

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

血液を介して感染するウイルスの標準品整備に関する動向についての研究

研究分担者 百瀬暖佳 国立感染症研究所・血液・安全性研究部・主任研究官
研究協力者 水澤左衛子 国立感染症研究所・血液・安全性研究部・研究員
研究代表者 濱口 功 国立感染症研究所・血液・安全性研究部・部長

研究要旨

ウイルス検出を目的とした体外診断用医薬品の再評価には、国際的な共同研究によって力価が定められた国際標準品/参照品や国際参照パネルの存在が不可欠である。従って、国際標準品等の整備、および更新の動向を把握することは重要である。本研究ではWHO、およびWHO Collaborating Centerの専門家が集まる会議に提出された資料を精査し、国際標準品等に関する最新の動向を調査した。

A. 研究目的

ウイルス検出を目的とした体外診断用医薬品の技術の進歩はめざましく、国内外のメーカーが製造する体外診断用医薬品は世界各国で使用されている。これら体外診断用医薬品の再評価には様々なウイルスの国際標準品・参照品、国際参照パネルが必要不可欠である。ウイルスの国際標準品等はWHOの生物製剤標準化に関する専門家委員会(ECBS)において最終的に制定されるが、作製はNational Institute for Biological Standards and Control (NIBSC、イギリス)、Paul-Ehrlich-Institut (PEI、ドイツ)、Food and Drug Administration (FDA、

アメリカ)が主体となって行われる。ECBSに先立ち、上記3機関が参集するWHO Collaborating Centers会議やStandardization of Genome Amplification Techniques (SoGAT)会議等で実務者間の議論が進められる。本研究では、WHO国際標準品等の整備に関する最新の情報を収集し、その動向を把握することを目的とした。

B. 研究方法

WHO Collaborating Centers会議での会議資料、SoGAT Blood Virology-Clinical Diagnostics 合同会議の会議資料、WHO

ECBS に提出された議案書を精査し、WHO 国際標準品・参照品、国際参照パネルの整備、更新の進捗状況について動向調査を行った。

(倫理面への配慮)

該当なし

C. 研究結果

1. 国際標準品の制定、更新の承認

2013 年の WHO ECBS において、ウイルス核酸に関する標準品・パネルとして第 1 次 HIV-1 CRF 参照パネル、第 2 次 HAV-RNA 国際標準品、第 1 次 HDV-RNA 国際標準品、第 3 次パルボウイルス B19-DNA 国際標準品が制定された。ウイルス抗原/抗体に関しては、第 1 次 HBe 抗原国際標準品、第 1 次抗 HBe 抗体国際標準品が制定された。第 1 次 HDV-RNA 国際標準品以外の 5 品目については、国立感染症研究所が国際共同研究に参加している(表 3 上)。

新規事業として、HCV-RNA 国際標準品の更新、抗 CMV 抗体(IgG)国際標準品の新規作製が承認された。また、抗風疹抗体測定法の標準化事業も ECBS において承認を受けた(表 3 下)。

2. HIV-2 RNA working reagent 作製へ向けた動き

第 1 次 HIV-2 RNA 国際標準品は 2009 年に WHO ECBS において制定されたが、力価が 1000 IU/mL と低く、定量試験に使

いにくいという指摘があった。そこで、高力価の第 2 次国際標準品の作製が NIBSC より提案されたが、第 1 次国際標準品が 1000 バイアル以上残っていること、定性試験には充分利用できること等から NIBSC の提案には否定的な意見が多く見られた。さらに、低力価の第 1 次国際標準品を用いて高力価の第 2 次国際標準品候補品の値付け作業(相対定量)が可能かどうか、また第 1 次国際標準品に対する相対定量で第 2 次国際標準品の値付けをしない場合の traceability の問題等から、国際標準品に代わり高力価の working reagent が作製される運びとなった。現在、力価を約 10^6 IU/mL に合わせた working reagent が準備され、不活化の影響、抗凝固剤の影響(ACD または EDTA)等を検討するための mini-study が計画されている。

3. 新たなウイルスの参照パネル作製へ向けた動き

ウエストナイルウイルス(WNV)-RNA 参照パネル、チクングニアウイルス(CHIKV)-RNA 参照パネルについて、FDA の the Center for Biologics Evaluation and Research (CBER)と NIBSC が協力して整備の準備を進めている。いずれもアフリカミドリザル由来 Vero 細胞で増やしたウイルス株を用い、最終的には加熱処理によって不活化したものをを用いる予定になっている。しかし動物由来の細胞で増殖させたウイルスを国際輸送することが容易かどうか、また、参照パネル制定に先

立つ国際共同研究で臨床検体や生ウイルス等の検体を配布できるかは今後の検討課題である。

4. 国際標準品の安定性について

2013年のWHO ECBSにおいて承認された第2次HAV-RNA国際標準品は、4における安定性の問題から、通常の室温発送とは異なり、ドライアイス輸送による交付が承認された。また、HCV-RNA国際標準品の更新が承認されたが、これは第3、4次HCV-RNA国際標準品の加速試験における安定性に問題があり、室温発送に耐えうる新たな標準品が要望されたためである。

D. 考察

1. 国際標準品の制定、更新の承認

国際標準品等の整備に関する最新の動向を把握するため、WHO Collaborating Centers 会議、SoGAT、ECBSへ提出された議案書等を活用して情報の収集を行った。現在、国際標準品作製のための国際共同研究の多くに国立感染症研究所が参加している。

2. HIV-2 RNA working reagent作製へ向けた動き

国際標準品における traceability とは、標準品を更新する際に現行品と同等の力価・性状・genotype 等が望ましい、とする考え方である。HIV-2 RNA については、力価の traceability の観点から第2次国際

標準品ではなく高力価の working reagent を作ることとなった。

genotype の traceability の観点からは、国際標準品更新の際に現行品と同様の genotype が選択される。しかしながら、最初の国際標準品が制定されたときに多く見られた genotype と、現在感染率の高い genotype とが異なる場合もある。国際標準品は体外診断用医薬品の標準物質の値付けにも用いられることから、現状に合った genotype の方が良いという考え方もでき、今後議論が必要と考える。

3. 新たなウイルスの参照パネル作製へ向けた動き

今年度は WNV、および CHIKV の核酸参照パネルの進捗状況が報告された。中にはアメリカにおいて、国内参照パネルとして交付が開始されているものもあり、国間での検体の移動の問題が解消できれば、国際参照パネルの整備に前進が見られるであろう。デングウイルスの核酸参照パネルも今年度は進捗の報告が出ていないが、同時並行で進められているものと思われる。

4. 国際標準品の安定性について

国際標準品・参照パネル等に有効期限は定められていない。WHO の国際標準品・参照パネルは長期安定性を確認しているから、というのが一つの理由である。しかしながら、第3、4次HCV-RNA国際標準品、および第2次HAV-RNA国際標準品

準品が、-20 以下では安定とはいえ加速試験における安定性の問題から室温発送でなくドライアイス輸送となっている点は改善の余地がある。

HCV-RNA 国際標準品の安定性については、含湿度、残留酸素濃度に加え、抗 HCV 抗体の有無や、pH 緩衝剤(HEPES)、トレハロースの添加効果が検討されており、NIBSC での解析結果が待たれる。

2013 年の ECBS において第 2 次 HAV-RNA 国際標準品として制定されたロット(NIBSC code: 00/562)は、第 1 次 HAV-RNA 国際標準品(00/560)と同時期に同一の原材料から製造されたロットである。製造された当初は、第 1 次国際標準品の在庫が僅少になった場合の更新の候補となる予定であったが、4 保存で力価の低下が見られたことから、第 2 次標準品には適さないことが 2007 年の ECBS で報告された(WHO/BS/07.2056)。故に、今回の HAV-RNA 国際標準品の更新にあたっては新規にロット 12/234 が製造され、標準品の第一候補となった。しかし、国際共同研究における定性法と定量法の乖離が大きく、また、少数のサンプルを用いて行った 3 ヶ月の加速試験で-20 保存での力価低下が予測されたことから、ロット 12/234 は第 2 次国際標準品には制定できず、結果的にロット 00/562 が第 2 次 HAV-RNA 国際標準品となった。HAV-RNA 国際標準品の安定性に関しては解析の予定が示されていないが、HCV-RNA 国際標準品での解析結果を参

考にしつつ、検討がなされることが期待される。

E. 結論

2013 年度の WHO ECBS において、ウイルスに関する標準品・パネルとして第 1 次 HIV-1 CRF 参照パネル、第 2 次 HAV-RNA 国際標準品、第 1 次 HDV-RNA 国際標準品、第 3 次パルボウイルス B19-DNA 国際標準品、第 1 次 HBe 抗原国際標準品、第 1 次抗 HBe 抗体国際標準品が制定された。標準品制定のための国際共同研究では、国立感染症研究所が参加協力を行った。

新規事業として、HCV-RNA 国際標準品の更新、抗 CMV 抗体(IgG)国際標準品の新規作製、抗風疹抗体測定法の標準化が承認された。

安定性が問題となっている一部のウイルス核酸の国際標準品については、含湿度、残留酸素濃度も含め、現在 NIBSC において解析が進められている。

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

制定

	更新	標準品/参照品 名称	種類	感染研が国際共同研究に参加
核酸	1st	HIV-1 Circulating Recombinant Forms RNA for NAT assays	国際参照パネル	
	2nd	Hepatitis A virus (HAV) RNA for NAT assays*	国際標準品	
	1st	Hepatitis D virus (HDV) RNA for NAT assays	国際標準品	
	3rd	Parvovirus B19 (B19V) DNA for NAT assays	国際標準品	
抗原/抗体	1st	Hepatitis B virus “e” antigen (HBeAg)	国際標準品	
	1st	anti-Hepatitis B virus “e” antibodies (anti-HBe), plasma	国際標準品	

* 4 で力価の低下が見られるため、ドライアイスで発送

新規事業

	更新	標準品/参照品 名称	種類
核酸	5th	Hepatitis C virus RNA for NAT assays	国際標準品
抗体	1st	anti-Cytomegalovirus IgG	国際標準品
		Standardisation of rubella antibody testing	試験法の標準化

**表 3. 2013 年の WHO ECBS において承認された
ウイルスの国際標準品等**