

単クローン性抗体によるクラミジア・トラコーマティス結膜炎

由来新鮮分離株の血清型同定 (図1, 表6)

青 木 功 喜 (青木眼科 札幌市)  
池 田 裕 (池田眼科 旭川市)

Serovar Determination of Chlamydia Trachomatis  
by with Monoclonal Antibodies

Koki Aoki

Aoki Eye Clinic, Sapporo

Yutaka Ikeda

Ikeda Eye Clinic, Asahigawa

要 約

クラミジア・トラコーマティスの血清型を検索するために、抗クラミジア L<sub>2</sub>型単クローン性抗体を作り、その15種類の標準株に対する、微量間接蛍光抗体法の反応パターンをセットとして作り、そのパターンの比較により、札幌地方のクラミジア感染患者から分離された株の、血清型を同定した。結膜炎由来の15株においては、D型7株、F型3株、D/E、D/F、E、G型が各1株ずつあった。エリスロマイシンが有効でなかった症例から分離された株では、species-specificの単クローン性抗体(2F3)に対して、高い反応価を示したにも拘らず、血清型の同定が出来なかった。尿道炎由来の11株においては、D型が5株、D/E型とE型が各々2株、G型とH型がそれぞれ1株ずつ同定された。以上札幌地方におけるクラミジア・トラコーマティスの current strain の血清型は、D型を主体としていることが判った。(日眼 91:1015-1022, 1987)

キーワード：クラミジア・トラコーマティス, 単クローン性抗体, 血清型, 封入体性結膜炎, 急性尿道炎

Abstract

In order to study the serovar of chlamydia trachomatis, we made monoclonal antibodies against chlamydia trachomatis L<sub>2</sub>/434/Bubo strain. Twenty monoclonal antibodies were classified into 6 groups: genus-specific (3D11, 2B8, 3E6 and 3B4) subgenus-specific (4E11) species-specific (2F3), subspecies-specific (4D8, 5F9, 1F10, 3D3, 3G5, 4D5, 4C2, 2G5, 4D4, 3C5 and 4G8) biovar specific (5C11 and 3C3) and strain specific (1C3). The serological classification of 15 isolates from the patients with inclusion conjunctivitis and 11 isolates from the patients with acute urethritis in Sapporo, Japan were differentiated into eight serovars by the immunofluorescence antibody test using the above mono-

	D	E	F	G	H	D/E	D/F	*	Total
Inclusion conjunctivitis	7	1	3	1	0	1	1	1	15
Acute urethritis	5	2	0	1	1	2	0	0	11
Total	12	3	3	2	1	3	1	1	26

\* =not identified

別刷請求先：〒003 札幌市白石区本通り6丁目北2の1 青木 功喜

Reprint requests to: Koki Aoki M.D.

Shiroiski ku Hondori 6 Kita 2-1 Sapporo 003 Japan

(昭和62年5月18日受付) (Accepted May 18, 1987)

clonal antibody set. The results were summarized as table. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 91 : 1015—1022, 1987)

**Key words:** Chlamydia trachomatis, Monoclonal antibody, Serovar, Inclusion conjunctivitis, Acute urethritis

## 緒 言

T'ang が1957年、分離培養における孵化鶏卵卵黄囊の利用、ストレプトマイシンによる雑菌発育阻止という2つのアイディアと、同定に人眼複元実験を行なうことが出来たことにより、トラコーマ病原体の分離培養が成功した<sup>1)</sup>。

その後トラコーマの病原体の基礎的研究は全盛期を迎え、従来ウイルスとして信じられていた、この細胞内偏性寄生性の微生物は、TRIC群、Bedsoniaなどを経て現在のChlamydia trachomatis (C.t.)と呼ばれるに至った。

この病原体はグラム陰性菌と共通な性状を有しているために、クラミジア菌という考え方をする人さえいる。しかし細菌の細胞壁に共通なムラミン酸をこの病原体は有していないことから、細菌と同じ様に取扱うには、依然多くの問題を残している。さらにこの病原体による病態が、病原体自身の細胞毒性によってのみ起るのか、self-limitedな経過を取る原因になるのか、さらにトラコーマの遷延化が如何なる機序によるのかなどが課題として残されている。

結膜という宿主を、主に抗生物質の局所投与によって迫われたクラミジアは、尿道や子宮頸部に移り住み、細々と継代を続けていたと推測される。これが最近の性風俗の自由化によって、尿道炎、子宮頸管炎のみならず、新生児に垂直感染をして、肺炎を併発せしめて注目された<sup>2)</sup>。一方性行為を通して尿道、子宮頸部のみならず成人の結膜炎、咽頭炎、中耳炎など多様な臨床像を示すことから、眼科以外の領域で注目をあびている。

一方眼科領域ではLindnerのパラトラコーマの概念によって、生殖器性トラコーマの存在は古くから理解されていた。しかしLindnerは同一病原体によって、悪性の傾向を示すトラコーマと、良性の封入体性結膜炎という理解にとどまっていた<sup>3)</sup>。すなわちこの感染症の病因に関する一元論と二元論は、その発病の仕方、経過の違い、疫学分布などを通して根強く討論された。この議論の一つの結論はWangの始めて行

なったMicroimmunofluorescence test (MIFT)による血清型の発見によって得られた<sup>4)</sup>。

トラコーマはA, B, Ba, C型に多く、封入体性結膜炎はDからK型という考え方である。しかしその後Taylor等が、2つの病像の違いは血清型の違いよりも、再感染の頻度による事を、サルスの結膜にE型のクラミジア株を繰り返して接種すれば、トラコーマと同じ病像を起す実験結果より主張した<sup>5)</sup>。T'angがトラコーマ患者から分離し、組織培養に馴化されたクラミジア株は、その後の長い継代によって、人間の結膜に対する病原性を失ってしまったという事実もあり、さらに最近トラコーマ患者から新鮮分離株の分離が、極めて難しくなっている現状から、これらの問題に結論を出すことは容易ではない。

我が国のトラコーマ研究は、患者が激減するにつれ、昭和40年代より殆ど行なわれておらず、大きな空白がある。我々は昭和57年頃より、クラミジアの組織培養を始め、クラミジア眼感染の重要性について報告してきた<sup>6)~9)</sup>。

Wangによってめざましい発展をとげたクラミジア株の血清型は、病原性との関係についてはまだ不明な点も多い。特に、我が国ではクラミジアの感染症の臨床において、血清型の判定がなされていなかったために、本病の疫学的背景は殆ど不明のままになっている。これは主にMIFTによる血清型分類の困難さに原因している。この方法では分離株で免疫したマウスの抗血清を用い、分離株と15種類のクラミジアの血清型標準株との交差反応を検討しなければいけない。しかしこの抗血清はしばしば15種類すべての標準株に、多少とも交差するために、正確な型別が困難である。

これに代るものとして、15種類の既知のクラミジアの血清型を鑑別出来る単クローン性抗体を応用する方法がある。今回、札幌市の近接する眼科診療所と泌尿科診療所において、C.t.の新鮮分離株を得て、単クローン性抗体を用いての血清型の同定を、本研究の目的とした。



## 対象及び方法

### 1) クラミジア株の分離培養と継代

最近2年間において札幌市の眼科診療所を受診した、封入体性結膜炎患者39名より HeLa 細胞, McCoy 細胞, Vero E6細胞に結膜擦過物を接種し, 37°Cで48 hr 培養を行なった。HeLa 細胞と McCoy 細胞で分離培養出来た当初の12株は-80°Cに保存した後, 今回の実験に用いた。

最近6カ月間においては, 眼科診療所に近接した2つの泌尿科診療所で, 急性尿道炎と診断した36名の尿道擦過物と, 眼科における24名の結膜擦過物は共に Vero E6細胞で培養した。なお分離培養は原則として採取した当日に接種を行なった。すなわち今回は, 従来の分離培養の方法以外<sup>10)11)</sup>に, Vero E6細胞を継代に用いた。

### 2) 単クローン性抗体の作製法

免疫には6週齢の Balb/c マウスを用い, 免疫原としてはクラミジア L<sub>2</sub>株を用い, 30日間隔で2回免疫後, 4日目に脾臓を摘出した<sup>12)13)</sup>。骨髄腫細胞 SP<sub>2</sub>/O-Ag 14を用いて常法に従って細胞融合を行い, 選択培養開始後10日ないし12日目に融合細胞のコロニーを観察されたので, 軟寒天法を用いて細胞のクローニン

グを行った<sup>13)14)</sup>。単クローン性抗体産生細胞の培養上清を濃縮し, クローン細胞をマウスの腹腔内に接種して腹水を回収した<sup>15)</sup>。

### 3) 新鮮分離株の血清型分類

2)の方法で作製した20種類の単クローン性抗体を使い, 15種類の C.t. 標準株のそれぞれに対して, MIFT で特異的反応パターンを示す単クローン性抗体セットを作製し, 1)により継代できた新鮮分離株の, 上記単クローン性抗体との間の MIFT による反応パターンを比較して, C.t. の血清型を同定した。

## 結果

### 1) クラミジア株の分離同定と継代成績

#### a. 結膜炎由来株 (表1, 2)

39名のうち分離陽性であったのは23名(60%)であり, そのうち成人型30名中17名(56.7%), 新生児型9名中6名(66.7%)である。これらのうち継代出来たのは成人型12株, 新生児型4株であった。

同一患者から採取されてから細胞に接種されるまでの, 保存状態の違う材料 (No 1 と No 2) が取られたので, 分離の状態を比較した。すなわち No 1 は採取後水中で数時間保存して, 直ちに Vero E6 細胞に接種され, また材料 No 2 は-30°Cで一晩凍結保存したのち,

表1 結膜炎由来株の分離継代成績

No.	患者名	性	年齢	分離	継代	No.	患者名	性	年齢	分離	継代
1	R. N.	女	14日	○	×	21	A. K.	女	68	×	×
2	K. M.	女	45	○	○	22	T. S.	女	66	×	×
3	Y. K.	男	34	○	×	23	O. M.	男	26	○	○
4	S. H.	男	11日	○	○	24	K. S.	女	26	×	×
5	N. N.	男	13日	○	○	25	N. K.	女	24	×	×
6	T. I.	男	34	○	○	26	A. K.	女	47	×	×
7	M. H.	男	20	○	○	27	M. T.	男	35	×	×
8	J. I.	男	10日	○	×	28	J. K.	女	92日	×	×
9	H. Y.	男	18	○	×	29	S. W.	男	19日	○	○
10	S. T.	女	59	○	○	30	M. W.	女	28	×	×
11	N. M.	男	21	○	○	31	H. K.	男	24	×	×
12	K. M.	男	30	○	×	32	Y. K.	男	27	×	×
13	T. T.	男	17	○	○	33	H. G.	女	75	×	×
14	N. M.	女	17	○	○	34	K. I.	女	43	×	×
15	S. B.	女	58	○	×	35	K. S.	男	31	○	○
16	K. H.	女	49	○	○	36	S. U.	男	21	○	○
17	T. M.	男	20	×	×	37	N. S.	女	25日	×	×
18	M. K.	男	24日	○	○	38	S. U.	女	56日	×	×
19	M. S.	女	27	×	×	39	T. U.	男	37	○	×
20	K. S.	男	20	○	○						

○=陽性 ×=陰性

表2 結膜炎由来株の継代状況

No.	患者名	性	年齢		封入体形成迄の継代回数	50% $\geq$ 封入体形成迄の継代回数
1	R. N.	女	14日	*	5 (-)	継代中止
2	K. M.	女	45	*	3	6
3	Y. K.	男	34	*	5 (-)	継代中止
4	S. H.	男	11日	*	4	8
5	N. N.	男	13日	*	8	10
6	T. I.	男	34	*	1	4
7	M. H.	男	20		2	5
8	J. I.	男	10日	*	汚染	継代中止
9	H. Y.	男	18	*	2	消失
10	S. T.	女	59	*	4	7
11	N. M.	男	21	*	4	8
12	K. M.	男	30	*	5 (-)	継代中止
13	T. T.	男	17	*	1	3
14	N. M.	女	17		1	4
15	S. B.	女	58		2	消失
16	K. H.	男	49		3	6
17	M. K.	男	24日		2	6
18	K. S.	男	20		2	7
19	O. M.	男	26		4	8
20	S. W.	男	19日		2	6
21	K. S.	男	31		4	8
22	S. U.	男	21		1	未定

\* = 初代で封入体をみたので-80°Cに保存し継代した株

細胞に接種された。採取後迅速に細胞に接種された材料は、初代の培養で約200個の細胞中、平均4個の封入体形細胞が観察され、形成率は2%であった。さらにその形成率は2代目で3.8%、3代目で12.9%、4代目では46.0%となった。一方-30°Cで凍結保存された材料では、初代の封入体形成率は0.6%であって、2代目1.8%、3代目6.5%、4代目16.8%封入体形成率の増加の遅れが認められた。

50%以上の細胞で封入体が形成される迄の継代と、封入体形成迄の継代回数の関係は表2の如くであった。なお-80°Cに保存した12株のうち7株はリカバーされ、5株は5代にわたって継代されたがリカバーされなかった。しかし8代にわたって継代されたのちに始めて封入体が得られ、50%以上に封入体になる迄には10代の継代が必要であった1株があった。

b. 尿道炎由来株 (表3, 4)

37名のうち分離陽性であったのは15名(40.5%)で、そのうち継代できたのは12株(80%)であった。今回の尿道炎材料はVero E6細胞を用いて行い、保存せず継続的に継代を進めたため、結膜炎由来の株より継代できた株が多く、15株中11株にリカバーがみられた。その封入体形成される迄と、50%以上の封入体形成までの継代数の比較は表4の如くであった。

2) 各種クラミジア株の抗L<sub>2</sub>単クローン性抗体に対

表3 尿道炎由来株の分離継代成績

No.	患者名	性	年齢	分離	継代	No.	患者名	性	年齢	分離	継代
1	H. N.	男	40	×	×	21	M. S.	男	30	○	○
2	H. N.	男	62	×	×	22	T. O.	男	46	×	×
3	T. S.	男	34	○	×	23	M. W.	男	22	×	×
4	R. N.	男	61	○	○	24	K. M.	男	26	○	○
5	T. N.	男	34	×	×	25	K. M.	男	45	○	○
6	A. Y.	男	33	○	○	26	H. M.	女	45	○	○
7	M. Y.	男	21	○	○	27	A. H.	男	42	×	×
8	T. M.	男	42	×	×	28	M. C.	女	36	×	×
9	N. M.	男	29	×	×	29	M. H.	男	35	×	×
10	T. T.	男	20	○	○	30	J. T.	男	38	×	×
11	T. Y.	男	37	○	×	31	H. T.	男	32	○	×
12	K. I.	男	21	○	○	32	H. S.	男	46	×	×
13	J. M.	男	33	×	×	33	H. S.	男	48	×	×
14	K. A.	男	17	×	×	34	H. A.	男	19	×	×
15	K. N.	男	32	×	×	35	K. T.	男	36	×	×
16	N. H.	男	24	○	○	36	H. M.	男	33	×	×
17	K. O.	男	26	×	×	37	S. T.	男	28	○	○
18	M. H.	男	37	×	×						
19	S. K.	男	35	×	×						
20	O. E.	男	22	○	○						



表4 尿道炎由来株の継代状況

No.	患者名	性	年齢	封入体形成迄の継代回数	50% $\geq$ 封入体形成迄の継代回数
1	T. S.	男	34	1	消失
2	R. N.	男	61	2	8
3	A. Y.	男	33	3	8
4	M. Y.	男	21	3	9
5	T. T.	男	20	2	消失
6	T. Y.	男	37	2	消失
7	K. I.	男	21	3	9
8	N. H.	男	24	2	7
9	O. E.	男	22	4	8
10	M. S.	男	30	1	7
11	K. M.	男	26	1	6
12	K. M.	男	45	1	6
13	H. M.	女	45	3	9
14	H. T.	男	32	2	消失
15	S. T.	男	28	1	7

る1クローン(4E11)である。第3群はC.t.のすべての株に反応する一方、C.p.には全く反応しないC.t.種特異的な1クローン(2F3)である。第4群はC.t.の標準15株の中で色々な反応パターンを示す11クローン(4D8, 5F9, 1F10, 3D3, 3G5, 4C2, 2G5, 4D4, 3C5, 4G8, 4C5)を1つにまとめたものである。また、第5群はC.t.のLGV生物型の3種には反応するが、トラコーマ生物型には反応しない生物型特異的な2クローン(5C11, 3C3)を、さらに第6群はホモのL<sub>2</sub>株のみ反応する株特異的な1クローン(1C3)からなる。

次にこのクラミジア株の特異性を認識する単クローン性抗体の組み合わせでC.t.の15種類の標準株の同定を試みた。C.t.にのみ反応した11種類の単クローン性抗体を横にとり、C.t.の標準株を縦に配置して、血清型との対応を検討したのが図1である。抗体価20倍未満を(-)、20倍以上100倍未満を(±)、100倍以上1000倍未満を(+), 1,000倍以上を(++)とし、それぞれの反応パターンを示した。ここでもLGV生物型に属する3株は互いに類似した反応特性を示しているが、なかでもL<sub>1</sub>株に対する抗体価はホモのL<sub>2</sub>の場合とほぼ等しく、両者を鑑別できるのはL<sub>2</sub>株に株特異的な1C3クローンのみであった。

3) 抗L<sub>2</sub>単クローン性抗体による新鮮分離株の血清型分類

a. 結膜炎由来株(表5)

する反応(図1)

20種類の抗L<sub>2</sub>単クローン性抗体が得られたので、MIFTを用いC.t.の標準の15株並びに、オウム病クラミジア(C.p.)の代表的な10株に対する反応性をもとに、大きく6群に分類された。第1群はクラミジアのすべての株に反応するクラミジア属特異的な4クローン(3D11, 2B8, 3E6, 3B4)からなる。また、第2群はC.t.の15種類の血清型の株とC.p.の3株に反応す

	1群	2群	3群	4群	5群	6群
	3D11 2B8 3E6 3B4	4E11	2F3	4D8 5F9 1F10 3D3 3G5 4C5 4C2 2G5 4D4 3C5 4G8	5C11 3C3	1C3
<i>C. trachomatis</i>						
L <sub>2</sub>	+++	+++	+++	+++	+++	+++
L <sub>1</sub>	+++	+++	+++	+++	+++	+++
L <sub>3</sub>	+++	+++	+++	+++	+++	+++
J	+++	+++	+++	+++	+++	+++
G	+++	+++	+++	+++	+++	+++
F	+++	+++	+++	+++	+++	+++
E	+++	+++	+++	+++	+++	+++
I	+++	+++	+++	+++	+++	+++
D	+++	+++	+++	+++	+++	+++
H	+++	+++	+++	+++	+++	+++
K	+++	+++	+++	+++	+++	+++
A	+++	+++	+++	+++	+++	+++
B	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Ba	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>C. psittaci</i>						
P-1041	+++	+++	-	-	-	-
P-1313	+++	+++	-	-	-	-
SPV-789	+++	+++	-	-	-	-
Izawa	+++	+++	-	-	-	-
Bud-1	+++	+++	-	-	-	-
Yokohama	+++	+++	-	-	-	-
GCP-1	+++	+++	-	-	-	-
6BC	+++	+++	-	-	-	-
Ito	+++	+++	-	-	-	-
Cal-10	+++	+++	-	-	-	-

図1 抗L<sub>2</sub>単クローン性抗体に対する各種クラミジア株の反応

表5 結膜炎由来株の血清型同定

No.	患者名	性	年齢	2F3	4D8	1F10	4G8	4C5	3C5	5F9	3G5	3D3	3C3	1C3	血清型
1	K. M.	女	45	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	NT	F
2	S. H.	男	11日	+	±	+	-	±	-	-	-	-	-	NT	D/F
3	N. N.	男	13日	+	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	同定不能
4	T. I.	男	34	+	+	+	+	±	-	-	-	-	-	NT	D
5	M. H.	男	20	+	±	+	+	-	-	-	-	-	-	NT	D
6	S. T.	女	59	+	+	-	±	±	+	-	+	-	-	NT	F
7	N. M.	男	21	+	±	±	+	-	-	-	-	-	-	NT	D
8	T. T.	男	17	+	±	+	+	-	-	-	-	-	-	NT	D
9	N. M.	女	17	+	±	+	±	-	-	-	-	-	-	NT	D
10	K. M.	男	49	+	±	+	-	+	-	±	-	-	-	NT	D/E
11	M. K.	男	24日	+	±	+	+	-	-	-	-	-	-	NT	D
12	K. S.	男	20	+	+	-	+	+	+	+	±	-	-	NT	F
13	O. M.	男	26	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	NT	E
14	S. W.	男	19日	+	±	±	+	-	-	-	-	-	-	NT	D
15	K. S.	男	31	+	±	+	-	-	+	±	-	±	-	NT	G

表6 尿道炎由来株の血清型同定

No.	患者名	性	年齢	2F3	4D8	1F10	4G8	4C5	3C5	5F9	3G5	3D3	3C3	1C3	血清型
1	R. N.	男	21	+	±	+	-	-	±	+	-	+	-	NT	G
2	A. Y.	男	33	+	±	-	-	+	-	+	-	-	-	NT	E
3	M. Y.	男	21	+	±	+	+	-	-	-	-	-	-	NT	D
4	K. I.	男	21	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	NT	D
5	N. H.	男	24	+	±	-	-	±	-	-	-	+	-	NT	H
6	O. E.	男	22	+	+	+	±	±	-	-	-	-	-	NT	D/E
7	K. M.	男	26	+	+	±	±	-	-	-	-	-	-	NT	D
8	K. M.	男	45	+	+	±	+	-	-	-	-	-	-	NT	D
9	S. T.	男	28	+	±	+	±	+	-	-	-	-	-	NT	D/E
10	M. S.	男女	30	+	±	±	-	+	-	+	-	-	-	NT	E
11	H. M.	女	45	+	±	±	+	-	-	-	-	-	-	NT	D

15の株で同定を行うことが出来、D型は7株、F型は3株、D/E型、E型、D/F型、G型が各々1株であり、1株は同定できなかった。すなわち同定不能株は種特異的な2F3クローンと高い抗体価を示して反応し、C.t.に属すると判定された。しかし本株は4C5クローンに対してごく弱く反応したのみで、他のクローンとは全く反応せず、血清型を同定できなかった。なお、この症例は偽膜性結膜炎を呈した新生児で、エリスロマイシンによる臨床像の改善が認められなかった。

#### b. 尿道由来株(表6)

11の株で同定を行うことが出来、D型が5株、D/E型とE型が2株づつ、G型が1株同定できた。結膜炎では見出すことのできなかったH型が1株同定することが出来た。

新鮮分離株の特徴はいずれも細胞質内封入体の形成

率が充分高いにもかかわらず、標準株と比べて単クローン性抗体に対する反応の程度がやや微弱であった。

## 考 按

クラミジアは封入体の形態の差異、封入体中のグロコゲンの有無やスルファジン感受性などから現在C.p.とC.t.の2種類に分類されている。C.t.による眼感染としてのトラコーマと封入体性結膜炎以外の疾患としては、sexually transmitted diseaseとしての尿道炎、子宮頸管炎を中心にして、咽頭炎や中耳炎などがあげられ、さらに垂直感染としての乳児肺炎が取り上げられている。

これらのオウム病とトラコーマの区別、さらにはC.t.による各種の臨床像などの間の違いを説明するため



に、この病原体の病原性と血清型の違いがあげられる。

我々は、単クローン性抗体セットによる血清同定を行い、WangのMIFTによる結果<sup>16)</sup>と比較した。Wangは951名のC.t.の分離部位別の血清型の分布頻度を行い、封入体性結膜炎患者では82株のうちE/Dが30株、E型17株、F型が11株、D型とI型各々6株の順であったと述べている。我々の14株の検討では7株がD型であり、次いでF型の3株、E型、D/E型、D/F型、G型、同定不能が各々1株あり、D型が多いのが特徴であった。なおWangがE/Dとした型が30株あり、D型或はE型頻度については、地域差もあり一概に結論できない<sup>16)</sup>。

尿道炎由来の株でもD型が10株中5株と多くみられたが、Wangの報告では634株のうちF型が111株と最も多く、次いでE/D型108株、E型96株、D型91株の順であり、封入体性結膜炎の血清型分布と同じ傾向を示している。

しかし封入体性結膜炎の病因の血清型における、新生児型と成人型別の頻度には差が認められなかったが、Wangの報告では記載がない。一般には同一人から分離される株の血清型は分離部位が異なっている、同じ型のものであるといわれている。

以下今回の結果から今後のクラミジア株の血清型の問題点について考按したい。

① 今回のL<sub>2</sub>型を主体とした単クローン性抗体のみでは限界があり、D型が札幌地方に多く見られることから、これらのsubtypingのためには、D型に対する単クローン性抗体を作り、札幌地方におけるcurrent strainについての情報を豊富にし、疫学的調査をさらに進展させる必要がある。

② トラコーマと封入体性結膜炎の違いが単純に血清型のみで理解されないが、従来のトラコーマはAからC型、特にA型とC型を中心に行っているかは、今後WangによるC complex中のH.I.J.K型の示める位置を、今回継代し得たH型の単クローン性抗体による再検討が必要である。

③ 今回分離同定し、さらに継代し得たD型を用いれば、抗クラミジア特異抗体の検出が、従来のL<sub>2</sub>型を用いたキットより鋭敏になるので、患者血清より抗原の血清型を推測することも可能である。今後はさらに、今回継代できた新鮮分離株群のプラスミッドを抽出して、その塩基配列を制限酵素で切断させて、そのpatternの解析から、これらの株間のちがいについてさらにその所見を深めたい。

④ 今回血清型を同定し得なかった株は、エリスロマイシンに対して抵抗性を示した症例から分離された株であったので、現在進めている新鮮分離株の薬物感受性試験との比較なども含めて、新しい型の存在の可能性をさがすことが今後の課題になる。

⑤ 今回の研究は病原体からみたものに限られていたが、クラミジア感染においては、宿主側の理解がさらに進められる必要がある。すなわちクラミジア抗原及び抗体の局在の検索は、トラコーマと封入体性結膜炎のちがいが、特にトラコーマの遷延化のメカニズムを解くためには不可欠である。幸い今回得られた2F3は高力価のspecies specificの単クローン性抗体であるため、患者結膜切片においてクラミジア抗原を検出したので、超微細組織学的所見と共に稿を改めて報告する予定である。

しかし疫学調査としては今回の検体数は未だ充分ではなく、札幌地方に限られた症例の調査であるために、これらの血清型が我が国の流行株を代表するものとは言いがたい。さらに我が国の広い地域において、封入体性結膜炎由来の株のみならず、乳幼児肺炎や淋菌性尿道炎患者由来の新鮮分離株でも、全国規模の疫学調査を実施し、我が国におけるクラミジア感染症の実態を明らかにしていくことは、この種の疾患の予防を含めた、公衆衛生学的対策のために不可欠である。

なお本研究は北海道大学獣医学部、公衆衛生学教室、橋本信夫教授、高島郁夫助教授、佐藤千秋大学院生との共同研究である。

#### 文 献

- 1) T'ang FF, Chang HL, Huang YT, Wang KL: Studies on the etiology of trachoma with special reference to isolation of the virus in chick embryo. Chin Med J 75: 429-446, 1957.
- 2) Frommell GT, Bruhn FW, Schwatzman JD: Isolation of chlamydia trachomatis from infant lung tissue. N Engl J Med 296: 1150-1152, 1977.
- 3) Lindner K: Zur Trachomaforschung. Z Augenheilk 22: 547-549, 1909.
- 4) Wang SP, Grayston JT: Chlamydia trachomatis immunotype. J Immunol 115: 1711-1716, 1975.
- 5) Taylor HR, Prendergest RA, Dawson CR, Schachter J, Silberstein AM: An animal model for cicatrizing trachoma. Invest Ophthalmol Vis Sci 21: 422-433, 1981.
- 6) 青木功喜: 新生児結膜炎の診断基準。医学のあゆみ 142: 58-60, 1987.
- 7) 青木功喜: クラミジア眼感染について。臨床とウ

- イルス 13: 424—426, 1985.
- 8) 青木功喜, 諸星輝明, 沼崎 啓, 千葉竣三: 新生児型クラミジア性結膜炎の診断基準. 臨床眼科 40: 973—976, 1986.
  - 9) 青木功喜: クラミジア眼科感染症. 化学療法の領域. 3: 1405—1409, 1987.
  - 10) 沼崎 啓: 新生児結膜炎患者よりの *C. trachomatis* の分離. 医学のあゆみ 126: 683—685, 1983.
  - 11) 諸星輝明: *Chlamydia trachomatis* の母児感染に関する研究. 札幌医学雑誌 55: 583—592, 1986.
  - 12) 佐藤千秋: 単クローン性抗体によるクラミジアの分類とトラコーマ・クラミジア新鮮分離株の血清型同定. 北海道大学獣医学部修士論文, 札幌, 1987.
  - 13) 豊福 肇: 単クローン性抗体によるオウム病のクラミジアの分類と抗原解析. 北海道大学獣医学部修士論文, 札幌, 1984.
  - 14) 岩崎辰夫, 安東民衛, 市川かおる, 保井孝太郎: 単クローン性抗体. ハイブリドーマと ELISA, 講談社, 1983.
  - 15) 古田伊都子: 抗根岸単クローン性抗体によるフラビウスの抗原解析. 北海道大学獣医学部修士論文, 札幌, 1983.
  - 16) Wang SP, Grayston JT: Microimmunofluorescence serology of chlamydia trachomatis. *Medical Virology III* (ed De la Maza, Peterson) Elsevier Science Pub, Co, 87—118, 1984.

(第91回日眼総会原著)