

成人職域および住民検診受診者集団から無作為抽出した 1,200例を対象とした肝炎ウイルス感染状況 および、B型・C型肝炎ウイルス検査測定系の比較

代表研究者： 田中 純子
協力研究者： 片山 恵子、山本 周子、永島 慎太郎、山下 真未
広島大学 大学院医歯薬保健学研究科 疫学・疾病制御学

Working Group Member：

オーソクリニカル・ダイアグノスティックス株式会社（木次 克彦、藤原 稔也）
シスメックス株式会社（谷口 充、小田原 卓哉）
株式会社 特殊免疫研究所（伊藤 行夫、須天 由貴子）
富士レビオ株式会社（磯村 光男）
広島大学（田中 純子）
岩手予防医学協会（小山 富子）

研究要旨

成人職域および住民検診受診者集団における性・年齢階級別の B型肝炎ウイルス(HBV)、C型肝炎ウイルス(HCV)および E型肝炎ウイルス(HEV)の感染状況を明らかにすること、さらに HBV 及び HCV 関連免疫血清診断試薬の標準化を行う目的で、検診受診者から性・年齢による層化無作為抽出を行い、一般成人 1200 例について検討を行った。

広島県地域保健医療推進機構の一般住民・職域検診受診者の保存血清 7,682 例（2013-2015 年）から、性別・10 歳刻み年齢別(各 100 人)層化無作為抽出を行い、1,200 例を対象に HBV、HCV 及び HEV 感染状況を明らかにした。

HBs 抗原陽性率は、試薬別に 0.85～1.52%であり、3 試薬間の一致率は 98.98%であった。HBs 抗体陽性率は 18.81～21.96%、3 試薬間の一致率は 95.06%であった。HBc 抗体陽性率は 15.68～16.26%であり、2 試薬間の一致率は 97.00%であった。

HCV 抗体陽性率は、0.83～1.17%であり、5 試薬の一致率は 99.33%と高値を示した。年齢階級別の HCV 抗体陽性率は、20-29 歳では陽性例を認めず、70-79 歳の年齢層では、3.0%と高値であった。HEV 抗体陽性率は、1.92%であり、男性 2.5%、女性 1.3%であった。

A. 研究目的

成人職域および住民検診受診者集団における性・年齢階級別の B型肝炎ウイルス(HBV)、C型肝炎ウイルス(HCV)および E型肝炎ウイルス(HEV)の感染状況を明らかにすること、さらに HBV 及び HCV 関連免疫血清診断試薬の標準化を行う目的で、検診受診者から性・年齢による層化無作為抽出を行い、一般成人 1200 例について検討を行った。

B. 対象と方法

【対象】

公益財団法人広島県地域保健医療推進機構の一般住民健診・職域健診を受診した 7,682 名（2013-2015 年）のうち、性別及び年齢(20 歳から 79 歳)の層化無作為抽出により、各年齢階級の標本サイズを 200 名（男女各 100 名）として抽出した計 1,200 名の保存

血清を対象とした。

※【必要標本サイズ】年齢階級群の見込み陽性率を 2%、絶対精度を 2%と仮定した場合：

$$1.96^2 \times (0.02) \times (1 - 0.02) / 0.02^2 = 188.2$$

【方法】

HBs 抗原、HBs 抗体、HBc 抗体、HCV 抗体、HEV 抗体を測定した。また、必要な検体については HBV DNA 及び HCV RNA の検出を実施した。

測定項目及び測定試薬は、以下の通り：

○HBs 抗原：CLEIA 法のルミパルス® II HBsAg (富士レビオ)、ビトロス®HBs 抗原(オーソクリニカル・ダイアグノスティックス)、HISCL™ HBsAg(シスメックス))の 3 試薬

- HBs 抗体：CLEIA 法のルミパルス®HBsAb-N (富士レビオ)、ビトロス®HBs 抗体(オーソクリニカル・ダイアグノスティックス),及び HISCL™ HBsAb(シスメックス)の 3 試薬。
- HBc 抗体：CLEIA 法のルミパルス® II HBcAb-N (富士レビオ)及び HISCL™ HBcAb(シスメックス)の 2 試薬。
- HCV 抗体：CLEIA 法によるルミパルス®HCV とルミパルスプレスト®HCV(富士レビオ)、ルミパルス® II オーツ® HCV とビトロス®HCV 抗体 (オーソクリニカル・ダイアグノスティックス), 及び HISCL™ HCV Ab(シスメックス)の 5 試薬。
- HEV 抗体は EIA 法による IgG anti-HEV EIA(特殊免疫研究所)。
- HBV DNA の検出は S region 領域にプライマーを設定した nested PCR 及び Real time PCR, HCV RNA の検出は、5'NC あるいは core 領域にプライマーを設定した nested RT PCR 及び Real time PCR により行った。

【評価方法および評価手順】

- ① Working Group meeting は、2016 年 8 月から計 4 回実施した。
- ② 第 1 回 Working Group meeting では、測定項目の提案と測定手順などを説明し、研究協力の有無を確認した。
- ③ 基本的に再測定は行わず、通常のスクリーニング測定 1 回を実施するよう申し合わせとした。
- ④ 第 1 回 Working Group meeting 後、1200 検体を各社に送付し、各社で測定後、測定結果を研究班に提出した。
- ⑤ 各社測定後、2017 年 2 月、第 2 回 Working Group meeting において測定結果の公表を行い、試薬毎の陽性、定量結果などを検証し、齟齬のあった検体をすべて確認した。
- ⑥ 再測定検体については、各社毎に希望を募り、研究班は順次検体を各社に送付し、再測定後の結果を同様の手順で集積した。また、試薬製造工程の再確認を行い各社毎に最終判定結果を準備した。
- ⑦ 第 3 回 Working Group meeting 2017 年 8 月では、再測定後の結果を含んだ試薬毎の陽性率を再度同様に検証した。1 社から、試薬製造工程の不備の報告があり、製造工程改訂後の lot による最終測定結果が提示された。
- ⑧ さらに、試薬間の結果が乖離している検体について、再測定の希望があった。この間、研究班では HBV DNA 及び HCV RNA 測定を行った。
- ⑨ 第 4 回 Working Group meeting 2017 年 11 月では、各社の最終判定結果と研究班の HBV DNA 及び HCV RNA 測定結果を併せて公表した。また、研究

班として、各社試薬のスクリーニング最終結果を報告した。

- ⑩ なお、2018 年夏までに各社に、報告書と共にすべての結果を共有する予定である。

【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 (第疫-E-3 号)、さらに各共同研究施設において倫理審査を行った。

C. 結果

1. HBV 感染状況

1) HBsAg 陽性率

1,200 名のうち、3 試薬ともに測定が可能であった 1,182 名を解析対象とした。

初回測定(第 2 回 Working Group meeting 2017 年 2 月報告)では、各社の陽性率は 0.85%(10/1,182)、1.52% (18/ 1,182)、1.02%(12/1,182)であり、3 試薬とも陽性であったのは 10 例(0.85%)であった。

最終的 (第 4 回 Working Group meeting 2017 年 11 月報告) では、再検の結果、各社の HBs 抗原陽性は、10 例/1,182 (0.85%)、18 例/1,182(1.52%)、11 例/ 1,182(0.93%)であった(図 1)。

3 試薬ともに「陽性」は 10 例、3 試薬ともに「陰性」は 1,160 例であり、一致率は 98.98%(1,170/1,182)であった。

各試薬間の一一致率をみると 98.98~99.92%であった(図 2)。

1 社の陽性検体で再検時も「0.14」と陽性値を再現した 1 例については、吸収試験により低値を示したため、同社は「陰性」と判定したが、研究班としては通常スクリーニング検査の結果として、「陽性」と判定した。

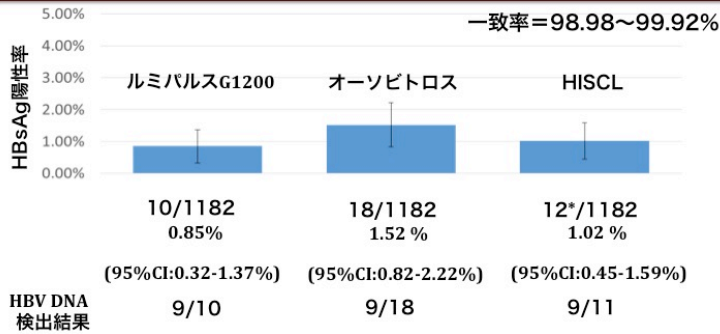
研究班の判定としては、各社の HBs 抗原陽性率を、0.85% (10 例/1,182)、1.52% (18 例/1,182)、1.02% (12*例/1,182)とした(図 1)。

3 試薬ともに HBsAg が陽性であった 10 例のうち、HBV DNA が検出されたのは 9 例であった。陽性検体のうち HBV DNA が検出されたのは、試薬別にみると 9/10 例(90%)、9/18 例(50%)、9/11 例(82%)であった。HBV DNA 量は $3.4 \times 10^1 \sim 2.7 \times 10^3$ copies/mL であった。

3 試薬間で測定結果に乖離のみられた 8 例について HBV DNA の検出を行ったところ、2 例に HBV DNA を検出した。内訳は、2 社で「陽性」となった 1 例 (130copies /mL)と、1 社単独「陽性」の 2 例中 1 例であった。

年齢階級別の HBs 抗原陽性率を図 3 に示した。

成人健診受診集団1182例の
【HBsAg】陽性率とHBV DNA検出結果



※HISCLは、陽性11例の判定報告があったが、No287については、再検後陽性値(0.14)を示しているため、研究班では陽性と判定する。陽性は12例。
○3試薬とも陽性例は、10例。

57

図1. 試薬別にみた HBsAg 陽性率

成人健診受診者集団の試薬別にみた
【HBsAg】測定結果 N=1,182検体

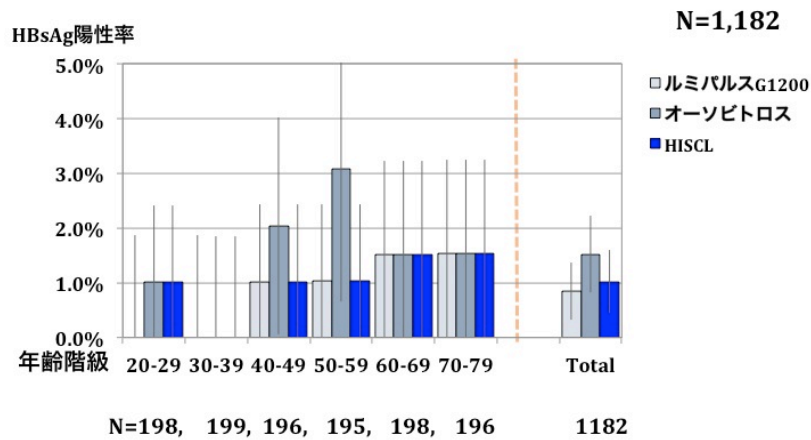
【初回後の結果、再検後の結果】				【追加再検後の結果】				一致率
試薬	HBsAg		HISCL		計	一致率		
	スロアビ	+	11	7			18	12
-		1	1159	1160				
(±)		0	4	4				
計		12	1170	1182				
HISCL	+	10	2	12	10	1172	1182	99.92%
	-	0	1170	1170				
	計	10	1172	1182				
	計	10	1172	1182				
スロアビ	+	10	8	18	10	1160	1160	98.98%
	-	0	1160	1160				
	(±)	0	4	4				
	計	10	1172	1182				

再検後に、判定が変わった検体なし⇒初回、再検後とも同じ結果

52

図2. 試薬別にみた HBsAg 測定結果

成人健診受診集団1182例の【HBsAg】 年齢階級別・試薬別 陽性率



58

図3. 年齢階級別にみた HBsAg 陽性率

2) HBsAb 陽性率

1,200 名のうち、3 試薬ともに測定が可能であった 1,175 名を対象とした。

初回測定(第 2 回 Working Group meeting 2017 年 2 月報告)では、各社の陽性率は 19.06%(224/1,175)、18.98%(223/1,175)、22.13%(260/1,175)、であり、3 試薬とも「陽性」であったのは 10 例(0.85%)であった。

最終的(第 4 回 Working Group meeting 2017 年 11 月報告)には、再検の結果、HBsAb 陽性率は、19.40%(228/1,175)、18.81%(221/1,175)、21.96%(258/1,175)、であり、3 試薬とも「陽性」は 210 例(17.87%)、「陰性」は 907 例(77.19%)であり、一致率は 95.06%(1,117/1,175)であった(図 4)。各 2 試薬間の一致率は、95.91~97.02%であった(図 5)。

HBsAb 陽性率を年齢階級別にみると、年齢階級が上がるるとともに陽性率が高くなる傾向が認められた(図 6)。

研究班と各社の陽性判定は同一であった。

3) HBcAb 陽性率

1,200 名のうち、2 試薬ともに測定が可能であった 1,199 名を対象とした。

初回測定(第 2 回 Working Group meeting 2017 年 2 月報告)では、2 社の HBcAb 陽性率は 16.68%(200/1,199)、15.76%(189/1,199)であり、2 試薬とも「陽性」は 174 例(17.01%)、2 試薬とも「陰性」は 984 例(82.07%)であった。

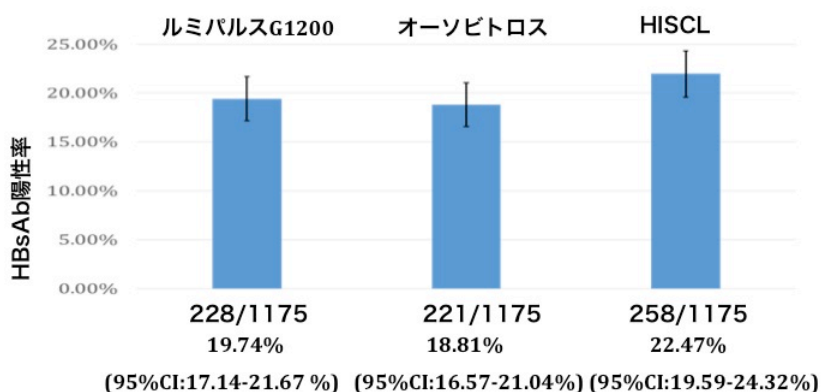
最終的(第 4 回 Working Group meeting 2017 年 11 月)には、再検の結果、HBcAb 陽性率は、16.26%(195/1,199)、15.68%(188/1,199)、であり、2 試薬とも「陽性」は 174 例(17.01%)、2 試薬とも「陰性」は 989 例(82.49%)であり、一致率は 97.00%(1,163/1,199)であった(図 7)。

HBcAb 陽性率を年齢階級別にみると、年齢階級が上がるるとともに陽性率が高くなる傾向が認められた(図 8)。

研究班と各社の陽性判定は同一であった。

成人健診受診集団1175例の【HBsAb】陽性率

一致率=95.91~97.02%



○±判定の基準、評価はせず、結果報告通りとする。

69

図 4. 試薬別にみた HBsAb 陽性率

成人健診受診者集団の試薬別にみた【HBsAb】測定結果

N=1,175検体

【初回結果】					【再検後の結果を含むリスト】					
スロアビ	HBsAb	HISCL			スロアビ	HBsAb	HISCL			一致率： 95.91%
		+	-	計			+	-	計	
	+	215	8	223		+	216	5	221	
	-	34	906	940		-	31	911	942	
	(±)	11	1	12		(±)	11	1	12	
計	260	915	1175	計	258	917	1175			
HISCL	HBsAb	ルミパルス HBsAb-N			HISCL	HBsAb	ルミパルス HBsAb-N			一致率： 96.85%
		+	-	計			+	-	(±) 計	
	+	220	40	260		+	225	33	0 258	
	-	4	911	915		-	3	913	1 917	
	計	224	951	1175		計	228	946	1 1175	
スロアビ	HBsAb	ルミパルス HBsAb-N			スロアビ	HBsAb	ルミパルス HBsAb-N			一致率： 97.02%
		+	-	計			+	-	(±) 計	
	+	204	19	223		+	210	11	0 221	
	-	13	927	940		-	11	930	1 942	
	(±)	7	5	12		(±)	7	5	0 12	
計	224	951	1175	計	228	946	1 1175			

64

図 5. 試薬別にみた HBsAb 測定結果

**成人健診受診集団1175例の【HBsAb】
年齢階級別・試薬別 陽性率**

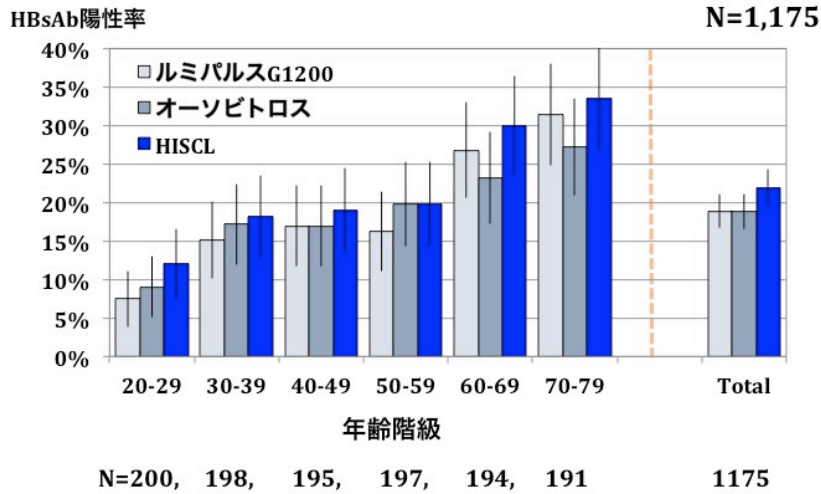


図 6. 年齢階級別にみた HBsAb 陽性率

70

成人健診受診集団1199例の【HBcAb】陽性率

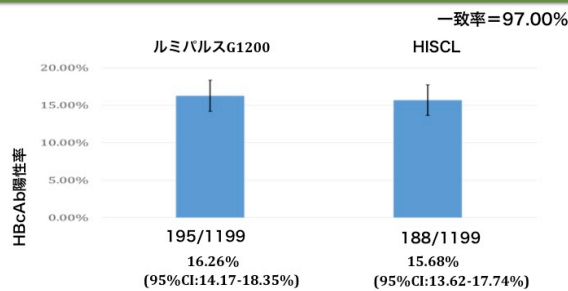


図 7. 試薬別にみた HBcAb 陽性率

76

**成人健診受診集団1199例の【HBcAb】
年齢階級別・試薬別 陽性率**

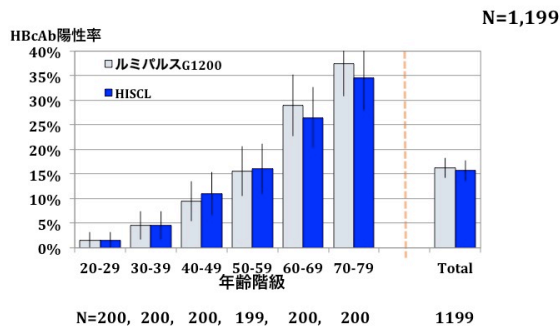


図 8. 年齢階級別にみた HBcAb 陽性率

77

2. HCV 感染状況

1) HCV 抗体陽性率

1,200 名のうち、5 試薬ともに測定が可能であった 1,195 名を対象とした。

初回測定(第 2 回 Working Group meeting 2017 年 2 月報告)では、各社の HCV 抗体陽性率は 0.92%(11/1,195) 、 1.17%(14/1,175) 、 1.34%(16/1,195) 、 0.92%(11/1,195) 、 0.92%(11/1,195)、であり、5 試薬とも「陽性」は 9 例(0.75%)であった。

最終的(第 4 回 Working Group meeting 2017 年 11 月報告)には、再検の結果、各社の HCV 抗体陽性率は、0.92%(11/1,195) 、 1.09%(13/1,175) 、 1.17%(14/1,195) 、 0.92%(11/1,195) 、 0.83%(10/1,195)、であり、5 試薬とも「陽性」は 9 例(0.75%)、「陰性」は 1,178 例であり、5 試薬の一致率は、99.33%(1,187/1,195)であった(図 9)。

各試薬間の一致率をみると 99.58~99.92%であった(図 10)。

年齢階級別の陽性率をみると、20-29 歳では陽性例を認めず、70-79 歳の年齢層では、3.0%と高い陽性率を示した(図 11)。

5 試薬間で結果に乖離の見られた 8 例については、HCV 抗体プロファイリングを測定した結果、2 例が陽性で、2 例は判定保留、4 例は陰性であった。

また、試薬間で結果に乖離の見られた 8 例中、2 試薬において「陽性」であった 1 例について HCV RNA の検出を行ったが、HCV RNA は検出されなかった。

3. HEV 感染状況

1) IgG HEV 抗体陽性率

1,200 名のうち、測定が可能であった 1,199 名を対象とした。

IgG HEV 抗体陽性率は、1.92%であり、男性 2.5%(15/600)、女性 1.3%(8/599)であった。

年齢階級による陽性率の傾向は認められなかった。

D. 考察

HBs 抗原陽性率は、試薬別に 0.85~1.52%であり、3 試薬間の一致率は 98.98%であった。HBs 抗体陽性率は 18.81~21.96%、3 試薬間の一致率は 95.06%であった。HBc 抗体陽性率は 15.68~16.26%であり、2 試薬間の一致率は 97.00%であった。

HCV 抗体陽性率は、0.83~1.17%であり、5 試薬の一致率は 99.33%と高値を示した。年齢階級別の HCV 抗体陽性率は、20-29 歳では陽性例を認めず、70-79 歳の年齢層では、3.0%と高値であった。HEV 抗体陽性率は、1.92%であり、男性 2.5%、女性 1.3%であった。

HBsAg 陽性判定の 1 例について、1 社の測定判定と研究班の判定に齟齬を認めた。

E. 結論

一般住民・職域検診受検者における性別年齢別の層化無作為抽出による 1,200 例の HBV、HCV 及び HEV 感染状況調査を及び HBV、HCV 試薬の標準化を行った。

なお、2018 年夏までに各社に、報告書と共にすべての結果を共有する予定である。

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

成人健診受診者集団1195の【HCVAb】
試薬別にみた測定結果

【初回後の結果】						【再検結果、追加再検結果】					
ルミバルス II オート ソ HCV	ルミバ ルス	ビトロ ス	HISCL	ルミバ ルス プ レスト	検体数	ルミバル スII オ ソ HCV	ルミバル ス	ビトロ ス	HISCL	ルミバ ルス プ レスト	検体数
+	+	+	+	+	9	+	+	+	+	+	9
+	+	+	-	+	1	+	+	+	-	+	1
-	+	+	-	-	1	-	+	+	-	-	1
-	-	+	+	-	2	-	-	+	+	-	2
+	-	-	-	-	1	+	-	-	-	-	1
-	+	-	-	-	3	-	+	-	-	-	2
-	-	+	-	-	3	-	-	+	-	-	1
-	-	-	-	+	1	-	-	-	-	+	0
-	-	-	-	-	1174	-	-	-	-	-	1178
測定不能の試薬があった検体					5	測定不能の試薬があった検体					5
合計					1200	合計					1200

図 9. 試薬別にみた HCV 抗体測定結果の内訳 83

成人健診受診集団1195例の【HCVAb】陽性率

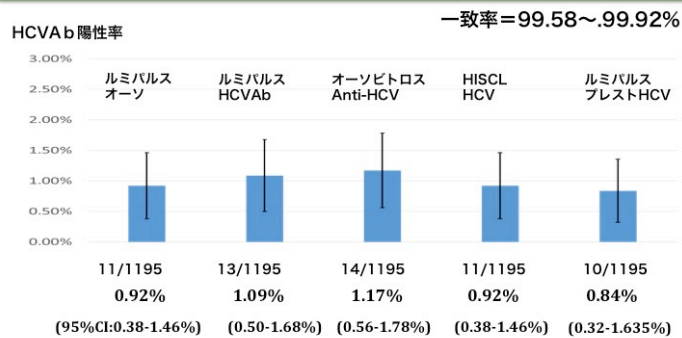


図 10. 試薬別にみた HCV 抗体陽性率

成人健診受診集団の【HCVAb】
年齢階級別・試薬別 陽性率

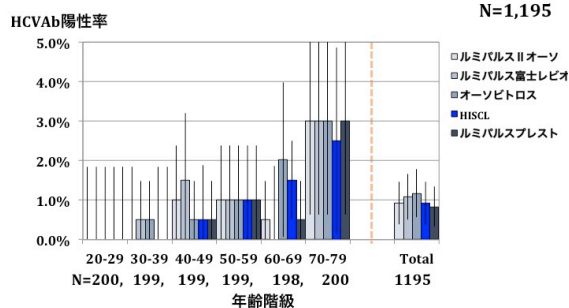


図 11. 年齢階級別・試薬別にみた HCV 抗体陽性率