

風疹抗体表示法の実態調査と風疹パネル血清作成の取り組み

分担研究者 浅野喜造（藤田保健衛生大学小児科教授）

研究要旨 風疹は社会的影響が大きな感染症の一つである。感染症専門家の風疹血清疫学に対する大勢を明らかにするためにアンケート調査を行った。本邦での風疹血清測定方法としては、免疫の確認には赤血球凝集抑制(HI)法が、シングル血清による急性期の診断には酵素抗体(EIA)-IgM法単独またはEIA-IgM法とEIA-IgG法の併用が、ペア血清による診断ではHI法が主流であった。また、感染症に携わっている多くの臨床家や疫学者は国際単位(IU)表示導入に前向きであり、パネル血清作成にも前向きであることが示された。今後はどのような道筋でIU表示導入やパネル血清作成に取り組むかが課題である。

A. 研究目的

風疹はヒトからヒトに感染する感染症であり、妊娠早期に妊婦が罹患すると先天性風疹(CSR)児を出生するなど、社会的影響が大きな感染症の一つである。風疹の流行をコントロールするためには、風疹抗体の保有状況を把握することは重要である。現在の風疹抗体測定法として、赤血球凝集抑制(HI)法と酵素抗体(EIA)法が主流であるが、相互の相関や互換性については十分に検討されていない。また、世界保健機関(WHO)は各種血清ウイルス抗体価を標準品に照らして国際単位(IU)で統一して表示するよう指導している。

今回、感染症専門家の風疹血清疫学に対する大勢を明らかにするために、状況に応じて使用している風疹抗体測定方法、抗体価のIU表示に対する意識、およびパネル血清作成に対する意識について調査を行った。

B. 研究方法

臨床ウイルス学会および小児感染症学会に属する臨床および疫学の研究者116人にアンケートを配布し、①免疫の確認および急性期診断に用いる風疹抗体測定方法、②

風疹抗体価のIU表示に対する意見、③風疹パネル血清に対する意見、について記名調査を行った。アンケートの回答者は81人(回答率70%)であった。アンケート未回答者に対しては不利益が被らないよう配慮した。

C. 研究結果

(1) 免疫の確認に用いる抗体測定方法

風疹の既往またはワクチン後の免疫を確認するために用いる抗体測定方法として、HI法を使用する者41人(51%)、EIA-IgG法を使用する者23人(28%)、HI法とEIA-IgG法の両方を使用する者17人(21%)であった。

(2) 急性期の診断に用いる抗体測定方法

風疹感染を診断するために、シングル血清を用いて診断する際の測定方法に対しては78人の回答があった。EIA-IgM抗体だけを測定すると答えた者45人(58%)、EIA-IgM抗体とEIA-IgG抗体の両方を同時に測定する者20人(26%)、HI抗体とEIA-IgM抗体を同時に測定する者5人(6%)と、90%の者がEIA-IgM法含めた測定方法で血清抗体を測定していた。

ペア血清で診断する際の測定方法に対しては71人の回答があり、HI抗体だけを測定すると答えた者が41人(58%)と一番多く、次いでEIA-IgM抗体測定11人(15%)、EIA-IgM抗体とEIA-IgG抗体を同時に測定する者5人(7%)、EIA-IgG抗体だけを測定する者5人(7%)の順であった。

(3) 国際単位 (IU) 表示の導入に対する意見

IU表示の導入に関しては75人(93%)が賛成と、風疹抗体価表示方法の国際化に多くの人は賛成であった。なお、HI抗体測定方法は生物活性を有する抗体を測定する方法であり、一方、EIA抗体測定方法は抗体のタンパク量を測定する方法である。測定する抗体の意味するところの違いを同じ表示方法で表示することへの問題点が指摘されていた。

(4) パネル血清作成への参加

参加の意志を示した者が63人(78%)あり、どのようなパネル血清を作成するか指摘する意見が多数寄せられた。

D. 考察

現在の医療保険制度では、HI法での測定は90点、EIA法の測定は300点、EIA法でIgG抗体とIgM抗体とを同時に測定した場合は、一つしか保険請求できないことになっている。今回の検討では、風疹に対する免疫状態の把握には、多くの者がHI法かEIA-IgG法のいずれか一つの測定方法を用いて診断を行っていた。しかし、シングル血清で急性期の診断を行うためには、EIA-IgM抗体のみを測定する者は58%であり、他の者は複数の測定方法を用いて風疹の診断を行っていた。

風疹抗体価のIU表示の導入に関しては

93%の者が賛意を示しており、現在問題となっているメーカーによるEIA表示方法の違いやHI法との表示の互換性について期待する意見が述べられていた。確かに、HI法で測定する抗体とEIAで測定する抗体の中身は異なっているため、HI法とEIAの相関に関する検討を行ってから、IU表示を導入する必要があると思われる。

日本における標準抗体価を表すパネル血清作成に関しては多くの賛同があった。今後はどのような種類のヒト血清を集めて標準血清を作成するか、または標準抗破傷風人免疫グロブリンのように献血由来ヒト免疫グロブリン製剤から標準血清を作成のかなどについて今後検討を深める必要があると考えられた。

E. 結論

現在本邦での風疹血清測定方法は、HI法とEIA法が主流であることが明らかになった。また、感染症に携わっている多くの臨床家や疫学者はIU表示の導入に前向きであり、パネル血清作成にも前向きであることが示された。今後は、HI法とEIA-IgG法との互換性、パネル血清の作成方法および保管方法などについて検討する必要があると思われる。

F. 健康危険情報

アンケート調査であるので健康危険情報はない。

G. 研究発表

初年度のため研究発表は行っていない。

H. 知的財産権の出願・登録状況

アンケート調査のため知的財産権の出願・登録は行っていない。

I. 共同研究者

庵原俊昭 (国立療養所三重病院副院長)

岡田賢司（国立療養所南福岡病院小児科）

厚生労働科学研究費補助金（医薬品等医療技術リスク評価研究事業）
分担研究報告書

産婦人科の臨床から風疹抗体測定に関する問題点の提起と
商業検査施設の風疹抗体検査成績に関する研究

分担研究者 川名 尚 帝京大学医学部附属溝口病院産婦人科客員教授
研究協力者 干場 勉 石川県立中央病院産婦人科医員

研究要旨

妊婦の風疹罹患は先天性風疹症候群（CRS）を発生させることになるのでその診断には正確を期すべきであるが、診断の根拠となる血清抗体の測定法にいくつかの問題がある。①HI抗体測定キットの精度管理が行われていない。②最近開発されたEIA法による評価が確立されていない。③IgM抗体検出による初感染の診断に付いて精度管理が不十分である。④臨床の現場では以上の状況のため混乱が見られ、そのためにCRS出生となったと思われる事例がある。誤った検査結果の判断により妊娠中絶に至った例もある。

臨床の現場から精度管理と抗体検査の正しい判断基準の確立を強く要望する。

A. 研究目的

妊娠中の風疹の初感染は高率に先天性風疹症候群（CRS）の発生を招くため、産科臨床では極めて重要な課題である。風疹感染の15～20%は無症候であるため血清診断によって行わざるを得ない。そこで、臨床で用いられてきた風疹の初感染の診断法についてその精度と問題点を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

(1) 日常臨床で用いられている風疹抗体測定法による風疹の初感染の精度について検討する。帝京大学医学部附属溝口病院産婦人科に風疹の初感染を疑われたためにコンサルトに訪れた妊婦12例を対象とした。抗体測定法はEIA法（デンカ生研キット）を用いてIgG抗体、IgM抗体、さらにAvidity Index（AI）を測定した。

(2) AI測定法

デンカ生研の風疹IgG抗体測定キットを用いた。検体を反応させた後8M尿素を室温で15分反応させたものと、未処置のものとの吸光度（OD）の

比を%で表して測定した。検体のODを1～1.5程度になるように希釈して用いた。

(3) 干場氏研究方法は後述

C. 研究結果

IgM抗体が検出されたとして当科にコンサルトを求められた12例の妊婦について以下の点を検討した。

(1) IgG抗体価はCOI 3.97～7.41に分布し、高いものであった。

(2) IgM抗体を当科で再検したところ4例は陽性であったが残りの8例は陰性であった。検査キットの違いによるものか、または採血時期によるものと考えられた。検査キットの違いによれば精度管理の必要性がある。

(3) これらの例についてAvidity Indexを求めたところ44.4%～77.9%と高い値に分布した。このことは妊娠するより前の感染であり、最近の感染とは考えられないと判断し、妊娠を続けてもらった。

(4) 児の予後

IgM 抗体が妊娠 12 週に 2.62 とやや高い値を示した例について AI を調べたところ 44% と高く、妊娠を継続し分娩に至った。出生時に臨床的・血清学的に検討したところ風疹の胎内感染はなかった。本例は 7 年前に風疹に罹患しているにもかかわらず IgM 値が高く、IgM 抗体の長期陽性例か再感染による IgM 抗体の出現と考えられる。

D. 考察

妊娠中の不顕性感染による風疹の数ヶ月以内の初感染を血清学的に診断する方法として、日常的に用いられてきた方法は、①高い HI 抗体価、②HI 抗体価の 4 倍以上の上昇、③風疹に対する IgM 抗体の存在である。

従って、高い HI 抗体価の目安として 256×以上が用いられてきたが、干場氏の指摘するように用いられているキットがわざわざ低く出るように設定されていれば当然、抗体価は低くなり、従って高いはずの HI 抗体価が低く出てしまい、初感染を見逃し、結果的に CRS の発生につながる。産婦人科医は HI 抗体価を目安にして日常診療を行っているので、その精度管理は十分に行われる必要がある。

HI 抗体価の 4 倍以上の上昇による診断法は 2 回採血する必要があるため、実際にはほとんど行われていない。

HI 抗体価が高くても必ずしも数ヶ月以内の感染とは言えないので、感染後 3 カ月以内しか陽性とならないといわれる IgM 分画の風疹に対する特異抗体 (IgM 抗体と呼ぶ) の測定が行われている。EIA 法により容易に測定が可能になったため全国で広く行われるようになった。

しかし、ここに問題が発生してきた。

IgM 抗体の測定法によって結果に相異が出るということである。IgM 抗体測定法についての精度管理が不十分であった。

IgM 抗体に関して次の問題は、EIA 法のような

感度のよい方法を用いると IgM 抗体は 3 カ月以上続くことがある点である。このような場合は IgM 抗体の有無によって感染の時期を判断することが出来ないことになる。かくして別の方法による感染時期の判断が必要になってくる。そこで私達は AI の測定を行っている。今回の研究からは IgM 抗体が陽性であっても、極く最近の感染とは考えにくい症例のあることが判明した。

AI 測定法は私たちの所で独自に開発したものであるので、一般に確立したものではない。AI はまだ十分な基礎研究と臨床的意義を明らかにするデータがないので、今後さらに検討が必要である。

今回は風疹が研究課題となっているが、妊娠中に初感染することにより胎児に以上が発生するものに、トキソプラズマ、サイトメガロウイルス、パルボウイルスなどが知られているが、いずれも風疹と同じような問題を抱えている。産婦人科臨床ではこれらの問題も解決していく必要がある。

E. 結論

胎児異常の発生については、妊婦も医師も必要以上に不安を抱いているのが通例である。そのため不安な材料が少しでもあれば妊娠を中絶することがしばしば行われる。

少子化が進行している現在、誤った検査結果がもとで妊娠中絶に走るようなことは絶対あってはならない。

F. 健康危険情報

1995 年より施行された予防接種法の改正により風疹の大流行はなくなったものの、次のような大きな課題をもたらした。

- ① 経過措置による中学生の風疹ワクチン接種率が非常に低かった。
- ② 風疹の流行がなくなると、おそらくブースター効果によって維持してきた風疹抗体価の維

持が難しくなる。

従って、今後風疹抗体を有しないいわゆる感受性者が増加すると思われる。このような状況で風疹抗体測定の精度管理とその判断は、医学的にはもちろん社会的にも重要になったと言ってよい。

ギリシャでおきた CRS 児の多発を決して本邦で繰り返してはならない。

3. その他

G. 研究発表

1. 論文

新世紀の感染症学—ゲノム・グローバル時代の感染症アップデート— IV.感染症特論 『母子感染』日本臨床 61(3): 297-302; 2003.

OB/GYN ウイルス感染症 —外来診療マニュアル 2003— 『産婦人科医のためのウイルス学入門』産婦人科の実際 52(7): 817-825; 2003.

2. 学会発表

川名 尚 他

「風疹ワクチンの今日的課題」

第 44 回日本母性衛生学会, 2003, 宇都宮

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案

なし

風疹抗体測定キットの対比検討

分担研究者 吉田 浩 福島県立医大 臨床検査医学

研究要旨

IgMクラス抗風疹抗体価は風疹ウイルス感染の重要な指標となる。その診断的意義についての問題提起がなされたことから、本邦で市販されている5社のIgM-風疹抗体ELISAについて対比検討を行った。陽性コントロール検体では2社検体は自社キットのみ陽性で、他社キットでは陰性。陰性コントロールは全て陰性。HI法では陰性コントロールで2社のみ陰性で、他は陽性となり、IgG抗体の存在による。患者およびパネル検体ではいずれの方法でも陽性であった。測定値はそれぞれで、改善のためには基準物質の作成が必要である。

A. 研究目的

本邦でのIgMクラス抗風疹抗体ELISAキットについて、市販されている5社製品の対比検討を行なった。特に、それぞれの陽性・陰性コントロール、さらに陽性患者血清とパネル検体について、5社のELISAと赤血球凝集抑制法(HI)で測定し、対比した。

B. 研究方法

ELISAキットはルベラIgM(II)-EIA生研(DS, デンカ生研)、Rubella IgM II-EIA(RO, 日本ロシュ)、VIDAS RUB IgM II (BM, 日本ビオメリュー)、PLATELIA II Rubella・IgM (BR, 日本BioRad)およびEnzygnost Anti-Rubella Virus/IgM (DB, デイドベアリング)を、HI法はR-HI「生研」(デンカ生研)を用いた。ELISAの測定原理、判定、血清不活化について表1に示す。

ELISA法での測定はDS、BR、DBはBEP III(デイドベアリング)で、BMはVIDASにて測定した。ROによる測定は日本ロシュ社に依頼した。陽性患者血清5件とパネル血漿(BBI)6件は海野幸子班員(国立感染症研究所)より提供いただいた。これらの測定は

デンカ生研キットを用いて、海野班員によってなされたものである。コントロール検体とこれらの血清および血漿は使用まで、-70℃に保管した。

表1 IgM-抗風疹抗体-ELISA

	原理	陽性	陰性	血清不活化
DS	IgM 捕捉法 (プレート)	>1.2	<0.8	不可
RO	IgM 捕捉法 (ビーズ)	>1.1	<0.9	不可
BM	IgM 捕捉法 (プレート)	≥1.2	<0.8	不可
BR	IgM 捕捉法 (プレート)	>0.74	<0.37	可
DB	抗原固相 (プレート) (RF吸着)	>0.2	<0.1	可

倫理面として、ヒト陽性血清は匿名化されたもので、被検者に不利になることはない。また、ELISAについての検討は客観的な対比検討であり、問題にはならないと考える。

C. 研究結果

(i)コントロールの測定

各キットに添付されている陽性ならびに陰性コントロールについて、各社のIgM-ELISAで測定した。DSキットでは5社の陰性コントロールはいずれも陰性。しかし、RD社陰性コントロールはODは0.56であった。陽性コントロールではDB以外は陽性となった。RD社キットでは、各社の陰性コントロールは全て陰性だが、陽性コントロールはDSとDB社以外は陽性。BM社キットとBR社キットでは各社の陰性コントロールは全て陰性、陽性コントロールはDSとDB社以外は陽性。DB社キットでは各社の陰性コントロールは全て陰性、陽性コントロールはDB社以外は陰性。これらの成績を表2にまとめた。

表2 IgM-風疹コントロール血清の測定 (ELISA) - 測定法による対比 (まとめ)

コントロール血清		ELISA キットメーカー				
		DS	RO	BM	BR	DB
DS	陽性	+	-	-	-	-
	陰性	-	-	-	-	-
RO	陽性	+	+	+	+	+
	陰性	-	-	-	-	-
BM	陽性	+	+	+	+	-
	陰性	-	-	-	-	-
BR	陽性	+	+	+	+	+
	陰性	-	-	-	-	-
DB	陽性	-	-	-	-	+
	陰性	-	-	-	-	-

HI法による各社コントロールの測定では、陰性コントロールは2社が8倍以下で、他は8, 32, 64倍と陽性となった。これらはIgG抗体の存在による。陽性コントロールは8~64倍であった。

(ii) 陽性患者血清測定

抗風疹抗体陽性の5例血清の測定値を示す。いずれの方法でも全て陽性値が得

られた (表3)。

表3 患者血清の風疹抗体価

	DENKA 生研キット*			RO**	BR	DB
	HI	IgG	IgM	IgM	IgM	IgM
KG	64	4.8	>12	Nt***	12.4	0.83
TI	64	5.2	>12	17.2	10.8	0.54
RN	64	5.5	5.4	3.4	5.8	0.37
MA	128	3.7	>12	19.9	11.3	0.86
EO	Nt	3.8	6.3	3.9	9.4	0.31

*海野先生測定 **ロ社に依頼 ***not tested

(iii) パネル血清の測定

PTR201シリーズの6件についてデータシート中のデータ (Abbott, BioWhittaker) と共に示す (表4)。DB社キットでPTR-201-13が0.19と判定保留域となったが、それ以外は陽性と判定された。

表4 PANAEL Plasma (BBI)の Rubella IgM 測定 - 測定法による対比

Panel Plasma	EIA (IgM)				
	AB*	BioW*	DS**	BR	DB
PTR201-03(P)	>2.3	1.6	13.0	12.4	0.51
PTR201-07(P)	1.2	0.3	4.4	7.4	0.37
PTR 201-11 (P)	>2.3	8.4	13.0	12.4	0.83
PTR 201-13 (P)	0.7	0.1	2.9	6.8	0.19
PTR 201-19 (P)	2.1	0.2	8.1	9.5	0.47
PTR 201-24 (P)	1.0	0.2	3.1	(nt)	0.21

*s/o, Data sheet より ** (海野)

(iv) DS社キットでの検討

DS社コントロール陽性が高社キットで陰性となったことから、健康成人血清29件についてDS社キットで測定した。陽性 (>1.2) を示すものはなく、陰性でも1.2~0.8は1件、0.79~0.4は4件、0.39以下が24件であった。また、健康人プール血清の前処理の影響を検討したが、56℃30分加熱と抗凝固剤

(EDTA, sodium citrate, heparin)の影響は見られなかった。

D. 考察

IgM 抗風疹抗体が長期間陽性となることについては、IgM 型抗体の長期間産生と測定系の問題、特に高感度化等が推定されよう。そのため、本邦での IgM-抗体測定の実状を知るため、市販されている ELISA について検討することにした。先ず、各社キットに添付されている陽性および陰性コントロールについて各社 ELISA にて測定した。DS 社キットによる測定では他社の陽性コントロールは全て陰性と判定された。その原因は未だ明らかでなく、検討を予定する。患者や健康人血清またはパネル血漿では問題ないことから、防腐剤などによる抑制の可能性も推定される。DB 社キットでは陽性コントロール中には IgM 型抗体は加えておらず、IgG 風疹抗体が入っている。反応原理としては、マイクロプレート壁に固着した風疹ウイルス抗原と IgG 抗体が反応し、そこに IgM 型リウマトイド因子が反応し、更に抗ヒト IgM 抗体-POD が反応するものである。他社の測定系では当然、陰性となる。HI 法による測定で、陽性コントロールの HI 値が 64 倍を示したのが 3 社で、他は 16 倍と 8 倍以下であった。32 倍以上を示すものが望まれよう。しかし、これら HI 法で低値陽性のコントロールでも、それぞれの測定キットで測定すると明らかな陽性反応が示された。

以上のように、IgM 型抗体の ELISA による測定値はメーカーにより差が見られることが判明した。このことは十分予想されたことではあるが、基準物質による評価と統一化が必要であろう。IgG 型抗体測定キットについては、いずれのメー

カーも WHO 標準品に準じた常用標準品を作成しているが、IgM 型抗体については WHO 標準品が作成されていないことから、各社それぞれが自家製の標準品を作成してきている。IgM 抗体の標準品作成が IgG 抗体のそれに比べ困難なこともあろうが、暫定的なものでも、日本製標準品の作成が望まれる。Immunoassay には様々な問題があり、これまで、市販後は利用者の取捨選択に任されてきたが、第三者的な評価により適切なものを残し、不適切なものを削除することを基本として進むべきであろう。

E. 結論

本邦で市販されている 5 種の IgM 型抗風疹抗体測定用 ELISA について、それらのコントロール検体、陽性患者とパネル検体および健康人血清の測定を行い、対比検討した。測定値はキットにより種々である。本研究班により基準物質が作成され、それに測定値を合わせる事が望まれる。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- ① 吉田 浩：風疹ウイルス抗体測定の実状と問題。検査と技術 31:1253-54, 2003
- ② H. Yoshida et al. Matrix effects in clinical immunoassays and the effect of preheating and cooling analytical samples. CCLM 42:51-56, 2004

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

研究要旨

1) 地方衛生研究所における風疹抗体測定の実施状況、キットの使用状況、また、キットを使用して判定を行った際の疑問点、問題点等の有無について調査するために、アンケート調査票を作成した。

2) 住民の血清検体 100 件を収集し、赤血球凝集抑制(HI)試験による風疹抗体測定を実施した。その約半数の検体について市販キットを用いた EIA 法による測定も実施した。両測定方法による結果には高い相関を認めたものの、さらに慎重な検討が必要であると思われた。

A. 研究目的

1) 各試験法による風疹抗体価表記方法の統一化の可能性を検討する前段階として、まず全国の検査実施機関における風疹抗体測定実施状況を正確に把握することが重要である。そこで、全国地方衛生研究所における現在の状況を知るためにアンケート調査票を作成して、風疹抗体測定の現状を把握するための一助とする。

2) 数種類の検査方法による風疹抗体測定を実施して、各検査法における検査結果の相関を確認し、抗体価表記方法統一化の可能性を検討する。

B. 研究方法

1) 当所における風疹抗体検査の現状を踏まえて調査項目を選定し、出来るだけ正確な現状把握が可能となるよう留意して、アンケート調査票を作成した。

2) 収集した血清検体 100 件について、感染症流行予測調査事業検査術式に従い、赤血球凝集抑制(HI)試験により風疹抗体価の測定を実施した。血清検体の内訳は、20～29 才が 22 件(男性 3 件及び女性 19 件)、30～39 才が 38 件(同 5 件及び 33 件)、40～49 才が 27 件(同 9

件及び 18 件)、50～59 才が 12 件(同 7 件及び 5 件)、60 才以上が男性 1 件である。これらの検体のうち、HI 抗体価が 8 倍未満、8 倍、16 倍であったものを中心に 46 件を選び、EIA 法による市販の風疹抗体測定キット(バイダスアッセイキット RUB IgG、日本ビオメリュー株式会社)による測定を添付文書に従って実施した。

(倫理面への配慮)

本研究の目的を明記した検体提供に関する依頼文を対象者に配布し、また採血当日に口頭にて説明し、了承の得られた者から同意書の提出を受けた上で、採血を実施して測定用検体とした。

C. 研究結果

1) 全国地方衛生研究所を対象としたアンケート調査票を作成した。調査票はワープロソフト(Microsoft Word)を用いて作成し、未記入の調査票を電子メールの添付ファイルとして全国地方衛生研究所へ送信し、先方において調査項目に対する回答を記入した上で上書き保存し、電子メールにより当所へ返信してもらう形式とした。調査項目として、風疹抗体測定実施

の有無、実施理由、過去5年間の実施件数、検査方法、使用している検査キットの名称、試薬等の調達方法、精度管理、及び問題点等に関する問いを入れた。

2) 100件の血清検体についてまずHI試験を実施した。HI抗体価の分布は、8倍未満が3名(男性1名及び女性2名)、8倍が13名(同3名及び10名)、16倍が24名(同4名及び20名)、32倍が33名(同7名及び26名)、64倍が16名(同7名及び9名)、128倍が10名(同2名及び8名)、256倍が男性1名であった。これらのうち、前述の市販EIAキットによる抗体価測定も実施した46件のHI抗体価の内訳及びEIA法による測定結果(IU/mL)は、8倍未満3件(0-9 IU/mL)、8倍13件(9-28 IU/mL)、16倍24件(26-97 IU/mL)、32倍4件(52-151 IU/mL)、64倍1件(243 IU/mL)、256倍1件(>400 IU/mL)であった。HI抗体価256倍の1件を除いた45検体における両測定法の結果には高い相関を認めた($r=0.89$)。

D. 考察

1) 今回作成した調査票は、検査実施の有無、実施理由、実施件数、検査方法、検査キットの名称、試薬等の調達方法、精度管理、及び問題点等を問う内容であり、本調査票を用いた調査により全国地方衛生研究所における風疹抗体検査の現況をかなり正確に把握できるものと思われる。

2) 用いた血清検体100件中97検体がHI抗体陽性であった。HI抗体陰性検体も含めた約半数の検体について市販EIAキットによる抗体測定結果とHI抗体価を比較したところ、高い相関が認められた。しかしながら個々の検体についてみると、HI抗体価16倍の検体でEIA97 IU/mLと比較的高値であるような例があった。HI法とEIA法の測定結果の相関に関しては、複数の市販キットの併用、IgMの測定も実施して、総合的にHI抗体価との比較を

行う等、さらに検討の必要があると考えられた。

E. 結論

1) 地方衛生研究所における風疹抗体測定の実施状況、キットの使用状況、また、キットを使用して判定を行った際の疑問点、問題点等の有無について調査するために、アンケート調査票を作成した。

2) 血清検体100件を収集し、HI試験による風疹抗体測定を実施するとともに、約半数の検体について、市販キットを用いたEIA法による測定を実施した。両者の測定結果には高い相関を認めたものの、さらに慎重な検討が必要であると思われた。

F. 健康危険情報

無し。

G. 研究発表

無し。

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

無し。

厚生労働科学研究費補助金（医薬品等医療技術リスク評価研究事業）
分担研究報告書

HBs 抗原国際標準品と HBs 抗原濃度表記統一に関する研究

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 第2室

研究要旨：新規 HBs 抗原 WHO 国際標準品の制定に参画し、またそれを基準にして作成した HBs 抗原リファレンスパネルの評価作業を行った。その結果、新規標準品はサブタイプ adw2, ジェノタイプ a であり、その抗原量は 33 IU/vial と決定された。また従来統一されていなかった HBs 抗原量の表示法を、traceability の観点からも IU に統一することが WHO 会議で決定され、それを受けて国内で販売されている HBs 抗原検出用体外診断薬の添付文書に記載されている最小検出感度についても表記法の統一を行っていくことになった。

A. 研究目的

全人口の約 1 % が B 型肝炎ウイルス (HBV) の感染者と推定されている我が国では、HBV 感染を迅速かつ正確に診断することが、医療および公衆衛生上非常に重要である。現在 HBV 感染の診断においては、HBV 外被抗原 (HBs 抗原) の検出が多く用いられているが、サブタイプあるいはジェノタイプの違いによる検出感度の相違が危惧されるところであり、それぞれに対応した標準品の整備が望まれる。WHO では 1987 年に最初の HBs 抗原国際標準品を制定した (code 80/549, subtype: ad)。そして昨年新たに 2nd 国際標準品 (code 00/588, subtype: adw2, genotype: a) が制定されるに至った。本研究では、この新規 HBs 抗原国際標準品の作成過程を示し、その際に明かとなった抗原濃度表記法の問題点を指摘する。そして今後は、現在国内で販売されている HBs 抗原

検出用体外診断キットの最小検出感度の表記統一を目指す。

B. 研究方法

WHO collaborative study において、これまでの HBs 抗原国際標準品に替わる新規の標準品候補の性状解析および適合性が検討された (Phase 1 study)。また同時にその新規標準品から作成されたリファレンスパネルを使用して、世界各国で現在用いているキットの感度を調べ、今後このパネルを世界各国の NRA (National Regulatory Agencies) がキットの評価に用いることができるかについて検討した (Phase 2 study)。本研究ではこの Phase 2 study に参加し、国内で使用されている CLIA 法とイムノクロマト法を原理とする 2 種類のキットによる結果を提出した。また Phase 1 study では同時に、指定された 6ヶ所の研究施設において、HBs 抗原国際標

標準品の“traceability”についての検討を加えるために、現在使用されている他の標準品 (PEI unit, ng) との比較が行われた。本研究においても HBs 抗原国内標準品と FDA のパネルを用いて「IU」と「ng」の比較を独自に行った。

(倫理面への配慮)

本研究においては WHO あるいは FDA より供与された検体 (ヒト血液由来成分を含むが、不活化されておりまた取り扱いについては細心の注意を払った)、HBs 抗原国内標準品 (同上) および市販の体外診断用医薬品キットを用いているために倫理面の問題はないと判断した。

C. 研究結果

WHO collaborative study (phase 2) の一端として本研究では、新規 HBs 抗原国際標準品 (phase 1 study により 33 IU/ml とされた) をもとに 4 倍希釈系列を作成した検体 (A, B, C, D) および陰性検体 (E) を、富士レビオ社の Lumipulse HBsAg (CLIA 法) と ESPLINE HBsAg (イムノクロマト法) により判定を行った。この結果と他国のキットを用いての判定結果をまとめたものを表 1 に示した。これらの結果から、今回使用したリファレンスパネルは世界各国のキットの感度の違いを網羅して判定できることが示された。また富士レビオの ESPLINE HBsAg は他国の迅速診断キットに比較して高感度であることが明らかになった。

抗原濃度が「IU/ml」表記されている HBsAg

国内標準品と「ng/ml」表記されている FDA のパネルを用いて「IU」と「ng」の比較を行ったところ、およそ $6\text{ng}=1\text{IU}$ という相違があり、「IU」と「ng」とが等価ではないことが示された (data not shown)。この結果は WHO collaborative study (phase 1) で示された結果 ($5.6\text{ng}=1\text{IU}$) と良く一致している。

現在用いられている HBs 抗原国内標準品は 1997 年に当時の WHO 国際標準品を基準にして値付けされたもの (102IU/vial) であることから、今回制定された新規標準品とも良好な相関関係を持っていることが示された (data not shown)。従って、今後 HBs 抗原国内標準感度パネルを、この HBs 抗原国内標準品をもとにして作成することが可能であると考えられる。

D. 考察

HBs 抗原検出用診断薬キットの添付文書に記載されている HBs 抗原の「最小検出感度」において、「ng/ml」で表記しているキットと「IU/ml」で表記しているキットが混在していることがわかった。1987年にWHOが最初のHBs抗原国際標準品 (code 80/549) を制定した時点では、「1ng」と「1IU」はほぼ等価と考えられていた。よって、どちらの表記であっても問題は起こらなかった可能性がある。しかし、今回WHOが行った Collaborative studyにより、新規にHBs抗原国際標準品 (code 00/588) が制定されることとなり、同時にこれまでの国際標準品と現在使用されている他の標準品との比較を行っ

た。その結果、もはや「1ng」は「1IU」とは懸け離れていることがわかった。更に、「ng」表記は、抗原の精製法により異なることが予想され、「traceability」の観点からも不適格であることから、今後は「IU」表記に統一すべきであるとの合意があった。これは本分担研究を行った水落が以前よりNIBSCやFDAの担当者に疑問を提示していた問題で、今回のWHO meetingにおいて正式に議論され、HBs抗原の単位としては「IU」を用いるべきであるとの結論に達したことは非常に喜ばしいことである。当然のことながら、我が国内においても今後は添付文書に記載されているHBs抗原の「最小検出感度」を「IU/ml」という表記に統一すべきであり、そのためには標準感度パネルを用いての統一的な再点検が必要になるであろう。

E. 結論

WHOにより新規に制定されたHBs抗原国際標準品に従い、今後は国内で使用されているHBs抗原検出キットの添付文書に記載されている最小検出感度の表記も「IU/ml」に統一することが必要である。そのためにはHBs抗原国内標準感度パネルの確立が必須である。

F. 研究発表

(1) 論文発表

なし

(2) 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得：なし

2. 実用新案登録：なし

表1 Phase 2 -Assay of panel in a range of EIA and other assay kits

Manufacturer	Kit	Panel member					
		Cand IS	A	B	C	D	E#
Green Cross Life Sciences Corp	EIA	R	R	R	R	R/NR	NR
Asan Pharmaceutical Co Ltd	EIA	R	R	R	R	NR	NR
Dong-A Pharm	EIA	R	R	R	R	R	NR
LG Chem	EIA	R	R	R	R	R/NR	NR
ThermoLab systems, Helsinki	EIA	R	R	R	R	NR	NR
J Mitra&Co, New Delhi	EIA	R	R	R	R	NR	NR
In house	RIA	R	R	R/NR	NR	NR	NR
Shanghai KEHUA Biotech	EIA	R	R	R	NR	NR	NR
Ortho-Clinical Diagnostics	Ab to HBsAg ELISA (test system 3 code 931802)	R	R	R	R	NR	NR
Abbott	IMX V2	R	R	R	R	R	NR
Fujirebio	Lumipulse HBsAg (CLIA)	R	R	R	R	R	NR
Fujirebio	ESPLINE HBsAg (Immunochromatography)	R	R	R	R	NR	NR
Asan Pharmaceutical Co Ltd	Asan Easy test HBs	R	R	NR	NR	NR	NR
Green Cross Life Sciences Corp	Genedia HBsAg rapid	R	R/NR	NR	NR	NR	NR
Orchid Biomedical Systemsd, Goa	Virucheck	R	R	NR	NR	NR	NR
Trinity Biotech, Ireland	Unigold	R	R	NR	NR	NR	NR
Dr Reddy's Laboratory, Hyderabad	Fast Forward	R	R	NR	NR	NR	NR

分担研究報告書

医療でのHBs抗原検出キット感度表記に関する調査・研究

分担研究者 林 茂樹 国立病院東京災害医療センター副院長

研究要旨：全国のナショナルセンター・国立病院・療養所におけるHBs抗原測定試薬の採用状況を調査した結果、通常検査にはEIA/発光法が、緊急検査にはイムノクロマト法がそれぞれ最も多く使用されていた。それらの採用理由をみると、試薬の特性を第一義としたものが多かったものの、施設側の事情を優先した理由も少なからず存在した。今後施設の性格、検査目的、検査件数などを考慮したガイドラインの確立が必要と思われた。

A. 研究目的

我が国のB型肝炎ウイルス（HBV）キャリアは全人口の約1%と推定され、国民の健康管理上なお重要な問題である。HBV感染の有無を知る上で基本となる検査はHBs抗原検査であるが、その検査キットは平成13年時点で測定法別で4種（凝集法：用手法と全自動法、イムノクロマト法、EIA/発光法）、計41種存在する（竹森利忠：臨床病理49：917-924、2001）。

本研究は、このように多種多様なHBs抗原検査キットの採用状況をアンケート方法で調査することにより、HBs抗原検査キットが医療の実情と検査キットの特性を総合的に評価して適正に採用されているか否かを調査・研究することを目的とする。

B. 研究方法

日本全国のハンセン施設を除く厚生労働省所管になるナショナルセンター（NC）、国立病院（病）、療養所（療）162施設に対し、平成14年度について別紙内容のアンケート調査を実施し、回答結果の分析から適切な提言を行う。

なお、アンケート調査項目の概要は、施設病床数、患者取扱数、HBs抗原検査件数、HBs抗原検査の実施先、HBs抗原検査試薬名（通常・緊急）、試薬採用理由である。

C. 研究結果

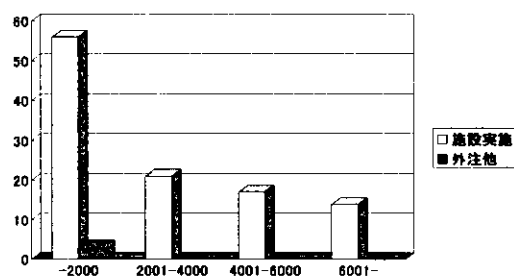
1) アンケート回答数

全体では109施設から回答があり、回答率は67.3%であった。これを施設性状別にみると、NC：6/7（85.7%）、病：39/57（68.4%）、療：64/98（65.3%）であった。

2) HBs抗原検査件数と検査実施先

平成14年度の各施設におけるHBs抗原検査件数は、10～15、573件であった（図）。

HBs抗原検査件数別施設数(平14年度)



検査実施先は大部分が施設内検査であったが、外注2施設、共同利用2施設であった。

3) HBs抗原検査試薬採用状況と採用理由

外注および共同利用を除く105施設の通常のHBs抗原検査試薬採用状況をみると、EIA/発光法採用69施設、イムノクロマト法35施設、その他1施設であった。

採用理由（複数回答あり）は、拾い出し精度が優秀58施設、既存機器利用のため50施設、偽陰性が少ない22施設、その他理由20施設であった。

緊急検査と通常検査に用いるHBs抗原検査試薬が同一である施設数は60（55.6%）で、異なる施設（44.4%）より多数を占めた。緊急検査に用いるHBs抗原検査試薬の採用状況は、イムノクロマト法が81施設と大多数を占めた。また、採用理由としては、測定機器が不要、手技簡便、短時間反応としたものが大多数であった。

D. 考察

このアンケート調査対象は、厚生労働省所管になる全国の施設であり、ナショナルセンター国立病院および療養所からいずれもほぼ2/3以上の回答を得たことから、アンケート結果は我が国の病院の現状を表しているものと考えて差し支えない。

年間検査件数が2,000件未満の施設がほぼ半数を占めたが、そのうち4施設では施設外に検査が依頼されていた。残り105施設の通常検査では、拾い出し精度が最も高いとされるEIA/発光法が69施設(65.7%)において採用されていたが、その採用理由をみると、拾い出し精度が優秀という理由が第1位を占めていたものの、既存機器利用のためという理由も少なからずあり、必ずしも検査キットの特性を第一選択理由として採用を決定しているわけではない現状が窺えた。また、緊急検査に使用する検査試薬は、利便性を第一義に考えてイムノクロマト法の採用が大多数(77.1%)を占めていたが、施設の事情から通常検査と緊急検査の試薬を同一としている施設の割合が55.6%と多かったことには問題があると考えられた。

次年度研究においては上記問題点を踏まえて、各検査試薬の特性を念頭におきながら、施設の扱う患者層、検査目的および検査件数を考慮した上でのガイドラインを提言できる内容とすることが必要である。

E. 結論

我が国の病院において用いられているHBs抗原検査試薬は、必ずしも試薬の特性を第一義として採用されている訳ではないことが明らかとなった。今後、施設の性格、検査目的、検査件数を考慮したガイドラインの確立が必要であると考えられた。

F. 健康危険情報

特記事項はない。

HBs抗原検出用試薬等に関するアンケート回答用紙

(回答欄が不足の場合、本紙の余白をご利用ください)

施設名: 国立 _____ 病院・療養所・センター _____

報告者ご氏名: _____

報告者E-mailアドレス: _____ @ _____

	アンケート項目	回答内容
1	施設病床数(ご報告時点)	床
2	平成14年度外来患者取扱数(4-3月)	名
3	平成14年度入院患者取扱数(4-3月)	名
	HBs抗原検査	
4	平成14年度HBs抗原検査数(4-3月)	件
5	通常時のHBs抗原検査実施先	1.施設 2.外注(外注先: _____) 3.その他(_____)
6	上記5で使用するHBs抗原検出試薬名	
7	上記5の回答が1.の場合の試薬採用理由 (複数回答可)	1.拾出精度が優秀 2.偽陰性が少 3.既存機器利用のため 4.その他(_____)
8	緊急時のHBs抗原検査実施先	1.施設 2.外注(外注先: _____) 3.その他(_____)
9	上記8で使用するHBs抗原検出試薬名	
10	上記8の回答が1.の場合の試薬採用理由 (複数回答可)	1.拾出精度が優秀 2.偽陰性が少 3.既存機器利用のため 4.その他(_____)
11	測定あるいは結果判定上の問題点(実例に ついてご回答ください)	
	HCV抗体検査	
12	平成14年度HCV抗体検査数(4-3月)	件
13	HCV抗体検査実施先	1.施設 2.外注(外注先: _____) 3.その他(_____)
14	上記13で使用するHCV抗体検出試薬名	
15	上記13の回答が1.の場合の試薬採用理由 (複数回答可)	1.拾出精度が優秀 2.偽陰性が少 3.既存検査機器のため 4.その他(_____)
	風疹抗体検査	
16	風疹抗体検査実施先	1.施設 2.外注(外注先: _____) 3.その他(_____)
17	上記16で使用する風疹抗体検出試薬名	
18	上記16の回答が1.の場合の試薬採用理由 (複数回答可)	1.拾出精度が優秀 2.偽陰性が少 3.既存検査機器のため 4.その他(_____)

厚生労働科学研究費補助金医薬品等医療技術リスク評価研究事業
「国際的動向を踏まえた体外診断薬の品質管理に関する研究」

分担研究報告書

HBs 抗原検査法の目的別利用法に関する考察

分担研究者

吉澤 浩司

広島大学大学院 疫学・疾病制御学

研究目的

日常検査に利用されている HBs 抗原検査法の目的別利用法について考察を加える。

方法

これまでに得られているデータをもとに作成した B 型肝炎ウイルス (HBV) の急性感染の経過図を念頭に置いて、様々な HBs 抗原検査法を選択するにあたっての利害得失を考察し、分担研究者としての責務をはたす。

考察

これまでに得られているデータを集約すると、B 型肝炎ウイルス (HBV) の急性感染の経過は図のようになる。^{1)~3)}

核酸増幅検査 (Nucleic acid Amplification Test : NAT) が日常検査の一部に用いられるようになってから、この検査法の併用を念頭に置いて HBV の感染の有無、HBV 感染の経過、HBV 感染の終了 (治癒) 等を的確に理解、判定するための、目的に適った検査法を選択し、利用することが求められるようになってきている。

一般に、成人が初めて HBV に感染した場合、一定の潜伏期間を経た後に、先ず

HBs 抗原が、次いで HBe 抗体が末梢血中に検出されるようになり、HBs 抗原が検出されなくなった後に HBs 抗体が検出されるようになる。HBs 抗体が検出されるようになったことは、生体が終生免疫を獲得したことを意味する。これが核酸増幅検査 (NAT) が導入されるまでの HBV の一過性感染の経過に関する一般的な理解であり、その後も成人が HBV の一過性感染を受けた際の臨床経過を理解する上での変更点はない。

しかし、NAT により、HBV DNA の検出を行いつつ、詳細に経過を追うことにより、HBs 抗原が末梢血中に出現する以前から HBV DNA は検出されるようになり、また、HBs 抗原が消失した後も HBV DNA は引き続き検出され続けるなど、感染論的な立場から経過をより詳細に理解することが可能となった。

また、HBe 抗体のみが検出される (HBs 抗原、HBV DNA が共に検出されない) 人：ドナーの肝臓を移植された人 (レシピエント) は、ドナーの HBe 抗体の力価によらず、移植後に HBV に感染することが明らかとなった。⁴⁾