

他誌掲載論文抄録

(平成18年4月～平成19年3月)

肺炎マイコプラズマの分離培養と薬剤感受性試験

岡崎則男, 大屋日登美 (神奈川県研), 佐々木次雄 (国立感染研), 成田光生 (札幌鉄道病院), 日本マイコプラズマ学会雑誌, **33**, 60-63 (2006)

神奈川県内において, 患者咽頭スワブを検体とし寒天平板培地およびメチレンブルー加二層培地を併用して肺炎マイコプラズマ分離を実施した. 1976～2005年までの2370検体中, 分離陽性は559例 (23.6%) であった. 陽性数と陽性率が共にピークを示した年は, 1980, 1984, 1988, 1992, 1996, 1998および2003年で, 1990年代後半からは4年周期性のピークが見られなくなった. 肺炎マイコプラズマ分離株 (県外分離株を含む) につき, 微量液体希釈法による薬剤感受性試験を実施した. 2000年に札幌鉄道病院から送付された分離株中にマクロライド耐性株が初めて検出され, 以後2005年までに神奈川県内における計140株の分離株中, 耐性株が21株 (15%) 検出された. 従って, 国内では2000年以降にマクロライド耐性菌が急増したものと推定される.

HIV感染の診断法

今井光信, 嶋 貴子 (神奈川県研), 治療, **88**, 2865-2874 (2006)

わが国のHIV感染者は年々増加を続けており, 2005年の一年間で新たに報告されたHIV感染者数は年間1,000名を超え, しかもそのおよそ3分の1の感染者はエイズ発症によりHIV感染が判明した, いわゆる「いきなりエイズ」と言われる感染者である. このため, HIV感染者の早期発見・早期治療とその感染拡大の防止が, エイズ対策の緊急課題の一つとなっている. 近年, 迅速検査キットの開発により, 保健所やクリニックなどの現場においてスクリーニング検査が可能となり, 現在多くの保健所で“即日検査”と呼ばれるHIV検査が広く行われつつある. また, STD患者を対象としたクリニックなどの一部でも即日検査が実施され, 非常に多くの検査希望者に利用されている. 本稿では, 病院やクリニックなどにおけるHIV感染の診断に必要なHIV検査について, その進め方や注意点を中心に解説を行った.

Enterovirus detection status from patients with Herpangina and hand, foot and mouth disease in Kanagawa Prefecture,

Japan

(神奈川県におけるヘルパンギーナ, 手足口病患者からのエンテロウイルス検出状況)

嶋 貴子, 齋藤隆行, 近藤真規子, 渡邊寿美, 尾上洋一, 新川隆康 (神奈川県研), 水野桂子, 佐藤善博, 折原直美 (神奈川県感染症情報センター), Jan. J. Infect. Dis., **60**, 63-64 (2007)

2006年の神奈川県域でのヘルパンギーナの週別患者報告数は, 第22週に定点あたり1.0人を超え, 例年に比べ2週間ほど早くから流行が始まった. 2001年規模の大流行が予測されたが, 第25週に7.07人とピークを迎えたあと, 第31週には定点あたり1.0人を下回り, 収束に向かった. 一方, 手足口病の週別患者報告数は, 第27週から定点あたり1.0人前後で推移し大きな流行はみられなかったが, 県西地区では第23週から局地的流行が見られ, 特に小田原地区では第30週に8.00人となり, 流行が続いた. 2006年8月末までにおいて, ヘルパンギーナ患者検体からコクサッキーウイルス (C) A4型が20株, 単純ヒトヘルペスウイルス1型 (HSV-1) が1株, アデノウイルス (Ad) 3型が2株分離され, このことから今夏のヘルパンギーナ流行の主因ウイルスはCA4と推測された. 手足口病患者検体からはCA16が6株, CA4が3株, HSV-1が1株分離された. CA16が分離された6例中4例が小田原地区からであり, 県西地区の局地的流行はCA16によるものと推測された.

Analysis of a long-term discrepancy in drug-targeted genes in plasma HIV-1 RNA and PBMC HIV-1 DNA in the same patient

(血漿中HIV-1-RNAとプロウイルスHIV-1DNAにおける薬剤耐性遺伝子変異の長期にわたる不一致例の解析)

宇宿秀三, 野口有三 (横浜市衛研), 足立拓也, 相楽裕子 (横浜市立市民病院), 須藤弘二 (エイズ予防財団), 西澤雅子 (国立感染研), 近藤真規子, 今井光信 (神奈川県研), 栢久保修 (横浜市立大学医学部), Jpn. J. Infect. Dis., **59**, 122-125 (2006)

HIV感染者の薬剤治療を有効に進めるうえで, 薬剤耐性変異の有無を解析することは重要である. 通常, 薬剤耐性株が出現する時は, 血中ウイルス (HIV-1-RNA) において薬剤耐性変異が検出され, その2～3ヵ月後リンパ球

中のプロウイルスHIV-1・DNAに変異が検出されるようになる。しかしながら我々は、HAART治療中患者において血中HIV・RNAに薬剤耐性変異を検出後も、長期間にわたりプロウイルスDNA中に薬剤耐性変異を検出できない症例を経験し、その詳細について解析した。血漿中とプロウイルス中の薬剤耐性遺伝子変異の不一致は3年上にわたり持続した。しかし、クローニング解析の結果、血漿中に薬剤耐性変異(215Y)が検出されてから2年後のプロウイルスDNA中に215Yの耐性変異は13クローン中3クローン認められた。本症例においては、血漿中HIV-1がほとんど耐性となった後もリンパ球中のプロウイルスのほとんどは感受性型であった。しかし、プロウイルス中に耐性型も極僅かながら存在しており、血漿中においては主として耐性型のプロウイルスからHIV粒子が複製し、耐性株が優位となっているものと考えられた。

Real-time PCRを用いたHIV-1RNAキットの基礎的検討

須藤弘二, 嶋 貴子, 近藤真規子, 今井光信(神奈川衛研), 加藤真吾(慶應義塾大学医学部), 感染症学雑誌, **81**, 1-5 (2007)

第2世代の血中HIV-1RNA定量法として開発されたリアルタイムPCR法を用いたコバスTaqMan HIV-1キットの基礎的検討を行った。希釈直線性は測定値の得られた $1.67 \times 10^2 \sim 1.73 \times 10^6$ copies/mlの範囲において良好であった($r^2=0.991$)。また、検出限界の検討の結果、検出限界は40 copies/mlであり、本キットは従来のアンプリコア法よりも高感度で広い測定範囲を持つことが確認された。再現性は、実験内変動係数が27.4~50.8%、実験間変動係数が29.3~81.5%であった。また、6種のサブタイプ(A, B, C, A/E, F, G)を用いて本法とアンプリコア法の測定値を比較した結果、両法の測定値は良好な相関を示したが($r^2=0.960$)、すべてのサブタイプで本法の測定値が有意に高くなった(平均3.1倍, $p=0.002$)。特にサブタイプCの試料ではその傾向が強かった(7.1倍)。コバスTaqMan法に移行する際には、この点に留意する必要がある。

Drug resistant HIV-1 prevalence in patients newly diagnosed with HIV/AIDS in Japan

(日本の新規HIV感染者における薬剤耐性変異の動向)

瀧永博之, 岡 慎一(国立国際医療センター), 伊部史郎(名古屋医療センター), 松田昌和(三菱化学メディエンス), 吉田 繁(北海道大学医学部), 浅黄 司, 伊藤俊弘(仙台医療センター), 近藤真規子, 今井光信(神奈川衛研), 貞升健志, 長島真美(東京都健康安全センター), 下条文武(新潟大学医学部), 正兼季季,

上田幹夫(石川県立中央病院), 森 治代, 小島洋子(大阪公衛研), 高田 昇, 木村昭郎(広島大学病院), 南留美(九州医療センター), 健山政男(琉球大学), 白坂琢磨(大阪医療センター), 杉浦 互(国立感染研), *Antiviral Research*, **75**, 75-82 (2007)

日本国内における薬剤耐性HIV-1の発生・伝播動向を把握するため、2003年から2004年の間に登録された新規HIV-1感染者575人について薬剤耐性変異の解析を行った。その結果、23例の逆転写酵素およびプロテアーゼ領域に薬剤耐性変異およびリバータント変異(T215X)が検出され、日本での新規感染者における薬剤耐性変異株の伝播レートは4.0%であった。また、HBVとの重複感染が8.8%、HCVとの重複感染が4.3%検出された。日本の新規感染者における薬剤耐性変異の保有率は欧米諸国に比べ非常に低いが、治療前に薬剤耐性検査を行うことは有効な薬剤治療を行ううえで重要である。

Performance and quality assurance of genotypic drug-resistance testing for HIV-1 in Japan

(HIV-1遺伝子型薬剤耐性検査のバリデーション)

藤崎誠一郎, 藤崎彩恵子, 伊部史朗, 金田次弘(名古屋医療センター), 浅黄 司(仙台医療センター), 吉田 繁, 小池隆夫(北海道大学医学部), 大家正泰(新潟大学), 渡邊香奈子(新潟保健環境科学研究所), 正兼季季, 上田幹夫(石川県立中央病院), 瀧永博之, 岡慎一(国立国際医療センター), 松田昌和(三菱化学メディエンス), 貞升健志, 長島真美(東京都健康安全センター), 岡田清美(北里大塚バイオメディカル), 近藤真規子(神奈川衛研), 秦 真美(愛知衛研), 溝上泰司, 白坂琢磨(大阪医療センター), 森 治代(大阪公衛研), 南 留美(九州医療センター), 杉浦 互(国立感染研), *Jpn. J.Infect.Dis.*, **60**, 113-117 (2007)

HIV感染者において薬剤耐性検査は、有効な薬剤治療を行うために重要であり、HIV遺伝子の薬剤耐性変異を解析するgenotype検査が2006年4月より保険適用されるようになった。しかしながら、日本でgenotype検査を実施しているほとんどの施設では、独自のin-houseプロトコルを用いて検査を行っており、検査方法の確認および結果について信頼性を評価することが重要となってきた。そこで、我々は、日本で薬剤耐性検査を実施している主な施設、15施設について、検査手順の精度と信頼性を調べることを目的としてバリデーションを実施した。その結果、HIV-1遺伝子型薬剤耐性検査の質は、正解率が97.3%と、非常に高いことが明らかとなった。また、エラーの原因としては、不適切なプライマーの使用、エレクトロフォレグラムの乱れ、人為的エラーが存在することも

明らかとなった。日本で実施されているHIV-1遺伝子型薬剤耐性検査の水準をより一層向上させる為に、今回明らかになった問題に対してトラブルシューティングを提案した。

Occurrence of Scrub Typhus (Tsutsugamushi disease) in Kanagawa Prefecture (2001-2005)

(神奈川県におけるつつが虫病患者発生状況(2001~2005年))

片山 丘, 原みゆき, 古屋由美子, 新川隆康(神奈川県衛研), 小笠原弘和(神奈川県保健福祉部), Jpn. J. Infect. Dis., **59**, 207-208 (2006)

2001年から2005年の5年間につつが虫病を疑われた患者87名(2001年13名, 2002年7名, 2003年17名, 2004年23名, 2005年27名)について, immunofluorescence assay (IF) による血清抗体検出およびPCRによる *Orientia tsutsugamushi* DNA検出により確定診断を行った。その結果, 58名(2001年7名, 2002年4名, 2003年10名, 2004年18名, 2005年19名)がつつが虫病と診断され, 2001年と2003年の患者よりL929細胞を用いて5株の *O. tsutsugamushi* 分離株が得られた。この5株のうち4株は県内で感染したと思われる患者からの分離株で, 1株は韓国で感染したと思われる患者からの分離株であった。

ハウスダストとフケ・アカを餌として生育させた条件下におけるコナヒョウヒダニの繁殖力とアレルギー蓄積量の推移

竹田 茂, 稲田貴嗣(神奈川県衛研), 衛生動物, **58**, 1, 19-28 (2007)

掃除機で集めた10家屋のハウスダスト5gにコナヒョウヒダニのメス成虫20匹をそれぞれ加え, 25°C, 相対湿度65%の環境で飼育したところ, 多くの試験区でダニは指数関数的に繁殖し, それにともなってアレルギー蓄積量, 特に糞由来アレルギーであるDer f I が急激に増加した。栄養価が高いハウスダストを餌として与えることにより, ダニ数は15週後に初期値(細塵1gあたり4匹)の2,000倍以上に増加し, Der f I は20週後に細塵1gあたり780 μ g以上に達した。その場合, 乾燥酵母, 魚粉などの配合飼料を用いて飼育された既知の報告値よりもダニの繁殖力は優れていた。空き家のゴミから得たハウスダストでは栄養価が低いためダニの繁殖およびアレルギー量の増加はほとんどなかった。ダニの繁殖が悪いハウスダストにフケやアカを加えて飼育すると, ダニは良く繁殖しアレルギー量は急増した。これらのことから, 人が居住している家庭のハウスダストおよびフケ・アカはダニ

にとって非常に栄養価の高い餌になり, アレルゲンが多量に蓄積されることが確認された。

畜産物中の動物用医薬品の分析における高速液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法のデータ解析に関する一考察

甲斐茂美, 赤星 猛, 藤巻照久, 伊藤伸一(神奈川県衛研), CHROMATOGRAPHY, **28**, 29-35 (2007)

ポジティブリスト制度施行に際し, 食の安全・安心のため畜産物中の動物用医薬品の多成分一斉分析にはLC/MS/MSによる分析は有効な手法である。LC/MS/MSを畜産物中の動物用医薬品検査に活用するため, MRM法による定量・同定時におけるデータ解析手法について検討を試みた。

[M+H]⁺または[M-H]⁻のプレカーサーイオンから派生する2つのプロダクトイオンを選択し, 定量イオン及び参照イオンとした時のイオン強度比(R/T値)は, 薬剤濃度, マトリックスの違いにかかわらず一定の範囲内にあることがわかった。このことから, R/T値が目的物質の同定の指標になることが確認でき, 日常検査時への適用が期待された。

Food antigen causes Th2-dependent enteropathy followed by tissue repair in T cell receptor transgenic mice

(T細胞受容体遺伝子導入マウスにおける食物依存性Th2型腸炎は傷害組織の再生を主体とする)

足立(中嶋)はるよ, 海老原あゆみ, 菊池 智(東京大学), 石田 剛(東日本関東NTT), 佐々木清美(東京大学), 平野清美(千葉大学), 渡邊裕子(神奈川県衛研), 浅井和美(東京大学), 高橋宜聖(感染研), 金森豊(東京大学), 下条直樹(千葉大学), 松田 幹(東京農工大学), 河野陽一(千葉大学), 八村敏志(東京大学), 上野川修一(日本大学), J Allergy and Clinical Immunol, **117**, 1125-32 (2006)

我々は食物依存性腸炎の発症機構を明らかにする目的で, T細胞受容体遺伝子導入マウスであるOVA23-3マウスを用いモデル系の作成を試みた。そして, このマウスへの卵白食投与が, マウスに有意な体重減少を誘導し, さらに空腸を中心とする小腸に繊毛の形態変化を伴う炎症を誘導することを発見した。組織学的変化は個体により様ではなく, 特に傷害組織の再生を主体とする炎症が観察される個体があり, 平均体重は投与期間中に回復傾向にあった。炎症はT細胞依存性に成立し, 組織中および腸間膜リンパ節CD4⁺T細胞のサイトカイン産生量の検討から, Th2型の応答によることを示した。一方空腸組織中では, ヒスタミン量の増加と共にIgE抗体結合マス

ト細胞の脱顆粒像が観察され、これらも何らかの機能を果たすことが予想された。このモデルは、体重回復傾向や傷害組織の再生などの他のモデルに類のない病態を示すが、この形成には寛容誘導機構が関わる可能性もある。

構造異性体を有するケミカルドラッグ成分の分析

土井佳代, 宮澤眞紀 (神奈川衛研), 藤井 寿 (神奈川県産技センター), 小島 尚 (神奈川衛研), 薬学雑誌 **126** (9), 815-823 (2006)

快感や多幸感を目的とした化学物質や植物が違法ドラッグ (いわゆる脱法ドラッグ) として出回っているが、その実態は殆ど不明である。特に、麻薬や覚せい剤などのデザイナーズドラッグと呼ばれる化学物質の乱用による健康被害が報告され、危害性が明らかになったものは麻薬に指定されている。しかし、麻薬に指定された化学物質と違法ドラッグとして流通する化学物質は構造が類似するため化学物質を明確に区別する必要がある。本報告では類似する化学物質、特に、構造異性体に関する分析方法とその特徴を、トリプタミン系化合物、ピペラジン系化合物及びフェネチルアミン系化合物の代表的な事例についてTLC, HPLC, GC-MS, NMR等で検討し、その分析にはNMRによる分析が不可欠であることを報告した。

Combined intoxication with methylenedioxymethamphetamine and 5-MeO-MIPT.

(メチロンと5-MeO-MIPTを併用した中毒事例)

清水栄司, 渡邊広幸 (千葉大学医学部), 小島 尚 (神奈川衛研), 萩原裕子, 藤崎美久, 宮武良輔, 橋本謙二, 伊豫雅臣 (千葉大学医学部), Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry, **31** (1), 288-91 (2007)

麻薬や覚せい剤などに構造が類似したケミカル系違法ドラッグ (ケミカルドラッグ) が数多く流通しているが、その生体作用は殆ど報告されていない。本報告ではメチロン及び5-MeO-MIPTの混合物を服用した27歳男性の中毒症例である。患者は単一のメチロンとしてインターネットで購入したが、化学分析ではメチロン60%及び5-MeO-MIPT 38%の混合物であった。この症例から両化合物による中毒の救急での対応と、向精神化合物の併用による精神疾患の問題点を明らかにした。

薄層クロマトグラフィーを活用した医薬品成分を含有する健康食品の分析

熊坂謙一, 松阪綾子, 麻生順子, 宮澤眞紀, 土井佳代, 小島 尚 (神奈川衛研), CHROMATOGRAPHY, **28**, 37-42 (2007)

「いわゆる健康食品」がインターネットなどで流通す

る中、一部の製品では、医薬品成分が添加されている場合がある。消費者の健康被害を防止するためには、市場に流通する製品について医薬品成分添加の有無を検査することが重要となる。しかし、このような製品に添加される医薬品成分は製品によって異なるという実情がある。そのため、効率的な医薬品成分のスクリーニング試験が求められる。そこで、勃起不全 (ED) 治療薬成分が検出された強壯強精用の健康食品の分析事例において、高速液体クロマトグラフ (HPLC) 法、液体クロマトグラフ-質量分析 (LC/MS/MS) 法による確認・同定分析に先立ち、添加医薬品成分のスクリーニング法として薄層クロマトグラフ (TLC) 法を活用した事例を報告する。本事例においてTLC法を活用した結果、HPLC法およびLC/MS/MS法分析における対象成分を絞り込む際に有効であると考えられた。

Degradation of microcystins using immobilized microorganism isolated in an eutrophic lake

(富栄養湖より単離した微生物の固定化によるミクロシチンの分解)

辻 清美 (神奈川衛研), 浅川美紀 (東京家政大学), 安齊洋次郎 (東邦大学), 角野立夫 (日立プラント), 原田健一 (名城大学), Chemosphere, **65**, 117-124 (2006)

アオコが産生する有毒化合物 (ミクロシチン) を分解する微生物を富栄養化した湖から探索し、B-9 (*Sphingomonas sp* と同定) を単離した。湖沼浄化利用のため、この菌を担体 (ポリエステル担体) へ固定化し、バイオリアクターでの分解性を検討した。その結果、24時間でミクロシチンRRは90%以上分解した。2ヶ月以上もこの分解能が持続したことから、湖沼浄化への実用化の可能性が強く示唆された。

4, 4'-メチレンジアニリンの分析法の検討及び水道水中における消長

上村 仁 (神奈川衛研), 水道協会雑誌, **75**, 9, 31-36 (2006)

4, 4'-メチレンジアニリン (MDA) はtC18による固相抽出及びメタノール溶出、LC-MSによる測定によって感度よく定量することが可能であった。水道水中において、MDAは残留塩素により分解され、GC-MSのクロマトグラム上に3つの分解物のピークが検出された。このうちの1つのピークは2, 4-ジクロロアニリン、2, 5-ジクロロアニリンのいずれか又は混合物と推定された。他の2つのピークについては同定に至らなかった。