

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

分担課題 グラム陽性菌の新型薬剤耐性に関する研究

研究分担者 山本友子（千葉大学大学院薬学研究院・微生物薬品化学・教授）
研究協力者 高屋明子（千葉大学大学院薬学研究院・微生物薬品化学・准教授）
佐藤慶治（千葉大学大学院薬学研究院・微生物薬品化学・助教）
石和田稔彦（千葉大学医学部附属病院・感染症管理治療部・講師）

研究要旨

本研究では、国内の肺炎球菌のケトライド耐性化の現況、新型耐性機構並びに耐性伝播機構を解明することを目的として、2009~2010 年に全国の医療機関で分離された 500 株の肺炎球菌について テリスロマイシン（ケトライド系抗菌薬）耐性に関する多面的な研究を行い、テリスロマイシン耐性菌がわずかながら出現していることを明らかにした。耐性機構に関する分子遺伝学的解析を行い、テリスロマイシン耐性の主要因は高発現 *ermB* 遺伝子の獲得であることを明らかにした。さらに、内因性メチル化酵素 R1mA^{II} と R1mCD の欠損によりテリスロマイシン耐性をもたらすことを見出した。本研究は肺炎球菌ケトライド高度耐性菌出現の予知情報提供に貢献すると期待できた。一方、リネゾリドは日本ではじめて承認された VRE 感染症薬、4 番目の抗 MRSA 薬である。本研究では、国内の臨床より分離されたリネゾリド耐性ブドウ球菌の耐性機構について研究を行い、rRNA の変異の蓄積が耐性の上昇をもたらすこと、さらに内因性メチル化酵素 R1mN の欠損が耐性に関連することを明らかにした。

A. 研究目的

呼吸器感染症の主要な起因菌である肺炎球菌の多剤耐性化が進行し、なかでも繁用されるマクロライド系抗菌薬に対する高度耐性化が深刻な問題となっている。テリスロマイシン（TEL）はマクロライド高度耐性菌にも有効なケトライド系抗菌薬で、マクロライド耐性肺炎球菌性肺炎の治療に使用されてきたが、既に欧米では TEL 低感受性肺炎球菌の増加と高度耐性菌が報告されている。一方、リネゾリド（LZD）は日本ではじめて承認された VRE 感染症薬（2001 年）、4 番目の抗 MRSA 薬（2007 年）である。欧米ではすでに高度耐性を含む耐性菌の分離が報告されていることから我が国での出現と

増加が懸念されている。これらの耐性菌の増加を防止する為に調査と監視を継続しつつ、さらに実効ある対策を講じる事が急務となっている。本研究では、肺炎球菌の TEL 耐性化と広範なグラム陽性菌の LZD 耐性化の現況を明らかにし、新型耐性機構と耐性因子の伝播機構の解明をめざす。

B. 研究方法

1. MIC（最小発育阻止濃度）については CLSI 法に準じて測定した。培地は血液寒天培地（ミューラーヒントン寒天培地 + 5% 馬脱繊維血）を用い、37°C、5% CO₂ 存在下で培養した。
2. 薬剤：TEL は、ケテック錠（サノフィ・

アベンティス)から抽出後、再結晶化した。構造はC-13NMRにより確認し、力価は、ATCC29213株を用いてMIC測定とディスクアベンティス)から抽出後、再結晶化した。構造はC-13NMRにより確認し、力価は、ATCC29213株を用いてMIC測定とディスク拡散法によって評価したLZDはPfizerより提供された。その他の薬剤は市販のものを用いた。

3. PCR, DNA塩基配列決定は定法に従った。
4. Primer extension法によるrRNAメチル化の検討は、我々の確立した方法を用いた (Antimicrob. Agents Chemother. 2013, 57:3789-3796)。

倫理面への配慮

本研究で得られる菌株は、分離した医療機関において、連結可能匿名化することにより、研究者に患者の特定ができないよう配慮した。また、研究成果の発表にあたっては、患者の氏名などは一切公表しないこととする。

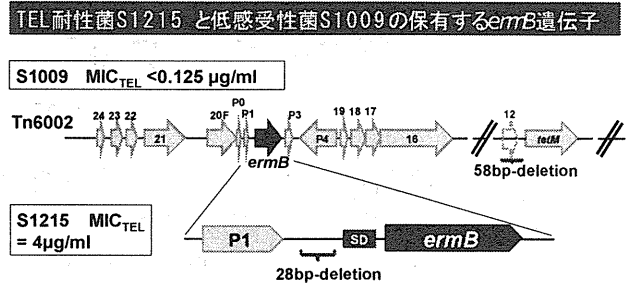
C. 研究結果

I 肺炎球菌のテリスロマイシン耐性機構

- (1) 2009年～2010年に全国の医療機関で分離された500株の肺炎球菌からTEL耐性菌1株を検出した。
- (2) S1215 (MIC=4 μg/ml)のTEL耐性の主要因は、*ermB*がコードするメチラーゼによる23S rRNA A2058のメチル化であった。*ermB*遺伝子の構造遺伝子とリーダーペプチド遺

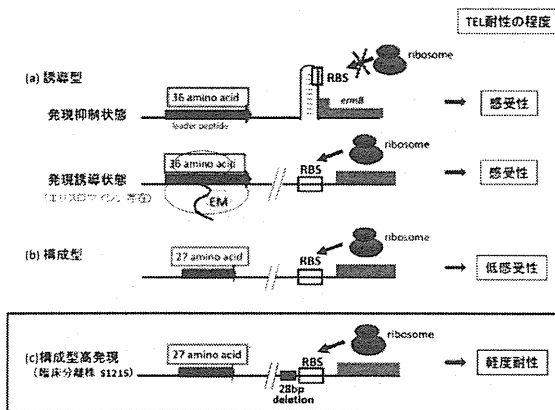
伝子の間に28bpの欠失がErmBメチラーゼ高発現を引き起こし、TEL耐性をもたらしたと推論できた。

(3) S1215の*ermB*遺伝子はTn6002様トランスポゾンによって伝搬することを明らかにした。

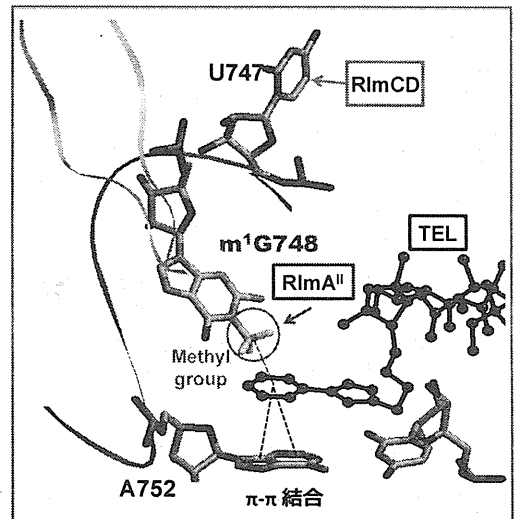


(4) 肺炎球菌の新型テリスロマイシン耐性機構を見出した。すなわち23S rRNAのG748位を修飾する内因性メチル化酵素RlmA^{II}ならびにU747位をメチル化するRlmCDの変異がTEL高度耐性をもたらすことを明らかにした。RlmCDによるU747のメチル化はRlmA^{II}によるG748のメチル化を促進した。遺伝生物学的解析および構造エネルギー計算によりRlmA^{II}によるG748位のメチル化がテリスロマイシンのA752位への結合を強め、この安定した結合が肺炎球菌に対する強い抗菌活性の主要因であることを明らかにした。

ermB 構成型高発現変異による肺炎球菌のエリスロマイシン軽度耐性化

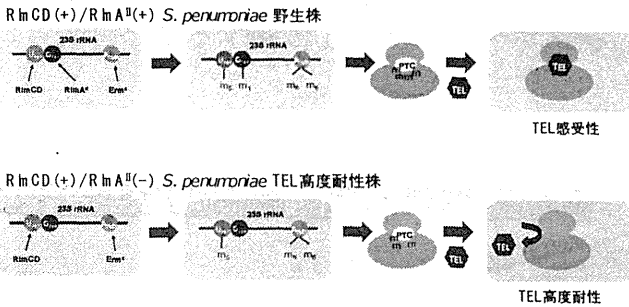


ermB の翻訳制御モデルとTEL耐性
(a)誘導型、(b)構成型、(c)構成型高発現



RlmA^{II}とRlmCDによる23S rRNAのメチル化とTELの結合

ermB の獲得と内因性 rRNA メチル化システムの崩壊により肺炎球菌はテリスロマイシン高度耐性となる。



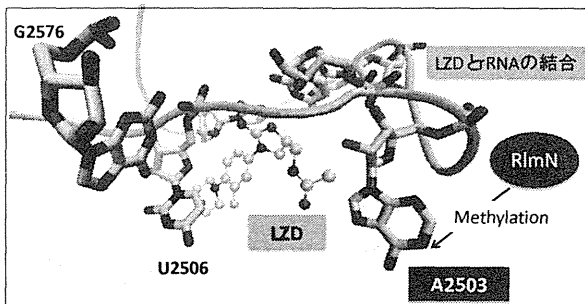
II ブドウ球菌ののリネゾリド耐性機構

2014年に、国内の1臨床機関において病巣より分離された6株のLZD耐性 coagulase-negative *Staphylococcus* (CoNS) について耐性関連因子を解析し、rRNAの変異 G7526U の蓄積が耐性の高度化をもたらすことを明らかにした。

臨床分離 2012年~2014年)リネゾリド耐性CoNSの耐性関連因子

strain	Collection date (month/year)	Clinical sample	MIC _{LZD} (μg/mL)	Mutations in 23S rRNA domain V allele sequence					
				rIIA	rIIB	rIIC	rIID	rIIE	rIIF
I-0553	May-2012	Vascular catheter	8	-	-	-	G2576U	G2576U	G2576U
I-0676	Jun-2012	Digestive organ	16	-	-	-	G2576U	G2576U	G2576U
I-1184	Sep-2012	Vascular catheter	16	G2576U	-	G2576U	G2576U	G2576U	G2576U
I-2648	Dec-2013	Blood culture	32	deletion	-	G2576U	G2576U	G2576U	G2576U
I-0507	Apr-2014	Vascular catheter	32	deletion	G2576U	G2576U	G2576U	G2576U	G2576U

CoNS: Coagulase-negative *Staphylococcus*



ブドウ球菌のRlmNによりメチル化されたrRNAとリネゾリド(LZD)の結合安定性

さらに内因性 rRNA の A2503 をメチル化する酵素 RlmN の欠損が LZD 耐性に関連することを明らかにした。図に構造エネルギー

計算より算出したメチル化 rRNA と LZD の結合安定性を示した。これに基づき、内因性 rRNA メチル化酵素によって修飾された 23SrRNA と LZD との結合について下記のよう推論することができた。

内因性メチル化酵素 RlmN は A2503 を修飾するが、この修飾は LZD とその標的 U2506 との相互作用に影響する。RlmN の変異は LZD と標的 U2506 との結合を弱め、耐性をもたらすと考えられる。

D. 考察

(1) 肺炎球菌のテリスロマイシン耐性は外来性の rRNA メチル化酵素 *ermB* の獲得と内因性 rRNA メチル化酵素の欠失によりもたらされると考えられた。RlmCD とそれに続く RlmA^{II} による段階的な rRNA 修飾が TEL の標的への結合を強め、肺炎球菌の TEL 感受性に寄与すると推論できる。

(2) 臨床より分離された CNS の LZD 耐性は、標的の rRNA の変異に蓄積と RlmN の欠損によりもたらされたと考えられた。内因性 RlmN による rRNA の修飾が、LZD の標的への結合すなわち LZD 感受性に関与すると推論できる。

E. 結論

肺炎球菌は外来性 *ermB* メチル化酵素遺伝子の獲得と、23S rRNA の Hairpin35 領域の RlmCD と RlmA^{II} メチル化システムの欠損によってもたらされることが明らかとなった。本研究で解明した TEL の新型耐性機構は、ケトライド耐性肺炎球菌の出現の予知情報の提供に貢献するものである。さらに本研究結果は、国内の臨床において LZD 耐性化が進行していることを明らかにした。23S rRNA を標的とする抗菌薬の作用には、内因性の修飾酵素による rRNA のメチル化が深く関わることを明らかにした。

本研究結果はリボソーム標的抗菌薬に共通する新型耐性機構を明らかにしたと同時に、新規リボソーム標的抗菌薬開発に重要な理論を提供するものである。

F. 健康危険情報

国内の臨床においてLDZ耐性化が進行している。それらを防止する為に調査と監視を継続しつつ、実効ある対策が必要である。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Takaya A, Kimura A, Sato Y, Ishiwada N, Watanabe M, Matsui M, Shibayama K, Yamamoto T. Molecular characterization of linezolid-resistant CoNS isolates in Japan. *J. Antimicrob. Chemother.* 69(11)
Doi:10.1093/jac/dku443

2) Takaya A, Sato Y, Shoji T, Yamamoto T. Methylation of 23S tRNA nucleotide G748 by RlmA^{II} methyltransferase renders *Streptococcus pneumoniae* telithromycin susceptible. *Antimicrob. Agents Chemother.* 57:3789-3796 (2013)

2. 学会発表

1) 高屋明子. グラム陽性菌の内因性 rRNA 修飾と薬剤耐性. 感染症研究グローバルネットワークフォーラム 2014, 2014

2) 高屋明子, 木村旭, 佐藤慶治, 石和田稔彦, 渡辺正治, 松井真理, 柴山恵吾, 山本友子. 臨床由来コアグラウゼ陰性ブドウ球菌のリネゾリド耐性機構. 第43回薬剤耐性菌研究会, 2014

3) 庄司竜麻, 高屋明子, 木村聡, 鈴木勉, 佐藤慶治, 山本友子. 肺炎球菌のテリスロマイシン感受性に寄与する rRNA 内因性修飾. 第97回日本細菌学会関東支部総会, 2014

4) Takaya A, Kimura Y, Sato Y, Yamamoto T. Genetical Assessment of Linezolid Resistance Mechanisms in *Staphylococcus capitis* Isolated Clinically. *Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2014

5) 庄司竜麻, 高屋明子, 佐藤慶治, 山本友

子. 肺炎球菌のテリスロマイシン感受性に寄与する rRNA 段階的修飾. 第87回日本細菌学会総会, 2014

6) 庄司竜麻, 高屋明子, 鈴木勉, 木村聡, 佐藤慶治, 山本友子. 肺炎球菌の rRNA 段階的修飾によるテリスロマイシン感受性. インターラボセミナー, 2014

7) 木村旭, 高屋明子, 石和田稔彦, 渡辺正治, 野村文夫, 山本友子. リネゾリド長期投与におけるリネゾリド耐性 Coagulase-negative *Staphylococcus* の出現と耐性化機構. 第96回日本細菌学会関東支部総会, 2013

8) 庄司竜麻, 高屋明子, 佐藤慶治, 山本友子. 肺炎球菌リボソームと TEL の相互作用におけるリボソーム内因性修飾酵素の影響. 第7回細菌学若手コロッセウム, 2013

9) 庄司竜麻, 高屋明子, 佐藤慶治, 山本友子. RlmA^{II} 不活化に夜肺炎球菌のテリスロマイシン耐性化機構. 第86回日本細菌学会総会, 2013

10) Takaya A, Yamamoto T. Inactivation of RlmA^{II} confers the telithromycin-resistance to *Streptococcus pneumoniae*. *II International Conference on Antimicrobial Research*, 2012

11) 高屋明子, 庄司竜麻, 佐藤慶治, 山本友子. 肺炎球菌のリボソームメチル化とマクロライド・ケトライド耐性. 第41回薬剤耐性菌研究会, 2012

12) Takaya A, Sato Y, Yamamoto T. The antibiotic mechanism of telithromycin in *Streptococcus pneumoniae*. 第85回日本細菌学会総会, 2012

13) Shibata T, Takaya A, Sato Y, Yamamoto T. Mechanism of telithromycin resistance in *Streptococcus pneumoniae* isolated clinically in Japan. 第85回日本細菌学会総会, 2012

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

平成 24-26 年度 研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
山本友子	細菌の進化から考える 抗菌薬耐性:マクロライド耐性	富田治芳	化学療法の領域	医薬ジャーナル社	東京	2014	44-55
山本友子	抗菌薬と化学療法	荒川宜親・神谷茂・柳雄介	病原微生物学：基礎と臨床	東京化学同人	東京	2014	38-60
北島博之	4.感染管理	新生児医療連絡会 第5版	NICU マニュアル	金原出版	東京	2014	61-63.
北島博之	新生児感染症の疫学と起炎菌の変遷	周産期医学編集委員会 責任編集 板橋家頭夫 楠田聡 高橋尚人 名取道也 松原茂樹 宮川智幸	周産期感染症 2014	東京医学社	東京	2014	280-285
堂本友恒 北島博之	3.新生児合併症とその管理 4 章 糖代謝異常妊娠の合併症 2.胎児合併症 B 胎児発育、	難波光義、 杉山隆	「妊娠と糖尿病」母児管理のエッセンス	金芳堂	東京	2013	133-9
北島博之	第3章 ビフィズス菌の臨床応用 II.乳幼児疾患（未熟児を含む）1.早産児	日本ビフィズス菌センター編集委員会 編集総委員長 光岡知足	世紀を超えるビフィズス菌の研究 -その基礎と臨床応用から製品開発へ-	財団法人 日本ビフィズス菌センター	東京	2012	218-23

北島博之	III 新生児編 8. 感染症 1. GBS 感染症 2. 敗血症・髄膜炎 (大腸菌、リステリア) 3. 院内感染症(MRSA)	日本周産期・新生児医学会教育・研修委員会 板橋稼頭夫/ 正岡直樹/宮越敬/五石圭司/早川昌弘/側島久典/朝倉啓文/土岐彰	症例から学ぶ周産期診療ワークブック	メジカルビュー社	東京	2012	1.322-4 2.325-8 3.329-33
北島博之/ 中山雅弘 北島博之 北島博之/ 松岡圭子 北島博之/ 中山雅弘	各論 C 新生児疾患 3. 壊死性腸炎 コラム SGA とトランス脂肪酸 7. 新生児ヘモクロマトーシス 8. 新生児ヘルペス感染症	編集主幹 位田忍/中山雅弘/虫明聡太郎	小児消化器疾患臨床・病理カンファレンス	診断と治療社	東京	2012	3.98-9 コラム 109 7.112-3 8.114-5

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Nomura T, <u>Tanimoto K</u> , Shibayama K, Arakawa Y, Fujimoto S, Ike Y, <u>Tomita H</u>	Identification of VanN-type vancomycin resistance in an <i>Enterococcus faecium</i> isolate from chicken meat in Japan.	Antimicrobial Agents and Chemotherapy	56	6389-6392	2012
Hirakawa H, <u>Tomita H</u>	Interference of bacterial cell-to-cell communication: a new concept of antimicrobial chemotherapy breaks antibiotic resistance.	Frontier Microbiology	4	114	2013
Kurushima J, Hayashi I, Sugai M, <u>Tomita H</u>	Bacteriocin protein BacL1 of <i>Enterococcus faecalis</i> is a peptidoglycan D-isoglutamyl-L-lysine endopeptidase.	Journal of Biological Chemistry	288	36915-36925	2013
Kurabayashi K, Hirakawa Y, <u>Tanimoto K</u> , <u>Tomita H</u> , Hirakawa H	Role of CpxAR two-component signal transduction system in control of fosfomycin resistance and carbon substrate uptake.	Journal of Bacteriology	196	248-256	2014
Kudo M, Nomura T, Yomoda S, <u>Tanimoto K</u> , <u>Tomita H</u> .	Nosocomial infection caused by vancomycin-susceptible multidrug-resistant <i>Enterococcus faecalis</i> over a long period in a university hospital in Japan.	Microbiology and Immunology.	58	607-614	2014
Kurushima J, Nakane D, Nishizaka T, <u>Tomita H</u>	Bacteriocin protein BacL ₁ of <i>Enterococcus faecalis</i> targets cell division loci and specifically recognizes L-Ala ² -crossbridged peptidoglycan.	Journal of Bacteriology.	197	286-295	2015
Kurabayashi K, Hirakawa Y, <u>Tanimoto K</u> , <u>Tomita H</u> , Hirakawa H	Identification of a second two-component signal transduction system that controls fosfomycin tolerance and glycerol-3-phosphate uptake.	Journal of Bacteriology.	197	861-871	2015

Wachino J-I, Yamaguchi, Y, Mori, S, Kurosaki, H, Arakawa, Y, Shibayama, K. Structural insights into the subclass B3 metallo- β -lacta mase SMB-1 and the mode inhibition by the common metallo- β -lacta mase inhibitor mercaptoacetate	Structural insights into the subclass B3 metallo- β -lactamase SMB-1 and the mode inhibition by the common metallo- β -lactamase inhibitor mercaptoacetate	Antimicrob. Agents Chemother.	57(1)	101-1 09	2013
Yamaguchi Y, Matsueda S, Matsunaga K, Takashio N, Toma-Fukai S, Yamagata Y, Shibata N, Wachino J, Shibayama K, Arakawa Y, Kurosaki H	Crystal structure of IMP-2 metallo- β -lactamase from Acinetobacter spp.	Biol. Pharm. Bull.	38(1)	96-10 1	2015
Takaya A, Sato Y, Shoji T, Yamamoto T	Methylation of 23S tRNA nucleotide G748 by RlmA ^{II} methyltransferase renders <i>Streptococcus pneumoniae</i> telithromycin susceptible	Antimicrob. Agents Chemother.	57	3789 -3796	2013
Takaya A, Kimura A, Sato Y, Ishiwada N, Watanabe M, Matsui M, Shibayama K, Yamamoto T	Molecular characterization of linezolid-resistant CoNS isolates in Japan	Journal of Antimicrobial Chemistry	69	Doi:1 0.1093 /jac/dk u443	2014
Tomoshige Matsumoto, Hideo Ogata, Emiko Toyota, Katsuhiko Suzuki, Takefumi Saito, Akira Fujita, Toshinori Suetake, Kinuyo Chikamatsu, Kazu e Mizuno, Satoshi Mitarai	Clinical evaluation of a line probe assay kit for the identification of mycobacterium species and detection of drug-resistant mycobacterium tuberculosis Kekkaku	[Tuberculosis]	88(3)	291-2 96	2013

Tomoshige Matsumoto, Yuriko Koshii, Kazu Sakane, Tomomi Murakawa, Yukio Hirayama, Hisako Yoshida, Masashi Kurokawa, Yoshitaka Tamura, Takayuki Nagai, Ichiro Kawase	A novel approach to automated genotyping of Mycobacterium tuberculosis using a panel of 15 MIRU VNTRs. Journal of microbiological methods	Journal of Mycobacterial Diseases	3:134		2013
Tomoshige Matsumoto, Masahiro Suzuki, Yoshitsugu Iinuma, Shinji Maeda, Hiromi Ano, Yuriko Koshii, Tomomi Murakawa, Koichi Suzuki and Yoshihiko Hoshino	A Molecular Typing Methodology of Mycobacterium tuberculosis using Small Genomic Islet Patterns (TB-SGIP): A Novel Genotyping Methodology to Discriminate Clinical Strains between Beijing Family and T3-OSAKA	Journal of Infectious Diseases and Therapeutics	2	35-45	2014
Tomoshige Matsumoto	Incidence of Influenza after Vaccination in Southeast Osaka, Japan	Journal of Infectious Diseases and Therapeutics	2	5-11	2014
Tomoshige Matsumoto,	Incidence and Number of Reported Deaths due to Tuberculosis during Treatment with Biologic Agent in Japan	Journal of Infectious Diseases and Therapeutics	2	4-4	2014
Tomoshige Matsumoto, Masako Ohno, and Junichi Azuma	Future of pharmacogenetics-based therapy for tuberculosis	Pharmacogenomics	15(5)	1-7	2014
Tomoshige Matsumoto, Yukio Hirayama, Yuka Hisamitsu, Megumi Fukumura, Akemi Hirata, Kumi Tanaka, Masashi Kurokawa, Yoshitaka Tamura, Hisako Yoshida, Koichi Suzuki, Takayuki Nagai, Ichiro Kawase, Yoshihiko Hoshino	Simultaneous and Longitudinal Comparison of Interferon Gamma Release Assay Data from Health Care Workers in Japan	Journal of Mycobacterial Diseases	3:134		2013/ 11

Tada T, Miyoshi-Akiyama T, Dahal RK, Mishra SK, Shimada K, Ohara H, Kirikae T , Pokhrel BM.	Identification of a novel 6'-N-aminoglycoside acetyltransferase, AAC(6')-Iak from a multidrug-resistant clinical isolate of <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> .	Antimicrob Agents Chemother..	58(10)	6324-6327	2014
Tada T, Shrestha B, Miyoshi-Akiyama T, Shimada K, Ohara H, Kirikae T , Pokhrel BM.	NDM-12 a novel New Delhi metallo- β -Lactamase variant from a carbapenem-resistant <i>Escherichia coli</i> clinical isolate in Nepal.	Antimicrob Agents Chemother.	58(10)	6302-6305	2014
Tojo M, Mawatari M, Hayakawa K, Nagamatsu M, Shimada K, Mezaki K, Sugiki Y, Kuroda E, Takeshita N, Kustuna S, Fujiya Y, Miyoshi-Akiyama, Kirikae T , Ohmagari N.	Multidrug-resistant <i>Acinetobacter baumannii</i> isolated from a traveler returned from Brunei.	J Infect Chemother.			in press
Tojo M, Nagamatsu M, Tanaka M, Narahara K, Miyoshi-Akiyama, Kirikae T , Ohmagari N.	Evaluation of an automated rapid diagnostic test for detection of <i>Clostridium difficile</i> .	PLoS One.	9(8):	e106102	2014
Tojo M, Tada T, Shimojima M, Tanaka M, Narahara K, Miyoshi-Akiyama T, Kirikae T , Ohmagari N.	Dissemination in Japan of multidrug-resistant <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isolates producing IMP-type metallo- β -lactamases and AAC(6')-Iae/AAC(6')-Ib.	J Infect Chemother.	20(9)	586-588	2014
Hayakawa K, Miyoshi-Akiyama, Kirikae T , Nagamatsu M, Shimada K, Mezaki K, Sugiki Y, Kuroda E, Kubota S, Takeshita N, Kutsuna S, Tojo M, Ohmagari N	Molecular and epidemiological characterization of IMP-Type metallo- β -lactamase-producing <i>Enterobacter cloacae</i> in a Large Tertiary Care Hospital in Japan.	Antimicrob Agents Chemother.	58(6)	3441-3450	2014
Tojo M, Fujita T, Ainoda Y, Nagamatsu M, Hayakawa K, Mezaki K, Sakurai A, Masui Y, Yazaki H, Takahashi H,	Evaluation of an automated rapid diagnostic assay for detection of Gram-negative bacteria and their drug-resistance genes in positive blood cultures.	PLoS One.	9(4):	e94064	2014

Miyoshi-Akiyama, Totsuka K, Kirikae T , Ohmagari N					
Tada T, Miyoshi-Akiyama T, Shimada K, Kirikae T .	Biochemical analysis of metallo- β -lactamase NDM-3 from a multidrug-resistant <i>Escherichia coli</i> strain isolated in Japan.	Antimicrob Agents Chemother.	58(6)	3538-3540	2014
Tada T, Miyoshi-Akiyama T, Shimada K, Shimojima M, Kirikae T .	Dissemination of 16S rRNA methylase ArmA-producing <i>Acinetobacter baumannii</i> and emergence of OXA-72 carbapenemase-coproducers in Japan.	Antimicrob Agents Chemother.	58(5)	2916-2920	2014
Hashimoto A, Nagamatsu M, Ohmagari N, Hayakawa K, Kato Y, Kirikae T	Isolation of OXA-48 carbapenemase-producing <i>Klebsiella pneumoniae</i> from a traveler returning from a foreign country to Japan.	Jpn J Infect Dis.	67(2)	120-121	2014
Tada T, Miyoshi-Akiyama T, Dahal RK, Sah MK, Ohara H, Shimada K, Kirikae T , Pokhrel BM.	NDM-1 metallo- β -lactamase and ArmA 16S rRNA methylase producing <i>Providencia rettgeri</i> clinical isolates in Nepal.	BMC Infect Dis.	14(1):	56	2014
Hamada Y, Watanabe K, Tada T, Mezaki K, Takeuchi S, Shimizu T, Kirikae T , Ohmagari N.	Three cases of IMP-type metallo- β -lactamase-producing <i>Enterobacter cloacae</i> blood stream infection in Japan.	<i>J Infect Chemother.</i>	19(5)	956-958.	2013
Tada T, Miyoshi-Akiyama T, Dahal RK, Mishra SK, Ohara H, Shimada K, Kirikae T , Pokhrel BM.	Dissemination of multidrug-resistant <i>Klebsiella pneumoniae</i> clinical isolates with various combinations of carbapenemases (NDM-1 and OXA-72) and 16S rRNA methylases (ArmA, RmtC and RmtF) in Nepal.	<i>Int J Antimicrob Agents</i>	42(4)	372-374.	2013
Tada T, Miyoshi-Akiyama T, Shimada K, Shimojima M, Kirikae T .	IMP-43 and IMP-44 metallo- β -lactamases with increased carbapenemase activities in multidrug-resistant <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	<i>Antimicrob Agents Chemother.</i>	57(9)	4427-4432.	2013
Tada T, Miyoshi-Akiyama T, Kato Y, Ohmagari N,	Emergence of 16S rRNA methylase-producing <i>Acinetobacter baumannii</i> and <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isolates in hospitals in	<i>BMC Infect Dis.</i>	13(1)	251.	2013

Takeshita N, Hung NV, Phuong DM, Thu TA, Binh NG, Anh NQ, Nga TT, Truong PH, Xuan PT, Thu LT, Son NT, Kirikae T.	Vietnam.				
Miyoshi-Akiyama T, Hayakawa K, Ohmagari N, Shimojima M, Kirikae T.	Multilocus sequence typing (MLST) for characterization of <i>Enterobacter cloacae</i> .	<i>PLoS One</i>	8(6)	e66358	2013
Tada T, Miyoshi-Akiyama T, Dahal RK, Sah MK, Ohara H, Kirikae T. , Pokhrel BM.	NDM-8 metallo- β -lactamase in a multidrug-resistant <i>Escherichia coli</i> strain isolated in Nepal.	<i>Antimicrob Agents Chemother.</i>	57(5)	2394-2396.	2013
18Tada T, Miyoshi-Akiyama T, Shimada K, Shimojima M, Kirikae T.	Novel 6'-N-Aminoglycoside Acetyltransferase AAC(6')-Iaj from a Clinical Isolate of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	<i>Antimicrob Agents Chemother.</i>	57(1):	96-100.	2013
19Tada T, Miyoshi-Akiyama T, Tanaka M, Narahara K, Shimojima M, Kitao T, Shimada K, Kirikae T.	Development of an immunochromatographic assay for rapid detection of AAC(6')-Ib-producing <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	<i>J Microbiol Methods</i>	91(1):	114-116.	2012
T. Otsuka, B. Chang, A. Wada, and M. Okazaki	Molecular epidemiology and serogroup 6 capsular gene evolution of pneumococcal carriage in a Japanese birth cohort study.	<i>Journal of Medical Microbiology</i>	62	1868-1875	2013
M. Ueno, Y. Ishii, K. Tateda, Y. Anahara, A. Ebata, M. Iida, F. Mizuno, S. Inamura, K. Takahata, Y. Suzuki, B. Chang, A. Wada, M. Sugita, T. Tanaka, Y. Nishiwaki	Changes in Streptococcus pneumoniae Serotypes in the Nasopharynx of Japanese Children after Inoculation with a Heptavalent Pneumococcal Conjugate Vaccine.	<i>Japanese Journal of Infectious Diseases</i>	67	40-43	2014
J. Tanaka, N. Ishiwada, A. Wada, B. Chang, H. Hishiki, T. Kurosaki, and Y. Kohno	Incidence of childhood pneumonia and serotype and sequence-type distribution in Streptococcus pneumonia isolates in Japan.	<i>Epidemiology and Infection</i>	140	1111-1121	2012
M. Ueno, Y. Ishii, K. Tateda, Y. Anahara, A. Ebata, M. Iida, S. Inamura, K. Takahata, Y. Suzuki, B. Chang, A. Wada, M.	Prevalence and risk factors of nasopharyngeal carriage of Streptococcus pneumoniae in healthy children in Japan.	<i>Japanese Journal of Infectious Diseases</i>	66	22-25	2013

Sugita, T. Tanaka, Y. Nishiwaki					
Oishi, N. Ishiwada, K. Matsubara, J. Nishi, B. Chang, K. Tamura, Y. Akeda, T. Ihara, M. H. Nahm, K. Oishi , the Japanese IPD Study Group	Low opsonic activity to the infecting serotype in pediatric patients with invasive pneumococcal disease.	Vaccine. 31:845-849, 2013.	31	845-8 49	2013
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 in Japan.	Antimicrob Agents Chemother	56-12	6389- 92	2012
Inamasu T, Sudo K, Kato S, Deguchi H, Ichikawa M, Shimizu T, Maeda T, Fujimoto S, Takebayashi T, Saito T.	Pandemic influenza virus surveillance, Izu-Oshima island, Japan.	Emerg Infect Dis	18	1882- 5	2012
D. Minh Nguyen, Hiroshi Deguchi, Manabu Ichikawa, Tomoya Saito, and Shuhei Fujimoto	An Analysis on Risk of Influenza-Like Illness Infection in a Hospital Using Agent-Based Simulation.	Public Health Frontier	3	63-74	2014
藤本 修平	感染対策サーベイランスにおけ る新しい取り組み-耐性菌時代の 院内感染対策と 2DCM-web-	化学療法の領域	30	224(1 108)- 238(1 122)	2014
藤本 修平	耐性菌と戦う臨床細菌検査の有 効活用法 -電子化による感染対 策の高精度化-	日本臨床微生物学 会雑誌	25	1-9	2014
Matsushima A, Takakura S, Yamamoto M, Matsumura Y, Shirano M, Nagao M, Ito Y, Iinuma Y, Shimizu T, Fujita N	Regional spread and control of vancomycin-resistant <i>Enterococcus faecium</i> and <i>Enterococcus faecalis</i> in Kyoto, Japan.	Eur J Clin Microbiol Infect Dis.	31	1095- 1100	2012
松浦香里、馬場尚 志、麻生都、森田 恵美、金谷和美、 河村佳江、飯沼由 嗣	多剤耐性緑膿菌の検出における クロモアガー-MDRP スクリーン培 地の基礎検討	医学検査	62	64-68	2014

飯沼由嗣	医療関連感染と制御 2 医療関連感染で問題となる病原微生物・感染性因子の制御 (1) 細菌	日本防菌防黴学会誌	42	517-525	2014
大城 誠、北島博之	極低出生体重児における感染症に関する全国調査：2000年と2010年出生児の比較	日本未熟児新生児学会雑誌	26 巻	99-104	2014
I Morioka, N Takahashi, H Kitajima	Prevalence of MRSA colonization in Japanese neonatal care unit patients in 2011	Pediatrics International	56	211-214	2014
Isayama T, Inamura N, Shiono N, Kitajima H.	Neonatal lupus erythematosus complicated by improved congenital complete heart block.	Pediatr Int.	55(4)	521-4	2013
Hirata K, Nishihara M, Oshima Y, Hirano S, Kitajima H.	Application of Transcutaneous Carbon Dioxide Tension Monitoring with Low Electrode Temperatures in Premature Infants in the Early Postnatal Period.	Am J Perinatol.	2013 Aug 5. [Epub ahead of print]		2013
Ikeda M, Hirano M, Shinoda K, Katsumata N, Furutama D, Nakamura K, Ikeda S, Tanaka T, Hanafusa T, Kitajima H, Kohno H, Nakagawa M, Nakamura Y, Ueno S.	Triple A syndrome in Japan.	Muscle Nerve.	48(3)	381-6	2013
Kubota A, Mochizuki N, Shiraishi J, Nakayama M, Kawahara H, Yoneda A, Tazuke Y, Goda T, Nakahata K, Sano H, Hirano S, Kitajima H.	Parenteral-nutrition-associated liver disease after intestinal perforation in extremely low-birthweight infants: consequent lethal portal hypertension.	Pediatr Int.	55 (1)	39-43	2013
Maruyama H, Kitajima H, Yonemoto N, Fujimura M.	Frequent use of fresh frozen plasma is a risk factor for venous thrombosis in extremely low birth weight infants: a matched case-control study.	Acta Med Okayama.	66(1)	61-6	2012
Namba F, Ina S, Kitajima H, Yoshio H, Mimura K, Saito S, Yanagihara I.	Annexin A2 in amniotic fluid: Correlation with histological chorioamnionitis, preterm premature rupture of membranes, and subsequent preterm delivery.	J Obstet Gynaecol Res	38(1)	137-44	2012
北島博之	全国の総合病院における産科混合病棟と母子同室の状況について	日本周産期・新生児医学会雑誌	43	661-8	2012
北島博之	早産児・新生児医療と腸内細菌	医学のあゆみ	243 (2)	149-55	2012
北島博之	分娩室から始まる母子への育児支援. 特別企画 赤ちゃんの精	心の科学	166	106-8	2012

	神保健 --地域ではぐくむ乳幼児のこころ-- エッセイ 子どもと親と支援現場の声				
北島博之	正常に生まれた赤ちゃんは、泣かないでも呼吸は始まる？ 第14回新生児呼吸療法モニタリングフォーラム 講演1	ペリネイタルケア	31	67-72	2012
Nakano R, Nakano A, Hikosaka K, Kawakami S, Matsunaga N, Asahara M, Ishigaki S, Furukawa T, Suzuki M, Shibayama K, Ono Y.	First Report of Metallo- β -Lactamase NDM-5-Producing <i>Escherichia coli</i> in Japan.	Antimicrob Agents Chemother	58(12)	7611-2	2014
Asai S, Umezawa K, Iwashita H, Ohshima T, Ohashi M, Sasaki M, Hayashi H, Matsui M, Shibayama K, Inokuchi S, Miyachi H.	An outbreak of blaOXA-51-like and blaOXA-66-positive <i>Acinetobacter baumannii</i> ST208 in the emergency intensive care unit.	J Med Microbiol	63(Pt 11)	1517-23	2013
Mori S, Kim H, Rimbara E, Arakawa Y, Shibayama K.	Roles of Ala-149 in the catalytic activity of diadenosine tetraphosphate phosphorylase from <i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Rv.	Biosci Biotechnol Biochem		1-3	2013
Matsui M, Suzuki S, Yamane K, Suzuki M, Konda T, Arakawa Y, Shibayama K.	Distribution of carbapenem resistance determinants among epidemic and non-epidemic types of <i>Acinetobacter</i> species in Japan.	J Med Microbiol	63(Pt 6)	870-7	2014 Dec
Suzuki M, Suzuki S, Matsui M, Hiraki Y, Kawano F, Shibayama K.	A subclass B3 metallo- β -lactamase found in <i>Pseudomonas alcaligenes</i> .	J Antimicrob Chemother	69(5)	1430-2	2014 Nov
Hagiya H, Murase T, Suzuki M, Shibayama K, Kokumai Y, Watanabe N, Maki M, Otsuka F.	<i>Chromobacterium violaceum</i> nosocomial pneumonia in two Japanese patients at an intensive care unit.	J Infect Chemother	20(2):	139-42	2014 Oct28
Wachino J, Matsui M, Tran HH, Suzuki M, Suzuki S, Shibayama K.	Evaluation of a double-disk synergy test with a common metallo- β -lactamase inhibitor, mercaptoacetate, for detecting NDM-1-producing <i>Enterobacteriaceae</i> and <i>Acinetobacter baumannii</i> .	Jpn J Infect Dis	67(1)	66-8	2014 Jun

Kim H, Shibayama K, Rimbara E, Mori S.	Biochemical characterization of quinolinic acid phosphoribosyltransferase from <i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Rv and inhibition of its activity by pyrazinamide.	PLoS One	9(6)	e100062	2014 Jun 20
Matsui M, Shibayama K, Tsuji Y, Kamimura H, Karube Y, Yoshida M, Masuda Y, Hiraki Y, Takaki K, Kawano F.	Isolation of genetically indistinguishable carbapenem-resistant and -susceptible <i>Acinetobacter baumannii</i> isolates from a single patient.	Antimicrob Agents Chemother	57(11)	5781-2	2013 Nov
Suzuki M, Suzuki S, Matsui M, Hiraki Y, Kawano F, Shibayama K.	Genome Sequence of a Strain of the Human Pathogenic Bacterium <i>Pseudomonas alcaligenes</i> That Caused Bloodstream Infection.	Genome Announc	1(5)	e00919-13	2013 Oct31
Rimbara E, Mori S, Kim H, Shibayama K.	Role of γ -glutamyltranspeptidase in the pathogenesis of <i>Helicobacter pylori</i> infection.	Microbiol Immunol	57(10)	665-73	2013 Oct
Rimbara E, Matsui M, Mori S, Suzuki S, Suzuki M, Kim H, Sekizuka T, Kuroda M, Shibayama K.	Draft Genome Sequence of <i>Helicobacter fennelliae</i> Strain MR12-0050, Isolated from a Bacteremia Patient.	Genome Announc	1(4)	e00512-13	2013 Aug8
Matsui M, Suzuki S, Suzuki M, Arakawa Y, Shibayama K.	Rapid discrimination of <i>Acinetobacter baumannii</i> international clone II lineage by pyrosequencing SNP analyses of bla(OXA-51-like) genes.	J Microbiol Methods	94(2)	121-4	2013 Aug
23: Suzuki M, Matsui M, Suzuki S, Rimbara E, Asai S, Miyachi H, Takata T, Hiraki Y, Kawano F, Shibayama K.	Genome Sequences of Multidrug-Resistant <i>Acinetobacter baumannii</i> Strains from Nosocomial Outbreaks in Japan.	Genome Announc	1(4)	e00476-13	2013 Jul 18

Rimbara E, Mori S, Kim H, Matsui M, Suzuki S, Takahashi S, Yamamoto S, Mukai M, Shibayama K.	<i>Helicobacter cinaedi</i> and <i>Helicobacter fennelliae</i> transmission in a hospital from 2008 to 2012.	J Clin Microbiol	51(7)	2439-42.	2013 Jul
Matsuoka M, Sasaki T, Seki N, Kobayashi M, Sawabe K, Sasaki Y, Shibayama K, Sasaki T, Arakawa Y.	Hemin-binding proteins as potent markers for serological diagnosis of infections with <i>Bartonella quintana</i> .	Clin Vaccine Immunol.	20(4)	620-6	2013 Apr
Hoang TH, Wertheim H, Minh NB, Duong TN, Anh DD, Phuong TT, Son TH, Izumiya H, Ohnishi M, Shibayama K, Hien NT.	Carbapenem-resistant <i>Escherichia coli</i> and <i>Klebsiella pneumoniae</i> strains containing New Delhi metallo-beta-lactamase isolated from two patients in Vietnam.	J Clin Microbiol	51(1)	373-4	2013 Jan
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 <i>Helicobacter cinaedi</i> isolated from seven hospitals in Japan.	J Clin Microbiol	50(8)	2553-60	2012 Aug
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	68(Pt 3)	343-6	2012 Mar1
柴山恵吾他	カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症	IASR	Vol. 35	p. 281-282	2014年
松井真理 鈴木里和 鈴木仁人 筒井敦子 柴山恵吾	カルバペネム耐性腸内細菌科細菌の検査	IASR	Vol. 35	p. 285-287:	2014年
鈴木里和 松井真理 鈴木仁人 柴山恵吾	外来型カルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌の検出状況	IASR	Vol. 35	p. 287-288	2014年

鈴木里和 松井 真理 鈴木仁人 筒井敦子 柴山 恵吾	感染症法に基づくカルバペネム 耐性腸内細菌科細菌感染症の届 出状況	IASR	Vol. 35	p. 288- 289	2014 年
安部朋子他	プラスミド水平伝達が関与した 院内感染事例	IASR	Vol. 35	p. 289- 290	2014 年
山岸拓也他	<速報>大阪市内大規模病院に おけるカルバペネム耐性腸内細 菌科細菌の長期間にわたる院内 伝播	IASR	Vol. 35	p. 290- 291	2014 年
松井真理他	我が国で分離されるアシネクト バクター属菌の分子疫学解析	IASR	Vol. 35	291-2 93	2014 年 12月 号
柴山恵吾	地球規模で広がる耐菌性-抗菌薬 の多角的使用とその功罪-医療機 関における耐性菌のサーベイラ ンス (JANIS)	化学療法の領域	29巻6号	1261- 1265	2013 年
Hagiya, H., Murase, T., Suzuki, M., Otsuka, F., and Shibayama, K.	An emergence of third-generation cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae at a Japanese critical care setting	Acute Med Surg	1(4)	256-2 58	2014
高橋 俊司, 林原 絵美子.	ヘリコバクター・シネディ	臨床検査	58 (11)	1357- 1361	2014
Rimbara E, Noguchi N, Kawai T, Sasatsu M.	Fluoroquinolone resistance in Helicobacter pylori: role of mutations at position 87 and 91 of GyrA on the level of resistance and identification of a resistance conferring mutation in GyrB.	Helicobacter	17(1)	36-42	2012 Feb
Li Y, Rimbara E, Thirumurthi S, Trespalacios A, Reddy R, Sabounchi S, Attumi TA, Graham DY.	Detection of clarithromycin resistance in Helicobacter pylori following noncryogenic storage of rapid urease tests for 30 days.	J Dig Dis	13(1)	54-9	2012 Jan
Deguchi R, Nakaminami H, Rimbara E, Noguchi N, Sasatsu M, Suzuki T, Matsushima M,	Effect of pretreatment with Lactobacillus gasseri OLL2716 on first-line Helicobacter pylori eradication therapy.	J Gastroenterol Hepatol	27(5)	888-9 2	2012 May

Koike J, Igarashi M, Ozawa H, Fukuda R, Takagi A.					
Rimbara E, Sasatsu M, Graham DY.	PCR detection of <i>Helicobacter pylori</i> in clinical samples.	Methods Mol Biol	943	279-8 7	2013
Trespalacios AA, Rimbara E, Otero W, Reddy R, Graham DY.	Improved allele-specific PCR assays for detection of clarithromycin and fluoroquinolone resistant of <i>Helicobacter pylori</i> in gastric biopsies: identification of N87I mutation in GyrA.	Diagn Microbiol Infect Dis			2014 Dec 15
Mitsuaki Nagasawa, Mitsuo Kaku, Kazunari Kamachi, Keigo Shibayama, Yoshichika Arakawa, Keizo Yamaguchi, Yoshikazu Ishii	Loop-mediated isothermal amplification assay for 16S rRNA methylase genes in Gram-negative bacteria	Journal of Infection and Chemotherapy	20 (10)	635- 638	2014
Kimura K, Nagano N, Arakawa Y.	Classification of group B streptococci with reduced β -lactam susceptibility (GBS-RBS) based on the amino acid substitutions in PBPs.	J Antimicrob Chemother.	In press		2015
Yamada R, Kimura K, Nagano N, Nagano Y, Suzuki S, Jin W, Wachino JI, Yamada K, Shibayama K, Arakawa Y.	Comparative analysis of penicillin-susceptible and non-susceptible isolates in group B streptococci by multilocus sequence typing.	Jpn J Infect Dis.	inpress		2015
Jin W, Wachino JI, Kimura K, Yamada K, Arakawa Y.	New plasmid-mediated aminoglycoside 6'-N-acetyltransferase, AAC(6')-Ia, and ESBL, TLA-3, from a <i>Serratia marcescens</i> clinical isolate.	J Antimicrob Chemother.	In press		2015
Suzuki T, Kimura K, Suzuki H, Banno H, Jin W, Wachino JI, Yamada K, Arakawa Y.	Have group A streptococci with reduced penicillin susceptibility emerged?	J Antimicrob Chemother.	In press		2015
Nagasaka Y, Kimura K, Yamada K, Wachino JI, Jin W, Notake S, Yanagisawa H, Arakawa Y.	Genetic profiles of fluoroquinolone-nonsusceptible <i>Klebsiella pneumoniae</i> among cephalosporin-resistant <i>K. pneumoniae</i> .	Microb Drug Resist.	In press		2015