

論文の内容の要旨

氏名：不 破 一 将

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：LAMP 法によるウレアプラズマの迅速な検出法の開発

【背景と目的】

早産の原因は様々であるが、特に在胎 32 週未満の早産児の約 50%に絨毛膜羊膜炎が存在する。従ってそのコントロールは早産の予防に重要と考えられている。絨毛膜羊膜炎の起原菌のひとつであるウレアプラズマは、炎症性サイトカインの産生を介して母体の破水、流産、新生児の慢性肺疾患、脳室内出血、壊死性腸炎の原因となる。ウレアプラズマはβラクタム系抗菌薬に耐性であり、適切な抗菌薬の投与には正確な診断法が重要である。現在、ウレアプラズマの検出には、培養法と PCR 法が一般的である。しかし、培養法は、操作が煩雑で判断に熟練を要し、また迅速性に乏しい。したがって、ウレアプラズマの検出法は PCR 法が一般的である。しかし、Universal primer を用い 16SrRNA を増幅後にシーケンス解析で同定する方法は高価である。一方、ウレアプラズマに特異的なプライマーを用いる方法は、迅速だが操作が煩雑で、臨床医が実務と並行して行うのは困難である。我々は、Loop-mediated Isothermal Amplification (LAMP) 法を用いてウレアプラズマを検出する方法を開発した。

【方法】

Ureaplasma parvum (*U. parvum*) と *Ureaplasma urealyticum* (*U. urealyticum*)にそれぞれ特異的な *ureaseB* 遺伝子を増幅する LAMP 法の 6 つのプライマーを作製した。 *U. parvum* の 4 つの株、 *U. urealyticum* の 5 つの株、ウレアーゼを有するまたは陰の常在する 14 の細菌でそれらのプライマーを評価した。46 人の妊娠経過に特に異常のない妊婦の陰スワブサンプルを用いて LAMP 法、培養法および PCR 法を比較した。

【結果】

U. parvum に対する LAMP 法のプライマーは、4 つの *U. parvum* の株すべてを検出可能であった。 *U. urealyticum* に対する LAMP 法のプライマーは、5 つの *U. urealyticum* の株すべてを検出可能であった。それらのプライマーは、14 の細菌に対し交差反応を認めず、検出感度は 100 copies/reaction で PCR 法と比べ 100 倍優れた感度であった。46 人の妊婦における培養法、PCR 法および LAMP 法によるウレアプラズマの検出頻度は、それぞれ 26.1% (12/46), 17.4% (8/46), and 26.1% (12/46)であった。培養法を対照とし LAMP 法の感度、特異度、陽性的中率および陰性的中率は、100% (12/12); 100% (34/34); 100% (12/12) および 100% (34/34)であった。一方、PCR 法の感度、特異度、陽性的中率および陰性的中率は、66.7% (8/12); 100% (34/34); 100% (8/8)および 89.5% (34/38)であった。

【結論】

LAMP 法によるウレアプラズマの検出法は、培養法および PCR 法より優れていた。LAMP 法によるウレアプラズマの迅速な検出により正確な診断し適切な抗菌薬が可能となる。ウレアプラズマによる絨毛膜羊膜炎に対する適切な介入が周産期予後の改善につながる可能性がある。