

資料 3

平成 28 年度第 1 回血液事業部会
安全技術調査会

血液事業部会安全技術調査会

平成 28 年 8 月 3 日
国立感染症研究所
血液・安全性研究部

HBV-DNA 国内標準品及び HIV-RNA 国内標準品の力価の再評価

血液製剤のウイルス安全性の確保対策として実施されている原料血漿と輸血用血液のウイルス核酸増幅試験（NAT）のための HCV、HBV 及び HIV の国内標準品が製造されてから 10 年以上が経過した。これらの国内標準品は当時の 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、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、定量法による測定結果に基づいて決定するほうがエンドポイント法の測定結果に基づくよりも力価の誤差の小さいことが示された。一方、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平成 25 と 26 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、平成 26 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、新技術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。

以上の現状を踏まえて、現行の HBV-DNA 国内標準品(HBV-129)と HIV-RNA 国内標準品(HIV-00047)の力価を現在使用されている定量法を用いて各国際標準品に対して再評価しました。共同研究の結果、HBV-DNA 国内標準品の力価は 1,057,000 IU/mL (95%信頼区間 804,100～1,391,000 IU/mL)、HIV-RNA 国内標準品の力価は 75,200 IU/mL (95%信頼区間 61,400～92,100 IU/mL) と算出されました。ついては、下記の通り、国内標準品の力価を再評価した力価に再値付けする旨、審議方お願いいたします。

記

国内標準品名	現行の力価	再評価した力価
HBV-DNA 国内標準品	430,000 IU/mL (5.64 log ₁₀ IU/mL)	1,060,000 IU/mL (6.02 log ₁₀ IU/mL)
HIV-RNA 国内標準品	180,000 IU/mL (5.25 log ₁₀ IU/mL)	75,000 IU/mL (4.88 log ₁₀ IU/mL)

参考のために () 内に log₁₀ IU/mL 表示の力価を示した。

以上

HBV-DNA国内標準品及びHIV-RNA国内標準品の力価の再評価のための共同研究

1. 背景と目的

血液製剤のウイルス安全性の確保対策として実施されている原料血漿と輸血用血液のウイルス核酸増幅試験（NAT）のための HCV、HBV 及び HIV の国内標準品が製造されてから 10 年以上が経過した。これらの国内標準品は当時の 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、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定量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、定量法による測定結果に基づいて決定するほうがエンドポイント法の測定結果に基づくよりも力価の誤差の小さいことが示された。

一方、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平成 25 と 26 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、平成 26 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、新技術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。そこで、国内標準品の力価を現在使用されている定量法を用いて精度よく測定し再評価することを目的として国内共同研究を実施した。HBV 国内標準品と HIV 国内標準品の力価の再評価をそれぞれ平成 26 年度と 27 年度に行った。

2. HBV-DNA 国内標準品の力価の再評価

2-1. 材料と方法

参加施設*に HBV-DNA 国内標準品、第 3 次 HBV-DNA WHO 国際標準品（10/264）及び希釈用血漿を送付した。参加施設は直線性の成立する範囲で 3 段階の 10 倍希釈系列を作成し、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。

2-2. 結果

国内の 7 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 を、3 施設がアキュジーン m-HBV を、2 施設が In-house の TaqMan PCR 法を用いて測定した（表 1）。国内標準品の力価を国際標準品にたいする相対力価として算出すると全施設でよく一致し、試験法による偏りは見られなかった（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

1,057,000 IU/mL (95%信頼区間 804,100~1,391,000 IU/mL)と評価された (表 2) 。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 430,000 IU/mL (95%信頼区間 282,000~665,000 IU/mL) の約 2.5 倍であったが、本共同研究において精度よく測定することによって信頼性の高い力価が得られた。

*：日本赤十字社中央血液研究所、株式会社ファルコバイオシステムズ、株式会社 LSI メディエンス、ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社、アボットジャパン株式会社、国立医薬品食品衛生研究所、国立感染症研究所 (順番は図の施設コードと無関係)

3. HIV-RNA 国内標準品の力価の再評価

3-1. 材料と方法

参加施設等に HIV-RNA 国内標準品と第 3 次 HIV-1-RNA WHO 国際標準品 (10/152) 及び希釈用血漿を送付した。参加施設等は直線性の成立する範囲で 3 段階の 6 倍希釈系列を作成し、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。

3-2 結果

国内の 7 施設に試料を送付し、4 つの参加施設[#]と 2 つの測定協力施設^{##}から 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 を、1 施設がアキュジーン m-HIV-1 を、2 施設が In-house TaqMan RT-PCR 法を用いて測定した (表 3) 。国内標準品の力価を国際標準品にたいする相対力価として算出すると全施設でよく一致し、試験法による偏りは見られなかった (図 2) 。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 75,200 IU/mL (95%信頼区間 61,400~92,100 IU/mL) と評価された (表 4) 。制定時にエンドポイント法によって決定した力価 180,000 IU/mL (95%信頼区間 126,300~250,400 IU/mL) の約 0.42 倍であったが、本共同研究において精度よく測定することによって信頼性の高い力価が得られた。

#：日本赤十字社中央血液研究所、埼玉医科大学病院輸血・細胞治療部/中央検査部、国立医薬品食品衛生研究所遺伝子医薬品部、国立感染症研究所エイズ研究センター

##：ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社、アボットジャパン株式会社 (同上)

4. 結論

現行の HBV-DNA 国内標準品と HIV-RNA 国内標準品の力価を現在使用されている定量法を用いて精度よく測定した結果、信頼性の高い力価が得られた。今後、NAT の精度管理や試験法の改良に国内標準品を使用する場合には再評価した力価を使用することが望ましい。HBV-DNA 国内標準品と HIV-RNA 国内標準品の力価をそれぞれ本共同研究において再評価した力価、1,060,000IU/mL と 75,000IU/mL に再値付けすることを提案する。

5.その他

本共同研究は平成26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）の助成金と平成27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。

以上

表1. HBV-DNA国内標準品の参加施設による測定

- 検 体：3rd HBV-DNA WHO国際標準品、HBV-DNA国内標準品
- 測定法：参加施設が日常実施している定量試験法
- 希 釈：直線性の成立する範囲で3段階の10倍希釈系列
- 測定回数：日を替えて3回測定（各測定 N=1）
- 結果の報告と解析：参加施設が測定結果を報告し、感染研が解析

定量試験法	測定結果 セット数	試験法 コード
コバス TaqMan HBV「オート」v20	4	CT
アキュジーンm-HBV	3	AG
In-house TaqMan PCR	2	LD
合計	9	

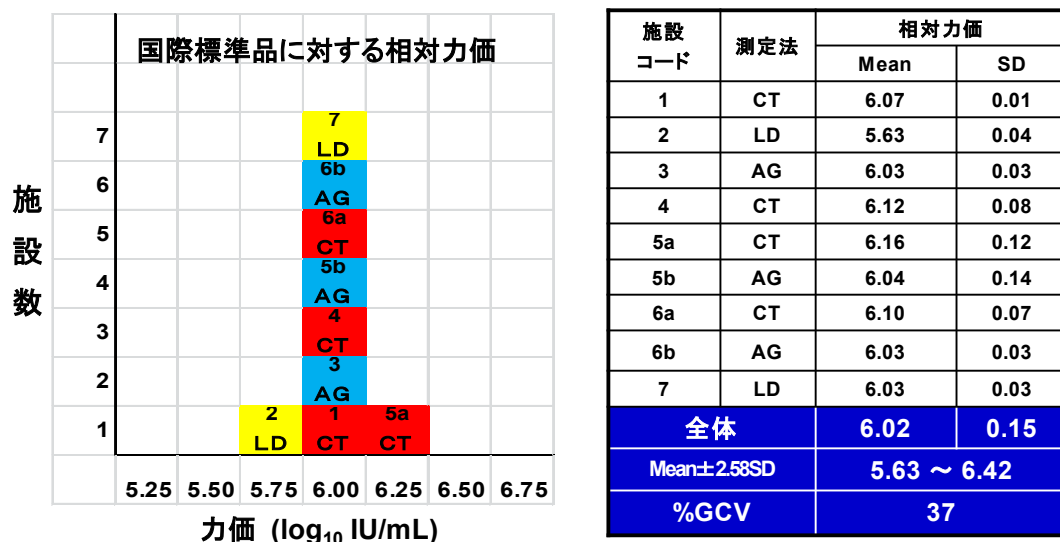


図1. HBV-DNA国内標準品の国際標準品に対する相対力価の各施設の
 平均値 (log₁₀ IU/mL)。相対力価は、測定毎の国際標準品に対する相対力
 価を平行線定量法によって算出し、3回分の幾何平均値として求めた。

■: CT, ■: AG, ■: LD。試験法コードは表1参照。

表2. HBV-DNA国内標準品の第3次HBV-DNA 国際標準品
(10/264) に対する相対力価の全体の平均値 ($\log_{10}$ IU/mL)

データ セット数	平均	最小	最大	SD	%GCV
9	6.02	5.63	6.16	0.15	37

全体の相対力価を図1に示した施設ごとの相対力価の幾何平均値として求めた。

国内標準品の力価は、6.02 (95% CI: 5.91~6.14) $\log_{10}$ IU/mL、すなわち、1,057,000 (95% CI: 804,100~1,391,000) IU/mLと評価された。

表 3 . HIV-RNA国内標準品の参加施設等による測定

- 検 体：3rd HIV-1 RNA WHO国際標準品、HIV-RNA国内標準品
- 測定法：参加施設等が日常実施している定量試験法
- 希 釈：直線性の成立する範囲で3段階の6倍希釈系列
- 測定回数：日を替えて3回測定(各測定 N=1)
- 結果の報告と解析：参加施設が測定結果を報告し、感染研が解析

定量試験法	測定結果 セット数	試験法 コード
コバス TaqMan HIV -1「オート」v2.0	3	CT
アキュジーンmHIV-1	1	AG
In-house TaqMan RT-PCR	2	LD
合計	6	

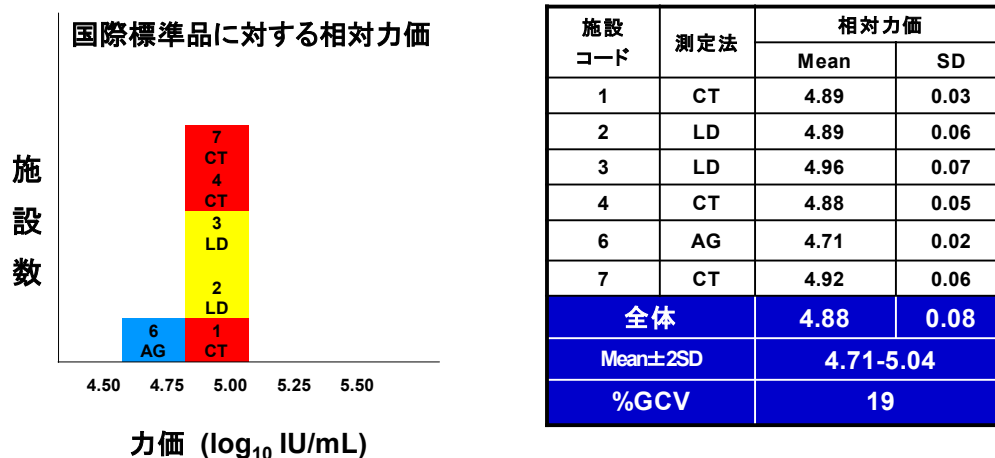


図 2. HIV-RNA国内標準品の国際標準品に対する相対力価の平均値 ($\log_{10}$ IU/mL)。各施設の相対力価は、測定毎の国際標準品に対する相対力価を平行線定量法によって算出し、3回分の幾何平均値として求めた。
 ■: CT, ■: AG, ■: LD。試験法コードは表3参照。

表 4. HIV-RNA国内標準品の第3次HIV-1 RNA 国際標準品 (10/152) に対する相対力価の全体の平均値 ($\log_{10}$ IU/mL)

データ セット数	平均	最小	最大	SD	%GCV
6	4.88	4.71	4.96	0.08	19

全体の相対力価を図 2 に示した施設ごとの相対力価の幾何平均値として求めた。

国内標準品の力価は 4.88 (95% IC: 4.79-4.96) $\log_{10}$ IU/mL、すなわち、75,200 (95% IC: 61,400～92, 100) IU/mLと評価された。