

200940011B

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19年度～平成21年度 総合研究報告書

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19年度～平成21年度 総合研究報告書

研究代表者 小林 和 夫

平成22（2010）年3月

目 次

I. 総合研究報告書	
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 小林 和夫	1
II. 分担研究報告書	
単純ヘルペスウイルス抗体測定上の問題点 川名 尚	5
インフルエンザ迅速診断キットに関する検討 多屋 馨子	9
風疹感染診断技術に関する検討 岡本 貴世子	13
風疹・麻疹抗体測定法の標準化に関する研究： 抗体測定方法の互換性と発症予防レベル・ 感染予防レベルの検討 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 大西 和夫	31
百日咳体外診断薬における凝集反応用抗原の再評価と 改良に関する研究 蒲地 一成	37
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 岡田 賢司	41
体外診断薬の評価パネル作製に関する国際的動向 水澤 左衛子	45
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	47
IV. 研究成果の刊行物・別刷	49

I. 総合研究報告書

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)
総合研究報告書

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)
研究代表者 (平成 19-20 年度)	山口 一成	(国立感染症研究所・名誉所員)
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。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、国立感染症研究所体外診断薬委員会内に「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、国内標準パネルの審査・管理・譲渡体制を整備した。

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、国立感染症研究所認定国内標準パネル運営委員会
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・麻疹抗体測定の標準化
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：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-

成果・概要：

1. 単純ヘルペスウイルス感染症（5 類定点把握感染症）

単純ヘルペスウイルス（HSV、HHV）1 型または 2 型感染に対する血清診断における問題点について検討した。抗体検出方法としては、現在最も用いられている補体結合（CF）法や中和（NT）法よりも酵素免疫（ELISA）法が優れており前 2 者から移行することが推奨される。幸いに 2008 年に保険適用になり用いやすくなった。ELISA 法による抗 HSV-IgM 抗体検出には IgM 捕捉法と間接法がある。捕捉法は感度に優れているが現在用いられている定性的な評価では初感染の診断に問題があり、今後臨床的な立場からの評価を改めてしなければならない。単純ヘルペスウイルス 1 型と 2 型

の感染には臨床的・疫学的に異なるのでこれらを分けて測定できる ELISA 法による型特異的抗体測定法が必要である。外国では型特異的診断キットが開発されておりこれらの精度を検討したところ、優れていることが判った。諸外国では日常診療に用いられアメリカ合衆国疾病管理予防センター（CDC）の指針にも掲載されている。わが国でも用いることができるように切望する。

2. インフルエンザ（新型インフルエンザ等感染症、5 類定点）

2009 年に発生した、パンデミック（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、全症例（疑い例を含む）に real time 逆転写（RT）ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）法、或いは、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、発生患者数の増加に伴い、臨床診断、或いは、迅速免疫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検討課題になった。国内では、これまでに 20 種類以上の季節性インフルエンザ迅速診断キットが市販されており、インフルエンザ診療に重要である。検討した季節性ウイルス株はそれぞれ型・亜型毎に 1 種類ずつであるが、いずれの型・亜型についてもキット間で感度に差異が認められた。季節性インフルエンザ迅速診断キットで A/H1N1pdm 2009 ウイルスを供試した場合、最も感度が高かったキットで 10^2 copies/キット、最も感度が低かったキットで 10^5 copies/キットあれば検出が可能であった。適切な臨床検体採取部位として、上咽頭が最も適切な検体採取部位であることが示唆された。採取部位に加えて、検体採取手技、時期は感度に重要な因子である。

3. 風疹（5 類全数）

研究期間内に得られた研究成果は以下の 2 点に大別される。1) 風疹ウイルスの RNA ゲノムは変化し易く、現在の「病原体検出マニュアル」にある風疹ウイルスゲノム検出法の有効性を検証する必要がある。過去約 30 年間に日本で流行し、分離された

風疹ウイルス、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。これらの情報から新しい RT-PCR 法の条件について検討し、現行の検出条件よりも特異性、感度ともに優れた条件を決定することができた。2) 風疹ウイルス抗体測定用の体外診断薬キットの感度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、風疹 IgG 国内標準血清の国際単位による値付け、および風疹標準パネル血清収集、整備、評価を行った。

4. 風疹・麻疹 (5 類全数)

本邦は麻疹の排除と先天性風疹症候群 (congenital rubella syndrome: CRS) の排除を目指しており、そのためには適切な方法で麻疹・風疹抗体が測定され、その結果を診療に際し、適切に評価することが大切である。平成 19 年度は、風疹 R-赤血球凝集抑制 (HI) 法は弱陽性血清の抗体価を低く判定する傾向があり、標準 HI 法 (予研法) で測定された HI 抗体 16 倍の血清を標準血清に加えることで、R-HI 法と予研法の結果は良く一致することを示した。平成 20 年度、風疹 HI 抗体価 (倍) はそのままの値でラテックス凝集法 (LA) 抗体価 (IU/mL) に、風疹酵素免疫法 (EIA) 抗体価 (EIA 価) は 2 倍した値が LA 抗体価に換算できること、風疹 EIA 法の有意上昇 (測定誤差以上の上昇) の基準は 2 倍であることを示した。平成 22 年度は、ヒトにおける風疹発症予防レベルは、HI ≥ 16 倍、LA ≥ 10 IU/mL、EIA ≥ 5.0 EIA 価、感染予防レベルは、HI ≥ 32 倍、LA ≥ 25 IU/mL、EIA ≥ 12.5 EIA 価であること、ヒトにおける麻疹発症予防レベルは、中和法 (NT) ≥ 4 倍、粒子凝集法 (PA) ≥ 64 倍、EIA ≥ 4.0 EIA 価、感染予防レベルは、NT ≥ 32 倍、PA ≥ 512 倍、EIA ≥ 16.0 EIA 価であることを示した。3 年間の研究成果をもとに、「麻疹風疹各抗体測定方法の互換性と発症予防レベル・感染予防レベルのガイドライン」を作成した。なお、適切に抗体を測定するためには、麻疹・風疹ともに国際単位で表示された標準血清とパネル血清が必要と思わ

れた。

5. A 型肝炎 (4 類)

A 型肝炎ウイルス (HAV) 抗体検出キット再評価のため、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した。本研究班発足前年、2006 (平成 18) 年 7 月に滋賀県で発生した集団発生事例患者血清を用い、抗体価測定後、IgM 型抗 HAV 抗体陽性国内血清として、整備した。IgM 型抗体検出キットに関し、市販 3 キットの性能評価を実施し、現行キットの良好な性能が確認できた。IgG 型抗 HAV 抗体陽性国内血漿の収集に関しては、日本赤十字社の協力を得て、献血検体のうち、血漿アラニンアミノ基転移酵素 (ALT) 高値により不適血漿から、陽性 24・陰性血漿検体 12 (各 100 mL 以上) 血漿パネルが作製できた。このパネルを用いて、現在市販されている IgG 型抗 HAV 抗体検出キットのうち、3 キットについて性能評価した結果、各キット間の陽性一致率、陰性一致率、全体一致率とも 100%であった。A 型肝炎体外診断薬の将来的な技術基盤を開発するため、抗 HAV 抗体検出キットのコア技術である単クローン抗体と HAV 抗原決定基の反応特性を評価するため、新規 HAV 抗原特異的単クローン抗体を樹立し、定量的評価系の基盤を構築した。

6. 百日咳 (5 類定点)

抗原の特性・精製：百日咳の血清診断に使用される菌凝集素価法について、凝集用抗原株 (山口株、東浜株) の再評価と改良を試みた。近年の百日咳流行株が保有する凝集因子を解析したところ、すべての臨床分離株 (26 株) が山口株と等しい凝集因子 1、3、6 を持つことが判明し、山口株の凝集用抗原株としての妥当性が確認された。一方、東浜株は凝集因子として 1、2、4 を保有し、凝集因子 1 は種特異抗原として山口株にも認められる。そこで、菌凝集素価法の特異性向上を目的に、山口株と東浜株について凝集因子 1 欠損株の作製を試みた。凝集因子 1 である Vag8 の変異遺伝子 ($\Delta vag8$) を構築し、相同組換えにより $\Delta vag8$ と *vag8* を置換させた。スクリーニ

ングの結果、 $\Delta vag8$ が導入された東浜株が得られ、イムノプロットにより Vag8 の欠損を確認した。現在、山口株の Vag8 欠損株の作製を進めており、欠損株の取得後、両株の凝集用抗原としての有用性を評価する予定である。

抗体の特性・精製および抗体価測定標準化：百日咳抗体価測定試薬の評価方法の標準化を目的とし、一次参照血清（標準血清）および二次参照パネル血清を作製した。各測定施設で同一の値付けがなされた標準品を用いることにより、施設間の測定結果が標準化されることが期待できる。現在、抗百日咳毒素（PT）抗体及び抗繊維状血球凝集原（FHA）抗体はバリデートが難しいボール ELISA のフォーマットを用いて測定している。これをコントロールし易い、プレート EIA 法を用いた試薬にて標準化を試み、測定試薬の試作を行った。試作品はまだ改良の余地が残されてはいるものの、測定の標準化を目指すためには、臨床診断へ応用できるデータを蓄積していくことで、最終的には、百日咳抗体価測定法をプレート EIA 法に統一していくことが望まれる。

7. 体外診断薬の標準パネルに関する国際的動向

国際生物学的製剤標準化委員会（International Biological Standardization Committee: IBSC）が主催するゲノム増幅標準化会議（International Scientific Working Group on the Standardisation of Genome Amplification Techniques: SOGAT）と世界保健機関（WHO）生物製剤標準化に関する専門家委員会に出席し、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情報を収集した。WHO は 2007 年から「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」を推進し、2009 年、新たに 12 の国際標準品等を作製することを承認した。国立感染症研究所において体外診断薬委員会を介し、国際標準品整備のため、共同研究に参加している。水澤は B 型肝炎ウイルス（HBV）遺伝子型 DNA 標準パネルの国際共同研究に参加した。英国（グレートブリテン及び

北アイルランド連合王国）、ドイツ連邦共和国やアメリカ合衆国において体外診断薬の制度管理に資する標準品や参照品の整備が進められている。

8. 国立感染症研究所認定国内標準パネル運営委員会

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、2009 年 10 月、国立感染症研究所体外診断薬委員会（委員長 小林 和夫）内に「国立感染症研究所認定国内標準パネル運営委員会（標準パネル運営委員会委員長 巽 正志）」（規程を含む）を設置した。現在まで、5 感染症に関する標準パネルが整備され、かつ、診断薬メーカーに説明会を実施し、体外診断薬の性能評価や承認申請に供試可能である。

担当者	標準パネル
大西 和夫 (免疫部)	HAV-IgG 抗体 (4 類感染症)
水落 利明 (血液・安全性研究部)	HBs 抗原 (急性: 5 類全数) HCV 抗体 (急性: 5 類全数)
鈴木 哲朗 (ウイルス第二部)	HCV-core 抗原 HCV-RNA (急性: 5 類全数)
巽 正志 (エイズ研究センター)	HIV 抗原・抗体・遺伝子 (5 類全数)

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。

健康危険情報： 特記事項なし

研究発表：

1. 論文発表：一覧表・各報告書を参照
2. 学会発表：一覧表・各報告書を参照

知的財産権の出願・登録状況：

1. 特許取得 特記事項なし
2. 実用新案登録 特記事項なし
3. その他 特記事項なし

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)
総合研究報告書

単純ヘルペスウイルス抗体測定上の問題点

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 1 型または 2 型感染に対する血清診断における問題点について検討した。抗体検出方法としては、現在最も用いられている CF 法や NT 法よりも ELISA 法が優れており前 2 者から移行することが推奨される。幸いに 2008 年に保険適用になり用いやすくなった。ELISA 法による IgM 抗体検出には IgM 捕捉法と間接法がある。捕捉法は感度に優れているが現在用いられている定性的な評価では初感染の診断に問題があり、今後臨床的な立場からの評価を改めてしなければならない。単純ヘルペスウイルス 1 型と 2 型の感染には臨床的・疫学的に異なるのでこれらを分けて測定できる ELISA 法による型特異的抗体測定法が必要である。外国ではキットが開発されておりこれらの精度を検討した所優れていることが判った。諸外国では日常診療に用いられ CDC のガイドラインにも掲載されている。わが国でも用いることができるように切望する。

A. 研究目的

HSVには1型(HSV-1)と2型(HSV-2)があり感染病態には違いがあるので、単純ヘルペスウイルス(HSV)感染症の血清診断は患者が HSV に感染していることと感染している HSV が 1 型(HSV-1)か 2 型(HSV-2)を診断できる必要がある。

抗体測定法には補体結合法(CF)、中和法(NT)、蛍光抗体法(FA)、ELISA 法などがあり一長一短であり、時に乖離がみられ臨床の場で混乱がみられている。

性器ヘルペスにおいて HSV-1 感染例に比べて HSV-2 感染例は再発の頻度が高く、神経向性が強いなど種々の臨床像に相異がみられ型別特異抗体の検出は臨床的に重要であり、米国 CDC のガイドラインにも診断的意義は述べられており世界的にも多くの国で行われているが、わが国では確立した

方法がない。型特異抗体の測定法には HSV の gG を用いた ELISA 法が市販されているので、これらについての精度を検討した。患者の症状が HSV 感染によるものか否かを血清診断する上で、IgM 抗体は大いに役立つが現在用いられている方法についてその評価を行った。

以上の点を踏まえて臨床上有益な HSV に対する血清診断のあり方を検討することを目的とした。

B. 研究方法

1)商業検査機関へのアンケートによる現況把握

2)HSV-1 抗体と HSV-2 抗体を効率よく検出できるかを HSV-1 と HSV-2 を抗原としたプレートを作成し、HSV-1 感染患者血清 11 検体、HSV-2 感染患者血清 53 検体を用い

て抗体検出能を検討した。

3)CF 法における問題点を検討した。(以上平成 19 年度)

4)HSV に対する型特異抗体測定キットは、わが国ではまだ開発されていないので外国で開発された「Platelia」(Bio Rad 社)と「HerpeSelect」(Focus 社)について精度を検討した。検体は HSV-1 又は HSV-2 による性器ヘルペス患者から得られた血清を用いた。初感染後、経時的に採取したものをを用いて陽転時期について検討した。(平成 20 年度)

5)免疫グロブリン別抗体測定のうち IgM 分画の抗体(IgM 抗体と略)は一般に感染初期に出現することから感染症の診断に有力な手段となる。ELISA 法による IgM 抗体の測定原理には IgM 捕捉法と間接法の二種類が用いられている。今回この両法について検討した。IgM 捕捉法には A 社キット、間接法には B 社キットを用いた。検体は女性性器ヘルペス患者の初感染例で HSV-1 によるもの 19 例、HSV-2 によるもの 20 例より経時的に採血したものをを用いた。ELISA 法による IgM 抗体の精度を検討するべくウエスタンブロット法も行った。

倫理面への配慮：患者は診断のため抗体を測定することを口答で了解を得た。

C. 研究結果

1)商業検査機関への医師の依頼は CF が最も多く、次いで NT であった。CF 法には抗補体活性のある血清があり判定不能がある点が問題であった。本研究においても 13.2%の血清で判定不能であった。NT では用いるウイルス量や株に違いがあることが判明し方法論に確立したものがなかった。

2)ELISA 法に用いる抗原として HSV-2 株を用いたものを作成して検討したが、現在市販されている HSV-1 株を用いたものでも HSV-2 抗体はほぼ検出されることが判明した。(以上平成 19 年度)

3)a)型特異性の検討：両キットとも HSV-1 感染者から得た血清は HSV-1 抗体のみ、HSV-2 感染者から得た血清は HSV-2 抗体のみと型特異性は問題なかった。

b)陽転時期：HSV-1 初感染例の陽転時期についてみると発症後 3 週目の陽転率は Platelia が 80%、HerpeSelect が 40%であった。HSV-2 初感染例の発症 2 週間後の陽転率は Platelia がほぼ 100%であったのに対し HerpeSelect では 80%であったが 3 週目には 100%となった。(以上平成 20 年度)

IgM 抗体の初感染例の初診後 60 日以内の IgM 抗体陽性率は捕捉法では 95%、HSV-1,HSV-2 感染例それぞれ 100%に検出されたのに対し、間接法では HSV-1,HSV-2 感染例とも 30~40%にとどまった。IgM 抗体の持続期間は捕捉法では長期に持続する例が多く添付文書による cut off 値を用いると 80%が陰転化するのに 1 年以上もかかっている。これに対し間接法では 100 日以内に 100%陰転化した。さらに、再発例では捕捉法では HSV-1 感染例で 11.8%、HSV-2 感染例では 41.9%が陽性であった。

以上より、捕捉法の感度が非常に良いと考えられる一方、非特異的な反応をみていることも考えられたので捕捉法で抗体価の低いもの 4 例についてウエスタンブロット法でみた所、IgM 抗体は検出され非特異反応ではなかった。

D. 考察

アンケート結果から CF 法が感度・特異度に問題がある上に抗補体作用による判定不能などがあるにも拘らず保険で行えるため最も用いられている。NT 法も方法論に統一がないため精度にも問題がある。一方、少量の検体で多くの検体を一度に処理でき感度・特異度も比較的良いことなどを考慮すると今後は ELISA 法に移行すると同時にその問題点を解決することが妥当と思われる。HSV-1 抗体と HSV-2 抗体の両者を効率よく測定する必要があるが、現在市販されている HSV-1 株を抗原として用いているキットで HSV-2 抗体もほぼ検出できると考えられる。わが国では HSV-1 抗体,HSV-2 抗体をそれぞれ分けて測定できる型特異抗体検出キットは開発されていないため外国で開発された「Platelia」と「HerpeSelect」について感度・特異度を検討した。両キット

共 HSV-1 の gG と HSV-2 の gG を抗原として用いている。両者共ほぼ良好な結果を得たが Platelia の方がやや感度が高かった。これらのキットは共に IgG 抗体の検出キットであるため陽転時期を検討した所、3 週目で HSV-1 初感染例では Platelia は 80%、HerpeSelect は 50%以下の陽転率であった。HSV-2 初感染例では 3 週間で両キット共 100%陽性になった。一方、わが国で用いられている HSV-1 感染細胞を抗原とし IgG 抗体を ELISA 法で検出する HSV 抗体測定キット(デンカ生研)を用いた所、HSV-1 感染例では 2 週でほぼ 100%、HSV-2 感染例では 3 週で 89%陽転した。このような違いは HSV-1 感染細胞を抗原として用いているキットは gB,gD などの強い抗原を用いており、早くからこれらに対する抗体が出現するのに対し gG に対する抗体の出現が遅れることが一つの原因と考えられる。ELISA 法による IgM 抗体検出には捕捉法が間接法に比べ遙かに感度が良いことが判明した。一方で IgM 抗体持続期間をみると捕捉法はかなり長期間持続し、さらに再発例でも HSV-2 感染例では高率に検出された。これらを考えると捕捉法は初感染の診断には有意義ではあるが感度が高いため一方で問題も生じている。その解決策として、(1)ELISA 法による結果を定量的に表現して臨床的に評価する、(2)cut off 値を上げることにより感度を下げる、が考えられる。

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・特異度に優れた免疫グロブリン別に抗体が測定できる ELISA 法に移行すべきと思われる。幸いにも 2008 年に ELISA 法による免疫グロブリン別抗体測定法が保険で可能になった点は評価したい。ELISA 法で HSV-1 抗原を用いたプレートでも HSV-2 抗体は大部分検出できると思われる。(平成 19 年度)
外国で開発された型特異抗体測定キットである Platelia と HerpeSelect は特異性は共にほぼ満足できるものであったが感度は Platelia の方が優れているようである。しか

し、細かくみるとロット間に差があったり cut off 値に問題を提起する報告もあり、さらに検討を続ける必要がある。HSV-1 と HSV-2 による感染は疫学的にも臨床的にも違いがあるのでわが国で早急に型特異抗体の測定が日常的に保険でできるようになることが切望される。(平成 20 年度)

ELISA 法による IgM 抗体の検出法には捕捉法と間接法があるが捕捉法の方が感度が良い。しかし、その一方で IgM 抗体の消退に時間がかかりすぎることは再発例にも陽性となることから HSV 感染の診断において課題が残る結果となった。(平成 21 年度)
一方、ELISA 法を用いると IgG 抗体は初感染後に急上昇しないことが判明しているが、これが ELISA 法という方法論によるものなのか、或いはもともと IgG 抗体の上昇が起きないものなのか検討を要する。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 川名 尚.2007.新感染症学 下 一新時代の基礎・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) 性器ヘルペスウイルス感染症 65(3):331-338.
2. 川名 尚. 2008. 産婦人科感染症診療マニュアル II 性感染症「単純ヘルペスウイルス」. 産科と婦人科 75(11):1490-1498.
3. 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.
4. 川名 尚.2009.性器ヘルペス. 日本臨牀 67(1):143-152.
5. , 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.
6. 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.
7. 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.

8. 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. 西澤美香、川名 尚. 2007. 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(富山、6 月).
2. 西澤美香、川名 尚、西井 修. 2008. 新しい単純ヘルペスウイルス型特異抗体キット. 日本性感染症学会第 21 回学術大会 (東京、12 月).
3. 川名 尚、大貫裕子、西井 修. 2009. ガポ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).
4. 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).
5. 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).
6. 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、8 月).

7. 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)
総合研究報告書

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)
山口 展正 (山口耳鼻咽喉科医院)
佐藤 弘 (国立感染症研究所感染症情報センター)
藤本 嗣人 (国立感染症研究所感染症情報センター)
浜本いつき (国立感染症研究所感染症情報センター)
岡部 信彦 (国立感染症研究所感染症情報センター)

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。国内では、これまでに20種類以上のインフルエンザ迅速診断キットが市販されており、インフルエンザの診療には不可欠な存在となっている。本研究班で検討したウイルス株はそれぞれ型・亜型毎に1種類ずつであるが、いずれの型・亜型についてもキット間感度差があった。A/H1N1pdm ウイルスでの検討では、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。適切な臨床検体採取部位の検討では、上咽頭が最も適切な検体採取部位であることが示唆された。

A. 研究目的

インフルエンザの適切な治療および感染拡大を阻止するためには迅速かつ正確な検査診断が必要不可欠である。そこで、本分担研究班では、国内で市販されているインフルエンザ迅速診断キットについて使用状況ならびに感度等について検討し、適切な臨床検体採取方法に関して検討することを目的として研究を行った。

B. 研究方法

国内で市販されているインフルエンザ迅速診断キットの使用状況ならびに有効性について、論文ならびにキット添付文書等を用いてレビューした。また、ウイルス量既

知の検体を用いて、その感度を比較検討した。

また、インフルエンザの実験室診断に用いる適切な検体採取部位を検討することを目的に、様々な病時期の様々な検体部位から採取された臨床検体についてRT-PCR法、リアルタイムPCR法を用いて比較検討した。

インフルエンザと診断した患者の鼻甲介、鼻咽頭、中咽頭を滅菌綿棒で拭い、検体保存液2mlに懸濁したものを検体とした。検体200 μ lから市販キットを用いてRNA抽出液50 μ lを調整し、RNA抽出液4 μ lからRT反応によりcDNA溶液20 μ lを合成し、そのうち2 μ lをPCRに用いた。Lam

WYら (JCM, 2007) の方法により A 型については Matrix 遺伝子領域の一部(412bp)の増幅 (A/H1N1 亜型および A/H3N2 亜型の両者とも検出可能)、B 型については Nucleoprotein 遺伝子領域の一部(883bp)の増幅する RT-PCR 法によりインフルエンザウイルス遺伝子の検出を行い、さらに塩基配列により型(亜型)の決定を行った。

2007-2008 年度は季節性インフルエンザウイルスについて、2009 年度は A/H1N1pdm ウイルスについて検討した。

倫理面への配慮

本研究実施にあたり、臨床検体の採取に関しては国立感染症研究所倫理委員会の承認を得た。

C. 研究結果

1. 国内で市販されている(過去に市販されていたものを含む)キットの種類

国内論文等から、市販キットの種類を調査し、平成 19 年度ならびに 20 年度報告書に報告した。

2. 国内論文ならびにこれまでの報告のレビュー

ML インフルエンザ流行前線情報 DB (<http://mL-flu.children.jp/> (プロジェクトリーダー: 砂川富正、担当者: 西藤なるを)) の情報から、国内でのキット使用頻度について調査した。

川上ら、原の論文で、既に迅速診断キットの検討が実施されていた。A 型および B 型インフルエンザウイルスの核蛋白に対するモノクローナル抗体を使用したキットとして、イムノクロマト法(簡便で迅速、現在この方法が主流)、酵素免疫法(感度は高いが測定時間が長く操作が煩雑)、フロースルー免疫測定法、イムノクロマト法と酵素免疫法の組み合わせがあり、インフルエンザウイルスのノイラミニダーゼを検出するキットもあった。方式は主に、プレート(カセット)方式とディップスティック方式があった。

迅速診断キットによる検出には $10^3 \sim$

10^5 pfu/mL 以上のウイルス感染力価が必要と考えられており、分離や nested-PCR 法に比べると 1000 倍以上のウイルス量が必要とされていた。また、鼻腔吸引液では、鼻腔ぬぐい液、咽頭ぬぐい液に比べて 100 倍ウイルス感染力価が高いと報告されていた。2004/05 シーズンは 2000 万人分以上のキットが使用されたと推測され、約 200 億円の市場と言われているとの報告があった。また B 型の方が A 型よりも検出感度が低いとの報告もなされていた(川上、原ら報告より)。

3. 本研究班で実施したキット間の感度比較

2006/07 シーズンに分離された臨床分離株(AH1N1 亜型、AH3N2 亜型、B 型の 3 種類)それぞれ 1 株を細胞培養後、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、18 キットについて、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。キット間で見られた感度は A/H1N1 亜型については $10^2 \sim 10^3$ 倍、A/H3N2 亜型で $10^1 \sim 10^2$ 倍、B 型で 10 倍(判定可能であったキット間でのみ比較)の違いが認められた。

2009 年に発生した新型インフルエンザウイルス(AH1N1pdm ウイルス)についても、同様に検討を実施した。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。

4. 部位別検出状況

臨床症状ならびに耳鼻咽喉科での診察、外来でのインフルエンザ迅速診断キットによる診断によりインフルエンザと診断した患者の鼻甲介、上咽頭、中咽頭を滅菌綿棒で拭い、それぞれのサンプルについて、RT-PCR 法、リアルタイム PCR 法を用いて、インフルエンザウイルスゲノムの検出を実施した。いずれの部位からもインフルエン

ザウイルスゲノムが検出されたが、発熱後 24 時間以内では上咽頭でウイルス量が最も多く、その後減少した。また、最高体温が 38℃以上のインフルエンザの場合、上咽頭でウイルス量が最も多く認められた。

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に選択されていると考えられる。

採取部位の検討については、38℃以上の発熱を呈したインフルエンザの場合、発熱日を day 0 とすると、day 0-1 の上咽頭ぬぐい液がウイルス量も最も多く、検体採取の部位として適切であると考えられた。ウイルスの増殖は上咽頭で始まり、その後、鼻甲介、中咽頭に広がっていくことが推察された。発熱の早期に検体を採取する場合は上咽頭が望ましいと考えられた。

E. 結論

国内では、20種類以上のインフルエンザ迅速診断キットが市販されており（あるいはされていた）、国内のインフルエンザの診療には不可欠な存在となっている。

感度の高い RT-PCR 法では、適切な検体採取部位の検討は不可能であり、リアルタイム PCR 法を用いたウイルス量の定量が必要であった。

検討したウイルス株はそれぞれ 1 種類ずつであるが、AH1N1, AH3N2 亜型、B 型、AH1N1pdm それぞれについて、キット間で感度が(判定可能であったキット間でのみ比較)異なっていた。AH1N1pdm ウイルスについて、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。

適切な臨床検体採取部位の検討では、上咽頭が最も適切な検体採取部位であることが示唆された。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Itsuki Hamamoto, Nobumasa Yamaguchi, Keiko Tanaka-Taya, Hiroshi Satoh, Tsuguto Fujimoto and Nobuhiko Okabe. Comparison of three clinical specimen types for detection and quantitative analysis of human Influenza A virus by TaqMan PCR. Manuscript preparation.
- 2) 多屋馨子：インフルエンザワクチン. 小児看護. 31(1);35-42, 2008
- 3) 佐藤弘, 多屋馨子: 日本におけるインフルエンザ対策. からだの科学. 259; 134-138, 2008.

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

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)
総合研究報告書

風疹感染診断技術に関する検討

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

研究期間内に得られた研究成果は以下の2点に大別される。1) 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。これらの情報から新しい RT-PCR 法の条件について検討し、現行の検出条件よりも特異性、感度ともに優れた条件を作製した。2) 風疹抗体測定用の体外診断薬キットの感度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、風疹 IgG 国内標準血清の国際単位による値付け、および風疹標準パネル血清収集、整備、評価を行った。

1) 風疹ウイルス遺伝子診断技術の検討

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。現在のところ、2006 年から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なった。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。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、近年日本で流行しているウイルス株の遺伝子配列を解析し、これらに対して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。

B. 研究方法

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、TO-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。

次に、これらの株に加えてWHO標準株を含む39株のE1配列を基に、WHOが推奨する genotype 解析領域(8731-9469 nt)を含む領域を増幅する primer を用いる検出条件1と、これとは別に、 genotype 解析領域をカバーしていないが、WHO標準株を含む約30株のE1配列を基に設計した primer を用いる検出条件2を作製した。標準RNAとして *in vitro* 転写により作製したTO-336株のE1領域をコードする合成RNAおよび国内ワクチン株 To-336 とその親株 (genotype 1A)、94年、01年、02年、03年、04年に当室で分離されたウイルス株 (genotype 1D, 1j) 由来のウイルスRNAを用いて、病原体検出マニュアルに記載されているRT-PCR法(1-step法)の検出条件と、今回設計した primer を用いた検出条件の感度を比較した。

C. 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。

- 標準RNAによる感度は、検出条件1で 10^3 コピー、検出条件2で 10^2 コピー、病原体検出マニュアル法で10コピーであった。ただし、病原体検出マニュアル法では、目的のサイズの近傍を含め、非特異的増幅が複数認められた。
- ウイルス培養上清より抽出したRNAによる感度は、国内のワクチン株が属する genotype 1Aにおいて検出条件1では 10^2 PFU、検出条件2は1PFUであった。80年代後半から90年代中盤にかけて国内で分離された genotype 1Dにおいては検出条件1では10PFU、検出条件2では 10^2 PFUであった。90年代後半から2000年代前半にかけて分離された genotype 1j では両者とも $10 \sim 10^2$ PFU と同程度の感度であった。一方で、病原体検出マニュアル法では、今回使用した全てのウイルスRNAにおいてスメアな非特異的増幅が複数認められ、目的のバンドとの判別が困難であった。

D. 考察

ウイルスゲノムの検出による風疹感染の確認は、コマーシャル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、1)発症初期においては血清中のIgMによる診断より感度が優れている、2)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ため適切な時期に検体の採取が可能である、3)咽頭拭い液からも検出可能であるため、検体採取が比較的容易で、患者の負担も少ないと考えられる、4)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排除に向けての情報として重視している、5)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がある、という点から、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。本研究において、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ところ、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、現行の病原体検出マニュアルとは異なる二種の新しい検出条件を設定し、両者の感度を比較した。その結果、genotype 1A においては検出条件 2 で感度が高いことが示されたが、genotype 1D では検出条件 1 で感度が高く、genotype 1j では両者とも同程度の感度であった。一方で、今回は検討できなかったが、検出条件 2 で用いる primer の配列内には特に clade 2 (genotype 2A, 2B) および 1C に属する株との mismatch が複数存在するため、これらの株を検出できない可能性が考えられた。他方、検出条件 1 で用いる primer は株間における mismatch は少ないため、検出できない genotype は少ないと考えられる。また、検出条件 1 は WHO 推奨の Sequence region を増幅するため、陽性となった場合、迅速に direct sequence による genotype 解析が行えるという利点がある。今後、実用に向けて臨床検体を用いてさらに両者を比較検討する必要があると考えられる。

E. 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した。その結果を踏まえて、新しい風疹ウイルスゲノム検出 RT-PCR 法の条件を作製し、ウイルス RNA における感度を検討した。今後、実用に向けて臨床検体を用いてさらに検討を行う必要がある。

2) 風疹 IgG 国内標準血清と風疹パネル血清の評価

A. 研究目的

先にも述べたが、風疹はワクチンで予防可能な疾患である。したがって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。日本では主に赤血球凝集阻止 (HI) 法、酵素抗体法 (ELISIA) で風疹感染、抗体価の診断がなされているが、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、a) 風疹 IgG 国内標準血清の制定、b) 風疹標準パネル血清収集、整備、評価を目的としている。

B. 研究方法

A) 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 相対力価を各参加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 (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。

B) パネル血清の力価測定

90 検体の血清を収集し、そのうち使用に適切と考えられた 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

a) 風疹 IgG 国内標準血清の国際単位による値付け

各施設の測定力価の χ^2 検定より今回の試験結果が均一でなかったため、加重平均ではなく、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。

b) パネル血清の力価測定

測定した 76 検体の血清のうち、41 検体が定量範囲を超えた。適当な希釈をし、再測定を行う予定である。

D. 考察

日本国内の臨床現場では、HI 法と ELISA 法が混在している状況である。また、ELISA キットについては、製造社間で検量線や表示法が異なるため、臨床現場では抗体価の解釈に混乱が生じている。このため、ELISA キット間での統一表示の指標や HI 法と ELISA 法の相関を示し、適切に換算できる方法を示す必要がある。一方で、検査センターにおける精度管理や風疹抗体測定用の体外診断薬製造メーカーにおける品質管理には標準血清が必要であるが、国際標準血清は入手が困難であるため、国内標準血清の整備が必要である。本研究では、検査施設と共同で、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。また、HI 法と ELISA 法の相関性を検討するため、ヒト血清 76 検体の IgG と HI 価を測定した。今回の ELISA 測定では半数を超える 41 検体で定量範囲を超えたため、再度、適当な希釈を行って測定することとした。これらの結果より、HI 価と ELISA による抗体価との相関を示し、両者の互換値を示し、風しん抗体価の解釈による混乱がなくなる事が期待される。さらに適切な力価の検体を

選んで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。

E. 結論

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。

G. 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.
- Sakata, M., **Komase, K.**, and Nakayama, T. Histidine at position 1042 of the p150 region of a KRT live attenuated rubella vaccine strain is responsible for the temperature sensitivity. *Vaccine* 2009 7:27(2): 234-42.
- 駒瀬勝啓、風疹ワクチンの効果と再感染、臨床とウイルス 2008: 36(1):

2. 学会発表

- 海野幸子、大槻紀之、庵原俊昭、浅