

## 医学検査のあゆみ-14

# C型肝炎ウイルスの定量測定

## Quantification of serum hepatitis C virus levels

1) 千葉大学大学院医学研究院 分子病態解析学  
2) 千葉大学医学部附属病院 検査部

さとう けんいち      いと が      さかえ      の      むら      ふみ      お  
佐藤 謙一<sup>1,2)</sup> : 糸賀 栄<sup>2)</sup> : 野村 文夫<sup>1,2)</sup>  
Kenichi SATO      Sakae ITOGA      Fumio NOMURA

### はじめに

本邦における C 型慢性肝炎患者は数百万人と推測されている。そのうち 5～20% が 20～25 年の経過で緩徐に肝硬変に進行し<sup>1,2)</sup>、さらに年率 7% で肝硬変から肝癌に進行するとされ<sup>3～5)</sup>、また、肝細胞癌患者の約 80% が C 型慢性肝炎に由来するものといわれている<sup>6)</sup>。そこで C 型慢性肝炎の治療としては、肝炎を静めることにより線維化進行を抑え、肝硬変への進展、肝癌発生を防ぐために、原因であるウイルス増殖の抑制が第一の目標となる<sup>6,7)</sup>。

現在、HCV 増殖抑制のためには interferon (INF) 療法が標準的な治療法となっている。IFN 療法において、HCV 遺伝子型が 2a あるいは 2b である場合や、血中の HCV ウイルス量が 100KIU/mL 以下であった場合にウイルス排除率が高いなど、HCV の遺伝子型や治療前のウイルス量<sup>8)</sup>、さらに治療開始後のウイルス量動態<sup>9,10)</sup> が治療効果に大きな影響を与えることが報告されており、治療効果を正確に予測するためには血中ウイルス量の定量測定が重要となる。

現在保険適応されている血中 HCV 量の測定法としては、HCV のゲノム RNA を測定する方法とコア蛋白質を抽出し免疫学的に測定する方法との二つに大別される。HCV RNA を測定する方法はさらに、ターゲット RNA 配列を PCR によって増幅し検出する方法と、ターゲット RNA 配列を分岐 DNA プローブ (branched DNA probe ; bDNA) 法と呼ばれるもの

でシグナルを増幅し検出する方法とに分けられる。

本稿では、C 型慢性肝炎の治療方針の決定や治療効果予測に重要な指標となる血中 HCV 定量検査について、検査の自動化という視点も含めて述べる。

### I. HCV 定量測定法

1989 年に血中 HCV RNA が検出され<sup>11)</sup>、HCV RNA 定量法としていくつかの測定方法が開発されてきた。当初は研究室レベルで Competitive Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (CRT-PCR) 法<sup>12)</sup> が行われていたが、操作が非常に煩雑で、施設ごとに独自のプロトコルを用いたため施設間によって定量結果や精度が大きく異なった。PCR 法を用いることなく HCV RNA を定量する bDNA 法が開発され HCV 定量法として初めて保険適応された。キット化により CRT-PCR 法に比べ簡便で安定した測定が行えるようになった。

次いで、Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) 法を原理としたアンプリコア HCV モニター (AMP-M1) 法 (ロシュ社) がキット化された。測定感度と PCR 反応効率の遺伝子型依存性を改良した第二世代のアンプリコア HCV モニター v2.0 (AMP-M2) 法が開発され、さらに RT-PCR 過程と増幅産物検出過程が自動化された専用分析装置が市販されて高感度で再現性の良い測定法となり、HCV 定量の代表的な測定法となった。専用装置は高価で、RNA 抽出には操作が煩雑な手法で行う必要があり、抽出を含めた測定には約 8 時間を要す

1) 千葉大学大学院医学研究院 分子病態解析学  
2) 千葉大学医学部附属病院 検査部  
〒260-8670 千葉市中央区亥鼻 1-8-1

1) Department of Molecular Diagnosis, Graduate School of Medicine, Chiba University  
2) Division of Laboratory Medicine, Chiba University Hospital (1-8-1 inohana, Chiba City, Chiba)

るという短所も存在する。

操作が簡便で安価な HCV 定量法が求められ、測定に RNA を利用せずに免疫学的測定法によるコア蛋白測定法が開発された。第二世代のコア抗原測定法では前処理法が非常に簡単になり、測定は前処理後、試料と試薬を汎用の全自動化学発光酵素免疫測定装置にセットするだけで測定を行うことができる。検出感度も大きく改善され、測定時間は前処理時間を含め 1 時間程度であり、検査コストも安価であり利便性が高い。

最近臨床に用いられ始めたコバス TaqMan HCV オート（ロシュ社）は、リアルタイム PCR 法を原理とし、RNA 抽出から増幅・検出まで全工程が自動化され、測定時間は 3～4 時間程度であり、測定範囲が非常に広いが、高価な専用装置が必要となる。

以下、それぞれの測定法についての詳細を述べる。

## 1. HCV RNA 測定法

### (1) 分岐 DNA プローブ法

分岐 DNA 技術により、非特異反応を起こすような不純物を含まずに一つの分子に多くの繰り返し配列を効率良く生成することができるようになった<sup>13)</sup>。分岐 DNA プローブ法は、この技術により HCV RNA を検出するプローブのシグナルを増幅させて検出感度を上げている。第一世代の bDNA プローブ-I 法<sup>14)</sup>では、遺伝子型による反応性の違いが見られ、遺伝子型 2a と 2b が実際のウイルス量に比べ過小評価される問題点があった<sup>15)</sup>。改良された bDNA プローブ-II 法では、プローブ認識部位を HCV RNA の 5' 非翻訳領域～コア領域の 25～438nt に限定し、特異的プローブ長を調整することにより遺伝子型による反応性の相違が改善された<sup>16, 17)</sup>。bDNA 法は HCV RNA 定量法として初めに保険適用された方法であり、高ウイルス量領域の定量性には優れているが、低ウイルス量の検出感度が低く、現在ではあまり用いられていない。

### (2) PCR 法

#### ①アンプリコアモニター法

PCR 法では、HCV 粒子から RNA を抽出し、ゲノム RNA の最も変異の少ない 5' 非翻訳領域 (5'-NC) をターゲット配列として、逆転写 (reverse transcription : RT) 反応により DNA とした後で PCR によって増幅し、得られた増幅産物を検出する<sup>18)</sup>。

HCV RNA 定量法として広く用いられ代表的な方法であるアンプリコア HCV モニター法<sup>19)</sup>の概要を以下に示す。はじめに WHO HCV Standard 96/790 によって値付けされた二次標準品で検定された内部定量標準 RNA (Internal quantitative standard : QS) を対象検体に加え、検体中の HCV RNA および QS にそれぞれ特異的なプライマーを用いて同時に RT-PCR を行う。次に、増幅産物を HCV RNA 検出用プローブと QS 検出用プローブで捕捉し、その量を酵素反応による発光量を吸光度として測定し、HCV RNA と QS の吸光度を比較して HCV RNA 量を算出する。

第一世代のアンプリコア HCV モニター (AMP-M1) 法では、増幅過程において二次構造形成のために、遺伝子型 2a に対する検出感度が 1a、2b に比べ劣るという問題点があった。改良されたアンプリコア HCV モニター v2.0 (AMP-M2) 法では、Dimethyl sulfoxide (DMSO) を RT-PCR 反応液中加入し、PCR の温度設定を改めることにより、二次構造形成が抑制されて PCR 効率が向上し、遺伝子型による反応性の相違が解消された<sup>20)</sup>。AMP-M2 法は、検出感度が良好で低ウイルス量領域の定量に優れているが、高ウイルス量領域においては、PCR のエンドポイント測定を行う特性上、頭打ちになってしまい<sup>20)</sup> (図 1 に自験例を示す)、HCV RNA 量に応じてオリジナル法 (測定範囲 0.5～5,000 KIU/mL) と血清検体を生理食塩水で 1/10 希釈したものを試料として用いるハイレンジ法 (測定範囲 5～5,000 KIU/mL) とを使い分ける必要がある。

INF 治療における AMP-M2 法による血中 HCV 量測定の有効性が示されている<sup>21, 22)</sup>。当院患者の INF 治療における AMP-M2 法による血中 HCV 量の動向をみた一例では (図 2)、治療経過と整合した血中 HCV 量の動態を反映した結果が示された。また、当院消化器内科における IFN 治療開始時の AMP-M2 法による HCV 量と治療効果についての検討<sup>21)</sup>では、INF 治療完了後 12 カ月間 HCV が検出されなかった群と検出された群の間に有意差が見られ (図 3)、AMP-M2 法による HCV 定量測定が治療効果予測に有効であることが示唆された。

AMP-M2 法は、認定標準品によって値付けされた QS を用いることにより測定結果の標準化がなされており、また測定感度が良好であることから

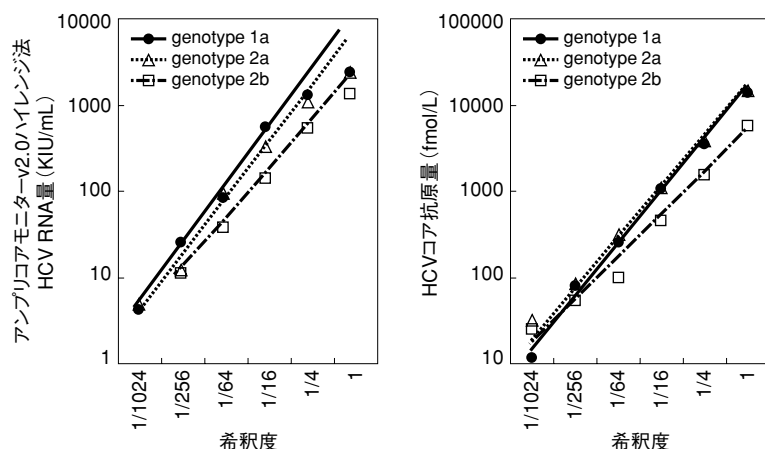


図1 アンプリコアモニター v2.0 法と HCV コア抗原法における遺伝子型別検体の希釈直線性（自験例）

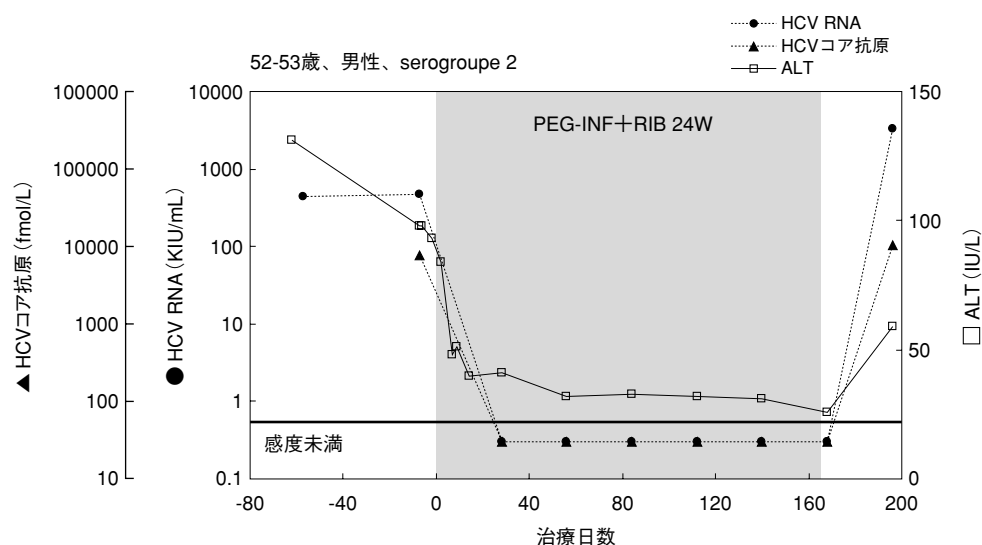


図2 PEG-IFN + リバビリン併用療法における HCV コア抗原量とアンプリコアモニター v2.0 法による HCV RNA 量の推移（自験例）

HCV RNA 定量法の代表的な方法となり広く用いられてきた。高ウイルス量領域測定不安定性、RNA 抽出操作の煩雑さ、測定時間が 8 時間程度かかる点、高価な装置が必要、高コストを要するなどの短所も存在する。

## ②コバス TaqMan HCV オート

最近、保険適応されたコバス TaqMan HCV オート (TaqMan HCV) は、検体と試薬をセットするのみで、HCV RNA の抽出から増幅・検出までの全工程が自動化されている。以下にコバス TaqMan HCV の概要を示す。はじめに、血清検体に QS を添加し HCV 粒子の溶解反応が行われる。溶出された HCV RNA と QS は洗浄され核酸抽出試料となり、ターゲット核酸と QS にそれぞれ特異的なプライマーと TaqMan プローブを含む PCR 反応試薬と混

和後、リアルタイム PCR 反応が行われる。TaqMan プローブには励起光を受け取ると蛍光を発する蛍光色素 (レポーター) とその蛍光を吸収する消光物質 (クエンチャー) で修飾されている。ターゲット用 TaqMan プローブと QS 用プローブでは波長の異なる蛍光色素で修飾されており、それぞれを識別することができる。TaqMan プローブはプライマーと共に熱変性により一本鎖となっているターゲット DNA と QS DNA にハイブリダイズするが、伸張反応時に DNA ポリメラーゼの 5'-3'エキソヌクレアーゼ活性により各プローブは加水分解されてしまい、それまで隣接していたレポーターとクエンチャーが分離し、クエンチャーの作用で消光されていたレポーターは蛍光を発する。この蛍光強度は PCR サイクルごとに測定されるが、サイクルの進行にともない

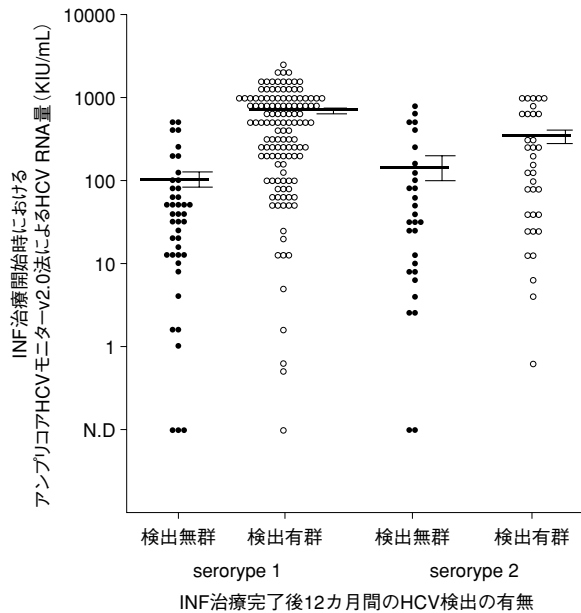


図3 INF治療完了後12カ月間ウイルスが検出されなかった群と12カ月間にウイルスが検出された群の治療開始時におけるアンプリコアHCVモニターv2.0法によるHCV RNA量の分布  
(当院消化器内科検例、文献21より改変)

TaqMan プローブの分解が指数的に進むことにより蛍光強度が強められ閾値 (Ct 値) を超えると検出できるようになる。Ct 値は検体中のターゲット核酸量が多い場合はサイクルの早期に検出され、少ない場合にはサイクルの終盤に検出される。PCR サイクルの終了後、ターゲット Ct 値と QS Ct 値の比をとり、ロットごとに提供される検量線を参照して測定値が自動算出される。QS は WHO 認定標準品によって値付けされたものであるため、測定値は他施設との互換性を持ち得る。

TaqMan HCV と AMP-M2 法との比較では有意な強い相関関係 ( $r=0.973$ ,  $p<0.001$ ) を示し<sup>23)</sup>、治療ガイドライン<sup>6)</sup>にて低・高ウイルス量の境界となる 100 KIU/mL 付近においてほぼ一対一の相関を示すことより、TaqMan HCV の測定値も同じ基準で判断できると考えられている。Pegylated interferon (PEG-INF) と ribavirin (RBV) の併用療法が用いられるようになり、遺伝子型 1b と高ウイルス量患者の第一選択となっているが<sup>6,7)</sup>、高齢の患者には副作用の問題もあり治療開始から早い時点で治療効果を正確に予測することが重要となっている。TaqMan HCV はアンプリコア法と比して高感度<sup>23)</sup>で測定範囲も非常に広い (1.2 ~ 7.8 Log IU/mL (15 ~  $6.9 \times 10^7$  IU/mL)) ため、INF 治療開始後のより詳細

なウイルス量の動態を知ることができ、治療効果の予測、治療方針の決定に対する有用性が期待できる<sup>23,24)</sup>。

TaqMan HCV の短所としては、高価な専用装置が必要であること、測定に必要な検体血清量が 1 mL と多いことである。

## 2. HCV コア蛋白質測定

b-DNA 法、PCR 法は操作が煩雑であり、高価な装置、試薬を必要とすることから、簡便な測定操作でかつコストが低い検査法が望まれ、免疫学的測定法による HCV 抗原測定系の開発が行われた<sup>25)</sup>。コア蛋白質は、HCV の RNA 結合蛋白質であり、外皮糖タンパクであるエンベロープ蛋白質に比べて変異が少ない。第一世代のコア蛋白質測定系<sup>26)</sup>では、前処理として、①血清に沈殿試薬を添加し 2 ~ 8 °C にて 1 時間静置、②遠心してウイルス粒子を沈殿させ、③分散試薬を加え 37 °C で 30 分静置、④抗体処理試薬を加え残存する HCV 抗体を失活させ、⑤中和抗体を加えたものを測定試料とする、といったステップ数の多い操作が必要であった。また、AMP-M 法に比べ感度が 2 ~ 3 桁ほど低いといった問題点があった<sup>27)</sup>。第二世代として開発されたコア抗原測定系では<sup>28,29)</sup>、前処理は検体に前処理液を添加し 56 °C で 30 分インキュベーションを行う 1 ステップの簡便な操作で済み<sup>30)</sup>、また測定感度も 100 倍程度向上した<sup>27)</sup>。測定原理としては、検体の前処理によって測定を妨害する検体中の HCV コア抗体を失活させるとともに HCV 粒子からコア蛋白質を遊離させ、コア蛋白質に特異的なモノクローナル抗体を用いたサンドイッチ法が用いられる (図 4)。

第二世代 HCV コア抗原測定法と代表的な HCV RNA 定量法である AMP-M2 法とを比較した自験例では、2 法間には有意な相関性 ( $r=0.8996$ ,  $p<0.0001$ ) が示された (図 5)。ここで AMP-M2 法はオリジナル法にて測定し、測定範囲を超えたもの (>500 KIU/mL) についてはハイレンジ法にて測定したが、HCV コア抗原の測定範囲を超えるものは存在しなかった。また直線性の検討では、AMP-M2 法では高ウイルス量で頭打ちになるのに対し、コア抗原法では良好な直線性が示された (図 1)。これらより、コア抗原法は AMP-M2 法を比較して、測定範囲内では同等の定量性を持ち、特に高ウイルス量領域において

は優れた定量性を持つことが示唆された。

当院患者において INF 治療経過と AMP-M2 法による HCV 量およびコア抗原量の動向をみた一例ではコア抗原量の動向は AMP-M2 法による HCV 量と同様に治療経過と整合した HCV の動態を反映した結果を示した (図 2)。また当院消化器内科の検討にて、24 週間の INF 治療完了後 12 カ月間 HCV が検出されなかった群と検出された群の治療開始時における HCV コア抗原量の分布は、検出されなかつ

た群が検出された群に比べ有意に低値を示した<sup>31)</sup> (図 6)。コア抗原測定による INF 治療経過におけるウイルス量のモニターや INF 治療効果予測に対する有効性については他にも報告されており<sup>27)</sup>、INF 治療のガイドライン<sup>6)</sup>には、治療法選択の際の HCV ウイルス量の基準の一つとして、従来の b-DNA 法および PCR 法による HCV RNA 量に加えて HCV 抗原量を加えられている (表 1)。

HCV コア抗原測定の特徴としては、HCV RNA

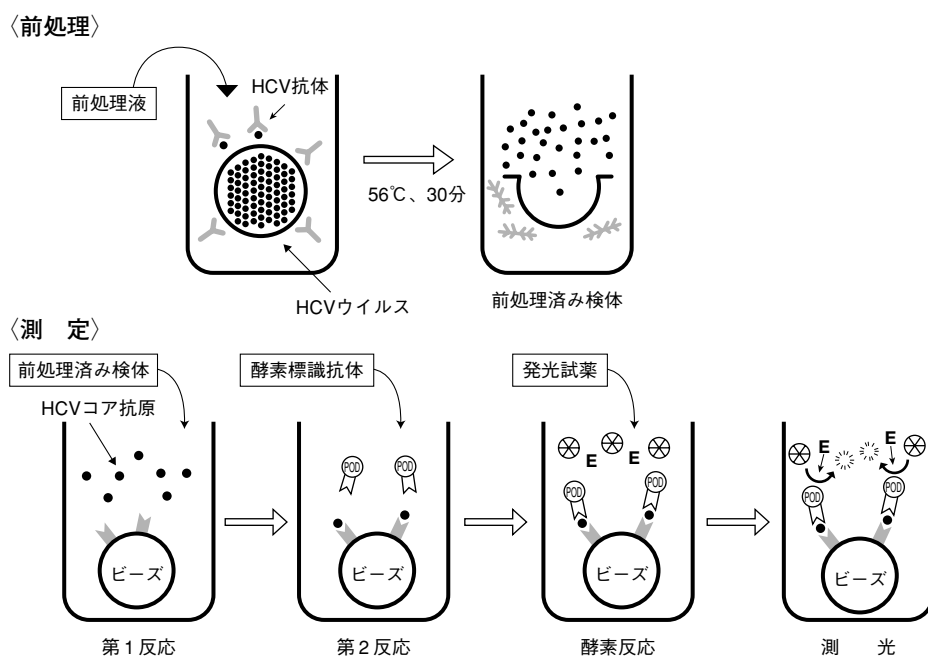


図 4 HCV コア抗原測定法の原理 (文献 30 より改変)

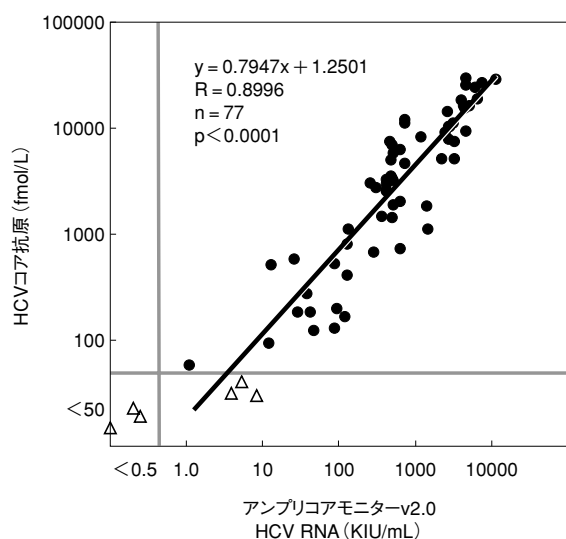


図 5 HCV コア抗原量とアンプリコアモニター v2.0 法による HCV RNA 量の相関 (自験例)

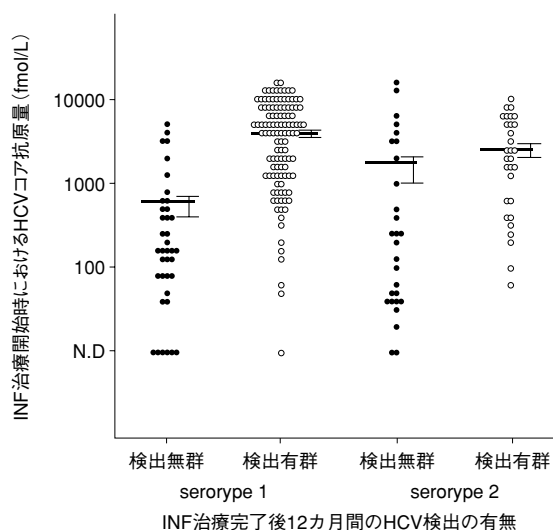


図 6 24 週間の INF 治療完了後 12 カ月間ウイルスが検出されなかった群と 12 カ月間にウイルスが検出された群の治療開始時における HCV コア抗原量の分布 (当院消化器内科検討例、文献 31 より改変)

表1 C型慢性肝炎 INF 治療初回投与ガイドライン (文献6,7より改変)

| Genotype<br>ウイルス量                       | 2a                                              | 2b | 1b                                                                                     |
|-----------------------------------------|-------------------------------------------------|----|----------------------------------------------------------------------------------------|
| 1Meq/mL以上<br>100KIU/mL以上<br>300fmol/L   | ・ Peg-IFN $\alpha$ 2b + リバビリン 24 週間             |    | ・ Peg-IFN $\alpha$ 2b + リバビリン<br>48～72 週間<br>・ Peg-IFN $\alpha$ 2a + リバビリン<br>48～72 週間 |
| 1Meq/mL未満<br>100KIU/mL未満<br>300fmol/L未満 | ・ IFN 8～24 週間<br>・ Peg-IFN $\alpha$ 2a 24～48 週間 |    | ・ IFN 24 週間<br>・ Peg-IFN $\alpha$ 2a 24～48 週間                                          |

表2 アンプリコアモニター v2.0 法、コア抗原法、コバス TaqManHCV オート法の特徴

|           | アンプリコアモニター v2.0 法                            | コア抗原法                                     | コバス TaqMan HCV オート                               |
|-----------|----------------------------------------------|-------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| 測定原理      | RT-PCR 法                                     | ELISA、CLEIA、IRMA                          | リアルタイム RT-PCR 法                                  |
| 測定対象      | HCV RNA                                      | HCV コア蛋白質                                 | HCV RNA                                          |
| 自動化       | 前処理は用手法<br>PCR と増幅産物検出過程は自動化                 | 前処理のみ用手法                                  | 全自動                                              |
| 測定時間      | 核酸抽出を含め 8 時間程度                               | 前処理を含め 60～70 分                            | 3～4 時間                                           |
| 検体量       | オリジナル法 100 $\mu$ L<br>ハイレンジ法 10 $\mu$ L      | 200 $\mu$ L                               | 1000 $\mu$ L                                     |
| 測定範囲      | オリジナル法 0.5～500KIU/mL<br>ハイレンジ法 5～5,000KIU/mL | 20～400,000fmol<br>(ルミスロット栄研 HCV 抗原(栄研化学)) | 1.2～7.8Log IU/mL<br>(15～6.9 $\times 10^7$ IU/mL) |
| 単位        | IU/mL                                        | fmol/L                                    | Log IU/mL                                        |
| コスト(保険点数) | 450 点*                                       | 120 点*                                    | 450 点*                                           |

\* : 2008 年 4 月現在

定量法に比べ操作が簡便であり、高ウイルス量測定に優れ、検査コストが安価であり、測定時間が短く診察前検査にもなり得る、検体保存の条件が HCV RNA よりゆるい、等が挙げられる。表2に、AMP-M2 法、コア抗原法および TaqMan HCV の特徴を示す。

## おわりに

INF 治療効果の予測や治療中のモニタリングの指標として重要な HCV 定量法について述べた。HCV 定量法としては AMP-M2 法が広く用いられてきたが、高感度な HCV コア抗原測定系が開発されて、短時間・簡便・安価に HCV 定量が行えるようになった。コア抗原量の INF 治療効果予測の指標としての有用性も示されており、活用の方が広がっている。また最近、RNA 抽出から増幅・検出まで RT-PCR 法のすべての工程が自動化されたコバス TaqMan HCV オートが臨床に用いられるようになった。コバス TaqMan HCV は測定範囲が非常に広く、その臨床的有用性も報告されている。一方でコバス TaqMan HCV は高価な専用装置を必要とするため、安価・簡便なコア抗原法が HCV 定量測定

における利便的な一面になると考えられる。今後症例数の蓄積により両法の使い分けが確立するものと思われる。

## 文 献

- 1) Seef LB, Hoofnagle JH. National Institutes of Health Consensus Development Conference : Management of hepatitis C : 2002. Hepatology **36** (5 suppl 1) : S1-2, 2002.
- 2) Shiratori Y, Imazeki F, Moriyama M, et al.: Histologic improvement of fibrosis in patients with hepatitis C who have sustained response to interferon therapy. Ann Intern Med **132** (7) : 517-524, 2000.
- 3) Nishiguchi S, Kuroki T, Nakatani S, et al.: Randomised trial of effects of interferon- alpha on incidence of hepatocellular carcinoma in chronic active hepatitis C with cirrhosis. Lancet **346** (8982) : 1051-1055, 1995.
- 4) Ikeda K, Saitoh S, Arase Y, et al.: Effect of interferon therapy on hepatocellular carcinogenesis in patients with chronic hepatitis type C : along-term observation study of 1,643 patients using statistical bias correction with proportional hazard analysis. Hepatology **29** (4) : 1124-30, 1999.
- 5) Yoshida H, Shiratori Y, Moriyama M, et al.: Interferon therapy reduces the risk for hepatocellular carcinoma : national surveillance program of cirrhotic and noncirrhotic patients with chronic hepatitis C in Japan. IHIT Study

- Group. Inhibition of Hepatocarcinogenesis by Interferon Therapy. *Ann Intern Med*. **131** (3) : 174-181, 1999.
- 6) 小俣政男, 吉田晴彦, 建石良介. C型慢性肝炎の治療, 厚生労働科学特別研究事業「C型肝炎の診療ガイドライン策定について」に関する研究班編, C型肝炎診療ガイドライン. 医学書院; 東京, 2007.
  - 7) 日本肝臓学会編. 慢性肝炎の治療ガイド2008. 文光堂; 東京, 2007.
  - 8) Shiratori Y, Kato N, Yokosuka O, et al.: Predictors of the efficacy of interferon therapy in chronic hepatitis C virus infection. Tokyo-Chiba Hepatitis Research Group. *Gastroenterology* **113** (2) : 558-566, 1997.
  - 9) Neumann AU, Lam NP, Dahari H, et al.: Hepatitis C viral dynamics *in vivo* and the antiviral efficacy of interferon- $\alpha$  therapy. *Science* **282** : 103-107, 1998.
  - 10) Herrmann E, Lee JH, Marinos G, et al.: Effect of ribavirin on hepatitis C viral kinetics in patients treated with pegylated interferon. *Hepatology* **37** (6) : 1351-1358, 2003.
  - 11) Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, et al.: Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* **244** : 359-362, 1989.
  - 12) Kato N, Yokosuka O, Hosoda K, et al.: Quantification of hepatitis C virus by competitive reverse transcription polymerase chain reaction : Increase of the Virus in advanced Liver disease. *Hepatology* **18** : 16-20, 1993.
  - 13) Urdea MS, Warner BD, Running JA, et al.: A comparison of non-radioisotopic hybridization assay methods using fluorescent, chemiluminescent and enzyme labeled synthetic oligodeoxyribonucleotide probes. *Nucleic Acids Res* **16** (11) : 4937-4956, 1988.
  - 14) 矢野右人, 八幡弘, 猪口薫, 他. DNAプローブ法によるHCV-RNAの定量. 肝胆膵 **25** : 931-935, 1992.
  - 15) 小林万利子, 熊田博光, 荒瀬康司, 他. HCV genotype 別に見たHCV bDNA-probe法における第一世代と第二世代の検討. 肝臓 **38** (1) : 54, 1997.
  - 16) Detmer J, Lagier R, Flynn J, et al.: Accurate quantification of hepatitis C virus (HCV) RNA from all HCV genotypes by using branched-DNA technology. *J Clin Microbiol* **34** (4) : 901-907, 1996.
  - 17) 飯野四郎, 日野邦彦, 熊田博光, 他. 改良型 branched DNA probe (bDNA probe-II) 法によるC型肝炎ウイルス(HCV) RNA 定量法の基礎的・臨床的検討. 医学と薬学. **41** (5) : 1001-1011, 1999.
  - 18) Okamoto H, Okuda S, Sugiyama Y, et al.: Detection of hepatitis C virus RNA by a two-stage polymerase chain reaction with two pairs of primers deduced from the 5'-noncoding region. *Jpn J Exp Med* **60** : 215-222, 1990.
  - 19) 玉造滋, 林邦彦, Wolfe L, 他. アンプリコア「HCVモニター」の基礎検討. 医学と薬学 **32** : 1341-1347, 1994.
  - 20) 田原和子, 出口松夫, 中野卓, 他. HCV-RNA 量測定における改良型アンプリコア HCV モニター v2.0 の評価. *JJCLA* **25** (3) : 178-183, 2000.
  - 21) Kawai S, Yokosuka O, Imazeki F, et al.: Evaluation of the Clinical Usefulness of COBAS AMPLICOR HCV MONITOR Assay (ver2.0) : Comparison With AMPLICOR HCV MONITOR Assay (ver1.0) and HCV Core Protein Level. *J Med Virol* **68** : 343-351, 2002.
  - 22) 狩野吉康, 相馬智彦, 桑田靖昭, 他. HCV RNA 量 (Cobas Amplicor Monitor version2.0) から見たC型慢性肝炎に対するインターフェロン治療効果の予測. 肝胆膵 **42** (6) : 797-805, 2001.
  - 23) 熊田博光, 豊田成司, 泉並木, et al.: HCV RNA 定量キットコバス TaqMan HCV「オート」の検討ーTaqMan HCV「オート」に関する共同研究: 中間報告ー. 医学と薬学 **58** (4) : 595-605, 2007.
  - 24) 泉明佳, 矢島尚子, 佐々木千枝, 他. C型慢性肝炎におけるコバス®TaqMan® HCV「オート」を用いたPEG-IFN+ribavirin 併用療法の治療効果予測. 医学と薬学 **59** (1) : 107-113, 2008.
  - 25) Tanaka T, Lau JY, Mizokami M, et al.: Simple fluorescent enzyme immunoassay for detection and quantification of hepatitis C viremia. *J Hepatology* **23** : 742-745, 1995.
  - 26) 安田清美, 飯野四郎. HCV コア蛋白量測定の臨床的有用性について. 医学と薬学 **41** (4) : 771-777, 1999.
  - 27) 安田清美, 飯野四郎. 高感度HCV コア蛋白質量試薬のC型慢性肝炎診断及び治療への適用. 医学と薬学 **47** (4) : 651-661, 2002.
  - 28) 須永雅彦, 糸賀栄, 野村文夫. HCV 抗原高感度測定法、HCV 郡別判定法. 総合臨床 **52** (1) : 69-76, 2003.
  - 29) 片山恵子, 熊谷順子, 小宮裕, 他. HCV コア抗原定量試薬の基礎的検討. 医学と薬学 **46** (6) : 1023-1029, 2001.
  - 30) 田中栄司, 飯島敏代, 天木登代, 他. CV コア抗原定量試薬 (CLEIA 法) の臨床的有用性. 医学と薬学 **46** (3) : 391-397, 2001.
  - 31) Yokosuka O, Kawai S, Suzuki Y, et al.: Evaluation of clinical usefulness of second-generation HCV core antigen assay : comparison with COBAS AMPLICOR HCV MONITOR assay version2.0. *Liver International* **25** : 1136-1141, 2005.