

厚生労働科学研究費補助金
医薬品・医療機器等
レギュラトリーサイエンス総合研究事業

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

平成 16 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 竹森 利忠

平成 17 年 3 月

目 次

| | |
|--|----------|
| I. 総括研究報告 | |
| 研究の統括 | 1 |
| 主任研究者： 竹森 利忠 (感染研・免疫部) | |
| II. 分担研究者研究報告 | |
| 1. 体外診断薬品質管理の今後のあり方 | 15 |
| 竹森 利忠 (感染研・免疫部) | |
| 2. 風疹抗体国内標準品候補の評価 | 18 |
| 海野 幸子 (感染研・ウイルス第三部) | |
| 堀内 善信 (感染研・細菌第二部) | |
| 加藤 宏幸 (感染研・ウイルス第三部) | |
| 大槻 紀之 (感染研・ウイルス第三部) | |
| 3. 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 | 21 |
| 庵原 俊明 (国立病院機構三重病院・副院長) | |
| 浅野 喜造 (藤田保健衛生大・医学部) | |
| 岡田 賢司 (国立病院機構福岡病院・小児科・医長) | |
| 4. 風疹IgM抗体陽性者の評価に関する研究 | 23 |
| 川名 尚 (帝京大附属溝口病院・産婦人科) | |
| 干場 勉 (石川県立中央病院・産婦人科) | |
| 5. 地方衛生研究所における風疹抗体測定に関する調査研究 | 27 |
| 丹野嗟喜子 (埼玉県衛生研) | |
| 島田 慎一 (埼玉県衛生研・ウイルス担当) | |
| 6. 風疹抗体検出キットの品質管理に関する研究 | 40 |
| 多屋 馨子 (感染研・感染症情報センター) | |
| 佐藤 弘 (感染研・感染症情報センター) | |
| 7. IgMクラス抗風疹抗体測定系の評価と健常人・高齢者での抗体検出とワクチン 投与後の抗体の推移 | 44 |
| 吉田 浩 (福島県立医大・臨床検査医学講座) | |
| 風疹抗体価測定に関するアンケート結果 | 51 |
| 河合 忠 (国際臨床病理センター) | |
| 西島 英利 (日本医師会) | |
| 8. HBs抗原変異とHBs抗原検出法に関する研究 | 54 |
| 山口 一成 (感染研・血液・安全性研究部) | |
| 水澤左衛子 (感染研・血液・安全性研究部) | |
| 9. HBs抗原国内標準感度パネルの作成とHBs抗原濃度表記統一に関する研究 | 64 |
| 水落 利明 (感染研・血液・安全性研究部) | |
| B型肝炎ウイルスのgenotypeパネルの作製とS抗原の解析 | 69 |
| 岡田 義昭 (感染研・血液・安全性研究部) | |
| 10. 医療でのHBs抗原検出キット感度表記に関する調査・研究 | 74 |
| 林 茂樹 (国立病院機構災害医療センター) | |
| 11. B型肝炎ウイルス(HBV)感染成立初期におけるHBs抗原検出の意義 | 76 |
| 吉澤 浩司 (広島大院・医歯薬学総合研究科) | |
| 12. 医療でのHBs抗原検出キットに関する研究 | 78 |
| 飯野 四郎 (医療法人社団静山会清川病院) | |
| III. 研究成果の刊行に関する一覧表 | 82 |
| IV. 論文別刷 | 84 |

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

主任研究者 竹森 利忠 国立感染症研究所・免疫部長

研究要旨

[風疹についての研究]

1. 風疹 IgG 抗体測定における国際単位(IU)表示導入に必要な国内標準品を作製した。
2. 風疹抗体測定キットの品質管理と測定技術評価に必要となるパネル血清収集のネットワークを形成し、同意が得られた 90 人の成人より血清を収集し保管した。
3. 市販の IgM 抗体測定キットについての早急な品質管理が求められることが明らかになった。
4. 風疹の抗体測定法として赤血球凝集試験(HI 法)、酵素免疫法(EIA 法)、ラテックス凝集比濁法(LA 法)の比較検討を行い、相互に正の相関が認められた。更に EIA 法及び LA 法における HI 法を基準とした陽性/陰性判定の一致率は 99-100%と高く、EIA, LA 法が HI 法とともに風疹抗体測定のための有効な手段となることが示唆された。
5. 地方衛生研究所における風疹抗体測定の実施状況測定方法、実験上の問題点等を明らかにした。
6. 風疹ワクチン接種後の産生抗体の半減期は約 30 ヶ月と推定され、ワクチン 2 回接種が初回接種 72 ヶ月以後が適切であることが推定された。
7. 先天性風疹症候群の発症に対応する目的で、風疹ウイルス RNA 検出法の標準化のための必要条件を検討した。
8. 医師会を介して風疹ウイルス抗体検出に関して風疹抗体価測定の現状を調査した。風疹抗体価測定は極めて限られた施設行われており、また試薬キットを提供しているメーカーもごく限られていることから、今後施設間の密接な交流を介して標準化に向けた活動が必要であることが明らかとなった。

[HBs 抗原についての研究]

1. 新規 HBs 抗原 WHO 国際標準品と国内標準品との力価の相関を確認し、この国内標準品を用いて HBs 抗原国内標準感度パネルを作成した。今後このパネルを用いて、HBs 抗原検出キットの表記法を IU/ml へと統一することが可能になった。
2. HBV は全世界に広く分布し、遺伝的に genotypeA から H までの 8 グループに分類され、国や地域によって存在する遺伝子型が異なる。市販されている HBs 抗原診断薬

がこれらの遺伝子型の異なる HBs 抗原を検出できるか否か検討する目的で、genotypeA から G までの HBV の全長をプラスミドにクローニングすることで、半永久的に同一のアミノ酸配列を持つ HBs 抗原を産生する系を確立し、各 genotype 間での抗原性を検討した。

3. 共通抗原基 a (中和抗体認識部位) に変異を起こした HBs 抗原変異株に対する診断薬の評価のため、変異型 HBs 抗原を含むパネルの整備が必要となる。このため、人工的に作製した変異ウィルス遺伝子導入ヒト細胞株を用いその培養上清に分泌される変異型 HBs 抗原を得ることに成功した。
4. 経時的に採取した感染早期の血清を対象として、HBV DNA と HBs 抗原をそれぞれ同時測定し、それぞれのマーカーによる感染成立を認識できるまでの期間を対比した。その結果、HBs 抗原検査により HBV の感染成立を知ることができる時期は、HBV DNA 検査によるよりも少なくとも 2 週間以上遅いことが明らかとなった。この結果は、HBs 抗原の検出系を選択する場合には、検出感度のみこだわることなく目的に適った方法によるものを選択することが大切であることが示唆された。
5. HBV 感染例で HBV DNA が検出限界以下になった時点での HBs 抗原量と臨床背景を検討した。その結果、HBs 抗原量は広い分布を示し、HBV の増殖状態を必ずしも反映せず、また、病態とも関連性が薄いと考えられた。
6. アジア、アフリカの途上国の総合病院および血液センターについて、HBs 抗原測定試薬の採用状況を調査したところ、アジアでは全て EIA 法が、ケニヤでは日本の技術指導による RPHA 法が採用されていた。ゲノタイプ特性と経済性を勘案すると、今後日本による主導のもと RPHA 法の普及に努めることが必要と思われた。

[分担研究者]

海野 幸子

(感染研・ウイルス第三部・室長)

多屋 馨子

(感染研・感染症情報センター室長)

浅野 喜造

(藤田保健衛生大・教授)

庵原 俊昭

(国立病院機構三重病院・副院長)

川名 尚

(帝京大医溝口病院・教授)

吉田 浩

(福島県立医大・教授)

丹野 瑛喜子

(埼玉県衛生研・所長)

水落 利明

(感染研・血液・安全性研究部・室長)

岡田 義昭

(感染研・血液・安全性研究部・室長)

山口 一成

(感染研・血液・安全性研究部・部長)

林 茂樹

(国立病院機構災害医療センター・副院長)

吉澤 浩司

(広島大院・医歯薬学総合研究科・教授)

飯野 四郎

(医療法人社団静山会清川病院・病院長)

[研究協力者]

鈴木 哲朗

(感染研・ウイルス第二部・室長)

水沢左衛子

(感染研・血液・安全性研究部・主任研究官)

前川 雅男

(社)日本臨床検査薬協会・常務理事)

西村 和夫

(日水製薬(株)・薬事部)

岡部 信彦

(感染研・感染症情報センター・センター長)

田代 真人

(感染研・ウイルス第三部・部長)

岡田 賢司

(国立病院機構福岡病院・小児科・医長)

干場 勉

(石川県立中央病院・産婦人科・部長)

堀内 善信

(感染研・細菌第二部・室長)

島田 慎一

(埼玉県衛生研究所・ウイルス担当・主任)

種村 光代

(名古屋市立大医・講師)

千葉 喜英

(国立循環器病センター・周産期科・専門外来部長)

峰松 俊夫

(愛泉会日南病院・疾病制御研究所・所長)

佐多徹太郎

(感染研・感染病理部・部長)

斎藤由美子

(株)エスアールエル・感染免疫部・部長)

はじめに

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症候群(CSR)児を出生するなど、社会的影響が大きい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、風疹疫学を的確に把握することが重要で、これらの観点から風疹抗体測定する診断薬の品質管理は重要な課題となる。品質管理については WHO 標準品に準拠した国内標準品の設定、広く症例を網羅した血液パネルの整備が必要とされ、この課題の推進が必要であることは過去多く論議された。測定法については赤血球凝集抑制(HI)法が多く用いられているが、一方酵素抗体(EIA)法の使用頻度も増加し相互の相関や互換性については十分に検討する必要がある。更に、ウイルス感染診断については遺伝子診断の必要性とその技術の標準化も考慮すべき問題として残されている。

昨年度は感染症専門家の風疹血清疫学に対する大勢を調査し、免疫状態の把握には HI 法及び EIA 法などの適切な抗体測定方法を使用し、急性期の風疹診断には適切な EIA-IgM 法を用いていることを明らかにした。昨年度の成果をもとに、今年度は風疹抗体測定の品質管理及び走的技術評価に必要なパネル血清作成に取り組んだ。また、風疹の流行がコントロールされたときに、風疹ワクチンの 2 回目接種の必要性についても検討した。

A. 研究目的

HBs 抗原検出キットの品質管理に関する研究として以下を計画した。

1. 現在国内で厚生労働省の認可を受けて販売されている約 30 種類の HBs 抗原検出キットにおいて抗原量を「ng/ml」で表記しているものと「IU

(international unit)/ml」で表記しているものがほぼ半々に混在している。従って、それぞれのキットでの最小検出感度表記法が異なる場合には、相互の結果を比較することは困難で混乱が生じることがある。WHO では 1987 年に最初の HBs 抗原国際標準品を制定し、2003 年には新たに新規国際標準品が制定され HBs 抗原濃度の表記を「IU/ml」に統一することが提案され合意された。本研究では、この新規 HBs 抗原国際標準品を基準にして、現在使用されている HBs 抗原国内標準品の力価を測定かつ再確認し、それを用いて HBs 抗原国内標準感度パネルを作成することを目的とした。この作業は現在国内で販売されている HBs 抗原検出用キットの検出感度の表記を国際動向に合わせて「IU/ml」に統一することに貢献する。

2. HBV は全世界に広く分布し、遺伝的に genotypeA から H までの 8 グループに分類され、国や地域によって存在する遺伝子型が異なる。一方、国際間の交流が頻繁になり現在日本に存在しない genotype のウイルスが侵入する可能性は高い。これらのことから市販されている HBs 抗原診断薬が遺伝子型の異なる HBs 抗原を検出できるか検討する必要がある、評価のための標準抗原の作製を行った。

3. HB ワクチン接種や抗 HBs 抗体の投与によって共通抗原基 a (中和抗体認識部位) に変異を起こしたエスケープ変異株が出現することが知られ、また、HBV 持続感染者からも自然経過の中で生じた HBs 抗原変異株が分離される。診断用 HBs 抗原検出試薬の中にはこのような変異をもった HBs 抗原を検出できない例のあることが報告されており、適切な診断薬の評価のために種々

の変異型 HBs 抗原を含むパネルの整備が求められている。本研究はこのためパネル用の変異型 HBs 抗原の作製を目的とする。

4. 実験的に HBV を感染させたチンパンジーの血清中の HBV DNA、および HBs 抗原を測定し、その成績をもとに、HBV 感染初期における HBs 抗原検出の意義について考察することを目的とした。

5. HBs 抗原陽性と判断された臨床例について、HBV DNA が $10^{2.6}$ copies/mL 未満と判定された時点での HBs 抗原量の分布を調査し HBs 抗原の検出意義を評価することを目的とした。

6. アジア、アフリカにおける B 型肝炎ウイルス (HBV) キャリアは人口比数~十数%と推定され、各国国民の健康管理上重要な問題となっている。そこで、HBV が蔓延している途上国における 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を通じて、調査対象途上国に対して最適な HBs 抗原検査試薬を提言することを目的とした。

風疹抗体検出キットの品質管理に関する研究として、以下を計画実施した。

1. H16 年度調製し、算定した風疹 IgG 抗体国内標準品 (JPN'03) の国際標準品に対する相対抗体価が妥当であるかどうかを判断するために他施設に抗体測定を依頼した。また、平行線定量法によって国際標準品に対する相対 IU 値を算出する方法の応用性についても検討した。

2. 風疹抗体の測定方法としては、従来、赤血球凝集抑制試験 (HI 法) が一般的であり、抗体

価の表示は HI 価 (血清希釈倍数) であることが多く、感染の有無あるいは感受性者検索等の目安とされてきた。しかし酵素免疫法 (EIA 法) による測定が普及し、吸光度の比 (IgG index) や国際単位 (IU/ml) での表示が多くなってきている。前年度の調査で HI 法と EIA 法 (デンカ生研製キット使用) の成績に高い一致率 (99.6%) 及び相関性 (相関係数: 0.928) が認められ、定性試験においてはどちらの測定方法も同様に有用であることが確認された。本年度はさらに他社製品を用いた EIA 法及びラテックス比濁法 (LA 法) による抗体測定を行い、HI 法との相関性について以前実施した EIA 法とあわせて比較・検討することを目的とした。

3. IgM クラス(-)抗風疹抗体(IgM-風疹抗体)測定系の基礎的検討と同抗体が長期間持続する実態を解析するため、臨床的検討を行った。

4. 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、平成 15 年度に作成したアンケート調査票を使用して全国の地方衛生研究所 (以下、地研と略す) における実施状況、測定方法、問題点等を調査して、風疹抗体測定の現状を把握するための一助とする。

5. 妊娠初期の風疹罹患により高率に先天性風疹症候群が発生することから特に高い HI 抗体陽性妊婦について妊娠中の風疹罹患時期の推定が求められている。この際、IgG 抗体の Avidity Index (AI) の測定が有用であると報告があるので、AI 測定法の確立とその臨床応用について明らか

にすることを目的とした。

6. 先天性風疹症候群（CRS）の報告例が増加している。ウイルス培養が困難な CRS 症例や流死産児の検体の精査、胎児を対象とした診断方法として、Polymerase Chain Reaction（PCR）を用いた風疹ウイルス RNA の検出方法が既に開発されている。流行状況に応じた対応を迅速に行うために、本検査の標準化をはかることを目的とする。

B. 研究方法

[風疹についての研究]

1. 確立した JPN'03 について 2 つの施設に抗体価を告げずに抗体測定を依頼した。測定はデンカのキットを用い、得られた EIA 抗体価の平行線定量法を行い国際標準品に対する相対抗体価の算出を行い、また 1.2 倍階段希釈による HI 抗体価測定を実施した。更にエンザイグノスト及びプラテリアの EIA キットを用い同様の作業を行った。また、風疹感染による発疹後 15 から 480 日の経時血清の IgG 抗体価を三種類のキットで測定し、キットの性能に違いがあるか調べた。これらの血清は、提供者に使用目的とその意義及び使用の際に血清の個人情報公開しないことを良く説明し、書面をもってその使用が承諾されたものである。

2. 医科系大学の学生及び同大学附属病院の研修医より採取された血清、計 469 検体を調査材料とした。風疹抗体の測定は、EIA 法及び LA 法ともに市販の風疹抗体測定キット（EIA：Dade Behring, LA：極東製薬）を用い、それぞれ添付文書に従って行った。判定は、EIA 法で吸光度 > 0.2 、LA 法で抗体価 $\gamma 10$ IU/ml を風疹抗体陽性とした [HI 法は抗体価 $\gamma 1:8$ 、EIA 法（デンカ生研）

は IgG index $\gamma 1.0$ を陽性と判定した。

3. 風疹パネル血清作製を目的に、同意が得られた成人 90 人から血液を採取するとともに、風疹の既往歴及びワクチン歴について調査した。また、昨年度の調査で、パネル血清作製に賛意が得られた医師に、標準風疹 IgM 抗体陽性血清作製のための血清採取を依頼した。

4. 風疹ワクチン後の血清抗体価の分布

保護者の同意が得られた風疹ワクチン歴のある小児 64 例から血清を採取し、風疹 HI 抗体を測定した。同時に風疹ワクチン接種日を母子手帳にて調査した。

5. デンカ生研(DS)、バイオラド(BD)、ビオメリュー(BM)、デイドベーリング(DB)、ロシュ(RO)社製品による IgM-抗体測定用 ELISA を用いた。地方衛生研実施における風疹抗体測定に関する調査研究： H16 年度に作成した調査票を、地方衛生研究所全国協議会に所属する 75 ヶ所の地研へ送付し回答を依頼した。送付した調査票は、以下の内容を問うものである。

- (1) 風疹抗体測定実施の有無、実施理由または非実施理由
- (2) 風疹抗体測定に関して（実施理由別に）
 - ① 最近 5 年間の実施件数
 - ② 抗体測定方法および術式の根拠
 - ③ 各試薬等の調達方法
 - ④ 精度管理について
 - ⑤ 問題点
- (3) 今後の方向性

6. IgG 抗体 avidity index の計測

妊娠初期に IgM 抗体が陽性であるため AI の測

定を依頼された 18 検体及び同意の得られた看護学生（19~20 才）の血清 173 検体を対象にデンカ生研キットを用いて IgG 抗体と IgM 抗体を測定した。AI 測定法についてはデンカ生研の風疹 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（O.D 値）の比を%で表わして測定した。この際、検体の O.D を 1~1.2 程度になるように希釈して用いた。

7. 現在実施されている複数の風疹ウイルス遺伝子診断標準化プロトコールを検討して、相違を明らかにするとともに、検査が実施された症例数や臨床経過を参考にし診断基準を明らかにして、標準化を検討することを目的にした。本研究は、日本産科婦人科学会をはじめとする日本医学会分科会、及び関連組織の倫理規定やガイドラインのもとに実施された。

[HBs 抗原についての研究]

1. 2002-2003 年 WHO collaborative study において制定された。HBs 抗原国際標準品と現在国内で使用されている HBs 抗原国内標準品との力価を国内で販売されている 3 種類の高感度 HBs 抗原検出キットを用いて測定比較し、その相関関係を確認した。次に、この HBs 抗原国内標準品をもとにして、種々の感染症マーカー陰性のマトリックス（BBI 社 Accurun 810）を用いて希釈系列を作成し、HBs 抗原国内標準感度パネルとした。このパネル各検体について、上述の 3 種類の高感度キットを用いて測定を行い値を確認した。

2. 日本に存在しない遺伝子型の HBs 抗原標準品を確保する目的で、genotypeA から G までの HBV の全長をプラスミドにクローニングしヒト

肝細胞株へ遺伝子導入した。培養上清中に各遺伝子型を有する HBs 抗原が産生されることを確認した。

3. 診断用 HBs 抗原検出試薬の評価のための変異型 HBs 抗原パネルの作製を目的として、*in vitro* mutagenesis により共通抗原基 a に変異を導入した 3 種類の組換え体を作製し、ヒト培養細胞で発現する変異型 HBs 抗原を作製した。

4. チンパンジーに HBV 感染早期のヒト新鮮凍結血漿（HBs 抗原陰性、HBV DNA 6.9×10^4 コピー/ml、HBV のジェノタイプ A の FFP）を 1ml、経静脈的に接種し、1 回/2 日の頻度で採血し、血清保存をしつつ経過を観察した。接種後 10 週目までの血清を対象として HBV DNA、HBs 抗原をそれぞれ同時測定した。HBV DNA の測定は nested PCR、および Taq Man PCR により、また HBs 抗原は AxSYM®（アボットジャパン、東京）により測定した。

5. 2003 年 1 月元旦から 2004 年 12 月 31 日の間に清川病院を受診した HBs 抗原陽性者 536 例について、抗ウイルス剤使用中の症例、B 型肝炎の急性増悪中およびその直後の例を除いて、HBV DNA が $10^{2.6}$ copies/mL 未満の例のみを抽出した。抽出例に関して、性、判定時年齢、HBs 抗原量（RPHA, AxSYM）、AST、ALT、 γ GTP、血小板、観察期間を調査した。患者の諒解をえて、検査残血清を保存していたものを用いた。

6. ベトナム、中国、タイ、ミャンマー、ネパール、ケニア、スペインとし、各国の基幹総合病院と血液センター（ケニア）について、施設病床数、外来患者取扱数、HBs 抗原検査件数、HBs 抗原検

査試薬名、HBs 抗原検査代金（ケニヤでは検査費用）について調査した。ベトナム国については研究者が実地調査を行い、その他各国については文書によるアンケート調査によった。

C. 研究結果

〔風疹についての研究〕

1. WHO 国際標準品に準拠した国内標準品の作製

他施設に依頼して風疹 IgG 抗体用国内標準品の抗体価を EIA による平行線定量法と HI 試験法を用いて測定した結果、感染研と同等な値が得られ、昨年度算定した抗体価の妥当性が確認された。また、エンザイグノストとプラテリアの IgG キットを用いた平行線定量法による相対抗体価もデンカのそれに近い値となり、3社のキットで、この方法による抗体測定が可能であった。しかし、国際標準品の値が変動したため、国際標準品が安定した値を示すことを確認した後に、再度国内標準品候補の相対抗体価を再測定することとなった。IgM 抗体の国内参照品候補血清から、混在する IgG をプロテイン G を用いて除去し精製した。

2. 風疹血清パネル作製整備

風疹血清パネル作製の目的に対して同意を得た成人 90 人から一人当たり 30ml 採血し、血清約 15ml を採取した。標準風疹 IgM 抗体陽性血清に関しては、調査依頼後各地での風疹流行がなく、今後取り組む予定である。

3. 風疹抗体測定法相関性の検討

医科系大学の学生及び研修医の血清 469 検体を対象として風疹抗体測定法の相関性の検討を行った。この結果 HI と EIA-デンカ（相関係数：0.928）、HI と EIA-Dade（0.900）、HI と LA（0.659）

のそれぞれで相関が認められた。抗体陽性率は HI 法、EIA 法で 85.7%（402/469）、LA 法で 85.3%（400/469）であった。HI 法を基準とした場合の陽性/陰性判定の一致率は、測定方法により判定が不一致であった検体もあり、EIA-デンカ：99.6%、EIA-Dade：98.5%、LA：99.6%であった。また、EIA 法あるいは LA 法で陽性と判定された検体が HI 法でも陽性である確率をあらわした陽性的中率（PPV）は、EIA-デンカ：99.8%、EIA-Dade：100.0%、LA：100.0%であった。

一方医科系学生 173 検体を対象として HI 抗体を SRL 社に依頼し ELISA をデンカ生研キットを用いて比較すると、HI 抗体 64 倍が ELISA 値では 22.0 ± 9.3 、HI 抗体 256 倍が ELISA 値では 63 ± 35.7 となり平均値では相関するものの例えば ELISA 値 25 は HI 抗体値 32~512 倍と広く分布することが示唆されこの結果は HI 抗体値を ELISA 値で替えることはできない可能性を支持した。

4. 風疹ワクチン後の血清抗体価の分布

HI 抗体測定を行った 64 例を、ワクチン接種日から測定日までの期間から、2 年ごとに 4 群に分類した。平均抗体価(2ⁿ)が一番高いのは接種 24 ヶ月以内群であり (6.92 ± 1.50)、その後接種後の期間が経つにつれて平均抗体価は漸減し、接種 49<72 ヶ月群の平均抗体価が一番低値であった (5.47 ± 1.50)。風疹ワクチン後 72 ヶ月までの 646 例を対象に検討すると、ワクチン接種後の月数と抗体価との間には有意の負の相関が認められた ($R=0.4351$, $P=0.002516$, 相関直線 $Y=-0.02896X+7.40$)。この相関直線から、風疹ワクチン接種後の平均抗体価は 27.4、ワクチン後の血清 HI 抗体の半減期は 29.4 ヶ月と推計された。

5. 風疹 IgM 抗体測定法に関する研究

風疹抗体測定法の中で IgM-抗体測定は高感度で特異性の高い immunocapture 法が中心となっている。本邦でも DB 社以外は immunocapture 法であるが、血清希釈は 20 倍～200 倍と種々である。陽性コントロールの電気泳動パターンを見ても、各社で用いるコントロールの内容は様々であろう。同一キットを用いて経過をみることは問題ないと思われるが、他キットでの測定値の評価は注意すべきである。

6. 地方衛生研究所における風疹抗体測定法に関する調査

調査票を送付した全国の地方衛生研究所の 75 施設のうち、74 施設から回答が返送された。平成 15 年度時点において風疹抗体測定を何らかの理由により実施している地研は、31 施設と全体の半数以下であった。一部の地研では継続的に多検体の抗体測定を実施していたが、一方では一般依頼検査実施地研のほとんどの施設において検体数が非常に少ない。検査精度の維持が困難であること、試薬等のロスが多いこと等の指摘があり地研における風疹抗体測定を中止する方向で検討中、あるいはすでに中止した地研も数施設あり、今後、検査を実施する地研はより減少するものと思われる。

7. 風疹初感染診断に関する研究

Avidity Index(AI)の評価のための基準を作成した。感染病日 6～81 日の血清では、IgM 抗体値は 3.00 以上の高値を示し IgG 抗体値は 31～110 に分布した。AI 値は 30 日以上は 5.9～27.6%、81 病日で 51.9%を示した。また感染時期は不明であるが HI 抗体 128 倍以上の学生より得た 51 例(1024 倍 3 例、512 倍 9 例、256 倍 26 例、128 倍 13 例)では IgG 抗体は 46～190 に分布し、AI 値は平均

52.9%(±35.65)であった。これらの血清の AI は 60.5～91.5%に分布し平均 76.7%(±5.97)であった。

8. 風疹遺伝子診断に関する研究

風疹ウイルス遺伝子診断において主たる原法は、AGPC 法を用いて RNA を抽出し、逆転写反応にて cDNA を作成、PCR 法を用いてウイルスの構造遺伝子 E1 領域の 5'側の SITE3 (369bp)、その内部領域 SITE31 (283bp) を二重に増幅する (nested-PCR)。アガロースゲルで電気泳動、エチジウムブロマイドで染色後、UV 照射することにより蛍光 DNA バンドとして検出する。原法を含め、遺伝子診断はごく一部の研究施設で実施されているに過ぎない上、RNA の抽出がキット化されたり、異なるプライマーが使用されている場合もあり、感度や判定基準にばらつきが生じている可能性が示唆された。原法は RNA 抽出のステップが煩雑、コンタミネーションの危険性が高いなどの問題点があったが、多数の臨床症例での診断実績があることが確認された。

[HBs 抗原についての研究]

1. WHO 国際標準品に準拠した国内標準品の作製

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 (102 IU/vial) である。今回制定された HBs 抗原国際標準品と現在の HBs 抗原国内標準品との相関を 3 種類の高感度 HBs 抗原検出キットにより測定した結果、0.1 IU/ml から 10 IU/ml の HBs 抗原濃度範囲において良好な直線関係が得られた。

2. HBs 抗原 genotype 標準品の作製

今年度クローニングした genotype C と G を塩

基配列を決定したところ、G は欠損のない完全長のクローンを得ることができたが、C はコア領域に欠損が認められた。また、抗原性の解析では各 genotype 間での遺伝子導入効率に著明な差が無く、HBs 抗原の値はほぼ同等であった。一方、より効率に HBs 抗原を産生させるために HGF(肝細胞成長因子)やレチノイド酸などの影響を検討したが著明な産生量の差は認められなかった。

3. HBs 抗原変異体標準品の作製

共通抗原基 a の変異として知られる G145R、M133T、及び T123N を導入して、変異型 HBs 抗原遺伝子もつ真核細胞発現プラスミドを作製し、感染させた培養細胞の上清中より HBs 抗原の発現を特定の検査試薬を使用して検出した。この結果、野生型と G145R 及び M133T は明らかな陽性を、T123N は非常弱陽性であった。

4. HBV 感染における HBs 抗原検出の変異についての検討

チンパンジーの感染実験において HBV DNA は接種後 7 日目に nested PCR により、また接種後 17 日目に Taq Man PCR により初めて検出された (HBV DNA 量は 1.2×10^2 コピー/ml)。その後、HBV DNA 量は接種後 31 日目に 2.5×10^3 コピー/ml、同、35 日目に 6.5×10^3 コピー/ml となり、この時点で HBs 抗原が初めて陽性と判定された。HBV DNA が初めて検出された日を起点として、HBs 抗原が初めて陽性と判定される日までの間隔は、nested PCR により HBV DNA が検出された日を起点とすると 26 日、Taq Man PCR により HBV DNA が検出された日を起点とすると、18 日であった。

5. HBV 感染者診断・治療に関する HBs 抗原検出の意義に関する検討

HBV キャリアの追跡例の中から、HBV DNA が $10^{2.6}$ copies/mL 以下になった例を抽出し、その症例の臨床背景と HBs 抗原量を検討すると、HBV DNA 陰性化時の HBs 抗原量は広範囲に分布し、ほぼ正常肝と推定される例から肝硬変まで存在した。従って、HBs 抗原量のみからは HBV 感染の病態は把握しえないと考えられた。

6. 海外特にアジアにおける HBs 抗原検査試薬の調査

HBs 抗原検査試薬と検査法：アジア、ヨーロッパいずれも病院で採用していた HBs 抗原検査試薬は多様であったが、検査法はすべて EIA 法であった。一方、ケニアの血液センターでは、日本の技術援助により開発された RPHA 法試薬が使用されていた。なお、各施設の年間検査件数は 5,000~36,000 であった。ベトナムではハノイとホーチミンのそれぞれ 2 施設を調査したが、第二次大戦までの宗主国がフランスであったことの影響を受けて、フランス製 3、オランダ、英国製各 1 という特徴があった。

D. 研究考察

[HBs 抗原検出キットに関する研究]

水落班員の研究成果により、今回作成した HBs 抗原国内標準感度パネルを用いて、各キットの HBs 抗原最小検出感度を「IU/ml」で統一的に表記することが可能となり、今後の作業の進行により、添付文書上に反映されることが期待される。

HBV には現在 A から H の 8 種類の genotype が報告されている。国内で検出される HBV はほとんどすべて A、B、C のいずれかである。しかし、それぞれの genotype を持つ HBs 抗原が、国内で販売されるキットにより差異なく検出されるか否かの評価が必要とされる。そこで本研究班の岡

田班員により、genotype 別 HBs 抗原パネルの整備を行い、各 genotype に対応したリコンビナント HBs 抗原の標準品を作製した。これまで genotypeA から G までの HBV 全長を組み込んだプラスミドを用いて標準品の作製を行ったが発現量を一致させることが困難で、HBs 抗原のみを発現するプラスミドの作製に切り替える必要が生じ現在対応している。一方、山口班員、水澤研究協力者により HB ワクチン接種や抗 HBs 抗体投与により出現する共通抗原基 a に変異を起こした変異株検出の評価が行われた。すなわち G145R, M133T, T123N の 3 種の変異を有する HBV プラスミドを作製し細胞へ遺伝子導入しその産生を検討した結果、野生型とともに G145R と M135T は培養上清中に産生されることを確認し、今後この手法を更に発展させ標準品の確立が望まれる。

さて臨床的に HBs 抗原検出系の感度はどの程度必要なのであろうか。本研究において吉澤班員によりチンパンジーを用いた HBV 感染実験系をモデルとして検討すると、HBs 抗原検査により HBV の感染成立を知ることができる時期は、nested PCR による HBV DNA の陽転により感染成立が認知できた日から数えて 26 日目、Taq Man PCR による HBV DNA の陽転した日から数えて 18 日目であることが明らかにされた。一方、感染早期のヒト由来の血清検体を対象とした解析結果から、Ax SYM® により HBs 抗原陽性と判定された血清中の HBV DNA 量は $10^3 \sim 10^4$ コピー/ml であることが明らかとなり、飯野班員による研究で、HBV による B 型肝炎を診断する上では HBV DNA の測定値がもっとも有効であり、HBV DNA が $10^{3.5}$ copies/mL ではその後に HBV による肝炎をみることはほとんどない。HBV DNA が $10^{2.6}$ copies/mL 以下に低下した時点で HBs 抗原量

を調査すると、HBs 抗原は陰性から高値にまで分布し、相関性は認められなかった。また HBV によって肝硬変まで進展した例であっても、HBV DNA、HBs 抗原ともに陰性化する例もある。このように HBs 抗原量からは HBV 感染の病態は必ずしも推定しえないことが示唆された。

この結果は HBs 抗原に対する高感度の検出系の開発による「ウインドウ期間」の短縮には限界があることを示唆する。従って、HBs 抗原の検出系を選択する場合には、検出高感度にこだわることなく、目的に適った方法によるものを選択することが大切であることが示唆された。

[風疹抗体診断キット及び遺伝子診断に関する研究]

海野班員、田代班員、堀内研究協力者により昨年作製された風疹 IgG 抗体用国内標準品について他施設に依頼してその抗体価を EIA による平行線定量法と HI 試験法を用いて測定した結果、感染研と同等な値が得られ、標準品の妥当性が確認された。また、エンザイグノストとプラテリアの IgG キットを用いた平行線定量法による相対抗体価もデンカで得られる値と近い値となり、3 社のキットで、この方法による抗体測定が可能であった。

庵原班員、浅野班員、岡田研究協力者の尽力で長年の懸案であった風疹測定キット(HI 法、EIA 法とも)の品質管理と抗体測定技術の評価に必要なパネル血清作製のために成人 90 人から一人当たり血清約 15ml が採取され保存された。今後各血清の風疹 HI 及び EIA 抗体価を感染研で測定し、抗体陰性から種々の陽性レベルの血清を組み合わせたパネル血清を作製する。作製されたパネル血清の保管運用に関しては今後の課題である。また、標準風疹 IgM 抗体陽性血清作製に関

しては、各地の医療機関に調査依頼後風疹の流行がなく、今後取り組む予定となった。

妊婦の風疹感染の管理に際し、HI 抗体を用いて長年行われてきたが、HI 抗体測定にはガチョウの赤血球のようなロットの統一の難しい検査材料を必要とし、血清の前処理や判定も主観的になりやすいなど精度管理において難しい点がある。この点 ELISA 法は多量の検体を一度に扱え、感度も良く、また精度管理・客観性・利便性など多くの優れた点がある。従って HI 抗体価と ELISA 法による抗体測定値との相関性が認められれば HI 抗体測定法から ELISA 法への切り替えも可能となる。但し丹野班員島田研究協力者による地方衛生研究所を対象とした調査では異なる検査法による表記統一の意義を問う意見も見られた。

相関性については 2 つのグループにより検討された。

多屋班員、佐藤研究協力者、岡部研究協力者による検討から、EIA 法及び LA 法において 95.0% 以上の PPV で HI 価 $\geq 1:16$ から $\geq 1:256$ に相当する目安となる測定値が得られ、EIA 法及び LA 法は HI 法と比較してそれぞれ相関性が認められ、一致率及び PPV とともに非常に高く、風疹の抗体測定方法として、各法の結果に差はないことが示唆された。一方、川名班員、干場研究協力者により行われた結果では、HI 抗体価と ELISA 値について相互の平均値では相関するものの、例えば ELISA 値 25 は HI 抗体値 32~512 倍と広く分布するように差が大きく HI 抗体値を ELISA 値で替えることは临床上困難であるとの示唆を得た。

しかし、感受性者への対策やワクチン接種者のスクリーニングについての ELISA 法の使用は有用であることは両グループの共通した結論である。風疹は 2003 年から 2004 年にかけて地域流行がみられ、先天性風疹症候群は 2004 年 10 例

が報告されている。また、これまでの流行のパターンから風疹の流行は数年続くことが予想され、今後の感受性者対策に際し、一度に多数の検体を測定できる EIA 法及び LA 法は有効な手段となりうる。更に今後 EIA 法及び LA 法における測定値の目安は、感染や既往の有無を判定する上でも有効に活用されうると考えられ、実行に際しては今後検査業界を含めたすり合わせが必要と考えられる。

妊娠初期の風疹罹患により高率に先天性風疹症候群が発生することから適切な診断法の選択と診断基準の設定が必要である。従来、HI 法により妊娠中の風疹罹患時期が推定されてきたが、この方法のみでは不可能であることが判り、IgM 抗体測定を合わせた推定が行われ、最近の厚労省の班会議の提言でも IgM 抗体の検出が薦められている。

本研究班において、HI 抗体価と IgM 抗体価はほぼ反比例し、感染 81 病日以内は IgM 値が 3.0 以上と高いことから IgM 値を定量的に評価することが有効である可能性が推察された(川名・干場)。一方 IgG 抗体の親和性は HI 抗体価が高く IgM 抗体価が低い場合に 60.5% 以上の高値を示し AI が 60% 以上であれば 3 ヶ月以上前の感染を示唆するものと思われ、感染初期の診断には HI、IgG 親和性、IgM 抗体価の複合的な評価が有効であることが示唆された。

一方、Polymerase Chain Reaction (PCR) を用いた風疹ウイルス RNA の検出方法が既に開発されている。流行状況に応じた対応を迅速に複数の施設で行うために本検査技術の標準化が必要とされる。本研究では現在実施されている複数のプロトコールを検討して、その相違を明らかにするとともに、検査が実施された症例数や臨床経過を見直し診断基準を明らかにして、標準化のあり方を

検討した。

風疹ウィルス遺伝子診断における原法は、AGPC法を用いてRNAを抽出し、PCR法を用いてウィルスの構造遺伝子E1領域の5'側のSITE3、その内部領域SITE31を二重に増幅しアガロースゲル上で蛍光DNAバンドとして検出する。原法を含め、遺伝子診断はごく一部の研究施設で実施されているに過ぎず、RNAの抽出がキット化されたり、異なるプライマーが使用されている場合もあり、感度や判定基準にばらつきが生じる可能性が示唆された。原法はRNA抽出のステップが煩雑で、コンタミネーションの危険性が高いなどの問題点があるが、これまでの多数の臨床症例での診断実績があることが確認された。

さて地方衛生研究所を対象に行われた丹野班員の調査において疫学的情報を得るための抗体保有状況調査に使用する血清検体の収集が、近年益々困難になっている状況がかなり明白となった。地域的な抗体保有状況調査を進める上で、また感染症流行予測調査事業を継続して実施していくためにも、公衆衛生上の重要性の啓発に努めるとともに、効率的かつ効果的な検体収集方法について国レベルでの検討が強く望まれる。

E. 結論

HBs抗原検出検査における国際動向を踏まえた標準品の作製を行い国内でのIU単位の統一が可能となった。またHBs抗原についてはgenotype、変異体測定に必要となる標準品の作製を行った。更にHBs抗原診断法の臨床的意義を検討し、検出感度にこだわることなく目的に適した方式を選択することが必要との示唆を得た。一方風疹についてはIgG抗体測定のための国内標準品が作製され、またIgM抗体測定のための国内標準品候補が作製された。更に品質

管理に関して必要となる風疹抗体診断血清パネル作製のため90人の成人より血清が採取され保管された。またHI法、EIA法測定の相関性が検討され、少なくともEIA及LA法がHI法とともに感染感受性者の調査に有用な手段となることが認められた。また目的に対応した診断キットの使い方が整理され共通認識を得た。また医療機関での各キットの使用状況が明らかになった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Iino S, Tomita E, Kumada H, Suzuki H, et al. prediction of treatment outcome with daily high-dose IFN α -2b plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C with genotype 1b and high HCV RNA levels: relationship of baseline viral levels and viral dynamics during and after therapy. *Hepatology Research*, 30: 63-70, 2004
- (2) Yano M, Hayashi H, Yoshioka K, Kohgo Y, Saito H, Iino S, et al. A significant reduction in serum alanine aminotransferase levels after 3-month iron reduction therapy for chronic hepatitis C: a multicenter, prospective, randomized, controlled trial in Japan. *J Gastroenterol*, 39: 570-574, 2004
- (3) H.Yoshida, Y.Imafuku, T.Nagai. Matrix effects in clinical immunoassays and the effect of preheating and cooling analytical samples. *Clin Chem Lab Med.* 42, 51-56, 2004
- (4) 多屋馨子「三日ばしか」家庭医学大全科株式会社法研、2699-2700, 2004

- (5) 多屋馨子「能動免疫と受動免疫(翻訳)」
R-Book2003.日本版.小児感染症の手引き
日本小児医事出版社、1-53, 2004
- (6) 多屋馨子「風疹流行にともなう母児感染
の予防対策構築に関する研究」風疹流行
および先天性風疹症候群の発生抑制に関
する緊急提言, 2004
- (7) 多屋馨子「予防接種の現状と問題点 定期
接種副反応」小児看護、27: 1609-1615,
2004
- (8) 多屋馨子「わが国の麻疹・風疹の現状と
対策 この秋にぜひ風疹ワクチンを」臨
床と微生物、31: 446-447, 2004
- (9) 多屋馨子「医療関係者に対する予防接種」
総合臨床、53: 1886-1890, 2004
- (10) 多屋馨子「わが国の風疹の現状と対策」
LABEAM, 2004
- (11) 吉田浩、海野幸子、高木康、河合忠「風疹
抗体測定キットの対比検討」臨床病理、52:
269, 2004
- (5) 逸見佳美、砂川富正、大山卓昭、佐藤弘、
多屋馨子、岡部信彦:「防衛医科大学校の医
学生(1-6年)および研修医に対して行った
ワクチン予防可能疾患(風疹・麻疹)の既往
歴・接種歴の認識等に関する調査」
[第8回日本ワクチン学会、2004年]
- (6) 多屋馨子、新井智、佐藤弘、荒木和子、
岡部信彦「担当都道府県ならびに都道府
県衛生研究所: 感染症流行予測調査事業よ
り得られた近年の年齢別麻疹,風疹,MMR
ワクチン接種状況」
- (7) 上野正浩、中島一敏、砂川富正、大山卓昭、多
田有希、多屋馨子「1999年4月以降の感染
症サーベイランス施行後における先天性
風疹症候群の状況」

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

2. 学会発表

[EPFA&EPI XI th NAT Workshop, Paris, 2004]

- (1) Yoshizawa H, Yugi H, Tanaka J, Yamanaka R.
NAT in an endemic area-experience in Japan
[第36回小児感染症学会、2004年]
- (2) 庵原俊昭「風疹抗体測定方法の実態調査と
風疹パネル血清作製の取り組み」
[第45回日本臨床ウイルス学会、2004年]
- (3) 多屋馨子「ワクチンに関する最近の話題予
防接種の最新情報と vaccine preventable
disease の国内発生状況」
- (4) 佐藤弘、多屋馨子、逸見佳美、新井智、
砂川富正、大山卓昭、岡部信彦「医科大学
校の医学生および研修医における風疹・麻
疹の抗体調査」

厚生労働科学研究費補助金
(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)
分担研究報告書

体外診断薬品質管理の今後のあり方

主任研究者 竹森 利忠 国立感染症研究所・免疫部長

研究要旨

日本で使用される体外診断薬キットの品質管理には国内で作製された標準品、標準パネル血清が必要であり、平成 15 年度には整備に向けて解決すべき問題点の分析を行った。平成 16 年度に風疹抗体検査に関するパネル血清に必要な血清が採取され、平成 17 年度に向けその整備が可能となった。この進行の現状を踏まえ今後の体外診断薬医薬品の品質管理の方法について考察した。この結果、①国際標準品に準拠した国内標準品とともに標準パネル血清を製造業者、検査会社、医療機関に分与することで、製品の品質管理のみならず技術管理が可能となること、②標準品、パネル血清整備は、製造業者の自己点検システムを確立させること、③現行の申請毎の依頼検査から、特定の期間毎の横断的な依頼検査への移行が可能となること、が考察された。

A. はじめに

現在、体外診断用医薬品については血液型判定用抗体基準収載品、輸血に関するもの(HBV、HCV、HDV、HIV、HTLV)、公衆衛生上特に重要なもの(HAV、風疹ウイルス、クラミジア・トラコマティス)及び行政当局が必要と認めるものに関して国立感染症研究所へ試験が依頼されている。依頼試験ではパネル血清を用いて感度と特異性について試験を行い申請者側のデータの確認を行い、独立行政法人医薬品医療機構総合機構に報告することとなる。試験の実施において現行のシステムにはいくつか改善が望まれる点があり、この問題について報告する。

B. 研究方法

これまでの体外診断用医薬品依頼検査の過程で得られた主要問題点を整理分析し、また各分野の専門家の意見を伺い考察した。

C. 研究結果・考察

平成 15-16 年度において本研究班で、HBs 抗原及び風疹抗体に関して WHO 国際標準品に準拠した国内標準品が作製された。この標準品を基準とした感度表示の記載により、市販キットの品質に関して横断的な比較が可能となり、目的に応じた診断薬使用の選択の助けとなる。将来この標準品を国のスタンダードとして製造

業者内での標準品作製の際のものさしとなる
ことが期待されるが、この際 traceability,
communicability の確保についての国内での基準
が必要となる。

同時に、診断薬の感度と特異性を評価し、品質
を確保するためには非感染者由来の血清と
ともに多数の感染者の血清を組み合わせたパ
ネルが必要である。これまで、国内のパネルの
作製については一貫したシステムが構築され
ておらず困難を伴う。

この問題の解決の先駆けとして、風疹診断薬
に対応する血清パネルの整備が本研究班の事
業として行われ、既に成人 90 人から得られた
血清が採取された。今後進行する風疹抗体パ
ネル作製と整備の過程で基本となるシステムを
構築し、他のパネル血清の作製、整備、分与へ
のフローの基本型を作製することとなる。

作製された風疹抗体パネル血清の保存場所
には候補として感染研を考え管理と分与にあ
たっては的確で公平な実施が必要なことから、
厚生労働省審査管理課、感染研、大学、医療機
関、地方衛生研究所、日本臨床検査薬協会等か
らの複数の委員により構成される委員会方式
で分与依頼の審査と許可を行うことを考えて
いる。本システム維持のためには分与にかかる
費用を有償にする必要がある。

HBs 抗原、HCV 抗体、HIV 抗体体外診断医
薬用国内標準パネル血清作製については日本
での使用キットの種類や測定実施機関が多い
ことから、標準パネル作製には大量の血液
(200ml 程度)を必要とする。この実施には日本
赤十字社の協力が必要となる。

国際動向に則した標準品の整備と国内での

標準パネル血清確保は国内での横断的な品質
管理に役に立つばかりでなく、現行の依頼検査
のシステムをより合理的な方法に再構築する
ことにも貢献するであろう。我が国でのパネル
整備は日本での流行に対応した診断薬の品質
を保証するとともに、使用にあたって一定の基
準での相互比較が可能なことから、感度に関し
て使用目的に則した適切な選択が可能となる。
更に国内標準品とパネル血清の整備により現
行の申請毎の国の試験研究機関での依頼試験
の代わりに、整備された標準パネル血清を製造
業者へ配布し、自己点検を行いその成績を総合
機構と感染研の専門家が分析し評価するシス
テムも可能となる。更に実質的な診断作業は医
療機関、検査会社で行われることから、作業担
当の技術の維持とその管理においても標準パ
ネルの分与が考慮されなければならない。

更に長期的観点からの品質管理には、過去
12, 13 年に HBs 抗原、HCV 抗体診断薬キット
で実施されたように、3 年から 5 年毎の一斉点
検が必要とされる。

[謝 辞]

本研究において種々御助言をいただいた飯野
四郎先生、吉澤浩司先生、浅野喜造先生、庵原
俊昭先生、岡田賢司先生、海野幸子先生、多屋
馨子先生に感謝致します。

D. 結論

日本で使用される体外診断薬キットの品質管
理には国内で作製された標準品、標準パネル
血清が必要である。このシステム整備により現
行の依頼試験制度はより迅速で合理的なシス

テムに変わり得ると考えられる。

E. 健康危険情報

なし

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

なし

風疹抗体国内標準品候補の評価

| | | | |
|-------|------|----------|---------|
| 分担研究者 | 海野幸子 | 国立感染症研究所 | ウイルス第三部 |
| 協力研究者 | 堀内善信 | 国立感染症研究所 | 細菌第二部 |
| | 加藤宏幸 | 国立感染症研究所 | ウイルス第三部 |
| | 大槻紀之 | 国立感染症研究所 | ウイルス第三部 |

研究要旨

他施設に依頼して風疹 IgG 抗体用国内標準品の抗体価を EIA による平行線定量法と HI 試験法を用いて測定した結果、感染研と同等な値が得られ、昨年度算定した抗体価の妥当性が確認された。また、エンザイグノストとプラテリアの IgG キットを用いた平行線定量法による相対抗体価もデンカのそれに近い値となり、3 社のキットで、この方法による抗体測定が可能であった。平行線定量法は、感染後急性期、回復期そして既往歴のある血清のどの IgG 抗体にも応用可能であった。

A. 研究目的

国内標準品として利用される前に、抗体価が適切に算出されたか確認を要する。昨年度調製し、算定した風疹 IgG 抗体国内標準品 (JPN'03) の国際標準品に対する相対抗体価が妥当であるかどうかを判断するために他施設に抗体測定を依頼した。また、平行線定量法によって国際標準品に対する相対 IU 値を算出する方法の応用性についても検討した。

B. 研究方法

2つの施設に抗体価を告げずに JPN'03 の抗体測定を依頼した。測定方法として、昨年度実施したデンカのキットを用いた EIA 抗体価で平行線定量法による国際標準品に対する相対抗体価の算出と 1.2 倍階段希釈による HI 抗体価測定を実施した。また、エンザイグノスト及びプラテリアの EIA キットを用いた平行線定量法による相対抗体価を、デンカのキットによる結果と比較した。また、風疹感染

による発疹後 15 から 480 日の経時血清の IgG 抗体価を三種類のキットで測定し、キットの性能に違いがあるか調べた。これらの血清は、提供者に使用目的とその意義及び使用の際に血清の個人情報公開しないことを良く説明し、書面をもってその使用が承諾されたものである。

C. 研究結果

1. 2施設の測定結果は、EIA、HI のいずれの方法による結果も、昨年3回の試験成績の範囲にあり、感染研の結果と一致した。
2. エンザイグノストとプラテリア各キットを用いて平行線定量法で測定された JPN'03 の相対抗体価は、それぞれ 113 と 81 IU/ml となり、デンカのキットを用いた3回の試験の平均相対抗体価の 92.2 IU/ml と比べると、エンザイグノストではやや高くプラテリアではやや低かったが、両者の平行線の勾配はデンカと同じであった。両者の添付文書に従っ