

Conclusions : The data indicate that 26 differentially expressed miRNAs in the biopsied 21 of the peripheral blood of orbital lymphoproliferative disorders might be used as biomarkers in the diagnosis of orbital MALT or IgG4-ROD.

P1-09.

化学物質のアレルギー感受性を評価する新規動物実験代替法の開発

(医学総合研究所 免疫制御研究部門)

○溝口 出、折井 直子、長谷川英哲
善本 隆之

近年、動物福祉の考えから3Rの理念が広まり、感受性試験においても動物を用いない *in vitro* の代替試験法が複数開発され、OECDのテストガイドラインにも採択されている。ところが、これらの代替法は、感受性の有害性発現経路の Key event (KE) 1~3に相当する初期反応を指標にし、これら複数の方法の組み合わせ (IATA) による評価が必要とされている。我々は、これまでに、生体内の気道上皮を模倣したヒト気道上皮細胞株と末梢血単球由来未成熟樹状細胞 (DC)、繊維芽細胞株を用いた3次元DC共培養系を開発した。そして、この系を用いて、皮膚と呼吸器の感受性の違いを、DCでのヘルパー CD4⁺ T (Th) 2分化に重要な OX40 リガンドの発現増強の違いで識別できることを示した (Mizoguchi *et al.* 2017)。本研究では、この系に、さらに、T細胞を加え、KE4を指標に、アレルギー感受性・誘発性を評価するための新規3次元DC/T共培養系を開発することを目的としている。今回は、まず、ヒト末梢血由来のDCとCD4⁺ T細胞を用いて検討を行った。代表的呼吸器および皮膚感受性化学物質として、Ortho-phtalaldehyde (OPA) と Oxazolone (OXA) を用いて、3次元DC共培養系で刺激24時間後、DCの層だけを取り出し、その上にアロジェニックなナイーブCD4⁺ T細胞を加え培養後、経時的にRNAを抽出し、リアルタイムRT-PCRにより遺伝子発現を解析した。その結果、2日後には、T細胞の活性化マーカーであるCD69発現の増強が見られ、OXA刺激でTh1分化のマーカーであるIFN- γ 発現が上昇したが、OPA刺激では上がらずTh2分化マーカーのIL-4発現が上昇傾

向にあった。5日後には、逆に、IFN- γ 発現は差が無くなり、OPA刺激でIL-4発現が上昇した。7日後には、どれも、差が殆ど見られなくなった。以上の結果より、この新しい3次元DC/T共培養系により、KE4であるT細胞を指標に呼吸器感受性と皮膚感受性の識別が可能である可能性が示された。

P1-10.

Usefulness of newly developed high-speed PCR analysis system called Path-OCTa in the diagnosis of Clostridioides difficile infection

(社会人大学院博士課程3年微生物学、聖路加国際病院感染症科)

○古川恵太郎

(微生物学、国際医療福祉大学医学部感染症学講座)
松本 哲哉

(株式会社メタボスクリーン)

光武 宏、麻生 涼子、関澤 隆一

【Introduction】 Clostridioides difficile (*C. difficile*) is a pathogen causing antibiotics-associated colitis. Appropriate infection control and management for patients with *C. difficile* is required to prevent nosocomial infection. Immunochromatography with C DIFF QUIK CHEK COMPLETE (Alere Medical) (QUIK CHEK), which detects *C. difficile*-specific glutamate dehydrogenase (GDH) and toxins (CD toxins), is used as the screening test for *C. difficile* infection. However, it has been reported that the sensitivity of QUIK CHEK in detecting CD toxins in stool is relatively low. Therefore, when samples test positive for GDH but negative for CD toxins using QUIK CHEK, stool samples are processed for bacterial culture. After that, if *C. difficile* colonies are obtained, they are tested for CD toxins by the same assay. However, it takes about several days for colonies to form. Therefore, it sometimes leads to delaying diagnosis and inappropriate management of *C. difficile* infection. To solve these problems, we evaluated newly developed high-speed PCR analysis system called Path-OCTa (Metaboscreen) by comparing with real-time PCR analysis as a golden standard for rapid detection of the CD toxin gene.

【Method】 After obtaining approval from the ethics