

免疫クロマトグラフィー法による肺炎球菌尿中抗原検査

Urinary antigen detection test by an immunochromatographic test for diagnosis of pneumococcal pneumonia

たて だ かず ひろ
 館 田 一 博
 Kazuhiro Tateda

はじめに

呼吸器感染症は今日においても最も重要で、かつ頻度の高い疾患の1つである。特に肺炎は重要であり、その死亡数は平成16年度の統計で約95,000人と報告されており、悪性新生物、心疾患、脳血管疾患に次いで第4位となっている。一方米国では、年間350～400万例の市中肺炎が発症し、60～100万人が入院、その死亡率は約14%と報告されている。肺炎をはじめとする感染症の診断法としては培養法がGold standardであるが、その他に血清抗体価測定、遺伝子診断、病原体抗原検出などが使用されている。最近になって重症肺炎の原因として重要な肺炎球菌とレジオネラに対する尿中抗原検出キットが開発され、その臨床的有用性が確認されている。特に免疫クロマトグラフィー法を用いた肺炎球菌尿中抗原検査は2005年1月に保険収載された新しい検査法である。これは後述するように、「いつでも、どこでも、だれにでも実施可能な検査で、しかもすぐに結果がわかる」という理想的検査法の1つである。ここでは肺炎球菌の尿中抗原検出キットを取り上げ、その特徴・有用性について説明するとともに、最近の知見・将来展望について概説する。

I. 肺炎診断における尿中抗原の重要性

感染症患者の尿中に病原体抗原が排出されるという事実は、約20年前より知られていた。Coonrodらは1983年の論文で肺炎球菌、レジオネラ、インフルエンザ桿菌、髄膜炎菌などいくつかの病原体に

よる感染症で尿中に菌抗原が排出されるという事実を報告している¹⁾。患者検体からの病原体特異抗原の検出は感染症診断において重要であり、特に呼吸器感染症患者における尿中抗原検出の意義は大きい。その理由は、呼吸器検体ではしばしば口腔内常在菌の混入が問題となるのに対し、尿中抗原ではその可能性を否定できることにある。また、尿中への病原体抗原の排出は血中抗原の濃縮を意味するものであり診断的意義は高い。さらに、喀痰や血液などと異なり尿は大量に採取することができ、これを濃縮することにより10～100倍と感度を高めることが可能である。

尿中抗原として検出される物質としては、病原体の莢膜多糖体抗原あるいは内毒素抗原 (lipopolysaccharide) が重要である。これらの物質は熱に対して安定であることから、検体の熱処理により非特異反応を抑制することができる。尿中抗原の検出法としては、ラテックス凝集法、ELISA、RIA、そしてさらに最近では、免疫クロマトグラフィー法を用いた迅速診断キットが開発されている。肺炎球菌、レジオネラ診断用の尿中抗原検出キットとしては、前者に対しては免疫クロマトグラフィー法、後者では免疫クロマトグラフィー法とELISA法の両方が開発されている。ELISAキットは、96穴マイクロプレートに特異抗体がコーティングされたものであり、結果判定までに4～6時間を必要とする。これに対し免疫クロマトグラフィー法は、患者尿を綿棒で採取したのち、これをキットに挿入、試薬を滴下したのち、陽性バンドの出現を肉眼で判定するというものである。本キットでは特別の機器・試薬を必要とせず、約15分で結果の判定が可能である。レ

ジオネラ肺炎を対象としたELISA法による診断キットは2003年の4月に、免疫クロマトグラフィー法による迅速診断キットは2004年8月に保険収載されている。肺炎球菌の免疫クロマトグラフィー法による迅速診断キットは2005年1月に保険収載された。

II. 免疫クロマトグラフィー法による肺炎球菌尿中抗原検出

肺炎球菌は肺炎の原因として最も頻度の高い細菌であり、欧米における疫学調査では市中肺炎の20～40%が肺炎球菌性肺炎であることが報告されている^{2,3)}。本菌による肺炎では血液培養陽性率が高く、レジオネラ肺炎と並び重症肺炎の原因菌として重要である。肺炎球菌性肺炎の診断法としては、培養検査法が一般的であるが、本菌は口腔内の常在菌の1つでもあることから、呼吸器検体を対象とした検査の場合には常に感染起炎菌か汚染菌かの鑑別が問題となる。

米国 Binax 社が肺炎球菌感染症の診断を目的に、免疫クロマトグラフィー法を用いた尿中抗原検出キットを開発している（写真1）。Dominguezらが2001年に報告した成績では、本キットの感度は80.4%（41/51）、特異度は97.2%（69/71）であったとしている⁴⁾。この成績からもわかるように本法

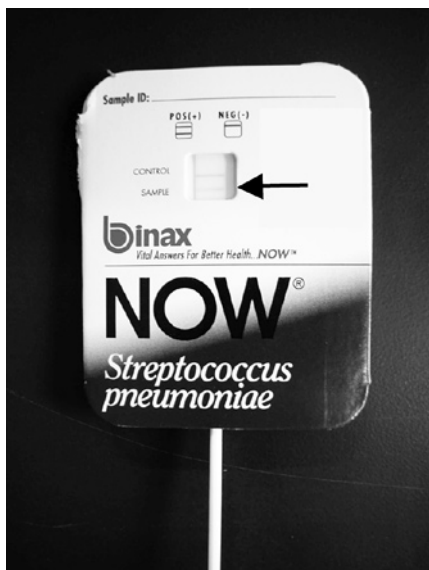


写真1 免疫クロマトグラフィー法による肺炎球菌尿中抗原検出キット "NOW *Streptococcus pneumoniae*"

患者尿を綿棒で採取しキットに挿入。試薬を2滴たらしたのち、15分後に陽性バンドの有無を判定（←部）。

の特異性は極めて高く、71症例中わずかに2例（レジオネラ肺炎、バクテロイデス敗血症）のみが偽陽性を示したことが報告されている。104例の市中肺炎を対象とした同様の検討においても、感度77.7%、特異度98.8%という成績が報告されている⁵⁾。敗血症を合併した肺炎球菌感染症107症例におけるプロスペクティブな検討においても、尿中抗原検査の感度は82%、特異度は97%であったことが報告されている⁶⁾。われわれの施設においても尿中抗原陽性43症例における喀痰および血液培養検査における肺炎球菌陽性頻度を検討したところ、47%の症例で培養陽性が得られているが、残りの53%の症例では尿中抗原のみ陽性（培養検査陰性）という結果であった（図1：東邦大学医学部呼吸器内科）。本キットの特異性が極めて高い、すなわち偽陽性がほとんどみられないという事実を考慮すると、尿中抗原検出法は従来の培養検査に比べ約2倍高い診断率を示したことになる。さらにMurdochらは、成人市中肺炎患者315症例を対象とした成績において、96症例が尿中抗原陽性、このうち6例が尿の濃縮により初めて陽性となったことを報告している⁷⁾。本キットは肺炎球菌の莢膜多糖を検出するものであり、感染症起炎菌として頻度の高い23種類の莢膜抗原を検出することができる。肺炎球菌の培養液を用いて、本キットの検出感度を検討したところ、 10^5 CFU/mlに相当する抗原量で陽性結果が得られることを確認している（表1）。

最近になって、小児を対象とした検討において本キットにおける偽陽性の問題がクローズアップされてきた。特に鼻咽頭に本菌を保菌している小児にお

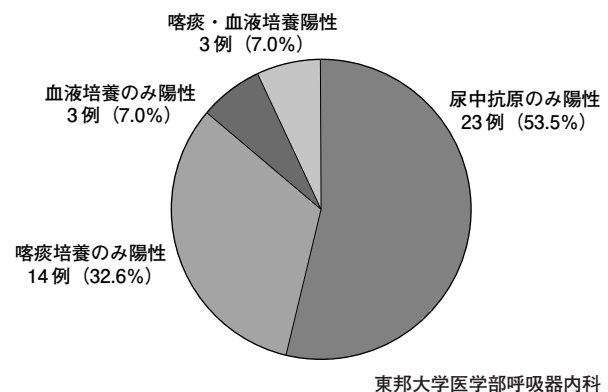


図1 尿中抗原陽性症例における喀痰・血液培養陽性率—43症例の検討—

表1 肺炎球菌の各種莢膜型における反応性の比較
— NOW *Streptococcus pneumoniae*® —

使用菌種および血清型	菌数 (CFU/ml)			
	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶
<i>S. pneumoniae</i> serogroup 3	(-)	(+)*	(+)	(+)
<i>S. pneumoniae</i> serogroup 6	(-)	(+)*	(+)	(+)
<i>S. pneumoniae</i> serogroup 10	(-)	(-)	(+)	(+)
<i>S. pneumoniae</i> serogroup 11	(-)	(-)	(+)	(+)
<i>S. pneumoniae</i> serogroup 19	(-)	(+)*	(+)	(+)
<i>S. pneumoniae</i> serogroup 23	(-)	(-)	(+)	(+)
<i>Streptococcus mitis</i> (clinical isolate)	(-)	(-)	(+)	(+)

* 20~45分後に陽性

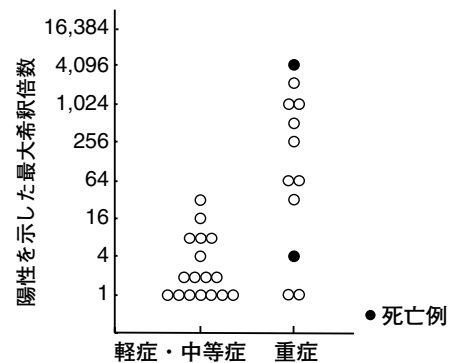
いては、50%以上で偽陽性を示したことが報告されている。その理由に関しては、まだ詳細は解明されていないが、小児における上咽頭バリアー機構の未熟性、低いIg-A値、あるいは潜在的な中耳炎の存在などがその一因になっているものと考えられる。これに対して成人の慢性閉塞性肺疾患患者97例においては、急性増悪を認めた3例を除きすべて尿中抗原陰性であったことが報告されている⁸⁾。また、肺炎球菌の尿中抗原はいったん陽性になると数週間にわたって持続的に尿中に排出されることが知られており、この点に関して Marcos らは、肺炎球菌性肺炎にて入院した患者の尿中抗原について継続して検討し、退院後1カ月の時点で約70%の患者において尿中抗原が陽性であったことを報告している⁹⁾。したがって、肺炎既往のある患者に新しい肺炎がみられた場合には尿中抗原陽性の意味を慎重に判断しなければならない。本キットは尿中抗原検出用に開発されたものであるが、同様に髄液あるいは血清を対象としても肺炎球菌抗原を検出できることが報告されている。

Ⅲ. 尿中抗原の半定量化による重症度評価および半減期

肺炎患者における尿中抗原の検出は基本的に血中抗原の濃縮を意味するものである。したがって、血中への病原体（あるいは病原体抗原）の侵入が高度な症例においては、より高い抗原価が検出されることが予想される。しかし残念ながら、免疫クロマトグラフィー法による肺炎球菌尿中抗原の検出は陰性か陽性かを判断する定性試験であり、抗原量と病態との関連、あるいは肺炎発症後の尿中抗原の推移などに関する情報は報告されていなかった。そこで、

尿中抗原陽性を示した肺炎球菌性肺炎患者の尿の2倍希釈系列を作り、何倍希釈まで陽性になるかを検討することにより尿中抗原量を定量化し、肺炎の重症度との関連について検討した。図2にその結果を示したが、軽症・中等症例に比べ重症例において高い尿中抗原価が観察されている¹⁰⁾。ただし、この結果では尿中抗原価が低い症例においても死亡例がみられており、抗原量以外にも宿主感染防御能や生体反応が重症度に強い影響を与えていることが予想される。

また、尿中抗原の半定量的な解析により、肺炎患者における尿中抗原および血中抗原の推移についても検討を加えた。図3に代表的4症例の結果を示したが、いずれの症例においても血中抗原量に比べ尿中抗原量が多く、その半減期は尿中抗原で1.0~3.4週、血中抗原で1.1~2.3週という成績が得られている¹⁰⁾。発症後数週間にわたる尿中抗原の排出は肺炎球菌だけでなくレジオネラにおいても認められており、これら病原体による肺炎の発症病態を考えると興味深い。今後、尿中抗原持続排出のメ



文献10より引用

図2 尿中抗原量と肺炎重症度の相関

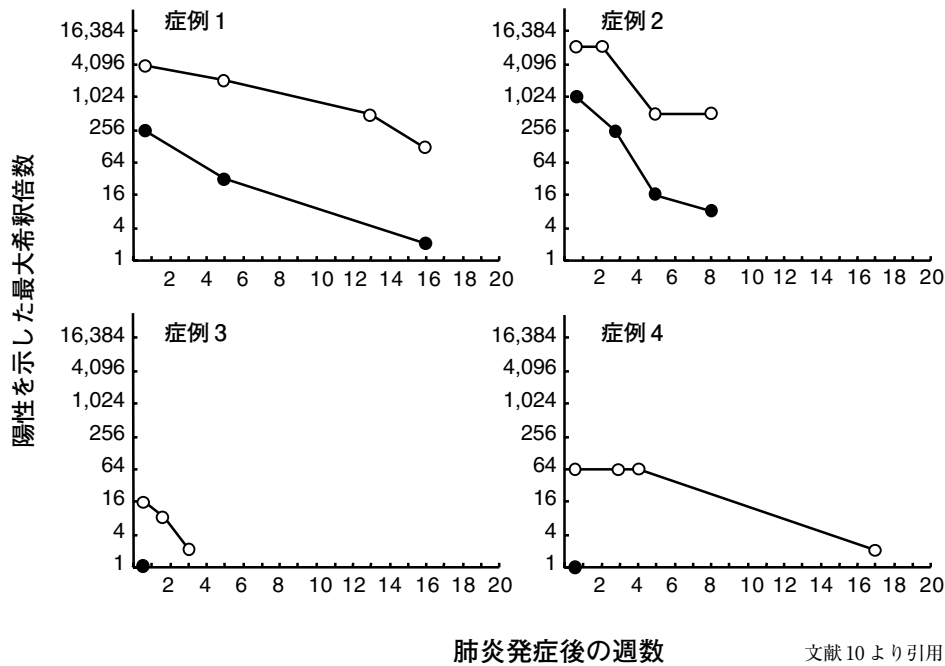


図3 肺炎発症後の尿中抗原 (○) および血中抗原 (●) の推移

文献10より引用

カニズム、尿中抗原量と肺炎重症度の関連などについてさらに詳細に検討していく必要があるであろう。

文 献

- 1) Coonrod J. D.: Urine as an antigen reservoir for diagnosis of infectious diseases. *Am J Med.* 28: 75(1B): 85-92, 1983.
- 2) Lieberman D. et al.: Multiple pathogens in adult patients admitted with community-acquired pneumonia: a one year prospective study of 346 consecutive patients. *Thorax.* 51: 179-184, 1996.
- 3) Vergis E. N. et al.: New directions for future studies of community-acquired pneumonia: optimizing impact on patient care. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 18: 847-851, 1999.
- 4) Dominguez J. et al.: Detection of *Streptococcus pneumoniae* antigen by a rapid immunochromatographic assay in urine samples. *Chest.* 119: 243-249, 2001.
- 5) Farina C. et al.: Urinary detection of *Streptococcus pneumoniae* antigen for diagnosis of pneumonia. *New Microbiol.* 25: 259-263, 2002.
- 6) Smith M. D. et al.: Rapid diagnosis of bacteremic pneumococcal infections in adults by using the Binax NOW *Streptococcus pneumoniae* urinary antigen test: a prospective, controlled clinical evaluation. *J Clin Microbiol.* 41: 2810-2813, 2003.
- 7) Murdoch D. R. et al.: Evaluation of a rapid immunochromatographic test for detection of *Streptococcus pneumoniae* antigen in urine samples from adults with community-acquired pneumonia. *J Clin Microbiol.* 39: 3495-3498, 2001.
- 8) Murdoch D. R. et al.: The NOW *S. pneumoniae* urinary antigen test positivity rate 6 weeks after pneumonia onset and among patients with COPD. *Clin Infect Dis.* 37: 153-154, 2003.
- 9) Marcos M.A. et al.: Rapid urinary antigen test for diagnosis of pneumococcal community-acquired pneumonia in adults. *Eur Respir J.* 21: 209-214, 2003.
- 10) Tateda K. et al.: Semi-quantitative analysis of *Streptococcus pneumoniae* urinary antigen: Kinetics of antigen titers and severity of diseases. Submitted.