

200940011A

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

# 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

(H19-医薬-一般-013)

平成21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 小林 和 夫

平成22 (2010) 年 3 月

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

# 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

(H19－医薬－一般－013)

平成21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 小林 和 夫

平成22 (2010) 年 3 月

## 目 次

|  |    |
|--|----|
| <b>I. 総括研究報告書</b>  |    |
| ウイルス感染症の体外診断薬の再評価に関する<br>基盤整備に関する研究<br>小林 和夫               | 1  |
| <b>II. 分担研究報告書</b>   |    |
| ELISA法による単純ヘルペスウイルスIgG、IgM抗体の<br>評価と問題点<br>川名 尚            | 9  |
| インフルエンザ迅速診断キットに関する検討<br>多屋 馨子                              | 13 |
| 風疹IgG国内標準血清と風疹パネル血清の評価<br>岡本 貴世子                           | 17 |
| 風疹・麻疹抗体測定法の標準化に関する研究：<br>抗体測定方法の互換性と感染予防レベルの検討<br>庵原 俊昭    | 19 |
| A型肝炎ウイルス体外診断薬の再評価に関する研究<br>大西 和夫                           | 27 |
| 百日咳凝集素価法における凝集反応用抗原の改良<br>蒲地 一成                            | 31 |
| 百日せき抗体価測定試薬評価用標準参照血清<br>並びにパネル血清作製による評価の標準化に関する研究<br>岡田 賢司 | 35 |
| 体外診断薬の評価パネル作製に関する国際的動向<br>水澤 左衛子                           | 39 |
| <b>III. 研究成果の刊行に関する一覧表</b>                                 | 43 |
| <b>IV. 研究成果の刊行物・別刷</b>                                     | 45 |

# I. 総括研究報告書

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)  
総括研究報告書

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  
(H19-医薬-一般-013)

|       |        |                            |
|-------|--------|----------------------------|
| 研究代表者 | 小林 和夫  | (国立感染症研究所・免疫部・部長)          |
| 研究分担者 | 川名 尚   | (帝京大学医学部附属溝口病院・産婦人科・客員教授)  |
| 研究分担者 | 多屋 馨子  | (国立感染症研究所・感染症情報センター・室長)    |
| 研究分担者 | 岡本 貴世子 | (国立感染症研究所・ウイルス第三部・研究員)     |
| 研究分担者 | 庵原 俊昭  | (国立病院機構三重病院・院長)            |
| 研究分担者 | 大西 和夫  | (国立感染症研究所・免疫部・主任研究官)       |
| 研究分担者 | 蒲地 一成  | (国立感染症研究所・細菌第二部・室長)        |
| 研究分担者 | 岡田 賢司  | (国立病院機構福岡病院・統括診療部・部長)      |
| 研究分担者 | 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) |

**研究要旨**

当該研究はウイルス感染症等体外診断薬の臨床医学領域における問題点を抽出し、国内標準品や標準パネルを整備して体外診断薬の再評価に基盤を提供し、臨床<→>基礎医学領域の双方向的橋渡し研究を推進することを目的としている。性器ヘルペスウイルス感染症（感染症の予防及び感染症患者に対する医療に関する法律、5類定点把握感染症）、インフルエンザ（新型インフルエンザ等感染症、5類定点）、風疹（5類全数）、麻疹（5類全数）、A型肝炎（4類）、加えて、細菌感染症である百日咳（5類定点）を研究対象感染症とした。を研究対象感染症とした。また、横断的課題として、体外診断薬の再評価に用いる基盤整備に関し、国際動向の把握、さらに、体外診断薬の精度管理に資する標準パネルの管理及び譲渡申請に関する審査等の事項を適正かつ円滑に実施するため、「国立感染症研究所認定国内標準パネル運営委員会」（規程を含む）を設置し、体制を整備した。

**A. 研究目的**

ウイルス感染症等体外診断薬の臨床医学領域における問題点を抽出し、国内標準品や標準パネルを整備して体外診断薬の再評価に基盤を提供し、臨床<→>基礎医学領域の双方向的橋渡し研究を推進することを目的としている。性器ヘルペスウイルス感染症（感染症の予防及び感染症患者に対する医療に関する法律、5類定点把握感染症）、インフルエンザ（新型インフルエンザ等感染症、5類定点）、風疹（5類全数）、麻疹

（5類全数）、A型肝炎（4類）、加えて、細菌感染症である百日咳（5類定点）を研究対象感染症とした。

また、横断的課題として、体外診断薬の再評価に用いる基盤整備に関し、国際動向の把握、さらに、体外診断薬の精度管理に資する標準パネルの管理及び譲渡申請に関する審査等の事項を適正かつ円滑に実施するため、「国立感染症研究所認定国内標準パネル運営委員会」（規程を含む）を設置し、体制を整備した。



|       |   |
|-------|---|
| 担当者   | 研究課題  |
| 小林 和夫 | 研究の総括   |
| 川名 尚  | 単純ヘルペスウイルス抗体測定法の再評価   |
| 多屋 馨子 | インフルエンザウイルス体外診断薬の再評価  |
| 岡本貴世子 | 風疹ウイルス遺伝子診断技術の改良の検討   |
| 庵原 俊昭 | 風疹・麻疹抗体測定標準化  |
| 大西 和夫 | A型肝炎ウイルス体外診断薬の再評価   |
| 蒲池 一成 | 百日咳体外診断薬の再評価  |
| 岡田 賢司 | 臨床研究・協力体制の整備：<br>百日咳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製による評価の標準化に関する研究 |
| 水澤左衛子 | 体外診断薬の再評価に用いる基盤整備の研究-体外診断薬の評価パネル作製に関する国際的動向-                  |

### 1. ELISA 法による単純ヘルペスウイルス IgG、IgM 抗体の評価と問題点

2006 年に保険収載された酵素抗体法 (ELISA) による単純ヘルペスウイルス (HSV、HHV) に対す血清 IgM 抗体と IgG 抗体測定キットについてその精度と臨床的評価について検討することを目的とした。

### 2. インフルエンザ迅速診断キットに関する検討

2009 年に発生した、パンデミックインフルエンザ (A/H1N1pdm) 2009 は、国内発生当初、全国の地方衛生研究所および国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センターで全例にウイルス遺伝子の検出が実施された。その後患者数の増加に伴い、臨床診断あるいは、迅速診断キットでの検査診断が中心となり、迅速診断キットの感度が話題になった。季節性インフルエンザウイルスの免疫クロマトグラフィーによる迅速診断キットを用いて、A/H1N1pdm ウイルス粒子を供試し、キットの性能比較することを目的とした。

### 3. 風疹 IgG 国内標準血清と風疹パネル血

### 清の評価

風疹抗体測定用の体外診断薬キットの表示法の統一化や感度の評価、さらに、臨床検査施設の精度管理等に資するため、1) 風疹 IgG 国内標準血清の制定、2) 風疹標準パネル血清、整備、評価を目的とした。

### 4. 風疹・麻疹抗体測定法の標準化に関する研究

本邦で頻用されている風疹の抗体測定方法である赤血球凝集抑制法 (HI)、ラテックス凝集法 (LA)、酵素免疫法 (EIA) と、麻疹の抗体測定方法である中和法 (NT)、粒子凝集法 (PA)、EIA の互換性と国際単位への変換方法について検討し、同時に各測定方法の発症予防・感染予防レベルについて検討した。また、MR ワクチン接種前後の抗体価の動きから、今回提唱する感染予防レベルの適切性についても検討した。

### 5. A 型肝炎ウイルス体外診断薬の再評価に関する研究

A 型肝炎ウイルス (HAV) に対する免疫応答、すなわち、体外診断薬に使用される単クローン抗体と HAV 抗原の特性および品質管理の評価手法を確立し、現行の診断薬の再評価を進めることを目的とする。

### 6. 百日咳凝集素価法における凝集反応用抗原の改良

百日咳の血清診断に用いられる菌凝集素価法について、診断精度の向上を目的に凝集反応用抗原の改良を試みた。

### 7. 百日咳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製による評価の標準化に関する研究

百日咳凝集素価抗体測定用体外診断薬の性能評価並びに品質管理に使用する国内参照血清並びにパネル血清を整備し、百日咳抗体価測定用キット評価方法の標準化並びに体外診断薬の安定供給を図ることが、及び新規 EIA 測定試薬を構築することが目的である。

### 8. 体外診断薬の評価パネル作製に関する国際的動向

世界保健機関 (WHO) や諸外国における体外診断薬のための標準品や標準パネルの整備に関する動向を把握することを目的と

する。

## B. 研究方法

### 1. ELISA 法による単純ヘルペスウイルス IgG、IgM 抗体の評価と問題点

1980 年から 2008 年間に東京大学医学部附属病院、同分院および帝京大学医学部附属溝口病院産婦人科を受診し、性器ヘルペスウイルス感染症（女性）であることが確定した患者を対象とした。HSV 分離、ELISA) による血清抗 HSV 抗体 (IgG および IgM)、さらに、Western blot 法に蟬抗体検査を実施した。

### 2. インフルエンザ迅速診断キットに関する検討

既知ウイルス量のウイルス液 (A/H1N1pdm) を用いて、国内で市販されている 9 種類の迅速診断キットの感度を比較検討した。

### 3. 風疹 IgG 国内標準血清と風疹パネル血清の評価

国内検査施設 7 施設に依頼し、国際標準血清 (RUB-I-1-94) に対する国内標準血清候補 (JPN'03: 風疹既往歴のあるヒトプール血清) の IgG 相対力価を測定した。

### 4. 風疹・麻疹抗体測定法の標準化に関する研究

本邦で頻用されている風疹の抗体測定方法である赤血球凝集抑制法 (HI)、ラテックス凝集法 (LA)、酵素免疫法 (EIA) と、麻疹の抗体測定方法である中和法 (NT)、粒子凝集法 (PA)、EIA の互換性と国際単位への変換方法について検討し、同時に各測定方法の発症予防・感染予防レベルについて検討した。また、MR ワクチン接種前後の抗体価の動きから、今回提唱する感染予防レベルの適切性についても検討した。

### 5. A 型肝炎ウイルス体外診断薬の再評価に関する研究

新規 HAV 特異的モノクローナル抗体を用いた HAV 抗原決定基反応特性評価系に関し、まず、不活化 HAV をマウスに免疫後、ハイブリドーマを樹立した。モノクローナル抗体は、精製後、ビオチン化標識、酵素標識した。HAV 補捉ならびに HAV 抗体検

出 ELISA について抗原濃度、抗体濃度、抗体の組み合わせ、抗体標識法、サンドイッチ法、競合法などの諸条件を検討し、最適化を行った。HAV 抗体産生 B 細胞の検出と動態解析について、マウスを不活化 HAV 粒子で免疫し、フローサイトメトリー法により免疫担当細胞の動態を観察した。HAV 特異的抗体を細胞表面に発現する B 細胞について、HAV 免疫後 8-10 日のマウス脾臓細胞を不活化 HAV 粒子と反応後、ビオチン化標識抗 HAV モノクローナル抗体で染色することにより検出した。

### 6. 百日咳凝集素価法における凝集反応用抗原の改良

凝集抗原である東浜株と山口株に共通する凝集因子 1 を解析した結果、凝集因子 1 は virulence associated gene にコードされる Vag8 と同定された。そこで、suicide ベクター pABB-CRS2 に  $\Delta vag8$  を挿入し、東浜株ならびに山口株の Vag8 欠損株の作製を行った。スクリーニングの結果、 $\Delta vag8$  が染色体 DNA に挿入された東浜株が得られ、抗 Vag8 抗体により Vag8 の欠損を確認した。現在、山口株について Vag8 欠損株のスクリーニングを進めている。今後、両株の凝集用抗原としての有用性評価を行う予定である。

### 7. 百日咳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製による評価の標準化に関する研究

二次参照パネル血清作製、抗百日咳毒素 (PT)、抗繊維状血球凝集原 (FHA) に対する血清 IgG 抗体測定 EIA 試薬の試作した。

### 8. 体外診断薬の評価パネル作製に関する国際的動向

SoGAT-BT 会議 (血液由来病原体に対する遺伝子増幅検査の標準化に関する国際ワーキンググループ会議 (2009 年 6 月) と第 2 回 SoGAT-CV 会議 (2009 年 9 月) に出席した。また、WHO 生物製剤標準化に関する専門家委員会 (ECBS) (2009 年 10 月) に臨時顧問として出席した。これらの会議に出席することによって WHO や諸外国における標準品や標準パネルの整備に関する最新の情報を収集するとともに、国際

標準品作製のための共同研究における本邦の貢献や、本邦における標準品の整備状況について情報交換を行った。

### 倫理面への配慮

生命倫理、動物愛護や遺伝子組換え実験、また、安全対策の観点から、機関で定められた規程に準拠し、機関で承認を得て遂行した。なお、利益相反はなかった。

## C. 研究結果

### 1. ELISA 法による単純ヘルペスウイルス IgG、IgM 抗体の評価と問題点

初感染例における 1 ヶ月以内の血清 IgM 抗体陽転率：A 社キットで HSV-1 感染症は 95%が、HSV-2 は 100%が陽転した。他方、B 社キットで HSV-1 は 37.5%、HSV-2 は 30.0%が陽転した。再発例における IgM 抗体陽性率：A 社キットで HSV-1 再発例において 11.8%、HSV-2 再発例において 41.9%が陽性を示した。血清 IgM 抗体検出期間：80%の症例において陰性になる期間は A 社キットでは cut off 値：1.2 の場合、400 日間以上を要した。cut off 値：4.0 の場合、約 300 日であった。一方、B 社キットでは 100 日以内に陰性化した。低 IgM 値検体についての解析：A 社キットにおいて cut off 値：2.0~2.2 の低値を示した 3 検体についてより高感度な方法（Western blot）で解析し、全例が陽性を示した。

### 2. インフルエンザ迅速診断キットに関する検討

最高感度の市販キットでは  $10^2$ copies/キット、最も感度が低かったキットでは  $10^5$ copies/キットのウイルス量があれば検出可能であった。

### 3. 風疹 IgG 国内標準血清と風疹パネル血清の評価

各施設の測定力価の  $\chi^2$  検定より今回の試験結果が均一でなかったため、幾何平均値を求めた。その結果、国内標準血清候補 JPN'03 の相対力価は 100.9 IU/ml と算出された。

### 4. 風疹・麻疹抗体測定法の標準化に関する研究

HI 法で測定された抗体価（倍）はそのまま国際単位（IU/mL）に変換でき、EIA 法で測定された抗体価（EIA 価）は 2 倍にすれば国際単位（IU/mL）に表示できた。NT における麻疹発症予防レベルは 4 倍、感染予防レベルは 32 倍と判定した。MR ワクチン接種による風疹抗体の有意上昇率は年齢が高くなるにつれて有意上昇を示す抗体価が低下していた。麻疹抗体の有意上昇率は風疹と同様に年齢が高くなるにつれて有意上昇を示す抗体価が低下していたが、有意上昇が誘導される抗体価は風疹よりも高値であった。

### 5. A 型肝炎ウイルス体外診断薬の再評価に関する研究

樹立した 4 株のモノクローナル抗体（A21、B8、E15、F1）について ELISA により競合試験を行った結果、A21、B8、F1 は同じエピトープかその近傍を認識し、E15 は異なるエピトープを認識すること、結合定数は  $F1 > A21 > B8 > E15$  であることが示唆された。HAV 補捉ならびに HAV 抗体検出 ELISA については、抗原濃度についてはサンドイッチ法、ヒト血清抗 HAV 抗体濃度については、サンドイッチ法、競合法で十分な感度・特異性・再現性を示すことができた。HAV 抗体産生 B 細胞の検出と動態解析について、免疫マウスの脾細胞で細胞表面に HAV を結合する B220 陽性 CD5 陰性 B 細胞が HAV 免疫後、有意に増加しており、HAV 特異的細胞表面抗体を有する特異的 B 細胞を検出できることが初めて示された。

### 6. 百日咳凝集素価法における凝集反応用抗原の改良

凝集抗原である東浜株と山口株に共通する凝集因子 1 を解析した結果、凝集因子 1 は virulence associated gene にコードされる Vag8 と同定された。そこで、suicide ベクター pABB-CRS2 に  $\Delta vag8$  を挿入し、東浜株ならびに山口株の Vag8 欠損株の作製を行った。スクリーニングの結果、 $\Delta vag8$  が染色体 DNA に挿入された東浜株が得られ、抗 Vag8 抗体により Vag8 の欠損を確認した。



## 7. 百日咳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製による評価の標準化に関する研究

二次参照パネル血清を7分類し、各3検体以上確保できた。抗百日咳毒素（PT）、抗繊維状血球凝集原（FHA）に対する血清IgG抗体測定EIA試薬を検証したところ、前年度の結果に比し、相関性は向上したが、依然として乖離検体が認められた。

## 8. 体外診断薬の評価パネル作製に関する国際的動向

2009年にHIV-2 RNA国際標準品、HBV（DNA）及びParvovirus B19遺伝子型別標準パネルが新規に制定された。「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ヵ年計画-WHO」が改定され、新たにE型肝炎ウイルス（HEV）RNAなど11種類の国際標準品等を作製することが承認された。国立感染症研究所においては体外診断薬委員会や認定国内標準パネル運営委員会を介して、国際標準品作製のため、共同研究に参加した。HBV遺伝子型別パネル及びHEV RNA国際標準品整備に関する国際共同研究に国立感染症研究所も参加することになった。

## D. 考察

### 1. ELISA法による単純ヘルペスウイルスIgG、IgM抗体の評価と問題点

IgM捕捉法を用いたA社キットは高感度であり、感染早期のIgM抗体（半減期：5日間）をほぼ検出できる。しかし、感染後長期にIgMが検出され、臨床的に初感染を診断することは困難な場合があることが判明した。今後、cut offレベルの見直しも含めIgM検出期間を短くすることで定性的な判断を行うか、或いは、IgM抗体価を定量的に判断することで臨床的な判断に資するかを決める必要がある。すなわち、IgM標準物質パネルの設定も含め、IgMの定性の意義、定量の必要性についても、将来的に検討していかなければならない。一方、B社キットはIgM抗体検出能が低く感染初期のIgM抗体検出には問題がある。また、B社キットではIgM陽性期間が短いため検体

採取時期により陰性になる可能性がある。

### 2. インフルエンザ迅速診断キットに関する検討

市販キット間で感度の相違が認められた。市場占有率の高低は臨床医らの情報交換、手技の簡便性やキットの価格に依存していることが考えられる。また、検体の採取手技、部位や時期も臨床応用に重要であると考える。

### 3. 風疹IgG国内標準血清と風疹パネル血清の評価

国内で使用されている複数のELISAキットを用いて国内標準血清候補JPN'03の相対力価（IU/mL）を決定した。赤血球凝集抑制（HI）価とELISAによる抗体価との相関を示し、風疹抗体価の評価や解釈に科学的根拠や妥当性を提供することが期待される。パネル血清を制定し、風疹抗体測定用の体外診断薬キットの品質管理、検査施設の精度管理等に利用したいと考えている。

### 4. 風疹・麻疹抗体測定法の標準化に関する研究

多くの人の風疹の発症予防レベルは、HI $\geq$ 16倍、LA $\geq$ 10IU/ml、EIA $\geq$ 5.0EIA価、感染予防レベルは、HI $\geq$ 32倍、LA $\geq$ 25IU/ml、EIA $\geq$ 12.5EIA価であり、多くの人の麻疹の発症予防レベルは、NT $\geq$ 4倍、PA $\geq$ 64倍、EIA $\geq$ 4.0EIA価、感染予防レベルは、NT $\geq$ 32倍、PA $\geq$ 512倍、EIA $\geq$ 16.0EIA価であった。今回の検討結果から、風疹・麻疹ともに測定方法の違いによる発症予防レベル、感染予防レベルが明確となり、今後の麻疹風疹対策の混乱が軽減されると思われた。

### 5. A型肝炎ウイルス体外診断薬の再評価に関する研究

モノクローナル抗体の多くが、抗原捕捉ELISAで競合することから、HAV表面の特に優位な高原決定基の存在が示唆される。既に報告されたVP3\_Asp70やVP1\_Ser102と異同は今後の課題である。これらと異なる特異性を有するハイブリドーマも樹立でき、抗体・抗原エピトープ反応特性の評価系構築が可能になった。不活化HAV粒子結合解析で低レベルのシグナルがCD5陽性細胞にも観察された。この結

合に HAV 受容体分子が関与する可能性を検討中である。

#### 6. 百日咳凝集素価法における凝集反応用抗原の改良

菌凝集素価法は簡便かつ安価なことから、特異性を高めた凝集抗原の利用価値は高いと考えられる。そのため、引き続き山口株由来の Vag8 変異株の作製を行うとともに、その有用性を評価する予定である。

#### 7. 百日咳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製による評価の標準化に関する研究

パネル血清を次年度に作製し、配布することにより、抗原のロット間差異による品質管理を安定化させることはもとより、各測定施設間におけるバラツキを低減させること（施設間における操作の標準化）も期待できる。抗百日咳毒素（PT）、抗繊維状血球凝集原（FHA）に対する血清 IgG 抗体測定 EIA 試薬は現行ボール ELISA と良好な相関性を示すものとなってきたが、依然として乖離検体が認められた。使用抗原のさらなるポリッシュアップおよび反応試薬の再検討が必要である。

#### 8. 体外診断薬の評価パネル作製に関する国際的動向

各国が独自パネルを作製するよりも、むしろ国際的な共同研究によって高品質のパネルを作製し、それを標準パネルとして各国で使用し、必要に応じてその地域の特異性を反映した検体を追加する方法が現実的であり、体外診断薬の評価法の標準化に合致していると考えられる。

### E. 結論

#### ・性器ヘルペスウイルス感染症の血清診断

抗体 HSV 血清 IgM 抗体検出に関する A 社キットは初感染例において良好な感度を示した。B 社キットは検出感度が低く初感染の診断には問題があると考えられた。

#### ・インフルエンザ迅速診断

診断キット間で、A/H1N1pdm 2009 の最小検出感度を比較すると、 $10^3$  copies の違いが認められた。この結果は季節性インフル

エンザウイルス A/H1N1 の結果と比較すると、キット間の感度比較については同様の結果であった。

#### ・風疹 IgG 国内標準血清と風疹パネル血清の評価

風疹 IgG 国内標準血清の国際標準血清に対する相対力価を決定し、標準化を推進した。パネル血清候補については定量範囲を超えたため、再測定を行う予定である。

#### ・風疹・麻疹抗体測定法の標準化に関する研究

風疹 HI 抗体、EIA 抗体、LA 抗体と麻疹 NT 抗体、PA 抗体、EIA 抗体の互換性および抗体陽性レベル、発症予防レベル、感染予防レベルを示した。今後の麻疹風疹対策を図る上で、発症予防を目的にするのか、感染予防を目的にするのか、目的に応じて MR ワクチン接種基準を考慮することが大切である。なお、麻疹風疹ともに二期接種群・三期接種群の方が、思春期群よりもブースターがかかる抗体価が高値であり、感染予防レベルが年齢により異なることを示した。

#### ・A型肝炎ウイルス体外診断薬の再評価に関する研究

体外診断薬キットの感度・特異性を再評価するため、不可欠な HAV 抗体陽性国内血清・血漿の収集を進めている。また、抗 HAV 抗体検出キットのコア技術であるモノクローナル抗体と HAV 抗原エピトープの反応特性を評価する系の構築が可能になったことから、急性 A 型肝炎体外診断薬の品質管理を科学的根拠に基づいて担保することが期待できる。

#### ・百日咳凝集素価法における凝集反応用抗原の改良

菌凝集素価法の精度向上を目的に、凝集用抗原である東浜株と山口株の Vag8 欠損株の作製を試みた。その結果、東浜株の Vag8 欠損株を得ることに成功した。

#### ・百日咳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製による評価の標準化に関する研究

百日咳患者由来の 1 次参照血清（標準血清）をもとに、健常人由来の 2 次参照パネ

ル原液となる検体を選定した。また、抗 PT および抗 FHA を測定可能な EIA 試薬の改良を行った。今後、安定した性能を示す EIA 試薬を用い、臨床診断へ応用できるデータを蓄積していくことで、百日咳抗体価測定法を EIA 法に統一していくことが急務となる。

#### ・体外診断薬の評価パネル作製に関する国際的動向

「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-WHO」が改定され、HEV-RNA など 11 種類の国際標準品等を作製することが承認された。国立感染症研究所体外診断薬委員会や認定国内標準パネル運営委員会を介して、国際標準品作製のため、共同研究に参加した。HBV 遺伝子型別パネル及び HEV RNA 国際標準品整備に関する国際共同研究に国立感染症研究所も参加することになった。

#### F. 健康危険情報

特記事項なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) 川名 尚. 2009. 研修コーナー-E. 婦人科疾患の診断・治療・管理 7. 外陰および膣の感染症 日本産婦人科学会雑誌 61(1):N47-N53.
- 2) 川名 尚. 2009. 性器ヘルペス 日本臨牀 67(1):143-152.
- 3) Umene K, Kawana T, Fukumaki Y. 2009. Serologic and genotypic analysis of a series of herpes simplex virus type 1 isolates from two patients with genital herpes. J. Med. Virol. 81(9):1605-12.
- 4) 川名 尚. 2009. 性器ヘルペスウイルス感染症(性器ヘルペス) 日本性感染症学会誌 20(1):45-49.
- 5) 西澤美香, 川名 尚, 西井 修. 2009. 新しい単純ヘルペスウイルス型特異抗体検出キットの評価 日本性感染症学会誌 20(1):162-168.
- 6) 川名 尚, 西井 修. 2009. 外陰の感染症 - その診断と治療 産婦人科治療 99(2):149-155.
- 7) Ihara T: The strategy for prevention of measles and rubella prevalence with

measles-rubella (MR) vaccine in Japan. Vaccine 27:3234-3236, 2009.

- 8) 庵原俊昭: 麻疹風疹(MR)混合ワクチン-麻疹ウイルス野生株の排除を目指して. 小児科臨床 62:2563-2570, 2009.
  - 9) 庵原俊昭, 他: 最近の麻疹・風疹血清疫学の特徴と麻疹・風疹混合(MR)ワクチンによる抗体反応. 三重県小児科医会会報 80:4-11, 2009.
  - 10) 齋藤良一, 蒲地一成: 百日咳菌 広範囲血液・尿化学検査, 免疫学的検査(第七版), 日本臨牀, 2010(発刊予定).
  - 11) Mizuochi, T., Mizusawa, S., Nojima, K., Okada, Y., and Yamaguchi, K. 2010. Single amino acid substitution in the hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) "a" determinant affects the detection sensitivity of an HBsAg diagnostic kit. Clin. Chim. Acta 411: 605-606.
  - 12) Takahashi, Y., H. Hasegawa, Y. Hara, M. Ato, A. Ninomiya, H. Takagi, T. Odagiri, T. Sata, M. Tashiro, and K. Kobayashi. 2009. Protective immunity afforded by inactivated H5N1 (NIBRG-14) vaccine requires antibodies against both hemagglutinin and neuraminidase in mice. J. Infect. Dis. 199: 1629-1637.
- ##### 2. 学会発表
- 1) 川名 尚, 大貫裕子, 西井 修. 2009. ガボジ水痘様発疹症を示した再発性器ヘルペスの 1 例. 神奈川 STD 学会(横浜, 1 月).
  - 2) 川名 尚, 西澤美香. 2009. 血清抗体からみた性器ヘルペスの自然史に関する一考察. 臨床ウイルス学会(高知 6 月).
  - 3) 川名 尚, 大貫裕子, 西澤美香, 西井 修. 2009. LAMP 法による性器ヘルペスの診断. 第 27 回日本産婦人科感染症研究会(宇都宮 6 月).
  - 4) 川名 尚. 2009. 性器ヘルペス再発抑制療法に関する一考察. 第 16 回ヘルペス感染症フォーラム(札幌年 8 月).
  - 5) 川名 尚, 大貫裕子, 西澤美香, 西井 修. 2009. 高齢者(60 才以上)の初発性器ヘルペスについて. 日本性感染症学会第 22 回学術大会(京都, 12 月).
  - 6) 岡本貴世子, 大槻紀之, 駒瀬勝啓, 風疹ウイルス遺伝子検出 Real time PCR 法の確立、第 57 回日本ウイルス学会 2009.10.25-27、東京

- 7) 大西和夫、清原知子、石井孝司、小林和夫。2009. HAV 特異的モノクローナル抗体を用いた ELISA 検出系の最適化と HAV 抗体産生 B 細胞動態解析法の検討。第 57 回日本ウイルス学会学術集会（東京、10 月）。
- 8) 蒲地一成。分子疫学から見た百日咳流行株の細菌学的特性。第 83 回日本細菌学会総会、平成 22 年 3 月、横浜（予定）
- 9) 大塚菜緒、蒲地一成、豊泉裕美、中村幸嗣、齋藤良一、荒川宜親。百日咳菌における定着因子 Prn の欠損機構。第 83 回日本細菌学会総会、平成 22 年 3 月、横浜（予定）
- 10) Mizusawa, S., Okada, Y., 2009. NAT proficiency program in Japan. SoGAT XXI (Brussels, Belgium, 5 月)
- 11) Mizusawa, S. 2009. Preparation of Reference Panels for *in vitro* Diagnostic Tests in Japan. SoGAT Clinical Diagnostics II (Istanbul, Turkey, 9 月)
- 12) 高橋宜聖、小野寺大志、阿戸 学、小田切孝人、田代真人、小林和夫。2009. ヒト血清移入マウスを用いたインフルエンザウイルス感染防御能の解析。第 13 回日本ワクチン学会学術集会プログラム・抄録集、154 (1B-A-15)、2009. 第 13 回日本ワクチン学会学術集会（札幌、9 月）。

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 特になし
2. 実用新案登録 特になし
3. その他 特になし

## II. 分担研究報告書



**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**

**ELISA 法による単純ヘルペスウイルス IgG、IgM 抗体の評価と問題点**

|       |    |                             |
|-------|----|-----------------------------|
| 研究分担者 | 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 | 西井 | 修 (帝京大学医学部附属溝口病院・産婦人科)      |
|       | 西澤 | 美香 (帝京大学医学部附属溝口病院・産婦人科)     |
|       | 平野 | 勝 (デンカ生研株式会社試薬品質管理部・部長)     |
|       | 山崎 | 誠 (デンカ生研株式会社生物ウイルス試薬部)      |

**研究要旨**

単純ヘルペスウイルスに対する IgM 抗体検出のための IgM 捕捉 ELISA 法は感度は良好であるが、初感染後長期に陽性を示す例および再発例でも陽性例となることがあり、臨床例に即した診断基準を作成することが急務となる。一方 ELISA 間接法は感度が低い点が問題である。

**A. 研究目的**

2006 年に保険収載された ELISA 法による単純ヘルペスウイルス(HSV)に対する IgM 抗体と IgG 抗体測定キットについてその精度と臨床的評価について検討することを目的とした。HSV に対する IgM 抗体検出の臨床的意義は感染時期を推定することにより当該症状の原因として HSV を特定し治療・予防に役立てることである。その有用性を明らかにするには初感染例について IgM 抗体の推移を確立する必要がある。診断的な意義を検討するには、対照として非感染者について検討する必要があるが、不顕性感染者が多く HSV の非感染者を特定することは実際は不可能であるため、HSV 感染がウイルス学的に証明されている症例を用いることにした。さらに HSV には 1 型(HSV-1)と 2 型(HSV-2)があり、この両者の感染例に対して上記のことが求められる。

**B. 研究方法**

1)対象：1980 年から 2008 年の間に東大、東大分院、帝京大学医学部附属溝口病院産婦人科を受診し HSV を分離して性器ヘルペスと診断した女性性器ヘルペス患者を対象とした。初診時抗体が陰性であった初感染例 HSV-1 によるもの 19 例、HSV-2 によ

るもの 20 例について血清抗体を経時的に検出した。

検討した検体数は、HSV-1 感染例計 194 検体 19 人、平均 9.2 検体。HSV-2 感染例計 216 検体 20 人、平均 10.8 検体。再発例は HSV-1 によるもの 17 例、HSV-2 によるもの 93 例でいずれも HSV を分離して診断を確定した。再発例では HSV-1 によるもの各例 1 検体ずつを用いた。

2)HSV の分離：性器より得た検体を培養 R-66 細胞に接種し分離できたウイルスの同定と型の決定は蛍光標識モノクローナル抗体(MicroTrak 又はデンカ生研製)を用いて行った。

3)IgM 抗体検出：本邦で開発され本邦のシェアの大部分を占めている A 社製の ELISA キット(IgM 抗体は捕捉法、IgG 抗体は間接法、抗原としては HSV-1 感染細胞を用いている)と国外で作製された B 社製キット(IgM 抗体は間接法による)を用いた。添付文書による cut off 値は A 社製キットの IgM は 1.2 以上が陽性。B 社製キットの IgM は補正吸光度 0.200 以上が陽性とされている。

4)ウエスタンブロット法による IgM 抗体検出：検体を Albumin&IgG Depletion Spin Trap(GE ヘルスサイエンス社)で処理した後、最終稀釈倍率が 20 倍になるように調整

した。抗原を転写したメンブレンと 37°C、1 時間反応させ、洗浄の後、2 次抗体としてビオチン標識抗ヒト IgM 抗体(ダコ社)、を 37°C、1 時間反応させた。さらに、洗浄の後、アルカリフォスファターゼ標識ストレプトアビジン(ダコ社)と 37°C、1 時間反応させ、最終洗浄の後、BCIP/NBT 発色システム(シグマ社)を用いて発色させた。倫理面への配慮：患者には診断のため抗体を測定することに関し、了解を得た。

### C. 研究結果

1)初感染例における 1 ヶ月以内の IgM 抗体陽転率：A 社キットでは HSV-1 による例では 19 例中 18 例(95%)が、HSV-2 による例では 20 例中 20 例(100%)が陽転した。一方 B 社キットでは HSV-1 による例では 8 例中 3 例(37.5%)、HSV-2 による例では 10 例中 3 例(30.0%)が陽転した。

2)再発例における IgM 抗体陽性率：A 社キットでは HSV-1 再発例で 17 例中 2 例 11.8%、HSV-2 再発例では 93 例中 39 例 41.9%に陽性であった。なお、cut off 値を 4.0 にすると再発例については HSV-1 が 0%、HSV-2 が 11.8%となった。

3)IgM 抗体検出期間：通常、微生物の感染後の IgM 抗体は 3~6 ヶ月で陰性になることが多く、従って感染時期の推定に用いることができる。今 80%が陰性になる期間についてみると A 社キットでは cut off 値を 1.2 の場合 HSV-1,HSV-2 感染例では共に 400 日以上を要している。cut off 値を 4.0 とした場合では HSV-1,HSV-2 感染例ではそれぞれ 320 日と 270 日となった。一方、B 社キットでは添付文書の cut off 値で HSV-1,HSV-2 感染例では共にほぼ 100 日以内に陰性化している。

4)低 IgM 値検体についての解析：A 社キットにおいて 2.0~2.2 の低値を示す 3 検体についてこれらが IgM 抗体を正しく検出しているか否かを検討するためウエスタンブロット法により検討した所 3 例とも陽性所見が得られた。

### D. 考察

今回の検討では、A 社キットは初感染例のほぼ 100%に IgM 抗体が検出され感度が良いと判明した。一方、B 社キットでは 30~40%しか検出されず感度がかなり低かった。しかし、A 社キットは感度が良い一方で添付文書通りの cut off を用いると陽性期間が 1 年以上となるものが 20%あり、また再発例でも HSV-1 によるもの 11.8%、HSV-2 によるもの 41.9%あった。そこで、A 社キットの cut off 設定が低く偽陽性となっている可能性を考えて IgM 抗体値の低い例についてウエスタンブロット法を用いて検討した所、全て陽性となり偽陽性ではなかった。

以上から、IgM 捕捉法を用いた A 社キットは感度が良く、感染時期の IgM 抗体をほぼ検出できる一方で、感染後長期に IgM が検出される例があることから、臨床的に初感染を診断することはかなり難しい場合があることが判明した。また、IgM 抗体の動態について 3~6 ヶ月で陰転化するという従来の考え方を改める必要がある結果も得られた。以上の点を考慮して今後 cut off レベルの見直しも含め IgM 検出期間を短くすることで定性的な判断を行うか、一方 IgM 抗体値を定量的に判断することで臨床的な判断に資するかを決める必要がある。すなわち、IgM 標準物質パネルの設定も含め、IgM の定性の意義、定量の必要性についても、将来的に検討していかなければならない。一方、B 社キットは IgM 抗体検出能が低く感染初期の IgM 抗体検出には問題がある。また、B 社キットでは IgM 陽性期間が短いため検体採取時期により陰性になる可能性もあった。

### E. 結論

単純ヘルペスウイルス IgM 抗体検出のための A 社キットは初感染例において検出感度は良好で、感染時期の IgM 抗体をほぼ検出できる一方、感染後長期に IgM が検出される例があるが、再発例でもかなりの検出例があるので初感染の血清診断に用いるのは現在の定性的な判断基準では問題があり、

今後検討する必要がある。さらに cut off レベルの見直しも必要と考えられた。B 社キットは検出感度が低く初感染の診断には問題があると考えられた。

## F. 健康危険情報

単純ヘルペスウイルス感染の血清診断には現在のキットの判定基準では臨床に応用する際に問題がある。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) 川名 尚. 2009. 研修コーナーE. 婦人科疾患の診断・治療・管理 7. 外陰および膣の感染症 日本産婦人科学会雑誌 61(1):N47-N53.
- 2) 川名 尚. 2009. 性器ヘルペス 日本臨床 67(1):143-152.
- 3) Umene K, Kawana T, Fukumaki Y. 2009. Serologic and genotypic analysis of a series of herpes simplex virus type 1 isolates from two patients with genital herpes. J. Med. Virol. 81(9):1605-12.
- 4) 川名 尚. 2009. 性器ヘルペスウイルス感染症(性器ヘルペス) 日本性感染症学会誌 20(1):45-49.
- 5) 西澤美香、川名 尚、西井 修. 2009. 新しい単純ヘルペスウイルス型特異抗体検出キットの評価 日本性感染症学会誌 20(1):162-168.
- 6) 川名 尚、西井 修. 2009. 外陰の感染症—その診断と治療 産婦人科治療

99(2):149-155.

### 2. 学会発表

- 1) 川名 尚、大貫裕子、西井 修. 2009. ガボジ水痘様発疹症を示した再発性器ヘルペスの 1 例. 神奈川 STD 学会(横浜、1 月).
- 2) 川名 尚、西澤美香. 2009. 血清抗体からみた性器ヘルペスの自然史に関する一考察. 臨床ウイルス学会(高知 6 月).
- 3) 川名 尚、大貫裕子、西澤美香、西井修. 2009. LAMP 法による性器ヘルペスの診断. 第 27 回日本産婦人科感染症研究会(宇都宮 6 月).
- 4) 川名 尚. 2009. 性器ヘルペス再発抑制療法に関する一考察. 第 16 回ヘルペス感染症フォーラム(札幌年 8 月).
- 5) 川名 尚、大貫裕子、西澤美香、西井修. 2009. 高齢者(60 才以上)の初発性器ヘルペスについて. 日本性感染症学会第 22 回学術大会(京都、12 月).

## 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

### 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)**  
**分担研究報告書**

**インフルエンザ迅速診断キットに関する検討**

研究分担者 多屋 馨子 (国立感染症研究所感染症情報センター第三室長)  
研究協力者 荒木 和子 (国立感染症研究所感染症情報センター技術補助員)

**研究要旨**

2009年に発生した、パンデミック (H1N1)2009 は、国内発生当初、全国の地方衛生研究所および国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センターで、全例に real time PCR 法あるいは RT-PCR 法によるウイルス遺伝子の検出が行われていた。その後患者数の増加に伴い、臨床診断あるいは、迅速診断キットでの検査診断が中心となり、迅速診断キットの感度が話題になった。そこで、本分担研究班では昨年度まで検討を続けてきた季節性インフルエンザウイルスの検討と同じ方法を用いて、国内で市販されている迅速診断キット 9 種類を用い、キットに投入する A/H1N1pdm ウイルスの量を一定にして、検出感度を比較検討した。その結果、今年度検討した迅速診断キットは、最も感度が高かったキットでは  $10^2$ copies/キット、最も感度が低かったキットでは  $10^5$ copies/キットあれば検出が可能であった。

**A. 研究目的**

2009年に発生した、パンデミック (H1N1)2009 は、国内発生当初、全国の地方衛生研究所および国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センターで、全例に real time PCR 法あるいは RT-PCR 法によるウイルス遺伝子の検出が行われていた。

その後患者数の増加に伴い、臨床診断あるいは、迅速診断キットでの検査診断が中心となり、迅速診断キットの感度が話題になった。

そこで我々は、昨年度まで本研究班で検討を続けてきた季節性インフルエンザウイルスの検討と同じ方法を用いて、A/H1N1pdm ウイルスを用いた検討を実施し、キットの比較検討を行うことを目的とした。

**B. 研究方法**

ウイルス量既知のウイルス液

(A/H1N1pdm ウイルス) を用いて、国内で市販されている 9 種類の迅速診断キットのキット間感度を比較検討した。

使用した迅速診断キットは、表 1 の通りである。

**倫理面への配慮**

本研究実施にあたり、臨床検体は使用していない。

**C. 研究結果**

**1. キット間の感度比較**

AH1N1pdm ウイルスを細胞培養後、プラークアッセイならびに real time PCR 法を用いてウイルス量を定量し、ウイルス量既知のウイルス液をキットに添付されている検体懸濁液を用いて 10 倍段階希釈し、感度を比較検討した。キットの使用法、検討時間は、添付資料に沿って実施した(表 2)。検討はそれぞれ 1 キットにつき、2 回ずつ実施した。

最も感度が高かったキットでは  $10^2$ copies/キット、最も感度が低かったキットでは  $10^5$ copies/キットのウイルス量があれば検出可能であった（図1）。なお、図1に示した結果は、順不同であり、表とは一致しない。

#### D. 考察

国内では、数多くのインフルエンザ迅速診断キットが市販されているが、キット間で感度の違いが見られた。国内でのシェアは、臨床医らの相互の情報交換あるいは手技の簡便さなどを元を選択されていると考えられるが、今後は更に詳細な検討が必要である。また、昨年度まで実施してきた採取部位の検討結果なども考慮した上で、適切な部位から適切な時期に検体を採取することも重要であると考ええる。

#### E. 結論

キット間で最小検出感度を比較すると、

最高で  $10^3$ copies の違いが認められた。昨年度まで本研究班で実施してきた季節性インフルエンザウイルス A/H1N1 の結果と比較すると、キット間の感度比較については同様の結果であった。

#### 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

なし

表1 検討したインフルエンザウイルス検出キット一覧

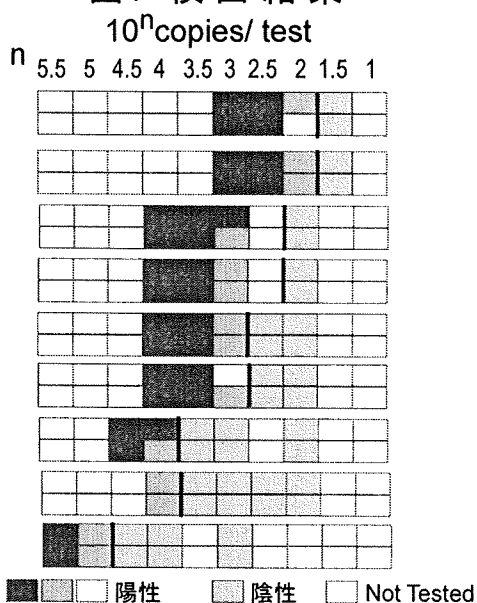
| 製品名                    | 形状       | イムノクロマト法 |             |
|------------------------|----------|----------|-------------|
|                        |          | 反応       | 判定          |
| A エスブライン インフルエンザA&B-N  | Cassette | EIA(ALP) | } ライン<br>目視 |
| B BD Fluエグザマン          | Cassette | 金コロイド    |             |
| C クイックチェイサー-FUL A,B    | Cassette | 金コロイド    |             |
| D チェックFlu A・B          | Cassette | 金コロイド    |             |
| E ポクテム インフルエンザA/B      | Cassette | 金コロイド    |             |
| F プロラスト Flu            | Card     | 着色粒子     |             |
| G クリアビュー-Influenza A/B | Stick    | 金コロイド    |             |
| H ラビットテスタ              | Stick    | 金コロイド    |             |
| I スタットマーク™FLUスティックAB   | Stick    | 着色粒子     |             |



表2 検討したインフルエンザウイルス検出キット一覧

| 製品名                   | サンプル |                          | 反応時間(分) |
|-----------------------|------|--------------------------|---------|
|                       | 添加方法 | 量                        |         |
| A エスプライン インフルエンザA&B-N | 滴下   | 2滴 (30 $\mu$ l)          | 15      |
| B BD Fluエゲザマン         | 滴下   | 3滴 x 2 (75 $\mu$ l x 2)  | 15      |
| C クイックチェイサーFULA,B     | 滴下   | 4滴 (164 $\mu$ l)         | 10      |
| D チェックFlu A・B         | 滴下   | 3滴 (156 $\mu$ l)         | 15      |
| E ポクテム インフルエンザA/B     | 滴下   | 5滴 (225 $\mu$ l)         | 15      |
| F プロラスト Flu           | 滴下   | 3滴 x 2 (100 $\mu$ l x 2) | 10      |
| G クリアビューInfluenza A/B | 浸漬   | 6滴 (195 $\mu$ l)         | 15      |
| H ラビットテスト             | 浸漬   | (300 $\mu$ l)            | 10      |
| I スタットマークTMFLUスティックAB | 浸漬   | (300 $\mu$ l)            | 10      |

図1 検出結果



**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**

**風疹 IgG 国内標準血清と風疹パネル血清の評価**

研究分担者 岡本貴世子 (国立感染症研究所ウイルス第三部・第二室・研究員)  
研究協力者 駒瀬 勝啓 (国立感染症研究所ウイルス第三部・第一室長)  
大槻 紀之 (国立感染症研究所ウイルス第三部)

**研究要旨**

風疹 IgG 国内標準血清候補 JPN'03 とパネル血清候補 90 検体のうち使用に相当と考えられた 76 検体の WHO 国際標準血清に対する相対力価 (IgG) を測定した。平行線定量法により、JPN'03 の相対力価を 100 IU/mL とした。

**A. 研究目的**

妊娠早期に風疹ウイルスに感染すると出生児が先天性風疹症候群 (CRS) とよばれる障害をもって生まれることがある事が知られている。風疹はワクチンで予防可能な疾患と考えられており、妊娠前の検査において感染防御に十分な風疹抗体価がある事を確認し、必要に応じてワクチンを接種することが CRS の唯一の予防法である。従って風疹抗体価の確実な測定法が重要になってくる。日本では主に赤血球凝集阻止 (HI) 法、酵素抗体法 (ELISIA) で風疹抗体価の測定がなされているが、まだその表示は統一されておらず、臨床現場ではしばしば混乱の原因となっている。また、ELISA キットでは製造社間でも値の表示法が異なっている。本研究では、風疹抗体測定用の体外診断薬キットの表示法の統一化や感度の評価、さらには臨床検査施設の精度管理等のために、1) 風疹 IgG 国内標準血清の制定、2) 風疹標準パネル血清、整備、評価を目的としている。

**B. 研究方法**

1) 風疹 IgG 国内標準血清の制定、

国内検査施設 7 施設に依頼し、国際標準血清 RUB-I-1-94 に対する国内標準血清候補 JPN'03 (風疹既往歴のあるヒトプール血

清) の IgG 相対力価を各施設が使用している試薬・機器を用い、通常行っている測定方法 (ELISA 法) により測定した。各施設の独立した 3 回の試験結果から平行線定量法により国際標準血清に対する相対力価をそれぞれ算出し、幾何平均値を求めた。

2) パネル血清の力価測定

90 検体の血清を収集し、そのうち使用に相当と考えられた 76 検体を測定に供した。感染研において、3 点希釈による平行線定量法により、各血清 IgG の平行性と直線性を確認した。次に、国内検査施設 5 施設において、国際標準血清 RUB-I-1-94 に対する各血清の IgG 相対力価を各施設が通常の作業で使用している試薬・機器を用い、通常行っている測定方法 (HI 法および ELISA 法) により 1 点希釈で測定した。各施設の独立した 3 回の試験結果から平行線定量法により国際標準血清に対する相対力価をそれぞれ算出し、幾何平均値を求めた。

**倫理面への配慮**

収集した血清はインフォームドコンセントにより使用目的が了承されている。

**C. 研究結果**

1) 風疹 IgG 国内標準血清の国際単位による値付け