

## 小児生活習慣病健診受診者 3,774 例を対象とした 肝炎ウイルス感染状況及び、B 型肝炎ウイルス検査測定系の比較

研究代表者：田中 純子<sup>1)</sup>

研究分担者：小山 富子<sup>1)</sup>

研究協力者：高橋 文枝<sup>2)</sup>、片山 恵子<sup>1)</sup>、山本 周子<sup>1)</sup>、永島 慎太郎<sup>1)</sup>、山下 真未<sup>1)</sup>

1) 広島大学 大学院医歯薬保健学研究科 疫学・疾病制御学

2) 公益財団法人岩手県予防医学協会 医療技術部臨床検査課

### 研究要旨

2016年10月からHBV水平感染予防のためにWHO基準に沿ったuniversal vaccination（生後1年以内にHBワクチンを3回接種）が開始された。1986年から実施されているHBV母子感染予防対策の効果の再評価とともに、universal vaccination導入前の小児におけるHBV感染状況を把握すること、及びB型肝炎ウイルス検査試薬間の標準化を目的として本研究を行った。

昨年度、小児3,774例を対象として、上市されている3社8試薬（HBs抗原：3試薬、HBs抗体：3試薬、HBc抗体：2試薬）による測定の結果、小児におけるHBs抗原陽性率は非常に低いことを報告した。

また、測定結果を検討し、HBs抗体試薬の原料ロットの見直し、HBs抗原試薬の非特異反応の検出を経て、試薬の標準化が行われたことを報告した。

今年度は新たに1社（アボット ジャパン株式会社）3試薬（HBs抗原、HBs抗体、HBc抗体）による測定を行った。試薬間で一致した結果から判定した小児におけるHBs抗原陽性率は0.00%、HBs抗体陽性率は0.56%、HBc抗体陽性率は0.027%と極めて低率であることが確認できた。

HBs抗原、HBs抗体、HBc抗体の試薬間における一致率はいずれも99%以上を示した。一方、成人とは異なる小児特有の抗体反応がある可能性が示唆された。

### A. 研究目的

HBV水平感染予防のためにWHO基準に沿ったuniversal vaccination（生後1年以内にHBワクチンを3回接種）が2016年10月より開始された。今後、我が国のHBV感染状況が変化することが予想され、現在の小児におけるHBV感染状況を確認しておく必要がある。1986年から実施されているHBV母子感染予防対策の効果の再評価とともに、universal vaccination導入前の小児のHBV感染状況を把握することを目的として本研究を行った。また、B型肝炎ウイルス検査各種測定系の比較評価を行った。

今年度は新たに1社（アボット ジャパン株式会社）3試薬（HBs抗原、HBs抗体、HBc抗体）による測定

を行い、昨年度報告の結果とあわせてB型肝炎ウイルス検査各種測定系の比較評価をしたので報告する。

### B. 対象と方法

【対象】2016年5月～2016年10月の期間に岩手県予防医学協会が行った小児生活習慣病予防健診を受診した小学校4年生3,774名の保存血清のうち追加測定が可能であった3,753例を対象とした。

【方法】保存血清を用いてアボット ジャパン株式会社製の肝炎関連マーカー3試薬の追加測定を行い、昨年度報告した3社8試薬の測定結果と合わせて比較評価をした。

### ○HBs 抗原

CLIA 法：B 型肝炎ウイルス表面抗原キット

HBsAgQT・アボット（アボット ジャパン株式会社）

CLEIA 法：ルミパルスプレスト®HBsAg-HQ（富士レビオ株式会社）

CLEIA 法：HISCL™HBsAg（シスメックス株式会社）

凝集法：マイセル II HBsAg（株式会社特殊免疫研究所）

### ○HBs 抗体

CLIA 法：B 型肝炎ウイルス表面抗体キットオーサブ・アボット（アボット ジャパン株式会社）

CLEIA 法：ルミパルスプレスト®HBsAb-N（富士レビオ株式会社）

CLEIA 法：HISCL™HBsAb（シスメックス株式会社）

凝集法：マイセル II anti-HBs（株式会社特殊免疫研究所）

### ○HBc 抗体

CLIA 法：B 型肝炎ウイルスコア抗体キット HBc・アボット（アボット ジャパン株式会社）

CLEIA 法：ルミパルスプレスト®HBcAb-III（富士レビオ株式会社）

CLEIA 法：HISCL™HBcAb（シスメックス株式会社）

4 社 11 試薬の測定法と陽性カットオフ値を表 1 に示した。

HBs 抗体測定試薬である B 型肝炎ウイルス表面抗体キットオーサブ・アボットの陽性カットオフ値が示されていないが、添付文書によると、「【性能】感度および特異度の検討では感染防御抗体能の目安である $\geq 10.00\text{mIU/ml}$ を陽性、 $< 10.00\text{mIU/ml}$ を陰性とした。」と記載されていることに基づき、 $\geq 10.00\text{mIU/ml}$ を陽性として陽性率を算出した。

【倫理的配慮】 この研究は広島大学疫学倫理審査委員会の承認を得、さらに各共同研究施設において倫理審査を行った。（第疫-E-456-1 号）

## C. 結果

### 1. HBs 抗原陽性率

解析対象検体 3,753 例について B 型肝炎ウイルス表面抗原キット HBsAgQT・アボットにより測定したところ、HBs 抗原「陽性」と判定された検体は 1 例（0.027%）であった。試薬別に見た HBsAg 陽性率を図 1 に示した。

HBsAgQT・アボットによる「陽性」判定の 1 例はルミパルスプレスト®HBsAg-HQ による「陽性」の 1 例、HISCL™HBsAg による「陽性」の 1 例とも異なる検体であった。HBs 抗原測定の乖離例 3 例とその肝炎関連マーカー測定結果を表 2 に示した。

HBs 抗原「陽性」と判定された 3 例は、3 例ともに HBc 抗体が「陰性」であった。またルミパルスプレスト®HBsAg-HQ 「陽性」例、HISCL™HBsAg 「陽性」例の HBV-DNA は「陰性」であった。HBsAgQT・アボット「陽性」例は、検体量不足のため HBs 抗原の再測定並びに HBV-DNA の測定はできなかった。

HBs 抗原が 4 試薬ともに「陰性」と判定されたのは 3,750 例であり、一致率は 99.92%（3,750/3,753）であった。

### 2. HBs 抗体陽性率

解析対象検体 3,753 例について B 型肝炎ウイルス表面抗体キットオーサブ・アボットにより測定したところ、HBs 抗体「陽性」と判定された検体は 25 例（0.66%）であった。

各試薬の HBs 抗体陽性率は、ルミパルスプレスト®HBsAb-N が 0.77%（29/3,753）、HISCL™HBsAb が 0.77%（29/3,753）、マイセル II anti-HBs が 0.66%（25/3,753）であった（図 2）。

HBs 抗体試薬別に見た測定結果を表 3 に示した。HBs 抗体が 4 試薬ともに「陽性」と判定されたのは 21 例で、14 例に乖離が認められた。

HBs 抗体が 4 試薬ともに「陽性」と判定されたのは 21 例、HBs 抗体が 4 試薬ともに「陰性」と判定されたのは 3,718 例で、一致率は 99.63%（3,739/3,753）であった。

### 3. HBc 抗体陽性率

解析対象検体 3,753 例について B 型肝炎ウイルスコア抗体キット HBc・アボットにより測定したところ、HBc 抗体「陽性」と判定された検体は 2 例（0.053%）であった。

各試薬の HBc 抗体陽性率は、ルミパルスプレスト®HBcAb-III が 0.35%（13/3,753）、HISCL™HBcAb が 0.43%（16/3,753）であった（図 3）。

HBc 抗体試薬別に見た測定結果を表 4 に示し

た。HBc 抗体が 3 試薬ともに「陽性」と判定されたのは 1 例で、28 例に乖離を認めた。HBc 抗体が 3 試薬ともに「陽性」と判定された 1 例は、HBs 抗原が 4 試薬すべて「陰性」、HBs 抗体が 4 試薬すべて「陽性」で、HBV-DNA は「陰性」であった。

HBc 抗体が 3 試薬ともに「陽性」と判定されたのは 1 例、HBc 抗体が 3 試薬ともに「陰性」と判定されたのは 3,724 例であり、一致率は 99.25% (3,725/3,753) であった。

#### D. 考察

昨年度、小児 3,774 例を対象として B 型肝炎ウイルス検査測定系 3 社 8 試薬 (HBs 抗原：3 試薬、HBs 抗体：3 試薬、HBc 抗体：2 試薬) の測定を行った。

今年度は追加測定が可能であった 3,753 例を対象として、新たに 1 社 (アボット ジャパン株式会社) 3 試薬 (HBs 抗原、HBs 抗体、HBc 抗体) による測定を行った。

新たに HBs 抗原「陽性」が 1 例検出され、HBs 抗原陽性例は 3 例となったが、3 例ともに HBc 抗体は「陰性」であった。また、試薬間に乖離が見られ、4 試薬ともに HBs 抗原「陽性」と判定された検体は 0 例であった。

アボット社 HBs 抗体陽性例は 25 例 (0.67%) で、うち 4 試薬ともに「陽性」を示した検体は 21 例 (0.56%) で 4 例の乖離を認めた。

アボット社 HBc 抗体陽性例は 2 例 (0.053%) で、他 2 社の陽性率に比べ低率であった。内 1 例は 3 試薬ともに「陽性」を示し、乖離例は 1 例であった。

4 試薬による小児の HBs 抗原陽性率は 0.0%~0.27%、HBs 抗体陽性率は 0.67%~0.77%、3 試薬による HBc 抗体陽性率は 0.053%~0.42%と非常に低い値を示した。

また、上市されている試薬間における一致率は 5 回の評価ワーキングを経て、いずれも 99%以上を示したことから、上市されている試薬が標準化されたものと考えられた。

一方、HBc 抗体の試薬間一致陽性例は、小児検体 3,753 例のうち 1 例に対し乖離例が 28 例であったことから、小児特有の抗体反応があることが示唆された。

#### E. 結論

現在の小児の HBV 感染状況を把握することを目的として本研究を行った。昨年度の B 型肝炎ウイルス検査測定系 3 社 8 試薬 (HBs 抗原：3 試薬、HBs 抗体：3 試薬、HBc 抗体：2 試薬) の測定に加えて、今年度は 1 社 3 試薬 (HBs 抗原、HBs 抗体、HBc 抗体) による測定を行った。

試薬間で一致した結果から判定した小児における HBs 抗原陽性率は 0.00%、HBs 抗体陽性率は 0.56%、HBc 抗体陽性率は 0.027%であった。また、成人とは異なる小児特有の抗体反応がある可能性が示唆された。

#### F. 健康危険情報

特記すべきことなし

#### G. 研究発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1 HBV マーカー測定法と陽性カットオフ値

	マイセル (特免)	ルミパルス プレスト (富士レビオ)	HISCL (シスメックス)	アポット (アポット)
HBsAg	凝集 (R-PHA) 法 : 半定量 陽性 : 2 <sup>2</sup> 以上	CLEIA法 : 定量【HQ】 陽性 ≥ 0.005IU/ml	CLEIA法 : 定量 陽性 ≥ 0.03IU/ml	CLIA法 : 定量 【QT】 陽性 ≥ 0.05IU/ml
HBsAb	凝集 (PHA) 法 : 半定量 陽性 : 2 <sup>2</sup> 以上 (±) : 2の1.5乗	CLEIA法 : 定性 陽性 ≥ 10 mIU/ml	CLEIA法 : 定量 陽性 ≥ 5.0mIU/ml	CLIA法 : 定量 カットオフ値なし 測定下限 : 2.5 mIU/ml
HBcAb		CLEIA法 : 定性 陽性 ≥ C.O.1.0	CLEIA法 : 定性 陽性 ≥ C.O.1.0	CLIA法 : 定性 陽性 ≥ S/CO 1.0

表 2 【HBsAg】乖離例 3 例

検査 番号	マイセル 凝集法		ルミパルスプレスト CLEIA法【HQ】		HISCL CLEIA法		アポット CLIA法【QT】		マイセル	ルミパ ルスプ レスト	HISCL	アポ ット	ルミパ ルスプ レスト	HISCL	アポ ット	Real- time PCR	Nested PCR		
	HBs Ag R-PHA	HBs Ag R-PHA 力価	HBsAg- HQ (IU/ml)	HBs Ag 判定	HBs Ag (IU/ml)	HBs Ag 判定	HBsAg -QT (IU/ml)	HBs Ag 判定	HBs抗体				HBc抗体			HBV DNA			
214	-		0	陰性	0	陰性	0.66	陽性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	検体量 不足	検体量 不足
904	-		0.001	陰性	0.06	陽性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
2826	-		0.222	陽性	0	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性

表 3 【HBsAb】試薬別に見た測定結果

マイセル	ルミパルスプレスト	HISCL	アポット	検体数
-	-	-	-	3,718
-	-	-	+	1
-	-	+	-	2
-	-	+	+	1
-	+	-	-	3
-	+	-	+	0
-	+	+	-	2
-	+	+	+	1
+	-	-	-	1
+	-	-	+	0
+	-	+	-	1
+	-	+	+	0
+	+	-	-	0
+	+	-	+	1
+	+	+	-	1
+	+	+	+	21
合計				3,753

表 4 【HBcAb】 試薬別に見た測定結果

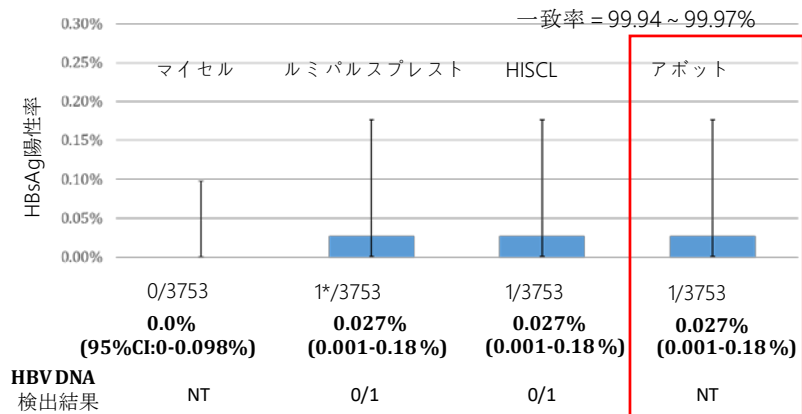
ルミバルスプレスト	HISCL	アボット	検体数
-	-	-	3,724
-	-	+	1
-	+	-	15
-	+	+	0
+	-	-	12
+	-	+	0
+	+	-	0
+	+	+	1
合計			3,753

表 5-1 【HBcAb】 3 試薬ともに「陽性」の 1 例及び乖離例 28 例

検査番号	ルミバルスプレスト CLEIA法		HISCL CLEIA法		アボット CLIA法		マイセル	ルミバルスプレスト【HQ】	HISCL	アボット【QT】	マイセル	ルミバルスプレスト	HISCL	アボット	Real-time PCR	Nested PCR
	HBc抗体 (C.O.I)	HBc抗体判定	HBc抗体 (C.O.I)	HBc抗体判定	HBcAb (C.O.I)	HBcAb判定										
HBV DNA																
2742	158.1	陽性	246.9	陽性	8.02	陽性	陰性	陰性	陰性	陰性	陽性	陽性	陽性	陽性	陰性	陰性
2744	4.4	陽性	0.0	陰性	0.11	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
1304	1.4	陽性	0.0	陰性	0.62	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
1760	1.3	陽性	0.0	陰性	0.28	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
310	1.2	陽性	0.0	陰性	0.12	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
813	1.2	陽性	0.0	陰性	0.24	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
3214	1.2	陽性	0.0	陰性	0.19	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
989	1.1	陽性	0.0	陰性	0.79	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
1146	1.1	陽性	0.0	陰性	0.15	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
3624	1.1	陽性	0.1	陰性	0.12	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
3516	1.0	陽性	0.1	陰性	0.13	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
1453	1.0	陽性	0.0	陰性	0.22	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
1516	1.0	陽性	0.0	陰性	0.16	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性

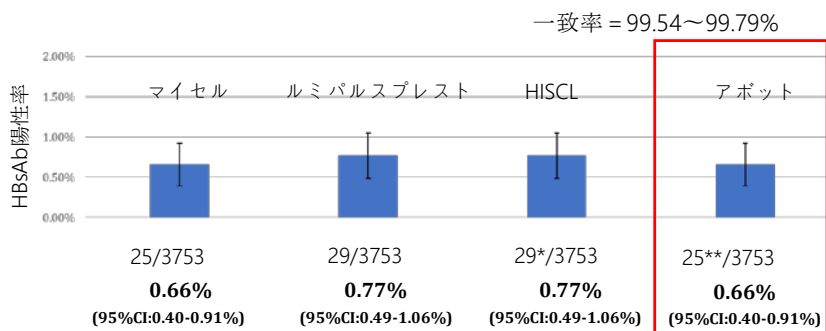
表 5-2 【HBcAb】 3 試薬ともに「陽性」の 1 例及び乖離例 28 例

検査番号	ルミバルスプレスト CLEIA法		HISCL CLEIA法		アボット CLIA法		マイセル	ルミバルスプレスト【HQ】	HISCL	アボット【QT】	マイセル	ルミバルスプレスト	HISCL	アボット	Real-time PCR	Nested RT-PCR
	HBc抗体 (C.O.I)	HBc抗体判定	HBc抗体 (C.O.I)	HBc抗体判定	HBcAb (C.O.I)	HBcAb判定										
HBV DNA																
3636	0.1	陰性	20.5	陽性	0.17	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
2769	0.1	陰性	13.1	陽性	0.88	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
512	0.1	陰性	11.9	陽性	0.18	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
3485	0.1	陰性	4.2	陽性	0.11	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
3729	0.1	陰性	3.3	陽性	0.13	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
3239	0.1	陰性	2.9	陽性	0.14	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
630	0.1	陰性	2.6	陽性	0.5	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
174	0.1	陰性	2.3	陽性	0.16	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
2807	0.1	陰性	2.2	陽性	0.11	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
389	0.1	陰性	2.0	陽性	0.16	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
3771	0.1	陰性	2.0	陽性	0.33	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
2497	0.1	陰性	1.7	陽性	0.21	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
2089	0.1	陰性	1.4	陽性	0.26	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
193	0.1	陰性	1.3	陽性	0.15	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
3222	0.4	陰性	1.2	陽性	0.83	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
103	0.1	陰性	0.0	陰性	1.08	陽性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性



※HBsAg-HQで、再検時も陽性の値「0.058」を呈した1例(No2826)は、反応阻害試験により非特異な反応と判定された(富士レリオ)が、再現性のある陽性範囲の値を示したことから、研究班では「陽性」と判定。  
 ○No2166は、再検後、陽性(0.1)から陰性(0.0)に変更したが、取説のとおり。

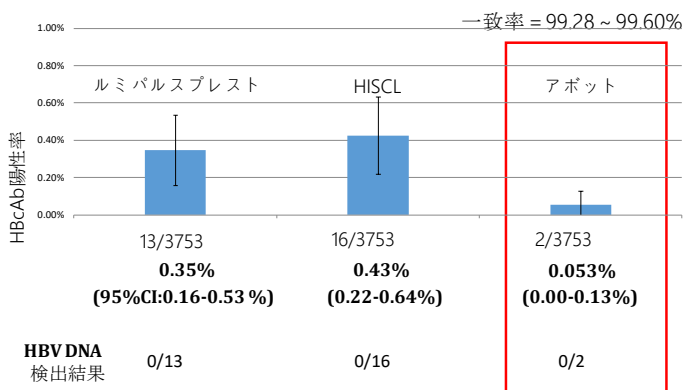
図1 試薬別に見た【HBsAg】陽性率



※HISCL HBsAbにおいて、初検時、陽性162例であったことから、原料抗原ロットの評価を行った。その結果、試薬の原料抗原ロットに不純物の混入による不純バンドが認められ、偽陽性反応である可能性が高いことが判明した。原料抗原の不純物の混入率は、規定内であったが、原料受け入れ試験の見直しを行うこととした。以後、測定結果に乖離は見られないことから、再検結果の30例を「陽性」とする。

※B型肝炎ウイルス表面抗体キットオーサプ®・アボットの添付文書によると、「【性能】感度および特異性の検討では感染防御抗体能の目安である $\leq 10.00$  mIU/mLを陽性、 $< 10.00$  mIU/mLを陰性とした。」と記載されていることに基づき、陽性率を算出した。

図2 試薬別に見た【HBsAb】陽性率



○3試薬ともに陽性は1例のみであった。  
 ○乖離例は、合計29例となった。

図3 試薬別に見た【HBcAb】陽性率