

平成28年度医療研究開発推進事業費補助金
(医薬品等規制調和・評価研究事業) 成果報告書

I. 基本情報

事業名 : (日本語) 医薬品等規制調和・評価研究事業
(英語) Research on Regulatory Science of Pharmaceuticals and Medical Devices

補助事業課題名 : (日本語) ウイルス用体外診断薬の性能評価に係る技術基盤に関する研究
(英語) Development of technical base regarding IVD performance survey for viral infection

補助事業担当者 (日本語) 国立感染症研究所 血液・安全性研究部 部長 浜口 功
所属 役職 氏名 : (英語) National Institute of Infectious Diseases, Department of Safety Research on Blood and Biological Products, Director, Isao Hamaguchi

実施期間 : 平成28年6月15日 ～ 平成29年3月31日

分担研究課題名 : (日本語) 研究の統括と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
(英語) Development of effective feedback method for improvement of IVD

補助事業分担者 (日本語) 国立感染症研究所 血液・安全性研究部 部長 浜口 功
所属 役職 氏名 : (英語) National Institute of Infectious Diseases, Department of Safety Research on Blood and Biological Products, Director, Isao Hamaguchi

分担研究課題名 : (日本語) 体外診断薬の性能評価のための基盤整備
(英語) Establishment of a base for IVD performance survey

補助事業分担者 (日本語) 国立感染症研究所 ウイルス第二部 室長 加藤 孝宣
所属 役職 氏名 : (英語) National Institute of Infectious Diseases, Department of Virology II, Chief, Takanori Kato

分担研究課題名 : (日本語) HIV-1 抗原パネルを用いた HIV スクリーニング検査試薬の HIV-1 抗原検出感度評価
(英語) Performance survey for HIV IVD using HIV Ag panel

補助事業分担者 (日本語) 国立感染症研究所 エイズ研究センター 主任研究官 草川 茂
所属 役職 氏名 : (英語) National Institute of Infectious Diseases, AIDS research center, Senior scientist,

Shigeru Kusakawa

分担研究課題名： (日本語) HEV 検体収集と HEV 検出キットの性能評価
(英語) Preparation of HEV seropositive panel and performance survey for HEV IVD

補助事業分担者 (日本語) 国立感染症研究所 免疫部 部長 阿戸 学
所属 役職 氏名： (英語) National Institute of Infectious Diseases, Department of Immunology, Director,
Manabu Ato

分担研究課題名： (日本語) 国際標準品、国際参照パネル等に係る調査研究
(英語) Survey for international standard and international reference panel

補助事業分担者 (日本語) 国立感染症研究所 血液・安全性研究部 主任研究官 百瀬 暖佳
所属 役職 氏名： (英語) National Institute of Infectious Diseases, Department of Safety Research on
Blood and Biological Products, Senior scientist, Haruka Momose

II. 成果の概要 (総括研究報告)

1. 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

平成28年度までに当研究班と臨床検査薬協会の担当者等とで協議を行い、性能評価の結果を効果的に製造者へフィードバックするための方法として、AMEDウイルス用体外診断薬研究班・日本臨床検査薬協会協議会(AI-IVD協議会)を設立するための覚書の締結を行うとともに、AI-IVD協議会の内規を定めた。検査試薬の性能調査実施に関して、検査薬メーカーとの協力体制の築くとともに、具体的な行動計画を協議を開始した。

2. 体外診断薬の性能評価のための基盤整備

HBVの複数の遺伝子型株のHBs領域を発現するベクターを作製した。その際に、蛋白質の検出や精製のために、HBs領域のN末端とC末端にFLAG-tag, myc-tag, His-tagを挿入した。さらにタグとしてHCVのコア領域を挿入した発現ベクターも作製した。これらの発現ベクターを培養細胞に導入し、培養液や培養細胞内に発現したHBsをCLEIA法およびウエスタンブロット法で確認した。さらにこれらのタグを用いてHBs蛋白質の精製が可能か検討を行っている。

3. HIV-1 抗原パネルを用いた HIV スクリーニング検査試薬の HIV-1 抗原検出感度評価

第4世代HIVスクリーニング検査試薬の評価のため、様々なHIV-1サブタイプ/CRF/グループからなるp24抗原パネルを整備し、5品目の国内既承認検査試薬の評価を行った。得られた結果は、臨床検体や国際標準品、セロコンバージョンパネル等で報告された結果と一致していた。今回の結果は本パネルを用いた評価がHIV-1感染急性期の抗原検出感度の評価に有用であることが示された。

4. HEV 検体収集と HEV 検出キットの性能評価

HEV抗体陽性血清パネルを整備するため、肝疾患診療連携拠点病院、国立病院機構、日本赤十字社等に協力を依頼し、散発するHEV発症例について血清・血漿検体の収集体制の構築に努めた。

5. 国際標準品、国際参照パネル等に係る調査研究

国際標準品、および諸外国における体外診断用医薬品の性能・精度評価システムに関する最新の動向調査を行った。国際会議(SoGAT2016)では、国際標準品を基準とした二次標準品策定について、対象を核酸、および抗原に絞ったガイドライン案が提唱され、ECBS2016へ提議された。抗体がガイドラインから外れた理由の一つとして抗体検査薬に問題が頻発していることがあげられ、今年度は抗HBs抗体に重点をおいた問題点の洗い出しが行われた。自家法やベッドサイドにおける試験の標準化についても議論がなされた。

1. Development of effective feedback method for improvement of IVD

The research group has developed the AI-IVD conference together with Japanese Association of Clinical Reagents Industries to make the plan for IVD performance survey.

2. Establishment of a base for IVD performance survey

We constructed the HBs expression vector with various strains of multiple HBV genotypes. For the purification or quantification of generated proteins, several tag sequences were inserted into the N-terminus or C-terminus of the HBs coding gene. These generated plasmids were transfected into the HepG2 cells, and assessed the expression of HBs proteins by CLEIA and Western Blotting.

3. Performance survey for HIV IVD using HIV Ag panel

To evaluate 4th generation HIV screening test kits, new HIV-1 p24 antigen panel including various HIV-1 subtype/CRF/group was prepared and used to examine five test kits approved in Japan. The result is consisted with other reports using clinical specimens, HIV-1 p24 international standard and seroconversion panels. This result indicates surveillance of 4th generation HIV test kit with this panel is useful to evaluate antigen detection sensitivity in acute phase of HIV-1 infection.

4. Preparation of HEV seropositive panel and performance survey for HEV IVD

To establish HEV seropositive serum/plasma panel, we started to construct the system for collecting serum/plasma from regional core hospitals for liver diseases, National Hospital Organization, and Japanese Red Cross Society.

5. Survey for international standard and international reference panel

The proposed manual was discussed in the scientific committee SoGAT2016, about the preparation of secondary reference materials for IVD designated for infectious diseases. It was applied for NAT and antigen tests, and antibody tests were deleted from the manual. Problems about antibody tests are being discussed in SoGAT committee, including anti-HBs and anti-Rubella. Standardization of lab-developed tests and Point-of-Care assays is another problem.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 1 件、国際誌 1 件）

1. Tezuka K, Kuramitsu M, Okuma K, Nojima K, Araki K, Shinohara N, Matsumoto C, Satake M, Takasaki T, Saijo M, Kurane I, Hamaguchi I, Development of a novel dengue virus serotype-specific multiplex real-time RT-PCR assay for blood screening *Transfusion*, 56;3094-3100, 2016
2. 浜口功：輸血と感染症（小児と感染症-この10年のアップデート）、小児科 57:666-670、2016.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 手塚健太、倉光球、大隈和、野島清子、荒木久美子、篠原直也、松本千恵子、佐竹正博、浜口功、Multiplex RT-qPCRによるデングウイルス4血清型の高感度同時検出法の開発、口頭第64回日本輸血・細胞治療学会総会、京都、2016年4月、国内
2. 加藤孝宣、山田典栄、百瀬暖佳、村山麻子、松岡佐保子、大隈和、豊田九朗、浜口功、脇田隆宇. HBV 検体パネルを用いた HBV DNA および HBs 抗原検出用体外診断薬の評価. ポスタ

- 一, 日本ウイルス学会学術集会, 2016/10/23-25, 国内.
3. 水澤左衛子, 落合雅樹, 草川茂, 内田恵理子, 古田美玲, 川村利江子, 岡田義昭, 山口照英, 浜口功, HIV-RNA 国内標準品の力価の再評価のための国内共同研究, ポスター, 第64回日本ウイルス学会学術集会, 2016/10/23-25, 国内
 4. 百瀬暖佳, 加藤孝宣, 松岡佐保子, 大隈和, 山田典栄, 村山麻子, 豊田九朗, 脇田隆字, 浜口功, HCV RNA、および HCV コア抗原検出を目的とした体外診断用医薬品の性能評価, ポスター, 第64回日本ウイルス学会学術集会, 2016/10/23, 国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
該当なし

(4) 特許出願
該当なし