

平成20年12月

# 長谷川晶子 学位論文審査要旨

主 査 西 連 寺 剛  
副主査 山 元 修  
同 井 上 幸 次

## 主論文

Clinical application of real-time polymerase chain reaction for diagnosis of herpetic diseases of the anterior segment of the eye

(前眼部のヘルペス性疾患診断におけるリアルタイムPCRの臨床応用)

(著者：長谷川(柿丸)晶子、郭權慧、小松直樹、小松恵子、宮崎大、井上幸次)

平成 20年 Japanese Journal of Ophthalmology 52巻 24頁～31頁

# 学 位 論 文 要 旨

## Clinical application of real-time polymerase chain reaction for diagnosis of herpetic diseases of the anterior segment of the eye

### (前眼部のヘルペス性疾患診断におけるリアルタイムPCRの臨床応用)

角膜ヘルペスは三叉神経節に潜伏感染した単純ヘルペスウイルス (Herpes simplex virus; HSV) が、熱発や外傷、ストレス、紫外線暴露などの誘引によって再活性化し、角膜で視力障害につながる炎症を惹起する疾患である。また、HSVは虹彩炎の原因にもなっている。角膜ヘルペスの診断についての確定診断にはHSVの分離同定が必要である。しかしながらウイルスの分離は時間がかかる上、感受性が低く、特殊な設備を要するため、日常臨床においては不向きな検査である。それ以外の検査として、細隙灯顕微鏡による樹枝状角膜炎などの角膜ヘルペスに特徴的な臨床所見の確認、蛍光抗体法によるウイルス抗原の検出があるが、これらは偽陽性、偽陰性を招く可能性がある。polymerase chain reaction (PCR)法は迅速かつ簡便にHSV-DNAを検出することが可能であるが、HSVは、無症候性のウイルス排泄 (spontaneous ocular shedding)があるため、PCRでは感度が高いため病因と関係ないHSV-DNAをも検出してしまう。そのため、PCRは角膜ヘルペスの補助診断として位置づけられている。本研究ではPCRの角膜ヘルペスおよびヘルペス性虹彩炎における診断法としての有用性を検討する目的で、real-time PCRを用いて前眼部炎症性疾患で得られたサンプル中のHSV-DNAを定量し、臨床診断や治療経過と比較検討した。

## 方 法

2003年7月より2005年12月までに鳥取大学医学部附属病院にて臨床的にヘルペス性眼炎症性疾患と診断された患者もしくはヘルペスと鑑別を要した前眼部炎症性疾患患者90例、全144サンプルより採取した涙液、角膜擦過物、前房水を用い、DNA mini kitにてDNAを抽出し、QuantiTect™ SYBR® Green PCR kitにてreal-time PCRを行った。プライマーはHSV-1、-2に共通の塩基配列を持つDNA polymerase領域のものを用いた。LightCycler Software、Version 3.5にて解析を行った。なお、この研究は鳥取大学医学部倫理委員会の承認を得ています。

## 結 果

上皮型角膜ヘルペスの症例からの涙液及び、角膜擦過物では、HSV-DNAはともに陽性率100%で、コピー数は涙液で平均 $3.5 \times 10^5$ ですべて $10^4$ 以上、角膜擦過物では平均 $1.0 \times 10^7$ でありすべて $10^5$ 以上で涙液よりコピー数が多く検出された。上皮型角膜ヘルペスの非定型例では陽性率76.9%、コピー数は3サンプルで $10^3$ 以上であったが、他は $10^2$ から $10^3$ 定型例よりも有意に低かった。陽性例においては抗ウイルス薬が有効であった。陰性の2例は抗ウイルス薬投与が無効でありHSV以外の原因が示唆された。

実質型角膜ヘルペスの定型例では陽性率は50.0%で、陽性例の涙液ではコピー数は平均 $4.7 \times 10^2$ で $10^1$ から $10^3$ レベルであり、上皮型よりも低かった。実質型角膜ヘルペスの非定型例では陽性率は38.9%で、陽性例の涙液では $10^1$ から $10^3$ レベルのHSV-DNAが検出された。実質型角膜ヘルペスでは全症例ステロイドと抗ウイルス薬で治療効果が得られた。

内皮炎の症例では1例のみ陽性となり、HSV-DNAコピー数はいずれも $10^2$ レベルであった。虹彩炎では陽性率85.7%、コピー数は $10^1$ から $10^5$ レベルと幅広く検出された。陽性例ではステロイドおよび抗ウイルス薬の投与で多くの症例で良好な治療効果を認めたが、低コピー数のものでは治療効果が認められないものもあった。

ヘルペス以外と臨床診断した前眼部炎症性疾患では47例中8例が陽性となった。コピー数は角膜擦過物にて $10^3$ 、涙液にて $10^2$ から $10^3$ レベル検出された。陽性を示した2例で抗ウイルス薬治療の有効性が認められた。

なお、正常なコントロール眼の涙液ではすべての症例で陰性であった

## 考 察

上皮型角膜ヘルペス定型例においてはHSV-DNAコピー数がすべて $10^4$ レベル以上であり、特に角膜擦過物はコピー数が高く、角膜上皮で活発なウイルス増殖が存在する上皮型の病態を反映していた。非定型例においては陽性でもコピー数が低い症例が多く、ウイルスの増殖が少ないことが、病変を非定型化させると考えられたが、抗ウイルス薬は有効であった。陰性の症例はHSVではないと思われ、その除外診断に有用であると示唆された。

実質型角膜ヘルペスにおいては陽性率も低く、検出されたコピー数も定型、非定型例ともに低レベルであり、ウイルスに対する免疫反応が主体とされている実質型の特徴を反映していると思われた。この病型ではreal-time PCRは補助診断に用いられると考えられた。

内皮炎では、低コピー数のHSV-DNAしか検出されず内皮炎でのHSV増殖は非常に軽度であることが推察された。

ヘルペスを除外診断する目的でreal-time PCRを行った症例で17%に陽性所見を得た。し

かし検出されたコピー数は $10^4$ 以下であり、これらの症例はほかの検査にて原因と推定される因子が存在しており、HSVが原因因子であるとは考えにくいと思われた。

## 結 論

著者らは角膜ヘルペスをはじめとする前眼部ヘルペス関連疾患においてreal-time PCRが簡便で有用な検査であることを見出した。HSV-DNAが $10^4$ コピー以上認められれば、HSVを病因と確認できると考えられた。

しかしながら低コピーの場合は、real-time PCRの結果に加えて臨床所見や治療に対する反応性などを照らし合わせて総合的に病因であるか否かを検討する必要があると考えられた。