

氏名（本籍）	加藤 ^{かとう} 敦 ^{あつし} （京都府）
学位の種類	博士（医学）
学位授与番号	乙 第 85 号
学位授与日付	令和 3 年 3 月 11 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	LAMP-based assay can rectify the diagnosis of <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> infections otherwise missed by serology
審査委員	教授 齊藤 峰輝 教授 通山 薫 教授 松田 純子

論文の内容の要旨・論文審査の結果の報告

Yersinia pseudotuberculosis（以下 Y.pstb）は人獣共通感染症の原因菌であり、ヒトでは感染性胃腸炎等の多彩な症状を生じる。特に小児では、約 8%に川崎病（以下 KD）類似の症状を呈することが知られているが、両者を急性期に判別する方法は現時点で確立されていない。従来、Y.pstb の検出には便培養および血清学的診断が用いられてきたが、いずれも結果を得るまでに長期間（数週間）を要し、急性期の診断に有用でない。そこで、種々の病原微生物を高い感度・特異度で検出可能な Loop-Mediated Isothermal Amplification（LAMP）法を、2008 年 4 月から 2015 年 3 月に川崎医科大学附属病院小児科へ入院した患者に実施して、最終的に Y.pstb 感染症と確定診断された患者 16 例（8 例は KD の診断基準を満たし、6 例は IVIG 療法を施行）について既存の検査（培養、血清学的診断）結果と直接比較検討した。LAMP 法は 16 例中 8 例（50%）、血清学的診断は 13 例（81%）、便培養は 4 例（25%）で陽性であり、LAMP 法の検出率は便培養の 2 倍、血清学的診断の 2 分の 1 であったが、3 者間に統計学的有意差を認めなかった。便培養陽性例は全例 LAMP 法陽性であった。16 例中 13 例は、便検体取得以前に抗菌薬投与が行われ、検出率低下が予想されたが、実際に抗菌薬投与例では便培養より LAMP 法で Y.pstb 検出率が高いことが確認された。LAMP 法は血清中抗 Y.pstb 抗体価の上昇を認めなかった 3 例においても Y.pstb 遺伝子を検出可能であった。

今回用いた LAMP 法は、Y.pstb 感染症確定診断例の約半数でしか Y.pstb 遺伝子を検出できなかったものの、迅速に結果を得られたことから、特に急性期において KD との判別が困難な症例において、治療方針の決定や経過観察に有用なデータを提供できることが示唆された。本研究は Y.pstb 感染症の早期診断における LAMP 法の有用性と今後の検討課題をはじめて明らかにしたきわめて重要な報告である。

学位審査会（最終試験）の結果の要旨

本申請者の学位審査会は2020年12月15日に開催された。申請者から15分間程度のプレゼンテーションがなされ、それを受けて約15分間にわたって3名の審査委員と質疑応答が行われた。

まず申請者から、本研究を実施するに至った背景と具体的な研究手法、主要な結果と考察について、発表論文内容に沿った説明がなされた。本研究は、*Y.pstb* 感染症における LAMP 法と既存の検査法（便培養、血清学的診断）結果を直接比較した国内初の報告であるが、急性期における LAMP 法の有用性と今後の検討課題が簡潔かつ明瞭に示され、本研究の学問的意義を十分に理解することができた。

発表後は審査委員と以下の質疑応答が行われた。KD 発症の先行感染としての *Y.pstb* の意義は何か（回答：川崎病は「症候群」であり *Y.pstb* 感染は原因の一つと考えられるが、*Y.pstb* 感染症が証明されれば診断基準上、川崎病と診断できない）、抗生剤投与後の LAMP 陽性例かつ川崎病の基準を満たす症例は IVIG 適応ではないか（回答：KD 症状を呈した同時発症例を経験した。先行発症した妹に IVIG を使用したが、LAMP 陽性であったため1日後に発熱した兄を抗菌薬で解熱し得た経験がある。既存の検査法では急性期に *Y.pstb* 感染を証明できないので LAMP 法は有用）、偽陰性・偽陽性の解釈について（回答：便培養結果との対比が重要。LAMP 法のみでの陽性例では偽陽性を否定できない）、感度を上げることは可能か（回答：本法の感度はすでに 10 CFU per reaction tube でありこれ以上は困難と考える）、便以外の検体を用いることは可能か（回答：便以外からの検出は困難。回盲部リンパ節径で KD との鑑別を試みている）、KD 群と急性胃腸炎群で血清中抗 *Y.pstb* 抗体価に差はあるか（回答：差はない）、抗 *Y.pstb* 抗体価測定の抗原は何か（回答：菌体抽出物を用いている）、スーパー抗原 YMP に対する抗体価と臨床症状との関連はあるか（回答：最近アッセイが可能となり、今後検討予定である）、LAMP プライマーのミスマッチが検出率低下に影響しないか（回答：最も保存された領域に設定してあり可能性は低い）。このように、概ね適切な回答が得られた。

以上より、本研究は当該領域において高い学問的意義を持つ学位論文に相応しい研究であり、また申請者自身の知識量と今後の研究遂行能力についても十分と判断され、審査委員は全員一致で最終試験の結果を合格とした。