

令和 5 年 2 月 1 日

国立大学法人 浜松医科大学

社会の負担を減らし国民の安心を促進する 抗原検査の新検査技術の実証実験

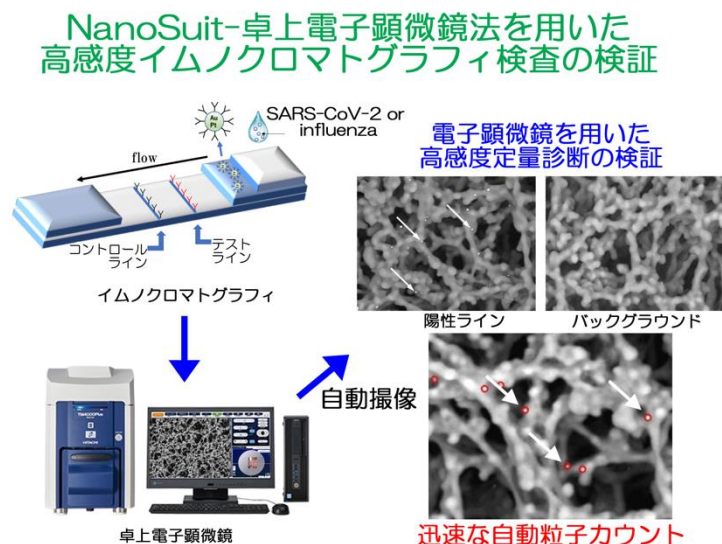
～自動化された卓上電子顕微鏡を用いた 新型コロナウイルス・インフルエンザの同時高感度抗原検査～

今冬は新型コロナウイルスとインフルエンザ同時流行が懸念されています。浜松医科大学は、NanoSuit(株)の協力、(株)タウンズの協賛のもと、イムノクロマトグラフィ(抗原検査)の新検査技術を用いた新型コロナウイルスとインフルエンザの同時高感度化診断を検証する実験を実施しています。第2類相当の新型コロナウイルス、第5類のインフルエンザとの同時流行が起きたときに、PCR検査だけでは対処が難しい場面がでてきます。その時は、抗原検査を利用したその場での高感度な診断が有効な代替手段と考えます。現在、新型コロナウイルスの第5類への移行が決まり、今後はインフルエンザ検査と同様に新型コロナウイルスも抗原検査が中心になっていくと予想されます。

また今回の新検査技術はポストコロナ時代のインバウンド・アウトバウンド対策としても有効な手段と考えます。

本実証実験では浜松医科大学光先端医学教育研究センターナノスーツ開発研究部と附属病院検査部が協力して、新型コロナウイルスとインフルエンザ疑いの発熱患者に対して、抗原検査とPCR検査を同時に行っています。抗原検査に関しては、肉眼診断後に、(株)日立製作所の自動化ソフトを適用した卓上電子顕微鏡を用いて、最高感度を示すイムノクロマトグラフィ法であるNanoSuit-卓上電子顕微鏡法にて検証を行います。

本実証実験では、抗原検査を利用した高感度かつ迅速な診断を実際の臨床現場で使用できるよう、将来に向けた改善点などを抽出し検討します。本実証実験により住民の安心・負担軽減につながることを目指します。



実証実験の概要

- ・ 期間 : 2022 年 12 月～2023 年 4 月
- ・ 場所 : 浜松医科大学 (静岡県浜松市東区半田山 1-20-1)
- ・ 検証対象者 : 浜松医科大学に来院するインフルエンザ、新型コロナウイルス感染症疑いの外来患者
- ・ 実施内容 : 上記検証対象者に PCR 検査と抗原検査を実施。抗原検査に対しては、肉眼診断後、NanoSuit-卓上電子顕微鏡法の検証を行う。
なお、検証には (株) 日立製作所の自動化ソフトを適用した卓上電子顕微鏡を用いる。
- ・ 実施主体 : 浜松医科大学 光先端医学教育研究センターナノスーツ開発研究部
- ・ 協力団体 : NanoSuit (株)
- ・ 協賛団体 : (株) タウンズ



実験の目的、内容、期待される効果

人類は常にパンデミックの脅威にさらされています。感染症の蔓延を防ぐため、早期診断検査は常に求められています。イムクロマトグラフィは操作が簡便かつ迅速で、現場の医療従事者が検査可能な非常に便利な検査ツールです。新型コロナウイルス感染症に関しても「ゲームチェンジャー」として近年頻繁に使用されるようになりました。

我々は、「生物機能の高度活用技術」の一つとして、生物試料を「生きたまま・濡れたまま」高真空を必要とする電子顕微鏡で観察できる NanoSuit 法を確立しました。この技術により簡便・迅速に多くの試料をそのまま電子顕微鏡で観察することができるようになったのです。

この技術は静岡県産業振興財団など多くの方々の支援も受け、標的金属粒子の直接観察による高感度化診断を探索しました。イムクロマトグラフィ臨床検体を、NanoSuit 法を用いて安定化させ、テストライン上にある金粒子数を電子顕微鏡でカウント後、background 粒子数との差を統計処理し陽性判定をおこなっています。測定後は肉眼診断と電子顕微鏡診断結果を RT-PCR 結果と比較します。以前の結果では、定量性がありかつ感度向上を認めることが確認できました。特に低コピー数 (Ct 値 30.0～40.0) の範囲で差は顕著となり、肉眼診断より最高 500-1000 倍程度の感度向上を示しました^{1),2)}。これは感染患者を検出する PCR 診断とほぼ同等の検出能力と考えられ、理論上イムクロマトグラフィの最高感度となります。世界の研究者等に周知のため、特許出願と論文発表を行いました^{1),2)}。ただ電子顕微鏡での観察部位の位置合わせや粒子カウントには時間がかかり、実際の臨床現場での応用は困難が予

想されました。そこで共同研究先である(株)日立製作所より、卓上電子顕微鏡の自動撮像と粒子カウントを自動化する技術協力を得ることで、測定時間の大幅な短縮と検査者の負担軽減が達成でき、臨床現場で NanoSuit 法を応用できる可能性が高まりました。

今冬はインフルエンザと新型コロナウイルスの同時流行が懸念されます。大流行した場合は医療現場等の混乱も予想され、より迅速な診断の対応が迫られ、免疫クロマトグラフィを用いた抗原検査も必要となります。一般的に抗原検査の感度は低いと常に言われている一方、RT-PCR 法の陽性感度と感染性の関連に齟齬があることが懸念されています。本実証実験ではインフルエンザと新型コロナウイルスの抗原検査 (タウンズ社)、および、PCR 検査を同時に実施します。抗原検査では、肉眼診断と自動化された卓上電子顕微鏡を用いた高感度な NanoSuit-卓上電子顕微鏡法との結果と比較していきます。これらの結果を基に、改善点や臨床現場の needs の検討を進めていきます。

この検証実験により、実際の医療現場でのインフルエンザ・新型コロナウイルス検査への信頼を高め、より社会への安心へとつなげる効果が期待できます。また新たな抗原検査キットの開発につながり、開業医、薬局などで、高感度抗原検査サービスとして展開される可能性があります。

<本件に関するお問い合わせ先>

浜松医科大学 光先端医学教育研究センター
ナノスーツ開発研究部 河崎秀陽
TEL/FAX 053-435-2504
Mail: gloria@hama-med.ac.jp

<文献>

- (1) Kawasaki H*, Suzuki H, Maekawa M, Hariyama T*: Combination of the NanoSuit method and gold/platinum particle-based lateral flow assay for quantitative and highly sensitive diagnosis using a desktop scanning electron microscope. J Pharm Biomed Anal 20; 196: 113924. 2021
- (2) Kawasaki H*, Suzuki H, Furuhashi K, Yamashita K, Ishikawa J, Nagura O, Maekawa M, Miwa T, Tandou T, Hariyama T: Highly Sensitive and Quantitative Diagnosis of SARS-CoV-2 Using a Gold/Platinum Particle-Based Lateral Flow Assay and a Desktop Scanning Electron Microscope. Biomedicines. 10(2):447. 2022

<用語解説>

1. 免疫クロマトグラフィ: 毛細管現象を用いた物質の分離と抗原抗体反応を組合せた迅速検査(診断)の手法の1つ。インフルエンザの診断や妊娠検査薬など幅広く応用されている。いくつかの企業が、インフルエンザ、新型コロナウイルス(2019-nCoV/SARS-CoV-2)に対して、免疫クロマトグラフィによる迅速診断キットを開発した。膜の端に測定試料を滴下すると、毛細管現象によって、もう一端に向かって広がっていく。測定試料中に抗原が存在すれば、抗原と標識抗体が免疫複合体を形成しながら移動し、膜上に固定されたキャプチャー抗体に捕捉されることで直線状に発色する(テストライン)。その後、抗原と反応しなかった標識抗体が、標識抗体に対する抗体と反応することで直線状に発色すれば(コントロールライン)、検査が正しく実施されたと判断される。
2. NanoSuit: 「ナノスーツ」と呼ぶこのコーティング技術は、食品添加物の一種と化学的に類似した生体適合性物質を使うもので、ナノメートル単位の薄さで柔軟性のある膜を形成して生体を保護する。電子顕微鏡がとらえる電子の後方散乱を妨げることなく、生体内の水分の放出を抑制する。従来の実験方法は、生物試料を化学固定した後、形をできるだけ維持する乾燥法により試料内部の液体成分を除去したのち、試料表面に金やオスミウムなどでコーティングをして観察していた。この方法で注意深く作業を行っても、体内に水分が多い材料では変形をな

かなか防ぐことができず、高倍率で観察すると未処理の変形に比べて少ないとはいえ、微細構造に多くのアーチファクト（人工的に変形した構造）が観察されていた。たとえばボウフラを従来法で観察するとシワシワの微細構造が観察されたが、NanoSuit 法を用いて電子顕微鏡内で生きたままのボウフラを観察すると整然と並んだ蛇腹構造が観察された。従来法の電子顕微鏡観察では、その処理に時間がかかるだけでなく、処理による変形を観察していた可能性がある。NanoSuit 法で観察すれば、数分の処理で変形のほとんどない姿を観察することができる。本法は、導電性も付与できるので、NanoSuit-卓上電子顕微鏡法として利用できる。

3. Ct 値: Threshold Cycle 値の略で、反応の蛍光シグナルが Threshold Line と交差する時点のサイクル数を示す。Ct 値はターゲットの初期量に反比例するため、DNA の初期コピー数の算出に使用できる。Ct 値が小さいほど、ターゲット量は多い。