

先天性肺炎および慢性肺疾患の起炎菌の検索

—PCR 法をもちいたサイトメガロウイルス感染症の診断—

(分担研究：慢性肺障害の管理と予防に関する研究)

研究協力者 後藤 彰子
共同研究者 大山 牧子

要約：先天性肺炎および慢性肺疾患の原因もしくは悪化させる一因としてサイトメガロウイルス（以下CMV）感染症がどの程度関与しているかを、polymerase chain reaction（以下PCR）法を用いて検討した。結果は1500g未満の34例のうち2例に陽性であり、陽性検体はいずれも尿であった。1例はCMV肺炎と診断し治療した。本法はCMVの迅速（所用時間約4時間）および高感度の診断法として有用であった。今後は感度と特異性の点でさらに改善する必要がある。

はじめに：未熟児の予後に重要な影響をもつ先天性肺炎および慢性肺障害疾患の起炎菌のひとつとしてCMV感染症が挙げられている。今回は、ウイルス培養に比べ迅速で高感度なpolymerase chain reaction(以下PCR)法を用いて検討した。

対象および方法：対象は1990年1月から12月まで神奈川県立こども医療センターNICUに入院し以下の検索がなされた極小未熟児とした。検体は生後1週以内、および1ヵ月以降退院まで1ヵ月ごとの尿、咽頭ぬぐい液または気道吸引物、および単核球とした。検体はあらかじめ99℃10分のdenaturationを行った。PCRはSaikil)らの方法に準じて、Gene Amp Kit™(Perkin-

Elmer Cetus)を用いた。プライマーとしてHCMV glycoprotein B(Genetic science)を用いた。最終濃度は検体1μgに2×buffer、primer各0.086μM、NTP各0.32mM、Taq polymerase 2.5unitを加え計15.5μlとし、増幅はZymoreacter™(Atto)を用い、94℃1分(denaturation)、58℃2分(annealing)72℃3分(extension)で25cycleとした。増幅後のサンプルはethidium bromideを加えた2% NuSieve、1% agarose ゲルで電気泳動し、UVランプ下でDNAのサイズを確認した。

結果：

1. 増幅条件の検討。上記の設定で目的とする215bpのバンドが検出された。35cycle以上

では偽陽性が出現した。

2. PCRおよび電気泳動法による検出感度。感染価としての検出限界は15 TCID₅₀/mlであった。
3. プライマーの特異性の検討：今回使用したプライマーはヘルペス群の他のウイルスのうち、単純ヘルペス1型、水痘ウイルス、EBウイルスとでは増幅されないことを確認した。
4. 臨床材料への応用。出生体重1500g未満の34例のうち、陽性は2例、9検体でいずれも尿であった。採取部位別の結果を表に示した。

採取部位	検体数	+	-	±
咽頭/後鼻腔	42	0	42	0
気道吸引液	8	0	4	4
単核球	25	0	24	1
尿	78	9	69	0

まとめ：本法はサイトメガロウイルスの迅速(所用時間約4時間)および高感度の診断法として有用であった。今後は感度と特異性の点でさらに改善する必要がある。陽性例の1例は慢性肺疾患の超未熟児でCMV肺炎と診断し治療した。現在在宅酸素療法中である。慢性肺疾患へのCMV感染症の関与、退院後の在宅管理中の呼吸不全の増悪時などに、本法による迅速診断が可能である。

- 1) Saiki RK, Scharf S, Faloona F, Mullis KB, Horn GT, Erlich HA, and Arnheim N: Enzymatic amplification of B-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. Science 230, 1350-1354, 1985.



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



要約:先天性肺炎および慢性肺疾患の原因もしくは悪化させる一因としてサイトメガロウイルス(以下 CMV)感染症がどの程度関与しているかを、polymerase chain reaction(以下 PCR)法を用いて検討した。結果は 1500g 未満の 34 例のうち 2 例に陽性であり、陽性検体はいずれも尿であった。1 例は CMV 肺炎と診断し治療した。本法は CMV の迅速(所用時間約 4 時間)および高感度の診断法として有用であった。今後は感度と特異性の点でさらに改善する必要がある。