

## 他 誌 掲 載 論 文 抄 錄

(平成13年6月～平成14年5月)

**Identification of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* possessing insertionally inactivated Shiga toxin gene**

[挿入不活性化された志賀毒素遺伝子を保有する志賀毒素産生性大腸菌の同定]

沖津忠行（神奈川衛研，細菌病理部），楠本正博（東洋紡・敦賀バイオ研）鈴木理恵子，佐多 辰（神奈川衛研，細菌病理部），西矢芳昭，川村良久（東洋紡・敦賀バイオ研），山井志朗（神奈川衛研，細菌病理部）  
*Microbiol. Immunol.*, **45**, 319-322 (2001)

我々は志賀毒素 (*stx*) 遺伝子の全長を増幅する PCR 法を用いて志賀毒素産生性大腸菌 (STEC) 分離株を調査し、挿入配列 (IS) の挿入により不活性化された *stx2* 遺伝子を発見した。本 IS の配列は既報の *stx2* 遺伝子に挿入されていた *IS1203v* と同一であり、挿入位置も同一であったが、*stx2* 遺伝子の配列は異なっていた。本結果は各 *stx2* 遺伝子への *IS1203v* の挿入が独立して起こったことを示し、挿入不活性化された *stx2* 遺伝子を保有する STEC 株が広く存在する可能性を示唆する。*stx* 遺伝子全長の増幅は IS の挿入位置とは無関係に、しかも IS の挿入を増幅産物の大きさに反映させて検出できることから、*stx* 遺伝子の検出に効果的な方法のひとつである。

**Characteristics of Macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* Strains Isolated from Patients and Induced with Erythromycin In Vitro**

[患者由来および試験管内作成マクロライド耐性肺炎マイコプラズマの遺伝子変異]

岡崎則男（神奈川衛研，細菌病理部），成田光男（札幌鉄道病院），泉川欣一（栄和会泉州病院），佐々木次雄（国立感染研）  
*Microbiol. Immunol.*, **45**, 617-620 (2001)

試験管内において、141株の肺炎マイコプラズマ分離株から11株 (7.8%) のエリスロマイシン耐性株を作成できた。これらの株は他のマクロライド (Mac) およびリンコマイシンにも耐性を示した。また、23S rRNA 遺伝子の2063位あるいは2064位に点変異を起こしており、変異位置によりマクロライドに対する耐性パターンが異なった。即ち、2063位変異株 (A → G) は14員環 Mac に高度耐性 (MIC; 200~≥400 μg/ml) を示し、2064位変異株 (A → C または G) はこれらに加えて16員環 Mac にも高度

耐性を示した。クリンダマイシンが奏功しなかった患者から分離された肺炎マイコプラズマの遺伝子変異を調べたところ、2063位に変異 (A → G) を起こしており、上記同様の耐性パターンを示した。臨床分離株においてこのような変異株が分離されたのは本邦では最初である。

**肺炎マイコプラズマ感染症における臨床的クリンダマイシン耐性について**

成田光男，中山雅之（札幌鉄道病院），山田 諭（北海道医療大学），岡崎則男（神奈川衛研，細菌病理部），佐々木次雄（国立感染研）  
*臨床小児医学*, **48**, 123-127 (2001)

平成12年秋、札幌市北区あいの里地区を中心にクリンダマイシンが奏功しない肺炎マイコプラズマ感染症患者が続発した。これらの患者の内5例の咽頭から肺炎マイコプラズマの分離に成功し、抗生素耐性を調べた結果、クリンダマイシン以外にもクラリスロマイシンおよびエリスロマイシン等の14員環マクロライドに対し高度耐性 (MIC; ≥400 μg/ml) を示した。一方、ジョサマイシンおよびスピラマイシンをはじめとした16員環マクロライドにも一定レベルの耐性 (MIC; 6.25~12.5 μg/ml) は示したが、高度耐性ではなかった。これらの菌株は23S rRNA 遺伝子2063位に点変異 (A → G) を起こしていた。

***Mycoplasma pneumoniae* 分離株の試験管内におけるエリスロマイシン耐性獲得と遺伝子変異**

岡崎則男（神奈川衛研，細菌病理部），佐々木次雄（国立感染研）  
*日本マイコプラズマ学会誌*, **28**, 84-87 (2001)

肺炎マイコプラズマ分離株より作成したエリスロマイシン (EM) 耐性株11株につき、23S rRNA 遺伝子の解析を実施した。その結果、2063あるいは2064位に点変異を起こしており、2063位変異株は14員環マクロライドに、2064位変異株はこれらに加えて16員環マクロライドにも高度耐性を示した。耐性獲得株の親株4株を段階別濃度に EM を含む液体培地において培養したところ、いずれの株も広範囲の EM 濃度において耐性化し、殊に、3株からは異なる点変異を有する複数の耐性株が得られた。更に、点変異を有せずに軽度のマクロライド耐性を示す1株が得られ、耐性獲得メカニズムが点変異以外にもあり得ることが示唆された。

### HIV感染症のウイルス診断

今井光信（神奈川衛研、ウイルス部），総合臨床，50, 2698-2703, (2001)

HIV 感染症においては、臨床症状からの診断は困難であり、診断は全て血清診断により行われる。通常は、患者の血中に存在する抗 HIV 抗体を検出し、証明することで行われるが、感染初期においてはウイルスの遺伝子検査も抗体検査を補完する有効な診断法である。本稿では、HIV の抗体検査と遺伝子検査およびその検査体制について解説した。

### A novel recombinant Adeno-Associated virus vaccine induces a long-term humoral immune response to Human immunodeficiency virus

[アデノ随伴ウイルス (AAV) を用いたHIVリコンビナントワクチンによるHIV免疫の誘導]

Ke-Qin Xin, Jun Yang, Kenji Hamajima, Tomoyuki Saito, Kenji Okuda (横浜市大医学部), Masashi Urabe, Kazuo Nomiyama, Hiroko Nomiyama, Hiroaki Mizukami, Keiya Ozawa (自治医大), Mitsunobu Imai (神奈川衛研、ウイルス部), John Monahan (Avigen, Inc.) Katsuji Okuda (東京歯科大学), Human gene therapy, 12, 1047-1061, (2001)

リコンビナントのアデノ随伴ウイルス (AAV) はDNA治療やDNAワクチン開発のためのベクターとして注目されている。本研究では、AAVを用いてAAV-HIVベクターを作製し、HIV-1のenv, tat, rev等の遺伝子を発現させた。Balb/Cマウスを用いた免疫実験でIgG抗体、IgA抗体とともに効率よく産生され、本ベクターがDNAワクチン用ベクターとして有望であることがわかった。

### マイクロプレート法による HIV-1 抗体、HIV-2 抗体および HIVp24 抗原検出用キット (HIV 抗原抗体同時検出キット) の検討

嶋 貴子、近藤真規子、斎藤隆行（神奈川衛研、ウイルス部）、川田かおる、伊藤 章（横浜市大病院）、坂本光男、相楽裕子（横浜市民病院）、今井光信（神奈川衛研、ウイルス部）感染症誌, 75, 1014-1024, (2001)

EIA 法を測定原理とするマイクロプレートを用いた HIV 抗原抗体同時検出キット（ジェンスクリーン HIV Ag·Ab）について、他の HIV 抗原抗体同時検出キット2法との比較検討を行った。本キットの感度は100%，特異性は99.7%であった。HIV 感染初期セロコンバージョンパネル血清を用いた検討では、本キットは他の抗原抗体同時検査キットと比較して、ほぼ同時期あるいは1~

2採血日早く陽性となることが分かった。従って本キットは十分な感度、特異性を有しており、ウインドウ期についても、他の抗原抗体同時検査キットと比較して同等あるいは短縮が可能なため、HIV スクリーニング検査法として有用であることが分かった。

### イムノクロマトグラフィー法によるA, B型インフルエンザウイルス迅速診断キットの検討

川上千春（横浜市衛研）、清水英明（川崎市衛研）、渡邊寿美（神奈川衛研、ウイルス部）、七種美和子、宗村徹也（横浜市衛研）、三田村敬子、菅谷憲夫（日本鋼管病院小児科）、今井光信（神奈川衛研、ウイルス部）、感染症誌, 75, 792-799, (2001)

イムノクロマトグラフィー法を用いて A, B 型インフルエンザウイルスを検出する迅速診断キット QuickVue Influenza test (Quidel Corporation, USA) について基礎および臨床的検討を行った。本キットの検出限界は、 $3.0 \times 10^5 \sim 6.0 \times 10^5$  pfu/ml であった。また、感度および特異度は、ウイルス分離と比較した場合それぞれ75.5%，93.0%，RT-PCR と比較した場合それぞれ72.2%，97.4%であった。本キットは、ワンステップで A, B 型インフルエンザウイルスを迅速に検出でき、従来の迅速キットと同等の感度と特異度を有しているので、臨床診断に有用と考えられた。

### イムノクロマトグラフィー法によるインフルエンザウイルス迅速診断キットの臨床的検討

山崎雅彦（秦野赤十字病院小児科）、三田村敬子（日本鋼管病院小児科）、木村和弘（伊勢原協同病院小児科）、蘿澤真理（日本鋼管病院小児科）、込山修、市川正孝、山本敬一（伊勢原協同病院小児科）、染谷研一、中野孝子（秦野赤十字病院小児科）、橋本洋子、萩原紀子、前澤民子（伊勢原協同病院細菌検査室）、渡邊寿美（神奈川衛研、ウイルス部）、清水英明（川崎市衛研）、菅谷憲夫（日本鋼管病院小児科）、感染症誌, 75, 1047-1053, (2001)

A 型と B 型のインフルエンザウイルスが検出可能な、イムノクロマトグラフィー法による迅速診断キット QuickVue Influenza test (QUIDEL, USA) について検討した。対象は、2001年1月から3月のインフルエンザ様疾患患者で、鼻腔吸引液184検体、鼻腔拭い液140検体、咽頭拭い液101検体を採取した。ウイルス分離と比較した本キットの感度は87.7%，特異度は91.9%となった。検体毎の感度は、鼻腔吸引液で92.6%，鼻腔拭い液で92.6%，咽頭拭い液で76.5%となり、従来の酵素免疫法による迅速診断キットと同様の傾向を示した。大きな特

徴は、簡便性に優れている点であった。本キットは、A型とB型の区別はできないが、2つのウイルスを同時に検出できることから、外来治療におけるノイラミニダーゼ阻害剤の投与に際しての補助診断として有用である。

#### **Detection of *Coxiella burnetii* antibody by immunofluorescence technique and enzyme-linked immunosorbent assay**

[IFおよびELISAによる*Coxiella burnetii* 抗体検出]

古屋由美子、片山丘、原みゆき、吉田芳哉、今井光信（神奈川衛研、ウイルス部）、荒島康友、加藤公敏（日大医学部）小川基彦、萩原敏旦（国立感染研）  
Jpn. J. Infect. Dis., 54, 75-76 (2001)

*Coxiella burnetii*に対する抗体の測定は主にphase II抗原を用いた間接蛍光抗体法(IF)により行われているが、IFは観察者の熟練度や主観に影響されることもある。そこで酵素抗体法(ELISA)によるphase Iおよびphase II抗原、IFによるphase II抗原に対する呼吸器疾患患者および健常人血清中の*C. burnetii*抗体検出を行い、IFとELISAの抗体検出状況を調べた。

IF抗体価16倍以下ではELISAとの不一致例が多く、非特異反応や交差反応の可能性を否定できない。IF抗体価32倍以上ではELISAとの結果が良く一致し、呼吸器疾患患者および健常人の抗体保有率は14.6%、0.5%であった。

IFで血清診断を行うには、急性期および回復期のペア血清を用いて抗体価の有意上昇がみられた場合に患者と診断する必要がある。ELISAは血清診断法として有用と思われるが、さらに例数を加えた検討が必要である。

#### **Analysis of plasticizers in cap-sealing resins for bottled foods**

[瓶詰食品のキャップシーリング材における可塑剤の分析]

平山クニ（神奈川衛研、食品薬品部）、田中宏子（大妻女子大）、川名清子、谷孝之（神奈川衛研、食品薬品部）、中澤裕之（星稟大）Food Additives and Contaminant, 18, 357-362 (2001)

瓶詰食品のキャップシーリング材における可塑剤の使用実態を調査した。国産品と輸入品では使用されている可塑剤に違いが見られた。輸入品ではフタル酸ジイソデシルが検出されるものが多かったが、国産品では検出されるものはなかった。また、国産品にはグリセロールジアセチルラウロイルが検出されたが、輸入品では検出されるものがなかった。これまでの調査において検出されることが多かったフタル酸ジ-2-エチルヘキシルは、全

体的には使用されない方向にあることが明らかになった。

#### **イオン交換クロマトグラフィー及び逆相クロマトグラフィーによる食品中のスクラロースの分析**

岸弘子、川名清子（神奈川衛研、食品薬品部）食衛誌, 42, 133-138 (2001)

イオン交換クロマトグラフィー(AEC)及び逆相HPLCによる食品中のスクラロースの分析法を検討した。食品中のスクラロースは水又はメタノールで抽出し、Sep-Pak C<sub>18</sub>及びSep-Pak Alumina Nによりクリーンアップを行った。AECは、カラムにCarboPac PA1、移動相に100mmol/L水酸化ナトリウム-50mmol/L酢酸ナトリウム溶液、検出はパルスドアンペロメトリー検出器を用いた。HPLCは、カラムにInertsil ODS-3V、移動相にメタノール・水(25:75)、検出は示差屈折検出器を用いた。AECによる添加回収率は80.6~102.0%，定量限界はチューインガムが2μg/g、その他の食品が0.5μg/g、HPLCによる添加回収率は80.2~121.2%，定量限界はチューインガムが20μg/g、その他の食品が5μg/gであった。

#### **メラトニン含有サプリメントの品質における問題点**

小島尚、土井佳代、岸美智子（神奈川衛研、食品薬品部）、関田節子、佐竹元吉（国立衛研、生薬部）医薬品研究, 32, 111-117 (2001)

メラトニン含むサプリメントのメラトニン含有量、重量偏差、崩壊・溶出試験等の品質を検討するため、液剤1検体、徐放剤1検体、カプセル剤4検体及び錠剤12検体を個人輸入、土産物及び通信販売により購入した。メラトニン含有量は、1検体でメラトニンの含有が確認されず、表示量に対して0~100%と検体間にばらつきがあり、含有量の平均は76±24%であった。カプセル剤は崩壊及び溶出試験にいずれも適合したが、錠剤は12検体中4検体で崩壊試験に適合せず、これらの検体では溶出試験にも適合しなかった。以上の結果から、メラトニン含有サプリメントでは含有量不足(50%以下)あるいは崩壊・溶出試験(溶出率2時間75%以上)に適合しないものが18検体6検体みられ、品質に問題のある製品があった。

#### **フュアオイを含む健康茶に含まれるセンノシドの由来**

小島尚、岸美智子（神奈川衛研、食品薬品部）、関田節子、佐竹元吉（国立衛研、生薬部）食衛誌, 42, 202-205 (2001)

健康茶に含まれるフュアオイの基原植物である*Malva verticillata* L.にセンナの指標成分であるセンノ

シドは含まれるか、更に、形態学的にセンナと類似するかを明らかにし、フュアオイを原料と表示された健康茶に含まれるセンノシドの由来を検討した。その結果、*Malva verticillata* L. にはセンノシド A 及び B は含まれないこと、更に、形態学的にもセンナ葉と区別できることが明らかになった。すなわち、フュアオイを原料と表示された健康茶に含まれるセンノシドはフュアオイに由来するものではなく、混入したセンナに由来するものであることが確認された。

#### **Occurrence of clostridia in commercially available curry roux**

[市販のカレールーにおける *Clostridium* 属菌の検出状況]

藤澤倫彦、相川勝弘、高橋孝則、山井志朗（神奈川衛研、食品獣疫部）、上田成子（女子栄養大学）食衛誌、42, 394-397 (2001)

市販の国産カレールー60検体についてボツリヌス菌およびウェルシュ菌を含めた *Clostridium* 属菌の検出状況を平板培養法、パウチ法ならびに増菌培養法の3種類の方法を用いて調査した。その結果、カレールー60検体中37検体（62%）より *Clostridium* 属菌が分離された。用いた検出法による検出率はそれぞれ平板培養法が0%，パウチ法が5%，増菌培養法が62%であった。このように用いた検出法の比較では、増菌培養法での検出率が他の検出法での検出率と比較してはるかに高かった。また、今回の調査ではボツリヌス菌は検出されなかったが、7検体（12%）からエンテロトキシン非產生性のウェルシュ菌が分離された。

#### **Influence of butyric and lactic acids on the $\beta$ -glucuronidase activity of *Clostridium perfringens***

[*Clostridium perfringens* の  $\beta$ -グルクロニダーゼ活性におよぼす酪酸および乳酸の影響]

藤澤倫彦、相川勝弘、高橋孝則、山井志朗（神奈川衛研、食品獣疫部）、渡辺浩一、窪田良彦、宮岡正明（東京医科大学第四内科）Lett. Appl. Microbiol., 32, 123-125 (2001)

ヒトの腸管由来 *Clostridium perfringens* の  $\beta$ -グルクロニダーゼ活性におよぼす酪酸および乳酸の影響を検討した。その結果、胆汁酸の存在しない条件下ではこれら有機酸の酵素活性におよぼす影響はみられなかったが、胆汁酸の存在下においてこれら両有機酸はインタクトセルの酵素活性を低下させた。このことは、高脂肪食の摂取によって引き起こされる大腸ガンの発生を有機酸が阻止することを示唆するものである。

#### **河川水中のエストロゲン及びその抱合体の分析**

伊藤伸一、上村 仁（神奈川衛研、生活環境部）、水道協会雑誌、70, 33-37 (2001)

都市河川に生息する魚類等の生殖異変の原因物質として、人畜由来の女性ホルモン（エストロゲン）に着目し、実態調査を行った。調査河川は、神奈川県内の鶴見川、境川、渋田川及び金目川の4河川で、女性ホルモンとして天然エストロゲンのエストロン（E<sub>1</sub>）、17 $\beta$ -エストラジオール（E<sub>2</sub>）及びエストリオール（E<sub>3</sub>）の3種を分析した。

E<sub>1</sub>は<5～80ng/L、E<sub>2</sub>は<5～11ng/L検出された。しかしE<sub>3</sub>は全ての調査地点で検出されなかつた（10ng/L以下）。E<sub>1</sub>とE<sub>2</sub>が同時に検出された地点では、E<sub>1</sub>がE<sub>2</sub>の平均で約4.2倍量認められた。また、E<sub>1</sub>及びE<sub>2</sub>の存在形態は約80%が遊離体として存在し、残り約20%が抱合体であった。

#### **外部精度管理実施機関における共通試料の品質管理について**

伊藤伸一（神奈川衛研、生活環境部）、水道協会雑誌、71, 42-44 (2002)

水道水の安全性を保証するため、水質検査を実施する機関に対しては、正確で信頼性の高い検査データを出すことが要求されている。このため各検査機関は、計画的に自己精度管理及び内部精度管理を実施し、また外部精度管理を受け入れている。今回、外部精度管理における外部精度管理実施機関（実施機関）の役割の一つとして、精度管理用共通試料（共通試料）の品質管理の必要性を検討した。

共通試料は、調製直後から実施期間中（全参加機関が測定を終了するまでの期間）、一定の条件下で安定であることが求められているが、多くの場合、「安定だ」という漠然的な前提のもとで、精度管理が実施されていると考えられる。しかしながら、共通試料が途中で変化しないという保証はない。また変化したような場合には、参加機関が測定時点でいくら精度の高い測定を行っても、極端な場合、測定値が異常値として扱われ、参加機関の分析技術が低く評価される恐れも予想される。こうしたこと防ぐ一つの対策として、実施機関による共通試料の品質管理の実施を提案した。

#### **津久井湖水中の窒素起源推定への安定同位体比の利用**

上村 仁（神奈川衛研、生活環境部）、水道協会雑誌、71, 36-41 (2002)

窒素安定同位体比を用いて津久井湖水中の窒素の発生

源を推定する手法の開発を試みた。湖水中の窒素は湖水をロータリーエバポレーター及び凍結乾燥機で濃縮、乾固した後、封管燃焼法または EA/IRMS 法で測定することが可能であった。こうして測定された各試料の  $\delta^{15}\text{N}$  値を用いて津久井湖水中の窒素の供給源としての堆積物の寄与を算出したところ、27.4~64.8%となり、堆積物由來の窒素が湖の富栄養化に対して少なからず影響していることが示唆された。

#### BALB/3T3細胞を用いたコロニー形成試験法の河川水質評価への応用

浜村哲夫（神奈川環境科学セ），伏脇裕一，森 康明（神奈川衛研），水環境学会誌，24, 389-392 (2001)

河川水の汚染評価におけるコロニー形成試験の有用性について検討した。コロニー形成試験では実際の環境試料に対して良好な用量反応関係が得られた。Ames 変異原性試験との比較から、河川水中には細胞毒性とフレームシフト型の直接変異原性を合わせ持つ汚染物質が多く存在することが明らかとなった。また、化学的性状の異なる固相吸着剤を連結し河川水中の細胞毒性物質を分離吸着させることで、河川水中に存在する細胞毒性物質の化学的特性の一端を明らかにすることが可能となった。

#### Adsorption of pesticides and their biodegraded products on clay minerals and soils

[粘土鉱物及び土壤中への農薬及びその分解代謝物質の吸着特性]

伏脇裕一（神奈川衛研），浦野紘平（横浜国大），Journal of Health Science, 47, 429-432 (2001)

環境中での農薬の運命変化を予測するための基礎研究として、10種類の農薬及びその分解代謝物質について土壤及び粘土鉱物への吸着特性を検討した。それぞれの吸着等温線はフロイントリッヒの吸着等温式で整理することが可能であった。ペンタクロロニトロベンゼン、CNP 及びその分解代謝物質は土壤への吸着性は高かったが、イソプロチオランの吸着性は低かった。また、黒ぼく土壤やモンモリロナイトへの吸着性は高かったが、アロフェンやカオリナイトへの吸着性は低かった。

#### Trace Analysis of Microcystins in Environmental Samples

[環境試料中のミクロシスチンの微量分析]

原田健一（名城大），近藤文雄（愛知衛研），辻 清美（神奈川衛研，生活環境部）Journal of AOAC International, 84, 1636-1642 (2001)

従来用いられている ODS カートリッジによるクリーンアップ法では 肝臓組織や湖水等の複雑なマトリックス中の微量ミクロシスチンの分析は困難であった。そこで、イムノアフィニティーと ODS カートリッジを組み合わせてクリーンアップを行ったところ、複雑なマトリックスが効果的に除去され、肝臓中の微量ミクロシスチンの分析が可能となった。また、底質等固形試料中のミクロシスチンはオゾン酸化— GC/MS を用いることにより容易に分析できることが判明した。これらミクロシスチン分析法は様々な環境試料に十分適用し、環境中のミクロシスチンの挙動を正確に把握するためには有用な方法と考られた。