

緊急連載 「新型コロナウイルスと分析化学」

4都府県に3度目の緊急事態宣言が発令される一方で、医療従事者や高齢者へのワクチン接種が行われており、「新しい生活様式」への移行が、少しずつではありますが、確実に進んでいます。本誌では、新型コロナウイルスについて、正しく理解するために最小限必要となる基礎的知識を広く会員に提供する必要があると考え、昨年8号より緊急連載記事を企画しました。本連載は、新型コロナウイルスの感染状況や感染拡大防止策に関して、分析化学的視点に基づき、正しく理解していただくことを目的としております。

この5号においては、新型コロナウイルス感染の簡易検査に利用される抗原検査法について紹介します。抗原検査法は、特別な機器が不要で、迅速に結果が得られることから、感染拡大防止に極めて有効な手法であると考えられます。また課題である定量検査の標準化や変異型への対応などについても解説します。本連載が、会員皆様の理解の一助としていただければ幸いです。なお、本緊急連載は本号で終了いたします。

新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) の抗原検査

青柳 克己

1 はじめに

中国武漢において2019年12月に集団感染が報告された新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) は、SARS-CoV-2 (Novel Coronavirus) を病原体とする急性の呼吸器疾患である^{1)~3)}。症状としては、発熱、倦怠感、呼吸器障害、頭痛などがみられ、肺炎症状を経て重篤となるケースが知られており、その致死率は80歳以上では14.8%にのぼる。初期症状はインフルエンザや感冒に似ており、臨床症状だけでこれらの疾患とCOVID-19を区別することは困難である²⁾。世界保健機構 (WHO) は、2020年3月11日にパンデミック宣言を行い、世界的な流行が認識されている。

SARS-CoV-2感染の検査方法として、リアルタイム-PCR法 (RT-PCR) 等の核酸増幅法を用いたRNA検出法が当初から世界各国で使用されている。一般的な核酸増幅検査は、高感度検出が可能であるが、高価で特別な機器や設備が必要であり、かつ結果が得られるまで長時間必要である。そのため、患者数、設備設置環境による様々な臨床現場では、隔離や治療等の対処が遅れてしまうリスクが生じてしまう。特に、一般クリニックや緊急搬送時においては、より迅速、簡便で特殊な装置や熟練者を必要としない、その場で判定できる検査が求められる。また病院や検疫等では、迅速、簡便に、多量検体を全自動処理検査システムにより効率的に臨床診断を行い、特に院内では流行期の医療従事者の疲弊緩和への貢

献、検疫では多くの帰国者・入国者の待機時間の最小化が重要である。

多様な臨床現場において、より迅速、簡便、安価なSARS-CoV-2感染の検査法が望まれており、これらの臨床現場の要求に応える一手としてSARS-CoV-2抗原検査が開発されてきた。本報告では、抗原検査のこれまで報告されている有用性、及び今後の展開について紹介する。

2 新型コロナウイルスの構造と各検査法

SARS-CoV-2は、コロナウイルス科ベータコロナウイルス属の新型コロナウイルスであり、エンベロープに包まれた一本鎖のプラス鎖RNAウイルスである⁴⁾⁵⁾。他のコロナウイルスと同様に、4つの構造タンパク質と16の非構造タンパク質をコードする約30 kbpの非常に大きなゲノムを持っている。4つの構造タンパク質は、スパイク (Spike: S) タンパク質、エンベロープ (Envelope: E) タンパク質、メンブレン (Membrane: M) タンパク質、ゲノムRNAを束ねるヌクレオキャプシド (Nucleocapsid: N) タンパク質であり、脂質と結合したS、EおよびMタンパク質により形成されたエンベロープが、Nタンパク質とRNAが結合して形成されたヌクレオキャプシドを包み込み、ウイルス粒子を形成している⁴⁾⁵⁾ (図1)。

本邦で承認されている臨床検査薬は、SARS-CoV-2を直接検出する検査である、RNAを検出する核酸増幅

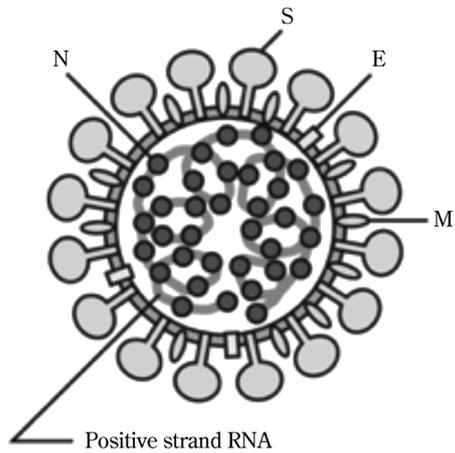


図1 新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) の構造 (文献2より引用)

エンベロープに包まれた一本鎖のプラス鎖 RNA ウイルスである。4つの構造タンパク質は、スパイク (Spike: S) タンパク質、エンベロープ (Envelop: E) タンパク質、メンブレン (Membrane: M) タンパク質、ゲノム RNA を束ねるヌクレオキャプシド (Nucleocapsid: N) タンパク質である。

検査法、及び構造タンパク質を検出する抗原検査がある。さらに国内では臨床検査薬として未承認であるが、SARS-CoV-2 由来のタンパク質に対する抗体を検出する抗体検査が、感染状態 (臨床既往・疫学) の確認に用いられている。

RT-PCR 等の核酸増幅検査は、RNA 抽出工程、逆転写工程、及び増幅工程といった多段階のステップと数時間以上の測定時間を要する一般的な高感度検出法と、感度は低くなるが、簡便な抽出法、あるいは抽出工程が不要で1時間以内で結果が得られる迅速な検査法⁵⁾⁶⁾が開発されている。加えて、様々な SARS-CoV-2 遺伝子配列箇所に対する増幅検出法が報告されており、そのプライマー/プローブ設定箇所により感度や変異耐性が異なっている。また、コンタミネーションに対して脆弱であるため、細心の操作、設備、高価な専用機器が必要である。多検体処理用の全自動システムが、今後より普及進展することにより、検体あたりのコスト低減化や医療現場の疲弊緩和といった効果が期待される。一方、全世界的な流行により、核酸増幅検査の専用器材や共通原料の調達課題となったことが報告されている。

抗原検査は、ウイルス粒子を構成する構造タンパク質を特異的な抗体を用いて検出し、イムノクロマトグラフィ^{7)~10)}や全自動システムを用いた高感度検出法^{11)~13)}が開発されている。免疫測定法をベースとするため、高い再現性や正確性を有しているが、ウイルス構造タンパク質を直接検出するため、様々な高感度化技術を用いた検査薬の開発が重要となる。一方、インフルエンザウイルス等の検査で広く用いられている、迅速検査用の簡易デバイス (イムノクロマトグラフィ法等) や、病院等で既に設置されている多検体対応の全自動免疫測

定システムを、SARS-CoV-2 抗原検査に適用できることから、本検査が速やかに普及されるものと考えられる。現在国内で臨床検査薬として承認されている抗原検査試薬は、全て測定開始から1時間以内で結果が得られる迅速検査であるが、承認区分によって、迅速簡易抗原定性試薬と高感度抗原定量試薬に分類され、臨床適用範囲が異なっている。

抗体検査としては、ウイルス感染歴の指標、ワクチン効果の確認、感染防御能の評価として有用と考えられる。各種メーカーより S または N タンパク質に対する IgG, IgM, IgA、及び Total Ig の検出法が開発され、その臨床的有用性の検討が進められている。

新型コロナウイルス感染の有症状者における典型的な臨床経過と、上記の各ウイルス検査法の関係⁵⁾が報告されている。有症状者では、発症時の48時間前から核酸増幅検査や高感度抗原定量検査により感染の有無を判定できるようになる。その後ウイルス量は速やかに増加し、発症前後に最大となって、その後次第に減少する。症状出現後約1~3週間経てから、抗体検査で陽性と判断できるようになる⁵⁾¹⁴⁾。無症状者においても感染源となりうることから、公衆衛生やヘルスケアにおける感染拡大抑制を目的として、核酸増幅検査や抗原検査が必要である。

3 新型コロナウイルスの抗原検査試薬の測定原理と性能

各社の新型コロナウイルス抗原検査試薬の測定対象となるタンパク質については、各添付文書等から確認できないものがあるが、主に N タンパク質や S タンパク質が使われていると考えられる⁷⁾¹¹⁾¹⁵⁾¹⁶⁾。N タンパク質は、細胞に感染後大量に生産されることが知られているが、ウイルス内部に RNA と共に存在することから、N タンパク質を検出するためには、ウイルス膜の破壊、及び RNA との複合体から N タンパク質を抽出することが必要となる。S タンパク質はウイルス表面に存在していることから、直接検出することが可能であるが、各種の変異株の報告^{17)~19)}がありその影響が懸念される。以後、免疫測定の対象として、N タンパク質は N 抗原、S タンパク質は S 抗原と記載する。

3.1 迅速簡易抗原定性試薬

一般クリニック含む臨床現場で用いられているイムノクロマトグラフィ法として、各社から目視による判定可能な SARS-CoV-2 抗原の迅速簡易定性試薬が開発されている^{7)~10)} (表1)。これらの迅速簡易定性試薬は、短時間、安価、簡便/熟練者不要、常温保存可であり、特別な機器が不要であることから、測定場所が限定されず、迅速にその場で結果が得られるという大きなメリットを有する。加えて、専用の小型自動検査機器を必

表1 各迅速簡易抗原定性検査の仕様（文献8-10より引用）

製品名	エスプライン® SARS-CoV-2	クイックナビ™-COVID19 Ag	イムノエース® SARS-CoV-2
メーカー	富士レビオ株式会社	デンカ株式会社	株式会社タウンズ
発売日	5月13日	8月13日	10月20日
検体種	鼻咽頭ぬぐい液、鼻腔ぬぐい液	鼻咽頭ぬぐい液、鼻腔ぬぐい液	鼻咽頭ぬぐい液、鼻腔ぬぐい液
反応時間	～30分：30分前でもr & Tライン出現は陽性判定	15分	～15分：15分前でもC & Tライン出現は陽性判定
測定原理	イムノクロマトグラフィー法+酵素免疫測定法	イムノクロマトグラフィー法	イムノクロマトグラフィー法
標識体	アルカリフォスファターゼ（ALP）標識抗 SARS-CoV-2 モノクローナル抗体（マウス）	抗 SARS-CoV-2 モノクローナル抗体（マウス）結合ラテックス（赤）	白金-金コロイド標識抗 SARS-CoV-2 モノクローナル抗体（マウス）
免疫反応と検出法	判定ライン上の抗 SARS-CoV-2 モノクローナル抗体に、SARS-CoV-2 抗原-ALP 標識抗 SARS-CoV-2 モノクローナル抗体の複合体が捕捉され、その後 ALP と基質が反応し、青色ラインが発色	判定ライン上の抗 SARS-CoV-2 モノクローナル抗体に、SARS-CoV-2 抗原-ラテックス（赤）結合抗 SARS-CoV-2 モノクローナル抗体（マウス）の複合体が捕捉されると、ラテックスの赤色ラインが呈する	判定ライン上の抗 SARS-CoV-2 モノクローナル抗体に、SARS-CoV-2 抗原-白金-金コロイド標識抗 SARS-CoV-2 モノクローナル抗体の複合体が捕捉されると、白金-金コロイドの黒色ラインが呈する
感度	AMED 班標準 N 抗原：25 pg/mL	2019-nCoV/JPN/TY/WK-521 株：5.3×10 ¹ TCID ₅₀ /mL	3.56×10 ¹ TCID ₅₀ /テスト
交差反応性	SARS-CoV と反応する。MERS-CoV, HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-HKU1, HCoV-NL63 と反応しない	SARS-CoV と反応する。MERS-CoV, HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-HKU1, HCoV-NL63 と反応しない	SARS-CoV と反応する。MERS-CoV, HCoV-229E, HCoV-OC43 と反応しない

要とする抗原定性試薬も開発されている²⁰⁾。

迅速簡易抗原定性試薬の主な測定原理として、ここでは目視判定可能な3試薬（図2）について販売開始順に簡単に述べる。詳細性能等は、各試薬の添付文書^{8)~10)}、各社ホームページや試薬間差を含む各種報告^{7)21)~23)}で確認頂きたい。

① エスプライン® SARS-CoV-2：2020年5月に国内初の迅速簡易抗原定性試薬^{7)8)21)~23)}であり、イムノクロマトグラフィー法と酵素免疫法を組み合わせたユニークな測定原理である（図2-A）。固定化抗体およびアルカリフォスファターゼ（alkaline phosphatase: ALP）標識抗体として、N抗原を認識する数種類のモノクローナル抗体を用いたサンドイッチアッセイである。検体としては、鼻咽頭拭い液、鼻腔拭い液が使用できるが、加えて、核酸検査のウイルス保存液に懸濁された鼻咽頭拭い液や鼻腔拭い液も使用できるので、同じ試料で核酸検査も可能である。これらの試料を、専用の検体処理液と混合しN抗原を抽出後、反応カセットに2滴滴下し、試薬下部の凸部（図2-Aの展開液のハウジング部分）を押すことで展開液が毛細管現象によりニトロセルロースメンブレン内に展開する。ALP標識抗体とN抗原が結合した免疫複合体は、テストラインの固定化抗体により捕捉され、その後展開された発色基質が免疫複合体のALPと反応し青いラインを呈することで、目視

でSARS-CoV-2 N抗原の有無の判定が可能となる。リファレンスおよびテストラインの両方が出現した場合は30分前でも陽性、30分の時点でリファレンスラインのみが確認できる場合は陰性と判定される。最小検出感度は、AMED班標準N抗原で校正し25 pg/mLであり、SARS-CoVとも反応する。一方、MERS-CoVや、主に小児が冬季にかかる風邪の原因ウイルスであるHuman coronavirus (HCoV)であるHCoV-NL63, HCoV-OC43, HCoV-HKU1, HCoV-229Eとは反応しない⁷⁾⁸⁾。RT-PCRとの一致率は、Cycle threshold (Ct) 25未満で全例陽性となり100%、Ct 25から30未満では約89%を示し、ウイルス量の多い感染者の検出に有用である²³⁾。また、RT-PCRで約500 copies/reaction（約Ct 30未満に相当）以上の検体の多くで陽性を示し、発症後9日以内で高い検出率が示されている²¹⁾。

② クイックナビ™-COVID19 Ag：2020年8月に発売されたイムノクロマトグラフィー法を原理とする試薬⁹⁾²²⁾²⁴⁾で、標識物質として赤色のラテックス粒子を用いている（図2-B）。鼻咽頭拭い液や鼻腔拭い液と専用の検体浮遊液を用いて調製された試料を、サンプルパッドに3滴滴加すると毛細管現象によりコンジュゲートパッドに移動する。抗SARS-CoV-2モノクローナル抗体結合赤色ラテックスとSARS-CoV-2抗原が免疫複合体を形成し、ニトロセルロースメンブレン内を移動

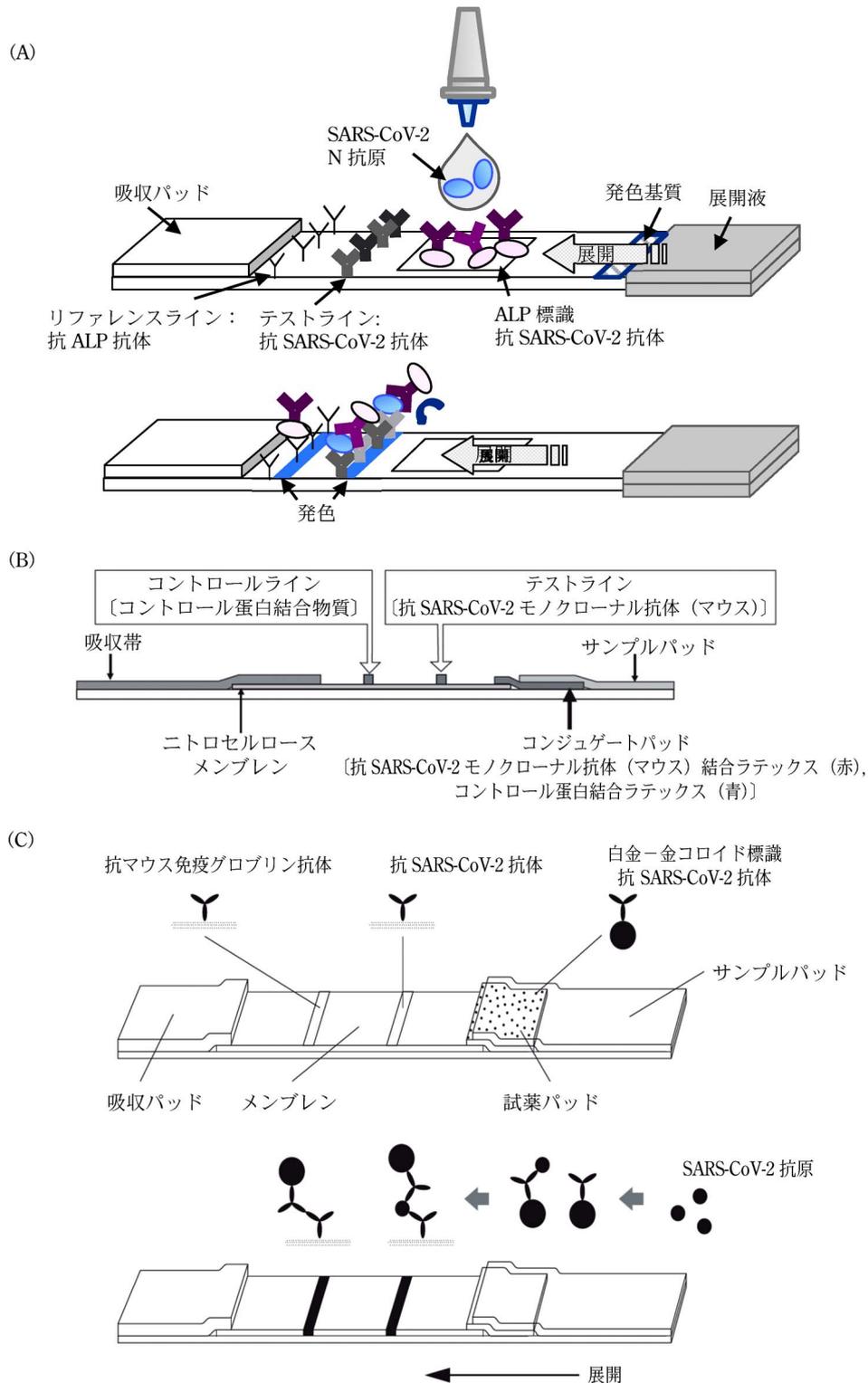


図 2 簡易抗原定性検査の測定原理

A) エスプライン® SARS-CoV-2 (文献 8 より引用), B) クイックナビ™-COVID19 Ag (文献 9 より引用), C) イムノエース® SARS-CoV-2 (文献 10 より引用)

する。テストライン上の抗 SARS-CoV-2 モノクローナル抗体に捕捉され赤色ラインが呈し、15 分で SARS-CoV-2 抗原の有無を目視で判定ができる。コントロールラインは青色、テストラインは赤色の 2 色の高い視認性を有する。最小検出感度は、2019-nCoV/JPN/TY/WK-521 株を用いて 5.3×10^1 TCID₅₀/mL であり、

SARS-CoV とも反応するが、MERS-CoV や、HCoV-NL63, HCoV-OC43, HCoV-HKU1, HCoV-229E とは反応しない⁹⁾。RT-PCR との一致率は、Ct 20 未満で全例陽性で 100 %、Ct 20~24 で 96.7 %、Ct 25~29 で全例陽性で 100 % を示しており、ウイルス量の多い感染者の検出に有用と報告されている²⁴⁾。

③ イムノエース® SARS-CoV-2：2020年10月に発売され、クイックナビと同様なイムノクロマトグラフィ法を原理とする試薬¹⁰⁾で、標識物質としては白金-金コロイド粒子を用いている(図2-C)。鼻咽頭拭い液や鼻腔拭い液を専用の検体抽出液で抽出した試料を、サンプルパッドに3滴滴下すると、白金-金コロイド標識抗 SARS-CoV-2 モノクローナル抗体と SARS-CoV-2 抗原が免疫複合体を形成し、ニトロセルロースメンブレン内を移動する。テストライン上の抗 SARS-CoV-2 モノクローナル抗体に捕捉され、白金-金コロイドの黒色ラインが呈し、目視により15分で SARS-CoV-2 抗原の有無の判定が可能であり、15分前でもコントロールとテストラインの出現は陽性判定が可能である。最小検出感度は、 3.56×10^1 TCID₅₀/テストであり、SARS-CoVとも反応するが、MERS-CoVや、HCoV-OC43、HCoV-229Eには反応しない¹⁰⁾。

専用の小型自動検査機器を必要とする抗原定性試薬として、2020年11月に HISCL™ SARS-CoV-2 Ag 試薬が開発されており、約17分間で測定が終了し、カットオフインデックスとして結果が表示される。最小検出感度は3.65 pg/mLと目視判定可能な前記試薬と比較して高感度であり、SARS-CoV、及びMERS-CoVに反応するが、HCoV-NL63、HCoV-OC43、HCoV-HKU1、HCoV-229Eとは反応しない²⁰⁾。

各社の迅速簡易抗原定性試薬の性能については、試薬により検出感度が異なる、核酸増幅検査結果との不一致例等の様々な報告^{21)~25)}があり、他の臨床検査試薬と同様に、用いる臨床状況を鑑み、各試薬の特徴を把握して選択することが重要である。

3.2 高感度抗原定量試薬

高感度抗原定量試薬は、2021年1月現在、専用の全自動機器を用いた2試薬(ルミパルス® SARS-CoV-2 Ag およびルミパルスプレスト® SARS-CoV-2 Ag)が承認、上市されている。短時間で、試薬/機器安価、高感度、高定量性/高再現性を有し、核酸増幅検査と同等な高い感度性能を有することから、核酸増幅検査と同様に広い臨床現場で使用可能である。

図3にルミパルス® SARS-CoV-2 Ag 試薬の測定原理(ルミパルスプレスト® SARS-CoV-2 Ag も同様)を示す^{11)~13)}。前述した迅速簡易抗原定性試薬「エスブライン® SARS-CoV-2」と同様にN抗原を測定対象として、磁性粒子に固定化されたモノクローナル抗体およびALP標識モノクローナル抗体を用いた2ステップサンドイッチ型の化学発光酵素免疫測定法である。検体としては、鼻咽頭拭い液、鼻腔拭い液、及び唾液を用いることができ、加えて、核酸検査用ウイルス保存液に懸濁された鼻咽頭拭い液や鼻腔拭い液も使用できる。唾液や核酸検査用ウイルス保存液に懸濁された鼻咽頭拭い液や

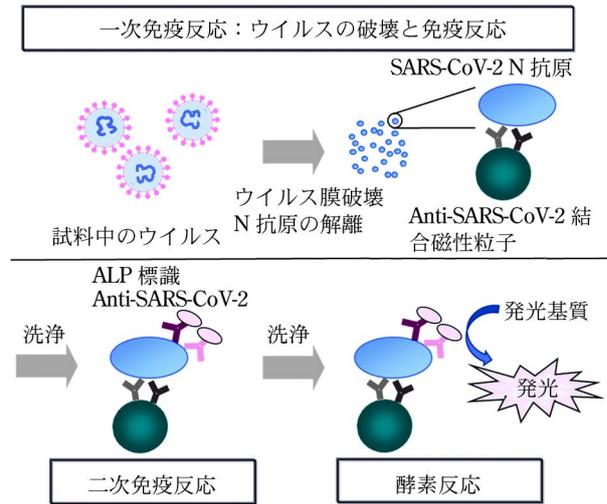


図3 ルミパルス SARS-CoV-2 Ag 測定原理

SARS-CoV-2を含む試料は一次免疫反応中で、ウイルスの破壊と同時に抽出されてきたN抗原が粒子結合モノクローナル抗体と結合し、洗浄後ALP標識モノクローナル抗体と反応する。洗浄後ALPと化学発光基質が反応し、発光シグナルを検出する。

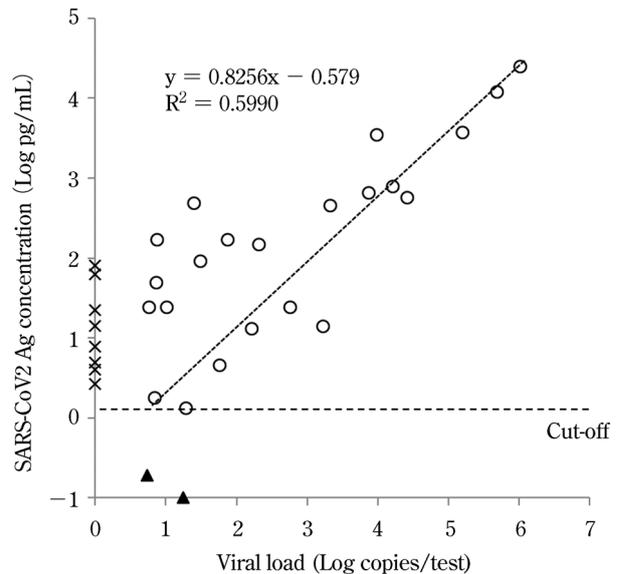


図4 Analysis of viral load and antigen concentration

Correlation analysis between viral load and SARS-CoV-2 antigen concentration. This figure shows cases with a positive test for either RT-PCR or SQT. Open circles indicate RT-PCR-positive and SQT-positive cases ($n=22$). Cross marks indicate RT-PCR-negative and SQT-positive cases ($n=8$). Triangles indicate RT-PCR-positive and SQT-negative cases ($n=2$). (文献12より引用). SQT: sensitive quantitative antigen test, Lumipulse® SARS-CoV-2 Ag

鼻腔拭い液は、核酸増幅検査にも用いることができるので、同じ検体で確認試験として核酸検査と組み合わせることが可能である。これらの試料中のN抗原は、一次免疫反応中で、ウイルスの破壊と同時に抽出され、磁性粒子に結合したモノクローナル抗体と結合する。洗浄後、粒子上の免疫複合体は、ALP標識モノクローナル抗体と反応する。洗浄した後、ALPにより基質が化学

発光し、その発光シグナルから AMED 班標準 N 抗原濃度で校正した検量線を用いて N 抗原を定量する。ルミパルス® SARS-CoV-2 Ag は約 30 分、ルミパルスプレスト® SARS-CoV-2 Ag は約 25 分で測定結果が得られる。最小定量限界は 0.6 pg/mL であり、SARS-CoV とも反応するが、MERS-CoV や、HCoV-NL63, HCoV-OC43, HCoV-HKU1, HCoV-229E には反応しない。

図 4 に示したように、国内臨床検体 325 例を用いて典型的な核酸増幅法である RT-PCR 法と高い相関性を示している¹¹⁾¹²⁾。図 4 の X で示した RT-PCR 法陰性 & 高感度抗原定量試薬陽性の 8 例においては、すべて RT-PCR 法陽性歴（入院時には PCR 陽性であったが、本検討時には陰転化が検討された症例由来の検体）であり、発症から 9 日から 23 日を経た回復期の症例であった。また、2 例の △ は、他社核酸増幅検査法等による結果からは陰性であると考えられた。RT-PCR 法陽性歴のない陰性検体 293 例は、すべて高感度抗原定量試薬も陰性となり、高感度抗原定量試薬は、核酸増幅法とほぼ同等の感度を有していると考えられる。

4 抗原検査の現状の有用性及び今後の展開

4.1 各抗原検査の適用ガイドラインについて

各社より販売されている迅速簡易抗原定性検査と高感

度抗原定量検査の適用ガイドラインは、2020 年 5 月に抗原検査試薬の初承認時以降様々な変遷を経て、2021 年 1 月 22 日に新型コロナウイルス感染症（COVID-19）病原体検査の指針（第 3 版）が発行²⁶⁾され、表 2 のように核酸検査も含め、検査の対象試料や対象者の適応が記載されている。さらに、同検査指針（第 3.1 版）が 2021 年 3 月 3 日に発行され、唾液検体の採取について、施設等における無症状者に対して幅広く検査を行う際に、医療従事者が常に立ち会うことが困難な場合は、その施設等の職員が検体採取に関する注意点を理解した上で確認することが記載された。

また、厚労省より、2021 年 4 月 1 日に「新型コロナウイルス感染症の検査体制整備に対する指針」が策定され、高齢者施設等への重点的な検査の徹底や、クラスターが複数発生している地域における積極的な検査を実施する検査体制の整備に取り組むことが発出されている。

迅速簡易抗原定性検査は、2020 年 5 月承認時には有症状者の鼻咽頭拭い液のみが適用されていたが、臨床試験を経て 10 月に鼻腔拭い液も測定対象に追加された。承認当初から、発症 2 日目から 9 日目以内の有症状者の確定診断に用いることができたが、発症初日のウイルス量が高い²⁶⁾ことが確認され、2021 年 1 月より鼻咽頭拭い液および鼻腔拭い液において、発症初日から 9 日

表 2 新型コロナウイルス感染症（COVID-19）病原体検査の指針（第 3 版）における新型コロナウイルス感染症にかかる各種検査（文献 26 より引用）

新型コロナウイルス感染症にかかる各種検査										
検査の対象者		核酸検出検査			抗原検査（定量）			抗原検査（定性）		
		鼻咽頭	鼻腔*	唾液	鼻咽頭	鼻腔*	唾液	鼻咽頭	鼻腔*	唾液
有症状者 (症状消退 者含む)	発症から 9 日目以内	○	○	○	○	○	○	○	○	×(※1)
	発症から 10 日目以降	○	○	—(※3)	○	○	—(※3)	△(※2)	△(※2)	×(※1)
無症状者		○	—(※3)	○	○	—(※3)	○	—(※4)	—(※4)	×(※1)
想定される主な活用場面		<ul style="list-style-type: none"> 検査機器等の配備を要するものの、無症状者に活用できるため、保健所、地方衛生研究所、国立感染症研究所等の検査専門施設や医療機関を中心に実施。 大量の検体を一度に処理できる機器や操作が簡便な機器など幅広い製品があるため、状況に応じた活用が重要。 			<ul style="list-style-type: none"> 検査機器等の配備を要するものの、現在供給されている検査機器は、新型コロナウイルス感染症にかかる検査以外にも、通常診療で実施される様々な検査に活用できるため、検査センターや一定規模以上の病院等において活用。 無症状者に対する唾液を用いた検査を空港検疫等で活用。 			<ul style="list-style-type: none"> 目視による判定または小型の検査機器を用いて、その場で簡便かつ迅速に検査結果が判明する。 現状では対象者は発症初日から 9 日目の有症状者の確定診断に用いられるため、インフルエンザ流行期等における発熱患者等への検査に有効。 		

※1：有症状者への使用は研究中。無症状者への使用は研究を予定している。

※2：使用可能だが、陰性の場合には臨床像から必要に応じて核酸検出検査や抗原定量検査を行うことが推奨される。（△）

※3：推奨されない。（—）

※4：確定診断としての使用は推奨されないが、感染拡大地域の医療機関や高齢者施設等において幅広く検査を実施する際にスクリーニングに使用することは可能。ただし、結果が陰性の場合でも感染予防策を継続すること。また、結果が陽性の場合であって医師が必要と認めれば核酸検出検査や抗原定量検査により確認すること。

*：引き続き検討が必要であるものの、有用な検体である。

目以内の確定診断に用いることができるようになった。加えて、確定診断としては推奨されないが、感染拡大地域の医療機関や高齢者施設等において、幅広くスクリーニングに使用することが可能となり、今後の活用が期待される。

高感度抗原定量検査は、2020年6月承認時より、無症状者については核酸増幅検査と同じく鼻咽頭拭い液と唾液が適対象である。有症状者においては、鼻咽頭拭い液と唾液に加えて、鼻腔拭い液も臨床試験を経て迅速簡易抗原定性検査と同じタイミングで、測定対象に追加された²⁶⁾。唾液や鼻腔拭い液は、試料採取の侵襲性が低いため患者の苦痛が低減されるだけでなく、採取時の医療従事者の二次感染リスク低減と負担軽減に大きく寄与できるものと考えられている。

4・2 抗原検査の有用性と活用

本ウイルス感染検査における、両抗原検査の有用性として、①症状のある方の診断と迅速な隔離や入院治療の判断、②感染者の早期発見による感染拡大の抑制、が挙げられる。

① 本疾患の重篤性（及び二次疾患含む）リスクは高く、症状のある方、特に高齢の方や基礎疾患を有している方は、速やかにその場で初期診断することが重要である。迅速に結果が得られる抗原検査を、臨床現場によって使い分け、速やかにリスクの高い方の隔離や入院治療の診断補助として有用と考えられる。

② 症状の有無にかかわらず、様々な臨床現場や社会生活の中で、本ウイルス感染者を早期発見し、感染拡大を抑制する必要がある。無症状の方のスクリーニングを目的とする抗原検査としては、1) 病院における無症状

の濃厚接触者を含むハイリスク患者の隔離やモニタリングによる院内感染防止、2) 公衆衛生上の利用として、検疫スクリーニングや一般社会の感染拡大を防ぐ予防的なスクリーニングへの使用、3) ヘルスケア利用として、イベントや企業活動の安全確保、検診等への使用において有用であると期待される。

図5に迅速簡易抗原定性検査と高感度抗原定量検査の活用が想定される様々な現場を示した。迅速簡易抗原定性検査は、特別な機器が不要で迅速に結果が得られることから、クリニック、保健所、緊急搬送や緊急医療現場に非常に有用なツールと考えられる。また、要件付きであるが、医療機関や高齢者施設等のスクリーニングにも活用が追加された。今後、医師指導の下、自己採取可能な鼻腔拭い液の有効活用の推進、及び今後の臨床研究の積み増しによる唾液適用が可能となることが期待される²⁷⁾。

高感度抗原定量検査は、全自動機器を用いたシステム検査であり、この全自動機器は小型機器（60テスト/時間）、中型機器（120テスト/時間）、大型機器（240テスト/時間）の3機種がラインナップされている。このため、各病院の臨床診断時の幅広い運用方法への対応や、検査センターにおける大量処理や検疫等の大規模スクリーニングに利用が可能である。また、ウイルス定量が可能で、RT-PCR法のCt値との相関性も高く、入院患者のウイルス量の変動モニタリングや、感染性や重篤性のリスク評価に有用と期待される¹²⁾¹³⁾²⁸⁾。

4・3 全自動分析機器を用いた高感度抗原定量検査システムの空港検疫等の適用

中・大型の全自動分析機器を用いた高感度抗原定量検査

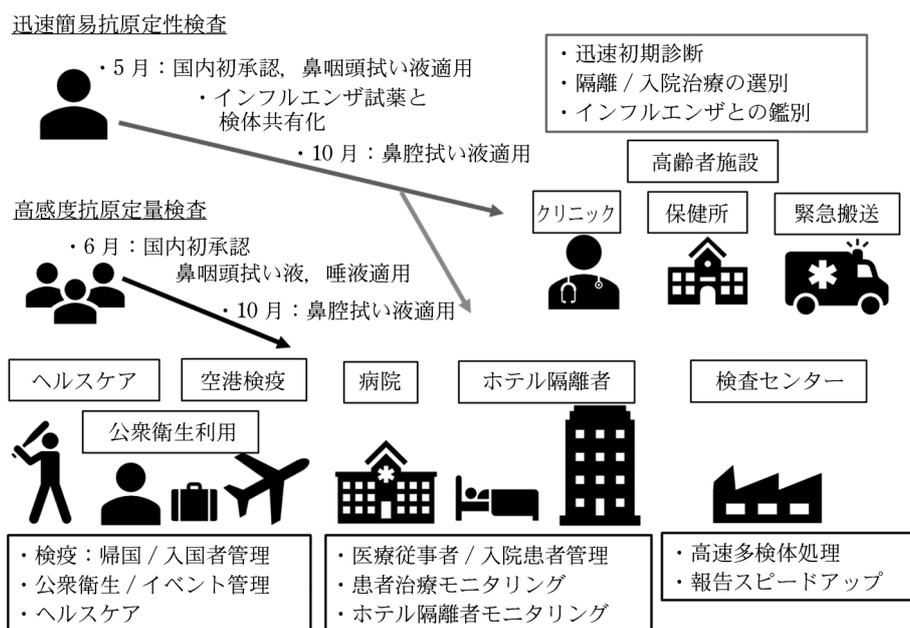


図5 抗原検査の活用される現場

査システムは、核酸増幅検査と比較して、低コストで時間当たりの検体処理能が高いため、検疫等での無症状者を含むスクリーニングに有用である²⁹⁾。この全自動高感度抗原定量検査システム（ルミパルスシステム）は、2020年8月より成田、羽田、関空等の各空港の検疫に導入されている。高感度抗原定量検査試薬で唾液や鼻咽頭拭い液を用いてスクリーニングを行い、判定保留域の検体については、確認試験として核酸増幅検査を併用した効率的なスクリーニングプロセスが構築され³⁰⁾、国内への感染者流入の水際対策に貢献している。

また、高感度抗原定量検査システムは、2020年11月よりドイツのハンブルグ等の主要空港内の搭乗者検査にも使用開始され、感染者移動の制限、機内感染防止に寄与している³¹⁾。

4.4 インフルエンザ検査と新型コロナウイルス抗原検査

日本感染症学会では、インフルエンザ-COVID-19 アドホック委員会を立ち上げ、一般クリニックや病院での外来診療を対象として、2020年8月3日に“今冬のインフルエンザとCOVID-19に備えて”という提言³²⁾がなされている（図6）。両感染症の鑑別を第一とする原則を重視しながら、流行状況や感染者との接触、特徴的な臨床症状から強く疑う感染症の検査を優先としている。加えて、COVID-19の検査キットのキャパシティを考慮しながら、臨床現場の実情にあった、医療

の混乱を防ぐ診療の在り方も提案されている³²⁾。いずれのケースにおいても、遺伝子（核酸）検査と共に、迅速簡易抗原定性検査と高感度抗原定量検査の使用が提唱されている。また、各社のインフルエンザ検査試薬とCOVID-19検査試薬において、同一の処理サンプルの使用を可能とするように工夫がされており、患者の侵襲的サンプリング負担が削減されている^{8)~10)}。2021年1月の時点で、例年と比較してインフルエンザ患者の発生頻度が大幅に減少しているが、新型コロナウイルスのワクチン対策等が功を奏すると期待される来季以降、海外交流が戻りマスク対策等から解放された場合、インフルエンザウイルス感染との鑑別が継続的に必要となると考えられる。

4.5 新型コロナウイルス定量検査の標準化

核酸増幅検査及び抗原検査を含む新型コロナウイルス検査は、単に陽性が陰性だけでなく、本ウイルス定量値は患者の感染リスクや重篤性リスクの推定に役立つ可能性が指摘されている。より高いウイルス量をもつ患者が、より深刻な周辺へのアウトブレイクリスクや院内感染リスクをもち、及び病気の重症度を反映する可能性がある³³⁾。両検査は、スワブを用いた鼻咽頭や鼻腔拭い液が主に使われ、このサンプリングの特性から、同じ人からの異なるスワブ試料が異なる結果をもたらす可能性は否定できない。加えて、核酸増幅検査の定量値の標準化には様々な技術的課題がある。同じ試料であっても、

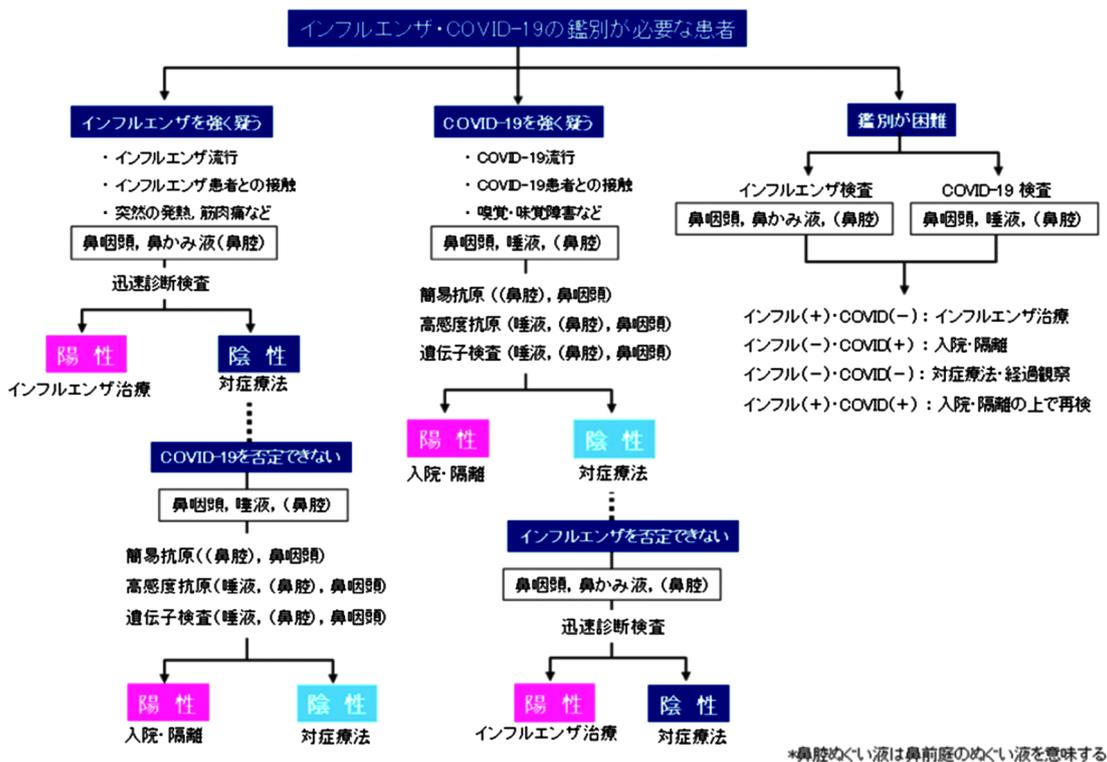


図6 COVID-19およびインフルエンザを想定した外来診療検査のフローチャート。日本感染症学会提言“今冬のインフルエンザとCOVID-19に備えて”（文献30より引用）

異なる核酸増幅検査薬を用いると、試薬の増幅原理や検出原理により測定値表示が異なる。RT-PCR法に限定しても、RNA抽出プロセスの違いや測定者の熟練度によるRNA抽出効率差や、ターゲット領域やプライマー、プローブの設定条件の違いによる増幅サイクル効率の違い等により、異なるCT値を与えることが知られている。これらをできるだけ回避するには、各施設での検出限界近傍の陽性コントロール含めた内部精度管理と、同一の精度管理試料を用いた外部精度管理が重要となる⁶⁾。

抗原定量検査の標準化については、前記スワブサンプリングの問題はあるが、他感染症の定量項目のWHO Standard品のように、ターゲットの構造タンパク質毎の標準品作成により、検査試薬間差の是正や測定結果解釈の共通化等が期待される。現在の高感度抗原定量試薬においては、2試薬とも同じAMED班標準品(N抗原)を使用して校正されている¹¹⁾。さらに、臨床検査薬として精度管理された施設で測定が行われているので、N抗原の定量値は、臨床現場のウイルス定量の要望に応える事が出来る可能性が高いと考えられる。今後各種のN抗原を測定対象とした抗原定量試薬が開発された際には、可能な限り共通の標準品を用いた校正化が行われることを期待したい。

4・6 新型コロナウイルス変異株への対応

2020年末～2021年初にかけて、現在の高感度抗原定量試薬を用いた国内検疫において、英国の新規変異株(VOC-202012/01)、南アフリカ変異株(501Y.V2)、ブラジルからの渡航者からの新変異株(501Y.V3)が検出された。元来、新型コロナウイルス検査を含む各種ウイルス検査には多様な変異株を広く検出できることが求められる。現在世界的に拡大している英国のVOC-202012/01は、23か所の変異があり、主にS抗原の変異(deletion 69-70, deletion 144, N501Y, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A, D1118H)で定義され、一部その他の部位の変異が報告³⁴⁾されている。南アフリカの501Y.V2もS抗原の8か所の変異、ブラジルの501Y.V3もS抗原の12か所の変異で主に定義されている³⁴⁾。

今後も一定以上の頻度でSARS-CoV-2の遺伝的変異の出現が予想され、現在の各種新型コロナウイルス検査において、偽陰性等が生じてくる可能性がある。FDAは、緊急使用許可(EUA)を取得したSARS-CoV-2の核酸増幅試薬における遺伝子変異の影響を監視しており、遺伝子変異によって性能に影響を与える可能性のある3つの核酸増幅試薬を特定している¹⁹⁾。核酸増幅法は塩基レベルの置換等の影響を大きく受ける検査方法であり、そのため複数の遺伝子標的を用いることで、遺伝子変異の影響を受けるリスクが低い検査をでき

るものと考えられる。

抗原検査の開発についても、各種の遺伝子変異にはアミノ酸変異を生じる可能性があるため、よりアミノ酸変異が生じにくいウイルス粒子を構成する抗原を選択し、その選択された抗原のより変異が起りにくい複数の抗原エпитープに対する特異的な抗体を開発する必要がある。それらの抗体を組合せて、高感度化と共に変異リスクに対してより寛容な抗原測定法のデザインが必要となる。

今後も継続的なSARS-CoV-2のゲノムモニタリング、及びアミノ酸変異モニタリングを行い、変異株に対する迅速な評価と対応が重要である。

5 総括

新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)の抗原試薬は、すべて1時間以内で結果が判定できる迅速性を有しており、承認区分として、迅速簡易抗原定性試薬と高感度抗原定量試薬に分類され、現在それぞれの性能や特徴によって様々な臨床現場の用途に活用されている。

迅速簡易抗原定性試薬は、短時間、安価、簡便/熟練者不要、常温保存可であり、特に特別な機器が不要で測定場所の限定をうけない、その場で結果が得られるという大きなメリットを有する。現時点で確定診断としては推奨されていないが、要件つきで感染拡大地域の医療機関や高齢者施設等において、スクリーニングに使用することが可能となり、今後より幅広い活用が期待される。

高感度抗原定量試薬は、短時間、試薬/機器安価、高感度、高定量性/高再現性を有し、広い臨床現場で核酸増幅検査と同様に使用可能であり、特に全自動で多検体処理が可能のため、効率的な臨床診断のサポートや院内管理、及び検疫/出国前検査等で活用される。

また、各試薬の特徴を理解し、用いる臨床現場での運用を考慮し使用する抗原検査試薬を選択することが重要であり、加えて、核酸増幅検査や抗体検査等と組み合わせることで、より効率的な診断スキームの構築がなされ、隔離・治療や二次感染拡大抑制への貢献が期待される。

文献

- 1) Z. Wu, JM. McGoogan: *JAMA*, 323, 1239, doi:10.1001/jama.2020.2648 (2020).
- 2) 新型コロナウイルス感染症(COVID-19)診療の手引き・第1版2020: <https://www.jshp.or.jp/cont/20/0319-5.pdf>.
- 3) AE. Gorbalenya, SC. Baker, RS. Baric, RJ. de Groot, C. Drosten, AA. Gulyaeva, BL. Haagmans, C. Lauber, AM. Leontovich, BW. Neuman, D. Penzar, S. Perlman, LLM. Poon, DV. Samborskiy, IA. Sidorov, I. Sola, J. Ziebuhr: *Nat Microbiology*, 5, 536, <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0695-z> (2020).
- 4) DC. Dinesh, D. Chalupska, J. Silhan, E. Koutna, R. Nencka, V. Veverka: *PLoS Pathog*, 16(12), e1009100,

- <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009100> (2020).
- 5) 日本医師会 COVID-19 有識会議. COVID-19 感染対策における PCR 検査実態調査と利用推進タスクフォース 中間報告書解説版, <https://www.covid19-jma-medical-expert-meeting.jp/wp-content/uploads/2020/07/C0110301「COVID-19-感染対策におけるPCR-検査実態調査と利用推進タスクフォース」中間報告書解説版-1.pdf> (accessed 2021-01-30).
 - 6) 青木弘太郎: 検査と技術, **48**, 1282 (2020).
 - 7) 山川賢太郎, 藤本 陽, 宮本和慶, 大島拓真, 佐藤英雄, 長谷川明, 金子 敦, 八木慎太郎, 青柳克己: 医学と薬学, **77**, 937 (2020).
 - 8) 富士レリオ株式会社: エスプライン® SARS-CoV-2 添付文書, 2020年11月改訂(第12版).
 - 9) デンカ株式会社: クイックナビ™-COVID19 Ag 添付文書, 2020年10月改訂(第三版).
 - 10) 株式会社タウンズ: イムノエース® SARS-CoV-2 添付文書, 2020年12月改訂(第6版).
 - 11) 今泉正恭, 西井 友, 顧 然, 藤本 陽, 宮本和慶, 鈴木忠樹, 佐藤英雄, 小島 哲, 北村由之, 金子 敦, 八木慎太郎, 青柳克己: 医学と薬学, **77**, 1201 (2020).
 - 12) K. Aoki, T. Nagasawa, S. Yagi, S. Okuma, K. Kashiwagi, T. Maeda, T. Satoh, Y. Miyazaki, S. Yonezawa, K. Tateda, Y. Ishii: *Journal of Infection and Chemotherapy*, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2020.11.021> (2020).
 - 13) R. Kobayashi, R. Murai, K. Asanuma, Y. Fujiya, S. Takahashi: *Journal of Infection and Chemotherapy*, **16**, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2021.01.007> (2021).
 - 14) N. Sethuraman, SS. Jeremiah, A. Ryo: *JAMA*, **323**, 2249 (2020).
 - 15) NR. Pollock, TJ. Savage, H. Wardell, RA. Lee, A. Mathew, M. Stengelin, GB. Sigal: *J Clin Microbiol*, doi:10.1128/jcm.03077-20 (2021).
 - 16) Y. Kyosei, M. Namba, S. Yamura, R. Takeuchi, N. Aoki, K. Nakaishi, S. Watabe, E. Ito: *Diagnostics*, **10**, 594, <https://doi.org/10.3390/diagnostics10080594> (2020).
 - 17) D. Cyranoski: *Nature*, **589**, 337, DOI: <https://doi.org/10.1038/d41586-021-00065-4> (2021).
 - 18) JH. Yixuan, S. Chiba, P. Halfmann, C. Ehre, M. Kuroda, KH. Dinno III, SR. Leist, A. Schäfer, N. Nakajima, K. Takahashi, RE. Lee, TM. Mascenik, R. Graham, CE. Edwards, LV. Tse, K. Okuda, AJ. Markmann, L. Bartelt, A. de Silva, DM. Margolis, RC. Boucher, SH. Randell, T. Suzuki, LE. Gralinski, Y. Kawaoka, RS. Baric: *Science*, **370**, 1464, DOI: 10.1126/science.abe8499 (2020).
 - 19) FDA: Letter to Clinical Laboratory Staff and Health Care Providers, Genetic Variants of SARS-CoV-2 May Lead to False Negative Results with Molecular Tests for Detection of SARS-CoV-2, January 8, 2021, <https://www.fda.gov/medical-devices/letters-health-care-providers/genetic-variants-sars-cov-2-may-lead-false-negative-results-molecular-tests-detection-sars-cov-2>.
 - 20) シスメックス株式会社: HISCL SARS-CoV-2 Ag 試薬添付文書, 2020年11月改訂(第1版).
 - 21) Y. Ishii, K. Aoki, T. Nagasawa, S. Yagi, K. Kashiwagi, T. Miyazaki, K. Tateda: *Journal of Infection and Chemotherapy*, **27**, 319 (2021).
 - 22) S. Yamayoshi, Y. Sakai-Tagawa, M. Koga, O. Akasaka, I. Nakachi, H. Koh, K. Maeda, E. Adachi, M. Saito, H. Nagai, K. Ikeuchi, T. Ogura, R. Baba, K. Fujita, T. Fukui, F. Ito, S. Hattori, K. Yamamoto, T. Nakamoto, Y. Furusawa, A. Yasuhara, M. Ujie, S. Yamada, M. Ito, H. Mitsuya, N. Omagari, H. Yotsuyanagi, K. Iwatsuki-Horimoto, M. Imai, Y. Kawaoka: *Viruses*, **12**, 1420 (2020).
 - 23) Y. Takeda, M. Mori, K. Omi: medRxiv preprint, DOI: <https://doi.org/10.1101/2020.06.16.20131243> (2020).
 - 24) Y. Takeuchi, Y. Akashi, D. Kato, M. Kuwahara, S. Muramatsu, A. Ueda, S. Notake, K. Nakamura, H. Ishikawa, H. Suzuki: medRxiv preprint, DOI: <https://doi.org/10.1101/2020.12.27.20248876> (2021).
 - 25) T. Tanimoto, M. Matsumura, S. Tada, S. Fujita, S. Ueno, K. Hamai, T. Omoto, H. Maeda, T. Nishisaka, N. Ishikawa: *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2020.11.004> (2020).
 - 26) 新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) 病原体検査の指針 (第3版). 2021年1月22日発行.
 - 27) K. Kashiwagi, Y. Ishii, K. Aoki, S. Yagi, T. Maeda, T. Miyazaki, S. Yoshizawa, K. Aoyagi, K. Tateda: *Journal of Infection and Chemotherapy*, **27**, 384 (2021).
 - 28) Y. Hirotsu, M. Maejima, M. Shibusawa, Y. Nagakubo, K. Hosaka, K. Amemiya, H. Sueki, M. Hayakawa, H. Mochizuki, T. Tsutsui, Y. Kakizaki, Y. Miyashita, S. Yagi, S. Kojima, M. Omata: *International Journal of Infectious Diseases*, **99**, 397 (2020).
 - 29) I. Yokota, PY. Shane, K. Okada, Y. Unoki, Y. Yang, S. Iwasaki, S. Fujisawa, M. Nishida, T. Teshima: SSRN: <https://ssrn.com/abstract=3719066> (2020).
 - 30) I. Yokota, PY. Shane, T. Teshima: DOI: <https://doi.org/10.1101/2021.01.25.21250509> (2021).
 - 31) H.U. グループプレスリリース (2020年11月10日), <https://ssl4.eir-parts.net/doc/4544/tdnet/1900942/00.pdf> (2020).
 - 32) 日本感染症学会: 日本感染症学会提言 “今冬のインフルエンザと COVID-19 に備えて”, (2020年8月3日).
 - 33) FS. Robert: *Science*, **370**, 22, DOI: 10.1126/science.370.6512.22 (2020).
 - 34) 国立感染症研究所: 感染・伝播性の増加や抗原性の変化が懸念される 新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) の新規変異株について (第5報) <https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/10144-covid19-34.html>, (2020).



青柳克己 (Katsumi AOYAGI)

富士レリオ株式会社 (〒163-0410 東京都新宿区西新宿2-1-1 新宿三井ビルディング)。東北大学大学院薬学研究所博士課程前期二年の課程。博士(薬学)。《現在の研究テーマ》高感度免疫測定法の開発、検体前処理法を用いた免疫測定法。《主な著書》Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods (Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods) (23 HAR/PSC) Chapter 44 Immunoassays and Immunochemistry.