

眼脂および胃液から polymerase chain reaction 法により 抗酸菌が検出された強膜炎の1例

種元 桂子¹⁾ 石川 宏志¹⁾ 気賀沢一輝¹⁾ 尾羽沢 大¹⁾
布施川久恵²⁾ 宮地 勇人²⁾ 安藤 泰彦²⁾

¹⁾東海大学医学部眼科学教室, ²⁾東海大学医学部臨床病理学教室

要 約

従来の検査法では、結核の陽性所見を認めなかった強膜炎患者の眼脂と胃液から polymerase chain reaction (PCR) 法により抗酸菌を検出し、早期から抗結核剤治療を開始することにより良好な治療成績が得られた症例を報告した。症例は77歳女性。右眼痛を主訴に来院し、右強膜炎、虹彩炎が認められた。肺結核症の既往があり、ツベルクリン反応は陰性、しかし、その他全身検査上結核の活動性所見は認めなかった。胃液、喀痰、眼脂を採取し、抗酸菌塗抹検査、抗酸菌培養検査、抗酸菌 PCR 法を行ったところ、塗抹検査、培養検査は陰性であったが、眼脂と胃液

から PCR 法により非定型抗酸菌が検出された。抗結核剤治療を早期に開始することにより症状は改善し、また、治療開始後には PCR 法により陰性を確認した。少量の菌数から検出可能である PCR 法は、今後、抗酸菌性強膜炎の早期診断や治療の指標として有用であると思われる。(日眼会誌 101: 97-101, 1997)

キーワード: Polymerase chain reaction (PCR), 結核, 強膜炎, 非定型抗酸菌

Detection of Mycobacterial DNA with Polymerase Chain Reaction in Eye Discharge and Gastric Juices in a Case of Scleritis

Keiko Tanemoto¹⁾, Hiroshi Ishikawa¹⁾, Kazuteru Kigasawa¹⁾,
Hajime Obazawa¹⁾, Hisae Fusegawa²⁾, Hayato Miyachi²⁾
and Yasuhiko Ando²⁾

¹⁾Department of Ophthalmology, Tokai University School of Medicine

²⁾Department of Clinical Pathology, Tokai University School of Medicine

Abstract

We report a case of mycobacterial scleritis in which prompt diagnosis was made by the detection of mycobacterial DNA with polymerase chain reaction (PCR) in eye discharge and gastric juices, when conventional tests were negative. A 77-year-old woman who had a past history of pulmonary tuberculosis visited the outpatient clinic of Tokai University Hospital complaining of pain in her right eye. She was diagnosed as having scleritis and uveitis. There were no indications of active tuberculosis. We examined the gastric juices, sputum, and eye discharge by microscopy, culture, and PCR for detection of mycobacterium. The results of microscopy

and culture were negative, but with PCR we detected atypical mycobacterium in eye discharge and gastric juices. After oral treatment with anti-tuberculosis agents, the patient's eye symptoms disappeared. Detecting mycobacterial DNA with PCR could be useful for early diagnosis of mycobacterial scleritis, so that treatment with anti-tuberculosis agents could be started. (J Jpn Ophthalmol Soc 101: 97-101, 1997)

Key words: Polymerase chain reaction (PCR), Tuberculosis, Scleritis, Atypical Mycobacterium

別刷請求先: 259-11 神奈川県伊勢原市望星台 東海大学医学部眼科学教室 種元 桂子
(平成8年5月2日受付, 平成8年7月25日改訂受理)

Reprint requests to: Keiko Tanemoto, M.D. Department of Ophthalmology, Tokai University School of Medicine.
Bohseidai, Isehara-shi, Kanagawa-ken 259-11, Japan

(Received May 2, 1996 and accepted in revised form July 25, 1996)

I 緒 言

強膜炎の原因として、慢性関節リウマチ、結核、梅毒などがよく知られているが、全身の活動性病変を認めない場合のそれらの診断は容易ではない。特に、結核などの抗酸菌感染症は菌の検出に時間がかかり、早期診断が難しい。

近年、遺伝子診断学の進歩により、特異的なDNAの断片を増幅する polymerase chain reaction (PCR) 法が各種感染症の診断法として臨床的に応用されつつある。眼科領域においても、少量の検体から迅速に診断可能である PCR 法は、ウイルス感染症の早期診断法として活用され始めている^{1)~12)}。今回、著者らは眼脂および胃液から、PCR 法により抗酸菌を検出し、抗結核剤治療により良好な治療効果が得られた症例を報告する。

II 症 例

症例：77歳、女性。

主 訴：右眼痛、頭痛。

初 診：1994年4月11日。

現病歴：1994年2月下旬から右眼痛を認め近医受診し、結膜下注射（詳細不明）と、点眼薬を処方されたが改善せず、4月11日東海大学病院眼科を受診。右眼に強膜炎、虹彩炎を認め、同日入院となった。

既往歴：43歳、肺結核症（内服治療を受け、完治）。70歳、気管支喘息（現在も内服治療中）。

家族歴：特記すべきことなし。

入院時全身所見：体温は37.6°C。胸部聴診上、湿性ラ音、乾性ラ音および心雑音などは聴取されず、また、一般血液検査においても異常所見は認めなかった。抗核抗体

は陽性（スペックルドパターン80倍）を示したが、抗DNA抗体、リウマトイド因子、抗連鎖球菌抗体は陰性を示した。梅毒血清反応はガラス板法、梅毒トレポネーマ血球凝集反応（TPHA）テストともに陰性。胸部X線写真では、両側胸膜肥厚像を認めた（図1）。一般診断用ツベルクリン反応（PPD 0.05 μ l/0.1 ml）は、陰性、確定診断用ツベルクリン反応（PPD 0.5 μ l/0.1 ml）では、弱陽性を示した。

入院時眼所見：視力は、右眼0.01（矯正不能）、左眼0.3（0.7 $\times$ +2.0 D）。右眼に球結膜の浮腫および充血と毛様充血、上強膜血管の拡張を認めた（図2）。前房内には炎症細胞、炎症による虹彩後癒着と高度の核白内障を認めた（図3）。左眼には中等度の白内障以外には異常所見を認めなかった。

入院後経過：抗菌剤（オフロキサシン）、副腎皮質ステロイド（0.1% ベタメタゾン+フラジオマイシン）、1% 硫酸アトロピンの点眼と非ステロイド系消炎鎮痛剤（ジクロフェナクナトリウム）内服の開始により、右眼痛はやや軽減し、前房内細胞も減少したが、強膜所見にはあまり変化を認めなかった。全身症状や検査結果からはリウマ

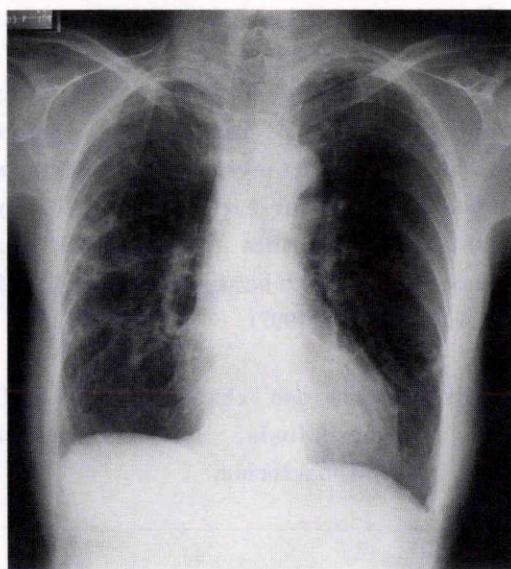


図1 入院時胸部X線写真。
両側胸膜肥厚像と、右中肺野から下肺野にかけての陳旧性肺結核病変を認める。

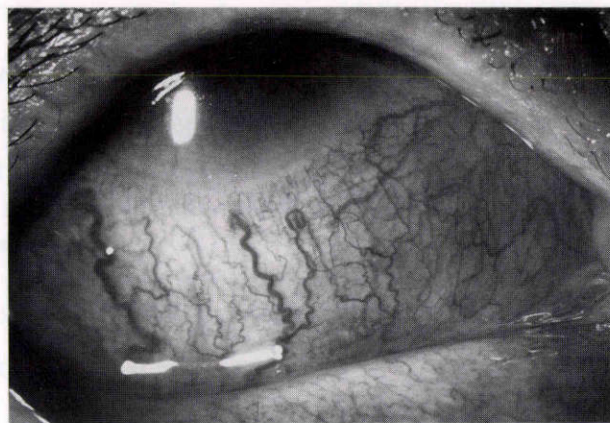


図2 入院時右前眼部写真。
結膜の浮腫および充血と、毛様充血、上強膜血管の拡張を認める。

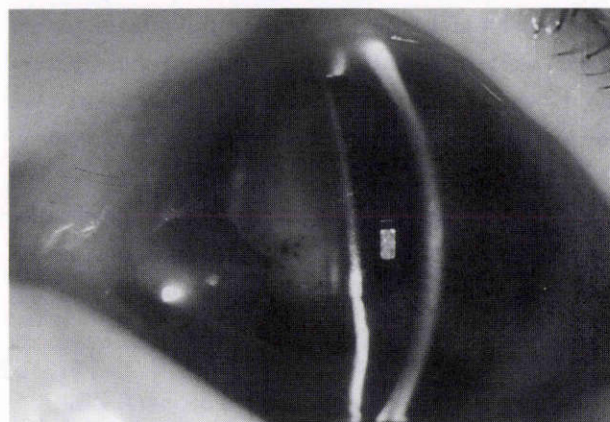


図3 入院時右スリット写真。
虹彩後癒着と白内障を認める。

PCR法による抗酸菌DNAの検出

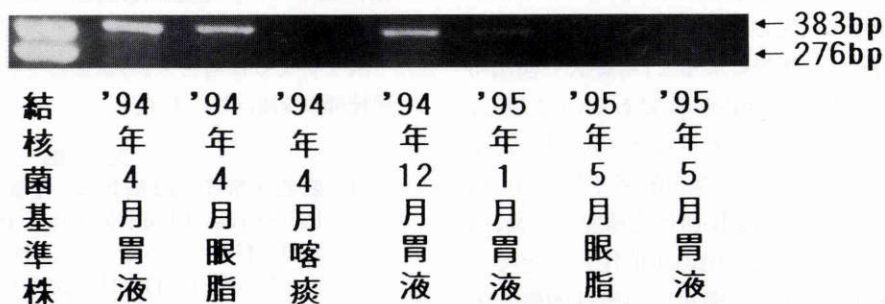


図4 Polymerase chain reaction(PCR)法による抗酸菌診断。

対照である結核菌基準株では、抗酸菌属に共通なDNAが383bpの位置に、結核菌群に特異的なDNAが276bpの位置に電気泳動される。初診時眼脂、胃液、1994年12月、1995年1月の胃液からは383bpの位置のみ電気泳動され、非定型抗酸菌と判定された。治療後の1995年5月の眼脂と胃液からはどちらも検出されなかった。

チや梅毒による強膜炎は考えにくく、結核の既往があることから結核菌潜伏の可能性を疑った。そこで、喀痰、胃液、および右眼脂を採取し、抗酸菌塗抹検査、抗酸菌培養検査、抗酸菌PCR法を行った。塗抹検査はすべて陰性であった。PCR法による診断は、既報の方法¹³⁾に従い検体から抽出したDNAを用い、抗酸菌属に共通な65kDa膜蛋白をコードするgro EL遺伝子の一部を増幅検出するプライマー(TB-1, TB-2)と、結核菌群特異的なIS 6110遺伝子の540bp~815bp間を増幅するプライマー(ISF-1, IFS-2)の2組のプライマーを用いてPCR法で同時に増幅、検出を行った。結果は、gro EL遺伝子は検出されたが、IS 6110遺伝子は検出されず、非定型抗酸菌と判定された(図4)。この結果から、非定型抗酸菌による強膜炎と診断し、4月20日からストレプトマイシン点眼を追加し、1日量としてイソニコチン酸ヒドラジッド0.3g、リファンピシン0.45gの抗結核剤療法を開始した。投薬開始後から症状は改善し、前房内細胞も減少、5月27日退院となった。退院時視力は、右眼0.01(矯正不能)と入院時と変化はなかった。抗酸菌培養検査の結果は陰性と判定された。外来通院中、1994年12月、1995年1月に採取した胃液からは、PCR法により非定型抗酸菌の検出を認めたが、1995年5月に採取した胃液、眼脂からは、抗菌剤は検出されず(図4)、抗結核剤治療を中止した。その後、抗酸菌と副腎皮質ステロイドの点眼のみで現在まで再発は認めていない(図5)。

III 考 按

1965年のTurnerら¹⁴⁾による*M. fortuitum*による角膜炎の報告以降、いろいろな非定型抗酸菌による眼感染症が報告されている。角膜炎の報告が最も多いが^{15)~17)}、それ以外にも強膜炎¹⁸⁾、強膜膿瘍¹⁹⁾、表層角膜移植後感染²⁰⁾、眼瞼形成術後感染²¹⁾、慢性涙囊炎²²⁾、全眼球炎²³⁾などが報告されている。これらの症例を検討すると、外傷や外科的侵襲後、長期ステロイド点眼後に発症しているこ



図5 1996年3月、右前眼部写真。
強膜炎、虹彩炎の所見は認められない。

とが多い。また、ツベルクリン反応が陰性の症例もある¹⁸⁾²⁴⁾²⁵⁾。原因菌の検索には顕微鏡検査や培養検査が行われているが、ツベルクリン反応陰性のためステロイド内服治療を開始し、症状悪化後に抗酸菌の検出を認めた報告²⁴⁾や、硝子体手術を行い、その硝子体液からの培養により確定診断を得、起因菌に対する治療を開始した報告²³⁾など、診断が困難で、原因菌検出に時間がかかった例が多い。今回の我々の症例も全身検査上は明らかな異常所見はなく、喀痰、胃液の抗酸菌塗抹検査や培養検査は陰性であったが、PCR法を用いることにより確定診断が可能となった。

PCR法は、DNAポリメラーゼ反応の特性を利用し、目的とするDNAを特異的に増幅する方法である。この方法は、短期間でごくわずかな生体試料からのDNA増幅が可能であることから、眼科領域においてもヘルペスウイルス^{1)~9)}、サイトメガロウイルス⁸⁾⁹⁾、アデノウイルス¹⁰⁾¹¹⁾、E-Bウイルス¹²⁾などのウイルス感染症の原因検索や確定診断に応用されはじめている。今回の方法としては、抗酸菌属に共通なgro EL遺伝子と結核菌群に特異的なIS 6110遺伝子をPCR法を用いて同時増幅を

行った。両方検出された場合は結核菌であり、gro EL 遺伝子のみ検出された場合は非定型抗酸菌、どちらも検出されない場合は陰性と判定される。この PCR 法の感度については、布施川ら²⁶⁾の報告によると、培養法で検出可能な抗酸菌の菌数は数百個/ml からであるのに対し、PCR 法では数個/ml から可能であったとされている。また、検出率についても結核菌、非定型抗酸菌ともに高い検出率を報告している。しかし、PCR 法は高感度のため、病原性を持たない非定型抗酸菌検出の可能性も否定できず、また、病原菌が複数であった場合の診断は困難である。本症例においても、長期間にわたる抗菌剤、副腎皮質ステロイド点眼の効果による症状改善の可能性や、他の原因菌の存在は否定できないが、抗結核剤投与後から症状が顕著に改善し、また、治療後には PCR 法により非定型抗酸菌が検出されなかったことから、非定型抗酸菌が原因菌であったと考えられる。結核の既往についても、非定型抗酸菌による肺感染症であった可能性が考えられ、肺病変に潜伏していた非定型抗酸菌が血行性に強膜に移動し、強膜炎を引き起こしたと考えられる。虹彩炎は強膜炎により引き起こされた反応性の炎症と思われ、反応性炎症を押さえるために副腎皮質ステロイド点眼は、抗結核剤治療開始後も続行した。眼脂および喀痰中の抗酸菌は PCR 法のみ陽性を示す結果となったが、その理由として、オフロキサシンには抗酸菌増殖抑制作用があるため、検体中の菌数が培養法では検出できないほどの少量であった可能性や、培養前処理に用いる水酸化ナトリウムに抵抗性のない抗酸菌であった可能性が考えられる。今回の症例では PCR 法での陰性化も確認でき、治療効果判定および抗結核剤中止の時期の目安にもなり、迅速診断のみならず適切な治療剤の使用が行えたと思われる。

Reynolds ら²⁷⁾は培養により診断できた 28 例の強膜炎、強角膜炎の調査の中で結核菌検出を 1 例、非定型抗酸菌 (*M. chelonae*) 検出を 1 例報告し、ステロイド治療の開始は原因菌検索の後に開始すべきと提言している。また、黒坂ら²⁸⁾は 106 例の強膜炎患者のうち、13.2% に結核およびその既往があり、ステロイド抵抗性強膜炎では結核菌感染の可能性を考慮する必要があると指摘している。摘出した病理組織からはじめて結核性強膜炎と診断された報告²⁹⁾もあり、排菌量の少ない症例での有効な検査法の重要性を考えさせられる。Kotake ら²⁵⁾が前房水からの PCR 法により結核性網脈絡膜炎を診断した報告があるが、今回の症例では眼脂という外来においても簡単に得られる検体からも抗酸菌 DNA の検出が可能であった。

AIDS などの免疫力の低下した症例での非定型抗酸菌感染による眼感染症の報告³⁰⁾もあり、今後、日和見感染症としての抗酸菌感染症の増加が考えられ、その迅速な診断および除外診断が重要となってくると考えられる。迅

速、高感度に、抗酸菌検出が可能である PCR 法は、今後結核菌および非定型抗酸菌感染症の確定診断法として有用であると思われる。

稿を終えるに当たり、写真撮影を担当して下さった穴戸司技師に深謝いたします。

文 献

- 1) 新名美奈子, 山田昌和, 佐賀正道, 真島行彦: Polymerase Chain Reaction (PCR 法) が早期診断、治療に有用であったヘルペス性角膜潰瘍の 1 例。あたらしい眼科 11: 395—397, 1994.
- 2) 西脇弘一, 根本 昭, 竹岡加陽, 宮西節子, 寺内博夫: Polymerase chain reaction 法により単純ヘルペス 1 型 DNA を検出した桐沢型ぶどう膜炎 3 症例。臨眼 47: 205—209, 1993.
- 3) 山本修士, 多田 玲, 張 國中, 下村嘉一, 湯浅武之助, 西田幸二, 他: ポリメラーゼ連鎖反応によりヘルペスウイルスの関与が疑われたぶどう膜炎。臨眼 47: 1049—1051, 1993.
- 4) 佐渡一成, 木村泰朗, 堀田喜裕, 藤木慶子, 金井 淳: Polymerase Chain Reaction 法による単純ヘルペス DNA の検出—前眼部病変における検討—。あたらしい眼科 10: 1593—1599, 1993.
- 5) 下村嘉一, 山本修士, 姚 玉峰, 井上幸次, 大島禎二: ヘルペスウイルスの角膜内潜伏感染における Polymerase Chain Reaction 法の有用性。あたらしい眼科 10: 1869—1871, 1993.
- 6) 佐藤健一, 吉田晃敏, 大田勲男, 福井康夫: Polymerase Chain Reaction 法で水痘・帯状疱疹ウイルスを検出し得た桐沢型ぶどう膜炎の 1 例。眼紀 43: 1135—1138, 1992.
- 7) 箕田 宏, 薄井紀夫, 後藤 浩, 坂井潤一, 臼井正彦: 桐沢・浦山型ぶどう膜炎の病院診断における PCR 法の有用性。眼紀 43: 1323—1328, 1992.
- 8) 原 吉幸, 山本修士, 岡本茂樹, 李 三榮, 佐々木由紀, 中川やよい, 他: PCR 法を用いたぶどう膜炎の診断。あたらしい眼科 7: 1819—1822, 1990.
- 9) 山本修士, 下村嘉一, 原 吉幸, 大橋裕一, 木下 茂, 岡本茂樹, 他: PCR 法によるウイルス感染症へのアプローチ。眼紀 42: 816—812, 1991.
- 10) 加藤哲男, 岡本茂樹, 前田章子, 峯川好一, 大橋裕一: アデノウイルス性結膜炎における Polymerase Chain Reaction (PCR) 法の応用。あたらしい眼科 10: 91—95, 1993.
- 11) 齋藤和香, 伊藤典彦, 磯部和美, 大野重昭, 大嶋 彰, 永本洋子: PCR-RFLP 法によるアデノウイルス結膜炎の迅速診断。日眼会誌 100: 163—168, 1996.
- 12) Pflugfelder SC, Crouse C, Pereira I, Atherton S: Amplification of Epstein-Barr virus genomic sequences in blood cells, lacrimal glands, and tears from primary Sjögren's syndrome patients. Ophthalmology 97: 976—984, 1990.
- 13) 布施川久恵, 宮地勇人, 大島利夫, 有森 茂, 安藤泰彦: 血液疾患における PCR 法を用いた結核の迅速診断。臨床血液 33: 418—422, 1992.
- 14) Turner L, Stinson I: Mycobacterium fortuitum as a cause of corneal ulcer. Am J Ophthalmol 60: 329—331, 1965.

- 15) Dugel PU, Holland GN, Brown HH, Pettit TH, Hofbauer JD, Simons KB, et al: Mycobacterium fortuitum keratitis. Am J Ophthalmol 105: 661—669, 1988.
- 16) Bullington RH Jr, Lanier JD, Font RL: Non tuberculous Mycobacterial keratitis. Arch Ophthalmol 110: 519—524, 1992.
- 17) Moore MB, Newton C, Kaufman HE: Chronic keratitis caused by Mycobacterium gordonae. Am J Ophthalmol 102: 516—521, 1986.
- 18) Schönherr U, Naumann GOH, Lang GK, Bialasiewicz AA: Sclerokeratitis caused by Mycobacterium marinum. Am J Ophthalmol 108: 607—608, 1989.
- 19) Pope J Jr, Sternberg P Jr, McLane NJ, Potts DW, Stulting RD: Mycobacterium chelonae scleral abscess after removal of a scleral buckle. Am J Ophthalmol 107: 557—558, 1989.
- 20) Hu F-R: Infectious crystalline keratopathy caused by Mycobacterium fortuitum and Pseudomonas aeruginosa. Am J Ophthalmol 109: 738—739, 1990.
- 21) Moorthy RS, Rao NA: Atypical mycobacterial wound infection after blepharoplasty. Br J Ophthalmol 79: 93, 1995.
- 22) Artenstein AW, Eiseman AS, Campbell GC: Chronic dacryocystitis caused by Mycobacterium fortuitum. Ophthalmology 100: 666—668, 1993.
- 23) Roussel TJ, Stern WH, Goodman DF, Whitcher JP: Postoperative Mycobacterial endophthalmitis. Am J Ophthalmol 107: 403—406, 1989.
- 24) Nanda H, Pflugfelder SC, Holland S: Mycobacterium tuberculosis scleritis. Am J Ophthalmol 108: 736—737, 1989.
- 25) Kotake S, Kimura K, Yoshikawa K, Sasamoto Y, Matsuda A, Nishikawa T, et al: Polymerase chain reaction for the detection of Mycobacterium tuberculosis in ocular tuberculosis. Am J Ophthalmol 117: 805—806, 1994.
- 26) 布施川久恵, 宮地勇人, 大島利夫, 増川敦子, 佐藤智明, 安藤泰彦: PCR法を用いたIS6110遺伝子とgro EL遺伝子の同時増幅による抗酸菌の検出. 臨床病理 43: 1051—1056, 1995.
- 27) Reynolds MG, Alfonso E: Treatment of infectious scleritis and keratoscleritis. Am J Ophthalmol 112: 543—547, 1991.
- 28) 黒坂裕代, 村木康秀, 鈴木参郎助: 慶應義塾大学における強膜炎106例の検討. 眼紀 45: 797—803, 1994.
- 29) 川村真理, 気賀澤一輝, 小沢博子, 佐賀歌子, 宗司西美: 結節性壊死性強膜炎の経過をたどった内因性結核菌感染症の1例. 眼紀 39: 954—961, 1988.
- 30) Saran BR, Maguire AM, Nichols C, Frank I, Hertle RW, Brucker AJ, et al: Hypopyon uveitis in patients with acquired immunodeficiency syndrome treated for systemic Mycobacterium avium complex infection with rifabutin. Arch Ophthalmol 112: 1159—1165, 1994.