研室

## はじめに

クラミジア感染症, とりわけ *C. trachomatis* による性行為感染症は非淋菌性尿道炎をはじめ副睾丸炎, 直腸炎, 卵管炎等, 種々の骨盤内炎症疾患, あるいは産道感染による新生児肺炎, 封入体結膜炎等の疾患として近年注目されている.<sup>1)</sup> これに伴って患者血清中の抗トラコマチス抗体の検出法の確立や, それらによる臨床疫学的研究が数多く報告されている.<sup>2)~6)</sup> 血清抗体検出法として間接蛍光抗体法を原理とした MIF (micro-immunofluorescent technique)<sup>7)</sup> や MFA (microplate immunofluorescent antibody technique)<sup>8), 9)</sup> がすでに確立され, 特に IgG, IgM を対象に調査が進められている. IgA については従来, 眼疾トラコーマ患者の涙や子宮腔部分分泌液中の分泌型 IgA の検出が MIF によって行われたが,<sup>10)</sup> 一方, 血清 IgA の検出と, その意義について, 主として婦人科領域の患者を対象に検討されつつある.<sup>11), 12)</sup> これらの研究に基づいて, 最近, 血清 IgA を対象とした検出用キットが Savyon Diagnostics 社 (イスラエル) より市販されるに至った. その原理は *C. trachomatis* L<sub>2</sub> 株の細胞内封入体を抗原とした間接ペルオキシダーゼ抗体法 (IPA) である. 今回われわれはこのキットの提供を受けたので, これまでの検索によってすでに *C. trachomatis* 感染が確認されている患者血清を対象に, このキットの有用性並びにこれによって検出された血清 IgA と, 同一血清中の IgG, IgM との関連性を検討したのでここに報告する.

## 材料および方法

### 材 料

実験に用いた血清は当微生物学研究室で1984年8月から1985年10月までに採取した尿路性器感染症患者62例の血清のべ86検体ですすでに分離と MicroTrak で抗原陽性で, かつ MFA によって IgG と IgM が測定されているものである.<sup>13)</sup> IgA の測定にあたって MFA による

IgG, IgM の検査結果をもとに患者血清を次の3群に分けた. すなわち I 群: IgG 陽性 IgM 陽性, II 群: IgG 陽性 IgM 陰性, III 群: IgG, IgM 共に陰性の3群である. なお, MFA による IgG は 1:8 以上, IgM は 1:4 以上をそれぞれ陽性と判定してある.<sup>13)</sup>

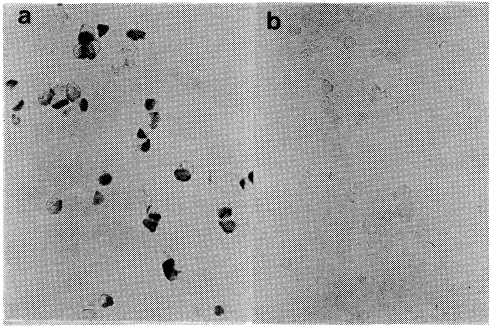
### IPA 法

IgA 測定には東進ケミカル株式会社より供与された Ipazyme Chlamydia (Savyon Diagnostics Ltd. Beer Sheva ISRAEL) を用い, 測定方法はこのキット説明書に基づいて実施した. すなわち患者血清を各々 1:16, 1:64, 1:128 に希釈し, 1:16 希釈血清で IgA を, 1:64, 1:128 希釈血清で IgG を測定した. *C. trachomatis* L<sub>2</sub> 株感染細胞を固定したスライドウェルに希釈血清 10  $\mu$ l を添加し, 湿箱中にて 37°C, 45 分間反応した. 洗浄, 乾燥し, つづいてペルオキシダーゼ標識抗ヒト IgA または抗ヒト IgG 動物 IgG を同様に反応, 洗浄後, 基質 10  $\mu$ l を添加して室温 15 分間反応して発色させた. 反応後, 洗浄, 乾燥, 封入, 検鏡を順次行った. 鏡検には青色フィルター付光学顕微鏡 (10 $\times$ 20) を用い, 感染細胞中のクラミジア封入体が特異的に青染した場合を陽性, 青染が認められなかった場合を陰性としたが, これらの判定にはそれぞれ既知の陽性血清と陰性血清を対照として使用した.

## 結 果

**Figure 1** は抗クラミジア IgA 陽性および陰性例である. 反応陽性 (**Fig. 1-a**) においては特異的抗原抗体反応によって結合した二次抗体のペルオキシダーゼの酵素活性を利用して基質を発色させるため, クラミジア封入体が特異的に染色された. このような染色は反応陰性では認められなかった (**Fig. 1-b**).

MFA による IgM, IgG と, IPA による IgA, IgG の測定結果に基づいて, MFA と IPA の2つの方法を比較検討した. MFA での測定項目は IgM と IgG, IPA のそれは IgA と IgG の2項目であるが, 今回の86検体の検索結果は



**Fig. 1.** Antigen-antibody reaction by IPA. a: An example of positive reaction for IgA. The inclusions in the cells are specifically stained. b: An example of negative reaction. No inclusion stained is visible in the cells.

MFA で IgM 陽性ならば例外なく IgG 陽性, IPA でも IgA 陽性ならば例外なく IgG 陽性を示した. 当然のことながら, IgG 陽性数は希釈度が低い血清ほど多かった. したがって IPA による 1:64 における検出数を以後の検討に用いた.

**Table 1** に示した実測値から両方法による検出率, すなわち感度を検定するために IgG の

**Table 1.** Detection of IgG, IgA and IgM antibodies by IPA and MFA.

MFA	IPA	IgG			Total
		IgG + IgA +	IgG + IgA -	IgG - IgA -	
Group I	(IgG + / IgM +)	17	9	0	26
Group II	(IgG + / IgM -)	8	19	2	29
Group III	(IgG - / IgM -)	3	6	22	31
Total		28	34	24	86

**Table 2.** Detection of IgG by IPA and MFA.

MFA	IPA	IgG		Total
		Positive	Negative	
IgG	Positive	53	2	55
	Negative	9	22	31
Total		62	24	86

検出率について **Table 2** にまとめた (**Table 2**). それぞれの方法による IgG 陽性率は IPA で 72% (62/86), MFA で 64% (55/86) を示し, IPA による IgG 検出率が MFA のそれよりも高い値を示した. しかし統計学的に比率の差の検定を行った結果,  $p > 0.05$  を示し, 両者の陽性率に有意差はないことが判った. さらに両方法による IgG 検出について一致率を計算したところ, 一致率  $P_o$  は 87.2% (75/86) であり, これは偶然性により期待される一致率  $P_c$  56.2% より有意に大きい ( $p < 0.05$ ). したがって IgG 検出に関しては IPA と MFA との間に感度の差はないと考えられる. この結果は同時に同一原理に基づく IgA, IgM 検出においても両方法の感度が同程度であることを強く示唆するものである.

以上の結果に基づいて次に IgM と IgA の検出結果をまとめた (**Table 3**). これから IgA,

**Table 3.** Detection of IgA and IgM by IPA and MFA.

MFA	IPA	IgA		Total
		Positive	Negative	
IgM	Positive	17	9	26
	Negative	11	49	60
Total		28	58	86

IgM の陽性率をみると, それぞれ 32.6% (28/86), 30.2% (26/86) となり, 統計学的には IgA と IgM の陽性率に有意差は認められなかった ( $p > 0.05$ ). したがって今回対象とした抗原陽性患者血清には IgA, IgM 共にわずかに 30% 前後しか検出できないことが判明した. IgA と IgM の一致率  $P_o$  は 76.7% (66/86) でこれは  $P_c$  56.9% より大で, 同時に  $p < 0.05$  が算定されたので, 一致率 76.7% は有意な値である. すなわち IPA による IgA と MFA による IgM の陽性率はよく対応していることが判明した.

IgA と IgG (MFA) の関係を検討するために **Table 1** より **Table 4** を抽出作製した (**Table 4**). IgA の陽性率は 32.6% (28/86), IgG のそ

**Table 4.** Detection of IgA and IgG by IPA and MFA.

		IPA		IgA		Total
		Positive	Negative	Positive	Negative	
MFA	Positive	25	30			55
	Negative	3	28			31
Total		28	58			86

これは64% (55/86)であった。これらの陽性率の間には有意差が認められ ( $p < 0.01$ )、IgG 陽性率が IgA のそれより高いことを示した。全く同様な関係は IPA による IgA と IgG (72%) の陽性率からも得られた。IgA と IgG (MFA) の一致率は Po 61.6% (53/86) で偶然性による一致率より有意に高かった ( $p < 0.05$ )。これらの結果は IgA と IgG は統計的には対応が示されるものの、高い相関はないことを示している。このことは IgA 陽性の血清の大部分 (25/28) は IgG 陽性であるが、IgA 陰性の血清でも 52% (30/58) が IgG 陽性であることからもうかがえる。

次に MFA による IgG, IgM 測定結果に基づいて分けられた I, II, III 群の IgA 陽性率を検討した (Table 5)。表示のごとく IgA 陽性率

**Table 5.** Detection of IgA by IPA in the patient sera of three groups.

		IPA		IgA		Total
		Positive	Negative	Positive	Negative	
Group	I	17	9			26
Group	II	8	21			29
Group	III	3	28			31

(Total 86)

は I 群で 65.4% (17/26)、II 群 27.6% (8/29)、III 群で 9.7% (3/31) であった。これらの結果は IgA は IgM 陽性の I 群で比較的多く検出される傾向を示している。II 群は MFA で IgG のみ陽性であり、このような血清でも検出率は低いものの IgA 陽性血清が存在することを示している。また III 群中の IgA 陽性 3 例は IPA ですべて IgG 陽性であった。これらの結果は

男性非淋菌性尿道炎患者の血清における IgA 出現と IgM 出現とは必ずしも高い相関性がないことを示唆している。MFA による IgG, IgM 抗体価と IPA による IgA 陽性例数との間の関連性を検討したが、抗体価が高ければ IgA 陽性率も高いという平行関係は認められなかった。この結果も IgA と IgM との間の相関性が低いことを示唆している。

## 考 察

単クローン抗体による直接塗抹法と分離によってすでに抗原陽性が確認されている男性非淋菌性尿道炎患者の血清を MFA (IgG, IgM) と IPA (IgG, IgA) で比較検討した。今回のデータでは IPA で IgA 陽性ならば IgG 陽性、MFA で IgM 陽性ならば IgG 陽性を示したため、IPA, MFA の総合比較にまず両方法の IgG 陽性率に注目した。解析結果より、IgG 検出に関しては IPA は MFA よりむしろ検出率がやや高い傾向がみられたが統計学的には有意差が認められなかった。すなわち IPA は MFA と同程度の検出精度を有することが判明した。したがって IPA を原理とする Ipazyme Chlamydia は MFA に匹敵する感度、特異性を有した抗クラミジア抗体検出に使用できる。間接蛍光抗体法を原理とする MFA が急速退色のため保存できないのに反し、IPA 染色標本が少なくとも 3 週間の保存に耐えることは MFA にはない IPA のメリットであろう。

Terho and Meurman<sup>14)</sup> はラジオイムノアッセイで *C. trachomatis* 抗原陽性尿道炎患者血清の IgA 保有率を検討し、53% の陽性率を報告した。Cevenini ら<sup>15)</sup> は ELISA で抗原陽性の非淋菌性尿道炎と急性卵管炎患者血清を測定して、それぞれ 94.1%、45.2% に IgA を検出し、特に急性卵管炎患者において IgA 検出が重要であることを示唆している。これらの値は今回のわれわれの IgA 検出率 32.6% より有意に高い。この差異の理由として検査対象とした患者群の違いや、血清採取時期の相違、検出法の感度の相違などが考えられる。特に今回

の IgA 検出率は 1:16 希釈血清についての値であり、これによってより低い IgA 力価血清はすべて陰性として判定されたことも原因の一つと考えられる。一方、MFA による IgM と IPA による IgA の検出率はいずれも 30% 前後で両者の間に有意差は認められなかった。すなわち IgA と IgM の陽性率に有意差は認められず、両者の陽性率はよく対応している。しかし、IgM 陰性の II, III 群の中にそれぞれ 27.6% と 9.3% の IgA を検出できた。また、IgG, IgM 抗体価と IgA 陽性数との間の平行関係は認められなかった。したがって、男性非淋菌性尿道炎患者血清における IgA 出現と IgM 出現とは必ずしも高い相関性がないと思われる。キットは主として *C. trachomatis* による女性骨盤内感

染症患者血清を主眼に標準化されており、IgA 1:16, IgG 1:64 以上を血清学的に *C. trachomatis* 感染と判定するものであるが、MFA における血清診断同様<sup>18)</sup> 今回対象とした全ての抗原陽性患者の血清抗体を検出できないという限界を解決できる方法ではない。したがって松本が指摘<sup>19)</sup> したように *C. trachomatis* 感染症の特定には抗体検出と同時に抗原検出が重要であることを示している。

稿を終えるにあたり、終始変わらぬ御指導をいただいた川崎医科大学微生物学教室助教授、松本明先生および御協力いただいた別所敏子先生に厚く御礼申し上げます。本稿をまとめるにあたり多くの御指導をいただいた川崎医科大学医学教室有田清三郎助教授に厚く御礼申し上げます。

## 文 献

- 1) Schachter, J.: Biology of *Chlamydia trachomatis*. In Sexually transmitted diseases, eds. Holmes, K. K., Mårdh, P. -A., Sparling, P. F. and Wiesner, P. J. New York, McGraw-Hill Book Co. 1984, pp. 243—257
- 2) Ripa, K. T., Svensson, L., Treharne, J. D., Weström, L. and Mårdh, P. -A.: *Chlamydia trachomatis* infection in patients with laparoscopically verified acute salpingitis. Am. J. Obstet. Gynecol. 138: 960—964, 1980
- 3) Schachter, J., Grossman, M. and Azimi, P. H.: Serology of *Chlamydia trachomatis* in infants. J. infect. Dis. 146: 530—535, 1982
- 4) Jones, R. B., Ardery, B. R., Hui, S. L. and Cleary, R. E.: Correlation between serum antichlamydial antibodies and tubal factor as a cause of infertility. Fertil. Steril. 38: 553—558, 1982
- 5) Moore, D. E., Foy, H. M., Daling, J. R., Grayston, J. T., Spadoni, L. R., Wang, S. -P., Kuo, C. -C. and Eschenbach, D. A.: Increased frequency of serum antibodies to *Chlamydia trachomatis* in infertility due to distal tubal disease. Lancet 2: 574—577, 1982
- 6) 小林芳夫, 藤森一平, 王三聘: *Chlamydia trachomatis* に関する血清学的検討. 日感染学誌 57: 839—844, 1983
- 7) Wang, S. -P. and Grayston, J. T.: Immunological relationship between genital TRIC, lymphogranuloma venereum, and related organisms. A new microtiter indirect immunofluorescence test. Am. J. Ophthalmol. 70: 367—374, 1970
- 8) 別所敏子, 松本明: *Chlamydia psittaci* の封入体を抗原とした簡単な抗体価測定法—microplate immunofluorescence technique. 医学のあゆみ 128: 571—572, 1984
- 9) 別所敏子, 松本明, 天野正道: マウス血清と患者血清の MFA 法によるクラミジア種の同定. 医学のあゆみ 135: 665—666, 1985
- 10) Wang, S. -P. and Grayston, J. T.: Microimmunofluorescence antibody responses. In Chlamydial infection, eds. Mårdh, P. -A., Holmes, K. K., Oriel, J. D., Piot, P. and Schachter, J. Amsterdam, Elsevier Biomedical. 1982, pp. 301—316
- 11) Helin, I., Mårdh, P. -A. and Persson, K.: IgA antibody response to *Chlamydia trachomatis*

- in lactating women. In *Chlamydial infections*, eds. Mårdh, P. -A., Holmes, K. K., Oriel, J. D., Piot, P. and Schachter, J. Amsterdam, Elsevier Biomedical. 1982, pp. 333—336
- 12) Piura, B., Sarov, I., Sarov, B., Kleinman, D., Chaim, W. and 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—116, 1985
- 13) 松本 明: *C. trachomatis* および *C. psittaci* 感染細胞を抗原とした間接蛍光抗体法による抗体価測定. *臨床とウイルス* 13: 436—441, 1985
- 14) Terho, P. and Meurman, O.: Chlamydial serum IgG, IgA and local IgA antibodies in patients with genital-tract infections measured by solid-phase radioimmunoassay. *J. med. Microbiol.* 14: 77—87, 1981
- 15) Cevenini, R., Sarov, I., Rumpianesi, F., Donati, M., Melega, C., Varotti, C. and Place, M. L. A.: Serum specific IgA antibody to *Chlamydia trachomatis* in patients with chlamydial infections detected by ELISA and an immunofluorescence test. *J. clin. Pathol.* 37: 686—691, 1984