

Table 4 Interpretation of the ELISA* results arranged by the days from onset of fever

Inter-pretation	Day											Total
	0	1	2	3	4	5	6	7	8-10	11-14	15-21	
No- 8	1	5	1	4	2	3	1	1	1			19
Early- 1			1	1	3	4	1	4	9	2	1	26
Acute-3										1		1
4	1		1		1	3		1	8	6	5	26
5	1		1	1					3	9	5	20
Past- 7			1									1
Total	3	5	5	6	6	10	2	6	21	18	11	93

* ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay

る傾向が認められた。III群では26例29検体中、25検体(86%)がカテゴリー8であり、3例(3検体)がカテゴリー1に属していた。Pastのカテゴリー7は、全群を合わせても2検体のみしか認められなかった。

Table 4にはI群において発熱日からの日数を特定できた92検体の時間的分布を亜群のa, b, cにかかわらず一括して示した。Noのカテゴリー8はほぼ5日目までで認められなくなり、替わって4, 5日目からEarlyのカテゴリー1が出現し始め10日目までに26検体中23検体, 88%が出現し終えた。Acuteのカテゴリー4も5日目には出現し始めているがピークは8~10日, カテゴリー5は7日以内にはほとんど認められずそのピークは11~14日のように見える結果であった。

考 察

本測定系における画期的な点は、従来のマイコプラズマ血清診断法には無いマイコプラズマ特異的IgG, IgA, IgM抗体の分別測定が可能になったと同時に、それらの結果を総合してマイコプラズマに対する宿主の免疫状態を単一血清にてより詳細に評価するための「判定基準(Table 1)」が提示された点である。またその脚注にはこれまでマイコプラズマ研究者の間で診断上の問題点とされてきた小児と成人における抗体反応の差を意識した解釈も添えられており、キットの製作者がマイコプラズマ感染症を非常によく理解していることが伺える。一方でこの判定基準における分類上のEarly, Acute, Currentなどの実際上の出現日や

頻度などが不明確であり、またIgA抗体のみ単陽性の場合にSolitary persistingと表現されているがこのような症例が実際に存在するのかなど、実用に供する上での疑問点がいくつか存在する。これらの点を明らかにするためにまずretrospectiveに、現在最も一般的であるPA法を基準としてマイコプラズマの感染動態が明らかである検体を用いて、この「判定基準」を検証した。

結果で述べたごとくEarlyのカテゴリー1は陽性所見としては急性期最初に出現し、回復期の21日を越えては認められない傾向が示唆されたことから、単一血清においてこのカテゴリーが認められた場合、その診断的意義は高いと考えられる。一方Acuteのカテゴリー4および5はカテゴリー1よりやや遅れて出現しているが、どの程度の時間範囲(感染後週単位かあるいは月単位か)で認められるものかは本研究では追跡しきれなかった。今後検討されるべき課題と思われる。一方カテゴリー2(Solitary persisting IgA)および6(Current)は今回の小児領域における検討では出現していない。これは小児期における感染ではIgA抗体の出現頻度が少ない、あるいは出現時期が遅い、という現象を示唆していると考えられる。年齢によってはIgA抗体検出のほうがむしろIgM抗体検出より有用な方法論であることも過去には報告されているので⁴⁾⁵⁾、今後成人領域(16歳以上の年齢)において検討がなされることを期待したい。

II群の5例, III群の3例においては、カテゴ

リー1が観察された。これらの例は採血時点で急性呼吸器症状を有しており、上述の結果からすると実際にマイコプラズマ感染症であった可能性も高いと考えられる。このような例に関してはより遠隔期の血清が得られれば診断を確定できるものと考えられるが、本研究においてはそのような検体は保存されていなかった。本キットに関する解説書においてもPA価が低い領域ではPA抗体測定法による判断と本キットによるinterpretationとのdiscrepancyが多いことはすでに指摘されているが、その理由のひとつとして、抗原の差が挙げられている。本キット(IgG, IgA)ではマイコプラズマ接着器官のリコンビナント蛋白が抗原として固相化されており、菌膜由来の糖脂質画分も含まれるPA抗原とは抗原性が多少異なっている。マイコプラズマ感染症診断において感度と特異性を考慮した場合、抗原としては前者のほうが有利と考えられ、急性期PA抗体価が80~320倍程度のとりわけ単一血清では判断に苦慮するあたりでの、本キットによる診断の有用性が期待される。一方、I-c群、II群の中にカテゴリー8が散見された。上述のごとく糖脂質画分が抗原として含まれるPA法にてはこれが交叉抗原となり疑陽性が出るのが指摘されており⁷⁾、これらの例は実際にはマイコプラズマ感染症ではなかった可能性も考えられる。以上の点を明らかにするためには、今後、遺伝子検出法なども加えたprospective studyによる情報も必要であると考えられる。

また本稿においては定性解析の結果を中心に述べたが、本キットには定性解析に加えて、IgG抗体、IgA抗体に関しては定量解析も可能であるという特徴が有る。この点については今後のデータの蓄積により、診断のみならず病態解析などにおいても新しい知見が得られる可能性が考えられる。

以上、*Mycoplasma pneumoniae*—ELISA medacの使用経験について述べた。血清診断の限界とし

て発熱から4日以内のマイコプラズマ肺炎早期診断はやはり困難であるが²⁹⁾、本キットにより得られる情報は、今後のマイコプラズマ感染症の診断あるいは病態解析に新たな視点を供給するものとして期待される。

謝辞：*Mycoplasma pneumoniae*—ELISA medacの使用機会を提供いただいた日本凍結乾燥研究所・大塚勝次氏、そして必要な検体の収集にご尽力いただいた松園嘉裕先生(前・北大小児科、現・まつぞの小児科)に心より感謝申し上げます。

文 献

- 1) 成田光生：感染症迅速診断の実際。マイコプラズマ。小児科 2003；44：1884—90。
- 2) 成田光生，富樫武弘：小児マイコプラズマ感染症診断における迅速診断キットの有用性。感染症誌 2003；77：310—5。
- 3) 成田光生：非定型肺炎の診療。マイコプラズマ肺炎—診断と耐性菌に関する話題を中心に—。日本胸部臨床 2005 (印刷中)。
- 4) Sillis M：The limitations of IgM assays in the serological diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* infections. J Med Microbiol 1990；33：253—8。
- 5) Granström M, Holme T, Sjögren AM, Örtqvist A, Kalin M：The role of IgA determination by ELISA in the early serodiagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* infection in relation to IgG and μ -capture IgM methods. J Med Microbiol 1994；40：288—92。
- 6) König T, Böttcher M, Christiansen G, Drasbek M, Däubener W, Birkelund S, et al.：*Mycoplasma pneumoniae*—ELISA medac：New assays for the detection of specific IgG, IgA, and IgM antibodies (Abstr.). 15th Congress of International Organization for Mycoplasmaology. 2004；Athens, Georgia.
- 7) Beersma MFC, Dirven K, van Dam AP, Templeton KE, Claas ECJ, Goossens H：Evaluation of 12 commercial tests and the complement fixation test for *Mycoplasma pneumoniae*—specific immunoglobulin G (IgG) and IgM antibodies, with PCR used as the “gold standard”. J Clin Microbiol 2005；43：2277—85。

Evaluation of ELISA Kits for Detection of *Mycoplasma pneumoniae*—Specific IgG, IgA, IgM Antibodies on the Diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* Infection in Children

Mitsuo NARITA

Department of Pediatrics, Sapporo Tetsudo Hospital

A retrospective study was conducted to evaluate the utility of *Mycoplasma pneumoniae* IgG (quantitative), IgA (quantitative), IgM (qualitative) ELISA kits (Medac Diagnostika, Germany) for the diagnosis of *M. pneumoniae* pneumonia in children under 16 years of age. This study included a total of 159 serum samples from 113 patients with acute respiratory diseases such as bronchitis, pneumonia, which were classified into three groups according to the results of a particle agglutination (PA) test as a reference method, that is, Group I (*Mycoplasma*-definite cases) : Group I-a (paired 52 samples from 26 cases) ; a four-fold or greater rise of antibody from an acute phase PA titer of $\leq 1 : 80$, Group I-b (paired 12 samples from 6 cases) ; a four-fold or greater rise of antibody from an acute phase PA titer of $\geq 1 : 160$, Group I-c (48 samples from 38 cases) ; a single high PA titer of $\geq 1 : 640$ either or both in acute or convalescent serum, Group II (*Mycoplasma*-probable cases, 18 samples from 17 cases) : a PA titer of $1 : 160$ or 320 was observed either or both in acute or convalescent serum, but the above serological criteria for Group I were not fulfilled, Group III (non-cases, 29 samples from 26 cases) : a PA titer of any sample was $\leq 1 : 80$. The ELISA tests were performed according to the supplier's recommendations, and the results were classified according to the interpretation provided by the supplier : Early stage of infection (category 1,2), Acute-(3,4,5), Current-(6), Past-(7), and No—infection (8). The day of onset of fever (defined as a body temperature of ≥ 37.5 degrees Celsius) was denoted as day 0. As a result from Group I, the category initially observed following the onset of fever was category 8 (triple negative), and the predominance of category 8 was replaced by category 1 (IgM solely positive) after day 4, followed by a shift of predominance to category 4 (IgM and IgG double positive) or 5 (triple positive) after day 10 or later. Specifically, category 1 was rather exclusively observed before day 21 following the onset of fever. These results suggest that category 1, when observed, is a useful marker of acute infection by *Mycoplasma pneumoniae* in children because it appears early in the acute phase and no longer observed beyond the convalescent phase. On the other hand, significance of detecting IgA antibody, which must be important for adults, was not remarkable in our study. Five samples in group II and 3 samples in group III fell into category 1. Whether or not such cases, in the absence of significant PA titers, can be taken actually as mycoplasmal infection remains to be clear. This study validated the utility of this ELISA methodology in terms of the acute phase diagnosis using a single point serum sample for *Mycoplasma pneumoniae* infection specifically in children.

マイコプラズマ肺炎

— 診断と耐性菌に関する話題を中心に —

成田光生*

要 旨

マイコプラズマによる肺炎では、他のウイルスや細菌による肺炎と異なり、その発症病理において病原体による直接傷害よりもむしろ宿主の免疫応答が強く関与している。マイコプラズマ肺炎、とりわけ成人のマイコプラズマ肺炎においては属性的に早期診断が困難である。最近急激に増加しているマクロライド耐性マイコプラズマによる肺炎には、必ずしも重症化する傾向は認められていない。これら諸点は、実は表裏一体をなすものである。

Key words: マイコプラズマ肺炎, IgM 抗体, 迅速診断, マクロライド, 耐性菌/*Mycoplasma pneumoniae pneumoniae*, IgM antibody, rapid diagnosis, macrolide, resistant strain

1 はじめに

Mycoplasma pneumoniae (以下、マイコプラズマ) は広く小児から成人にかけて市中肺炎の主要な病原体として知られている。以前はウイルスに近い微生物とみなされていたが、細菌壁を有さないことなどを除けば生物学的には明らかに細菌に属する。大きさは一般細菌の約 1/5 で、形状はボウリングのピンのような格好をしている。その細く尖っている部分が接着器官と呼ばれ、ここが呼吸器粘膜に突き刺さるように接着することにより感染が成立し、その後の病原性を発揮するうえで重要な働きをしている。ただしヒトの呼吸

器に感染するマイコプラズマ (*M. pneumoniae*) には活性酸素を過剰に産生して呼吸器粘膜細胞を軽く傷害するという作用のほかには、直接的に組織を傷害する能力は知られていない。したがって、より強く広範な炎症である肺炎の病変形成はマイコプラズマによる直接傷害だけではなく、宿主の免疫応答が作用した結果である、という概念は定説として認められている¹⁾。この免疫応答による発症という点がマイコプラズマ肺炎の診断・治療を複雑にしている要因である。

Mycoplasma pneumoniae Pneumonia : Recent Evidence on Diagnosis and Resistant Strains
Mitsuo NARITA*

* Department of Pediatrics, Sapporo Tetsudo (JR) Hospital, Sapporo

* 札幌鉄道病院小児科 (〒 060-0033 北海道札幌市中央区北 3 条東 1 丁目)

2 血清 IgM 抗体を検出と早期診断に関する最近の話題

この肺炎病像を形成する免疫応答の中心として機能しているのが、複数のサイトカインであると考えられている（後述）。このサイトカインは多種多様ではあるが、一般的に炎症性サイトカインは生体内では非常に短い半減期、例えば数分単位で機能しては分解される。一方、血清レベルでの抗体反応は、最も早く立ち上がるとされる IgM 抗体（マイコプラズマ既感染者では IgA 抗体の方が速いという説もあるが、一般には測定できない）にしても、それが産生されて血中に検出されるようになるまでには日単位の時間を必要とする。したがって時間単位で形成されてくる肺炎を、日単位で産生されてくる血清抗体の検出により早期診断しようとする試みには方法論自体に一定の限界があり、早期診断は属性的に困難である。

このような状況はあるものの、培養法あるいは PCR 法などによる菌自体の検出に一定の限界があるマイコプラズマ感染症診断においては、やはり血清診断がゴールドスタンダードであることは間違いない。その中でも微粒子凝集 (particle agglutination, 以下 PA) 法は主として IgM 抗体を、従として IgG 抗体を検出する方法で、比較的操作が簡便で多数検体を処理できることから、一般検査室では現在最も広く用いられている。補体結合 (compliment fixation, 以下 CF) 法は主として IgG 抗体を検出する方法で、古典的で信頼性はあるが操作が煩雑で時間を要することから、使われなくなりつつある。寒冷凝集

法も IgM 抗体を検出する方法で、早期診断法として期待されたが特異性に難があり、これも現在あまり使われていない。固相酵素結合免疫測定 (enzyme-linked immunosorbent assay, 以下 ELISA) 法は IgM 抗体と IgG 抗体を分別して検出する方法で、感度・特異性とも高いが、やや専門の器具・機材を要するため、実験室的診断法にとどまっている。イムノクロマトグラフ法も知られているが、これは ELISA 法よりもさらに複雑で高度な技術を必要とするため一般的ではない。そこでこのクロマトグラフ法による IgM 抗体検出を簡便化して迅速診断キットとして作製されたのがイムノカードマイコプラズマ抗体 (Meridian, USA) で、日本でも販売され (テイエフビー) 保険診療も可能である。筆者も本法の有用性を検討したので、略述する。なお結果の詳細は別途論文²⁾を、参照されたい。

試薬等はすべてキットに含まれており、カード 1 枚が 1 検体用である。まず少量の血清 (約 80 μ l) を添付のスポイトで滴下し、その後酵素標識抗体液、洗浄液、基質液と順次滴下し、最後に青色の発色の有無を観察後、結果を判定する (所要時間 15 分以内)。対象として 37.5°C 以上の発熱が認められた日 (0 病日) から 5 病日までに検体が得られた小児のマイコプラズマ肺炎症例で検討を加えた。製造元は結果判定の発色時間を 5 分間としているが、筆者による早期診断の可能性に重きをおいた検討では、あえて病初期の血清を用いたため 5 分で陽性になったものは少なく、さらに発色時間を延長して 10 分までの観察で青色を呈したものも陽性とした。なお、特異性を損なうような問題点はない²⁾。結果を

表 1 イムノカードマイコプラズマ抗体によるマイコプラズマ特異的 IgM 抗体検出結果
全例小児で、37.5°C 以上の発熱初日を 0 日とした。

病 日	0	1	2	3	4	5	計 (%)
マイコプラズマ*							
陽性	2	0	5	5	4	4	20 (54)
(5分)	1	0	1	1	0	1	4 (11)
(10分)**	1	0	4	4	4	3	16 (43)
陰性	2	2	1	6	2	4	17 (46)
	4	2	6	11	6	8	37 (100)
非マイコプラズマ							
陽性	0	0	1	0	0	0	1 (4)
(5分)	0	0	0	0	0	0	0
(10分)**	0	0	1	0	0	0	1 (4)
陰性	0	1	4	4	8	5	22 (96)
	0	1	5	4	8	5	23 (100)

感度 54%，特異度 96%，陽性期待値 95%，陰性期待値 56%。

*PA法でペア血清で 4 倍以上の変動，または急性期単一で 640 倍以上，あるいは咽頭培養で分離陽性例。

**発色の判定時間を 10 分間まで延長した場合に陽性。

表 1 に示したが，マイコプラズマ肺炎 37 例中 4 例が 5 分までに，さらに 16 例が 10 分までに陽性と判定され，合わせて 20 例 54% が陽性であった。先に述べた病態生理から考えるとこの結果は早期診断の限界を示していると考えられ，実際には本法は迅速診断法としての利点のほうが大きいといえる。

血清 IgM 抗体検出に基づく早期診断に関する問題点としては，成人ではこの IgM 抗体の反応が非常に弱いことがあり見逃される可能性があるという点が挙げられ，一方小児では抗体反応が強く，実際の感染から長期に渡り IgM 抗体が存在する場合があるため，既往感染をみている可能性があるという点が挙げられる。また PA 法の判断基準として，一般的に単一血清で 320 倍以上などを急性感染の目安とする場合がある。成人における判断基準としてはある程度妥当であるが，小児

においては 320 倍程度までの抗体価は数カ月間認められる場合があり，単一血清による判断は危険である。年齢に関わらず急性感染であると確かにいえるのは，やはりペア血清で 4 倍以上の変動を認めた場合であると考えた方がよい。理想的には IC 法と PA 法を併用し，急性期は IC 法で見当をつけ，ペア血清による PA 法で確定診断するのが一番良い。

これに関連して PA 法で 4 倍以上の変動を示した小児の肺炎患者血清を用い，ELISA キット (Zeus, USA, 日本国内未発売) でマイコプラズマ特異的 IgM 抗体と IgG 抗体を分別して測定した結果を示す (図 1)。PA 法では一様に 4 倍以上の変動を示しているかにみえる場合でも，その中身は IgG 抗体の低いところで IgM 抗体が変動する場合，IgG 抗体の高いところで IgM 抗体が変動する場合，IgM 抗体と IgG 抗体がともに動く

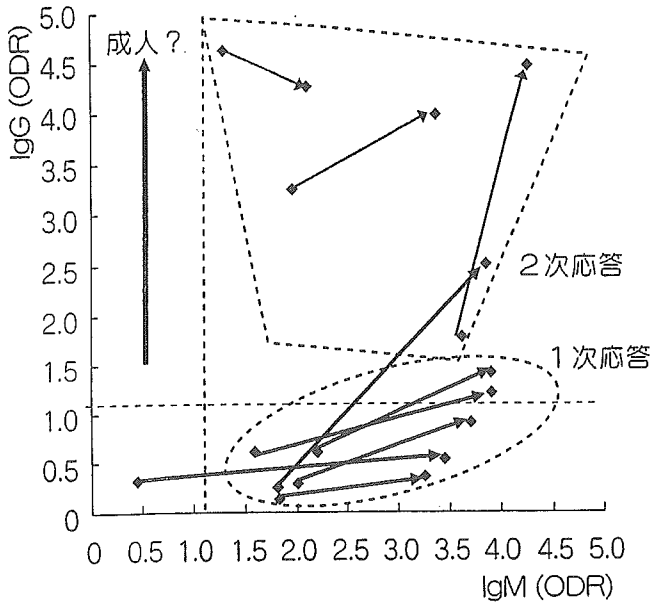


図 1 ELISA 法によるマイコプラズマ特異的 IgM, IgG 抗体分別測定
ODR: Optic Density Ratio. 1.1 における破線は、陽性・陰性のカットオフを示す。

場合、の 3 パターンに分類しうることが判明した。前者が 1 次応答、後 2 者が 2 次応答を示すと推測される。主に IgM 抗体を測定している PA 法による 4 倍以上の変動を基準にしたためこのような結果が得られたが、さらに成人では IgM 抗体の低いところで IgG 抗体が変動するパターン (図 1 で [?] を付した変動) も存在するものと推測される。この場合にはその変動が PA 法による測定には反映されにくく、むしろ IgG 抗体を測定する CF 法を用いた方が診断されやすい可能性もあるので、注意を要する。

3 マクロライド耐性菌に関する最近の話題

近年、日本各地においてマクロライド耐性マイコプラズマが分離されている。この耐性菌の出現は、単に抗菌薬治療に関わる問題だ

けではなく、マイコプラズマ肺炎の発症機構と基本的な治療戦略を考えるうえでも非常に重要な問題を提起している。研究の方法論あるいは耐性菌の生物学的性状などの詳細についてはほかに原著・綜説がいくつかあるので³⁾⁻⁷⁾ それらを参照していただくこととし、本稿では臨床に関わる問題点を主体に解説する。

筆者らは 2000 年以來実際にいくつかの薬剤耐性マイコプラズマ野生株を分離し性状解析を行ったが、そこで得られた実感として、臨床的に観察された薬剤に対する反応と *in vitro* での分離株の性状との間にはしばしば乖離が存在していた印象がある。現在までに筆者と共同研究者らが得た薬剤耐性の野生株とそれが分離された患者の臨床症状、治療薬剤を表 2 にまとめた。耐性株は北海道、神奈川県、高知県など全国各地から分離されている。これらは同時期に得られた野生株総数の 15% に相当し、この数字は現在の日本における実状を反映しているものと考えられる。マクロライド耐性マイコプラズマは決してまれなものではなく、普遍的に野生に存在している。

ここで A2063G と表記した株は、マイコプラズマの 23S リボソーム (r) RNA ドメイン V における 2,063 番目のアデニンがグアニンへ置換したことを意味している (図 2)。この部位に変異が起きると 23S rRNA の立体構造に微妙ながら重要な変化が生じ、その結果、マクロライド系およびリンコマイシン系薬剤はその作用部位に結合できなくなるため機能せず、マクロライドのなかでもとりわけ 14 と 15 員環に対して強い耐性が出現する。同様に A2063C および A2064G では

14～16 員環すべてのマクロライドに強い耐性が獲得される。また C2617G という変異では不完全な耐性となる^{5)~7)}。なおマイコプラズマにおける 2063, 2064, 2617 は、それぞれ大腸菌 rRNA における 2058, 2059, 2611 番目に相当する。ここでマクロライド耐性の野生株として A2063G が圧倒的に多い理由としては、A2063G が最も効果的に耐性を誘導し、かつ菌自体のハンデとなってその生育に負担はかけない、すなわち変異株としては野生で最も増殖力が強く、繁殖しやすいことが推測される。

現在までにマイコプラズマの薬剤耐性機構として存在が証明されているのは、上述した 23S rRNA ドメイン V の point mutation のみである。メチル化や薬剤排出ポンプなど、プラスミッドやトランスポゾンを介した耐性遺伝子の存在は知られていない。またインデューシブルな耐性機構も知られていない。したがって現時点で考えられる耐性発現のメカニズムとしては、遺伝子に突然変異が起こり抗菌薬のプレッシャーにより選択された結果と考えられる。この点、耐性機構が point mutation に限られているうちは、これが他のマイコプラズマ感受性株に伝播することはない。また、しばしば心配されるように、慢性呼吸器疾患に対するマクロライドの持続投与療法により、病原菌あるいは常在菌の中に発現した耐性機構が輸入されるという危険性も、マイコプラズマにはないと考えてよい。

治療の基本方針としては、現時点では耐性菌が過半数を占めた流行は観察されておらず、また耐性菌感染による肺炎が必ずしも重症化するという傾向も認められていないことから、第 1 選択としてはやはり 14, 15 員環

のマクロライド系薬剤が年齢を問わず基本であると考えられる。さらに成人においては抗菌薬も使用可能なことから、*in vitro* でマクロライド耐性マイコプラズマにも抗菌力が証明されているガチフロキサシン、スパルフロキサシン、シプロフロキサシン、トスフロキサシン、レボフロキサシンなど⁵⁾ も有効と考えられる。

そして耐性菌感染症における最も興味深い問題点は、マクロライド耐性菌感染による肺炎であっても、結果的にはマクロライド剤が奏効したと考えられる場合が少なからず存在する点である。表 2 には主治医の印象が要約されているが、これらは直接関連のない施設における主観のない印象である。そもそもマクロライドが第 1 選択であった場合と、セフェム系などの薬剤あるいは別のマクロライドが使われたあとの第 2 選択であった場合も合わせると、11 例中 8 例において、マクロライド剤が有効であったという印象がもたれている。このうち 2 例は筆者の自験例であるが、マクロライド剤投与後の急速な改善は、決して自然経過だけでは説明できないという強い印象があったため、実際分離株がマクロライド剤に対しても耐性であったのは意外な結果であった。実際に株が採取されていないければ、問題なくマクロライド剤に感受性のマイコプラズマと判断されていた。上述のように現在の日本ではマイコプラズマ野生株の少なくとも 2 割弱はマクロライド耐性菌である。しかしながら多くの臨床医は日常診療上、そのような数字は実感していないものと考えられる。おそらく耐性菌感染であっても、臨床的にはマクロライド剤が奏効したと感じられている場合が多いのではないかと想

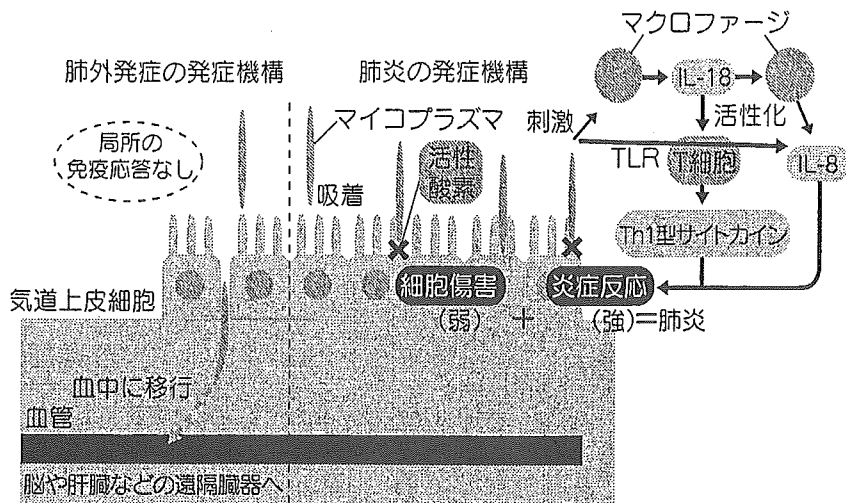


図 3 マイコプラズマ肺炎の発症仮説

像される。次節では、この臨床的観察に対する理論的な説明を可能な限り客観的な evidence に基づき述べる。

4 肺炎の発症機構，診断，耐性菌に関する最近の話題

最初に述べたように、マイコプラズマ (*M. pneumoniae*) には呼吸器粘膜細胞における活性酸素の過剰産生以外には、直接的な組織傷害性はない。そして多くの臨床的および実験的観察により、マイコプラズマ感染症における肺炎の病像は宿主の免疫応答により形成されるという概念は確立されている⁹⁾。ただしこの免疫応答とは具体的にどのような内容のものかという点については、いまだ十分には解明されていない。この点筆者および共同研究者らは、マイコプラズマ感染による肺炎の病変形成においては、まずマクロファージが起点となり、一方で IL-18 を介しての Th1 型サイトカインの産生亢進により炎症が惹起され、さらにもう一方ではやはり IL-18 を介しての、あるいは直接に Toll 様

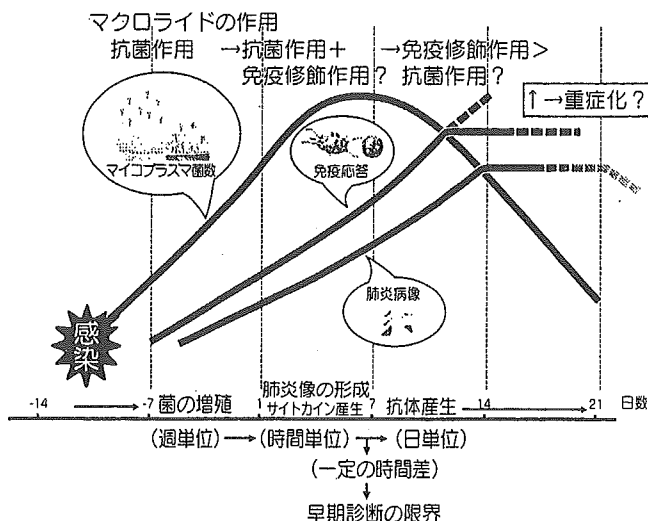


図 4 マイコプラズマ肺炎の発症と血清抗体検出による早期診断の限界，マクロライド剤の作用仮説

受容体を利用しての IL-8 産生が重要な役割を演じている可能性を報告した^{8)~11)} (図 3)。

ここで注目されるのが、マクロライドの新作用である。そのなかでエリスロマイシンやクラリスロマイシンなどの 14 員環マクロライド、およびアジスロマイシンの 15 員環マクロライドには、肺胞マクロファージあるいは気管支上皮細胞からのこれら Th1 型サイトカインあるいは IL-8 産生を抑制する作用

のあることが報告されている^{12)~14)}。以上の知見を総合して推測されるマイコプラズマ肺炎の発症機構とマクロライド剤の作用機序、さらには肺炎早期診断の困難性などの関連をまとめて図示した (図4)。

マイコプラズマは感染成立後ゆっくりとした増殖を開始する。2~3週間かけて菌量が増加したのち (潜伏期)、宿主に認識されるレベルに達すると免疫応答が立ち上がり、菌自体の排除が開始されるが、同時に肺炎の病像が形成されてくる。通常はこの免疫応答は一定のところまで頭打ちになり、肺炎の病像も固定化し、炎症は自然に終息に向かう。一方最近注目されているのが主に成人で急性呼吸窮迫症候群 (ARDS) や細気管支閉塞性器質化肺炎 (BOOP) を呈するいわゆる劇症化肺炎で、これらに対してはステロイドが著効を奏することが報告されている。何らかの原因で免疫応答が終息せず、無制限に行ってしまった結果ではないかと考えられる¹⁵⁾。なお図中でも示したが、診断の項でも触れたように、局所で肺炎を形成するサイトカインの反応は時間単位で進行するのに対し血清抗体産生は日単位の反応であり、この時間差ゆえに血清抗体検出に基づく早期診断は、属性的に困難である。さらにここでマクロライド剤の効果をまとめると、まず、病初期の感染成立から増殖過程では抗菌薬としての抗菌作用が主体である。その後、宿主の免疫応答が肺炎の病像を形成していく過程では抗菌作用と免疫修飾作用 (抗炎症効果を表すサイトカイン抑制作用) の両方が重要であり、最終的に肺炎の病像が確立された後半では抗菌作用とは別に、免疫修飾作用が治療効果としての一翼を担っていると考えると、耐性菌による肺炎

でも臨床的にはマクロライド剤が奏効すると感じられる現象を説明可能である。

5 おわりに

臨床では日常的に遭遇し、マクロライド剤投与により普通に制御可能であると思われてきたマイコプラズマ肺炎であるが、その病態には不明な点が多い。本格的な研究は1960年代に入ってからでまだ日が浅く、今後も「教科書的知識」が変遷していく可能性のある病原体である。

謝辞：マイコプラズマの血清診断および耐性菌感染症の研究は、とんでん小児科 (札幌) 山田 諭, 市立札幌病院小児科: 富樫武弘, 国立感染症研究所細菌第2部: 佐々木次雄, 見理 剛, 松岡眞由美, 鈴木里和, 神奈川県衛生研究所微生物部呼吸器系細菌: 岡崎則男, 大屋日登美, 埼玉医科大学感染症科: 山崎 努, 札幌医科大学第3内科: 田中裕士, 各氏はじめ多くの施設の諸先生のご協力を得た結果である。謹んで感謝申し上げます。

文 献

- 1) Waites KB, Talkington DF. *Mycoplasma pneumoniae* and its role as a human pathogen. Clin Microbiol Rev 2004; 17: 697-728.
- 2) 成田光生, 富樫武弘. 小児マイコプラズマ感染症診断における迅速診断キットの有用性. 感染症学雑誌 2003; 77: 310-5.
- 3) 成田光生, 中山雅之, 山田 諭, ほか. 肺炎マイコプラズマ感染症における臨床的クリンダマイシン耐性について. 臨床小児医学 2000; 48: 123-7.
- 4) Okazaki N, Narita M, Yamada S, et al. Characteristics of macrolide-resistant *Mycoplasma*

- pneumoniae* strains isolated from patients and induced with erythromycin *in vitro*. Microbiol Immunol 2001 ; 45 : 617-20.
- 5) 成田光生. 薬剤耐性マイコプラズマは普通に野生に存在する : 臨床と分離株の性状との discrepancy はなにを意味するか. 医学のあゆみ 2004 ; 209 : 545-9.
 - 6) Matsuoka M, Narita M, Okazaki N, et al. Characterization and molecular analysis of macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* clinical isolates obtained in Japan. Antimicrob Agents Chemother 2004 ; 48 : 4624-30.
 - 7) 成田光生. 薬剤耐性マイコプラズマ. 小児科 2004 ; 45 : 2321-6.
 - 8) Tanaka H, Honma S, Abe S, et al. Effects of interleukin-2 and cyclosporin A on pathologic features in *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia. Am J Respir Crit Care Med 1996 ; 154 : 1908-12.
 - 9) Narita M, Tanaka H, Abe S, et al. Close association between pulmonary disease manifestation in *Mycoplasma pneumoniae* infection and enhanced local production of interleukin-18 in the lung, independent of gamma interferon. Clin Diagn Lab Immunol 2000 ; 7 : 909-14.
 - 10) Narita M, Tanaka H, Yamada S, et al. Significant role of interleukin-8 in pathogenesis of pulmonary disease due to *Mycoplasma pneumoniae* infection. Clin Diagn Lab Immunol 2001 ; 8 : 1028-30.
 - 11) Tanaka H, Narita M, Teramoto S, et al. Role of interleukin-18 and T helper type 1 cytokines in the development of *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in adults. Chest 2002 ; 121 : 1493-7.
 - 12) Oishi K, Sonoda F, Kobayashi S, et al. Role of interleukin-8 (IL-8) and an inhibitory effect of erythromycin on IL-8 release in the airways of patients with chronic airway diseases. Infect Immun 1994 ; 62 : 4145-52.
 - 13) Takizawa H, Desaki M, Ohtoshi T, et al. Erythromycin modulates IL-8 expression in normal and inflamed human bronchial epithelial cells. Am J Respir Crit Care Med 1997 ; 156 : 266-71.
 - 14) Labro MT. Anti-inflammatory activity of macrolides : A new therapeutic potential? J Antimicrobial Chemother 1998 ; 41(Suppl. B) : 37-46.
 - 15) 泉川欣一. 成人マイコプラズマ肺炎の臨床と劇症マイコプラズマ感染症. 臨床と微生物 2003 ; 30 : 53-61.

「実地診療でこんな症例をよく診ませんか」

—急性感染症治療のツボ—

このような症状の患者さんが受診されたら、
どう診断・治療しますか？

- 年齢・性別：幼児期から学童期の小児、あるいは若年成人。明らかな男女差無し。
- 初期症状：発熱と乾いた咳。鼻水は最小限。全身状態は概ね良好。
- 検査：血液検査では炎症反応は軽度亢進。
- 治療：ペニシリン系、セフェム系抗菌薬では解熱せず。

File No.

4

「せき」のある子供の急性感染症

第4回目は、比較的全身状態が良好でとりわけ特徴的な身体所見がみられないものの、発熱と乾性咳嗽を伴う幼児期から学童期の急性呼吸器感染症の診断・治療に関して、成田氏にご解説いただいた。

JR 札幌鉄道病院小児科 医長 **成田光生** 先生

経歴

- ’82年 北海道大学医学部卒業
- ’87年 札幌医科大学付属がん研究施設分子生物学部門
- ’88年 北海道大学医学部附属病院小児科
- ’95年 JR 札幌鉄道病院

所属学会

日本小児科学会、日本・アジア・国際・マイコプラズマ学会、
日本感染症学会、日本小児感染症学会など



それは、 乾性咳嗽を伴うマイコプラズマ肺炎です。

成田氏が解説する

「『せき』のある子供の急性感染症」の 診断と治療の“ツボ”とは



1 マイコプラズマ肺炎の特徴

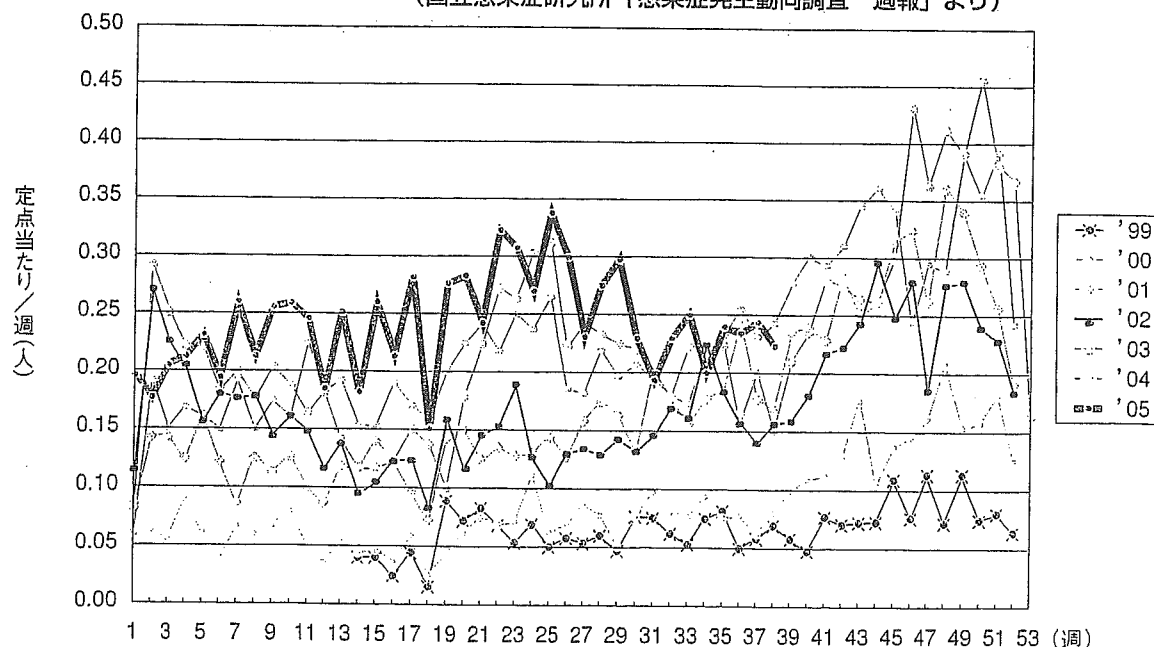


1980年代後半から流行の周期性がなくなり、通年の流行がみられる。年齢のピークは学童期及び青年期で、初発症状は比較的全身状態が良好である

- 流行は、1980年代後半までは4年ごとの周期性を示したが、それ以降はこの周期性がみられなくなった。秋から冬に多いが、通年の流行がみられる(図1)。欧米のデータでは人口の5~10%が罹患することもあるとの報告がある。
- 感染様式は、感染患者からの飛沫感染であり、濃厚接触による閉鎖集団(家庭内など)や小地域での流行が基本である。
- 年齢は、幼児期、学童期、青年期が中心で、ピークは学童期、青年期の二峰性である。
- 初発症状は、発熱、全身倦怠、頭痛、咳などで、CRP軽度亢進で、比較的全身状態は良好。
- 乾性咳嗽から始まり、徐々に強くなり、解熱後も一定期間続く。経過中に細菌あるいはウイルスと混合感染することもあり、湿性の咳嗽になることがある。

図1 1999年~2005年のマイコプラズマ肺炎の発生状況

(国立感染症研究所「感染症発生動向調査 週報」より)



2 診断



比較的全身症状が良好なため、臨床症状からは診断しにくい。保険適用見込みのELISAキットが有効な診断法

- マイコプラズマ肺炎は、比較的全身状態が良好であり、胸部X線検査によって初めて予想外に広範な肺炎の陰影が認められることがある。喘息の臨床症状を伴う場合にはマイコプラズマ肺炎の可能性が高い。
- 迅速診断として有用性が高いのは遺伝子診断法であるPCR法だが、健康保険も使えず、一般実地医家では実施しにくい。
- イムノカード法は迅速簡便だが、定性法で、感度・特異性の評価が一定せず確定診断には不向きで、あくまでスクリーニング検査として考えるべきである。
- 微粒子凝集(PA)法は日本では標準法として最も普及しているが、確定診断には原則として2度採血を要するペア血清が必要となる。
- ELISA法は感度・特異性とも高く、急性期において単一血清で診断可能な場合もある。欧米では標準法として普及しているが、日本でも近々、マイコプラズマ特異的IgG、IgA、IgM抗体を分別して検出し、感染時期も推定できるドイツMedac社製のELISAキット(Mycoplasma pneumoniae-ELISA medac)が保険収載される見込みである。

3 マクロライド耐性肺炎 マイコプラズマ感染の現状



患者さんの約15%がマクロライド耐性肺炎マイコプラズマ感染。しかし、必ずしも重症化傾向なし

- 現在日本では、患者さんの約15%にマクロライド耐性肺炎マイコプラズマ感染(以下「耐性菌感染」と略)がみられる。
- 耐性菌感染であっても、必ずしも遷延化あるいは重症化する傾向が認められるわけではない。マクロライド薬投与によって臨床的には感受性菌感染と区別ができない良好な治療経過をたどる場合も多い。このため、分離菌の薬剤感受性試験結果によって初めて耐性菌感染であったことが判明する。
- 感受性菌ではほぼ2日以内で解熱するのに対して、耐性菌感染ではマクロライド薬を投与しても約4日間は発熱が持続する報告がある。

4 見逃すこと のリスク



耐性菌感染の場合はマクロライド薬投与でも菌の増殖が抑制されず、流行が拡大する可能性が危惧される

- マイコプラズマ肺炎は基本的には自己限定性で(呼吸器粘膜細胞における活性酸素の過剰産生以外に直接的な細胞組織傷害性がない)、見逃しても多くの場合、3~4週間程度で自然治癒する。
- ただし現状では、アジスロマイシンをはじめとするマクロライド薬を早期に投与すれば、1週間以内に治癒できる場合が多い。
- 一方、マクロライド耐性肺炎マイコプラズマではマクロライド薬投与によっても菌の増殖が抑制されないことから、菌の排出が遷延し、流行が拡大していく可能性が危惧されるため、早期の治療が重要である。

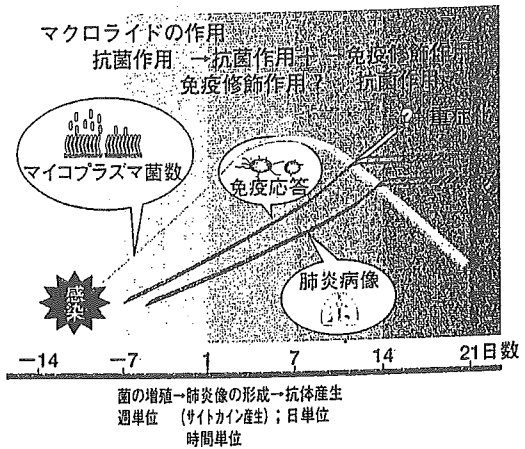
5 治療



抗菌作用と免疫調節作用の両方を持ち併せているマクロライド薬が第一選択

- マイコプラズマは粘膜表面でゆっくり増殖し、2～3週間の潜伏期の後、宿主が認識して、免疫応答が肺炎の病像を形成していく(図2)。
- マクロライド系薬は、除菌のみではなく、免疫調節作用(必要以上の免疫応答の抑制)を有しているため、バランスが良く、第一選択となる。
- ただし、14員環マクロライドはテオフィリンなど薬物相互作用を起こす薬剤が多いので注意を要する。
- 耐性菌感染であったとしても、マクロライド系薬で平均4日目には解熱する場合が多い(咳はもう少し持続するが)。
- 少なくとも5日間以上発熱が続くような遷延例、低酸素血症を伴うような重症例では、耐性菌にも有効なミノサイクリンあるいはキノロン系抗菌薬の使用も考慮する。
- 抗生剤のみで改善しない重症例には、抗生剤併用の上でステロイド薬の使用も考慮する。

図2 マイコプラズマ肺炎における感染発症と免疫応答(成田氏作成)



6 アジスロマイシンの使い方



短期間服薬で味も良く耐性菌感染治療にも有効の可能性

- アジスロマイシンは1日1回3日間の短期間服薬で臨床効果が得られ、小児用細粒は単純に水と共に服用しても飲みやすいので、服薬コンプライアンスが良い。
- 小児に投与する機会が多い気管支拡張薬テオフィリンとの薬物相互作用が少ないなど、併用薬剤が制限されない。
- アジスロマイシンはマイコプラズマに対するMIC₉₀(最小発育阻止濃度)が極めて低いこと(MIC₉₀0.00024 μg/mL)、組織内移行が良好で炎症部位において高濃度に達すること、マイコプラズマ肺炎の発症に大きな役割を果たす宿主の免疫応答を調節する作用も報告されていること、などの理由から、マクロライド耐性菌感染に対しても有効である可能性がある。

Summary

1. マイコプラズマ肺炎は通年の流行がみられる。初発症状は比較的全身症状が良好なため、臨床症状から診断しにくい。診断方法としては、近々保険収載される見込みのELISAキットが実地医家では有効な診断法のひとつとなる。
2. 現在、日本ではマイコプラズマ肺炎患者さんの約15%がマクロライド耐性肺炎マイコプラズマ感染。
3. マクロライド耐性肺炎マイコプラズマ感染の場合、個々の症例は必ずしも重症化しないが、マクロライド薬でも菌の増殖が抑制されないため、流行の拡大が危惧される。
4. マクロライド薬の中でもアジスロマイシンは組織内移行性が良く、マイコプラズマ肺炎の発症に大きな役割を果たす宿主の免疫応答を調節する作用が報告されているなどの理由から、マクロライド耐性菌感染にも有効性が期待される。

感染と抗菌薬

Infection and Antimicrobials

別 刷

Vol.8 No.4 2005

ヴァン メディカル

気道系，呼吸器系のマイコプラズマの現況

田中裕士*・成田光生**

サマリー

マイコプラズマ肺炎はここ数年増加してきている。肺炎成立機序は、感染症による変化と、宿主細胞性免疫反応が混在しているため、抗菌作用と抗炎症作用の両面からの治療が重要である。最近、マクロライド耐性菌が臨床分離株の約15%を占めるようになったが、臨床効果とは相関していない。重症で呼吸不全を伴う例には、有効な抗菌薬投与下で、プレドニゾン（プレドニン）1日量30～60mgを3日間程度併用することは有効である。

キーワード マイコプラズマ肺炎，細胞性免疫反応，重症化，細気管支炎，耐性菌

はじめに

Mycoplasma pneumoniae 肺炎（マイコプラズマ肺炎）は、本邦市中肺炎の中では5～9%を占め、肺炎球菌、インフルエンザ菌に次いで第3位の原因微生物となっている¹。非定型肺炎の中では、年少者と高齢者に多いクラミドフィラ（クラミジア）・ニューモニエ肺炎と異なり、マイコプラズマ肺炎は小児から若年成人に多い。しかし、高齢者でも急性呼吸不全の重要な一つとして認識しておく必要がある²。感染症新法の第5類感染症（定点把握）として分類されており、発症数は、厚生労働省/国立感染症研究所のホームページからの感染週報（第7巻32号，2005年）を図1に示す。原因は不明であるがここ数年マイコプラズマ肺炎は徐々に増加しており、季節性の変動では、夏に少なく、秋から冬にかけて

増加する傾向が認められる。

診断方法としてPCR法による菌の直接的な検出は有用であるが、一般的な検査でなく、血中抗体価による早期診断（発症4日以内）も難しい現況において、診断は2005年に改訂された日本呼吸器学会市中肺炎ガイドラインの非定型肺炎と細菌性肺炎との鑑別ポイントが有用である。すなわち、非定型肺炎（マイコプラズマ肺炎，クラミジア肺炎，Q熱）では、①60歳未満，②基礎疾患がないあるいは軽微，③頑固な咳，④胸部聴診上所見が乏しい，⑤痰がないあるいは，グラム染色で原因菌が証明されない，⑥末梢血白血球が10,000/ml未満，の6項目中4項目を満たす非定型肺炎の診断感度は77.9%である。マイコプラズマ肺炎には重症化，細気管支炎，血液領域の免疫反応異常など，単なる感染症としての反応以外に細胞性免疫反応が重要な働きを行っ

* 札幌医科大学医学部第三内科・助教授（たなか・ひろし）

** JR 札幌鉄道病院小児科・医長（なりた・みつお）

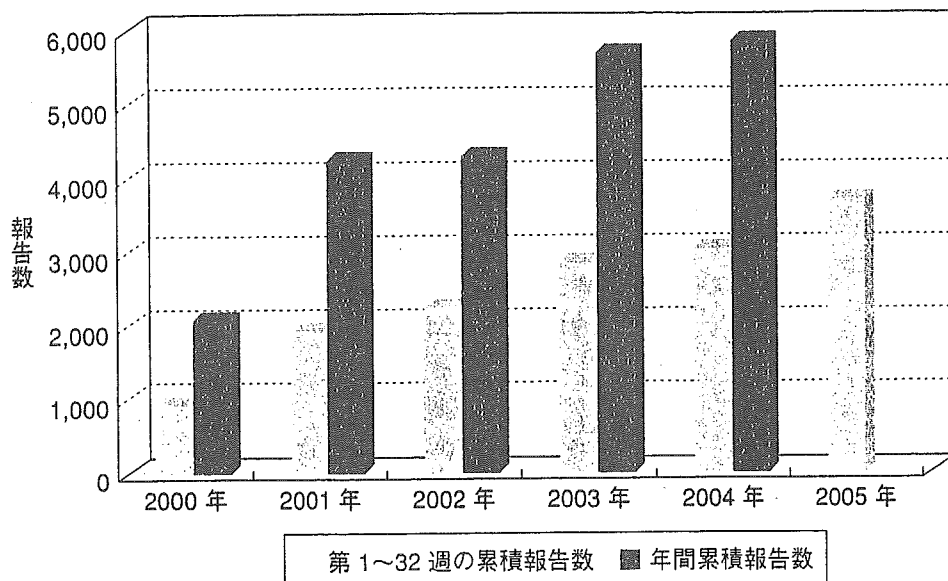


図1 マイコプラズマ肺炎の年別発生状況（2005年第32週現在）

（国立感染症研究所感染症情報センター，感染症発生動向調査週報 第7巻第32号，2005より，<http://idsc.nih.gov.jp/idwr/kanja/idwr/idwr2005/idwr2005-32.pdf>）

ていると思われる³⁾。

一方，マクロライド耐性マイコプラズマが2000年から検出されるようになり，野生株の約15%を占めるとされているが，臨床的には現在のところ問題にはなっていない^{4,5)}。本稿ではマイコプラズマ感染症の最近の話題を中心に述べたい。

●上気道感染症におけるマイコプラズマの関与

前述したように，夏にはマイコプラズマ感染症がやや少なくなる傾向があるが，かぜとの鑑別が必要であり，特に小児領域で重要である。かぜを起こす原因として，8種類のウイルス（ライノ，コロナ，エコー，コクサッキー，RS，パラインフルエンザ，インフルエンザ，ヒューマンメタニューモ）で80～90%を占め，次いでマイコプラズマ・ニューモニエ，クラミジア・ニューモニエである。かぜで一番多い原因ウイルスは成人ではライノ，コロナウイルスであり，小児ではRS，エコー，コクサッキーウイルスが多い。ライノウイルス上気道炎の症状は鼻水，鼻閉，くしゃ

み，発熱である。

マイコプラズマ感染との違いという点では，ライノウイルスでは鼻水，くしゃみなどの鼻炎症状が必発であるのに対して，マイコプラズマ単独感染では鼻水は5%位である。また強い咳嗽はマイコプラズマ感染の特徴であるが，ライノウイルスでは咳嗽は弱い。Numazaki et al⁶⁾は北海道で発生した肺炎921例（15歳以下）の2000年からの1年間の検討で，起炎菌の検出頻度は，マイコプラズマが27.4%と最も多く，RSウイルス20.4%，インフルエンザウイルス11.9%の順であった。一般に小児では成人と異なり，上気道と下気道の菌が同じことが多いことから，ウイルスのみでなくマイコプラズマの上気道感染にも注目が集まっている。

●下気道感染症におけるマイコプラズマの関与

1. 肺炎の感染病態

マイコプラズマは細胞壁をもたないため，リポポリサッカライドやペプチドグリカンなどの細胞壁成分が欠如しており，代わりに菌

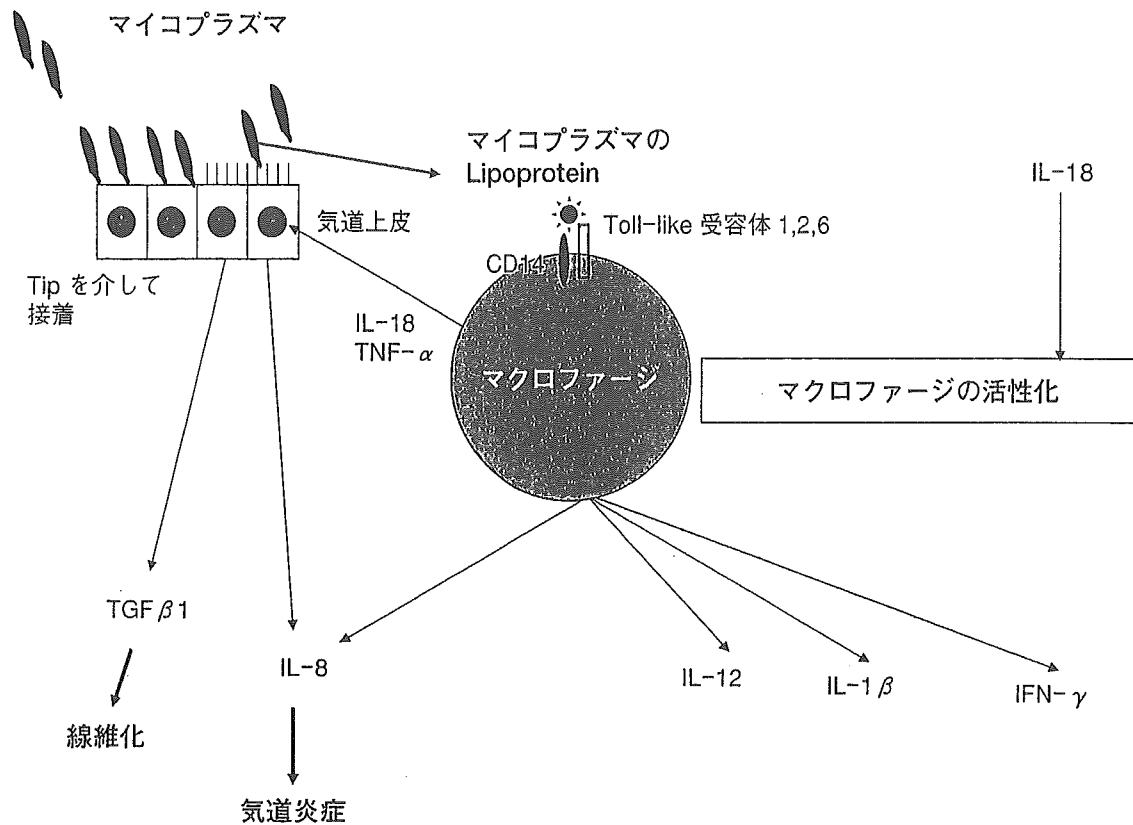


図2 マイコプラズマの感染病態の模式図 (間接炎症)

体表面は多種類の lipoprotein で覆われている。図2に示すように、経気道的に侵入したマイコプラズマは気管支上皮に達すると、細胞吸着器官 (tip 構造) により線毛上皮に付着する。P1蛋白 (170kDa) はこの tip の先端部に高濃度に集積し、宿主細胞に直接結合する major attachment protein の一つである。

マイコプラズマは、上皮細胞の線毛部分に接着して感染し、宿主の細胞内に侵入することではなく、細胞表面感染である。P1蛋白に対する抗体でこの付着は抑制され、P1蛋白が欠損した変異株では細胞吸着性が失われ非病原性となることが知られている。また、マイコプラズマは付着能が強いほど病原性が強い。マイコプラズマ感染による気道炎症には、マイコプラズマそのものによる直接作用と菌体表面に存在する lipoprotein が引き起こす免疫反応を主体とする間接炎症がある。表1に示したように、直接炎症としては菌の増殖の

過程で産生される過酸化水素や活性酸素による細胞障害があるが、それらの作用は強くなり間接炎症がより重要である。

マイコプラズマ肺炎は、マクロファージ上の toll-like receptor (TLR)-1, 2 および 6 がマイコプラズマ膜由来の lipoprotein を認識し、これらの TLRs を介した自然免疫反応が病変形成に重要であると考えられ、その後の多臓器に及ぶ interleukin-18 (IL-18), IL-8などを介した細胞性免疫反応や炎症反応を惹起するのではないかと我々は考えている³⁾ (図2)。

これまでにその免疫反応の場として気管支肺動脈周囲間質病変が重要であると考え種々の検討を行ってきた。ヒトマイコプラズマ肺炎の開胸肺生検組織 (図3) でも、気管支肺動脈周囲間質にリンパ球を主体とした細胞浸潤を著明に認める。マウスモデルでの実験では、T ヘルパー 1 細胞を活性化する IL-2の投