

令和元年度第1回安全技術調査会の審議結果について

- ・ 令和元年度第1回安全技術調査の審議結果について（概要）・・・・・・・・・・ 1

【安全技術調査会合同会議 当日資料】

- ・ 資料1 感染症安全対策体制整備事業（平成30年度）実績報告・・・・・・・・・・ 2
- ・ 資料2 NATコントロールサーベイ事業 2018年度 実績報告・・・・・・・・・・ 7
- ・ 資料3 日本赤十字社におけるHEV-NAT導入準備状況について・・・・・・・・・・ 20

## 令和元年度第1回安全技術調査会の審議結果について（概要）

### 1 開催日時・場所

令和元年9月13日（金）17:30～18:30 厚生労働省11階共用第8会議室

### 2 出席者 ※五十音順、敬称略

○朝比奈 靖浩、荒戸 照世、内田 恵理子、大隈 和、岡崎 仁、熊川 みどり、白阪 琢磨、長村 登紀子、濱口 功（欠席 岡田 義昭、脇田 隆宇）

○日本赤十字社（3名）

石丸健、後藤直子、佐竹正博

○参考人（1名）

松岡佐保子（国立感染症研究所血液・安全性研究部第2室）

### 3 議事概要

○議題1 座長の選出及び座長代理の指名について

座長に濱口委員が選出され、座長代理に岡田委員が指名された。

○議題2 感染症安全対策体制整備事業について

大隈委員より、2018年度の成果として、黄熱ウイルスに対する高感度核酸増幅検査については7つの遺伝子型のうち6タイプを高感度検出できるセット Primer-Probe セットを同定できたこと、検査落ちとなった献血血液でのデング・チクングニア・ジカ・黄熱の各ウイルスの検査はすべて陰性であったこと等が報告された。2019年度は、黄熱ウイルスの全遺伝子型の検出確認、デング・チクングニア・ジカ・黄熱の各ウイルス高感度核酸検査法のマルチプレックス化等に取り組む。

○議題3 NATコントロールサーベイ事業について

松岡参考人より、WHO HIV-1 サブタイプパネルを用いた NAT コントロールサーベイを、2018年度は血漿分画製剤の製造会社の原料血漿プールの NAT 試験を対象に実施し、全施設において HIV-1 NAT の精度管理が適切に実施されていることが確認されたことが報告された。2019年度は、HCV NAT の特異性の実情把握を目的として、NAT コントロールサーベイを実施することが報告された。

○議題4 日本赤十字社における HEV-NAT 導入準備状況について

日本赤十字社より、現在開発中の4価 NAT 試薬による HEV-NAT 全数検査の準備状況について、検査システムの特徴、試薬の検出感度、全数検査の開始時期（令和2年秋頃）等が報告された。

## 感染症安全対策体制整備事業（平成30年度）実績報告

事業代表者 浜口 功 国立感染症研究所血液・安全性研究部 部長

報告者 倉光 球 国立感染症研究所血液・安全性研究部 主任研究官

## 1. 事業の目的

輸血用血液製剤を含む血液製剤は、ヒト血液を原料とするためウイルス等の病原体混入のリスクが存在する。本邦では血液製剤の安全性確保のため高感度なスクリーニング検査が行われ、HBV, HCV, HIV 等に対する安全性は極めて高いレベルで管理されている。しかしながら、グローバル化が進む現代では、国内に存在しなかったその他の病原体の輸入例、国内発生例が増加し、例えば平成26年8月には約70年ぶりのデング熱の国内発生例が確認された。また海外では、平成27年から南米やアメリカのフロリダ州でジカ熱が大流行し、また同時期にアフリカや南米で黄熱の大流行が発生している。アフリカの黄熱は過去20年における最大のアウトブレイクとなり、平成28年3月には中国でアジア初の輸入症例が報告された。

このような世界の一部の地域に限局的に発生していた感染症の病原体の日本への移入を想定し、平成25年度より新たな病原体の国内移入に備え、実効性の高い対策として厚生労働省血液対策課、日本赤十字社との連携のもと感染症リスク管理体制の整備を行ってきた。本事業では国内に侵入し日本の献血血液への混入のリスクのある病原体について、血中ウイルス量の低い無症候感染者が献血する場合を想定し、高感度の核酸検査法を整備し、将来的な血液の安全性対策に資することを目的とする。平成30年度は黄熱ウイルス核酸検査系の開発と共に新たなリスクの早期把握と評価を実施した。

## 2. 実施内容

## (1) 黄熱ウイルス高感度核酸検査法の開発

## (2) 献血で検査落ちとなった血液検体におけるデングウイルス、チクングニアウイルス、ジカウイルス、及び黄熱ウイルス核酸検査の実施

## (3) 海外における血液安全に関する情報の収集及び交換

(1) 黄熱ウイルス高感度核酸検査法の開発

これまで本事業において、デングウイルス1~4型、チクングニアウイルス、ジカウイルスの高感度核酸検査法の開発、及びその一部のウイルスのマルチプレックスPCR化を行った。平成30年度は、アフリカや南米でアウトブレイクが発生している黄熱の対策として、黄熱ウイルス(Yellow fever virus, YFV)が血液に微量に混入した場合を想定し、このウイルスに対する高感度核酸検査法の開発を進めた。

1-1) 高感度 primer のスクリーニング方法の検討：YFV の遺伝子型(genotype)は7種類存在し、相互の遺伝的相同性は低く (Identity 78%)、1セットの primer-probe セットで全 genotype の検出は困難と考えた。Genotype 間で比較的相同性の高いグループ (Identity 84%~95%) をまとめ、3グループ (グループ1：West Africa I/II, グループ2：South America I/II, 及びグループ3：East Africa/East-Central Africa/Angola) に分け、それぞれの高感度法を構築し、

合計 3 セットの高感度法を組み合わせることにした。

#### 1-2) グループ 1 のスクリーニング用の鋳型 RNA 合成 :

グループ 1 について、ワクチン株(17D)、JX898869 株を選択した。ワクチン株(17D)のウイルスゲノム RNA は、国立感染症研究所ウイルス第一部より供与された。JX898869 株は、全長を 5 断片化して人工遺伝子合成した DNA から PCR の鋳型 RNA を *in vitro* 転写した。

#### 1-3) Primer 及び probe のスクリーニング :

533 セットの forward primer と reverse primer を設計し、登録配列のアライメント上で相同性が高い 139 セットを primer 合成した。SYBR Green 系の RT-qPCR キットで極めて増幅効率の良い primer セットをスクリーニングしたところ、19 セットを得た。これらのセットの増幅遺伝子領域に TaqMan probe を設計し、TaqMan RT-qPCR キットで PCR の増幅効率を指標にスクリーニングした。その結果、9 セットが高感度検査法として使用可能であると考えられた (図 1)。よって 139 primer セットから 9 セットの高感度 Primer-probe 候補を同定することができた (図 2)。

1-4) YFV 核酸検査法の感度確認: YFV の WHO 国際標準品 (NIBSC コード:99/616, 17D-204 株, 104.5 IU/ml、注: この国際単位 (IU) はプラーク形成能 (Plaque forming unit, PFU) 由来でコピー数ではない。) を用いて、100 IU/ml~0.1 IU/ml までヒト陰性血漿 (日本赤十字社譲渡血液) で希釈系列から抽出した RNA を用いて、同定した 9 セットのうち、特に増幅効率の良い YFV-B,E,I の 3 セットの感度確認を行った。その結果、3 セット全て 0.1 IU/ml を検出できた (図 3)。また、ヒト末梢血細胞のゲノム DNA, ヒト血漿 RNA, キャリアの polyA RNA では非特異反応は無かった。

1-5) YFV-B について: 高感度核酸検査 primer-probe 9 セットのうち、YFV-B の塩基配列は、アライメント上で 1 genotype 以外は、極めて相同性が高かったことから、YFV-B は広範囲の genotype の YFV 株を高感度に検出できる可能性あると考えられた。

### (2) 献血で検査落ちとなった血液検体におけるデングウイルス、チクングニアウイルス及びジカウイルス核酸検査の実施

日本赤十字社の協力のもと、平成 30 年度 (6 月以降) に関東圏内で収集された献血血液のうち、検査落ちとなった血漿の 20 人プール 100 検体 (合計 2,000 人分) を得た。これらの検体について、デングウイルス 1~4 型、チクングニアウイルス/ジカウイルス、黄熱ウイルスの核酸が検出されるか否かを検討した結果、全ての検体において、いずれのウイルス核酸も検出されず、すべて陰性と判定された (図 4)。また、陽性コントロール検体は全て陽性、陰性コントロール検体 (希釈に用いた健常者由来血漿) は全て陰性を示したことから、検出系として問題無く機能していたことも確認された。

### (3) 海外における血液安全に関する情報の収集及び交換

WHO の血液安全に関するカンファレンスに定期的に参加するとともに、各国の血液行政に携わるネットワーク会議 (Blood Regulators Network) に加盟し活動することにより、感染症リスクの早期察知及び評価に基づく安全対策の検討を行った。また、国立感染症研究所の病原体関連部署と連携し、情報の収集や交換を行った。

### 3. 考察と課題

平成 30 年度は、南米やアフリカで大流行している黄熱の病原体 YFV について、血液に微量に混入した場合を想定し、YFV 高感度核酸検査法の開発、整備を進めた。3 グループのうち、West Africa I/II グループに設計し合成した 139 セットの primer セットから最終的に 9 セットの TaqMan primer-probe 候補を同定でき、そのうちの 3 セット(B,E,I)は 0.1 IU/ml まで検出可能であった。しかしながら、YFV 国際標準品の IU は PFU を元に設定され、コピー数ではないことから、YFV の IU と実際の遺伝子コピー数の間には、ある程度の大きな乖離があると考えられるため、今後は人工合成した RNA 等を準備し、絶対値に近いコピー数で 100 コピー/ml 以下の検出感度を確認する必要がある。

また、YFV の遺伝子型は 7 genotype あり、当初は相同性の解析から 3 グループ 3 セットの高感度 primer-probe を同定する必要があると考えられたが、最初の West Africa I/II グループのスクリーニングにおいて、6 genotype を高感度検出できる可能性が高い 1 セットを同定できた。この候補については、残り 1 genotype 含めて感度を確認する必要があるが、極めて優れた検査法を構築できた可能性があり、今後期待できる。

また、これまでに確立した核酸検査系を用いて、日本赤十字社の協力の下、検査落ちとなった献血血液を用いて各ウイルスのスクリーニングを実施した。その結果、検査を行った 2,000 人分の血液においてデングウイルス、チクングニアウイルス及びジカウイルスは全て陰性であった。これらのウイルスの国内でのアウトブレイクは起こっていないが、実際に献血された血液を用いてモニタリングを実施して、陰性を確認するとともに、偽陽性等の不具合が発生しないことを確認する等の、検出システムの確認を継続出来ていることには意義があると考えられる。これらの病原体が国内に移入した際の血液の安全性確保の緊急対策法として有用な手法の 1 つであることが示唆された。

### 4. 結論

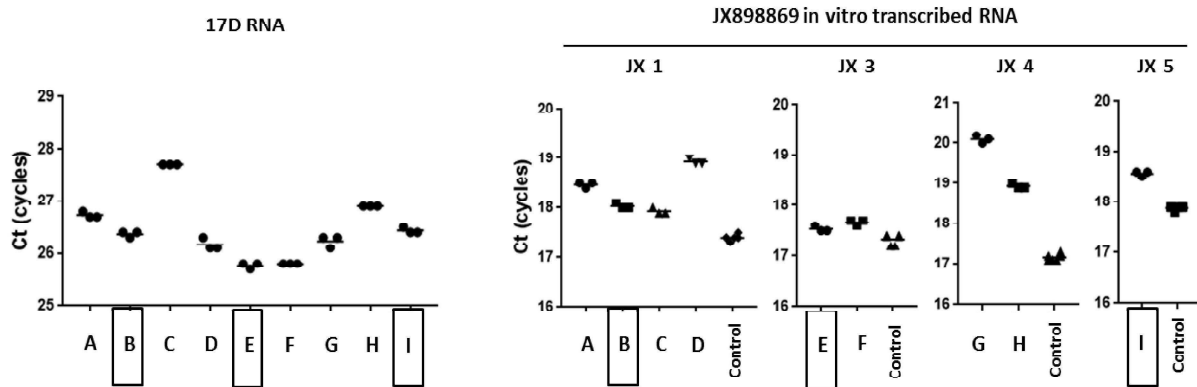
本事業では、血液を介して感染し得る病原体に関する情報を継続して収集し、日本にリスクのある病原体については高感度核酸検査法を開発して小規模モニタリングを継続しており、我が国への感染症リスクの早期察知およびアウトブレイクに備えた体制整備に貢献している。

### 5. 本年度（令和元年度）実施予定内容

- (1) 黄熱ウイルスに対する高感度核酸検査法の開発（全遺伝子型の検出確認）
- (2) チクングニアウイルス、ジカウイルス、黄熱ウイルスの各ウイルスの高感度核酸検査法のマルチプレックス化
- (3) 検査落ちとなった献血血液検体を用いた核酸検査の実施
- (4) 海外における血液安全に関する情報の収集及び交換

以上

図1 YFV高感度核酸検査法候補の9セットの増幅効率



合成した19セットの内、高効率のPCR増幅を示した9セットを選択した。この内、YFV-B,F,I(枠)を国際標準品を使った検出感度の検討に使用した。

図2 YFV高感度核酸検査法 スクリーニングの要約

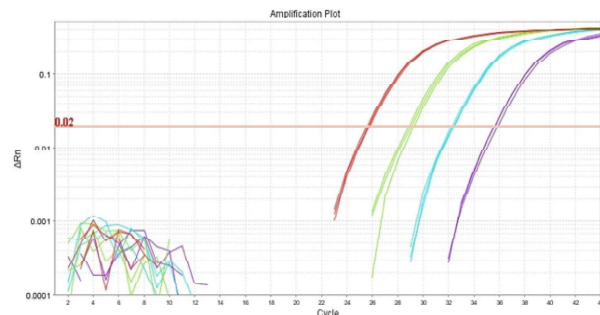
設計(セット)	Primer 合成	Probe 合成	高感度同定
533	139	19	9

図3A. YFV国際標準品 検出感度の確認 (3測定中の陽性well数)

Titer/mL	YFV-B	YFV-E	YFV-I
100IU	3/3	3/3	3/3
30IU	3/3	3/3	3/3
10IU	3/3	3/3	3/3
3IU	3/3	3/3	3/3
1IU	3/3	3/3	3/3
0.3IU	3/3	3/3	3/3
0.1IU	3/3	3/3	3/3
N.C.	0/3	0/3	0/3

N.C.: Negative control. Normal human plasma RNA

B. YFV-Bの増幅曲線



左から100, 10, 1, 0.1 IU/mlの増幅曲線を示す。

図4 献血で検査落ちとなった20人プール血漿100検体 (計2,000人分) のデングウイルス(DENV-1~4)、チクングニアウイルス(CHIKV)、ジカウイルス(ZIKV)、及び黄熱ウイルス(YFV)の核酸検査の結果

Pool ID	DENV-1	DENV-2	DENV-3	DENV-4	CHIKV	ZIKV	YFV	Pool ID	DENV-1	DENV-2	DENV-3	DENV-4	CHIKV	ZIKV	YFV
001	-	-	-	-	-	-	-	061	-	-	-	-	-	-	-
002	-	-	-	-	-	-	-	062	-	-	-	-	-	-	-
003	-	-	-	-	-	-	-	063	-	-	-	-	-	-	-
004	-	-	-	-	-	-	-	064	-	-	-	-	-	-	-
005	-	-	-	-	-	-	-	065	-	-	-	-	-	-	-
006	-	-	-	-	-	-	-	066	-	-	-	-	-	-	-
007	-	-	-	-	-	-	-	067	-	-	-	-	-	-	-
008	-	-	-	-	-	-	-	068	-	-	-	-	-	-	-
009	-	-	-	-	-	-	-	069	-	-	-	-	-	-	-
010	-	-	-	-	-	-	-	070	-	-	-	-	-	-	-
011	-	-	-	-	-	-	-	071	-	-	-	-	-	-	-
012	-	-	-	-	-	-	-	072	-	-	-	-	-	-	-
013	-	-	-	-	-	-	-	073	-	-	-	-	-	-	-
014	-	-	-	-	-	-	-	074	-	-	-	-	-	-	-
015	-	-	-	-	-	-	-	075	-	-	-	-	-	-	-
016	-	-	-	-	-	-	-	076	-	-	-	-	-	-	-
017	-	-	-	-	-	-	-	077	-	-	-	-	-	-	-
018	-	-	-	-	-	-	-	078	-	-	-	-	-	-	-
019	-	-	-	-	-	-	-	079	-	-	-	-	-	-	-
020	-	-	-	-	-	-	-	080	-	-	-	-	-	-	-
Positive	+	+	+	+	+	+	+	Positive	+	+	+	+	+	+	+
Negative	-	-	-	-	-	-	-	Negative	-	-	-	-	-	-	-
021	-	-	-	-	-	-	-	081	-	-	-	-	-	-	-
022	-	-	-	-	-	-	-	082	-	-	-	-	-	-	-
023	-	-	-	-	-	-	-	083	-	-	-	-	-	-	-
024	-	-	-	-	-	-	-	084	-	-	-	-	-	-	-
025	-	-	-	-	-	-	-	085	-	-	-	-	-	-	-
026	-	-	-	-	-	-	-	086	-	-	-	-	-	-	-
027	-	-	-	-	-	-	-	087	-	-	-	-	-	-	-
028	-	-	-	-	-	-	-	088	-	-	-	-	-	-	-
029	-	-	-	-	-	-	-	089	-	-	-	-	-	-	-
030	-	-	-	-	-	-	-	090	-	-	-	-	-	-	-
031	-	-	-	-	-	-	-	091	-	-	-	-	-	-	-
032	-	-	-	-	-	-	-	092	-	-	-	-	-	-	-
033	-	-	-	-	-	-	-	093	-	-	-	-	-	-	-
034	-	-	-	-	-	-	-	094	-	-	-	-	-	-	-
035	-	-	-	-	-	-	-	095	-	-	-	-	-	-	-
036	-	-	-	-	-	-	-	096	-	-	-	-	-	-	-
037	-	-	-	-	-	-	-	097	-	-	-	-	-	-	-
038	-	-	-	-	-	-	-	098	-	-	-	-	-	-	-
039	-	-	-	-	-	-	-	099	-	-	-	-	-	-	-
040	-	-	-	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-
Positive	+	+	+	+	+	+	+	Positive	+	+	+	+	+	+	+
Negative	-	-	-	-	-	-	-	Negative	-	-	-	-	-	-	-
041	-	-	-	-	-	-	-								
042	-	-	-	-	-	-	-								
043	-	-	-	-	-	-	-								
044	-	-	-	-	-	-	-								
045	-	-	-	-	-	-	-								
046	-	-	-	-	-	-	-								
047	-	-	-	-	-	-	-								
048	-	-	-	-	-	-	-								
049	-	-	-	-	-	-	-								
050	-	-	-	-	-	-	-								
051	-	-	-	-	-	-	-								
052	-	-	-	-	-	-	-								
053	-	-	-	-	-	-	-								
054	-	-	-	-	-	-	-								
055	-	-	-	-	-	-	-								
056	-	-	-	-	-	-	-								
057	-	-	-	-	-	-	-								
058	-	-	-	-	-	-	-								
059	-	-	-	-	-	-	-								
060	-	-	-	-	-	-	-								
Positive	+	+	+	+	+	+	+								
Negative	-	-	-	-	-	-	-								

## NATコントロールサーベイ事業 2018年度 実績報告

事業代表者 浜口 功 国立感染症研究所 血液・安全性研究部 部長

### 1. 事業の目的

最近の NAT 技術の進歩は目覚ましく、我が国においても 2013-14 年に血漿分画製剤の原料プールと輸血用血液の NAT スクリーニングの試験法がそれぞれ新しいマルチプレックス法に更新された。それを踏まえて、2014 年の薬食発 0730 第 1 号により「血液製剤のウイルスに対する安全性確保を目的とした核酸増幅検査 (NAT) の実施に関するガイドライン (以下、NAT ガイドライン)」の改正と輸血用血液スクリーニングへの個別 NAT 導入に伴う NAT 感度の改正が行われた。

2017 年度は新しいマルチプレックス法を用いた HIV-1 NAT の特異性の実情把握を目的として WHO HIV-1 サブタイプパネルを用いた第 9 回 NAT コントロールサーベイを、輸血用血液の NAT スクリーニング試験と HIV-1 確認試験を対象として実施し、HIV-1 に関する精度管理が適切に実施され、調査した HIV-1 サブタイプ全てが問題なく検出されることを確認した。

2018 年度は新しいマルチプレックス法を用いた HIV-1 NAT の特異性の実情把握を目的として WHO HIV-1 サブタイプパネルを用いた第 9 回 NAT コントロールサーベイを、血漿分画製剤の原料血漿プールの NAT 試験を対象として実施した。

### 2. 実施内容

#### 1) 参加施設 (表1 P4)

国内外の血漿分画製剤製造所等の全 5 施設。オブザーバーとして、試薬メーカー 1 施設。

#### 2) パネルの調製 (表2 P5)

材料に第 2 次 HIV-1 サブタイプ WHO 国際参照パネル、第 3 次 HIV-1 RNA WHO 国際標準品、第 1 次 HIV-2 RNA WHO 国際標準品、及び第 1 次 HIV-RNA 国内標準品を使用し、希釈には陰性血漿 (HCV 抗体, HBs 抗原, HIV-1/2 抗体, 3 ウイルスの NAT 全てが陰性) を用いた。NAT ガイドラインにおける原料血漿プールの HIV-1 NAT の目標感度の 1 倍濃度にあたる 100 IU/mL に検体を希釈調整した。参考として HIV-1 RNA 国際標準品及び HIV-RNA 国内標準品は目標感度の 0.5 倍濃度にあたる 50 IU/mL に希釈した検体も作成した。陰性検体を加えた計 16 検体をブラインド化したパネルを参加者に送付した。

#### 3) 測定

(1) 血漿分画製剤の原料血漿プール NAT 実施施設は、コバス TaqScreen MPX v2.0 (ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社) を用いて測定した。この試験法は HBV, HCV, HIV-1 の 3 ウィ



ルスを検出すると同時に種類を同定する。参加施設は検体 No.01-16 について日を変えて 3 回測定した (No.05 は原料に用いたパネル検体の力価が低かったため、3 回分の検体が準備できなかったため、1 回のみ測定とした)。

(2) 試薬メーカーもコバス TaqScreen MPX v2.0 (ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社) を用いて測定した。検体 No.01-16 について日を変えて 3 回測定した (No.05 と No.08 は 3 回分の検体が準備できなかったため、No.05 は 1 回分、No.08 は 2 回分のみの測定とした)。

#### 4) 結果

##### (1) 血漿分画製剤の原料血漿プール NAT (表 3 P6)

全施設において HIV-1 サブタイプ A、B、C、D、AE、F、G、AG-GH、N、及び O の HIV-1 を検出できることを確認した。陰性対照はすべて陰性と判定された。また国際標準品および国内標準品を用いて作製した 100 IU/mL 検体、50 IU/mL 検体全て検出できることを確認した。HIV-2 検体も検出を確認した。血漿分画製剤の原料血漿プール NAT 実施施設全 5 施設において改正後の NAT ガイドラインに基づいて実施している NAT 試験は、HIV-1 に関する精度管理が適切に実施されていた。

##### (2) 試薬メーカーにおける NAT

HIV-1 サブタイプ A、B、C、D、AE、F、G、AG-GH、N、及び O の HIV-1 を検出できることを確認した。陰性対照はすべて陰性と判定された。国際標準品および国内標準品を用いて作製した検体は 100 IU/mL 検体、50 IU/mL 検体全て検出できることを確認した。HIV-2 検体も検出を確認した。

#### 3. 考察

2017-2018 年度に実施した WHO HIV-1 サブタイプパネルを用いた第 9 回 NAT コントロールサーベイにて、輸血用血液の NAT スクリーニング試験と HIV-1 確認試験、血漿分画製剤の原料血漿プールの HIV-1 NAT 試験において、HIV-1 サブタイプ A、B、C、D、AE、F、G、AG-GH、N、及び O を検出できることを確認できた。試験を実施した全施設において、HIV-1 NAT 試験に関する精度管理が適切に実施されていることを確認した。

また試験を実施した全施設において、国際標準品および国内標準品を用いて作製した低濃度検体 (100IU/ml および 50IU/ml) の検出も可能であった。サーベイ担当者からの意見としては、輸血用血液の NAT スクリーニング試験と HIV-1 確認試験に使用されている Procleix Ultrio Elite ABD Assay の性能を鑑み、現在の NAT ガイドラインで定められている輸血用血液製剤の HIV-1 NAT の目標感度 (200 IU/mL) を原料血漿プールの HIV-1 NAT の目標感度 (100 IU/mL) と同等程度に変更することについて今後検討していくことが可能ではないかと考えられた。

#### 4. 2019 年度の実施計画 (表 4 P7)

新しいマルチプレックス法における HCV NAT の特異性の実情把握を目的とした第 10 回 NAT コントロールサーベイの実施を計画している。しかしながら、HCV NAT の感度・精度・特異性の評価のための HCV-RNA 国際参照パネルは現在 WHO にて未だ制定されていないため、国内献血を用いて HCV-RNA 国内参照パネル候補品を国立感染症研究所にて作成し、多施設共同研究を実施し候補品の力価を国際標準品に基づいて制定した(別添 1 P8)。新規に制定した HCV-RNA 国内参照パネル、HCV-RNA 国内標準品、参考として国内外で検出された HCV-RNA 遺伝子型からなる市販血漿パネルを用いて評価用のパネルを作製しサーベイを実施する。

# 表1 参加施設一覧

## 2018年度 血漿分画製剤製造所

一般社団法人 日本血液製剤機構

KMバイオリジクス株式会社

日本製薬株式会社

シャイアー・ジャパン株式会社

CSLベーリング株式会社

以上5施設

オブザーバー参加施設

ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社

## 表2 HIV-1サブタイプパネル

検体番号	試料	HIV-1 サブタイプ	表示力価 ( IU/mL )	濃度 ( IU/mL )
01	第2次HIV-1 サブタイプ WHO国際参照パネル	A	3715	100
02		B	8913	100
03		C	3715	100
04		D	4074	100
05		F	550	100
06		AE	2089	100
07		G	4266	100
08		AG-GH	10965	100
09		N	4266	100
10		O	5623	100
11	陰性血漿		-	-
12	第4次HIV-1 RNA WHO国際標準品	B	185,000	100
13				50
14	第1次HIV-RNA 国内標準品	B	75,000	100
15				50
16	第1次HIV-2 RNA WHO国際標準品		1,000	100

日を変えて3回測定（ただしNo.05は原料に用いたパネル検体の力価が低かったため、3回分の希釈検体が準備できなかったため、1回のみ測定とした）

# 表3 血漿分画製剤の原料血漿プールのNAT 参加5施設全体のHIV検出結果

検体番号	試料	HIV-1 サブタイプ	濃度 ( IU/mL )	検出施設
01	第2次HIV-1 サブタイプ WHO国際参照パネル	A	100	5/5
02		B	100	5/5
03		C	100	5/5
04		D	100	5/5
05		F	100	5/5
06		AE	100	5/5
07		G	100	5/5
08		AG-GH	100	5/5
09		N	100	5/5
10		O	100	5/5
11	陰性血漿		-	0/5
12	第4次HIV-1 RNA WHO国際標準品	B	100	5/5
13			50	5/5
14	第1次HIV-RNA 国内標準品	B	100	5/5
15			50	5/5
16	第1次HIV-2 RNA WHO国際標準品		100	5/5

# 表4 HCV NAT 遺伝子型パネル (案)

検体番号	試料	HCV 遺伝子 型	表示力価 (IU/mL)	濃度 (IU/mL)
01 ~ 07	HCV 国内参照パネル	1b, 2a, 2b	23442 ~ 51286	300
		neg	-	-
	第1次HCV RNA 国内標準品	1b	260,000	300
08 ~ 15	参考試料: HCV RNA Genotype AccuTrak Qualification Panel (Sera Care)	1a, 1b, 2a/c, 2b, 3a, 4a, 5a, 6	128,000 107,000 185,000 51,400 57,300 16,200 70,600 179,000	300

血液製剤のウイルス核酸増幅検査 (NAT) 用 HCV-RNA 国内参照パネル候補品  
力価制定のための多施設共同研究結果

国立感染症研究所 血液・安全性研究部

池辺 詠美

松岡 佐保子

浜口 功

金沢工業大学 加齢医工学先端技術研究所 山口照英

平素より格別のご高配を賜り、厚く御礼申し上げます。

血液製剤の安全対策として核酸増幅検査 (NAT) によるウイルスの高感度検出は極めて重要ですが、HCV-NAT の感度・精度・特異性の評価のための HCV-RNA 国際参照パネルは現在 WHO にて制定されていないため、この度、国内献血を用いて HCV-RNA 国内参照パネル候補品を作成し、多施設共同研究にてこの候補品の力価を制定する共同研究を実施いたしました。共同測定の結果、下記の通り国際標準品の力価に基づいた国内参照パネルの力価が算出されましたので、表示力価として制定したく、ご参加いただいた各施設にご報告いたします。本結果につきましては、今後、血液事業部会安全技術調査会にて報告し、HCV-RNA 国内参照パネルとしての承認および今後予定される HCV-NAT コントロールサーベイの検体としての使用の承認をいただく予定です。

#### 1. 共同研究参加施設 (6施設)

- ・国立感染症研究所戸山庁舎 (ウイルス二部)
- ・国立感染症研究所村山庁舎 (血液・安全性研究部)
- ・国立医薬品食品衛生研究所
- ・埼玉医科大学病院
- ・アボットジャパン株式会社
- ・ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社

参加施設の記載順と報告書の施設 No. とは無関係である。

#### 2. 評価方法

力価の測定については、国立感染症研究所より参加施設に国内参照パネル候補品と HCV-NAT 第 5 次国際標準品 (NIBSC code:14/510, 表示力価 100,000 IU/mL) 及び希釈用 HCV 陰性血漿を送付した。参加施設は直線性の成立する用量範囲で 3 段階の希釈系列を作成し、日常実施している定量 HCV-NAT 法にて日を変えて 3 回測定した。その結果を国立感染症研究所が解析した。

## 別添 1

HCV サブタイプ系統解析(RT-PCR/ダイレクトシーケンス)、HCV 抗体(CLIA: アーキト・HCV)、HCV コア抗原(CLIA: HCV Ag・アボット)については、国立感染症研究所が国内参照パネル候補品を検査会社(LSI メディエンス)に測定依頼した。

### 3. 結果

国内の6施設が力価測定に参加し、6組の結果が報告された。2施設がコバスTaqMan HCV「オート」v2.0を、2施設がアキュジーンm-HCVを、2施設が In-houseのTaqMan PCR法を用いて測定した。国立感染症研究所が統計解析を行い、測定力価および国際標準品に対する相対力価を算出した(次ページ [HCV国内参照パネル候補品測定解析結果参照](#))。国際標準品に対する相対力価として算出した全施設の国内参照パネルの力価の幾何平均値を表示力価とすることとした(表1)。検体名HCV\_06の陰性検体は、全ての施設で力価陰性であった。

表 1 : HCV-RNA 国内参照パネル候補品評価結果

検体名	HCV サブタイプ	HCV抗体		HCVコア抗原 (fmol/L)	表示力価 (Log <sub>10</sub> IU/mL)	95%信頼区間 (Log <sub>10</sub> IU/mL)
		判定	S/CO			
HCV_01	2A	陽性	2.3	47.3	4.71	4.56-4.86
HCV_02	2B	陽性	7.16	31.7	4.52	4.37-4.68
HCV_03	1B	陽性	8.31	57.6	4.71	4.51-4.92
HCV_04	2B	陰性	0.41	20.7	4.37	4.24-4.51
HCV_05	1B	陽性	2.75	59.6	4.67	4.47-4.88
HCV_06	-	-	-	-	-	-



## HCV 国内参照パネル候補品測定解析結果

測定法 CT--コバス TaqMan HCV 「オート」 v2.0

AG--アキュジーン m-HCV

LD--In-house TaqMan PCR

## HCV 国際標準品および国内参照パネル候補品測定力価

国際標準品測定力価

GCV% 7.3%

施設 No.	1	2	3	4	5	6	Ave
測定法	CT	AG	CT	LD	AG	LD	
測定力価	4.78	4.82	4.80	5.34	4.32	5.18	<b>4.87</b>
95% CI LL	4.74	4.58	4.61	5.11	3.97	4.74	<b>4.60</b>
95% CI UL	4.80	4.92	4.88	5.43	4.47	5.37	<b>5.15</b>

HCV\_01 測定力価

GCV% 7.7%

施設 No.	1	2	3	4	5	6	Ave
測定法	CT	AG	CT	LD	AG	LD	
測定力価	4.58	4.39	4.52	5.28	4.29	4.32	<b>4.56</b>
95% CI LL	4.43	4.33	4.39	5.12	4.15	3.62	<b>4.29</b>
95% CI UL	4.64	4.41	4.58	5.34	4.34	4.63	<b>4.83</b>

HCV\_02 測定力価

GCV% 7.1%

施設 No.	1	2	3	4	5	6	Ave
測定法	CT	AG	CT	LD	AG	LD	
測定力価	4.33	4.19	4.30	5.09	4.51	4.31	<b>4.46</b>
95% CI LL	4.16	4.08	4.13	4.85	4.36	4.02	<b>4.21</b>
95% CI UL	4.40	4.23	4.37	5.19	4.58	4.44	<b>4.69</b>

HCV\_03 測定力価

GCV% 8.1%

施設 No.	1	2	3	4	5	6	Ave
測定法	CT	AG	CT	LD	AG	LD	
測定力価	4.54	4.37	4.49	5.42	4.32	4.57	<b>4.62</b>
95% CI LL	4.49	4.25	4.39	5.20	4.17	4.45	<b>4.32</b>
95% CI UL	4.56	4.42	4.53	5.51	4.38	4.62	<b>4.91</b>

別添 1

HCV\_04 測定力価

GCV% 8.8%

施設 No.	1	2	3	4	5	6	Ave
測定法	CT	AG	CT	LD	AG	LD	
測定力価	4.15	4.07	4.13	4.98	3.91	4.00	<b>4.20</b>
95% CI LL	4.06	3.98	3.83	4.87	3.81	3.57	<b>3.92</b>
95% CI UL	4.18	4.10	4.25	5.03	3.94	4.18	<b>4.48</b>

HCV\_05 測定力価

GCV% 8.4%

施設 No.	1	2	3	4	5	6	Ave
測定法	CT	AG	CT	LD	AG	LD	
測定力価	4.55	4.35	4.52	5.39	4.27	4.51	<b>4.60</b>
95% CI LL	4.38	4.30	4.36	5.35	4.18	4.37	<b>4.30</b>
95% CI UL	4.62	4.36	4.59	5.41	4.30	4.57	<b>4.89</b>

HCV\_06 測定力価

施設 No.	1	2	3	4	5	6	Ave
測定法	CT	AG	CT	LD	AG	LD	
測定力価	ND	ND	ND	ND	ND	ND	<b>ND</b>
95% CI LL	-	-	-	-	-	-	-
95% CI UL	-	-	-	-	-	-	-

別添 1

HCV 国際標準品に対する国内参照パネル候補品相対力価

HCV\_01 相対力価

GCV% 4.1%

施設 No.	1	2	3	4	5	6	Ave
測定法	CT	AG	CT	LD	AG	LD	
相対力価	4.75	4.51	4.76	4.92	4.89	4.45	<b>4.71</b>
95% CI LL	4.51	4.41	3.51	4.68	4.65	3.28	<b>4.56</b>
95% CI UL	4.85	4.55	4.93	5.01	4.99	5.04	<b>4.86</b>

HCV\_02 相対力価

GCV% 4.5%

施設 No.	1	2	3	4	5	6	Ave
測定法	CT	AG	CT	LD	AG	LD	
相対力価	4.46	4.29	4.54	4.75	4.77	4.33	<b>4.52</b>
95% CI LL	4.35	3.99	3.14	4.42	4.40	3.55	<b>4.37</b>
95% CI UL	4.51	4.42	4.73	4.89	4.92	4.69	<b>4.68</b>

HCV\_03 相対力価

GCV% 5.7%

施設 No.	1	2	3	4	5	6	Ave
測定法	CT	AG	CT	LD	AG	LD	
相対力価	4.68	4.46	4.74	5.10	4.92	4.39	<b>4.71</b>
95% CI LL	4.49	4.41	3.45	4.78	4.68	3.78	<b>4.51</b>
95% CI UL	4.76	4.48	4.90	5.24	5.02	4.66	<b>4.92</b>

HCV\_04 相対力価

GCV% 4.0%

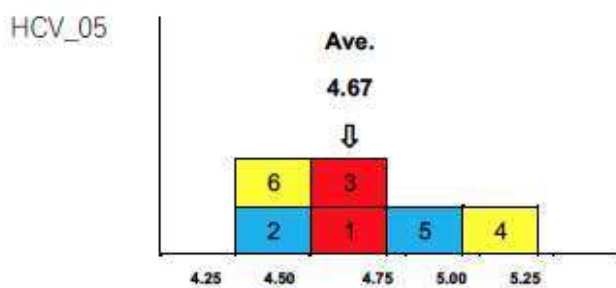
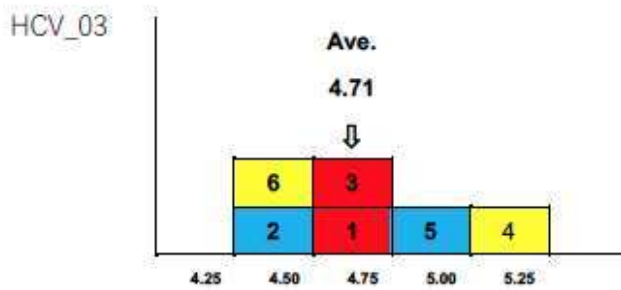
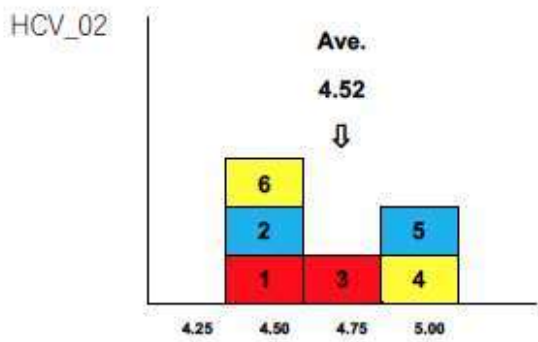
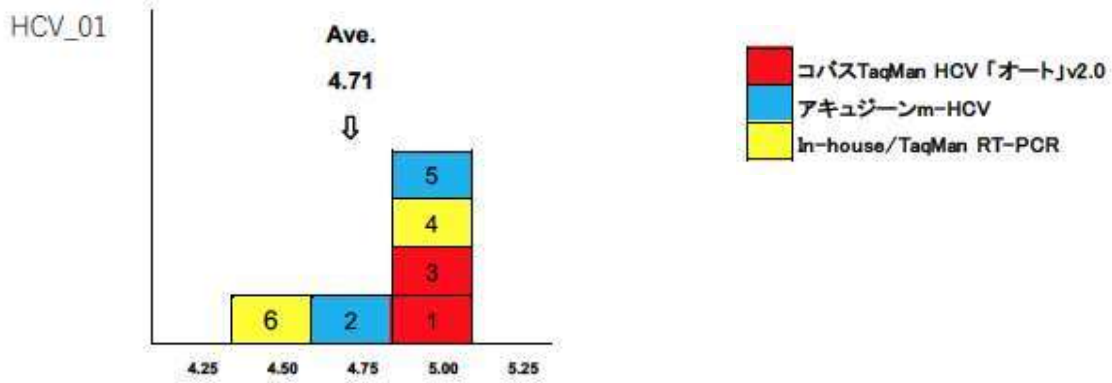
施設 No.	1	2	3	4	5	6	Ave
測定法	CT	AG	CT	LD	AG	LD	
相対力価	4.40	4.24	4.30	4.63	4.50	4.16	<b>4.37</b>
95% CI LL	4.19	4.01	2.55	4.28	4.20	3.21	<b>4.24</b>
95% CI UL	4.49	4.33	4.56	4.78	4.63	4.61	<b>4.51</b>

HCV\_05 相対力価

GCV% 5.7%

施設 No.	1	2	3	4	5	6	Ave
測定法	CT	AG	CT	LD	AG	LD	
相対力価	4.71	4.44	4.74	5.08	4.77	4.32	<b>4.67</b>
95% CI LL	4.34	4.25	3.20	4.80	4.40	3.93	<b>4.47</b>
95% CI UL	4.87	4.53	4.95	5.19	4.93	4.49	<b>4.88</b>

HCV 国際標準品に対する国内参照パネル候補品相対力価のヒストグラム



日本赤十字社血液事業本部

## 日本赤十字社における HEV NAT 導入準備状況について

### 1 はじめに

輸血用血液製剤の HEV 安全対策については、平成 30 年度第 4 回血液事業部会に検討結果を報告し、HBV, HCV, HIV に加え HEV も同時に検出する開発試薬（以下「4 価 NAT 試薬」という。）による全数検査を実施することについて準備を進めてきたところである。

今般、現在開発中の 4 価 NAT 試薬の入荷予定時期等が明確になってきたことから、HEV NAT の全数検査について準備状況を報告する。

### 2 4 価 NAT 試薬を用いた NAT 検査システム

現行の NAT 検査システムは、HBV DNA, HCV RNA, HIV RNA の何れかが陽性であれば検出することができるマルチプレックス試薬を使用している。試薬メーカーからの情報によると、4 価 NAT 試薬は、このマルチプレックス試薬に HEV RNA 検出用プライマー・プローブを追加して開発したもので、一度の検査で HBV DNA, HCV RNA, HIV RNA の検出とは別に HEV RNA を検出することができる。また、既存の検査機器をそのまま使用することができ、検体量や検査所要時間も現行とほぼ同じであるため、検査体制を大幅に変更することなく導入することが可能である。

### 3 4 価 NAT 試薬の検出感度

4 価 NAT 試薬は、現行 NAT のマルチプレックス試薬及び北海道地区で試行的に実施している HEV NAT 試薬と以下のとおり同等の検出感度であるとの報告を試薬メーカーから受けている。

- ・ WHO 国際標準品を用いた 95%検出限界

項目	4 価 NAT 試薬 ※	現行 NAT 試薬
HBV	3.6 (2.7 - 5.6)	3.6 (2.7 - 5.3)
HCV	7.7 (6.1 - 10.4)	8.2 (4.5 - 39.6)
HIV-1	20.5 (16.1 - 30.2)	17.0 (13.3 - 25.6)
HIV-2	11.2 (8.1 - 17.9)	15.5 (11.3 - 24.0)
HEV	10.3 (8.1 - 14.7)	16.1 (12.1 - 25.3)

※ 開発中の研究用試薬

単位：IU/mL ( ) 内：95%信頼区間

### 4 今後の予定

4 価 NAT 試薬の入荷時期に合わせて評価試験及び各種バリデーション等を実施した後、令和 2 年の秋頃から HEV NAT の全数検査を開始することを計画している。