

表1 200検体以上の施設でのインフルエンザキットと採用施設数および陽性割合

診断キット名	陽性割合(%)				
	施設数	平均	標準偏差	最小	最大
エスラインインフルエンザ [®] A&B-N	8	35.87	4.98	27.3	40.2
ホクテムインフルエンザ [®] A/B	5	45.45	16.47	28.6	71.2
クイックナビ [®] TM-Flu	4	41.41	10.82	27.8	52.5
キャベリアFluA+B4	3	46.61	10.24	35.8	56.2
クイックチェイサー [®] -FluA,B	3	26.67	10.47	19.3	38.7
ラビットテストFLUスティック	3	36.81	9.34	27.2	45.8
イムノエースFlu	2	40.42	5.35	36.6	44.2
QuickVueラビット [®] Spinflu	1	44.61		44.6	44.6
スポットケム	1	40.65		40.7	40.7
ラビットテストFlu II	1	30.48		30.5	30.5
全国	31	38.93	10.5	19.3	71.2

表2. 診断キット別陽性割合比較

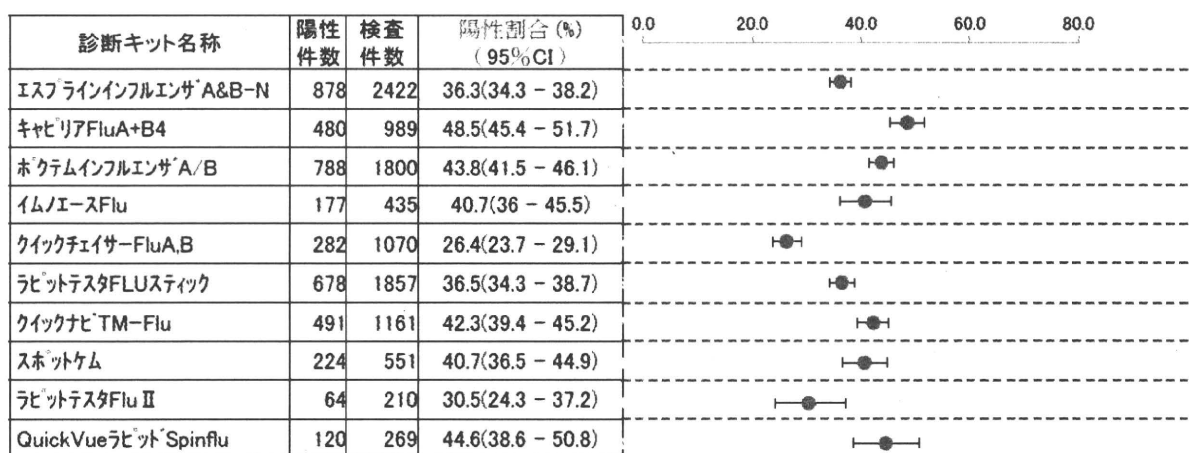
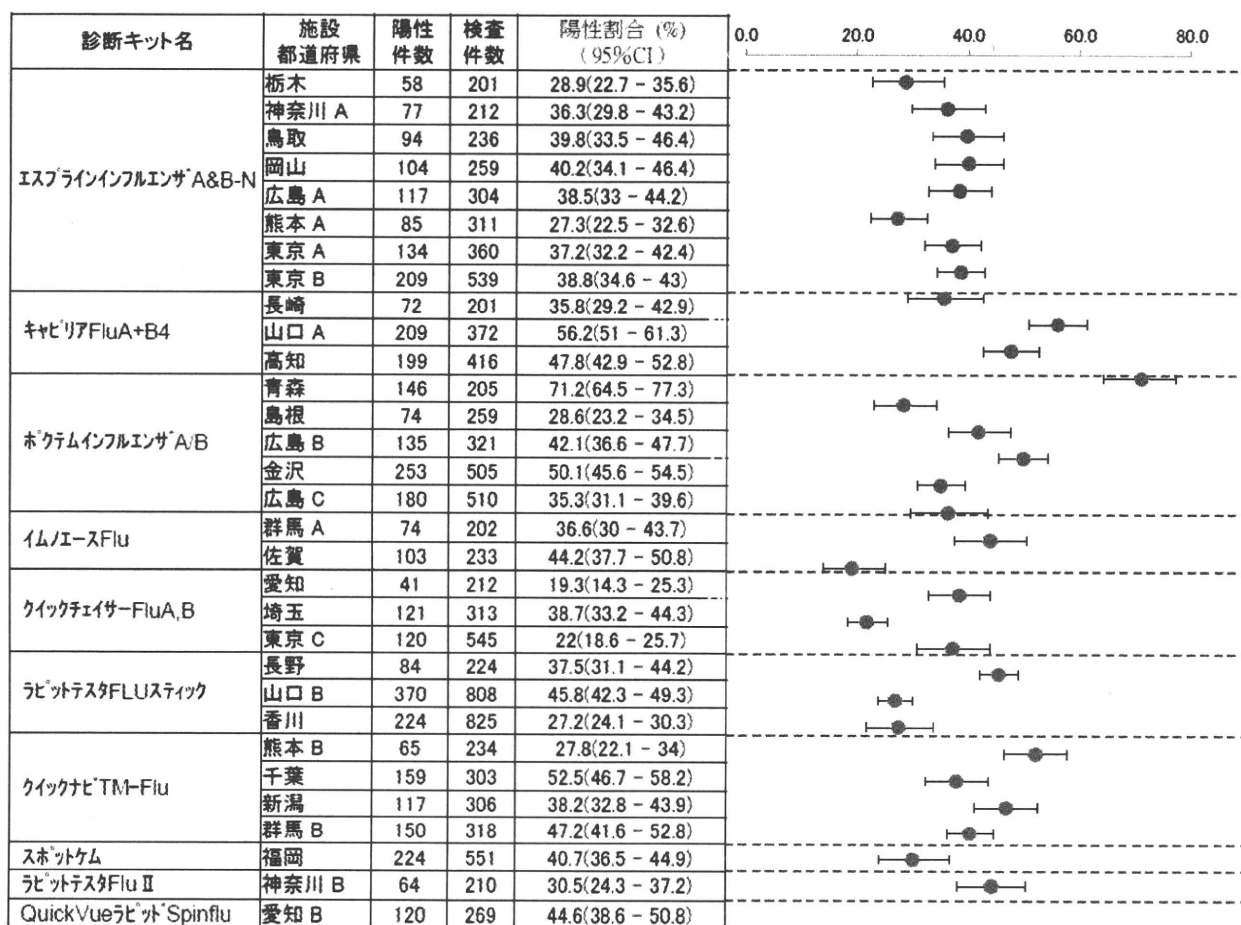


表3 キット毎の陽性割合と分布



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

新型インフルエンザウイルス（A/H1N1pdm）を特異的に検出する
迅速診断イムノクロマトキットの開発

研究分担者 高橋 宜聖（国立感染症研究所・免疫部）
研究協力者 小林 和夫（国立感染症研究所・免疫部）
研究協力者 飛梅 実（国立感染症研究所・感染病理部）
研究協力者 稲野 浩一（デンカ生研株式会社）

研究要旨

日常の診療に有用な免疫クロマトグラフィー法による新型インフルエンザウイルス（2009 A/H1N1pdm）の迅速・簡便診断キットを開発するため、新型インフルエンザウイルスに結合するマウスモノクローナル抗体を作製した。季節性ウイルスに結合せず新型ウイルスのみに結合する抗体の中から、検出感度の最も高い抗体の組み合わせを選択し、診断薬メーカー（デンカ生研株式会社）と国立感染症研究所との共同で、季節性ウイルスと交差せず新型ウイルスのみを検出する免疫クロマトグラフィーキット（検査所要時間：約10分）を開発した。

A. 研究目的

新型インフルエンザウイルスに特異的に結合するマウスモノクローナル抗体を作製し、新型インフルエンザウイルス（2009 A/H1N1pdm）を特異的に検出する迅速・簡便診断キットを開発する。

(2) ELISAによる抗体特異性・感度の検証
ソ連型、香港型の様々な季節性ウイルスの不活化全粒子、あるいは細胞株にて作製した組換え HA、NP タンパクを用いて、ELISA 法により抗体の結合特異性と感度の比較を行った。

B. 研究方法

(1) 新型インフルエンザウイルスに結合するマウスモノクローナル抗体の作製
2009 A/H1N1pdm ウイルスとして A/Narita/1/2009 を使用し、ホルマリン不活化全粒子を BALB/c マウスに2回皮下接種した。尾静脈から不活化全粒子を接種した3日後に脾臓を摘出し、細胞融合によりハイブリドーマを作製した。Narita 株あるいは Brisbane 株（季節性 H1N1）の不活化全粒子を用い、培養上清中の抗体結合性を検証し、Narita 株に結合し、Brisbane 株に結合しない抗体のみを選択した。Narita 株のみに結合するハイブリドーマを限界希釈（2回）によりクローニングし、以後の実験に用いた。

(3) キットの特異性の検証
ソ連型、香港型、新型の3つのウイルス株から不活化全粒子を調製し、バンドの有無を確認した。

倫理面への配慮

病原体を使用する実験は、国立感染症研究所戸山庁舎高度安全実験施設において、国立感染症研究所病原体等安全管理規程に従い実施した。動物実験は、動物実験委員会規程に従い、動物実験委員会の承認を得てから行った。

C. 研究結果

(1) 新型インフルエンザウイルスに結合

するマウスモノクローナル抗体の作製約 3000 ウェルの細胞上清からスクリーニングを行った結果、Narita 株にのみ結合する 29 種類のハイブリドーマを樹立する事に成功した。この中から、増殖力の弱い 5 種類を除く 24 種類について以後の実験に使用した。

(2) ELISA 法による抗体特異性・感度の検証

季節性 H1N1 株 4 株、H3N2 株 4 株、B 型 4 株に対する交差反応性の有無を ELISA 法により検証した結果、23 種類のハイブリドーマは、A/H1N1pdm 特異的に反応する事が確認された。これら 23 種類のハイブリドーマについて抗体を精製し、組換え HA タンパクに対する結合性の有無を測定した結果、17 個のクローンは HA を認識することが明らかとなった。

(3) キットの特異性の検証

迅速診断キットのプラットホーム上で検出感度と特異性の確認を行った結果、NP タンパクに結合する抗体の組み合わせをキットに使用することにより、新型インフルエンザウイルスの特異的かつ高感度な検出が可能となった。HA を認識する抗体の組み合わせでは、十分な感度が得られなかった。

D. 考察

今回、新型インフルエンザウイルス全粒子を免疫し、作製したマウスモノクローナル抗体を利用する事により、季節性ウイルスを認識せず、新型ウイルスのみを認識する免疫クロマトグラフィーキットを開発することに成功した。従来の季節性ウイルス用のキットと同様、抗 NP 抗体を利用することにより最も高い検出感度を得ることが可能となった。この結果は、おそらくウイルス一粒子あたりの NP 発現分子数が、他のタンパクよりも高い事を反映したものと推察される。今後、様々な亜型のインフルエンザウイルスに対する交差反応

性や、抗体のエピトープ構造を解析し、本キットの特異性に関する更なる情報収集に努める予定である。

E. 結論

季節性に反応せず、新型インフルエンザウイルスを認識するマウスモノクローナル抗体を作製し、新型インフルエンザウイルス (2009 A/H1N1pdm) を検出する迅速・簡便診断キットを開発した。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kurosaki, T., Y. Aiba, K. Kometani, S. Moriyama, Y. Takahashi. 2010. Unique properties of memory B cells of different isotypes. Immunol. Rev., 237, 104-116.
- 2) Yuki, N., Y. Takahashi, T. Ihara, S. Ito, T. Nakajima, K. Funakoshi, K. Furukawa, K. Kobayashi, and M. Odaka. 2010. Lack of antibody response to Guillain-Barre syndrome-related gangliosides in mice and men after novel influenza vaccination. J. Neurol. Neurosurg. & Psychiatry Nov 7. [Epub ahead of print]

2. 学会発表

- 1) 高橋宜聖 2007. Protective memory B cells against influenza virus infection in the lungs.千葉大 G-COE シンポジウム. (東京, 12 月)
- 2) 小野寺大志、相澤竜太郎、細野朗、上野川修一、小林和夫、高橋宜聖. 2010. T cell-independent activation of virus-specific memory B cells requires Toll-like receptor (TLR) signaling. 第 14 回国際免疫学会 (神戸, 8 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

各種ウイルス抗体価の互換性およびガンマグロブリン中のウイルス抗体価の検討

研究分担者 庵原 俊昭 （国立病院機構三重病院小児科）
研究協力者 二井 立恵 （白子クリニック小児科）
研究協力者 伊佐地真知子（白子クリニック小児科）
研究協力者 落合 仁 （落合小児科）

研究要旨

ウイルス抗体は測定方法間の互換性が求められている。水痘抗体測定方法間と cytomegalovirus (CMV) 抗体測定方法間の互換性を明らかにするために、水痘抗体測定方法 3 種類 (IAHA 法、A 社 EIA 法、B 社 EIA 法) と CMV 抗体測定方法 2 種類 (A 社 EIA 法、B 社 EIA 法) の互換性の検討を行った。水痘 IAHA 法と A 社の EIA 法との間には有意な相関があり、IAHA 抗体価 (倍) = $1.4 \times$ EIA 抗体価 (EIA 価) の関係があった。B 社の EIA 抗体価と A 社の EIA 抗体価の間にも有意な相関があったが、B 社の陽性閾値は A 社の陽性閾値や IAHA 法の陽性閾値より低値であり、B 社の方法で測定された場合水痘ワクチン接種基準は B 社陽性閾値の 100 mIU/mL よりも高い 200 mIU/mL に設定する方が適切と思われた。次に、A 社と B 社の EIA 法による CMV 抗体測定方法の互換性について検討したが、2 者の間には極めて高い相関が認められ、A 社の抗体価 (EIA 価) $\times 200$ が B 社の抗体価 (倍) に相当した。なお、本邦思春期女性の CMV 抗体陽性率は、A 社では 54%、B 社では 55% であり、妊娠中に CMV に感染し、先天性 CMV 感染症児を出産するリスクが高いことが示された。

A. 研究目的

ウイルス抗体価の測定方法には種々の方法があり、測定方法により抗体価の表示方法が異なっている。WHO は異なった測定方法により測定された抗体価が相互に評価できるように、麻疹、風疹、B 型肝炎などでは国際単位で表示することを勧めている。

昨年度までの研究成果から、麻疹中和抗体 (NT) 価 4 倍は、150 mIU/ml に相当すること、麻疹酵素免疫 (EIA) 抗体 4.0 EIA 価は NT 抗体 4 倍に相当し、麻疹粒子凝集 (PA) 抗体 64 倍に相当することを示し、風疹赤血球凝集抑制 (HI) 抗体 8 倍は 8 IU/ml に、風疹 EIA 抗体 4.0 EIA 価は 8 IU/ml に相当することを示した。また、麻疹の発症予防抗体価は 120 mIU/ml であることから、麻疹 NT 抗体 4 倍、麻疹 EIA 抗体 4.0 EIA 価、麻疹 PA 抗体

64 倍が多くの人々の麻疹発症予防抗体価であること、また風疹の発症予防抗体価は 10 IU/ml であることから、多くの人々の風疹発症予防抗体価は、ラテックス凝集 (LA) 法では 10 IU/ml、HI 法では 16 倍、EIA 法では 5.0 EIA 価であることを示した。

水痘は小児でよく経験する感染症であり、ワクチンで予防できる感染症である。本邦で広く使用されている水痘抗体価測定方法には、免疫付着赤血球凝集 (IAHA) 法と EIA 法があり、EIA 法にも 2 社の測定試薬が広く使用されているが、抗体測定方法の互換性が十分に検討されていない。また、サイトメガロウイルス (CMV) は、本邦での血清疫学が大きく変化しているウイルスであり、先進国では妊婦が感染することで児が発症する先天性 CMV 感染症対策の重要性が指

摘されている。CMVの血清疫学はEIA法で測定されており、本邦では2社のEIA抗体測定試薬が使用されている。

今年度は水痘抗体測定方法の互換性およびCMV抗体測定方法の互換性について検討を行った。なお、水痘抗体価もCMV抗体価も、世界標準血清はなく抗体価の国際単位表示は広く用いられていない。

B. 研究方法

本研究の目的を説明し、水痘抗体価測定の同意が得られた63人を対象に、水痘抗体価をIAHA法とA社のEIA法で測定した。また水痘抗体価およびCMV抗体価測定の同意が得られた91人を対象にA社およびB社のEIA法で抗体価を測定し、互換性を検討した。なお、A社およびB社のEIA抗体測定は、添付文書に従い用手法で測定した。なお、血清抗体価は対数変換すると正規分布するので、2を底とする対数に変換後互換性を検討した。各抗体測定方法の陰性、判定保留、陽性の判定基準を表1に示した。

また、本研究は国立病院機構三重病院倫理委員会で承認を受けて行った。

C. 研究結果

1) 水痘抗体互換性の検討

水痘IAHA抗体価(倍で表示)とEIA抗体価(EIA価で表示)との間には、相関係数 $R=0.8897$ と有意の正の相関が認められ($P<0.0001$)、相関直線は、 \log_2 IAHA抗体価 $=1.04 \times \log_2$ EIA抗体価 $+0.51$ であった。相関直線から求められる両抗体価の間には、IAHA抗体価(倍) $=1.4 \times$ EIA抗体価(EIA価)の関係が認められた(IAHA4倍は2.9EIA価に相当)。

IAHA抗体価の陰性、陽性とEIA価の陰性、判定保留、陽性との関係について検討した。IAHA抗体価 <2 倍の血清2検体は1検体が陰性、他の1検体が判定保留となり、IAHA抗体価4倍以上の陽性検体61検体はすべてEIA法で4.0EIA価以上の陽性を示した(表2)。EIA抗体価の判定保留を陰性に含めると、IAHA法を基準としたとき、

EIA法の陽性一致率100%、陰性一致率100%と極めて良好な相関が認められた。

次にA社のEIA法で測定された抗体価(EIA価で表示)とB社のEIA法で測定された抗体価(mIU/mlで表示)の互換性について検討した。A社の抗体価とB社の抗体価との間には、相関係数 $R=0.924$ と有意の相関があり($P<0.0001$)、相関直線は \log_2 B社抗体価(mIU/ml) $=0.85 \times \log_2$ A社抗体価(EIA価) $+6.57$ の関係があり、相関直線から求められる両抗体価の間にはA社抗体価(EIA価) $\times 64=B$ 社抗体価(mIU/ml)の関係があった。また、この数式からIAHA(倍) $\times 46=B$ 社抗体価(mIU/ml)の関係が算出された。

A社の陰性、判定保留、陽性とB社の陰性、判定保留、陽性との関係を検討した(表3)。A社の陰性1検体はB社でも陰性であったが、A社の判定保留4検体はすべてB社では陽性であり、A社の陽性87検体はすべてB社では陽性であった。判定保留を陰性に含めると、世界で広く使用されているB社を基準にしたとき、陽性一致率95.7%、陰性一致率100%であった。

2) CMV抗体互換性の検討

A社のEIA法で測定された抗体価(EIA価で表示)とB社のEIA法で測定された抗体価(倍で表示)の互換性について検討した。A社の抗体価とB社の抗体価の間には、相関係数 $R=0.9793$ と有意の相関があり($P<0.0001$)、相関直線は \log_2 B社抗体価(倍) $=1.28 \times \log_2$ A社抗体価(EIA価) $+7.84$ の関係が認められ、相関直線から求められる両抗体価の間にはEIA価 $\times 200=$ 倍の関係があった。

A社の陰性、判定保留、陽性とB社の陰性、判定保留、陽性との関係を検討した(表4)。A社の陰性41検体はB社では40検体が陰性、1検体が判定保留であり、A社の判定保留1検体はB社では陽性、A社の陽性50検体はすべてB社では陽性であった。判定保留を陰性に含めると、B社を基準にしたとき、陽性一致率100%、陰性一致率98%であった。なお、思春期女性の

CMV 抗体陽性率は、A 社では 54.3%(50/92)、B 社では 55.4%(51/92)と、大きな差を認めなかった。

D. 考察

血清抗体価は、ワクチン予防可能疾患ではワクチン接種基準の設定に用いられ、ワクチンで予防できない疾患では陰性者に対する感染予防対策が図られるなど、感染予防対策に重要な役割を果たしている。本邦では水痘は IAHA 法、EIA 法（2 社あり）で測定され、CMV は EIA 法（2 社あり）で測定されている。抗体測定方法の中でも EIA 法は多量の検体を短時間で測定できる利点があり、血清疫学研究では広く用いられている。

今回の水痘抗体価の検討では、IAHA 法と A 社の EIA 法との間には極めて良好な相関が認められた。一方、A 社の EIA 法と B 社の EIA 法との間では、B 社は A 社と比較して陽性閾値が低めであり、A 社で判定保留とされた 4 検体はすべて B 社では陽性と判定された。また、計算上 A 社の EIA 価の 64 倍が B 社の mIU/ml に相当しており、A 社の判定保留閾値である 2.0~4.0EIA 価は、計算上も B 社の陽性閾値に含まれる結果であった。

なお、水痘抗体価は世界的に発症予防抗体価が決定されておらず、本邦では IAHA 抗体 4 倍以上、A 社 EIA 抗体価 4.0EIA 価以上を発症予防レベルとして感染対策が行われている。今回の検討から、A 社 EIA 価 4.0EIA 価は B 社で 256mIU/ml に、IAHA 抗体価 4 倍は B 社で 184mIU/ml に相当する。この結果から、B 社の陽性閾値 100mIU/ml は、本邦で行われている水痘発症予防対策の抗体価よりも低く設定されており、B 社を用いた時の水痘ワクチン接種基準は、陽性閾値を用いるのではなく、200mIU/ml を用いる方が本邦の基準に近いと判断された。

2 社の EIA キットを用いて CMV 抗体価を測定したが、世界的に使用されている B 社を基準としたとき、陽性一致率 100%、陰性一致率 98%と極めて高い相関が認められ

た。EIA 法を用いて CMV 抗体の血清疫学を行う際には、どちらを用いても大きな違いはないと判断された。実際、今回の検討でも思春期女性を中心とした CMV 抗体陽性率は、A 社のキットで 54.3%、B 社では 55.4%と大きな差を認めなかった。

20 年以上前、本邦では多くの子どもは出生時に CMV に感染し、抗体保有率が 90%以上と言われていたが、近年若い人たちの CMV 抗体価の保有率の低下が示されている。今回の検討でも用いた検査試薬による抗体陽性率に大きな差はなく、本邦妊娠可能年齢女性の CMV 抗体保有率は 55%と急速に低下していた。多くの先進国と同様に、本邦も妊婦の CMV 感染予防対策が重要な課題であることが明らかになった。

E. 結論

水痘抗体測定方法 3 種類と CMV 抗体測定方法 2 種類の互換性の検討を行った。水痘 IAHA 法と A 社の EIA 法は有意な相関があり、IAHA 抗体価（倍） $=1.4 \times$ EIA 抗体価（EIA 価）の関係があった。B 社の抗体価と A 社の抗体価も有意な相関があったが、B 社の陽性閾値は A 社の陽性閾値や IAHA 法の陽性閾値より低値であり、B 社の方法で測定された場合、水痘ワクチン接種基準は 200mIU/ml に設定する方が適切と思われた。また、A 社と B 社の EIA 法による CMV 抗体測定方法の間には極めて強い相関が認められた。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 庵原俊昭、中野貴司、落合 仁、渡辺正博、二井立恵、伊佐地真知子. 2010. 麻疹・風疹血清疫学と麻疹風疹混合 (MR) ワクチンによる抗体反応からみた今後の麻疹および風疹対策. 日本小児科医会会報 39:120-123.
- 2) 庵原俊昭. 2010. 基礎疾患をもつ人への予防接種. 日本小児アレルギー学会雑誌 24:193-202.
- 3) 庵原俊昭. 2010. ワクチンと免疫. 小

児保健研究 69:830-832.

2. 学会発表

- 1) 庵原俊昭、中野貴司、落合 仁、渡辺正博、二井立恵、伊佐地真知子. 2010. 麻疹対策：抗体測定方法による発症予防レベルと感染予防レベルの検討. 第51回日本臨床ウイルス学会（高松、6月

- 2) 庵原俊昭. 2010. 抗体検査：目的・結果・次にすることは？第42回日本小児感染症学会（仙台、11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

(表1) 測定方法による水痘抗体、CMV抗体の判定基準

	測定方法	単位	陰性	判定保留	陽性
水痘	IAHA	倍	<2		≥2
	EIA (A社)	EIA 価	<2.0	2.0<4.0	≥4.0
	EIA (B社)	mIU/ml	<50	50<100	≥100
CMV	EIA (A社)	EIA 価	<2.0	2.0<4.0	≥4.0
	EIA (B社)	倍	<250	250<500	≥500

(表2) 水痘 IAHA 抗体と EIA 抗体 (A社) との相関

		EIA 抗体 (EIA 価)						合計	
		<2	2<4	4<8	8<16	16<32	32<64		64<128
IAHA	<2 倍	1	1						2
	2 倍								0
	4 倍			2					2
	8 倍			4					4
	16 倍				9	2			11
	32 倍			1	5	12	3		21
	64 倍					3	9	2	14
	128 倍						5	3	8
	256 倍								
	512 倍							1	1
	合計	1	1	7	14	17	17	6	63

(表3) 水痘 EIA 抗体 : A 社と B 社の相関

		B 社	陽性	判定保留	陰性	合計
A 社	陽性		87	0	0	87
	判定保留		4	0	0	4
	陰性		0	0	1	1
	合計		91	0	1	92

陽性一致率=95.6%
陰性一致率=100%
全体一致率=95.7%

(表4) CMV の EIA 抗体 : A 社と B 社の相関

		B 社	陽性	判定保留	陰性	合計
A 社	陽性		50	0	0	50
	判定保留		1	0	0	1
	陰性		0	1	40	41
	合計		51	1	40	92

陽性一致率=98.0%
陰性一致率=100%
全体一致率=98.9%

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）
研究協力者 駒瀬 勝啓（国立感染症研究所ウイルス第三部）
大槻 紀之（国立感染症研究所ウイルス第三部）
森 嘉生（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 の WHO 国際標準血清に対する相対力価を再測定し、平行線定量法により 100 IU/ml と決定した。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）を決定し、HI 価との相関を解析した。

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可能性がある。風疹は有効なワクチンが存在するため、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

前年度、国内検査施設 7 施設に依頼して決定した国際標準血清 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（100IU/ml）について、依頼した 7 社のうち 5 社に再測定を依頼し、決定した相対力価の再現性を確認した。

2) パネル血清の力価測定

前年度に測定した 76 検体の血清のうち、41 検体が定量範囲を超えたため、再測定を同じ国内検査施設 5 社に依頼した。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。また、同検体における HI 価との相関性を検討した。

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

検査施設 5 社による再測定の結果は前回の 89.4 IU/ml に対し 85.3 IU/ml であり、ほぼ同等の結果が得られた。したがって、前回 7 社による国内標準血清候補 JPN'03 の相対力価 100 IU/ml は妥当な値であると考えた。

2) パネル血清の力価測定

定量範囲を超えた 41 検体の再測定を行い、全てのパネル血清候補の WHO 国際標準血清に対する相対力価を決定した。同時に測定した HI 価との相関を解析したところ、両者の間に良好な相関がみられ ($R^2=0.897$)、HI 価 16 倍以上においては $\text{Log}_2(\text{IU 値}) \cong 0.9 \text{Log}_2(\text{HI 価})$ の変換が可能であると考えられた。また、外挿値より Cut off 値である HI 価 8 倍はおおよそ 6.4 IU/mL に相当すると考えられた。

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体外診断薬の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 法の相関を解析し、両者に良好な相関があることを示した。これらの結果より、HI 価と ELISA の互換値を示すことができ、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。今後は今回相対力価を決定しパネル血清候補から適切

な力価の候補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できるような整備したいと考えている。

E. 結論

風疹 IgG 国内標準血清候補およびパネル血清候補の国際標準血清に対する相対力価を決定した。また、HI 価と ELISA による相対力価 (IU/ml) の相関から、両者の変換式を得た。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Suzuki J., Goto H., Komase K., Abo H., Fujii K., Otsuki N., **Okamoto K.**, 2010. Rubella virus as a possible etiological agent of Fuchs heterochromic iridocyclitis. Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. 248(10):1487-91
- 2) **Okamoto K.**, Fujii K., Komase K. 2010. Development of a novel TaqMan real-time PCR assay for detecting rubella virus RNA. J. Virol. Methods 168(1-2):267-71

2. 学会発表

- 1) **岡本貴世子**、大槻紀之、駒瀬勝啓、風疹ウイルス遺伝子検出による実験室診断技術の改良、第 58 回日本ウイルス学会 2010.11.7-9、徳島

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

A型肝炎ウイルス体外診断薬の再評価に関する研究

研究分担者 大西 和夫（国立感染症研究所・免疫部）

研究要旨

急性 A 型肝炎体外診断薬として、現行では血清中の抗 A 型肝炎ウイルス（HAV）抗体を検出するキットが複数市販されている。この抗 HAV 抗体検出キットの感度・特異性再評価方法のための技術基盤、ならびに近い将来新世代キットとしての登場が予想されるウイルス抗原検出系キットの新しい技術基盤について詳細に検討することを目的に研究し、同時に現行の診断薬キットの再評価を進めた。本研究で既に確立した複数の抗 HAV モノクローナル抗体を用いることにより、HAV 抗原捕捉 ELISA 系を構築することができた。現時点では核酸増幅検査（NAT）と比較すると感度が劣るが、抗原の安定性などの点で NAT にはない利点もあり、さらに改良を進める。現行の抗 HAV-IgM 抗体検出キットの性能評価を行った結果、いくつかの国内血清検体に対する測定値がキット間で乖離する例を認めた。この乖離は陽性陰性判定を覆さないが軽微ではなく、各キットの測定原理により HAV 国内流行株を検出する感度が異なっていることを示唆する。このことを踏まえて、上市されている各キットの国内流行株検出性能について今後監視する必要がある。

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 週間の潜伏期間ののち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し、その発生状況は衛生環境に左右されることから、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。急性 A 型肝炎の臨床診断ならびに疫学調査のための体外診断薬として、現行では血清中の抗 HAV 抗体を検出するキットが複数市販されている。これらのキットは数年ごとに感度・特異性の向上が図られ、新しいバージョンに置き換わっている。これらの改良の技術的基礎を把握することが市販されるキットの品質を担保する上で必要不可欠である。さらに、次世代キットとして血清中の HAV 抗原を検出するキットの上市が予測されるがこの技術的基盤についても詳細に検討しておくことが重要である。これらの技術の基礎と

なる HAV に対する免疫反応について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。

B. 研究方法

1) HAV 抗原捕捉 ELISA 系の構築；不活化 HAV（遺伝子型 1a, 1b, 3b）をマウスに免疫して確立した多数のハイブリドーマをその反応性から 4 群に分類した。各群の代表的なハイブリドーマを選び、無血清培地で培養し、プロテイン G クロマトグラフィーを用いて抗体を精製後、必要に応じてビオチン化標識または酵素標識した。各群のモノクローナル抗体を組み合わせてサンドイッチ ELISA 系を作成し、HAV 抗原検出について抗原濃度、抗体濃度、抗体の組み合わせ、抗体標識法などの諸条件を検討して最適化を行った。血清中の HAV を検出する核酸増幅検査（NAT）は、食監発第 0816001 号「ふん便及び食品中の A 型肝炎ウイルスの

検査法について」の方法を血清用に改良して行った。

2) 抗 HAV-IgM 抗体検出キットの性能評価；抗 HAV-IgM 陽性血清（血漿）検体として感染研免疫部が保有する国内血清検体および混合力価パネル（BBI 社）とセロコンバージョンパネル（BBI 社）を用いて上市されている抗 HAV-IgM 抗体検出キットにより抗体力価を測定し比較した。

倫理面への配慮

研究に使用する HAV 抗体陽性血清の収集については国立感染症研究所・ヒトを対象とする医学研究倫理審査委員会の承認を既に受けている。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 抗体価と HAV 抗原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。血液の採取は、診断時もしくは主治医の判断で20ミリリットル以下の提供を受ける。動物実験に関しては国立感染症研究所・動物実験委員会の承認を受けて行う。

C. 研究結果

1) HAV 抗原捕捉 ELISA 系の構築；本研究で確立した新規モノクローナル抗体を組み合わせて6系統の HAV 抗原捕捉サンドイッチ ELISA 系を構築した。検出系はビオチン化抗体に対して過酸化酵素 (HRP) 化ストレプトアビジンを用いた発色法とした。不活化 HAV ウイルス粒子を正常ヒト血清で段階希釈してそれらの感度を求めたところ、検出限界は 300-800pg/mL ($\sim 10^5$ pfu/mL) であった。同じ検体を核酸増幅試験(NAT)で測定すると検出限界は 10pg/mL ($\sim 10^4$ pfu/mL) 以上であり、1～2オーダーの差がある。

実際のウイルス血症を捉える実験として、HAV 抗体混合力価パネル血清（8 検体）を測定した。核酸増幅試験(NAT)による測定では、このパネル血清中の2 検体に HAV ウイルス RNA が検出され、ウイルス血症を起こしていることが示された。今回構築した

HAV 抗原捕捉サンドイッチ ELISA はこの2 検体を陽性とした。さらに、NAT 陰性の2 検体が陽性となった。このことの原因として、ウイルスゲノムの不安定性（後述）による場合と、ELISA 系の非特異的反応による場合が考えられ、今後の検討を要する。

2) 抗 HAV-IgM 抗体検出キットの性能評価；これまでの本研究で、上市されている HAV 抗体診断キット（IgM 型ならびに IgG 型）の一部についてその性能を検討してきた結果、それらの良好な成績を確認しているが、新規国内流行株についての感度・特異性についての研究は未だに不十分でありその検討を進める必要があった。今回、上市されている2社（A社とB社とする）の抗 HAV-IgM 抗体検出キットについて国内検体を含む血清パネルを測定したところ一部の検体においてその測定値に乖離を認めた。測定は国内検体10 検体、混合力価パネル25 検体（海外検体）、セロコンバージョンパネル5 検体（海外検体）に対して行った。このうち、国内検体3 例およびセロコンバージョンパネル陽性検体の計4 検体において、A社キットとB社キットによる測定値が大きく乖離した。すなわち、A社のキットでは測定値が約50%低下した。それらを除く検体の測定値は乖離せず、測定値の相関性は良好であった。このことは、A社のキットでは、乖離した4 検体の HAV 感染例でのみ抗 HAV-IgM 抗体を検出する感度が低下していることを示し、この4 例の感染例における HAV 株の型に特異的な現象であることが予想された。

D. 考察

これまでほとんど試みられなかった HAV 抗原捕捉 ELISA 系を構築することが出来た。これまで本研究で確立した新規抗 HAV モノクローナル抗体を用いた HAV エピトープの解析の結果、それらを4 群に分類することが出来た。この4 群の代表的なモノクローナル抗体を組み合わせて6 系統の HAV 抗原捕捉 ELISA 系を確立した。

論文報告によれば、HAV ウイルス血症は

発症時の ALT 増加にやや先行して起こり、そのウイルス力価は 10^4 - 10^5 pfu 程度であるとされる。

今回測定した HAV 抗原捕捉 ELISA 系の検出感度は数百 pg/mL ($\sim 10^5$ pfu/mL) であり、ウイルス血症を辛うじて捉えることの出来る感度である。この点については、検出系に蛍光試薬を用いることにより感度を 1 オーダー (約 10 倍) 上げることが出来、それにより克服できると考える。

HAV ウイルスのゲノムは+鎖 RNA であり、血清検体の保存状態が悪いと RNase により分解されるため、NAT による検出には注意を要する。これに対して HAV 抗原捕捉 ELISA 系では HAV 抗原 (タンパク質) を検出するため検出条件が NAT に較べて安定である利点がある。

昨年 (2010 年) 5 月に国内で初の輸血による HAV 感染例が確認された。また、海外に於いても輸血による HAV 感染に対して警鐘が鳴らされている。これまでのところ、HAV ウイルス血症を検出する体外診断薬は上市されていないが、HIV や HBV の一部の体外診断薬ではウイルス抗体とウイルス抗原を同時に検出するいわゆる第四世代の体外診断薬の販売が始まっており、HAV 体外診断薬も近い将来、第四世代製品が開発・上市されることが望まれる。この点において、今回確立した HAV 抗原捕捉 ELISA 系は、免疫学的な HAV 抗原検出技術の科学的根拠の理解に貢献すると考える。

抗 HAV-IgM 抗体検出キットの性能評価を行った結果、1 社の抗 HAV-IgM 抗体検出キットについて国内検体を含む血清検体の測定値が他社のものより低値を示し、乖離する例を認めた。これは、このキットの測定方法が、一部の HAV 流行株に対して最適化されていないためと考えられた。おそらく、キットの測定原理のうち、免疫反応に用いられる不活化 HAV 粒子の型が、乖離した検体の感染 HAV の型と一致しなかったことが原因と考えられる。

昨年 (2010 年) 春に、国内での急性 A 型肝炎の集団感染例が一過性に増加した。こ

の時の分子疫学的調査から、国内に流行する HAV 株は大きく 3 群に分類されることが示された (参考文献)。すなわち、日本に比較的古くから存在する 1A-1 型、最近フィリピンから由来した 1A-2 型、韓国から由来した 3A 型である。これらのうち、最近国内に移入した 1A-2 型と 3A 型についてはその抗原性が詳しく解析されていない。

上市されている抗 HAV 抗体検出キットの新規流行株に対する検出性能を監視することが必要である。

E. 結論

本研究で確立した新規モノクローナル抗体を組み合わせて 6 系統の HAV 抗原捕捉サンドイッチ ELISA 系を構築した。検出感度は 300-800pg/mL ($\sim 10^5$ pfu/mL) であった。今後検出系を蛍光法に変えて感度を上げ改良する。これにより、近い将来開発される第四世代 HAV 体外診断薬の技術基盤の理解に貢献する。

抗 HAV-IgM 抗体検出キットの性能評価を行った結果、国内血清検体を含む検体の測定値が他社のキットと較べて低値を示し、乖離する例を認めた。これは、このキットの測定方法が、一部の HAV 流行株に対して最適化されていないためと考えられた。今後、HAV 国内流行株に対する各社キットの検出性能を監視する必要がある。

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
3. その他 なし

(参考文献)

病原微生物検出情報月報 (IASR)
Vol. 31 p. 287-289: 2010

「2010 年春季に日本で多発した A 型肝炎の分子疫学的解析」

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

ウイルスの体外診断薬のための国内標準品の計画的な整備に関する研究

研究分担者 水澤 左衛子（国立感染症研究所）

研究要旨

ウイルスの検出を目的とした体外診断薬の再評価には国際ハーモナイゼーションの点から国際標準品またはそれに準拠した国内標準品を用いることが望ましい。本研究においては、WHO 国際標準品等の整備に関する最新の動向を把握し、国内標準品の整備計画に反映させることを目的とする。2010年のECBSにおいて第一次HCMV-NAT国際標準品と第一次T. cruzi抗体標準パネルが承認された。新たにHBV-DNA国際標準品の更新他6件の国際標準品とパネルを作製することが承認された。国立感染症研究所は国際共同研究に参加し、HBV genotype (HBsAg)パネル、HEV-RNA国際標準品、HIV-RNA国際標準品、EBV-DNA国際標準品の候補品を測定して結果を報告した。新たにHBV-DNA国際標準品更新のための共同研究に参加することになった。HEV-RNAのWHO国際標準品作製のための国際共同研究において日本の国内標準品の作製を同時に進めている。本共同研究により国際標準品の制定と同時に高品質な国内標準品を制定することが期待される。

A. 研究目的

ウイルス検出を目的とした体外診断薬の技術の進歩は著しく、国内外メーカーが製造する体外診断薬が世界中で使用されている。国際ハーモナイゼーションの点から、国内で使用されている体外診断薬の再評価に用いる国内標準品や国内標準パネルはWHO国際標準品に基づいて力価を表示し、国内外の疫学的動向と技術の進歩を考慮して作製することが重要である。本研究においては、WHO国際標準品等の整備に関する最新の動向を把握し、国内標準品の整備計画に反映させることを目的とする。

現在、HEV-RNAのWHO国際標準品作製のための国際共同研究において日本の国内標準品の作製を同時に進めている。その経験を踏まえて、利点と解決すべき点とを明らかにする。

B. 研究方法

1. 第17回IPFA/PEI Workshop(2010年5

月)と第3回SoGAT-CV会議(2011年1月)への出席、及び、WHO生物製剤標準化に関する専門家委員会(ECBS, 2010年10月)の議案書のレビューによって、WHO国際標準品と標準パネルの整備に関する最新の情報を収集した。

2. 国際標準品作製のための共同研究に国立感染症研究所が参加協力した。

3. ドイツのポールエーリッヒ研究所(PEI)と感染症研究所が協力して行っているHEV-RNAのWHO国際標準品と日本の国内標準品のための共同研究を例に、双方にとって共同研究を行う利点と解決すべき問題点を考察した。

倫理面への配慮

該当しない。

C. 研究結果

1. 体外診断薬のための国際標準品整備の動向(表1)

WHO が 2007 年から推進してきた「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 年計画」が 2009 年に改定された。2009 年の改定計画及び 2009 年と 2010 年の ECBS に提案された国際標準品と標準パネルをまとめて表 1 に示す。今回の ECBS において第一次 HCMV-NAT 国際標準品と第一次 T. cruzi 抗体標準パネルが承認された。前者については、体外診断に用いる臨床検体の性状を考慮した標準品であること (commutability) を示すことと追加の安定性試験結果を示すことを条件に承認され、第 3 回 SoGAT-CV 会議において追加要件の結果が報告された。

新たに HBV-DNA 国際標準品の更新他 6 件の国際標準品とパネルを作製することが承認された。

2. WHO 国際標準品および標準パネル作製のための国際共同研究への本邦からの参加協力

国立感染症研究所では、平成 20 年度から、体外診断薬委員会を通じて国際標準品等の作製のための国際共同研究に参加する体制を整備して協力してきた。感染研が共同研究に参加した標準品のうち、今回の ECBS で HCMV-NAT 国際標準品が承認された。また、HBV genotype (HBsAg) パネル、HEV-RNA 国際標準品、HIV-RNA 国際標準品、EBV-DNA 国際標準品の候補品を測定して結果を報告した。今年度は新たに HBV-DNA 国際標準品更新のための共同研究に参加することになった。

3. HEV-RNA の WHO 国際標準品と日本の国内標準品作製のための共同研究

国際標準品に準拠した国内標準品を作製するためには国際標準品の入手が不可欠であるが、国際標準品が制定されてから交付を受けて国内標準品を作製すると更に 1-2 年を要することが問題であった(図 1)。もし、国際標準と国内標準品の力価測定を共同で行うことができれば、国際標準品制定とほぼ同時に国内標準品を制定し、国内

に交付することが可能になる。2009 年にドイツのポールエーリッヒ研究所 (PEI) の Dr. Baylis の提案によって、HEV-RNA の WHO 国際標準品と日本の国内標準品を共同して作製することが実現した。二つの候補品はそれぞれ由来の異なる陽性血漿を原料にし、ISO17511:2003 取得施設である Greiner Diagnostic AG 社 (スイス) に委託して凍結乾燥した。国際共同研究には日本からの 6 施設も参加し、世界各国からの参加施設に対して WHO 国際標準品候補品と日本の国内標準品候補品とを配布し、同時に測定することによって、国際標準品と日本の国内標準品の力価 (IU 表示) を決定することになった。既に、測定は終了し、Dr. Baylis が共同研究の結果を第 22 回 SoGAT-BV 会議(2011 年 4 月)で報告する予定である。

D. 考察

1. 国際標準品の作製は EBCS の承認を以って実施に移されるものであるから、毎年 10 月に開催される ECBS の議案書を事前に検討し、日本の担当者を決めて国際標準品の担当者と連絡を取れば、国際標準品の作製に関する最新で確実な情報交換が可能である。しかし、個々の共同研究の詳細についてはワーキンググループである SoGAT 会議において科学的な討論をすることが重要である。

2. 今回の HEV-RNA 標準品作製の経験から、共同研究による国内標準品の作製には次の利点を挙げることができる。①国際標準品とほぼ同時に制定できる。②実績のある多数の施設で測定するため、正確な値付けが期待できる。③ISO17511:2003 取得施設で凍結乾燥加工した候補品を製造することができた。一方、国際標準品の作製においても次の利点がある。①スクリーニングを実施している日本赤十字以外では入手困難な陽性血漿の提供を受けた。②一般に、国際標準品制定のための共同研究においては国際標準品のほかに由来の異なる検体を同時に測定することが求められているので、

日本の国内標準品をもう一つの検体として使用することが出来た。問題点としては、感染性のある国内標準品の凍結乾燥の委託先が国内では見つからないことである。常に、国際標準品の担当者の協力を得て海外で製造できるとは限らない。もし、協力を得られたとしても、日本の経理処理は海外業者には理解しにくい。また、日本の会計年度を跨いで候補品の製造を委託する必要が生じた場合の対策も必要である。

E. 結論

1. 2010 年の ECBS において第一次 HCMV-NAT 国際標準品と第一次 T. cruzi 抗体標準パネルが承認された。新たに HBV-DNA 国際標準品の更新他 6 件の国際標準品とパネルを作製することが承認された。
2. 感染研が共同研究に参加した HCMV-NAT 国際標準品が承認された。また、HBV genotype (HBsAg) パネル、HEV

RNA 国際標準品、HIV-RNA 国際標準品、EBV-DNA 国際標準品の候補品を測定して結果を報告した。新たに HBV-DNA 国際標準品更新のための共同研究に参加することになった。

3. HEV-RNA の WHO 国際標準品作製のための国際共同研究において日本の国内標準品の作製を同時に進めている。候補品の測定が終了した。高品質な国内標準品の迅速な作製が期待できる。

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
3. その他 なし

表1. WHO国際標準品作製の動向

MEETING RECOMMENDATIONS: PRIORITY SETTING FOR DEVELOPMENT OF WHO BIOLOGICAL REFERENCE PREPARATIONS		
2010 ECBS	2009 ECBS	
<p>(2011承認予定) ECBS承認 (2011承認予定) ECBS承認</p>	<p>標準品承認 標準品承認 標準品承認</p> <p>作製承認 作製承認</p> <p>作製承認 作製承認 作製承認 作製承認</p>	<p>PROPOSALS TO ECBS FOR ESTABLISHMENT OF WHO BRPs</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ - HIV-2 RNA (proposed 1st International Standard/2009) ○ - HBV genotype panel: NAT tests (1st International Reference Panel/2009) ○ - B19V genotype panel (proposed 1st International Reference Panel/2009) ○ - HBV genotype panel: HBsAg tests (1st International Reference Panel/2010) ○ - CMV DNA (1st International Standard/2010) ○ - EBV DNA (1st International Standard/2010) - Anti-T. cruzi antibody panel (proposed 1st International Reference Panel/2010) <p>PROPOSALS TO ECBS FOR ENDORSEMENT OF NEW PROJECTS</p> <ul style="list-style-type: none"> - HCV genotype panel (proposed 1st International Reference Panel/2009) - HCV core antigen (proposed 1st International Standard/2009) - HDV RNA (proposed 1st International Standard/2009) - HIV-1 genotype panel (proposed 2nd International Reference Panel/2010) - DENV 1-4 RNA for NAT (proposed 1st International Reference Panel/2010) - Anti-Toxoplasma IgM standard (proposed International Standard 2009) - Toxoplasma gondii (proposed 1st International Standard/2009) - Blood-borne bacteria reference strains (proposed 1st International Reference Panel/2009) <p>The following projects for the development of WHO BRPs need further discussion and will be included in the agenda of forthcoming WHO CCs meetings:</p> <ul style="list-style-type: none"> - HBsAg standard, replacement - Anti-HCV antibody panel - Anti-CMV antibody standard (IgG/IgM) ○ - HEV RNA (1st IS) - Anti-HTLV-1/2 antibody panel (<i>Ref Panel</i>) <p>- other Flavi-, arthropod-borne, hemorrhagic fever viruses (WNV RNA, Anti-DENV, Chikungunya virus and Japanese encephalitis virus)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Preparations for HHV-8 antibodies and HHV-8 DNA - BK DNA, JC DNA (<i>1st IS</i>) - Anti-T. brucei antibody BRP - Anti-Leishmania antibody panel - Anti-Babesia spec antibody panel - Anti-Plasmodium species panel - TSE blood preparations
<p>(2011承認予定)</p>	<p>作製承認 作製承認</p>	<p>PROPOSALS TO 2009 ECBS FOR ENDORSEMENT OF NEW PROJECTS</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ <i>West Nile Virus RNA (1st IS)</i> ○ <i>HIV-1 RNA (3rd IS)</i>
<p>作製承認</p> <p>作製承認 作製承認 作製承認</p>	<p>再検討</p>	<p>PROPOSALS TO 2010 ECBS FOR ENDORSEMENT OF NEW PROJECTS</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ -HBV DNA (3rd IS) -HCV RNA (4th IS) -HHV-6 NAT (1st IS) -Adenovirus NAT (1st IS) ○ -Mycoplasma NAT (1st IS) - Anti-Babesia spec antibody (1st panel) Chikungunya RNA (1st panel)

○ 国立感染症研究所が共同研究に参加

図1. WHO国際標準品の制定・更新

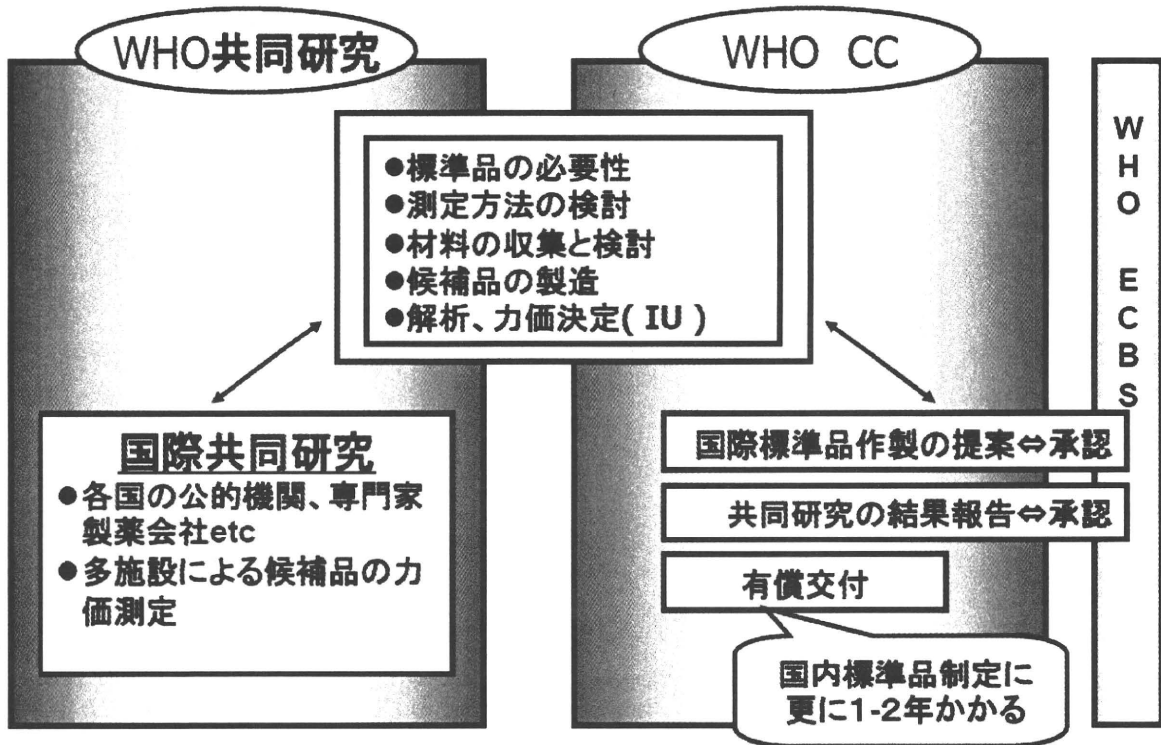


表2. HEV-RNA国際標準品と日本の国内標準品の共同研究計画

	WHO国際標準品	国内標準品
2009.5	標準品作製をSoGATに提案(ブタの胆汁) Dr. Baylis (PEI)	陽性血漿の譲渡を日赤に依頼
2009.10	WHO ECBSで国際標準品の作製を承認	
2009.12-2010.3	日赤が陽性血漿を提供 第一次国際共同研究 20施設が参加 増幅領域: ORF2/ORF3が良い 原料血漿: HRC HE104 (WHO標準品)	国際標準品の共同研究において、日本の国内標準品候補品の評価も同時に行うことになる。 原料血漿 JRC HE3 (国内標準品)
2010.6-8	候補品の製造、1953本 Greiner Diagnostic AGにて分注、凍結乾燥	候補品の製造、1080本 PEIを介してGD社にて分注、凍結乾燥
2010.11-2011.3	第二次国際共同研究 参加施設: 20施設+(日本の施設)+? 検体: 国際標準品候補品と日本国内標準品候補品 測定法: 定性、定量	第二次国際共同研究に日本の6施設が参加 日赤、分画製剤メーカー、感染研
2011.4	SoGATで共同研究の結果を報告	
2011.10	WHO ECBSで国際標準品として承認	同時に国内標準品の力価も決定
2012.?	国際標準品の交付開始	血液事業部会、安全技術調査会の承認 感染研での手続きを経て、交付開始

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表