

論文審査の結果の要旨

氏名：野 口 博 康

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：Comparison of *Candida* detection frequencies in exfoliative cytology samples between loop-mediated isothermal amplification (LAMP) and conventional methods

（細胞診検体を用いた *Candida* 属検出における loop-mediated isothermal amplification (LAMP) 法と従来法との感度の比較）

審査委員：（主 査） 教授 今 井 健 一

（副 査） 教授 大 木 秀 郎

教授 浅 野 正 岳

教授 鈴 木 直 人

Candida albicans は口腔常在菌であり、口腔カンジダ症の原因となる。また、口腔内での *C. albicans* の日和見感染は、誤嚥性肺炎を惹き起こすことも知られている。*Candida* 属の検出方法には培養法、PAS 染色および real time PCR 法などがある。これらの方法は特殊な器材や装置を必要とする上に、時間と費用もかかる。そのため臨床では、検査結果を得る前に治療を開始するという事態が生じており、簡便かつ迅速な検査法が求められている。

Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) 法は、短時間で DNA の特異的な増幅を可能にするためにわが国で開発された遺伝子増幅法である。DNA 伸長反応中に、副産物として生成されるピロリン酸マグネシウムの白濁を濁度測定装置で測定することにより遺伝子発現の定量が行える。一方、擦過細胞診は、迅速・簡便かつ比較的安価な非侵襲的検査法で、口腔の前癌病変や口腔癌のスクリーニング検査として広く用いられている。本研究では、LAMP 法を用いて擦過細胞診検体から *C. albicans* の検出を試みるとともに、LAMP 法と従来法（培養法と PAS 染色）において *Candida* 属の検出感度を比較した。また、飲酒および喫煙習慣が *Candida* 属の検出率に与える影響についても検討した。

本学付属歯科病院口腔外科を受診し、擦過細胞診を施行した患者 53 名、68 検体を実験に用いた。擦過細胞診検体は Papanicolaou 染色により細胞形態学的な Class 分類を行った後、LAMP 法による *C. albicans* の検出および培養法と PAS 染色により *Candida* 属の検出を行った。

その結果、以下の結論を得た。

1. LAMP 法による *C. albicans* DNA の検出限界は 1 pg であり、DNA 量 1 pg は *C. albicans* 染色体の DNA 57 コピーに相当した。また、検出に要する時間は DNA 量依存的に短縮された。
2. 擦過細胞診検体における LAMP 法での *C. albicans* の検出率は 42.6% であり、調べた方法の中で最も高い検出率だった。
3. LAMP 法での *C. albicans* の Class 別検出率は、Class II 症例で 44.4%、Class III 症例で 50.0% であったのに対し、Class I と Class V 症例では 0% だった。
4. 飲酒および喫煙習慣は、いずれの方法においても *Candida* 属の検出率に影響を及ぼさなかった。

以上の結果から、LAMP 法は擦過細胞診検体から *C. albicans* を高感度かつ迅速に検出できることが示された。本研究は、口腔カンジダ症をはじめ *Candida* 属が原因となる様々な疾患の診断に、LAMP 法を応用する上で重要な基礎的知見を提供するものであり、口腔外科学ならびに関連分野の発展に寄与すると考えられた。

よって本論文は、博士（歯学）の学位を授与されるに値するものと認められる。

以 上

平成 29 年 3 月 8 日