

氏名	小林 東
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲第 1042 号
学位授与の日付	平成26年 3 月13日
学位論文題名	Clinical utility of loop-mediated isothermal amplification assay for the diagnosis of common alpha herpesvirus skin infections 「皮膚ヘルペスウイルス感染症の診断におけるLAMP法の臨床的有用性」 The Journal of Dermatology 40(12): 1033 – 1037. 2013. 12
論文審査委員	主査 教授 松 永 佳世子 副査 教授 吉 川 哲 史 教授 吉 田 俊 治

論文内容の要旨

【諸言】

Herpes simplex virus(HSV)、varicella zoster virus(VZV)の皮膚感染症は日常診療でよく遭遇する疾患であり、その診断は主に臨床症状のみでなされているのが現状である。診断が困難な場合には、これまでにウイルス分離培養、Tzanck試験、蛍光抗体法による特異抗原の検出、PCR法によるDNA検出が用いられてきた。栄研化学により開発された核酸増殖法であるLoop-mediated isothermal amplification(LAMP法)は迅速性、簡便性、高特異性を併せ持つ検査方法であり、近年様々なウイルス感染症の迅速診断として確立されてきた。今回我々は、LAMP法の皮膚ヘルペスウイルス感染症における臨床的有用性を検討することを目的とした。

【対象】

2006年～2010年までに藤田保健衛生大学病院に受診し、皮膚科専門医により臨床的にヘルペス関連疾患を疑いLAMP法を施行した106例を対象とした。対象となったヘルペス関連疾患の内訳は単純疱疹 38例、カポジ水痘様発疹症 11例、帯状疱疹 47例、水痘 10例であった。

【方法】

滅菌綿棒で皮疹・粘膜疹(水疱, びらん, 丘疹, 膿疱)をこすり、蒸留水 1 mlの入った滅菌スピッツに綿棒の先端を入れて拭い検体とした。それぞれの患者から 1 検体ずつ採取し、全ての検体にLAMP法およびReal-time PCRを施行した。LAMP法は直接拭い検体を用いて行い、さらにその後DNA抽出をした検体でも行った。

【結果】

LAMP法は検体のDNA抽出の有無に関らず同様の結果であった。Real-time PCRを決定

的とした際に、全検体におけるLAMP法の感度は93%であった。またLAMP法のウイルス別の感度は、それぞれHSV-1 89%、HSV-2 100%、VZV 94%であった。全てのLAMP法陽性検体でReal-time PCRと同様のウイルスが同定され、また全てのLAMP法陰性検体においてReal-time PCRも陰性であった。臨床診断別のLAMP法の感度は単純疱疹 96%、カポジ水痘様発疹症 78%、帯状疱疹 93%、水痘 100%であり、特異度は全ての臨床診断において100%であった。LAMP法偽陰性検体におけるReal-time PCRによるDNAコピー数はLAMP法陽性検体よりも有意に少なかった。

【考察】

LAMP法はDNA抽出をする必要がなく、直接検体を使用することができるため、迅速に皮疹部のヘルペスウイルスの存在を明らかにすることができる。また、HSVとVZVを区別することが可能であるため、使用する抗ウイルス薬の用量を適切に設定することができる。一方で、感染力の強い水痘を早期に確定診断し隔離をすることができれば、感染予防にもつながる。本検討では、LAMP法は皮膚におけるHSVおよびVZV感染症の確定診断をすることができたが、LAMP法の感度はReal-time PCRと比較すると若干劣っていた。しかし、皮疹部から十分なウイルス量を採取することができればLAMP法の感度はより向上する可能性がある。

【結論】

LAMP法は感度も高く迅速性に優れているため、臨床現場での皮膚ヘルペスウイルス感染症の診断において有用である。

論文審査結果の要旨

単純疱疹や帯状疱疹、水痘などの皮膚ヘルペス感染症は日常診療でよく遭遇する疾患であり、臨床的に診断が容易な典型的例も多い。一方で、口唇の接触皮膚炎や固定薬疹などと鑑別の必要な口唇ヘルペスの場合や、免疫の低下した症例における非典型的な症状を呈する水痘や帯状疱疹では、適切な治療を行うためには、迅速かつ精確な診断が必要である。これまでに、Tzanck試験や蛍光抗体法による特異抗原の検出、あるいはPCR法によるDNA検出が用いられてきたが、迅速性、精確性を兼ね備えた方法はなかった。

本論文は、栄研化学により開発された迅速かつ簡便な核酸増幅法であるloop-mediated isothermal amplification(LAMP法)を106例のヘルペス感染症患者に施行し、その臨床的な有用性を実証した。LAMP法の感度がHSV-1 89%、HSV-2 100%、VZV 94%であり、単純疱疹 96%、Kaposi水痘様発疹症 78%、帯状疱疹 93%、水痘 100%で、特異度はすべての臨床診断において100%であった。LAMP法は検査時間が1時間以内と迅速性に優れ、また簡便に施行できる。本論文は、臨床現場での皮膚ヘルペスウイルス感染症の診断におけるLAMP法の有用性を、多くの臨床例で実証した点で学位論文として十分な内容と評価した。