

Title	C型肝炎ウイルス感染症の検査診断法に関する研究
Author(s)	喜多, 美文
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49893
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	喜多美文
博士の専攻分野の名称	博士(保健学)
学位記番号	第22809号
学位授与年月日	平成21年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科保健学専攻
学位論文名	C型肝炎ウイルス感染症の検査診断法に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 岩谷 良則 (副査) 教授 杉山 治夫 教授 三善 英知

論文内容の要旨

【目的】

C型肝炎ウイルス(HCV)感染症の検査診断法は1989年にHCV遺伝子配列が決定されたのを機会に開発された。現在、HCVスクリーニング検査にはHCV抗体の測定が広く行われ、約20種類の試薬が厚生労働省の認可を得て販売されている。これら試薬の開発・改良に伴い、HCV感染症におけるHCV抗体の検出率は一様に上昇したが、試薬の反応性も多様化したことから、試薬間での判定不一致が増加し、多くの臨床家を悩ませる原因となっている。本研究では、これらHCV抗体測定試薬の現状把握を行い、試薬の使用抗原とその測定結果との関連について考察した。一方、HCV確定診断や病態把握および治療効果判定のためにはウイルス量を把握する必要がある。その方法として広く用いられてきたPCR法や分岐DNAプローブ法は、煩雑な測定操作や特殊な設備および熟練した技術が必要であり結果報告までに長時間要するという問題点があった。近年、これらに代わる迅速簡便なHCV抗原測定法が開発された。本研究では、加えてこれら新しいHCV抗原検査法についての基本性能および臨床の有用性を評価した。

【HCV抗体スクリーニング試薬の反応性に関する比較研究】

1.材料；大阪大学医学部附属病院検査部にHCV抗体検査の依頼があった患者血清500例およびBoston Biomedica Incorporation (BBI)の2種類のseroconversion panelを用いた。

2.方法

1)HCV抗体スクリーニング(SC)試薬；① オート クイックチェイサー HCV Ab (QC) ②オート HCV Ab ELISA テストⅢ (ELISA) ③ビトロス HCV抗体 (VITROS) ④オート HCV Ab PA テストⅡ (PA) ⑤IMx HCV・ダイナパック・Ⅱ (IMx) ⑥アーキテクトHCV (ARCH) ⑦ルミパルスⅡオートHCV (LUMI) ⑧ルミパルスプレストオートHCV (Presto) ⑨ケミルミCentaur-HCV抗体 (Cent)

2)HCV抗体確認検査試薬；カイロン HCV RIBA テストⅢ (RIBAⅢ)

3)HCV-RNA検査法；COBAS AMPLICOR HCV v2.0 (PCR)

3.結果および考察

1) 日常検体500例におけるSC試薬の判定値

各試薬の陽性率は9.6～11.8%であり、出現頻度は最大1.27倍の格差を認めた。また使用抗原の類似性と判定一

致率の関係を調べたが、判定不一致の原因は各試薬の測定原理や使用抗原に起因するものではなかった。

2) SC陽性検体70例における確認試薬の判定値

SC試薬のいずれか1試薬でも陽性を示した70検体について、RIBAⅢによるHCV抗体確認検査およびPCRによるHCV-RNA検査を実施した。その結果、RIBAⅢ陽性率は単独陽性を示した検体で低く、複数のSC試薬で陽性を示した検体で高い傾向が認められた。このことから単独陽性を示した検体は偽陽性の可能性が高く、複数陽性を示した検体はHCV抗体が存在する可能性が高いと考えられた。一方、PCR陽性はすべてのSC試薬で陽性を示した検体にのみ認められた。

3) SC試薬の診断効率

RIBAⅢの判定結果に基づき、各SC試薬の感度・特異性を合わせた総合的な診断効率を比較した。その結果、各試薬の診断効率は97.2～99.2%となり、ARCHが最も高くQCが最も低いという結果が得られた。

4) HCV抗体陰性検体におけるSC試薬のカットオフ(CO)値までの距離

各SC試薬のHCV抗体陰性分布におけるCOまでの距離と偽陽性数の関係を調べた。その結果、COまでの距離が小さいSC試薬ほど偽陽性率が高く、距離が大きいSC試薬ほど偽陽性率が低い傾向を示し、各SC試薬の陰性分布から偽陽性検体出現数を推測できることを明らかにした。

5) HCV感染初期検体における判定値の比較

HCV感染初期患者血清(BBI seroconversion Panel)を用いて判定結果を比較した。その結果、感染初期の早期より陽性化したSC試薬はCent, ELISA, ARCHであり、これらの試薬は検出感度が高く、より初期の段階からHCV抗体を捉えることが可能であると思われた。

【HCVコア抗原の反応性に関する研究】

1.材料；大阪大学医学部附属病院検査部にHCV-RNA検査の依頼があった患者血清を用いた

2.方法

1) HCVコア抗原測定法；ルミパルスオゾンHCV抗原（HCVコア抗原）

2) HCV-RNA定量測定法；クオンティプレックスHCV-RNA・2（b-DNA）

3) HCV-RNA定性測定法；コバスアンプリコアHCVv2.0（PCR）

3.結果および考察

1)同時再現性

HCV抗原濃度の異なる3種類のプール血清を試料とし、10回の重複測定を行なった。その結果、変動係数(CV)は低濃度から高濃度領域までいずれも7.0%以下となり良好な成績を示した。

2)希釈直線性

HCV抗原高濃度血清を陰性血清にて2[※]希釈したものを試料とし希釈直線性を調べた。その結果、定量性は基準値の50fmol/lから50000fmol/lまで認められ、抗原過剰領域における地帯現象による測定値の低下も認められず、十分な定量性が得られた。

3) HCV非感染者における測定値の分布

HCV非感染者100例についてHCVコア抗原測定値の分布を調べた。その結果、100例すべて陰性であったが、発光カウント値は濃度に換算して30.5fmol/lのばらつきを認め、個々の検体により大きく異なることが明らかとなった。そこで陰性検体個々の同時再現性を調べたところ、CVは検体により約3倍の差が認められた。このことから、個々の検体のCVを抑えることにより陰性検体の発光カウント値を収束させると、さらに高感度な測定が可能となることを明らかにした。

4) HCV感染者における検出率の比較

HCV-RNA定性(PCR)法にて陽性を示したHCV感染者を試料とし、HCVコア抗原とHCV-RNA定量（b-DNA）の検出率を比較した。その結果、HCVコア抗原の検出率は77.4%となり、HCV-RNA定量（b-DNA）の72.6%に比し、若干優れていることが確認された。

5) 相関性

HCVコア抗原測定法とHCV-RNA定量（b-DNA）の相関関係を調べた。その結果、相関係数は0.878となり、両

方に良好な相関関係を認めた。

【総括】

(1) わが国において使用頻度の高い9種類のHCV抗体測定試薬を用いて測定結果の比較検討を行った。各試薬の陽性率の出現頻度は最大1.27倍の格差を認めたが、その原因は各試薬の測定原理や使用抗原に起因するものではなかった。また、診断効率や検出感度の比較から各試薬により特性が異なることが判明した。さらに各試薬のHCV抗体陰性分布から偽陽性出現数を推測できることを明らかにした。

(2) HCVコア抗原測定法は従来のHCV-RNA測定法に比し、特殊な設備が不要であり、迅速かつ簡便性に優れた測定法であることが明らかとなった。また基本性能、陽性率および定量性についても満足する成績を示し、HCV-RNAの測定と同様に臨床経過を反映し、臨床的に有用であることが確認された。

論文審査の結果の要旨

C型肝炎ウイルス（HCV）スクリーニング検査にはHCV抗体の測定が広く行われている。試薬の開発・改良に伴い、HCV感染症におけるHCV抗体の検出率は一様に上昇したが、試薬の反応性も多様化したことから、試薬間での判定不一致が増加し、多くの臨床家を悩ませる原因となっている。本研究では、これらHCV抗体測定試薬の現状把握するために、わが国において使用頻度の高い9種類のHCV抗体測定試薬を用いて各試薬の反応性について詳細に研究し、各試薬間の陽性率や判定不一致の原因を調査し、診断効率および検出感度が各試薬により異なることを指摘した。さらに各試薬のHCV抗体陰性分布から求めた計算式から、各試薬の偽陽性出現数を推測できることを明らかにした。

また、HCV確定診断や病態把握のためにウイルス量を把握する方法として、従来用いられてきたPCR法や分岐DNAプローブ法は、煩雑な測定操作や特殊な設備および熟練した技術が必要であり結果報告までに長時間要するという問題点があった。本研究では、これら問題点を改善した新しいHCV抗原検査法について基本性能および臨床的有用性を評価し、迅速かつ簡便性に優れた臨床的有用性の高い測定法であることを明らかにした。

さらに、イムノクロマトグラフィー法を用いた新しいHCV検診検査法を考案し、現行の検査法に匹敵する迅速・簡便なHCV検診検査法の設定に成功した。

以上のことから本論文は博士（保健学）の学位授与に値するものと考えられる。