

令和 4 年 9 月 1 日現在

機関番号：13201
 研究種目：基盤研究(B) (一般)
 研究期間：2018～2021
 課題番号：18H02728
 研究課題名(和文) 新敗血症定義に準拠した敗血症総合検査システム構築と国内及び東南アジアへ運用展開

 研究課題名(英文) Construction of a comprehensive sepsis testing system based on the new sepsis definition and its operational deployment in Japan and Southeast Asia.

 研究代表者
 北島 勲 (Kitajima, Isao)

 富山大学・大学本部・理事・副学長

 研究者番号：50214797
 交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：細菌DNA汚染の無い真空採血管を作成し、自動核酸抽出装置による無菌細菌検査を構築した。次に、リアルタイムPCR法を利用した血中に存在する細菌数定量検査を開発した。われわれが開発したTm-mapping法に上記検査を加えた総合敗血症検査システムが完成した。成人感染症1,166検体を評価し、診断精度と高い迅速性に対する臨床的有用性を確認した。さらに、小児感染症156名(256検体)を検討し、少量血液(<1mL)で判定できる優位性が評価された。さらに、血中細菌数の検討により、抗菌薬治療24時間後に最も鋭敏に減少する有効なバイオマーカーが「血液中の細菌数」であることも明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義
 感染症起炎菌同定は迅速性が重要課題である。血液培養が標準検査であるが、2～3日を要している。Tmマッピング法は培養行程が省け、PCR産物の融解解析により、起炎菌が血液から直接同定が可能となり、世界最速レベルで起炎菌を提供できる。また、現時点で血液中の菌数を定量する検査方法は存在しないが、我々は、細菌DNAコピーから検体中の細菌数を算出できる検査法を開発した。敗血症起炎菌迅速同定・定量検査(菌名&菌数/mL)の実用化にむけた臨床研究を実施し、その有用性を明らかにすることができた。敗血症迅速起炎菌同定と菌数を感染症重症度や治療効果の新たな指標として活用することは、敗血症治療への貢献が期待される

研究成果の概要(英文)：Vacuum blood collection tubes without cellular DNA contamination were prepared to establish an aseptic bacterial test using an automated nucleic acid extractor. Then, we developed a test method for determining blood bacterial load using real-time qPCR. The comprehensive septicemia testing system was established by combining the aforementioned test method with the Tm-mapping method developed in-house. A total of 1,166 clinical samples collected from adult patients with infectious diseases were evaluated to assess diagnostic accuracy and high rapidity of our test system. Samples collected from 156 pediatric patients with infectious diseases (256 samples) were also evaluated using our test system, which demonstrated its advantage in requiring less amount of blood (<1 mL) for evaluation. Further, evaluation of our test system of blood bacterial load revealed that the most acutely decreasing effective biomarker at 24 h after antibiotic therapy was "bacterial count in the blood."

研究分野：臨床検査

キーワード：敗血症 迅速細菌検査 Tmマッピング法 敗血症起因菌定量検査 敗血症バイオマーカー ATP測定 NF
 - B

1. 研究開始当初の背景

2016年に新敗血症定義「感染に対する宿主生体反応の調節障害により引き起こされる生命を脅かす臓器障害」が公表(**Sepsis 3**)された。また、世界敗血症同盟(**GSA: Global Sepsis Alliance**)は、「国レベルで敗血症発症率を減少させ、予後を改善させるための戦略」を掲げている。

病原菌同定は「血液培養法」が標準検査であり、培養とその後の生化学的性状検査等により報告まで通常**2~3日**を要している。私たちは迅速診断を目的に、敗血症起炎菌同定に**10年以上前よりPCR法**を実施してきたが、汎用**Taq**酵素は全て大腸菌で作成されているため、未知の菌同定に対して、ユニバーサルプライマーによる**PCR**利用において大腸菌偽陽性反応に苦慮してきた。そこで、問題解決のために酵母をホストにし、作成行程で抗菌薬利用による世界初のバクテリアフリー**Taq**酵素を開発した。**(J. Clin. Microbiol. 2011)**酵母由来**Taq**酵素により、検査精度が飛躍的に向上した。本研究遂行の強みは酵母由来**Taq**酵素を私たちが世界で唯一有していることにある。

私たちは、酵母由来**Taq**酵素を利用し採血から**3時間以内**に起炎菌を同定できる**Tm**マッピング法の開発(**Scientific Reports 2016**、国際特許取得)を開発した。本方法は、リアルタイム**PCR**を用い**7つのTm**値(二本鎖**DNA**が一本鎖に解離する時の温度を**2次元**マッピングして、その形状を菌のフィンガープリントとして同定に利用する方法である。起炎菌同定ソフトウェアには**160**菌種以上の菌データがインプットされており、**Web**上で簡単に同定が出来る。また、**IL-6, IL8**等の炎症性サイトカイン発現を誘導する転写因子**NF- κ B**活性化量を敗血症バイオマーカーとして検査できるように、液相高感度計測法である蛍光相関分光法(**FCS: Fluorescence Correlation Spectroscopy**)を応用した測定法を開発してきた。これらの検査法を統合し、採血から**3時間以内**に敗血症患者の起炎菌を同定し、さらに細菌感染による多臓器障害を迅速に治療できる世界最速の敗血症総合検査システム構築を立案した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、「敗血症の起炎菌を世界最速レベルで同定するとともに臓器障害を重視する敗血症新定義に準拠した検査システムを構築し、迅速かつ適正な抗菌薬選択情報を臨床現場への提供できるシステムの社会実装である。そのために、正確な敗血症起炎菌判定ができる細菌汚染のない(コンタミネーションフリー)の検体前処理を最初に確立する必要がある。次に、いち早く多臓器に感染が拡大する病態や抗菌薬の効果を迅速に判定できるバイオマーカーを明らかにする必要がある。われわれは、リアルタイム**PCR**やデジタル**PCR**を用いた血液中の菌数定量計測法開発に取り組んでいる。血液中の正確な起炎菌数が臓器障害や抗菌薬効果判定の優れたバイオマーカーとなるか明らかにしてゆく。これらの検査法の実用化に向けて臨床研究を進め、その社会実装により敗血症救命率の向上に貢献することが最終目標である。

3. 研究の方法

1) 検体前処理工程と迅速無菌細菌検査用キット作成

現在市販の真空採血管中には、細菌**DNA**汚染の無いシリンジ、真空採血管、採血針の開発と製真空採血管の細菌**DNA**の汚染がしばしば問題となり、血培陰性の健常者サンプルから、ユニバーサルプライマーを用いた**PCR**法で偽陽性が生じることが問題となっている。正確な「菌検査を確立するために、細菌**DNA**汚染の無いシリンジ、真空採血管(**5 ml**以上)、採血針をニブ株式会社と共同開発する。さらに、**PCR**に利用する**Taq DNA polymerase**は、我々が開発した**eukaryote-made Taq DNA polymerase (J. Clin. Microbiol. 2011)**を利用し、細菌**DNA**汚染のない**PCR buffer, NTPs mixt**等で構成される**PCR**用キットを、三井化学株式会社と共同開発する。

2) 血液中の細菌数軽量検査法の開発

16Sリボソーム**DNA**プライマーを用い、大腸菌**DNA**を相対内部対照とする。大腸菌(**5万個/1mL**)**PCR**サイクル基準に、大腸菌**DNA**コピー数を基準にした検量線を作成し、血中細菌数を**PCR**増幅効する率より算出し、**Nested PCR**を用いて低濃度領域の正確な算出法を構築する。

3) 転写因子 NF- B 活性化定量検査法開発

生体試料の NF- B 活性計測では、転写因子の標的 DNA 結合様式が液相で on/off の繰り返し(振動)である点に着目し、ブラウン運動に対する高感度計測法である蛍光相関分光法(FCS: **Fluorescence Correlation Spectroscopy**)の基盤とした測定法を既に報告したが(PLoS One 2013)、改良を加え臨床検体を用いた検討を行う。

4) Tm マッピング法を活用した迅速敗血症起炎菌同定検査法の臨床研究

起炎菌迅速同定検査のお実用化と多施設利用普及のための臨床研究を実施した。まず、Tm マッピング法検索データベース中の 160 菌種について、感染症の起炎菌としての妥当性を確認する。データベースは必要に応じて拡張可能である。mutant strains をより多く登録した方が同定の正確性が増すため、mutant strains の菌株ストックを順次増加する。次に、検体採取時のコンタミ防止など、トレーニング用マニュアル作成する。

5) 多施設共同研究実施

小児重症感染症・敗血症検体による小児細菌感染症迅速診断の臨床研究：本検査システムは、少量の血液で診断できるため、新生児、乳幼児のような少量の採血しかできない患者に対して有益である。そのため、小児用検査システム(1mL 採血管と血液培養管)を開発したのでその性能評価を埼玉小児医療センターで行う。

北里大学整形外科において関節炎起炎菌同定に関して共同研究を実施する。関節液中の細菌数算出プロトコルを策定する。関節液中の細菌量を Tm 法の 1st PCR を用いて測定する。相対的定量試験に用いた検量試料は、ATCC 株の *Staphylococcus aureus*、*Streptococcus agalactiae* 及び *Escherichia coli* を血液寒天培地にて 18 時間培養し無菌的生理食塩液で McFarland 0.5 (1~2×10⁸ Colony-forming unit : CFU/ml) を調整する。フローサイトメーター Navios (coluter) において Bacteria Counting Kit を用いて細菌の DNA を染色し、3 菌種の菌数を算出し検量用試料に用いる。関節液中の細菌量を Tm 法の 1st PCR Version 1 を用いて測定菌種が同定され、かつ Difference Value (DV) 値が 0.5 未満の場合は、感染の原因菌と判断する。Tm 法による定量法による結果と細菌培養検査結果と比較する。臨床経過と人工関節周囲感染の診断基準に基づいた感染の有無から定量した菌数の cut-off 値を 50 に設定する。

広島大学救急救命センター：敗血症が疑われ高度救命救急センター集中治療室に入室する患者において、血液培養の採取が臨床的に必要と判断され、かつ、患者あるいは患者家族に同意が得られた症例において、独自開発した感染症起炎菌迅速同定・定量検査(TM-mapping 法)を行い、血液培養結果及び臨床症状との比較を行う。

4. 研究成果

1) 細菌検査高精度化実現のための細菌汚染のない検体前処理工程構築

新たに開発した真空採血管は、特殊加工を施し、1本ずつ個包装で採血の瞬間まで細菌 DNA 汚染を無くすことに成功した。次に、200 µL の少量試料より培養可能な細菌汚染のない好気性 SCD 培地と嫌気用 TGC 培地を作成した。

2) 迅速無菌細菌検査用キットによる非臨床研究：迅速無菌細菌検査用キットを作成した。



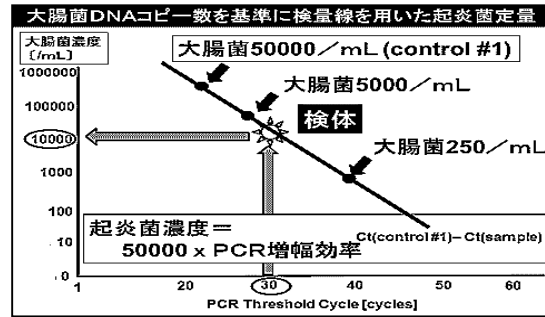
キット内容：100 テスト

- ・ 定量用 **bacterial universal primer**
- ・ **eukaryote-made thermostable DNA polymerase**
- ・ **DNase, RNase-free distilled water**
- ・ **PCR buffer** (細菌 DNA 汚染無し)
- ・ **NTPs Mix** (細菌 DNA 汚染無し)

細菌 DNA 抽出キット **Extraction Buffer** を **400 uL** を用い、DNA 抽出を実施した。抽出された DNA を PCR サンプルとして一回の実験に採血管 **n=8**、**Negative Control** 1本、**Positive Control** 1本 合計 **10** 本を行い、各3回ずつ試験を実施した。真空採血管と採血ホルダーを組み合わせて評価をした。その結果、**n=24** において、すべての採血管で、細菌 DNA のコンタミネーションを示す結果は得られなかった。本 PCR では、定量用 PCR プライマーとされる **Bac3** があらゆる細菌種に共通の配列とされている。これに関しても増幅は確認されず、検出限界以下だった。この実験から、採血ホルダーは、検出にいたるレベルの細菌 DNA は存在しないことが示唆された。

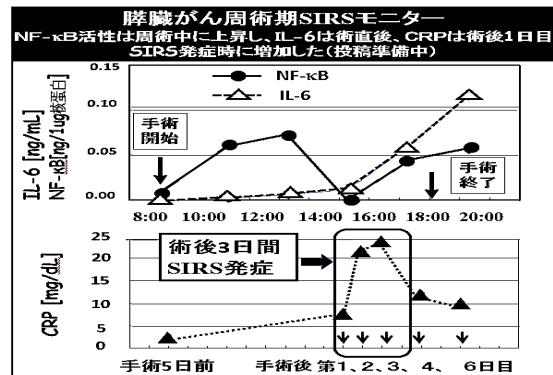
3) 敗血症起炎菌迅速同定・定量検査システム構築

敗血症起炎菌同定と菌数定量検査を迅速に実施し、大量の検体を検査できるハイスループット化には、自動拡散抽出装置を開発し、迅速に菌を同定できる菌同定ソフトウェアに定量解析機能を追加したシステムを構築した。三井化学株式会社と本検査専用の自動核酸抽出装置プロトタイプを作製し、条件最適化検証を完了した段階である。また、起炎菌数算出方法ソフトウェアの基本仕様まで完了している。



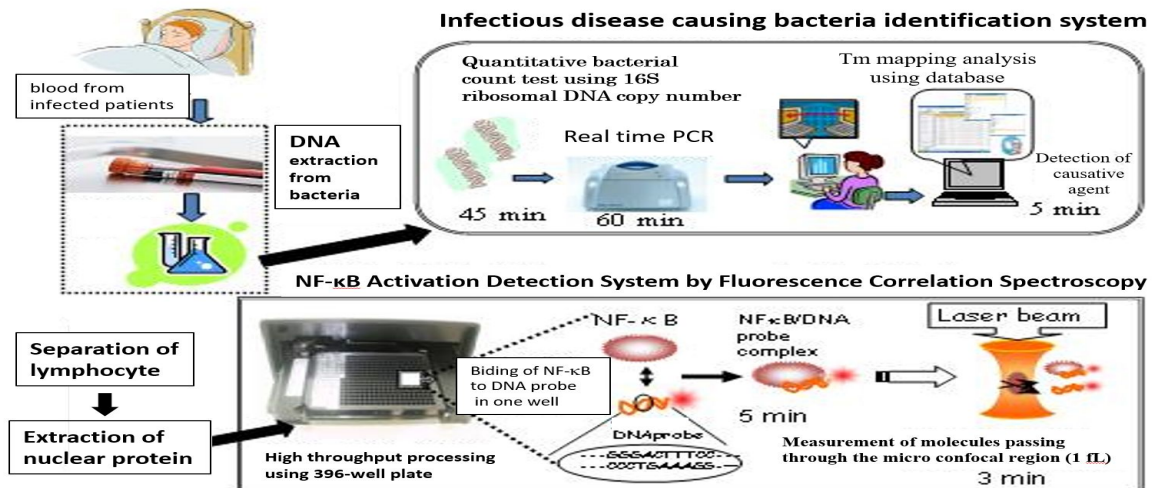
4) 敗血症血液中の転写因子 NF-κB 活性化定量検査の臨床応用

すい臓がん周術期後に **SIRS** 診断基準を満たした患者の手術中における生体侵襲度に対する **NF-κB** 活性化を検査した結果である。術中に **NF-κB** が上昇し、炎症マーカーである **IL-6** は術後1日目に上昇、**CRP** は術後2-3日まで上昇することより、**NF-κB** は迅速な生体侵襲バイオマーカーになることを示した。

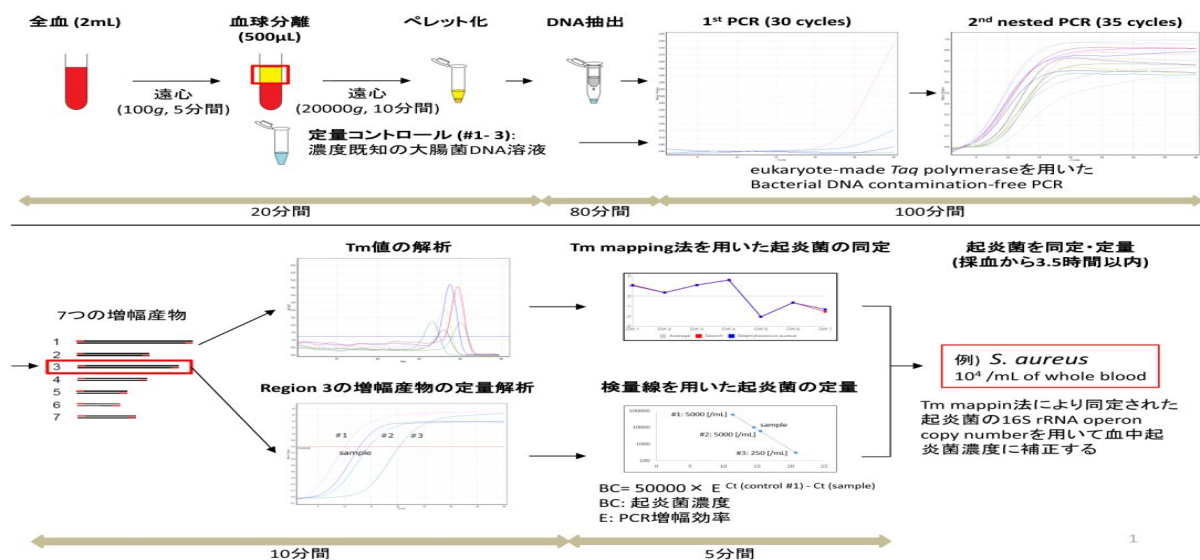


5) 新敗血症に準拠した敗血症検査統合システムの完成

重症感染症および敗血症患者の血液献体から、無菌的に細菌 DNA、血清、リンパ球を分離し、細菌 DNA から起炎菌の同定および菌数、血清から敗血症に関わるバイオマーカー、リンパ球の書く蛋白中の **NF-κB** 定量値の総合的に解析する敗血症総合検査視システムを構築した。



6) 全血検体から敗血症起炎菌同定と菌数定量運用に向けたフローチャートの完成



富山大学附属病院にて、敗血症疑い患者の全血液検体 (**EDTA2K 2mL**) を用い、成人の血液検体を計 **104** 検体において陽性検体は **10** 検体、陰性検体は **94** 検体であった (真菌、および **mecA** は陰性)。次に、小児感染症 **156** 名 (**256** 検体) を検討した。**Tm-mapping** 法と血液培養法間の陽性・陰性判定一致率は **76.4%** であった。新生児の採血から **4** 時間程度で起炎菌を迅速に同定かつ定量出来た。臨床的有用性として 僅か 50 µl の血液からでも起炎菌を同定かつ定量できた。臍帯血、羊水、血液中の起炎菌をそれぞれ同定かつ定量した結果、羊水 (子宮内感染症) から胎児への **E. coli** の感染であったことが解明できた。新生児の採血から **4** 時間程度で陰性 (= 検出感度以下) であることを報告出来た。以上より、少量血液で感染症起炎菌が迅速に判定できる優位性が評価された。

7) 国内多施設共同研究成果

埼玉県立小児医療センター：小児検体を用いて **Tm mapping** 法による迅速検査の有用性を後方視的検討した。年齢の中央値は **2** 歳 (**IQR 0-17**) で計 **256** 検体 (計 **156** 人) の検査を行った。血液 **165** 検体、その他の検体 **91** 検体であった。血液、血液以外の臨床検体のどちらも、**Tm mapping** 法は培養検査よりも早く細菌を同定し、同定率も高かった。

北里大学整形外科：関節炎起炎菌同定に関して、細菌培養検査陽性例においては、**DV** を **0.5** 未満のみに設定した場合、感度は **92%** であったが特異度は **50%** となった。**Tm mapping** 法の定量値の **cutoff** 値を **50** とすると、特異度は **74%** 程度まで上昇した。

広島大学救急救命センター：敗血症が疑われ高度救命救急センター集中治療室入院患者 **31** 症例より検体を採取した結果、血液培養は **7** 症例で陽性であった。うち **2** 例において、血液培養の最終同定結果と **TM-mapping** 法による菌名が完全に一致した。2例では、異なる菌名が検出され、3例では **TM-mapping** での検出が無かった。

8) 国外 (とくに東南アジア諸国) への展開

申請時、感染症診断と治療のグローバル展開を計画していたが、**COVID-19** の世界的流行の波が計画していた東南アジア諸国にも拡がり、国際交流や共同研究が実質的に不可能な状況が **2022** 年 **5** 月現在も続いているため。計画が遅れている。しかし、国内運用プロトコル策定し、東南アジア各国の感染状況に対応した **Tm** マッピング法データベース作成準備中である。また、シンガポール国立大学とチャンギ総合病院との連絡体制は構築されている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計32件（うち査読付論文 26件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 19件）

1. 著者名 北島 勲	4. 巻 70 (1)
2. 論文標題 転写因子NF- B基礎研究と病態解析応用への面白さ	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 日本臨床検査医学会誌	6. 最初と最後の頁 59-63
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Uejima Y, Suganuma E, Ohnishi T, Takei H, Furuichi M, Sato S, Kawano Y, Kitajima I, Niimi H.	4. 巻 e0019822
2. 論文標題 Prospective Study of the Detection of Bacterial Pathogens in Pediatric Clinical Specimens Using the Melting Temperature Mapping Method. Prospective Study of the Detection of Bacterial Pathogens in Pediatric Clinical Specimens Using the Melting Temperature Mapping Method. Microbiology spectrum.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Prospective Study of the Detection of Bacterial Pathogens in Pediatric Clinical Specimens Using the Melting Temperature Mapping Method. Microbiology spectrum.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/spectrum.00198-22	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Okamoto Reiko, Kageyama Masako, Koide Keiko, Tanaka Miho, Yamamoto Yoshiko, Fujioka Mana, Osuna Ayami, Saeki Kazuko, Hirokane Kazue, Nagano Fusami, Takemura Shinji	4. 巻 3
2. 論文標題 Implementation Degree Assessment Sheet for Health Program in Japan by Customizing CFIR: Development and Validation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Implementation Science Communications	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s43058-022-00270-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 van Hal Sebastiaan J., Enterococcal Group, Willems Rob J. L., Gouliouris Theodore, Ballard Susan A., Coque Teresa M., Hammerum Anette M., Hegstad Kristin, Westh Hendrik T., Howden Benjamin P., Malhotra-Kumar Surbhi, Werner Guido, Yanagihara Katsunori, Earl Ashlee M., Raven Katherine E., Corander Jukka, Bowden Rory	4. 巻 13
2. 論文標題 The global dissemination of hospital clones of Enterococcus faecium	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Genome Medicine	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13073-021-00868-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yanagihara Katsunori, Kosai Kosuke, Mikamo Hiroshige, Mukae Hiroshi, Takesue Yoshio, Abe Machiko, Taniguchi Kazuko, Petigara Tanaz, Kaku Mitsuo	4. 巻 102
2. 論文標題 Serotype distribution and antimicrobial susceptibility of Streptococcus pneumoniae associated with invasive pneumococcal disease among adults in Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 260 ~ 268
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijid.2020.10.017	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Uejima Yoji, Niimi Hideki, Kato Reiko, Furuichi Mihoko, Sato Satoshi, Kitajima Isao, Kawano Yutaka, Oh-Ishi Tsutomu, Kawashima Hiroshi, Suganuma Eisuke	4. 巻 21
2. 論文標題 Infected simple renal cyst due to Streptococcus pneumoniae rapidly diagnosed by the melting temperature mapping method: a case report	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BMC Pediatrics	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12887-021-02736-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Higashi Yoshitsugu, Niimi Hideki, Sakamaki Ippei, Yamamoto Yoshihiro, Kitajima Isao	4. 巻 10
2. 論文標題 Rapid Identification of Candida Species in Candidemia Directly from Blood Samples Using Imperfect Match Probes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-62276-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kawasuji Hitoshi, Kaya Hiroyasu, Kawamura Takayuki, Ueno Akitoshi, Miyajima Yuki, Tsuda Takeshi, Taniguchi Hirokazu, Nakamura Masahiko, Wada Akinori, Sakamaki Ippei, Niimi Hideki, Yamamoto Yoshihiro	4. 巻 26
2. 論文標題 Bacteremia caused by Slackia exigua: A report of two cases and literature review	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Infection and Chemotherapy	6. 最初と最後の頁 119 ~ 123
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jiac.2019.06.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nukui Takamasa, Matsui Atsushi, Niimi Hideki, Yamamoto Mamoru, Matsuda Noriyuki, Piao Jin-Lan, Noguchi Kyo, Kitajima Isao, Nakatsuji Yuji	4. 巻 50
2. 論文標題 Cerebrospinal fluid ATP as a potential biomarker in patients with mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke like episodes (MELAS)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mitochondrion	6. 最初と最後の頁 145 ~ 148
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mito.2019.11.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kawasuji Hitoshi, Sakamaki Ippei, Kawamura Takayuki, Ueno Akitoshi, Miyajima Yuki, Matsumoto Kaoru, Kawago Koyomi, Higashi Yoshitsugu, Yamamoto Yoshihiro	4. 巻 26
2. 論文標題 Proactive infectious disease consultation at the time of blood culture collection is associated with decreased mortality in patients with methicillin-resistant Staphylococcus aureus bacteremia: A retrospective cohort study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Infection and Chemotherapy	6. 最初と最後の頁 588 ~ 595
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jiac.2020.01.017	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kosai Kosuke, Yamagishi Yuka, Hashinaga Kazuhiko, Nakajima Kazuhiko, Mikamo Hiroshige, Hiramatsu Kazufumi, Takesue Yoshio, Yanagihara Katsunori	4. 巻 26
2. 論文標題 Multicenter surveillance of the epidemiology of gram-negative bacteremia in Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Infection and Chemotherapy	6. 最初と最後の頁 193 ~ 198
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jiac.2019.11.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sumiyoshi Makoto, Miyazaki Taiga, Ishikawa Takeshi, Makimura Koichi, Hirayama Tatsuro, Takazono Takahiro, Saijo Tomomi, Yamaguchi Hiroyuki, Shimamura Shintaro, Yamamoto Kazuko, Imamura Yoshifumi, Sakamoto Noriho, Obase Yasushi, Izumikawa Koichi, Yanagihara Katsunori, Kohno Shigeru, Mukae Hiroshi	4. 巻 10
2. 論文標題 Novel and potent antimicrobial effects of caspofungin on drug-resistant Candida and bacteria	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-74749-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ito Akihiro, Yamamoto Yoshihiro, Ishii Yoshikazu, Takeda Hiroaki, Higa Futoshi, Miyara Takayuki, Saito Keisuke, Ishikawa Takeo, Ishida Tadashi, Tateda Kazuhiro	4. 巻 103
2. 論文標題 Evaluation of a novel urinary antigen test kit for diagnosing Legionella pneumonia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 42 ~ 47
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijid.2020.10.106	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Uno Naoki, Kaku Norihito, Morinaga Yoshitomo, Hasegawa Hiroo, Yanagihara Katsunori	4. 巻 48
2. 論文標題 Flow cytometry assay for the detection of single-copy DNA in human lymphocytes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Research	6. 最初と最後の頁 e86 ~ e86
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/nar/gkaa515	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Isono Toshihito, Domon Hisanori, Nagai Kosuke, Maekawa Tomoki, Tamura Hikaru, Hiyoshi Takumi, Yanagihara Katsunori, Kunitomo Eiji, Takenaka Shoji, Noiri Yuichiro, Terao Yutaka	4. 巻 15
2. 論文標題 Treatment of severe pneumonia by hinokitiol in a murine antimicrobial-resistant pneumococcal pneumonia model	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0240329
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0240329	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takazono Takahiro, Imamura Yoshifumi, Kawakami Kaoru, Yamasaki Naoya, Shimizu Hiroyoshi, Usuki Katsuhiro, Kiyohara Maiko, Hirayama Tatsuro, Tashiro Masato, Hosogaya Naoki, Saijo Tomomi, Yamamoto Kazuko, Miyazaki Taiga, Yanagihara Katsunori, Izumikawa Koichi, Mukae Hiroshi	4. 巻 58
2. 論文標題 Discrepancies in preferences regarding the care of terminal-phase pneumonia in elderly patients among patients, families, and doctors: A multicenter questionnaire survey in nagasaki, Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Respiratory Investigation	6. 最初と最後の頁 488 ~ 494
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.resinv.2020.05.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 松井篤, 川邊駿佑, 仁井見英樹	4. 巻 49(4)
2. 論文標題 ATP発光計測による迅速な薬剤感受性試験法	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 臨床化学	6. 最初と最後の頁 258-264
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 仁井見英樹	4. 巻 49(4)
2. 論文標題 感染症医療の未来を拓く新たな検査	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 臨床化学	6. 最初と最後の頁 250-250
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 五十嵐 登, 高桑 麻衣子, 野村 恵子, 西田 直徳, 仁井見 英樹	4. 巻 62(1)
2. 論文標題 Melting Temperature mapping法にて稀有な起炎菌を同定し得たリンパ節炎の2症例.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 小児科	6. 最初と最後の頁 93-98
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matui A, Niimi H, Uchino Y, Kawabe S, Noda H, Kitajima I	4. 巻 -
2. 論文標題 A rapid ATP bioluminescence-based test for detecting Lavofloxacin resistance starting from positive blood culture.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sci.Rep.	6. 最初と最後の頁 13565
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-49385-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kaeabe S, Uchido Y, Noda H, Matsui A, Niimi H, Kitajima I	4. 巻 6
2. 論文標題 Rapid antimicrobial testing using ATP luminescence and machine learning methods.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Open Forum Infectious Disease	6. 最初と最後の頁 S723-S724
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/ofid/ofz360.1816	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sato S, Aoyama T, Uejima Y, Furuichi M, Sugamura E, Takano T, Ikeda M, Mizoguchi M, Okugawa S, Moriya K, niimi H, Kitajima I, Kawashima H, Kawano Y	4. 巻 25(2)
2. 論文標題 Pyogenic liver abscess due to hypervirulent Klebsiella pneumoniae in 14-year-old boy.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Infect Chemother	6. 最初と最後の頁 137-140
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jiac.2018.07.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kawasuji H, Sakamaki I, Kawamura T, Ueno A, Miyajima Y, Matsumoto K, Kawago K, Higashi Y, Yamamoto Y.	4. 巻 -
2. 論文標題 Positive infectious disease consultation at the time of blood culture collection is associated with decreased mortality in patients with methicillin-resistant Staphylococcus aureus bacteremia: A retrospective cohort study.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Infect Chemother	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jiac.2020.01.017.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ogami C, Tsuji Y, To H, Yamamoto Y	4. 巻 25(12)
2. 論文標題 Pharmacokinetics, toxicity and clinical efficacy of linezolid in Japanese pediatric patients.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Infect Chemother	6. 最初と最後の頁 979-986
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jiac.2019.05.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yanagihara K	4. 巻 57(6)
2. 論文標題 The role of molecular diagnosis in acute respiratory tract infection.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Repir. Investig.	6. 最初と最後の頁 511
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016./j.resinv.2019.06.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yanagihara K, Matumoto T, Aoki N, Sato J, Wakamura T, Kiyota H, et al.	4. 巻 25(9)
2. 論文標題 Nationwide surveillance of bacterial respiratory pathogens conducted by the surveillance committee of Japanese Society of Chemotherapy, the Japanese association for Infectious Diseases, and the Japanese Society for clinical microbiology in 2014: General view of pathogens' antibacterial susceptibility.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J.Infect Chemother	6. 最初と最後の頁 657-668
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jiac.2019.05.006.	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yoneda N, Yoneda, S, Niimi H, Ito M, Fukuta K, Ueno T, Ito MK, Shiozaki A, Kigawa, M, Kitajima I, Saito S	4. 巻 79(2)
2. 論文標題 Sludge reflects intra-amniotic inflammation with or without microorganisms.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Am J Reprod Immunol	6. 最初と最後の頁 e
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/aji.12807	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yoneda S, Yoneda N, Shiozaki A, Yoshino O, Ueno T, Niimi H, Kitajima I, Tamura K, Kawasaki Y, Makimoto M, Yoshida T, Saito S	4. 巻 80(3)
2. 論文標題 170HP-C in patients with spontaneous preterm labor and intact membranes: is there an effect according to the presence of intra-amniotic inflammation?	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Am J Reprod Immunol.	6. 最初と最後の頁 e12867
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/aji.12867	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sato S, Aoyama T, Uejima Y, Furuichi M, Suganuma E, Takano T, Ikeda M, Mizoguchi M, Okugawa S, Moriya K, Niimi H, Kitajima I, Kawashima H, Kawano Y	4. 巻 25
2. 論文標題 Pyogenic liver abscess due to hypervirulent <i>Klebsiella pneumoniae</i> in a 14-year-old boy.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Infect Chemother	6. 最初と最後の頁 137-140
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jiac.2018.07.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Niimi H, Kitajima I	4. 巻 12
2. 論文標題 A novel new method for identification of bacteria outpaces sepsis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Impact	6. 最初と最後の頁 52-54
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 上島洋二、樋渡えりか、櫻谷浩志、南部隆亮、佐藤 智、菅沼栄介、高野忠将、藤永周一郎、荒井 孝、仁井見英樹、北島 勲、大石 勉、川野 豊	4. 巻 123(1)
2. 論文標題 迅速診断と早期からの治療介入により救命できた侵襲性髄膜炎菌感染症	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本小児科学会雑誌	6. 最初と最後の頁 53-60
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 仁井見英樹	4. 巻 66(3)
2. 論文標題 Melting Temperature (Tm) mappnig法。新たな敗血症起炎菌迅速同定法	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日本臨床検査医学会誌	6. 最初と最後の頁 267-274
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計14件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 北島勲
2. 発表標題 転写因子NF- B基礎研究と病態解析応用への面白さ
3. 学会等名 第68回日本臨床検査医学学会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 仁井見英樹，東祥嗣，宮腰晃央，斎藤滋，山本善裕，北島勲
2. 発表標題 新規バイオマーカーとしての「菌数」の遺伝子検査
3. 学会等名 第27回日本遺伝子診療学会大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 仁井見英樹、松井篤、北島勲
2. 発表標題 ATP蛍光検出法を基盤とした新たな迅速薬剤感受性試験法
3. 学会等名 第31回日本臨床微生物学会総会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 仁井見英樹、河野麻里、小嶋望実、北島勲
2. 発表標題 敗血症疑い患者におけるXNの好中球関連パラメーターの有効性の検討
3. 学会等名 第67回日本臨床検査医学会学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 1)杉江和茂、関口敬文、森田未香、坂本純子、上野智浩、酒巻一平、山本善裕、仁井見英樹、北島勲
2. 発表標題 MRSAアウトブレイク発生時の院内感染対策にPOT法が有効であった事例。
3. 学会等名 第30回日本臨床微生物学会総会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 7)松永楓、宮腰晃央、仁井見英樹、上野智浩、柳沢秀一郎、北島勲、林篤志
2. 発表標題 Tm mapping法による細菌性眼内炎起炎菌の迅速同定
3. 学会等名 第30回日本臨床化学東海・北陸支部総会、第38回日本臨床検査医学界東海・北陸支部例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 仁井見英樹、東祥嗣、酒巻一平、山本善裕、北島勲
2. 発表標題 カンジダ血症における起炎菌迅速同定検査法の確立
3. 学会等名 第59回日本臨床化学学会年次学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 杉江奈々、東祥嗣、上野智浩、原田健右、仁井見英樹、北島勲
2. 発表標題 カンジダ血症における起炎菌迅速同定検査法（IMQ-probe法）の確立と検証
3. 学会等名 第66回日本臨床検査医学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 仁井見英樹、松井篤、北島勲
2. 発表標題 TP蛍光発光検出法を基盤とした新たな迅速薬剤感受性試験法。
3. 学会等名 第31回日本臨床微生物学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Niimi H, Higashi Y, Ueno T, Mori M, Yamamoto Y, Saito S, Kitajima I
2. 発表標題 Novel rapid quantification method of bacteria in a septic blood sample can produce an effective biomarker for monitoring patient care.
3. 学会等名 70th AACC Annual Scientific Meeting & Clinical Lab Expo.2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 仁井見英樹、杉江和茂、松井篤、上野智浩、内保裕一、石丸真子、野田英之、北島勲
2. 発表標題 敗血症起炎菌の新たなATP測定技術を基盤とした迅速な薬剤感受性試験法の開発
3. 学会等名 第30回臨床微生物迅速診断研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 仁井見英樹、東祥嗣、上野智浩、山本善裕、北島勲
2. 発表標題 数を敗血症の新規バイオマーカーとする起炎菌迅速同定・定量検査法の開発
3. 学会等名 第65回日本臨床検査医学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 杉江和茂、仁井見英樹、上野智浩、北島勲
2. 発表標題 新たなATP測定技術を基盤とした、迅速な薬剤感受性試験法の開発
3. 学会等名 第65回日本臨床検査医学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大槻晋也、仁井見英樹、上野智浩、北島勲
2. 発表標題 不完全一致配列の線状長鎖プローブを用いた改良Tm mapping法
3. 学会等名 第65回日本臨床検査医学会学術集会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計4件

産業財産権の名称 PCR primer set for bacterial DNA amplification, kit for detecting and/or identifying bacterial species, and method for detecting and/or identifying bacterial species	発明者 Amano K, Kitajima I, Niimi H	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、JP/07.10.13/JPA 2013210606	出願年 2019年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 不完全なマッチプローブを用いたカンジダ菌の迅速同定法	発明者 東祥嗣、仁井見英樹、北島勲	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2018-061350	出願年 2018年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 改良Tmマッピング法	発明者 仁井見英樹、大槻賢也、北島勲	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PTC/JP2,018/23382)	出願年 2018年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 血液検体の前処理方法	発明者 仁井見英樹、杉江和茂、北島勲	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PTC/JP2018/23388)	出願年 2018年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 Enzyme preparation containing thermostable and polymerase method for producing same, and method for detecting subject organism to be detected	発明者 多葉田誉、南洋、仁井見英樹、北島勲 他	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、US2018/0057860A1	取得年 2018年	国内・外国の別 外国

〔その他〕

Identification of bacteria outpaces sepsis.
<https://doi.org/10.21820/23987073.2018.12.52>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	原田 健右 (HARADA KENU) (30436795)	富山大学・学術研究部医学系・特命講師 (13201)	
研究分担者	柳原 克紀 (YANAGIHARA KATUYUKI) (40315239)	長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・教授 (17301)	
研究分担者	仁井見 英樹 (NIIMI HIDEKI) (50401865)	富山大学・学術研究部医学系・准教授 (13201)	
研究分担者	山本 善裕 (YAMAMOTO YOSHIHIRO) (70452844)	富山大学・学術研究部医学系・教授 (13201)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------