

I. 研究の意義

- (1) 日本のダニ媒介性病原細菌は多様性に富み、一定の情報があるリケッチア症でも未解明な部分がいまだ多いものの、診断体制は脆弱化している。総合的に対応できる診断・治療体制の確立が急がれる。
- (2) つつが虫病や日本紅斑熱は地域特性が強く、臨床家への啓発がいまだ不十分であり、多くの症例の見落としが危惧され、不適切な対応により、いまだ重篤化、死亡につながる疾患となっている。
- (3) ボレリア関連のライム病の報告はあるが、新興回帰熱の潜在の可能性もある。また、臨床的意義不明なリケッチア種も多く、アナプラズマ等も見つかっているが、実態は不明のままである。
- (4) ダニ媒介の共通項から、これらの課題を解決するダニ媒介感染症の総合的対策の国内基盤となる。

II. 研究の目的、期待される成果

多様なダニ媒介性細菌感染症対策の国内診断ネットワークを形成することを目的とし、総合的な診断指針やガイドラインの作成と同時に、国民健康の安定、向上に資する以下の成果が期待される。

- (1) 臨床と検査のネットワーク構築により、全国レベルの情報共有、検査体制の強化。
- (2) 地域毎の状況把握から、地域毎に適切な診断系導入、迅速な診断治療の促進、検出効率の上昇。
- (3) 臨床とラボの有機的連結から、確定診断例の増加、重症化に至る臨床的特徴の解明、重症例の予測、治療法の標準化を検討、死亡例減少をめざし、救命に必要な臨床的な診断と治療の直結が可能。
- (4) 既存のダニ媒介性疾患以外も対象とし、原因不明症例の解明。
- (5) ゲノム情報が付す国内分離株バイオリソースの構築から、より高度な診断ツール開発・改良、導入。

III. 1年間の研究成果

・研究代表者(安藤秀二)

- (1) 全体の分担研究課題の調整を行うと同時に、地域性特性に対応する診断ネットワークの必要要件、課題の洗い出し、ネットワーク構築の各種支援、ラボと臨床の迅速な連携を可能とする情報発信を試みた。
- (2) 新規開発の遺伝子検出系の評価、地域毎に適した系を構築するための評価の準備を行った。
- (3) バイオリソース基盤情報となる各種リケッチアの全ゲノム解析のための分離株の整理を行っている。

・研究分担者(岸本壽男)

- (1) リケッチア症に対する地域特性を考慮した調査及び検査法の開発に取り組み、複数県参加型のネットワーク構築活動を、東北、中国四国、九州ブロック等で試行。
- (2) 医療機関周知のため、リケッチア症検査体制の把握と年度毎のデータ更新のアンケート調査を実施。

・研究分担者(岩崎博道)

- (1) リケッチア症の臨床的特徴を的確に評価、重症度指標の明確化のため、患者調査票により情報収集。
- (2) リケッチア症の重症化予測に急性期の血中 TNF- α 値が有用である可能性を示した。また in vitro 系で、テトラサイクリン系薬剤が単球系細胞株の TNF- α 産生を抑制し、生体での同様の現象が推測される。

・研究分担者(大橋典男)

- (1) 国内のアナプラズマ症と日本紅斑熱の混合感染例、マダニの両病原体共感染の成績が米国 CDC の Emerging Infectious Diseases に掲載決定し、日本のアナプラズマ感染症の存在が世界的に認知された。
- (2) アナプラズマ症の血清診断について、IFA 法の精度の改善などの検討を進めている。
- (3) 静岡県内の原因不明患者からアナプラズマに対する抗体を検出、追跡調査を進めている。

・研究分担者(川端寛樹)

- (1) 北海道にて *Borrelia miyamotoi* による回帰熱症例の Active surveillance 体制を構築、運用を開始し、マダニの *B. miyamotoi* 保菌状況調査と分離株のデータベース化を試みている。

- (2) *B. miyamotoi* のヒト感染病態解析、病原性解析に必要な国内分離株マウス感染モデル作成に着手。

・研究分担者(今内 寛)

- (1) ライム病発生地でのダニのライムボレリア感染率を報告、同時にシュルツェマダニ実験室株を樹立した。
- (2) 実験室株の成ダニをハムスターに吸血させ、シュルツェマダニの中腸内のボレリアレセプターと免疫抑制因子遺伝子の同定ならびに機能解析を行った。また、病原体伝播に関与するとされる遺伝子を同定。

・研究分担者(高田伸弘)

- (1) 国内冷涼気候帯の回帰熱や極東紅斑熱、秋田、福島の新規つつが虫病リケッチア(Ot)、西日本のシモコシ型Ot、南西諸島の南方系Ot等、地域毎に異なる感染環特性を調べ診断体制や技術支援を実施。
- (2) アルカリ抗原による各種ELISA法を検討、熱性患者や潜在感染を窺うスクリーニング法の改善試行。

・研究分担者(藤田博己)

- (1) IgG/IgM抗体価の間接免疫ペルオキシダーゼ反応簡易同時測定法を検討、従来法の省力化を試行。
- (2) 日本紅斑熱簡易血清診断法として間接赤血球凝集反応微量法の実用化を目指し、従来法で検出感度が低いとされる感染早期から出現するIgM抗体の検出に優れていることを認めた。
- (3) 地域間で多様性に富むリケッチア症の適切な診断の基礎資料となる各地の疫学情報を収集。

・研究分担者(林 哲也)

- (1) 我が国で分離される紅斑熱リケッチアである *R. japonica* の2株、新興紅斑熱リケッチアである *R. heilongjiangensis*、非病原性と考えられるLon株等の全ゲノム配列を決定した。
- (2) 得られたゲノム情報の高精度化とアノテーションおよび予備的なゲノム比較を行った。

IV. 平成25～26年度の課題

- (1) 地域性の強いダニ媒介性細菌感染症について、洗い出された地方衛生研究所診断ネットワーク作りの必要要件、検討課題を改善する技術継承のための手法を検証。
- (2) 定法のリケッチア検査法に関し、地域毎に即した検査系と新規開発の検査法に関して評価、地域適応等を継続検討し、最適化と検査機関への導入を試みる。
- (3) ダニ媒介性細菌感染症の臨床情報の収集・解析を継続し、病院、地方衛生研究所との連携で各疾患の媒介種、病原体の分布等の地域対応に必須な各種情報も収集・蓄積、整理・解析、各地域の特徴・課題を踏まえ、効果的な情報提供の手法を試みる。
- (4) 新たな患者発掘と死亡例の徹底調査、重症度評価のためのスコア検証、適用を試行、より効果的な治療法について検討する。
- (5) アナプラズマの効率的検査法を検討と同時に、患者実態解明のため啓発と検体収集・解析を行う。
- (6) 北海道でのボレリア感染症(*B. miyamotoi*感染)のActive surveillanceを継続し、分離 *Borrelia* 株のデータベース化、病原体保有実態の解析、疾患定義に合致する症例からの病原体検出を試みる。
- (7) *B. miyamotoi*感染に関する早期診断法の標準化を試みる。
- (8) *B. miyamotoi*のマウス感染モデルを作製し、ヒト感染病態解析を行う。同時に、ボレリア病原体のダニ媒介に必要な因子の確定。候補遺伝子のノックダウン作出、病原体とダニにおけるベクターコンピテンスを解析、将来的には、その他のダニ媒介性細菌感染症に応用可能なダニの病原体伝播能力を奪うことによる新しい感染症蔓延阻止方法の樹立を目指す。
- (9) 全国レベルでのダニ媒介性細菌感染症の総合的な診断・治療ネットワーク体制の構築と運用を目指し、関連疾患の啓発活動を進め、ラボと臨床現場の連携を強化、マニュアル及び対策ガイドラインの提供、恒久的かつ体系的体制維持のための公衆衛生学的提言を行う。
- (10) 全ゲノムを決定したリケッチアを中心に菌種内、菌種間比較を行い、菌種、菌株同定に利用しうる遺伝マーカーを同定、また非病原性株との比較によりヒトへの病原性に係わる遺伝的特性を解明する。さらに国内分離株を用いて、同定されたマーカー候補の有用性を検証、実用化を目指し、バイオリソースおよびゲノム情報基盤を構築する。

V. 行政施策への貢献の可能性

国内診断ネットワークを形成することにより、公衆衛生行政に資する以下の成果が期待される。

- (1) 臨床・検査ネットワーク構築により全国レベルの情報共有が可能となり、検査体制の強化、迅速な診断治療対応が可能。東日本大震災発生後に指摘された医療バックアップ体制の在り方のモデルにもなる。
- (2) 多様な血清型のつつが虫病、その他多様なダニ媒介性細菌感染症の地域ネットワーク毎の状況把握により、適切な診断系を導入、評価、迅速な診断・治療が可能となり、検出率の上昇と早期診断の促進。

- (3) 確定診断例の増加、重症化の臨床的特徴が明らかとなり、重症例予測、治療法の標準化を検討、死亡例の減少をめざす。ネットワークの有機的連結、臨床現場に情報を迅速かつ適確に反映できる体制作りにより、救命に必要な臨床的な診断と治療の直結が可能となる。
- (4) 既存のダニ媒介性細菌感染症以外も含まれ、原因不明の感染症の起因細菌の解明が期待され、それらの患者発生状況・地域の推測が可能となる。
- (5) ダニ媒介性細菌感染症に関し、総合的な診断法のマニュアルやガイドライン作成。

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

<研究代表者・安藤秀二>

- (1) Sakamoto N, Nakamura-Uchiyama F, Kobayashi K, Takasaki T, **Ando S**, Iwabuchi S, Ohnishi K; Murine Typhus with Shock and Acute Respiratory Failure in a Japanese Traveler after Returning From Thailand. *J Travel Med.* in press
- (2) Yamauchi T, Satô M, Ito T, Fujita H, Takada N, Kawabata H, **Ando S**, Sakata A, Takano A; Survey of tick fauna and tick-borne pathogenic bacteria on Rishiri Island, off north Hokkaido, Japan, *Inter J Acarol.* DOI: 10.1080/01647954.2012.738708., 2012.
- (3) **安藤秀二**、ペストコントロール技術セミナー「怖いダニ類媒介性感染症～地域毎の情報を発信することが大事」、ペストコントロール、160: 27-31、2012

<研究分担者・岩崎>

- (4) **岩崎博道**、高田伸弘. リケッチア症を診断する. 臨床感染症ブックレット 6 内科医がときに遭遇する特殊な感染症を診る(中嶋一彦ほか編)、文光堂、pp73-76、2012
- (5) **岩崎博道**、馬原文彦. リケッチア症を疑った場合の抗菌薬の選択は?. 臨床感染症ブックレット 6 内科医がときに遭遇する特殊な感染症を診る(中嶋一彦ほか編)、文光堂、pp132-133、2012
- (6) Tai K, **Iwasaki H**, Ikegaya S, Ueda T; Minocycline modulates cytokine and chemokine production in lipopolysaccharide-stimulated THP-1 monocyte cells by inhibiting I κ B kinase α/β phosphorylation. *Translational Res* in press

<研究分担者・大橋>

- (7) **Ohashi N**, Gaowa, Wuritu, Kawamori F, Wu D, Yoshikawa Y, Chiya S, Fukunaga K, Funato T, Shiojiri M, Nakajima H, Hamauzu Y, Takano A, Kawabata H, Ando S, Kishimoto T: Human granulocytic anaplasmosis in Japan. *Emerg. Infect. Dis.*, in press.
- (8) Gaowa, **Ohashi N**, Aochi M, Wuritu, Wu D, Yoshikawa Y, Kawamori F, Honda T, Fujita H, Takada N, Oikawa Y, Kawabata H, Ando S, Kishimoto T: *Rickettsia*-related pathogens in ticks, Japan. *Emerg. Infect. Dis.*, in press.
- (9) Ybañez, A.P., Sato. F., Nambo. Y., Fukui. T., Masuzawa. T., **Ohashi. N.**, Matsumoto. K., Kishimoto. T., and Inokuma. H.: Survey on Tick-Borne Pathogens in Thoroughbred Horses in the Hidaka District, Hokkaido, Japan. *J. Vet. Med. Sci.*, Aug 10. [Epub ahead of print], 2012

<研究分担者・川端>

- (10) Takano A, Sugimori C, Fujita H, Kadosaka T, Tayler K, Tsubota T, Konnai S, Tajima T, Sato K, Watanabe H, Ohnishi M, **Kawabata H**: A novel Relapsing fever *Borrelia* sp. infects the salivary glands of the molted hard-bodied tick, *Amblyomma geoemydae*. *Ticks and Tick-borne Diseases*. 3: 259-261, 2012.

<研究分担者・今内>

- (11) **Konnai S**, Yamada S, Imamura S, Nishikado H, Githaka NW, Ito T, Takano A, Kawabata H, Murata S, Ohashi K: Identification of TROSPA homologue in *Ixodes persulcatus*, Schulze, the specific vector for human Lyme borreliosis in Japan. *Ticks Tick borne dis.*, 3(2):75-7. 2012
- (12) Murase Y, **Konnai S**, Githaka WN, Hidano A, Tayler K, Ito T, Takano A, Ando S, Kawabata H, Tsubota T, Murata S, Ohashi K; Prevalence of Lyme borrelia in *Ixodes persulcatus* ticks from an area with a confirmed case of Lyme disease. *J. Vet. Med. Sci.*, in press
- (13) Imamura S, **Konnai S**, Yamada S, Parizi L, Githaka N, Itabajara da S Vaz Jr, Murata S, Ohashi K; Identification and partial characterization of a gut *Rhipicephalus appendiculatus* cystatin, *Ticks Tick Borne Dis.*, in press

<研究分担者・高田>

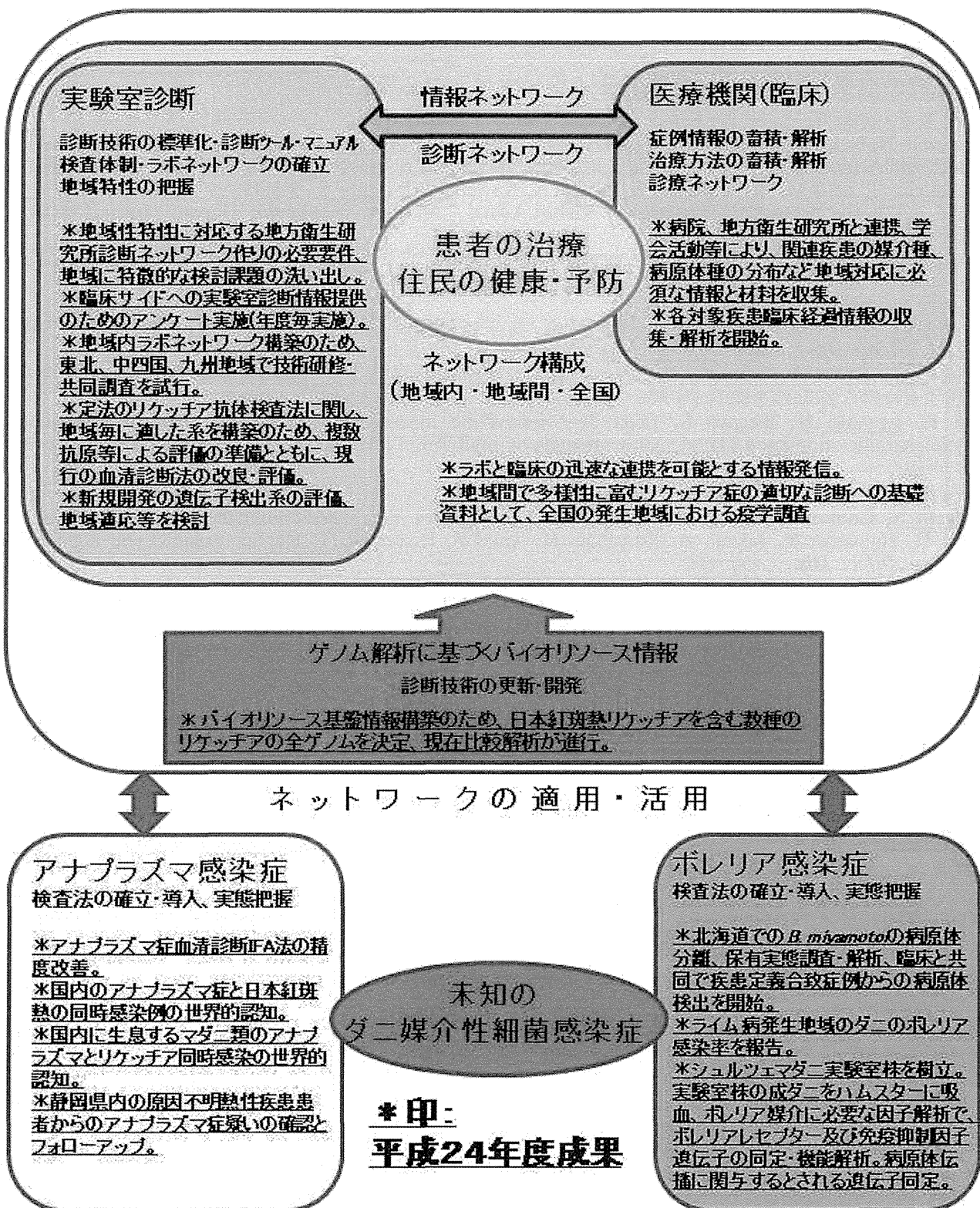
- (14) 佐藤寛子、柴田ちひろ、斎藤博之、佐藤了悦、安部真理子、齊藤志保子、高橋 守、藤田博己、角坂照貴、**高田伸弘**、川端寛樹、高野 愛、須藤恒久:アカツツガムシ親和性 Kato 型つつが虫病患者の確認を受けての秋田県雄物川流域における調査成績(2009). 衛生動物. in press
- (15) 及川陽三郎、藤田博己、矢野泰弘、**高田伸弘**: 紅斑熱群リケッチア症の簡易診断法としてのアルカリ多糖体抗原を用いた ELISA 法の検討. 衛生動物. in press

<研究分担者・藤田>

- (16) Asano S, Mori K, Yamazaki K, Sata T, Kanno T, Sato Y, Kojima M, **Fujita H**, Akaike Y, Wakasa H; Temporal differences of onset between primary skin lesions and regional lymph node lesions for tularemia in Japan: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 19 skin cases and 54 lymph node cases. *Virchows Arch*, DOI 10.1007/s00428-012-1246-7. Published online: 17 May 2012
- (17) 竹之下秀雄、**藤田博己**: 2009年に当科で経験したツツガムシ病 30 例. 皮膚臨床, 54: 355-358, 2012.

Ⅶ. Ⅲ (1年間の研究成果)の概要図等

ダニ媒介性細菌感染症の診断ネットワーク



●研究代表者の研究歴等

・過去に所属した研究機関の履歴

昭和61年4月1日～平成4年3月31日:北海道大学大学院獣医学研究科
平成4年4月1日～平成7年3月31日:国立予防衛生研究所エイズ研究センター
平成7年4月1日～平成9年3月31日:国立予防衛生研究所バイオセーフティ管理室
平成9年4月1日～平成16年3月31日:富山県衛生研究所
平成16年4月1日～現在:国立感染症研究所

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

橋本信夫、高島郁夫(昭和61年4月1日～平成4年3月31日)
牛島廣(平成4年4月1日～平成7年3月31日)
杉山和良、本多三男(平成7年4月1日～平成9年3月31日)
北村敬、永井美之(平成9年4月1日～平成16年3月31日)
岸本壽男、倉根一郎、川端寛樹(平成16年4月1日～現在)

・主な研究課題

- ・単クローン性抗体を用いたオウム病クラミジアの細胞内増殖過程における各種抗原物質の形態学的、生物学的機能解析研究。(昭和61年4月1日～平成4年3月31日)
- ・エイズ動物モデルの研究及び抗エイズ薬の開発。(平成4年4月1日～平成7年3月31日)
- ・協力研究員として、抗HIV薬開発におけるバイオセーフティの確認と評価、エイズ霊長類モデル開発と抗HIVワクチンの開発、母子感染に関する研究。(平成7年4月1日～平成9年3月31日)
- ・ウイルス・リケッチア及び人獣共通感染症の調査研究・検査、バイオセーフティ管理、感染症情報センター他の業務。(平成9年4月1日～平成16年3月31日)
- ・クラミジアとリケッチア感染症の調査研究、検査、レファレンス業務。
(平成16年4月1日～現在)

・これまでの研究実績

<学術論文> (1) 欧文

- 1) Ohashi N, Gaowa, Wuritu, Kawamori F, Wu D, Yoshikawa Y, Chiya S, Fukunaga K, Funato T, Shiojiri M, Nakajima H, Hamazu Y, Takano A, Kawabata H, Ando S, Kishimoto T; Human granulocytic anaplasmosis in Japan, *Emerg Infect Dis*, (2012, in press)
- 2) Gaowa, Ohashi N, Aochi M, Wuritu, Wu D, Yoshikawa Y, Kawamori F, Honda T, Fujita H, Takada N, Oikawa Y, Kawabata H, Ando S, Kishimoto T: Rickettsia-related pathogens in ticks, Japan, *Emerg Infect Dis*, (2012, in press)
- 3) Sakamoto N, Nakamura-Uchiyama F, Kobayashi K, Takasaki T, Ando S, Iwabuchi S, Ohnishi K; Murine Typhus with Shock and Acute Respiratory Failure in a Japanese Traveler after Returning From Thailand. *J Travel Med*, (2012, in press)
- 4) Yamauchi T, Satô M, Ito T, Fujita H, Takada N, Kawabata H, Ando S, Sakata A and Takano A; Survey of tick fauna and tick-borne pathogenic bacteria on Rishiri Island, off north Hokkaido, Japan, *Inter J Acarol*, (2012, in press)

press)

- 5) Motoi Y, Asano M, Inokuma H, Ando S, Kawabata H, Takano A, Suzuki M; Detection of Rickettsia tamurae DNA in ticks and wild boar (Sus scrofa leucomystax) skins in Shimane Prefecture, Japan. J Vet Med Sci (2012, in press)
- 6) **Murase Y, Konnai S, Githaka N, Hidano A, Tayler K, Ito T, Takano A, Ando S, Kawabata H, Tsubota T, Murata S, Ohashi K; Prevalence of Lyme borrelia in Ixodes persulcatus ticks from an area with a confirmed case of Lyme disease. J Vet Med Sci (2012, in press).**
- 7) Fujisawa T, Kadosaka T, Fujita H, Ando S, Takano A, Ogasawara Y, Kawabata H, Seishima M, Rickettsia africae Infection in a Japanese Traveler with many tick bites. Acta Dermato-Venereologica, doi: 10.2340/15555-1313, 2012
- 8) **Takano A, Sugimori C, Fujita H, Kadosaka T, Tayler K, Tsubota T, Konnai S, Tajima T, Sato K, Watanabe H, Ohnishi M, Kawabata H: A novel Relapsing fever Borrelia sp. infects the salivary glands of the molted hard-bodied tick, Amblyomma geoemydae. Ticks and Tick-borne Diseases. 3: 259-261, 2012**
- 9) Takano A, Nakao M, Masuzaka T, Takada N, Yano Y, Ishiguro F, Fujita H, Ito T, Ma X, Oikawa Y, Kawamori F, Kumagai K, Mikami T, Hanaoka N, Ando S, Honda N, Tayler K, Tsubota T, Konnai S, Watanabe M, Ohnishi M, and Kawabata H. Multilocus sequence typing Implicates rodents as the main reservoir host of Human-pathogenic Borrelia garinii in Japan. J Clin Microbiol, 49: 2035-2039, 2011
- 10) Yoshii K, Mottae K, Omori-Urabe Y, Chiba Y, Seto T, Sanada T, Maeda J, Obara M, Ando S, Ito N, Sugiyama M, Sato H, Fukushima H, Kariwa H, Takashima I. Epizootiological study of tick-borne encephalitis virus infection in Japan. J Vet Med Sci, 73: 409-412, 2011
- 11) Takeshita N, Imoto K, Ando S, Yanagisawa K, Ohji G, Kato Y, Sakata A, Hosokawa N, Kishimoto T. Murine typhus in two travelers returning from Bali, Indonesia: an underdiagnosed disease. J Travel Med, 17:356-358, 2010
- 12) Ando S, Kurosawa M, Sakata A, Fujita H, Sakai K, Sekine M, Katsumi M, Saitou W, Yano Y, Takada N, Takano A, Kawabata H, Hanaoka N, Watanabe H, Kurane I, Kishimoto T; Human R. heilongjiangensis Infection, Japan. Emerg Infect Dis, 16: 1306-1308, 2010

<学術論文> (2) 邦文

- 1) 田原研司、川端寛樹、安藤秀二、新井智、板垣朝夫、渡邊治雄、島根県におけるつつが虫病の疫学的検討、日本獣医師会獣医学術学会誌、65: 535-541、2012
- 2) 大竹映香、稲富徹、馬場俊一、川端寛樹、高野愛、小笠原由美子、安藤秀二、照井正；臨床像からライム病が強く疑われた1例、臨床皮膚科、66(4)：362-366、2012
- 3) 成田雅、鵜沼菜穂子、伊藤文人、佐藤憲行、星野智祥、井上実、山本正悟、安藤秀二、藤田博己；11月熱 福島県中南部におけるタテツツガムシ媒介性つつが虫病、日本内科学会誌、101：164-167、2012
- 4) 森志朋、櫻井英一、赤坂俊英、坂田明子、安藤秀二、岸本寿男；Pre-DICを併発し polymerase chain reaction (PCR)法で診断したツツガムシ病の1例、臨床皮膚科、64(7)：512-516、2010
- 5) 山内健生、高野愛、坂田明子、馬場俊一、奥島雄一、川端寛樹、安藤秀二；タカサゴキララマダニによる人体刺症の5例。日本ダニ学会誌、19：15-21、2010

<著書>

- 1) 安藤秀二：発疹チフス・発疹熱、感染症予防必携第3版、日本公衆衛生協会、in press

- 2) 安藤秀二：リケッチア、クラミジア、バルトネラ、内科学第3版、朝倉書店 in press
- 3) 安藤秀二、藤田博己：国内における多彩な紅斑熱群リケッチア症を媒介するマダニ類と病原体の対応、日本衛生動物学会誌、in press
- 4) 安藤秀二：発疹熱・発疹チフス・日本紅斑熱、今日の治療と看護 改定第3版、in press
- 5) 島崎綾子、濱口陽、原口康平、里龍晴、白川俊彦、中富明子、中嶋有美子、森内浩幸、安藤秀二、安藤匡子：新生児の日本紅斑熱症の一例～長崎県、病原微生物検出情報、Vol. 33: 304-305、2012
- 6) 安藤秀二、佐多徹太郎、重松美加、杉山和良、中嶋建介：感染性物質の輸送規則に関するガイダンス 2011-2012 (WHO 出版物翻訳)、2012
- 7) 安藤秀二：ペストコントロール技術セミナー「怖いダニ類媒介性感染症～地域毎の情報を発信することが大事」、ペストコントロール、2012
- 8) 安藤秀二：リケッチア、平松啓一監修、中込治、神谷茂編集、標準微生物学、第11版、2012
- 9) 安藤秀二：日本紅斑熱、獣医公衆衛生研究、14(2)：13-17、2012
- 10) 大屋賢司、黒田誠、関塚剛史、GarryMEYERS、岸本寿男、安藤秀二、奥田秀子、福士秀人：オウム病クラミジア集団発生事例分離株ゲノム配列決定とその意義。獣医畜産新報 vol. 63: 804-806、2011
- 11) 安藤秀二：最近の輸入発疹熱事例について。人と動物の共通感染症研究会のニューズレター、10: 4-6、2011
- 12) 川端寛樹、高野愛、大西真、安藤秀二、小笠原由美子、藤田博己、角坂照貴、和田康夫、馬場俊一、清島真理子：マダニ刺咬例の調査、病原微生物検出情報 32 (8)：226-268、2011
- 13) 安藤秀二：病原体等の保存・保管と輸送、バイオテクノロジー研究会編、バイオセーフティの原理と実際、医学評論社。P112-121、2011
- 14) Watanabe M, Hasegawa S, Obara M, Ando S, Yamauchi T, Takizawa T; Long-term analysis of the population dynamics of *Culex tritaeniorhynchus* and *Anopheles sinensis*, and serological survey of Japanese encephalitis virus among swine in Toyama Prefecture, Japan, from 1969 to 2003. Scalarfactory, 2011
- 15) 岩崎博道、安藤秀二、高田伸弘：肝リケッチア症、日本臨床 肝・胆道系症候群 I (第2版)、日本臨床社、別冊：140-144、2010
- 16) つつが虫病・日本紅斑熱 2006～2009 病原微生物検出情報 31 (5)：120-121、2010
- 17) 竹之下秀雄、成田雅、山本正悟、安藤秀二、藤田博己：福島県におけるタテツツガムシによるつつが虫病。病原微生物検出情報 31 (5)：125-126、2010
- 18) 松本一俊、八尋俊輔、松尾繁、原田誠也、山本正悟、本田俊郎、安藤秀二：熊本県における日本紅斑熱患者の急増。病原微生物検出情報 31 (5)：134-135、2010
- 19) 安藤秀二、坂田明子、花岡希、川端寛樹、藤田博己、黒澤昌啓、斉藤若奈、矢野泰弘、高田伸弘、酒井克朗、勝見正道、関根雅夫、小黒美舎子、熊谷正憲、岸本寿男：*Rickettsia heilongjiangensis* 国内感染の第一症例の確認経過と感染源調査。病原微生物検出情報 31 (5)：136-137、2010
- 20) 安藤秀二、坂田明子：日本国内のリケッチア症実験室診断に関する状況と課題。病原微生物検出情報 31 (5)：139-140、2010
- 21) 中野敏明、衛藤光、横田恭子、古川恵一、安藤秀二、坂田明子：モザンビーク共和国で感染した *Rickettsia africae* によるマダニ刺症の2例。病原微生物検出情報 31 (5)：137-138、2010
- 22) 安藤秀二、山崎勉：クラミジア、特集 ICTがおさえておきたい微生物のポイント 40、INFECTION CONTROL、

メディカ出版、19：686-687、2010

23) 安藤秀二：リケッチア性紅斑熱、化学療法の領域、医薬ジャーナル社、26：240-248、2010

平成24年度 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業 『成果概要』

研究課題：ハンセン病の予防法及び診断・治療法の開発・普及に関する研究

課題番号：H24-新興-一般-009

予定期間：H24年度からH26年度まで

研究代表者：向井 徹

所属研究機関：国立感染症研究所

所属部局：ハンセン病研究センター 感染制御部

職名：室長

年次別研究費(交付決定額)：1年目 43,027,000円

I. 研究の意義

- (1)ハンセン病病原菌であるらい菌の特徴は不明な点が多い。
- (2)人工培地で培養できないらい菌の薬剤感受性対策のため、係る遺伝子変異の網羅的な解析・耐性菌の伝播状況把握が必要である。
- (3)再燃・再発において、繰り返す場合、後遺症の治療に難渋するため、早期診断は重要である。
- (4)ハンセン病に対する免疫療法の基礎的知見は得られていない。
- (5)途上国で必須となっているハンセン病・結核の両者の発症を予防し得る共通ワクチンがない。
- (6)ワクチンの効果・安全性を評価するサル感染症系がない。
- (7)ハンセン病を正確に診療できる医師が少なく、また、正確な患者数が把握できていない現状。
- (8)ハンセン病既往歴のある人(ハンセン病回復者)の医療体制が不備

II. 研究の目的、期待される成果

- (1)らい菌の代謝メカニズムの解明による発症機構解明および新規薬剤及び診断法の開発に繋がる。
- (2)耐性に係る網羅的遺伝子変異解析より、安価高精度な感受性試験法の開発と実用化を謀り、また、世界規模での耐性菌状況把握を行い、現行の多剤併用療法の有効性維持を図る。
- (3)新たな早期診断法の開発は、再燃・再発のし易い入所者の早期拾い上げが可能。
- (4)抗らい菌免疫応答を賦活する有効な新規分子は、免疫学的治療法に期待される。
- (5)ハンセン病濃厚流行国は結核の高発症地域であるが、経済的にハンセン病に特化したワクチン接種は難しいため、1回投与でハンセン病・結核両者の発症を抑制する共通ワクチンを開発する。
- (6)サルによる候補ワクチンの効果・安全性評価系の樹立は、ヒトへの実際の応用を可能にする。
- (7)ハンセン病の正確な臨床検査・診断・治療が可能になる。ハンセン病患者数の把握。
- (8)ハンセン病回復者の医療体制の構築

III. 1年間の研究成果

・研究代表者(向井 徹)

- (1)新規プロモーターを用いた、安全・安定・効果的な各種組換え BCG の構築とその性状解析。
- (2)らい菌の若年期接種群および新生仔期接種母仔群のサルの経過観察を行い、後者群に散発的ら

い菌の排菌を認めた。

・研究分担者(宮本友司)

(1)らい菌の代謝に関わる一部菌体成分の生合成解析が進行。

・研究分担者(鈴木定彦)

- (1)アミノ酸置換組換えらい菌 DNA ジャイレースにより、キノロン耐性に係る遺伝子変異を明らかにし、オフロキサシン耐性にシタフロキサシンは有効である事を明らかとした。
- (2)市販のらい菌薬剤感受性試験法を評価し、本課題で開発予定のマイクロアレイを基盤とした低価格迅速薬剤感受性試験法開発の参考データを得た。
- (3)WHO の拠点監視事業における各国検査機関の遺伝子変異検出技術の評価を行い、技術の向上と情報の収集に寄与し、ブラジルの薬剤耐性菌の伝搬状況把握に寄与した。

・研究分担者(鮫島朝之)

- (1)療養所入所者の少菌型、多菌型病歴の各4名(少菌型1例は平成24年5月に再燃・再発後加療)および対照者の5名の末血単球の抗原刺激ではIFN- γ の産生が、少菌型で上昇した。

・研究分担者(前田百美)

- (1)らい菌リポ蛋白 LipoK により活性化した感染樹状細胞より放出されるエキソゾームは、自己 T 細胞より IFN- γ が大量に産生され、得られたエキソゾームに新たならい菌抗原を同定した。

・研究分担者(牧野正彦)

- (1)結核菌主要抗原 MMP-II に BCG 由来 HSP70 を連結し、ウレアーゼ欠損リコンビナント BCG に組み込んだ新規 BCG は、マウス生体内で結核菌・らい菌の増殖を共に抑制した。

・研究分担者(石井則久)

- (1)ハンセン病の講習会・実習を実施。
- (2)ハンセン病回復者を診療できる医療機関を公開(更新)。
- (3)2012年のハンセン病新規患者数を把握、2012年のハンセン病再発患者数の把握。
- (4)末梢神経を障害する抗酸菌症であるブルーリ潰瘍とハンセン病の鑑別を明確にした。

IV. 平成 25~26 年度の課題

- (1)らい菌代謝システムの全体像に関わる遺伝子機能及び酵素機能を明らかにする。
- (2)流行国において実施可能な手技開発と技術移転および薬剤耐性菌の広範な監視。
- (3)少菌型、多菌型、対照群各群症例数を増やし検討、また、再燃・再発例の経過検体による評価。
- (4)感染樹状細胞より放出されるエキソゾームに同定された新規分子の発現調整と免疫学的解析。
- (5)より効率的に結核菌・らい菌の増殖を抑制し得る組換え BCG の改良・評価を行う。
- (6)菌接種サルより採血、鼻腔洗浄液の採取、視診による経時観察を行う。
- (7)ハンセン病を正確に診療できる医師数を増やし、診療のネットワークを拡大する。
- (8)毎年のハンセン病新規患者数および再発患者数の把握。

V. 行政施策への貢献の可能性

- (1)ハンセン病に対する新たな治療法・予防技術(薬剤やワクチン等)の開発。
- (2)化学療法を主たる手段とする現行のハンセン病治療の向上を図ることができる。

- (3) ハンセン病の再燃・再発の可能性のある回復者の事前・早期診断が可能。
- (4) 新たな発想に基づく免疫療法の開発さらに、組換え BCG1 回投与によるハンセン病・結核両者の発症予防は、途上国において大きな福音となる。
- (5) ハンセン病診療体制を構築。
- (6) 社会で生活するハンセン病回復者の医療の充実。
- (7) ハンセン病患者数などを WHO へ報告。

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

研究代表者(向井 徹)

Yokoyama K, Kim H, Mukai T, Matsuoka M, Nakajima C, and Suzuki Y. Impact of Amino Acid Substitutions in B Subunit of DNA Gyrase in *Mycobacterium leprae* on Fluoroquinolone Resistance. PLoS Negl Trop Dis. 6:e1838, 2012.

Makino M and Mukai T. Enhanced activation of T-lymphocytes by urease-deficient recombinant bacillus Calmette-Guérin producing heat shock protein70-major membrane protein-II fusion protein. Jpn J Lepr. 81:199-203, 2012.

研究分担者(鈴木定彦)

Yokoyama K, Kim H, Mukai T, Matsuoka M, Nakajima C and Suzuki Y. Impact of amino acid substitution in B subunit of DNA gyrase in *Mycobacterium leprae* on fluoroquinolone resistance. PLoS Negl Trop Dis. 6: e1838, 2012.

Suzuki Y, Nakajima C, Tamaru A, Kim H, Matsuba T, Saito H. Sensitivities of ciprofloxacin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates to fluoroquinolones: Role of mutant DNA gyrase subunits in drug resistance. Int J Antimicrob Agents. 39:435-439. 2012.

研究分担者(牧野正彦)

Nakata, N, M. Kai and M. Makino. Mutation analysis of mycobacterial *rpoB* genes and rifampicin resistance using recombinant *Mycobacterium smegmatis*. Antimicrob Agents Chemother. 56:2008-2013. 2012.

研究分担者(石井則久)

Mori S, Yotsu RR, Suzuki K, Makino M, Ishii N: Present situation of leprosy in Japan, 2006–2010: Analysis of drug resistance in new registered and relapsed cases by molecular biological methods. J Dermatol Sci. 67:192-194, 2012.

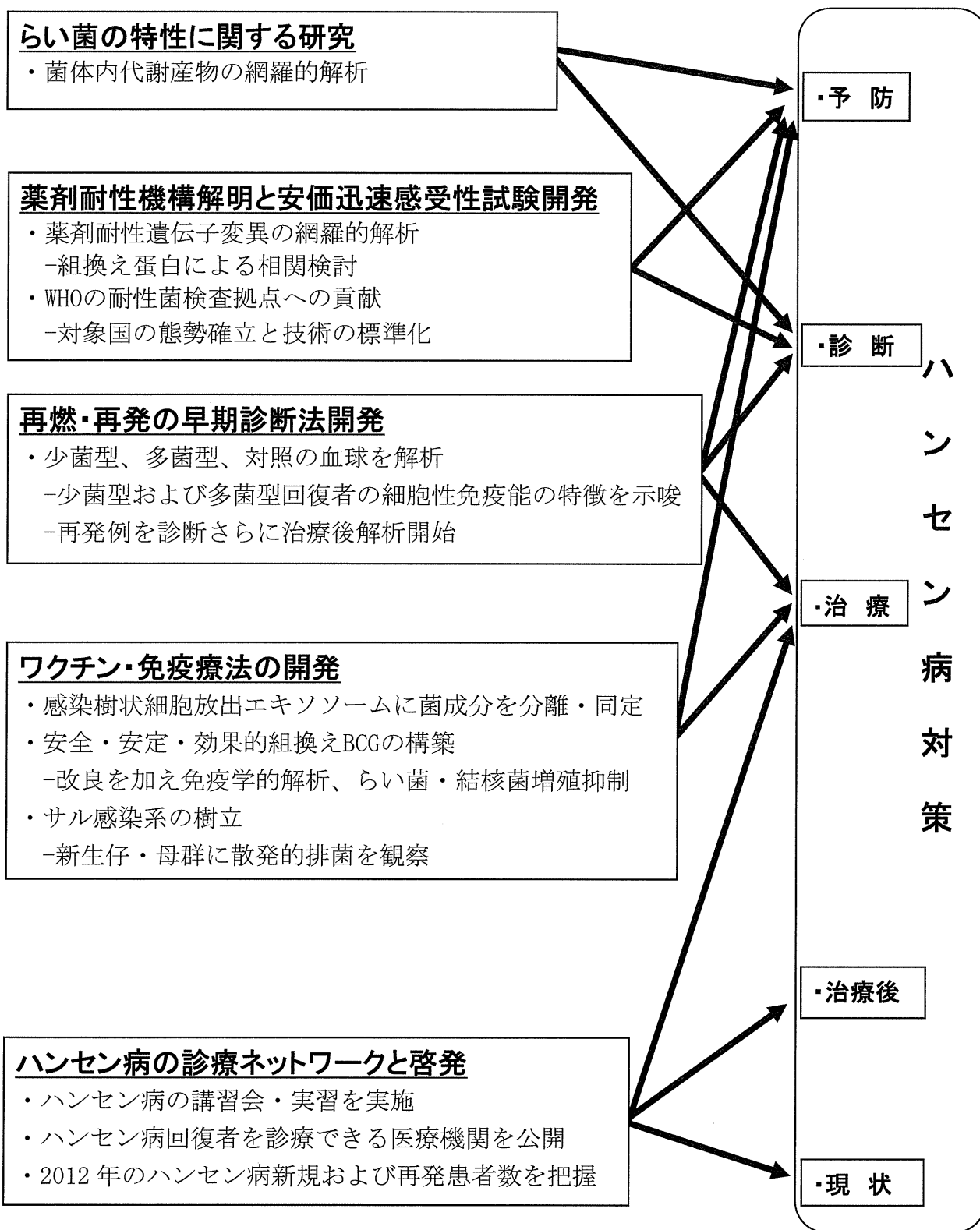
研究協力者(松岡正典)

Rocha AS, Cunha MG, Diniz L, Salgado C, Aires MA, Nery JA, Gallo E, Miranda A, Magnanini M, Matsuoka M, Sarno E, Sufys P and Oliveira M. Drug and multiple-drug resistance among *Mycobacterium leprae* isolates from Brazilian relapsed leprosy patients. J Clin Microbiol. 50:1912-1917, 2012.

Cambau E, Nevejans AC, Tejmar-Kolar L, Matsuoka M and Jarier V. Detection of antibiotic resistance in leprosy using GenoType®Leprae DR, a novel ready-to-use molecular test. PLoS Negl Trop Dis. 6: e1739, 2012.

Khin S.A., Yin T.N.O., Kyaw K., Aye .A. W., Matsuoka M. Genotyping of *Mycobacterium leprae* in Myanmar and supposed transmission mode. Jpn J Lepr. 81:191-198, 2012.

Ⅶ. Ⅲ (1年間の研究成果)の概要図等



●研究代表者の研究歴等

・過去に所属した研究機関の履歴

大阪大学 歯学部 口腔細菌学講座	昭和 63年4月～平成 2年3月
大阪大学 微生物病研究所 麻疹部門	平成 2年4月～平成 8年2月
米国カリフォルニア大学サンディエゴ校 医科学部	平成 8年3月～平成10年7月
北海道大学 免疫科学研究所 血清学部門 (教授転任)	平成10年7月～平成11年2月
大阪大学 微生物病研究所 ウイルス免疫分野	平成11年2月～平成13年3月
国立感染症研究所 ハンセン病研究センター 感染制御部	平成13年4月～現在

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

浜田茂幸、山西弘一、生田和良、牧野正彦

・主な研究課題

ヒトヘルペスウイルス6型、7型 (HHV-6, -7) に関する研究

HIV-1 に関する研究

抗酸菌症に関する研究 (ワクチン開発、遺伝子検出法開発) (現在)

・これまでの研究実績

- 1) Yokoyama K, Kim H, Mukai T, Matsuoka M, Nakajima C, and Suzuki Y. Impact of Amino Acid Substitutions in B Subunit of DNA Gyrase in *Mycobacterium leprae* on Fluoroquinolone Resistance. *PLoS Negl Trop Dis*. 6:e1838, 2012.
- 2) Makino M and Mukai T. Enhanced activation of T-lymphocytes by urease-deficient recombinant bacillus Calmette-Guérin producing heat shock protein70-major membrane protein-II fusion protein. *Jpn J Lepr*. 81:199-203, 2012.
- 3) Yokoyama K, Kim H, Mukai T, Matsuoka M, Nakajima C, Suzuki Y. Amino acid substitutions at position 95 in GyrA can add fluoroquinolone resistance to *Mycobacterium leprae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 56:697-702, 2012
- 4) Maeda Y, Tamura T, Fukutomi Y, Mukai T, Kai M, Makino M. A lipopeptide facilitate induction of *Mycobacterium leprae* killing in host cells. *PLoS Negl Trop Dis* 5:e1401, 2011.
- 5) Tsukamoto Y, Endoh M, Mukai T, Maeda Y, Tamura T, Kai M, Makino M. Immunostimulatory activity of major membrane protein II from *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin Vaccine Immunol*. 2011, 18:235-42.
- 6) Miyamoto, Y, T. Mukai, T. Naka, N. Fujiwara, Y. Maeda, M. Kai, S. Mizuno, I. Yano, and M. Makino. Novel rhamnosyltransferase involved in biosynthesis of serovar 4-specific glycopeptidolipid from *Mycobacterium avium* complex. *J Bacteriol*, 192: 5700-5708. 2010.
- 7) Mukai, T., Y. Maeda, T. Tamura, M. Matsuoka, Y. Tsukamoto, and M. Makino. Enhanced activation of T lymphocytes by urease-deficient recombinant Bacillus Calmette-Guérin producing heat shock protein 70-major membrane protein-II fusion protein. *J Immunol*, 185: 6234-6243. 2010.
- 8) Hayashi, D., T. Takii, T. Mukai, M. Makino, E. Yasuda, Y. Horita, R. Yamamoto, A. Fujiwara, K. Kanai, M. Kondo, A. Kawarazaki, I. Yano, S. Yamamoto, and K. Onozaki. Biochemical characteristics among *Mycobacterium bovis* BCG substrains. *FEMS Microbiol Lett*, 306: 103-109. 2010.
- 9) Mukai, T., Y. Maeda, T. Tamura, M. Matsuoka, Y. Tsukamoto, and M. Makino. Induction of cross-priming of naïve CD8+ T lymphocytes by recombinant Bacillus Calmette-Guérin that secretes heat shock protein 70-major membrane protein-II fusion protein. *J Immunol*, 183:6561-6568. 2009.

平成24年度 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業 『成果概要』

研究課題： 新たな薬剤耐性菌の耐性機構の解明及び薬剤耐性菌の
サーベイランスに関する研究

課題番号： H24-新興-一般-011

予定期間： H24年度からH26年度まで

研究代表者： 柴山恵吾

所属研究機関： 国立感染症研究所

所属部局： 細菌第二部

職名： 部長

年次別研究費(交付決定額)：1年目 45,950,000 円

I. 研究の意義

- (1) 新型の耐性菌が次々と出現し、また既存の耐性菌も増加していて、実態の把握が必要である。
- (2) 新型耐性菌の耐性機序や流行のメカニズムが未解明で、それらの検査法も確立されていない。
- (3) 薬剤耐性菌による院内感染対策に活用するための分かりやすい情報が求められている。
- (4) 薬剤耐性菌の分離率や感染症の罹患率で明らかでないものがある。

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) 新型耐性菌や、流行株の国内における出現状況、蔓延状況が分子疫学的に把握できる。
- (2) 新型薬剤耐性菌の薬剤耐性機構が解明できる。新規抗菌薬開発にもつながる。
- (3) 特に注意を要する耐性菌が明らかになり、その検査法や解析法も確立できる。
- (4) 院内感染対策サーベイランス(JANIS)事業の情報を活用して院内感染対策の効率化が出来る。
- (5) JANIS 情報からワクチンの導入効果の評価や、薬剤耐性菌の動向を把握出来る。

III. 1年間の研究成果

・研究代表者(柴山恵吾)

- (1) JANIS 参加医療機関やその他の医療機関の協力を得て、菌株の収集を行った。
- (2) 海外で蔓延しているNDM-1型、KPC型、OXA-48型カルバペネマーゼ産生菌が既に国内に流入していることを確認した。また世界で初めて人からTMB-1型カルバペネマーゼ産生菌を分離した。
- (3) 新型カルバペネマーゼSMB-1を結晶化し、X線結晶構造解析によりその分子構造を解明した。
- (4) アウトブレイクを起こしやすい多剤耐性アシネトバクターの型の迅速検出法を考案した。

・研究分担者(荒川宜親)

- (1) ペニシリン低感受性B群レンサ球菌(PRGBS)は、ペニシリンに加え、フルオロキノロンやマクロライドにも同時に耐性を示す傾向が強く、院内感染も起すことを明らかにした。

・研究分担者(飯沼由嗣)

- (1) 東海北陸地区の医療機関の多剤耐性緑膿菌(MDRP)とMRSA菌株を収集し、分子疫学調査を行った。
- (2) MDRP、MRSAのTB-POT型別法の改良を行った。

・研究分担者(大西真)

(1) 侵襲性感染および呼吸器感染肺炎球菌の血清型と薬剤感受性を解析し、データの蓄積を行った。

・研究分担者(北島博之)

(1) 新 NICU 診断基準と感染症入力シートを作成し、全国の NICU へ配布するとともに新生児感染対策研究会ホームページからダウンロード出来るようにした。 <http://plaza.umin.ac.jp/~nippon/>

・研究分担者(切替照雄)

(1) 多剤耐性緑膿菌臨床分離株より新規アミノグリコシド耐性遺伝子 AAC(6')-Iaj を同定した。またその耐性菌を迅速に検出するイムノクロマトキットを作成した。

・研究分担者(黒崎博雅)

(1) 新規メタローβ-ラクタマーゼ KHM-1 の分子構造を決定し、阻害剤の分子設計と合成を行った。

・研究分担者(佐多徹太郎)

(1) 臨床由来アシネトバクター属について新たに考案した菌種同定法の評価を実施した。

・研究分担者(鈴木里和)

(1) JANIS 情報の解析から近年髄液からの *Haemophilus influenzae* の分離率が著明に低下していることが分かった。

・研究分担者(舘田一博)

(1) カルバペネム耐性アシネトバクターのイムノクロマトフラフィー法による検出キットの評価を行った。そして評価結果に基づきキットの改良と、それに必要な菌の解析を行った。

・研究分担者(富田治芳)

(1) 新規のバンコマイシン耐性遺伝子 VanN を持つ VRE 株を国内で初めて発見した。

・研究分担者(長沢光章)

(1) JANIS データで解析していない薬剤耐性菌 (MDRP、MDRA、2 剤耐性菌などや、NDM-1、KPC、OXA-48 型カルバペネマーゼ産生菌) の集計方法、及び精度管理の検討を行った。

・研究分担者(藤本修平)

(1) 2DCM-web、epi-curve 機能の改良 (集計期間幅の可変性) を行った。

・研究分担者(松本智成)

(1) 市中感染型 MRSA は、院内感染型に比べて防腐剤に抵抗性が高いことを明らかにした。

・研究分担者(山根一和)

(1) プラスミド性フルオロキノロン耐性遺伝子 *qepA* の簡便な LAMP 法による検査法を開発した。

(2) 岡山県下の中小規模病院における院内感染対策の現状と、微生物検査の現状を調査した。

・研究分担者(山本友子)

(1) 国内で分離された肺炎球菌で、テリスロマイシンに非感性的の株があることが分かった。耐性メカニズムは *ermB* 遺伝子の発現が亢進し、rRNA がメチル化されることによることが分かった。

IV. 平成 25~26 年度の課題

(1) JANIS 参加医療機関に協力を依頼し、菌株を幅広く継続的に収集出来る体制を構築する。

(2) 新型耐性菌の国内での発生動向を把握し、耐性機構の解明や検査法を開発する。

(3) JANIS データを現場で感染対策により効率的に活用するための方法を検討していく。また現在

JANIS が対象としていない中小医療機関のサーベイランスのあり方を検討する。

(4) JANIS データを利用して、Hib などのワクチン導入効果や公開情報として集計していない耐性菌の罹患率を解析する。

V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) 新型耐性菌に関する国内状況について情報を発信し、医療機関に注意喚起することが出来る。
- (2) 薬剤耐性菌やその他の菌による感染症に関わる施策の決定に科学的根拠を提供出来る。
- (3) 医療機関で発生する医療関連感染症の低減化に貢献出来る。

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

研究代表者 柴山恵吾

- (1) Rimbara E, Mori S, Matsui M, Suzuki S, Wachino JI, Kawamura Y, Shen Z, Fox JG, Shibayama K. Molecular epidemiologic analysis and antimicrobial resistance of *Helicobacter cinaedi* isolated from 7 hospitals in Japan. *J Clin Microbiol.* 2012, in press
- (2) Wachino JI, Yamaguchi Y, Mori S, Kurosaki H, Arakawa Y, Shibayama K. Structural Insights into the Subclass B3 Metallo- β -Lactamase, SMB-1, and the Mode of Inhibition by the Common Metallo- β -Lactamase Inhibitor, Mercaptoacetate. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012 in press

研究分担者 荒川宜親

- (1) Kimura K, Nagano N, Nagano Y, Suzuki S, Wachino JI, Shibayama K, Arakawa Y. High frequency of fluoroquinolone- and macrolide-resistant streptococci among clinically isolated group B streptococci with reduced penicillin susceptibility. *J Antimicrob Chemother.* 2012, in press

研究分担者 館田一博

- (1) Kouyama Y, Harada S, Ishii Y, Saga T, Yoshizumi A, Tateda K, Yamaguchi K. Molecular characterization of carbapenem-non-susceptible *Acinetobacter* spp. in Japan: predominance of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clonal complex 92 and IMP-type metallo- β -lactamase-producing non-baumannii *Acinetobacter* species. *J Infect Chemother.* 8(4):522-528. 2012.

研究分担者 切替照雄

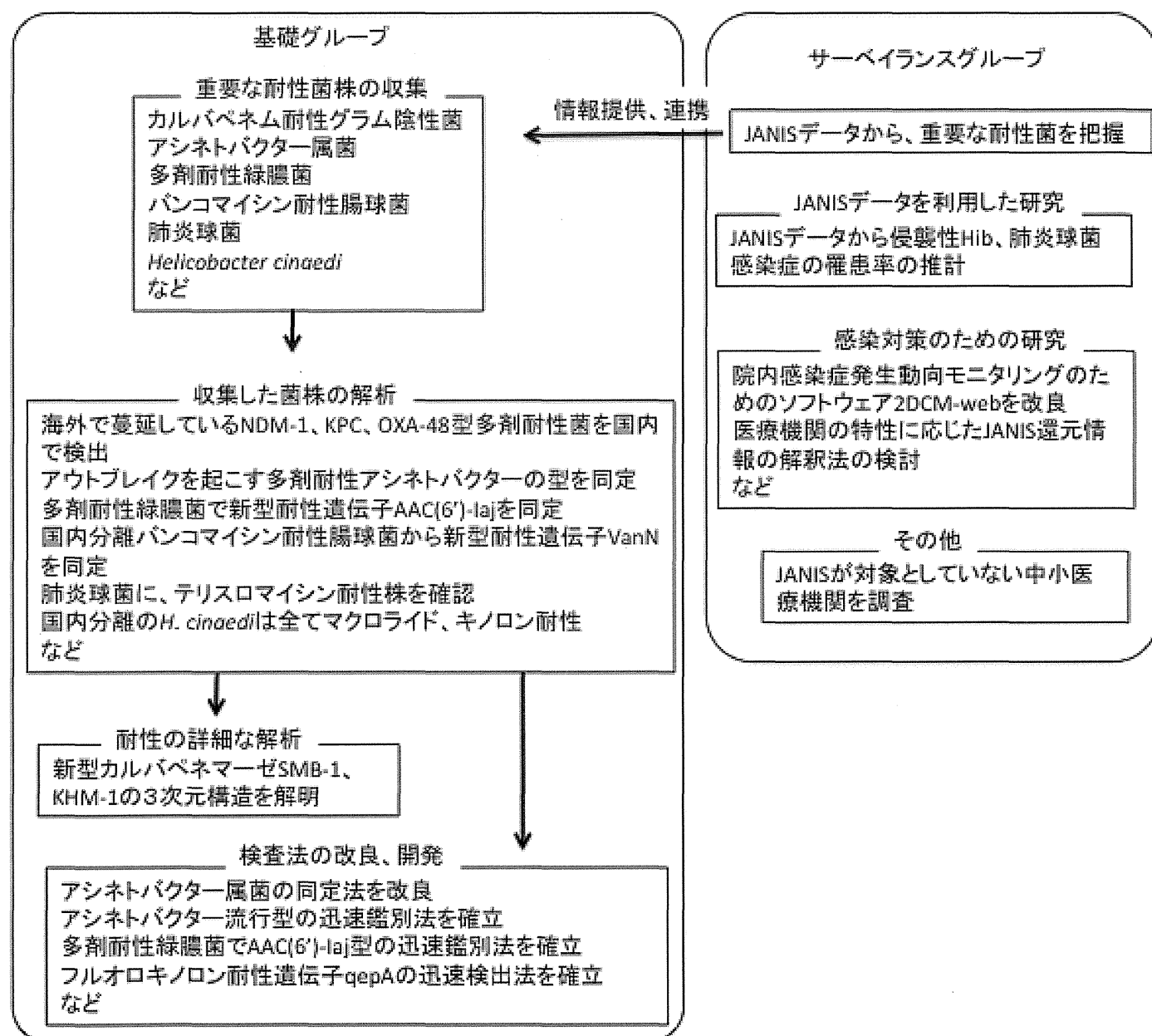
- (1) Tada T, Miyoshi-Akiyama T, Shimada K, Shimojima M, Kirikae T. Novel 6'-N-Aminoglycoside Acetyltransferase, AAC(6')-Iaj, from a clinical isolate of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012 in press.

研究分担者 富田治芳

- (1) T. Nomura, K. Tanimoto, K. Shibayama, Y. Arakawa, S. Fujimoto, Y. Ike, H. Tomita, Identification of VanN-type vancomycin resistance in and *Enterococcus faecium* isolates from chicken meat in Japan. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy,* 2012.

Ⅶ. Ⅲ (1年間の研究成果)の概要図等

※ポンチ絵等でわかりやすく簡潔に説明してください。



●研究代表者の研究歴等

・過去に所属した研究機関の履歴

平成6年4月から平成11年3月まで 名古屋大学医学部細菌学講座

平成11年4月から現在まで 国立感染症研究所細菌第二部

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

荒川宜親

・主な研究課題

病原細菌の新型の薬剤耐性に関する基礎研究と応用研究

JANIS データを利用した薬剤耐性菌の疫学解析と、病原体解析による分子疫学、外国との比較

ヘリコバクターピロリの新規病原因子の精製と同定、作用メカニズムの解明

新規抗菌薬の開発

ワクチンの導入効果の評価、及びワクチンの安全性及び品質保証に関する研究

・これまでの研究実績

1: Kimura K, Nagano N, Nagano Y, Suzuki S, Wachino JI, Shibayama K, Arakawa Y.

High frequency of fluoroquinolone- and macrolide-resistant streptococci among clinically isolated group B streptococci with reduced penicillin susceptibility. J Antimicrob Chemother. 2012 in press.

2: Tran HH, Wertheim H, Minh NB, Duong TN, Anh DD, Phuong TT, Son TH, Izumiya H, Ohnishi M, Shibayama K, Hien NT. Carbapenem resistant Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae containing New Delhi Metallo-Beta-Lactamase isolated from two patients in Vietnam. J Clin Microbiol. 2012 in press.

3: Wachino JI, Yamaguchi Y, Mori S, Kurosaki H, Arakawa Y, Shibayama K.
Structural Insights into the Subclass B3 Metallo-β-Lactamase, SMB-1, and the Mode of Inhibition by the Common Metallo-β-Lactamase Inhibitor, Mercaptoacetate. Antimicrob Agents Chemother. 2012 in press.

4: Nomura T, Tanimoto K, Shibayama K, Arakawa Y, Fujimoto S, Ike Y, Tomita H. Identification of VanN-Type Vancomycin Resistance in an Enterococcus faecium Isolate from Chicken Meat in Japan. Antimicrob Agents Chemother. 2012 Dec;56(12):6389-92.

5: Kenri T, Ohya H, Horino A, Shibayama K. Identification of Mycoplasma pneumoniae type 2b variant strains in Japan. J Med Microbiol. 2012 Nov;61(Pt11):1633-5.

6: Kamiya H, Otsuka N, Ando Y, Odaira F, Yoshino S, Kawano K, Takahashi H, Nishida T, Hidaka Y, Toyozumi-Ajisaka H, Shibayama K, Kamachi K, Sunagawa T, Taniguchi K, Okabe N. Transmission of *Bordetella holmesii* during pertussis outbreak, Japan. *Emerg Infect Dis*. 2012 Jul;18(7):1166-9.

7: Rimbara E, Mori S, Matsui M, Suzuki S, Wachino J, Kawamura Y, Shen Z, Fox JG, Shibayama K. Molecular epidemiologic analysis and antimicrobial resistance of *Helicobacter cinaedi* isolated from seven hospitals in Japan. *J Clin Microbiol*. 2012 Aug;50(8):2553-60.

8: Sekizuka T, Yamamoto A, Komiya T, Kenri T, Takeuchi F, Shibayama K, Takahashi M, Kuroda M, Iwaki M. *Corynebacterium ulcerans* 0102 carries the gene encoding diphtheria toxin on a prophage different from the *C. diphtheriae* NCTC 13129 prophage. *BMC Microbiol*. 2012 May 14;12:72.

9: Otsuka N, Yoshino S, Kawano K, Toyozumi-Ajisaka H, Shibayama K, Kamachi K. Simple and specific detection of *Bordetella holmesii* by using a loop-mediated isothermal amplification assay. *Microbiol Immunol*. 2012 Jul;56(7):486-9.

10: Wachino J, Yamaguchi Y, Mori S, Yamagata Y, Arakawa Y, Shibayama K. Crystallization and preliminary X-ray analysis of the subclass B3 metallo- β -lactamase SMB-1 that confers carbapenem resistance. *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun*. 2012 Mar 1;68(Pt 3):343-6.

11: Otsuka N, Han HJ, Toyozumi-Ajisaka H, Nakamura Y, Arakawa Y, Shibayama K, Kamachi K. Prevalence and genetic characterization of pertactin-deficient *Bordetella pertussis* in Japan. *PLoS One*. 2012;7(2):e31985.

12: Kenri T, Horino A, Matsui M, Sasaki Y, Suzuki S, Narita M, Ohya H, Okazaki N, Shibayama K. Complete genome sequence of *Mycoplasma pneumoniae* type 2a strain 309, isolated in Japan. *J Bacteriol*. 2012 Mar;194(5):1253-4.

13: Nagano N, Nagano Y, Toyama M, Kimura K, Tamura T, Shibayama K, Arakawa Y. Nosocomial spread of multidrug-resistant group B streptococci with reduced penicillin susceptibility belonging to clonal complex 1. *J Antimicrob Chemother*. 2012 Apr;67(4):849-56.

14: Wachino J, Yoshida H, Yamane K, Suzuki S, Matsui M, Yamagishi T, Tsutsui A, Konda T, Shibayama K, Arakawa Y. SMB-1, a novel subclass B3 metallo-beta-lactamase, associated with ISCR1 and a class 1 integron, from a carbapenem-resistant *Serratia marcescens* clinical isolate. *Antimicrob Agents Chemother*.

2011 Nov;55(11):5143-9.

15: Kimura K, Nagano N, Nagano Y, Wachino J, Suzuki S, Shibayama K, Arakawa Y. Predominance of sequence type 1 group with serotype VI among group B streptococci with reduced penicillin susceptibility identified in Japan. *J Antimicrob Chemother.* 2011 Nov;66(11):2460-4.

16: Mori S, Shibayama K, Wachino J, Arakawa Y. Structural insights into the novel diadenosine 5', 5'-P¹, P⁴-tetrphosphate phosphorylase from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *J Mol Biol.* 2011 Jul 1;410(1):93-104.

17: Shibayama K, Takeuchi H, Wachino J, Mori S, Arakawa Y. Biochemical and pathophysiological characterization of *Helicobacter pylori* asparaginase.

Microbiol Immunol. 2011 Jun;55(6):408-17.

18: Markey K, Ho MM, Choudhury B, Seki M, Ju L, Castello-Branco LR, Gairola S, Zhao A, Shibayama K, Andre M, Corbel MJ. Report of an international collaborative study to evaluate the suitability of multiplex PCR as an identity assay for different sub-strains of BCG vaccine. *Vaccine.* 2010 Oct 8;28(43):6964-9.

19: Wachino J, Shibayama K, Kimura K, Yamane K, Suzuki S, Arakawa Y. *RmtC* introduces G1405 methylation in 16S rRNA and confers high-level aminoglycoside resistance on Gram-positive microorganisms. *FEMS Microbiol Lett.* 2010 Oct;311(1):56-60.

20: Minauchi K, Takahashi S, Sakai T, Kondo M, Shibayama K, Arakawa Y, Mukai M. The nosocomial transmission of *Helicobacter cinaedi* infections in immunocompromised patients. *Intern Med.* 2010;49(16):1733-9.

21: Wachino J, Shibayama K, Suzuki S, Yamane K, Mori S, Arakawa Y. Profile of Expression of *Helicobacter pylori* gamma-glutamyltranspeptidase. *Helicobacter.* 2010 Jun;15(3):184-92.

22: Kawamura-Sato K, Yoshida R, Shibayama K, Ohta M. Virulence genes, quinolone and fluoroquinolone resistance, and phylogenetic background of uropathogenic *Escherichia coli* strains isolated in Japan. *Jpn J Infect Dis.* 2010 Mar;63(2):113-5.

23: Mori S, Shibayama K, Wachino J, Arakawa Y. Crystallization and preliminary X-ray analysis of the diadenosine 5', 5''-P¹, P⁴-tetrphosphate phosphorylase from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun.* 2010 Mar 1;66(Pt 3):279-81.

24: Mori S, Shibayama K, Wachino J, Arakawa Y. Purification and molecular characterization of a novel