

5. 細菌第二部

部長 荒川 宜親

概 要

当部は、第一室から第五室の5つの室で構成され、主に呼吸器系の細菌感染症を引き起こす細菌とともに全身感染症、日和見感染症、持続性慢性感染症などの起因菌、毒素産生偏性嫌気性菌などについて、細菌学、細菌感染症学の観点から細菌の病原性(薬剤耐性を含む)、細菌感染症の病態などについて分子、遺伝子レベルで研究を進めている。同時に、細菌による医療施設関連感染症の発生要因に関し、実験的解析、疫学的解析の両面からの研究、調査を行なっている。さらに、ワクチンなどの生物学的製剤の品質管理に不可欠な標準品の製造を行なうとともに部の基盤的研究として、品質管理技術の向上を目指し、試験・検査法法の改良等種々の検討や研究を行なった。

第一室は、抗生物質製剤の品質管理に必要な日本薬局方標準品の製造、厚生省の一斉監視指導収去検査として抗生物質製剤の検査などに従事するとともに、薬剤耐性菌やそれによる感染症に関する調査研究を担当している。第二室は、生物学的製剤の無菌試験に関する事項を担当し、さらにマイコプラズマ、インフルエンザ菌など呼吸器系疾患の起因菌に関する病原体に関する研究を担当している。第三室では、ジフテリア、破傷風の予防の為にトキソイドワクチン、それらの治療のための抗毒素製剤などを担当している。第四室では抗酸菌などの慢性持続性感染症の起因細菌の研究とともに、BCG製剤、精製ツベルクリンなどの力価試験などを担当している。第五室は、百日咳および百日咳菌に関する調査研究を担当し、同時に、エンドトキシン試験、特殊毒性試験、さらに、生物統計などについて、全所的な支援を行なっている。

外部公的機関への支援などとして、WHO(WPRO)、JICA、国立国際医療センターなどの各種海外支援プロジェクト、国際協力事業等に協力し、同時に国内外からの研修生等の受入れや技術研修などを行った。さらにWHOの“Collaborating Center for Research and Reference Services for Immunological and Biological Products”としての活動を行った。

品質管理業務及び研究実績の詳細については各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」の改善に関する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、技術支援、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、調査協力
5. 国内の医療施設で分離された新型薬剤耐性菌の耐性機序の解明と遺伝子型別などに関する技術支援

その他、ジフテリア菌、百日咳菌、破傷風菌、*Clostridium botulinum*、*Helicobacter pylori*、*Haemophilus influenzae*、*Clostridium difficile*などの病原細菌の分離・同定、病原性や病原因子、検査法、分子疫学などに関す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、ヒューマンリソース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。

平成18年度には常勤職員の採用、退官などはなかったが、業務の継承や業務量の調整の為に、7月に常勤職員の室間の配置換えを行なった。客員研究員として石田説而、協力研究員として黒川博史、川村久美子、長野則之、小島 禎、土井洋平、八木哲也、瀬戸幸路、坂本 崇、流動研究員として木村幸司、和知野純一、朴貞玉、韓賢子、上野山敦子らが在籍した。研究生として、本間 操、山田友紀、畑中公基、長野由起子らが在籍し病原細菌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、甲斐久美子、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、本郷有美子、鯉坂裕美、片岡紀代(業務管理課)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

1. 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 55 施設の医療機関等から依頼を受けた菌株・検体について、薬剤耐性遺伝子検査 (190 件)、毒素遺伝子検査 (157 件)、菌株タイピング解析 (409 件)、菌種同定 (2 件)、*Clostridium difficile* 分離同定 (112 件)、*C. difficile* 毒素検出 (112 件)、その他 (45 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. (32 株)、*Staphylococcus* spp. (26 株)、*Streptococcus* spp. (52 株)、2) *Clostridium* spp. (181 株)、その他のグラム陽性桿菌 (25 株)、3) *Pseudomonas* spp. (228 株)、*Escherichia coli* (46 株)、*Proteus* spp. (47 株)、*Klebsiella* spp. (6 株)、*Helicobacter pylori* (2 株)、*Serratia* spp. (3 株)、*Enterobacter* spp. (2 株)、*Providencia* spp. (16 株)、*Achromobacter* sp. (1 株)、4) その他 (9 株) であった。なお、菌株等は感染研細菌第二部の管理番号 (MRY 番号) を付与して保存した。[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、瀧世志江、木村幸司、和知野純一、近田俊文、荒川宜親]

2. 新型 CTX-M-3 型 β -ラクタマーゼと IMP-1 型メタロ- β -ラクタマーゼの同時産生菌の遺伝子解析

世界的にメタロ- β -ラクタマーゼや ESBL を産生する耐性菌が多く分離されているが、最近我が国におけるメタロ- β -ラクタマーゼや ESBL 産生菌の分離状況を PCR 法によってこれまでも報告してきた。今回、メタロ- β -ラクタマーゼと ESBL を同時に産生する *Enterobacter aerogenes* を分離し、その β -ラクタマーゼ遺伝子と周辺構造の解析を試みた。2004 年に静岡の病院で、血液検体から臨床分離された *E. aerogenes* (MRY03-465 株) は、第三世代セファロスポリンに高度耐性を示した。ディスク拡散法にて、メタロ- β -ラクタマーゼと ESBL の両方の産生が推定された。PCR 法による β -ラクタマーゼ遺伝子解析とダイレクトシーケンス解析を行い、さらに塩基配列の決定、遺伝子のタイピングを行った。 β -ラクタマーゼのシーケンス解析では、我が国に独自の CTX-M-3 型 β -ラクタマーゼ遺伝子と IMP-1 型メタロ- β -ラクタマーゼ遺伝子を同時に保有していることが明らかとなった。IMP-1 型メタロ- β -ラクタマーゼ遺伝子は、クラス 3 型インテグロン構造に、遺伝子カセットとして担われ、アミノグリコシドに耐性を付与する *aacA4* 遺伝

子も同時に保有していた。さらに、CTX-M-3 型 β -ラクタマーゼ遺伝子は、*ISEcp1* 構造に担われていることが明らかとなった。今回の解析結果は、メタロ- β -ラクタマーゼと CTX-M-3 型 β -ラクタマーゼを同時に産生する菌の初めての報告であり、こうした多剤耐性菌の動向の監視に寄与するものと考えられた。[柴田尚宏、荒川宜親]

3. CTX-M-3 型 β -ラクタマーゼ遺伝子保有腸内細菌の β -ラクタマーゼ解析とプラスミド解析

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腸内細菌において、CTX-M-3 型が多く検出されることは報告してきた。今回さらに、これらの株の詳細な β -ラクタマーゼ解析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-3 型遺伝子保有株は、日本独自のヌクレオチド配列を持つものが圧倒的に多いことが明らかとなった。これらの株は、プラスミドパターンは異なるが、大半が *ISEcp1* 構造に担われることが明らかとなった。このような耐性機序によって、我が国に拡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]

4. 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 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、IMP-1 型および VIM-2 型メタロ- β -ラクタマーゼ産生菌の検出を報告してきた。今回は、さらに近縁の IMP-1 型と IMP-2 型メタロ- β -ラクタマーゼ遺伝子の鑑別を試みた。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]

5. PCR 法によるプラスミド性ニューキノロン耐性遺伝子の保有状況の調査

140 医療施設から分離された 751 株の大腸菌について PCR 法を用いてプラスミド性ニューキノロン耐性遺伝子、*qepA* および *qnrA*, *qnrB*, *qnrS* の保有状況を調査した。その結果 *qepA* は 2 株の大腸菌から分離されたが *qnr* は分離されなかった。[山根一和、和知野純一、鈴木里和、荒川宜親]

6. アミノグリコシド高度耐性 *Klebsiella pneumoniae* の耐性機序の解明

ブラジルの医療機関から分離されたアミノグリコシド高度耐性 *K. pneumoniae* を調べた。その結果 16S rRNA メチラーゼの一種である *rmtD* を保有することが明らかとなった。*rmtD* はプラスミド上に存在し、そのプラスミドのサイズは約 90 kbp であった。*rmtD* は緑膿菌から分離された報告はあるが腸内細菌科の *K. pneumoniae* から分離された例はこれが初めての事である。[山根一和、土井洋平、David L Paterson]

7. バンコマイシン耐性腸球菌の分子疫学的解析、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" がすでに分離されており、さらに 2005 年以降にはゲンタマイシン高度耐性株の広まりが確認された。院内感染事例も以前の単一クローンによるものから、多クローン性の事例が増加しつつあり、今後急速に VRE がわが国において広まる可能性が示唆され監視と対策が重要と思われる。[鈴木里和、加藤はる、山根一和、柴田尚宏]

8. 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、感染源感染経路について解析した。また、長期間にわたった院内感染事例における PFGE パターンの多様化およびその解釈に関する検討を実施した。[鈴木里和、山根一和、柴田尚宏]

・ *Clostridium difficile* 及び偏性嫌気性細菌に関する研究

1. *Clostridium difficile* 関連下痢症 / 腸炎症例および院内感染が疑われた事例の解析

解析依頼があった病院からの菌株において、研究ベースにて *C. difficile* 分離菌株の毒素産生能の検討とタイプング解析を行った。糞便検体においては、検体中毒素検出および菌の分離培養、分離菌株の解析検討を行った。[加藤はる、吉村由美子、甲斐久美子]

2. *Clostridium difficile* における遺伝子配列の決定によるタイプング法の確立とダイレクト・タイプングへの応用

C. difficile のタイプング法として、細胞表面タンパクの

ひとつをコードする *slpA* 遺伝子のシーケンスによる方法の開発を試み、その結果を PCR ribotyping によるタイプング結果と比較した。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・タイプング法へ本法を応用し、分離菌株におけるタイプング結果と比較検討した。[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)]

3. 北米、ヨーロッパにおいて分離された最近の *Clostridium difficile* 流行株における 8 種類の異なるタイプング法による解析比較

米国 Centers for Disease Control and Prevention が主体となって北米、ヨーロッパにおいて分離された最近の流行株を各々の施設で行っているタイプング法で解析し、その結果を比較した。国立感染症研究所では、*slpA* sequence typing によるタイプング解析を行った。最近の流行株 BI/NAP1/027 は、どのタイプング法によっても同一あるいは非常に近縁のタイプになった。[加藤はる、G.E. Killgore (CDC, 米国)ら study group における共同研究]

4. 日本の病院入院症例における PCR ribotype 027 *Clostridium difficile* 菌株の分離と同定

2005 年に分離同定された *C. difficile* 菌株が、PCR ribotype 027 であることを同定した。[加藤はる、R.J. van den Berg、E. Kuijper (Leiden University Medical Center, オランダ)]

5. 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行った。10 例において検討を行ったところ、8 例において糞便検体より *C. difficile* の分離がなされ、2 例で *C. difficile* 関連下痢症 / 腸炎を発症した。[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)、矢野久子(名古屋市立大学)]

6. *Clostridium perfringens* 臨床分離株の解析

肝膿瘍を伴い敗血症となった症例の血液から分離された *Clostridium perfringens* の解析を 2 病院から依頼され、major toxin および enterotoxin 遺伝子の検出解析を行った。[加藤はる、吉村由美子]

・マイコプラズマに関する研究

1. 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

臨床診断法が確立されていない呼吸器疾患関連マイコプラズマ種（新規発見種を含む）の血清診断法開発に向けた特異抗原の解析を行った。また、呼吸器症状に併発した症例報告や、疫学調査で関連性が示唆されるなどの理由でマイコプラズマ感染との関連が疑われる疾患として、抗リン脂質抗体症候群(APS)、関節リウマチがある。APSについては、診断基準の一つである自己抗体産生についてマイコプラズマ感染者血清における抗体価測定を行った結果、軽度ながら抗体価上昇を認めた。関節リウマチについては、ウサギを用いた関節炎等のモデルを作成しており、個体差があるものの個体によっては関節炎形成を認めた。[佐々木裕子、網 康至・須崎百合子（動物管理室）、永田典代（感染病理部）、荒川宜親、佐々木次雄]

2. *Mycoplasma pneumoniae* の挿入変異位置の決定法についての研究

M. pneumoniae は相同組み換えによる方法で特定の遺伝子を破壊することが出来ず、研究に必要な変異株を得るには、トランスポゾン挿入株の集団から目的の遺伝子に挿入が起きた変異株をスクリーニングしなくてはならない。しかし、これまでこのトランスポゾンの挿入位置を決定するには煩雑な手間がかかっていた。我々はこれまでに、トランスポゾン Tn4001 を改造して、*M. pneumoniae* ゲノムの内のトランスポゾン挿入位置を簡単に決定する方法を考案した。今年度はこの方法を用いて引き続き変異株コレクションの作製を継続し、変異株ライブラリーの充実を目指している。[堀野敦子、見理 剛、佐々木次雄]

3. *Mycoplasma pneumoniae* の遺伝子学的診断法の検討

M. pneumoniae の遺伝子学的診断法として現在用いられている Nested PCR 法と検討中の LAMP 法について感度、特異性の比較検討を行った。結果として、感度については両者とも *M. pneumoniae* のゲノム DNA で 3 コピーまで検出可能であった。特異性についての検討では、他のマイコプラズマ種には両者とも反応しなかった。簡便性では LAMP 法はすぐれているが、*M. pneumoniae* の型別を行うことはできない。マイコプラズマ肺炎の流行を調査するにあたり、流行中の *M. pneumoniae* の型別は考慮すべき情報であるため、両者の使い分けも視野に入れて臨床検体を用いて検討を行う計画である。[堀野敦

子、見理 剛、佐々木次雄、吉野 学（栄研化学）、厚生労働科学研究費補助金・新興・再興感染症事業費]

4. *Mycoplasma pneumoniae* の細胞構造に関する研究

M. pneumoniae の細胞構造を詳しく理解するために細胞内のタンパク質局在の網羅的分析を進めている。この作業を効率よく進めるために *M. pneumoniae* の遺伝子 ORF の Gateway ベクターへのクローン化を進めてきたが、本年度は全 689 個のほぼすべてのクローン化が終了した。また蛍光タンパク質タグを使用したタンパク質の局在分析では、約 150 の遺伝子産物の顕微鏡観察が終了した。[見理 剛、宮田真人（大阪市大）、佐々木裕子、堀野敦子、文部科学研究費補助金・特定領域・応用ゲノム]

・ジフテリア菌、破傷風菌及び細菌毒素に関する研究

1. ジフテリア菌 (*Corynebacterium diphtheriae*) C7(-)株ゲノムにおける pathogenicity island の欠失について

C7(-)株は代表的なジフテリア菌の菌株の一つであり、ジフテリア菌の病原性研究の最初期（1950 年代）から現在まで多くの知見が蓄積しているが、そのゲノムに関する知見はいまだ得られていない。そこで我々は comparative genomic hybridization 法（Gene Frontier 社 "Mutation Analysis"）により、C7(-)株ゲノムを、近年明らかにされたジフテリア菌 NCTC13129 株のゲノムと比較した。その結果、NCTC13129 株ゲノムに存在する 13 個の pathogenicity island のほとんどが C7(-)株ゲノムにはみられないことが明らかとなった。[岩城正昭、小宮貴子、高橋元秀]

2. ジフテリア菌 (*Corynebacterium diphtheriae*) PW8 株ゲノムと NCTC13129 株ゲノムの相違について

PW8 株は、その培養濾液からトキソイドワクチンを製造するために広く使われる、いわゆるワクチン株である。増殖能や病原性などいくつかの点で他のジフテリア菌と異なる性質を持つといわれているが、そのゲノムについて解析が行なわれたことはなかった。そこで我々は前項同様 Gene Frontier 社 "Mutation Analysis"により、PW8 株ゲノムと NCTC13129 株のゲノムの比較を行なった。比較の結果、PW8 株ゲノムに大規模な欠失は認められなかったが、ゲノムのほぼ全域にわたって小規模な配列の相違があることが示唆された。[岩城正昭、小宮貴子、高橋元秀]

3. マイクロアレイを用いた毒素と糖鎖の結合解析のための条件検討

多くの病原体・毒素が宿主細胞表面の糖鎖との結合を手がかりとして病原性・毒性を発揮することはよく知られており、本年度が初年度である新エネルギー・産業技術総合開発機構（NEDO）の「糖鎖機能活用技術開発」プロジェクトは、糖鎖を大量生産し病原体・毒素との相互作用を解析して病原体・毒素の検出・除去に役立てることを目的としている。我々の担当である毒素について詳細な解析を行なうためには、毒素と相互作用する糖鎖の有効なスクリーニング法の開発が重要である。糖鎖をスポットしたマイクロアレイデバイスはスクリーニングの道具として有力な候補であるので、タカラバイオ社から糖鎖アレイを購入し、糖鎖との相互作用が既知であるコレラトキシンBサブユニットを用いて条件検討を行なった。メーカー指定の条件を多くの点で変更することが必要であったが、相互作用を検出することができたので、次項（4及び5）の実験を行なった。[上野山敦子（化学技術戦略推進機構）、岩城正昭、高橋元秀、荒川宜親]

4. 糖鎖アレイを用いた破傷風毒素と糖鎖の結合の解析

破傷風は治療しなければ重篤になりやすく致死率が高い疾病である。抗毒素療法が一般的に行なわれているが、血液製剤に頼らない血液浄化などの治療法も模索されるべきである。そこで糖鎖を用いた毒素除去法（および高感度検出法）を最終的に開発する目的で、その過程に必須な材料としての破傷風毒素を精製・取得するとともに糖鎖との相互作用のスクリーニングを行なった。破傷風菌 HA-47 株について毒素産生能の高いクローンを選択した後 P-II 培地で 6 日間培養し、培養濾液から硫酸沈殿と陰イオン交換カラムクロマトグラフィーにより約 20mg の高度精製毒素標品を得た。さらにこの標品について糖鎖アレイを用いた結合解析を行ない、GT_{1b} など複数の糖鎖への結合が確認された。[上野山敦子（化学技術戦略推進機構）、岩城正昭、高橋元秀、荒川宜親]

5. 糖鎖との結合解析のためのボツリヌス毒素精製

ボツリヌス毒素は種々のボツリヌス症の原因となるばかりでなく近年ではバイオテロリズムに利用される可能性が懸念される、極めて強い毒性を持った毒素である。その高感度検出系および除去法の開発は急務と言ってよい。そこで「糖鎖機能活用技術開発」プロジェクトにおいてはボツリヌス毒素をその対象の一つと定めた。プロジェクトにおける検出装置・除去装置開発に必須な材料として、および未知な点の多いボツリヌス毒素と糖鎖との相互作用について新たな知見を得るために、毒素の精製を行なった。からしれんこん症例や近年増加している

乳児ボツリヌスなどの原因となっている A 型ボツリヌス毒素にまず着目した。A 型ボツリヌス毒素にはアクセサリ蛋白である NTN_H および HA との複数の会合状態が知られているが、そのうちでレセプターに関する知見の乏しい M 型（2 分子の NTN_H との会合体:12S 毒素）を精製した。ボツリヌス菌 Chiba 株について、毒素を効率良く産生する培養条件を検討した後 3 日間培養し、培養濾液から硫酸沈殿と陽イオン交換カラムクロマトグラフィーにより約 16mg の高度精製毒素標品を得た。[上野山敦子（化学技術戦略推進機構）、岩城正昭、高橋元秀、荒川宜親]

6. 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

ガスエソウマ抗毒素製剤の効率化、安全性確保のために、BSE 混入の恐れのある培地原料の変更を検討した結果、現行培地に優る組成は見いだせなかった。また、ウマ免疫方法を検討した結果、従来法である基礎免疫はトキシイド、追加免疫は毒素を用いるよりも、追加免疫もトキシイドを用いることで高力価の血清が得られた。また、抗破傷風毒素ヒト組換えポリクローナル抗体製剤の開発として、過去に改良・確立した EBV-ハイブリドーマ法および KM マウスの利用により計 10 種のモノクローナル抗体を作製し、抗体の組み合わせにより顕著な中和活性の増強を確認した。また、ABEF 型ボツリヌス毒素中和抗体を有するボランティアの成分血より抗体ライブラリーを作製し、パニング法でボツリヌス毒素に結合する多種類の抗体を単離し、中和活性を有する 6 種類の抗体を得た。これら抗体は最低 4 種類のエピトープを認識する抗体群に分類された。また、スクリーニング方法を免疫沈降法に変更して調製したポリクローナル抗体はボツリヌス毒素を完全中和した。[高橋元秀、大隈邦夫（化血研）、黒澤良和（藤田保健大）、千葉丈（東京理科大）、向本雅郁、小崎俊司（大阪府立大）、厚生労働省医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業]

・結核等抗酸菌に関する研究

1. 結核菌由来ポリリン酸キナーゼの酵素学的解析

ポリリン酸キナーゼは、生物の生体内において重要な役割を果たしているポリリン酸の生合成反応を触媒する酵素である。真核生物にはポリリン酸キナーゼと一次構造上で同一性を示す配列が存在しないことから、本酵素は新規抗結核薬の標的の 1 つとして考えられている。本研究では、大腸菌内において結核菌由来ポリリン酸キナーゼを大量発現させ、SDS-PAGE 上で単一バンドになる

まで精製を行ない、その酵素学的諸性質を決定した。その結果、本酵素は ATP よりも ADP に対して親和性が高いことが示された。[森茂太郎、柴山恵吾、朴 貞玉、荒川宜親]

2. 結核菌由来マクロファージ内発現遺伝子の新規スクリーニング法の検討

結核菌はマクロファージ内での生存が可能であり、その生理機能は病原性と深く関連している。そこで本研究では、結核菌がマクロファージに取り込まれた後に発現が亢進する遺伝子をスクリーニングする新しい手法の検討を行なった。その結果、抗菌薬に対する耐性を指標とするマクロファージ内発現遺伝子群の新たな網羅的選択法を構築し、結核菌がマクロファージ内で生存するために必須な遺伝子を同定することが可能であることを示した。[森茂太郎、柴山恵吾、朴 貞玉、荒川宜親]

3. 結核菌由来細胞壁合成関連タンパク質の結晶化

結核菌を含む抗酸菌は特徴的な細胞壁構造を有しており、病原性との関連性が指摘されている。そこで本研究では、抗酸菌に特有な細胞壁の合成に関与するタンパク質を新規抗結核薬の標的として捉え、その立体構造解析を進めている。本年度は、結核菌由来タンパク質 Rv2702、Rv2984、Rv3264、Rv3782、及び Rv3801c を大腸菌内で大量発現させる系を確立した。また、昨年度において大量発現系を構築した Rv3799c について、SDS-PAGE 上で単一バンドになるまで精製し結晶化条件のスクリーニングを行なった。[森茂太郎、柴山恵吾、朴 貞玉、荒川宜親]

4. 非結核性抗酸菌の薬剤耐性メカニズムの研究

非結核性抗酸菌は、様々な抗結核薬に対して自然耐性である。この薬剤耐性メカニズムに関して、薬剤排出ポンプに焦点をあてて解析を行った。これまでに排出に関わる蛋白の遺伝子のクローニング、および遺伝子の欠損株の作製を行った。[朴 貞玉、森茂太郎、柴山恵吾、荒川宜親]

5. 抗酸菌の迅速同定法の開発

抗酸菌による感染が疑われる臨床検体からの迅速で正確な菌種同定が求められている。PCR で *Mycobacterium* 属の菌種の同定、特に結核菌と非結核性抗酸菌をより正確に識別する試みを行っている。現在いくつかの菌種特異的な遺伝子配列に着目し、Primer set を検討している。[森茂太郎、柴山恵吾、朴貞玉、荒川宜親]

. 百日咳菌に関する研究

1. 成人層から分離された百日咳菌の解析

わが国の成人層から分離された百日咳菌について、その遺伝子型と病原因子多型 (*ptxS1*, *prn*, *fim2*, *fim3*, *fhaB*, *tcfA*) を乳幼児分離株のものと比較した。その結果、1) 成人分離株は乳幼児分離株と等しい遺伝子型を有する、2) 病原因子多型は乳幼児のものとはほぼ同一である、ことが判明した。このことから、近年の成人患者増加に、百日咳菌の抗原シフトは関与していないものと考察された。[韓 賢子、蒲地一成、岡田賢司(国立病院機構福岡病院)、鰐坂裕美、佐々木裕子、荒川宜親]

2. カンボジアにおける百日咳流行株の分子疫学的解析

発展途上国で流行する百日咳菌の性質を把握するため、カンボジアで分離された百日咳菌について遺伝子解析を実施した。その結果、1) カンボジアの流行株は欧米の流行株と等しい、2) 先進国とは異なり同国ではほぼ単一の流行株が蔓延している、ことが明らかとなった。このことから、開発途上国とわが国では百日咳の流行状況が大きく異なっていることが指摘された。[蒲地一成、鰐坂裕美、韓 賢子、遠田耕平・小島和暢 (WHO)、堀内善信、荒川宜親、高橋元秀]

. *Helicobacter pylori* に関する研究

1. *Helicobacter pylori* のアポトーシス誘導蛋白 -glutamyl transpeptidase の解析

H. pylori γ -glutamyl transpeptidase の酵素学的な characterization を行い、代謝と病原性との関連性を解析した。この蛋白は菌体のグルタミン、グルタチオン代謝に関わる酵素で、そしてその活性が病原性に重要であることが考えられた。[柴山恵吾、荒川宜親]

. 生物学的製剤及び抗生物質製剤に関する研究

1. 百日咳・ジフテリア・破傷風のワクチン、トキシイドに関する研究

(1) *In vitro* 百日咳毒素残存活性測定法に関する研究

現在、DPT ワクチンの百日咳毒素残存活性は、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により確認されている。しかし世界的には動物実験に代替する試験法の確立が求められている。そこで HPLC を用いる百日咳毒素の ADP-リボシル化活性の測定法及び百日咳毒素の糖鎖に対する結合活性を測定する試験法について NIBSC との共同研究を行った。[落合雅樹、堀内善信、Chun-Ting Yuen (NIBSC)、Dorothy Xing (NIBSC)、Michael J. Corbel (NIBSC)]

(2) モノクローナル抗体を用いたジフテリア及び破傷風トキソイドの抗原定量法 (ELISA) の検討

現行のトキソイド抗原量の測定方法は、綿状反応を用いた Lf 価で示されている。測定は、肉眼判定のため、客観性に乏しいために、精度の高い *in vitro* 法が国際的にも求められている。阪大微生物病研究会のモノクローナル抗体を用いて、ELISA 法が代替法になり得るか検討した。ジフテリア及び破傷風各 6 種類のトキソイドを調べたところ、測定感度は両トキソイドとも 1mL 中に約 Lf/1000 (タンパク量で約 2 ng/ml) であり、用量反応線は、1/1000 ~ 1/10 Lf/ml の区間で標準品と平行性、直線性が成立し、測定可能であった。純度の高いトキソイドを用いて両測定法で求めた値には 2~5 倍程度、ELISA の方が高い値を示した。現在、各ワクチン製造所において、純度の異なるトキソイドを用いて Lf 測定法と ELISA 法の比較検討を実施している。[小宮貴子、岩城正昭、細菌製剤協会、高橋元秀]

2. ヘモフィルス b 型ワクチン(破傷風トキソイド結合体)に関する研究

(1) ラットを用いた多糖部分の免疫原性試験についての検討

ヘモフィルス b 型ワクチン(破傷風トキソイド結合体) (以下 PRP-TT) の多糖部分の免疫原性評価のためにこれまで用いられて来たマウス、モルモット、ウサギは抗 PRP 抗体応答性が低いか、あるいは個体差が大きいため、最適な試験動物とは言えなかった。最近ラットが抗 PRP 抗体応答性、個体差等の点でこれらの動物より優れていることが報告された。そこでラットを PRP-TT で免疫し、血中抗 PRP 抗体価により免疫原性を評価した。SD ラット雌 4 週齢各群 5 匹を用い、PRP-TT を 0.01、0.02、0.04、0.2、0.5 SHD ずつ 0、4 週に皮下接種した。0、4、6 週に採血し、血清抗 PRP-IgG を ELISA により測定した。2 回免疫により各群 5 匹とも抗 PRP 抗体価が上昇し、0.04 SHD 接種群が最も高い平均抗体価を示した。ラットが PRP-TT の多糖部分の免疫原性試験の試験動物として有用であることが示唆された。[新谷三春、佐々木裕子、加藤はる、佐々木次雄、荒川宜親]

(2) ラットの抗 PRP 抗体応答に及ぼす DTaP の影響

ヒトにおいて PRP-TT と DTaP を混合して接種すると、同時に別部位に接種した場合に比較して、抗 PRP 抗体応答が低下する場合は知られている。最近ラットにおいても同様の現象が示された。そこで PRP-TT と、国内 3 社製の DTaP を用いてラットの抗 PRP 抗体応答に及ぼす

DTaP の影響について検討した。SD ラット雌 4 週齢各群 5 匹に、各ワクチンを 0.04 SHD ずつ混合接種あるいは同時別部位接種した。その他の方法は 1) と同様とした。混合接種群、同時別部位接種群ともに PRP-TT 単独接種群との間で、血中抗 PRP 抗体価に有意差を示さなかった。[新谷三春、佐々木裕子、加藤はる、佐々木次雄、荒川宜親]

(3) DTaP ワクチンへの混合化に関する検討

Hib ワクチンはキャリアー蛋白として T-td を含んでおり、DTaP との混合使用時の T-td の力価への影響が懸念されている。そこで海外で混合使用されている DTaP-IPV (精製百日せきジフテリア破傷風不活化ポリオ混合ワクチン) と Hib ワクチンを輸入し、T-td の力価をマウス法で定量した。DTaP-IPV と Hib ワクチンの T-td の力価はそれぞれ 853 U/mL と 328 U/mL であったが、これらを混合した場合の力価は 3,091 U/mL と DTaP-IPV に比較して 3.6 倍高かった。Hib ワクチン単独の T-td の力価は国産 DTaP のそれと比較しても高い。また、混合により DTaP-IPV の T-td の力価の増強も認められた。[福田靖、岩城正昭、山本明彦、見理 剛、小宮貴子、高橋元秀、*Haemophilus influenzae* type b (Hib) ワクチンの品質安全確保に関する研究事業]

3. ボツリヌス毒素に関する研究

(1) ボツリヌス毒素の品質管理法の改良と中和抗体価の測定

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昨年度確立した。ボツリヌス毒素の生物活性の定量法であるマウス腹腔内投与 LD₅₀ 試験法はマウスの生死の判定にもとづいており、その判定には 3 から 4 日かかり、信頼性のある値を得るためには多くの動物数が必要である。今回ラット CMAP 測定法はこの問題点を大きく改善できる可能性が、(1) 試験動物数の激減が可能であった、(2) 動物の死亡を伴わず与える苦痛も少ない、(3) 毒素製剤としての薬理作用である筋弛緩作用を直接測定する、(4) マウス腹腔内投与 LD₅₀ 値は離散量に対して、CMAP 試験値は振幅を指標とする連続量であるために統計処理及び得られる情報が多い、(5) マウス LD₅₀ 値では直接測定不可能な毒素活性量を 0.01 ~ 30U/body の用量区間で連続量として測定可能であることは明らかとなった。[高橋元秀、銀永明弘、原川哲博(化血研) 小崎俊司(大阪府立大) 坂本 崇、梶龍兒(徳島大) 創薬等 HS 総合研究事業]

(2) ボツリヌス毒素活性の動物実験代替法に関する研究
A型及びE型ボツリヌス毒素はシナプス前膜に存在する SNAP-25 (Synaptosomal- associated Protein of 25 kDa) を特異的に切断する。このエンドペプチダーゼ活性を測定する *in vitro* 毒素活性試験法の試験条件の最適化を NIBSC との共同研究で行った。その結果、これまで NIBSC で用いられた測定条件と比較して、A型およびE型ボツリヌス毒素でそれぞれ約 50 倍 (0.02 mouse LD₅₀/mL) 約 1,000 倍 (0.2 mouse LD₅₀/mL) 測定感度を向上することができた。[落合雅樹、高橋元秀、Russell G.A. Jones (NIBSC)、Dorothea Sesardic (NIBSC)、Michael J. Corbel (NIBSC)]

(3) ボツリヌス抗毒素力価試験の *in vitro* 化に関する研究
A型及びE型ボツリヌス毒素の SNAP-25 に対する特異的なエンドペプチダーゼ活性を利用した抗毒素による中和能を評価することで、抗毒素の力価を測定する可能性について試みた。本法により、毒素型特異的に A型及びE型ボツリヌス抗毒素の中和活性を定量的に測定することが可能であった。また本法により測定された抗毒素の中和活性は、動物実験による力価試験で評価された力価との間に良好な相関が認められた。[落合雅樹、高橋元秀、Russell G.A. Jones (NIBSC)、Dorothea Sesardic (NIBSC)、Michael J. Corbel (NIBSC)]

(4) ボツリヌス毒素のレセプター結合活性に関する研究
A型ボツリヌス毒素のレセプターが SV2 タンパク (Synaptic Vesicle protein) であることが報告された。そこで SV2 ペプチドを用いて A型ボツリヌス毒素のレセプター結合活性を測定するための *in vitro* 試験法の開発を NIBSC との共同研究により行った。その結果、A型ボツリヌス毒素の用量依存的なレセプター結合活性の検出が可能で ELISA による測定システムを構築することができた。[落合雅樹、高橋元秀、Russell G.A. Jones (NIBSC)、Dorothea Sesardic (NIBSC)、Michael J. Corbel (NIBSC)]

4. BCG に関する研究

(1) モルモット臓器由来 BCG 増殖抑制因子に関する研究
モルモット脾臓、肺および肝臓には BCG 感作の有無に関わらず生来 BCG 増殖を抑制する活性が存在することを明らかにした。この活性は各臓器細胞の生死とは関連せず、臓器ホモジネートの不溶性画分に存在した。また、卵ベースの 7H10 培地上では抑制活性を示すが、寒天ベースの 7H10 培地上ではコロニーサイズを縮小するも

のコロニー出現を完全には抑制しなかった。培地成分の違いによる活性の強弱が培地成分と臓器中の抑制因子との相互作用によるものと推測されたが、詳細な機序は不明である。[持田恵子、荒川宜親]

(2) BCG製剤による副反応報告

原発性免疫不全症児へのBCGワクチン接種で慢性肉芽腫症を発症した1例、BCG接種後50年以上を経て皮膚結核を発症した1例、皮膚結核に対し抗結核薬を用いず一般細菌に対する抗生剤で治療した3症例について報告した。BCGによる結核症は宿主に明らかな免疫不全がない場合は経過観察で十分である場合がほとんどであるが、安易に抗生剤を用いることの危険性については注意を喚起する必要があると思われた。さらに、ワクチン接種時期が生後6ヶ月までと法が改正されたことにより、免疫不全児への不適切なBCG接種による副反応出現増加が危惧され今後も注意深く見守る必要がある。[持田恵子、荒川宜親]

5. インフルエンザ HA ワクチンに関する研究

(1) インフルエンザ HA ワクチンマウス白血球減少試験結果の解析に関する検討

インフルエンザ HA ワクチンの導入以降、かつての全粒子ワクチンで報告されていた重篤な中枢傷害等の報告がなくなったと思われる。従って「これまでに臨床的な使用実績のある毒性範囲の HA ワクチン」である限り現状の安全性に変更は来さない可能性がある。ただし毒性試験であるワクチンマウス白血球減少試験については精度の向上が望まれている。2003-2006年度の計21回の試験結果を解析した結果、ロットの活性値(対数)は不規則な分布となっており、回帰係数の絶対値が大きいかほど活性値が大きく評価される傾向がみられた。一方この間の回帰係数はほぼ正規分布しており、平均回帰係数を用いた結果は対数正規分布し、最大値は約 0.198 単位と推定された。現行では最終バルク濃度で試験することとなっているが、より高濃度(約3倍程度)で試験することで、理論的にはより高精度の評価が可能と考えられた。[堀内善信]

(2) インフルエンザ HA ワクチンマウス白血球減少試験の精度改善の検討

インフルエンザウィルスあるいは全粒子ワクチンには末梢白血球、特にリンパ球減少活性のあることが報告されている。仮にこの活性物質の影響をより特異的に検出できれば精度の向上が期待できる。そこで多項目自動血

球分析装置 (XT-2000iV : Sysmex 社) を用いてあるワクチンロットの活性を繰り返し 4 回定量し、白血球 (WBC) とリンパ球での結果の精度を比較した。またこのとき粒子計測装置 (CDA-500 : Sysmex 社) を用いて同一血液検体について WBC とリンパ球の簡易測定を行い、比較した。CDA-500 では溶血処理剤添加後の厳密な時間管理が必要であり、アパーチャーチューブの目詰まり等のトラブルで計測不能となることから、実用的には問題があると判断された。XT-2000iV での WBC およびリンパ球のいずれの測定値にも非常に良好な再現性が認められたが、ワクチン投与による影響は必ずしもリンパ球特異的とはいえず、WBC に比べてリンパ球測定による精度向上の可能性は低いことを示唆する結果であった。[堀内善信]

6. エンドトキシンに関する研究

(1) 血液製剤へのエンドトキシン試験法適用に関する研究

昨年度に引き続き、血液製剤へのエンドトキシン試験適用の可能性について検討した。今年度は、12 種の血液製剤 (計 27 ロット) について、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反応干渉因子の有無を確認した。試験したすべての血液製剤で、2-16 倍の希釈で反応干渉作用を受けずにエンドトキシンの測定が可能であった。[落合雅樹、山本明彦、鯉坂裕美、堀内善信、内藤誠之郎・浜口 功・山口一成 (血液・安全性研究部)]

(2) アンチトロピン製剤へのエンドトキシン試験法適用に関する研究

昨年度の検討でアンチトロピン製剤は、エンドトキシン試験に対する強い反応阻害作用を有するため、希釈により干渉作用を除去するには感度の点で問題となることが考えられた。そこで反応干渉因子を除去するための前処理法について検討した。その結果、カイネティック比色法では、前処理法を用いることでほぼ 100% のエンドトキシン添加回収率が得られた。[落合雅樹、山本明彦、豊泉裕美、堀内善信、内藤誠之郎・浜口 功・山口一成 (血液・安全性研究部)]

(3) 内毒素の *in vitro* 生物活性測定法の応用

ペプチドグルカンや グルカンはエンドトキシンと比べその生物活性は低いが、エンドトキシンとの共同作用があるため、生物学的製剤での管理の必要性が議論されている。我々は、その生物活性を測定する *in vitro* 試験法の開発を目指した。本年度は、現在エンドトキシン試験

を実施している DPT ワクチンや血液製剤での汚染量を定量した。その結果、製造所、製剤の種類に関わりなく一定の汚染が起きていることが明らかになった。[山本明彦、落合雅樹、片岡紀代、堀内善信]

(4) 血液製剤へのエンドトキシン試験適用に関する研究

昨年に引き続いて、現在発熱試験にて管理されている血液製剤について、エンドトキシン試験の適用の可能性を検討した。特にエンドトキシンとの共同作用について、ヒトモノサイト由来 28SC 細胞における IL-6 産生誘導を用いて評価した。その結果、血液製剤のうち若干エンドトキシンへの増強作用を認める製剤が存在した。[山本明彦、落合雅樹、内藤誠之郎・浜口 功・山口一成 (血液・安全性研究部)、堀内善信]

(5) 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

昨年に引き続き *E. coli* ファージライブラリーより単離した低分子 LPS 親和性ペプチドについて、その応用を検討した。このペプチドのエンドトキシンの LAL 反応性や生物活性を阻害せずに強い吸着活性を示す性質を利用して、担体に固定して特異的にエンドトキシンを吸着して LAL 測定の可能性を検討した。その結果、エンドトキシンが含まれる溶液の如何に関わらずよくエンドトキシンを吸着した。[山本明彦、落合雅樹、片岡紀代、鈴木政嗣、松本めぐみ、丹羽 允 (協力研究員)、堀内善信]

(6) エンドトキシン試験法の反応干渉因子試験の改良に関する研究

エンドトキシン試験では、試験の成立条件として反応干渉因子試験における添加回収率が 50-200 % でなければならない。日本で特異的なエンドトキシン試薬として主に使用されているエンドスペシー (生化学) と ES-III (和光純薬) を用いて、乾燥ヘモフィルス b 型ワクチン (破傷風トキソイド結合型) (海外市販品) と肺炎球菌ワクチンのエンドトキシン量を予備的に測定した結果、これらのワクチンでは試験法によっては反応促進により添加回収率が 200% に近くになり、希釈液としてリン酸緩衝液を用いることによりこうした反応促進を解除できる場合があった。基本的には現在希釈液として注射用蒸留水を用いることとなっているが、生物製剤の場合他の適当な希釈液の使用を検討する必要があると思われる。[福田靖、堀内善信]

(7) エンドトキシン試験法における解析法がエンドトキ

シン量へ及ぼす影響

現在エンドトキシン試験法での光学的測定法として、局方に比濁法および比色法が収載されている。生物製剤ではこのうちそれぞれカイネティック比濁法あるいはカイネティック比色法が用いられている。カイネティック比濁法ではゲル化により濁度が一定の値を超えるまでの時間を、カイネティック比色法では反応速度を用いて、エンドトキシン量を算出する。この両法の結果は必ずしも一致しない場合がある。この原因が試薬の特性によるのか測定のパラメータによるのかを検討するために、比色法試薬（エンドスペシー：生化学工業）を用いて反応時間法および反応速度法により人血清アルブミン、加熱人血漿たん白、DPT 中のエンドトキシン量を測定し、比較した。その結果、両法で得られたエンドトキシン量に大きな違いは認められなかった。従って比色法試薬を用いる限り時間法と速度法に根本的な差異はないと思われる。[福田 靖、堀内善信]

(8) エンドトキシン試験における測定法の影響評価

カイネティック比濁法試薬である ES-III（和光純薬）を用いて反応時間法および反応速度法により人血清アルブミン、加熱人血漿たん白、DPT 中のエンドトキシン量の算出を試みた。反応時間法はこの試薬の標準的測定法であり、計測可能であったが、反応速度法では用量反応が得られずエンドトキシン量を算出できなかった。最終到達濁度を用いた場合も同様に用量反応が得られなかった。これは、ゲル化の進行により反応液中の分子運動が阻害されるため、濁度上昇が必ずしもエンドトキシン濃度のみ依存したかたちとはならないためと考えられた。こうした比濁法試薬の性状からみて時間法による測定は妥当と思われたが、ゲル化による反応過程への影響がゲル化時間計測にどの程度及んでいるか、再度評価が必要と思われる。[福田 靖、堀内善信]

7. 抗生物質製剤の試験法に関する研究

(1) 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 改正日局において規定改正に反映することができたが、「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、「日本薬局方技術情報（JPTI）2006」及び「図説日本薬局方微生物試験法の手引き」の出版物において、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]

(2) 日本薬局方に規定する試験法の妥当性の確認

厚生労働省医薬食品局長（薬食発第 0428008 号 / 試験法案、試験品、資料等の提供：ファイザー株式会社 製造部門 品質統括部）から、日本薬局方のスペクチノマイシン塩酸塩の定量法（案）による試験法の妥当性の確認の依頼を受けた。この定量法（案）は「抗生物質の微生物学的力価試験法（円筒平板法）」から「ガスクロマトグラフィーによる試験法」に変更するものであった。試験結果の総合判定として、定量法（案）による試験法は「妥当性が認められる」と確認できた。但し、ガスクロマトグラフィーのシステム適合性（再現性）にコメントを付け加えた。[近田俊文、布施 晃、矢野茂生（血液・安全性研究部）]

レファレンス業務

・薬剤耐性遺伝子関係

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 β -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、瀧世志江、甲斐久美子、吉村由美子、山根一和、鈴木里和、近田俊文、荒川宜親]

・ボツリヌス関係

国内のボツリヌス症の実験室内診断法

国内のボツリヌス症の実験室内診断法の充実および技術向上のために、衛生微生物技術協議会のジフテリア百日咳リファレンスセンターにボツリヌスを加え、実験室診断、国内外の情報交換の場を設立することを 7 月の理事会に提案し了承された。これを受けてボツリヌスを担当する各衛研に昨年試作した診断用ボツリヌスウマ抗毒素血清を配付した。[高橋元秀]

・百日咳関係

1. 百日咳 LAMP 診断キット

百日咳診断の向上を目的に、百日咳レファレンスセンターに百日咳 LAMP 診断キットの配布を行った。[蒲地一成、鯉坂裕美、地方衛生研究所（秋田・東京・千葉・

三重・愛媛・大阪・福岡)]

2. 百日咳菌の同定検査

医療機関からの依頼を受けて、百日咳菌の同定検査を2件実施した。[蒲地一成、鯉坂裕美]

サーベイランス業務

・院内感染対策に関する研究

1. 院内感染対策サーベイランスの実用性・実効性に関する研究

厚生労働省事業・院内感染対策サーベイランス事業において、システムの有用性および有効性向上のための研究を実施している。本年度は、医療現場従事者にとって有用な還元情報の有り方を研究・検討し、情報還元の迅速化、参加医療機関間の比較、院内感染対策上重要な情報への特化を中心に、2007年7月のシステム更新後の還元情報の仕様を決定した。また、医療現場への負担の軽減、サーベイランスシステムの効率化をすすめるため、必須項目の削減をすすめた。[鈴木里和、山根一和、荒川宜親]

2. 中小規模病院における院内感染対策支援のありかたに関する研究

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の支援方法に関する研究・検討を行っている。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。とくにメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)の感染対策に関しては、医療機関側の感染対策担当者による自己評価・対策プラン立案などを支援した。実施後MRSAの分離率が低下しつつあり、その有効性が確認されつつある。[鈴木里和、山根一和]

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)収載の円筒平板法及び比濁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。今年度中にサブロット更新を含め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。[鈴木里和、山根一和、南條友子、加藤はる、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

フィー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フィー法(HPLC)に準拠した定量法による品質評価試験を行った。今年度中にサブロット更新を含め7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、粕谷裕子、南條友子、近田俊文]

3. 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(シロップ用セファドロキシル:3ロット/セファドロキシルカプセル: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(注射用スルバクタムナトリウム・セフォペラゾンナトリウム:10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、柴田尚宏、山根一和、鈴木里和、南條友子、粕谷裕子、細菌第二部第五室、血液・安全性研究部第三室]

・BCG、ツベルクリンの品質管理に関する研究

1. BCGの菌量測定試験に用いる濁度計の機種変更

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、機種をGEヘルスケアバイオサイエンスNovaspec Plusに更新し、validationを行ってSOPを変更した。[柴山恵吾、持田恵子、森茂太郎、堀野敦子]

2. BCG製剤の新しい力価試験方法の検討

BCGの培養に用いる培地を小川培地よりコロニー計測が行いやすい7H10平板に変更し、そして力価の基準値を現行の逐次検定方式により決定する方式を改め、より適切な基準値の設定方法に変更することについて検討を始めた。[柴山恵吾、持田恵子、森茂太郎、堀野敦子、本郷有美子]

3. 有毒結核菌否定試験

平成18年度はBCGワクチン8ロット、膀胱用BCG(日本株)4ロット、膀胱用BCG(イムシスト株)5ロットについて有毒結核菌否定試験を行い、すべて合格判定であった。ただし、膀胱用BCG(日本株)のロットB037については、バイアル蓋の巻き締めが不十分で内容物が容易に漏れ出る状態であったため再試験を行った。

初回提出および再提出バルクについての剖検時平均ツ反が 20.7mm vs 18.8mm と危険率 5% で有意差が認められたものの、剖検時所見その他については特に違いを認めなかった。日本株 BCG においては自家試験と国家検定の間で剖検時ツ反(自家試験 > 検定) 体重増加および剖検時脾重量(自家試験 < 検定) の 3 項目で統計的有意差が認められた。イムシスト株においては、体重増加および剖検時脾重量(自家試験 < 検定) に有意差が認められた。
[持田恵子、森茂太郎、堀野敦子、本郷有美子、柴山恵吾]

4. ツベルクリン力価試験

平成 18 年度中に 7 ロットについて力価試験を施行し、全ロット合格であった。ただし、一般診断用(1 μg) のロット P486 については再試験判定となり、再提出試験品 20 本について再試験し合格となった。本年度当初より PPD 力価試験判定法を一部変更し、「判定は蛍光灯直下で行う」、「判定者は椅子に座りモルモットを腿の上に水平に固定する」という条件を追加した。さらに、平成 19 年 3 月以降の判定では、「モルモットにネンブタールを投与し麻酔下に判定する」という改良を加え、測定再現性が向上し判定者間の差が縮小した。自家試験および国家検定の平均値は 2.0 ± 1.4 vs 1.1 ± 4.8 で有意差は認められなかった。
[持田恵子、森茂太郎、堀野敦子、本郷有美子、柴山恵吾]

・標準品の整備並びに品質管理に関する業務研究

1 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。今年度末までに第 15 改正日局抗生物質標準品(全 129 品目収載) は 127 品目が新規及び更新ロットとして整備された。日本薬局方抗生物質標準品の在庫(ロット名) 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、柴田尚宏、山根一和、鈴木里和、加藤はる、南條友子、粕谷裕子]

2 .WHO の国際標準品を製造・保管・交付する英国 NIBSC との共同作業

WHO の国際標準品を製造・保管・交付する英国 NIBSC との共同作業として、次期国際候補品の沈降ジフテリアトキソイドおよび沈降破傷風トキソイドを国内ワクチン製造所と協力して作製する作業を始めた。なお、併行し

て両トキソイドの国内標準品の作製も実施中である(平成 18 年 7 月)。
[高橋元秀、細菌製剤協会]

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 に対する Lot 3 候補品標準化のための標定を、共同標定プロトコールに従い感染研及び国内製造所(計 6 施設)で実施した。その結果、Lot 3 候補品は 1,145 BWDU/vial、35 LPU/vial、45 HSU/vial と評価された。
[落合雅樹、蒲地一成、福田靖、山本明彦、片岡紀代、鯉坂裕美、堀内善信]

4 .日局エンドトキシン 10000 標準品 Lot 6 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 10000 標準品(Lot 6)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 10000 標準品 Lot 6 候補品の単位は 23,500 EU/vial と評価された。
[堀内善信、山本明彦、落合雅樹、福田 靖、鯉坂裕美、片岡紀代、村井敏美・中川ゆかり(日本公定書協会)]

・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

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): 32 ロット

沈降ジフテリア破傷風混合トキソイド: 7 ロット

沈降破傷風トキソイド: 10 ロット

成人用沈降ジフテリアトキソイド: 1 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: 12 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: 8 ロット

乾燥まむしウマ抗毒素: 1 ロット

抗破傷風人免疫グロブリン: 5 ロット

乾燥 BCG ワクチン(最終製品) 80mg: 2 ロット

乾燥 BCG ワクチン(最終製品) 40mg: 2 ロット

乾燥 BCG ワクチン(最終製品) 12mg: 7 ロット

乾燥 BCG 膀胱内用(日本株)(最終製品) 80mg: 2 ロット

細菌第二部

乾燥 BCG 膀胱内用 (日本株)(最終製品) 40mg : 2 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) : 8 ロット
乾燥 BCG 膀胱内用 (日本株) : 4 ロット
精製ツベルクリン一般診断用 (1 μ g) : 1 ロット
精製ツベルクリン一般診断用 (一人用) : 6 ロット
インフルエンザ HA ワクチン : 74 ロット
コレラワクチン : 1 ロット
人血清アルブミン : 355 ロット
加熱人血漿たん白 : 39 ロット
肺炎球菌ワクチン : 5 ロット

2. 国家検査 (行政検査) の実績

(1) 薬剤耐性菌関係

ア) 埼玉県から、多剤耐性緑膿菌の院内感染の疑いのため、多剤耐性緑膿菌 (合計 152 検体) のパルスフィールドゲル電気泳動による制限酵素地図 (PFGE 型) 検査を実施し、タイピング解析結果を報告した。[細菌行政検査 : 第 67056 号、第 67087 号、第 67116 号]

(2) ジフテリア関係

ア) 平成 18 年 7 月 20 日付けで、神奈川県衛生研究所から菌株 (羊血液寒天培地純培養 1 枚) と患者血清 2 本 (平成 18 年 7 月 14 日採血と平成 18 年 7 月 18 日採血) を受領し、菌株の同定試験並びに菌株のジフテリア毒素検出と血中ジフテリア抗毒素価測定の依頼を受けた。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。また、血中ジフテリア抗毒素価は、7 月 14 日血清が 0.0034 IU/ml 未満、7 月 18 日血清は 0.617 IU/ml であった。[行政検査 : 第 67045 号]

(3) ボツリヌス関係

ア) 平成 18 年 9 月に宮城県で発生した乳児ボツリヌス症に関して、宮城県知事および仙台市長名で行政検査の依頼を受けた。一連の検査で、患者便から A 型ボツリヌス毒素と A 型毒素産生性ボツリヌス菌を検出した。また、患者宅で使用されていた粉ミルクおよび井戸水から A 型毒素産生性ボツリヌス菌を検出した。患者便の検査は 9 月 27 日から 12 月 19 日までの間に採取された 4 件については A 型ボツリヌス毒素が陽性だったが、翌年 1 月 29 日に採取された便では毒素が陰性化した。[行政検査 : 第 67074 号、第 67075 号、他 5 件]

(4) 破傷風関係

ア) 平成 18 年 7 月 5 日付けで千葉県環境保健研究所より、患者血清及び臨床分離菌の破傷風菌の分離同定、毒素及び抗体の検出の依頼を受けた。依頼菌は嫌気培養と染色試験及び破傷風毒素検出試験の結果、破傷風菌と確認できた。患者血清 0.5mL 中には破傷風毒素は検出されなかった。[行政検査 : 第 67039 号]

イ) 平成 19 年 3 月 29 日千葉市環境保健研究所より、患者血清の破傷風毒素及び抗体検出の依頼を受けた。患者血清 0.4mL 中には破傷風毒素を検出されなかった。また KPA 法にて抗破傷風抗体価を測定したが、抗体は認められなかった。[行政検査 : 第 77003 号]

(5) BCG 関係

ア) 依頼検査 : ユニセフ向け BCG ワクチン (皮内用 0.5mg) : 4 ロット

イ) 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

3. 収去検査の実績

(1) 抗生物質医薬品

経口剤 (シロップ用セファドロキシル) : 3 ロット

経口剤 (セファドロキシルカプセル) : 1 ロット

注射剤 (注射用スルバクタムナトリウム・セフォペラゾンナトリウム) : 10 ロット

4. 抜き取り検査等実績

(1) 無菌試験 : 8 ロット

5. 標準品、参照品等の作成状況 (交付・分与の実績)

(1) 交付実績

日本薬局方抗生物質標準品 (88 品目) : 計 734 本

日本薬局方外医薬品規格標準品 (2 品目) : 計 3 本

抗生物質試験用菌株 (1 品目) : 計 1 本

標準ジフテリアトキソイド : 9 本

標準沈降ジフテリアトキソイド : 53 本

参照沈降ジフテリアトキソイド (混合ワクチン) : 73 本

標準ジフテリア抗毒素 : 5 本

参照ジフテリア抗毒素 (フロキュラシオン用) : 32 本

シック試験毒素 (動物用) : 3 本

ジフテリア試験毒素 (培養細胞法用) : 11 本

標準破傷風トキソイド : 13 本

標準沈降破傷風トキソイド : 64 本

参照沈降破傷風トキソイド (混合ワクチン用) : 38 本

標準破傷風抗毒素 : 1 本

標準抗破傷風人免疫グロブリン : 2 本

参照破傷風抗毒素（フロキュラシオン用）：52 本
 破傷風試験毒素：23 本
 標準はぶ抗毒素：5 本
 はぶ試験毒素（出血）：5 本
 はぶ試験毒素（出血）：5 本
 はぶ試験毒素（致死）：5 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：4 本
 標準ボツリヌス E 型抗毒素：3 本
 標準ボツリヌス F 型抗毒素：3 本
 標準ガスえそ抗毒素 *C. perfringens* Type A：3 本
 標準ガスえそ抗毒素 *C. septicum*：3 本
 標準ガスえそ抗毒素 *C. oedematiens*：6 本
 ガスえそ試験毒素 *C. perfringens* Type A：3 本
 ガスえそ試験毒素 *C. septicum*：3 本
 ガスえそ試験毒素 *C. oedematiens*：3 本
 標準精製ツベルクリン：30 本
 BCG Tokyo172-1：10 本
 標準百日せきワクチン：59 本
 参照百日せきワクチン（毒性試験用）：101 本
 参照インフルエンザ HA ワクチン（マウス白血球数減少試験用）：216 本

(2) 分与実績

標準ジフテリア抗毒素：山口県環境保健研究センター：2 本
 ジフテリア試験毒素（培養細胞法用）：山口県環境保健研究センター：2 本
Corynebacterium ulcerans（ジフテリア毒素産生株）：大阪府立大学大学院農学生命科学研究科：1 本

6. 依頼試験等

(1) ジフテリア関係

ア)平成 18 年 9 月 29 日付けで、新潟県保健環境科学研究所から、ジフテリアの疑いのある菌株の解析依頼検査を受けた。菌株（羊血液寒天培地純培養、1 枚）と患者血清 2 本（平成 18 年 9 月 15 日採血と平成 18 年 9 月 22 日採血）を受領した。受理した菌株は、*Actinomyces odontolyticus* であった。血中ジフテリア抗毒素価は、2 本とも 0.0034 IU/ml 未満であった。また、血中のジフテリア毒素も検出されなかった。

(2) 破傷風関係

ア)平成 18 年 7 月 7 日付けで沖縄県衛生環境研究所より、患者血清中の破傷風毒素及び抗体の検出の依頼を受けた。

患者血清中には破傷風毒素及び抗破傷風抗体は検出されなかった。（共同研究）

イ)平成 18 年 7 月 18 日倉敷中央病院細菌検査室より、破傷風疑いの患者より分離された菌について毒素産生能及び 16s rRNA 遺伝子による簡易同定の依頼を受けた。検査の結果、分離菌の破傷風毒素産生能は認められず、*Clostridium subterminale* あるいは類縁菌と推定された。（共同研究）

ウ)平成 18 年 7 月 25 日都立広尾病院救命センターより、破傷風疑いの患者血清からの破傷風毒素及び抗体の検出と受傷部の「かさぶた」からの菌分離の依頼を受けた。患者血清からは破傷風毒素を検出できなかった。「かさぶた」から分離した菌は、嫌気培養と染色試験及び破傷風毒素検出試験の結果、破傷風菌と確認できた。（共同研究）

エ)平成 18 年 7 月 27 日大分大学医学部第三内科より、患者血清の抗体検出の依頼を受けた。患者血清を KPA 法にて抗破傷風抗体価を測定したが、抗体は認められなかった。（共同研究）

オ)平成 18 年 11 月 13 日長野県須坂病院より、患者血清の破傷風毒素及び抗体検出の依頼を受けた。患者血清 0.8mL 中には破傷風毒素を検出されなかった。また KPA 法にて抗破傷風抗体価を測定したが、抗体は認められなかった。（共同研究）

国際協力関係業務

・研修関連

1. JICA の依頼により、薬剤耐性病原体の実験室診断コース参加の海外研修生に VRE、*Clostridium difficile*、ラクタマーゼ産生菌、16S rRNA メチラーゼ産生株、耐性菌アウトブレイクにおける疫学的対応に関する講義を行った。（平成 18 年 12 月）[加藤はる、柴田尚宏、山根一和、鈴木里和、荒川宜親]

2. 台湾行政院衛生署薬物食品検驗局に招聘され、抗毒素製剤の製造と品質管理の現状（高橋）および生物学的製剤の無菌性保証の国際潮流（佐々木）について講演し、意見交換をおこなった。（平成 18 年 9 月）[高橋元秀、佐々木次雄]

3. 中国蘭州生物製品研究所・謝貴林所長ら 4 名の来所に際して、国内ワクチンおよび抗毒素製剤の需給と品質管理に関する協議をおこなった（平成 18 年 11 月）[高橋元秀]

4. JICA の依頼により、ワクチン品質管理技術コース参

細菌第二部

加の研修生（海外4名）にワクチンの品質管理について講義した（平成18年11月）。[高橋元秀、堀内善信、佐々木次雄、荒川宜親]

5. ベトナム NICVB の研修生に対し、百日咳ワクチンの品質管理およびエンドトキシン試験について実習を行った（平成19年1月）。[蒲地一成、福田 靖、鯨坂裕美、堀内善信]

6. 百日咳疫学および実験室診断への支援

(1) カンボジア国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について実験室内診断の協力をを行った。臨床検体447件中、菌培養検査では2件、遺伝子検査では86件が陽性となり、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（平成18年4月～19年3月）。[鯨坂裕美、蒲地一成]

(2) パプアニューギニア国に対する百日咳病原体診断の協力：パプアニューギニアで大規模な百日咳疑いのアウトブレイクが発生し、WPRO からの要請を受けて百日咳病原体診断（菌培養、遺伝子検査）の協力を行った（平成18年7～10月）。[蒲地一成、鯨坂裕美]

7. JICA の依頼により、Sterility for Biological Products の研修を行った（平成18年11月）。[佐々木裕子]

・ WHO 関連

1. GHSAG (Global Health Security Action Group) は G7+Mexico で組織され、特にバイオテロ対策を中心に活動している。ボツリヌスに対する国際協調体制会議がベルリンで開催され出席した（平成18年1月）。[高橋元秀]

2. WHO 主催、12th International Conference of Drug Regulatory Authorities の Pre-meeting として抗毒素製剤の製造と品質管理会議が韓国ソウル市で開催され、WHO からの発表依頼により参加・出席した（平成19年3月）。[高橋元秀]

3. ワクチン安定性評価 WHO ワーキンググループ会議（平成18年6月：ジュネーブ WHO 本部）に出席した。[堀内善信]

4. DPT ワクチン試験 WHO 実験室マニュアルワーキンググループ会議（平成18年7月：ジュネーブ WHO 本部）

に出席した。[堀内善信、高橋元秀]

5. 標準品安定性評価 WHO ワーキンググループ会議（平成18年11月：ジュネーブ WHO 本部）に出席した。[堀内善信]

6. 二次標準品の作成および標準化マニュアル WHO ワーキンググループ会議（平成19年1月：ジュネーブ WHO 本部）に出席した。[堀内善信]

7. DPT ワクチン試験 WHO 実験室マニュアルワーキンググループ会議（平成19年1月：ジュネーブ WHO 本部）に出席した。[堀内善信]

8. 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した。[堀内善信、荒川宜親、各室]

研修業務

・ 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、主に病院で臨床細菌検査室に従事する臨床検査技師を対象に実習生、研究生を受け入れた。研修内容は、主に -ラクタマーゼ産生菌（基質特異性拡張型およびメタロ- -ラクタマーゼ）の鑑別のため、ディスク拡散法による鑑別、PCR による耐性遺伝子の検出、パルスフィールド電気泳動によるタイピングなどを行った。臨床現場での薬剤耐性菌の早期検出や院内感染対策に役立つものと期待される。[柴田尚宏、荒川宜親]

・ Clostridium difficile に関する研修

検査技師、医師、看護師を対象として、依頼に応じて Clostridium difficile 分離培養、タイピング、および PCR や loop-mediated isothermal amplification (LAMP) 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]

・ ジフテリアに関する研修

第27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、平成18年度の活動報告をした（札幌市：平成18年6月29日）。[岩城正昭、高橋元秀]

・ マイコプラズマに関する研修

平成18年度特定研修新興再興感染症技術研修を行っ

た。(国立感染症研究所村山庁舎：平成 18 年 10 月)[見理 剛]

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(日局)の抗生物質委員会及び標準品委員会に参加し、第 15 改正日局の収載案及び改正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. 日本薬局方に関する活動

生物試験法委員会に 5 回、製薬用水委員会に 5 回出席し、第 15 改正日本薬局方第 1 追補収載案件について審議した。また微生物限度試験法並びに無菌試験法の国際調和にあたった。[佐々木次雄、他生物試験法委員会・製薬用水委員会]

4. ISO/TC198 に関する活動

ヘルスケア製品の滅菌及び滅菌保証に関するワーキンググループ(WG)として、WG3(湿熱滅菌)、WG8(微生物試験法)、WG9(無菌操作法)の活動に参加し、国際規格の作成にあたった。[佐々木次雄、他関係 WG 委員]

5. 無菌医薬品の製造に関する指針作成

平成 18 年 7 月 4 日に監視指導・麻薬対策課より地方庁に発出された「無菌操作法による無菌医薬品の製造指針」に続いて、「最終滅菌法による無菌医薬品の製造指針」を完成させた(本指針は、平成 19 年 6 月 4 日に監視指導・麻薬対策課より地方庁に発出された)。無菌操作法及び最終滅菌法の製造指針が完成したことにより、無菌医薬品製造者及び薬事監視員にとっても一定のガイドラインとして受け止めることができる。[佐々木次雄、佐々木裕子、他指針作成委員]

6. 医薬品医療機器総合機構からヘモフィルス b 型ワクチン(破傷風トキソイド結合型)の品質に関する専門委員に任命され、専門家協議や基準作成に関った。[佐々木次

雄]

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. 薬剤耐性菌等についての対応

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。[荒川宜親]

2. *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

1) Wachino, J., Yamane, K., Kimura, K., Shibata, N., Suzuki, S., Ike, Y. and Arakawa, Y.: Mode of transposition and expression of 16S rRNA methyltransferase gene rmtC accompanied by ISEcp1. Antimicrob. Agents Chemother., 50(9): 3212-5, 2006.

2) Sasaki Y.: Chapter 10 "Mycoplasma", p. 175-190, In V. L. Chan, P. M. Sherman and B. Bourke (eds.) "Bacterial Genomes and infectious Diseases", Humana Press, Totowa, NJ, 2006

3) Mizutani T., Fukushi S., Ishii K., Sasaki Y., Kenri T., Saijyo M., Kanaji Y., Shiota K., Kurane I., and Morikawa S.: Mechanisms of establishment of persistent SARS-CoV-infected cells. BBRC, 346: 261-265, 2006

4) Kato H., Ito Y., van den Berg R.J., Kuijper E.J., and Arakawa Y.: First isolation of *Clostridium difficile* 027 in Japan. Eurosurveillance 2007 Jan 11;12(1) ([http:// www.eurosurveillance.org/ew/ 2007/ 070111. asp](http://www.eurosurveillance.org/ew/2007/070111.asp))

5) Phan L.T. Huong, Ngo T. Thi, Dang D. Anh, Vu T.T. Huong, Le N. Minh, Tran Q. Canh, Matsuoka M., Kamachi K., Yamazaki T., Arakawa Y. and Sasaki T.: Genetic and phenotypic characterization of *Haemophilus influenzae* type b isolated from children with meningitis and their family members in Vietnam. Jpn. J. Infect. Dis. 59: 111-116, 2006.

6) Yamazaki T., Narita M., Sasaki N., Kenri T., Arakawa Y., and Sasaki T.: Comparison of PCR for sputum samples obtained by induced cough and serological tests for diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* infection in children. Clin. Vaccine Immunol., 13: 708-710, 2006.

- 7) Iwaki, M., Horiuchi, Y., Komiya, T., Fukuda, T., Arakawa, Y. and Takahashi, M.: Toxoid flocculation assay by laser light-scattering. *J. Immunol. Methods*, 318, 138-146 (2007).
- 8) Kakita M, Takahashi T, Komiya T, Iba Y, Tsuji T, Kurosawa Y and Takahashi, M.: Isolation of A Human Monoclonal Antibody with Strong Neutralizing Activity against Diphtheria Toxin. *Infect. Immun.* 74, 3682-3683 (2006)
- 9) Kamachi K, Toyozumi-Ajisaka H, Toda K, Soeung SC, Sarath S, Nareth Y, Horiuchi Y, Kojima K, Takahashi M, Arakawa Y.: Development and evaluation of a loop-mediated isothermal amplification method for rapid diagnosis of *Bordetella pertussis* infection. *J. Clin. Microbiol.* 44(5): 1899-902 (2006)
- 10) Shibayama K., Nagasawa M., Ando T., Minami M., Wachino J., Suzuki S., Arakawa Y.: Usefulness of Adult Bovine Serum for *Helicobacter pylori* Culture Media. *J. Clin. Microbiol.* 44(11), 4255-4257, 2006.
- 11) Shibayama K., Mochida K., Yagi T., Mori S., Arakawa Y., Yamamoto S.: Quantification of two variant strains contained in freeze-dried Japanese BCG vaccine preparation by real-time PCR. *Biologicals* 35, 139-143, 2007.
- 12) Kamachi K, Arakawa Y.: Development of safer pertussis DNA vaccine expressing non-toxic C180 polypeptide of pertussis toxin S1 subunit. *Vaccine* 22:1000-6 (2007).
- 13) Kamachi K, Sota M, Tamai Y, Nagata N, Konda T, Inoue T, Top EM, Arakawa Y.: Plasmid pBP136 from *Bordetella pertussis* represents an ancestral form of IncP-1beta plasmids without accessory mobile elements. *Microbiology* 152:3477-84 (2006).
- 14) Ochiai M, Yamamoto A, Kataoka M, Toyozumi H, Arakawa Y, Horiuchi Y.: Highly sensitive histamine-sensitization test for residual activity of pertussis toxin in acellular pertussis vaccine. *Biologicals*. 2007 Mar 14.
- 15) Tanimoto K, Nomura T, Maruyama H, Tomita H, Shibata N, Arakawa Y, Ike Y.: First VanD-Type vancomycin-resistant *Enterococcus raffinosus* isolate. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2006 Nov;50(11):3966-7.
- 16) Kurosaki H, Yamaguchi Y, Yasuzawa H, Jin W, Yamagata Y, Arakawa Y.: Probing, inhibition, and crystallographic characterization of metallo- β -lactamase (IMP-1) with fluorescent agents containing dansyl and thiol groups. *Chem.MedChem.* 2006 Sep; 1(9):969-72
- 17) Park YJ, Lee S, Yu JK, Woo GJ, Lee K, Arakawa Y.: Co-production of 16S rRNA methylases and extended-spectrum beta-lactamases in AmpC-producing *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii* and *Serratia marcescens* in Korea. *J. Antimicrob. Chemother.* 2006 Oct;58(4):907-8.
- 18) Lee H, Yong D, Yum JH, Roh KH, Lee K, Yamane K, Arakawa Y, Chong Y.: Dissemination of 16S rRNA methylase-mediated highly amikacin-resistant isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii* in Korea. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2006 Nov; 56(3):305-12
- 19) Nagano N, Oana S, Nagano Y, Arakawa Y.: A severe *Salmonella enterica* serotype Paratyphi B infection in a child related to a pet turtle, *Trachemys scripta elegans*. *Jpn. J. Infect. Dis.* 2006 Apr; 59(2):132-4.
- 20) Iwaki M, Arakawa Y. Transformation of *Acinetobacter* sp. BD413 with DNA from commercially available genetically modified potato and papaya. *Lett. Appl. Microbiol.* 2006 Aug;43(2):215-21.

2 . 和文発表

- 1) 小島禎、柴田尚宏、池戸正成、荒川宜親 : Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) 法によるメタロ- β -ラクタマーゼ遺伝子の迅速・簡易の検討、*感染症学雑誌*、80(4), 405-412, 2006.
- 2) 小寺聡、中村朗、大江健二、古川恵一、柴田尚宏、荒川宜親 : *Erysipelothrix rhusiopathiae* による感染性心内膜炎の一例、*感染症学雑誌*、80(4), 413-417, 2006.
- 3) 柴田尚宏、荒川宜親 : 「技術講座 , 第 2 回 , MDRP の耐性機構と判別法」、*Medical Technology*、Vol.35, No.1, 73-79, 2007.
- 4) 辻泰弘、松尾啓左、大久保和昭、羽田野和彦、佐道紳一、碓秀樹、神村英利、山根一和、荒川宜親 : Linezolid 耐性 *Enterococcus faecium* が検出された難治性後腹膜膿瘍の 1 症例、*医療薬学*、33(2), 125-131, 2006.
- 5) 鈴木里和 : マクロライド耐性 *Mycoplasma pneumoniae* 患者における病態、*病原微生物検出情報*、Vol.28, 41-42, 2007.
- 6) 近田俊文、加藤はる、柴田尚宏、山根一和、鈴木里和、南條友子、荒川宜親 : 抗生物質の微生物学的力価試験法の改良に関する研究、*医薬品研究*、37(5), 301-307, 2006.
- 7) 近田俊文 : 「抗生物質の微生物学的力価試験法」、*日本薬局方技術情報 (JPTI) 2006 (財団法人日本公定書協会編)* 153-161, じほう、2006 年 9 月.
- 8) 近田俊文、加藤はる、鈴木里和 : 「抗生物質の微生物学的力価試験法」、第 15 改正図説日本薬局方微生物試験法の手引き (坂上吉一・城野久美子監修) 36-45, 文教

細菌第二部

出版、2006年9月。

- 9) 近田俊文：第十五改正日本薬局方解説書、注及び解説「抗生物質の微生物学的力価試験法」沈降精製百日せきワクチン「沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチン」、日本薬局方解説書編集委員会編、廣川書店、2006年6月。
- 10) 佐々木裕子：ストレス存在下での *M. penetrans* 蛋白プロファイルにおける主要抗原リポ蛋白 P35 の解析、日本マイコプラズマ学会雑誌、第 33 号、p. 32-34, 2006.
- 11) 堀野敦子、見理 剛、佐々木裕子、荒川宜親、岡村 登、佐々木次雄：*M. pneumoniae* のゲノムに挿入されたトランスポゾン Tn4001 の効率のよい位置決定法。日本マイコプラズマ学会雑誌、第 33 号、p. 6-7, 2006.
- 12) 見理 剛：*M. pneumoniae* の細胞付着性にかかわる分子群、マイコプラズマ学会雑誌、第 33 号、p. 35-36, 2006
- 13) 加藤はる：*Clostridium difficile* の toxin B 検出法、検査と技術、34(9):862-864. 2006.
- 14) 赤羽貴行、保坂力、村山範行、加藤はる、小穴こず枝、川上由行：当院における *Clostridium difficile* 関連下痢症 / 腸炎検査の toxin A 迅速診断キット「ユニクイック」の評価、日本赤十字社臨床検査技師会会誌、40(1):16-19,2006.
- 15) 加藤はる：特集：変わりつつある感染対策、院内感染としての *Clostridium difficile* 感染症、最新医学 62(2):228-236, 2007.
- 16) 加藤秀章、中村誠、中村敦、加藤はる：迅速法で陰性であったが培養法で陽性となり診断できた *Clostridium difficile* 関連下痢症の 1 例、内科 99(2): 375-377, 2007.
- 17) 荒川宜親、渡辺治雄監修、佐々木次雄編集、図説「呼吸器系細菌感染症：疫学・診断・治療」、じほう、p.1-246、2006年11月。
- 18) 佐々木次雄：医療関係マネジメントシステム、ISO/TC198（ヘルスケア製品の滅菌）、JIS ハンドブック 2006、日本規格協会、p. 869-876, 2006.
- 19) 佐々木次雄：無菌医薬品の品質保証と国際調和、Pharm Tech Japan 22 (12): 9-17, 2006.
- 20) 佐々木次雄：超る過法で製した注射用水への微生物検出法の適用と今後の課題、Pharm Tech Japan、23: 23-32, 2007.
- 21) 佐々木次雄：ISO/TC198 活動を通じて無菌医薬品について考えること、製剤機械技術研究会誌、16: 21-25, 2007.
- 22) 佐々木次雄：北本賞受賞講演「過去 30 年間のマイコプラズマ研究を振り返って」、日本マイコプラズマ学会雑誌、第 33 号、20-25, 2006.
- 23) 佐々木次雄：*M. pneumoniae* の検出・薬剤耐性遺伝子検出における PCR の有用性について、日本マイコプラズマ学会雑誌、第 33 号、64-66, 2006.
- 24) 佐々木次雄：無菌試験法、第十五改正日本薬局方解説、廣川書店、B499-B510, 2006.
- 25) 佐々木次雄：遺伝子解析による微生物の迅速同定法、第十五改正日本薬局方解説、廣川書店、F31-F37, 2006.
- 26) 佐々木次雄：最終滅菌医薬品の無菌性保証、第十五改正日本薬局方解説、廣川書店、F93-F107, 2006.
- 27) 佐々木次雄：培地充てん試験法、第十五改正日本薬局方解説、廣川書店、F263-F275, 2006.
- 28) 佐々木次雄：最終滅菌法及び滅菌指標体、第十五改正日本薬局方解説、廣川書店、F107-F131, 2006.
- 29) 佐々木次雄：非無菌医薬品の微生物学的品質特性、第十五改正日本薬局方解説、廣川書店、F291-F300, 2006.
- 30) 佐々木次雄：無菌医薬品製造区域の微生物評価試験法、第十五改正日本薬局方解説、廣川書店、F353-F369, 2006.
- 31) 佐々木次雄：無菌試験法、日本公定書協会編日本薬局方技術情報（JPTI）じほう p. 173-177, 2006.
- 32) 佐々木次雄：遺伝子解析による微生物の迅速同定法、日本公定書協会編日本薬局方技術情報（JPTI）じほう p. 281-382, 2006.
- 33) 佐々木次雄：最終滅菌医薬品の無菌性保証、日本公定書協会編日本薬局方技術情報（JPTI）じほう p. 281-282, 2006.
- 34) 佐々木次雄：培地充てん試験法、日本公定書協会編日本薬局方技術情報（JPTI）じほう p. 305-308, 2006.
- 35) 佐々木次雄：微生物殺滅法、日本公定書協会編日本薬局方技術情報（JPTI）じほう p. 308-316, 2006.
- 36) 佐々木次雄：非無菌医薬品の微生物学的品質特性、日本公定書協会編日本薬局方技術情報（JPTI）じほう p. 317-319, 2006.
- 37) 佐々木次雄：保存効力試験法、日本公定書協会編日本薬局方技術情報（JPTI）じほう p. 331-332, 2006.
- 38) 佐々木次雄：無菌医薬品製造区域の微生物評価試験法、日本公定書協会編日本薬局方技術情報（JPTI）じほう p. 332-337, 2006.
- 39) Takahashi M. : [Diphtheria] Nippon Rinsho. 2007 Mar 28;65 Suppl 3:78-83.
- 40) Kamachi K, Endoh M, Komiya T, Toyozumi H, Yatsuyanagi J, Saito S, Uchimura M, Sugiyama A, Murakami K, Horikawa K, Yanagawa Y, Horiuchi Y, Arakawa Y, Morozumi S, Takahashi M. : [The risk of pertussis and diphtheria infections among pediatric healthcare workers in

Japan] Kansenshogaku Zasshi. 2007 Mar; 81(2): 155-61

41) 落合雅樹: エンドトキシン試験法、第15改正・図説
日本薬局方微生物試験法の手引き、文教出版、25-35、
2006.

42) 堀内善信、片岡紀代、山本明彦、落合雅樹、永田典
代、豊泉裕美、多屋馨子、岡部信彦、高橋元秀、倉田毅:
DPT 予防接種とワクチンを巡る現状と問題点、臨床とウ
イルス、34 (4), 306-318, 2006.

. 学会発表

1. 国際学会

1) Yamane, K., Wachino, J., Kimura, K., Suzuki, S., Shibata,
N. and Arakawa, Y.: Novel Plasmid-Mediated Fluoroquinolon
Efflux Pump, Qep, Identified in *Escherichia coli*. 46th Annual
Interscience Conference on Antimicrobial Agents and
Chemotherapy, September, 2006, San Francisco, USA.

2) Suzuki, S., Kato, H., Yamane, K., Kamachi, K., Shibata, N.,
Wachino, J. and Arakawa Y.: A Possible Pre-Epidemic Status:
Characteristics of Outbreak Related ; Vancomycin-Resistant
Enterococcus faecium in Japan. 46th Annual Interscience
Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy,
September, 2006, San Francisco, USA.

3) Sasaki Y, Kawakami T, Ouchi-Shinkai F, Yamakawa Y,
Arakawa Y and Sasaki T: Proteomics of *Mycoplasma*
penetrans by two-dimensional liquid chromatography/tandem
mass spectrometry. 16th Congress of International
Organization for Mycopasmology, Cambridge, UK, 8-14th
July 2006

4) Kenri, T., Yamazaki, T., Okazaki, N., Narita, M., Arakawa, Y.,
and Sasaki, T.: Differential hemadsorption inhibitory activity
of sera from patients infected with two *Mycoplasma*
pneumoniae groups. 16th International Congress of
International Organization for Mycopasmology (IOM), St.
Jones college, Cambridge, UK., July 2006.

5) Nakane, D., Adan-Kubo, J., Kenri, T., Miyata, M.:
Isolation and Characterization of P1 adhesin involved in
gliding motility of *Mycoplasma pneumoniae*. 16th
International Congress of International Organization for
Mycopasmology (IOM), St. Jones college, Cambridge, UK.,
July 2006.

6) Pituch H., van Leeuwen W., Wultanska D.,
Obuch-Woszczatynski P., Kato H.: Meisel-Mikolajczyk F,
Luczak M., van Belkern A. AFLP analysis of international
Clostridium difficile strains of different toxin type reveals
major toxin-dependent clonal clusters. 18th European

Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases,
Nice, 2006 April

7) Kenri, T., Seto, S., Horino, A., Sasaki, Y., Arakawa, Y.,
Sasaki, T., Nakane, D. and Miyata, M.: Protein localization at
the attachment organelle region of *Mycoplasma pneumoniae*
visualized by fluorescent protein tagging. BLAST IX
(Bacterial Locomotion and Signal Transduction IX), Laughlin,
NV, USA, January 2007.

8) Ito Y., Matsushita T., Takahashi Y., Nakamura T., Hayashi
K., Morita E., Kato H. Study on *Clostridium*
difficile-associated diarrhea in a hospital in Japan. 17th
European Congress of Clinical Microbiology and Infectious
Diseases, Munich, 2007 March

9) Takako Komiya, Shin-ichi Nureki, Shoji Asakura, Masaaki
Iwaki, Yoshichika Arakawa and Motohide Takahashi: Recent
Corynebacterium ulcerans cases in Japan. Ninth ELWGD &
Diphtheria Surveillance Network (DIPNET), October 2006,
Athens (Greece).

10) Yasushi Torii, Motohide Takahashi, Setsuji Ishida,
Takashi Sakamoto, Tetsuhiro Harakawa, Akihiro Ginnaga,
Shunji Kozaki, Ryuji Kaji: Quantification Of The Activity
Causing Flaccid Paralysis Of Botulinum Neurotoxin By
Measuring The Compound Muscle Action Potential (CMAP) .
Interagency Coordinating Committee on the Validation of
Alternative Methods . 米国メリーランド州, シルバースプ
リング, 平成 18 年 11 月.

11) 坂本崇、梶龍兒、高橋元秀、石田説而、幸田知子、
小崎俊司、鳥居恭司、中野宏俊、原川哲博: 新しい日本
の 150kDa ボツリヌス毒素製剤の CMAP 測定による評価.
第 10 回国際 parkinson's disease and movement disorders 学
会, 京都, 平成 18 年 10 月.

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.

14) Shibayama K., Wachino J., Arakawa Y., Saidijam M.,
Rutherford N., Henderson P.: Characterization of
Helicobacter pylori g-glutamyltranspeptidase. American
Society for Microbiology 106th General Meeting, 2006, May

15) Shibayama K., Wachino J., Arakawa Y., Saidijam M.,
Rutherford N., Henderson P.: Pathophysiological role of

Helicobacter pylori g-glutamyltranspeptidase. XIXth International Workshop on Helicobacter and related bacteria in chronic digestive inflammation, European Helicobacter Study Group, Wroclaw, Poland, 2006 September

2. 国内学会

- 1) 柴田尚宏、山根一和、鈴木里和、和知野純一、木村幸司、荒川宜親：我が国における ESBL 産生菌とメタロ-ラクタマーゼ産生菌の検出状況について .第 4 回薬剤耐性菌研究会、群馬、2006 年 11 月
- 2) 小林治、柴田尚宏、荒川宜親：プラスミド性 ClassC -ラクタマーゼ(CMY-2 型)産生菌の検出例 .第 18 回日本臨床微生物学会、長崎、2007 年 2 月
- 3) 高橋敏夫、柴田尚宏、荒川宜親、他：CTX-M-2 型 -ラクタマーゼ産生 *Salmonella* Typhimurium による急性胃腸炎の一症例 .第 18 回日本臨床微生物学会、長崎、2007 年 2 月
- 4) 木下まり、鈴木里和、柴田尚宏、荒川宜親、他：熊本県下 12 施設における薬剤耐性グラム陰性桿菌の分離状況と動向について .第 18 回日本臨床微生物学会、長崎、2007 年 2 月
- 5) 吹貝姿子、鈴木里和、柴田尚宏、荒川宜親、他：当院における CTX-M-2 型 -ラクタマーゼ産生 *Providencia rettgeri* について .第 18 回日本臨床微生物学会、長崎、2007 年 2 月
- 6) 菊池和代、柴田尚宏、荒川宜親：ESBL 産生 *Proteus mirabilis* の検出と遺伝子型について .第 18 回日本臨床微生物学会、長崎、2007 年 2 月
- 7) 吉田郁子、柴田尚宏、荒川宜親、他：過去 5 年間の富山県下におけるメタロ- -ラクタマーゼ産生菌の分離調査 .第 18 回日本臨床微生物学会、長崎、2007 年 2 月
- 8) 本間操、柴田尚宏、荒川宜親：悪性リンパ腫患者より検出されたメタロ- -ラクタマーゼ産生 *Pseudomonas putida* についての検討 .第 18 回日本臨床微生物学会、長崎、2007 年 2 月
- 9) 長井一彦、柴田尚宏、荒川宜親、他：療養・一般病棟で分離されたメタロ- -ラクタマーゼ産生菌の検討 .第 18 回日本臨床微生物学会、長崎、2007 年 2 月
- 10) 水谷哲也、福土秀悦、見理 剛、佐々木裕子、遠藤大二、座本 綾、西條政幸、緒方もも子、倉根一郎、森川 茂：*Mycoplasma fermentans* と SARS-coronavirus の共感染が細胞に及ぼす影響、第 32 回日本マイコプラズマ学会、東京、2006 年 6 月
- 11) 佐々木裕子：ストレス存在下での *M. penetrans* 蛋白プロファイルにおける主要抗原リポ蛋白 P35 の減少、第 32 回日本マイコプラズマ学会、東京、2006 年 6 月 2 日
- 12) 佐々木裕子、堀野敦子、見理 剛、荒川宜親、佐々木次雄：マイコプラズマの抗原変異リポ蛋白、CARDS 毒素発現解析と患者血清中の抗 APOH 自己抗体測定、第 80 回日本細菌学会総会、金沢、2007 年 3 月
- 13) 堀野敦子、見理 剛、佐々木裕子、荒川宜親、岡村 登、佐々木次雄：*M. pneumoniae* ゲノムへ挿入されたトランスポゾン Tn4001 の効率のよい位置決定法、第 33 回日本マイコプラズマ学会学術集会、東京、2006 年 6 月
- 14) 見理 剛：*M. pneumoniae* の細胞附着性にかかわる分子群、第 33 回日本マイコプラズマ学会学術集会、東京、2006 年 6 月
- 15) 佐々木裕子、堀野敦子、見理 剛、荒川宜親、佐々木次雄：マイコプラズマ抗原についてのプロテオミクス、第一回日本ゲノム微生物学会、千葉、2007 年 3 月
- 16) 見理 剛、堀野敦子、佐々木裕子、他 4 名：*Mycoplasma pneumoniae* の全 ORF のクローンの作製と網羅的蛋白質局在分析への利用 第 1 回日本ゲノム微生物学会総会、木更津市、2007 年 3 月
- 17) 見理 剛、堀野敦子、佐々木裕子、他 4 名：*Mycoplasma pneumoniae* におけるタンパク質細胞内局在の網羅的分析 第 80 回日本細菌学会総会、大阪市、2007 年 3 月
- 18) 堀野敦子、見理 剛、佐々木裕子、岡村 登、荒川宜親、佐々木次雄：*M. pneumoniae* のトランスポゾンによる変異導入、第 80 回日本細菌学会総会、大阪市、2007 年 3 月
- 19) 加藤はる：シンポジウム：腸管感染症と最近の話題と知見 *Clostridium difficile* 感染症、第 80 回日本感染症学会総会、東京 2006 年 4 月
- 20) 伊藤陽一郎、中村敏之、加藤はる：当院における *Clostridium difficile* 関連下痢症 / 腸炎の院内感染との関連性の検討、第 80 回日本感染症学会総会、東京、2006 年 4 月
- 21) 加藤はる、伊藤陽一郎、荒川宜親：日本の病院における *Clostridium difficile* 北米流行 NAP1/027 株による偽膜性大腸炎症例、第 55 回日本感染症学会東日本地方会総会、東京、2006 年 10 月
- 22) 加藤はる：教育講演・*Clostridium difficile* 感染症の新知見 個々の症例の診断から世界の流行まで、第 19 回日本外科感染症学会総会、東京、2006 年 11 月
- 23) 加藤はる、荒川宜親：*Clostridium difficile* の *slpA* 遺伝子配列解析による糞便検体からのダイレクト・タイピング、第 18 回日本臨床微生物学会総会、長崎、2007 年 2 月
- 24) 加藤はる：教育セミナー・*Clostridium difficile* 強毒株

の世界的な流行拡大と日本における出現、第 18 回日本臨床微生物学会総会、長崎、2007 年 2 月

25) 赤羽貴行、床尾万寿雄、加藤はる：当院における *Clostridium difficile* 関連下痢症のアウトブレイクとその解析について(細菌学的検討を中心に)第 22 回日本環境感染学会総会、横浜市、2007 年 2 月

26) 村端真由美、小椋正道、矢野久子、和田順子、脇本幸夫、溝上雅史、出口隆生、熊本忠史、駒田美弘、加藤はる：長期入院しているがん患者からの *Clostridium difficile* 検出と排泄介助の実態、第 22 回日本環境感染学会総会、横浜市、2007 年 2 月

27) 加藤はる：教育講演・話題の感染症：*Clostridium difficile* による院内感染—そもそもどんな感染症なの？—、第 22 回日本環境感染学会総会、横浜市、2007 年 2 月

28) 加藤はる、荒川宜親：糞便検体からの *Clostridium difficile* の loop-mediated isothermal amplification (LAMP) 法による toxin B 遺伝子検出および *slpA* sequence typing によるダイレクト・タイピング、第 37 回日本嫌気性菌感染症研究会、奈良、2007 年 3 月

29) 長野則之、外山雅美、加藤はる、長野由起子、荒川宜親：ヒト感染症として初めて報告する *Clostridium chauvoei* による劇症型ガス壊疽症例、第 37 回日本嫌気性菌感染症研究会、奈良、2007 年 3 月

30) 田口晴彦、蔵田 訓、佐々木次雄、神谷 茂：マクロライド耐性肺炎マイコプラズマ感染モデルにおける CAM、MINO、CPFX の有効性、第 89 回日本細菌学会関東支部総会、群馬県伊香保温泉、2006 年 11 月

31) 佐々木次雄：過去 30 年間のマイコプラズマ研究を振り返って、第 33 回日本マイコプラズマ学会、東京、2006 年 6 月

32) 蔵田訓、田口晴彦、佐々木次雄、神谷茂：マクロライド耐性菌で作成したマイコプラズマ肺炎モデルにおける抗マイコプラズマ薬の効果、第 33 回日本マイコプラズマ学会、東京、2006 年 6 月

33) 岡崎則男、大屋日登美、佐々木次雄、成田光生：肺炎マイコプラズマの分離培養と薬剤感受性試験、第 33 回日本マイコプラズマ学会、東京、2006 年 6 月

34) 佐々木次雄：*M. pneumoniae* の検出・薬剤耐性遺伝子検出における PCR 法の有用性について、第 33 回日本マイコプラズマ学会、東京、2006 年 6 月

35) 岩城正昭、永田典代、猪股夢乃、三枝智美、小宮貴子、荒川宜親、高橋元秀：マウス皮内接種系を用いたジフテリア感染防御アッセイと菌の存在様式の検討、第 79 回日本細菌学会総会、金沢市、2006 年 4 月

36) 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、金沢市、2006 年 4 月

37) 福田 靖、岩城 正昭、小宮 貴子、荒川 宜親、高橋 元秀。破傷風に関する細菌学的検査の現状、第 80 回日本感染症学会総会、東京、2006 年 4 月

38) 堀内善信、高橋元秀、宮村達男(国立感染研)、小幡朗(デンカ生研)、東雍(阪大微研)、末原章宏(武田薬品)、塩先巧一(化血研)、宮澤美和子、太田芳宏、清水文七(日本ポリオ研究所)。DPT-不活化ポリオ混合ワクチン(DPT-sIPV)の免疫原性、第 10 回日本ワクチン学会、大阪、2006 年 10 月

39) 前山順一、小宮貴子、高橋元秀、山本三郎、後藤紀久：CpG-DNA である Oligo B のジフテリアトキソイドに対する粘膜アジュバント作用、第 10 回日本ワクチン学会、大阪、2006 年 10 月

40) 高橋元秀、石田説而、坂本崇、原川哲博、銀永明弘、梶龍兒：複合筋活動電位によるボツリヌス神経毒素の筋弛緩活性の定量化、第 36 回日本臨床神経生理学会、横浜市、平成 18 年 11 月

41) 山本明彦、岩城正昭、見理剛、小宮貴子、福田靖、荒川宜親、高橋元秀：破傷風罹患が疑われた患者の痂皮からの破傷風菌分離、第 80 回日本細菌学会総会、大阪、平成 19 年 3 月

42) 岩城正昭、見理剛、山本明彦、荒川宜親、高橋元秀：A 型毒素産生 *Clostridium botulinum* による乳児ボツリヌス症の一例、第 80 回日本細菌学会総会、大阪、平成 19 年 3 月

43) 瀬戸幸路、幸田知子、向本雅郁、小宮貴子、岩城正昭、高橋元秀、小崎俊司：我が国で分離された *Corynebacterium ulcerans* が産生するジフテリア様毒素の性状について、第 80 回日本細菌学会総会、大阪、平成 19 年 3 月

44) 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：ヒトでのペプチドグリカンやグルカン反応性を反映する *in vitro* 試験法の開発、第 79 回日本細菌学会総会、金沢市、2006 年 3 月

45) 山本明彦、落合雅樹、堀内善信：血液製剤のエンドトキシン試験適用、第 12 回日本エンドトキシン研究会総会、東京、2006 年 11 月

46) 百瀬暖佳、今井順一、浜口功、河村未佳、水上拓郎、内藤誠之郎、前山順一、加藤博史、益見厚子、倉光球、滝澤和也、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：百日せきワクチン投与

細菌第二部

に伴うラット肺での遺伝子発現解析、第 10 回日本ワクチン学会総会、大坂、2006 年 10 月

47) 浜口功、今井順一、百瀬暖佳、河村未佳、水上拓郎、内藤誠之郎、前山順一、加藤博史、益見厚子、倉光球、滝沢和也、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：遺伝子発現解析を用いたワクチンの新しい安全性評価法確立の試み、第 10 回日本ワクチン学会学術集会、大阪、2006 年 10 月

48) 水上拓郎、今井順一、浜口功、河村未佳、百瀬暖佳、内藤誠之郎、前山順一、益見厚子、倉光球、滝沢和也、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：網羅的遺伝子発現解析によるインフルエンザワクチンの新しい安全性評価法開発の試み、第 10 回日本ワクチン学会学術集会、大阪、2006 年 10 月

49) 韓賢子、蒲地一成、豊泉裕美、荒川宜親：成人層から分離された百日咳菌の遺伝子解析 第 80 回日本細菌学会総会、大阪、2007 年 3 月

50) 蒲地一成、豊泉裕美、韓賢子、堀内善信、荒川宜親、高橋元秀：カンボジアにおける百日咳流行株の分子疫学的解析．第 80 回日本細菌学会総会、大阪、2007 年 3 月

3 . 講演・講義

1) 加藤はる：クロストリジウム・ディフィシル (*Clostridium difficile*) 感染症について。安曇野赤十字病院院内感染研修会、安曇野、2006 年 4 月。

2) 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、東京、2006 年 5 月。

3) 加藤はる：Clostridium difficile 感染症について～細菌学的診断検査から世界の流行まで～、第 8 回東海感染症フォーラム、名古屋市、2006 年 6 月。

4) 加藤はる：クロストリジウム・ディフィシル関連下痢症と院内感染～見過ごされていませんか？～、平成 18 年度名古屋市立大学病院感染対策講演会、名古屋市、2006 年 6 月。

5) 加藤はる：Clostridium difficile 感染症と細菌学的診断検査、第 8 回東海病原微生物研究会。名古屋市、2006 年 9 月。

6) Sasaki T. : Current JP activities in microbiology, IVT Congress, Baltimore, 2006 June.

7) Sasaki T. : Mycoplasma testing for cell cultures, IVT Congress, Baltimore, 2006 June.

8) Sasaki T. : Parametric release for moist heated pharmaceutical products in Japan. IVT Congress, Baltimore, 2006, June.

9) Sasaki T. : Current global regulation for sterile pharmaceutical products -Microbiological risk management-, Taiwan, 2006 August.

10) Sasaki T. : Reliability survey of pharmaceutical water processed by membrane systems, PDA Tokyo Congress, Tokyo, 2006 November.

11) Sasaki T. : Aseptic process guidance and their harmonization strategy, PDA Tokyo Congress, Tokyo, 2006 November.

12) 佐々木次雄：生物学的製剤の品質管理、平成 18 年度薬事衛生管理コース、和光市、2006 年 6 月。

13) 佐々木次雄：医薬品製造における微生物学的リスクマネジメント、富山県 GMP セミナー、富山市、2006 年 9 月。

14) 佐々木次雄：ワクチン研究開発・評価・審査の諸問題について「ワクチンの評価の問題点」、日本ワクチン学会、大阪市、2006 年 10 月。

15) 佐々木次雄：私の得意分野から皆様の GMP 査察に役立つようなものを選んでみました、総合機構、2006 年 12 月。

16) Horiuchi Y. : Clinical relevance of laboratory tests and its impact on the control system of biological products, at National Health Research Institute in Zhunan Taiwan, June 23, 2005, Taipei, Taiwan

4 . 特許

1) 発明の名称：抗 E 型ボツリヌス神経毒素抗体、発明者：高橋元秀、前田浩明、向本雅郁、幸田知子、小崎俊司：国際出願番号：整理番号 JP505, 2006 年 4 月 25 日出願

2) 発明の名称：組換え抗ボツリヌス神経毒素抗体、発明者：高橋元秀、前田浩明、向本雅郁、幸田知子、小崎俊司：国際出願番号：整理番号 JP483, 2006 年 4 月 25 日出願

3) 発明の名称：神経毒素の定量方法、発明者：高橋元秀、石田説而、原川哲博、中野宏俊、鳥居恭司、奥田祥士、梶 龍兒、坂本 崇：国際出願番号：整理番号 666710, 2006 年 4 月 28 日出願