

流行性角結膜炎の迅速病原診断

青木 功喜*, 能戸 清**, 長谷川一郎***

青木眼科*, 能戸眼科**, 長谷川眼科***

要 約

アデノウイルス (Ad) 角結膜炎を疑った EKC 114例, PCF 50例, 急性結膜炎89例に単クローン性酵素抗体法 (Adenoclone) の迅速診断を行った。① Adenoclone 陽性であったのは EKC が最も多く 86/114 (75%), 次いで PCF 26/50 (52%), 急性結膜炎25/89 (28%) の順であった。②発病から7日目までと結膜炎の程度がⅢの群では Adenoclone 陽性率が高かった。③分離培養との比較で Adenoclone の specificity 87%, sensitivity 74%で血清型と陽性率の間には相関がなかった。④角膜合併症は Adenoclone の OD 値が高い例に多く、球結膜からの OD 値が他の結膜部位より高かった。⑤病原 Ad の血清型別頻度では Ad4が53%と最も多く、ついで Ad8 : 14%, Ad3 : 13%, Ad37 : 5%, Ad19 : 2% で、Ad 型未同定が12%あった。Ad4の臨床像は EKC 50%, PCF 30%, 急性結膜炎20%であった (日眼会誌 94 : 736-740, 1990)

キーワード : 流行性角結膜炎, 咽頭結膜熱, アデノウイルス, アデノクロン, 酵素標識免疫法

Rapid Etiologic Diagnosis of Epidemic Keratoconjunctivitis

Koki Aoki*, Kiyoshi Noto**, Ichiro Hasegawa***

*Aoki Eye Clinic, **Noto Eye Clinic, ***Hasegawa Eye Clinic

Abstract

We evaluated enzyme-linked immunosorbent assay (Adenoclone) in 253 cases of epidemic keratoconjunctivitis (EKC), pharyngeal conjunctival fever (PCF) and acute conjunctivitis. The clinical diagnosis due to adenoviral ocular infection was 86/114 (75%) in EKC, 26/50 (52%) in PCF and 25/89 (28%) in acute conjunctivitis, Adenoclone was positive only within 7 days after the disease onset. The specificity (87%) and sensitivity (74%) of Adenoclone were confirmed by isolater cell culture. Cases with corneal complication due to adenoviral infection show higher a value than the OD value in Adenoclone and the bulbar conjunctiva is a suitable site to detect adenoviral antigen. In this survey, isolated adovirus type 4 was recognized in 53%, Ad8 in 14%, Ad3 in 13%, Ad37 in 5%, Ad19 in 2% and non typed Ad in 12%. Clinical findings due to Ad4 showed EKC in 50%, PCF in 30% and acute conjunctivitis in 20% respectively. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 94 : 736-740, 1990)

Key words : Epidemic keratoconjunctivitis, Pharyngeal conjunctival fever, Adenovirus, Adenoclone, Enzyme linked immunosorbent assay

別刷請求先 : 〒003 札幌市白石区本通り6丁目北2-1 青木 功喜
(平成元年10月19日受付, 平成元年12月18日改訂受理)

Reprint requests to: Koki AOKI

Shiroishi-ku Hondori 6 Kita 2-1 Sapporo

(Received October 19, 1989 and accepted in revised form December 18, 1989)

I 緒 言

ウイルス感染症の病原診断法としては分離培養、血清反応などがあるがいずれも時間がかかりすぎ、一方蛍光抗体法や電子顕微鏡法は特殊な装置や技術を必要とするため、アデノウイルス(Ad)角結膜炎のようにプライマリーケアで多く診られる疾患の病因診断法には向いていない。著者は迅速病因診断の必要性、さらに幾つかの迅速診断法の中では単クローン抗体を用いた enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) が有用であると報告してきた^{1)~3)}。今回は最も有用であった ELISA を多数例の Ad 角結膜炎に応用し、病因診断の結果と臨床像の関連性を検討した。

三井、杉浦、大石により流行性角結膜炎 (EKC) の診断名は etiologic entity として用いられると報告され⁴⁾、EKC が Ad8 による特徴ある臨床像であり、Ad7, 11 はその亜型と定義づけられ、その後我が国の眼科臨床に広く用いられてきた。しかし、EKC の病原診断を臨床上全例に行うのは実際的でないので、EKC = Ad8, PCF = Ad3 という原則で EKC や咽頭結膜熱 (PCF) の診断名が clinical entity としく広く用いられている。

しかし 41 種類ある Ad 血清型の中で、EKC, PCF, 急性結膜炎などの眼所見を示す Ad3, 7, 8, 11 などに加えて、近年他の血清型による症例も多くなり、その鑑別がより困難となっている。

我々は過去 15 年間、Ad 角結膜炎の病因検索を行ない、従来の EKC, PCF の病因に関する定説は修正する必要があると報告してきた。すなわち PCF の一因となっていた Ad7 は我が国では殆んど分離されなくなり、Ad8 と同じ subgenus D に属する Ad19 と Ad37 が 1978 年頃我が国に侵入し、さらに 1980 年代に入って Ad4 が侵入するなど、EKC の病因も多様化している⁵⁾⁶⁾。

この論文では単クローン抗体を用いた酵素抗体法によって検出された Ad 抗原と Ad 角結膜炎の臨床像の関係と共に、この迅速病原診断法の特徴を明らかにすることを研究の目的とした。

II 対象と方法

初診時に急性濾胞性結膜炎と共に、耳前リンパ腺腫脹、圧痛或いは角膜上皮炎が認められ、臨床的に EKC と診断した症例を EKC、咽頭炎或いは発熱を急性結膜炎と共に伴ったものを PCF、急性濾胞性結膜炎でアレ

ルギー性、細菌性と初診時に判定できなかった例を急性結膜炎として今回の対象とした。

① EKC を含む感染性角結膜炎症例 253 例の結膜擦過物の中から Adenoclone[®] (Cambridge Bio Science USA) を用いて Ad 抗原検出を行い、一方そのうち 137 名においては HEK 細胞、HeLa 細胞、Vero 細胞を用いて分離培養、同定を併せて行い、Ad 血清型別の臨床像の比較及び Adenoclone[®] と分離培養の対比より Adenoclone[®] の sensitivity と specificity を検討した。Adenoclone[®] の検索は既報の如く実施した。固相化した capture antibody に結膜擦過物の浮遊液と酵素標識抗体を加え、室温で 60 分反応させた後基質緩衝液と発色液をくわえた後室温で 10 分作用させ、肉眼にてわずかでも青色に認められたものを陽性として、さらに分光光度計にてその Optical density (OD) 値を測定した²⁾。

② Adenoclone[®] による検出率を結膜部位別に比較すると共に、肉眼にて青色に見える程度を Ⅲ, Ⅱ, Ⅰ の三段階に分類し、僅かでも青色に肉眼に見えた場合を Ⅰ とした。さらにその肉眼判定別に OD 値を対比させて Adenoclone[®] の判定基準に検討を加えた。

③ Ad 陽性角結膜炎の臨床所見 (EKC, PCF, 急性結膜炎別の比較、結膜炎の程度、角膜合併症の頻度、病日別の頻度) を OD 値との比較で総括した。

III 結 果

1. 臨床所見別の比較

1) 臨床像と Adenoclone[®]

EKC, PCF と急性結膜炎の Ad 抗原陽性率は 86/114 (75%), 26/50 (52%), 25/89 (28%) であり、Adenoclone[®] の OD 値の平均値はそれぞれ 0.54, 0.31, 0.29 であった。すなわち EKC が Adenoclone[®] 陽性を示す例が最も多く、その検出抗原量も他の 2 疾患の 2 倍以上を示していた。

2) 結膜炎の程度と OD 値

結膜炎の程度では EKC は Ⅲ と Ⅱ が合計で 86% を占めており、PCF は Ⅱ が最も多く次いで Ⅰ の順であり、急性結膜炎は Ⅰ, Ⅱ の順であり、各 2 者の合計が 77% と 80% を占めていた。OD 値は EKC では Ⅲ, Ⅰ, Ⅱ の順であり、PCF は Ⅲ が最も高く、急性結膜炎は Ⅰ が最も高い値を示していた (表 1)。

3) 角膜合併症の頻度と OD 値

角膜合併症は瀰漫性角膜上皮炎と角膜上皮点状混濁より成り、角膜合併症は EKC が 84% と最も多く、

表1 結膜炎の程度別比率と各群の平均OD値

臨床像	Ad陽性症例数	結膜炎の程度		
		+	++	+++
EKC	86	14% (0.66)	37% (0.45)	49% (0.60)
PCF	26	35% (0.35)	42% (0.19)	23% (0.49)
急性結膜炎	25	44% (0.45)	36% (0.20)	20% (0.09)

()=OD値

表2 角膜合併症有無の比率と各群の平均OD値

臨床像	症例数	角膜合併症		
		+	-	不明
EKC	86	84% (0.57)	5% (0.40)	11% (0.48)
PCF	26	19% (0.34)	61% (0.28)	19% (0.34)
急性結膜炎	25	12% (0.47)	44% (0.26)	44% (0.27)

()=OD値

表3 病日別の陽性数と平均OD値

病日	EKC	PCF	急性結膜炎
1	3例(0.41)	4例(0.41)	1例(0.14)
2	19 (0.55)	8 (0.19)	7 (0.41)
3	23 (0.62)	5 (0.44)	10 (0.25)
4	21 (0.55)	5 (0.36)	2 (0.50)
5	9 (0.55)	2 (0.10)	3 (0.15)
6	7 (0.37)	1 (0.07)	2 (0.13)
7	2 (0.63)	1 (0.08)	
8	2 (0.54)		

()=OD値

PCFは19%であり、EKCにおいては角膜上皮点状混濁の形を示すものが多いが、PCFは瀰漫性角膜上皮炎で止まるものが多かった。急性結膜炎は比較の予後の良い例が多いため、1週以後の通院患者が少なく不明なものが多かったが、角膜合併症は最も少なかった。角膜合併症の+の群においては-群よりOD値が高い傾向を示した(表2)。

4) 病日別の陽性数

下眼瞼結膜から検体を採取した結果では、EKCでは1病日から8病日にAdenoclone[®]陽性例がみられ、PCFでは7病日まで、急性結膜炎では6病日まで陽

表4 アデノクロンと分離培養との比較

Adウイルス分離陽性	アデノクロン		計
	陽性	陰性	
	78	27	105
分離陰性	4	28*	32
計	82	55	137

*C.tr: 8, HSV: 3を含む

性が見られた(表3)。

2. 分離培養、同定との比較

1) Ad血清型別の臨床像

今回分離された105株のうち血清型が決定した92株のうちではAd4が最も多く61%で、以下Ad8:16%、Ad3:15%、Ad37:6%、Ad19:2%であった。Ad4の臨床像はEKC50%、PCF30%、急性結膜炎20%と多様性であった。この多様性はAd3において著明で、EKCとPCFは共に36%で急性結膜炎は28%であった。AdD群のAd8, 19, 37は共にEKCが最も多く84%, 100%, 80%を呈した。OD値はAd8(0.52)、Ad19(0.64)、Ad3(0.32)、Ad4(0.29)、Ad37(0.17)であった。

2) Adenoclone[®]の分離培養の成績

Adenoclone[®]と特異性は87%でその感度は74%であった。なおAd以外の病原体としてはクラミジアが8例、HSV1型が3例分離された(表4)。

3. Adenoclone[®]の判定基準

1) 結膜部位別のOD値

今回のOD値の測定は下眼瞼結膜を用いたが、同一人で上、下眼瞼結膜、上円蓋部、上球結膜からのOD値の平均値を、結膜炎の程度と病日を一致させた20例で行った結果は平均値で、球結膜0.46と円蓋部結膜0.41の値を示し、上眼瞼結膜0.37、下眼瞼結膜0.24に較べて高かった。

2) 肉眼判定とOD値の比較

OD値0.036以上では肉眼判定が陽性となるのは133/137(97%)で、OD値0.036未満での肉眼判定陽性群が3/137(2%)に過ぎず、0.05以上と0.05未満では128/137(93%)と8/137(6%)であった。肉眼判定群で最も多いOD値は±群で0.50~0.10未満が11/19(58%)、+群では0.10~0.30未満が28/41(68%)、++群では0.10~0.60が21/26(81%)、+++群では0.60以上が44/50(88%)であった。OD値と肉眼判定の関係をみるとこの2者は相関しており、判定基準としては

表5 肉眼判定とOD値の比較

肉眼判定 OD値	-	±	+	+	+
0.00~0.05 未満	114	7	1		
0.05~0.10 未満	3	11	7	1	1
0.10~0.30 未満		1	28	2	1
0.30~0.60 未満			5	19	4
.60~				5	44

OD値は0.05以上、肉眼判定では±以上を陽性とすることが妥当と言える(表5)。

IV 考 按

我が国の感染症サーベイランス事業の病原情報によると、Ad3がAdの中で最も多く検出される病原であるが、今回眼科外来を訪れた対象の検討では、Ad角結膜炎で最も多かったのはAd4で53%を占め、Ad8は14%、Ad3は13%にすぎなかった。Ad4の臨床像はEKCが50%、PCF 30%、急性結膜炎20%という幅広い臨床像を示していた。

Ad4, 19, 37など血清型の違いによってもAd8のEKCとは異なる病像を示すことから、臨床所見のみでAdの血清型を鑑別することは難しく、EKCをetiologic entityとするには無理がある。現在のところ、EKCはAdによると言えるがその逆は言えず、Ad角結膜炎が妥当な診断名と言える。すなわちSchneiderが始めて提唱した臨床疾患単位としてのepidemic keratoconjunctivitis (EKC)の診断名は残し⁷⁾、その病原はAd3, 4, 8, 19, 37と単一ではないと定義すべきであろう。この立場からclinical EKCという診断名はその存在理由がなくなる。

Ad4はAdの系統発生上最も古いとされて、その組織親和性も咽頭から結膜にわたっているが、米国の新兵の集団など特定の範囲でしか発生せず、血清抗体測定の結果でもその中和抗体保有者は10%未満と少なかった⁸⁾。しかし世界的Ad4の流行と共に我が国でも多くの患者発生が起きている。しかもAd4はAd19, Ad37と共にEKCの病像を呈することから、EKCはAd8のみによると言えなくなっている。

Ad4感染56例のうち3例が院内感染によりEKCの病像を示した。すなわち眼科外来において院内感染を起こすAdの血清型はAd D群に属するAd8, 19, 37のみならず、Ad E群のAd4にも認められたので、今後

はD群以外の他の血清型についても注目していきたい。

Ad角結膜炎の迅速病原診断法としてのAdenoclone[®]は7病日までの急性期で、外来診断がEKCで結膜炎の程度がⅢのときに最もOD値が高かった。さらに球結膜の擦過物においてOD値が他の結膜部位より高かったことから、検体採取の時期や部位に配慮すべきである。また角膜炎併症を示す群ではOD値がいずれの群でも高い傾向を示した。以上の点からAd角結膜炎の角膜病変の病態はAd抗原によると推測できる。

Adenoclone[®]はEKCの初期において診断的意義が高い他、角膜における合併症を有する群ではOD値の高い例が多く見られ、また検体採取が球結膜から行なわれた際OD値が高く、さらにこれらの陽性例に角膜上皮下点状混濁などが多いことから、角膜炎併症の有無とOD値の相関が強く示唆された。現在微量のAd DNAを増幅させるpolymerase chain reactionを用いて、EKCの角膜炎併症を有する群の角膜のAd抗原の検出を進めており、結論はその結果を待ちたい。

Ad眼感染症の病原診断では結膜からの検体量は、糞便などに較べその絶対量が少ないため、感度の良い方法が要求される。しかも結膜では材料の採取と陽性の意味づけが共に容易である利点もある。

Ad角結膜炎は家族内や院内感染が多いので、素早い対応が必要であり早目にAdが病原であることを患者に知らせることが予防上不可欠である。この意味からも結膜病巣からのAd抗原検出が1時間内に迅速にできるAdenoclone[®]は、診療所などのプライマリーケアの場で早急に普及することが望まれる⁹⁾。

文 献

- 1) 青木功喜：ウイルス性結膜炎の迅速診断。臨眼 42: 1306—1311, 1988.
- 2) 青木功喜, 沢田春美：単クローナル抗体酵素抗体法(アデノクロン)による結膜中からアデノウイルス抗原の迅速検出。臨眼 43: 1035—1039, 1989.
- 3) 青木功喜, 沢田春美：アデノウイルス眼感染症における迅速診断。日眼会誌 93(8): 865—869, 1989.
- 4) 三井幸彦, 杉浦清治, 大石省三：流行性角結膜炎。日眼会誌 3355—3420, 1959.
- 5) 青木功喜：アデノウイルス結膜炎の病因と臨床像。眼科 29: 123—128, 1987.
- 6) 青木功喜：流行性角結膜炎の病因の変遷。日医 94: 1136—1137, 1985.
- 7) Schneider: Keratoconjunctivitis epidemica. Munch Med Wschw 1981—1984, 1938.

- 8) 渡辺 実：アデノウイルスの血清疫学的研究. 日本公衛誌 15: 797-801, 1968.
- 9) Kowalski RP, Gordon MYJ: Comparison of

direct rapid test for the detection of adenovirus antigen in routine conjunctival specimens. Ophthalmology 96: 1106-1109, 1989.