

5 . 細菌 第二部

部長 荒川 宜親

概要

細菌第二部は、第一室から第五室の5つの室で構成され、抗生物質製剤、DPT ワクチン、抗毒素製剤、BCG 製剤、精製ツベルクリンなどの力価試験などの品質管理業務（国家検定、国家検査、一斉監視指導収去検査、特別審査、依頼検査など）ならびにそれに必要な標準品の製造などを担当している。また、ウイルスワクチンを含む生物学的製剤の無菌試験、エンドトキシン試験などに従事し、同時に、生物学的製剤の試験結果の解析、評価などに関して各部、室に対し生物統計学的側面からの支援を行ってきた。さらに、これらの生物学的製剤等の試験・検査、品質の向上に関わる各種の研究業務に従事した。他方、国際協力の面では、今年度も WHO、JICA、国立国際医療センターの各種海外プロジェクトに協力し、同時に研修生等の受け入れや技術研修などの支援を行った。特に、WHO の “Collaborating Center for Research and Reference Services for Immunological and Biological Products” としての活動を行った。

この間、細菌第二部では、細菌学、細菌感染症学の研究部として細菌の病原性（薬剤耐性を含む）細菌感染症の病態、細菌感染症の診断・予防・治療など広範にわたる研究が推進されている。また、生物学的製剤の品質管理技術の向上を目指して、種々検討や研究が行われた。

品質管理業務及び研究実績の詳細については各製剤担当室毎に後述するが、部として取り組んだ主要な業務や代表的な研究課題などを以下に示す。

1. 厚生労働省による「院内感染対策サーベイランス事業」への専門的な視点からの支援
2. 特定疾患と微生物感染症との関連性についての研究
3. アジア諸国（特にベトナム、台湾など）における細菌ワクチン製剤の品質管理の向上に関する国際協力および共同研究
4. 海外、主としてアジア地域における百日咳等の感染症の診断、予防などに関する技術支援
5. 国内の医療施設で分離された薬剤耐性菌の遺伝子型別などの詳細な解析に関する技術支援

その他、ジフテリア菌、百日咳菌、破傷風菌、

Helicobacter pylori、*Bartonella quintana*、*Haemophilus influenzae* などの病原細菌の分離・同定、病原性や病原因子、検査法、分子疫学などにかかわる様々な研究が実施された。

研究業務としては、厚生科学研究費補助金による各種の研究事業に協力し、さらに、新興・再興感染症研究事業、医薬安全総合研究事業、ヒューマンゲノム財団国際研究グラント事業など各種の研究事業による研究に参加した。また、文部科学研究費補助金による様々な研究等も実施された。

常勤職員の異動としては、平成17年10月1日付けで森 茂太郎が研究員（第四室）として採用された。平成18年3月末日を以て山本三郎室長が退官された。細菌第二部に客員研究員として木ノ本雅通、石田説而、協力研究員として黒川博史、川村久美子、黒川博史、長野則之、小島 禎、土井洋平、八木哲也、瀬戸幸路、坂本 崇、山本十糸子、大石和恵、高塚尚和、井上雅可、流動研究員として石川曉志、和知野純一、研究生として、本間 操、山田友紀、畑中公基、松永和代、長野由起子らが在籍し、細菌感染症に関する様々な研究を行った。臨時職員（事務補助、研究補助）として、瀬川晶子、木村幸司、甲斐久美子、横川滋子、瀧 世志江、南條友子、粕谷裕子、吉村由美子、増田まり子、長岡芳昭、岡宮洋子、井口由美子、豊生幸子、豊泉裕美、片岡紀代（村山庁舎業務管理課在籍）らが在籍し、事務補助、研究補助等に従事した。

業績

調査・研究

・抗生物質に対する耐性菌に関する研究

1. 薬剤耐性菌及び抗菌薬関連下痢症等に関する菌株・検体等の解析依頼の概要について

国内 71 施設及び海外 2 施設の医療機関等から、研究ベースでの依頼を受けた菌株・検体について、薬剤耐性遺伝子検査（475 件）、毒素遺伝子検査（165 件）、菌株タイプング解析（415 件）、菌種同定（181 件）、*Clostridium difficile* 分離同定（11 件）、*C. difficile* 毒素検出（21 件）、その他（60 件）の解析を実施し、それらの結果を依頼施

設に報告した。依頼菌株の菌種については、(1) *Enterococcus* spp. (179 株)、*Staphylococcus* spp. (36 株)、*Streptococcus* spp. (3 株)、その他のグラム陽性球菌 (7 株) (2) *Clostridium* spp. (187 株)、その他のグラム陽性桿菌 (2 株) (3) *Pseudomonas* spp. (112 株)、*Escherichia coli* (77 株)、*Proteus* spp. (25 株)、*Acinetobacter* spp. (32 株)、*Klebsiella* spp. (29 株)、*Helicobacter pylori* (21 株)、*Serratia* spp. (16 株)、*Enterobacter* spp. (9 株)、*Providencia* spp. (8 株)、*Alcaligenes* spp. (4 株)、*Achromobacter* spp. (4 株)、*Morganella* spp. (2 株)、その他のグラム陰性菌 (13 株) (4) その他 (2 株) であった。[加藤はる、柴田尚宏、山根一和、鈴木里和、甲斐久美子、吉村由美子、横川滋子、瀧世志江、木村幸司、和知野純一、近田俊文、荒川宜親]

2. 新型 IMP-21 型メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌の検出との遺伝子解析

メタロ-β-ラクタマーゼは、カルバペネム系を含むほとんどすべての抗生物質を加水分解する強力な酵素であるため、臨床的に問題となっている。我が国では、IMP-1 型メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌が圧倒的に多いことが明らかとなっているが、その亜型も海外では報告されてきている。今回、我が国で臨床分離された緑膿菌から、新型のメタロ-β-ラクタマーゼ産生菌を検出した。このメタロ-β-ラクタマーゼ遺伝子は、海外で報告のない IMP-11 型と 1 アミノ酸の違いが認められた。さらに、周辺の遺伝子解析を行った結果、これらはクラス 1 型インテグロン構造に担われており、同時にアミノグリコシド耐性遺伝子も保有しており、多剤耐性菌として問題になると考えられた。[柴田尚宏、荒川宜親]

3. CTX-M 型 β-ラクタマーゼ遺伝子の周辺構造の遺伝子解析

我が国で分離された臨床分離グラム陰性桿菌を用い PCR 法により遺伝子タイピングを試みてきた。その結果、CTX-M-1 型、CTX-M-2 型さらに CTX-M-9 型の 3 つのグループに分かれることが明らかとなったが、さらに解析を進めて、シーケンス解析から CTX-M-2 型、CTX-M-3 型、CTX-M-9 型、CTX-M-14 型が多く存在することを明らかにしてきた。こうした CTX-M 型遺伝子は、*ISEcp1* やインテグロンに担われていることが報告されつつあるので、CTX-M 型タイピングと *ISEcp1* とインテグロンの保有状況を PCR にて解析した。その結果、我が国で分離された CTX-M 型遺伝子保有株は、*ISEcp1* に担われている割合が多いことが明らかとなった。[柴田尚宏、鈴木里

和、横川滋子、荒川宜親]

4. CTX-M-2 型 β-ラクタマーゼ遺伝子保有 *Proteus mirabilis* のパルスフィールド電気泳動とプラスミドプロファイルの解析

我が国で分離された臨床分離グラム陰性桿菌を用い PCR 法により CTX-M 遺伝子タイピングを試みてきた。その結果、我が国で臨床分離される *P. mirabilis* では、ほとんどが CTX-M-2 型であることが明らかとなり既に報告した。今回さらに、これらの株についてパルスフィールド電気泳動とプラスミドプロファイルの解析を行った。その結果、我が国で分離された CTX-M-2 型遺伝子保有 *P. mirabilis* は、PFGE パターンは異なるが、大半が類似のプラスミドプロファイルとなることが明らかとなった。このプラスミドは伝達性であることが明らかとなっており、プラスミドを介して我が国に広がっている可能性が示唆された。[柴田尚宏、鈴木里和、荒川宜親]

5. LAMP 法によるメタロ-β-ラクタマーゼ産生菌の迅速診断法の開発

我が国で開発された LAMP (loop-mediated isothermal amplification) 法は、従来の PCR 法にかわる迅速で特異度の高い方法として注目されている。今回、シーケンス解析の明らかとなっている臨床分離メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌の内、IMP-1 型および VIM-2 型メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌を用い、各々の遺伝子に特異的プライマーを設計し、PCR 法と比較検討した。その結果、LAMP 法は、従来の方法に比して、より迅速に遺伝子を検出できるだけでなく、特異度も高いことが明らかとなった。この成果は、臨床現場で応用が期待できることが示唆された。[柴田尚宏、小島禎 (栄研化学)、荒川宜親]

6. プラスミド性ニューキノロン耐性遺伝子の解析

臨床分離された大腸菌のプラスミドに保持されていたニューキノロン耐性遺伝子 *qep* の解析を行い、この遺伝子産物が 14 回膜貫通型 MFS ファミリーに属する薬剤排出ポンプであることを明らかにした。[山根一和、和知野純一、鈴木里和、荒川宜親]

7. PCR 法によるプラスミド性ニューキノロン耐性遺伝子 *qep* の保有状況の調査

ニューキノロン耐性遺伝子 *qep* は、アミノグリコシド耐性遺伝子の一種である 16S rRNA メチラーゼ (*rmtB*) の近傍に存在することが明らかになったために、*rmtB* 陽

性菌株の *qep* 保有状況を PCR 法によって調べた。その結果、10 株の *rmtB* 陽性菌株 (*Escherichia coli* 7 株、*Klebsiella pneumoniae* 1 株、*Serratia marcescens* 1 株) のうち 3 株の *E. coli* で *qep* が陽性となった。[山根一和、和知野純一、荒川宜親]

8. アミノグリコシド高度耐性を示す臨床分離株の解析

臨床分離されたアミノグリコシドに高度耐性を示す腸内細菌について 16S rRNA メチラーゼ遺伝子の保有の有無を確認した。その方法はアルベカシン含有ディスクを用いて阻止円の形成が認められない菌に対して既存の 16S rRNA メチラーゼを multiplex PCR 法で確認した。その結果、一医療施設から分離された大腸菌が *rmtB* 陽性と判定された。[山根一和、甲斐久美子、荒川宜親]

9. 血液から分離されたグラム陽性菌の菌種同定

患者血液から分離されたグラム陽性桿菌について、生化学性状および 16S rRNA 遺伝子の塩基配列によって菌種を同定した。その結果、このグラム陽性菌は *Dysgonomonas capnocytophagoides* であることが判明した。[山根一和、荒川宜親]

10. 多剤耐性緑膿菌による院内感染事例の分子疫学的解析

医療機関において発生した多剤耐性緑膿菌の院内感染事例について、耐性遺伝子の解析、および PFGE 解析による遺伝子型別などを実施し、感染源感染経路について解析した。本事例は同一株が患者の病棟間移動に伴い、病院内広範に伝播していったと考えられた。また、痰の吸引といった医療従事者による呼吸器系のケアが伝播に寄与していると考えられた。[鈴木里和、山根一和、柴田尚宏]

11. バンコマイシン耐性腸球菌の細菌学的解析、集団発生事例の比較検討

わが国の院内感染事例由来の VRE は菌種、耐性遺伝子型ともに米国や韓国のような VRE がすでに高度に蔓延している地域とは異なっていた。しかし、MLST ではいわゆる“global epidemic strain”もすでに分離されており今後の対策の重要性が示唆された。また、院内感染対策は持ち込み例がほとんど無いため接触感染対策で十分に制御可能であったが、保菌者の迅速な把握が制御において重要であると考えられた。[鈴木里和、加藤はる、山根一和、柴田尚宏]

12. バンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) に関する研究

(1) VRE の PCR による *van* gene 検出あるいは菌種同定について、日本大学医学部付属板橋病院、長崎神経医療センターから解析依頼のあった菌株について研究ベースにて解析を行った。[加藤はる、甲斐久美子、吉村由美子、近田俊文、荒川宜親]

(2) VRE の PCR による *van* gene 検出あるいは菌種同定について、長崎県から解析依頼のあった菌株について行政検査として解析を行った。[加藤はる、甲斐久美子、近田俊文、荒川宜親]

. 抗菌薬関連下痢症に関する研究

1. *Clostridium difficile* における *slpA* シークエンスタイピングの確立とダイレクト・タイピングへの応用

C. difficile の新しいタイピング法として、細胞表面タンパクのひとつをコードする *slpA* 遺伝子のシークエンスによる方法の開発を試みた。さらに、臨床検体から分離培養ステップを経ることなく行うダイレクト・タイピング法へ本法を応用した。[加藤はる、横山敏之(久美愛病院) 加藤秀章(豊川市民病院) 赤羽貴行(安曇野赤十字病院) 伊藤陽一郎(岐阜赤十字病院)]

2. 糞便検体からの loop-mediated isothermal amplification (LAMP) による *Clostridium difficile* toxin B 遺伝子検出法の開発

LAMP による分離菌株の toxin B 産生能解析、および糞便検体からの toxin B 遺伝子検出法を開発した。糞便検体から DNA を抽出するステップを省略するために、cooked meat media で一晩培養し、培養液を 95 °C でインキュベートすることにより簡単に DNA を抽出する方法に発展させた。[加藤はる、吉村由美子、横山敏之(久美愛病院) 加藤秀章(豊川市民病院)]

3. 院内感染が疑われた複数の *Clostridium difficile* 関連下痢症 / 腸炎症例の解析と比較

解析依頼があり、研究ベースにて *C. difficile* 分離菌株の毒素産生性の検討とタイピング解析を行った。[加藤はる、吉村由美子、中村敦(名古屋市立大学附属病院) 里村秀行(千葉県がんセンター) 伊藤陽一郎(岐阜赤十字病院)]

4. 小児癌入院患児における *Clostridium difficile* 感染、消化管保有、および院内伝播に関する研究

白血病を中心とした小児癌症例では、抗がん薬および抗菌薬を頻繁に使用し、治療経過中にはよく下痢症状が

認められる。癌の治療目的で入院中の小児症例における *C. difficile* 消化管保有および下痢症の発症について検討する研究を開始した。[加藤はる、吉村由美子、甲斐久美子、村端真由美（名古屋市立大学）]

・ 偏性嫌気性細菌に関する研究

1. 偏性嫌気性臨床分離株の同定

急激な経過をとったガス壊疽症例から分離された偏性嫌気性菌の同定を依頼された。ヒト感染症からは今までに分離報告のない *Clostridium chauvoei* と同定された。[加藤はる、高橋元秀、近田俊文、荒川宜親、長野則之（船橋市立医療センター）、佐々木貴正（農水省消費・安全政策課）]

・ マイコプラズマに関する研究

1. マクロライド耐性マイコプラズマ感染症に関する研究

2000年以降、それまで報告の無かったマクロライド耐性マイコプラズマが、わが国において分離されるようになった。そのために、マクロライド耐性マイコプラズマ感染症をマクロライドで治療した場合、感性菌に比べどのような影響が生じるかを検討した。耐性菌感染症の場合は感性菌に比べ有熱期間が3日延長していた。基礎疾患を有する患者や治療が遅延する場合には、耐性菌の可能性を考えてテトラサイクリン系抗菌薬への変更が検討されるものと考えられた。[鈴木里和、見理剛、佐々木次雄]

2. マイコプラズマ感染と特定疾患の関連性についての研究：新種 *Mycoplasma amphoriforme* 遺伝子診断系の国内導入

ヒトの下気道感染症起因菌の可能性を有する新種マイコプラズマ アンフォリフォルム（Mamp）が欧米で分離、同定されたことを受けて、国内における診断系の確立ならびに、先天性免疫不全患者での慢性呼吸器疾患患者における菌検出調査を開始した。今年度は、菌培養、16SrRNA 遺伝子配列による PCR 法、肺炎マイコプラズマとの交差抗原の解析を行った。結果、DnaK を含む複数蛋白が交差抗原であった。今後、Mamp 特異抗原の同定とともに、全菌体を用いた肺炎マイコプラズマ血清診断法への影響についても検討する必要があると考えられた。[佐々木裕子¹、永田典代²、有賀 正³、荒川宜親¹、佐々木次雄¹、1：細菌第二部、2：感染病理部、3：

北海道大学大学院医学研究科、病態制御専攻生殖・発達講座小児科学分野]

3. *Mycoplasma penetrans* 感染因子のプロテオミクス解析

呼吸窮迫を伴う全身症状を呈した抗リン脂質症候群患者の気道由来マイコプラズマ ペネトランス HF-2 株の感染に関与する因子の解析を行っている。ゲノム情報から予想された宿主免疫を回避する為の抗原変異機構、すなわち、複数プロモーター制御下における主要抗原リポ蛋白の相変異について、発現蛋白からの解析を LC/LC-MS/MS を用いて行った。結果、遺伝子群における 38 個の遺伝子産物がランダムに検出されるのではなく、特定の遺伝子産物が多いといった偏りがあることが示唆され、調節機構の存在が疑われた。[佐々木裕子¹、新開-大内 史子²、山河芳夫²、川上隆雄³、見理 剛¹、堀野敦子¹、荒川宜親¹、佐々木次雄¹、1：細菌第二部、2：細胞化学部、3：東京医科大学、臨床プロテオームセンター]

4. *Mycoplasma penetrans* の部位特異的組み換え酵素について

我々はこれまで *M. penetrans* の膜リポタンパク質の発現を調節するプロモーター配列の逆位に、チロシン部位特異的組み換え酵素、MYPE2900 が関与していることを明らかにしてきた。しかしこれまでは、プラスミド上に MYPE2900 の遺伝子を組み込み大腸菌内で発現させて、プロモーター領域の逆位を観察することはできなかったが、分離・精製が可能な量の MYPE2900 タンパク量を発現させることはできなかった。今回低温でタンパク発現を誘導することができる pCold I vector (Takara) を用いて検討したところ、MYPE2900 の大量発現が可能となった。[堀野敦子、見理 剛、佐々木裕子、佐々木次雄]

5. *M. pneumoniae* のトランスポゾン挿入位置分析法の改良

M. pneumoniae は、他の細菌で用いられる相同組み換えによる遺伝子破壊法を行うことができない。遺伝子導入ツールとしてトランスポゾン Tn4001 が使用できるので、Tn4001 の挿入による変異株の作製は可能である。しかし、目的の遺伝子に Tn4001 が挿入した変異株をえるには、Tn4001 の挿入位置を多数調べなくてはならない。これには煩雑な手間が必要である。今回、我々は Tn4001 に大腸菌内で複製可能な ori と薬剤耐性遺伝子を組み込み、*M. pneumoniae* のゲノムへ挿入後、ゲノム DNA を制限酵素で切断して環化することによりプラスミドとして

扱えるようにした。このプラスミドには Tn4001 の挿入位置の DNA の配列が含まれているので、その配列を調べることにより簡便に挿入位置の決定が可能となった。

[堀野敦子、見理 剛、佐々木次雄]

6. *M. pneumoniae* のタンパク質細胞内局在の網羅的解析

M. pneumoniae は自律増殖が可能な最小クラスの細菌であるが、高度に分化した接着器官をもっている。接着器官は *M. pneumoniae* の病原性に必須な構造で、その形成には細胞骨格様構造がかかわっている。*M. pneumoniae* の細胞骨格様構造をより詳しく知るための手段として、*M. pneumoniae* のタンパク質の細胞内局在の網羅的分析を開始した。本年度は *M. pneumoniae* の全 689 個の遺伝子のうち、約 100 個について、黄色蛍光タンパク質 EYFP の遺伝子を連結して *M. pneumoniae* で発現させ、その産物の細胞内局在を蛍光顕微鏡観察によって調べた。その結果、約 20 個の遺伝子産物が明らかな細胞内局在を示した。このうち 10 個は細胞内で局在することがこれまで知られていなかった。

[見理 剛、瀬戸真太郎、宮田真人、堀野敦子、佐々木次雄]

. *Haemophilus influenzae* 及び *Haemophilus b* Conjugate Vaccine に関する研究

1. *H. influenzae* 臨床分離株の *pbp3* 遺伝子の変異と薬剤感受性の比較解析

呼吸器由来 *Haemophilus influenzae* 臨床分離株 (β-ラクタマーゼ産生株 61 株、同非産生株 81 株) を用いて、*pbp3* 遺伝子の変異を検出する PCR 法(市販研究用試薬を用いた)による遺伝子型と、薬剤感受性試験による表現型との一致状況を比較解析した。β-ラクタマーゼ非産生株において ABPC の MIC が 4 μg/ml の株では両者に乖離は殆ど見られなかったが、調べた限りの ABPC の MIC が 2 μg/ml (中間) の株では約 30% の遺伝子型が BLNAR 型であり、感性である 1 μg/ml の株でも数% が BLNAR 型であった。β-ラクタマーゼ非産生 BLNAR 型変異株ではセファクロル、セフカペン、セフポドキシムで感受性が低下し、また低頻度ながらセフォタキシム、セフトラジムに非感受性の株も見られた。[新谷三春、佐々木次雄、荒川宜親]

2. Hib ワクチンを含む外国製混合ワクチンの組成に関する調査

近年国内外のワクチンの開発・貿易の活発化に伴いそれらワクチンの特性を常に把握する必要がある。Hib ワ

クチン(破傷風トキソイドコンジュゲート)を含む外国製混合ワクチンの組成などについて以下の点を整理把握した。A 社では PT、FHA、PRN の 3 成分で構成した aP と D,T との混合ワクチン(DTaP3)、それと IPV、Hib との混合ワクチンを製造している。他方 B 社では PT、FHA の 2 成分で構成した aP と D,T との混合ワクチン(DTaP2) 及び PT、FHA、PRN、fimbriae2+3 の 5 成分で構成した aP と D,T との混合ワクチン(DTaP5)を製造し、それぞれについて IPV、Hib との混合ワクチンを製造するという 2 系列になっている。これまでの DTaP2/Hib、DTaP3/Hib、DTaP2/IPV/Hib、DTaP3/IPV/Hib、DTaP5/IPV/Hib は、すべて凍結乾燥品の Hib ワクチンを、セットになっている液状の他のワクチン成分で用時溶解してすぐに接種するというワクチンであり、ライセンスであったが、B 社は最近初めから全成分が混合された液状ワクチンを開発した。アジュバント、破傷風トキソイドなどは、日本のワクチンにおけるよりも量が多い。[新谷三春]

. ジフテリアに関する研究

1. *Corynebacterium ulcerans* とジフテリア菌の共通抗原について

C. ulcerans はジフテリア類似の感染症の起因菌として近年国内でも注目されている。我々は 3 種類のジフテリア菌抗原が抗 *C. ulcerans* 抗血清と反応することを見だし、これらの菌の共通抗原として診断への有用性を検討している。今回、遺伝子塩基配列の解析から、そのうちの 1 種が Cu-Zn superoxide dismutase であることが示唆された。この遺伝子と高いホモロジーを示す遺伝子は他の *Corynebacterium* 属細菌には見いだされないことから、鑑別に有用である可能性がある。[岩城正昭、小宮貴子、高橋元秀]

2. ジフテリア菌を接種されたマウスの貪食細胞における菌の存在様式

ジフテリア毒素以外のジフテリア菌病原因子を探索・解析するために、ジフテリア毒素に非感受性の動物種であるマウスを用いた感染実験を構築した(昨年度年報参照)。マウス背部皮内に 10^6 cfu のジフテリア菌を投与することにより形成された膿瘍の内部には菌の存在が認められるが、この膿瘍の内容を電顕観察したところ、貪食細胞の内部および外部に菌が認められた。特に細胞内では、vacuole 様構造中および細胞質に多数の菌が認められ、一部のものは分裂像を示したことから、菌が細胞内で増殖している可能性が示された。[岩城正昭、永田典代(感染病理部)、波多野いく持(感染病理部)、高橋元秀]

3. LAMP 法によるジフテリア毒素遺伝子の検出

LAMP 法は日本で開発された遺伝子増幅法で、操作の簡便性と高感度のため広く普及しつつある。ジフテリアの実験室診断の迅速化・簡便化のため LAMP 法の応用を試みた。ループプライマーを含む六種のプライマーを用いた増幅反応により、ジフテリア菌 ATCC 700971(NCTC13129)株の精製ゲノム DNA 10 コピーを検出できる系が構築できた。また、血液寒天上に生育した同株の菌体を蒸留水に懸濁し加熱した上清を鋳型としたところ、OD₆₀₀ = 1 の菌体懸濁液から増幅が認められ、LAMP 法はジフテリア毒素遺伝子の迅速検出に有用であることが示唆された。[岩城正昭、高橋元秀 厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業]

4. 国内ジフテリア臨床分離菌株のパルスフィールド電気泳動による分類

1967 年から 1992 年に分離されたジフテリア菌株、東京都 41 株、秋田県 5 株、栃木県 35 株の合計 81 株を各地方衛生研究所から収集し、菌株の分離時期、場所の情報を持つ秋田県と栃木県の 40 株について、制限酵素 SfiI を用いて、パルスフィールド電気泳動による分類を行った。秋田県と栃木県の菌株は異なるタイプであった。また、秋田県の菌株は 3 つのタイプに分類され、栃木県は、25 のタイプに分類された。今後、リボタイプを調べて、国際分類を行う計画である。[小宮貴子、岩城正昭、高橋元秀 厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業]

5. 国内分離された *Corynebacterium ulcerans* の性状比較

千葉県 2 株(2001 年と 2002 年分離)と歌山県 2 株(2004 年シャチから分離)、岡山県 1 株(2005 年分離)、大分県 1 株(2006 年分離)の合計 6 株についての性状をまとめると、アピコリネ同定検査結果コードは全て 011326 であり、20 項目の生化学性状は同じであった。また、培養細胞法によるジフテリア毒素活性は、千葉県 2001 年株は 11CD50/25 μ l、千葉県 2002 年株は 5 CD50/25 μ l、和歌山県 2004 年株は、11 CD50/25 μ l と 512 CD50/25 μ l、岡山県 2005 年株は 4 CD50/25 μ l、大分県 2006 年株は 64 CD50/25 μ l であった。[小宮貴子、岩城正昭、高橋元秀]

・破傷風に関する研究

1. 破傷風毒素構造遺伝子の塩基配列の比較:破傷風菌は菌株により毒力が大きく異なっている。そこで、これらの毒力の違いを解明するために、26 株の破傷風菌の毒素

構造遺伝子の塩基配列の比較を進めている。その結果、これらの破傷風菌の中の 3 株では、3408 番目の T の後ろに 12 個の塩基が挿入されていた。これらの 3 株の毒力の強弱には一定の傾向はみられず、また、塩基の挿入されている領域はフラグメント C の中央付近であり、毒力への影響は低いと推測された。今後、さらに他の領域についても、塩基配列の決定を進めている。[福田 靖、岩城正昭、高橋元秀]

2. DTaP ワクチンへの混合化に関する検討:IPV、HepB の混合により DTaP のジフテリアと破傷風トキソイドの力価は大きく影響を受けないと推測される。一方、Hib を DTaP に混合した場合、ジフテリアトキソイドの力価は大きな影響を受けないが、破傷風トキソイドの力価は、混合前よりも 10 倍以上に上昇する場合があります。国内製剤の力価と異なる製剤の導入には注意が必要である。[福田靖、岩城正昭、小宮貴子、高橋元秀 厚生労働科学研究費補助金 医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業]

・ボツリヌスに関する研究

1. バイオテロに用いられる可能性のある細菌毒素の診断法

Staphylococcus aureus Enterotoxin B (SEB)と *C.septicum* 毒素の早期検出系としてイムノクロマト法を開発するための検出用抗体を作製した。また、感染症法の一部改正に伴う病原微生物等のバイオセキュリティ基準については、ボツリヌス毒素・菌を例にとり法施行後の現場対応を考察した結果、患者の医療及び公衆衛生対策に必要な実験室診断に支障がおこらないような措置の検討が必要と思われる。[高橋元秀、向本雅郁、小崎俊司(大阪府立大)、諸角 聖(東京都健康安全研)、八柳 潤(秋田県衛科研)、坂本 崇(国立精神神経センター)、銀永明弘、原川哲博(化血研) 厚生科学研究費補助金 新興・再興感染症 研究事業]

2. ボツリヌス毒素の品質管理法の改良

精度および感度の高いボツリヌス毒素の品質管理方法を確立するため、ラットの筋肉内に毒素を接種後、複合筋活性電位による評価系を結果、マウスの致死活性を指標とする以外に、毒素の品質試験法として精度良く用いることが明らかとなった。[高橋元秀、小崎俊司(大阪府立大)、銀永明弘、原川哲博(化血研) 創薬等 HS 総合研究事業]

・結核等抗酸菌に関する基礎研究

1. マイコバクテリアのコロニー形態に影響を与える遺伝子の同定

これまでに、*Mycobacterium smegmatis* においてコロニー形態に影響を与える新規遺伝子 (MSMEG6056) を見いだしている。そこで *M. bovis* BCG 株を用いて、MSMEG6056 と高い相同性を示す Mb3628c 遺伝子を破壊した株を作成したところ、破壊株のコロニー形態は通常株における Rough 型とは異なり Smooth 型であった。また、作成した破壊株中で Mb3628c 遺伝子を発現させた相補株では、コロニー形態は Rough 型に復帰した。これらのことから、本遺伝子はマイコバクテリアに共通してコロニー形態に関与していることが示された。現在は *M. tuberculosis* を用いた破壊株の作成、並びに本遺伝子と病原性との関連について解析を行っている。[森茂太郎、石川暁志、柴山恵吾、荒川宜親]

2. 結核菌由来タンパク質の精製、並びに結晶化

新規抗結核薬の効率的な開発に結びつける目的で、抗結核薬の標的になると考えられる結核菌由来タンパク質の立体構造解析を進めている。これまでに、主に細胞壁合成に関連している 13 遺伝子を結核菌のゲノム DNA より PCR を用いてクローニングした。そのうち、Rv1110、Rv2610c、Rv2868c、Rv3799c、及び Rv3801c については大腸菌内で大量発現させる実験系を確立し、さらに Rv1110 と Rv2610c は SDS-PAGE 上で単一バンドになるまで精製を行った。現在は得られた両精製タンパク質を用いて結晶化条件のスクリーニングを行うとともに、残りのタンパク質についても順次結晶化を進めている。[森茂太郎、柴山恵吾、荒川宜親]

3. モルモット脾臓および肺の BCG 増殖抑制因子に関する研究

BCG あるいは結核菌の加熱死菌体で免疫したモルモットのみならず、非免疫モルモットの脾臓および肺ホモジネート成分にも BCG 増殖抑制活性が認められた。BCG 増殖抑制活性は 50 以上の加熱により失活するが、UV 照射あるいは超音波処理では失活せず、脾細胞の非細胞分画あるいは血清にも存在することから、細胞を介した免疫活性によるものではない。生体が本来有する自然抵抗性によるものと推測された。また、本因子存在下では BCG コロニーの出現が遅延することから、抗酸菌の潜伏感染機序の解明につながると考えられる。[持田恵子、荒川宜親]

・BCG、ツベルクリンの品質管理に関する研究

1. BCGワクチンの副反応についての報告

膀胱癌患者の再発防止目的で膀胱内注入されたBCGワクチンによる副反応例(4報)、膀胱癌抑制の機序に関する報告(4報)、BCG亜株の比較、その他BCG製剤に関する報告を抄読し、今後の対策についての提言を行った。膀胱癌再発予防のためのBCG維持療法の難しさは、副反応出現予測と再発防止のバランスを図ることにある。過剰投与による自己免疫性副反応と免疫抑制の両者が出現し、投与量・間隔のコントロールが重要である。一方、血液癌患者は治療薬による免疫抑制により結核発症リスクが高い宿主である。このような宿主での結核発症の早期発見も今後の重要な課題と言える。[持田恵子、荒川宜親]

2. サーモトレーサーによるPPD皮膚反応計測の試み

PPD皮膚反応は特異抗原に対する免疫反応が皮膚の硬結となることを利用して計測する。局所での炎症性反応が硬結および発赤となる現象を目視により反応径を測定する現行法と比べ、皮膚温の変化をサーモトレーサーにより検知する方法が優れているか否かを明らかにするため、NECサーモトレーサーTH9100Proを用いて検討した。本機は最小検知温度差が0.02度と十分な感度を有するが、実際に毛剃りしたモルモット皮膚温を測定してみると、PPD接種の有無に関わらず心臓部から四肢末端部方向への体温低下のグラデーションがあり、さらにPPD接種部位は非接種部位よりも皮膚温が低下していた。炎症性反応から反応局所の発熱を予想していたが、全く逆の結果を示した。硬結部位の境界がサーモトレーサー法では明確な差異とはならず、目視法に代わる方法としては不相当と結論された。[持田恵子、柴山恵吾、森茂太郎、井口由美子、山本三郎]

3. 精製ツベルクリンの品質管理に関する研究

精製ツベルクリンは一般診断用18ロットについて力価試験を行った。平均値は -0.8 ± 3.0 であった。自家試験の平均値 2.5 ± 2.8 とはt検定により危険率0.01で有意差が認められた。自家試験と国家検定成績間での乖離は平成15年度から3年連続で認められている。合否判定には影響しないが、今後もトレンド解析を行う必要があると考えられた。[山本三郎、持田恵子、柴山恵吾、森茂太郎、井口由美子]

4. BCG日本株から製造されるBCG製剤に含まれる2種類の亜株の定量法の確立

感染研が保有しているBCGのシードTokyo172にはゲノム上のRD16領域に一部欠損があるType I variant strainと、欠損の無いType II variant strainの2種類が混在する。このシードをもとに製造されたBCG製剤はこれらの菌株を様々な割合で含む。Realtime PCRによりその割合を定量する系を確立した。[柴山恵吾、持田恵子、森茂太郎、山本三郎]

5. BCG製剤の菌の凝集の測定

BCGは凝集しやすい性質を持ち、その凝集の程度は温度、時間、撹拌などの条件により大きく変わる。BCG製剤の力価試験は、菌を溶解液で溶解後希釈し、培地に植えて生えてくるコロニー数から計算されるが、用いる菌液に菌の凝集があると、力価に影響すると考えられる。菌液中の菌の凝集を血小板凝集測定装置で測定することを試みた。菌の凝集はある程度半定量的に測定出来ることが分かった。[柴山恵吾、持田恵子、森茂太郎、山本三郎]

6. BCGの菌量測定試験に用いる濁度計の機種変更の検討

現在 BCG 製剤の菌量測定試験は菌の濁度を測定することにより行っているが、用いてきた機種が老朽化し、また製造中止となっており故障の際には修理も不可能のため、試験を別の機種に切り替えるための validation を行った。[柴山恵吾、持田恵子、森茂太郎、山本三郎]

・その他持続感染性病原細菌に関する研究

1. *Helicobacter pylori* のアポトーシス誘導蛋白の生化学的性状の解析

H. pylori より我々が同定したアポトーシス誘導蛋白-glutamyl transpeptidase を大腸菌を用いて大量発現、精製する系を確立し、精製蛋白を用いて酵素学的な characterization を行った。この蛋白はグルタミン、グルタチオンに対して強い加水分解活性を持ち、それが病原性に関わっている可能性が考えられた。[柴山恵吾、荒川宜親]

・生物学的製剤の品質管理に関する研究

1. DPT ワクチンに関する研究

(1) 国内外の DTaP-IPV の安全性評価に関する研究

海外製市販 DTaP および DTaP-IPV 並びに国内の DTaP および DTaP-IPV 試作品を、マウスの大腿部に1回筋肉内接種した。接種部位を2、3及び4週後に解剖し観察したところ、接種2週後ではいずれのワクチンも筋膜を

通して白い沈着物が認められたが、3週後には国内製ワクチンは沈着物が消え、海外製ワクチンでは徐々に沈着物がはっきり固まって見えるようになり、4週間経過しても固まりが残存していた。接種4週後の組織像を観察すると、海外製ワクチンでは接種物の周りに壊死物が取り囲んでおり、接種物が吸収されずに残存していた。これに対し、国内製ワクチンでは接種物が吸収されている組織像が観察された。一方、IPVの有無による影響は認められなかった。[片岡紀代、落合雅樹、山本明彦、永田典代、蒲地一成、豊泉裕美、荒川宜親、倉田 毅、堀内善信]

(2) DTaP ワクチン追加接種時の局所反応原性に対する動物モデルの評価

当研究室で開発した DTaP ワクチンあるいは DT トキソイド追加接種時の局所反応に対する初回 DTaP ワクチンの感作能評価動物実験モデルについて、細胞によるサイトカイン産生を指標とした感作機構解析を試みた。マウスでは初回接種時に百日咳毒素の残存アジュバント活性により共存抗原(主として D トキソイド)に対する感作が起きる。百日咳毒素の用量を変えてマウスに1ヶ月間隔で免疫し、2週後にジフテリアトキソイドを足跡に投与、12時間後の動物の末梢血を採取し、ジフテリアトキソイドを加えて37℃20時間培養し、上清中の炎症性サイトカインを測定した。その結果、百日咳毒素量による明確な相違はみられなかった。さらに詳細な検討が必要である。[山本明彦、落合雅樹、片岡紀代、豊泉裕美、堀内善信]

(3) 参照百日せきワクチン(毒性試験用)の更新について

沈降精製百日せきワクチンのマウス体重減少試験、マウス白血球数増加試験及びマウスヒスタミン増感試験の標準品として使用している国内参照品 Lot 2 の在庫が少なくなったため、Lot 3 候補品を作製した。そこで、現行参照品 Lot 2 及び Lot 3 候補品を用いて予備的な検討を実施し、ワクチン製造所と行う標準化のための共同標定プロトコールを作成した。来年度中に感染研及び国内製造所(計 6 施設)において、共同検定を実施し Lot 3 候補品の単位を算定する計画である。[落合雅樹、山本明彦、蒲地一成、片岡紀代、豊泉裕美、堀内善信]

2. その他のワクチンに関する研究

(1) ワクチンの局所反応原性評価システムの開発

ワクチンの接種局所傷害作用の詳細な評価は病理組織学的評価が必要であることから、通常、臨床的評価が不

可能である。海外製市販 DTaP でマウスの接種局所に強い傷害が見られたことから、DTaP をモデルにワクチンの局所傷害作用評価システムを検討した。その結果「明らかに傷害作用に違いのある同種ワクチンを、異なる動物種、接種ルート、接種量を組み合わせた少なくとも 3 種類のモデルで評価し、常に同様の違いが見られた場合、ヒトだけでは違いが見られないことが証明できない限り比較したワクチンに差があると考え」というのが可能な評価モデルと考えられた。この方法により、更に評価の必要なサンプルについて、例えば「こうした差を検出できる条件下で一貫して差が見られない場合、臨床的な差はない可能性を示唆する」等の評価が可能であると思われた。このシステムで不活化ポリオワクチンについて評価し、局所障害作用がないことを示唆する結果を得た。[片岡紀代、落合雅樹、山本明彦、永田典代、蒲地一成、豊泉裕美、荒川宜親、倉田 毅、堀内善信]

(2) 不活化ポリオワクチン力価試験法の標準化

不活化ポリオワクチン(IPV)の有効性評価のために、力価試験ではワクチンのウィルス中和抗体誘導能を評価することが望ましい。そこで免疫ラットでの中和抗体測定法を採用することが適当と考えられた。但しラットは IPV 免疫に対して低感受性の個体があり、通常の抗体価を用いた平行線定量法の適用が困難である。そこで WHO では、型毎の浮動カットオフ値を用いて免疫用量毎の陽性率を算出し、プロビット法で解析することとしている。しかしこの方法では反応そのものを用いないことから、型毎の例えば参照品に対する反応の実験間での一貫性等についての評価が困難となる。そこで分散分析が望ましいが、そのためにはカットオフ値での打ち切り標本として最尤法による平均値、分散の推定を行う必要がある。実際の日常的な検定において最尤法による計算を行うのは煩雑であり、簡便化が望まれる。そこでこれまで得られた実測値をもとに近似最尤法による平行線定量法を作製した。その結果は推定平均値、分散がそれぞれ 0 以上で実際の最尤法による結果とよく一致した。[堀内善信、片岡紀代、落合雅樹、山本明彦、豊泉裕美、白土東子、小川智子、小西恭子、岡 智一郎、李 天成、] 谷雄一、宇田川悦子、武田直和(ウイルス第二部)]

(3) マウス脳由来日本脳炎ワクチンの安全性に関する検討

マウス脳由来日本脳炎ワクチンは、理論的に ADEM を含む神経障害の原因となる可能性が指摘されている。しか

し報告事例が少数すぎることから関連性の証明も否定も不可能であり、実態は不明である。感染研にある検定試験結果より神経障害発生と関連する品質指標を検索することで、因果関係や有効な対策に関する情報が得られる可能性が考えられる。このためには製造所、ロット番号および出発生事象の情報が必要であるが、現実には国で保有するこうしたデータは公衆衛生の為とはいえ利用することはできず、信頼できる解析は不可能である。そこで現状で可能な解析として、ワクチンロットの純度の指標として年度ごとの平均タンパク量と製造用量数を求めた。この平均タンパク量と ADEM のみあるいは ADEM を含む神経障害発生数の製造用量数に対する割合(発生率)の間の相関分析を行った。その結果、30 μ g/mL 以上で、蛋白量と ADEM を含む神経障害発生頻度の間に有意な相関がある可能性が示唆された。ロット情報が使えないので詳細な分析は不可能であるが、仮に純度と障害発生に相関があるとすれば、障害発生の見られないレベルに純度規定を設定することで問題が解決する可能性が示された。[豊泉裕美、片岡紀代、落合雅樹、山本明彦、堀内善信、田中明子、布施晃(血液・安全性研究部)]

3. エンドトキシンに関する研究

(1) 内毒素の *in vitro* 生物活性測定法の定量的評価

我々は昨年、アミノグリコシド系、ペニシリン系、カルバペネム系など抗生物質 21 種について、ヒトモノサイト由来 28 SC 細胞における IL-6 産生誘導を用いて評価した結果、アミノグリコシド系抗生物質はエンドトキシンによる IL-6 産生増強を惹起することを明らかにした。先頃 CDC でも報告された USP のエンドトキシン規格に合致している硫酸ゲンタマイシンによる臨床での発熱について、エンドトキシンの生体内作用に対する増強を疑い、ヒトモノサイト由来 28 SC 細胞における IL-6 産生誘導に対する増強作用により評価した。その結果、有意な IL-6 産生増強が確認された。[山本明彦、落合雅樹、片岡紀代、豊泉裕美、堀内善信]

(2) ファージディスプレイ法による LPS 結合ペプチド作成の試み

安全性の高い低分子 LPS 親和性ペプチドは、臨床や医薬品製造において有用性が高い。ランダム配列の 12 アミノ酸からなるペプチドを発現する *E. coli* ファージライブラリーより、Lipid A 親和性ペプチド発現ファージを単離し、その DNA 配列よりペプチドを作成した。本年度は、3 種類の環状ペプチドのうち、エンドトキシン活性の中和能は持たないが、ポリミキシン B よりも強いエン

ドトキシン親和性を持つもの1種類を見いだした。このペプチドのエンドトキシン除去や LAL 測定法等への応用の可能性について、さらに検討する予定である。[山本明彦、落合雅樹、片岡紀代、豊泉裕美、鈴木政嗣、松本めぐみ、丹羽允(協力研究)、堀内善信]

(3) 血液製剤へのエンドトキシン試験適用に関する研究

血液製剤へエンドトキシン試験の適用が可能であるか検討した。今年度は、カイネティック比濁法及びカイネティック比色法により9種の血液製剤(計22ロット)について反応干渉因子の有無を確認した。ほとんどの血液製剤(アンチトロンビン製剤を除く)は、最大でも8-16倍以上の希釈をすることで、反応干渉作用の除去が可能であった。一方、アンチトロンビン製剤には、エンドトキシン試験に対する強い反応阻害作用が認められ、希釈によりこの干渉作用を除去するにはかなりの希釈が必要であり、感度の点で問題となると考えられた。[落合雅樹、山本明彦、豊泉裕美、内藤誠之郎(血液・安全性研究部)、浜口功(血液・安全性研究部)、山口一成(血液・安全性研究部)、堀内善信]

(4) 日本薬局方(日局)エンドトキシン 100 標準品 Lot 8, 9 候補品の力価評定

日本公定書協会で日局エンドトキシン 100 標準品(Lot 8, 9)候補品が調製され、標準プロトコールに準じて、日本公定書協会、当研究室他(計 7機関)で力価共同評定を実施した。WHO エンドトキシン国際標準品を用いて標準化を実施し、エンドトキシン 100 標準品の単位は Lot 8 候補品が 130 EU/vial と評価された。一方、Lot 9 候補品は早期活性低下が認められ品質評価において不適と判断された。[堀内善信、山本明彦、落合雅樹、豊泉裕美、片岡紀代、村井敏美(日本公定書協会)、中川ゆかり(日本公定書協会)]

(5) 日局エンドトキシン 100 標準品 Lot 10, 11 候補品の力価標定

日本公定書協会で日局エンドトキシン 100 標準品(Lot 10, 11)候補品が調製され、標準プロトコールに準じて、日本公定書協会、当研究室他(計 7機関)で力価共同標定を実施した。WHO エンドトキシン国際標準品を用いて標準化を実施し、エンドトキシン 100 標準品の単位は Lot 10 候補品が 120 EU/vial、Lot 11 候補品が 140 EU/vial と評価された。[堀内善信、山本明彦、落合雅樹、豊泉裕美、片岡紀代、村井敏美(日本公定書協会)、中川ゆかり(日本公定書協会)]

4. 百日咳菌に関する研究

(1) パータクチンを欠損する百日咳臨床分離株の解析
パータクチン(Prn)は重要な定着因子であるが、わが国の臨床現場からは Prn を欠損した百日咳菌が分離されている。Prn 欠損株(18株)について遺伝子解析を実施したところ、欠損原因は、1)シグナル配列の欠失(12株)、2) IS481 による遺伝子破壊(6株) であることが判明した。さらに、Prn 欠損はワクチン型百日咳菌に特異的な現象であり、1997年以降その分離率は上昇傾向にあることが示された。[蒲地一成、大塚正之(江東微研)、佐々木裕子、荒川宜親]

(2) LAMP 法を用いた百日咳迅速診断法の構築とその評価

百日咳の迅速診断法として百日咳 LAMP 検出系を構築した。百日咳 LAMP 検出系は百日咳菌に特異的であり、従来の PCR 法 (IS481-PCR) に比較して高い感度と特異性を持つことが示された。臨床検体 (n=112) を用いた評価では IS481-PCR と同様な成績が得られ、本法が臨床検体に適用可能であることを確認した。[蒲地一成、豊泉裕美、遠田耕平(WHO)、S.C. Soeung、S. Sarath、Y. Nareth (カンボジア保健省)、堀内善信、小島和暢(WHO)、高橋元秀、荒川宜親]

(3) キノロン低感受性百日咳臨床分離株の遺伝子解析

2004年、大阪府の病院においてキノロンに低感受性を示す百日咳菌が分離された。キノロン耐性に関与する遺伝子 (*gyrA*, *gyrB*, *parC*, *parE*) を解析したところ、*gyrA* の QRDR 領域に D87G の遺伝子変異を見出した。現在までキノロン耐性百日咳菌の報告例はなく、世界で初めてキノロン低感受性株の出現を確認した。[大塚正之(江東微研)、蒲地一成、菊池賢(東京女子医)、荒川宜親]

レファレンス業務

臨床分離株の遺伝子検査レファレンス

1. 臨床分離株の耐性遺伝子に関する検査

全国の医療機関より薬剤耐性菌の PCR 法による、β-ラクタマーゼ遺伝子解析依頼を受けた。解析結果は、主に IMP-1 型メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌や CTX-M 型-ラクタマーゼ産生菌であった。また、ディスク拡散法も同時に行い、検査室で簡便に行える β-ラクタマーゼ産生菌の推定法として報告した。[柴田尚宏、横川滋子、荒川宜親]

・ポツリヌス関係

1. 実験室内診断に用いる診断用ポツリヌスウマ抗毒素血清が千葉血清の廃業に伴い供給されない状況下、複数の地方衛生研究所、化血研および大阪府立大学の協力を得て A, B, E 及び F 型の 4 型に対する凍結乾燥血清（約 25 U/vial）を 500 本製造し標準化した。標品の製造に関しては検定検査協議会、レファレンス委員会及び地方衛生研究所全国協議会に報告し、検査用の標準品として用いることを確認した。

・百日咳 LAMP 診断キットに対する共同評価

1. 百日咳レファレンスセンター（7 施設）において、百日咳 LAMP 診断キットの評価を行った。目視による判定精度を検討したところ、すべての施設で一致した判定結果が得られ、本キットの有用性を確認した。[蒲地一成、豊泉裕美、地方衛生研究所（秋田・東京・千葉・三重・愛媛・大阪・福岡）]

サーベイランス業務

・院内感染対策に関する研究

1. 院内感染サーベイランスに関する研究

200 床以下の中小規模病院を対象とした有効な院内感染対策サーベイランス手法の開発研究を実施している。2004 年度より協力医療機関の細菌検査室の情報を開発した手法に基づいて解析を実施し、その結果を医療機関に毎月還元している。また、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌に関しては、菌株を送付してもらい、耐性パターン、PFGE 解析、MLST や毒素産生性など細菌学的検討を加え、より対象を絞り込んだ対策の手法を検討している。[鈴木里和、山根一和]

2. 集中治療室における院内感染対策、耐性菌対策に関する研究

厚生労働省の院内感染対策サーベイランス事業により収集された全国約 20 施設の集中治療室入室患者のサーベイランスデータを用いて、耐性菌による院内感染が集中治療室入室患者の予後に及ぼす影響等を解析している。[鈴木里和]

品質管理に関する業務

・抗生物質医薬品の品質管理に関する研究

1. 抗生物質医薬品標準品の日本薬局方微生物学的力価試験法での品質評価に関する業務研究

日本薬局方抗生物質標準品について、日局各条（原薬）

収載の円筒平板法による微生物学的力価試験法（Bioassay）に準拠した定量法による品質評価試験を行った。今年度中に 11 品目の評価が完了し、新規あるいは更新ロット標準品の交付を開始した。[加藤はる、鈴木里和、南條友子、山根一和、柴田尚宏、粕谷裕子、近田俊文]

2. 抗生物質医薬品標準品の日本薬局方液体クロマトグラム法での品質評価に関する業務研究

日本薬局方抗生物質標準品について、日局各条（原薬）収載の液体クロマトグラム法（HPLC）に準拠した定量法による品質評価試験を行った。今年度中に 16 品目の評価が完了し新規あるいは更新ロット標準品の交付を開始した。更に、日局の吸光度法及びヨウ素滴定法での定量法の品質評価試験も各々 4 品目及び 1 品目の評価が完了し、新規あるいは更新ロット標準品の交付を開始した。[柴田尚宏、山根一和、鈴木里和、加藤はる、南條友子、粕谷裕子、近田俊文]

3. 抗生物質の微生物学的力価試験法の改良に関する研究

日本薬局方の一般試験法「抗生物質の微生物学的力価試験法」を実施する上での有用なデータ並びに改良点を提供することを目的に種々検討を行ってきた。その検討結果は、平成 18 年 3 月 31 日告示の第 15 改正日局において、(1)平板培地の調製法追加、(2)試験菌の性状等確認、(3)試験菌液の調製法整理及び保存期間、(4)試験芽胞液の調製法整理及び使用期限の延長規定追加、(5)円筒カンテン平板の調製法追加、(6)円筒平板法及び穿孔平板法の操作明確化、などの規定改正に反映することができた。また、これら以外の規定改正を含め「抗生物質の微生物学的力価試験法」についての種々の技術的な情報等は、来年度に発行予定の「日本薬局方技術情報（JPTI）2006」において、本研究で得られたデータ等を含めて解説を加えた。[近田俊文、南條友子、加藤はる、鈴木里和、柴田尚宏、山根一和、粕谷裕子]

4. 抗生物質の日本薬局方標準品の整備に関する業務研究

平成 14（2002）年度から、日本薬局方抗生物質標準品のより良い整備を目的に、それら種々の整備システムの改良、改善を実施してきた。今年度未までに第 14 改正日局抗生物質標準品（全 137 品目収載）は 134 品目が新規及び更新ロットとして整備された。なお、日本薬局方抗生物質標準品の在庫とその準備状況についての諸情報は、厚生労働省審査管理課、製薬企業団体（東京医薬品工業

細菌第二部

協会、大阪医薬品協会、日本抗生物質学術協議会)にも順次提供した。[近田俊文、加藤はる、柴田尚宏、山根一和、鈴木里和、南條友子、粕谷裕子]

5. 収去検査による抗生物質医薬品の品質管理研究

今年度の医薬品等一斉監視指導での収去検査は、抗生物質医薬品の経口剤(塩酸バンコマイシン散:1ロット)について力価試験、確認試験(IR及びNMR解析)を、注射剤(硫酸アルベカシン注射液:5ロット、注射用イミペネム・シラスタチンナトリウム:4ロット)について力価試験、確認試験(IR及びNMR解析)、エンドトキシン試験を行い、検査結果を報告した。なお、収去製剤の全ての試験で「適合」と判定された。[近田俊文、加藤はる、柴田尚宏、山根一和、鈴木里和、南條友子、粕谷裕子、第五室、血液・安全性研究部第三室]

6. 注射用シナシッドの品質管理研究

承認書の力価試験(比濁法)が第三者機関で再現されていない注射用シナシッド(キヌプリスチン/ダルホプリスチン)について、承認事項が一部変更された力価試験法(比濁法)の確認を特別審査の再試験として受付けて実施した。全般的な評価として、承認申請書に則った試験方法では、測定力価が申請書の力価規格値を逸脱する場合及び力価計算の変動因の検定が不適合の場合も認められ、その主な原因が標準溶液及び試料溶液の希釈誤差などと考えられる理由により、試験には使用機器及び器具のパリデーションを含め、試験の精度管理及び測定誤差管理に細心の注意を払って行うことを条件として、総合的に「適合」と判定した。[近田俊文、加藤はる、鈴木里和、柴田尚宏、山根一和、南條友子、粕谷裕子、荒川宜親]

・国家検定、国家検査、収去検査、特別審査、依頼試験等の実績

1. 国家検定の実績

(1) 生物学的製剤(無菌試験)

月	受付実績 件数	判定		再試験	取下げ
		合格	不合格		
4	56	56	0	0	0
5	55	55	0	0	0
6	42	42	0	0	0
7	52	52	0	0	0
8	135	135	0	0	0

9	127	127	0	0	0
10	50	50	0	0	0
11	40	40	0	0	0
12	41	41	0	0	0
1	50	50	0	0	0
2	47	47	0	0	0
3	41	41	0	0	0
計	736	736	0	0	0

(2)

沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチン(最終段階)	18ロット
沈降ジフテリア破傷風混合トキソイド	5ロット
沈降破傷風トキソイド	9ロット
沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチンに使用するジフテリアトキソイド原液	4ロット
沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチンに使用する破傷風トキソイド原液	7ロット
乾燥ジフテリアウマ抗毒素	1ロット
ガスエソウマ抗毒素	1ロット
抗破傷風人免疫グロブリン	6ロット

(3)

乾燥 BCG 製剤	40ロット
内訳	
乾燥 BCG ワクチン(最終製品)	
80mg	2ロット
40mg	1ロット
12mg	12ロット
乾燥 BCG 膀胱内用(日本株)(最終製品)	3ロット
80mg	2ロット
40mg	1ロット
乾燥 BCG 膀胱内用(コンノート株)	5ロット
乾燥 BCG ワクチン(中間段階)	14ロット
乾燥 BCG 膀胱内用(日本株)	3ロット

精製ツベルクリン	18ロット
内訳	
一般診断用(5µg)	0ロット
一般診断用(1µg)	1ロット
一般診断用(一人用)	17ロット
確認診断用(一人用)	0ロット

依頼検査

細菌第二部

ユニセフ向け乾燥 BCG ワクチン(皮内用 0.5mg) 3 ロット

書類審査

ユニセフ向け乾燥 BCG ワクチン(皮内用 0.5mg) 48 ロット

(4)

沈降精製百日咳ジフテリア破傷風混合ワクチン

18 ロット

血液製剤(エンドトキシン試験)

459 ロット

生物製剤(エンドトキシン試験)

18 ロット

コレラワクチン(マウス体重減少試験)

1 ロット

インフルエンザ HA ワクチン(マウス白血球数減少試験)

76 ロット

2. 国家検査(行政検査)の実績

(1) ジフテリア関係

ア)新潟県保健環境科学研究所から、ワクチン接種後の血中ジフテリア抗毒素価分布調査のため、平成 17 年 9 月 30 日と平成 17 年 10 月 21 日に、それぞれヒト血清 33 検体のジフテリア抗毒素価測定依頼を受けた。ワクチン接種後とその約 1 ヶ月後で抗毒素価の上昇がみられなかった検体は、1 検体であったが、全検体の抗毒素価の推移からみると、この 1 検体は、ワクチン未接種を強く疑うことはできなかった。(行政検査 第 57046 号、第 57052 号)

イ)平成 18 年 2 月 3 日付けで、香川県環境保健センターから、患者咽頭及び耳孔スワブ合計 4 本と 2 月 1 日採血の血清を受領し、ジフテリア菌の分離同定、並びに分離菌におけるジフテリア毒素の検出と、血中ジフテリア抗毒素価測定依頼を受けた。全てのスワブから、ジフテリア菌は検出されず、ジフテリア毒素原性試験も陰性であった。また、血中ジフテリア抗毒素価は、0.0039 IU/ml 未満であった。(行政検査 第 57074 号)

ウ)平成 17 年 12 月 16 日付けで、岡山県環境保健センターから、分離菌株と患者飼い犬の体毛と患者自宅周辺の土を受領し、菌の分離同定、並びに分離菌におけるジフテリア毒素検出の依頼を受けた。寒天平板培地純培養の菌株は、ジフテリア毒素原性陽性の *Corynebacterium ulcerans* と同定された。患者飼い犬の体毛と、自宅周辺の土からは *Corynebacterium ulcerans* は検出されなかった。(行政検査 第 57076 号)

エ)平成 18 年 1 月 25 日付けで、岡山県環境保健センタ

ーから、分離菌株と患者血清およびカルチャーボトル内血液を受領し、ジフテリア菌の分離同定、並びに分離菌におけるジフテリア毒素の検出と、血中ジフテリア抗毒素価測定依頼を受けた。寒天平板培地純培養の菌株は、*Corynebacterium diphtheriae* *gravis* 型と同定された。この菌株とカルチャーボトル内血液のジフテリア毒素原性試験は全て陰性であった。また、血中ジフテリア抗毒素価は、0.0328 IU/ml および 0.0464 IU/ml であった。(行政検査 第 57081 号)

(2) 破傷風関係

ア)平成 17 年 12 月 6 日付けで茨城西南医療センターより、患者血清中の破傷風抗体と破傷風毒素の検出試験の依頼を受けた。試験の結果、血清中の破傷風抗体価は検出レベル(0.05 単位/mL)未満であったが、血清中からは微量の破傷風毒素を検出した。(行政検査)

イ)平成 17 年 10 月 13 日付けで苫小牧市立病院より、患者血清中の破傷風抗体と破傷風毒素の検出試験の依頼を受けた。試験の結果、血清中の破傷風抗体価は検出レベル(0.05 単位/mL)未満であったが、血清中からは微量の破傷風毒素を検出した。(行政検査)

(3) ボツリヌス関係

ア)平成 17 年 7 月 25 日付けで岡崎市衛生研究所より、臨床検体からのボツリヌス菌の分離・同定試験とボツリヌス毒素の検出試験の依頼を受けた。試験の結果、浣腸回収液よりボツリヌス菌を分離し、糞便からボツリヌス A 型毒素を検出した。(行政検査)

3. 収去検査の実績

(1) 抗生物質医薬品

経口剤(塩酸バンコマイシン散) 1 ロット

注射剤(硫酸アルベカシン注射液) 5 ロット

注射剤(注射用イミペネム・シラスタチンナトリウム)

4 ロット

(2) 抗生物質(エンドトキシン試験) 9 ロット

4. 特別審査の実績

(1) 注射用シナシッドの力価試験(再試験) 1 ロット

(2)

細胞培養日本脳炎ワクチン(エンドトキシン試験)

1 ロット

肺炎球菌ワクチン(原末、小分)(エンドトキシン試験)

細菌第二部

	3 ロット	
(3)		
細胞培養日本脳炎ワクチン(無菌試験)	2 ロット	
肺炎球菌ワクチン(原末)(微生物限度試験)	1 ロット	
肺炎球菌ワクチン(小分)(無菌試験)	2 ロット	

5.標準品、参照品等の作成状況(交付、分与の実績)
交付実績

(1)		
日本薬局方抗生物質標準品	87 品目	計 732 本
抗生物質試験用菌株	1 品目	計 1 本
(2)		
標準沈降ジフテリアトキソイド		41 本
参照沈降ジフテリアトキソイド(混合ワクチン)		137 本
標準ジフテリア抗毒素		21 本
参照ジフテリア抗毒素(フロキュラシオン用)		14 本
ジフテリア試験毒素(ウサギ試験用)		2 本
ジフテリア試験毒素(モルモット試験用)		2 本
シック試験毒素(動物用)		11 本
ジフテリア試験毒素(培養細胞法用)		27 本
標準破傷風トキソイド		8 本
標準沈降破傷風トキソイド		52 本
参照沈降破傷風トキソイド(混合ワクチン用)		73 本
標準破傷風抗毒素		9 本
標準抗破傷風人免疫グロブリン		3 本
参照破傷風抗毒素(フロキュラシオン用)		15 本
破傷風試験毒素		15 本
標準まむし抗毒素		9 本
まむし試験毒素(出血)		13 本
まむし試験毒素(致死)		13 本
標準ボツリヌス A 型抗毒素		5 本
標準ボツリヌス B 型抗毒素		2 本
標準ボツリヌス E 型抗毒素		2 本
標準ボツリヌス F 型抗毒素		3 本

(3)		
標準精製ツベルクリン		
50 本		
BCG Tokyo172-1		26 本

(4)		
参照百日せきワクチン(毒性試験用)		256 本
標準百日せきワクチン		31 本
インフルエンザ HA ワクチン(マウス白血球数減少試験		

用参照品) 3 箱

6. 依頼試験等

(1) ジフテリア関係

平成 18 年 3 月 1 日付けで、大分大学医学部付属病院から分離菌株 1 本について検査依頼を受けた。受理した菌株は、ジフテリア毒素産生性 *Corynebacterium ulcerans* と同定された。(依頼検査)

(2) 破傷風関係

ア)平成 17 年 8 月 8 日付けで茨城県衛生研究所より、臨床分離菌の破傷風毒素産生試験の依頼を受けた。依頼菌は染色試験。破傷風毒素検出試験、破傷風毒素遺伝子検出試験(PCR 法)、及び 16SrRNA の塩基配列比較試験の結果、破傷風菌と確認できなかった。(共同研究)

イ)平成 17 年 12 月 20 日付けで富山県衛生研究所より、破傷風菌が疑われる臨床分離菌の培養濾液からの破傷風毒素の検出試験の依頼を受けた。マウスを用いた破傷風毒素検出試験の結果、濾液から破傷風毒素を検出した。(共同研究)

ウ)平成 17 年 11 月 15 日付けで同心会遠山病院より、破傷風回復患者の血清中の破傷風抗体の検出試験の依頼を受けた。試験の結果、血清中の破傷風抗体価は 0.64 単位/mL であった。(共同研究)

国際協力関係業務

. 第 3 室

1. 中国上海生物製品研究所 朱威所長ら 8 名の来所に際して、国内ワクチンの品質管理に関する講義をおこなった(平成 17 年 11 月)。[高橋元秀、堀内善信、佐々木次雄]

2. JICA の依頼により、ワクチン品質管 3 技術コース参加研修生(海外 4 名)にワクチンの品質管理について講義した(平成 17 年 11 月)。[高橋元秀、堀内善信、佐々木次雄、荒川宜親]

3. 中国華東区および西北区の CDC 担当者が参加する免疫予防計画会議に招聘され、日本のワクチン品質管理方法について講演した(平成 17 年 7 月)。[高橋元秀、佐々木次雄]

4. 台湾衛生署疾病管理局の Chen, Kuang-Lo 研究員および行政院衛生署薬物食品検驗局 Cheng-wen Chi 研究員が来所し、ボツリヌスおよび破傷風毒素・抗毒素の品質管理の技術支援をおこなった(平成 17 年 9 月-11 月)。[高

細菌第二部

橋元秀、岩城正昭]

5. 中国生物技術集団公司 武漢生物製品研究所の招聘により、DTaP ワクチンの品質管理および国内使用状況について講演した(平成 17 年 11 月) [高橋元秀、堀内善信]

6. JICA の要請によりパキスタン EPI・ポリオ対策プロジェクト事前評価調査団員として、平成 18 年 3 月に出張した(平成 18 年 3 月) [高橋元秀、堀内善信]

.第 5 室

研修

1. 台湾 CDC の研修生(Dr. Shu-Man Yao & Shiu-Ru Kang) に対し、百日咳の診断・遺伝子解析について実習を行った(平成 17 年 10 月)[蒲地一成、豊泉裕美]

2. 台湾 NHRI Dr. Hau-Pong Tsai 来訪、ワクチンの品質管理について講習

3. 台湾 BFDA Dr. Chang Wen Chi

DPT 関係の品質管理システム、試験法および副反応情報の評価に関する問題の検討および台湾における DPT 副反応評価のための実験室モデル開発の検討の為の情報交換。

疫学および実験室診断への支援

1. カンボジアで発生した百日咳患者の実験室内診断
カンボジア国内で発生した百日咳患者 147 名(254 検体)について実験室内診断の協力を行った。菌培養検査では 7 件、遺伝子検査では 51 件が陽性を示し、成績をカンボジア保健省ならびに WHO-EPI 担当官に報告した。
[豊泉裕美、蒲地一成]

技術支援

1. ベトナムに対する百日咳ワクチン力価試験法の技術支援

ベトナム CENCOBI を訪問し、百日咳ワクチンの力価試験法である脳内攻撃法について技術支援を行った(平成 17 年 9 月)[蒲地一成、高橋元秀]

WHO 関係

会議参加

Arakawa Y., Expert Committee on Biological Standardization. 24 - 28 October 2005, WHO, QSV, Geneva

Horiuchi, Y., 標準品の安定性評価ガイドライン作製の

ための非公式諮問会議、28 - 29 November 2005, WHO, HQ, Geneva

Horiuchi, Y. and Ochiai, M. 精製百日せきワクチンの標準化と品質管理のための非公式諮問会議, March 16 - 17, 2006, The Quality Hotel St. Albans, UK

Collaborating centre 関係

WHO Collaborating Center for Research and Reference Services for Immunological and Biological Products として活動を協力センター年報で報告

研修業務

.第 1 室

1. *Clostridium difficile* に関する実技研修

Clostridium difficile 分離培養および PCR による毒素遺伝子の検出を中心とした *C. difficile* の細菌学的検査の実技研修を行った。[加藤はる、吉村由美子、赤羽貴行(安曇野赤十字病院)、村端真由美(名古屋市大看護学部)]

2. 薬剤耐性菌の検出に関する研修

薬剤耐性菌の検出を目的として、所外から実習生及び研究生を受け入れた。研修内容は、主に β -ラクタマーゼ産生菌(基質特異性拡張型およびメタロ- β -ラクタマーゼ)の鑑別のための、PCR による耐性遺伝子の検出、ディスク拡散法による鑑別、パルスフィールド電気泳動によるタイピングなど行った。臨床現場での薬剤耐性菌の検出に役立つものと期待される。[柴田尚宏、荒川宜親]

.第 3 室

1. 第 26 回衛生微生物技術協議会研究会において、ジフテリア百日せきレファレンスセンター会議に出席し、17 年度の活動報告をした(富山市:平成 17 年 7 月 7-8 日)

その他

.行政科学に対する対応

1. 日本薬局方に関する活動

独立行政法人医薬品医療機器総合機構の専門委員として、日本薬局方の抗生物質委員会及び標準品委員会に参加し、第 14 改正日局の改正案並びに第 15 改正日局の収載案の審議に従事した。[近田俊文]

2. 抗生物質医薬品の試験法についての対応

日本薬局方及び旧日本抗生物質医薬品基準に収載され

た抗生物質医薬品（標準品を含む）の試験法等についての照会に対して E-mail 等による書面での回答を行った。
[近田俊文]

3 . 第十五改正日本薬局方参考情報に新規収載された「製薬用水の品質管理」の作成作業並びに関連事項として膜法で製薬用水を製造している国内製薬企業への調査に参加した。微生物関連試験としては、国際調和された非無菌医薬品に対する試験法（生菌数試験、特定微生物否定試験、許容微生物基準）の日局導入や微生物の迅速検出法の審議に参加した。[佐々木次雄、他日局調査会「生物試験法委員会」、「製薬用水委員会」]

4 . ISO/TC198 活動

ISO/TC198（ヘルスケア製品の滅菌）/WG9（無菌操作法）で作成中であつたろ過滅菌、定置洗浄、定置滅菌、アイソレータ、凍結乾燥は国際規格（ISO）又は国際規格最終段階（FDIS）にあり、今年度は Part 1 (Generals) の改定作業に従事した。ISO 規格は 5 年ごとに見直すことになっており、その一環での改定作業である。ICH/Q9 で作成中のリスクマネジメントの考え方が汚染管理に取り入れられているのが前版と比べての特徴である。

[佐々木次雄、他 ISO/TC198/WG9 国際委員会]

5 . 無菌医薬品ガイドライン作成

「無菌操作法による無菌医薬品の製造指針」を完成させ、その英訳版を欧米の関係機関、関係者に広く送付した。今年度は、「最終滅菌法による無菌医薬品の製造指針（案）」の作成を行った。[佐々木次雄、佐々木裕子、他指針作成委員会]

6 . 独立行政法人医薬品医療機器総合機構の依頼で平成 17 年 7 月に 1 回、平成 18 年 3 月に 2 回、GMP 査察同行し、また生物学的製剤の認可承認に関する書面審査を実施した。[高橋元秀]

7 . 薬事・食品衛生審議会薬事分科会 動物用医薬品等部会 動物用生物学的製剤調査会が 4 回開催され出席した。
[高橋元秀]

・感染症についての対応

1 . *Clostridium difficile* 感染症についての対応

検査診断や院内感染を中心に E-mail や電話等による質問、相談に個別に回答した。[加藤はる]

発表業績一覧

・誌上発表

1. 欧文発表(Apr.2005 - Mar. 2006)

1) Kato H., Yokoyama T., Kato H. and Arakawa Y. Rapid and simple method for detecting the toxin B gene of *Clostridium difficile* in stool specimens by loop-mediated isothermal amplification. *J. Clin. Microbiol.*, **43**: 6108-12, 2005.

2) Wachino J, Kurokawa H, Suzuki S, Yamane K, Shibata N, Kimura K, Ike Y, Arakawa Y. Horizontal transfer of *bla*_{CMY}-bearing plasmids among clinical *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates and emergence of cefepime-hydrolyzing CMY-19. *Antimicrob. Agents Chemother.* **50**:534-41, 2006.

3) Wachino J, Yamane K, Shibayama K, Kurokawa H, Shibata N, Suzuki S, Doi Y, Kimura K, Ike Y, Arakawa Y. Novel plasmid-mediated 16S rRNA methylase, RmtC, found in a proteus mirabilis isolate demonstrating extraordinary high-level resistance against various aminoglycosides. *Antimicrob. Agents Chemother.* **50**:178-184, 2006.

4) Muta, T., Tsuruta N., Seki Y., Ota R., Suzuki S., Shibata N., Kato K., Eto T., Gondo H. and Arakawa Y. A Nosocomial Outbreak Due to novel CTX-M-2-Producing Strains of *Citrobacter koseri* in a Hematological Ward. *Jpn. J. Infect. Dis.*, **59**: 69-71, 2006.

5) Shibata, N., Kurokawa H., Doi Y., Yagi T., Yamane K., Wachino J., Suzuki S., Kimura K., Ishikawa S., Kato H., Ozawa Y., Shibayama K., Kai K., Konda T. and Arakawa Y. PCR Classification of CTX-M-Type b-Lactamase Genes Identified in Clinically Isolated Gram-negative bacilli in Japan. *Antimicrob. Agents Chemother.* **50**: 791-795, 2006.

6) Suzuki S., Yamazaki T., Narita M., Okazaki N., Suzuki I., Andoh T., Matsuoka M., Kenri T., Arakawa Y. and Sasaki T. Clinical evaluation of macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **50**: 709-12, 2006.

7) Sasaki Y., Chapter10 Mycoplasmas, in Bacterial Genomes and Infectious Diseases, V. L. Chan, P. M. Sherman and B. Bourke, eds. The Humana Press Inc., NJ, USA, pp. 175-190, 2006.

8) Seki N., Sasaki T., Sawabe T., Sasaki T., Matsuoka M., Arakawa Y., Marui E. and Kobayashi M. Epidemiological studies on *Bartonella quintana* infections among homeless people in Tokyo, Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.* **59**: 31-35, 2006.

9) Fukuda T., Iwaki M., Hong S. H., Oh H. J., Wei Z.,

- Morokuma K., Ohkuma K., Dianliang L., Arakawa Y., and Takahashi M : Standardization of regional reference for mamushi (*Gloydius blomhoffii*) antivenom in Japan, Korea, and China. *Jpn. J. Infect. Dis.* **59**: 20-24, 2006
- 10) Saidijam, K. Bettaney, G. Szakonyi, G. Psakis, K. Shibayama, et al.: Active membrane transport and receptor proteins from bacteria. *Biochem. Soc. Trans.* **33**:867-72, 2005.
- 11) S. Mori, S. Kawai, F. Shi, B. Mikami, and K. Murata Molecular conversion of NAD kinase to NADH kinase through single amino acid residue substitution. *J. Biol. Chem.* **280**, 24104-24112, 2005.
- 12) F. Shi, S. Kawai, S. Mori, and K. Murata. Identification of ATP-NADH kinase isozymes and their contribution to supply of NADP(H) in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS J.* **272**, 3337-3349, 2005.
- 13) S. Kawai, T. Mukai, S. Mori, B. Mikami, and K. Murata. Hypothesis: structures, evolution, and ancestor of glucokinase in the hexokinase family. *J. Biosci. Bioeng.* **99**, 320-330, 2005.
- 14) Kurosaki H, Yamaguchi Y, Higashi T, Soga K, Matsueda S, Yumoto H, Misumi S, Yamagata Y, Arakawa Y, Goto M. Irreversible inhibition of metallo- β -lactamase (IMP-1) by 3-(3-mercapto-propionylsulfanyl) propionic acid pentafluorophenyl ester. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **44**:3861-3864, 2005.
- 15) Yamaguchi Y, Kuroki T, Yasuzawa H, Higashi T, Jin W, Kawanami A, Yamagata Y, Arakawa Y, Goto M, Kurosaki H. Probing the role of Asp-120(81) of metallo- β -lactamase (IMP-1) by site-directed mutagenesis, kinetic studies, and X-ray crystallography. *J. Biol. Chem.* **280**:20824-20832, 2005.
- 16) Yamane K, Wachino J, Doi Y, Kurokawa H, Arakawa Y. Global spread of multiple aminoglycoside resistance genes. *Emerg. Infect. Dis.* **11**:951-953, 2005.
- 17) Yagi T, Wachino J, Kurokawa H, Suzuki S, Yamane K, Doi Y, Shibata N, Kato H, Shibayama K, Arakawa Y. Practical methods using boronic acid compounds for identification of class C β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*. *J. Clin. Microbiol.* **43**:2551-2558, 2005.
- 橋本政治、加藤はる：再発を繰り返した *Clostridium difficile* 関連下痢症の1例 一分離菌株のPCR リボタイプイングによる検討— . 日消誌 , 103: 168-173, 2006.
- 3) 近田俊文(分担執筆): 陸水の事典, 日本陸水学会編, 講談社, 2006.
- 4) 佐々木次雄編、新太喜治、上寺祐之、武久正昭、永井勲、中田精三、山際裕一監、ISO 規格に準拠医療機器の滅菌及び滅菌保証、2005、日本規格協会、p.1-579.
- 5) 佐々木裕子、新開・大内史子、川上隆雄、見理 剛、堀野敦子、山河芳夫、荒川宜親、佐々木次雄: *Mycoplasma penetrans* のプロテオミクス. 日本マイコプラズマ学会雑誌、第 32 号、47-49、2005
- 6) 見理 剛、山崎 勉、岡崎則男、成田光生、佐々木次雄、マイコプラズマ肺炎患者の血清に見られる菌型特異的な血球吸着阻害活性、日本マイコプラズマ学会雑誌、第 32 号 10-12,2005
- 7) 見理 剛、「マイコプラズマ属」, 感染と抗菌薬、8(4), 334-336, 2005
- 8) 佐々木次雄: 日本版「無菌医薬品製造ガイドライン」について、PHARM TECH JAPAN, 21 (7):7-11, 2005.
- 9) 佐々木次雄、Emmanuelle Charton、棚元憲一、那須正夫、村井敏美、室井哲夫、日本薬局方及びE Pにおける微生物試験法の動向、PHARM TECH JAPAN 22: 9-16, 2006.
- 10) 佐々木次雄編: ISO 規格準拠医療機器の滅菌及び滅菌保証、日本規格協会、p.1-579, 2005.
- 11) 佐々木次雄: 日本版無菌医薬品の製造ガイドラインの紹介、クリーンテクノロジー、3-5, 2006
- 12) 柴山恵吾、荒川宜親、*H. pylori* 感染胃上皮細胞におけるアポトーシス
日本臨床 Vol. 63, Suppl 11, 156-160, 2005 (11月)
- 13) 柴山恵吾、荒川宜親、*Helicobacter pylori* おけるアモキシシリン耐性について、日本ヘリコバクター学会誌 7(1):33-36, 2005 (6月)
- 14) 蒲地一成: 百日咳菌 広範囲血液・尿化学検査・免疫学的検査、p180-183、63 巻増刊号 7、日本臨床 . 2005.7
- 15) 黒木春郎、三上秀男、蒲地一成、荒川宜親: 小児一次医療における百日咳菌分離例の検討 . 外来小児科、9(1): 17-23, 2005

2. 和文発表

- 1) 山根一和、荒川宜親: アミノ配糖体耐性 . 化学療法の領域 , 21(9): 1255-1263, 2005.
- 2) 加藤秀章、西 祐二、大山 展、中村 誠、泉田さゆり、

. 学会発表

1. 国際学会
- 1) Kato H.: Direct typing of *Clostridium difficile* from stool specimens by sequencing of the *slpA* gene. 105th General

Meeting of American Society for Microbiology. June 2005, Atlanta, USA.

2) Shibata N.: Present situation of beta-lactamases identified in Japan. 8th Japan-Korea International Symposium on Microbiology (8th JKISM), 2006.

3) Shibata N., Yamane K., Suzuki S., Wachino J. and Arakawa Y.: First Occurrence of Both CTX-M-35 and IMP-1 β -Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae*. 46th ICAAC, Dec. 2005, USA.

4) Yamane K., Suzuki S., Wachino J., Ozawa Y., Shibata N and Arakawa Y.: First Isolation and Characterization of Linezolid Resistant *Enterococcus faecium* in Japan. 105th General Meeting of American Society for Microbiology. June 2005, Atlanta, USA.

5) Yamane K., Suzuki S., Wachino J., Shibata N., Kato H. and Arakawa Y.: Diffuse but Multifocal Proliferations of 16S rRNA Methylase-Producing Pan-Aminoglycoside Resistant Gram-Negative Bacteria in Japan. 45th Annual Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Dec. 2005, Washington DC, USA

6) Suzuki S., Shibata N., Yamane K., Wachino J., Ito K. and Arakawa Y.: Clonal Spread of CTX-M-Type β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* in Japan. 105th General Meeting of American Society for Microbiology. June 2005, Atlanta, USA.

7) Kawakami, T., and Sasaki, Y. Validation of proteomics data from liquid chromatography/tandem mass spectrometry using probability score-based elution correlation of peptide assignments. The 4th annual world congress of human proteomics organization (HUPO). Aug. 28-Sep.1, 2005, Munich, Germany

8) Sasaki T. and Takahashi M. Vaccines in Japan. Meeting on National Vaccine Immunization Program in North Western Area of China, July 31-Aug. 2, 2005, Heilao, China.

9) Iwaki, M., Nagata, N., Saegusa, T., Inomata, Y., Komiya, T. and Takahashi, M. Intradermal infection model for nontoxigenic *Corynebacterium diphtheriae*. 12th European Meeting on Bacterial Protein Toxins, June 2005, Canterbury (United Kingdom)

10) Iwaki, M., Nagata, N., Saegusa, T., Inomata, Y., Komiya, T., Arakawa, Y. and Takahashi, M. A mouse intradermal model for *Corynebacterium diphtheriae* infection. 5th Awaji International Forum on Infection and Immunity. September 2005, Hyogo (Japan)

11) Ochiai, M. Evaluation of QC tests data and calibration

data of candidate reference standard by using the statistical program, Bioassay assist. Workshop on preparation and standardization of national standard materials for quality control of biological products, Bureau of Food and Drug Analysis, Department of Health, Executive Yuan, R.O.C., June 23, 2005, Taipei, Taiwan

12) Horiuchi Y., Clinical relevance of laboratory tests and its impact on the control system of biological products, at Chung-Hwa children hospital, and at Bureau of Food and Drug Analysis, Department of Health, Executive Yuan, R.O.C., June 23, 2005, Taipei, Taiwan

13) Horiuchi Y., Vaccinology and Japanese experience in DTaP vaccination at Wuhan Institute of Biological Products Wuhan, Hubei 430060 P.R.China November 2, 2005.

2. 国内学会

1) 加藤はる：教育講演；*Clostridium difficile* 関連下痢症 / 腸炎およびその院内感染の細菌学的検査解析．第 79 回日本感染症学会総会、2005 年 4 月．

2) 中村敦、岡本典子、矢野久子、神森恵美子、近藤優子、岡本幸夫、溝上雅史、上田龍三、加藤はる：*Clostridium difficile* 関連下痢症患者に対する原因調査と対策．第 79 回日本感染症学会総会、2005 年 4 月．

3) 本田芳宏、小林隆夫、小野寺朋子、千葉潤一、國島広之、加藤はる、目黒美保：呼吸器内科病棟でのクロストリディウムディフィシル *C. difficile* 関連腸炎の検討．第 79 回日本感染症学会総会、2005 年 4 月．

4) 中村敦、加藤宗博、加藤高志、沓名健雄、丹羽俊朗、森田博紀、加藤はる：*Clostridium difficile* 関連下痢症患者における臨床背景に関する検討 第 53 回日本化学療法学会総会、2005 年 5 月．

5) 加藤はる、荒川宜親、横山敏之、加藤秀章：Loop-mediated isothermal amplification 法を用いた糞便検体からの *Clostridium difficile* の toxin B 遺伝子の検出．第 48 回日本感染症学会中部日本地方会総会、2005 年 11 月．

6) 加藤はる、荒川宜親：Loop-mediated isothermal amplification による迅速・簡便な *Clostridium difficile* の toxin B 遺伝子の検出．第 17 回日本臨床微生物学会総会、2006 年 1 月．

7) 加藤はる：シンポジウム；*Clostridium difficile* 腸炎の臨床と検査 — *Clostridium difficile* の臨床細菌学的検討．第 36 回日本嫌気性菌感染症研究会、2006 年 3 月．

8) 加藤はる：院内感染と日和見感染．化学・生物総合管理の再教育講座、生物総合評価管理学概論、2005 年 4 月．

9) 加藤はる：抗菌薬関連下痢症 / 腸炎と院内感染と院内

感染～クロストリディウム・ディフィシル感染症について～. 第 14 回滋賀院内感染対策懇話会、2005 年 8 月 .

10) 加藤はる : *Clostridium difficile* 感染症における最近の話題 . ラジオ NIKKEI、アボット感染症アワー、2006 年 3 月 .

11) 和知野純一、黒川博史、山根一和、柴田尚宏、鈴木里和、池康嘉、荒川宜親 : セフェピムを分解する CMY 型 AmpC β -ラクタマーゼの解析 . 第 78 回日本細菌学会総会、2005 年 4 月 .

12) 山根一和、和知野純一、鈴木里和、柴田尚宏、加藤はる、荒川宜親 : 同一の医療施設から分離されたアミノグリコシド高度耐性 16S rRNA メチラーゼ産生菌の解析 . 第 78 回日本細菌学会総会、2005 年 4 月 .

13) 柴田尚宏、鈴木里和、山根一和、荒川宜親 : 我が国における CTX-M-型 β -の分布調査 . 第 79 回日本感染症学会総会、2005 年 4 月 .

14) 柴田尚宏、荒井由美子、江川雅巳、鈴木里和、山根一和、荒川宜親 : 我が国で初めて検出された CMY-8 型 β -ラクタマーゼ産生大腸菌の検出症例 . 第 79 回日本感染症学会総会、2005 年 4 月 .

15) 小島禎、池戸正成、柴田尚宏、荒川宜親 : メタロ- β -ラクタマーゼ遺伝子の LAMP 法による迅速・簡易検出の検討 . 第 79 回日本感染症学会総会、2005 年 4 月 .

16) 小原忠博、上岡恵美、重河京子、小勝負恭子、麻奥英毅、岩戸康治、許秦一、有田健一、柴田尚宏、荒川宜親 : 当院におけるメタロ- β -ラクタマーゼ産生菌検出患者 (17 例 18 株) の患者背景 . 第 79 回日本感染症学会総会、2005 年 4 月 .

17) 牟田毅、鶴田伸子、鈴木里和、柴田尚宏、荒川宜親 : 複数例の血液疾患患者から検出された、セフェム耐性 *Citrobacter koseri* の耐性機序及び院内感染の調査 . 第 79 回日本感染症学会総会、2005 年 4 月 .

18) 柴田尚宏、和知野純一、鈴木里和、山根一和、荒川宜親 : 国内臨床分離株から検出された新型メタロ- β -ラクタマーゼ、IMP-19 と IMP-20 . 第 53 回日本化学療法学会総会、2005 年 5 月 .

19) 伊東ひろ子、森慎一郎、小野剛司、樋口晶子、蔵野信彦、飛田卓也、宮原行雄、加藤抱一、柴田尚宏、山根一和、荒川宜親 : 造血幹細胞移植病棟より検出された多剤耐性緑膿菌の 3 症例 . 第 59 回国立病院総合医学会、2005 年 10 月 .

20) 柴田尚宏 : 我が国における ESBL 産生菌とメタロ- β -ラクタマーゼ産生菌 . 第 1 回岩手薬剤耐性菌研究会、2005 年 12 月 .

21) 山根一和、鈴木里和、柴田尚宏、加藤はる、荒川宜

親 : 臨床から分離された *Enterococcus faecium* のリネゾリド耐性機序の検討 . 第 79 回日本感染症学会総会、2005 年 4 月 .

22) 藤原弘光、太田博美、田仲祐子、山脇範子、千酌浩樹、齋藤源頭、前田直人、齋藤憲輝、清水英治、谷本綾子、岡崎俊朗、鈴木里和、荒川宜親 : VRE (バンコマイシン耐性腸球菌) 院内感染報告 . 第 21 回環境感染学会、2006 年 2 月 .

23) 山脇範子、藤原弘光、齋藤憲輝、前田直人、千酌浩樹、大草智子、早川幸子、齋藤源頭、清水英治、岡崎俊朗、鈴木里和、荒川宜親 : VRE アウトブレイクにおける ICN・感染制御チームの役割と活動 . 第 21 回環境感染学会、2006 年 2 月 .

24) 鈴木里和、久保田眞由美、岡崎則男、見理剛、山崎勉、成田光生、荒川宜親、佐々木次雄 : *Mycoplasma pneumoniae* 感染症にマクロライド耐性が及ぼす影響 . 薬剤耐性菌研究会、2005 年 12 月 .

25) 鈴木里和、久保田眞由美、岡崎則男、見理剛、山崎勉、成田光生、荒川宜親、佐々木次雄 : マクロライド耐性が *Mycoplasma pneumoniae* 感染症の臨床経過に及ぼす影響 . 第 32 回日本マイコプラズマ学会学術集会、2005 年 5 月 .

26) 鈴木里和、大屋日登美、岡崎則男、山崎勉、成田光生、荒川宜親、佐々木次雄 : *Mycoplasma pneumoniae* 感染症におけるマクロライド系抗菌薬の治療効果、マクロライド耐性菌と感性菌との比較 . 第 79 回日本感染症学会総会、2005 年 4 月 .

27) 高橋真帆、大屋貴美子、杉山裕、堀永みさ子、鈴木里和、柴田尚宏、荒川宜親 : 当院で検出された ESBL 産生グラム陰性桿菌について . 第 17 回日本臨床微生物学会総会、2006 年 1 月 .

28) 伊東ひろ子、樋口晶子、小野剛司、柴田尚宏、荒川宜親 : 血液培養から *Tsukamurella* 属を分離した 1 症例 . 第 17 回日本臨床微生物学会総会、2006 年 1 月 .

29) 西尾小夜子、後藤康仁、大蔵照子、中西由起子、望月まり子、奈田俊、柴田尚宏、荒川宜親、馬場尚志 : 旅行者下痢症の起炎菌として ESBL を産生する病原大腸菌が分離された 2 症例 . 第 17 回日本臨床微生物学会総会、2006 年 1 月 .

30) 本間操、水野裕之、根岸久美子、中島重彦、鈴木智一、設楽美典、柴田尚宏、荒川宜親 : 急性骨髄性白血病患者から検出された ESBL 産生 *Enterobacter cloacae* の検討 . 第 17 回日本臨床微生物学会総会、2006 年 1 月 .

31) 畑中公基、吉田順子、鈴木弘子、齋藤武郎、後藤健、三田正行、柴田尚宏、荒川宜親 : 第三世代セファロスポ

細菌第二部

- リン耐性の β -ラクタマーゼ産生 *Klebsiella pneumoniae* . 第 17 回日本臨床微生物学会総会、2006 年 1 月 .
- 32) 本間康夫、吉井裕子、柴田尚宏、荒川宜親：在宅医療患者から検出された TEM-型 ESBL 産生 *Providencia stuartii* の検討 . 第 17 回日本臨床微生物学会総会、2006 年 1 月 .
- 33) 飯田眞佐栄、柴田尚宏、荒川宜親：Walk-Away Neg Breakpoint Combo 3J パネルによる ESBL 産生株スクリーニングの検討 . 第 17 回日本臨床微生物学会総会、2006 年 1 月 .
- 34) 林卓司、竹内千智、柴田尚宏、荒川宜親：当院におけるメタロ- β -ラクタマーゼ産生菌の検出状況 . 第 17 回日本臨床微生物学会総会、2006 年 1 月 .
- 35) 小杉貴久、柴田尚宏、荒川宜親：青森県で初めて検出された IMP-1 型 MBL 産生の多剤耐性緑膿菌と背景 . 第 17 回日本臨床微生物学会総会、2006 年 1 月 .
- 36) 大貫雅子、岡田真実、春藤ひろみ、森川征彦、柴田尚宏、荒川宜親：小児から検出されたおけるメタロ- β -ラクタマーゼ産生 *Pseudomonas aeruginosa* の 2 症例 . 第 17 回日本臨床微生物学会総会、2006 年 1 月 .
- 37) 小林治、柴田尚宏、荒川宜親：プラスミド性 Class C β -ラクタマーゼ (CMY-2) 産生大腸菌の一例 . 第 17 回日本臨床微生物学会総会、2006 年 1 月 .
- 38) 高橋幹夫、柴田尚宏、荒川宜親：VIM-2 型メタロ- β -ラクタマーゼ (MBL) 産生 *Pseudomonas aeruginosa* の院内感染事例の検討 . 第 17 回日本臨床微生物学会総会、2006 年 1 月 .
- 39) 佐々木裕子、見理 剛、堀野敦子、荒川宜親、佐々木次雄、2D-HPLC LC-MS による *Mycoplasma penetrans* のリポ蛋白発現ならびに pyruvate 代謝の解析、第 79 回日本細菌学会、2006 年 3 月 29 日-31 日、金沢
- 40) 佐々木裕子、大内・新開史子、山河芳夫、川上隆雄、荒川宜親、マイコプラズマとヒトの抗原 mimicry についてのプロテオミクス解析の試み、第 8 回ワークショップ「微生物ゲノム研究のフロンティア」、2006 年 3 月 3 日-4 日、千葉
- 41) 川上 隆雄、佐々木 裕子、確率スコアに基づく溶出相関法：液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析から得られるプロテオームデータの評価、日本分子生物学会、2005 年 12 月 7-10 日、福岡
- 42) 佐々木裕子、新開・大内史子、川上隆雄、見理 剛、堀野敦子、山河芳夫、佐々木次雄、*Mycoplasma penetrans* のプロテオミクス、日本マイコプラズマ学会、第 32 回学術集会、2005 年 5 月 27-28 日、久留米
- 43) 佐々木裕子、見理 剛、堀野敦子、佐々木次雄、プロテオミクス技術を用いた *Mycoplasma penetrans* の新規抗原蛋白の同定ならびに診断法への応用、第 78 回日本細菌学会総会、東京、2005 年 4 月、東京
- 44) 堀野敦子、見理 剛、佐々木裕子、岡村 登、佐々木次雄、*Mycoplasma penetrans* の部位特異的組換え酵素 MipR の同定、第 78 回日本細菌学会総会、2005 年 4 月 4-6 日、東京
- 45) 見理 剛、瀬戸真太郎、宮田真人、佐々木次雄、*Mycoplasma pneumoniae* の細胞骨格成分 P200 の細胞内局在、第 78 回日本細菌学会総会、2005 年 4 月 4-6 日、東京
- 46) 堀野敦子、見理 剛、佐々木裕子、岡村 登、佐々木次雄、*Mycoplasma penetrans* の部位特異的組換え酵素 MipR の同定、第 78 回日本細菌学会総会、2005 年 4 月 4-6 日、東京
- 47) 見理 剛、山崎 勉、岡崎則男、成田光生、佐々木次雄、「マイコプラズマ肺炎患者の血清に見られる菌型特異的な血球吸着阻害活性」、第 32 回日本マイコプラズマ学会学術集会、2005 年 5 月 27-28 日、久留米
- 48) 見理 剛、蛍光タンパク質タグ法による *Mycoplasma pneumoniae* の細胞構造観察、日本顕微鏡学会関西支部特別講演会「ソフトマテリアルの無染色観察-見えないものを観る」平成 17 年度生理学研究所研究会共催(岡崎市)、2006 年、1 月 26-27 日
- 49) 見理 剛、岡崎則男、荒川宜親、佐々木次雄、マイコプラズマ肺炎患者血清の菌型特異的な血球吸着阻害活性、第 79 回日本細菌学会総会、2006 年 3 月 29-31 日、金沢
- 50) 佐々木次雄：パラメトリックリリースの現状と将来、第 42 回薬剤学懇談会研究討論会、2005 年 6 月 30 日、大津市
- 51) 山崎勉、佐々木次雄：*Mycoplasma pneumoniae* 感染症における PCR と血清診断法の評価、第 32 回日本マイコプラズマ学会、2005 年 5 月 27-28 日、久留米市
- 52) 佐々木次雄、久保田眞由美、荒川宜親：*Bartonella quintana* 感染症の疫学調査結果と診断法の検討、第 78 回日本細菌学会、2005 年 4 月 4-6 日、江戸川区
- 53) 岩城正昭、猪股夢乃、小宮貴子、高橋元秀、ジフテリア菌 20kDa antigen の菌体内局在性、第 78 回日本細菌学会総会、2005 年 4 月、東京
- 54) 小宮貴子、瀬戸幸路、岩城正昭、福田靖、小崎俊司、高橋元秀、国内で分離された *Corynebacterium ulcerans* の産生する毒素について、第 78 回日本細菌学会総会、2005 年 4 月、東京
- 55) 福田 靖、岩城 正昭、小宮 貴子、高橋 元秀、破傷

細菌第二部

風毒素構造遺伝子の塩基配列の比較。第 78 回日本細菌学会総会、2005 年 4 月、東京

56) 岩城正昭、堀内善信、小宮貴子、福田靖、荒川宜親、高橋元秀。レーザー粒径測定型血小板凝集計を用いたフロキュラシオンアッセイ系の構築。第 9 回日本ワクチン学会学術集会、2005 年 10 月、大阪

57) 福田 靖、岩城 正昭、小宮 貴子、荒川 宜親、高橋 元秀。ヘモフィルスインフルエンザ B 型菌ワクチンに含まれる破傷風トキソイドの免疫原性の検討。第 9 回日本ワクチン学会学術集会、2005 年 10 月、大阪

58) 福田 靖、岩城 正昭、小宮 貴子、荒川 宜親、高橋 元秀：モンゴル国の土壌より分離された破傷風菌の毒力に関する検討、第 79 回日本細菌学会総会 平成 18 年 3 月 金沢市

59) 柴山恵吾、鈴木里和、和知野純一、荒川宜親
ヘリコバクターピロリの α -glutamyl transpeptidase の発現、精製、生化学的解析、第 78 回日本細菌学会総会、東京、4 月 3-6 日、2005 年

60) 森 茂太郎、河井重幸、史 峰、三上文三、村田幸作、立体構造情報に基づく NAD キナーゼから NADH キナーゼへの機能変換、日本農芸化学会関西支部例会・2005 年 6 月

61) 落合雅樹、片岡紀代、山本明彦、蒲地一成、豊泉裕美、荒川宜親、堀内善信、沈降精製 DPT ワクチン中のエンドトキシン活性について、第 78 回日本細菌学会総会、2005 年 4 月、東京

62) 山本明彦、落合雅樹、蒲地一成、片岡紀代、豊泉裕美、荒川宜親、堀内善信：ヒト末梢血と相同のエンドトキシン反応性を有する培養細胞による *in vitro* 安全性管理試験法、第 78 回日本細菌学会総会、2005 年 4 月、東京

63) 内藤誠之郎、今井順一、加藤博史、河村未佳、浜口功、水上拓郎、前山順一、落合雅樹、山本明彦、堀内善信、野村信夫、渡辺慎哉、山口一成、DNA マイクロアレイを応用したワクチンの新しい安全性評価法の開発、第 32 回日本トキシコロジー学会学術年会、2005 年 7 月、東京

64) 蒲地一成、岡田賢司、堀川和美、村上光一、豊泉裕美、落合雅樹、山本明彦、片岡紀代、堀内善信、荒川宜親：百日咳 outbreak から分離された百日咳菌の抗原遺伝子解析。第 78 回日本細菌学会総会、2005 年 4 月、東京

65) 黒木春郎、三上秀男、蒲地一成、荒川宜親：百日咳菌分離例の検討。第 79 回日本感染症学会総会、2005 年 4 月、名古屋

66) 中野貴司、庵原俊昭、神谷齊、岩出義人、山内昭則、

杉山明、大塚正之、菊池賢、岡田賢司、蒲地一成、荒川宜親：百日咳の家族内伝播に関する検討。第 79 回日本感染症学会総会、2005 年 4 月、名古屋

67) 蒲地一成、大塚正之、菊池賢、堀内善信、荒川宜親：我が国における百日咳抗原変異株の発生動向について。第 79 回日本感染症学会総会、2005 年 4 月、名古屋

68) 片岡紀代、山本明彦、永田典代、落合雅樹、蒲地一成、豊泉裕美、荒川宜親、倉田毅、堀内善信、沈降精製 DPT および DPT-IPV ワクチンの安全性、第 9 回日本ワクチン学会学術集会、2005 年 10 月、大阪

69) 堀内善信、豊泉裕美、片岡紀代、落合雅樹、山本明彦、蒲地一成、高橋元秀、多屋馨子、佐藤弘、岡部信彦、荒川宜親、倉田毅、ワクチンの安全性・有効性と評価システム、第 9 回日本ワクチン学会学術集会、2005 年 10 月、大阪

70) 浜口功、今井順一、加藤博史、河村未佳、内藤誠之郎、水上拓郎、前山順一、益見厚子、笠井道之、百瀬暖佳、倉光球、望月雅代、落合雅樹、山本明彦、堀内善信、野村信夫、渡辺慎哉、山口一成、包括的遺伝子発現解析による、百日せきワクチンの新しい安全性評価法の開発、第 9 回日本ワクチン学会学術集会、2005 年 10 月、大阪

71) 松本めぐみ、小見宏幸、根岸孝至、小林久敏、山本明彦、落合雅樹、高木尚、丹羽允、堀内善信、鈴木政嗣、ファージディスプレイ法によって得られた新規 LPS 結合ペプチドとその応用可能性、第 11 回日本エンドトキシン研究会、2005 年 11 月、東京

72) 落合雅樹、エンドトキシン試験、日局シンポジウム製薬現場における微生物管理手法：最近の話題、2005 年 11 月、東京

特 許

発明の名称：LAMP 法を用いたジフテリア毒素遺伝子検出方法およびこの方法に用いるプライマーセット

発明者：岩城正昭、高橋元秀、荒川宜親（HS 財団に委託）

出願中（国内および PCT 出願）

国内出願番号：特願 2006- 54058(2006 年 2 月 28 日出願)