

表3 RT-PCRにより検出されたインフルエンザウイルスの型(亜型)
 (3部位全て採取された23人について検討)

ウイルス型 (亜型)	鼻甲介	鼻咽頭	中咽頭	合計
A/H1N1	0	0	0	0
A/H3N2	8	8	8	24
B	10	10	10	30
A/H1N1 + B	1	1	1	3
A/H3N2 + B	3	3	3	9
陰性(-)	1	1	1	3
合計	23	23	23	69

単純ヘルペスウイルス抗体測定上の問題点

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

研究要旨

単純ヘルペスウイルス抗体測定に現在最も頻繁に用いられている補体結合法は感度・特異度などに問題が多く、ELISA 法に移行するほうがよい。ELISA 法に HSV-1 抗原を用いた場合、やや低くなるが HSV-2 抗体も検出されるので大きな問題とはならない。

A. 研究目的

単純ヘルペスウイルス(HSV)の血清診断の最終目標は、HSV 感染を 1 型と 2 型に分けて型特異的に感染の有無を判断することである。このような観点から現在用いられている方法とその問題点を示す。

(1) 補体結合法(CF)

a) 感度が低い。b) 水痘と交差する。c) 抗補体性のある血清では判定ができない。d) 型特異的ではない。

(2) 中和法(NT)

a) 方法論(用いる HSV の株や量)が統一されていないため施設毎に結果が異なる。b) 型特異的ではない。

(3) 蛍光抗体法(FA)

a) 目視による判定であるため客観性に乏しい。
b) 非特異反応がある。c) 型特異的でない。

(4) ELISA 法(EIA)

a) 用いている HSV が 1 型であるため 2 型抗体の検出感度が低い可能性がある。b) 型特異的でない。
c) 保険適用がない。

現在、臨床で用いられている方法について現況を調査した。

以上 4 つの方法について、感度・特異度・検査手順の利便性を考慮すると ELISA 法が現時点では最良と考えられる。ただ、前述のような問題点が危惧されているので検討を行なった。

B. 研究方法

(1) 7 商業機関へのアンケートによる現況の把握。
(2) 抗原として HSV-2 を用いることにより HSV-2 抗体をより感度をあげられる可能性がある。そのため HSV-1 または HSV-2 を抗原として用いた ELISA 法における検出感度を検討した。

a) 血清：HSV を分離して性器ヘルペスと診断した。HSV-1 感染 11 症例、HSV-2 感染 42 症例から得た 53 検体。b) 用いる抗原により検出感度が異なるかをみるために HSV-1(HF 株) 又は HSV-2(196 株)を Vero 細胞に感染させて作成した抗原をマイクロプレートに固定して抗体検出プレートを作成した。これに検体を反応させた後 IgG 抗体を検出する酵素抗体検出系を作成した。
c) 検体の抗 HSV-1、抗 HSV-2 型特異抗体を HerpeSelect 1 or 2(Focus 社)を測定した。

(3) CF 試験における抗体価と抗補体活性について単純ヘルペスウイルス CF 抗原「生研」(データ生研)を用いて検討した。

C. 研究結果

(1) アンケート結果

a) 医師からの測定依頼の最も多いのが CF で次いで NT,FA の順である。b) CF による抗補体活性による判定不能が時々ある。c) NT に用いるウイルス：HSV-1 又は HF,VR-3,ウイルス量 100,1000TC₁₀₅₀。HSV-2 は uw268, MS,ウイルス量は 100 又は 1000TC₁₀₅₀。補体を入れるもの

と入れないもので抗体価を出している。d) FA : HSV-1 感染細胞,非特異反応時にみられている。

e) ELISA 法による免疫グロブリン別抗体測定法を行なっている。臨床的有用性は高いと判断しており保険適用を強く望んでいる。f) 型特異抗体の測定は一商業検査機関のみ行なっている。

(2) a) HSV-1 感染血清:HSV-1 プレートと HSV-2 プレートで 11 検体のうち陽性は双方とも 9 検体、陰性は 2 検体で乖離はなかった。ただ抗体値は HSV-2 プレートでは HSV-1 プレートをを用いた時のほぼ 3 分の 2 であった。b) HSV-2 感染血清 : 42 検体のうち 40 検体が陽性となり、陽性と陰性の判定では HSV-1 プレートと HSV-2 プレートで乖離はなかった。抗体値でみると HSV-1 プレートの値と HSV-2 プレートの値がほぼ同じか HSV-2 がやや高いグループと HSV-2 プレートをを用いた時の値は HSV-1 プレートのその HSV-1 プレートのその 3 分の 2 のグループに分かれた。型特異的抗体をみると前者は HSV-2 のみ、後者は HSV-1 と HSV-2 の重感染例であった。EIA 法で陰性となった 2 例は初感染例であった。

(3) 今回の検体では 53 検体全てが陽性となったが、7 検体(13.2%)が抗補体性のため判定不能であった。

D. 考察

商業機関を通じてのアンケート結果で前述のように感度・特異度・抗補体作用などの問題があるにも拘らず、CF 法が最も多用されていることが判明した。その理由は保険で行なえるためと思われる。今回の検討でも抗補体の判定ができない例が 13%にみられている。NT 法も方法論の統一がないことも判明した。ELISA 法に対する強い要請のあることも判明した。そこで ELISA 法について検討を主に行なった。ELISA 法は用いる抗原が HSV-1 の場合 HSV-2 抗体の検出感度が低い可能性が考えられ、HSV-2 抗原を用いたプレートを

作成して検討したが、今回の検討では抗体値はやや低いものの HSV-1 プレートで 2 型抗体は検出されることが判った。また、HSV-2 プレートをを用いても大きな相異はなく従来から用いられている HSV-1 を抗原とするものでよいと判断した。また、HSV-1,HSV-2 感染例でそれぞれ 2 例ずつ抗体が検出されていないが、これらは感染初期のため IgM 抗体が陽性であったが IgG 抗体がまだ産生させていない時期のものと考えていて陰性であったことは止むを得ない。現在、型特異抗体の測定は保険では行なえないが、世界的には型特異抗体の臨床的意義が認められており本邦でも可能になることが望まれる。

E. 結論

現在、最も頻繁に用いられている CF には問題が多く、今後は感度・特異度に優れ免疫グロブリン別に抗体を測定できる ELISA 法に移行すべきと思われる。ELISA 法で HSV-1 抗原を用いたプレートでも HSV-2 抗体は検出できることが判明した。

(F. 健康危険情報

単純ヘルペスウイルス抗体の測定に最も頻繁に用いられている CF 法には感度・特異度抗補体作用のある血清の存在など多くの問題があり誤診を招いている。単純ヘルペスウイルス感染には著効を示す抗ウイルス薬があるので検査による誤診は避けるべきである。)

F. 研究発表

1. 論文発表

1) 川名 尚

新感染症学 下 —新時代の基礎・臨床研究—
感染症学総論 II.感染症法分類—発症・病態・診断・治療—五類感染症(定点把握) 担当部分:性器ヘルペスウイルス感染症 65(3):331-338;2007.

2. 学会発表

1) 川名 尚 :

「性器ヘルペスの診断と妊婦の管理について」

福岡市 STD 研究会学術講演会

2007年5月25日,福岡

2) 西澤美香、川名 尚 :

「新しい単純ヘルペスウイルス型特異抗体キット Captia HSV の評価」

第48回日本臨床ウイルス学会

2007年6月3日,富山

3) 川名 尚、西澤美香、西井 修、白木公康 :

「アミノ酸を一部欠失した HSV-2 株について」

第20回日本性感染症学会学術大会

2007年12月2日,東京

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. 実用案

なし

3. その他

なし

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)
分担研究者報告書

風疹ウイルス遺伝子診断技術の検討

分担研究者：駒瀬勝啓¹

協力研究者：岡本貴世子¹、大槻紀之¹、田代真人¹、庵原俊昭²

¹国立感染症研究所、²国立病院機構三重病院

研究要旨

風疹感染の診断は血清中の IgM、IgG 抗体価の計測が主であるが、血清採取時期によっては必ずしも正しい結果が得られない。ウイルス抗原あるいはウイルス遺伝子の検出との併用がより風疹診断の正確度を向上させる。また、妊娠初期の感染は先天性風疹症候群(CRS)を持つ子供を産む可能性を高めることが知られており、風疹流行時には墮胎が増加する。羊水等から風疹ウイルスゲノム検出は、CRS の出生前診断としての評価は必ずしも定まっていないが、行政検査依頼はしばしばあり、その意味でもゲノム検出法の検討は重要である。一方、風疹ウイルスの RNA ゲノムは変化しやすい事もあり、現在の「病原体検出マニュアル」にある風疹ゲノム検出法の有効性を検証する必要がある。そこで、過去約 30 年間に日本で流行し分離されたウイルス、約 20 株の遺伝子解析を行ない、現行の病原体検出マニュアルにおける RT-PCR 法の有効性を検証した。これらの情報からより感度の高い風疹診断の環境を整える事を本研究の目的としている。

研究目的

妊娠早期に風疹ウイルスに感染すると出生児にしばしば先天性風疹症候群 (CRS) をもたらす事が知られている。風疹はワクチンで予防可能疾患と考えられており、2006 年からは麻疹風疹混合ワクチンの 2 回接種が始まり予防接種率の向上とともに流行の減少が期待されている。また、麻疹と共に風疹の排除をめざして 2008 年 1 月からは全数報告疾患とした。日本が属する WHO、WPRO 地区でも 2012 年までに麻疹、風疹の排除を目標としており、排除がなされた事を確認するために実験室診断が要求されている。風疹感染の実験室診断は IgM 抗体検出によるものが国際的に認められているが、血清採取の時期や再感染例、さらに一部に見られる持続性の IgM の存在などで必ずしも確度の高い診断法とはいえない

い。ウイルスの存在を証明するための RT-PCR 法によるウイルスゲノム検出法は「病原体検出マニュアル」に記載されているが風疹ゲノムの情報は十分ではなく、その有効性は検証されていない。また、同方法では風疹ウイルスのトレースに必要な、ウイルスゲノムによる genotype 解析に十分な領域がカバーされていない。本研究は、感度の高い風疹ウイルスゲノム検出法による診断法を確立する事を目的としている。

方法:

1970 年代? 2007 年までに分離された風疹ウイルス、19 株の E1 領域の遺伝子配列を決定し、また、過去に報告されている日本のワクチン株 (高橋、T0-336、松浦、松葉、TCRB19) ならびにその親株 (TCRB 株を

のぞく)、94年、01年、02年、03年、04年に分離された株、計16株とともに遺伝子配列を比較し、病原体検出マニュアルに記載されているRT-PCR法の8つのprimerの有効性を検証した。又、これらの株でNJ法により系統樹解析を行い、日本における風疹ウイルス genotype の変遷を解析した。

研究結果：

- 1976年、77年、79年、81年、82年、83年、86年、93年、94年、97年、2007年に分離された風疹ウイルス計19株のE1領域の塩基配列を新たに決定した。
- 「病原体検出マニュアル」には nested RT-PCR で増幅できる2つの領域（計 primer 数8つ）が記載されているが、すべての primer 配列内には、検討したいずれかの株で変異があり、株間で検出感度が異なると予想された。また、primer C の3'末端配列が異なる株が一株あり、この株ではウイルスゲノムの検出が不可能であった。この株は clade 2 genotype 2B に属しており、海外で感染したと考えられる患者に由来していた。海外で報告されている clade 2 に属する株でも同様に primer C の3'末端配列に一致しない株がみられた。
- 日本での流行株は10? 20年毎に風疹ウイルスの Genotype が変化していた。

考察：

ウイルスゲノムの検出による風疹感染の確認は、コマースラボでは行われておらず、血清による診断ほど一般化されていない。しかし、血清による診断より感度がすぐれている点、ウイルスの排出期間が発疹の発症の時期とほぼ一致していることで適

切な時期の検体の採取が比較的容易である点、またWHOではウイルスの遺伝子型でウイルスの移動をトレースする事を風疹の排除に向けての情報として重視している点、さらに評価は定まっていないがCRSの出生前診断の判断材料として利用できる可能性もある点などから、感度のいいウイルスゲノムの検出法の確立は重要である。また一本鎖RNAウイルスであることからゲノムの変異が大きい事が知られている。これらの事情を踏まえて、病原体検出マニュアルにあるRT-PCR法を検証し、必要ならば改良、改訂をする必要がある。本年度は日本で過去に分離されたウイルスの遺伝子配列を検討した。これらから病原体検出マニュアルにあるRT-PCR法に用いるすべての primer 配列内で変異が見つかり、反応条件によっては検出されない可能性が示された。またプライマーの3'末端配列に変異がある株があり、現行法では検出不可能なウイルスの存在が示された。これらの情報を踏まえて、今後はより風疹ウイルス遺伝子をより検出できる方法を目指す予定である。

一方、60年代の後半から2007年までに日本で分離された風疹ウイルスの遺伝子を解析し、その変遷を追ったところ、60年代後半から80年代前半までは主に genotype 1a, 1B のウイルスが、80年代後半から90年代中盤までは 1E, 1D のウイルスが、90年代後半から2000年代前半は 1j のウイルスが主流であった。日本では過去において約5年の周期で流行が発生しており、2-3回の流行でウイルスの genotype の変化がおこると考えられた。

結論：

病原体検出マニュアルに記載されているRT-PCR法では検出出来ないウイルスの存在が明らかになり、

新たな方法を検討していく必要がある。

健康危険情報：なし

1. 研究発表

1) 論文発表

- Haga T, Murayama N, Shimizu Y, Saito A, Sakamoto T, Morita T, Komase K, Nakayama T, Uchida K, Katayama T, Shinohara A, Koshimoto C, Sato H, Miyata H, Katahira K, Goto Y. Analysis of antibody response by temperature-sensitive measles vaccine strain in the cotton rat model. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2008 Feb 2.
- Momose, F., Kikuchi, Y., Komase, K., and Morikawa, Y., Visualization of micro-tubule-mediated transport of influenza viral progeny ribonucleoprotein. *Microbes Infect.* 2007 Oct;9(12-13): 1422-33.
- Fujino, M., Yoshida, N., Kimura, K., Zhou, J., Motegi, Y., Komase, K., Nakayama, T. Development of a new neutralization test for measles virus. *J Virol Methods*, 2007 142(1-2): 15-20.
- 駒瀬勝啓, 麻疹と麻疹ウイルス、診療研究、431: 10-16.

2) 学会発表：

- 海野幸子、大槻紀之、庵原俊昭、浅野喜造、岡田賢司、田代真人、駒瀬勝啓、風疹パネル血清候補の評価：中和抗体価に関して、第48回日本臨床ウイルス学会、2007.6.2-3、富山
- 樋口彰、駒瀬勝啓、中山哲夫、SSPE(亜急性硬化性全脳炎)ウイルスの細胞融合能の解析、第55回日本ウイルス学会 2007.10.21-23, 札幌
- 二宮健吾、中山哲夫、駒瀬勝啓、竹内薫、永田恭介、ムンプスウイルス星野株のリバースジェネテ

ックス系構築、第55回日本ウイルス学会 2007.10.21-23, 札幌

- 澤田成史、駒瀬勝啓、中山哲夫、RSウイルスの外殻蛋白を発現するキメラ麻疹ウイルスの作製、第55回日本ウイルス学会 2007.10.21-23, 札幌
- 坂田真史、駒瀬勝啓、中山哲夫、弱毒風疹生ワクチンKRT株が示す温度感受性を担うゲノム領域の同定、第55回日本ウイルス学会 2007.10.21-23, 札幌
- 百瀬文隆、菊池雄士、駒瀬勝啓、森川裕子、新規抗インフルエンザウイルス NP モノクローナル抗体によるウイルス RNP 複合体の可視化、第55回日本ウイルス学会 2007.10.21-23、札幌
- 大橋喬、菊池雄士、駒瀬勝啓、百瀬文隆、森川裕子、H5N1型高病原性鳥インフルエンザウイルス HA に結合する中和モノクローナル抗体のエピトープ解析、第55回日本ウイルス学会 2007.10.21-23、札幌
- 佐藤弘、多屋馨子、駒瀬勝啓、田代真人、岡部信彦、我が国における麻疹及び風疹に対する抗体保有状況(2006年度感染症流行予測調査より)、第11回日本ワクチン学会学術集会、2007.12.8-9、横浜
- 大槻紀之、田代真人、駒瀬勝啓、風しんワクチン株の全塩基配列の決定とワクチン品質管理への応用、第11回日本ワクチン学会学術集会、2007.12.8-9、横浜

2. 知的財産権の出願・登録状況(予定をふくむ)

- 1) 特許；特になし
- 2) 実用新案登録；なし
- 3) その他；なし

風疹抗体測定上の問題点と標準血清に関する研究

分担研究者 庵原俊昭 国立病院機構三重病院院長
研究協力者 二井立恵 白子クリニック小児科院長
菅谷亜弓 白子クリニック産婦人科医長

研究要旨

本邦の風疹対策の課題の一つは、妊娠可能年齢者の風疹抗体弱陽性者対策である。本邦で測定されている風疹抗体測定方法の互換性を明らかにするために、R・HI法、予研法で風疹 HI 抗体を、EIA法で風疹 EIA 抗体価を測定した。R・HI法は予研法と比較すると、弱陽性血清の HI 抗体価が低く判定されたが、予研法にて HI 抗体 16 倍の血清を標準血清に加えて血球凝集の判定を行うと、R・HI法と予研法の結果はよく一致した。また、風疹 HI 抗体価と EIA 抗体価の相関は高く、風疹 HI 抗体陽性閾値 8 倍は EIA 抗体陽性閾値 2.0EIA 価に、弱陽性閾値 HI 抗体 16 倍は EIA 抗体 4.0EIA 価に相当し、両者の弱陽性血清の測定閾値はよく一致した。今回の検討から、コマーシャルラボでの風疹抗体測定標準化を図るために、HI 抗体 16 倍の弱陽性血清を含むパネル血清の作成と提供が重要と思われた。

A.研究目的

風疹対策で重要な課題の一つは、先天性風疹症候群(CRS)児出生予防である。風疹発症予防閾値は 10IU/ml と示されているが、感染予防閾値の検討は不十分である。また、世界保健機構(WHO)はウイルスに対する血清抗体の標準化を目指しており、風疹抗体も国際単位(IU/ml)で表示されている。しかし、本邦では風疹の抗体表示は、赤血球凝集抑制(HI)法では倍、酵素免疫(EIA)法では EIA 価、ラテックス凝集(LA)法では IU/ml で表示され、抗体価の互換性が不明確である。HI法でもガチヨウ赤血球を用いる方法(予研法)と、乾燥ニワトリ赤血球を用いる R・HI法とがあり、この間の互換性についても十分に再検討されておらず、医療現場に混乱を招いている。風疹抗体の国際単位との互換性、測定方法の標準化を図るために、今年度は、R・HI法と予研法の互換性、および HI法(予研法)と EIA法との互換性について検討を行った。

B.研究方法

研究の目的を説明し、同意を得た人から血清を採取した。風疹血清 HI 抗体価は、コマーシャルラボに R・HI法および予研法での測定を依頼した。また、風疹 EIA 抗体価もコマーシャルラボに測定を依頼した。

C.研究結果

1)R・HI法と予研法の HI 抗体価の相関

R・HI法で測定した HI 抗体価と予研法で測定した HI 抗体価を比較すると、R・HI<8 倍の一致率は 92%(35/38)と高く、陰性の判定には大きな差を認めなかったが、8 倍の一致率 18%(6/34)、16 倍の一致率 18%(20/114)と、弱陽性血清の一致率は低率であった。R・HI法と比較し、予研法で 2 管以上の高値を示したのは、R・HI法 8 倍では 26%(9/34)、16 倍では 30%(34/114)であり、予研法と比較し、R・HI法では抗体価は低く判定されていた(表 1)。

予研法で測定された HI 抗体 16 倍血清を、R・HI法測定キットに添付されている標準血清(陰性血清、HI 抗体 64 倍血清)に加え、血球凝集判定の指標として使用し、低血清抗体価

22 サンプルを R・HI 法と予研法で測定した。陰性血清 4 検体の測定結果は一致し、また、すべての風疹抗体弱陽性血清 16 検体の抗体価は 1 管以内の測定誤差範囲内に治まった。

2) HI 抗体 (予研法) と EIA 抗体の抗体価の相関

126 検体の HI 抗体価 (2^n) と EIA 抗体価 (2^n) を比較すると、両抗体価間には $R=0.9551(P<0.0001)$ と有意の相関が認められ (相関直線: $Y=0.88X-2.29$, $X: \log_2$ HI 抗体価, $Y: \log_2$ EIA 抗体価)、2.0EIA 価は HI 抗体 8 倍、4.0EIA 価は HI 抗体 16 倍に相当すると推計された。また、成人血清 100 検体を用いた検討では、HI 抗体 8 倍未満の陰性者数と EIA 抗体 2EIA 価未満の陰性者数、HI 抗体 32 倍未満の弱陽性者数と EIA 抗体 8EIA 価未満の弱陽性者数はよく一致していた (表 2)。なお、抗体価の分布を見ると、抗体価が中等度および高値の血清では、HI 法と比較し、EIA 法では有意に低くなることが認められた ($P=0.0168$)。

D. 考察

風疹対策で重要な課題の一つは、CRS 児出生予防である。風疹発症予防閾値は 10IU/ml と示されているが、感染予防閾値の検討は不十分であり、現在産婦人科学会は、CRS 児出生予防を目指し、HI 抗体 16 倍以下の風疹抗体弱陽性褥婦に風疹ワクチン接種を勧めている。

今回の検討で、R・HI 法で測定された HI 抗体価は、スタンダードとされる予研法で測定された HI 抗体価よりも低めに判定されることが示された。また、予研法で測定した HI 抗体 16 倍の弱陽性血清を、キットに添付されている標準血清 (陰性血清と HI 抗体価 64 倍血清) に加え、血球凝集を判定すると、R・HI 法で測定した HI 抗体価と予研法で測定した HI 抗体価の一致率が改善された。

以上の結果は、R・HI 法で HI 抗体を測定する場合は、添付されている標準血清に HI 抗体 16 倍の弱陽性血清を加えて測定すると、弱陽性の抗体価が適切に判定されことを示している。風疹 HI 抗体測定の標準化を図るために、

HI 抗体 16 倍の血清を含むパネル血清を作成し、コマーシャルラボに提供することが、風疹 HI 抗体測定の標準化を図るために大切な対策と思われた。

本邦では風疹の抗体表示は、赤血球凝集抑制 (HI) 法では倍、酵素免疫 (EIA) 法では EIA 価、ラテックス凝集 (LA) 法では IU/ml で表示されている。今回の検討では、HI 抗体と EIA 抗体はよく相関し、陰性閾値および弱陽性閾値はよく一致していたが、中等度以上の抗体価の血清では、HI 法に比べ EIA 法では低く表示されることが示された。

今後、風疹 HI 抗体および EIA 抗体の国際単位表示基準の作成、風疹 HI 抗体、EIA 抗体、LA 抗体の互換性の検討、風疹抗体価の発症予防閾値および感染予防閾値の検討、更には麻疹における NT 法、EIA 法、PA 法の互換性および国際単位表示について検討を行う予定である。

E. 結論

風疹 HI 抗体測定上の問題点を示し、その解決法を明らかにした。また、風疹 HI 抗体価と EIA 抗体価の相関が高いことを明らかにし、風疹陽性閾値 HI 抗体 8 倍は EIA 抗体陽性閾値 2.0EIA 価と、風疹 HI 抗体 16 倍は EIA 抗体 4.0EIA 価に相当することを確認した。

G. 研究発表

1. 論文発表

庵原俊昭：ウイルス検査法とその評価。SRL 宝函、別冊 s4-s16, 2007

二井立恵、庵原俊昭、他：健康成人女性における風疹抗体価と低抗体陽性者に対するワクチン接種の検討。三重県小児科医会会報 74:23-33, 2007

庵原俊昭：予防接種をめぐる問題。小児科診療 70:2121-2123, 2007

H. 知的財産権の出願・登録状況

特記することなし。

(表1) 予研法と R-HI 法による HI 抗体の比較

予研法	R-HI 法			
	<8倍	8倍	16倍	合計
64倍			34	34
32倍		9	59	68
16倍	1	17	20	38
8倍	2	6	1	9
<8倍	35	2		37

(表2) 風疹 HI 抗体と EIA 抗体の分布

HI (2 ⁿ)	抗体価								
	<3	3	4	5	6	7	8	9	
EIA	<2	2<4	4<8	8<16	16<32	32<64	64<128	128<256	
人数	HI	6	1	11	14	13	25	20	10
	EIA	6	1	12	21	25	17	15	2

P=0.0168 (マンホイットニ検定)

麻疹の血清抗体測定法の諸問題と標準化に関する検討

分担研究者 沼崎 啓 国立感染症研究所 ウイルス第三部 室長
研究協力者 堤 裕幸 札幌医科大学医学部 小児科 教授
研究協力者 齊藤義弘 東京慈恵会医科大学 小児科 助手
研究協力者 浅沼秀臣 苫小牧市立病院 小児科 医長

研究要旨

麻疹の全数報告では実験室的診断の重要性が再認識されている。麻疹の血清診断における各検査法間の感度と特異性について比較した。HI法はNT法との比較でも感度と特異性が低値であった。また感染直後の高PA抗体価の血清においてはNT抗体価との相関が認められた。麻疹の実験室内診断法の確立においては今後さらに血清診断法の標準化と精度管理が必要と考えられる。

A. 研究目的

麻疹の全数報告ではウイルス分離、ゲノム検出、特異的血清IgM抗体の検出、急性期と回復期のペア血清でのIgG抗体の有意な上昇の確認などによる実験室的診断の重要性が再認識されている。血清抗体測定には、赤血球凝集抑制(HI)法、中和試験(NT)法、ゼラチン粒子凝集(PA)法、酵素抗体(EIA)法などがある。これらの検査法の確立、標準化に関しては多くの課題が指摘され早急な対応が必要である。

B. 研究方法

血清抗体測定法のうち、HI法は感染研、病原体検出マニュアルに準拠した。

EIA(IgG,IgM)法はデンカ生研およびDade Behring社製、PA法は富士レビオ社製キットを用いて実施した。EIAに関してはWHO/WPRO地区の19施設においてパネル血清の評価を行った。NT法に関してはB95aのみならずVero/hSLAM細胞で麻疹野生株およ

びEdmonston株の異なる遺伝子型の麻疹ウイルスを用いたブラック減少法およびCPE抑制法による試験の確立も検討した。また、HI、NT、EIA(IgM、IgG)、PA法の各検査法間の感度と特異性について比較した。

(倫理面への配慮)

実験室内診断に関する手技が主体であり、倫理面での配慮は必要としなかった。

C. 研究結果

現行のEIAキットを使用してもWHO/WPRO地区の19施設でのパネル血清を用いた特異的血清IgM抗体測定成績に有意な差異は認められなかった。Vero/hSLAM細胞でブラック減少法を用いたNT法は従来のCPEを用いた方法と比較しても再現性、客観性が良好であった。HI法ではEIA IgGの強陽性例でも陰性例が存在した。HI法はNT法との比較でも感度と特異性が低値であった。感染直後の高PA抗体価の血清においてはNT抗体価との相関が認められた。PA抗体価のみが高値を持続するこ

ともあり、PAはEIAよりも感度、特異性ともに低値であった。

D. 考察

世界レベルでの麻疹抑制対策の実現には実験室的確証に基づくサーベイランス・システムの構築が不可欠である。わが国においても全数報告を踏まえた検査の必須化が必要とされる。NT法は感染防御能を反映するとされるが、現状では多数の検体処理は困難な状況にある。HI、CF、PA各法では感度と特異性のみならず、手技上の問題点も明らかになった。EIA法では国際的標準化、統一化は可能なものと判断された。

E. 結論

麻疹の実験室内診断法の確立においては今後さらに血清診断法の標準化と精度管理が必要と考えられる。

F. 健康危険情報

特に関連性は認められない。

G. 研究発表

1. 論文発表

Numazaki K. Current problems of measles control in Japan and western pacific region. *Vaccine* 2007, 25: 3101-3104.

2. 学会発表

Numazaki K. Current strategies of measles elimination in western pacific region. 5th World Congress of the World Society for Pediatric Infectious Diseases, Bangkok, Thailand, November 15-18, 2007.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他
現在までのところ特記すべきこと無し

百日せき抗体価測定試薬評価用標準参照血清並びにパネル血清作成による評価の標準化に関する研究

分担研究者 岡田賢司（国立病院機構福岡病院）
協力研究者 中臣康雄、小澤賢介（デンカ生研株）、
ウイルス検査技術連絡会

研究要旨

百日せき抗体価測定試薬の評価方法の標準化を図ることを目的とし、百日せき患者由来の一次参照血清並びに百日せき菌主要凝集因子に対する特異ウサギ抗血清を作成した。今回作成した血清を用い、現行の百日せき凝集素価測定試薬に対する反応性について評価を行ったところ、各血清は複数の試薬ロットに対して各々一定の凝集価を示した。今後、ウェスタンブロット法によりそれら血清の反応性を解析するとともに二次パネル血清を作成し、百日せき抗体価測定試薬の評価法の標準化を目指す。

A. 研究目的

現在、百日せき感染症の血清学的診断に使用されている凝集素価測定試薬の標準的な評価方法が確立されていない。本研究では、百日せき凝集素価測定用体外診断薬の性能評価並びに品質管理に資する国内参照血清並びにパネル血清を作成し、百日せき抗体価測定用キット評価方法の標準化並びに体外診断試薬安定供給を図ることを目的とする。

B. 研究方法

①百日せき患者由来一次参照血清の作成：福岡病院において百日せき患者由来の血清2検体について、ウイルス技術連絡会会員研究協力施設（株SRL、株BML、株北里大塚バイオメディカル研究所、株保健科学研究所、デンカ生研株）において百日せき凝集反応用抗原「生研」を用いて抗体価のサーベイランスを行い、同検体の凝集価を設定した。
②百日せき菌主要凝集因子特異抗体の作成：百日せき菌 353/Z 株（凝集因子：1, 7）をウサギに免疫し、得られた血清から百日せきⅢ東浜株（抗原因子：7, 13）に対する反応性を吸収除去して抗原因子1に対するウサギ血清を作成した。同様に5373株（山口株、抗原因子：1, 3, 6, 7, 13）を免疫して得た血清から5375株（東浜株、抗原因子：1, 2, 4, 7, 13）に対する反応性を吸収除去して抗原因子3及び6に対するウサギ血清を、5375株（東浜株）を免疫して得た血清から5373株（山口株）に対する反応性を吸収除去して抗原因子2及び4に対するウサギ血清を作成した。得られた各凝集因子特異ウサギ抗血清の反応性について、百日せき凝集反応用抗原「生研」山口株及び同東浜株に対する反応性を評価した。複数ロットの百日せき凝集反応用試薬に対する反応性を比較し、同血清を用いた品質評価の可能性について検討した。

C. 研究結果

①百日せき患者血清 2検体No. 1及びNo. 2の研究協力施設における山口株及び同東浜株に対する凝集素価は、No. 1血清は山口株/1:640～1:1280、東浜株/1:

:640～1:1280、No. 2血清は山口株/1:1:80～1:160、東浜株/1:40～1:80を示した。最頻値から一次参照血清No. 1の凝集素価を山口株/1:1280±1管、東浜株/1:1280±1管、No. 2の凝集素価を山口株/1:160±1管、東浜株/1:80±1管と設定した。

上記一次参照血清を用いて百日せき凝集反応用抗原「生研」山口株 5ロットの反応性を評価した。血清No. 1は1:640～1:1280、血清No. 2は1:80～1:160と一定の凝集価を示した。

②百日せき菌 353/Z 株を免疫し、交差抗原で吸収して作成した抗因子1（東浜株・山口株共通因子）ウサギ抗血清の山口株と東浜株に対する凝集価は各々1:3200と1:6400を示した。ほぼ同等の力価が認められたことから共通因子1に対する反応と考えられた。抗因子2, 4血清は山口株（因子:1, 3, 6, 7, 13）では1:6、東浜株（因子:1, 2, 4, 7, 13）では1:9600を示し、山口株に対する反応性がほぼ消失していることから東浜株の因子2, 4に対する特異抗血清と考えられた。抗因子3, 6抗血清は山口株1:3840、東浜株<1:6の凝集価を示し、東浜株に対する反応が消失していることから山口株の因子3, 6に対する特異抗血清と考えられた。上記の各因子特異抗血清を用いて百日せき凝集反応用抗原「生研」山口株5ロットの反応性を評価したところ、抗因子1血清は1:1600～1:3200、抗因子2, 4血清は1:6～1:12及び抗因子3, 6血清は1:1920～1:3840と一定の凝集価を示した。

D. 考察

今回一次参照血清として設定した2つの百日せき患者由来血清（No1およびNo2）は、百日せき凝集反応用抗原「生研」山口株5ロットでの反応は、何れの血清によっても一定の凝集価が得られ、評価指標として有用と考えられた。

また、百日せき菌株を用いて作成した主要各凝集因子に対するウサギ特異抗血清による試薬5ロットの評価では、何れの血清によっても一定の凝集価が得られた。標準参照血清による凝集価と各因子特異

ウサギ血清による凝集価のパターンを試薬ロット間で比較評価することにより、試薬の評価指標になる可能性が示唆された。

今後、これらの血清を用いて試薬ロット間差の評価を行う。さらにウェスタンブロット法によるウサギ特異抗血清とヒト患者血清の反応パターンを比較し、凝集価に影響する主要因子以外の因子の検索、評価用の2次パネル血清の作成を行う。

E. 結論

百日せき患者由来の標準参照血清並びに百日せき菌主要凝集因子に対する特異ウサギ抗血清を作成し、複数ロットの凝集素価測定試薬に対する反応性について評価した。複数ロットに対して一定の凝集価を示し、今回作成した各血清は試薬評価用として有用と考えられた。今後さらに解析をすすめ、試薬評価法の標準化を目指す。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 岡田 賢司 「ジフテリア・破傷風・百日咳ワクチン」日本医師会雑誌135(10):2185-2189, 2007
- 2) 岡田 賢司 「変貌する百日咳と進む世界の対策」小児科臨床別冊60:2007-2008, 2007

2. 学会発表

なし

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. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

A型肝炎ウイルス体外診断薬の再評価

分担研究者 大西 和夫 国立感染症研究所・免疫部

[研究要旨] 本研究では HAV 抗体検出キットの再評価のための基盤整備を目的として HAV 抗体陽性の国内血清パネルを作製する。急性 A 型肝炎の国内発生報告数は近年急激に減少しており、将来的に国内血清パネルの作製が非常に困難になると予想され、現時点でパネル作製のための体制整備と実際のパネル作製を行うことが必要である。国立感染症研究所医学倫理審査委員会の承認を受けて抗 HAV 抗体陽性血清を収集するシステムを構築し、インフォームド・コンセントの上で患者血清を収集する。これに基づき、滋賀県で発生した HAV 集団感染における抗 HAV-IgM 陽性血清 12 検体を迅速に収集することができた。しかし、滋賀の事例以後、HAV 集団感染は発生していない。低頻度で散発する HAV 感染例報告に基づいて国内患者血清を収集するためのネットワーク構築を進めている。また、IgG 型抗 HAV 抗体陽性国内血清の収集に関して、日赤献血検体のうち ALT 落ちの血清 (50 歳以上) をスクリーニングした結果、これを用いた血清パネル作製が可能であると考えられた。

A. 研究目的

急性 A 型肝炎は A 型肝炎ウイルス (HAV) 感染による疾患で、2-7 週間の潜伏期間の後一過性の急性肝炎症状を起こす。HAV は糞口感染によって伝播するため、その発生状況は衛生環境に左右される。日本では 50 歳以下での抗体陽性者は極めて少なく、大規模な集団発生はみられないが、飲食店を介した感染や海外渡航者の感染がみられることから、急性 A 型肝炎の感染予防対策は社会的に重要な問題として認識されている。本研究の目的は、A 型肝炎ウイルス感染を診断する体外診断薬の性能を再評価するための試験に必要な、抗 HAV 抗体陽性国内血清パネルを整備することであり、これにより、メーカーが製造した A 型肝炎ウイルス感染診断のためのキットの品質を担保することができる。

国内における急性 A 型肝炎の 2005 年の発生報告数は 171 例で、2000 年の 381 例、2001 年の 491 例と較べると急激な減少傾向にあり、HAV 抗体陽性血清の確保が非常に困難になってきている。本研究では、インフォームド・コンセントの上 HAV 抗体陽性血清の提供を受け、可能であれば 100 検体程度を収集するとともにその品質を管理して、HAV 抗体国内血清パネルの整備を行う。

B. 研究方法

抗 HAV 抗体検出体外診断薬の再評価に必要な、抗 HAV 抗体陽性血清 (特に IgM 型抗 HAV 抗体陽性血清) パネルを整備するために、現況で月 10 例程度散発する HAV 発症例について血清検体を収集するシステムを作る。研究期間内に、具体的に以下のごとく血清パネル整備を進める。

(I) 血清を収集するシステムの構築：抗 HAV 抗体陽性国内血清パネルを整備するために、(イ) HAV 集団感染などが起きた時点で自治体担当部署および主治医に協力を要請し、患者血清の収集を行う。(ロ) 事前に肝炎専門医に協力を依頼し、低頻度で散発する急性 A 型肝炎発症例のあった場合、即時に検体の提供を受けることができる体制を構築する。(ハ) 上記急性期の IgM 型抗 HAV 抗体陽性血清に加えて、感染後長期間持続する IgG 型の抗 HAV 抗体が陽性の血清について、献血血漿を用いたパネル作製を試みる。(ニ) 国外の抗 HAV 抗体陽性血清についても、収集体制構築を目指す。

(II) 血清の収集：インフォームド・コンセントの上、血清を収集する。

(III) 血清パネルの作製：血清検体は連結不可能匿名化し、抗体価を測定するとともに品質を管理した上で血清パネルの作製に使用する。

(倫理面への配慮)

インフォームド・コンセントの上収集する抗 HAV 抗体陽性血清は連結不可能匿名化され、年

年齢・性別・臨床経過のみが国立感染症研究所に提供される。いずれの血清についても提供者の遺伝子情報等について調べることはない。国立感染症研究所医学倫理審査委員会の承認を受けて実施する。

C. 研究結果

(I) 血清を収集するシステムの構築：

HAV 抗体陽性国内血清を収集するにあたり、最も重要なインフォームドコンセントの取り扱いに関して、上記、研究方法の項に記した計画を、国立感染症研究所・医学倫理審査委員会に申請し、承認を受けた。

この承認事項に基づき、i)インフォームド・コンセントの上収集する抗体陽性血清は連結不可能匿名化し、抗HAV抗体価を測定する試験に使用するのみであり、他の目的には使用しない、ii)血液の採取は、診断時もしくは主治医の判断で20ミリリットル以下1回のみ提供を受ける、等の制限を設け、実際に血清検体の収集を以下のように行った。

(イ)HAV 集団感染の事例：2006年7月末に滋賀県米原市で起きた HAV 集団感染に際し、インフォームド・コンセントの上、患者血清の収集を行った。収集できた患者血清は12検体で、IgM 型抗HAV抗体は1例の判定保留例を除きすべて陽性であった(図1)。

番号	性別	年齢	アキシム HA-M・ダイナパック Total-HAV抗体 (EIA, %Inh) 判定		アキシム HA-M・ダイナパック IgM-HA抗体 (EIA, Index) 判定	
1	女性	44歳	96	+	4.6	+
2	男性	62歳	97	+	1.0	+/-
3	女性	57歳	96	+	4.8	+
4	女性	50歳	96	+	4.6	+
5	女性	61歳	96	+	4.8	+
6	女性	40歳	97	+	4.5	+
7	女性	72歳	95	+	4.5	+
8	女性	42歳	95	+	4.0	+
9	女性	56歳	96	+	3.9	+
10	男性	54歳	96	+	4.1	+
11	男性	44歳	96	+	4.5	+
12	男性	44歳	96	+	4.4	+

* 1.20: +
0.80-1.20: 判定保留

また、この判定保留例を含む全例で、IgG, IgA型を含むトータルの抗HAV抗体価が陽性と判定された(図1)。これらの検体は血清パネル作製に適する。各血清検体の量は2-10mL程度であった。

(ロ)低頻度で散発する急性A型肝炎発症例に対応するための体制作り；事前に肝炎専門医に協力を依頼し、発症例のあった場合、即時に検体の提供を受けることができるネットワークを構築するため、現在、複数の医療機関に協力を打診中である。この過程で、過去に別目的で採取された患者血清が保存されている例が

多いことがわかった。

ハ) IgG 型の抗HAV抗体陽性血清のパネル作成について、献血血漿を用いたパネル作製を試みた。日赤の協力を仰ぎ、ALT 高値(61 IU以上)のため不適格となった献血血漿のうち、50歳以上の検体についてIgG型抗HAV抗体価スクリーニングにより、パネルを作製する準備を進めている。60検体を予備スクリーニングした結果、14検体が抗HAV抗体陽性であり(陽性率23%)、参考文献(1)で予測される値と一致した。今後、さらにスクリーニングを続け、新鮮凍結血漿(FFP)の分与を日赤に依頼し、抗体価を測定するとともに品質を管理した上で血清パネルの作製に使用する予定である。

D. 考察

近年、急性A型肝炎の報告数は激減しており、体外診断薬承認前検査に必要な国内血清を確保することが急速に困難になってきている。本研究では、このような状況下でHAV抗体陽性血清を収集すべく、その体制作りを進めている。

まず、新規患者からの、インフォームド・コンセントをふまえた国内血清収集計画については、問題なく国立感染症研究所・医学倫理審査委員会承認を受けた。

滋賀県米原市で発生したHAV集団感染に際して、上記委員会によって承認されたプロトコルに従って患者血清を収集し、12検体のHAV抗体陽性血清を成功裏に集めることができた。この成果については、滋賀県庁健康福祉部、長浜保健所ならびに主治医のご協力に負うところが大きかった。今後、HAV集団感染の発生に際して行動する場合、自治体担当部局の同意・協力が欠かせない点に留意する。

この滋賀県の事例以降、HAV集団感染の報告はない。2007年のA型肝炎報告数は151例あるが、非常に低頻度、散発的な発生で、これに対応する体制を作るのは非常に難しい。ただ、肝炎専門医に依頼してネットワークを作る過程で明らかになったことは、医療機関によっては、別目的で採取された急性A型肝炎患者血清を保管しており、本研究に提供可能であるとの申し出を受けた例があった。このような、外部機関において別目的で採取された試料の提供を受ける場合、検体採取時にどのようなインフォームドコンセントをとっていたかが重要となる。今後、「インフォームド・コンセントの簡略化等に関する細則」などを検討し、解決策を検討する。

日赤の協力を仰ぎ、不適格となった献血血漿

から IgG 型抗 HAV 陽性血清パネルを作製する準備を進めており、プレスクリーニングの結果、パネルの作成が可能であると判断できた。今後、抗体価を測定するとともに品質を管理した上で血清パネルの作製を進める予定である。

E. 結 論

A 型肝炎ウイルス体外診断薬の承認前試験に必要な、抗 HAV 抗体陽性国内血清の収集計画を策定して国立感染症研究所・医学倫理審査委員会の承認を受けた。これに基づき、滋賀県で発生した集団感染における抗 HAV-IgM 陽性血清 12 検体を成功裏に収集することができた。しかし、滋賀の事例以後、HAV 集団感染は発生していない。低頻度で散発する HAV 感染の国内患者血清を収集するためのネットワークの構築を進めている。IgG 型抗 HAV 抗体陽性国内血清の収集に関して、日赤献血検体のうち ALT 落ちの血清（50 歳以上）によるパネル作製の準備を行った。

F. 健康危険情報 とくになし。

(参考文献)

Kiyohara T, Sato T, Totsuka A, Miyamura T, Ito T, Yoneyama T. 'Shifting seroepidemiology of hepatitis A in Japan, 1973-2003.' *Microbiol Immunol.* 2007;51(2):185-91.

G. 研究発表

1. 論文発表
なし。

2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし

2. 実用新案登録
なし

厚生労働科学研究助成金 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
ウイルス感染症の体外診断薬の再評価に関する基盤整備に関する研究
分担研究報告書
体外診断薬の評価パネル作製に関する国際的動向

分担研究者： 水澤左衛子 国立感染症研究所 血液・安全性研究部 主任研究官
分担研究者： 巽 正志 国立感染症研究所 エイズ研究センター 室長
分担研究者： 鈴木哲郎 国立感染症研究所 ウイルス第二部 室長

〔研究要旨〕

NIBSC が主催する SoGAT 会議（2007年6月）において、WHO の「血液の安全性に関する体外診断薬のための標準品整備5カ年計画」が報告された。世界の疫学的動向や測定技術の進歩を鑑みて、主に HCV、HBV 並びに HIV の国際標準品や国際参照パネルを2009年までに整備するとともに、細菌や原虫を含む10種類以上の病原体に関する標準品の整備が検討されている。イギリスでは NIBSC が UK Clinical Virology Network 及び Health Protection Agency と協力して、臨床検査所にランコントロールを提供して体外診断薬の標準化をはかるプログラムの取り組みをはじめた。合衆国では FDA/CBER が供血者スクリーニングと血漿分画製剤の原料プールの核酸増幅試験のための HIV-1、HBV、HCV 並びに WNV のパネルを交付しており、HIV-2 パネルと HIV-1 CRF パネルを作製中である。WHO 及びイギリスと合衆国においてはウイルス等感染症検査法の評価基盤として標準品やパネル等の整備が推進されていることが明らかになった。

A. 目的

病原体の遺伝子型等の分布、新型や突然変異の出現、国内外の感染症の発生状況等の疫学的動向や新しい測定機器や測定方法の登場による試験法の進歩によって、現在使用されているウイルス等感染症の体外診断薬の中には承認から年月が経って現状に合わなくなっているキットもありうることから体外診断薬の再評価が求められている。本研究班ではその基盤となる国内標準品や標準パネルを整備することを目的の一つとして掲げている。国内標準品は国際標準品に準拠して作製し、国際単位（IU）表示するのが原則である。また、標準パネルは国内及び世界的な疫学的動と測定技術の進歩

を十分考慮して作製する必要がある。本分担研究において今年度は標準品等の整備に関する海外の動向を把握することを目的とする。

B. 研究方法

2007年6月に NIBSC が主催した SoGAT 会議における報告からの中から、WHO による体外診断薬のための標準品整備5カ年計画とイギリス及び米国における標準品等の整備状況についての要点を報告する。

C. 結果

1. 体外診断薬のための標準品整備5カ年計画（WHO）

WHO は国際標準品 (IS)、参照品、国際参照パネル等の各種標準品を作製して配布している。2007年1月、WHO Collaborating Centers (WHO CCs)であるイギリス NIBSC、米国 CBER、ドイツ PEI が会議を開き、世界の疫学的動向と技術の進歩に照らして WHO 参照品の現状を見直し、「血液の安全性に関する体外診断薬のための標準品整備5カ年計画」を提案した。HCV、HVB、HIV の NAT と抗原・抗体の標準品の整備と輸血による感染が問題となっている Anti-*T. cruzi* パネル作製を優先課題として取り上げ、2009年までに HCV RNA IS (3rd)、Anti-HBs IS (2nd)、HIV-1 gt パネル (2nd) の更新と、未整備だった Anti-HCV パネル、Anti-HBc IS、HBV gt パネル、HIV-2 RNA IS、Anti-*T. cruzi* パネルの作製を完了する予定である (表1)。これらの参照品の候補品は使用目的を熟慮して作られている。たとえば、Anti-HBc IS 候補品は①臨床における最低濃度の検出感度の決定を目的として anti-HBc 弱陽性、HBV-DNA 陽性で輸血で感染した血漿のプールを原料に製造したものと②診断薬のバッチごとの感度精度管理を目的として anti-HBc 強陽性、anti-HBs 陽性の血漿を原料に製造したものの2種類が用意されている。また、HBV genotype パネルは同一の材料からウイルス粒子と20nm フィラメントの画分を精製してそれぞれを HBV-NAT と HBsAg のパネルにする予定である。これに続いて、anti-HTLV-1/2 パネルと anti-*Plasmodium* species antibody パネルが提案中であり、細菌や原虫を含む他多数の感染症に関する標準品が検討の対象としてあげられた (表2)。

SoGAT 会議は血液のウイルス学的な安全性に関する会議として NIBSC が毎年開催してきたが、NAT の導入によって目的がある程度達

成されたことと、「輸血に関連する体外診断薬のための標準品整備5カ年計画 (WHO)」の提案を受けて、隔年に開催する輸血の安全性に関する会議と毎年開催する体外診断薬に関する会議の2本立で運営することになった。

2. 米国：血液の安全性のための NAT パネル (FDA/CBRE)

供血者スクリーニング、2004年 FDA ガイドラインに基づく血漿分画製剤の原料の NAT として承認を受けた試験法のロットリリースのために HIV-1、HBV、HCV 並びに WNV のパネルを交付している。HIV-2 パネルは作製済みであり、HIV-1 の CRF 02 AG や CRF 01AE 等最近出現した主な組換え変異のパネルを準備中である。今後、Dengue を含むいくつかのパネル作製を計画している。

3. イギリス：ウイルスの体外診断薬のための NAT ランコントロール (NIBSC)

NIBSC は UK Clinical Virology Network 及び Health Protection Agency と協力して、臨床検査所にランコントロールを提供して体外診断薬の標準化を行うプログラムを推進のためにランコントロール作製中である。次のパネルの候補品を参加者に配布済みである：Influenza A (H1N1,H3N2), Influenza B, Herpes simplex virus (HSV-1,& HSV-2), Cytomegalovirus, Norovirus GII。その他、臨床検体ごと (たとえば CSF, Transplant, Eye swab 等)のパネル作製を検討している。

D. 考察

WHO 及び欧米諸国においてはウイルス等感染症検査法の評価基盤として標準品やパネル等の整備が計画的に推進されていることが明

らかになった。わが国においても血液の安全性に関連した HCV, HBV 並びに HIV に関しては anti-HBs, HBsAg, 及び HCV, HBV, HIV の 3 つのウイルスの NAT 国内標準品が作製されている。今まで、体外診断薬の評価を目的としたパネルは交付されてこなかった。近年、体外診断薬の承認申請に国内検体のパネルを用いた試験成績の提出が求められるようになったが、国内検体の入手が困難なことから、承認手続きを迅速に行うために標準パネルの交付が求められるようになった。そこで、国立感染症研究所が日本赤十字社の協力をえて国内献血血液を用いて HIV-1 抗原/抗体標準パネルを作製した。パネルの数量に限りがあることから、国立感染症研究所体外診断薬委員会においてパネル交付手続きを整備中である。同様に HBsAg パネル、Anti-HCV パネルを準備中である。

WHO の体外診断薬のための標準品整備 5 カ年計画に基づいて 2009 年までに実施される国際標準品と国際参照パネルの共同研究の計画が示された。既に、国立感染症研究所は HCV RNA IS (3rd)、Anti-HBs IS (2nd)、及び Anti-HBc IS の共同研究に参加してきた。今後実施される共同研究に関係者は計画的に参加して貢献するとともに情報を交換して国内標

準品や標準パネル作製に反映させることが望まれる。

E. 結論

WHO は「血液の安全性に関する体外診断薬のための標準品整備 5 カ年計画」を 2007 年に開始した。日本の関係者は WHO の共同研究に計画的に参加して貢献するとともに情報を交換して国内標準品や標準パネル作製に反映させることが望まれる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし。

2. 学会発表

Saeko Mizusawa, Yoshiaki Okada.

Establishment of National Standards for NAT Blood Viruses and NAT Proficiency Study Program in Japan. SoGAT XX In Warsaw, Poland June 2007

H. 知的財産の出願・登録状況

なし