

血清 *Helicobacter pylori* 抗体価による 感染状態の鑑別

—推定抗体価3 U/mL未満を含めた検討—

Determination of infection status by *Helicobacter pylori* serum antibody titers : A study on the value of antibody titers, including estimated titers of less than 3 U/mL

大原信行¹、関根和人²

Nobuyuki Ohara¹, Kazuhito Sekine²

要旨 血清 *H. pylori* 抗体価 (抗体価) によって *H. pylori* 感染状態を鑑別できるかを検証するため、*H. pylori* 感染状態別の抗体価を3 U/mL未満の推定値を含めて検討した。対象は抗体価測定、上部消化管内視鏡検査、迅速ウレアーゼ試験 (RUT) を実施した194例である。対象を内視鏡所見とRUTから現感染群、除菌群、消退群、未感染群の4群に分類し各群の抗体価を分析した。消退群の抗体価は全例10 U/mL未満であり、未感染群は全例1.7 U/mL未満であった。除菌群の抗体価は除菌後の時間が長いほど低い傾向があった。既感染群と未感染群とは抗体価1.5 U/mL付近を境界に上下に分かれて分布し、抗体価により鑑別が可能であることが示唆された。次に、抗体価3 U/mL未満の推定値が信頼できるかを検証するため、抗体価0.5 U/mLまで測定可能な新しい測定法を考案し、100例の抗体価を新法と通常法とで同時に測定した。その結果、両者の間には強い相関を認め、抗体価3 U/mL未満の推定値は信頼できることが確認された。

索引用語 ヘリコバクターピロリ、血清ヘリコバクターピロリ抗体、Eプレート、胃癌リスク

Abstract To verify whether it is possible to differentiate the status of *Helicobacter pylori* infection according to the serum anti-*H. pylori* antibody titers (antibody titers), we assessed the antibody titers including estimates of <3 U/mL for different statuses of *H. pylori* infection. The study population consisted of 194 subjects who were examined by using antibody titration assays, upper gastrointestinal endoscopy, and the rapid urease test (RUT). The subjects were classified, according to the endoscopic findings and RUT results, into 4 groups: currently infected, eradicated, eliminated, and non-infected; the antibody titers of subjects in all the groups were analyzed. The antibody titer was <10 U/mL in all subjects of the eliminated group and <1.7 U/mL in all subjects of the non-infected group. The antibody titer in the eradicated group tended to decrease with increasing duration after eradication. The antibody titers showed a distribution above and below a mean titer value of 1.5 U/mL for the currently infected group and the non-infected group, respectively, suggesting a possibility of diagnostic differentiation based on the antibody titer. To verify whether antibody titer estimates of <3 U/mL are reliable, we devised a new method of measurement that was applicable to a minimum titer of 0.5 U/mL, and a series of 100 serum samples were subjected to antibody titration with the new method versus the usual method. Results of

¹ 大原ファミリークリニック
Ohara family clinic

² 栄研化学株式会社
Eiken Chemical Co., Ltd.

the assays showed a strong correlation between these two methods, providing evidence to demonstrate the reliability of antibody titer estimates of <3 U/mL.

Key Words *Helicobacter pylori*, *Helicobacter pylori* serum antibody, E-plate, gastric cancer risk

はじめに

Helicobacter pylori (以下、*H. pylori*) 感染が胃癌の発症に深く関与していることが明らかとなり¹⁾、現在では*H. pylori*感染の有無は胃癌の予防や早期発見に不可欠な情報となっている。胃癌の発症リスクは*H. pylori*感染状態により異なり、未感染者のリスクはきわめて低く、現感染者および既感染者のリスクは高いこと^{1~3)}が証明されている。内視鏡治療後の胃癌患者における検討で除菌治療が二次胃癌の発生を抑制することが報告⁴⁾されているが、除菌後の胃粘膜には依然として高い発癌リスクが残存している。したがって、臨床の現場では、現感染と非感染の判定だけでなく、既感染と未感染の鑑別も重要である。現在、*H. pylori*感染の診断法は複数ある⁵⁾が、いずれの診断法も検査時点の*H. pylori*感染の有無を判定するものであり、既感染と未感染の鑑別は除菌歴を含む問診と内視鏡所見に頼らざるを得ない。わが国では、2013年*H. pylori*感染胃炎に対する除菌治療が保険適応となり、今後、除菌成功者を主体とした既感染者が急増することが予測される。そのため、既感染と未感染とを鑑別する簡便な方法を開発することが胃癌診療における喫緊の課題である。

現在、*H. pylori*感染診断法として抗*H. pylori*血清抗体価(以下、抗体価)の測定キット「Eプレート栄研 H.ピロリ抗体Ⅱ」(栄研化学)⁶⁾が頻用されている。Eプレートによる*H. pylori*感染の判定は、抗体価10U/mL以上を感染陽性、10U/mL未満を感染陰性とし、さらにその測定範囲は3~100U/mLであり、3U/mLより低値はすべて3U/mL未満と評価される。しかし、最近の検討から抗体価10U/mL未満の症例のなかに現感染者や既感染者が少なからず含まれることが判明し^{7~9)}、抗体価と感染状態の関連について再検討の必要性が生じている。

当クリニックの委託検査会社が使用している抗体価自動測定装置は、抗体価が3U/mLより低値の場合、測定結果を推定値として算出することが可能であり、当クリニックでは3U/mL未満の推定値を含めた結果報告を受けていた。今回、われわれは過去の症例を対象として推定値を含めた*H. pylori*感染状

態別の抗体価を分析し、抗体価による*H. pylori*感染状態の鑑別が可能であるかを検討した。さらに、本検討の信頼性を担保する目的で、抗体価を0.5U/mLまで測定できる新しいEプレートの測定法(以下、新EP法)を考案し、現行の測定法(以下、現行EP法)による3U/mL未満の推定値の精度を検討した。

1. 対象と方法

2006年2月から2014年7月までに当クリニックにおいて上部消化管内視鏡検査、迅速ウレアーゼ試験(以下、RUT)および抗体価の測定を行った症例から、A型胃炎、胃切除術後症例、および検査前6か月以上継続してプロトンポンプ阻害薬を内服していた症例を除いた194例を対象Aとした。対象Aの*H. pylori*感染状態を分類し、感染状態別に3U/mL未満の推定値を含む現行EP法による抗体価を検討した。さらに、診療や健診等で血液検査を予定している者のうち、抗体価の測定に同意が得られたボランティア100名を対象Bとした。対象Bの血清抗体価を新EP法および現行EP法で同時に測定した。

新EP法および現行EP法の測定法を図1に示す。現行EP法では、標準*H. pylori*抗体3、10、30、100U/mLの吸光度を計測し、この4点からスプライン関数によって標準曲線を作成し、次に検体血清の吸光度を計測し標準曲線から対応する抗体価を算出する。したがって、現行EP法における測定範囲は3~100U/mLとなり、3U/mLより低値は測定することはできない。しかし、スプライン関数は最少基準点である3U/mLより下方に延長可能であるため、標準*H. pylori*抗体3U/mLよりも低い吸光度であっても推定値として算出することができる。今回の対象Aの推定値とは、現行EP法における延長した仮の標準曲線によって検体血清の吸光度を抗体価に換算した値である(図1-A)。

一方、今回われわれが考案した新EP法は、標準*H. pylori*抗体3U/mLを希釈して新たに標準*H. pylori*抗体として0.5U/mLと1.0U/mLを追加して6点で標準曲線を作成し、測定範囲を0.5~100U/mLに下方に延長して現行EP法における0.5~3U/mLの推

定範囲を測定可能としたものである(図1-B)。

1) 現行EP法による抗体価の測定と

内視鏡検査およびRUT

対象Aには現行EP法による抗体価の測定、上部消化管内視鏡検査、およびRUTが行われた。上部消化管内視鏡検査では、胃・十二指腸を通常観察した後、0.12%インジゴカルミン液を胃内全域に散布して色素観察を行った。さらに、前庭部大彎と体部大彎の2か所から粘膜組織を採取しRUTを行った。

2) *H. pylori*感染状態の分類法

当クリニックの*H. pylori*感染の内視鏡診断を表1、図2に示す。対象Aを内視鏡所見、RUT結果および除菌歴の有無から現感染群、除菌群(除菌歴がある既感染群)、消退群(除菌歴がない既感染群)および

未感染群の4群に分類した。*H. pylori*感染状態の分類の流れを図3に示す。すなわち、RUT陽性の症例またはRUT陰性であるが現感染に特徴的な内視鏡所見を有する症例を現感染群とした。RUT陰性で除菌治療の既往があり内視鏡所見から現感染が否定できる症例を除菌群とし、RUT陰性で除菌治療の既往がなく既感染に特徴的な内視鏡所見を有する症例を消退群とした。さらに、RUT陰性で未感染に特徴的な内視鏡所見を有する症例を未感染群とした。

2. 結果

1) 対象Bにおける新EP法と現行EP法による抗体価の比較

対象Bのうち新EP法により測定された抗体価が

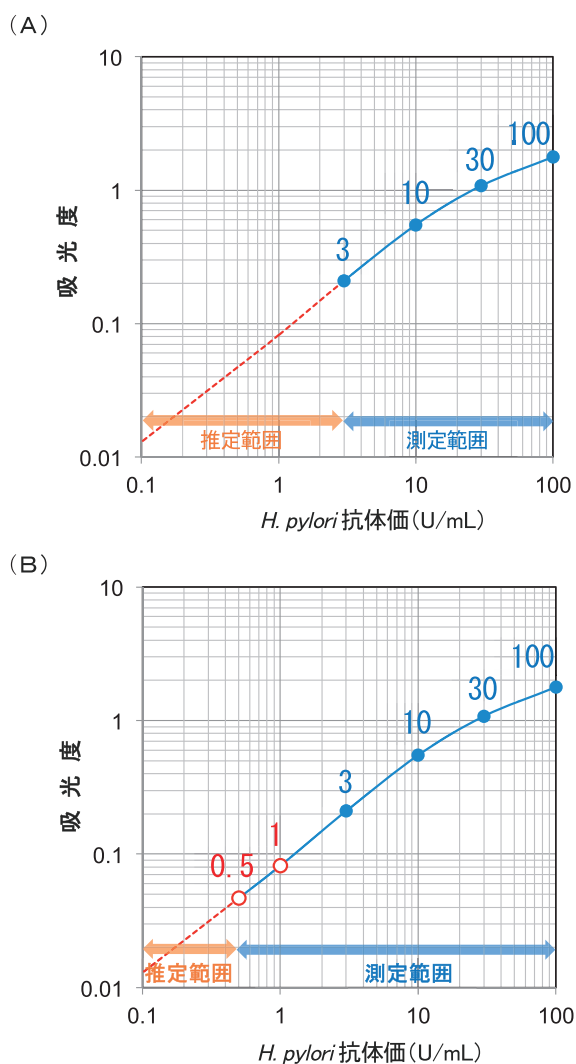


図1 標準*H. pylori*抗体と測定範囲および推定範囲の関係

(A) 現行EP法:

標準*H. pylori*抗体3, 10, 30, 100 U/mLの場合

(B) 新EP法:

標準*H. pylori*抗体0.5, 1, 3, 10, 30, 100 U/mLの場合

表1 *H. pylori*感染の内視鏡診断

I. 通常観察

1) 現感染に特徴的な所見

- ・点状および斑状発赤(穹窿部、体部)
- ・粘液の付着
- ・烏肌粘膜

2) 現感染、既感染に共通な所見

- ・萎縮粘膜
- ・ヒダの腫大および蛇行(体部大彎)(図3-A)
- ・黄色腫
- ・光沢のない凹凸のある粘膜(前庭部)
- ・縦走ヒダの消失(体部小彎)

3) 既感染に多いが現感染でも観られる所見

- ・境界不明瞭な淡い発赤斑(前庭部)

4) 未感染に多いが既感染でも観られる所見

- ・胃底腺ポリープ
- ・Regular arrangement of collecting venules (RAC)(体部、胃角部)
- ・ヘマチン付着
- ・噴門から体下部まで続く縦走ヒダ(体部小彎)

5) 未感染に特徴的な所見

- ・細く平行な縦走ヒダ(体部大彎)(図3-B)
- ・光沢がある平滑な粘膜面
- ・多発性の胃底腺ポリープ
- ・線状発赤(体部小彎、前庭部)

II. 色素観察

1) 現感染、既感染に共通な所見

- ・胃小区腫大(前庭部、胃角部、体部小彎)(図3-C)
- ・胃小区間溝による網目状模様(前庭部、体部小彎)(図3-C)

2) 既感染に多いが現感染でも観られる所見

- ・不整形の陥凹性発赤(前庭部、胃角部、体部小彎)(図3-D)

3) 未感染に多いが既感染でも観られる所見

- ・細かいひび割れ模様(図3-E)
- (未感染では細かく曲線的、既感染ではやや大きく直線的)

4) 未感染に特徴的な所見

- ・平滑な粘膜(前庭部)(図3-F)

3 U/mL未満となったのは68例であった。68例のうち抗体価0.5～2.9 U/mLであった52例について、新EP法による測定値と現行EP法による推定値を含めた測定値を比較した結果、両者の間には相関係数0.9449の強い相関を認めた(図4)。また、新EP法においても推定値となる抗体価0.5 U/mL未満であった16例は、現行EP法による推定値でも14例が0.5 U/mL未満となり、2例が0.5 U/mLであった。

2) 対象Aの *H. pylori* 感染状態の分類

対象Aの *H. pylori* 感染状態を4群に分類した結果、現感染群35例、除菌群85例、消退群13例、未感染群61例であった。各群の年齢と男女比を表2に示す。

3) *H. pylori* 感染状態別の年齢と現行EP法による

抗体価(3 U/mL未満推定値を含む)の関係
各群の年齢と3 U/mL未満の推定値を含む現行EP

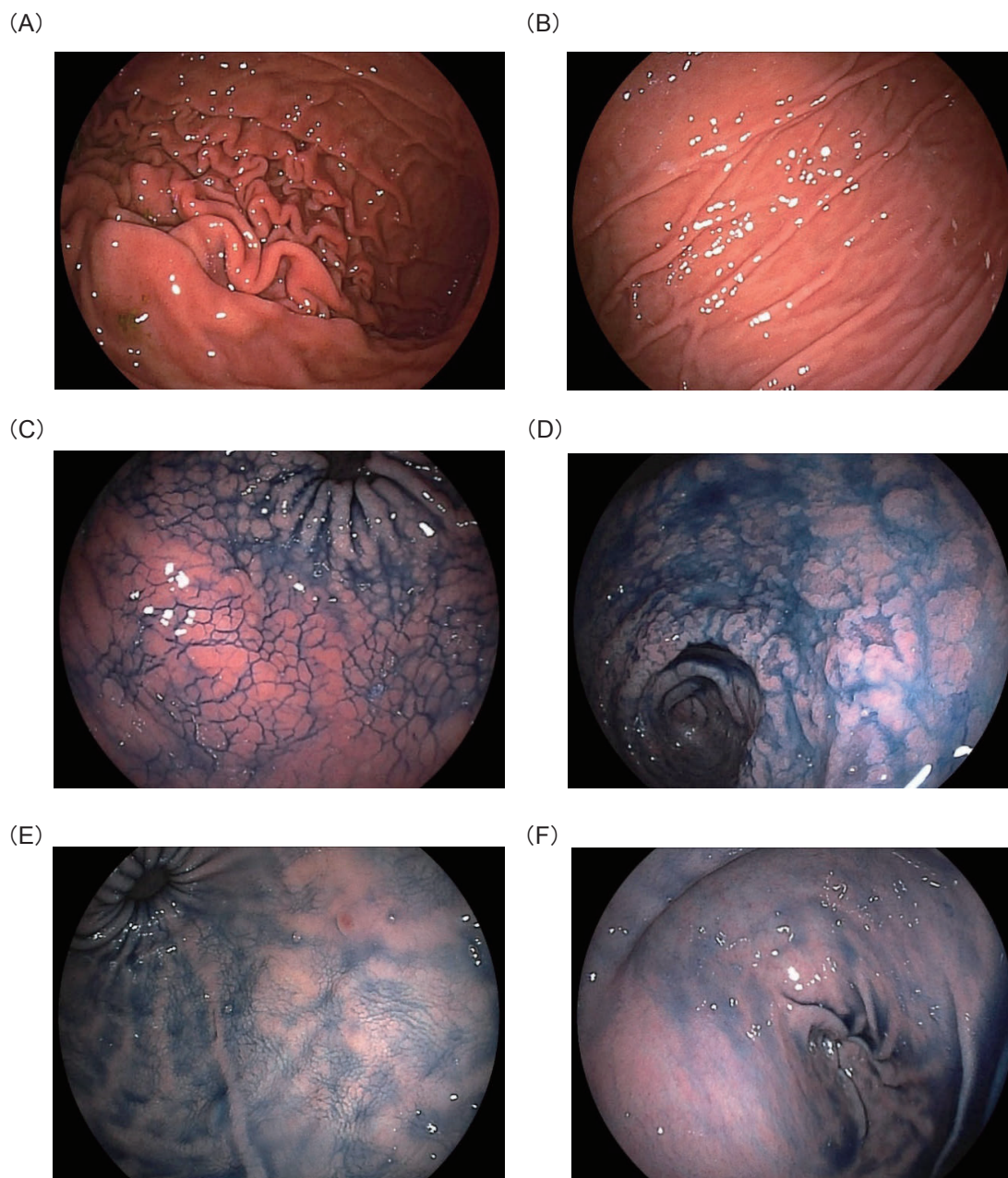


図2 *H. pylori* 感染診断の内視鏡所見の実例

- (A) ヒダの肥厚、蛇行(40歳男性、除菌後6年)
- (B) 細く平行に走るヒダ(65歳男性、未感染)
- (C) 胃小区腫大、胃小区間溝による網目状模様(27歳男性、現感染)
- (D) 不整形の陥凹性発赤(60歳男性、除菌後1年3か月)
- (E) 細かいひび割れ模様(39歳女性、未感染)
- (F) 平滑な粘膜(38歳女性、未感染)

法による抗体価の関係を図5に示す。各群ともに抗体価と年齢の間に有意な相関は認められなかった。現感染群35例のうち33例(94.3%)がEプレートで感染陽性と判定される抗体価10U/mL以上であった(図5A)。除菌群85例のうち79例(92.9%)がEプレートで感染陰性と判定される10U/mL未満であったが、抗体価10U/mL以上の症例も6例(7.1%)存在した(図5B)。消退群13例は全例10U/mL未満であり(図5C)、未感染群は全例1.7U/mL未満であった(図5D)。

4) 除菌群における除菌後期間と現行EP法による抗体価(3U/mL未満推定値を含む)の関係

除菌群85例の除菌終了日から抗体価測定までの期間と3U/mL未満の推定値を含む現行EP法による抗体価の関係を図6に示す。除菌後の時間経過とともに抗体価は低下する傾向を認め、除菌後2年6か月以上経過した52例の抗体価はすべてEプレートで

感染陰性と判定される10U/mL未満であった。さらに、除菌後9年以上経過した8例はすべて3U/mL未満となった。

5) 抗体価10U/mL未満症例における年齢と現行EP法による抗体価(3U/mL未満推定値を含む)の関係

Eプレートで感染陰性と判定される抗体価10U/mL未満であった155症例(現感染群2例、除菌群79例、消退群13例、未感染群61例)の年齢と3U/mL未満推定値を含む現行EP法による抗体価の関係を図7に示す。ここで、除菌群と消退群をまとめて既感染群とすると、●および○で示す既感染群と△で示す未感染群とは抗体価1.5U/mL付近を境界に上下に分かれて分布した。抗体価1.6U/mL以上を既感染、推定抗体価1.6U/mL未満を未感染と仮定すると、対象Aにおける既感染群98例(除菌群85例+消退群13例)と未感染群61例とを感度98.0%・特異度98.4%で鑑別可能であった。

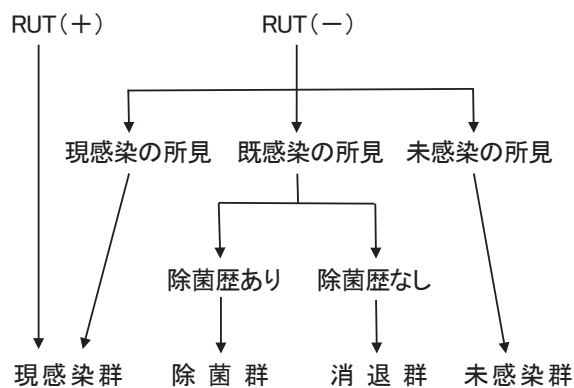


図3 H. pylori感染状態の分類の流れ

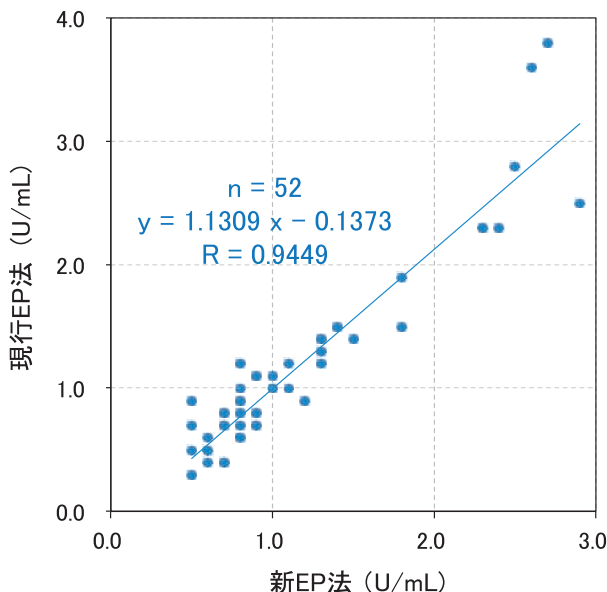


図4 新EP法と現行EP法との相関関係

3. 考察

H. pylori感染が胃癌の発症に深く関連していることが判明し¹⁾、H. pylori感染動態と胃癌の発症リスクの関係も解明されてきた。すなわち、現感染者および既感染者(除菌成功者と自然排菌者)は胃癌の発症リスクが高く、未感染者は胃癌の発症がきわめて稀である^{1~3)}。そのため、胃癌診療においてH. pylori感染状態に応じた対処法が重要となっている。また、検診や人間ドックの分野では血清H. pylori抗体とペプシノゲン法(以下、PG法)を組み合わせる胃癌リスクを評価する、いわゆるABC分類¹⁰⁾による胃癌検診(以下、リスク検診)が普及しつつある。しかし、胃癌の超低リスク群と評価される血清H. pylori抗体陰性かつPG法陰性であるA群のなかに10~20%程度の割合で現感染者ないし既感染者が含まれると報告されている^{7~9)}。A群に分類された現感染者および既感染者は「内視鏡検査等の精密検査は不要」と判定されるとともに、受診者本人に胃癌リス

表2 対象Aの感染状態分類

症例数	測定時年齢 (歳、平均±SD)	男女比
現感染群 35例	58.2±12.7	19:16
除菌群 85例	61.8±11.2	39:46
消退群 13例	64.6±12.9	3:10
未感染群 61例	52.8±11.4	23:38

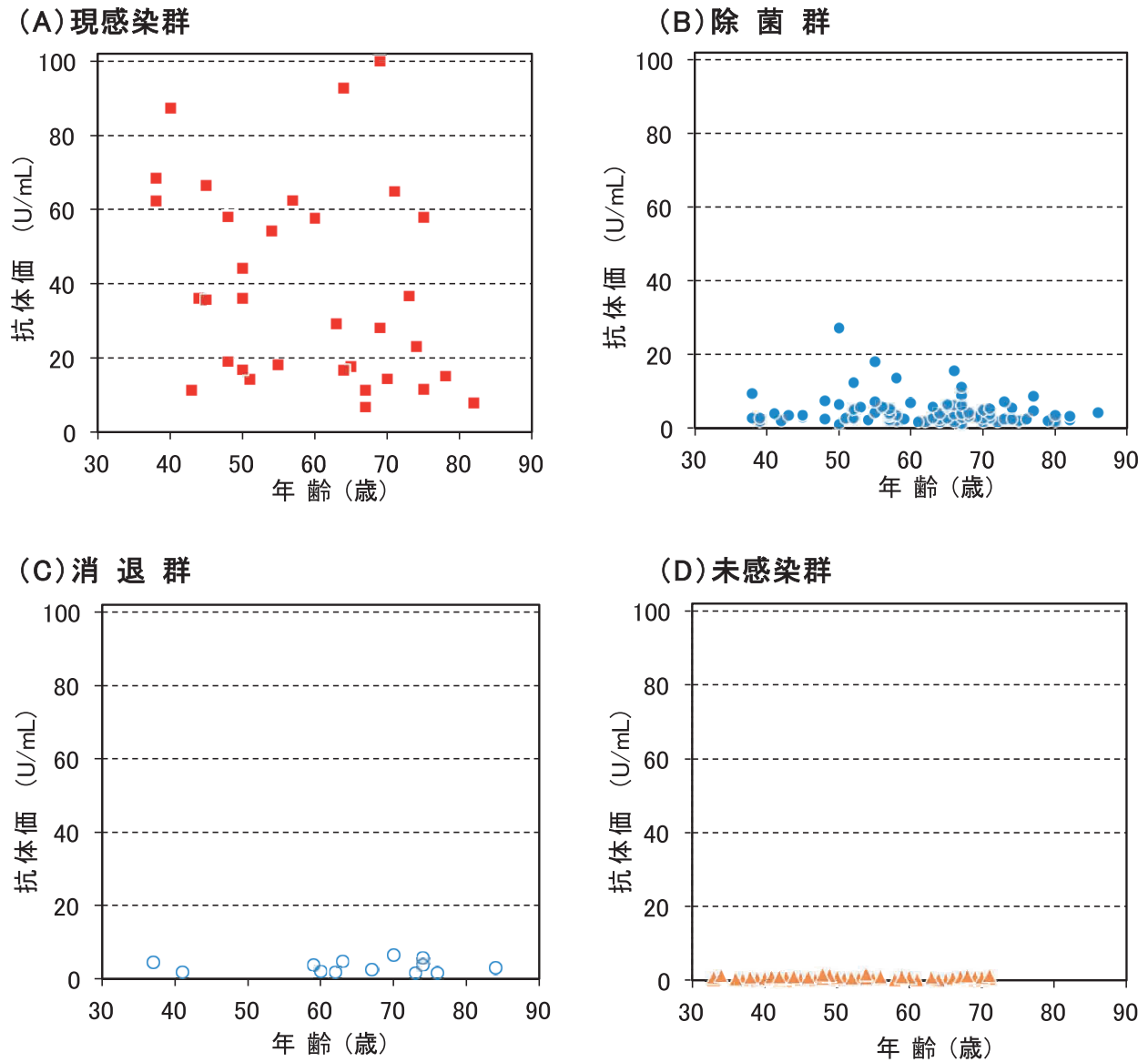


図5 各感染状態における年齢と現行EP法による抗体価の関係

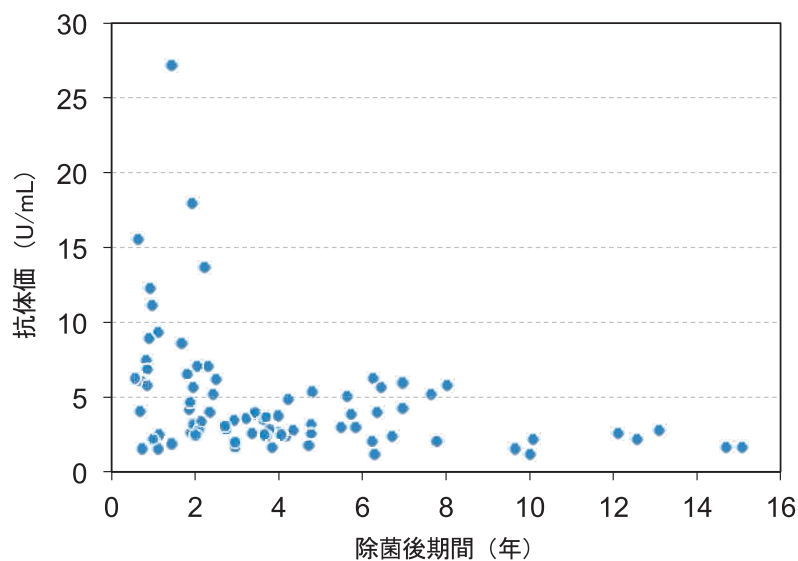


図6 除菌群における除菌後期間と現行EP法による抗体価との関係

クがきわめて低いという誤った認識を与えてしまうことになる。このA群における誤った分類はリスク検診の精度の低下を招き、ひいてはその信頼性を損ないかねない重大な問題である。

血清 *H. pylori* 抗体検査は種々の *H. pylori* 感染診断のなかでも血液検査のため受容性が高く、一般診療や検診の場で広く実施されている。その測定キットとして国内で頻用されているEプレート(栄研化学)の測定範囲は3~100 U/mLであり、抗体価10 U/mL以上を感染陽性、10 U/mL未満を感染陰性と判定する。本研究では、委託検査会社の抗体価自動測定装置で算出された3 U/mL未満の推定値を含めて *H. pylori* 感染状態別の抗体価を検討した。現感染群の94.3%は感染陽性と判定される抗体価10 U/mL以上であり、Eプレートの感度は臨床的に満足できるものであった。しかし、感染陰性と判定される抗体価10 U/mL未満には未感染群に加えて現感染群および既感染群が含まれ、従来の報告に一致する結果であった。除菌群と消退群の抗体価は類似した分布形態を呈し、両者は同じ感染動態にあることが推察された。未感染群の抗体価は全例3 U/mL未満であり、現感染群および既感染群に比べ明らかに低値であった。

除菌成功後の抗体価は継時的に低下し最終的に3 U/mL未満に収束すると報告されている¹¹⁾が、本研究においても除菌後2年6か月以上経過した症例の抗体価は全例10 U/mL未満であり、さらに除菌後9

年以上経過した症例の抗体価は全例3 U/mL未満であった。抗体価3 U/mL未満の推定値を含めて検討すると、抗体価の最低値は1.2 U/mLの2例(除菌後6年、10年)であり、残りの83例(97.6%)は1.6 U/mL以上であった。このことは、少なくとも除菌後15年程度の期間では抗体価の低下は1.5 U/mL程度まであり、除菌後の抗体価の低下には一定の下限が存在する可能性を示唆している。

本研究における既感染群と未感染群の抗体価について3 U/mL未満の推定値を含めて検討した結果、抗体価が1.6 U/mL未満であったのは既感染群98例中2例(2.0%)のみに対して未感染群61例中60例(98.4%)であった。抗体価1.6 U/mLをカットオフ値とするときわめて高い感度および特異度が得られたことは、抗体価によって未感染と既感染を鑑別できる可能性があり、現感染群の抗体価が全例3 U/mL以上であったことを踏まえ、抗体価によってリスク検診におけるA群から未感染者のみを抽出できる可能性が示唆される。

本研究はEプレートによる3 U/mL未満の推定値を含めた抗体価の後ろ向きな検討であるため、その推定値が信頼できることが前提となる。そのため、Eプレート測定時に標準抗体を追加し測定範囲を0.5 U/mLまで下方に延長した測定法(新EP法)と現行の測定法(現行EP法)による同一検体の同時測定を行い、新EP法の測定値と現行EP法の推定値を含む測定値とを比較した。その結果、新EP法におけ

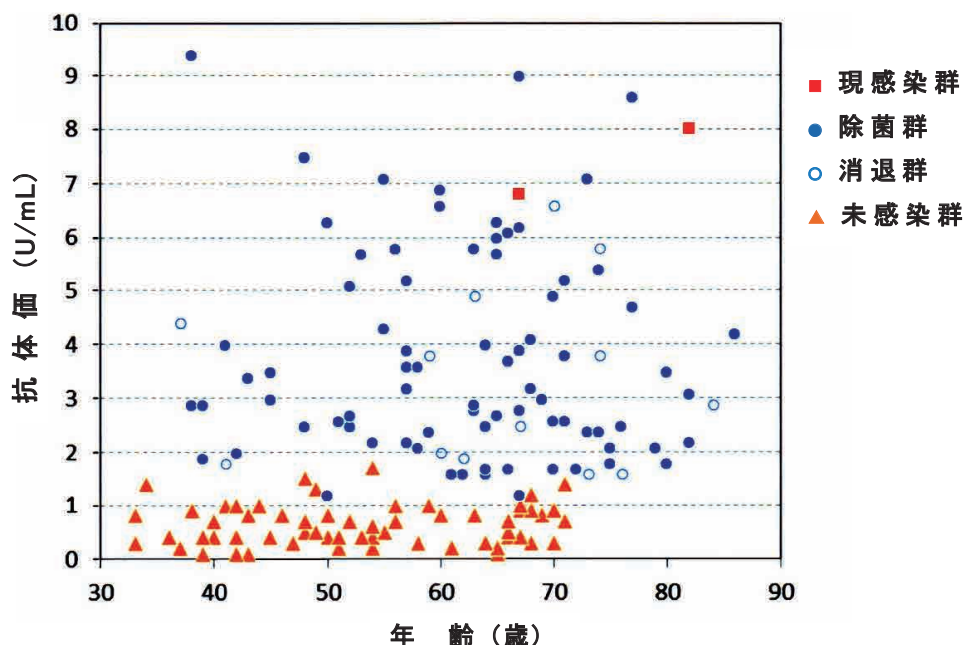


図7 抗体価10 U/mL未満における年齢と各群の現行EP法による抗体価の関係

る抗体価3U/mL未満の領域において新EP法と現行EP法との間には強い相関関係を認め、現行EP法による3U/mL未満の推定値は信頼できることが担保された。しかし、抗体価を用いて既感染と未感染を鑑別できることを証明するためには、新EP法による*H. pylori*感染状態と抗体価に関する前向きな検討が必要である。

本研究では、内視鏡所見、RUTおよび除菌歴により*H. pylori*感染状態の分類を行った。*H. pylori*感染診断の精度を高めるには、感染状態別の内視鏡所見に精通することが必要であり、さらに詳細な問診あるいは診療録から除菌治療の既往を確認することが重要である。*H. pylori*感染胃炎の内視鏡診断は未だ確立されていないが、通常観察に加えて色素観察(インジゴカルミンによるコントラスト法)を併用することで診断精度が上がるということが報告されており¹²⁾、当クリニックにおいてもインジゴカルミン液を胃内全域に散布して精度の高い内視鏡診断を心掛けている。内視鏡検査による*H. pylori*感染診断において注意を要するのは除菌歴が不明な既感染症例であり、とくに粘膜萎縮が軽度な症例は未感染との鑑別が難しい場合がある。既感染の診断には、*H. pylori*死滅後も遺残する所見、すなわち粘膜萎縮、黄色腫、体部大彎のヒダの肥厚と蛇行、さらに色素観察における体部小彎・前庭部の陥凹性発赤斑(組織学的には陥凹型腸上皮化生¹³⁾)、前庭部の胃小区間溝による網目模様などの所見を見逃さないよう注意深い観察が必要である。

おわりに

今回、後ろ向き検討ではあるが、Eプレートによる3U/mL未満の推定値を含めた抗体価によって、既感染と未感染を鑑別できることを示唆する結果を得ることができた。また、抗体価0.5U/mLまでの測定を可能とした新しいEプレートの測定法を考案し、現行Eプレートにおける3U/mL未満の推定値が信頼できることを検証した。今後、抗体価を用いて既感染と未感染との鑑別が可能であることを証明するため前向きな研究を行う予定である。

お断り

本論文は第20回日本ヘリコバクター学会学術集会で発表したデータに発表後の症例を追加し、さらに血清*H. pylori*抗体陽性症例のデータを加えて検討したものです。そのため、タイトルおよび内容が学術集会での発表とは若干異なりますが、上原*H. pylori*賞-優秀賞-の受賞原稿に代えさせていただきます。

文献

- 1) Uemura N, Okamoto S, Yamamoto S, et al: *Helicobacter pylori* infection and the development of gastric cancer. *N Engl J Med* 2001; 345: 784-789.
- 2) Matsuo T, Ito M et al: Low prevalence of *Helicobacter pylori*-negative gastric cancer among Japanese. *Helicobacter* 2011; 16: 415-419.
- 3) Ono S, Kato M, Suzuki M et al: Frequency of *Helicobacter pylori*-negative gastric cancer and gastric mucosal atrophy in a Japanese endoscopic submucosal dissection series including histological, endoscopic and serological atrophy. *Digestion* 2012; 86: 59-65.
- 4) Fukase K, Kato M, Kikuchi S et al: Effect of eradication of *Helicobacter pylori* on incidence of metachronous gastric carcinoma after endoscopic resection of early gastric cancer: an open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2008; 372: 392-397.
- 5) 井本一郎、高橋信一: *H. pylori*感染の診断法. 日本ヘリコバクター学会誌 supplement 2013; 23-30.
- 6) 菊池正悟、三輪洋人: *Helicobacter pylori*感染診断における直接法ELISAキット「Eプレート'栄研' *H.ピロリ*抗体」の有用性の検討. 医学と薬学 2000; 43(3): 581-586.
- 7) 乾純和、大和田進、蘇原直人 他: *Helicobacter pylori*感染と胃癌-血清診断(pepsinogen, Hp抗体)からみた胃癌ハイリスクグループ. 胃と腸 2009; 44: 1381-1396.
- 8) 山岡水容子、中島慈美: 胃癌危険群スクリーニングにおける胃X線検査の有用性. 日本消化器がん検診学会雑誌 2011; 49: 20-30.
- 9) 小林正夫、望月直美、西大路賢一: 人間ドックにおける胃の健康度検査(ABC分類)の現状と課題. *Helicobacter Research* 2013; 17(3): 257-257.
- 10) 井上和彦、谷充理、吉原正治: 血清ペプシノゲン法とヘリコバクターピロリ抗体価を用いた胃の健康度評価-同日に行った内視鏡検査を基準として-. 日本消化器集団検診学会雑誌 2005; 43: 332-339.
- 11) 青山伸郎、繁田さとみ、白坂大輔ほか: ピロリ全員除菌時代: 胃癌ではなくピロリ判定に焦点を合せる検診再構築と除菌後胃癌リスク評価の重要性. 第19回日本ヘリコバクター学会学術集会 2013; 58.
- 12) 加藤隆弘、八木信明、鎌田智有ほか: *Helicobacter pylori*感染胃粘膜の内視鏡診断: 多施設前向き研究. 日本消化器内視鏡学会雑誌 2014; 56: 1813-1824.
- 13) 上堂文也、神崎洋光、石原立: 胃の腸上皮化生の内視鏡診断. 日本消化器内視鏡学会雑誌 2014; 56: 1941-1952.