

Radioimmunoassay による尿中 Legionella 抗原測定

第2報 臨床例について

東京女子医科大学内科

熊田 徹平 友利 直樹 加園 恵三 出村 黎子
小田桐恵美 大井 聖至 出村 博 對馬 敏夫
清水喜八郎 鎮目 和夫

同ラジオアッセイ科

地 曳 和 子

(昭和59年6月18日受付)

(昭和59年10月7日受理)

Key words : Legionnaires' disease, Radioimmunoassay, Urinary soluble antigen, *L. pneumophila Philadelphia 1*

要 旨

第1報において *Legionella* 症診断のために RIA 法により尿中 *Legionella* 抗原の測定の基礎的検討、およびモルモット感染実験の成績を報告した。

本法を用いて臨床例について検討を行ったところ、若年者の *Legionella* 症の散发例を診断しえた。

本法は、早期に、また有効抗生剤の投与後においても陽性を示す点、臨床診断上きわめて意義のある検査法である。また感度の面においてもすぐれていることは、血清抗体価が境界値のものであっても診断が可能であることを意味しており、その面でもすぐれた診断法である。

RIA による尿中 *Legionella* 抗原測定により、本邦において初めて診断しえた症例を報告する。

はじめに

Legionella 症の臨床診断は菌の細菌学的分離によるか、血清抗体価の測定などによりなされているが、治療開始前に確定診断をつけることは困難であった。

一方、*Legionella* の尿中可溶性抗原は体液中に溶出された菌体成分であり、これを尿中より検出することにより、菌を証明する試みがなされ、本症の診断法として注目されてきた¹⁾²⁾⁴⁾。

第1報において、Radioimmunoassay (RIA) による尿中 *Legionella* 可溶性抗原の測定についての基礎的検討を報告したが、今回、この方法により *Legionella* 症と診断することのできた症例を経験したので報告する。

I. 症 例

患者：H.S. 22歳，男性。

主訴：発熱。

既往歴：出産時異常なし。学童期より慢性副鼻腔炎があり、20歳の時、両側副鼻腔炎の手術施行。

家族歴：特記すべきことなし。

喫煙歴：17歳頃より40～60本/日。

現病歴：昭和58年9月11日と15日にサウナに行く（腰痛のため）。15日、帰宅後に悪感・発熱（38.5℃）。下熱しないため、17日、某医受診。胸部レ線写真にて肺炎といわれ投薬を受けたが、夕方から夜にかけて発熱が続き、19日女子医大内科外来を受診。胸部レ線写真で左下肺野の軽度の肺炎像を認め、Ampicillin の投与を受けた。この時、咽頭には異常なし、咳嗽・喀痰は軽度で、WBC 8,500/mm³、GOT 36K.U.、GPT 46K.U.、LDH

333mU/mlであった。その後も発熱は持続し、22日、23日に悪感・発熱(39℃)を認め、24日の朝にも発熱39℃がみられ、当院内科に入院した。この間、咳嗽・喀痰の増悪はなく、消化器症状も認めなかった。

また発症前には7月から約2カ月間、冷房のきいたところで1日60本以上の喫煙を続けていた。

入院時現症。186cm, 69kg, 体温39~40℃, 脈拍: 整, 80/分。血圧120/70。呼吸: 整。咳嗽・喀痰軽度。眼球・眼瞼結膜: 貧血(-), 黄疸(-)。咽頭: 発赤(-)。扁桃: 腫大(-)。リンパ節腫大: 両側頸部・腋窩・鼠径部とも(-)。

胸部理学的所見: 左背下部呼吸音減弱。3音(-)。心音: 清。

腹部理学的所見: 肝2横指触知。脾: 触知せず。

神経学的所見: 夜間せん妄状態, 不安感強く。徘徊をみた。両側深部腱反射亢進。

入院時臨床検査成績: RBC $509 \times 10^4/\text{mm}^3$, Hb 15.1g/dl, Ht 45%, Plt $35 \times 10^4/\text{mm}^3$, WBC $19,000/\text{mm}^3$ (Band 44%, Seg 37%, Mono. 1%, Lym. 18%)。T.P. 7.2g/dl (Alb 49%, α_1 -G 7%, α_2 -G 16%, β -G 15%, γ -G 13%, A/G 0.96), GOT 22K.U., GPT 28K.U. LDH 198mU/ml, Al-P 9.6 K.A.U., Ch-E $0.6\Delta\text{PH}$, γ -GTP 98mU/ml, T.B.

0.6mg/dl, BUN 16.8mg/dl, UA 3.5mg/dl, Cr 1.2mg/dl, Na 143mEq/l, K 4.0mEq/l, Cl 104 mEq/l. IgG 1801mg/dl, IgA 207mg/dl, IgM 56 mg/dl.

血沈(1°) 51mm, CRP 4(+), 尿: 蛋白(-), 糖(-), 沈渣: 白血球(-)。ツ反: $0 \times 0/10 \times 10$ 。

細菌学的検査: 喀痰培養: 正常菌叢。血液培養: 陰性。

胸部レ線写真: (Fig. 2-1)

入院後経過 (Fig. 1): 入院後2日間, Mycoplasma 症を疑い, Erythromycin (EM)の経口投与を行なったが下熱はせず, Cefotiam (CTM) $2\text{g} \times 2$ の点滴静注に変更したが, 発熱は夕方から夜にかけて持続した。9月29日より Minocycline (MINO) $100\text{mg} \times 2$ の点滴静注を併用し, 10月2日頃よりやや下熱傾向が認められた。この間, 胸部陰影は増悪し, 少量の胸水も出現した。(Fig. 2-2)。10月4日, Legionella 症を疑い, 尿中可溶性抗原を測定したところ, 陽性と判定された。5日より EM 500mg, 1日2回の点滴静注に変更した。この時点で, 喀痰の培養を行なったが, Legionella 菌は検出できなかった。胸水も減少傾向にあり, 採取できなかった。5日以後は下熱し, 白血球数・血沈・CRPとも正常化・陰性化を認め, 尿中抗原も8日には陰性化した。軽度みられた咳

Fig. 1 Clinical Course

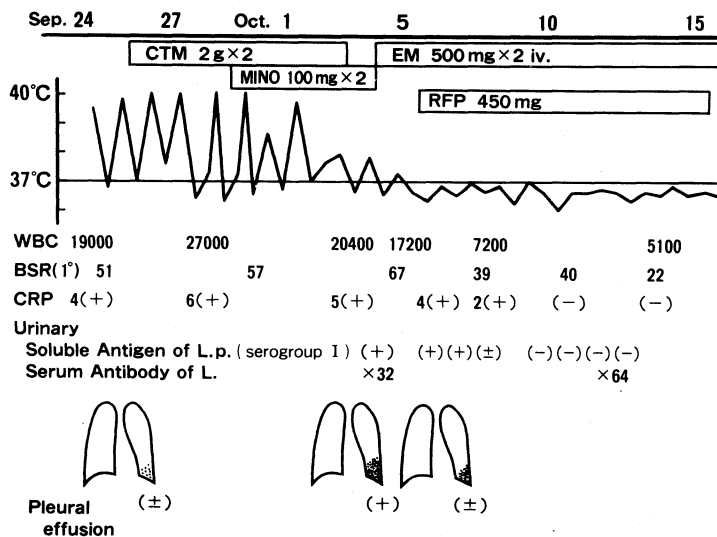


Fig. 2 Chest X-P

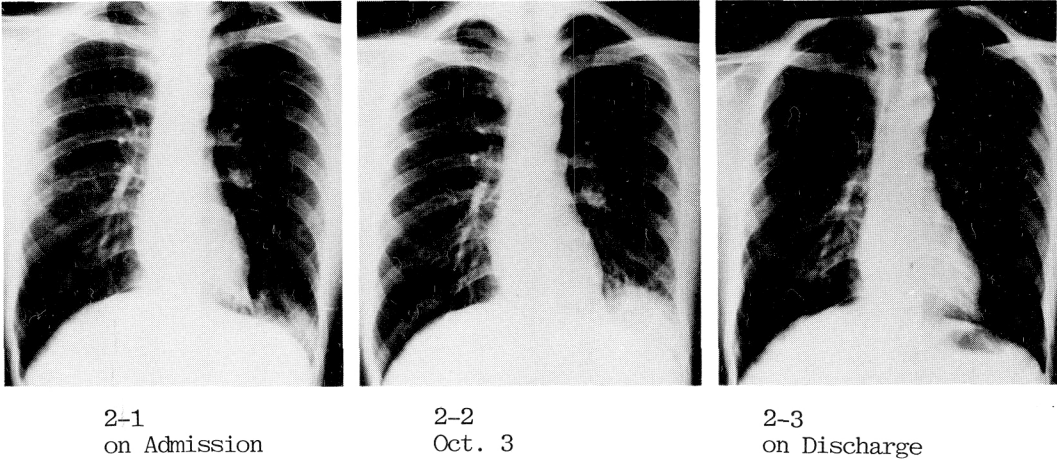
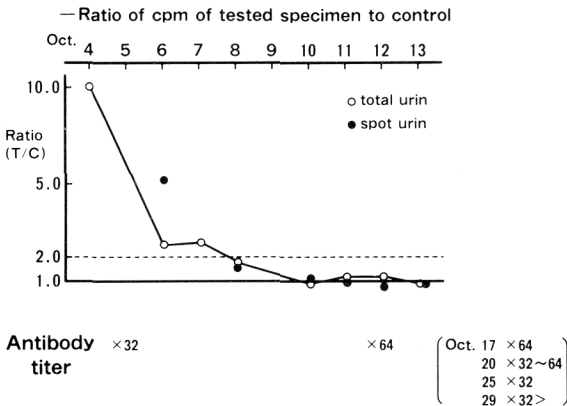


Fig. 3 Urinary Soluble Antigen of *Legionella pneumophila* (serogroup I) detected by Radioimmunoassay



嗽・喀痰も消失した。

Rifampicin (RFP) 450mg の投与を10月6日よりEM と併用したが、11日よりGOT, GPT が上昇し、15日にはGOT 47K.U., GPT 87K.U.と更に上昇したため、RFP の投与を中止した。中止後、GOT, GPT は正常化した。

EM の点滴静注を10月29日まで続け、退院した。退院時の胸部レ線写真とは Fig. 2-3 に示すごとく、明らかに改善した。

II. 尿中可溶性抗原, 血清抗体価の測定

1) 方法

尿中可溶性抗原は *Legionella pneumophila* の

serogroup 1の加熱死菌より Kohler³⁾らの方法に準じて作成したRIA 法により測定した⁴⁾。測定値は、対照群とのカウントの比で表わし、2倍以上の値を示したものを陽性とした。

血清抗体価は長崎大学第2内科に測定を依頼した。

2) 成績

尿中可溶性抗原の測定成績は Fig. 3 に示すごとくであった。10月4日の尿では10倍での値を示し、以後8日まで陽性を示した。5日の値では早朝尿 (spot urine) の方が一日尿より高値を示していた。

尿中可溶性抗原の陰性化は Fig. 1 にみられるごとく、白血球数・CRP・血沈の改善とほぼ平行していた。

血清抗体価は、発症後4週間目の10月12日と17日に64倍まで上昇したが、その後は低下を認め、29日以後は32倍以下となった。

III. 考 案

Legionella 症の診断は細菌学的に *Legionella* を分離するか、直接蛍光抗体法 (以下 DFA) により検体内の菌の存在を証明するか、あるいは血清学的に *Legionella* 抗体価を測定することにより行われている。これまでわが国で報告された *Legionella* 症例は血清学的診断によるか、剖検時に菌が証明されたものであり、上記の診断法では治療前に診断をつけることは困難であった。

したがって早期診断の目的から、*Legionella* の死菌から体液中に溶出された菌体成分（可溶性抗原）を尿中より検出する試みが検討されており、1979年に Tilton¹⁾はフォルマリン固定された死菌を用いた ELISA により、血清学的に本症と診断された患者の尿より可溶性抗原を検出したことを報告している。また同年、Berdal ら²⁾も血清学的に本症と診断された3名の患者のうち2名から、本症と推定された2名のうち1名から尿中可溶性抗原を検出したと報告している。

さらに1981年、Kohler ら³⁾は血清学的に本症と診断された9例の患者（うち5例は DFA により菌を検出）の尿中抗原を Radioimmunoassay により測定し、EM 投与との関係についても検討している。治療開始前から EM 投与後2日目までの尿では測定した9例の全検体で抗原陽性であったが、陰性化した時期は様々で、1例では EM 投与後3日目に陰性し、他の例では10日目の尿でも陽性であり、14日目の尿で陰性となったと報告している。

尿中可溶性抗原はその消長が検討されたのは Kohler らの報告以外なく、発症後尿中抗原が陽性となる時期は不明であるが、EM 投与前の尿でも陽性を示したこと³⁾、またわれわれの動物実験成績では⁴⁾、モルモット腹腔内に生菌を接種した場合、接種直後より陽性を示していたことより、発症早期より尿中抗原が陽性を示すものと思われる。一方、陰性化は本症例では MINO 投与開始後9日目にみられ、この陰性化の動きは白血球数・血沈の正常化、CRP の陰性化と比較的よく一致していた。

また本症例のごとく、本症を疑う前に *Legionella* に対する有効抗生剤が投与されることは臨床の場で起こりうることであるが、本試験が抗生剤投与開始後かなりの日数にわたり陽性を示したことは、臨床応用上、大きな利点であると思われる。

これらのことより、尿中可溶性抗原の測定は *Legionella* 症の早期診断法として臨床的にきわめて有用であると思われる。

今回用いた RIA は、*Legionella pneumophilla*

serogroup I の可溶性抗原を対象としたもので、第一報で報告したごとく、その特異性は高く、他の serogroup の *L. pneumophilla* に対しても cross reactivity はなかった。また、*Legionella* 以外の菌による肺炎患者の尿検体はすべて陰性であり³⁾⁶⁾、このことはわれわれの検討した症例においても同様の結果が得られた。

検出法として、本法は感度の点でもすぐれているので、その診断的価値は高く、本症例のごとく血清抗体価が64倍と異常値と正常値の境の値を示す症例において検出したことは診断的に有意義な点であることを強調したい。また、従来の本邦での報告例の多くは、opportunistic infection の例であるが、本症例は若年者の散発例であり、本法を用いることにより、今後、検出症例が増加することも期待できうる。

しかし、RIA は特殊な設備を要するため、さらに簡便かつ迅速で高感度の方法が臨床的には望まれるところである⁵⁾。

以上、*Legionella* の分離は不可能であったが、尿中可溶性抗原を検出することにより、早期に *Legionella* 症を診断し、適切な治療を行い、治癒せしめた症例を報告した。

また、*Legionella* の尿中可溶性抗原の検索は、本症の早期診断上、きわめて有用な検査方法である。

血清抗体価の測定をしていただいた長崎大学第2内科、斉藤厚助教授に深謝致します。

文 献

- 1) Tilton, R.C.: Legionnaires' disease antigen detected by enzyme-linked immunoassay. *Ann. Intern. Med.*, 90: 697-698, 1979.
- 2) Berdal, B.P., Farshy, C.E. & Feeley, J.C.: Detection of *Legionella pneumophila* antigen in urine by enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Clin. Microbiol.*, 9: 575-578, 1979.
- 3) Kohler, R.B., Zimmerman, S.E., Wilson, E., et al.: Rapid radioimmunoassay diagnosis of Legionnaires' disease. Detection and Partial characterization of urinary antigen. *Ann. Intern. med.*, 94: 601-605, 1981.
- 4) 地曳和子, 熊田徹平, 出村黎子, 清水喜八郎, 山森俊治ほか: RIA および EIA 法による *Legionella* 抗原測定のための基礎的検討. *感染症誌*, 57: 121-122, 1983.
- 5) Sathapatayavongs, B., Kohler, R.B., Wheat, L.

J., White, A. & Winn, W.C.: Rapid diagnosis of Legionnaires' disease by latex agglutination. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 127: 559—562, 1983.
6) Sathapatayavongs, B., Kohler, R.B., Wheat, L. J., White, A., Winn, W.C., Girod, J.C. & Edel-

stein, P.H.: Rapid diagnosis of Legionnaires' disease by urinary antigen detection-Comparison of ELISA and radioimmunoassay. *Am. J. Med.*, 72: 576—582, 1982.

Detection of Urinary Legionella Antigen by Radioimmunoassay
—2. Clinical Case—

Teppei KUMADA, Naoki TOMORI, Keizoh KAZONO, Reiko DEMURA, Emi ODAGIRI,
Satoshi OOI, Hiroshi DEMURA, Toshio TSUSHIMA, Kihachiro SHIMIZU
& Kazuo SHIZUME

Division of Internal Medicine, Tokyo Women's Medical College

Kazuko JIBIKI

Department of Radioassay, Tokyo Women's Medical College

In our previous report, we presented the results of basal studies of detection of urinary Legionella antigen by radioimmunoassay for the diagnosis of Legionnaires' disease.

We could have diagnosed one sporadic case of Legionnaires' disease of a young male by using this method clinically.

This method is very available for the clinical diagnosis of this disease, for the specimens of the early stage or after the administration of effective antibiotics could be detected positive by this method.

And because of its superior sensitivity, we may be able to diagnose some cases which serum Legionella antibody titer is in upper limit of normal range. This is another availability of this method.

We presented the first case of Legionnaires' disease in Japan diagnosed by detection of urinary Legionella antigen by RIA.
