

氏名（本籍）	米田尚生（奈良県）
学位の種類	博士（医学）
学位授与番号	乙第881号
学位授与日付	平成5年11月17日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	Polymerase chain reaction法を用いた男子尿道炎患者の初尿からの <i>Chlamydia trachomatis</i> の検出
審査委員	（主査）教授 河田幸道 （副査）教授 江崎孝行 教授 渡辺邦友

### 論文内容の要旨

*Chlamydia trachomatis*は男子の非淋菌性尿道炎の約半数を占める病原体である。その特異なライフサイクルから分離同定は剥離上皮細胞を材料とした細胞培養法により行われてきた。近年*C. trachomatis*の検出には抗原の免疫学的な検出法や病原体に特異的なDNAの塩基配列を検出するDNAプローブ法などが開発されている。しかし尿道炎診断においては尿道擦過物を検体とした診断法がほとんどであり、検体採取時に激しい痛みをとらなう。

そこで特異性が高く、かつ高感度であるpolymerase chain reaction (PCR)法を応用した*C. trachomatis*の検出法を開発し、*C. trachomatis*菌量の少ないと考えられる尿道炎患者の初尿からの*C. trachomatis*の検出を試み、そのクラミジア性尿道炎の診断における有用性を検討した。

#### 研究方法

1. *C. trachomatis* DNAの検出には血清型L<sub>2</sub>のmajor outer membrane protein (MOMP) 遺伝子の塩基配列の一部に相補的な2種類のoligonucleotideをprimerとして用い、PCR後、電気泳動を行い、塩基配列から予測されるDNAの増幅の有無を観察した。
2. 基礎的検討として、本PCR法による*C. trachomatis*の特異性の検討、および*C. trachomatis*の検出感度の検討を行った。さらに尿沈渣によるPCRの抑制に対して尿沈渣希釈液の検討を行った。
3. 臨床的検討として、男子尿道炎患者53例を対象とし、尿道擦過物からの*C. trachomatis*培養法と初尿からのPCR法による*C. trachomatis* DNAの検出結果の比較を行った。さらに男子尿道炎患者100例を対象とし、初尿からの*C. trachomatis*抗原検出が可能なIDEIAクラミジアとPCR法との検出結果の比較を行った。

#### 研究結果

1. 本PCR法により *C. trachomatis*の血清型15種すべてからDNAの増幅を認め、*C. psittaci*, *C. pneumoniae*を含めた他菌種からはDNA増幅を認めなかった。また、*C. trachomatis*  $1 \times 10^2$  コのDNA量まで検出可能であり、特異的で高感度であった。
2. 尿沈渣をproteinase Kで処理したDNA溶液ではPCRの反応が抑制を受けるため、当初はフェノール処理によるDNAの純化が必要であった。しかし初尿沈渣をChlamydiazyme用検体希釈液に浮遊後、proteinase Kで処理し、DNAを抽出することでPCR法の簡便化が可能となり、PCR法の臨床応用が可能となった。
3. 尿道擦過物の培養法に対する本PCR法の比較では陽性一致率96.8% (30/31)、陰性一致率90.9% (20/22)、全体では94.3%であった。また初尿からのIDEIA法に対するPCR法の比較では陽性一致率93.8% (30/32)、陰性一致率95.6% (65/68)、全体で95%と高い一致率が得られた。
4. 本法は初尿を検体とするため検体採取時に患者に苦痛を与えず、治療効果判定時や無症状患者のスクリーニング

グにも応用可能である。さらにPCR法は特異的なprimerを用いることにより、同一検体から淋菌など他の病原体をも検出可能であり、今後の臨床応用が期待される。

### 論文審査の結果の要旨

申請者米田尚生は、PCR法を応用した*C. trachomatis*の検出法を開発し、さらに本PCR法による男子尿道炎患者の初尿からの*C. trachomatis*検出法は従来の検出法と比較しても優れた特異性と感度を有し、クラミジア性尿道炎の診断に応用可能な方法であることを明らかにした。

本研究の成果は、クラミジア性尿道炎の診断法に新知見を加えたものであり、泌尿器科学および感染症学の発展に少なからず寄与するものと認められる。

---

#### [主論文公表誌]

Polymerase chain reaction 法を用いた男子尿道炎患者の初尿からの*Chlamydia trachomatis* の検出  
岐阜大医紀 41 (4) : 692~703, 1993