

[総 説]

Chlamydia trachomatis とその診断法

高橋 聡

札幌医科大学医学部感染制御・臨床検査医学講座

(平成 30 年 1 月 9 日受付)

Chlamydia trachomatis は、性感染症の主要な病原微生物であり、男性の尿道炎と子宮頸管炎が代表的な疾患である。一般的な細菌の標準検出法である分離培養法は、*C. trachomatis* に関しては、処理が煩雑であり、臨床現場では診断の支援とならない。そのため、*C. trachomatis* の抗原を検出する検査法が開発された。その後、*C. trachomatis* の診断法は、変遷しており、従来の抗原検出法は、核酸増幅法の普及とともに用いられなくなってきている。核酸増幅法は、高感度、かつ、高特異度であり、男性の初尿を検体とすることも可能となり、医療者としても患者にとっても有用性を増した。核酸増幅法を用いた検出法では、5種類の検査キットが使用可能となっているが、実臨床での感度には大きな相違はない。一時期注目された、核酸増幅法で検出ができない変異株についても、増幅標的を複数にすることによって改良された。核酸増幅法の検査では、多くの施設から検体を集めて測定をする体制となっている。しかし、検査結果の報告までに数日を要することから、今後は、迅速核酸増幅法による検査が普及してくると考えられ、この検査により、より正確な診断結果を伝えることができ、より適正な治療法を選択することができるようになる。近い将来、*C. trachomatis* の診断法は、さらに改良されるだろう。

Key words: *Chlamydia trachomatis*, 診断, 検出

はじめに

Chlamydia trachomatis による性感染症 (sexually transmitted infection; STI) である性器クラミジア感染症報告数 (定点報告数) は、近年、ほぼ横ばいの状態が続いている。わが国では産婦人科領域における妊婦の妊娠初期スクリーニングを含めて様々な啓発や検査精度向上などの対応が徹底されているにもかかわらず、未だに相当数の患者が発生している。性器クラミジア感染症は、婦人科領域の腹膜炎 (骨盤内炎症性疾患)、産科領域の母子感染など重篤な感染症を引き起こす場合があり、さらに、多くの罹患者は無症候で

あるという問題も抱えている。このような中で、*C. trachomatis* の検出法は進化している。最近の迅速診断も含めて、検出法について詳述したい。

***C. trachomatis* の特徴**

C. trachomatis は、クラミジア属の偏性寄生性の微生物である。*C. trachomatis* の特徴としては、クラミジア属に特異的な増殖環 (developmental cycle) が挙げられる¹⁾²⁾。この増殖環は、感染性を有する基本小体 (Elementary body; EB)、宿主細胞への感染後に細胞質内に形成される封入体 (Inclusion)、そして、封入体内で基本小体から中間体を経て変化する代謝活性を有する網様体 (Reticulate body; RB) から成る。つまり、感染した EB が封入体内で RB へと変化する。そして分裂を繰り返し、さらに EB へと再変化する。これが、クラミジア属の特徴である。すなわち、*C. trachomatis* の直径 0.3 μm ほどの EB が宿主細胞の貪食によって細胞内に取り込まれる。EB は、物理的に強固であり遠心や超音波処理にても安定してお

著者連絡先：(〒060-8543) 札幌市中央区南 1 条西 16 丁目
札幌医科大学医学部感染制御・臨床検査医学講座
高橋 聡
TEL: 011-611-2111 (内線 36400)
FAX: 011-622-7502
E-mail: stakahas@sapmed.ac.jp

り、感染性を有するが代謝活性はない。基本機能は、宿主細胞へ進入するまでの時間を細胞外で生存可能とすることである。宿主細胞に貪食されたEBは2時間後以内にRBへと分化 (differentiation) をはじめる。RBは、感染性をもたないが代謝活性を有し増殖の過程を担当する。そして、12時間後にはRBは二分裂 (binary fission) を始め、RBの増殖にあわせて封入体は拡大していく。感染18時間後には、増殖するRBはEBへと変化をはじめ、serovarにもよるが感染36時間から72時間後には宿主細胞は破壊され封入体内の細胞は宿主細胞外へ放出される。

C. trachomatis の分離・培養は、細胞培養により行われる。培養細胞としては、HeLa229やMcCoyが用いられる。培養法、また、抗菌薬の感受性をみるための標準法が、日本化学療法学会より示されている³⁾。抗菌薬感受性試験については、統一された方法はなく、施設によりHeLa229細胞とMcCoy細胞が用いられているのが現状である。

分類

C. trachomatis は、現在の分類では、Order Chlamydiales, Family Chlamydiaceae, Genus Chlamydia の中の4つのSpecies (*C. trachomatis*, *C. pneumoniae*, *C. psittaci*, *C. pecorum*)^{4)~6)} の1つであり、さらにBiovarとしてtrachoma, lymphogranuloma venereum (LGV), mouse に分類される。Biovar trachoma と Biovar LGV においては、micro-immunofluorescence (micro-IF) 法やモノクローナル抗体による serovar (血清型) 分類により、Biovar trachoma では serovar A, B, Ba, C, D, D', E, F, G, H, I, I', J, K に、Biovar LGV では serovar L1, L2, L2', L3 と分けられている⁷⁾。これらは、*C. trachomatis* の主要な外膜蛋白である Major outer membrane protein (MOMP) により血清学的に決定される。その後、分子生物学的分析により MOMP 領域の遺伝子配列が決定され、さらにその領域のアミノ酸配列が variable domain (VD) として明示された。そして、この VD 領域の制限酵素切断パターンが血清型により異なることが明らかになったことから、polymerase chain reaction (PCR) 法により増幅させた VD を含む領域を restriction fragment length polymorphism (RFLP) にて分析することにより分子疫学的手法による血清型別も可能となっている^{8)~10)}。

Biovar trachoma のうち、serovar A-C は主として眼感染症 (トラコーマ) を、serovar D-K は STD として男子尿道炎や子宮頸管炎などや母子感染としての

肺炎や結膜炎の原因となる。Biovar LGV の serovar L1-L3 は、STD としての LGV (性病性リンパ肉芽腫) の原因となるが、重篤な肺炎も引き起こすとされる。LGV は、日本国内では海外での感染例を除いて発生はみられないが、海外では散発的な数例程度の発生がみられている。

診断

C. trachomatis 感染症の診断法としては、*C. trachomatis* 検出を目的とした分離培養法、抗原検査法、遺伝子診断法 (核酸増幅法) が挙げられる。診断としての抗体検査は、抗原などが直接検出できないような場合には診断の参考にはできない。あるいは大規模な疫学的調査で感染の状況を大まかに把握することはできる。しかし、感染時期や治療経過も反映しないので、臨床現場での診断的意義は少ない。

分離培養法は、前述したように細胞培養法により行われる。感度は、後述する抗原検査法とほぼ同様であるが、手技が煩雑で、判定までに72時間程度を要するなど研究室レベルの検査に留まっている。例えば、HeLa229細胞を用いる場合、まず、培養用プレートに単層のHeLa229細胞を72時間かけて用意し、そこに、*C. trachomatis* の粒子を遠心にて吸着させ、さらに、72時間後に感染(封入体)を確認する。*C. trachomatis* の研究では、serovar L株を用いるのは、増殖が早くて封入体確認までの時間が24時間程度で良いからである。通常の尿道炎と子宮頸管炎から分離される serovar 株ではより時間がかかることとなる。利点としては、抗菌薬のMICの判定が可能な点である。国内では治療に用いられている抗菌薬に対する耐性株の報告¹¹⁾がない(表1)ものの、国外では *C. trachomatis* の耐性株の報告が散見されること¹²⁾からこの点には留意すべきである。ただし、これらの耐性株は、継代後には感受性を回復することから、低感受性の population が選択された、一時的な耐性(低感受性)株と解釈できる¹²⁾¹³⁾。本邦でも治療に難渋するような症例では、積極的に分離培養し抗菌薬の感受性試験を行うべきではないかと考えられる。ただ、残念ながら、施行が可能な施設は限られている。

抗原検査法は、クラミジア属特異的または *C. trachomatis* 種特異的抗原を検出する方法である。手技は比較的簡便であり、短時間で判定できるものもある。しかし、感度、特異度とも後述する核酸増幅法に劣る。臨床的には現在も使用されているが、この点には十分に留意する必要がある。

遺伝子診断法 (核酸増幅法) は、感度、特異度共に

表1. クラミジア・トラコマティスに対する抗菌薬の感受性試験結果 (D/UW-3/Cx はクラミジア・トラコマティス D 型の標準株) (MIC ; $\mu\text{g/mL}$) (文献 11 より改変引用)

抗菌薬	対象株の MIC90	D/UW-3/Cx 株の MIC
シプロフロキサシン	1	1
レボフロキサシン	0.5	0.25
トスフロキサシン	0.125	0.125
シタフロキサシン	0.063	0.031
ドキシサイクリン	0.125	0.063
ミノサイクリン	0.125	0.063
エリスロマイシン	0.125	0.125
クラスロマイシン	0.016	0.008
アジスロマイシン	0.031	0.063

表2. 核酸増幅法を用いたクラミジア・トラコマティスの検出法

核酸増幅法	TMA 法	SDA 法	Taqman PCR 法	Real-time PCR法	PCR 法
製品名	アプティマ Com-bo2 クラミジア / ゴノレア	BD ブロープテック クラミジア・トラコマチス ナイセリア・ゴノレア	コバス 4800 システム CT/NG	アキュジーン m-CT/NG	ジーンキューブ ナイセリア・ゴノレア / ジーンキューブ クラミジア・トラコマチス
検体の種類	男性尿道擦過物, 子宮頸管擦過物, 尿, 咽頭擦過物, 子宮頸部擦過物, 又はうがい液	尿, 子宮頸管擦過物, 男性尿道擦過物, 咽頭擦過物	尿, 子宮頸管擦過物, 咽頭うがい液	男性尿道擦過物, 子宮頸管擦過物, 尿, 膣擦過物	子宮頸管擦過物, 男性尿

TMA : transcription-mediated amplification

SDA : strand displacement amplification

PCR : polymerase chain reaction

極めて高く、一本の検体で同時に淋菌検査も可能である。遺伝子診断法(核酸増幅法)には、TMA 法、SDA 法、TaqMan™ PCR 法 (リアルタイム PCR 法)、リアルタイム PCR 法がある^{14)~18)}(表2)。遺伝子診断法(核酸増幅法)の一般的な特徴としては、男性の尿道炎では、初尿での判定が可能であり非侵襲的な検査となった。咽頭の擦過検体やうがい液を用いても判定が可能であり、直腸スワブ検体でも判定が可能である。治療後の偽陽性については、死菌の DNA (もしくは rRNA) を異なったプライマーを用いた PCR 法で検出すると viability を失った後もしばらくは検出可能であるとの in vitro での検討¹⁹⁾があり、臨床的には男性の尿道炎では治療後 2-3 週後に判定するべきではないか¹³⁾とされている。

核酸増幅法の検査として、まさに、先駆けとして普及していた Cobas Amplicor (ロシユ・ダイアグノスティクス) は、特に、我が国においては核酸増幅法の

代名詞のように用いられてきた¹⁵⁾。検出の原理は、*C. trachomatis* 菌体核内の cryptic plasmid の DNA の一部 (207 塩基対) を標的とした PCR 法による。一般的に、cryptic plasmid は複数存在することが知られており、それにより感度の向上に寄与する。この検出法の登場、つまり、核酸増幅法という高感度検査の導入により男性の初尿を検体とすることが可能となった。以前は、男性の尿道炎では外尿道口に綿棒を挿入し尿道上皮の擦過検体により抗原を検出していた。ただ、患者は、多くは排尿痛で医療機関を受診しているわけで、外尿道口の擦過という侵襲的な処置は、受診の動機付けを大いに減じていたのではないかと推測する。しかし、Cobas Amplicor という高感度検査の導入は、非侵襲的な検体採取を可能にし、その点を改善した。

ところが、Cobas Amplicor が検出できない *C. trachomatis* 株がスウェーデン、そして、北欧から報告

表3. 性器クラミジア感染症の推奨治療法（文献14より改変引用）

抗菌薬	一般名	1回投与量	1日投与回数	投与日数
マクロライド系	アジスロマイシン	1 g	1回	1日
	シロップ用アジスロマイシン	2 g	1回	
	クラリスロマイシン	200 mg	2回	7日
テトラサイクリン系	ドキシサイクリン	100 mg	2回	
	ミノサイクリン	100 mg	2回	
フルオロキノロン系	レボフロキサシン	500 mg	1回	
	トスフロキサシン	150 mg	2回	
	シタフロキサシン	100 mg	2回	

された^{20)~22)}。この限局された地域²⁰⁾²¹⁾から検出された *C. trachomatis* 株は Cobas Amplicor が増幅の標的としている cryptic plasmid の 207 塩基対の一部に変異を認めており、偽陰性となっていた。この変異株への対応策として増幅の標的である cryptic plasmid に加えて MOMP の一部も標的とする改良策が取られた。改良されたコバス 4800 システムは、リアルタイム PCR 法である TaqMan PCR 法と称されている。検体は男性の初尿と尿道擦過物、そして、子宮頸管擦過物となっているが、我が国で初めて咽頭うがい液を検体とすることが認められた。

APTIMA Combo 2 は、transcription mediated amplification (TMA) 法により標的を増幅し検出する¹⁶⁾。世界的には、主要な診断法として広く普及している。APTIMA Combo 2 の特徴は、ribosomal RNA を増幅の標的とすることで、多数存在している利点を生かして感度の向上を図っている。実臨床での感度に他の核酸増幅法との相違はあまり無いようだが、TMA 法自体が同一の温度で増幅反応が進むという利点も有しており、その意味では同一時間では増幅産物が多くなるとされている。APTIMA Combo 2 も Cobas 4800 システムと同様に、うがい液を検体として検出が可能である。

近年では、リアルタイム PCR 法を用いた迅速診断機器²³⁾が開発されてきており、検体採取から 30~90 分程度で結果が判明することから、適切な治療やケアに有用である。感度は概ね従来の核酸増幅法と変わらないとされる。現状では、初診時には *C. trachomatis* の有無は判定できないので、数日後にようやく報告書が届いて確定診断となる。性感染症の再診率は 100% では無いことから、結果として、陽性であっても、確定した診断結果を伝えることができない場合もありえる。その意味では、初診時に正確な診断結果を伝え、適切な治療を根拠を持って行うことができる。この迅

速核酸増幅法を用いた検査機器・検査キットは積極的に開発が続けられており、今後は、このような迅速診断機器が普及していくものと考えられる。

性器クラミジア感染症の多くは無症候性であることが特徴¹⁴⁾であり、治療をかねた予防として、性的パートナーについても症状の有無にかかわらず検査を受ける必要性を強調するべきである。*C. trachomatis* が検出されるようであれば患者同様治療が必要である（表 3）²⁴⁾。性的パートナーが検査を受けず、未治療であれば、いわゆるピンポン感染となるため、これを防止するためにも性的パートナーの検査・治療は不可欠である。産道感染の防止には、妊婦のスクリーニングが重要である。もちろん、多くの不特定の性的パートナーを持たないことが一つの予防行為でもある。

性器外感染症での *C. trachomatis* 検出

性交様式の変化から、口腔性交が行われてきており、女性の咽頭クラミジア感染が感染源として問題となっている²⁵⁾²⁶⁾。問題は、性器クラミジア感染症と同様に無症候性であるために診断する機会がないという点である。実際に、淋菌と同様に、男性の尿道炎の半数程度は、口腔感染により感染していると考えられている。また、肛門性交による直腸内感染^{26)~28)}は、大腸内視鏡施行時の直腸粘膜表面のイクラ状所見が特徴的とされている。現在の核酸増幅法を用いた検査法では、眼、直腸、など性器外感染症の診断も可能ではあるが、保険診療上の保険適用では無い。

文 献

- 1) Stephens, RS. 1999. Introduction. p. xi-xvii. In: *Chlamydia: intracellular biology, pathogenesis, and immunity* (RS Stephens ed.), ASM press, Washington.
- 2) Hatch, TP. 1999. Developmental biology. p. 29-67. In: *Chlamydia: intracellular biology, pathogenesis, and*

- immunity (RS Stephens ed.), ASM press, Washington.
- 3) クラミジア MIC 測定法—日本化学療法学会標準法—(1991年改訂版), CHEMOTHERAPY, 40: 303-307, 1992.
 - 4) Moulder, JW. 1984. Order *Chlamydiales* and family *Chlamydiaceae*. p. 729. In: Manual of Systematic Bacteriology, vol. 1 (NR Krieg ed.), Williams and Wilkins, Baltimore.
 - 5) Graystone, JT, CC Kuo, LA Campbell, et al. 1989. *Chlamydia pneumoniae* sp. nov. for *Chlamydia* sp. TWAR. Int J Syst Bacteriol 39: 88-90.
 - 6) Fukushi, H, K Hirai. 1992. Proposal of *Chlamydia pecorum* sp. nov. for *Chlamydia* strain from ruminants. Int J Syst Bacteriol 42: 306-308.
 - 7) Caldwell, HD, J Schachter. 1982. Antigen analysis of the major outer membrane protein of *Chlamydia* spp. Infect Immun 35: 1012-1036.
 - 8) Frost, EH, S Deslandes, S Veilleux, et al. 1991. Typing *Chlamydia trachomatis* by detection of restriction fragment length polymorphism in the gene encoding the major outer membrane protein. J Infect Dis 163: 1103-1107.
 - 9) Rodriguez, P, A Vekris, B de Barbeyrac, et al. 1991. Typing of *Chlamydia trachomatis* by restriction endonuclease analysis of the amplified major outer membrane protein gene. J Clin Microbiol 29: 1132-1136.
 - 10) 吉田 洋, 岸雄一郎, 志賀定嗣, 他. 1995. PCR法による *Chlamydia trachomatis* の型別と血清型について. 日性感染症誌 6: 40-45.
 - 11) Takahashi, S, R Hamasuna, M Yasuda, et al. 2016. Nationwide surveillance of the antimicrobial susceptibility of *Chlamydia trachomatis* from male urethritis in Japan. J Infect Chemother 22: 581-586.
 - 12) 高橋 聡, 萩原敏且. 1998. *Chlamydia trachomatis* における抗菌薬耐性. 日性感染症誌 9: 34-40.
 - 13) Takahashi, S, T Hagiwara, S Shiga, et al. 2000. In vitro analysis of the change in resistance of *Chlamydia trachomatis* under exposure to sub-MIC levofloxacin for a therapeutic term. Chemotherapy 46: 402-407.
 - 14) 性感染症 診断・治療 ガイドライン 2016, 日性感染症会誌, 2016 : 27 : Supplement, http://jssti.umin.jp/guideline_c.html (2016年11月1日発行) (accessed 2018-1-8).
 - 15) 熊本悦明, 広瀬崇興, 西村昌宏, 他. 1995. PCR法による *C. trachomatis* 診断キット (アンプリコアークラミジアトラコマチス) の基礎的, 臨床的検討. 日性感染症誌 6: 51-61.
 - 16) Lowe, P, P O'Loughlin, K Evans, et al. 2006. Comparison of the Gen-Probe APTIMA Combo 2 assay to the AMPLICOR CT/NG assay for detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in urine samples from Australian men and women. J Clin Microbiol 44: 2619-2621.
 - 17) Van Der Pol, B, O Liesenfeld, JA Williams, et al. 2012. Performance of the cobas CT/NG test compared to the Aptima AC2 and Viper CTQ/GCQ assays for detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*. J Clin Microbiol 50: 2244-2249.
 - 18) Peuchant, O, S de Diego, C Le Roy, et al. 2015. Comparison of three real-time PCR assay for the detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in young pregnant women. Diagn Microbiol Infect Dis 83: 335-337.
 - 19) Takahashi, S, T Hagiwara, S Shiga, et al. 2000. Detection of antimicrobial-treated *Chlamydia trachomatis* with Amplicor PCR test kit. J. Infect. Chemother. 6: 211-215.
 - 20) Jurstrand, M, P Olcen, A Magnuson, et al. 2010. Emergence of the new variant of *Chlamydia trachomatis* in a defined area of Sweden before 2002? Sex Transm Infect 86: 337-341.
 - 21) Klint, M, R Hasad, L Christerson, et al. 2011. Prevalence trends in Sweden for the new variant of *Chlamydia trachomatis*. Clin Microbiol Infect 17: 683-689.
 - 22) Won, H, P Ramachandran, R Steece, et al. 2013. Is there evidence of the new variant *Chlamydia trachomatis* in the United States? Sex Transm Dis 40: 352-353.
 - 23) Gaydos, CA. 2014. Review of use of a new rapid real-time PCR, the Cepheid GeneXpert® (Xpert) CT/NG assay, for *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*: results for patients while in a clinical setting. Expert Rev Mol Diagn 14: 135-137.
 - 24) Takahashi, S, Y Kurimura, J Hashimoto, et al. 2011. Management for males whose female partners are diagnosed with genital chlamydial infection. J Infect Chemother 17: 76-79.
 - 25) Jones, RB, RA Rabinovitch, BP Katz, et al. 1985. *Chlamydial trachomatis* in the pharynx and rectum of heterosexual patients at risk for genital infection. Ann Intern Med 102: 757-762.
 - 26) Hamasuna, R, S Takahashi, S Uehara, et al. 2012. Should urologists care for the pharyngeal infection of

- Neisseria gonorrhoeae* or *Chlamydia trachomatis* when we treat male urethritis? Int J Urol 18: 410-413.
- 27) Trebach, JD, CP Chaulk, KR Page, et al. 2015. *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* among women reporting extragenital exposures. Sex Transm Dis 42: 233-239.
- 28) Gratrix, J, AE Singh, J Bergman, et al. 2015. Evidence for increased *Chlamydia* case finding after the introduction of rectal screening among women attending 2 Canadian sexually transmitted infection clinics. Clin Infect Dis 60: 398-404.

Characteristic and Detection of *Chlamydia trachomatis*

Satoshi Takahashi

Department of infection control and laboratory medicine, Sapporo Medical University School of Medicine

Chlamydia trachomatis is major pathogen of sexually transmitted infections, and male urethritis and cervicitis are typical diseases. Isolation and culture of *C. trachomatis* for diagnosis need a lot of time and effort for clinical laboratory test in real life clinical practice. Then, *C. trachomatis* antigen detection test was developed and widely spread. When molecular technology became popular, nucleic acid amplification test (NAT) has vigorously replaced antibody detection test. NAT has advantages of high sensitivity, high specificity and less invasive manner to obtain the clinical samples, especially in the male patients with urethritis. We can use NAT test kit of 5 different test kits to diagnose *C. trachomatis* infection and each test show almost identical performance in clinical practice. Now, rapid detection test kit using NAT has been developing and we can obtain the results for diagnosis within 90 minutes. Near future, we will be able to inform the precise diagnosis to patients and treat patients by reasonable regimen at the day of the first medical examination.