

新型コロナウイルス感染症に対する SARS-CoV-2 抗体検査試薬の検討—抗原種の違いによる特性と抗体アイソタイプの関連—

金 貞姫¹⁾ 菊地 良介¹⁾ 鈴木 敦夫¹⁾ 度會 理佳¹⁾
横山 覚¹⁾ 森瀬 昌宏²⁾ 八木 哲也³⁾ 松下 正⁴⁾

1) 名古屋大学医学部附属病院医療技術部臨床検査部門 (〒466-8560 愛知県名古屋市昭和区鶴舞町 65)
2) 名古屋大学大学院医学系研究科呼吸器内科学講座
3) 名古屋大学大学院医学系研究科臨床感染統御学
4) 名古屋大学医学部附属病院検査部・輸血部

要 旨

新型コロナウイルス感染症に対する抗体検査試薬は、SARS-CoV-2 の nucleocapsid protein (N) あるいは spike protein S1 domain (S) を抗原として用いた 2 種類に大別される。本研究では、抗 SARS-CoV-2 抗体検査について、5 社 7 種類のイムノクロマト法キットと 3 社 4 種類の自動分析装置用試薬による比較検討を行った。対象のイムノクロマト法キットとして、Kurabo 社、RayBiotech 社、Innovita Biological Technology 社、LumiQuick Diagnostics 社および Lepu Medical Technology 社のキットを使用した。自動分析装置用試薬は Abbot 社、Roche Diagnostics 社、Ortho-Clinical Diagnostics 社の測定試薬を用いた。対象試料には、COVID-19 と診断された患者 2 例の検査後残血清を使用した。その結果、N 蛋白を抗原とした抗 SARS-CoV-2 抗体検査試薬では IgG 抗体は IgM 抗体に比して早期に陽性を示し、S 蛋白を抗原とした抗 SARS-CoV-2 抗体検査試薬は IgM、IgG 抗体両方が感染早期より検出可能であった。以上より、COVID-19 のスクリーニング検査としては S 蛋白を標的とした抗 SARS-CoV-2 抗体検査試薬が有用である可能性が示唆された。

キーワード 新型コロナ感染症, 抗 SARS-CoV-2 抗体, イムノクロマト法, 自動分析装置用試薬, 血清学的検査法

I 序

新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) 感染症 (COVID-19) は、2019 年 12 月に中国武漢市で最初に報告されて以降世界各国に拡大し、2020 年 6 月時点では 213 か国で感染が報告されている。

COVID-19 の確定診断には、咽頭あるいは鼻腔のぬぐい液や喀痰を試料とし、SARS-CoV-2 のウイルス RNA を reverse transcription (RT)-polymerase chain reaction (PCR) 法などの遺伝子検査により直接証明することが必要である。しかし、これら試料の採取

には高い感染リスクが伴ううえ、遺伝子検査の実施には十分な環境整備と熟練した人材の確保が必要であること、さらに遺伝子検査自体が迅速性に欠けるなどの問題がある。したがって、今後の医療体制を構築する上ではより簡便で安全かつ高い処理能力を持った代替検査法が必要である。代替検査法の一つとして、血液中の抗 SARS-CoV-2 抗体を検出する血清学的診断法、いわゆる抗体検査が候補として挙げられている。抗 SARS-CoV-2 抗体の検出には、迅速簡易検査法であるイムノクロマト法キットや、自動分析装置での測定が可能な自動分析装置用試薬が

(2020 年 7 月 3 日受付・2020 年 7 月 23 日受理)

© 2020 Japanese Association of Medical Technologists

次々と開発されている。現在上市されている抗 SARS-CoV-2 抗体検査試薬は、SARS-CoV-2 の nucleocapsid protein (N) あるいは spike protein S1 domain (S) を抗原として用いた 2 種類に大別される。しかし、これら抗 SARS-CoV-2 抗体検査試薬については未だ十分な検証が行われておらず、その結果の解釈や臨床の有用性を評価するためのエビデンスに乏しい。

そこで今回我々は、COVID-19 と診断された患者試料を用いて、現在上市されている抗 SARS-CoV-2 抗体測定試薬の性能について比較検討を行った。

II 対象および方法

1. 対象

定量 RT-PCR 法 (RT-qPCR 法)¹⁾により確定診断のついた COVID-19 患者のうち、2020 年 3 月 1 日～2020 年 5 月 31 日の期間で当院に入院していた 2 例 (症例 1 および 2) の検査後残血清を用いた。RT-qPCR 法により COVID-19 の診断が確定した日を第 X 病日とし、経時的に得られた試料を用いて後方視的検討を行った。なお、本研究は名古屋大学医学部生命倫理委員会の承認を得て施行した (承認番号：2020-0095)。

2. 測定試薬および機器

測定試薬は、研究用試薬として販売されているイムノクロマト法キット 5 社 7 種類と自動分析装置用試薬 3 社 4 種類を用いた。イムノクロマト法キットは 1 つのデバイスで IgM、IgG 抗体の両方を検出可能なキットと IgM と IgG で別のデバイスになっているものに大別される。イムノクロマト法キットには以下のものを使用した。

- 1) SARS-CoV-2 Antibody Detection Kit (IgM) (Kurabo Industries Ltd., Japan), Lot : 2020C016-200519 (以下 : Kurabo N-IgM)
- 2) SARS-CoV-2 Antibody Detection Kit (IgG) (Kurabo Industries Ltd.), Lot : 2020B009-200518 (以下 : Kurabo N-IgG)
- 3) Novel Coronavirus (SARS-CoV-2) IgM Antibody Detection Kit (RayBiotech, Inc., Peachtree Corners, GA), Lot : 0410202954 (以下 : RayBio N-IgM)
- 4) Novel Coronavirus (SARS-CoV-2) IgG Antibody Detection Kit (RayBiotech, Inc.), Lot : 0417202953

(以下 : RayBio N-IgG)

- 5) 2019-nCoV Ab Test (Innovita Biological Technology Co., Ltd., China), Lot : 20200402 (以下 : Innovita S/N-IgM および Innovita S/N-IgG)
- 6) QuickProfile™2019-nCoV IgG/IgM Test Card (LumiQuick Diagnostics, Inc., Santa Clara, CA), Lot : 20050687 (以下 : LQ S/N-IgM および LQ S/N-IgG)
- 7) SARS-CoV-2 Antibody Test (Lepu Medical Technology, China), Lot : 20CG2520X (以下 : Lepu S-IgM および Lepu S-IgG)

一方、自動分析装置には、全自動化学発光免疫測定装置 ARCHITECT i2000SR (Abbot, Inc., Abbot Park, IL) (chemiluminescent immunoassay ; CLIA 法), 全自動電気化学発光免疫測定装置 cobas8000 (e602) (Roche Diagnostics K.K., Switzerland) (electrochemiluminescence immunoassay ; ECLIA 法), 全自動免疫生化学統合システム VITROS5600 II (Ortho-Clinical Diagnostics, Inc., NJ) (chemiluminescent enzyme immunoassay ; CLEIA 法) を使用した。これに対応した各メーカーの自動分析機用試薬は以下のものを使用した。

- 1) ARCHITECT SARS-CoV-2 antibody detection kit (Abbot, Inc., Abbot Park, IL), (以下 : ARCHITECT N-IgG 試薬, Lot : 16253FN00)
- 2) Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 (Roche Diagnostics K.K., Switzerland), (以下 : cobas N 試薬, Lot : 496298)
- 3) VITROS Immunodiagnostic Products Anti-SARS-CoV-2 IgG Reagent Pack (Ortho-Clinical Diagnostics, Inc., NJ), (以下 : VITROS S-IgG 試薬, Lot : 0160)
- 4) VITROS Immunodiagnostic Products Anti-SARS-CoV-2 Total Reagent Pack (Ortho-Clinical Diagnostics), (以下 : VITROS S-total 試薬, Lot : 0024)

これら測定試薬およびキットの特徴を **Table 1** に示した。

3. 検討項目

1) 併行精度

自動分析装置用試薬である ARCHITECT N-IgG 試薬, cobas N 試薬, VITROS S-IgG 試薬および VITROS

Table 1 Comparison of analytical instruments and performance specification for the detection of IgM and IgG antibodies against SARS-CoV-2

Manufacturer/ distributor	Product Name	Instrument	Principle	Price (JPY)/ Test amount	Cost/ test	Run time (min)	Target Antigen	Detectable Antibody
Kurabo Industries Ltd.	SARS-CoV-2 Antibody Detection Kit (IgM)	N/A	LFIA	¥25,000/10 tests	¥2,500	15	N	IgM/IgG
	SARS-CoV-2 Antibody Detection Kit (IgG)							
RayBiotech, Inc.	Novel Coronavirus (SARS- CoV-2) IgM/IgG Antibody Detection Kit	N/A	LFIA	¥50,000/20 tests	¥2,500	8–10	N	IgM/IgG
Innovita Biological Technology Co., Ltd	2019-nCoV Ab Test	N/A	LFIA	¥50,000/20 tests	¥2,500	15	S/N	IgM/IgG
Lumiquick Diagnostics, Inc.	QuickProfile™2019-nCoV IgG/IgM Test Card	N/A	LFIA	¥45,000/25 tests	¥1,800	15	S/N	IgM/IgG
Lepu Medical Technology	SARS-CoV-2 Antibody Test (colloidal gold immunochromatography)	N/A	LFIA	¥62,000/20 tests	¥3,100	15	S	IgM/IgG
Abbot, Inc.	ARCHITECT SARS-CoV-2 antibody detection kit	ARCHITECT i2000SR	CLIA	¥100,000/100 tests	¥1,000	29	N	IgG
Roche Diagnostics K.K.	Elecsys® Anti-SARS-CoV-2	cobas8000 (e602)	ECLIA	¥40,000/200 tests	¥200	18	N	Matured IgM/IgG
Ortho-Clinical Diagnostics, Inc.	VITROS Immunodiagnostic Products Anti-SARS-CoV-2 IgG Reagent Pack	VITROS 5600II	CLEIA	¥198,000/100 tests	¥1,980	48	S	IgG
	VITROS Immunodiagnostic Products Anti-SARS-CoV-2 Total Reagent Pack							IgA/IgM/IgG

N/A, not applicable; LFIA, lateral flow immunoassay; CLIA, chemiluminescent immunoassay; ECLIA, electro chemiluminescence immunoassay; CLEIA, chemiluminescent enzyme immunoassay; S, spike protein S1 domain; N, nucleocapsid protein.

S-total 試薬を用いて、同一患者由来の血清試料（低値および高値）を 10 回連続測定し、平均値、標準偏差 (standard deviation; SD) および変動係数 (coefficient of variation; CV) を算出した。

2) 陽性・陰性判定の比較および判定一致率の検討

イムノクロマト法における陽性あるいは陰性の判定はキットの添付文書に従い決定した。自動分析法における判定についても同様に添付文書に従い、カットオフ値を CLIA 法では 1.4 index, ECLIA 法は 1.0 C.O.I, そして CLEIA 法は 1.0 S/C とした。判定一致率の評価は症例 1 および症例 2 それぞれの症例ごとに実施した。イムノクロマト法における判定一致率の評価は、症例 1 では第 X 病日から第 X + 1, +3, +4, +8, +16, +29 病日, 症例 2 では第 X + 1 病日から第 X + 2, +4, +16, +39 病日の検査後残血清を用いた。一方で、自動分析法における判定一致率の評

価は、症例 1 で第 X 病日から第 X + 29 病日の間の 18 点, 症例 2 では第 X + 1 病日から第 X + 39 病日の間の 20 点の検査後残血清を使用した。判定一致の評価は、イムノクロマト法キット間と自動分析装置用試薬間でそれぞれについて行い、すべてのイムノクロマト法キットおよび自動分析装置用試薬を対象として標的とする免疫グロブリン (immunoglobulin; Ig) クラスと、陽性判定されたポイントの比較を行った。

III 結果

1. 併行精度

自動分析装置用試薬の併行精度を検討したところ、測定値は試薬ごとに異なるものの、すべての試薬で CV は 5%以下であった (Table 2)。

Table 2 Within-run precision for anti-SARS-CoV-2 antibody detection reagent in autoanalyzers

	ARCHITECT N-IgG (index)		cobas N (C.O.I)		VITROS S-IgG (S/C)		VITROS S-total (S/C)	
	L	H	L	H	L	H	L	H
Mean	2.66	9.75	1.05	76.05	10.86	12.73	216.90	419.50
SD	0.07	0.14	0.04	0.93	0.29	0.15	2.51	4.84
CV (%)	2.6	1.5	4.1	1.2	2.7	1.2	1.2	1.2

SD, standard deviation; CV, coefficient of variation; L, Low; H, High; C.O.I, cutoff index; S/C, Signal for test sample/Signal at Cutoff.

2. 陽性・陰性判定の比較および判定一致率

各キットおよび試薬による抗 SARS-CoV-2 抗体の測定結果を **Table 3** に示した。

1) イムノクロマト法キット間における比較

症例 1 (**Table 3A**) では、LQ S/N-IgG, Lepu S-IgM および Lepu S-IgG では第 X 病日から陽性を示した。また、Kurabo N-IgG は第 X+1 病日より陽性を示した。Kurabo N-IgM, RayBio N-IgG, Innovita S/N-IgM および IgG は第 X+3 病日から陽性の判定となった。一方で、RayBio N-IgM では第 X+4 病日および第 X+8 病日で一旦陽性を示したが第 X+16 病日からは陰性となった。LQ S-IgM は全ての点で陰性であった。

症例 2 (**Table 3B**) では、Kurabo N-IgG, Innovita S/N-IgM および IgG, LQ S/N-IgG, Lepu S-IgM および IgG が第 X+1 病日より陽性を示した。Kurabo N-IgM および RayBio N-IgG は第 X+2 病日より陽性判定となった。RayBio N-IgM は第 X+2 病日と第 X+4 病日で一旦陽性を示したが、第 X+16 病日には陰性となった。LQ S/N-IgM は全ての点で陰性であった。

2) 自動分析法 (試薬) における比較

症例 1 (**Table 3A**) では、ARCHITECT N-IgG 試薬 および VITROS S-total 試薬が第 X 病日から陽性判定を示した。一方、cobas N 試薬と VITROS S-IgG 試薬は第 X+1 病日より陽性となった。その後、観察期間である第 X+29 病日まで、これら全ての試薬は陽性判定を示した。

症例 2 (**Table 3B**) では、ARCHITECT N-IgG 試薬, cobas N 試薬, そして VITROS S-total 試薬が第 X+1 病日から陽性を示した。VITROS S-IgG 試薬は第 X+2 病日から陽性となり、すべての試薬で観察期間である第 X+39 病日まで陽性は継続していた。

3) 標的 Ig クラスと検出ポイントの比較

抗 SARS-CoV-2 IgM 抗体単独を標的とした検査法 (イムノクロマト法のみ) では、症例 1 の第 X 病日における検出率は 1/5, 症例 2 の第 X+1 病日にお

ける検出率は 2/5 であった。症例 1 では第 X+3 病日に 3/5 で陽性となり、続いて第 X+4 病日に 4/5 で陽性を示した。症例 2 では第 X+2 病日に 4/5 で陽性となった。

一方で、抗 SARS-CoV-2 IgG 抗体単独あるいは抗 SARS-CoV-2 IgG 抗体を含む抗 SARS-CoV-2 抗体を標的としたキットあるいは試薬では、症例 1 の第 X 病日で 4/9, 症例 2 の第 X+1 病日で 7/9 が陽性を示した。症例 1 では第 X+1 病日に 7/9, 第 X+3 病日にすべての検査法で陽性判定となった。また、症例 2 では、第 X+2 病日にはすべての検査法で陽性を示した。

IV 考察

2020 年 6 月時点で入手可能な抗 SARS-CoV2 抗体検査試薬には、大きく分けて point of care testing (POCT) として広く利用可能なイムノクロマト法キットと、自動分析装置による自動分析法とがある。

イムノクロマト法は、肉眼的に結果判定を行うため、専用の測定機器が不要である点や迅速性や簡便性に優れている点が利点として挙げられた。一方で、明瞭なテストラインが得られない場合の判定誤差は一つの課題であった。実際に、今回の検討結果においても同じ試料を用いた際の陽性ラインの明瞭度はデバイスにより異なっていた。**Figure 1** に示すように、RayBio N-IgM や Innovita S/N-IgM, Innovita S/N-IgG の陽性ラインは写真ではほとんど同定できない程度であり複数人での判定を要した。これに対し、自動分析法での測定は数値化が可能であり、客観性に優れていることが特徴であった。また今回検討した自動分析機用試薬は、CV 5%以下と良好な再現性を示しており、多数の検体の処理にも優れていると考えられた。また、1 検体あたりのコストとしてはイムノクロマト法ではどのキットも横並びの価格であり、自動分析機用試薬は試薬のみの価格であれば

Table 3 Comparison of the test results for anti-SARS-CoV-2 antibody detection kit/reagent in patients diagnosed with COVID-19

(A) Case 1

Days	RT-qPCR	Lateral flow immunoassay										Autoanalyzer							
		Kurabo N		RayBio N		Innovita S/N		LQ S/N		Lepu S		ARCHITECT N-IgG N		cobas N N		VITROS S-IgG S		VITROS S-total S	
		IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	index	decision	C.O.I	decision	S/C	decision	S/C	decision
X	POS	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	POS	POS	POS	1.74	POS	0.634	NEG	0.74	NEG	7.32	POS
X + 1	N/A	NEG	POS	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	POS	POS	POS	2.68	POS	1.09	POS	2.08	POS	29.3	POS
X + 3	N/A	POS	POS	NEG	POS	POS	POS	NEG	POS	POS	POS	7.10	POS	8.56	POS	9.48	POS	195	POS
X + 4	N/A	POS	POS	POS	POS	POS	POS	NEG	POS	POS	POS	7.86	POS	15.41	POS	10.4	POS	249	POS
X + 8	POS	POS	POS	POS	POS	POS	POS	NEG	POS	POS	POS	8.37	POS	23.54	POS	11.1	POS	253	POS
X + 9	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	8.63	POS	25.43	POS	10.9	POS	251	POS
X + 11	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	8.59	POS	26.24	POS	11.0	POS	263	POS
X + 13	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	8.26	POS	28.48	POS	11.0	POS	290	POS
X + 14	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	8.08	POS	28.44	POS	11.2	POS	324	POS
X + 15	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	8.07	POS	29.13	POS	10.7	POS	400	POS
X + 16	POS	POS	POS	NEG	POS	POS	POS	NEG	POS	POS	POS	8.04	POS	30.86	POS	11.4	POS	339	POS
X + 17	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	7.88	POS	30.9	POS	11.2	POS	327	POS
X + 18	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	7.82	POS	32.15	POS	11.6	POS	419	POS
X + 21	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	7.56	POS	34.92	POS	11.7	POS	398	POS
X + 23	POS	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	7.61	POS	36.81	POS	11.8	POS	425	POS
X + 25	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	7.58	POS	37.99	POS	11.4	POS	408	POS
X + 26	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	7.29	POS	38.54	POS	11.5	POS	403	POS
X + 29	POS	POS	POS	NEG	POS	POS	POS	NEG	POS	POS	POS	7.24	POS	42.17	POS	11.7	POS	411	POS

(B) Case 2

Days	RT-qPCR	Lateral flow immunoassay										Autoanalyzer							
		Kurabo N		RayBio N		Innovita S/N		LQ S/N		Lepu S		ARCHITECT N-IgG N		cobas N N		VITROS S-IgG S		VITROS S-total S	
		IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	index	decision	C.O.I	decision	S/C	decision	S/C	decision
X + 1	POS	NEG	POS	NEG	NEG	POS	POS	NEG	POS	POS	POS	4.06	POS	1.05	POS	0.60	NEG	12.5	POS
X + 2	N/A	POS	POS	POS	POS	POS	POS	NEG	POS	POS	POS	7.96	POS	30.11	POS	6.73	POS	97.5	POS
X + 4	N/A	POS	POS	POS	POS	POS	POS	NEG	POS	POS	POS	8.44	POS	48.29	POS	6.99	POS	104	POS
X + 6	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	8.60	POS	53.12	POS	8.88	POS	156	POS
X + 7	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	8.96	POS	55.96	POS	9.91	POS	210	POS
X + 9	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	9.11	POS	61.85	POS	11.2	POS	280	POS
X + 11	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	9.25	POS	63.06	POS	11.7	POS	299	POS
X + 12	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	9.25	POS	63.64	POS	11.8	POS	337	POS
X + 13	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	9.47	POS	64.96	POS	11.6	POS	405	POS
X + 14	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	9.59	POS	66.33	POS	12.4	POS	339	POS
X + 15	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	9.48	POS	67.06	POS	12.5	POS	328	POS
X + 16	N/A	POS	POS	NEG	POS	POS	POS	NEG	POS	POS	POS	9.25	POS	72.84	POS	12.5	POS	371	POS
X + 18	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	9.37	POS	76.50	POS	12.5	POS	400	POS
X + 20	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	9.60	POS	75.40	POS	12.5	POS	426	POS
X + 21	NEG	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	9.29	POS	74.52	POS	12.5	POS	422	POS
X + 22	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	9.57	POS	71.89	POS	12.6	POS	454	POS
X + 24	NEG	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	9.98	POS	77.09	POS	12.7	POS	436	POS
X + 27	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	9.83	POS	85.49	POS	13.1	POS	419	POS
X + 35	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	9.90	POS	94.49	POS	12.9	POS	614	POS
X + 39	N/A	POS	POS	NEG	POS	POS	POS	NEG	POS	POS	POS	9.99	POS	89.25	POS	12.8	POS	703	POS

RT-qPCR, reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction; S, spike protein S1 domain; N, nucleocapsid protein; NEG, negative; POS, positive; N/A, not assessment; C.O.I, cutoff index; S/C, Signal for test sample/Signal at Cutoff.

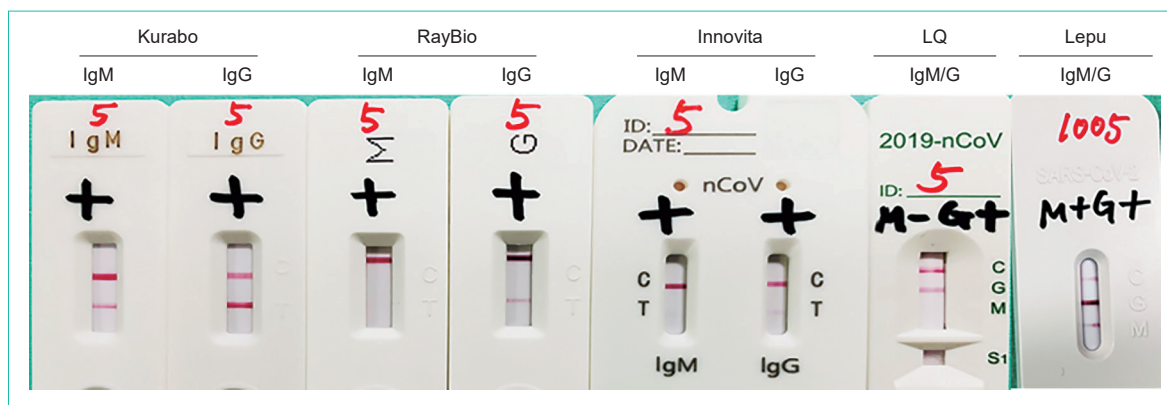


Figure 1 Comparison of the lateral flow immunoassay results for anti-SARS-CoV-2 antibody
Patient's sera (Case 1) on day X + 8 was showed for lateral flow immunoassay.

イムノクロマト法キットと同程度あるいはやや安価であった。特に、cobas N 試薬は試薬のみであれば1検体あたりのランニングコストが最も安価であった。一方で、現在上市されている各検査試薬が標的としている抗体クラスは多くがIgMとIgGであり、検出抗体反応抗原種として、N蛋白あるいはS蛋白が使用されている。新型コロナウイルス感染症の補助的診断法として血清学的診断法が有用となることが期待されているが、抗SARS-CoV-2抗体検査が感染の早期診断あるいは既往歴の診断どちらに有用であるかといった、血清学的診断の位置づけと臨床的意義に対する見解は明らかでない。

N蛋白はウイルスゲノムRNAを含む核酸・蛋白質複合体であり、ウイルスRNAの複製などに関与している。これに対し、S蛋白はSARS-CoV-2構造における最外部、すなわちnucleocapsidを包むエンベロープに埋め込まれるように存在し、細胞内へ侵入する上で重要な働きを担っている。

今回我々が検討した2症例では、N蛋白を抗原とした抗SARS-CoV-2抗体検査試薬は、IgM抗体はいずれもIgG抗体と同時期あるいは遅れて陽性となっており、早期診断を目的とした標的抗体としては不適と考えられた。これは、IgM抗体検出時期に関する、これまでの報告を支持する結果であった^{2),3)}。さらに、cobas N 試薬は、症例2の第X+1病日で陽性判定となったものの、cutoff index (C.O.I値)は1.05と極めて低い値であった。これは併行精度の検討結果 (SD: 0.04, CV: 4.1%) から、繰り返し測定を行うと何回かは陰性結果が得られる可能性があることを示しており、この結果からもN-IgM/IgG抗体を用いた早期検出感度が低い可能性が示唆された。一方、

cobas N 試薬では症例2において、第X+1病日から観察期間のX+39日までC.O.I値の顕著な増加を認め、全観察期間において抗体価の低下は認められなかった。今後、N-IgM/IgG抗体価の上昇と重症度との関連について詳細な解析が必要ではあるが、N蛋白は高い免疫活性を有し感染時に豊富に発現していることより^{4),5)}、N-IgM/IgG抗体価の上昇は重症度に関与している可能性が考えられる。実際に今回検討した症例は、いずれにおいても人工呼吸管理が必要であった症例であり、特に症例2は呼吸状態の悪化を認めveno-venous extracorporeal membrane oxygenation (V-V ECMO)による管理を要した重症例であった。

これに対し、Lepu Medical Technology社のイムノクロマト法キットなどのS蛋白を抗原とした抗SARS-CoV-2抗体検査試薬は、IgM抗体、IgG抗体両方が来院時より検出可能であった。これまでに、S抗原による抗体産生の方がN抗原による抗体産生より早い可能性が指摘されている⁹⁾。また、VITROS S-total 試薬ではVITROS S-IgG試薬に比し、抗体価の顕著な上昇が認められた。VITROS S-total 試薬が標的としている抗体にはIgGの他に、IgM、IgAが含まれていることから、VITROS S-total 試薬での抗体価の顕著な上昇は、感染早期のIgM、IgA抗体価の上昇をより鋭敏に検出していることに起因していると考えられた。つまり、早期診断を目的とした標的抗体としては、S蛋白を標的とした抗SARS-CoV-2抗体の検出が有用である可能性が示唆できる。しかし、今回の我々の知見は限られた症例数であること、感染から発症までの期間を追跡できていないことから、観察期間以前のN蛋白とS蛋白を標的とした抗

SARS-CoV-2 抗体の推移を検証できていない欠点がある。さらに、本研究では S 蛋白に対する抗 SARS-CoV-2 抗体が早期診断の一助となる可能性を示唆したものの、S 蛋白は高い変異原性をもつことが報告されている。米ロスアラモス国立研究所からの査読前論文では (<https://doi.org/10.1101/2020.04.29.069054>), 世界中の COVID-19 感染症患者 6,346 人から採取された新型コロナウイルスのゲノム情報解析結果から、これまでに 14 種類の S 蛋白における変異を同定したと報告している。これら全ての変異株に対して、S 蛋白に対する抗 SARS-CoV-2 抗体の検出が有用であるかは検証する必要がある。今後、より多くの症例を対象とした大規模なコホートや疫学調査により S 蛋白を標的とした抗 SARS-CoV-2 抗体検出の意義が明らかになることを期待したい。

一方、今回の 2 症例では抗 SARS-CoV-2 IgG 抗体試薬における ARCHITECT N-IgG 試薬と VITROS S-IgG 試薬の比較では、ARCHITECT N-IgG 試薬のほうが早期に陽性となり、前述の考察とは異なる結果となった。しかしこの違いは ARCHITECT N-IgG 試薬と VITROS S-IgG 試薬の専用試薬の検出感度の違いによるものであると推察されるが、詳細について明らかにすることはできなかった。

今回我々の検討から、抗 SARS-CoV-2 抗体は抗原種の違いと抗体アイソタイプごとに異なる反応性を示すことが示唆された。今回の 2 症例における検討結果より、S 蛋白を抗原とした Lepu Medical Technology 社のイムノクロマト法キットは、今回用いた測定試薬の中で最も早期に抗 SARS-CoV-2 抗体を検出できる可能性が示唆された。さらに、VITROS S-total 試薬ならびに ARCHITECT N-IgG 試薬においても、Lepu Medical Technology 社のイムノクロマト法キットと同様に最も早期に陽性となり、一度に多数の患者についてスクリーニングを行えたことは、自動分析装置を用いた自動分析法の長所でもあった。

また、自動分析法では、測定原理の違いがあるものの B/F 分離を行うことで非特異反応を軽減することが可能であり、イムノクロマト法と比して偽陽性

を低減することが可能であると考えられる。Roche 社により公開されている情報では cobas 専用試薬の非特異反応発生率は 0.2%未満とされている。

今回我々は、上市されている複数測定試薬を用い、同一患者における抗 SARS-CoV-2 抗体の推移をおよそ 1 ヶ月間に渡って検証した。本研究で観察された抗原種の違いと抗体アイソタイプごとの陽性時期や陽性率を鑑みた場合、N 蛋白を標的とした抗 SARS-CoV-2 抗体の検出は、疫学調査や無症候性キャリアの把握、既往感染、重症度評価に有用である可能性が考えられた。そして、スクリーニング検査としては S 蛋白を抗原とした抗 SARS-CoV-2 抗体の検出が COVID-19 の早期診断に有用である可能性が示唆された。

以上より、医療現場における COVID-19 に対するスクリーニング検査としては感染の拡散防止、早期発見、早期治療の観点から、S 蛋白を抗原としたイムノクロマト法キットと自動分析法（試薬）が有用であると考えられた。

V 結語

COVID-19 のスクリーニング検査としては S 蛋白を標的とした抗 SARS-CoV-2 抗体検査試薬が有用である可能性が示唆された。

文献

- 1) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル 2019-nCoV Ver. 2.9.1. <https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/2019-nCoV20200319.pdf> (2020 年 7 月 17 日アクセス)
- 2) 国立感染症研究所：迅速簡易検出法（イムノクロマト法）による血中抗 SARS-CoV-2 抗体の評価. <https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019ncov/9520-covid19> (2020 年 6 月 28 日アクセス)
- 3) Long QX *et al.*: “Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19,” *Nat Med*, 2020; 26: 845–848.
- 4) 田口 文広：「コロナウイルスの細胞侵入機構：病原性発現との関連」, *ウイルス*, 2006; 56: 165–172.
- 5) Liu W *et al.*: “Evaluation of nucleocapsid and spike protein-based enzyme-linked immunosorbent assays for detecting antibodies against SARS-CoV-2,” *J Clin Microbiol*, 2020; 58: e00461-20.

本論文に関連し、開示すべき COI 状態にある企業等はありません。

Original Article

Comparative study of anti-SARS-CoV-2 antibody testing: Relationship between target antigen and immunoglobulin isotype

Jeong Hui KIM¹⁾ Ryosuke KIKUCHI¹⁾ Atsuo SUZUKI¹⁾ Rika WATARAI¹⁾
Satoru YOKOYAMA¹⁾ Masahiro MORISE²⁾ Tetsuya YAGI³⁾ Tadashi MATSUSHITA⁴⁾

1) Department of Medical Technique, Nagoya University Hospital (65, Tsurumai-cho, Showa-ku, Nagoya, Aichi 466-8560, Japan)

2) Department of Respiratory Medicine, Nagoya University Graduate School of Medicine

3) Department of Infectious Diseases, Nagoya University Graduate School of Medicine

4) Department of Clinical Laboratory and Transfusion Medicine, Nagoya University Hospital

Summary

As the novel coronavirus disease (COVID-19) pandemic evolves, anti-SARS-CoV-2 antibody (Ab) testing has emerged as an additional or alternative tool for COVID-19 diagnosis. The two antigens used in serological test are the nucleocapsid protein (N) and the spike protein S1 domain (S). In this study, we aimed to validate the performance of seven types of commercial lateral flow immunoassay (LFIA) kits and four types of antibody detection reagents using autoanalyzers as serological testing for COVID-19. Seven types of LFIA kits were purchased from five companies, Kurabo, RayBiotech, Innovita Biological Technology, LumiQuick Diagnostics, and Lepu Medical Technology. Four types of antibody detection reagents were obtained from three companies, Abbot, Roche Diagnostics, and Ortho-Clinical Diagnostics. We tested sequential sera from two patients diagnosed as having COVID-19 by reverse transcription (RT)-quantitative polymerase chain reaction (qPCR). The IgG Ab against the SARS-CoV-2 N protein was detected earlier than IgM Ab, whereas IgM and IgG Ab against the SARS-CoV-2 S protein were detectable from the early stage of infection. These results suggest that S-based Ab detection has a potential for the early detection of SARS-CoV-2 in hospitals, clinics, and test laboratories.

Key words: COVID-19, anti-SARS-CoV-2 antibody, lateral flow immunoassay, antibody detection reagent, serological method

(Received: July 3, 2020; Accepted: July 23, 2020)