

## 境 恵祐 氏の学位論文審査の要旨

### 論文題目

Multiplex PCR 法を用いた皮膚病変からの迅速なヘルペスウイルスの同定  
(Quick detection of herpes viruses from skin lesions using multiplex PCR)

皮膚科領域には、皮膚の水疱、糜爛、潰瘍などを形成する疾患群があり、これらの原因にはヘルペスウイルス属感染症が含まれている。目の前の病変がウイルス性疾患であるのか、また、どのウイルスによる疾患なのかを決定することは、治療方針に直結し、同時に迅速な診断が求められる。今まで皮膚科領域における単純疱疹ウイルス感染症ならびに帯状疱疹ウイルス感染症の診断については、迅速性と確実性を満たす客観的な診断方法がなかった。本研究は、簡便で迅速、確実な検査法の確立を目指し、DNA 抽出作業を行わずにリアルタイム polymerase chain reaction (PCR) 法を用いて、皮膚ヘルペスウイルス感染症の診断を確立することを目的に行った。

臨床的に単純疱疹ウイルスあるいは帯状疱疹ウイルス感染症を疑う皮膚症状を呈した患者病変から 25 サンプル（痂皮、水疱蓋、浸出液）を採取し、DNA 抽出作業を行うことなくリアルタイム PCR を行った。その結果、ウイルス DNA は適正に増幅され、型特異的な dissociation curve が得られ、増幅された PCR 産物のサイズも電気泳動を行って予想される長さに合致する事を確認できた。また、同一検体に対して、帯状疱疹ウイルスと単純疱疹ウイルス 1 型、2 型のプライマーを同時に用いて解析を行う multiplex PCR 法でも、検体に含まれるウイルスの型特異的な dissociation curve が認められた。検体採取から診断までにかかる時間はおよそ 2 時間であった。以上、本方法により、検体の性状を選ばず、かつ迅速に目的とするウイルスの DNA を皮膚病変から同定する事が可能となり、皮膚ヘルペスウイルス感染症を早期に診断する事ができた。今までウイルス感染症の診断が困難であった皮膚病変についても、ウイルス同定検査を簡便かつ迅速に試みる事ができ、早期診断治療のために有用な検査であると考えられた。

審査の過程では、1) DNA 診断をする事の臨床的な意義、2) 肉眼診断との有用性の比較、3) 診断にかかる時間の臨床的な意味、4) 特異性の確認、5) 病変の経日性変化、あるいは活動期や潜伏期での PCR 結果の相違、6) dissociation curve の意味、7) DNA 抽出作業を省略出来る根拠、8) primer の設計手順、9) ウイルスの変異についての配慮、10) コピー数の違いの意味や定量性の試み、11) 重複感染の有無、12) 陰性症例の取り扱い、13) ウイルスの種類と治療法との関連、14) PCR 迅速診断が求められる疾患の頻度、など臨床的な問題点や技術的な問題点について質疑応答が行われ、申請者からは概ね適切な回答と考察が述べられた。本研究は、皮膚水疱性疾患における、ヘルペスウイルス属感染の診断を迅速かつ正確に行うためのリアルタイム PCR 法の開発に成功した研究であり、本方法は臨床的に迅速で正確な診断を助ける有意義な検査方法と考えられ、学位に相応しい研究と評価された。

審査委員長 機能病理学担当教授

伊藤 隆明

## 審査結果

学位申請者名：境 恵祐

分野名：皮膚機能病態学

学位論文題名：

Multiplex PCR 法を用いた皮膚病変からの迅速なヘルペスウイルスの同定  
(Quick detection of herpes viruses from skin lesions using multiplex PCR)

指導：尹 浩信 教授

判定結果：

可

不可

不可の場合：本学位論文名での再審査

可

不可

平成22年 6月 7日

審査委員長

機能病理学担当教授

伊藤隆明

審査委員

微生物学担当教授

赤池孝章

審査委員

病態情報解析学担当教授

安東由喜雄

審査委員

細胞病理学担当教授

竹居元裕