

日本臨牀 61 卷 増刊号 3 (2003 年 3 月 28 日発行) 別刷

新世紀の感染症学(下)

—ゲノム・グローバル時代の感染症アップデート—

II. 感染症の遺伝子学

マイコプラズマの遺伝子学

見理 剛

II. 感染症の遺伝子学

マイコプラズマの遺伝子学

The genetic view of *Mycoplasma* infections

見理 剛

Key words : *Mycoplasma pneumoniae*, 病原遺伝子, マイコプラズマ肺炎, 診断法, 分子疫学

1. 概念, 定義

マイコプラズマは, 動物の粘膜部位に生息する微小な寄生性の細菌である。細胞壁を完全に欠き, 増殖にはコレステロールをはじめ多くの栄養分を要求する。寄生性の細菌ではあるが, 栄養分を十分に含んだ培地を用いて単独で培養することができるので, 自律増殖が可能な最小の生物とされている。これまで100以上のマイコプラズマ種が, 様々な宿主動物から分離されており, ヒトからは16種の報告がある。この中で临床上, 特に重要なのは, マイコプラズマ肺炎の原因菌 *Mycoplasma pneumoniae* である。そのほか, ヒトに病原性があるとされている種は, *M. genitalium*, *M. fermentans*, *M. hominis*, *M. penetrans*, *Ureaplasma urealyticum* である。

2. 分類

マイコプラズマは *Mollicutes* 綱 *Mycoplasma* 属に分類される細菌である。*Mollicutes* 綱に属する細菌は, 細胞壁を完全に欠いているため, 一般の細菌群とは別に分類されているが, 遺伝子系統学的にはグラム陽性菌群に近縁である。*Mollicutes* 綱には *Mycoplasma* 属以外に, *Acholeplasma* 属, *Spiroplasma* 属, *Ureaplasma* 属などがある。*Mycoplasma* 属と比べて *Ureaplasma* 属には尿素分解性があり, *Acholeplasma* 属はコレ

ステロールを要求しないといった違いがある。*Spiroplasma* 属はらせん状の細胞形態をしている。*Ureaplasma* 属に分類されている *U. urealyticum* はヒトの泌尿, 生殖器から分離され, 非淋菌性尿道炎の原因菌の一つと考えられている。*U. urealyticum* は *M. pneumoniae* と *M. genitalium* に近縁な菌である。

3. ゲノムの構造

マイコプラズマのゲノムサイズは小さく, 0.56-1.5 Mb 程度の大きさである。最も小さい0.56 Mbのゲノムサイズをもつ種は *M. genitalium* で, これは, 自律増殖が可能な生物として, 最小のゲノムサイズである。*M. genitalium* のゲノムは1995年に全塩基配列が明らかにされている¹⁾。その後これまで, *M. pneumoniae* (0.81 Mb), *M. pulmonis* (0.96 Mb), *U. urealyticum* (0.75 Mb) の全ゲノム配列が解明され²⁻⁴⁾, 更に数種のマイコプラズマの全ゲノム配列解析が進行中である。全ゲノム配列解析が完了したマイコプラズマのORF数(推定蛋白質遺伝子数)は, *M. genitalium* で483個, *M. pneumoniae* で688個, *M. pulmonis* で782個, *U. urealyticum* で613個だった。これは, 比較的大きい, 大腸菌 O157ゲノム(5.5 Mb)のORF数(5,361個)と比べた場合, 約1/10-1/7である。

マイコプラズマのゲノムが小さいのは, 動物

Tsuyoshi Kenri: Department of Bacterial Pathogenesis and Infection Control, National Institute of Infectious Diseases 国立感染症研究所細菌第二部

粘膜への寄生に適応する過程で、不要な遺伝子を捨て去り、ゲノムサイズを小さくする方向に進化してきたためと考えられている。実際、マイコプラズマゲノムの遺伝子構成には、寄生細菌としての性質がよく現れている。マイコプラズマゲノムには、アミノ酸生合成にかかわる遺伝子は全く存在せず、ヌクレオチド、ビタミン、脂肪酸などの生合成にかかわる遺伝子も大きく数を減らしている。増殖に必要なこれらの栄養分は、自身で生合成せず、宿主から獲得している。また、解糖系以外のエネルギー代謝遺伝子群も大部分失われており、2成分制御系の遺伝子群は全く存在しない。更に、他の細菌では通常複数コピー存在するような遺伝子(例えばrRNA 遺伝子など)もマイコプラズマでは1コピーしか存在せず、ゲノムサイズを小さくする要因になっている。寄生細菌として生活するためには、生命の維持に根本的に必要な遺伝子を最低限残し、ゲノムサイズを小さくした方が、効率が良かったのであろう。

しかし、このようなマイコプラズマのゲノムであっても、膜蛋白質の遺伝子群は比較的多く存在している。マイコプラズマは細胞壁がないため、細胞質膜が外界との境界になっている。マイコプラズマの細胞膜には、栄養分の取り込みや、宿主細胞との相互作用などに関連した多くの機能が備わっていると考えられ、これらの機能を果たすために多くの遺伝子が使われているのだろう。

また、マイコプラズマのゲノムはG+C含量が低いのが特徴で、多くの種で25-30%程度である。しかし、*M. pneumoniae*だけは例外的に40%と、G+C含量が高くなっている。マイコプラズマゲノムのG+C含量が低いのは、進化的に、GC→AT方向の変異圧が強く働いたためと思われる。そして、その強い変異圧の下で、マイコプラズマの遺伝暗号に変化が生じたと考えられている⁹⁾。マイコプラズマでは、他の生物では終止コドンとして使用されているUGAコドンがトリプトファンに翻訳される。このため、マイコプラズマの遺伝子を、遺伝子組換えによって大腸菌などで発現させようとする、多く

の場合、マイコプラズマ遺伝子内に存在するUGAコドンの部位で蛋白質の合成が止まってしまう。

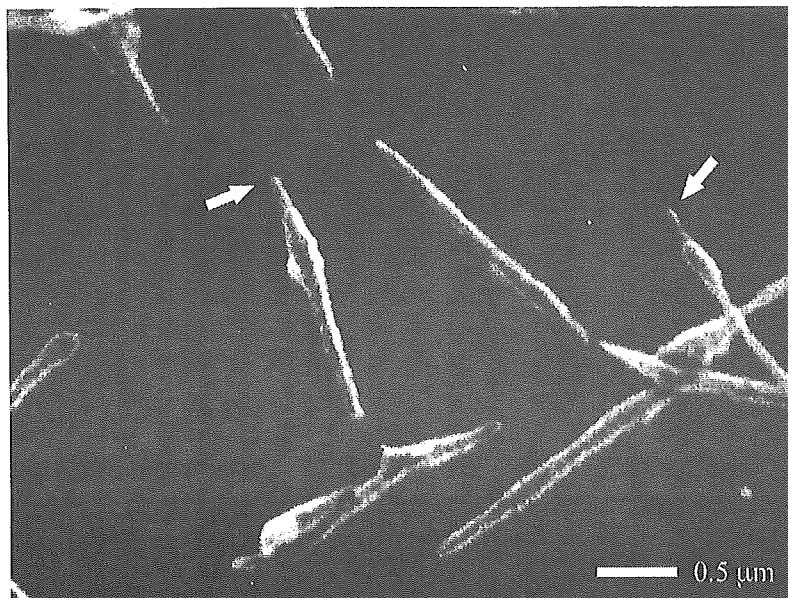
4. 病態に関与するゲノム

ヒトの感染症学上重要なマイコプラズマは*M. pneumoniae*なので、以下は*M. pneumoniae*に重点を置いて記す。*M. pneumoniae*によるマイコプラズマ肺炎の発症機構の詳細は、現在も完全には理解されていない。しかし、一般的には次のように説明されている。a. *M. pneumoniae*が気道上皮細胞に接着する。b. 接着した*M. pneumoniae*が増殖し、気道上皮細胞を傷害する。c. *M. pneumoniae*の菌体成分が免疫系を刺激し、炎症反応や自己免疫的な病態を引き起こす。これら一連の過程を、遺伝子学的な研究と関連づけてみた場合、最も理解が進んでいるのはa. の細胞接着過程である。

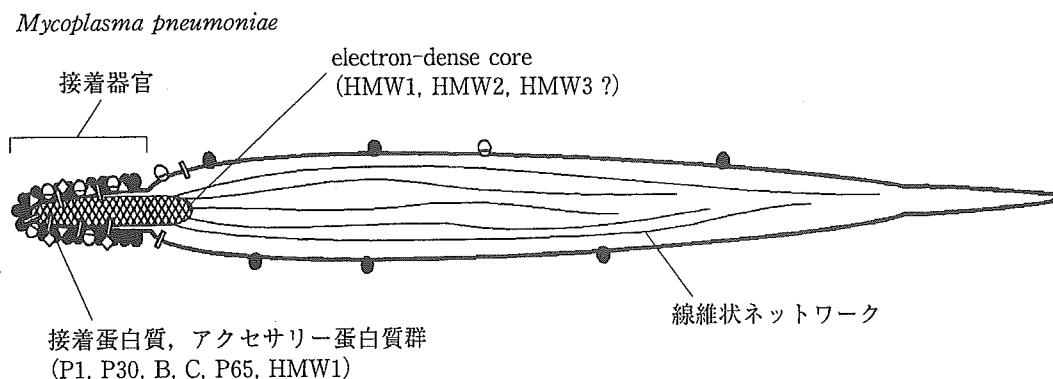
a. 細胞接着性と接着器官

*M. pneumoniae*の気道上皮細胞への接着は、肺炎発症過程の最初の重要なステップである。*M. pneumoniae*は、宿主細胞に接着することによって栄養分を効率良く獲得するとともに、体外へ排出されることに抵抗できる。細胞接着性を失った*M. pneumoniae*は非病原性である。*M. pneumoniae*は、菌体の一端に存在する接着器官(attachment organelle)と呼ばれる構造で、ヒトの気道上皮細胞に接着する。図1に、*M. pneumoniae*の走査電子顕微鏡写真と細胞形態の模式図を示した。接着器官は*M. pneumoniae*の細胞膜の一部が突出して形成された特殊な構造であり、Tip構造とも呼ばれている。

接着器官の表面には接着蛋白質が多数集まっている。中心的な働きをする接着蛋白質は、分子量170kDaのP1蛋白質である。また、分子量30kDaのP30蛋白質も接着蛋白質であると考えられている。しかし、*M. pneumoniae*の細胞接着に関与するのは接着蛋白質だけではなく、ほかにもB, C, HMW1, HMW2, HMW3, P65と呼ばれる複数のアクセサリ蛋白質が必要である⁶⁾。最近の研究によれば、これらアクセサリ蛋白質も接着器官に集合していることがわ



撮影：国立感染症研究所 永田典代

図1 *M. pneumoniae* の細胞形態

かっている⁷⁾。接着器官は接着蛋白質とアクセサリ蛋白質が正確に会合することによって形成されており、これらの因子のどれかが失われると、細胞接着が正常に起こらなくなると考えられている。例えば、HMW1が欠損した株は細胞接着性を失うが、このような株の形態を観察すると、接着器官がうまく形成されておらず、P1蛋白質も細胞末端に集合しなくなっている様子が見られる⁸⁾。接着蛋白質とアクセサリ蛋白質の遺伝子は、*M. pneumoniae* のゲノムの3カ所にオペロンを形成して存在している。これらは *M. pneumoniae* ゲノムの明らかな病原遺伝子座である(図2)。

透過型電子顕微鏡で *M. pneumoniae* を観察すると、接着器官の中心部分は電子密度の濃い

electron-dense core (EDC) と呼ばれる構造として撮影される。EDCの詳細な構造は不明だが、HMW1, HMW2, HMW3が核となって形成されている可能性が示唆されている。更に、透過電顕によってEDCから菌体後部に向かう多数の線維状の構造が観察される(図1, 模式図)。EDCとこの線維状のネットワーク構造は *M. pneumoniae* の細胞骨格だと考えられている。細胞壁のような堅い構造をもたない *M. pneumoniae* が、接着器官のような特異な構造を形成し、細胞形態を維持しているのは、この細胞骨格によるものと考えられている。

接着器官は、細胞接着以外にも *M. pneumoniae* の細胞分裂と運動性に密接に関連している。免疫蛍光顕微鏡法を用いた観察から、*M. pneu-*

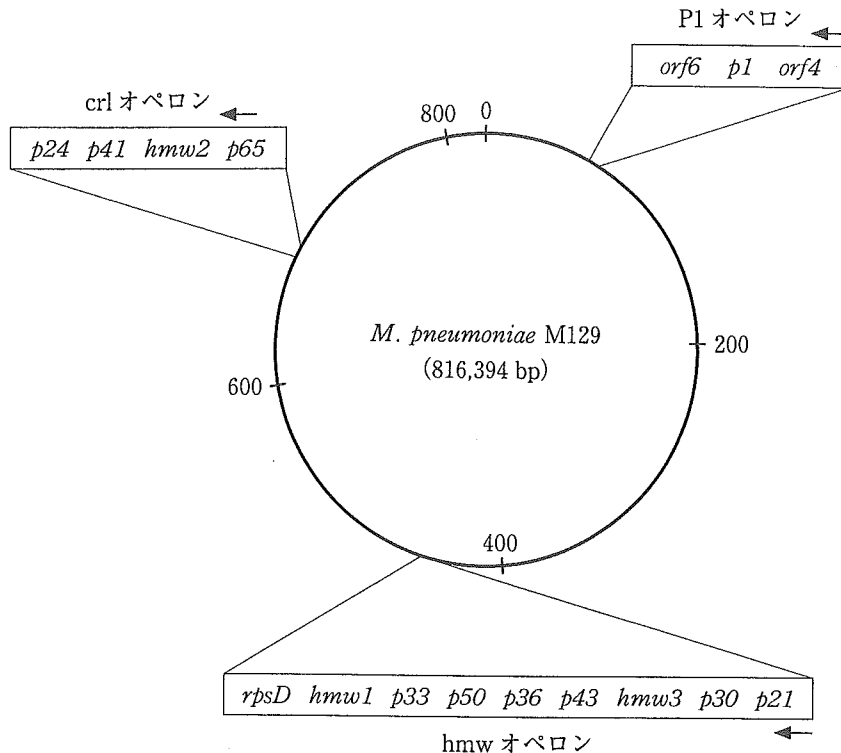


図2 *M. pneumoniae* の宿主細胞接着性に関する遺伝子群

moniae は接着器官の部分から細胞分裂を開始し増殖することがわかっている⁹⁾。また、接着器官で、細胞またはガラスやプラスチックの表面に接着した *M. pneumoniae* が、接着器官の方向に向かって這うように動き回ることが知られている。これは gliding motility (滑走運動性) と呼ばれており、その速度は毎秒 $0.5 \mu\text{m}$ 程度である。gliding motility の分子機構はまだ全く理解されていないが、接着器官が gliding motility においても中心的な働きをしていることは疑いない。gliding motility によって *M. pneumoniae* は感染時に粘膜細胞表面のゲル層を通過できる。更に感染部位で動き回ることも病原性に関与していると思われる。

b. *M. pneumoniae* の細胞傷害性

M. pneumoniae が接着して増殖することにより、気道上皮細胞の繊毛運動が抑制され、その後、細胞の壊死、脱落が起こることが観察されている。これは *M. pneumoniae* の増殖によって、栄養分が奪われることや、*M. pneumoniae* が放出する過酸化水素や、活性酸素代謝物によって細胞が傷害を受けるためと考えられている。こ

の *M. pneumoniae* による直接の気道上皮細胞傷害が肺炎発症の一つの要因と考えられている。しかし、*M. pneumoniae* のゲノムの側からみた場合、細胞傷害性を特定の遺伝子に関連づけて説明することは、まだできていない。今後、ゲノム情報に基づいて *M. pneumoniae* の代謝系とそれに関与する酵素群がより詳しく調べられ、過酸化水素や、活性酸素が *M. pneumoniae* の代謝のどの過程で放出されるのかがわかってくれば、それにかかわる遺伝子群は病原性に関与する因子として特定することも可能であろう。

c. 免疫系の関与

M. pneumoniae による気道上皮細胞傷害によって、免疫細胞が肺に大量に浸潤してくる。そして、これらの免疫細胞が *M. pneumoniae* の菌体成分によって刺激を受け、過剰な炎症反応を引き起こすと考えられている。マイコプラズマ肺炎の病態の形成は、この免疫系の関与が大きいとされている。しかしながら、*M. pneumoniae* のどの菌体成分が免疫細胞を刺激し、どのように炎症反応が生じるのかはよく理解されていない。マイコプラズマは細胞膜に多くのリポ

蛋白質を含んでおり、このリポ蛋白質が免疫細胞に強い影響を与えることが、他のマイコプラズマ種で報告されている⁹⁾。また、*M. pneumoniae*の接着蛋白質 P1 などにはヒトの蛋白質と類似した抗原エピトープが含まれており、これがマイコプラズマ感染者に自己免疫的病態を生じさせる要因になっているとの説もある¹⁰⁾。

ゲノム配列の情報とマイコプラズマ肺炎の病態を関連づけることは、現時点ではあまり進んでいない。今後更に、*M. pneumoniae*の病原性にかかわる遺伝子が特定されることが期待される。

5. 診断と鑑別診断に関するゲノム

a. マイコプラズマ肺炎の診断法

*M. pneumoniae*はβ-ラクタム剤が無効であるので、治療初期に適切な薬剤を選択するためにも、早期の確定診断が望まれる。しかし、*M. pneumoniae*感染の早期確定診断は現在も容易ではない。最も確実な確定診断法は培養法だが、*M. pneumoniae*の培養は特殊な培地を使用し、長い時間を必要とする。培養法での早期診断は不可能であり、臨床の場ではほとんど行われない。現在、臨床の場で多く用いられているのは、CF法や、PA法などの血清学的な検査法である。しかし、これらの方法は患者の抗体が上昇するのを待たねばならず、早期診断は難しい。

*M. pneumoniae*感染の早期診断には、*M. pneumoniae*の存在を高感度、特異的に検出できる方法が必要である。PCR法はその一つの方法として、既に利用されている。主に、*M. pneumoniae*の16S rRNA 遺伝子やP1 遺伝子をターゲットとしたプライマーが検出に利用されている。nested PCR法を行えば、臨床材料からもかなり高感度に*M. pneumoniae*を検出することができる。*M. pneumoniae*の全ゲノム配列の情報を利用できる現在、更に優れたPCR検出系をデザインできるはずである。

しかし、PCR法にも問題点はある。使用するプライマーや反応条件によっては偽陽性反応が出ることもある。大量の検体を処理する場合の

操作の煩雑さや、コストの高さの問題もある。また、いくら高感度に*M. pneumoniae*が検出できても、現在のPCR法では検査に数時間程度は必要である。将来的には臨床の現場ですぐに判定ができ、治療に反映できるような迅速簡便診断法が期待される。このような方法を実現するためには、高感度、特異的に検出できる*M. pneumoniae*の抗原蛋白質を見つけ出すことである。抗原蛋白質を、モノクローナル抗体などで高感度特異的に検出する系ができれば、目的にかなう迅速簡便診断キットが実現できると思われる。

b. *M. pneumoniae*の分類と分子疫学

*M. pneumoniae*にはI型菌とII型菌があることが明らかになっている。最初、この*M. pneumoniae*のI型とII型菌は、接着蛋白質P1の遺伝子塩基配列の違いによって分類されたのだが¹¹⁾、現在はI型とII型菌の間では、*orf6*、*p65*、rRNA 遺伝子など複数の遺伝子に塩基配列の違いがみられることがわかっている^{12,13)}。全ゲノム配列が明らかにされた*M. pneumoniae* M129株はI型菌である。また、代表的な実験室株FHはII型菌である。

著者らは、日本で過去に分離された*M. pneumoniae*株をI型とII型菌に型別する調査を行っており、図3のような結果を得ている。これによると、I型とII型菌はいつも同じ割合で出現しているのではなく、年度ごとに検出される割合が変動していることがわかる。全体的にみると数年-10年程度の周期でI型菌とII型菌は交互に出現してくるようみえる。日本では近年、II型菌ばかり検出される傾向が続いていたが、2001年度からI型菌が再び検出されだしている。マイコプラズマ肺炎は数年の周期で大流行が起こることが以前から報告されており、特に日本では過去に正確な4年周期で流行がみられたため‘オリンピック病’と呼ばれたこともあった(図3の下の矢印は日本でマイコプラズマ肺炎の大流行が報告された年を示している)。この4年周期の大流行は、1992年以降近年はみられなくなっているが、過去の周期的な流行にI型菌とII型菌の出現が何らかの影響を与えていた

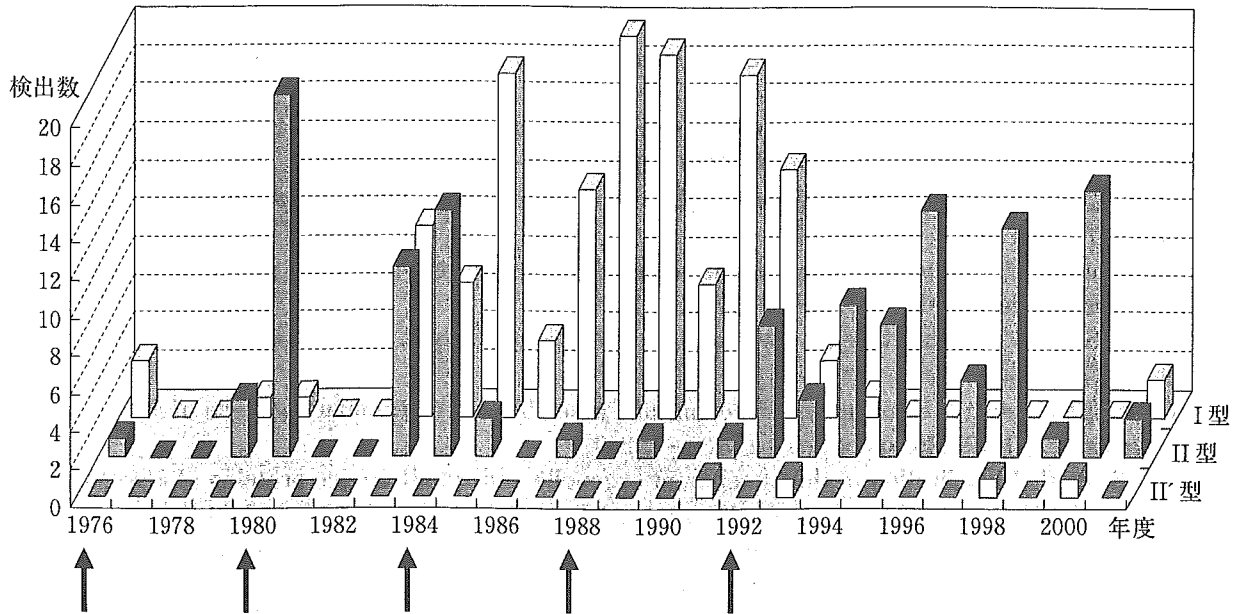


図3 *M. pneumoniae* 臨床分離株型別調査の年次推移

のではないかと興味をもたれる。

M. pneumoniae 臨床分離株の P1 遺伝子を調べると、ほとんどの場合は I 型か II 型に分類されるのだが、P1 遺伝子の塩基配列が少し変化した II' 型のような亜種がしばしば見つかる(図 3)。これらの亜種は、*M. pneumoniae* のゲノムに多数存在する P1 遺伝子に類似した反復配列と P1 遺伝子座との間で DNA 組換えが起こって生じてきたと考えられている^{14,15)}。今後、新型の *M. pneumoniae* が出現してくる可能性もあるので、更に監視が必要である。

6. 今後の展開

マイコプラズマの遺伝子学は、適当な遺伝学的手法がなかったことなどから、以前は研究を進めるのが難しい面もあった。しかし、最近、*Staphylococcus aureus* 由来のトランスポゾン Tn4001 を利用した遺伝子導入法や、変異株作製法などが利用できるようになり、遺伝子機能の研究も行いやすくなってきている。

マイコプラズマの遺伝子学で、近年、特に成果が上がっているのは、細胞接着性、運動性、

更に抗原多様性などの分子機構に関する研究分野である。細胞接着性、運動性については本文中でも述べたが、抗原多様性とは、マイコプラズマの膜表面の蛋白質の構造が頻繁に変化することである。寄生細菌であるマイコプラズマは、常に宿主の免疫の攻撃にさらされており、これを回避するために、膜表面の構造を頻繁に変化させる能力を身につけている。マイコプラズマの膜蛋白質遺伝子には、構造変化のための多様な遺伝子スイッチが存在しており、そのメカニズムが徐々に明らかにされている。マイコプラズマの全ゲノム配列解析からもたらされた情報は、これら基礎細菌学的な研究が進められるうえで、大きな力になっている。

その一方で、全ゲノム配列解析や基礎細菌学的な研究で得られた成果を、臨床微生物学的な分野や診断、治療に役立つ取り組みはまだ遅れている。基礎的な研究成果をうまく臨床的な分野に持ち込めば、役立つことが少なからずあると思われる。基礎研究的な研究成果をどう応用すれば、臨床微生物学的な分野で活用できるか更に工夫が必要である。

■ 文 献

- 1) Fraser CM, et al: The minimal gene complement of *Mycoplasma genitalium*. *Science* 270: 397-403, 1995.
- 2) Himmelreich R, et al: Complete sequence analysis of the genome of the bacterium *Mycoplasma pneumoniae*. *Nucleic Acids Res* 24: 4420-4449, 1996.
- 3) Glass JL, et al: The complete sequence of the mucosal pathogen *Ureaplasma urealyticum*. *Nature* 407: 757-762, 2000.
- 4) Chambaud I, et al: The complete genome sequence of the murine respiratory pathogen *Mycoplasma pulmonis*. *Nucleic Acids Res* 29: 2145-2153, 2001.
- 5) Osawa S, et al: Recent evidence for evolution of the genetic code. *Microbiol Rev* 56: 229-264, 1992.
- 6) Krause DC, Balish MF: Structure, function, and assembly of the terminal organelle of *Mycoplasma pneumoniae*. *FEMS Microbiol Lett* 198: 1-7, 2001.
- 7) Seto S, et al: Visualization of the attachment organelle and cytoadherence proteins of *Mycoplasma pneumoniae* by immunofluorescence microscopy. *J Bacteriol* 183: 1621-1630, 2001.
- 8) Hahn TW, et al: HMW1 is required for cytoadhesin P1 trafficking to the attachment organelle in *Mycoplasma pneumoniae*. *J Bacteriol* 180: 1270-1276, 1998.
- 9) Mührlradt PF: Immunomodulation by mycoplasmas: affects, facts and active molecules. In: *Molecular Biology and Pathogenesis of Mycoplasmas* (ed by Razin S, Herrmann R), p 445-472, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 2002.
- 10) Jacobs E, et al: Molecular mimicry by *Mycoplasma pneumoniae* to evade the induction of adherence inhibiting antibodies. *J Med Microbiol* 43: 422-429, 1995.
- 11) Su CJ, et al: Sequence divergency of the cytoadhesin gene of *Mycoplasma pneumoniae*. *Infect Immun* 58: 2669-2674, 1990.
- 12) Ruland K, et al: Sequence divergence in the ORF6 gene of *Mycoplasma pneumoniae*. *J Bacteriol* 176: 5202-5209, 1994.
- 13) Proft T, et al: The proline-rich P65 protein of *Mycoplasma pneumoniae* is a component of the Triton X-100-insoluble fraction and exhibits size polymorphism in the strains M129 and FH. *J Bacteriol* 177: 3370-3378, 1995.
- 14) Kenri T, et al: Identification of a new variable sequence in the P1 cytoadhesin gene of *Mycoplasma pneumoniae*: evidence for the generation of antigenic variation by DNA recombination between repetitive sequences. *Infect Immun* 67: 4557-4562, 1999.
- 15) Dorigo-Zetsma JW, et al: *Mycoplasma pneumoniae* P1 type 1- and type 2-specific sequences within the P1 cytoadhesin gene of individual strains. *Infect Immun* 69: 5612-5618, 2001.

小児マイコプラズマ肺炎の臨床

NARITA MITSUO

成田光生

◎札幌鉄道病院小児科

今回、「小児マイコプラズマ‘肺炎’の臨床」というテーマをいただいたが、実際には、「小児マイコプラズマ‘感染症’の臨床」と若干ニュアンスを異にして、筆を起こしたいと思う。理由の第一は、小児のマイコプラズマ(*Mycoplasma pneumoniae*, 以下単にマイコと略す)肺炎は基本的には自己限定的な良性疾患であり、その経過、診断、治療に関しては類書も多く、臨床的に現在確立されている事柄に加えて格別に目新しい話題は多くないこと、理由の第二は、そしてこちらがより重要なのであるが、小児においてはマイコ感染症がすなわちマイコ肺炎ではないことがあげられる。この点、本誌別稿にても述べられる予定であるが、成人においてマイコ感染症が臨床的に問題となるのは肺炎として発症した場合か、それが重症化した場合、あるいは合併症があったとしても、肺炎も同時に存在していることが多いことは明らかに一線を画している。そしてこれはおそらく、成人において肺炎のないマイコ感染症が見逃されているのではなく、マイコ感染症が肺炎のない状態で発症する病態が、実際に成人においてはきわめてまれな現象だからであると推測している。

本稿においてはまず、この小児と成人におけるマイコ感染症の病態の相違について筆者自身の研

究成績を含めて述べさせていただき、次に、「小児マイコプラズマ‘感染症’の臨床」として重要な、「肺外‘発症’」について、概説したいと思う。

なお本稿においては論旨に基づき、あえて‘合併症’という言葉は用いずに‘発症’という言葉を使わせていただいた記載があるので注意されたい。

また誤解を招くといけなないので付言するが、本稿でいう「肺炎」とはあくまで胸部X線単純写真にて浸潤影、斑状影、無気肺などの異常陰影が認められる状態を指し、「肺炎を呈しない」病態とは決して「肺に炎症がない」ことではなく、「単純写真にて異常陰影が認められない」状態を指すものとする。

■小児において肺炎は、あくまでマイコプラズマ感染症の一分症に過ぎない

筆者らは以前、PCR法を用いて、小児で脳炎・無菌性髄膜炎などマイコ感染症による中枢神経系発症を呈した患者の脳脊髄液を検討した結果、発熱から7日以内に中枢神経系症状を発症した患者では、それ以後に発症した患者と比較して統計学的に有意な差をもって、脳脊髄液中にマイコゲノムが検出される確率が高いことを報告した^{1,2)}。この際たまたま脳脊髄液とともに検索した血清からもマイコゲノムが検出された例があったが、これらの症例では必ずしも肺炎を伴っていなかつ

た。周囲にマイコ肺炎の流行があったためにマイコ感染症も除外診断的に検索したところ、血清学的にマイコ感染症が証明された例であった。そこで肺炎の存在とマイコ血症に注目して検討を行った結果、少なくとも小児においては、肺炎を発症していない場合のほうが肺炎のある場合よりも統計学的に有意な高率で、マイコ血症が存在していることを発見した³⁾。またこの現象は中枢神経系発症に限らず、伝染性単核球症、あるいは川崎病など、小児によくみられる疾患(病態)を呈した場合においても同様に観察された⁴⁾。

他方、Sakurai, Nagayamaらは膨大な数の咽頭拭い検体からマイコを分離し、乳幼児期のマイコ感染症はそれ以前に考えられていたよりはるかに頻度が高いこと、そして乳幼児期のマイコ感染症においては必ずしも肺炎を発症するものではないことを報告した^{5,6)}。

さてここにおいて、マイコ感染症ではいかなるメカニズムで「肺炎」が惹起されるのか、という基本的な事項が問題となる。この点 Tanakaらは、動物実験および成人のマイコ肺炎のCT画像による検討などから、肺炎の発症には Th1 型サイトカインおよび IL-18 が強く関与していることを報告した^{7,8)}。また筆者らも小児の肺炎、とりわけ胸水貯留例の検討により、その発症に肺の局所における IL-18 および IL-8 の産生が強く関与している可能性を報告した^{9,10)}。肺病変の形成に対する IL-8 の関与に関しては最近、実験医学的な研究結果も報告された¹¹⁾。以上の研究結果および古典的な臨床的観察により、マイコ感染症における肺炎の発症には、局所における宿主の免疫応答が強く関与していることは間違いないものと考えられる。なおマイコ感染症とサイトカインについては、本誌別稿においても述べられる予定であるので、参照されたい。

以上を総合して一つの仮説を提唱する。成人も含め年長児以降の小児で「肺炎」を起こす場合というのは、マイコが気道上皮に感染するとまずマクロファージが刺激され、IL-18 の作用を介し

て Th1 型サイトカインあるいはまた IL-8 が活性化される。これによりリンパ球、好中球などの炎症性細胞が動員され、炎症反応を惹起する。この免疫応答により、病理学的には肺胞、細気管支など管腔内の器質化を基本とする肺炎の病像¹²⁾が形成されるが、多くの場合、炎症はそこで終息する。一方、乳幼児における初感染か、あるいは成人でもそれに近い状態で感染が成立し局所における個体の免疫応答が不十分な際には、マイコが血中に侵入し、遠隔臓器に到達し、むしろ肺炎の認められない状態で様々な肺外発症を呈する場合があるのではないかと考えている。この仮説によれば、たとえば、過剰な免疫応答の結果であると考えられる成人における重篤な細気管支閉塞性器質化肺炎に対し、ステロイド剤が著効を奏すること^{13,14)}の理由もより具体的に説明可能である。

■マイコプラズマの肺外発症は 直接侵襲か免疫応答か

さて、マイコ感染症を論ずるにあたり避けて通れない問題に、直接侵襲か免疫応答かということがある。これはウイルスなどがその増殖により感染細胞を直接破壊するのとは異なり、マイコ自体には、せいぜい過酸化水素を産生して呼吸器粘膜を損傷する程度の「能力」しかないことに起因している。それがなぜこれほど多彩な症状を呈するか、という問題である。マイコ感染症の有名な合併症に、寒冷凝集素による自己免疫性溶血性貧血がある。これはマイコに存在するリン脂質に対する免疫応答がヒトの赤血球表面に存在する I 抗原と交差反応を起こし赤血球を破壊するという現象で、まさに免疫応答による「合併症」と呼ぶにふさわしい病態である。これに対し、他の多くの肺外発症は、その機序が明らかになっていない。ただ現在まで多くの症例報告の蓄積により、その炎症部位にしばしばマイコ菌体の存在が確認される、すなわちマイコがそこに存在することが炎症の惹起に必要なことが推測される、肺外発症(これをとりあえず「直接型」と呼ぶ)と、その

炎症部位にマイコ菌体の存在が確認されたことのない肺外発症（これを「間接型」と呼ぶ）は、ある程度分類され得るようになってきた。この際マイコが肺以外の臓器（たとえば皮膚）に直接感染することは考えにくく、マイコ菌体が遠隔臓器に到達するためには、その前提としてのマイコ血症の存在が必要であると、考えられるのである。

マイコ感染症において以下に述べるがごとき多彩な肺外発症が、成人ではなく小児で特異的に多く起こる背景には、小児では肺炎がなくマイコ血症が起こりやすい、ということが重要な意味をもっているものと考えている（肺炎がある場合にはマイコ血症は惹起されない、と限定するものではないが）。

■小児においてマイコプラズマ感染症は、あらゆる病像をとり得る

それでは小児のマイコ感染症において、具体的にどのような病像が起こり得るのか、臓器別に概説する。これは筆者が今までにまとめたもの^{15, 16)}の抜粋であり、誌面の都合上、ここで膨大な数の文献を逐一付記することは不可能である。ご興味のある方は、拙著文献を参照されるか、筆者宛て直接ご連絡いただければ幸いである。

1. 粘膜・皮膚

蕁麻疹様皮疹あるいは多型紅斑様皮疹は、臨床的に頻度も高く古典的に記載されている肺外症状であるが、いかにも免疫応答的な間接型の機序を推測させる。一方、Stevens-Johnson症候群に関しては、複数の報告で水疱液からマイコが分離されており、またこれらの例ではいずれも呼吸器症状はないか、きわめて軽微で肺炎はなかったと報告されている。肺炎非存在例における肺外発症の一つの典型と考えられる。

2. 感覚器

眼に関しては結膜炎、虹彩炎などが知られている。Salzmanらの文献的考察¹⁷⁾によればこれら

においても、呼吸器症状は伴っていない場合が多い。一方で眼からマイコが分離された報告はなく、その発症機序は不明である。

中耳炎は肺炎に伴いよくみつけられる症状であるが、この場合、マイコの検出率は低い。筆者の知る限り、肺炎のない耳単独の発症はあるのか、その際、耳にマイコは存在するのか、に関するまとまった研究はない。

3. 神経系

成人も含め、マイコ感染症による肺外発症のなかでも最もよく知られ、報告数も多いものの一つである。興味深い点として年齢分布が特徴的であり、脳炎、髄膜脳炎などは小児に多く、脊髄系、末梢神経系、精神症系という順で、好発年齢が高くなっていく傾向がある。筆者らのPCR法を用いた脳脊髄液の検討では、髄膜炎、脳炎の中でも、発熱から早期（7日以内）に神経症状を発症した患者では、遅れて（8日以降）発症した患者よりも統計学的に有意な高率で、マイコゲノムが検出された²⁾。また発熱から早期に発症した患者では、有意に肺炎を伴う頻度が低かった³⁾。小児に好発する早発性脳炎が、中枢神経系へのマイコの血行性伝播による直接型の発症であることを示唆するものであると考えられる。

4. 心臓

近年、心嚢貯留液からマイコが分離された心外膜炎症例が複数例報告されている。これらにおいても肺炎は存在しなかった。

5. 消化器（肝臓）

肝機能障害を認める頻度は高いが、抗生剤、あるいは解熱剤などの治療薬剤による薬剤性肝機能障害との鑑別が問題となる。前述のごとく筆者らは、肺炎を伴わず、肝機能障害を伴い、伝染性単核球症あるいは川崎病という病型で肺外発症した例において、マイコの血行性伝播を示唆した症例を報告した⁴⁾。

6. 血液系

自己免疫性溶血性貧血は現在まで多数の報告があり、その免疫学的交差反応という機序から考えて、マイコ感染さえあれば、肺炎の有無とその発症とは関係ないと考えられる。本稿の主旨において興味深いのはむしろ、伝染性単核球症である。小野らによる3例の報告¹⁸⁾ および自験例を含め9例中、肺炎を伴っていたのはわずか2例であった。報告数が必ずしも多くないのは、肺炎がないためにマイコ感染が見逃されている可能性も推測される。

7. 関 節

日本では多くの報告をみないが、欧米で関心の高いのが関節炎である。ただしこれは今まで述べてきた急性炎症としての肺外発症ではなく、むしろ慢性炎症性疾患としてのリウマチ性疾患と、*Mycoplasma* のなかでもむしろ *pneumoniae* 以外の *Mycoplasma* との関連に関する関心という意味合いが強い。この点については、本誌別稿においても述べられる予定であるので参照されたい。

8. 泌尿器系

急性糸球体腎炎の報告がある。腎組織中にマイコ抗原の存在が認められているが、これは免疫複合体としての沈着であり、肺炎の有無はその発症と直接は関係ないと考えられる。

■小児マイコプラズマ感染症の診断と治療

以上述べたごとく、小児のマイコ「感染症」を診断するにはまず、「肺炎のない肺外発症」を常に念頭におくことが最も重要なポイントである。そしてマイコ感染症を疑った場合、診断の Gold standard はやはり血清診断である。無論、培養あるいは PCR 法にて炎症部位にマイコ菌体の存在を証明できれば問題ないが、マイコの肺外発症においては、そもそもその部位には菌体が存在しないことも多く、このような場合には、その

症状がマイコ感染によるものであることの直接証明は、かなり難しい。

治療の基本はやはり抗生剤による菌体の除去である。直接型の発症の場合には無論であるが、間接型の発症の場合でも、肺外症状を呈している急性期に呼吸器粘膜に実際にマイコ菌体が存在している場合には、それを除去して抗原の供給を断つ、あるいは抗原量を減らすことがまったく意味のないことではないと考えられる。ステロイド剤については、適応が確立されたものは自己免疫性溶血性貧血のみであるが、重篤な呼吸器症状(とりわけ細気管支閉塞性の)を呈した場合、あるいは中枢神経系発症の一部(遅発性脳炎やギランバレー症候群など)においては、ステロイド剤の使用には十分な合理性があるものと考えている。

■マイコプラズマ感染症の最近の話題

- 「薬剤耐性マイコプラズマ」が出現した -

さて、「小児」のマイコ感染症に限った話題ではないが、近年、日本の各地で「薬剤耐性マイコ」が出現している模様である。以前より erythromycin 添加培養のような人工的な環境下では遺伝子変異により薬剤耐性マイコ株が出現することは報告されてきた。この点、筆者らは最近、臨床的に clindamycin (CLDM) 不応性の小児肺炎患者から分離したマイコ株において、おそらく野生株としては世界でも初めて、実験室株と同様の遺伝子変異が存在することを発見した¹⁹⁾。さらに本例では、薬剤感受性試験においては CLDM 同様に抗菌作用としては機能しないはずの clarithromycin が臨床的には著効を奏した、という非常に興味深い現象が観察された²⁰⁾。これらの点に関する詳細な議論は残念ながら本稿では割愛するが、このような「薬剤耐性マイコ」による感染症が次第に拡大していくのか、今後の動向を注意深く見守る必要がある。

「小児マイコプラズマ「感染症」の臨床」について述べさせていただいた。「肺炎」の臨床」と

いうテーマからすると、ある意味で背反する内容のようでもあるが、小児のマイコ感染症を理解し、今後の臨床あるいは研究の課題を提出するという点においては、こちらの内容のほうが興味深いものと考えて、述べさせていただいた。筆者の意図を理解のうえ、ご容赦いただければ幸いである。

- 1) Narita M, Matsuzono Y, Togashi T *et al.* : DNA diagnosis of central nervous system infection by *Mycoplasma pneumoniae*. *Pediatrics* 90 : 250-253, 1992.
- 2) Narita M, Itakura O, Matsuzono Y *et al.* : Analysis of mycoplasmal central nervous system involvement by polymerase chain reaction. *Pediatr Infect Dis J* 14 : 236-237, 1995.
- 3) Narita M, Matsuzono Y, Itakura O *et al.* : Survey of mycoplasmal bacteremia detected in children by polymerase chain reaction. *Clin Infect Dis* 23 : 522-525, 1996.
- 4) Narita M, Yamada S, Nakayama T *et al.* : Two cases of lymphadenopathy with liver dysfunction due to *Mycoplasma pneumoniae* infection with mycoplasmal bacteremia without pneumonia. *J Infect* 42 : 154-156, 2001.
- 5) Sakurai N, Nagayama Y, Honda A *et al.* : *Mycoplasma pneumoniae* and other pathogens in the aetiology of lower respiratory tract infections among Japanese children. *J Infect* 16 : 253-261, 1988.
- 6) Nagayama Y, Sakurai N, Yamamoto K *et al.* : Isolation of *Mycoplasma pneumoniae* from children with lower-respiratory-tract infections. *J Infect Dis* 157 : 911-917, 1988.
- 7) Tanaka H, Honma S, Abe S *et al.* : Effects of interleukin-2 and cyclosporin A on pathologic features in *Mycoplasma pneumoniae*. *Am J Respir Crit Care Med* 154 : 1908-1912, 1996.
- 8) 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* 121 : 1493-1497, 2002.
- 9) Narita M, Tanaka H, Abe S *et al.* : Close association between pulmonary disease manifestation in *Mycoplasma pneumoniae* infection and the enhanced local production of IL-18 in the lung, independent of gamma interferon. *Clin Diagn Lab Immunol* 7 : 909-914, 2000.
- 10) Narita M, Tanaka H, Yamada S *et al.* : A significant role of interleukin-8 in the pathogenesis of pulmonary disease manifestation due to *Mycoplasma pneumoniae* infection. *Clin Diagn Lab Immunol* 8 : 1028-1030, 2001.
- 11) Yang J, Hooper WC, Phillips DJ *et al.* : Regulation of proinflammatory cytokines in human lung epithelial cells infected with *Mycoplasma pneumoniae*. *Infect Immun* 70 : 3649-3655, 2002.
- 12) Rollins S, Colby T, Clayton F : Open lung biopsy in *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia. *Arch Pathol Lab Med* 110 : 34-41, 1986.
- 13) Llibre JM, Urban A, Garcia E *et al.* : Bronchiolitis obliterans organizing pneumonia associated with acute *Mycoplasma pneumoniae* infection. *Clin Infect Dis* 25 : 1340-1342, 1997.
- 14) Chan ED, Kalayanamit T, Lynch DA *et al.* : *Mycoplasma pneumoniae*-associated bronchiolitis causing severe restrictive lung disease in adults. Report of three cases and literature review. *Chest* 115 : 1188-1194, 1999.
- 15) 成田光生：肺炎マイコプラズマ感染症における合併症の発症機序 - PCR法による evidence と文献的考察 - . 日本マイコプラズマ学会雑誌 24 : 3-8, 1997.
- 16) 成田光生：小児期 *M.pneumoniae* 感染症の臨床と合併症. 日本マイコプラズマ学会雑誌 27 : 30-33, 2000.
- 17) Salzman MB, Sood SK, Slavin ML *et al.* : Ocular manifestation of *Mycoplasma pneumoniae* infection. *Clin Infect Dis* 14 : 1137-1139, 1992.
- 18) 小野民子, 吉田信之, 宮崎澄雄ほか： *Mycoplasma pneumoniae* による伝染性単核症様症候群. 日本小児科学会雑誌 95 : 132-136, 1991.
- 19) Okazaki N, Narita M, Yamada S *et al.* : Characteristics of macrolide-resistant strains isolated from patients and induced with erythromycin *in-vitro*. *Microbiol Immunol* 45 : 617-620, 2001.
- 20) 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 48 : 123-127, 2001.

* * *

THE JOURNAL OF THE JAPANESE ASSOCIATION
FOR INFECTIOUS DISEASES
May, 2003, p310—315
0387—5911

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

¹⁾札幌鉄道病院小児科, ²⁾市立札幌病院小児科

成田 光生¹⁾ 富樫 武弘²⁾

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

¹⁾札幌鉄道病院小児科, ²⁾市立札幌病院小児科成田 光生¹⁾ 富樫 武弘²⁾

(平成 14 年 11 月 14 日受付)

(平成 15 年 1 月 16 日受理)

Key words : *Mycoplasma pneumoniae*, Immuno Card Mycoplasma, child, rapid diagnosis, IgM

要 旨

肺炎マイコプラズマ (Mp) 特異的 IgM 抗体迅速検出キット「イムノカードマイコプラズマ抗体 (IC)」(国内販売元, テイエフビー) の有用性につき検討した. 微粒子凝集法 (PA) により Mp 肺炎と診断された (ペア血清で 4 倍以上の上昇あるいは急性期 640 倍以上) 16 歳以下の小児 23 症例 30 検体を対象とした. ELISA 法 (米国 Zeus 社製造, 日本国内非売品) にて Mp 特異的 IgM 及び IgG 抗体を測定し, 比較した. 今回の検討においては製造元 (米国 Meridian 社) が勧めるところの「発色までの観察時間 5 分」で陽性になったのが発熱 (37.5℃ 以上) から 5 病日以後に得られた 8 検体のみと少なく, 同「10 分」の観察で青色を呈したと判定された 6 検体も陽性とした. 結果の判定は複数の目で行なった. 本研究では病初期の単一血清による診断可能性に注目し, 発熱から 5 病日までに検体が得られた 18 例につき検討を加えたところ, ELISA・IgM では 13 例 (72%) で陽性と判定され, IC 法では 10 分での判定で陽性の 5 例を含む 6 例 (33%) が陽性, 急性期単一血清で 320 倍を「陽性」とした場合の PA 法では 4 例 (22%) のみが陽性と判定された. ELISA 法による IgM 抗体測定が最も鋭敏であり, IC 法は米国での発売当初文献的に報告されたほど感度が高い印象は無かった. 外来診療中にでも施行可能であるという迅速性と簡便性が本法の利点であると考えられた.

〔感染症誌 77 : 310~315, 2003〕

序 文

イムノカード (IC) マイコプラズマ抗体 (テイエフビー) は微量 (80µl) の血清検体を用いて肺炎マイコプラズマ (*Mycoplasma pneumoniae*, Mp) 特異的 IgM 抗体を簡便に検出する診断キットであり, その有用性に関して多数検体を集めた水平断的研究は, いくつか報告されている^{1)~4)}. 本研究においては, 発症から早い時期に得られた単一血清による診断可能性に注目し, 他の血清診断法と

比較しつつ検討を加えた.

材料と方法

対象は 16 歳以下の小児で胸部写真上肺炎の陰影を呈し, 微粒子凝集 (PA) 法による抗体測定にて, 1) ペア血清で 4 倍以上の上昇, あるいは, 2) 急性期すでに 640 倍以上の抗体上昇, が認められたことによりマイコプラズマ感染症と診断された例である. このうち 1) においては IC 法でも急性期, 回復期をペアで検討したのが 6 例 12 検体, IC 法で急性期検体のみを検討したのが 12 例 12 検体であり, 2) では IC 法で急性期検体のみを検討した

別刷請求先 : (〒060-0033) 札幌市中央区北 3 条東 1 丁目
札幌鉄道病院小児科 成田 光生

Table 1 Comparison of three serological diagnostic methods to detect *M. pneumoniae*-specific antibody as a function of days from the onset of fever *

Case No.	Age (yr)	Days **	PA titer	ELISA (ODR)		IC	
				IgM	IgG	5 min	10 min
1	7	0	< 40	0.44	0.34	-	
2	9	0	320	3.61 (+)	1.76 (+)	-	
3	7	0	80 (640)	1.75 (+)	0.66	-	+
4	10	1	< 40 (2,560)	1.32 (+)	1.70 (+)	-	
5	12	2	< 40 (640)	0.99	2.38 (+)	-	
6	7	2	80 (2,560)	1.58 (+)	0.21	-	+
7	6	2	80 (1,280)	2.55 (+)	3.14 (+)	-	+
8	5	3	320	1.81 (+)	0.25	-	
9	16	3	80	1.29 (+)	4.61 (+)	-	
10	12	3	< 40 (640)	0.35	0.60	-	
11	13	3	< 40 (320)	0.35	0.56	-	
12	7	3	80 (2,560)	1.27 (+)	0.45	-	
13	14	3	640	2.46 (+)	2.25 (+)	-	
14	5	4	160	1.95 (+)	3.23 (+)	-	+
15	10	4	40 (2,560)	0.45	0.12	-	
16	5	4	40 (1,280)	0.73	0.17	-	
1		5	320	3.45 (+)	0.54	+	
2		5	1,280	4.25 (+)	4.43 (+)	-	+
17	1	5	80	1.83 (+)	0.14	-	
18	6	5	80 (2,560)	1.41 (+)	0.12	-	
9		7	640	2.09 (+)	4.24 (+)	+	
19	7	7	160 (5,120)	2.63 (+)	2.31 (+)	+	
8		8	20,480	3.85 (+)	2.48 (+)	+	
20	4	9	640	1.16 (+)	0.16	-	
21	5	9	640	1.71 (+)	2.09 (+)	-	+
14		11	2,560	3.35 (+)	3.94 (+)	+	
17		12	2,560	3.25 (+)	0.36	+	
22	10	19	2,560	2.75 (+)	1.34 (+)	+	
23	4	39	40,960	3.45 (+)	1.63 (+)	+	
23		277	320	2.93 (+)	4.44 (+)	-	

*PA; particle agglutination, a titer in the convalescence was shown in parentheses (not tested by the IC method), ELISA; enzyme linked immunosorbent assay, ODR; optical density ratio, values at and more than 1.10 were taken as positive both for IgM and IgG, IC; Immuno Card Mycoplasma antibody, a positive result by a 10 min-observation was also recorded.

**A day of onset of fever (37.5 C or more) was denoted as day 0.

のが4例4検体であった。さらにPA法にて4倍以上の下降を認めた症例で遠隔期を検討したのが1例2検体有り、これら合計23例より得られた30検体を検討対象とした。

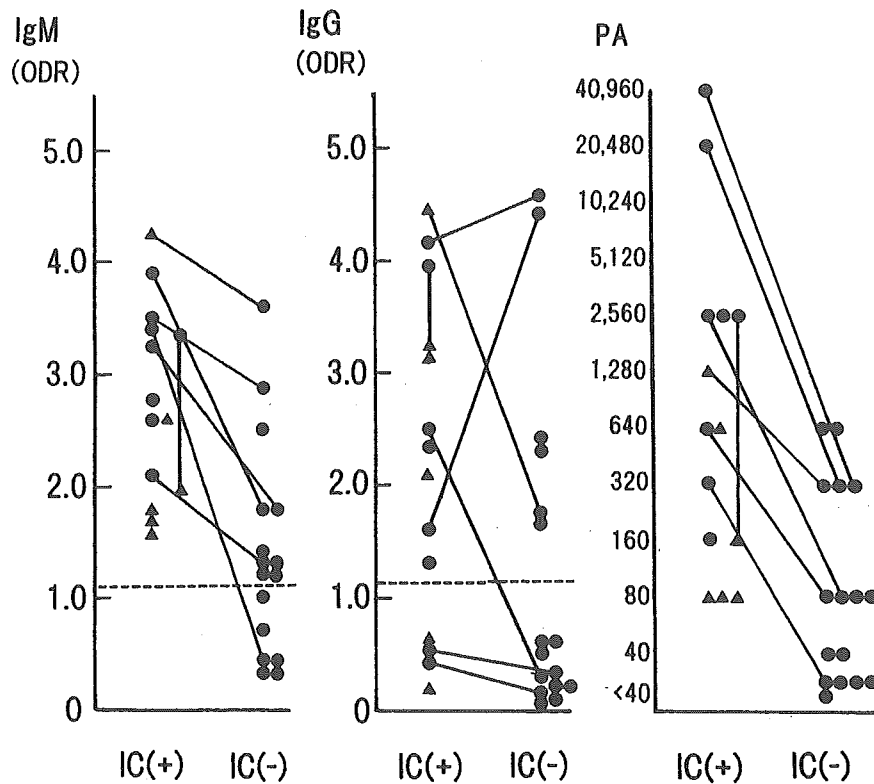
IC法の操作は簡単で、その詳細はキットの説明書あるいは既出論文²⁾に譲るが略述すると、まず添付のスポイトで血清をキットに添加し、その後、酵素標識抗体液、洗浄液、基質液と順次滴下、最後に青色の発色を呈するか否か「5分間」の観察時間の後、結果を判定する。以上の所要時間が約10

分である。青色の発色が弱いと判定が微妙な場合があるので、結果の判定は必ず筆頭著者を含む、複数の目で行った。

またこれらの検体について米国ゼウス社のELISAキット(日本国内非売品)にて、マイコプラズマ特異的IgMおよびIgG抗体を製造元の指示に従い測定した。これらは定性キットであり、陽性、陰性のカットオフ値はIgM及びIgGともに吸光度比(ODR)1.10である。

Fig. 1 Comparison of three serological diagnostic methods to detect *M. pneumoniae*-specific antibodies.

IgM, IgG ; Optical density ratio (ODR) values at and more than 1.10 were taken as positive. PA ; particle agglutination, IC ; ImmunoCard Mycoplasma antibody test. A positive result by a 10 min-observation (closed triangle) was also recorded. Paired sera were bound by a line.



成績

結果を Table 1 に示した. 37.5°C 以上の発熱が認められた日を 0 病日とした. IC 法においては, 製造元 (米国 Meridian 社) は最終の発色における観察時間を 5 分間までと設定しているが, 今回の検討にて 5 分で陽性になったのは発熱より 5 病日以後に得られた 8 検体と少なく, 同 10 分の観察で青色を呈したのも「陽性」に加えた. これにより 5 分では陰性とされた 6 検体が陽性と判定された.

本研究においてはとりわけ病初期における単一血清による診断可能性に注目し, 発熱より 5 病日までに検体が得られた 18 例につき検討を加えた. まず ELISA・IgM ではこれら 18 例中 13 例 (72%) が陽性と判定された. IC 法では 10 分までの観察で陽性と判定された 5 例を含む 6 例 (33%) が陽性であった. 本研究ではそもそも, PA 法にて

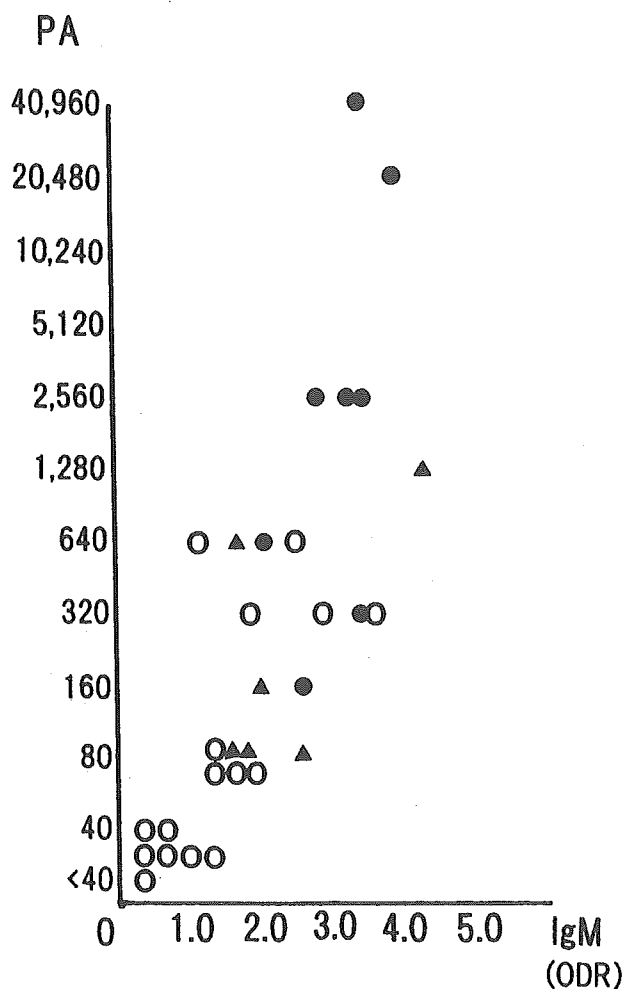
ペアで 4 倍以上の上昇あるいは急性期で 640 倍以上を認めた例を対象としたが, 仮に急性期単一血清の PA 法で 320 倍以上を陽性と判断した場合, PA 法では 5 病日に得られた症例 1 の検体を含み 4 例 (22%) のみが陽性となった. 結局, ELISA・IgM が最も感度が高く陽性率 72%, IC 法が 33%, PA 法が 22% であったが, これらは統計学的に有意な差ではなかった.

一方, 症例 23 の 277 病日では IC 法では陰性であったが, このような遠隔期でも単一血清では PA 法及び ELISA・IgM にてはこの時点で陽性と判断される可能性があり, やはり基本的に Mp 感染症はペア血清で診断するという原則の重要性が示された.

次に IC 法と他の検査結果につき, 比較検討した (Fig. 1). ELISA・IgM はあくまで定性キットであるが, ODR をペア血清で見た場合は必ず回復

Fig. 2 Relationship between titer by PA test and IgM-ODR by ELISA test.

PA ; perticle agglutination, ODR ; optical density ratio, IgM ; ODR values at and more than 1.10 were taken as positive. Closed circle ; positive by the ImmunoCard Mycoplasma antibody test (IC) with a 5 min-observation, closed triangle ; positive by the IC test with a 10 min-ovservation, open circle ; negative by the IC test.



期に向けて上昇していることから、絶対的な定量性は無いものの相対的な量の大小の目安にはなるものと考えられる。ELISA・IgMのカットオフである ODR 1.1 から 2.0 程度までの低いレベルの陽性検体では 11 検体中 7 検体が IC 法陰性で、陽性の 4 検体も全て 10 分の観察における判定結果であった。また IgM における ODR のかなり高いところでも、IC 法陰性例が散見された。IC 法は IgM 抗体のみを特異的に検出するので、当然のことながら Mp 特異的 IgG 抗体とは全く関連しな

かった。PA 法は IC 法ほど特異的ではないが、ほぼ IgM 抗体量を反映するとされており⁹⁾、確かに ELISA・IgM と類似の傾向を示した。ひとつ注目すべき点は、あくまで 4 検体が 10 分での判定ではあるが、PA 法による抗体価が 160 倍かそれ以下の、急性期単一血清のみでは判断に苦慮するところで、IC 法にては 5 検体が陽性であった。

ちなみに ELISA・IgM と PA 法を比較してみると (Fig. 2)、この両者はかなり良く相関し、PA 法が主に IgM 抗体量を反映しているということを実証する結果が得られた。この場合においても ELISA・IgM と PA 法の両方でかなり高い位置にある検体においても IC 法では陰性であった例が散見された。

考 察

「イムノカードマイコプラズマ抗体」は米国で開発されその後欧州、日本でも販売されている迅速診断キットである。発売当初の研究報告によると、IC 法は Mp 特異的 IgM 抗体を検出する点においては非常に感度が高く、蛍光抗体法、ELISA 法、補体結合法、PA 法など、比較検討されたいずれの方法よりも高感度であったと報告されている¹¹⁻¹⁴⁾。また PA 法で 40 倍未満の検体でも陽性となる場合の有ることも報告されている²³⁾。一方で特異性に関しては比較された方法の中では最も低く¹¹⁾、また IgM が出にくい再感染あるいは成人における感染では感度が下がること²⁴⁾が問題点として指摘されている。

筆者らの今回の検討においては、これまで報告されていた PA 法で 40 倍未満の検体でも陽性となるような感度とはほど遠く、むしろ実用性を考えると最終の発色時間を 5 分で切らずに 10 分まで観察するという工夫が必要であった。この差がどこに由来するのかという点に関しては、本研究における ELISA・IgM の ODR 及び PA 法の値と比較する限り (Fig. 2)、IC 法陰性例は単純に筆者らが使用した IC 法の感度に由来する問題であり、それ以上には例えば抗原調製方法の差など、複雑な要因が存在することは考え難い。また ELISA・IgG の値を見る限り、IC 法陰性例が必ずしも病初期から IgG 高値ではなく、本研究の対象

にとりわけ再感染例が多かったことも考え難い。「PA法で40倍未満の検体でも陽性となる感度」は客観的に考えても少し高すぎると感じられる。前述のごとく当初のIC法では特異性にやや難が有るとも報告されており、これはあくまで推測に過ぎないが、製造元が何らかの操作により、特定のロットから以後は特異性を上げるために感度をやや低めに調製しているのではないかとの印象が有る。ちなみに本研究において発色時間を10分として検討したことに関しては、ELISA・IgMのODRと比較する限り(Fig.1)これにより疑陽性が増加することは考え難く、IC法の特異性が損なわれる可能性は小さいものと考えられた。

実際の有用性に関して言えば、PA法で80倍から160倍の範囲でもIC法にて陽性と判定される場合には、その後の治療方針に寄与するところが大きい。今回の筆者らの検討においてはこの範囲で陽性となったのが5例有ったがそのうち4例が10分間での判定によるものであった。本来この種のキットは、製造元による使用法を遵守すべきであることは間違いない。この意味では本キットを5分間の判定で用いる限り、発熱5日以内の病初期にはMp感染症を診断することはできないという結果であった。ただ本キットをうまく利用できれば日常臨床に寄与するところは大きく、この反応時間に関する検討を含め、今後も多施設からの成績を考慮しながら有用性を判断すべきものと考えられる。

最後に症例23に関して考察を加える。本例は急性期に大量の胸水貯留を認め、その後胸部CT写真上線維性の変化と推測された器質化陰影を長期に残した症例で、277日目に臨床的所見は無かったが経過観察の一環として採血されたものである。IC法では陰性であったがELISA・IgMでは陽性と判定されるに十分な抗体量が残存し、PA法では微妙な値であった。この例においては病歴が明らかであるので問題ないが、過去のMp感染

が明らかでなくたまたま呼吸器症状を呈した例でこのような検査所見が得られた場合には、Mpによる急性感染と判断される可能性も充分有る。IgM抗体測定に基づく単一血清による血清診断の限界を示した症例であると考えられる。

今回の検討においてはIC法の感度は以前から報告されているほどには高くない印象が有り、最終の発色時間を10分間として判定する方が実用的であると考えられた。これにより急性期単一血清のPA法の結果のみでは判断困難な検体(80~160倍)で、IC法にて陽性と判断できる場合が有った。ただし発熱から5病日以内では10分間での判定で陰性であってもMp感染症は否定できず、やはりペア血清による診断が必要であると考えられた。他の血清診断法と比較してIC法は迅速・簡便で、外来診療を行いながらも施行できるところが最大の利点であると考えられた。

文 献

- 1) Alexander TS, Gray LD, Kraft JA, Leland DS, Nikaido MT, Willis DH: Performance of Meridian ImmunoCard Mycoplasma test in a multicenter clinical trial. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 1180-3.
- 2) Matas L, Dominguez J, de Ory F, Garcia N, Gali N, Cardona PJ, et al.: Evaluation of Meridian ImmunoCard Mycoplasma test for the detection of *Mycoplasma pneumoniae*-specific IgM in paediatric patients. *Scand J Infect Dis* 1998; 30: 289-93.
- 3) 岩沢篤郎, 中村良子: 抗マイコプラズマ IgM 抗体の迅速検出. *JARMAM* 1999; 10: 91-5.
- 4) Thacker WL, Talkington DF: Analysis of complement fixation and commercial enzyme immunoassays for detection of antibodies to *Mycoplasma pneumoniae* in human serum. *Clin Diagn Lab Immunol* 2000; 7: 778-80.
- 5) Barker CE, Sillis M, Wreghitt TG: Evaluation of Serodia Myco II particle agglutination test for detecting *Mycoplasma pneumoniae* antibody: comparison with μ -capture ELISA and indirect immunofluorescence. *J Clin Pathol* 1990; 43: 163-5.

Evaluation of a Rapid IgM Antibody Detection Kit for Diagnosis of
Mycoplasma pneumoniae Infection During Childhood

Mitsuo NARITA¹⁾ & Takehiro TOGASHI²⁾

¹⁾Department of Pediatrics, Sapporo Tetsudo Hospital

²⁾Department of Pediatrics, Sapporo City General Hospital

We evaluated the utility of a rapid detection kit for *Mycoplasma pneumoniae* (Mp)-specific IgM antibody, ImmunoCard (IC) Mycoplasma Test (Meridian Bioscience, USA), with regard to mycoplasmal infection during childhood. For this purpose, 30 serum samples were obtained from 23 pediatric patients with serologically proved mycoplasmal pneumonia at and younger than 16 years of age. The diagnosis of mycoplasmal infection was made by means of a particle agglutination (PA) method, which was on the basis of 1) a four fold or greater rise with paired sera or 2) at and more than 1 : 640 with a single, acute phase serum. In addition to the IC test, Mp-specific IgM and IgG antibodies were measured by ELISA tests (Zeus, USA) for comparison. A final observation time for colorization in the IC test was prolonged to 10 min in this study. The reason for this was because only 8 samples which were obtained 5 days or more after the onset of fever (37.5°C) were judged to be positive when the observation time was confined to 5 min as the manufacturer recommended. A judgment was always made by more than one persons. Since we intended to find out the diagnostic capability of the IC test using an acute phase single serum, we focused on 18 cases for which samples were obtained within 5 days of the onset of fever. As a result, 13 (72%) cases were judged to be positive for Mp by the IgM ELISA test, 6 (33%) cases, including 5 cases in which the result was interpreted to be positive by a 10-min observation, were judged to be positive by the IC test, and 4 (22%) cases were judged to be positive by the PA test when titers of at and more than 1 : 320 by an acute phase single serum were interpreted as significant. Through this study we felt that the sensitivity of the IC test was not so high as have been previously reported in the literatures (the IC test was occasionally positive even in the range of < 1 : 40 by a PA test). On the other hand, we believe that the 10-min observation for final colorization did not significantly affect the specificity of the IC test as long as it was compared with the results by the ELISA IgM test. So far, the rapidity in obtaining results, and the simplicity of handling by which the test can be performed in an outpatient clinic, are thought to be the major advantages of the IC test.