

図5 再発性器ヘルペスの治療法の選択(川名)

抑制療法中に妊娠した場合は服薬を中止することとしている。現在まで抑制療法中に妊娠・分娩した例に異常児は生まれていない。長期に服用するため本剤に耐性ウイルスの出現が危惧されるが、実際はそのようなことはない。

著者の再発性器ヘルペスの治療法の選択を図5に示した。まず年間の再発回数が6回以上で患者の希望があれば抑制療法を行う。バラシクロビル(VACV)1錠1日1回の服用で始める。この方法で服用中に再発してしまう場合は1/2錠を1日2回にすると、血中濃度の日内変動の差が小さくなるので再発しなくなる例が多いようである。年間再発回数が5回以下の場合発症時治療が原則であるが、持続性に坐骨神経痛症状を訴える場合などは抑制療法の適応があると考えている。再発抑制療法に対しては患者ごとにその姿勢が異なる。発症時の症状が非常に軽いときは既婚者で中年の女性は抑制療法を必ずしも希望しないが、未婚者で新しい恋人がで

きたような女性ではパートナーへの感染を恐れてその希望は強い。抑制療法を1年間行った後の再発の頻度がどうなるかは、患者にとって大きな関心事である。抑制療法後に再発回数が減少したという報告もある一方、不変であったとの報告もある。確かに再活性化されたHSVの増殖を抑えておけば知覚神経節におけるHSVの量は次第に減少していく可能性はあるので、中止した後の再発回数は減少することもあり得る。この点は今後の大きな課題と考えている。

おわりに

性器ヘルペスの制御には抑制療法によりHSVの排泄を抑えること、型特異的抗体の測定によりパートナーにHSV-2感染のあることを知らせること、そして、コンドーム推奨が重要であるとの提言がある¹⁾。

性器ヘルペスが若い女性を中心に増加しつつある現在、傾聴すべき提言であろう。

文献

- 1) Patel R, et al: Impact of suppressive antiviral therapy on the health related quality of life of patients with recurrent genital herpes infection. *Sex Transm Infect* 75(6): 398-402, 1999.
- 2) Obara Y, et al: Distribution of herpes simplex virus types 1 and 2 genomes in human spinal ganglia studied by PCR and in situ hybridization. *J Med Virol* 52(2): 136-142, 1997.
- 3) Nahmias AJ, et al: Clinical aspects of infection with herpes simplex viruses 1 and 2. In: *The Human Herpesviruses: An Interdisciplinary Perspective, and Management* (ed by Nahmias AJ, et al), p3-9. Elsevier, New York, 1981.

- 4) Roberts CM, et al: Increasing proportion of herpes simplex virus type 1 as a cause of genital herpes infection in college students. *Sex Transm Dis* 30: 797-800, 2003.
- 5) Wald A, et al: Reactivation of genital herpes simplex virus type 2 infection in asymptomatic seropositive persons. *N Engl J Med* 342(12): 844-850, 2000.
- 6) 田中道子ほか: 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 3 日, 富山.
- 7) 塚越静香ほか: Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) 法による性器ヘルペス迅速診断. *日性感染症誌* 17(1): 104-109, 2006.
- 8) 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 PLATELIA HSV の評価. 第 49 回日本臨床ウイルス学会, 2008 年 6 月 14 日, 名古屋.
- 9) CDC: Sexually transmitted diseases treatment guidelines 2002. *MMWR Recomm Rep* 51(RR-6): 1-78, 2002.
- 10) Leone PA, et al: Valacyclovir for episodic treatment of genital herpes: a shorter 3-day treatment course compared with 5-day treatment. *Clin Infect Dis* 34: 958-962, 2002.
- 11) Hook EW, Leone P: Time to translate new knowledge into practice: a call for a national genital herpes control program. *J Infect Dis* 194(1): 6-7, 2006.

性感染症 診断・治療ガイドライン 2008

川名 尚*

要 旨

- ・日本性感染症学会では 2002 年に初版を発行し、以来 2 年毎に性感染症 診断・治療ガイドラインを改訂して最新版を 2008 年 12 月に発行した。
- ・オーラルセックスなど性行為の多様化により咽頭や眼の感染症もみられるようになり、2008 年度版に「口腔咽頭と性感染症」、「眼と性感染症」を付け加えた。
- ・淋菌感染症の治療薬として薬剤耐性淋菌の増加により保険適用を有し確実に有効な薬剤が注射薬 3 剤となった。オーラルセックスの日常化により咽頭の淋菌感染がみられるようになったが性器よりも治療が難航することがある。
- ・尖圭コンジローマの治療法に新たに保険適用となった外用薬である 5% イミキモドクリームを凍結療法、焼灼法などとともにファーストラインとして位置付けた。
- ・性器クラミジア感染症の治療薬剤について疾患毎に推奨レベルを明記した。
- ・性器ヘルペスの再発抑制療法について詳述した。

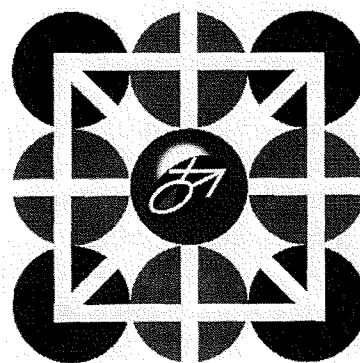
はじめに

日本性感染症学会は 1989 年に設立され 2008 年 12 月に第 21 回学術集会を開催した。この間、年 1 回の学術集会と年 2 回の日本性感染症学会誌を発行してきた。学会の重要な活動として学会独自の性感染症 診断・治療ガイドラインを作成してきた。本稿では、最新の 2008 年度版(図)¹⁾について 2006 年度版²⁾との変更点について概説したい。

本ガイドラインの経緯

学会設立当初より性感染症に関する診断・治療ガイドラインの要望があり、1999 年から 3 年間にわたり主な性感染症に対してそれぞれ小委員会を設け、診断と治療について検討を加えたものを

日本性感染症学会誌
Japanese Journal of Sexually Transmitted Diseases
第 19 巻 第 1 号 Supplement
性感染症 診断・治療 ガイドライン 2008



日本性感染症学会
JAPANESE SOCIETY FOR SEXUALLY TRANSMITTED DISEASES
図

*KAWANA Takushi 帝京大学医学部附属溝口病院産婦人科 (〒213-8507 川崎市高津区溝口 3-8-3), 日本性感染症学会常任理事

学会誌に掲載してきた。これらをまとめたものを2002年に「性感染症 診断・治療ガイドライン2002」として発行した。その後、2004年版、2006年版、そして今回の2008年版と2年毎に改訂を行ってきた。このような改訂を行ってきたのは、薬剤耐性淋菌の出現、新しい薬剤の開発、感度・特異度の高い検査法の開発、さらに初交年齢の低下やオーラルセックスの日常化など、性行動の変化に伴ってさまざまな新たな問題が提起されてきたからである。

2002年以来、本邦で問題となる性感染症のうち17疾患を取り上げて、そのときどきの最良の診断・治療法を記載してきた。2006年度版には、学会員からの要望もあり、症状から診断に至るためのプロセスに必要な「症状とその鑑別診断」と題した項を付け加えた。

2008年には、性行動の多様化により性器だけでなく口腔、咽頭や眼にも感染が拡大することが多くなったことに鑑み、「口腔咽頭と性感染症」、「眼と性感染症」を付け加えた。これらの部位の感染症に対して、主に性器の感染症を扱ってきた泌尿器科医、産婦人科医、皮膚科医には馴染みがないために、文章による解説に加え多くの写真を載せて理解を深めることにした。

本ガイドラインには、性感染症に関する資料を提供することを目的として厚生労働省の告示である「性感染症に関する特定感染症予防指針」と「後天性免疫不全症候群に関する特定感染症予防指針」を載せてある。さらに、厚労省による性感染症の発生動向調査とその基礎となる「感染症法に基づく届出の基準」も掲載し、性感染症に関する総合的な資料の提供を目指した。このような改訂により、2002年は53頁であったものが、2008年には143頁と大幅に頁数が増加した。

本ガイドラインの作成過程

本ガイドラインは、各疾患についての本邦の指導的立場にいる学会員が原案の執筆を担当し、これらをさらにそれぞれの疾患の専門家と考えられる2~3名のコメンテーターを学会員の中から選び検討を加えて作成してきた。そして、最終的に

常任理事会で承認するという方式をとってきた。その構成は共通した項目として、①疾患の概要、②症状と診断、③治療法、④パートナーの治療を述べ、さらに⑤コメントとして上記の四項目を補充する大切なポイントを述べるという形式を採用した。

一般に医学医療上のガイドラインとは、EBMに基づいた標準治療ともいわれるように、その作成のプロセスとしては、①関連文献の徹底したreview、②科学的証拠のランク付け、③原案の作成、④臨床現場医師を含めたconsensus meeting、⑤専門家の評価、⑥試行期間などを経て完成させ有効期間を定めて公布させるものとされている。この立場から本ガイドラインの作成過程をみると決して満足できるものとはいえない。

残念なことに性感染症に関しては、本邦での質の高い研究は非常に少ないのが現状であるため、外国の文献を参考にすることになるが、性感染症に関しては国や民族により状況が異なるうえに、薬剤については本邦で承認されていないものや保険で使用できないものなども多くあるので、外国文献は必ずしも参考ににならない。そこで、それぞれの感染症のエキスパートが文献を参考にしつつ長年の臨床経験をもとに原案を作成し、より客観的に質を高めるべくさらにこれを2~3名の別のエキスパートが加筆訂正をする方法をとった。しかし、consensus meetingなどを含めた上記の過程を経て作成することが望ましく、今後もよりよいガイドラインに近付けるべく努力をすべきであろう。

各論

本ガイドラインの内容は表のように多数あるが、以下の四つの性感染症について2006年度版から変更した点について述べてみたい。

1. 淋菌感染症

淋菌感染症における最近の問題は、薬剤耐性淋菌の増加と咽頭感染の増加とその治療である。

近年、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。かつて使用されていたPenicillin Gの耐性菌であるペニシリナーゼ産生株

(PPNG)は現在では数%以下であるが、 β -ラクタム薬の標的酵素であるペニシリン結合蛋白の変異株が90%以上を占めている。テトラサイクリンおよびニューキノロン耐性株も80%を超えている。第三世代セフェム系薬も耐性株が増加傾向を示し、第三世代経口セフェム系薬においても常用量では無効例もある。したがって、保険適用を有し確実に有効な薬剤はセフトリアキソン、セフォジジム、スペクチノマイシンの3剤のみである。

オーラルセックスの日常化により淋菌の咽頭感染が増加し、性器の淋菌感染症患者の10~30%に咽頭からも淋菌が検出される。咽頭の感染は症状が乏しいこともあり咽頭の検査は実施されないことが多いが感染源として重要である。咽頭の淋菌感染の抗菌薬治療は、通常の性器の治療量では不十分のことが知られている。2008年度版ではセフトリアキソン1.0g 静注単回投与かセフォジジム静注1.0または2.0g、1~2回を1~3日間投与が勧められている。

淋菌感染症の診断は、核酸増幅法により長足の進歩がみられる。特にSDA法やTMA法はクラミジアと同時検査が可能であり、尿道炎や子宮頸管炎の原因菌の同定に威力を発揮している。

2. 性器ヘルペスウイルス感染症(性器ヘルペス)

性器ヘルペスの臨床上的のもっとも大きい問題が再発である。2006年9月にはバラシクロビル1回500mg、1日1回の服用による再発抑制療法が保険で行えるようになり、再発を繰り返す性器ヘルペス患者には大きな福音となった。しかし、2006年以降、臨床経験が蓄積されてみると再発の頻度が年10回以上の重症例について再発を完全に抑えきれない例も出てきた。そこで、2008年度版では、このような例ではバラシクロビル1回250mg、1日2回、または1日1回1000mgなどの投与方法の工夫が追加されている。

3. 尖圭コンジローマ

2008年度版が2006年度版と比べて大きく変わったものに尖圭コンジローマの治療がある。従来保険適用となっていたのは電気焼灼、炭酸ガスレーザー蒸散、凍結療法、外科的切除などの外科療法であったが、2007年12月に尖圭コンジロー

表 2008年度版 性感染症 診断・治療ガイドライン 目次

□ 絵	口腔咽頭と性感染症・眼と性感染症
第1部	症状とその鑑別診断
1	尿道炎
2	急性精巣上体炎
3	直腸炎
4-1	潰瘍性病変(男性)
4-2	潰瘍性病変(女性)
5-1	腫瘍性病変(男性)
5-2	腫瘍性病変(女性)
6	帯下
7	下腹痛
8	口腔咽頭と性感染症
9	眼と性感染症
第2部	疾患別 診断と治療
1	梅毒
2	淋菌感染症
3	性器クラミジア感染症
4	性器ヘルペス
5	尖圭コンジローマ
6	性器伝染性軟属腫
7	膣トリコモナス症
8	細菌性陰症
9	ケジラミ症
10	性器カンジダ症
11	非クラミジア性非淋菌性尿道炎
12	軟性下疳
13	HIV感染症/エイズ
14	A型肝炎
15	B型肝炎
16	C型肝炎
17	赤痢アメーバ症
第3部	発生動向調査から見た性感染症の最近の動向
第4部	特定感染症予防指針(厚生労働省告示) 性感染症に関する特定感染症予防指針(第644号) 後天性免疫不全症候群に関する特定感染症予防指針(第89号)
第5部	医師等からの届出基準

マの外用治療薬であるイミキモド5%クリーム(ベセルナクリーム[®]5%)の保険適用が認められた。

そこで、2008年度版では治療法をファーストラインとセカンドラインに分けた。ファーストラインとして従来よりもっとも頻繁に用いられてきた凍結療法と今回保険適用となったイミキモド5%クリームを採用している。イミキモドクリームは塗布した局所でのインターフェロンなどのサイトカインを誘発することによりヒトパピローマウイ

ルス 6 型, 11 型の感染症である尖圭コンジローマを治療するというものである。治療の実際は, 自宅で尖圭コンジローマにこのクリームを隔日(週 3 回)塗布し, 6~10 時間後の起床時に石鹸で洗い流すというもので, 患者が自宅で治療できるというところが大きなメリットである。ただし, 尖圭コンジローマの消失までに時間を要する点と, 局所の紅斑などの副作用がみられる点がデメリットではある。抗ウイルス作用のあるサイトカインなどを局所に誘発することによって治療するという新しい考えに基づく本治療に期待が大きい。

ファーストラインには, この他三塩化酢酸や電気焼灼法が入っている。セカンドラインとしてレーザー蒸散, インターフェロンの局注を採用している。

4. 性器クラミジア感染症

性感染症の中でもっとも頻度の高い性器クラミジア感染症は, 厚労省の動向調査によると 2002 年をピークとして減少傾向にあるものの, 依然としてもっとも重要な性感染症である。2008 年度版では, 男性の性器クラミジア感染の症状・診断の項に精囊炎が付け加えられた。クラミジアが精囊炎に関連していることが明らかにされ, その急性精巣上体炎との関連が重視されるようになったからである。

今回の改訂での大きな変更部分は, 治療薬について推奨レベルが疾患別に明記された点である。特に産婦人科医にとっては, 妊婦と非妊婦に分けて推奨レベルが記されている点が好都合で, これらは日常臨床の場では誠に役に立つ記載である。

なお, 2006 年度版ではガチフロキサシンが処方例に記載されていたが, 2008 年 9 月に米国での承認削除に伴って本邦でも販売中止になったことから 2008 年度版では削除した。

おわりに

20 年前に比べ, 性感染症の診断と治療は長足の進歩を遂げたことは間違いない。しかし, 性感染症は性行動の変化, 感染菌やウイルスの変化により, 時とともに変貌していくものと思う。また, 性感染症の感染病理が不明な点も多く, これらが解明されるに従い治療のコンセプトも変わってくると思われるので, 今後も改訂を繰り返す必要があろう。

一方, 本ガイドラインはガイドライン作成のあるべき姿からはほど遠く, 今後よりよいガイドラインになるように学会として一層の努力も必要である。

なお, 性感染症の英文訳として当学会では「Sexually Transmitted Diseases(STD)」を用いてきたが, 2009 年より無症候性感染の重要性に鑑み「Sexually Transmitted Infection(STI)」を用いることにした。

文 献

- 1) 性感染症 診断・治療ガイドライン 2008, 日性感染症会誌 19(1)Suppl:2008
- 2) 性感染症 診断・治療ガイドライン 2006, 日性感染症会誌 17(1)Suppl:2006

感染症による粘膜病変

本田まりこ

日本皮膚科学会雑誌 第119巻 第13号 第2903-2908頁(平成21年12月)別刷
Reprinted from the Japanese Journal of Dermatology
Vol. 119, No. 13, pp. 2903-2908, December 2009

EL31—2 粘膜病変の見方

感染症による粘膜病変

本田まりこ

感染症による口腔内病変は、ICD10 国際疾病分類第10版(2003年改訂)によると口内炎及び関連疾患の中に口内ヘルペスと感染性口内炎に分かれるのみである。ICD10は異なる国や地域から、異なる時点で集計された死亡や疾病のデータの体系的な記録、分析、解釈及び比較を行うために世界保健機関憲章に基づき、世界保健機関(WHO)が作成した分類である。しかし、Fitzpatrick's Dermatologyによると口腔内感染症は表1に示すように、ウイルス、細菌、真菌に大きく分類される¹⁾。この分類法を採用し、日常遭遇する疾患について、特徴と診断法について述べる。

1. ウイルス

ウイルス感染症には単純ヘルペスウイルス、水痘・帯状疱疹ウイルス、EBウイルス、サイトメガロウイルス、ヒトヘルペスウイルス6、ヒトヘルペスウイルス8、コクサッキーウイルス、麻疹ウイルス、風疹ウイルス、ヒト免疫不全ウイルス、ヒト乳頭腫ウイルスなどが粘膜病変を形成する。

1. 単純ヘルペスウイルス (herpes simplex virus : HSV) 感染症

HSV1型または2型の感染または潜伏ウイルスが再活性化して皮膚や粘膜に水疱性病変を形成したもので、初感染、非初感染初発、再発がある。非初感染初発とは初感染の時に無症状で終わり、既にHSVの抗体を持っているものが、初めて単純ヘルペスの症状がみられる場合を云う。HSVは、初感染後、知覚神経の軸索を逆行し、知覚神経節の神経細胞の核内に環状のDNAとして潜伏感染する。個体の抵抗力の低下や末梢組織の炎症により再活性化し、支配領域の皮膚や粘膜の一部に再発病巣を形成する。しかし、ウイルスの排泄のみで、病巣を形成しない無症候性ウイルス排泄の場合もある。

急性ヘルペス性歯肉口内炎はHSVの口腔内初感染

により生じる。潜伏期は4~10日である。発熱、食思不振、所属リンパ節の腫脹などを伴い、舌を含む口腔内に小水疱、びらんが多発する(図1)。特に口腔の前方部位に好発し、1~5歳の幼小児に多い。成人の場合キスによる初感染でも同様の症状が生じる。ほとんどがHSV-1によるが、HSV-2の場合もみられる。成人の場合性器ヘルペスを合併していることが多い。

再発型の場合、歯肉、硬口蓋や口腔底に数個の小さな小水疱として出現し、破れて数日で治癒する。いわゆるアフタといわれる深い潰瘍は形成せず、舌には症状がみられない。重症のヘルペス性口内炎は稀であるが、免疫不全状態でみられ、この場合舌を含めて広範囲に水疱、びらん、潰瘍がみられる。初感染を含めて、重症の場合、口閉にも病変が及ぶことが多い。

【診断】

HSV感染症の診断はTzanck試験、HSV抗原の証明、polymerase chain reaction (PCR)、ウイルス分離培養、ペア血清による抗体価の推移によるが、HSVは無症候性ウイルス排泄があるため、HSV DNAの検出のみでは、HSVが原因ウイルスとはいえない。病変の組織よりHSVの核酸や蛋白を証明すればよい。

鑑別診断

鑑別すべき疾患としては、再発性アフタ性口内炎、ヘルパンギーナ、手足口病、多形滲出性紅斑、口腔カンジダ症、天疱瘡などである。

1) 再発性アフタ性口内炎

疾患名とは言えずいわゆる症状名と理解されており、原因も多種多様である。舌、口唇、歯肉、頬粘膜に好発し、硬口蓋、赤唇部には少ない。慢性に再発を繰り返す類円形のびらんで表面は黄白色を示す。偽膜を有し周囲は炎症を伴う。舌を含めて口腔内の前方部位に多い。遺伝性、食餌または薬剤のアレルギー、ストレス、外傷などで生じる。病理学的にリンパ球の浸潤がみられる。通常痛みは4~5日で治まり、病変は10~14日で治癒する。

2) 多形滲出性紅斑

ウイルスや薬剤などが原因で生じ、本症の重症型は粘膜病変を伴う。特に性器ヘルペスや口唇ヘルペスを

東京慈恵会医科大学附属青戸病院皮膚科
著者連絡先：(〒125-8506)東京都葛飾区青戸6-41-
2 東京慈恵会医科大学附属青戸病院皮膚科 本田
まりこ

表 1 口腔感染症

ウイルス	細菌	真菌
単純ヘルペスウイルス	溶連菌	アスペルギルス
水痘・帯状疱疹ウイルス	ジフテリア菌	カンジダ属菌
EBウイルス	野兔病菌	クリプトコックス
サイトメガロウイルス	らい菌	ヒストプラズマ
ヒトヘルペスウイルス6	クラミジアトラコマトイス	コクシジオイデス
ヒトヘルペスウイルス8	梅毒トレポネーマ	
コクサッキーウイルス	りん菌	
麻疹ウイルス	結核菌	
風疹ウイルス		
ヒト免疫不全ウイルス		
ヒト乳頭腫ウイルス		

Mirowski GW, Parker ER : Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine, 7th ed. 2003, p651



図 1 単純ヘルペスウイルスによる舌炎



図 2 手足口病の硬口蓋の水疱

含めて単純ヘルペス罹患後に多く、約10日後に出現する。無症候性ウイルス排泄後にも生じることがある。

HSV 感染患者の約0.9%にみられる²⁾。発熱、全身倦怠感、咽頭痛、関節痛などの全身症状とともに、顔面や体幹から始まって全身に波及する虹彩様または標的病変を伴う水疱、出血、びらんが生じる。同時期に口唇粘膜、舌、眼結膜、外陰部に発赤、びらん、出血、痂皮が起こる。歯肉が侵されることはまれである。なお、多形滲出性紅斑の組織からはHSVの断片だけでfull genomeは検出できない。

2. 水痘、帯状疱疹

水痘の場合、水痘・帯状疱疹ウイルス (varicella-zoster virus, VZV) 感染後14日～21日で、顔面の水痘の発疹とともに口蓋や頬粘膜に2から3mm大の小水疱が出現し速やかに浅い潰瘍を形成する。

帯状疱疹の粘膜疹は、三叉神経第2枝または第3枝領域の帯状疱疹でみられ、片側性で神経痛様疼痛を伴う。第2枝、第3枝のいずれが侵されても口唇、舌、頬、歯肉にアフタ様小潰瘍がみられる。

3. コクサッキーウイルス

1) ヘルパンギーナ

4歳以下の幼児に多く、コクサッキーA2, 4, 5, 6, 10によることが多い。発熱とともにまたは少し遅れて口蓋弓、軟口蓋、口蓋垂、扁桃に1～2mm大の小水疱や白色のびらんを形成し、4～6日で消退する。潜伏期は3～5日。

2) 手足口病

主にコクサッキーA16, A10とエントロウイルス71型による。幼児に多いが、幼児をもつ若い成人にもみられる。口腔粘膜のアフタと手足とくに掌蹠に水疱がみられる。水疱は楕円形で、長軸は皮膚紋理の流れに沿っている。口腔粘膜疹は発症とほぼ同時に認めら

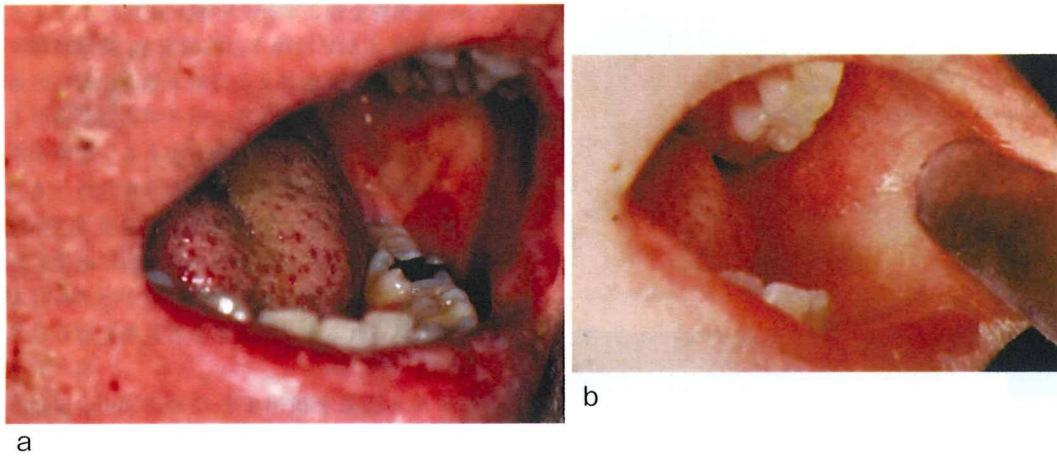


図3 麻疹 Koplik 斑

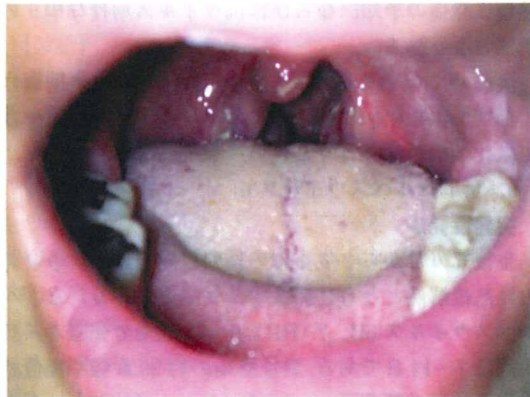


図4 伝染性単核症

れ、紅暈を有する紅色丘疹から水疱となり、破れてアフタ様となる。粘膜疹は舌、頬粘膜、硬口蓋に数個存在するのみで、口腔粘膜の発赤や腫脹はない(図2)。3~6日で治癒する。

4. 麻疹ウイルス

潜伏期は9~14日である。38~39℃の発熱、くしゃみ、咳、鼻水、結膜充血などのカタル症状がみられ、顔面が浮腫状となる。発疹出現2日前あたりから下部大白歯あたりの頬粘膜に紅暈をめぐらす灰白色の斑(Koplik 斑)が出現する(図3a)。砂状の白色病変が多数集簇して認められる(図3b)。成人では、症状は強く大きさも増し下口唇部や軟口蓋部にまで波及することがある。1~2日で急速に消退する。Tzanck test で、ウイルス性巨細胞がみられる。舌は白苔を付着する。

5. 風疹ウイルス

潜伏期は14~21日で、リンパ節腫脹が先行し、発熱は皮疹の出現と同時か少し遅れてみられる。小児では発熱しないことも多い。リンパ節腫脹は1週間以上持続し、耳後部、後頸部、後頭部および顎下部のリンパ節が腫脹し圧痛を伴う。カタル症状は麻疹と比べ少ないが、成人では頭痛、咽頭痛、全身倦怠感、発熱などの前駆症がみられる。粘膜疹は皮疹の出現前に軟口蓋から口蓋垂にかけて小紅斑が出現し、後に融合する。ウイルス性巨細胞はみられない。

6. Epstein-Barr (EB) ウイルス

1) 伝染性単核症

EBウイルスは一般には唾液を介して感染し、B細胞を主な標的として感染し、その後体内に潜伏持続感染する。EBウイルス初感染で生じる伝染性単核症の潜伏期は2~6週間である。全身倦怠感などの前駆症状が4、5日続き、高熱、咽頭痛で始まる。発熱は約10日間持続する。扁桃は発赤腫脹し、偽膜が認められ、白色の膿が付着し、一見、化膿性扁桃炎の像を呈することが多い(図4)。口蓋に点状出血や莓状舌を認めることもある。全身、特に頸部のリンパ節が腫脹し、眼瞼浮腫が見られ、発病2週目頃より約10%に肝脾腫も見られる。

発疹は、わが国では約50%に見られる。アンピシリンやアモキシシリンまたはその他の抗生物質投与後1~3週以内に出現し、麻疹様の丘疹性紅斑のことが多いが、蕁麻疹、多形紅斑、Gianotti 病などに似た皮疹も見られ、血小板減少に伴って紫斑が見られることもあ



図5 hairy leukoplakia

る。時に薬剤の投与なしで発疹が出現することもある。小児の Gianotti 症候群の多くは EB ウイルスまたはサイトメガロウイルスの初感染である。

【診断】

EB ウイルス感染後、核抗原 (EB virus-associated nuclear antigen : EBNA), 初期膜抗原 (early membrane antigen : EMA), 初期抗原 (early antigen : EA), ウイルスカプシッド抗原 (viral capsid antigen), 後期膜抗原 (late membrane antigen : LMA) の順に合成され、これに対応して血清中に抗体が現れるが、抗 EBNA 抗体だけは NK 細胞がウイルス感染細胞を攻撃することにより EBNA が血中に放出されて抗体が産生されるので、発症 2 カ月後から遅いものでは発症 10 カ月後に陽性となり、VCA-IgG と同様に生涯持続する。発症初期に出現するものは VCA-IgM (発症 1 カ月前後で消失) と抗 EA-IgG 抗体 (発症後数カ月持続) であり、VCA-IgG は第 7 病日で陽性になる。初感染の診断は抗 EA-IgG 抗体陽性と EBNA 抗体価陰性所見である。CD4/CD8 比の逆転がみられる。

2) 口腔毛状白板病

AIDS および腎移植をはじめとする免疫低下患者にみられ、潜伏感染している EBV の再燃として CD4 リンパ球数 300/μl 以下で出現する^{2) 3)}。舌の辺縁に、太い毛あるいはヒダのような白い突起が何筋にもできるもので (図 5)、AIDS 発病の前に起こることがある。

【診断】

In situ hybridization 法で EB ウイルス DNA を証明する。

7. サイトメガロウイルス

CMV 初感染時に伝染性単核症様症状や Gianotti-

Crosti 症候群を起こすが、一般に EB ウイルスよりは軽症である。CMV に伴う口腔病変が、骨髄移植を受けた患者や AIDS 患者など免疫低下患者にみられる⁴⁾。免疫学的に正常なものもヘリコバクテリ菌とともに口腔内潰瘍部に検出されることがある。境界が不規則な軽症から中等度の多発性潰瘍がみられる。その他皮膚 CMV 感染症として紫斑や潰瘍を股部、肛門周囲、大腿、胸部に認める。真皮血管内皮細胞に感染して生じたもので、内皮細胞に封入体巨細胞が認められる。健康者でも見られるが、免疫不全者に多く認められる。

【診断】

ウイルス抗原を検出するための antigenemia 法、DNA 検出のための PCR 法、直接ウイルスを分離する方法、ウイルス特異的 IgM 抗体の測定などがあるが mRNA の検出はウイルスが活発に増殖していることを意味し、通常潜伏感染状態では検出されないため、感染症発症の予知、ならびに抗ウイルス剤投与中止の指標となり得る。

潰瘍部では感染内皮細胞および感染線維芽細胞に CMV が存在するので生検標本で CMV 特異的な免疫組織化学染色法を行うと良い。

8. ヒトヘルペスウイルス 6

突発性発疹

生後 6 カ月から 2 歳までの幼児にみられ、3~5 日間の発熱後解熱とともに発症する発疹症であり、ヒトヘルペスウイルス 6B, 7 (HHV-6, 7) 感染で生じる。潜伏期は 7~14 日である。急性感染の約 30% は不顕性感染である。突然 39℃ 台の高熱が 2~4 日稽留し、分利性の解熱とともに、体幹に鮮紅色の 3~5mm 大の斑が現れ、次第に四肢、頸部、顔面に拡大し、ほぼ 1 日で消失する。落屑はみられず色素沈着も残さない。HHV-7 の症状は HHV-6 と比べ軽症である。

全経過を通して頸部リンパ節腫脹がみられる。発疹出現前に眼瞼浮腫がみられ、有熱期に軟口蓋に帽針頭大の淡紅色丘疹が数個出現し、後に米粒大の紅斑となる。これは永山斑と呼ばれるが、麻疹の Koptik 斑と異なり特異性に乏しい。

9. ヒト免疫不全ウイルス

急性ヒト免疫不全症ウイルス (human immunodeficiency virus (HIV) 感染症で口腔内潰瘍を生じる。疼痛のある浅い境界明瞭な潰瘍で、感染後 2~4 週間後に生じ、1~2 週間持続する。

II. 細菌感染症

1. 梅毒

Treponema pallidum (T.p.) 感染症で、主として性行為または類似の行為により感染する性感染症 (STD) の代表的疾患である。一般に、皮膚や粘膜の小さな傷から T.p. が侵入することによって感染し、やがて血行性に全身に散布されて、さまざまな症状を引き起こす全身性の慢性感染症である。口腔病変として、初期硬結、扁平コンジローマ、梅毒性粘膜疹(梅毒性アングーナ、乳色斑)がある⁶⁾。

第1期梅毒

感染後約3週間すると、T.p. の侵入部位である感染局所に、小豆大から爪甲大までの硬い硬結が生じてくる。これを初期硬結と呼ぶ。やがて中央部が潰瘍化し、硬性下疳となる。初期硬結、硬性下疳は、一般に疼痛などの自覚症状はなく、単発であることが多い。口腔内では口唇、口蓋、舌、歯肉、扁桃に生じる。

【診断】

直接検出法(ギムザ染色、墨汁法): T.p. を病変部からの刺激漿液をスライドガラスにのせ染色後顕微鏡下で直接検出する。

生検: 形質細胞、リンパ球の密な浸潤、血管内皮細胞の増殖、免疫組織化学で T.p. を検出。

梅毒血清反応: 感染6週間以降、RPR 法陽性、TPHA または FTA-ABS 陽性。

第2期疹

第2期梅毒

T.p. が血行性に全身に散布されて皮膚・粘膜の発疹や臓器梅毒の症状がみられるものを第2期梅毒という。

第2期でみられる発疹は多彩であるが、口角に扁平コンジローマ、梅毒性アングーナ、乳色斑がみられる。

いずれも T.P が多量に存在する。

扁平コンジローマ: 浸軟した扁平隆起性丘疹。

梅毒性アングーナ: 軟口蓋後縁に沿って弧状にびらんや潰瘍を伴う発赤、腫脹で、扁桃肥大を伴う。

乳色斑: 豌豆大の乳白色に浸軟した斑で、舌、口唇、歯肉、口蓋、扁桃にみられる。

【診断】

特徴的な臨床像と T.p. の検出。

梅毒血清反応による。

2. その他

口腔内に様々な菌が常在しているが、特に連鎖球菌が最も多い。口腔常在菌による感染症としては、齶蝕あるいは歯髄炎に続発する根尖性歯周炎や辺縁性歯周炎(歯槽膿漏)が最も多くみられる。口腔常在菌による感染症は、生体の抵抗力と大きく影響される⁷⁾。緑色レンサ球菌(viridans Streptococci) および腸内球菌属(Enterococci species) のようなグラム陽性菌が口腔由来の全身感染症に関連し、緑膿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、ナイセリア属(*Neisseria species*) および大腸菌(*Escherichia coli*) のようなグラム陰性菌も関係がみられる⁸⁾。従って、これらの菌は、他の原因の口腔病変を修飾する。

III. 真菌感染症

口腔カンジダ症

主に口腔に常在する *Candida albicans* (*C. albicans*) の感染によるもので、糖尿病や重症消耗性疾患で免疫力の低下した患者に発現しやすい。CD4 数 200/μl 以下で口腔カンジダ症が出現するとの報告がある⁹⁾。

周囲の炎症反応を欠く淡雪状白苔が付着した偽膜を形成し、それを除去すると血のにじんだ部位が露出する。抗菌薬や副腎皮質ステロイド投与を受けている患者や、AIDS などの免疫不全者に多い。

文 献

- 1) Mirowski GW, Parker ER: Biology and pathology of the oral cavity, Wolf K, et al (eds): *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine*, 7th ed. The McGraw-Hill Company, Inc, New York, 2008, 641-654.
- 2) Ikin PH: Oral hairy leukoplakia-10 year on, *Dermatology*, 187 (3): 159-163, 1993.
- 3) Triantos D, Porter SR, Scully C, et al: Oral hairy leukoplakia clinico-pathologic features, pathogenesis, diagnosis, and clinical significance, *Clin Infect Dis*, 25 (6): 1392-1396, 1997.
- 4) Schubert MM, Epstein JB, Lloid ME, et al: Oral infections due to cytomegalovirus in immunocompromised patients, *J Oral Pathol Med*, 22 (6): 268-273, 1993.
- 5) Leimola-Virtanen RE, Happonen R-P, Syrjänen SM: Cytomegalovirus (CMV) and *Helicobacter pylori* (HP) Found in Oral Mucosal Ulcers, *J Oral Pathol Med*, 24: 14-17, 1995.
- 6) 日本性感染症学会: 性感染症 診断・治療 ガイドライン 2008, 日性感染症会誌, 19 (1): 46-49, 2009.

- 7) Squier CA, Kremer MJ: Biology of oral mucosa and esophagus. *J Natl Cancer Inst Monogr*, (29): 7-15, 2001.
 - 8) Akintoye SO, Brennan MT, Graber CJ, et al: A retrospective investigation of advanced periodontal disease as a risk factor for septicemia in hematopoietic stem cell and bone marrow transplant recipients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, **94** (5): 581-588, 2002.
 - 9) Delgado AC, de Jesus Pedro R, Aoki FH, et al: Clinical and microbiological assessment of patients with a long-term diagnosis of human immunodeficiency virus infection and Candida oral colonization. *Clin Microbiol Infect*, **15** (4): 364-371, 2009.
-

梅毒血清反応の何が問題点なのか

本田まりこ

日本性感染症学会誌
Vol.20, No.1

梅毒血清反応の何が問題点なのか

What of serologic tests for syphilis are the problem?

東京慈恵会医科大学附属青戸病院皮膚科

Department of Dermatology, Aoto Hospital, Jikei University School of Medicine

本田まりこ

Mariko HONDA

梅毒の多くは血清学的に診断される。梅毒血清反応は非特異的トレポネーマ抗体を検出する方法 (venereal diseases research laboratory: VDRL、rapid plasma reagin 法; RPR) と特異的トレポネーマ抗体を検出する方法 (*treponema pallidum* aemagglutination assay: TPHA、fluorescent treponemal antibody-absorbed: FTA-ABS、enzyme immunoassay tests.: EIA) の2つの方法が存在する。非特異的トレポネーマ抗体は梅毒の病勢と比例し、1期、2期梅毒では治療後6ヵ月以内に抗体価が4倍低下した場合に治癒とみなされる。非特異的トレポネーマ抗体で16倍以上を示し、感染1年以内の早期不顕性梅毒症例は全例報告することになっている。しかし新規の自動測定機による方法は5種類キットがあり、測定値が異なり、しかも従来の方法の値と一致しないことが問題になっている。

Most cases of syphilis are diagnosed serologically. Serological tests for syphilis may be classified into two groups: non-treponemal tests, which detect non-specific treponemal antibodies, eg. the venereal diseases research laboratory (VDRL) or rapid plasma reagin (RPR) tests, and treponemal tests, which detect specific treponemal antibodies, eg. the treponema non-treponemal assay (TPHA), fluorescent treponemal antibody-absorbed (FTA-ABS) and most enzyme immunoassay (EIA) tests. Non-treponemal test antibody titers usually correlate with disease activity and the titers to decline fourfold within 6 months after therapy for primary or secondary syphilis might be indicative of probable cure. Early latent syphilis cases who are seroreactive (>1:16 titer) within one year of onset of infection, should be reported. However, a new quantitatively determined serum antibody by automated analyzer is a five-kind kit, and is different as to the result of a measurement by each kit. In addition, it becomes a problem that the new methods by automated analyzer do not support the conventional non-treponemal test.

Key words: 梅毒血清反応、非特異的トレポネーマ抗体、特異的トレポネーマ抗体、STS

1. 緒言

梅毒の血清学的検査としては、*Treponema pallidum* (TP) 抗原を用いる方法と梅毒脂質抗原を用いる serological tests for syphilis (STS) があり、それぞれ感度と特異度において性能が異なり、複数の方法を組み合わせて検査が行われている。

1999年より開始された感染症新法で梅毒は全数把握疾患とされ、届出基準として、発疹からの病原体の検出あるいは、血清抗体の検出(カルジオリピンを抗原とする検査、トレポネーマを抗原とする検査のいずれもが陽性であること)、さらに無症候梅毒では、陈旧性梅毒を除外するために、カルジオリピンを抗原とする検査で16倍以上であることとされた。また、治癒判定もSTS

法で8倍以下になったもの、または治療前の数値より4倍以上低下したものを治癒と判定される。これらの倍数希釈法は用手法で行われていたが、再現性がないこと、手間がかかるなどから、近年、自動分析装置を使用する測定法が開発された。しかし、その値が従来の倍数希釈法と対応しないために、どの数値で届け出を出すのが混乱を来しているのが実情である。また、従来梅毒定性反応から定量検査を行っていたが、いきなり定量化できるために、定性反応の意味もなくなってきた。

2. 梅毒血清反応の歴史

梅毒は、もともとヨーロッパにあった疾患とする説もあるが、一般にはスペインのコロンブス等が広めたと言

われている。すなわち、1492年にコロンブスがバハマ諸島（現在の西インド諸島）に航海し、翌1493年帰国後船員を介してパルセロナ中に広がり、1494年イタリア戦争で、船員らが傭兵になったためにヨーロッパ全体に広がった¹⁾。わが国には1512年中国広東から京都に入ったとされている。その後、花柳界を中心に広がり、梅毒の対策が国策の一つになった。1905年 Schaudinn と Hoffmann が梅毒の病原体である *Treponema pallidum* (TP) を発見し 1906年 Bordet が発見した補体結合法則の原理を応用して Wassermann、Neisser、Bruck により梅毒血清反応が開発された。抗原として先天性梅毒児の肝臓を使用したが、後に動物の諸臓器特にウシの心臓にも同様の作用があることがわかり使用するようになったが、梅毒患者血清と反応する物質は、1942年 Pangborn がウシの心臓よりリン脂質を分離し、カルジオライピンであることが明らかになった。一方、本邦では1956年緒方洪庵の曾孫である緒方富雄によりカルジオライピン、レシチン、コレステリンを抗原として緒方法が開発され、Wassermann 法と同等の検査法として Wassermann 反応緒方法として普及した。また、梅毒凝集法も緒方らにより考案された方法で、カルジオライピンをカオリン粒子に吸着させ、それを抗原として凝集反応をみる方法である。ガラス板法も彼が米国で考案された VDRL のせガラス法を修正したもので、血清と3つの抗原をガラス板上で混ぜ合わせて顕微鏡下で観察する方法である²⁾。その後カーボン粒子に抗原を吸着させ間接凝集反応をみる rapid plasma regain card test が開発された。これらの方法は梅毒脂質抗体検査または STS と呼ばれている。STS は生物学的偽陽性反応が多いことから、TP を抗原とする方法が種々考案され、1966年富沢らが TP 抗原を吸着させた赤血球による間接赤血球凝集反応 (TP hemagglutination test, TPHA 法) を考案した。後者は梅毒トレポネーマ抗体検査または特異的血清反応と呼ばれている。

従来は非特異的トレポネーマ抗体法の2法（ガラス板法と緒方法）と TPHA 法を行うのが一般的であったが、その後迅速に診断できる RPR カード法と TPHA 法の組み合わせがもつぱら使用されるようになった。とくに、手術や内視鏡検査には全例検査するようになったため、簡便な検査法が求められるようになった³⁾。1991年よ

りトレポネーマ抗体に対する自動化法が確立され⁴⁾、2001年に非特異的トレポネーマ抗体を自動測定装置により測定可能になった⁵⁾。

3. 自動測定装置

生化学自動測定装置で測定できるキットは、5種存在し、「メディエース RPR」ラテックス比濁法（積水化学）、「ランリーム STS」ラテックス粒子計数法（シスメックス）、「LASSAY オート RPR」(シマ研究所)、「イムノテイクルス オート 3 RPR」(A&T)、「メディエース RPR」(N)（積水化学）である。これらのキットは検査時間の短縮ができ、人員が少なくすむこと、多数の検体を処理することができ、しかも再現性があることから、急速に日本で普及し、前者2キットが最も使用されている。諸外国でも徐々に普及されてきているが、未だ米国 Centers for Disease Control and Prevention, CDC も倍数希釈の結果を持って、治療効果を判定している。

「メディエース RPR」ラテックス比濁法の測定単位は RU で、1.0 未満が陰性であり、「ランリーム STS」ラテックス粒子計数法は測定単位 SU/ml で 1.0 未満が陰性である。「メディエース RPR」ラテックス比濁法はほぼ倍数希釈法の値と一致し 16RU 以上を届け出の抗体価になる。他のキットがどのようになるか、また髄液検査ではどのようになるかは、今後の検討結果が待たれる。

文 献

- 1) ビルギット・アダム：王様も文豪もみな苦しんだ性病の世界史。瀬野文教訳，草思社，東京，2003。
- 2) 緒方富雄：梅毒の新しい血清学的検査法，第1版 5-26，第3版 7-31，43-53，69-75，東京，南山堂，1951，1954。
- 3) 水岡慶二：梅毒血清反応，現代皮膚科学大系，山村雄一ら編，6B，中山書店，東京，1983，220-236。
- 4) 松本美枝（積水化学工業）ほか：ラテックス凝集反応による自動分析装置用梅毒診断試薬 (TPLA) の開発，臨床病理，1991；39：補冊 324。
- 5) 中桐逸博，谷本涼子，香川孝司：梅毒脂質抗体測定自動化の試み，Sysmex Journal，2001；2：136-142。



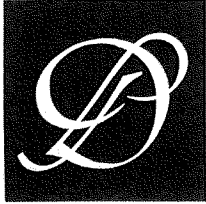
ISSN 1343-0831
文献略称 MB Derma.

No.151 別刷

新しい皮膚科検査法 実践マニュアル

2009年4月10日発行

株式会社 全日本病院出版会



◆特集／新しい皮膚科検査法 実践マニュアル

I. 感染症の検査法 ウイルスの検査法

本田まりこ* 松尾光馬**

Key words : loop-mediated isothermal amplification (LAMP)法, イムノクロマトグラフィー (immunochromatography)

Abstract 新しいウイルス検査法として核酸検出法である LAMP 法とウイルス抗原を検出するイムノクロマトグラフィー法を紹介した。LAMP 法は遺伝子増幅法の一つで、標的遺伝子の 6 か所の領域に対して 4 種類のプライマーを設定して、鎖置換反応を利用して一定温度 (65°C 前後) で反応させることを特徴とする。DNA 抽出を必要とせず、増幅反応の過程で、副産物としてピロリン酸イオンも多量に生成するので反応溶液中にピロリン酸マグネシウムの白色沈殿が生成するため、目視でも判定できる。

イムノクロマトグラフィー法は、毛細管現象により抗原がメンブレン上を移動する際、被検物質中の抗原と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。標識色素は金コロイドで行うために赤い線や斑で判定でき、妊娠反応やインフルエンザ感染の有無に広く使用されている。20 分前後で判定できる。

はじめに

生体に侵入したウイルスは、新しく産生された子ウイルス粒子が細胞内に現れるまで電子顕微鏡学的にもその姿を消してしまう特徴を有する。ウイルスが増殖するのに伴い、一般に宿主内拡散を経て、標的臓器で増殖し、細胞障害を起こす。または、標的臓器に直接感染増殖し、ウイルス特有な細胞の形態変化 (細胞変性効果 : cytopathic effect) が起こる。感染後生体にとって異物であるウイルス抗原 (蛋白や多糖類) に対する免疫応答が起こり、その結果、液性免疫や細胞性免疫が誘導される。このような過程を経ることを理解し、ウイルス感染を診断するわけであるが、ウイルス性疾患の確実な診断法は、生きたウイルスそのもの

を病変部から分離同定することである。その他の検査は、電子顕微鏡検査、ウイルス抗原検査、ウイルス核酸検査、血清抗体検査が代表的であるが、ウイルスの死骸または通りすがりのパッセンジャーウイルスを検出している可能性があり、判定に注意を要する。また、抗体検査はウイルス特異的 IgM 抗体の上昇またはダイマーのウイルス特異的 IgA 抗体の出現以外はウイルス感染の跡をみているにすぎない。

このようにウイルス感染における検査法には多種類があるが、現行の保険制度では検査法として組織学的検査法、ウイルス抗原の検出 (ただし、単純ヘルペスウイルス、水痘・帯状疱疹ウイルス、サイトメガロウイルス、インフルエンザウイルスのみ) と血清抗体価測定法しか承認されていない。上記の従来の検査法以外に近年、核酸検出法である loop-mediated isothermal amplification (LAMP) 法やウイルス抗原検出法であるイムノクロマトグラフィー法がある。イムノクロマトグラフィー法はインフルエンザウイルス感染症の迅

* Mariko HONDA, 〒125-8506 東京都葛飾区青戸 6-41-2 東京慈恵会医科大学附属青戸病院皮膚科, 教授

** Koma MATSUO, 〒105-8461 東京都港区西新橋 3-25-8 東京慈恵会医科大学皮膚科, 講師

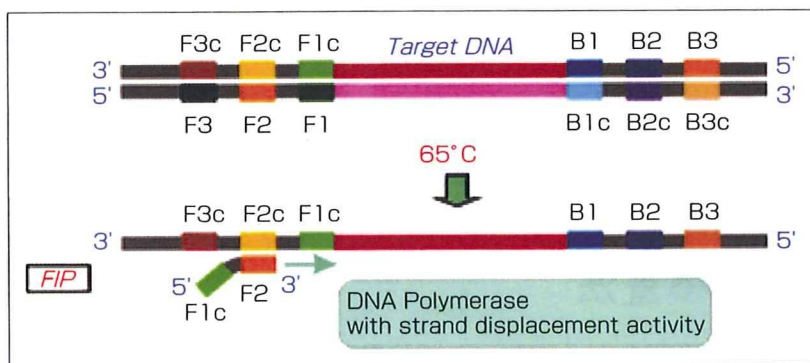


図 1. LAMP 法の原理

速診断で広く応用されている。これらの新しい検査法を紹介する。

Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) 法

Polymerase chain reaction (PCR) に代わる安価、迅速、簡易、精確な増幅法として栄研化学株式会社が独自に開発した遺伝子増幅法である。標的遺伝子の 6 か所の領域に対して 4 種類のプライマーを設定して、鎖置換反応を利用し一定温度で反応させることを特徴とする (図 1)。独自の 4 種の (target 遺伝子上の 6 か所の領域を認識する) プライマーによって増幅される遺伝子の末端に形成されるループ構造を介して、自己の構造を鋳型として DNA 合成が進む。鎖置換反応は、鎖置換型 DNA 合成酵素を使用することにより行われる反応で、鋳型 DNA に相補的な DNA 鎖を合成していく過程で、65°C 前後の一定温度で伸長方向に 2 本鎖領域があった場合その鎖を解離しながら、相補鎖合成を継続できる DNA 合成酵素である。反応は半永久的に持続するので 80°C 5 分間で失活させる。サンプルとなる遺伝子、プライマー、鎖置換型 DNA 合成酵素、基質などを一緒に全量 20 μ l とし、一定温度 (65°C 付近) で保温することで、検出までを 1 ステップの工程で行うことができる。すなわち、① 6 種類のプライマーを加えて、何段階かの反応を経ると両端にループ構造を持った 1 本鎖ができる。② これが起点となって、さまざまな部分にプライマーが結合して増幅反応が進展し、同一鎖上にループ領域を挟んで互いに相補的な配列を繰り返す構造を持つさまざまなサイズの増幅産物が合成される。

LAMP 法は増幅効率が高く、DNA を 15 分~1 時間で 10^9 ~ 10^{10} 倍に増幅することができる。その極めて高い特異性から、増幅産物の有無で目的とする標的遺伝子配列の有無を判定することができる¹⁾。また、LAMP 法は、DNA 抽出の過程を省いても検出できるので外来で行うには便利である。

1. プライマー設計

4 種類のプライマーで 6 領域を規定することが大切で、栄研化学株式会社と富士通株式会社および株式会社富士通システムソリューションズと共同開発した LAMP 法プライマー設計支援ソフトなどを用い、塩基組成、GC 含量、二次構造などに注意して設計する。

ソフトは web 上 (<http://primerexplorer.jp/>) で見られるが、入力や注文は、栄研化学株式会社の e Genome Order に入会しなければならない。e-Loopamp セミナーがときどき行われているので、プライマーの作成や実験方法などが習得できる。また、LAMP 法の論文でそのプライマーの配列は分かるが、単純ヘルペスウイルスや水痘・帯状疱疹ウイルスは吉川ら²⁾³⁾が設定したものを、ヒト乳頭腫ウイルスは我々が設定した⁴⁾。

2. 検出

さまざまなサイズの増幅産物を Loopamp リアルタイム濁度測定装置 (テラメックス株式会社) (図 2, 3) またはアガロースゲル電気泳動 (図 4) により確認する。また、増幅反応の過程で、副産物としてピロリン酸イオンも多量に生成するので、反応溶液中にピロリン酸マグネシウムの白色沈殿が生成する。この副産物は、増幅産物と比例し、産生されることから、増幅産物が桁外れに多い。

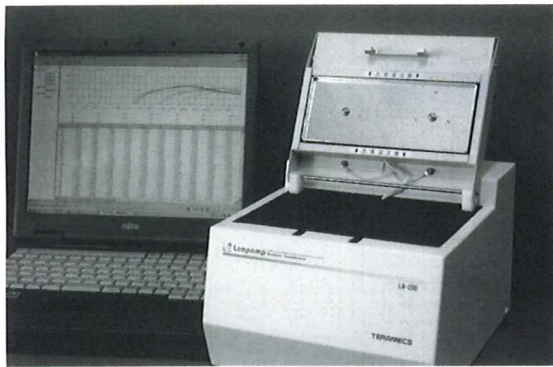


図 2. リアルタイム濁度測定装置
(LA200：テラメックス社)

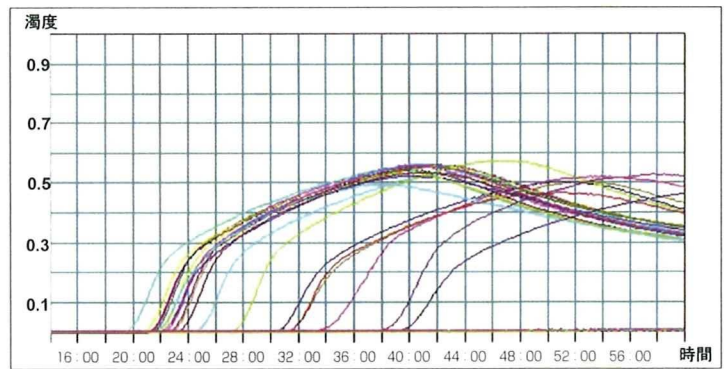


図 3. 臨床検体を用いた VZV の増幅曲線

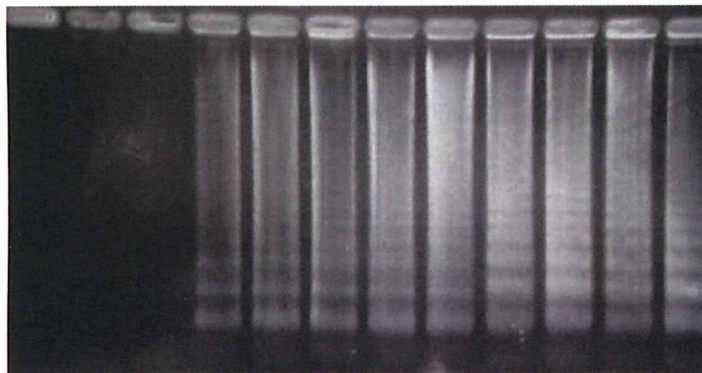


図 4. 電気泳動法
陽性レーンはラダーとなる。

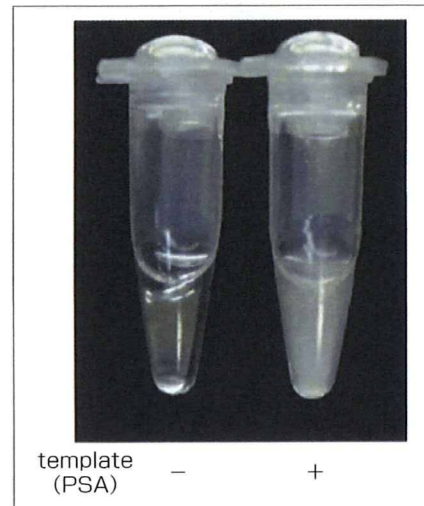


図 5. LAMP 法. 目視(栄研化学より)

増幅産物が PCR 法に比べて 2 桁程度多く生成される。従って、LAMP 法では、図 5 のように白濁として見える。つまり、白濁の有無で標的遺伝子の有無を確認することができる。ピロリン酸マグネシウムの白濁の代わりに蛍光発色させることもできる。

濁度測定装置の場合、定量ができ、検出時間が早いものほどウイルス量が多い。

イムノクロマトグラフィー

イムノクロマトグラフィー法は、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原がメンブレン上を移動する際、被検物質中の抗原と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(図 6)。被検物質が毛細管

現象により多孔質支持体内を移動することによって標識物質および捕捉物質との接触機会が増大し、かつ捕捉域において被検物質が濃縮されることが特徴になる。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ある。従来、最も感度が高いとい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 $10^3 \sim 10^4$ CFU/ml であるが、操作が複雑である、特別な機器を要する、測定に数時間を要するという欠点がある。イムノクロマトグラフィー法は、検出感度が PCR 法の $1/10 \sim 1/100$ で、 $10^5 \sim 10^7$ CFU/ml である。長所は、操作が簡便(だれでもできる)、特別な装置が不要(判定は目視)、測定に 3~30 分と迅速である、抗原を検出するためにウイルス分離よりも長期に病変に存在するということである。欠点は、イムノクロマトグラフィー