

厚生労働科学研究費補助金

医薬安全総合研究事業

安全な血液を確保するためのウイルス  
標準品の確立とその応用に関する研究

平成14年度 総括・分括研究報告書

主任研究者 岡田 義昭

平成15 (2003) 年3月

# 目次

## I. 総括研究報告書

安全な血液を確保するためのウイルス標準品の確立とその応用	P1 - P3
主任研究者 岡田 義昭	

## II. 分担研究報告

1.核酸増幅法のためのウイルス国内参照品の確立と パネル血漿の整備に関する研究	P4 - P9
--	---------

岡田 義昭

2.国内で市販されているC型肝炎ウイルス関連抗体 (HCV抗体) 検出用体外診断用医薬品の再点検	P10 - P15
---	-----------

水落 利明

III.研究成果の刊行に関する一覧表	P16
--------------------	-----

IV.研究成果の刊行物・別冊	P17 - P30
----------------	-----------

厚生科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）

総括研究報告書

安全な血液を確保するためのウイルス標準品の確立とその応用に関する研究

主任研究者 岡田義昭 国立感染症研究所 血液・安全性研究部 室長

研究要旨 安全な血液を確保するためには血清学的検査と核酸増幅検査などのスクリーニング検査の精度管理が重要である。そのために、昨年の HBs 抗原検出キットに引き続き、日本で市販されている HCV 抗体検出キットの再評価を実施した。陰性、陽性のパネル血清 68 検体を用いて評価したところ、第 2 世代と第三世代のキット間で差を認められなかった。全体的には著明な差を認めなかったが、キットに用いられる抗原量や量によって感度等が影響を受けることが示唆された。また、核酸増幅検査の評価のための HCV-RNA 陽性血漿を整備し、genotype1 から 7 までを得ることができた。血漿は有限なことから、NAT に必要なウイルス遺伝子をプラスミドに組み換え、感度や特異性の評価に利用できるよう整備を続けている。また、欧米ではある特定の製剤の原料血漿において B19- DNA の量を制限する検討がされているので、日本で市販されている分画製剤の B19- DNA の混入頻度の現状を検索した。34 ロット中 1 ロットから B19- DNA が検出された。また、B19 培養系を確立し、加熱による B19 不活化を検討できるようにした。

分担研究者 水落 利明 国立感染症研究所  
血液・安全性研究部  
室長

A. 研究目的

現在、ウイルスに対して核酸増幅検査（以下 NAT）が導入され、血液の安全性確保に大いに貢献している。しかし、NAT 法は高感度であるが、感度や特異性などの精度管理が重要である。昨年度は多施設参加の共同研究による HBV、HCV、HIV の国内参照品の整備を行った。種々の審議等を経て承認・供給される予定である。一方、HBV、HCV、HIV のウイルスには genotype が存在し、塩基配列が異なる部分があることから genotype 間での NAT 法の感度や特異性について詳細に検討する必要がある。特に、国際間の人的交流によって多くの日本人が海外へ渡航し、また、海外の様々

な地域から多くの人々が来日することなどから、従来日本に存在しなかった genotype のウイルスが国内で拡がる危険性が常にある。これらの genotype が異なるウイルスに対しても国内に分布している genotype と同等の感度が得られるか、評価することは重要なことである。今年度は昨年を引き続き、パネル血漿の整備を行った。一方、3 つのウイルスに続いてパルボウイルス B19（以下 B19 と略）の国際標準品が確立されたのに伴い、欧米では原料血漿での B19 混入の規制が検討されている。日本で市販されている製剤について、現状を把握するために B19- DNA の混入程度を解析した。

また、HCV の血清学的診断に用いられている HCV 抗体検出用体外診断用医薬品について、承認されている約 30 種類のキットの感度と特異性の再評価を行い、問題点の有無を明らかにすること

を目的とした

## B.研究方法

### 1. ウイルスの genotype のパネル整備について

欧米や東南アジア由来の HCV 陽性血漿を解析し、塩基配列を解析して genotype を決定した。また、昨年整備した HCV の window 期の血漿 15 検体の genotype とウイルス量を Amplicor monitor を用いて測定した。

B19 については、我々の室で購入して保管してあった免疫グロブリンとフィブリノゲンを中心に、B19 ウイルス遺伝子の検出を行った。さらに、我々の開発した B19 感染系を用いて B19 の加熱処理による B19 の不活化の評価を行った。

### 2. HCV 診断用キットの再点検について

国内で承認されているキット約 30 種について、68 検体の血漿（陰性血漿、弱陽性血漿、強陽性血漿、seroconversion panel）について特異性と感度を再点検した。

（倫理面への考慮）

東南アジアからの血漿は当研究所エイズセンターとの共同研究の一環として供与された。また、それ以外の血漿は購入した。

## C.研究結果

HCV-RNA 陽性の血漿から genotype 1 から 7 までのウイルスを得ることができた。また、15 例の HCV-RNA 陽性 window 期の血漿から 1a、1b、2b、3a の genotype が検出された。

B19-DNA は、34 ロットから生体接着ノリ 1 ロットからのみ B19 遺伝子が検出された。また、B19 感染系を用いた液状加熱処理では感染価が 60°C4 時間の加熱によって  $10^4$  減少した。

HCV 診断用キットの再点検では 1990 年以降に開発されたキットであることから看過できない程

の低感度、低特異性の製品は見当たらなかった。

また、第 2 世代と第三世代のキット間で感度の差は認められなかった。

## D. 考察

HCV には様々な genotype が存在し、国際間のヒトの交流によって日本に入ってくる恐れがある。これらの genotype に対して感度や特異性を評価、確認することは血液製剤の安全性向上に重要である。その意味でパネル血漿の整備は重要である。一方、稀な genotype の血漿を充分な量だけ集めることは倫理的にも難しい。そのため、少量の血漿から NAT に必要なウイルス遺伝子の一部分をプラスミドにクローニングすることが必要になる。また、感度を比較する際に、今の技術では別の方法で HCV を定量することはできないため重さと分子量が明らかな組み換えプラスミドを用いれば正確な感度を genotype 間で比較できる。また、B19 はウイルス血症時のウイルス量が  $10^{12}$ /ml 以上あることもあり、また、エンベロープがないために種々の不活化処理に抵抗性を持つ。そのため、欧米では感染例原料血漿での B19 の規制が検討されるに至った。対象は抗 D 人免疫グロブリン、凝固因子製剤の原料血漿である。日本では日本赤十字社がすでに B19 のスクリーニングを導入しているため、海外での報告と比較するため市販されている製剤での B19-DNA 陽性率を調べた。抗 D 人免疫グロブリンは調べた 5 ロットからは検出されなかった。他のグロブリン製剤からも検出されなかったのは、精製段階で共存している抗 B19 抗体とコンプレックスを形成し、ウイルス除去膜によって除去される可能性が考えられた。また、B19 はこれまでブタパルボウイルスをモデルとして不活化が評価されてきたが、B19 培養系

で大きな問題となるようなキットはなかったが、NS5 抗原のアッセイ系に加えることは感度の点では余り影響を与えなかったと考えられた。また、genotype1 から 7 までのウイルス血漿が得られたことから、非構造タンパク遺伝子をクローニングして発現させることで、genotype が異なる HCV 間での血清学的感度の違いを評価できることが可能になった。

#### E. 結論

欧米や東南アジアの国々から HCV 陽性血漿を集め、genotype 1 から 7 までを得ることができた。また、B19- DNA の分画製剤への混入を検索し、34 ロット中 1 ロットから B19 遺伝子を検出した。さらに、B19 の液状加熱による不活化を検討し、モデルウイルスより 100 倍高感受性であることを明らかにした。

HCV 診断用キットの再点検では、看過できない程の低感度、低特異性の製品は見当たらなかったが、世代や原理、手技が同じでも、キットに用いられる抗原の種類や量などで検出できる抗体の種類も異なる可能性が示唆された。

#### F. 健康危機情報

なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

岡田義昭、奥山堅司、水沢左衛子：パルボウイルス B19 の感染系の確立とその応用。  
第 50 回日本ウイルス学会。2002 年。

#### H. 知的所有権の出願・登録状況取得

##### 1. 特許取得

なし

#### 2. 実用新案登録

なし

#### 3. その他

なし

厚生科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）

分担研究報告書

核酸増幅法のためのウイルス国内参照品の確立とパネル血漿の整備に関する研究

主任研究者 岡田義昭 国立感染症研究所 血液・安全性研究部 室長

協力研究者 水沢左衛子 国立感染症研究所 血液・安全性研究部 主任研究官

研究要旨 日本とヒトの交流の多い欧米や東南アジアなどから血漿を得、HCV の genotype を解析し、genotype1 から 7 までを検出することができた。NAT に必要なウイルス遺伝子をプラスミドに組み換え、感度や特異性の評価に利用できるよう整備を続けている。また、日本で市販されている分画製剤における B19- DNA の混入を検索したところ、34 ロット中 1 ロットから B19- DNA が検出された。また、B19 培養系を確立し、加熱による B19 不活化を検討した。液状加熱では 4 時間の処理によって 104 感染価が低下したが、乾燥加熱では抵抗性を示した。

A. 研究目的

window 期の血液を除外するために日本をはじめ欧米諸国において、ウイルスに対して核酸増幅検査（以下 NAT）が導入され、血液の安全性確保に大いに貢献している。しかし、NAT 法は高感度であるが、感度や特異性などの精度管理が重要である。前年度までの多施設参加の共同研究による HBV、HCV、HIV の評価に用いる国内参照品の整備は実験面では終了し、種々の審議等を経て承認・供給される予定である。一方、HBV、HCV、HIV のウイルスには genotype が存在し、塩基配列が異なる部分があることから genotype 間での NAT 法の感度や特異性について詳細に検討する必要がある。特に、我国では海外（主に米国）から原料血漿を輸入することが多いこと、及び、国際間の人的交流によって多くの日本人が海外へ渡航し、また、海外の様々な地域から多くの人々が来日することなどから、従来日本に存在しなかった genotype のウイルスが国内で拡がる危険性が常にある。これらの genotype が異なるウイルスに対

しても国内に分布している genotype と同等に NAT が有効であるか評価することは重要なことである。このためにパネル血漿を整備することは必要である。しかし、十分な量を確保することが倫理的に不可能な genotype もある。そのような場合、少量の血液から NAT 法でウイルスの必要な部分のみの遺伝子を増幅し、プラスミドにクローニングすることで同一の塩基配列を持つウイルス遺伝子を必要に応じて大量に作り出すことが可能である。血漿パネルの他に、各 genotype を組み込んだプラスミドの整備も目的にした。

一方、3つのウイルスに続いてパルボウイルス B19（以下 B19 と略）の国際標準品が確立された。欧米では界面活性剤処理した凍結血漿が導入されていることやこれまでの報告で多くの分画製剤に B19 が混入していることが明らかになっているので原料血漿での B19 混入の規制が検討されている。特に、抗 D 免疫グロブリンと凝固因子製剤の原料血漿が対象になっているので、日本で市販されている抗 D 免疫グロブリンとフィブリノゲンを含む

製剤について日本における現状を検討するために B19- DNA の混入程度を解析し、安全性についての検討を行った。併せて、B19 の in vitro 感染系を用いた不活化についても解析した。

## B. 研究方法

### 1. ウイルスの genotype のパネル整備について

当研究所エイズセンターとの共同研究によってなされた東南アジアでの HIV と重感染している HCV の解析を行い、陽性の場合には塩基配列を解析して genotype を決定した。また、少量の検体しか入手できない genotype のために NAT に必要なウイルスの断片をプラスミドに組み込むためのクローニングの基礎的検討を行った。また、昨年整備した HCV の window 期の血漿 15 検体の genotype とウイルス量を Amplicor monitor を用いて測定した。

B19 については我々の室で購入して保管してあった分画製剤の中から抗 D 免疫グロブリンとフィブリノゲンを含む製剤、さらに新生児に投与する可能性の高い抗 HBs 免疫グロブリン製剤、筋注用グロブリン製剤について B19 ウイルス遺伝子の検出を行った。製剤からの抽出は R&D、及び Qiagen 社の核酸精製カラムを使用し、製剤 40 マイクロリットルに相当する量を nested PCR にて B19- DNA を検出した。さらに、我々の開発した B19 感染系を用いて B19 の液状加熱処理と乾燥加熱処理による B19 の不活化の評価を行った。

## C. 研究結果

当研究所エイズセンターとの共同研究によって実施された東南アジア地域での HIV 陽性者に重感染している HCV の解析を行ったところ、HCV-RNA 陽性の血漿から genotype 1a、1b、2、3、4、5、

6a、7 などの種々のウイルスが検出された。また、我々が集めた 15 例の HCV- RNA 陽性 window 期の血漿は 3 検体が  $10^4$  未満であったが、9 検体は  $10^5$  以上の高いウイルス量を示した。Genotype は一部未確定な血漿もあるが 1a、1b、2b、3a などの genotype であった。

B19- DNA に関しては、抗 D 免疫グロブリン製剤 5 ロット、抗 HBs 免疫グロブリン製剤 7 ロット、筋注用グロブリン製剤 6 ロット、抗破傷風グロブリン製剤 5 ロット、フィブリノゲンを含む生体接着ノリ 10 ロット、第 8 因子製剤 1 ロットの計 34 ロットについて B19- DNA の検出を試みたところ、生体接着ノリからの 1 ロットから B19 DNA が検出された。残りの 33 ロットは NAT の感度以下であった。グロブリン製剤からは 1 ロットからも検出されなかった（表 1）。また、これらのグロブリン製剤は抗 B19- IgG が全て陽性であった。次に、我々の開発した B19 感染系で液状加熱処理による B19 の不活化を検討したところ、加熱前に 10 マイクロ当たり  $10^5$  あった感染価が  $60^{\circ}\text{C}$  4 時間の加熱によって 10 又はそれ以下まで減少した。安定化剤としてアルブミンを共存させても著明な差は認められなかった。一方、B19 陽性血漿を PBS やアルブミンを添加し乾燥させ加熱すると、PBS では容易に失活したが、アルブミン添加した B19 は少なくとも 2 4 時間の加熱では不活化されなかった。

## D. 考察

HCV には様々な genotype が存在し、国際間のヒトの交流によって日本に入ってくる恐れがある。現在使用されている HCV-RNA 診断用キットのこれらの genotype に対して感度や特異性を評価、確認することは血液製剤の安全性向上に重要である。パネル血漿は欧米に流行している



genotype については、ある程度の血漿を収集することは可能であり、NIBSC から genotype1 から 6 までの血漿は少量だが入手できる。一方、人的交流の多い東南アジアなどの genotype の報告は少なかったが、今回明らかになった genotype はこれまでの報告と同じ genotype が存在していることが確認された。これらの全ての血漿を十分な量だけ集めることは倫理的にも難しい。また、パネル血漿の欠点は有限なため使い切れれば新しい血漿を集めなければならない、その場合、同一性を担保することが難しい。そのため、少量の血漿から NAT に必要なウイルス遺伝子の一部分をプラスミドにクローニングすることが可能なら必要に応じて同一の塩基配列を持つウイルス遺伝子を大量に製造することが可能になる。この作業を現在実施しているが、HCV は遺伝子の変異が genotype 間で見られることから genotype1 や 2 などの全長の塩基配列が報告されているものは、共通した部位を検索することは容易だが、部分的にしか報告のない genotype に対してはクローニングに苦慮している。

また、B19 はウイルス血症時のウイルス量が  $10^{12}$ /ml 以上あることもあり、また、エンベロープがないために種々の不活化処理に抵抗性を持つことが知られていた。大人の 40% から 60% が抗体陽性であることや感染の多くは軽症なこと（造血機能が亢進しているヒトや免疫不全状態のヒトが感染すると重症化することもある）から他の 3 つのウイルスに比べて検討が遅れていた。国際標準品の確立に伴い、また、感染例の報告などから原料血漿段階での B19 の規制が検討されるに至った。B19 感染で最も重大な影響がでるのは抗 D 人免疫グロブリンの投与を受ける妊婦であり、感染

した場合には胎児が死亡する危険がある。また、凝固因子製剤を反復投与される血友病患者などである。そのため、全ての分画製剤の原料血漿でなく抗 D 人免疫グロブリンや凝固因子製剤の原料血漿が優先的に規制の対象になる。日本では日本赤十字社がすでに B19 のスクリーニングを導入しているため、海外での報告と比較するため市販されている製剤での B19-DNA 陽性率を調べた。日本では分娩後に抗 D 人免疫グロブリンを投与することが一般的だが、調べた 5 ロットからは検出されなかった。他のグロブリン製剤からも検出されなかったのは精製段階で共存している抗 B19 抗体とコンプレックスを形成し、ウイルス除去膜によって除去される可能性が考えられた。グロブリン製剤は 35 nm のポアサイズのウイルス除去膜を使用しているため理論的には B19 は素通りするが抗体との結合で粒子が大きくなっている可能性が考えられる。また、フィブリノゲンを含む製剤からは 1 ロットのみ陽性があった。該当するロットは輸入品であるが、その企業は既に自主的に原料血漿でのチェックを導入しており、導入前の血漿から製造されたものと推定される。また、B19 はこれまでブタパルボウイルスをモデルとして不活化が評価されてきたが、今回我々の開発した B19 培養系を用いて評価したところ、60℃4 時間の加熱によって  $10^4$  感染価が低下した。モデルウイルスのブタパルボウイルスでは 100 分の 1 に低下することが報告されているので、B19 はブタパルボウイルスより熱に高感受性であることがあきらかになった。アルブミン等で実施されている液状加熱が効果的であることが再認識された。乾燥加熱では添加剤によって製剤が安定になる一方でウイルスも加熱に対して安定になる可能性が示唆され



た。

#### E. 結論

欧米や東南アジアの国々から HCV 陽性血漿を集め、genotype 1 から 7 までを得ることができた。NAT に必要な部分をプラスミドに組み換え、感度や特異性の評価に使用できるように整備している。また、B19- DNA の分画製剤への混入を検索したが、34 ロット中 1 ロットから B19 遺伝子が検出された。また、B19 の液状加熱による不活化を検討し、4 時間で 1 万分の 1 に低下したことを確認した。これはモデルウイルスより 100 倍高感受性であった。

#### F. 健康危機情報

なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

岡田義昭、奥山堅司、水沢左衛子：パルボウイルス B19 の感染系の確立とその応用。

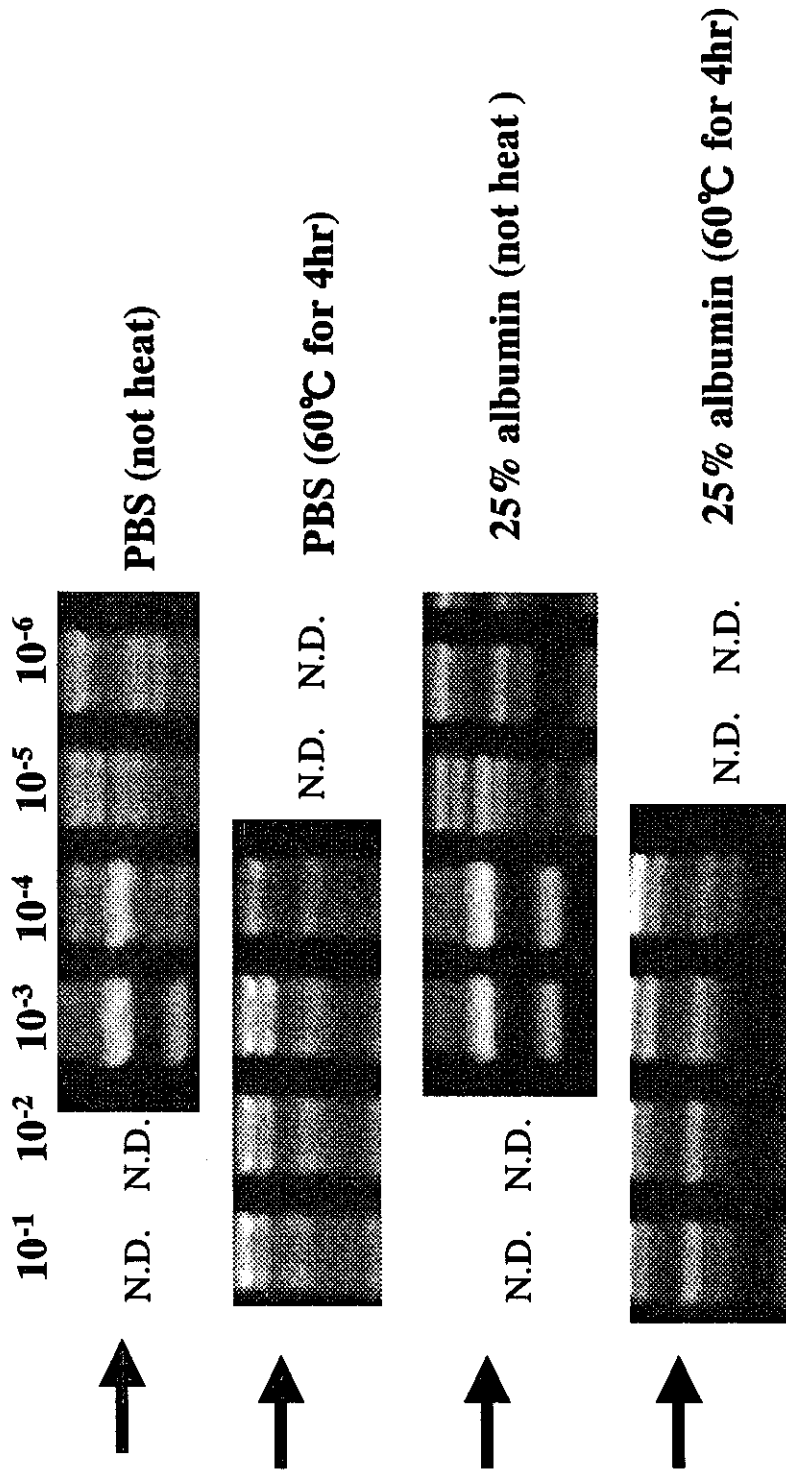
第 50 回日本ウイルス学会。2002 年。

#### H. 知的所有権の取得状況

なし

製剤	ロット数	B19- DNA(+)
抗D-免疫グロブリン	5	0
抗HBs人免疫グロブリン	7	0
抗破傷風人免疫グロブリン	5	0
人免疫グロブリン	6	0
ファイブリノゲンノリ	8	1
ファイブリノゲン製剤	2	0
第8因子製剤	1	0
計	34	1

表1 分画製剤におけるB19- DNA陽性率



**Fig.1 B19 inactivation by Pasteurization**

厚生科学研究費補助金（医薬安全総合事業）分担研究報告書  
「安全な血液を確保するためのウイルス標準品の確立とその応用」

国内で市販されている C 型肝炎ウイルス関連抗体（HCV 抗体）検出用  
体外診断用医薬品の再点検

分担研究者： 国立感染症研究所 血液・安全性研究部 第 2 室 水落利明

A. 研究目的

我が国における C 型肝炎ウイルス（HCV）保有者は 200 万人にのぼるともいわれ、これは全人口の約 1.5%–2% にもあたる。また HCV 感染者は自覚症状のないままに肝硬変や肝癌へと移行する例が多いことが大きな問題となっている。このような HCV 感染の迅速かつ正確な診断は、医療および公衆衛生上非常に重要な課題である。HCV 感染の有無はウイルス RNA を遺伝子増幅法により検出することで確認できるが、簡便かつ大量に検体を処理するために血清学的検査の果たす役割には依然として大きいものがある。厚生労働省老健局により平成 14 年度から開始された「肝炎ウイルス検診」に先立ち、21 世紀型医療開拓推進研究事業として行われた研究（「肝がんの発生予防に資する C 型肝炎検診の効果的な実施に関する研究」：吉澤浩司 班長）で明らかのように、半定量的 HCV 抗体検査を行うことで HCV 感染者を効率良く発見できることが示されている。今回の再点検は、現在国内市場に流通している HCV 抗体検出キットの検出感度や特異性についての

情報を収集し、それらを医療関係者に提供することが、高い検査技術水準の保持および効率的な検診に必須であると考え、厚生労働省医薬局審査管理課と協議の上、各キットの製造/輸入/販売企業の協力のもとに行われた。

B. 研究方法

2001 年現在、日本国内で承認され販売されている HCV 抗体検査薬はおよそ 30 種類にのぼる。本研究では、それらの検査薬について同一のパネル検体を用いてキットの感度および特異性を比較検討した。

HCV 抗体検査薬はそれらの原理と手技から以下のように分類される。

- (a) IRMA (Immunoradiometric assay)
- (b) Immunochromatography
- (c) Agglutination/Aggregation (PHA、PA、LPIA および PAMIA を含む)
- (d) EIA (Enzyme Immunoassay)
- (e) CLEIA/CLIA (Chemiluminescent [enzyme] immunoassay)
- (f) EV-FIA (Evanescent wave fluoro immunoassay)
- (g) RIBA (Immunoblot)

また、各キットはそれらの使用抗原により「Core (コア) 抗体検出」、「第一世代 (抗 NS3-NS4 抗体検出)」、「第二世代 (抗 NS3-NS4 + Core 抗体検出)」、「第三世代 (抗 NS3-NS4 + Core + NS5 抗体検出)」に分類される。表 1 に今回検査の対象となった製品の販売名、製造/輸入業者名及び添付文書に記載された検査対象等を示す

本研究に用いた試験パネル検体は以下のとおりである。

- (1) 陰性検体：国立感染症研究所（以下「感染研」）にて以前より依頼検査に用いている HCV Ab 陰性血清 18 検体、および米国 Boston Biomedical Inc.（以下「BBI」）より購入した Accurun 1 multi-marker negative control serum 1 検体の計 19 検体
- (2) BBIより購入した HCV Ab Low Titer panel： Lot PHV-105 (15 検体)
- (3) 感染研で保有する HCV Ab 強陽性検体 (Mix Titer) (20 検体)
- (4) BBIより購入した HCV Ab Seroconversion panel (genotype 1b)： Lot PHV-906 (7 検体) および Lot PHV-907 (7 検体)

### C. 結果

上記の 68 検体についてそれぞれを各キットで 2 回ずつ測定し、それらの判定を一覧表 (表 2) にまとめた。第一世代のキット (1 キット)、抗 Core 抗体測定キット (3 キット) および確認法である RIBA テスト (1 キット) はスクリーニングに用いず、IFN 治療

後のモニターリング等に使用されているキットではあるが、今回は参考としてそれらによる結果も同時に掲載することにした。一覧表ではキットの世代、測定原理を表記し、各キット間での結果を比較する際の参考にした。また各検体を用いた RIBA3 テストの結果を表記し、各キットの検出抗原を考察する参考とした。なお、RIBA3 テストの結果は各抗原 (NS4, NS3, Core, NS5) に対する反応強度を数字 (1 から 4) で示してある。+/- は目視でバンドが確認できるが反応強度が 1 以下であるもの、空欄は目視でバンドが確認できないもの (陰性) を示す。結果欄は 2 つ以上のバンドの濃さが「1 以上」である場合を陽性とし、「1 以上」が 1 つ以下の場合を +/- (判定保留)、全くバンドが確認できないものを陰性 (空欄) とした。

### D. 考察

スクリーニングには用いない Core 抗体検出用キット (No.1-3)、第一世代キット (No.4)、確認用 RIBA3 キット (No.27) を含む全 25 キットを用いた検査結果 (表 2) を概観して言えることは、第二世代と第三世代のキット間において際立った感度の差が認められないことである。これらの結果は、以前から提唱されているように、NS5 抗原を検出系に含むことはキットの感度上昇に必ずしも必要ではないことを示している。一方、同一世代のキット間で、ある程度の感度の差が見られたが、この差は NS5 抗原以外の使用抗原系に由来することが推測された。例をあげると、Seroconversion パネル #906 に

において、No13のキットはすべての検体について陰性と判定された。しかし同じパネル検体は同一原理（EIA法）同一世代（第二世代）のNo.10,11のキットではすべてが陽性と判定された。一方、パネル #907においては、このNo.13のキットはNo.10,11のキットよりもウイルス感染初期の段階（Core抗体出現に呼応して）で陽性と判定している。おそらくNo.13のキットは抗Core抗体の検出には優れているが、NS3,NS4領域抗原に対する抗体の検出においては感度が低いのではないだろうか。このように、同一世代、同一原理／手法のキットであっても、キットに使用されている抗原の種類あるいは量が異なるため、高感度に検出できる抗体の種類も異なることが示唆された。このことは特に抗Core抗体を含まない検体（Seroconversion パネル #906）を用いた場合において顕著であり、各キット間での、NS領域を認識する抗体の検出感度に違いがある可能性が示された。

#### E. 結論

HCV抗体検査診断薬は比較的最近

（1990年以降）開発されたキットであることから、今回の再点検では看過できないほど問題になるような低感度、低特異性のものは見当たらなかった。ただ、これらの結果はごく限定されたパネル検体を用いて得られたものであることから、それらの解釈には限界があることを留意すべきである。HCV抗体検査はあくまでも宿主の免疫応答を見ているに過ぎず、HCV抗体陽性者が現在HCVに感染しているか、あるいは過去に感染したために既往

抗体を保持しているのかを判定することは困難である。したがって抗HBs抗原検出キットと同様に、HCV抗体検出キットの場合も1つのキットでの判定結果のみに頼らず、確認法であるRIBA3キットさらにはウイルス遺伝子の検出といった方法を用いてより精度の高い判定を行うことが必要と考えられる。

#### F. 研究発表

##### (1) 論文発表

① Re-evaluation of HCV Ab detection kits approved for marketing in Japan: Committee for Evaluation of In Vitro Diagnostic Devices.

Jpn. J. Infect. Dis., 55:33-36 (2002).

なお、上記論文の内容を和文資料として「臨床病理」2002年3月号(p.313-317)、および「医学検査」2002年5月号(p.821-824)に発表した。

② 「HCV 関連検査--抗体」検査と技術 31:17-21 (2003).

##### (2) 学会発表

なし

#### G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得：なし

2. 実用新案登録：なし

謝辞：今回の再点検は国立感染症研究所体外診断薬委員会（委員長：竹森利忠）が中心となり、国立感染症免疫部の協力のもとに実施された。各キットの製造／輸入／販売企業とともにここに改めて御協力に謝意を表す。

表1：国内で市販されているHCV抗体検査薬

連番	世代	販売名	製造/輸入業者名	検査対象	原理/手法
1	Core	オ-ジHCV Core-Ab IRMA ㊦	三菱化学メディカル	血清/血漿	IRMA
2	Core	スマイテスト「HCVコア抗体」ELISA	医学微生物学研究所	血清/血漿	EIA
3	Core	ルミパルスIIオ-ジHCV core-Ab	富士レビオ	血清/血漿	CLEIA
4	1st	オ-ジHCV Ab IRMA ㊦	三菱化学メディカル	血清/血漿	IRMA
5	2nd	HCV・PHA「ダイナボット」	ダイナボット	血清/血漿	PHA
6	2nd	オ-ンHCV A b PA㊦II	富士レビオ	血清/血漿	PA
7	2nd	オ-ンHCV A b PA㊦IIオ-ト	富士レビオ	血清/血漿	PA
8	2nd	ルミスボット「栄研」(シリーズ) HCV抗体	栄研化学	血清/血漿	CLEIA
9	2nd	HCV・EIAII「アボット」	ダイナボット	血清/血漿	EIA
10	2nd	IMx HCV・ダイナバック-II	ダイナボット	血清/血漿	EIA
11	2nd	アキシム HCV・ダイナバック-II	ダイナボット	血清/血漿	EIA
12	2nd	イムチェック・F-HCV C50 Ab「コクサイ」	国際試薬	血清/血漿	FEIA
13	2nd	オ-トエ-スHCV	アズエル	血清/血漿	EIA
14	2nd	ア-キテクト・HCV	ダイナボット	血清/血漿	CLIA
15	3rd	オ-ソ クイックチェイサー HCV Ab	ミズホメディ-	血清/血漿	Immunochr.
16	3rd	ランリ-ム HCV II EX	シスメックス	血清	PAMIA
17	3rd	オ-ジHCV Ab LPIA ㊦	三菱化学メディカル	血清/血漿	LPIA
18	3rd	オ-ジHCV Ab IRMA ㊦III	三菱化学メディカル	血清/血漿	IRMA
19	3rd	オ-ソ HCV Ab ELISA テスト III	オ-ソ・クリニカル・ダイアグノスティックス	血清/血漿	EIA
20	3rd	HCV・EIA3.0「アボット」	ダイナボット	血清/血漿	EIA
21	3rd	コバス コア試薬 Anti-HCV-EIA	ロシュ・ダイアグノスティックス	血清/血漿	EIA
22	3rd	エパテスト HCV Ab	日水製薬	血清/血漿	EV-FIA
23	3rd	HCV・C.L.I.A.「アボット」(PRISM)	ダイナボット	血清/血漿	CLIA
24	3rd	ルミパルスIIオ-ジHCV	富士レビオ	血清	CLEIA
25	3rd	カイロン HCV RIBA テスト III	オ-ソ・クリニカル・ダイアグノスティックス	血清/血漿	RIBA



表 2

Applic.	monitoring			diagnosis																				confirmatory					
	Core			1	2nd										3rd										RIBA3 (3rd)				
	a	d	e	a	c	c	c	e	d	d	d	d	d	e	b	c	c	a	d	d	d	f	e	e	NS4	NS3	C	NS5	
Kit No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25				
Neg-1																													
2																													
3																													
4																													
5																													
6																													
7																													
8																													
9																													
10																													
11																													
12																													
13																													
14																													
15																													
16																													
17																													
18																													
19																													
Low-1																										2	3	1/2	1
2																													
3																													
4																													
5																													
6																													
7																													
8																													
9																													
10																													
11																													
12																													
13																													
14																													
15																													
Mix-1																										4	4	4	3
2																													
3																													
4																													
5																													
6																													
7																													
8																													
9																													
10																													
11																													
12																													
13																													
14																													
15																													
16																													
17																													
18																													
19																													
20																													

表2 (続き)

Applic.	monitoring				diagnosis														confirmatory										
Gener.	Core			1	2nd							3rd							RIBA3 (3rd)										
Method	a	d	e	a	c	c	c	e	d	d	d	d	d	e	b	c	c	a	d	d	d	f	e	e					
Kit No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	17	18	19	20	21	23	24	25	26	27	NS4	NS3	C	NS5
906-1					■	■	■			■	■				+/-	■	■	■						+/-	+/-	3			
2					■	■	■			■	■				+/-	■	■	■							1	3			
3					■	■	■			■	■					■	■	■							2	3			
4					■	■	■			■	■					■	■	■							3	4			
5					■	■	■			■	■					■	■	■							3	4			
6					■	■	■			■	■					■	■	■							4	4			
7					■	■	■			■	■					■	■	■							4	4			
907-1																													
2																													
3																													
4	■	■	■			/										■	■	■						+/-			1		
5	■	■	■		■	■	■			■	■				+/-		■	■						+/-		+/-	3		
6	■	■	■		■	■	■			■	■				+/-		■	■						+/-		+/-	3		
7	■	■	■		■	■	■			■	■					■	■	■							4	3/4	4	2	

- 判定
- : 2回の測定で両者ともに陽性
  - ▨ : 2回の測定で陽性と陰性に乖離
  - / : 2回の測定で"- "と"+/-"に乖離
  - +/- : 判定保留
  - X : Not Done
  - : 陰性

- Method
- a: IRMA
  - b: Immunochromatography
  - c: Agglutination/LPIA/PAMIA
  - d: EIA
  - e: CLEIA/CLIA
  - f: EV-FIA

注意 : RIBA3 の結果で"3/4"とあるのは、2回の測定でそれぞれ"3+"および"4+"であったことを示している

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
なし							

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Mizuochi,T, 他14名	Re-evaluation of HCV Ab Detection Kits Approved for Marketing in Japan	Jpn.J.Infect. Dis.	Vol.55	33-36	2002
水落 利明	HCV関連検査 -抗体	検査と技術	Vol.31	17-21	2003

20021038

以降は雑誌/図書に掲載された論文となりますので、  
P.16の「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。