

図13 中～高リスク型HPV(女N=27)

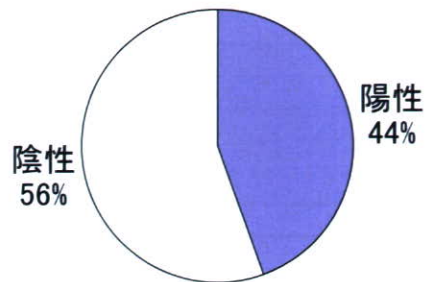


図14 低リスク型HPV(全体N=28)

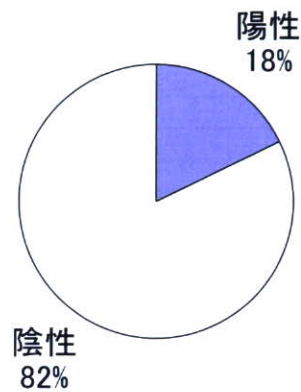


表1 検査項目・検査法

血清	:	HIV 抗体・抗原(スクリーニング) : EIA 法
		梅毒定性 : TPHA 法 / ガラス板法
		クラミジアトラコマチス IgA / IgG (EIA 法)
		HCV 抗体 3 : R I A
		HB s 抗原 : C L I A
スワブまたは尿	:	クラミジアトラコマチス : SDA 法
		淋菌同定 DNA : SDA 法
		HPV - DNA 同定
		HSV 特異抗原検出

表2 相談内容の集計結果

カテゴリー	男(N=487)		女(N=604)		
	N	(%)	N	(%)	
症状	自覚症状(痛み・かゆみ・炎症・膿な	104	21.4%	172	28.5%
	症状	32	6.6%	26	4.3%
	性器	82	16.8%	33	5.5%
	胸	4	0.8%	10	1.7%
	膣分泌液	3	0.6%	14	2.3%
	おりもの	4	0.8%	96	15.9%
	生理・排卵	28	5.7%	76	12.6%
	不正出血	11	2.3%	61	10.1%
	精液・射精・早漏	95	19.5%	19	3.1%
	真珠様小丘疹	19	3.9%	1	0.2%
STD	クラミジア	29	6.0%	59	9.8%
	淋病	15	3.1%	10	1.7%
	梅毒	11	2.3%	8	1.3%
	口唇・性器ヘルペスウイルス感染症	13	2.7%	29	4.8%
	尖圭コンジローマ・HPV	17	3.5%	21	3.5%
	膣トリコモナス症	0	0.0%	4	0.7%
	性器カンジタ症	1	0.2%	31	5.1%
	HIV感染症・AIDS	55	11.3%	26	4.3%
	毛ジラミ症	1	0.2%	3	0.5%
	A型・B型・C型肝炎	6	1.2%	3	0.5%
	赤痢アメーバ症	0	0.0%	0	0.0%
	感染経路	42	8.6%	53	8.8%
	異性間性的接触	70	14.4%	86	14.2%
	同性間性的接触	5	1.0%	0	0.0%
	性的接触(性別不明)	0	0.0%	0	0.0%
	予防法	21	4.3%	15	2.5%
全般	81	16.6%	102	16.9%	
検査・治療	検査法・治療法	58	11.9%	85	14.1%
	検査代・治療費	7	1.4%	7	1.2%
	検査・病院の信頼性	35	7.2%	49	8.1%
	検査場所・病院の場所	12	2.5%	13	2.2%
セックス全般	セックス	52	10.7%	95	15.7%
	妊娠・不妊・不感症	74	15.2%	115	19.0%
	中絶・流産	4	0.8%	14	2.3%
	ピル	4	0.8%	16	2.6%
	避妊	11	2.3%	22	3.6%
	基礎体温	7	1.4%	10	1.7%
	コンドーム	21	4.3%	12	2.0%
	オナニー	48	9.9%	12	2.0%
コミュニケーション	5	1.0%	25	4.1%	
セクシュアリティ	同性愛	4	0.8%	2	0.3%
	両性愛	0	0.0%	0	0.0%
	ジェンダー	1	0.2%	2	0.3%
他機関紹介	他機関紹介	1	0.2%	2	0.3%
	その他	41	8.4%	33	5.5%

## 性感染症検査に関する説明

当相談室では、性感染症（クラミジア、淋菌、梅毒、HBV、HPV（女性のみ）ヘルペス、HCV、HIV）に関する検査を受けることをおすすめ致します。検査結果につきましては、匿名のデータとして学会等で発表することがありますが、個人のプライバシーを厳守し、ご迷惑をおかけしないことをお約束致します。

なお、検査内容等についてご不明な点がありましたら、遠慮なく担当医にご質問下さい。

性の健康医学財団性の健康相談室

代表 松田 静治

性の健康医学財団性の健康相談室 松田 静治 殿

### 性感染症検査同意書

私は、性感染症検査、特に HIV 感染症検査の実施について \_\_\_\_\_ 医師より検査内容と必要性について十分説明を受け理解しました。

つきましては、性感染症検査および HIV 感染症検査を受けることに  
同意致します

HIV を除く検査のみ同意致します

同意致しません

また、検査結果を聞くことに

同意致します

同意致しません

平成 年 月 日

氏名

印

住所

緊急時の連絡先：(財)性の健康医学財団 電話 03-3813-4098



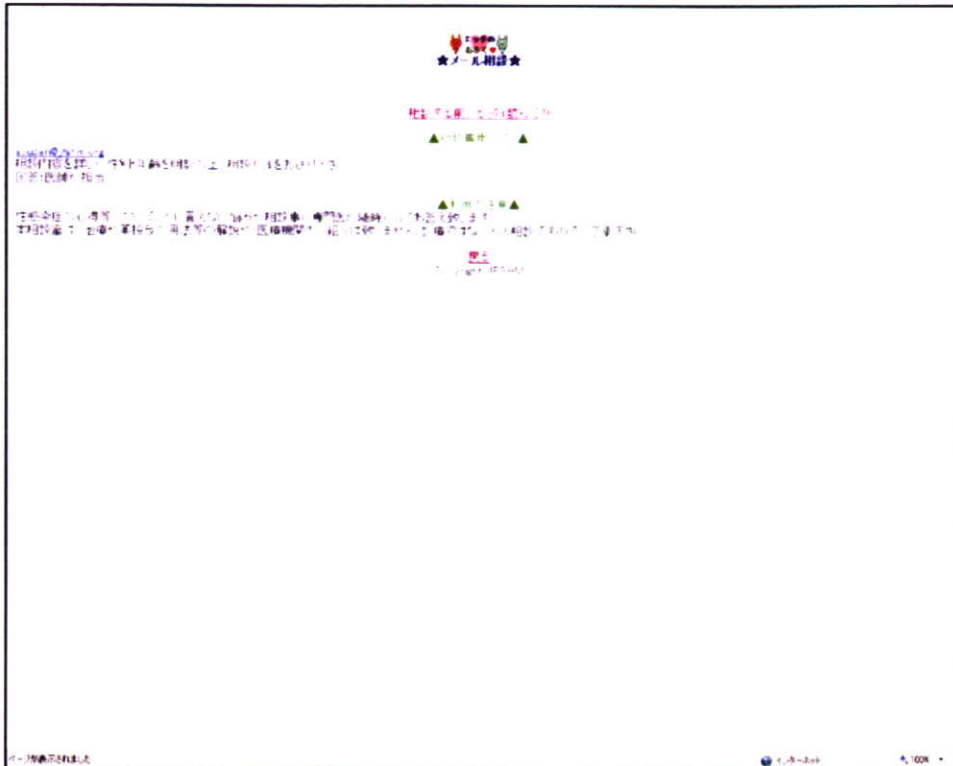
## 健康相談室・携帯サイトー 2

The screenshot shows a mobile website for a health consultation room. At the top, there is a logo for '健康相談室' and the text '★2月の健康相談室日程★'. Below this, there are several sections with bullet points and dates, detailing the schedule for February. The text is in Japanese and includes information about the location (Miyagi Prefecture Health Center), the dates of the consultation sessions (February 6th and 7th), and the topics to be discussed, such as '健康相談室の受付時間' and '健康相談室の受付時間'. The website has a clean, white background with blue and red accents. At the bottom, there is a footer with the text '健康相談室' and '1/20'.

## メール相談・パソコンサイト

The screenshot shows a desktop website for email and PC consultation. The main heading is 'e-mail性の健康相談'. Below this, there is a sub-heading '健康相談室の受付時間' and a list of consultation topics. The text is in Japanese and includes information about the location (Miyagi Prefecture Health Center), the dates of the consultation sessions (February 6th and 7th), and the topics to be discussed, such as '健康相談室の受付時間' and '健康相談室の受付時間'. The website has a clean, white background with blue and red accents. At the bottom, there is a footer with the text '健康相談室' and '1/20'.

## メール相談・携帯サイト



### 3. 性感染症における検査や治療法に関する研究開発

平成19年度厚生科学研究費補助金[新興・再興感染症研究事業]  
分担研究報告書

性器ヘルペスの病原診断法の開発

分担研究者 川名 尚 帝京大学医学部付属溝口病院産婦人科客員教授  
研究協力者 西澤美香 西井 修 帝京大学医学部付属溝口病院産婦人科  
田中道子 佐多徹太郎 国立感染症研究所病理部  
金子久俊 錫谷達夫 福島県立医科大学医学部微生物学講座

研究要旨：感度と特異性に優れ、しかも短時間に結果を出すことのできる核酸増幅法である LAMP 法について臨床検体を用いて培養法と比較して評価した。女性性器ヘルペス患者から得た 352 検体では感度 88.2%(105/119)、特異度 99.1%(231/233)と良好な結果を得た。HSV の型の決定はモノクローナル抗体による型と 100%一致した。偽陰性となった臨床検体についてみるとウイルス量が少ないことが考えられた。臨床の現場での簡易検査法とするために基礎的検討を行った。

A. 目的

単純ヘルペスウイルス(HSV)の感染による性器ヘルペスを正しく診断することは診断学的には当然であるが著効を示す抗ウイルス剤があるので治療学的にも必須である。

性器ヘルペスの診断には病原診断と血清診断があるが、病原診断が臨床診断には遙かに有効である。HSV には 1 型(HSV-1)と 2 型(HSV-2)があるが、HSV の型により臨床的意義が異なるので型を含めた検査室診断が要求される。

病原診断法として Real-time PCR 法と LAMP 法の開発を行っている。既に新鮮分離株による基礎実験によりそれぞれ新しく開発したプライマーは十分作動することを証明できたので、今回は臨床検体を用いる場合の問題点と簡易検査法として臨床で用いる場合の問題点について検討した。

B. 方法

① 対象：HSV を分離して診断した女性性器

ヘルペス患者 42 名を対象とした。患者には発症時に HSV 感染の診断と追跡調査として無症候性ウイルス排泄などの感染病態を検討する旨を口答で説明し同意を得た。検体は病変のある時は病変から、ない時は外陰や子宮頸管から細い綿棒で擦過し、ウイルス分離培養のために抗生物質と仔牛血清 5%の入った培養液と LAMP 法のための蒸留水の 2 種類のトランスポートメEDIUMにてそれぞれすすいで検体とした。

② 臨床検体：HSV-1 を分離した 25 名の患者から計 90 検体を採取した。そのうち 68 検体は培養陽性であった。HSV-2 を分離した 17 名の患者から計 262 検体を採取した。そのうち 51 検体が培養陽性であった。培養用検体を 4℃にて 2000rpm, 10 分遠心し、上澄を  $5 \times 10^5$ /ml に調整した R-66 細胞浮遊液 5ml に約 0.5ml 接種した。毎日観察し CPE が陽性(++~+++ )になったものについて細胞を採取しスライドグラスに塗抹し蛍光標識したマウスモノクローナル抗体(デンカ生研)により



同定と型の決定を行った。CPE の程度を～3(+)の4段階に分け、その観察は7日以上行った。CPEが2~3(+)となった日数を記載した。8日以上陰性の場合を陰性とした。

③LAMP法：金子らの作成したHSV-1とHSV-2のプライマーを用いた(Kaneko H, et al J Clin Microbiol. 2005;43:3290)。操作はHSV-1またはHSV-2プライマーミックスとDNA増幅試薬キット(栄研)を合わせて23 $\mu$ lに蒸留水で採取した検体2 $\mu$ lを添加した。65 $^{\circ}$ C 60分 インキュベートした後リアルタイム濁度測定装置 LA-200 テラメックス(株)を用いて濁度を測定し濁度 0.1 以上を陽性とし、0.1に達した時間で表わした。

### C. 結果

#### (1) LAMP法の感度の基礎的検討

当科で標準株として用いている TVK-171 (HSV-1)、THH-54(HSV-2)を蒸留水で希釈しLAMP法にて測定し感度の検討を行った。TVK-171は2 $\times$ 10<sup>2</sup>TCID<sub>50</sub>/25 $\mu$ l、THH-54は2 $\times$ 10<sup>3</sup>TCID<sub>50</sub>/25 $\mu$ lまでLAMP法で陽性となった。今回のプライマーはHSV-2に対してはやや感度が低いかも知れない。

#### (2) LAMP法による臨床検体の検討

A) 検出効率：計352検体のうち培養陽性が119検体あったが、このうちの105検体(88.2%)がLAMP法で陽性となった。一方、培養法陰性233検体のうち231検体(99.1%)が陰性となった(表1)。

表1 臨床検体における培養法との比較

		LAMP法		
		+	-	
培養法	+	105	14	119
	-	2	231	233
		107	245	352

LAMP法60分 感度 105/119 88.2%  
特異度 231/233 99.1%

B) 型特異性：培養法によりHSV-1と判定された15検体は全てLAMP法でもHSV-1と、培養法でHSV-2と判定された17検体はLAMP法でもHSV-2と判定され型別判定は100%一致した。

C) 偽陰性例の検討：今回培養陽性119検体のうち14例がLAMP法陰性となった。偽陰性となる因子としては、①ウイルス量が少ない ②プライマーに反応し難い株の存在 ③ウイルス量が多すぎると陰性になる(プロゾーンの存在) ④LAMPの反応を阻害する物質の存在など考えられた。

①ウイルスが少ない：臨床検体に含まれるウイルス量は様々であろう。中にはかなり少ない検体もあり得る。そこで検体に含まれているウイルス量を大体推定することによりLAMP法の結果と比較した。臨床検体に含まれるウイルス量はその都度測定していないのでそれに代わるものとして培養時HSVによる細胞変化(CPE)が2~3(+)になるまでの日数をもってした。予めウイルス価の判っている標準株を10倍希釈してウイルス量の減少と共に細胞変化2~3(+)の出現日が遅れることを確かめた。即ち、培養開始1~2日目で2~3(+)のCPEを示すものはかなりウイルス量があり、5~6日目になって2~3(+)になる場合はかなり少ない。その結果HSV-1についてはかなり少ないウイルス量でも検出できたが、HSV-2ではCPEの出現が5日目以上のようにウイルス量が少なくなるとLAMP法陰性が10例中6例あった。そこで感度の上昇を期待して反応時間を60分、70分、80分、90分と延長したところ感度は上昇したが特異度が低下した。その結果、原則として60分で濁度0.1以上を「陽性」と判定し、60~70分で0.1に達した場合は「参考」又は「判定保留」することにした。

②これらの偽陰性例が HSV の株差によるものかを検討するため、これらの患者から既に分離してあった HSV 株について検討したところ全ての株で反応がみられた。従って株差ではないようである。

③臨床検体の中に LAMP 法の反応系を阻害する物質の存在も考えられるがウイルス量が多い検体ではこのような偽陰性検体は少ないのでこの可能性は少ないようであるが今後の検討が必要である。

#### D) 偽陽性例の検討

①培養陰性で LAMP 法陽性の 2 検体は臨床的には HSV が検出されてもよいのでむしろ LAMP 法の方が感度が優れているとも考えられる。或いは活性のある HSV はなく HSV-DNA が残存していた可能性もある。

②LAMP 法の反応系で非特異的に濁りをもたらす可能性のある検体が 1 例あった。どのような物質がこのような反応をおこすか今後検討する必要がある。

③簡易 LAMP 法測定系の開発：臨床の現場で容易にこの測定法を用いるためにはいくつかの検討をしなければならない項目がある。

a) 試薬の安定性：7~11 ヶ月前に予め作っておいて -40℃に保存してあったプライマーミックスを用いて検討したところ、反応直前に調整したものと比べてほぼ同じ結果が得られた。

b) 臨床検体の量：現在の系では検体を 2 $\mu$ l という極く微量を用いているが、このような極く微量を採取することは臨床の場では不可能なので 10 $\mu$ l に増やしたところやや感度が低下したが反応した。

#### D. 考察

今回臨床検体 352 検体について検討した結果、感度 88.2%、特異度 99.1%と培養法にやや劣るもほぼ満足できる結果であった。また、型特異性も 100%一致した。このことはこのプライマーによる LAMP 法は臨床に十分使えることを意味している。但し HSV-1 プライマーの方が HSV-2 プライマーよりもやや感度がよいようである。培養法と乖離のみられた検体では検体中のウイルス量が 10<sup>2</sup>TCID<sub>50</sub>/25 $\mu$ l 以下の少ない場合は陰性になる可能性がある。そこで LAMP 法の反応時間を延長して感度の上昇を試みたが、90 分反応させると感度は上昇するが特異度が低下することが判明したので原則として 60 分で判定し、70 分での結果は参考データ(判定保留)にするのが現時点では妥当であろう。一方、活性のある HSV がなく培養が陰性となっても HSV-DNA があれば陽性となる可能性がある。LAMP 法の測定系を乱す可能性のある偽陽性検体が 1 検体見つかったので今後解析していく予定である。

今後臨床の場で簡易に用いることのできるようにするための基礎的検討を行ったところ、試薬は比較的安定のようであるので可能性がでてきている。

#### E. 結論

LAMP 法は感度・特異度・迅速性に優れ、臨床検査として用いることができる。臨床の場で用いることのできる簡易装置の開発の可能性はある。

#### F. 研究発表

##### 1. 原著論文

1) 川名 尚：

月刊「Mebio」メジカルビュー社 2007年1月号  
担当部分：①若者の性感染症の現状と対策  
24(1):22-27;2007 ②性器ヘルペスウイルス感染症  
24(1):102-109;2007.

2) 川名 尚：

新感染症学下 一新時代の基礎・臨床研究－  
感染症学総論 II.感染症法分類－発症・病態・診  
断・治療－ 五類感染症(定点把握)

担当部分：「性器ヘルペスウイルス感染症」  
65(3):331-338;2007.

3) Hisatoshi Kaneko, Takashi Kawana, Eiko  
Fukushima, Tatu Suzuki. Tolerance of  
loop-mediated isothermal amplification to a  
culture medium and biological substances.

J.Biochem.Biophys.Methods 70:499-501;2007.

## 2. 学会発表

1) 川名 尚：

「初発性器ヘルペスの感染病態について」

日本産婦人科学会千葉地方部会,平成18年度冬期  
学術講演会, 2007年2月,千葉

2) 西澤美香、川名 尚：

「新しい単純ヘルペスウイルス型特異抗体キッ  
ト Captia HSV の評価」

第48回日本臨床ウイルス学会2007年6月,富山

3) 田中道子、佐多徹太郎、西澤美香、川名 尚：

「Real-time PCR 法による性器感染ヘルペスウ  
イルスの検出：臨床検体への応用」

第48回日本臨床ウイルス学会2007年6月,富山

4) 堀場千尋、大黒 徹、川名 尚、白木公康：

「HSV-2 臨床分離株の gG における 21 アミノ酸  
欠失」 第55回日本ウイルス学会2007年10月、

札幌

5) 西澤美香、川名 尚、大貫裕子、金子久敏俊、  
錫谷達夫、西井 修：

「性器ヘルペス診断のための LAMP 法の基礎的  
臨床的検討」第20回日本性感染症学会学術大会  
2007年12月,東京

## 厚生労働科学研究

「性感染症に関する特定感染症予防指針の推進に関する研究」  
主任研究者 小野寺昭一（東京慈恵会医科大学感染制御部教授）

### 分担研究報告書

イムノクロマトグラフィー法による単純疱疹ウイルスおよびヒト乳頭腫ウイルスの迅速検出法の開発

分担研究者：本田まりこ（東京慈恵会医科大学皮膚科教授）

研究協力者：萩原正則（東京慈恵会医科大学皮膚科）

佐々木一（同上）

堀田健人（同上）

#### 研究要旨

性器ヘルペスおよび尖圭コンジローマを含むヒト乳頭腫ウイルス感染症（human papillomavirus, HPV）は近年増加傾向であり、女性の性感染症の中でクラミジア感染症に次いで多い疾患となっている。これらの疾患の診断はもっぱら臨床症状によるが、補助診断として性器ヘルペスは抗原検査や抗体検査が行われ、HPV感染症はスミアや生検による組織検査が保険で承認されている。我々は迅速診断としてイムノクロマトグラフィー法（イムノクロマト法）をとりあげ、HPVに対する各社のモノクローナル抗体（HPV-6, 11, 16, 18など）やポリクローナル抗体を用いて検索を行った。いろいろな組み合わせで検討を行ったが、すべて陰性であった。これは、組織中のHPV量が少ないとためと思われた。

#### A. 目的

性器ヘルペスやHPV感染症の診断は臨床症状によって行われる。再発性性器ヘルペスの主な原因となるHSV-2は、成人日本女性の約15%にHSV-2の抗体を保有している。HSV-2抗体を保有するものはCoreyらの調査によると約20%しか性器ヘルペスに罹患していることを認識しておらず、約60%は性器に何らかの症状を有しているが性器ヘルペスとして認識していないという。逆に、ベーチェット病、接触皮膚炎、固定薬疹、脂漏性皮膚炎、毛嚢炎などは、HSV<sub>gG</sub>による型特異的ではないHSV抗体検査で、抗体を保有しているだけで、性器ヘルペスと誤診さ

れているものも多い。一方、尖圭コンジローマも、脂漏性角化症、光沢苔癬など他の皮膚疾患と間違われている症例もある。日常診療では、これらの疾患を迅速に診断する必要がある。特に、再発を頻回に繰り返す性器ヘルペス患者に対してパラシクロビルによる抑制療法が我が国でも2006年9月に承認され、また、尖圭コンジローマなどのヒト乳頭腫ウイルス感染症もワクチンが開発されたことにより簡単な迅速診断法の確立が必要になってきている。

最も感度が高いと云われているポリメラーゼ連鎖反応（polymerase chain reaction, PCR）法は、検出感度《現在最高感度》 $10^3 \sim 10^4$  CFU/

mLであるが、操作が複雑で、特別な機器を用い、測定に数時間を要するという欠点がある。我々は迅速診断法としてLoop-mediated Isothermal Amplification Method (LAMP法)を試みたところ、検出感度はPCR法とほぼ同等であり、操作はPCR法と比べ簡単であり、30分から1時間で検出できたが、特別な機器を用いなければならない。

従って、今回、我々はイムノクロマトグラフィ法による迅速診断法の確立を目的とした。イムノクロマト法は、ウイルス抗原を検出する感度が高い方法で、毛細管現象により抗体がメンブレン上を移動する際、抗体中の抗原と色素標識抗体および捕捉抗体の3者により抗原抗体複合体が形成され、その標識色素を目視で確認する測定方法である。妊娠反応やインフルエンザの迅速診断に専ら使用されている方法で、操作が簡便（誰でもできる）、特別な装置が不要（判定は目視）、測定に3から30分と迅速という長所がある。

## B. 対象・方法

慈恵医大青戸病院皮膚科に受診したHPV感染症患者を対象とし、病変部を擦過および生検にて採取し、抗原検出用、核酸検出用、イムノクロマトグラフィ法の3つに分け使用時まで-80℃に保存した。LAMP法にてHPV型が判定できている9例の尖圭コンジローマ患者について抗原検査とイムノクロマト法を行った。患者は男2例、女7例で、年齢は17歳から79歳（平均年齢35.9歳）である。

### 使用抗体

抗パピローマウイルスポリクローナル抗体（ウサギ、東京慈恵会医科大学皮膚科作成）、抗パピローマウイルスポリクローナル抗体（ウサギ、ニチレイバイオサイエンス社：ウシパピローマウイルスtype1から作成し、すべてのHPV

と反応）、抗ヒト乳頭腫ウイルスモノクローナル抗体（マウス、abcam社：ウシパピローマウイルスtype1から作成し、HPV-1, 6, 11, 16, 18, 31と反応）、抗ヒト乳頭腫ウイルスtype6, 11, 18モノクローナル抗体（マウス、Fitzgerald社：HPV-6 L1）。

## 組織化学

尖圭コンジローマのパラフィン切片に各種抗体を第1抗体としてアビジン-ビオチン複合体染色法を行った。

## イムノクロマトグラフィ法

### 1) 至適 pHの検定

モノクローナル抗体 pH 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0

ポリクローナル抗体 pH 7.0, 7.5, 8.0, 8.5, 9.0

各pHで、金コロイドと抗体を反応。O.D. 580 OD値の最も低いpHを選出

### 2) 最小被覆タンパク量の検定

抗体10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100  $\mu$ g/ml

O.D. 580 OD値の最も低いpHで金コロイドと各濃度の抗体と反応。OD値の最も低いタンパク量を選出

### 3) 抗体感作

至適pHと最小被覆タンパク量で金コロイドを感作。これを標識抗体とし、各種濃度に捕捉抗体を作成。

## C. 結果

### 組織化学

全例組織学的に尖圭コンジローマの像を示し、免疫組織学的に顆粒層内の核に乳頭腫ウイルス抗原を検出した。モノクローナル抗体は、ポリクローナル抗体よりも染色性が悪かった。

## イムノクロマトグラフィ法

東京。892-3, 2008

ポリクローナル抗体とポリークロナル抗体、モノクローナル抗体とモノクローナル抗体、ポリクローナル抗体とモノクローナル抗体、モノクローナル抗体とポリクローナル抗体の組み合わせで行ったが、いずれも反応が見られなかった。

### D.考察

切片上では、いずれの抗体も HPV を検出できたが、生の材料では検出できなかった。これは HPV が露出していない可能性もあり、界面活性剤の使用、プロテアーゼ K などのタンパク分解酵素の使用が必要なかもしれない。また、イムノクロマトグラフィ法はインフルエンザの初期の場合に検出できないことを考えるとウイルス量が少なすぎるのかもしれない。

### 業績

- 1) Hagiwara M, Sasaki H, Matsuo K, Honda M, Kawase M, Nakagawa H : Loop-mediated isothermal amplification method for detection of human papillomavirus type 6, 11, 16, and 18. J Med Virol:79(5):605-15, 2007.
- 2) 本田まりこ : 皮膚感染症。岡部信彦編 小児感染症学。診断と治療社、東京 104-9, 2007
- 3) 本田まりこ : 単純疱疹、帯状疱疹。太田 健、奈良信雄編、今日の診断基準。南江堂、東京、843-6, 2007
- 4) 本田まりこ : 性器ヘルペスの診断・治療 : 新しい展開。泌尿器外科、20 (臨増) 471-2, 2007
- 5) 本田まりこ : 再発性ヘルペスの再発抑制療法。宮地良樹編、WHAT' S NEW in 皮膚科学 2008-2009。メディカルレビュー社、東京、78-79, 2007.
- 6) 本田まりこ : 抗ウイルス薬。臨床皮膚 49:1173-79, 2007
- 7) 本田まりこ : 単純ヘルペス。山口徹 北原光夫、福井次矢編。今日の治療指針。医学書院、

厚生労働科学研究費補助金（無症候性 STI に関する研究）

分担 研究年度終了報告書

淋菌性咽頭感染の実態と治療に関する研究

分担研究者 松本哲朗 産業医科大学医学部泌尿器科 教授

## 研究要旨

淋菌が咽頭に感染しても多くの場合、無症候に経過し無治療となる場合が多く、咽頭を介して拡散している可能性が高い。また、生殖器淋菌感染症に対して、治療を受けた場合でも、咽頭の淋菌は除菌されにくく、生殖器感染と同様の治療法では咽頭から確実に消失させることが出来るとは限らない。これまでに cefodizime は、生殖器淋菌感染症に対して、1g 単回静注投与で十分な治療効果を有するが、咽頭感染に対しては、2g に増量した場合でも、単回投与で除菌率は 55% (6/11) であり、複数回投与が必要であることを報告している。淋菌咽頭感染は、自覚症状の有無に関わらず、パートナーへ感染させる可能性が高いため、除菌は必須である。咽頭へ感染した淋菌を消失させる治療法確立を目的として、ceftriaxone 1g 単回投与の治療効果を検討した。その結果、ceftriaxone 1g 単回投与は、生殖器淋菌感染症患者 48 例中 48 例淋菌消失、咽頭淋菌感染患者 25 例中 25 例消失させた。したがって、咽頭に感染している淋菌は ceftriaxone 1g 単回投与により除菌可能であると結論した。

この臨床試験で臨床効果判定可能であった生殖器由来 48 株および咽頭由来 25 株について、PCR により経口セフェム耐性株と一致する PBP-2 の変異株を検出したところ、生殖器由来株の 39.7%、咽頭由来株の 55.2% を占めた。生殖器と咽頭より同時に淋菌が検出された 19 例について染色体 DNA の制限酵素 *Spe I* による切断パターンをパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) を用いて比較検討したところ、19 組のうち 1 組を除いて一致し、それらの株は感受性パターンも一致していた。1 組は切断パターンおよび薬剤感受性ともに異なっていた。また、これまで cefodizime 投与により除菌できなかった淋菌についても、投薬前の菌株と投薬後の淋菌についても同様に PFGE パターンを比較検討したところ、14 例全例それぞれが一致し、同一菌株の感染が持続していたことを確認した。

咽頭の淋菌検出を培養法および核酸増幅法で検討する予備試験として、*Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria lactamica*, その他 *Neisseria spp.* を用いて、日水 ID テスト、VITEK NH カードを用いて同定に関する検討を実施した。生化学性状試験である前者 2 つの培養同定法では、ID テストで同定された ATCC49226 株を含む *Neisseria gonorrhoeae* 10 株、ATCC13077 株を含む *Neisseria meningitidis* 13 株および *Neisseria lactamica* 6 株は VITEK2NH 同定カードの結果も一致した。その他の *Neisseria* 属 6 株は、ID テストと VITEK2NH 同定カードの同定菌名はすべて異なったが、*Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis* と誤同定された株は無かった。臨床的には、*N. gonorrhoeae* および *N. meningitidis* を確実に同定し、偽陽性を認めないことが重要であるが、両同定法ともこの条件を 100% 満たしていた。

## A. 研究目的

近年の淋菌の抗菌薬耐性化は顕著であり、多剤耐性化が進んでいる。Penicillinase 産生株は現在では数%以下であるが、 $\beta$ -lactam 剤の標的酵素である Penicillin 結合たんぱく質 (PBP) の変異株が 90% 以上を占めている。Tetracycline および fluoroquinolone 耐性株も 80% を超えてしまっている。有効な薬剤であった第三世代経口セフェムについても、耐性株による臨床的無効例が 1999 年に報告されて以来、増加傾向を示し、地域的な差異は認められるもののその頻度は、30~50% 程度に達している。現在第三世代経口セフェムの常用量では、この耐性菌にはいずれも無効である。経口セフェムの中で、淋菌に対して、最も強い抗菌力を有する cefixime の 200mgx2 回投与は、ある程度効果が認められるが、無効例も多数報告されている。したがって、保険適応を有し、確実に有効な薬剤は ceftriaxon、cefodizime と spectinomycin の 3 剤である。

一方、淋菌による生殖器感染は、男性では強い症状を伴って現れるが、女性では無症状で経過することがしばしば認められる。このことが STI の増加の一因である。また近年性行動の多

様化により、これらの微生物が咽頭に感染している例が増加している。多くの場合、無症候に経過し、咽頭を介してこれらの微生物が拡散している。男性淋菌性尿道炎患者の大半がコマーシャルセックスワーカー (CSW) によるオーラルセックスからの感染であることから明らかである。

咽頭に感染している淋菌に対して、spectinomycin の効果は低いことが報告されており、咽頭からの除菌治療に使用できる薬剤は、cefodizime と ceftriaxone である。われわれはこれまでに cefodizime 1g 単回投与および 2g 単回投与による治療効果を検討したが、cefodizime は、生殖器淋菌感染症に対して、1g 単回静注投与で十分な治療効果を有するが、咽頭感染に対しては、1g 単回投与時の除菌率 64% (16/25)、2g に増量した場合でも、単回投与では除菌率 55% (6/11)にとどまった。 $\beta$ -lactam 系薬剤の作用は、Time above MIC と相関することが知られているため、投与量ではなく、投与回数を増やす必要があると考えられた。これまでの無効例に対する治療結果より、連日投与を行えば、咽頭の淋菌は除菌可能であるが、咽頭に淋菌が感染している場合でも、自覚症状が



ないため、来院しなくなってしまうことが問題点である。淋菌咽頭感染は、自他覚症状の有無に関わらず、パートナーへ感染させる可能性が高いため、除菌は必須であり、確実な治療法の確立が望まれる。

これまでの結果を踏まえて、咽頭へ感染した淋菌を消失させることを目的として、2004年6月に保険適応となった ceftriaxone 1g 単回投与の治療効果を検討した臨床試験の最終報告および咽頭と生殖器由来淋菌の同一性に関する検討ならびに咽頭の淋菌検出を培養法および核酸増幅法で検討するために各種検出法に関する検討について報告する。

## B. 研究方法

北九州地区において多施設共同研究を、2004年8月より実施した。対象は、生殖器に淋菌が感染している患者または感染していることが疑われる16歳以上の患者として、咽頭の淋菌の有無について検討を行った。治療は、ceftriaxone 1g 単回投与とした。投薬終了3から14日後の淋菌培養検査を指標に評価を行った。問診にて性行為を行っていないことが確認されれば、14日を過ぎても28日までは採用することとした。

淋菌検査はすべて、New York City 寒天培地、Thayer Martin 寒天培地およびチョコレート寒天培地を用いた培養法にて実施した。薬剤感受性測定は、CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute)法に準拠して実施した。

この試験にて、生殖器と咽頭より同時に淋菌が検出された19例について染色体DNAの制限酵素 *SpeI* による切断パターンをパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) を用いて比較検討した。また、これまで cefodizime 投与により除菌できなかった淋菌についても、投薬前の菌株と投薬後の淋菌についても同様に染色体DNAのPFGEパターンを比較検討した。

*Neisseria gonorrhoeae*,  
*Neisseria meningitidis*,  
*Neisseria lactamica*, その他  
*Neisseria spp.* を用いて、日水 ID テスト、VITEK NH カード、アンプリコア STD-1、BD プロブテックを用いて同定に関する検討を実施した。

(倫理面の配慮) 本研究の目的を説明した上で、咽頭の淋菌検査およびデータを研究に使用すること、その際、個人情報は一切使用しないことを説明し、文書同意が得られた場合のみ、本

試験に組み入れている。本試験はアジア臨床研究会での倫理審査を受けており、また本治療法は保険診療の範囲内であり、危険性および倫理面での問題はない。

### C. 研究結果

ceftriaxone 1g 単回投与は、生殖器淋菌感染症患者 48 例中 48 例淋菌消失、咽頭淋菌感染症患者 25 例中 25 例消失させた。

この臨床試験で臨床効果判定可能であった生殖器由来 48 株および咽頭由来 25 株について、PCR により経口セフェム耐性株と一致する PBP-2 の変異株を検出したところ、生殖器由来株の 39.7%、咽頭由来株の 55.2% を占めた。

生殖器と咽頭より同時に淋菌が検出された 19 例について染色体 DNA の制限酵素 *Spe* I による切断パターンをパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) を用いて比較検討したところ、19 組のうち 1 組を除いて一致し、それらの株は感受性パターンも一致していた。1 組は切断パターンおよび薬剤感受性ともに異なっていた。

また、これまで cefodizime 投与により除菌できなかつた淋菌についても、投薬前の菌株と投薬後の淋菌についても染色体

DNA の PFGE パターンを比較検討したところ、14 例全例それぞれが一致し、同一菌株の感染が持続していたことを確認した。

咽頭の淋菌検出を培養法および核酸増幅法で検討する予備試験として、*Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria lactamica*, その他 *Neisseria* spp. を用いて、日水 ID テスト、VITEK NH カード、アンプリコア STD-1、BD プローブテックを用いて同定に関する検討を実施した。生化学性状試験である前者 2 つの培養同定法では、ID テストで同定された ATCC49226 株を含む *Neisseria gonorrhoeae* 10 株、ATCC13077 株を含む *Neisseria meningitidis* 13 株および *Neisseria lactamica* 6 株は VITEK2NH 同定カードの結果も一致した。その他の *Neisseria* 属 6 株は、ID テストと VITEK2NH 同定カードの同定菌名はすべて異なつたが、*Neisseria gonorrhoeae*、*Neisseria meningitidis* と誤同定された株は無かつた。

### D. 考察

現在淋菌に保険適応を有する薬剤で、耐性菌が存在しないかまたは、非常にまれであると考えられる薬剤は、注射薬である

cefodizime、spectinomycin および ceftriaxone だけである。また、spectinomycin は、生殖器淋菌感染に対する効果は認められるものの咽頭の淋菌に対する除菌効果が劣ることが報告されている。我々の検討では、cefodizime は、複数回投与により咽頭の淋菌除菌が可能であるが、単回投与では、除菌率が悪く、確実な治療法を確立することが急務と考えられた。今回 ceftriaxone 1g 単回投与による咽頭の淋菌除菌効果は、治療後の検査が可能であった 25 例全例で淋菌の消失を確認することが出来た。cefodizime (0.008-0.125  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) と ceftriaxone (0.004-0.125  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) の抗菌力はほぼ同等であり、この 2 剤でもっとも異なるところは、生物学的半減期である。cefodizime も  $\beta$ -lactam 系薬剤の中では比較的長い 2.4 時間と報告されているが、ceftriaxone は 8.1 時間と報告されている。cefodizime 無効例に関しても、複数回投与により咽頭の淋菌を消失させることが可能であったため、この半減期の違いが咽頭の淋菌消失率に影響している可能性が考えられる。

米国では淋菌の治療に関しては、ceftriaxone 125 mg 筋注が推奨されており、国内での 1g 単回投与の是非については不明

である。しかしながら、ほぼ同等の抗菌力を有する cefodizime 2g 単回投与においても咽頭の淋菌を除菌できない場合もあることおよび今後の耐性化を考慮すると ceftriaxone は 1g 単回投与で用いられるべき薬剤であると考えられる。

また、咽頭感染と生殖器感染はほとんどが同じクローンで起こっており、職業女性だけでなく、一般女性においても性行動が多様化していることをあらわしているものと思われる。また、cefodizime による治療無効例についても同一クローンの持続であることが示された。

*Neisseria* 属の同定においては、臨床的には、*N. gonorrhoeae* および *N. meningitidis* を確実に同定し、偽陽性を認めないことが重要であるが、日水 ID テストおよび VITEK2NH 同定カードともこの条件を 100% 満たしていた。日水 ID テストおよび VITEK2NH 同定カードとも *Neisseria gonorrhoeae*、*Neisseria meningitidis* の同定が可能であり、VITEK 同定カードは菌液調整後全自動で結果が得られるため、有用性の高い同定カードであると考えられた。咽頭からの淋菌検出の際には、核酸検出法が使用可能であるが、それぞれの検出法の特徴を明ら

かにしておく必要があり、口腔内常在菌との交差性などをさらに検討する予定である。

#### E. 結論

今回の結果より、生殖器淋菌感染者の咽頭に淋菌が高頻度で感染している事実が明らかとなった。また、女性の場合には生殖器に淋菌が存在しない場合でも咽頭のみで淋菌が感染している例が認められ、パートナーが淋菌感染症である場合や再発を繰り返す場合には、生殖器だけでなく咽頭の淋菌検査は重要である。治療に関しては、ceftriaxone 1g 単回投与により咽頭の淋菌を消失させることが可能であると考えられた。

淋菌咽頭感染は、自覚症状の有無に関わらず、パートナーへ感染させる可能性が高いため、除菌は必須であり、培養検査だけでなく、DNA や RNA を検出する核酸増幅法の確立が必要である。

検出法については、口腔内常在 *Neisseria* を含め、現在 n 数をさらに増やし実施中であり、さらに核酸増幅法ならびに 16S rRNA の DNA 塩基配列の決定を実施中である。

来年度は、本年度予定していたが実施できなかった淋菌の咽頭感染実態調査を咽頭スワブ検

体だけでなく、嗽液を検体として追加するとともに、咽頭の淋菌の培養法以外での検出方法である BD プローブテックなども用いて検討する。また、ceftriaxone 以外の薬剤による咽頭からの淋菌の除菌法についても基礎試験を含め検討する。

#### F. 研究発表

学会発表

村谷哲郎、安藤由起子、川井修一、西昇平、赤坂聡一郎、松本哲朗 咽頭淋菌感染者に対する Ceftriaxone 1g 単回投与の除菌効果について。日本性感染症学会第 20 回学術大会 Abst#15 東京, 2007

小林とも子、村谷哲郎、松本哲朗 新しい淋菌同定検査 VITEK2 NH 同定カードの有用性に関する検討。日本性感染症学会第 20 回学術大会 Abst#39 東京, 2007