

平成23年5月1日より適用の 新規保険収載検査項目の解説

[Rinsho Byori 59 : 620~625, 2011]

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】

ジェノタイプ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, それぞれジェノタイプA, B, C, Dと判定できる。

【正確性試験】

ジェノタイプA, B, C, Dの各管理用検体を試料として測定するとき, それぞれジェノタイプ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ジェ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型肝炎疾患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種のジェノタイプに分類されている。HBVジェノタイプにより予後や治療応答性が異なることから, HBVジェ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。

国内においてはジェノタイプB, Cが主であるが, ジェノタイプCはジェノタイプBより予後不良であり, ジェノタイプCでは肝癌を引き起こしやすい。一方, ヨーロッパ・アメリカに多いジェノタイプA感染例が, 近年, 特に急性肝炎で急激に増加している。ジェノタイプB, Cの成人急性感染では慢性化は稀であるが, ジェノタイプ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。ジェ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ジェノタイプによって異なり, ジェノタイプA, Bではジェノタイプ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、新規保険収載された『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。

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、20×、40×または 60×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『ベントナ 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。

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/日本産婦人科医会より発刊された「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-ダイレクトシーケ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

－臨床病理－

- 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。

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 37.5 μ g/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 12.5 μ g/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】

水痘带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, 眼部带状疱疹, 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)や技術を必要とする。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，免疫クロマト法により行った場合に算定する。

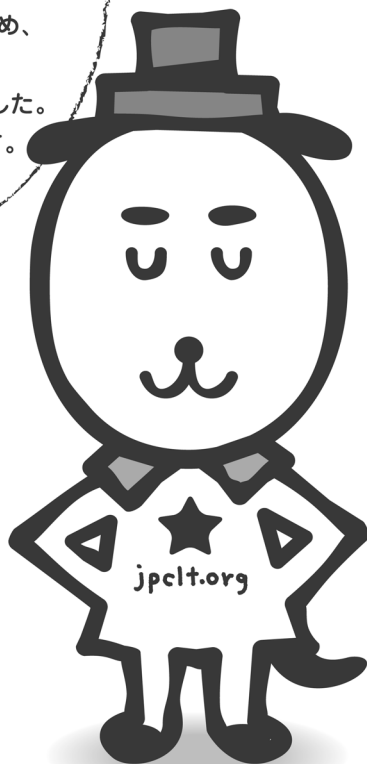
(文責 帝京大学医学部 宮澤 幸久)

第36回組織細胞化学講習会のご案内

－ 記 －

名 称：第36回組織細胞化学講習会
テ ー マ：『見るバイオサイエンスー基礎から最先端技術まで』
実行委員長：川上 速人（杏林大学医学部解剖学教室）
日 程：2011年8月3日(水)講習会1日目
 8月4日(木)講習会2日目
 8月5日(金)技術講習会(Wet Lab)
会 場：三鷹市公会堂(講習会)
 〒181-8555 東京都三鷹市野崎1-1-1
 杏林大学三鷹キャンパス(技術講習会)
 〒181-8611 東京都三鷹市新川6-20-2
問い合わせ：第36回組織細胞化学講習会実行委員会事務局
 杏林大学医学部解剖学教室(顕微解剖学)
 TEL：0422-47-5511(内線3416)
 FAX：0422-44-0866
 E-mail：info_36kjshe@nacos.com
 URL：http://www3.nacos.com/jshc/kosyu/

わたくし、臨床検査振興協議会の
スーパードッグです。
この度、広く臨床検査の
正しい認識と理解を求めため、
広報活動の特命を受け、
ホームページにデビューしました。
どうぞよろしくお願ひ致します。



わたくし、
名を
りんしょう犬さん
と申します。



臨床検査振興協議会は、正しい検査の
知識を広め、ひとりでも多くの方に臨床検査の
重要性を理解していただくために生まれました。

検査に関わる情報を発信

臨床検査の専門サイト

りんしょう犬さん

検索

臨床検査振興協議会ホームページ「みんなの臨床検査」

www.jpclt.org

〒101-0052 東京都千代田区神田小川町2-2 UIビル2階
TEL:03-3296-7560 FAX:03-3296-7561