

日本医療研究開発機構 医薬品等規制調和・評価研究事業
事後評価報告書



I 基本情報

補助事業課題名: (日本語) 病原体検出に係る体外診断用医薬品の開発、評価、品質管理に関する研究
(英語) Development, Evaluation, and Quality Control of *In Vitro* Diagnosis for Pathogen Detection

実施期間: 平成 31 年 4 月 1 日～令和 4 年 3 月 31 日

補助事業担当者 氏名: (日本語) 浜口 功
(英語) Hamaguchi isao

補助事業担当者 所属機関・部署・役職:
(日本語) 国立感染症研究所・次世代生物学的製剤研究センター・センター長
(英語) National Institute of Infectious Diseases, Research Center for Biological Products in the Next Generation, Director

II 補助事業の概要

補助事業の成果およびその意義等

和文:

(1) HEV検出キットの開発と性能評価

HEV 感染の診断にあたってはウイルス RNA や特異抗体の検出がその診断補助に用いられるが、無症状感染者においては抗体の検出感度が RNA に比して低いことが問題となっている。1 年目には HEV 抗体検出を目的とした体外診断薬開発に関し、特異抗体の作成を行なった。ヒト抗体産生マウスに HEV 抗原免疫し、抗体産生 B 細胞のクローニングに成功した。さらにこれらの細胞より、IgG 遺伝子のクローニング及び組換え IgG 抗体の作成を進め、3 クローンの特異抗体を得た。並行して、国内の複数の医療機関に協力を依頼して HEV 抗体陽性の国内血清を収集した。2019 年度は 7 検体収集した。2 年目に HEV 特異的 IgM および IgA の検出感度について、国内 HEV 抗体検出試薬と in house ELISA を比較した。これまでに収集した国内 HEV RNA 陽性血漿検体 (80 検体) を用いて IgM、IgA、IgG を測定した結果、国内検出試薬よりも in house ELISA の方が高い検出感度を有することが示された。3 年目は市販の検出薬と合わせて性能評価を行った。無症状感染者 (HEV RNA 陽性) 検体を用いて解析した結果、in-house ELISA は市販検出試薬よりも HEV IgM および IgA の検出において高い感度を示した。また、HEV セロコンバージョンパネルを用いて解析した結果、in-house ELISA は市販検出試薬よりも早期に HEV IgM の陽転を検出した。以上の結果から、開発した in-house ELISA は市販検出試薬よりも高い測定性能を有することが示された。

(2) HBワクチンの定期接種導入後に問題となるワクチンエスケープ変異株の検出能の評価

HB ワクチンの定期接種化によりワクチンエスケープ変異株の増加が危惧されている。このワクチンエスケープ変異を持った HBV 株は HBs 抗原の検出が難しいことが知られている。1 年目は HBs 抗原測定用体外診断薬のワクチンエスケープ変異株検出能について解析した。HBs に HiBiT-tag-linker v3 と融合させたところ、HBs は細胞外に効率よく分泌され、luciferase 活性として HiBiT-HBs 量を定量できることが明らかとなった。また、このシステムを用いて検討した結果、試薬によっては遺伝子型により測定値に差がある可能性が示唆された。2 年目には本リコンビナント HBs 抗原を用いた評価を行った。その結果、HBV の遺伝子型により HBs 抗原定量用キットの測定値が異なること、またワクチンエスケープ変異である G145R を持つ株では多くのキットで HBs 抗原測定値が低値となることが明らかとなった。また、HCV 抗体検出用試薬、HCV RNA 測定用試薬、HCV 抗原測定用試薬の性能評価を行った。いずれのキットにおいても十分な感度と特異性が確認された。3 年目は HBV 陽性検体 80 検体と陰性検体 64 検体を用いて、HBV DNA 測定用試薬 6 キット、HBs 抗原定量試薬 8 キット、HBs 抗原定性試薬 4 キット、HBs 抗原イムノクロマト試薬 2 キットの性能評価を行った。その結果、いずれのキットにおいても十分な感度と特異性が確認された。

(3) HTLV-1 体外診断薬の性能評価

HTLV-1 体外診断薬の性能評価を行うため、1 年目に「献血血液等の研究開発等への使用に関する指針」に基づく公募により日本赤十字社から検体を収集、解析を進め、新規抗 HTLV 抗体スクリーニング検査試薬で低値陽性となる検体を含むパネルを作製した。C. O. I. 値 1.0~20 で譲渡を受けた検体では、20 検体のうち 3 検体が使用したすべての一次検査用試薬で陽性、すべての測定で陰性となったのは 6 検体であった。2 年目は抗 HTLV 抗体検査用体外診断薬の臨床検体を用いた評価に資する目的で、臨床的診断濃度近傍検体を含むパネルの整備を進めた。3 年目に整備したパネル (HTLV 陽性・陰性検体) を使用し、5 社 11 品目の性能を評価した。サンドイッチ法を採用する新世代の一次検査用診断薬は、抗 HTLV 抗体確認検査用診断薬「イノリア・HTLV」で HTLV-1 陽性または HTLV 陽性と判定された 46 検体すべてを陽性と判定できたのに対し、承認年月が古い 2 品目でそれぞれ 1, 2 検体の偽陰性があった。申請予定の開発品も良好な成績を示し、新世代品への置き換わりにより、特異度を落とさず感度が向上している傾向が見られた。

(4) 国際標準品及び体外診断用医薬品の外部精度評価システムに関する最新の動向調査

海外の体外診断用医薬品に対する規制当局の対応について、欧米の状況について調査した。1 年目の調査では、欧州においては新たに体外診断用医療機器規則 (IVDR) が施行され、承認等に係るシステムが大幅に改訂され状況であった。すなわち、病原体毎のリスク評価に基づくクラス分類ルールを適用し、体外診断用医薬品の性能の外部評価を開始しつつある。例えば HIV、HCV、HBV、HTLV-1/2 に関する検査試薬はクラス D、に分類され適切な監視を受けている。2 年目は SoGAT 会議の審議内容及び米国の状況について調査した。SoGAT 会議では、HSV-1 DNA、HSV-2 DNA、WNV RNA、MERS 抗体、SARS-CoV-2 RNA、SARS-CoV-2 抗体等の国際標準品の整備状況が報告された。また、体外診断用医薬品に関する米国の規制当局の対応の調査では、リスクに応じて 3 段階にクラス分けされ、高リスクの class III では市販前承認が、中リスクの class II では市販前届が課される。3 年目の調査では、欧米や環太平洋地域を中心に、各国間で体外診断薬の審査体制の国際調和が進められていることが明らかとなった。EU では 5 月より従来の体外診断薬指令から新しい体外診断用医療機器規則に完全移行する。SARS-CoV-2 検査薬などクラス分類が変更となる体外診断薬もあり、性能担保への規制当局の関与が強化される見込みである。

(5) 体外診断薬用医薬品の製品改善促進のための効果的なフィードバック方法の確立と体外診断用医薬品の承

認前試験のあり方の検討

体外診断用医薬品の性能の改善促進のため、臨床検査薬協会と「AMED ウイルス用体外診断薬研究班・臨床薬協 協議会」を設立し、2019年5月に協議会を開催した。協議会では年度ごとの性能調査の結果報告と調査計画を策定した。1年目には検体パネルを用いたHBVおよびHCV測定用体外診断薬の性能調査、2年目にはHBV DNA、HBs抗原、HCV RNA、HCVコア抗原、HCV抗体検出の各キットの性能調査、3年目には抗HTLV-1抗体検出用体外診断薬の性能評価に関して、臨床検査薬協会と協議会を開催し、性能調査の調査計画を策定した。一方、製造販売承認申請時の承認前試験のあり方の検討においては2019年9月に体外診断用医薬品の承認前試験の対象項目のうち、クラミジア=トラコモマーティスの検討を担当者を行い、対象品目からの削除を提言した。また追加課題として、2年目に不活化したSARS-CoV-2を血漿にスパイクし、核酸検査用参照品候補品の作製し複数施設において共同測定を行うとともに、国内参照品を整備した。3年目には、SARS-CoV-2の核酸検査の実施に関連し、国内で検出された変異株（アルファ、ベータ、ガンマ、デルタ、オミクロン株）を用いて検体参照パネルの作成を行い、共同測定により値づけを行った。

英文：

(1) Development and performance evaluation of HEV detection kits

A specific antibody to HEV was prepared to obtain a specific antibody of 3 clones. In parallel, HEV antibody positive domestic serum was collected. Using these samples, we developed in-house ELISA. In-house ELISA showed higher sensitivity in the detection of HEV IgM and IgA than in the commercial detection reagent.

(2) Evaluation of detection ability of vaccine escape mutants

Recombinant HBs antigen for the detection of HB vaccine escape mutations was evaluated. As a result, the detection of HBs antigen was low in many commercial kits in the vaccine escape mutant. In addition, performance evaluation of reagents for detecting HCV antibodies, HCV RNA, and HCV antigens were evaluated. Sufficient sensitivity and specificity were confirmed in both kits.

(3) Performance evaluation of HTLV-1 in vitro diagnostics

A panel was prepared by the Japanese Red Cross Society to provide samples that positive for low HTLV-1 levels. The performance of the commercial kit was evaluated using this panel. Due to replacing them with new generation products, there was a tendency that sensitivity was improved without dropping the specificity.

(4) Investigation of the latest trends in external accuracy evaluation systems for international standard products and in vitro diagnostics

We investigated the situation in Europe and the United States regarding the response of regulatory authorities to in vitro diagnostics overseas. It became clear that international harmonization of the examination system of in vitro diagnostics was advanced between each country.

(5) Establishment of effective feedback methods to promote product improvement of in vitro diagnostics

The Clinical Laboratory Drug Association and AMED research group were held regularly to promote the improvement of the performance of in vitro diagnostic drugs. As an additional problem, a reference product for SARS-CoV-2 nucleic acid test and a specimen reference panel for mutants detected in Japan were prepared.