

非 会員限定版：JACLaP WIRE No. 125 (2011年6月7日発行)

本メールは日本臨床検査専門医会の電子メール新聞JACLaP WIRE No. 125です。

===== << 目次 >> =====

【新規掲載項目】
HBVジェノタイプ判定
HER2遺伝子標本作製
HPV (ヒトパピローマウイルス) ジェノタイプ判定
角膜単純ヘルペスウイルス抗原 (定性)

本号のJACLaP WIREは自由に転送可能です。

===== << JACLaP WIRE >> =====

平成23年5月1日より適用

HBVジェノタイプ判定

準用区分先： D013-8 区分E-3 (新項目) (測定項目が新しい品目)

【保険点数】 340点 判断料： 144点

【製品名】 イムニスHBVゲノタイプ EIA

【主な検査目的】 B型肝炎ウイルスのジェノタイプ (AからHまでの8つの遺伝子型のうち、A、B、C及びDの4つの遺伝子型) を判定する

【製造販売元】 株式会社特殊免疫研究所 TEL 03-3814-4081

【測定法】 酵素免疫測定法 (EIA法)

【包装単位】 48テスト/1キット (96ウェル×2プレート=192ウェル)

(1測定4ウェル。陰性コントロールとして4テスト、陽性コントロールとして2テスト、最大で42テスト)

【結果が出るまでの時間】 約3時間

自動化： 不可

【検体】 血清

【同時再現性試験】 ゲノタイプA、B、C、Dの各管理用検体を試料として6回同時に測定するとき、それぞれゲノタイプA、B、C、Dと判定できる

【正確性試験】 ゲノタイプA、B、C、Dの各管理用検体を試料として測定するとき、それぞれゲノタイプA、B、C、Dと判定できる

【感度試験】 陰性コントロールを試料として6回測定するとき、m、k、s、u各エピトープの平均吸光度は0.1以下、陽性コントロールm、k、s、uを

試料として6回測定するとき、m、k、s、u各エピトープの平均吸光度は0.5以上

【検出感度】 抗原濃度既知検体を段階希釈した検討で、最小検出感度に相当するHBs抗原量は1.9~24.8 IU/mL (中央値3.1 IU/mL) であり、それ以上の検体ではゲノタイプ判定が可能であった

【判定】 カットオフ値=各エピトープの陰性コントロールの平均値+0.05としたとき、1) 陽性：吸光度がカットオフ値未満

2) 陰性：吸光度がカットオフ値以上

【特徴】 B型肝炎の原因ウイルスであるHBVはその遺伝子配列の違いから、A-Jの10種のゲノタイプに分類されている。HBVゲノタイプにより予後や治療応答性が異なることから、HBVゲノタイプの特性に応じた治療方法選択が求められている。

国内においてはゲノタイプB、Cが主であるが、ゲノタイプCはゲノタイプBより予後不良であり、ゲノタイプCでは肝癌を引き起こしやすい。一方、ヨーロッパ・アメリカに多いゲノタイプA感染例が、近年、特に急性肝炎で急激に増加している。ゲノタイプB、Cの成人急性感染では慢性化は稀であるが、ゲノタイプAでは遷延化・慢性化する例があり、慢性感染の増加が危惧されている。ゲノタイプ判定を行うことにより、早期に抗ウイルス療法を行い遷延化・慢性化を阻止することが可能となる。B型慢性肝炎の治療にはインターフェロン (IFN) や核酸アナログ製剤が用いられるが、IFNの効果はHBVゲノタイプによって異なり、ゲノタイプA、BではゲノタイプC、Dより効果が高い。そのため、ゲノタイプを判定しそれに合った治療法を選択することで、より高い治療効果が期待できる。

今回、新規保険掲載された『イムニスHBVゲノタイプ EIA』は、DNA抽出・核酸増幅を要さずにHBVゲノタイプを酵素免疫測定法 (EIA法) で判定するキットであり、HBs抗原PreS2領域に存在する4つのエピトープ (m、k、s、u) を検出する4つのEIAで構成されている。ゲノタイプA、B、C、Dではそれぞれsu m、ks、ksuのエピトープを持つため、陽性エピトープの組合せによりゲノタイプA、B、C、Dを判別することができる。

臨床性能試験において、HBs抗原陽性のB型肝炎患者392症例の保存血清での本キットによるHBVゲノタイプ判定は、ゲノタイプA、B、C、Dがそれぞれ28、67、266、9例 (7.1%、17.1%、67.9%、2.3%) であり、保留22例 (5.6%) を除く370例 (94.4%) でゲノタイプ判定可能であった。判定率はHBs抗原3 IU/mL未満では6.3% (1/16) だったが、3 IU/mL以上では98.1% (369/376) と高率であった。また、遺伝子配列解析によりゲノタイプが判明している91例 (ゲノタイプA、B、C、D各20、21、42、8例) において正確性を検討した結果、本キットによるゲノタイプ判定はゲノタイプA、B、C、D、保留がそれぞれ19、20、40、8、4例であり、ゲノタイプ判定できた87例 (95.6%) については全てDNA配列解析によるGenotypeと一致した。

【保険請求上の注意】

ア HBVジェノタイプ判定は、「11」のHCV特異抗体価に準じて算定する。

イ EIA法により、B型肝炎の診断が確定した患者に対して、B型肝炎の治療法の選択の目的で実施した場合に、患者1人につき1回に限り算定できる。

平成23年5月1日より適用

HER2遺伝子標本作製

準用区分先： N 005 区分E-2（新方法）（測定項目は新しくないが、

測定方法が新しい品目）

【保険点数】 2,500点

【製品名】 ベンタナ インフォーム Dual ISH HER2 キット

【主な測定目的】 HER 2遺伝子増幅の測定（HER 2の過剰発現の有無によって、抗HER 2ヒト化モノクローナル抗体抗悪性腫瘍剤の薬剤投与の適応を判断する）

【製造販売元】 ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社 TEL 0120-868-555

【測定方法】 Dual Color in situ Hybridization (DISH)法

【包装単位】 HER2 DNA カクテルプローブ：50テスト

ultraView SISH DNPキット：100テスト

ultraView Red ISH DIGキット：100テスト

【結果が出るまでの時間】 12～14時間（設定条件により異なる）

自動化：全自動免疫染色装置

【検体】 ホルマリン固定パラフィン切片

【性能】 (1) HER2遺伝子非増幅の管理検体を3枚同時に操作するとき、いずれの管理検体においても細胞あたりのHER2シグナルが1～3個及びChr17シグナルが1～3個得られる。

(2) HER2遺伝子増幅の管理検体を3枚同時に操作するとき、いずれの管理検体においても細胞あたりのHER2シグナルが6個以上及びChr17シグナルが1～4個得られる。

(3) HER2遺伝子増幅／非増幅の境界付近にある管理検体を3枚同時に操作するとき、いずれの管理検体においても細胞あたりのHER2シグナルが2～4個及びChr17シグナルが1～3個得られる。

【判定】 HER2遺伝子は黒色のシグナルとして、第17番染色体（Chr17）は赤色のシグナルとして染色される。20細胞の各々の核におけるシグナル数を計測し、Chr17のシグナル総数に対するHER2のシグナル総数の比率を算出して、HER2遺伝子増幅あり・なしの判定を行う。シグナルの計測に際しては、20X、40Xまたは60Xの対物レンズを使用して、個々の細胞の核について、HER2のシグナル数とChr17のシグナル数を数えて、記録する。複数のシグナルがクラスターを形成している場合、小さいクラスターはシグナル6個に、大きいクラスターはシグナル12個に数える。20細胞の算出結果による比率が2.2以上であればHER2遺伝子増幅あり、1.8以下であればHER2遺伝子増幅なしとする。1.8-2.2の場合には、さらに20細胞を計測し、合計40細胞における比率を算出、2.0以上であればHER2遺伝子増幅あり、2.0未満であればHER2遺伝子増幅なしと判定する。

【特徴】 HER2（別名HER2/neuまたはc-erbB-2）遺伝子はチロシンキナーゼ活性を持つ受容体型の膜貫通型タンパクをコードしている。細胞増殖、分化などに関与することが知られており、様々な腫瘍に発現することが報告されているが、その中でも、乳癌の15-20%において、本遺伝子の増幅およびタンパクの過剰発現が認められ、予後不良との関連があることが報告されている。

HER2タンパクを標的分子とした抗悪性腫瘍剤であるハーセプチン（トラスツズマブ）は、米国Genentech社が開発、既に欧米をはじめとする多くの国で、HER2遺伝子増幅またはタンパク過剰発現が確認された乳癌の治療に使用されている。投与の適応を判断することを目的として、HER2遺伝子増幅およびタンパク過剰発現の検査が必須となっており、添付文書上にも適応症例はHER2陽性（HER2遺伝子増幅あり または HER2タンパク過剰発現あり）であることが明記されている。

胃癌においては2008年のHofmannらによると17-19%でHER2遺伝子増幅およびタンパク過剰発現が認められることが報告されており、HER2陽性進行・再発胃癌における国際共同第Ⅲ相試験であるToGA試験において、標準的化学療法にハーセプチン（トラスツズマブ）を併用することで生存期間の有意な延長が確認された。既に、胃癌への適応拡大が承認されている欧州では、添付文書に、乳癌同様、適応症例はHER2陽性であることが明記されており、投与の適応を判断する上でHER2遺伝子増幅およびタンパク過剰発現の検査が必須となった。国内においても、ハーセプチン（トラスツズマブ）の胃癌適応拡大が薬事申請されており、適応症例はHER2陽性であることが添付文書上に明記されている。胃癌トラスツズマブ病理部会において、胃癌HER2検査ガイドを作成中であるが、乳癌同様、HER2遺伝子増幅もしくはタンパクの過剰発現を確認すること、HER2タンパク発現が境界域と判定された場合には、さらにHER2遺伝子増幅の有無を確認することを推奨され、胃癌においても乳癌同様にHER2遺伝子増幅の検査が不可欠になる。

今回保険収載される『ベンタナ インフォーム Dual ISH キット』は、ホルマリン固定パラフィン包埋した病理組織標本を用いて、ヒト乳癌および胃癌の組織または細胞におけるHER2遺伝子増幅の有無を、Silver in situ Hybridization法により診断するものである。HER2遺伝子が局在する第17番染色体のセントロメアをChromogenic in situ Hybridization法により検出することで、光学顕微鏡下での観察が可能になっている。乳癌における既存測定法であるFISH法2品目との相関性（一致率）は98.5%および96.2%と良好であり、胃癌についてもToGA試験で使用されたFISH法との相関性は94.5%と高い一致率が得られている。

【保険請求上の注意】

HER2遺伝子標本作製をDISH法により行った場合、FISH法に準じて算定する。

平成23年5月1日より適用

HPV（ヒトパピローマウイルス）ジェノタイプ判定

準用区分先：悪性腫瘍検査 D004-2 区分E-3（新項目）（測定項目が

新しい品目)

【保険点数】2,000点 判断料：150点

【製品名】クリニチップHPV

【主な検査目的】生検によって確認されたCIN1又はCIN2の患者に対して、ハイリスク型HPVのそれぞれの有無を確認する

【製造販売元】積水メディカル株式会社 TEL 03-3272-0918

【測定法】LAMP法と電流検出型DNAチップの組合せ

【包装単位】20テスト/1キット

【結果が出るまでの時間】約2.5時間 自動化：不可

(前処理はマニュアルで行い、専用測定機ジェネライザーGLH 2C601またはジェネライザーGLH 2C701を使用)

【検体】子宮頸部細胞から抽出したDNA

【同時再現性試験】管理用陰性コントロール及びHPV DNAを含有する管理用パピローマウイルスDNA陽性コントロール(各 1.0×10^3 コピー/ μ L)を試料として各々3回試験するとき、管理用陰性コントロールはすべて陰性を、管理用パピローマウイルスDNA陽性コントロールはすべて陽性を示す

【正確性試験】

- 1) 管理用陰性コントロールを試料として試験するとき陰性を示す
- 2) HPV DNAを含有する管理用ヒトパピローマウイルスDNA陽性コントロール(各 1.0×10^3 コピー/ μ L)及び管理用ヒトパピローマウイルスDNA弱陽性コントロール(各 2.5×10^2 コピー/ μ L)を試料として各々試験するとき、いずれも陽性を示す

【検出感度】 2.5×10^2 コピー/ μ L(合成DNAとして)

【判定】

1) 陽性：検体の平均電流値と陰性コントロールの平均電流値の差が10nA以上の場合、陽性と判定する

2) 陰性：検体の平均電流値と陰性コントロールの平均電流値の差が10nA未満の場合、陰性と判定する

【特徴】

子宮頸部浸潤癌の99%以上から検出されるヒトパピローマウイルス(HPV)は全長約8,000塩基の環状二本鎖DNAウイルスで、現在100種類以上のタイプが発見されている。また、このうちの約40種が外陰部等の粘膜組織に選択的に感染することが知られており、そのうちの少なくとも13種類のHPV(16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、68)が子宮頸癌の高リスク群として分類されている。本邦における前向きコホート研究において、高リスクHPVの中で6、18、31、33、35、45、52、58型の感染が子宮頸癌の前駆病変であるCINの進展に有意なリスク因子であることが報告されており、HPVのタイピング結果に従った個別のフォローアップが効果的であるとの報告もなされている。初回診断時にCIN1及びCIN2と診断された患者をHPVタイピングにより3つの群に分け、5年後の進展率を調査したところ、前述の8種のHPV(6、18、31、33、35、45、52、58)に感染している群でのCIN3進展率は20.5%であったが、それ以外の高リスクHPVに感染していた群では6.0%に過ぎなかった。以上の結果より、細胞診によりASCUSとされた患者に対し、その後のフォローアップ対象とするか否かを判定する目的で高リスクHPV核酸群定性検査を行った場合に比べ、あらかじめ行われた組織診断の結果CIN1又はCIN2と判定された患者にHPVタイピング検査を実施した場合には、浸潤癌進展に対するHPVタイプ別リスク評価が可能となり、フォローアップ間隔の短縮や早期治療の選択などにつながる。本年2月に日本産科婦人科学会/日本産婦人科医学会より発行された「産婦人科診療ガイドライン 婦人科外来編2011」で、HPVタイピング検査は、生検により確認されたCIN1/2の進展リスク評価による治療の選択や経過観察間隔の決定、CIN2/3治療後の残存病変・再発の早期発見において有用性が高い検査として推奨されている。

今回、新規保険収載された『クリニチップHPV』は、ともに国産技術である電流検出型DNAチップ法と、遺伝子増幅法のLAMP法を組み合わせた診断薬である。子宮頸部細胞から抽出したDNAを試料とし、ハイリスク13タイプのHPVのDNAを各々タイプ特異的に増幅する13種類のプライマーを用いてLAMP増幅法で増幅し、各DNAを個別に検出するものである。2007年4月に、244人の被験者から採取した子宮頸部細胞を用いて実施した本法とPCR-ダイレクトシークエンス法との比較において、陽性一致率99.3%、陰性一致率89.7%、全体一致率95.5%と良好な一致性が確認された。またウイルスタイプ毎の一致性については、感度66.7%~100%、特異度96.1%~100%と良好な結果が得られている。

本検査により高リスク群HPVのタイピングが簡便且つ高感度に行えることで、上記8タイプの感染の有無が容易に判定可能となり、個別症例のフォローアップに有用な医療情報が提供できるものと考えられる。

【保険請求上の注意】

ア HPVジェノタイプ判定は、区分番号「D004-2」悪性腫瘍組織検査「1」の悪性腫瘍遺伝子検査に準じて算定する。

イ あらかじめ行われた組織診断の結果、CIN1又はCIN2と判定された患者に対し、治療方針の決定を目的として、ハイリスク型HPVのそれぞれの有無を確認した場合に算定する。

ウ 当該検査は、区分番号「D023」微生物核酸同定・定量検査の「6」のHPV核酸同定検査の施設基準を届け出ている保険医療機関のみ算定できる。

エ 当該検査を算定するに当たっては、あらかじめ行われた組織診断の結果及び組織診断の実施日、及び当該検査によって選択した治療法を診療報酬明細書の摘要欄に記載する。

オ 同一の患者について、当該検査を2回目以降行う場合は、当該検査の前回実施日、及び前回選択した治療(その後通常の検診となった場合

はその旨)を上記に併せて記載する。

平成23年5月1日より適用

角膜単純ヘルペスウイルス抗原(定性)
準用区分先: D012-23 区分E-3(新項目)(測定項目が新しい品目)

【保険点数】210点 判断料: 144点

【製品名】チェックメイト ヘルペス アイ

【主な検査目的】角膜上皮細胞中の単純ヘルペスウイルス抗原の検出
(単純ヘルペスウイルス感染の補助診断)

【主な対象】角膜ヘルペスが疑われる角膜上皮病変を認めた患者

【有用性】角膜ヘルペスの診断をより確実に行うことができる

【製造販売元】わかもと製薬株式会社 TEL 03-3279-0392

【測定方法】イムノクロマト法

【包装単位】1テスト用セット×3袋

【結果が出るまでの時間】15分 自動化: 不可

【検体】病変部角膜からの擦過上皮

【感度・正確性試験】陽性コントロール1(自社調整HSV-1抗原液、タン

パク濃度37.5µg/ml)及び陽性コントロール2(自社調整HSV-2抗原液、

タンパク濃度12.5µg/ml)を検体として試験を行うとき陽性を示し、陰

性コントロール(検体抽出液)を検体として試験を行うとき陰性を示す。

【同時再現性試験】感度・正確性試験を3回行うとき、陽性コントロール1

及び陽性コントロール2は全て陽性を示す。

【交差反応性】水痘帯状疱疹ウイルスなど7種の菌体抗原液を試料として

試験したところ、黄色ブドウ球菌以外の抗原液はいずれも交差反応性を示

さなかった。

【特徴】単純ヘルペスウイルス(HSV)の感染による角膜炎、すなわち角膜

ヘルペスは難治性であることと病態の複雑さのために診断が難しく、先進

国においても失明原因となる疾患のひとつである。治療方針を誤れば遷延化

し、角膜実質混濁、角膜穿孔などの重篤な視力障害につながることから、

他疾患との鑑別が重要である。鑑別すべき疾患には、眼部帯状ヘルペス、

薬剤毒性角膜炎、再発性角膜びらん、アカントアメーバ(AK)角膜炎、単

純性角膜上皮欠損、遷延性角膜上皮欠損など数多くあげられる。

HSVの鑑別診断のための検査方法には、分離培養、蛍光抗体法及びPCR

法があるが、これらの検査方法は全て高額な機器(培養設備、蛍光顕微鏡、

サーマルサイクラー等)や技術が必要とする。PCR法では、角膜ヘルペス

ではない症例でウイルスDNAを検出した例が報告されており、有病正診率

は86.7%に留まっている。また、単純ヘルペスウイルス特異抗原を検出する

蛍光抗体法の試薬が薬事承認、保険適応されているが、眼科検体は対象と

していない。そのため、角膜ヘルペスの迅速で簡便な検査方法が求められてきた。

今回保険収載された『チェックメイト ヘルペス アイ』は、必要に応じて

表面麻酔剤を施した上で滅菌綿棒を用いて角膜の病変部を数回擦過し、

採取された上皮から抽出した単純ヘルペスウイルス抗原を免疫クロマト法

により検出する眼科用の迅速診断キットである。また、HSV-1抗原と

HSV-2抗原の共通部分を認識するモノクローナル抗体を用いたことから、

型別判定の不要な眼科検体の検査を単一試薬と単一検体で完了すること

が可能である。

本品の臨床試験成績(n=92)より解析した蛍光抗体法、PCR法との診断

精度の比較をみると、最終臨床診断と比較した場合の本品の有病正診率は

55.0%、無病正診率は100%であり、蛍光抗体法のそれぞれ57.9%、100%と

同等であった。本品は無病正診率が100%であり、特異性が極めて優れて

いることから、本品による検査で陽性となれば角膜ヘルペスであることが

確定できる。

【保険請求上の注意】

ア 角膜単純ヘルペスウイルス抗原(定性)は、「23」のアデノウイルス

抗原に準じて算定する。

イ 角膜ヘルペスが疑われる角膜上皮病変を認めた患者に対し、イムノ

クロマト法により行った場合に算定する。

(文責 帝京大学 宮澤 幸久)

以下の製品情報ホームページにリンクを張りました。

・株式会社特殊免疫研究所のイムニスHBVゲノタイプ EIA

http://www.tokumen.co.jp/?page_id=996

・ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社のペンタナ インフォーム Dual

ISH HER2 キット

<http://www.roche-td.jp/products/dish.html>

・積水メディカル株式会社のクリニチップHPV

<http://www.sekisui-medical.jp/business/diagnostics/others/hpv/index.html>

ホームページの仕様変更などによりリンク切れとなることもありますので

その際は御容赦ください。

JACLaP WIRE No. 125 (2011年6月7日発行)

☆発行: 日本臨床検査専門医会 [情報・出版委員会]

☆編集: JACLaP WIRE編集室 編集主幹: 大西宏明

杏林大学医学部・臨床検査医学

TEL: 0422-47-5511・FAX: 0422-79-3471

会員の皆様からの寄稿をお待ちしております！

メーリングリスト配信先の変更には
1. 氏名, 2. 現行登録アドレスと3. 変更希望メールアドレスを添えて
uys-com@umin.ac.jpまで「配信先の変更希望」としてお送り下さい。
