

今週の話題：

＜ポリメラーゼ連鎖反応によるインフルエンザウイルスサブタイプ A の検出：WHO 外部の品質評価プログラム概要分析、2012＞

*** 序論：**

世界のインフルエンザウイルスの監視は、50 年以上 WHO の世界的インフルエンザサーベイランス反応システム (WHO Global Influenza Surveillance and Response System, GISRS) により行われている。現在、110 の WHO 加盟国にある 140 の機関は、国立インフルエンザ・センター (NIC) と認識されている。また、研究所ネットワークも、6 つの WHO 共同センター、4 つの調整研究所と新たな問題に対処するグループから構成されている。

インフルエンザウイルスは進化し続け、ヒトやヒト以外で蔓延し、ヒト感染によりパンデミックを引き起こす可能性もあるため、タイムリーな監視と豊富な研究所での診断能力を維持する必要がある。技術的進歩によってもたらされたインフルエンザの迅速で敏感な分子学的手法の使用は、より広範囲で利用でき、培養施設が利用できない所で重要になった。ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) によるインフルエンザウイルスサブタイプ A の WHO 外部の品質評価プログラム (EQAP) は、2007 年に研究所の質を評価することの重要性が認められ始まった。EQAP は、他の新生のインフルエンザウイルス (例；鳥インフルエンザ A (H5N1) とパンデミックインフルエンザ A (H1N1) pdm09) の日常的な診断と監視における研究所の質と同等性をモニタリングするための資源になった。研究所の実績の概要は、検体パネル 1~10 (2007~2011) により、WER 週報で報告された。

2012 年にプロジェクトは、インフルエンザ研究に関する WHO 共同センターや他の H5 関連研究所、WHO 地域事務所の支援を受け、香港の健康保護センターの国立インフルエンザセンターによって実施され、WHO の国際インフルエンザプログラムの調整のもとに継続している。この報告では、2012 年 4 月~6 月の期間に参加研究所に送られたウイルスパネル 11 の評価結果をまとめた。

*** 検体パネルの準備：**

真空乾燥と γ 線により不活化されたインフルエンザ A 型とインフルエンザ B 型ウイルスは、参加している研究所に送られた。ウイルスは、マディン・ダービー犬の腎臓 (MDCK) 細胞の中で育成し、 γ -光線照射によって不活化させた。

*** 検体パネルの構成：**

検体パネル 11 は、インフルエンザ A 型 (H5N1) 遺伝子のクレード 2.3.2.1、A (H3N2)、A (H1N1) pdm09、A (H9N2) とインフルエンザ B ウイルスを含むインフルエンザウイルスの異なる濃度を表示した 10 個の符号をつけたサンプルから成り立っている。ウイルスを含まないサンプルが、この検体パネルに含まれている (詳細は、表 1)。参加者は、検査前に提供された再構成バッファで各サンプルの再構成を行い、探知や使用標的遺伝子の方法についての調査も行った。

*** 検体パネルの配布と参加者の反応：**

検体パネルが送られる前に、NIC と他の全国インフルエンザ研究所は参加を求められた。検体 11 は、2012 年の 4 月~6 月に、170 の参加研究所に送られた。研究室の大半が送付の 1 週間以内に検体のサンプルを受け取った。125/170 (73.5%) と 163/170 (95.9%) の研究所は、締切日前に結果を報告した。表 1：インフルエンザ A、B 型ウイルス検出のための国家インフルエンザセンターと他の研究所によるパネル構成と WHO 外部品質評価プログラムの結果、パネル 11 (2012)

の研究所が、4つのスコアをつけたインフルエンザA型(H5)サンプルに全て正しい結果を報告した(図2)。54/163の(33.1%)研究所は、誤った結果を報告した(詳細-表3)。

表1: インフルエンザA、B型ウイルス検出のための国家インフルエンザセンターと他の研究所によるパネル構成とWHO外部品質評価プログラムの結果、パネル11(2012)

インフルエンザウイルス	系統/クレード	検体No.	コピー/μL	正確に検体を確認した研究所の数(%)
A(H5N1)	2.3.2.1	V04-2012	6.690 x 10 ⁶	154 (94.5)
A(H5N1)	2.3.2.1	V05-2012*	6.352	140 (85.9)
A(H5N1)	2.3.2.1	V07-2012	4.678 x 10 ⁶	152 (93.3)
A(H5N1)	2.3.2.1	V08-2012	4.505 x 10 ⁶	149 (91.4)
A(H5N1)	2.3.2.1	V09-2012	4.505 x 10 ⁶	150 (92.0)
A(H3N2)	A/Victoria/361/2011-like virus	V03-2012	2.890 x 10 ⁶	155 (95.1)
A(H1N1)pdm09	A/California/7/2009-like virus	V10-2012	6.433 x 10 ⁶	156 (95.7)
A(H9N2)	A/Hong Kong/33982/2009 virus	V01-2012*	1.646 x 10 ⁶	133 (81.6)
Influenza B	B/Wisconsin/1/2010-like (Yamagata lineage) virus	V06-2012	3.930 x 10 ⁶	159 (97.5)
Negative - Négatif	NA - SO	V02-2012	NA - SO	156 (95.7)

* 検出方法:

前検体パネルのように研究所によりインフルエンザAとB型ウイルスとサブタイプA(H1)pdm09、A(H3)とA(H5)とを区別する検査方法とPCR実施要綱において、かなりの違いがあった。半数以上は、米国疾病管理予防センターの手順で行ったが、異なるPCR手順でも検査結果の違いがほとんどなかった。12.3%(20/163)の研究所は、インフルエンザA型(H9)サブタイプを検出した。これら20の研究所のうち4つはNサブタイプを行い、正しくN2を報告した。すべての研究所に配られた実績の大きな報告に標的遺伝子、検出方法と使用したプライマー/プローブと酵素に関する詳細な報告も含まれた。

* 実績に影響を与える要因:

リアルタイムPCRの使用が、低濃度(V05-2012)でインフルエンザ検出に大きく関わる(p<0.05)ことを、検体11の分析法は示した。H5サブタイプの結果を報告した159の研究所の間で、7つはH5サブタイプに従来のPCRのみを使い、そのうちの5つはH5のサンプルV05-2012に陰性結果を報告した。リアルタイムPCRにて、偽陰性結果を報告した9つの研究所に対して、対照的である。研究所は、感度を確実にし、インフルエンザA型ウイルスのサブタイプのミスを避けるため、定期的な検査手順の見直しを勧められた。誤ったインフルエンザA型(H9)サブタイプ結果を報告した9つの研究所には間違いがあることを示し、研究所は提供されたものを使うことを勧められた。これに加え、結果を報告した研究所のわずか24.8%(42/148)がインフルエンザA型(H9)を検出したことを、関連医薬品の安全性試験実施関連基準(GLP)は明らかにし、12.3%(20/163)しかインフルエンザA型(H9)サンプルを正しく報告出来なかった理由を説明することが出来た。

* 討論:

EQAPの研究所数は、2010年の検体パネル8の158から163まで少し増加した。γ-光線照射により不活化したウイルスは、検体パネル9で導入され、検体パネル11では完全にRNAサンプルに代わった。追加的な抽出法によって全てを正しく検出する率は、検体パネル8で86%、検体パネル9と10で、77%と78%に落ちた。検体パネル11の増加(82%)は、RNA抽出の改善または全体の検査能力の向上であるかもしれない。インフルエンザA型(H5)検出の全正答率は、5つの最近の検体パネルで88%程度と安定している。

EQAPの範囲は広がっている。インフルエンザA型(H9)サンプルは、検体パネル11で初めて導入されパンデミックの可能性のあるインフルエンザA型のサブタイプは今後、含まれ続ける。

分子的手法の使用能力を測定する試みとして、次の検体パネル 12 でインフルエンザ抗ウイルス剤抵抗を見つける能力の評価を含むことも計画されている。インフルエンザの診断と監視において世界的な能力の向上のために EQAP に参加し続けることが、NIC と他の全国インフルエンザ研究所で奨励されている。

表 2：外部品質評価プログラムでの参加研究所の実績、検体パネル 11 (2012 年)、図 1：外部品質評価プログラムの参加研究所の実績、WHO 地域別、検体パネル 11 (2012 年)、表 3：外部品質評価プログラムの参加研究所から報告された不正確な結果の詳細、図 2：A、B 型インフルエンザウイルス検出に関する WHO 外部品質評価プログラムに参加する研究所の実績、パネル 1-11、2007~2012 年 (すべて WER 参照)

<免疫とワクチンに関連した実施研究 (IVIR、以前は QUIVER) に関する WHO 諮問委員会：第 6 回目の会議事録>

IVIR 諮問委員会の第 6 回会議は、2012 年 9 月 25~26 日にジュネーブ (スイス) で開催された。現在の免疫化システム問題並びにワクチンの性能の評価に量的方法を取り入れて以来、QUIVER (量的免疫化とワクチン関連調査) から IVIR (免疫化とワクチン関連の実施調査) に変更された。

研究問題の優先付けであるプライオリティー・セッティング枠を開発するため、WHO は特別専門調査委員会を設立した。IVIR はそのアプローチと使用方法について積極的であるが、優先する提案された研究質問のリスト (現在 86) を回答者の負担を減らすため、短く再構成するべきかと考える。これに加え、特に国と WHO の 6 地域から、IVIR は、幅広い関係者が入るべきとも考えている。

予防接種で防止される死や障害の金銭的な価値をみる統計的生命価値 (VSL) 分析が、ジョンズ・ホプキンス大学の Public Health International Vaccine Access Center で用いられている。IVIR は費用便益分析 (CBA) /統計的生命価値 (VSL) と費用効果分析 (CEA) が異なる疑問について述べ、統計的生命価値 (VSL) が健康分野で広く使われていなかったと考え、完全には対象にされなかった処置への技術的な課題があると示す。委員会は VSL が補助的な情報を提供するが、ワクチンのプライオリティー・セッティングの主要な基礎として使ってはいけないと考える。理論的には、ワクチン導入の決定に、VSL 方法は適切であるが、低、中所得国で (LMICs)、経験的な証拠は不足している。IVIR は、LMICs で類似したデータセットを使っているワクチン導入の経済評価のため CBA/VSL と CEA の両方を使用する症例研究を実施することを勧めている。

WHO は、黄熱病の負担を評価するため、専門調査委員会を設立した。黄熱に関して証拠を増やすことにより、予防接種並びに投資についての GAVI 同盟決定が通知しやすくなる。専門調査委員会の仕事は、黄熱病データの公表、未公表の情報を提供すること、アフリカで被害を推定する方法に意見を提供することである。インペリアル・カレッジ (ロンドン) は協力を委託された。

専門調査委員会は、病気の被害を推定するため、2 つのアプローチを提案した：

- (1) 観察された症例の年齢分布による感染の年間リスクを推定。
- (2) 報告された集団発生のおおきさから基本再生産数を推定。

事前推定値は、WHO と協力団体に 2012 年末までの最終的な推定値とともに 2012 年 10 月下旬に提示するとした。次は、黄熱病制御戦略、政策決定サポート、査読された出版物の評価で状況により黄熱と黄痘を区別することが重要である。

従来の方法 (QALY/DALY の費用) を越えた経済評価の結果のため、予防接種のより幅広い利益の研究では、外部の関係者ならびに国内の意思決定者 (財政担当大臣等) からの要請について述べている。関係者にとって有用で、測定しやすい方法で予防接種の幅広い影響を判断することが出来るツールと方法を開発することを目的としている。ここまでの仕事は 2 つの専門家の協議 (トロント 2011 とジュネーブ 2012) 関係者による調査と文献レビューで実施した。これに加え、4 つのグループは革新的なツール開発の要請に応じ、彼らの提案した一連の活動を運営し始めた。IVIR はワクチンのより広い経済的影響の評価が重要で、理論的な枠組みが適切であると考えられる。しかし、未だ交絡因子を処理する方法が設定されておらず、基本データが不足していることからワクチンの間接的な効果を推定することは難しい。IVIR はこれらの因果関係を判断する手法模索の継続的な努力を勧めている。間接的な影響が評価される見込みを向上させる無作為化対照比較試験のデザインでより幅広い影響を測る変数の包含を考慮することも重要である。

WHO は、はしかと風疹根絶のために投資のサポートを続けている。IVIR は、はしか問題の最終段階の前に、投資により根絶のモデル化を助長するが、ワクチン接種において異質性の考慮が必要であり、これは最終段階の重要な要因である。これは、総人口だけでなくワクチン拒絶者の調査と国の中のへき地グループを調査するモデルを必要とする。掃滅運動でのリスク、最初の服用と 2 回目の服用に関連した問題、集団発生のコストを算定することも重要である。IVIR は、はしかと風疹を排除するアメリカ地域の経験データが評価され、リスク評価分析の一部に使用することができることを示唆した。

WHO は子宮頸癌防止と管理費用 (C4P) ツールを開発し、IVIR は、C4P ツールが適切だと考えている。

また、基本ツールが出来ればヒトパピローマウイルス予防接種の導入計画と並びにスクリーニングと治療において国のプログラム・マネジャーのために役立つと考えられる。

ツール強化の修正を提案：

- (1) 社会経費を含む随意の基本モデル（利用者と間接的な/生産性経費）；
- (2) 感度または筋書き分析（異なる予防接種日程のための費用を含む）を提供；
- (3) 特に診察と基本処置のための癌登録につき、多くの観察と経費の評価を含める。
- (4) 保健制度がある国のために、地域・データ収集のために随意の基本事項を含める。
- (5) 利用案内者に費用計算に関する詳細な情報を加える。

予防接種の静的モデル（WHO が選ぶ pop-Mod、汎米保健機構の TriVac と Lives Saved Tool [LiST]）に免疫力（集団免疫）のために自身の抵抗力を使うことを提案した計画は、例として PopMod を使って、PopMod にロタウイルス予防接種の動的なモデルから集団効果を取り入れることである。それから、抵抗力のある人は原型の感染力のモデルで使われなかった典型的なパラメータ・セットの PopMod を慣れさせる。IVIR は、静的、動的モデルには利点と欠点とがある点に注意する。提案されたアプローチは、抵抗力を持ったモデルと静的モデルに組み合わせる。このアプローチにはまだ若干の欠点がある。モデルがパイロット調査であり、静的、動的なモデリングの利点を取り入れるモデル・ツールを提供することが必要とされ、さらに調査を行うべきである。

WHO は、水痘と帯状疱疹の負担の研究を依頼し IVIR は、それら負担を調査するために提案された方法が適切であるが、アフリカ諸国ではデータ不足を心配している。このため、専門調査委員会が他の既存の血清疫学データ（水痘ワクチンを導入したラテンアメリカの国のデータだけでなく）を評価するよう提案している。信頼データがない場合さえ、モデリングは予防接種の影響を推定することで一役担うことが出来る。

IVIR も、データの不足の中期解決法を提案している：

1. 帯状疱疹を既存の監視システムに含む、
2. ケニヤと他の国の既存の血清サンプルの中の水痘抗体に対する検査を行う。

<感染症に関する WHO ウェブサイト> (WER 参照)

<2012 年 1 月－11 月のメジナ虫症ケースの月報>

国際問題は疫学週報にその数を報告され進展を確認できる。(WER 参照)

(中西亮介、中山貴美子、堀裕一)