

新型コロナウイルス抗体検査キットの 性能評価と標準品策定に関する海外動向

2021年7月

国立医薬品食品衛生研究所 コロナ診断薬チーム

抗体検査担当：生物薬品部，医薬安全科学部

出典：西村和子ら 国立医薬品食品衛生研究所報告，Vol. 139, in press

概 要

新型コロナウイルスに対する抗体検査キットは、本邦では薬事承認の対象ではないが、感染履歴の把握や抗体保有と感染防御能の関連の解明、ワクチンの有効性の評価等の研究的な利用での役割が期待されている。これまでに国内外で抗体検査キットが多数開発・販売されているが、抗体検査では、抗体の補足のために使用されている抗原（N proteinあるいはS protein）の種類や使用された抗原タンパク質上の部位、発現細胞、固定化や標識方法等により、検出される抗体の特性や検出下限が異なるという特徴がある。加えて、抗SARS-CoV-2以外の新型コロナウイルスに対する抗体との交差反応性などの課題もあり、期待されるような性能が発揮できない検査キットもあることが報告されている。したがって、抗体検査の信頼性確保のためには、検査キットの評価に必要な標準品の整備や、標準化された性能基準が必要である。

これらの課題を踏まえ、新型コロナウイルス感染症のパンデミックが生じた当初から2021年3月までの間に、海外で行われた抗体検査キットの性能評価および標準品の策定に関する取り組みについて調査し、整理した。

1、海外公的機関における新型コロナウイルス抗体検査の性能評価試験

1.1 米国食品医薬品局（FDA）ガイダンス付属テンプレートにおいて新型コロナウイルス抗体検査キットの性能に求められる基準

テンプレート 発出日	臨床性能	交差反応性
2020.5.11版	RT-PCR陽性患者（30人）からの少なくとも30検体と、 RT-PCR陰性確定75検体あるいは2019年12月以前に収集した75検体について ・ 感度：90%以上 ・ 特異度：95%以上 ・ IgMのみの感度：70%以上 ・ IgGのみの感度：90%以上	2019年12月以前に米国で収集した75検体以上など、多数の陰性既知検体を用いて特異度の評価を行い、特異度が98%以下であった場合、あるいは多数の検体を用いた特異度の評価が出来なかった場合は、その他のウイルス12種類について、交差反応性を試験。
2020.6.26版 ~ 2021.3.17版	RT-PCR陽性患者（30人）からの少なくとも30検体と、 RT-PCR陰性確定75検体あるいは2019年12月以前に収集した75検体について IgGとIgMを区別して検出する検査 ・ IgMとIgGを併せた感度：90%以上 ・ IgMのみの感度：70%以上 ・ IgGのみの感度：90%以上 ・ IgMとIgGを併せた特異度：95%以上 Total Ig, IgGのみ、あるいはIgMのみを検出する検査 ・ 感度：90%以上 ・ 特異度：95%以上	2019年12月以前に米国で収集した75検体以上など、多数の陰性既知検体を用いて特異度の評価を行い、特異度が95%以上であり、別に交差反応性の試験を行わない場合は、特異度の評価に用いた試料の特性について説明すること。 多数の陰性既知検体を用いた特異度の評価が出来なかった場合は、その他のウイルス12種類について、交差反応性を試験すること。

<https://www.fda.gov/medical-devices/coronavirus-disease-2019-covid-19-emergency-use-authorizations-medical-devices/in-vitro-diagnostics-euas#individual-serological>

1.2 英国医薬品・医療製品規制庁（MHRA）ガイダンスにおいて新型コロナウイルス抗体検査キットの性能に求められる基準

ガイダンス 発出日	臨床性能	交差反応性
2021.5.25版	感度 ：発症後20日以降に収集した陽性確定検体を少なくとも200検体を用い、98%以上が陽性（95%信頼区間：96-100%） 特異度 ：新型コロナウイルス出現より6カ月以上前に収集した検体あるいは陰性確定検体を少なくとも200検体用い、98%以上が陰性（95%信頼区間：96-100%）	望ましい性能 ・ 他の既知のコロナウイルスおよび一般的な呼吸器疾患の病原体と交差反応性がない（0.1%以下） 許容可能な性能 ・ 他の既知のコロナウイルスあるいはリストに示される一般的な呼吸器疾患の病原体との交差反応性が最小（1%以下）

<https://www.gov.uk/government/publications/how-tests-and-testing-kits-for-coronavirus-covid-19-work/target-product-profile-antibody-tests-to-help-determine-if-people-have-recent-infection-to-sars-cov-2-version-2>

1.3 FDAによる新型コロナウイルス抗体検査キットの性能評価試験 (Independent Evaluations of COVID-19 Serological Tests)

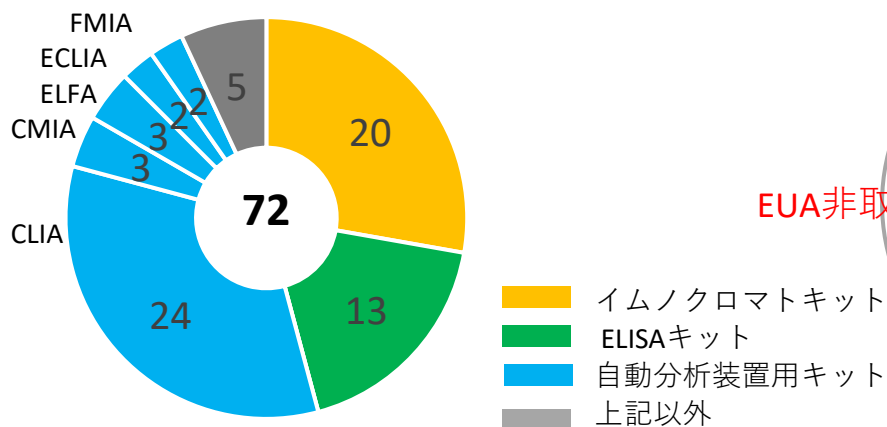
FDAでは、2020年5月に緊急時の対応として通常の審査を経ていない未承認の検査キットの中で、一定の水準を満たすと判断されたものに緊急使用許可（EUA）を与えることとされた。

一方、2020年7月以降、政府研究機関において、それぞれ陽性検体（30検体）と陰性検体（80検体）から成る数種の検体パネルを用いた感度及び特異度の評価が行われ、イムノクロマトキット、ELISAキットおよび自動分析装置を用いた試薬キットの評価結果を随時、発表している。

試験実施機関	米国 政府研究機関 ・ National Cancer Institute (NCI) 86キット ・ Centers for Disease Control and Prevention (CDC) 2キット ・ National Institutes of Health (NIH) 1キット
評価対象キット	コロナ抗体検査キット：89キット（2021/3/8現在） 内訳 イムノクロマトキット 76キット ELISAキット 10キット 自動測定装置用キット 3キット
使用した試料	「Panel 1」，「Panel 2」，「Panel 3」 各パネルは、以下から成る 陽性血清試料（30検体）…核酸増幅検査で陽性確定検体 陰性血清・血漿試料（80検体）…2020年より前に収集された検体
評価項目	IgM, IgG, IgA, Total Igについて、感度と特異度 ⇒抗体保有率5%における陽性的中率，陰性的中率を計算
評価時期	2020年7月～

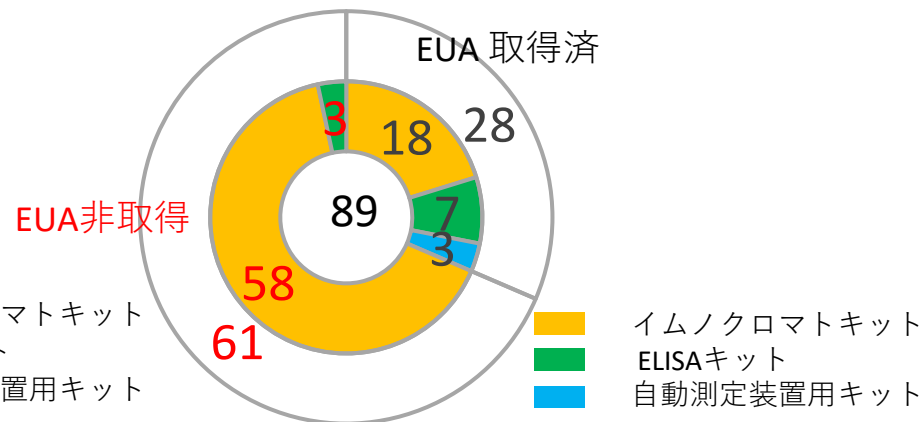
米国医薬品食品局（FDA）が緊急使用許可（EUA）を与えた品目の内訳(A)および政府研究機関における評価対象となった抗体検査キットの数と分類(B)（2021年3月8日時点）

(A) EUA取得品目の内訳



CLIA: Chemiluminescence immunoassay
 CMIA: Chemiluminescent microparticle immunoassay
 ELFA: Enzyme-linked fluorescence immunoassay
 ECLIA: Electrochemiluminescence immunoassay
 FMIA: Fluorescent microsphere immunoassay

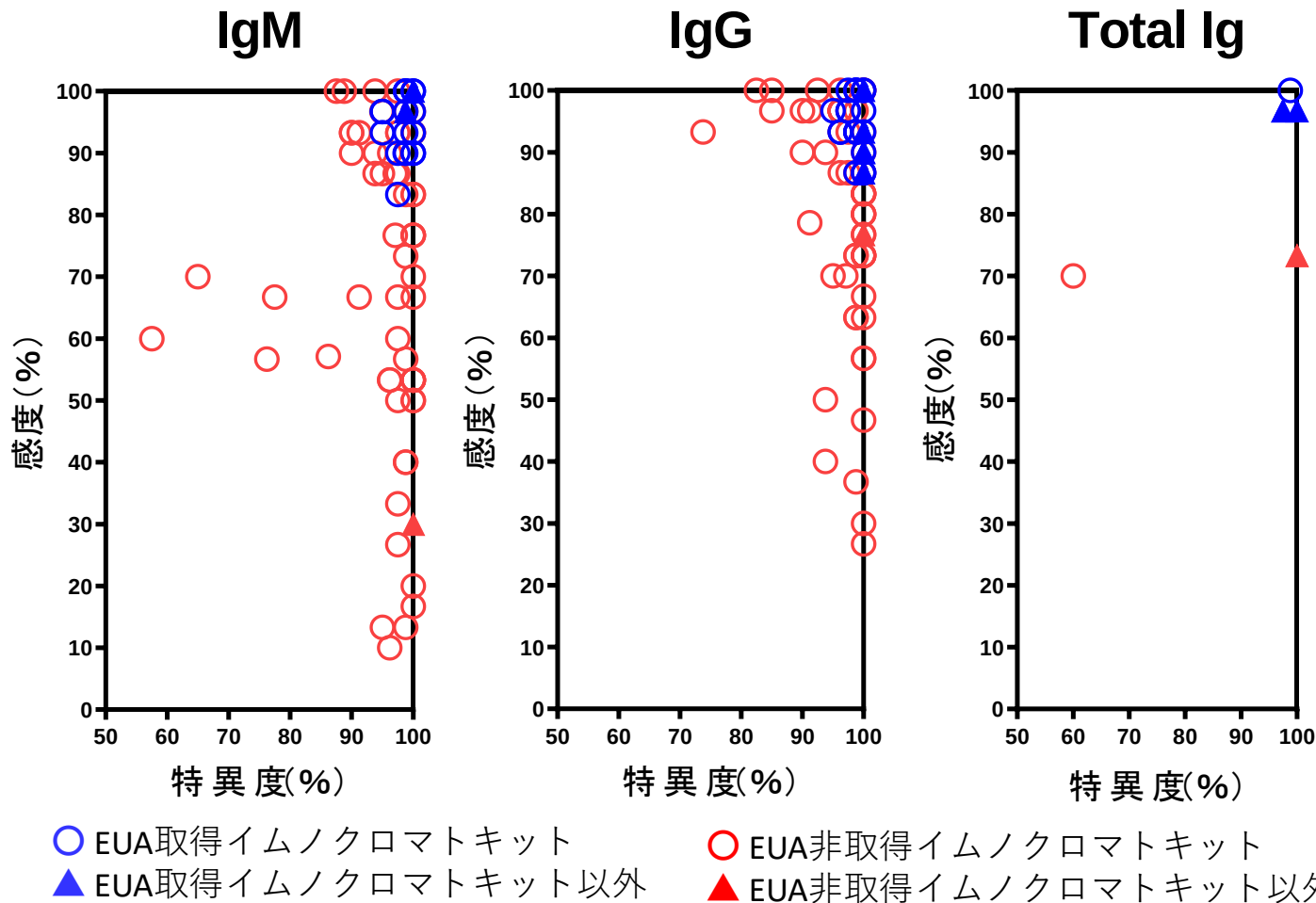
(B) 政府機関による性能評価の対象となったキットの数と内訳



- 2021年3月時点で、72品目の抗体検査キットがEUAを取得していた。
- 同時点で、EUAを取得した72キットのうちの28キットおよびEUA非取得の61キット、計89キットが政府研究機関による評価対象となっていた。
- 評価対象となったイムノクロマトキットの多くがEUAを取得できていない製品であった。

FDAによる抗体検査キットの性能評価結果

- 公表されているデータを用いて、検査キットの検出対象（IgG、IgM、Total Ig）別に、感度と特異度の関係をプロットした。



- 全般的に各キットの添付文書に記載の感度・特異度より低いものも多く、3ページに示した臨床性能の基準を満たさないキットも多かった。

1.4 イングランド保健省（PHE）による新型コロナウイルス抗体検査キットの性能評価試験 （PHE commercial serology assay evaluations）

PHEは、2020年4月から7月の間に代表的な市販抗体検査キットについて、陽性検体（100検体）、陰性検体（400検体）、交差反応性検討用検体（50検体）RIPLライム病検体（50検体）を共通試料に用いた性能評価を行い発表した。

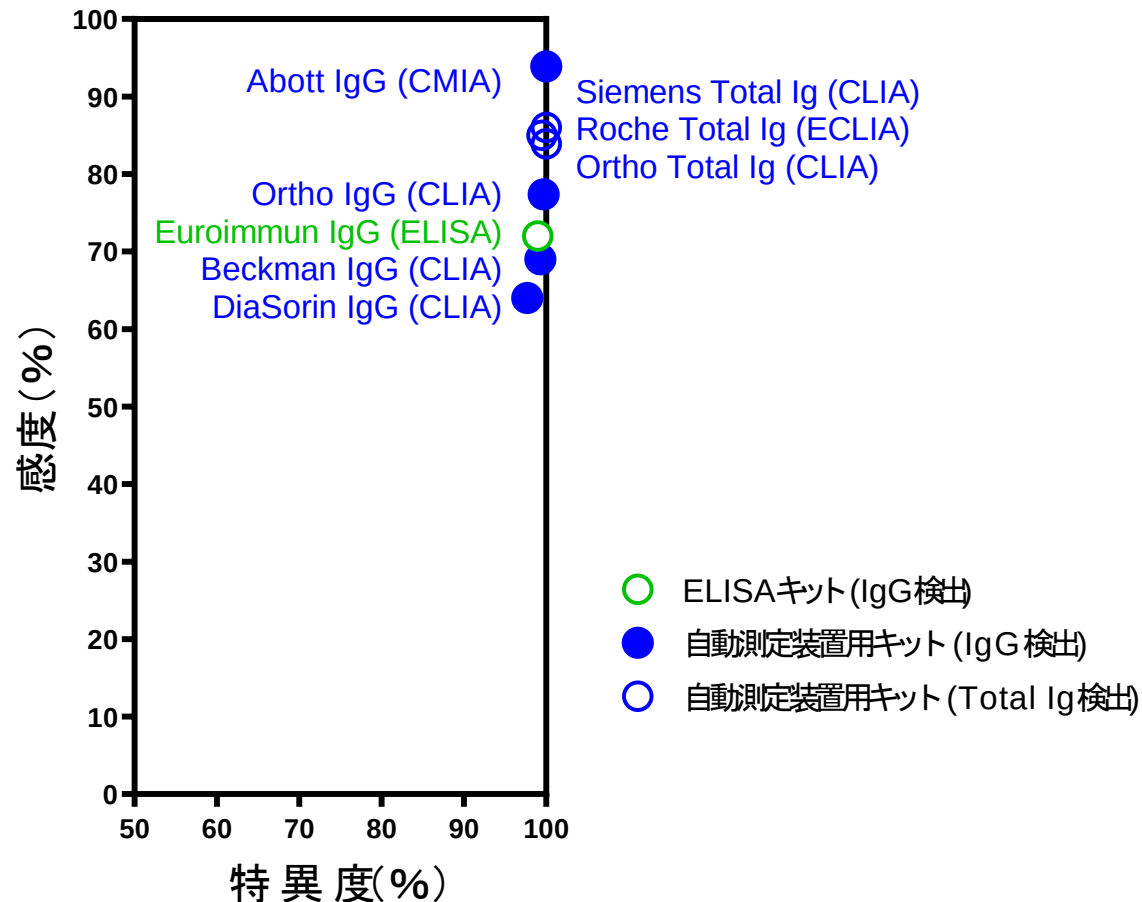
試験実施機関	PHE Porton Down laboratory（Abott社以外の7キット） PHE Colindale laboratory（Abott社 のキット）
評価対象キット	ELISAキット…1キット 自動測定装置用キット…7キット
使用した試料	陽性検体…PCRで陽性確定した回復期患者からの100検体 陰性検体…2019年12月以前に収集した400検体 交差反応性検討用検体（Confounder samples）50検体 …季節性コロナウイルス，リウマチ因子，EBウイルス，サイトメガロウイルス， 水痘・帯状疱疹ウイルス陽性でSARS-CoV-2 陰性検体 RIPL★ライム病検体（SARS-CoV-2 陰性）50検体 ※ キットによって評価に使用した検体パネルに一部違いがある
評価項目	感度 特異度 ⇒抗体保有率5％における陽性的中率，陰性的中率を計算 精度評価…5濃度のプール試料を1日に5回，5日間測定して日内変動と日間変動を評価
評価時期	2020年4月～7月

★） Rare and Imported Pathogens Laboratory

<https://www.gov.uk/government/publications/covid-19-laboratory-evaluations-of-serological-assays>

PHE による抗体検査キットの性能評価結果

- 公表されているデータを用いて、検査キットの感度と特異度の関係をプロットした。



- 8キットの特異度は100%近いが、MHRA (Medicines and Healthcare products Regulatory Agency) から示されている基準 (3 ページ) と比較すると、感度が不十分なキットもあった。

2.新型コロナウイルス抗体検査の評価に使用する国際標準品の整備状況

2.1 NIBSC (National Institute of Biological Standards and Control) が頒布している新型コロナウイルス抗体の標準品

抗SARS-CoV-2抗体検査キットの開発および評価に必要な標準品について、NIBSCは新型コロナウイルス感染症回復患者検体から調製した抗SARS-CoV-2抗体の陽性対照や抗体パネルを頒布している。患者個別血漿から調製された20/130は、感染拡大初期の2020年4月には頒布が開始され、2020年6月末までに頒布終了となった。

タイプ	用途	NIBSC code	名称	内容
患者 プール血漿	抗体検査におけるキャリブ レータ	20/136	First WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin, human 【WHO 国際標準品】	COVID-19回復期患者11名に由来するプール血漿 (高タイターの抗SARS-CoV-2抗体を含む)
	抗体検査の相対的感度の評 価と比較に使用するキャリ ブレータ	20/162	Anti-SARS-CoV-2 Antibody Diagnostic Calibrant	COVID-19回復期患者3名に由来するプール血漿 (高タイターの抗SARS-CoV-2抗体を含む)
	診断機関における検査性能 モニター用の外部QC試料	20/B764	External Quality Control reagent for anti-SARS-CoV-2 antibody	COVID-19回復期患者 2 名に由来する プール血漿
抗体パネル	抗体検査の開発および評価、 ワクチン評価、研究用、 抗SARS-CoV-2抗体パネル	20/268	First WHO International Reference Panel for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin, human 【WHO 国際参照パネル】	5種類のプール血漿で構成したパネル ・ COVID-19回復期患者に由来するプール血漿4種 抗SARS-CoV-2抗体価：高 抗SARS-CoV-2抗体価：中 抗SARS-CoV-2抗体価：低 抗S抗体は低い抗N抗体が比較的高い ・ 陰性対照 2019年以前に収集した健康人ドナー由来プール血漿
	抗体検査評価用の 抗SARS-CoV-2抗体パネル	20/B770	Anti-SARS-CoV-2 Verification Panel for Serology Assays	反応性と抗体組成の異なる23本の陽性検体と 14本の抗体陰性検体
患者 個別血漿	抗体検査の開発及び評価に おける陽性対照	20/130	Research reagent for anti-SARS- CoV-2 Ab	COVID-19回復期患者の血漿 (高タイターの抗SARS-CoV-2抗体を含む)

2.2 WHOが行った新型コロナウイルス抗体国際標準品と参照パネルの策定のための国際共同検定

WHOは抗SARS-CoV-2抗体の国際標準品と国際参照パネルを策定するため、NIBSCがCOVID-19回復患者検体から調製した陽性対照や検体パネルを試料として、2020年7月から10月の間に国際共同検定を行なった

試料		試料の内容	共同検定参加機関	評価に使われたアッセイ法	評価項目
NIBSC Code:20/136		WHO 国際標準品の候補品	15カ国44機関 オーストラリア(4) ブラジル(1) カナダ(1) 中国(1) ドイツ(3) インド(1) イタリア(1) 日本(1) ケニア(1) オランダ(2) サウジアラビア(1) シンガポール(1) 韓国(3) イングランド(11) アメリカ(12)	のべ125アッセイ ・中和アッセイ ・in house ELISA ・commercial ELISA ・自動測定装置によるイムノアッセイ ・フローサイトメトリー ・イムノクロマト法 ・その他	陽性タイター 機関間の陽性タイターのばらつき（アッセイ別） 20/136 の安定性（保存温度/保存期間）
NIBSC Code: 20/268	20/150	参照パネル候補品【高タイター】			
	20/148	参照パネル候補品【中タイター】			
	20/144	参照パネル候補品【S:低, N:高】			
	20/140	参照パネル候補品【低タイター】			
	20/142	参照パネル候補品【陰性対照】			
NIBSC Code: 20/130		回復期1患者血漿			
		回復期患者プール血清			
		回復期患者プール血清			
		回復期1患者血漿			
		回復期患者1名の血漿（比較的高タイター）			

- 標準品20/136は複数のアッセイ法で評価され、国際標準品として使用できることが確認された。中和活性として「1000 international unit (IU)/mL」の値が付与された。結合活性は、同じ抗原に対する同じクラスの抗体を検出するアッセイ法の比較に用いることとされ「1000 binding antibody unit (BAU)」の値が付与された。
- 標準品20/136を用いて参照パネル20/268のタイター（抗体価）の比較がなされ、最低タイターの試料を検出できなかった少数の例外を除いて、すべてのアッセイ法においてパネルを構成する各標準品のタイターの順序が一致しており、参照パネルとしての目的にかなっていることが示された。
- WHOは共同検定結果を2020年12月に公表し、NIBSC code 20/136のプール血漿を国際標準品、抗体パネル20/268を国際参照パネルとして策定した。

<https://www.who.int/publications/m/item/WHO-BS-2020.2403>

<https://www.nibsc.org/documents/ifu/20-136.pdf>, <https://www.nibsc.org/documents/ifu/20-268.pdf>

<https://www.nibsc.org/documents/ifu/20-130.pdf>

まとめ

SARS-CoV-2 感染拡大に伴い海外の規制当局やWHOによって、抗体検査キットの信頼性確保のため、性能評価および標準品の策定に関する速やかな対応がなされてきた。これらの取り組みの継続により、今後、抗体検査キットの性能評価が適切に行われ、臨床情報と合わせて、適切な陽性判定基準や抗体検査キットに求められる分析性能が定まっていくと考えられる。

また、新興感染症の感染拡大時における検査キットの品質の担保には、共通試料を用いた公的機関でのキットの性能評価や、性能評価に用いる公的標準品策定等に早期から取り組むことが有用であると考えられた。

専門用語の解説

- **感度** PCR検査等で感染が確定診断され、抗体を含むと想定される患者の検体（血液、血漿、血清）が陽性と判定される割合。
- **特異度** 新型コロナウイルス流行前検体など非感染が明確で、抗体を含まないと想定される検体が陰性と判定される割合。
- **陽性的中率** ある検査において「陽性と判定された場合に、真の陽性である確率」として定義される値（想定される真の抗体保有率によって変わる値）
$$PPV(\%) = \text{感度} \times \text{抗体保有率} / \{ \text{感度} \times \text{抗体保有率} + (1 - \text{抗体保有率}) \times (1 - \text{特異度}) \}$$
- **陰性的中率** ある検査において「陰性と判定された場合に、真の陰性である確率」として定義される値（想定される真の抗体保有率によって変わる値）
$$NPV(\%) = \text{特異度} \times (1 - \text{抗体保有率}) / \{ \text{特異度} \times (1 - \text{抗体保有率}) + \text{抗体保有率} \times (1 - \text{感度}) \}$$
- **ELISA法** 試料中に含まれる物質（今回は新型コロナウイルスに対する抗体）を検出・定量する際に用いられる測定方法の一種で、通常研究室にある装置のみで測定可能であることから、比較的汎用されている方法。
- **イムノクロマト法** 毛細管現象を利用して、試料中に含まれる物質（今回は新型コロナウイルスに対する抗体）を分離し、検出する際に用いられる測定方法の一種で、多くの場合、10~15分程度で目視により結果を判定できる。特別な装置を用いることなく測定が可能である。
- **自動分析装置** 血液などの試料中に含まれる物質（今回は新型コロナウイルスに対する抗体）の測定を自動で行う装置。各装置メーカーで物質を検出・定量する方法が工夫されている。一般に、病院検査室等で使われることが多い。