

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15年度
～平成16年度

総合研究報告書

主任研究者 竹森 利忠

平成17年3月

目 次

I. 総合研究報告	
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	…………… 1
主任研究者： 竹森 利忠（感染研・免疫部）	
II. 研究成果の刊行に関する一覧表	…………… 21
III. 論文別刷	…………… 24

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. 風疹抗体測定キットの表示の統一に必要な国内 IgG 抗体標準品を作製し風疹抗体測定における国際単位(IU)表示導入が可能となった。
2. (本件に関して臨床家や疫学者を対象とした調査で、90-80%の調査対象者がパネル血清作製に期待することが明らかにされた。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. 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。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、風疹感受性者対策や感染既往の判定に EIA, LA 法が HI 法に交換性の高い有効な手段となることが示唆された。
4. HI 抗体測定法の品質管理の臨床的重要性を明らかにし、公的機関で行う必要性を示した。また IgM 抗体測定についても品質管理が不十分であるため、日常臨床において混乱が認められることが明らかにされ、品質管理に必要となる国内 IgM 抗体標準品候補を作製した。
5. 妊娠中の風疹初期感染は高率に先天性風疹症候群を招くことからその診断は重要な課題である。このため診断法の基準が検討され HI 抗体価とともに IgM 抗体測定と IgG 抗体親和性測定が有意義であることが明らかにされた。更に妊婦における風疹ウイルス遺伝子診断法の標準化が検討された。
6. 地方衛生研究所における風疹抗体測定の実施状況について調査し、今後検査を実施する地研がより減少する可能性が示唆された。

〔HBs 抗原についての研究〕

1. 新規 HBs 抗原 WHO 国際標準品の制定に参画し HBs 抗原リファレンスパネルの評価作業を行った。
2. 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。

3. HBV は遺伝的に 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。そこで市販の 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 までのリコンビナントウィルス作製システムを構築し、産生された各 genotype の標準品の抗原性を確認した。
4. 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、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。
5. 臨床経過での HBs 抗原検出系の感度をチンパンジーを用いた感染実験及び ALT 値、HBV DNA 量をそれぞれ比較した臨床診断例を検討し、HBs 抗原検査により HBV による感染成立を知ることができる時期は HBV DNA 検査より約 2 週以上遅いことが明らかにされた。従って HBs 抗原検査薬の高感度系の開発による「ウィンドー期」の短縮に限界があることが示唆された。
6. 近年、アフリカ・ヨーロッパ型の genotype A, HBV が急速に性感染を通して、日本全国に拡がりつつあり、成人感染においてキャリア化する可能性があることから、早急な対策が必要であることが明らかにされた。
7. 全国のナショナルセンター・国立病院・療養所における HBs 抗原検出試薬を用いた通常検査には 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ることが明らかにされた。

平成 15 年度

[分担研究者]

海野 幸子

(感染研・ウイルス第三部・室長)

水落 利明

(感染研・血液・安全性研究部・室長)

田代 真人

(感染研・ウイルス第三部・部長)

宮村 達男

(感染研・ウイルス第二部・部長)

浅野 喜造

(藤田保健衛生大・教授)

川名 尚

(帝京大医溝口病院・教授)

吉田 浩

(福島県立医大・教授)

丹野嵯喜子

(埼玉県衛生研・所長)

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]

庵原 俊昭

(国立病院機構三重病院・副院長)

河合 忠

(国際臨床病理センター・所長)

澤 倫太郎

((社)日本医師会・常任理事)

西島 英利

((社)日本医師会・常任理事)

干場 勉

(石川県立中央病院・産婦人科・部長)

島田 慎一

(埼玉県衛生研究所・ウイルス担当・主任)

岡田 賢司

(国立病院機構福岡病院・小児科・医長)

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・部長)

小室 勝利

(感染研・血液・安全性研究部・部長)

岡田 義昭

(感染研・血液・安全性研究部・室長)

岡部 信彦

(感染研・感染症情報センター・センター長)

多屋 馨子

(感染研・感染症情報センター室長)

佐藤 弘

(感染研・感染症情報センター研究員)

加藤 宏幸

(感染研・ウイルス第三部主任研究官)

堀内 善信

(感染研・細菌第二部・室長)

吉原なみ子

(感染研・エイズ研究センター・室長)

平成 16 年度

[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)

A. 研究目的

我が国での医療及び公衆衛生上重要な体外診断医薬品の適切な品質管理のためには、国際標準品に準拠した国内標準品の作製、感度の統一的な表示、医療での適切な使用に関わる情報の提供が必要とされる。

風疹に対する抗体保有の把握は疫学的に重要で、風疹に対する妊婦の急性感染の診断は、先天性風疹症候群(Congenital rubella syndrome: CRS(白内障、難聴、心臓奇形))の発生予測とその結果が妊娠継続を左右するという点で社会的影響が極めて大きい。これまで我が国では、風疹に対する免疫学的診断は、風疹ウイルス E1 タンパク質の赤血球凝集(HA)活性の抑制を測定する HI 抗体測定により行われてきたが、近年、ウイルス全構成タンパク質への抗体の結合を測定する酵素抗体法(EIA: enzyme-linked immunosorbent assay)が導入されている。しかし、これらのキットの感度はそれぞれ独自の表示が用いられ統一的な判断に困難な場合が多い。更に、従来の HI 抗体測定値と EIA 測定値との相関が明らかでなくこれらの問題を解決する必要が求められている。

また我が国においては、母子感染あるいは性感染を主要感染経路として全人口の約 1%が HBV (Hepatitis B Virus)キャリアであると推定され、B 型肝炎の迅速で適確な診断は医療および公衆衛生上重要である。現在 HBV キャリアの診断に関して、B 型肝炎ウイルス外被抗原(HBs 抗原: Hepatitis B surface Ag)の検出を目的とする体外診断用医薬品が多く用いられているが、これらのキットの感度も"IU" (international unit)と"ng"、さらには各社独自の"unit"などが混在し、品質管理や臨床での診断に改良が必要とされている。

本研究は風疹抗体及び HBs 抗原検査のための国際動向を踏まえた標準品整備についての

必要性を調査検討し、その実行のための基礎資料を作ることを目的とした。すなわち、我が国で市販される診断薬の品質管理の向上を図るために、風疹抗体、HBs 抗原診断キットにおける WHO の標準品に準拠する国内標準品を作製し、各キットの測定値及びその感度を一定の基準で表示するための基礎データを作製し、評価することを目的とした。

風疹については更に品質管理の向上を目的としてパネル整備を目的とした研究を行い、EIA と HI 抗体価の相関性を明確にして情報提供するための基礎データを作製すること、また IgM 抗体測定キットの品質管理についての研究調査も行った。

HBs 抗原検出キットの場合には、我が国で高頻度に存在する血清型、遺伝子型判定に対する診断薬の品質向上と国際動向の整合性について検討し、目的に対応した標準品の作製を行うことも目的とした。更に HBs 抗原検出キットの適切な使用についての基準を考察することも研究調査の対象とした。

これらの問題については、医療機関、地方衛生研究所、日本医師会、日本臨床検査医学会、日本ウイルス学会、日本臨床検査薬協会、体外診断用医薬品業界と連携し、各診断薬キットの使用状況を調査し現況を把握するとともに、国際動向を踏まえかつ、風疹と HBV 検査薬の国内での感度表記の標準化とそれに伴う品質管理について、実施の可能性と方策について研究調査することを目的とした。

HBs 抗原検出キットの品質管理に関する研究として以下の研究項目を計画した。

1. 医療機関、商業的検査機関におけるキットの使用状況、判定の際の疑問点、問題点の有無

について調査を行い学術的、臨床的な評価を行う。また国際動向を踏まえた感度表示の統一の実施について調査する。

2. WHO 国際標準品に準拠した HBs 抗原国内標準感度パネル(IU/ml 表記)を作成する。更に日本臨床検査薬協会の協力のもとに、国内標準感度パネル(IU/ml 表記)を用い国内で販売されるキットの感度を測定する。このパネルは同時に、今後各メーカーにおいて定期的実施されるキットの品質管理に使用されることを想定する。

3. 我が国で高頻度に存在する遺伝子型判定に対する診断薬の品質向上と国際動向の整合性について検討する。

4. HBs 抗原診断キットの適切な使用方法を検討する。

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. キットの使用状況の調査

医療機関、地方衛生研究所、商業的検査機関におけるキットの使用状況、判定の際の疑問点、問題点の有無について調査を行い、現状を把握する。

2. 国際動向を踏まえた感度表示統一に関する調査研究

WHO の国際標準品に準拠した国内標準品を作製する。風疹抗体陽性血清より IgG 及び IgM 抗体国内標準品を作製し、国際標準品に照らした平行線定量法により IgG-EIA における IU を求める。国際標準品及び国内標準品の IU と HI、NT、EIA 各抗体価の関係を明らかにする。

3. WHO の国際標準品に準拠した国内標準品抗体価

日本臨床検査薬協会の協力を得て、国内で販売されている各キットで測定し、キット間で得られる抗体価に違いがあるか状況を把握する。この国内標準品は同時に、各メーカーにおいて定期的実施されるキットの品質管理に使用されることを想定する。得られた結果をもとに、研究班での論議を踏まえ、関係各方面と連携し、現在市販されているキットの抗体価表示を IU に変更する可能性について研究調査する。

4. 国際動向を踏まえた異なった検出系における横断的な品質管理の確保

各社のキットにおける IgG-EIA 抗体価について IU 表示を行ない、さまざまな HI 抗体価と異なる性質の抗体を有するパネル血清を用いて、それぞれのキットにおける HI 抗体価と IU との相関性を明らかにする。

5. 現存する各キットの特性と性能の検討

自然感染後の時期の異なる血清やワクチン接種後の血清など EIA において抗原との結合性に違いが見られる抗体を用いることにより、各キットの特性とキット間の性能の違いを明らかにし、現状の各キットに於ける品質管理の把握を行なう。

6. 診断基準の検討

IgM 抗体の検出は妊婦の急性感染の診断に重要である。IgM 抗体の臨床的意義について、これまでに蓄積されている妊婦の抗体価と胎児への感染例のデータから、臨床現場での診断に役立つ基準を作成する。IgG 抗体に関しても、流行が減少した今、自然感染によるブースター効果を受け

ない時のワクチンによる抗体の持続性やその抗体の感染防御能について、これまでとは異なる状況が生まれている。急性感染の診断のみならず、CRSを防ぐために抗体価から何を指針として提起できるかを検討する。またこの研究領域の一部として風疹ウィルス遺伝子診断の実施基準と技術の標準化について研究調査する。

B. 研究方法

[風疹についての研究]

1. 風疹抗体検査の実施状況調査

平成15年度第37回臨床検査精度管理調査において、臨床検査室における風疹抗体検査の実施状況についてアンケート調査を行い日常検査に採用している測定法の内訳を明らかにした。

2. 風疹抗体価 IU 表示、パネル血清作製に対する意見調査

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。

3. 地方衛生研究所における風疹抗体測定に関する調査

デンカ生研(DS)、バイオラド(BD)、ピオメリュー(BM)、デイドベアリング(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

4. 国際標準品に準拠した国内標準品の作製と評価

WHOのRUBI-1-94(800 IU/ml)を用いた。EIA抗体価はデンカ生研キットを用いて測定し、Bioassay Assistの平行線定量法による解析からWHO標準品に対する相対抗体価を算定した。HI抗体価測定法はデンカ生研のHA抗原を用いて、感染症流行予測調査事業検査術式に従った。中和抗体は、2003年に分離された野外風疹ウイルスを用いてプラーク法で測定した。試験内及び試験毎の誤差を考慮するために、全ての抗体測定法で試料の独立した3希釈列を用い、繰り返し3回の試験結果を統計解析し、この結果国内標準品候補JPN'03を確立した。確立した国内標準品候補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を公開しないこ

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。

5. 風疹抗体測定標準パネル血清の作製と整備

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。

6. HI 法と他の試験法との比較検討

(1) 埼玉県衛生研究所において収集した血清 100 検体について赤血球凝集試験(HI)により風疹中和抗体価を測定した。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（日本ビオメリュー）により抗体価を測定した。

(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 HI 法で抗原にデンカ生研製の風疹 HA 抗原を使用し、更に EIA 法（Dade Behring：デンカ生研）及び LA 法（極東製薬）を用い、それぞれ添付文書に従って行った。

(3) 同意の得られた看護学生の血清 173 検体について HI 抗体価を SRL 社にて測定し、また ELISA 法デンカ生研キットを用いて IgM、IgG 抗体価を測定した。

7. 風疹初感染における抗体親和性測定の意義

風疹の初感染を疑われたために相談に訪れた妊婦 12 例を対象として、抗体測定については EIA 法（デンカ生研キット）を用い IgG 抗体、IgM 抗体、さらに Avidity Index(AI)を測定した。

AI は風疹 IgG 抗体測定キットに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 % で表示して表示した。また測定にあたり各検体の OD を 1~1.5 程度になるように希釈して用いた。

8. 風疹ウィルス遺伝子の診断技術と遺伝子の標準化

これまでに設定され PCR 診断法に従って行われている検査の臨床例について解析し、検査値と臨床経過を見直し、それぞれの診断基準を明らかにした。

[HBs 抗原についての研究]

1. 我が国での HBs 抗原検査キット使用状況の調査

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式で調査し、HBs 抗原検出キットが医療の実情と検査キットの特性を考慮して適正に採用されているか否かを調査した。

2. 海外における HBs 抗原検査キット使用状況の調査

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（ケニアでは検査費用）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。

3. 国際標準品の制定とこれに準拠した国内標準品の作製

新規 HBs 抗原 WHO 国際標準品の制定に参

画し HBs 抗原リファレンスパネルの評価作業を行った。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。

4. HBs 抗原 genotype 標準品の作製

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、genotype A 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。

5. HBs 抗原変異体の標準品の作製

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。

6. HBs 抗原検出の診断的意義

これまで得られているデータをもとに作製した B 型肝炎ウイルス (HBV) の急性感染の経過図を念頭に置き、HBs 抗原検出法を選択するにあたっての利害得失を考察した。またチンパンジーに 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。

7. HBs 抗原検出の臨床使用に関する検討

RPHA 法を用い HBs 抗原が陰性 (6 例) あるいは低値陽性 (2 例) と判定された検体について HBV DNA を PCR (Amplicor) 法、HBs 抗原をアーキテクト、アキシム、IMx 法で検査し、各症例の診断名、ALT 値、HBs 抗原・抗体、院内の RPHA および EIA 法による HBs 抗原の結果と比較検討した。また、3 例について HBs 抗原陰性化の過程を検討した。なお、保存検体は患者の了解を得た上で研究用として保存されているものを用いた。また 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。

C. 研究結果

[風疹についての研究]

1. 風疹抗体検出法に関するアンケート調査

(1) 81 人の臨床家、疫学専門家を対象としたア

ンケート調査で、感染確認に用いる抗体測定についてHI法使用者51%、EIA-IgG法使用者28%、HI法とEIA-IgG法併用者が21%であった。急性期診断での抗体測定についてはEIA-IgM抗体のみの測定が58%、EIA-IgM抗体とEIA-IgG抗体併用測定が26%、HI抗体とEIA-IgM抗体の同時測定が6%で、対象者の90%がEIA-IxgM法含めた方法で血清抗体を測定することが明かとなった。

(2) 臨床検査室風疹抗体検査実施施設のうち、赤血球凝集抑制反応(HI価)使用が69施設、IgG抗体・IgM抗体測定併用が32施設、HI価・IgG・IgM3法併用が14施設であり、HI価の測定を実施している施設が過半数を占めていた。半定量的測定法を実施している92施設のうち、特定のHI価用試薬キットを採用しているのは79施設と大部分を占めた。風疹IgG/IgM抗体検査実施施設についての回答では、特定のEIAキットの採用する偏りはないことが明かとなった。測定結果の判定について、「ペア血清によるHI抗体価の推移」と回答したのは7施設で、大部分が×4以上の変化があった場合に陽性と判定するとしている。シングル血清のHI抗体価で判定する施設は85施設で、そのうち76施設が陽性カットオフ値を×8としている。IgG/IgM抗体検査結果の判定についてはかなりばらついていることが明かとなった。

(3) 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実施している地研は31施設であった。一部では継続的に多検体の抗体測定を実施していたが、一方一般依頼検査実施地研のほとんどの施設では検体数が非常に少ないことが示唆された。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。

2. 風疹抗体測定法の品質管理に関するアンケート調査

(1) 風疹抗体測定を実施していた地研は全てがHI試験法を採用しており、3施設は酵素免疫測定法を併用していた。HI試験は特別な機器を必要とせずに多検体の同時測定実施が容易である反面、血清検体の前処理がやや煩雑であり、本試験の結果を得るまでに時間を要する。今回の調査では、より簡便な検査キットの開発を望む声が数ヶ所の地研から出された。

(2) 風疹抗体価のIU表示の導入に関してアンケート対象者81人のうち93%の者が賛意を示し、メーカーによりEIA表示方法が異なり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た。更に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78%の賛同があった。

3. 国際標準品に準拠した風疹抗体標準品作製と評価

抗体価表示の統一をはかることを目的に国際標準品に準拠した国内標準品候補を作製した。すなわち風疹の既往歴のあるヒト血清を集めてIgG抗体測定のための国内標準品候補(JPN'03)とし、風疹に自然感染した発症2週後の成人血清を集めてIgM抗体測定用国内標準品候補(IgM-JPN'03)を作製した。

JPN'03に関しては他施設にEIA、HAによる手法で測定を依頼し、これらの結果は感染研試験成績と近似することが明らかとなった。

4. 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。

5. HI 法と EIA、LA 法との試験結果の相関

埼玉衛生研究所で保管する HI 陽性血清検体(97 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例が認められた。

(1) 風疹抗体測定法相関性の検討

- ① 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。
- ② 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。

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。

9. 風疹抗体測定における臨床検討

IgM抗体が検出されたとして相談を求められた12例の妊婦について血清学的診断法を検討した。IgG抗体価は高値を示し、IgM抗体について4例は陽性、8例は陰性であった。陽性例についてAvidity Indexを求めたところ44.4%~77.9%と高い値に分布し、最近の感染とは考えられないと判断し、妊娠を続けた。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。いずれも出生時に臨床的・血清学的に検討したところ風疹の胎内感染はなかった。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。

10. IgM抗体測定法に関する品質管理

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。その結果、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から標準品による評価と統一化が必要であることが示唆された。

[HBs抗原についての研究]

1. 新規国際標準品候補の性状解析

WHO collaborative studyにおいて、新規HBs抗原国際標準品候補の性状解析及び適合性が検討された(Phase 1 study)。新規標準品から作製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否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、新規HBs抗原国際標準品(Phase 1 studyにより33IU/mlとされた)を用いて富士レビオ社の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。

2. HBs抗原検出キット利用に関するアンケート

外注および共同利用を除く105施設でのHBs抗原検出試薬採用状況は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。採用理由としては、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抗原検出試薬が同

一である施設数は60で、異なる施設より多数を占めた。緊急検査に用いるHBs抗原検出試薬の採用状況は、イムノクロマト法が81施設と多数を占め、採用理由として、測定機器が不要、手技簡便、短時間反応であった。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。

3. HBs抗原検出感度に関する臨床検討

HBs抗原とALTの関係について、慢性肝炎の1例を除いてALTが異常の例ではRPHA法でHBs抗原すべて検出された。HBV DNA量とHBs抗原の関係では、HBV DNA量が肝炎再発症の判定として問題となる 10^3 copies/ml以上の例ではRPHA法でHBs抗原はすべて陽性であった。RPHA法より100倍前後鋭敏である検出法すべて陽性である。従って日常的に問題となるHBVキャリアを拾い出すには、ほどほどの検出感度の検出法で十分であると臨床的には考えられた。

4. HBs抗体検出の限界についての検討

一般にHBV初感染の場合、一定の潜伏期間を経てまずHBs抗原が、次いでHBc抗体が末梢血中に検出され、HBs抗原が検出されなくなった後にHBs抗体が検出される。しかし、NATによりHBV DNAの検出を行い感染の経過を追うとHBs抗原の出現前からHBV DNAは検出される。HBs抗原の検査は下記の目的のために実施される。すなわち、①輸血用血液の安全性確保、②急性B型肝炎の診断、③HBVキャリアの発見(HBV母子感染予防の対象妊婦の選定、B型肝炎ウイルス検診によるHBVキャリアの発見)、④医療関係者の感染予防、⑤B型肝炎の自然経過の観察及び治療効果の判定。輸血用血液の安全性の確保を目的としたHBs抗原検査で

はNATによるバックアップ体制が軌道に乗っている現在では、徒に検出の感度のみを追求する必然性は無い。簡便、安価、迅速かつ特異性の高い現行の凝集法などが充分と考えられる。急性B型肝炎の診断を目的としてHBs抗原検査を行う場合、一般に急性B型肝炎の患者は肝炎の極期前後に医療機関を受診することが多い。受診時点ではHBs抗原量は多く、徒に検出感度のみを追求する必要はない。病期(経過)を判定するための情報が必要で定量性のある検査法を選択することが適切であろう。HBVキャリアの発見(HBV母子感染予防の対象妊婦の選定、B型肝炎ウイルス検診によるHBVキャリアの発見)を目的としてHBs抗原検査を行う場合、一般にHBVキャリアではHBs抗原量が多いことから、この場合も徒に検出感度のみを追求する必要はなく、特異性の高い検査法を優先して選択することが必要である。

D. 研究考察

本研究は風疹抗体及びHBs抗原検査のための国際動向を踏まえた標準品整備についての必要性を調査検討し、その実行のための基礎資料を作ることを目的とした。風疹については更に品質管理の向上を目的とした調査研究を行い、B型肝炎にあつては、目的に適した診断薬の使用を考察し、これらの問題について班会議でdiscussionが行われ、各班員、研究者間での共通認識が得られた。

[風疹抗体検査に関する研究]

1. 風疹抗体診断キットの利用状況及び抗体価IU表記に関するアンケート調査

風疹抗体診断キットの利用状況を臨床検査室(河合・澤・西島)、医師等(浅野・庵原)を対象に

調査した結果、いずれの分野においても半数以上が HI 価測定法、次いで IgG-EIA を用いた検査が多く行われていることが明らかにされた。これらの使用状況は産婦人科領域での風疹抗体診断が HI 価を標準としていること、また現行の医療保険制度(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)を反映しているものと思われる。

風疹抗体検査での測定結果の判定については、「ペア血清による HI 抗体価の推移」と回答したのは少数で、大部分が×4 以上の変化があった場合に陽性と判定するとしている。検査施設ではシングル血清の HI 抗体価で判定する施設は 85 施設と多く、うち 76 施設が陽性カットオフ値を×8 としている。一方、IgG/IgM 抗体検査結果の判定についてはかなりばらばらしていることが明らかとなり、施設間での技術や診断キットの精度の向上等今後改良の余地があることが示された(河合・澤・西島)。

2. WHO 国際標準品に準拠した国内風疹 IgG 抗体標準品の作製と品質管理への利用

多くの場合 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る。本班のアンケート調査によれば、この現実を背景に多くの調査対象者がメーカー間での異なった尺度を用いた EIA 表示方法の統一化や、HI 法との表示の互換性に期待して、風疹抗体価の IU 表示の導入に関しては賛意を示すことが明らかにされた(浅野・庵原)。これらの解決を目指し風疹 IgG 抗体測定キットに関して WHO 国際標準品に準拠した国内 IgG 抗体標準品が作製された(海野・加藤、堀内・田代)。今回作製された標準品について EIA, HI, 中和抗体価を測定し、WHO の国際

標準品に対する相対抗体価を算出すると、いずれの方法でも良く一致し、更に他施設に依頼してその抗体価を測定した結果、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。今後作製された標準品を用いて感度表示について規格化された品質管理が可能となり、また EIA、LA、HI 法の異なったアッセイにおいて、共通の抗体価(IU)表示も可能となった。

3. 風疹 IgM 抗体標準品の作製

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おらず、品質管理の向上が必要であることが明らかにされ(吉田)、一方臨床においても診断キットの品質管理の向上が必要となること、また IgM 抗体診断法の整備の必要性が明らかにされた(川名・干場、岡田)。そこで IgM 抗体測定キットの標準品候補も作製されたが、WHO の国際標準品はまだなく、参考資料として NIBSC で試験的に作製されている標準品との比較評価が残されている。

4. HI 法と EIA 法、LA 法との互換性について

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が検査費用が高い。また HI 抗体価 1:8 以下である場合、ワクチン接種を勧奨する目安となるが EIA 法では、IgG 価から感染防御に有効な中和抗体を保有しているか否か判断

が可能かは不明である。一方疫学調査のように多数の検体の測定を行う場合、EIA 法による測定が適しており、EIA 法による測定結果から感染防御抗体のレベルを推定することが可能であれば非常に有効な手段となりうる。

これらの問題を明らかにする目的で、HI 法と EIA 法との測定結果の相関について3つのグループが独立して検討した(丹野・島田、岡部・多屋・佐藤、川名・干場)。その結果、相互の測定方法の相関性は良く認められ、一致率及び陽性的中率ともに非常に高く、風疹の抗体測定法として各法に問題ないことが示唆された。しかし一方、HI 法及び EIA 法で得られた値は平均値では良く相関するものの、例えば ELISA 値 25 は HI 抗体値 32~512 倍と広く分布する結果も提示され、現時点では感染時期の推定に利用される HI 抗体値を ELISA 値で替えることは困難である可能性が示唆された。しかし測定対象者の値を検査すると HI 抗体 8 倍以下 5.2%に対し、ELISA 値 4 以下が 5.8%と大体一致し、また、HI 抗体値 16 倍以下での 8.0%に対し、ELISA 値 10 以下が 12.1%となることから感染感受性者やワクチン接種者のスクリーニングにおいて ELISA 法は有用であるとの合意が得られた。

5. 風疹抗体測定キットパネル血清の作製

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(庵原、浅野、岡田)。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感染研、地方衛生研究所、ウイルス学会、

日本臨床検査学会、医療機関、臨薬協などのメンバーによる委員会形式が計画されている。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。

6. 妊娠中の風疹感染評価技術の検討

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。

風疹ウイ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法を用いてウイルスの構造遺伝子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。

[HBs抗原検出に関する研究]

1. HBs抗原検出における国際標準品に基づく国内標準品の作製と品質管理への利用

HBs抗原検出法については、HBs抗原検出感度、及び定量性の有無等をよく理解した上で目的に適した検査法を利用することが望ましいことが明らかにされた(飯野、吉澤)。

目的に適した検査法の選択には各々の検査法の特性を共通の尺度で比較することが必要となる。これまでの標準尺度はng/mlとIU/mlの両者が利用されてきた。しかし、ng/mlの表示は標準品作製時のHBs抗原の精製度やHBs抗原粒子表面への抗体等の血清タンパクの付着度の違いにより、標準品のLotごとに差異が生じ得る可能性があること、またHBs抗原検出の精度は、HBs抗原活性を相対的に表す尺度であることが示唆され(吉澤)、今後は我が国においても国際標準に合わせた尺度(IU/ml)を利用できるシステムを確立することが望ましいことが確認された(吉澤、飯野、水落)。

この点に関連して、2004年にWHOが行ったcollaborative studyにより、新規HBs抗原国際標準品

(code 00/588)が制定され「IU」表記に統一すべきであるとの合意が得られた。この結果を受け1997年に当時のWHO国際標準品を基準にして値付けされたHBs抗原国内標準品について、今回制定された新規標準品との相関関係を検討した。この結果現存の標準品がWHO国際標準品に準拠した国内標準品として有効であることを確認した(水落)。この作業によりWHO新規HBs抗原国際標準品に準拠して国内で使用されているHBs抗原検出キットの最小検出感度の表記が「IU/ml」に統一されることが可能となった。

2. HBs抗原 genotype 及び変異体に対する標準品の作製

近年、アフリカ・ヨーロッパ型のHBV、genotypeAが急速に性感染を通して関東から日本全国に広がりつつあり、genotypeAは成人感染においてもキャリア化する可能性があることから、キャリア撲滅という観点に立てば早急な対策が必要であることが示唆された(飯野)。また種々の臨床的経過によりHBs抗原変異体が産生されること(飯野)を合わせて考えると、HBV変異ウイルスや異なったgenotypeに対する現行のHBs抗原検出診断薬の感度・特異性についての評価も必要とされる。HBVには現在AからHの8種類のgenotypeが報告されているが、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を評価する目的で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(岡田)。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発現する細胞株を用いて標準品の作製が可能となった。しかし現法で

は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
要が生じた。一方、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について、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(山口・水澤)。この結果、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。

3. 臨床的に必要となる HBs 抗原検出感度につ いての研究

105 施設の医療機関での HBs 抗原検出キット
の使用状況を調査すると(林)、通常検査では、拾
い出し精度が最も高いと信頼される EIA/発光法
が多数の施設において採用されていた。しかしこ
の選択には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。
緊急検査を目的とした検査試薬は、イムクロ
マト法の採用が大多数を占めていたが、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半数であった。

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(吉澤)。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 であり、
nested PCR あるいは Taq Man PCR の最小検出限
界を超えていることが明らかとなった。

更にこの知見に合致して、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
どないことが示唆された(飯野)。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。

これらの結果は 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。

E. 結論

風疹抗体測定検査、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の必要性
を調査、論議し認められた。風疹については
IgG、IgM 抗体測定のための国内標準品が作製
された。更に品質管理に関する臨床での問題点
が明らかにされるとともに風疹抗体診断キッ
トにおいては HI 法、EIA 法測定の相関性が検
討されある程度の一致が認められた。HBs 抗原
検出キットに関して、国内標準感度パネル作製
の準備が進められると同時に genotype 測定の
重要性が示されそのための標準品作製が試み

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) 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

(2) 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

(3) 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

(4) 庵原俊昭「望ましい接種時期と接種方法」小児科診療、11: 253-258, 2004

(5) 庵原俊昭、井上正和、柴田丈夫「三重県の麻疹疫学からみた麻疹ワクチン接種率向上対策」日本小児科医会会報、28: 157-160, 2004

(6) 庵原俊昭「世界からみた日本の予防接種—予防接種ガイドラインの改訂を受けて

—」モダンメディア別冊、50: 286-292, 2004

(7) 多屋馨子「風疹（三日ばしか）」家庭医学大全科株式会社法研、2699-2700, 2004

(8) 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

(9) 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

(10) 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

(11) 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

(12) 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

(13) 多屋馨子「わが国の風疹の現状と対策」LBEAM, 2004

(14) 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

(15) Moriya, K., Shintani, Y., Fujie, H., Miyoshi, H., Tatsumi, T., Yotsuyanagi, H., Iino, S., Kimura, S., Koike, K. Serum lipid profile of patients with genotype 1b hepatitis C viral infection in Japan. *Hepatol. Res.* 25: 371-376, 2003

(16) Okuse, C., Yotsuyanagi, H., Okazaki, T., Yasuda, K., Fujioka, T., Tomoe, M., Hashizume, K., Hayashi, T., Suzuki, M., Iwabuchi, S., Nagai, T., Iino, S. Detection, using a novel method, of a high prevalence of cryoglobulinemia in persistent hepatitis C virus infection. *Hepatol. Res.* 27: 18-22, 2003

(17) Okamoto N, Yotsuyanagi H, Ooka S, Iino S, et al: Autoantibodies to CD69 in Patients with