

血液製剤の安全性確保のためのウイルス核酸増幅検査 (NAT) 国内標準品の再評価

松岡佐保子¹⁾ 水澤左衛子¹⁾ 落合 雅樹¹⁾ 草川 茂¹⁾ 百瀬 暖佳¹⁾
 池辺 詠美¹⁾ 宮川 恵子²⁾ 五反田裕子²⁾ 長谷川 隆²⁾ 富樫 謙一³⁾
 中里見哲也⁴⁾ 塚原美由紀⁵⁾ 前田 豊⁶⁾ 福田 修久⁶⁾ 古田 美玲⁷⁾
 内田恵理子⁷⁾ 川村利江子⁸⁾ 岡田 義昭⁸⁾ 山口 照英⁹⁾ 浜口 功¹⁾

厚生労働省の血漿分画製剤の安全性確保対策の小委員会では、国内で使用されている輸血用血液製剤と血漿分画製剤の原料となる血漿に対するウイルス核酸増幅検査 (NAT) の精度管理等に使用する国内標準品を 1999 年より作製し、国立感染症研究所が交付している。HCV、HBV 及び HIV の第 1 次 NAT 国内標準品は、当時の WHO 国際共同研究に準じエンドポイント法によって国際標準品に対する相対力価が定められた。2014 年に 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、より厳格な精度管理に合わせ、NAT 国内標準品の再評価の必要性が高まった。そこで、NAT 国内標準品の力価を多施設共同研究にて再評価した。最新の高精度のリアルタイム PCR 定量法で測定した結果、第 1 次 HBV-DNA 国内標準品 1,060,000IU/ml、第 1 次 HIV-RNA 国内標準品 75,000IU/ml、第 1 次 HCV-RNA 国内標準品 260,000IU/ml に力価が改正された。信頼性の高い国際単位に校正された国内標準品を活用することで、NAT の精度管理や試験法の改良の進展が期待される。

キーワード：HBV、HIV、HCV、国内標準品、ウイルス核酸増幅検査

はじめに

血液製剤の安全性は、1970 年代から導入されたウイルスの血清学的検査に加え、1994 年に HCV 抗体陰性の window 期血漿から製造された免疫グロブリン製剤によって全世界で約 200 人の HCV 感染事故がおこったことを受けて、1990 年代後半より原料血漿と輸血用血液のウイルスの核酸増幅検査 (NAT) が導入されるようになり、ウイルスに対する安全性が飛躍的に向上した¹⁾。一方で、NAT を行う全ての施設が十分な検査精度を持つことを普遍的に担保するため、世界共通の標準品 (国際標準品) の必要性が生じた。1997 年以降 WHO において NAT 用ウイルス核酸国際標準品が製造されるようになり、各施設で様々な測定法で実施されている NAT の精度評価と標準化がすすんだ²⁾。しかしながら、WHO

の NAT 国際標準品は数が限られていること、自国のウイルス流行株と国際標準品選定株の遺伝子型が異なる場合もあることなどから、各国には国際標準品に対して校正された 2 次標準品の作製が推奨されている。日本では、厚生労働省血漿分画製剤の安全性確保対策の小委員会 (NAT 小委員会) において、1999 年より国内で使用されるすべての輸血用血液製剤及び血漿分画製剤に係わるドナースクリーニング検査等で実施している NAT の精度管理等に使用するための国内標準品 (WHO 国際標準品の 2 次標準品) を順次作製し、現在 5 種類のウイルスについて制定し、国立感染症研究所より交付している (表 1)^{3)~5)}。

HCV、HBV 及び HIV (HIV-1) の第 1 次国内標準品は、制定されてから 10 年以上が経過した。これらの国

- 1) 国立感染症研究所
- 2) 日本赤十字社
- 3) ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社
- 4) アボット ジャパン株式会社
- 5) 株式会社 LSI メディエンス
- 6) 株式会社ファルコバイオシステムズ
- 7) 国立医薬品食品衛生研究所
- 8) 埼玉医科大学病院
- 9) 金沢工業大学加齢医工学先端技術研究所

〔受付日：2017 年 11 月 13 日，受理日：2018 年 3 月 4 日〕

表1 国立感染症研究所が2017年現在交付している NAT 国内標準品

ウイルス	国内標準品		
	制定年	制定時力価	遺伝子型
HCV	1999	100,000IU/ml	1b
HBV	2002	430,000IU/ml	C
HIV	2002	180,000IU/ml	B
HEV	2012	250,000IU/ml	3b
Parvo virus B19	2014	1,100,000IU/ml	1

国内標準品には、当時の WHO 国際共同研究の方法に準じてエンドポイント PCR 法によって国際標準品に対する相対力価が定められた。その後、リアルタイム PCR 定量法の性能が飛躍的に向上したことから国際標準品の更新のための共同研究において主にリアルタイム PCR 定量法を用いて標準品の力価を決定するようになった。また、これらの共同研究において、リアルタイム PCR 定量法による測定結果に基づいて力価を決定するほうがエンドポイント PCR 法の測定結果に基づくよりも力価の誤差が小さいことが示された。我が国においては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 2013 年と 2014 年に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 年に「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 (NAT ガイドライン)」の改正⁶⁾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。

今般、新しい定量 PCR 法に応じて評価された国内標準品の整備の必要性が高まったことを受け、2014~2016 年度の多施設共同研究にて、HBV-DNA、HIV-RNA、HCV-RNA 第 1 次国内標準品の力価を、現行の国際標準品に基づき定量し、再評価したので報告する。

材料と方法

1. 測定に用いた国内標準品と WHO 国際標準品

HBV-DNA：第 1 次 HBV-DNA 国内標準品 (HBV-129, 表示力価 430,000IU/ml)、第 3 次 HBV-DNA WHO 国際標準品 [10/264, 表示力価 851,000IU/ml (5.93 log₁₀IU/ml)]。

HIV-RNA：第 1 次 HIV-RNA 国内標準品 (HIV-00047, 表示力価 180,000IU/ml)、第 3 次 HIV-1-RNA WHO 国際標準品 [10/152, 表示力価 185,000IU/ml (5.27 log₁₀IU/ml)]。

HCV-RNA：第 1 次 HCV-RNA 国内標準品 (JCV-1b No122, 表示力価 100,000IU/ml)、第 5 次 HCV-RNA 国際標準品 [14/150, 表示力価 100,000IU/ml (5.00 log₁₀

IU/ml)]。

2. 参加施設と測定方法

国立感染症研究所、国立医薬品食品衛生研究所、日本赤十字社、民間の衛生検査所、試薬メーカー、NAT の標準化に関する専門家の所属する医療機関が参加した。

国立感染症研究所より参加施設に国内標準品と WHO 国際標準品及び希釈用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、日常実施しているリアルタイム PCR 定量法で日を変えて 3 回測定した。その結果を国立感染症研究所が解析した。

(1) HBV-DNA 国内標準品：2014 年度に実施した共同研究に、国内の 7 施設 (国立感染症研究所、国立医薬品食品衛生研究所、日本赤十字社、民間の衛生検査所 2 施設、試薬メーカー 2 施設) が参加し、9 組の測定結果が報告された。4 施設がコバス TaqMan HBV「オート」v2.0 (ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社) を、3 施設がアキュジーン m-HBV (アボット ジャパン株式会社) を、2 施設が in-house の TaqMan PCR 法を用いて測定した。

(2) HIV-RNA 国内標準品：2015 年度に実施した共同研究に、国内の 7 施設 (国立感染症研究所、国立医薬品食品衛生研究所、日本赤十字社、試薬メーカー 2 施設、医療機関 2 施設) が参加し、6 組の測定結果が報告された。3 施設がコバス TaqMan HIV-1「オート」v2.0 (ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社) を、1 施設がアキュジーン m-HIV-1 (アボット ジャパン株式会社) を、2 施設が in-house の TaqMan RT-PCR 法を用いて測定した。

(3) HCV-RNA 国内標準品：2016 年度に実施した共同研究に、国内の 8 施設 (国立感染症研究所、国立医薬品食品衛生研究所、日本赤十字社、民間の衛生検査所 2 施設、試薬メーカー 2 施設、医療機関 1 施設) が参加し、9 組の測定結果が報告された。4 施設がコバス TaqMan HCV「オート」v2.0 (ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社) を、3 施設がアキュジーン m-HCV (アボット ジャパン株式会社) を、2 施設が in-house の TaqMan PCR 法を用いて測定した。

3. 結果の解析

国際標準品に対する国内標準品の相対力価 (IU/ml) は、平行線定量法⁷⁾によって算出した。施設ごとあるいは全施設の力価 (平均) は、測定力価又は相対力価の幾何平均として求めた。

結 果

1. HBV-DNA 国内標準品の力価再評価

HBV-DNA 国際標準品および国内標準品の共同測定

表2 HBV 国内標準品の測定力価および国際標準品に対する相対力価

施設コード*	測定法**	HBV 国際標準品 測定力価 (Log ₁₀ IU/ml)		HBV 国内標準品 測定力価 (Log ₁₀ IU/ml)		HBV 国内標準品 国際標準品に対する相対力価 (Log ₁₀ IU/ml)	
		幾何平均値	95% 信頼区間	幾何平均値	95% 信頼区間	幾何平均値	95% 信頼区間
1	CT	5.92	5.83-5.96	6.07	5.98-6.11	6.07	6.04-6.09
2	IH	5.91	5.88-5.92	5.61	5.52-5.65	5.63	5.52-5.67
3	AG	5.80	5.71-5.84	5.90	5.74-5.96	6.03	5.96-6.06
4	CT	5.91	5.86-5.94	6.11	5.92-6.19	6.12	5.94-6.20
5a	CT	5.89	5.65-5.98	6.09	5.92-6.16	6.16	5.85-6.29
5b	AG	5.74	5.60-5.80	5.86	5.70-5.93	6.04	5.96-6.08
6a	CT	5.92	5.80-5.97	6.19	5.88-6.31	6.10	5.93-6.17
6b	AG	5.89	5.79-5.93	5.99	5.86-6.04	6.03	5.94-6.06
7	IH	5.57	5.51-5.59	5.64	5.52-5.69	6.03	4.94-5.50
全体		5.84	5.75-5.93	5.94	5.78-6.10	6.02	5.90-6.15
施設間変動 (GCV%)		2.1		3.5		2.6	

* : 施設コードはこの共同研究限定で他の共同研究のコードと共通ではない。

** : CT=Cobas Taqman HBV 「オート」 v2.0

AG=アキュジーン m-HBV

IH=In-house TaqMan PCR

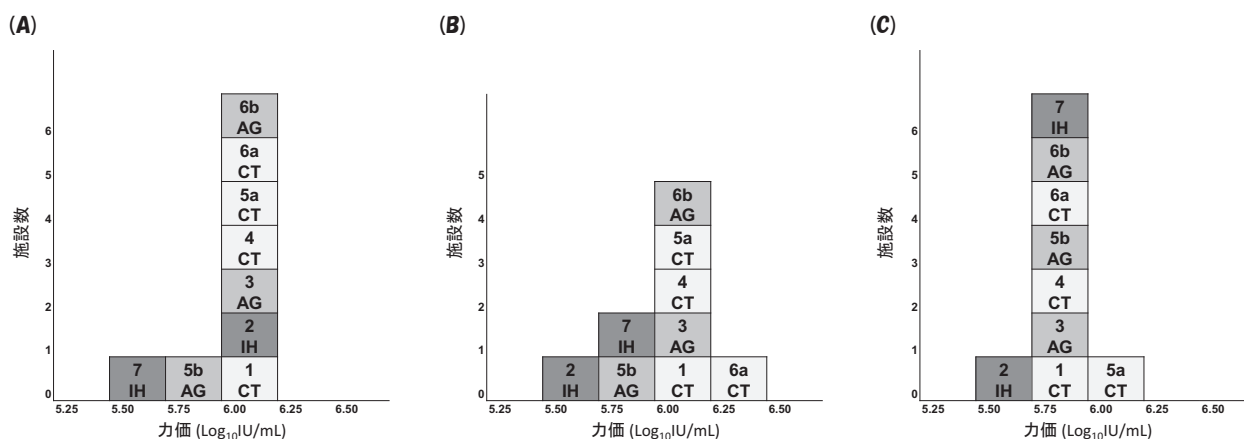


図1 HBV 国内標準品の測定力価および国際標準品に対する相対力価のヒストグラム

(A) HBV 国際標準品の測定力価 (B) HBV 国内標準品の測定力価 (C) HBV 国内標準品の HBV 国際標準品に対する相対力価をヒストグラムで示した。横軸は力価を 0.25IU/ml 毎に区切った階級を、縦軸は施設数 (度数) を表している。各ボックスに、施設コードと測定法を記載し、測定法別に色をわけた。HBV 国内標準品の測定力価 (B) を国際標準品に対する相対力価 (C) として算出することで、ばらつきが少なくなっていることが視覚的に認められる。

結果を図表に示した (表2, 図1)。各施設の国際標準品と国内標準品の測定力価の幾何平均値は、5.84 log₁₀ IU/ml と 5.94 log₁₀ IU/ml と算出された。国際標準品の測定力価 690,000IU/ml (5.84 log₁₀ IU/ml) は表示力価 851,000IU/ml (5.93 log₁₀ IU/ml) の 81.1% であった。国内標準品の力価を国際標準品に対する相対力価として算出すると施設間変動 (GCV%) は 3.5% から 2.6% に減少した。測定法による偏りはみられなかった (表3A, 図1)。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標準品の力価の幾何平均から、国内標準品の力価は 1,060,000IU/ml (6.02 log₁₀ IU/ml) と評価され

た。制定時にエンドポイント法による測定結果に基づいて決定した力価 430,000IU/ml の約 2.5 倍であった。

2. HIV-RNA 国内標準品の力価再評価

HIV-RNA 国際標準品および国内標準品の共同測定結果を図表に示した (表4, 図2)。各施設の国際標準品と国内標準品の測定力価の幾何平均値は、5.18 log₁₀ IU/ml と 4.80 log₁₀ IU/ml と算出された。国際標準品の測定力価 150,000IU/ml (5.18 log₁₀ IU/ml) は表示力価 185,000 IU/ml (5.27 log₁₀ IU/ml) の 81.1% であった。国内標準品の力価を国際標準品に対する相対力価として算出すると、施設間変動 (GCV%) は 6.5% から 1.7% まで小さ

表3 測定法別国内標準品共同測定結果

A. HBV 国内標準品の HBV 国際標準品に対する相対力価			
測定法	施設数	幾何平均値 (Log ₁₀ IU/ml)	p-value
Cobas Taqman HBV「オート」v2.0	4	6.11	0.080
アキュジーン m-HBV	3	6.03	
In-house TaqMan PCR	2	5.83	
B. HIV 国内標準品の HIV 国内標準品に対する相対力価			
測定法	施設数	幾何平均値 (Log ₁₀ IU/ml)	p-value
Cobas Taqman HIV-1「オート」v2.0	3	4.90	0.025
アキュジーン m-HIV-1	1	4.71	
In-house TaqMan PCR	2	4.92	
C. HCV 国内標準品の HCV 国内標準品に対する相対力価			
測定法	施設数	幾何平均値 (Log ₁₀ IU/ml)	p-value
Cobas Taqman HCV「オート」v2.0	4	5.39	0.013
アキュジーン m-HCV	3	5.32	
In-house TaqMan PCR	2	5.57	

表4 HIV 国内標準品の測定力価および国際標準品に対する相対力価

施設コード*	測定法**	HBV 国際標準品 測定力価 (Log ₁₀ IU/ml)		HBV 国内標準品 測定力価 (Log ₁₀ IU/ml)		HBV 国内標準品 国際標準品に対する相対力価 (Log ₁₀ IU/ml)	
		幾何平均値	95% 信頼区間	幾何平均値	95% 信頼区間	幾何平均値	95% 信頼区間
1	CT	5.26	5.14-5.31	4.87	4.81-4.89	4.89	4.81-4.92
2	IH	5.03	4.99-5.05	4.69	4.47-4.78	4.89	4.75-4.95
3	IH	5.61	5.50-5.62	5.36	4.74-5.44	4.96	4.35-5.03
4	CT	5.17	5.06-5.21	4.79	4.67-4.84	4.88	4.75-4.94
5	AG	4.94	4.78-5.01	4.40	4.21-4.48	4.71	4.67-4.73
6	CT	5.04	4.91-5.10	4.68	4.49-4.76	4.92	4.77-4.99
全体		5.18	4.89-5.47	4.80	4.42-5.19	4.88	4.77-4.98
施設間変動 (GCV%)		4.5		6.5		1.7	

* : 施設コードはこの共同研究限定で他の共同研究のコードと共通ではない。

** : CT=コバス TaqMan HIV-1「オート」v2.0

AG=アキュジーン m-HIV-1

IH=In-house TaqMan PCR

くなった。アキュジーン m-HIV-1 を用いて測定した国際標準品に対する国内標準品の相対力価は、他の測定法よりわずかに低値だった(表 3B)。国際標準品に対して相対定量した結果、国内標準品の力価は 75,000IU/ml (4.88 log₁₀IU/ml) と算出された。制定時にエンドポイント法によって決定した力価 180,000IU/ml の約 0.42 倍であった。

3. HCV-RNA 国内標準品の力価再評価

HCV-RNA 国際標準品および国内標準品の共同測定結果を図表に示した(表 5, 図 3)。各施設の国際標準品と国内標準品の測定力価の幾何平均値は、4.73 log₁₀IU/ml と 5.12 log₁₀IU/ml と算出された。国際標準品の測定力価 53,300IU/ml (4.73 log₁₀IU/ml) は表示力価 100,000

IU/ml (5.00 log₁₀IU/ml) の 53.3% であった。コバス TaqMan HCV「オート」v2.0 による測定力価は、やや高い傾向が認められたが、国際標準品の測定力価は表示力価に近似していた。国内標準品の力価を国際標準品に対する相対力価として算出した。In-house の TaqMan PCR 法で測定した 2 施設の国際標準品に対する国内標準品の相対力価は、体外診断用医薬品を用いて測定した結果よりやや高値だったが(表 3C)、全施設間変動 (GCV%) は 2.1% であった。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標準品の力価の幾何平均から、国内標準品の力価は 260,000IU/ml (5.41 log₁₀IU/ml) と評価された。制定時にエンドポイント法による測定結果に基づいて決定した力価 100,000

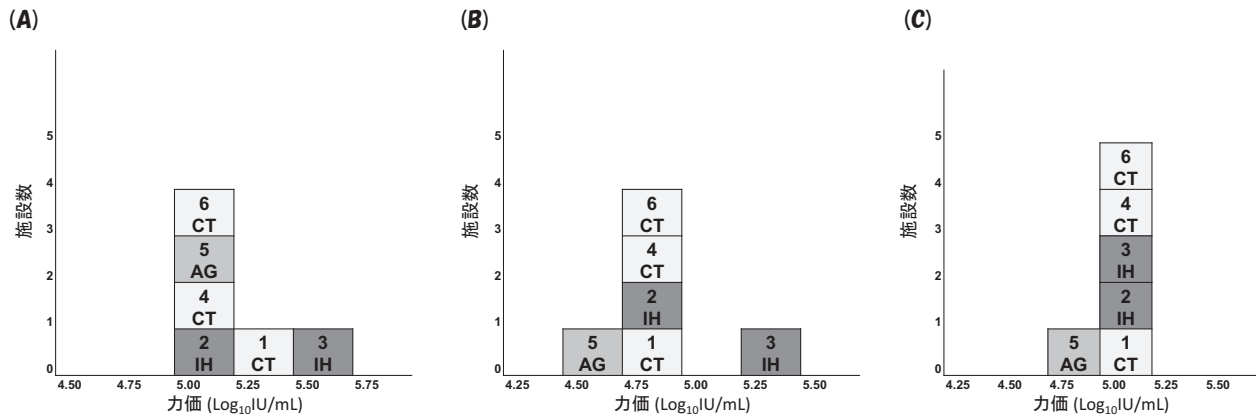


図2 HIV 国内標準品の測定力価および国際標準品に対する相対力価のヒストグラム

(A) HIV 国際標準品の測定力価 (B) HIV 国内標準品の測定力価 (C) HIV 国内標準品の HIV 国際標準品に対する相対力価をヒストグラムで示した。横軸は力価を 0.25IU/ml 毎に区切った階級を、縦軸は施設数 (度数) を表している。各ボックスに、施設コードと測定法を記載し、測定法別に色をわけた。HIV 国内標準品の測定力価 (B) を国際標準品に対する相対力価 (C) として算出することで、ばらつきが少なくなっていることが視覚的に認められる。

表5 HCV 国内標準品の測定力価および国際標準品に対する相対力価

施設コード*	測定法**	HCV 国際標準品 測定力価 (Log ₁₀ IU/ml)		HCV 国内標準品 測定力価 (Log ₁₀ IU/ml)		HCV 国内標準品 国際標準品に対する相対力価 (Log ₁₀ IU/ml)	
		幾何平均値	95% 信頼区間	幾何平均値	95% 信頼区間	幾何平均値	95% 信頼区間
1	CT	4.83	4.78-4.85	5.27	5.22-5.29	5.47	5.43-5.49
2	AG	4.72	4.65-4.74	4.96	4.85-5.00	5.24	5.08-5.31
3	IH	4.51	4.41-4.55	4.99	4.84-5.06	5.54	5.17-5.70
4	CT	5.11	4.95-5.18	5.42	5.38-5.43	5.36	5.21-5.41
5a	CT	4.91	4.65-5.02	5.35	5.14-5.44	5.41	5.15-5.52
5b	AG	4.61	4.51-4.65	4.96	4.81-5.02	5.36	5.25-5.41
6	AG	4.51	4.37-4.56	4.85	4.76-4.89	5.37	5.29-5.40
7	CT	5.05	4.66-5.21	5.34	5.28-5.37	5.33	4.94-5.50
8	IH	4.29	4.12-4.37	4.95	4.86-4.98	5.61	5.52-5.65
全体		4.73	4.51-4.93	5.12	4.95-5.29	5.41	5.32-5.50
施設間変動 (GCV%)		5.8		4.3		2.1	

* : 施設コードはこの共同研究限定で他の共同研究のコードと共通ではない。

** : CT=コパス TaqMan HCV 「オート」 v2.0

AG=アキュジーン m-HCV

IH=In-house TaqMan PCR

IU/ml の約 2.6 倍であった。

4. 国内標準品の力価改正

HBV-DNA 国内標準品および HIV-RNA 国内標準品の解析結果は 2016 年度第 1 回薬事・食品衛生審議会 血液事業部会安全技術調査会 (以下安全技術調査会) (2016 年 8 月 3 日) に、HCV-RNA 国内標準品の解析結果は 2017 年度第 1 回安全技術調査会 (2017 年 7 月 25 日) に報告し、再評価した力価 (HBV-DNA 国内標準品 1,060,000 IU/ml, HIV-RNA 国内標準品 75,000IU/ml, HCV-RNA 国内標準品 260,000IU/ml) に改正することが承認された (表 6)。

考 察

今回、HBV、HIV、HCV の 3 種類のウイルスの第 1 次 NAT 国内標準品を現行の WHO 国際標準品に対する相対力価として、多施設共同研究にて現在使用されている定量法を用いて測定した結果、信頼性の高い力価を得ることが出来た。再評価された力価は制定時の力価の 0.42~2.6 倍となったが、制定時は測定誤差の大きいとされる希釈系列によるエンドポイント PCR 法であったこと、この間に測定試薬や機器の改良が進んだことなどから測定値の差異が生じたと考察された。血液製剤の安全性の確保のために、ごく微量のウイルス遺伝

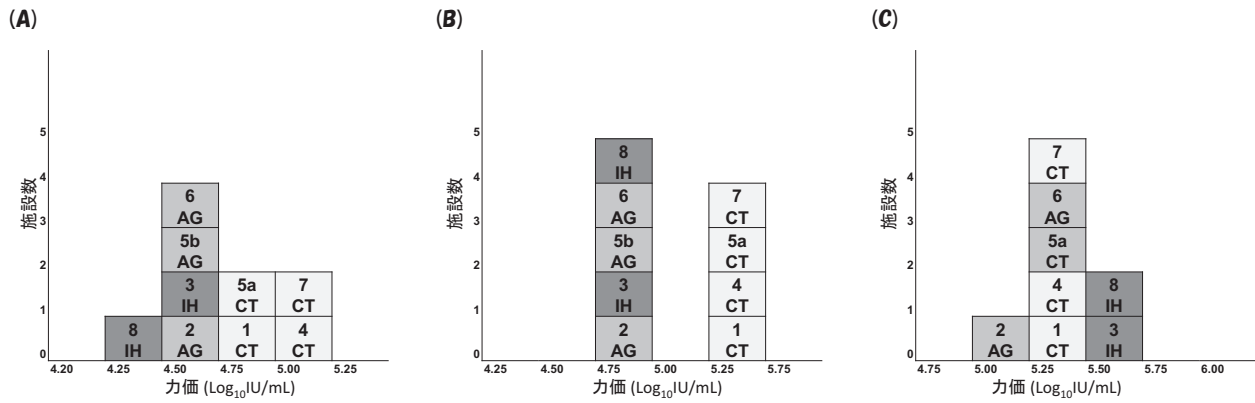


図3 HCV 国際標準品の測定力価および国際標準品に対する相対力価のヒストグラム

(A) HCV 国際標準品の測定力価 (B) HCV 国内標準品の測定力価 (C) HCV 国内標準品の HCV 国際標準品に対する相対力価をヒストグラムで示した。横軸は力価を 0.25IU/ml 毎に区切った階級を、縦軸は施設数 (度数) を表している。各ボックスに、施設コードと測定法を記載し、測定法別に色をわけた。HCV 国内標準品の測定力価 (B) を国際標準品に対する相対力価 (C) として算出することで、ばらつきが少なくなっていることが視覚的に認められる。

表6 再評価した NAT 国内標準品の力価

国内標準品	再評価した力価
HBV-DNA 第1次国内標準品	1,060,000IU/ml (6.02 Log ₁₀ IU/ml)
HIV-RNA 第1次国内標準品	75,000IU/ml (4.88 Log ₁₀ IU/ml)
HCV-RNA 第1次国内標準品	260,000IU/ml (5.41 Log ₁₀ IU/ml)

子の検出が要求される NAT においては、適切な精度管理が極めて重要であり、我が国においては NAT ガイドラインによってその方策が詳しく定められている。NAT ガイドラインでは、NAT の精度や感度を管理する基準として標準品あるいは標準物質 (参照品) が必須とされており、3 種の国内標準品の力価が技術の進歩に応じて現行の国際標準品に基づいた値に改正できたことは、ウイルス安全対策の面で意義が大きいと考えられる。

今回の共同研究において国際標準品の測定力価の幾何平均値は、表示力価の 81.1% (HBV-DNA), 81.1% (HIV-RNA), 53.3% (HCV-RNA) という結果となった。国際標準品の表示力価は、WHO International Laboratory for Biological Standards の一つである英国の National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC) が中心となって国際共同研究を組織し、各国の国立研究機関や製剤製造企業など 10 以上の参加施設の測定によって得られた力価について討議、承認の上、制定されるが、今回の共同研究では測定に使用している試薬や測定法の違いにより国際共同研究にて算出された値との差が生じたと推察された。

WHO の国際標準品の力価を定める国際共同研究では、候補品の力価を既存の国際標準品に対する相対力価として算出する。測定力価は各施設で用いた測定法や試

薬、機器等の影響を受けるため、本研究でも WHO の国際共同研究に準じて、国内標準品の力価を国際標準品に対する相対力価として算出した。国内標準品の力価を国際標準品に対する相対力価として算出することで、施設間変動の相違はごく僅かとなった。

今回再評価した 3 種類の国内標準品に対しては、全て 2 種類の体外診断用医薬品が測定に用いられたが、体外診断用医薬品間での有意差は認められなかった。ウイルス核酸検査用体外診断用医薬品が採用している力価の表示単位は、かつては試験法ごとに定めた copies/ml が主流であったが、国際標準品が制定され、国際単位である IU/ml を用いることによる測定法の標準化がすすめられた結果、各体外診断用医薬品間の差が僅少となったことが示唆される。国際標準品とのデータの互換性が保証された国内標準品は NAT 試験法の標準化の一助となると考えられる。

今後、NAT の精度管理や試験法の改良に再評価された国内標準品の一層の活用が期待される。

著者の COI 開示：富樫謙一はロシュ・ダイアグノスティクス株式会社、中里見哲也はアボット ジャパン株式会社、塚原美由紀は株式会社 LSI メディエンス、前田 豊、福田修久は株式会社ファルコバイオシステムズの employee である。他、本論文発表内容に関連して申告なし。

本共同研究は 2014 年度厚生労働科学研究費助成金 医薬品等規制調和・評価研究事業「血液製剤のウイルス等安全性確保のための評価技術開発に関する研究」(研究代表者 山口 照英) の助成金と、2015, 2016 年度 AMED 医薬品等規制調和・評価研究事業「血液製剤のウイルス等安全性確保のための評価技術開発に関する研究」(研究代表者 山口 照英) の委託費によって行った。希釈用血漿は日本赤十字社より輸血に適さない血液の譲渡を受けた。

文 献

- 1) Roth WK, Busch MP, Schuller A, et al: International survey on NAT testing of blood donations: expanding implementation and yield from 1999 to 2009. *Vox Sang*, 102: 82—90, 2012.
- 2) Baylis SA, Chudy M, Nübling CM: Standardization of NAT for Blood-Borne Pathogens. *Transfus Med Hemother*, 42: 211—218, 2015.
- 3) 水沢左衛子, 岡田義昭, 堀内善信, 他: C型肝炎ウイルス RNA の遺伝子検査法のための第一次国内標準品の作製. *日本輸血学会雑誌*, 51: 515—519, 2005.
- 4) Baylis SA, Blümel J, Mizusawa S, et al: World Health Organization International Standard to harmonize assays for detection of hepatitis E virus RNA. *Emerg Infect Dis*, 19: 729—735, 2013.
- 5) 水沢左衛子, 岡田義昭: 肝炎ウイルスの核酸増幅試験法のための標準品. *臨床化学*, 41: 234—239, 2012.
- 6) 「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」の一部改正について (平成 26 年 7 月 30 日付薬食発 0730 第 1 号及び第 2 号).
- 7) Finney DJ: *Statistical methods in biological assay*, 3rd ed, Charles Griffin Co. Ltd, London, 1978.

REEVALUATION OF THE JAPANESE NATIONAL STANDARDS FOR VIRAL NUCLEIC ACID AMPLIFICATION TESTS (NATs) TO ENSURE SAFETY OF HUMAN BLOOD PRODUCTS

*Sahoko Matsuoka*¹⁾, *Saeko Mizusawa*¹⁾, *Masaki Ochiai*¹⁾, *Shigeru Kusagawa*¹⁾, *Haruka Momose*¹⁾, *Emi Ikebe*¹⁾, *Keiko Miyakawa*²⁾, *Yuko Gotanda*²⁾, *Takashi Hasegawa*²⁾, *Kenichi Togashi*³⁾, *Tetsuya Nakasatomi*⁴⁾, *Miyuki Tsukahara*⁵⁾, *Yutaka Maeda*⁶⁾, *Nobuhisa Fukuda*⁶⁾, *Birei Furuta*⁷⁾, *Eriko Uchida*⁷⁾, *Rieko Kawamura*⁸⁾, *Yoshiaki Okada*⁸⁾, *Teruhide Yamaguchi*⁹⁾ and *Isao Hamaguchi*¹⁾

¹⁾National Institute of Infectious Diseases

²⁾Japanese Red Cross Society

³⁾Roche Diagnostics K.K.

⁴⁾Abbott Japan Co., Ltd.

⁵⁾LSI Medience Corporation

⁶⁾FALCO biosystems Ltd.

⁷⁾National Institute of Health Sciences

⁸⁾Saitama Medical University Hospital

⁹⁾Kanazawa Institute of Technology, Institute of Advanced Medical and Engineering Technology for Aging

Abstract:

The subcommittee on Safety for Plasma-Derived Products, Ministry of Health, Labour and Welfare established Japanese National Standards for quality control of viral Nucleic Acid Amplification Tests (NATs) for human blood products for transfusion and plasma derivatives used in Japan continuously from 1999. The standards are provided by the National Institute of Infectious Diseases. We calibrated the relative potency of the first National Standards for Hepatitis C Virus (HCV), Hepatitis B Virus (HBV) and Human Immunodeficiency Virus (HIV) NATs against the World Health Organization (WHO) International Standard using the end-point method, according to the WHO international collaborative study then. In Japan, in addition to revision of the NAT guideline and sensitivity for implementing individual donor NATs for screening blood products for transfusion, the detection sensitivity of viral NATs was revised in 2014. This increased the need to reevaluate the National Standards for viral NATs for the latest polymerase chain reaction (PCR) assay. We also reevaluated the assigned titers of the first National Standards for HBV-DNA, HIV-RNA, and HCV-RNA by multi-institutional collaborative studies in the three years from 2014 to 2016. Based on accurate measurements using the current, highly accurate quantitative PCR assay, the titers of the first Japanese National Standards were revised to 1,060,000 IU/ml for HBV-DNA, 75,000 IU/ml for HIV-RNA, and 260,000 IU/ml for HCV-RNA in the studies. Effective use of the National Standards reassigned to more reliable titers is expected to progress and improve quality control for NATs.

Keywords:

HBV, HIV, HCV, National Standard, Nucleic Acid Amplification Test (NAT)