

新しいラテックス免疫比濁法における陰性高値は ELISA法と同様の取り扱いが可能か？

大原 信行

大原ファミリークリニック

【要 旨】

2014年LIA法を原理とする血清*H. pylori*抗体価測定キット「LZテスト」が上市された。LZテストは従来のELISA法によるEプレートとは異なる測定系であり、Eプレートに関する知見が通用する保証はない。今回、LZテストの陰性高値（抗体価3.0～9.9 U/ml）がEプレートと同様の取扱いができるかを検証した。対象は両検査法で抗体価を同時測定し両抗体価の少なくとも一方が10 U/ml未満であった230例であり、陰性高値内の*H. pylori*感染状態の構成比および“新ABC分類”（カットオフ値=3.0 U/ml）による分類結果を比較した。Eプレートでは陰性高値となる未感染は存在せず、LZテストでは16例（22.5%）であった。未感染98例に新ABC分類を適応するとEプレートではA群97例（99.0%）D群1例（1.0%）、LZテストではA群83例（84.7%）、BCD群合わせて15例（15.3%）であった。LZテストの陰性高値には未感染が多く含まれ、新ABC分類をLZテストで行うと未感染者を要精検とする割合が増えるため、未感染者が多数を占める検診ではEプレートを用いることが望ましい。

キーワード ピロリ菌, 血清抗体価, ABC 分類, E プレート, LZ テスト

はじめに

2014年ラテックス凝集免疫比濁法（以下、LIA法と略）を原理とする血清*Helicobacter pylori*（以下、*H. pylori*と略）抗体測定キットである「LZテスト『栄研』H.ピロリ抗体」（以下、LZテストと略）が栄研化学社より上市された。LZテストは現感染の診断において従来のELISA法を原理とする「Eプレート『栄研』H.ピロリ抗体II」（以下、Eプレートと略）および尿素呼気試験と同等の診断能であることが報告¹⁾されている。LZテストの利点はEプレートに比べ測定時間が速く汎用自動分析装置の使用が可能なことであり、汎用自動分析装置を所有する施設であれば、LZテスト導入により採血から1時間以内で血清*H. pylori*抗体価（以下、抗体価と略）の測定結果を知ることができるようになる。測定時間の短縮は医療者サイドだけでなく受診者にとっても大きなメリッ

トであり、今後、臨床の現場においてLZテストは急速に普及することが予想されている。

EプレートとLZテストとの比較を表1に示す。LZテストの単位〔U/ml〕、測定範囲〔3.0～100〕およびカットオフ値〔10〕はEプレートと同一であり、両者は同じ測定系の検査と誤解されやすいが、測定原理および測定抗体種を異にするまったく別の検査法である。そのため、当然のことではあるが、現在まで積み上げられてきたEプレートに関する知見がLZテストに通用する保証はない。現在、Eプレートによる抗体価3.0～9.9 U/ml（以下、陰性高値と略）には現感染・既感染が多く含まれ、ほとんどの未感染が抗体価3.0 U/ml未満（以下、陰性低値と略）であること^{2)~4)}が明らかとなっている。それでは、新しいLZテストの陰性高値はEプレートと同様の取り扱いが可能であろうか。今回、*H. pylori*感染状態が確定している症例

表1 EプレートとLZテストの比較

	Eプレート	LZテスト
測定原理	ELISA法	LIA法
抗原感作	プレートに固相化	ラテックス粒子に感作
反応媒体	固相反応	液相反応
抗原と抗体の接触頻度	固相面のための反応	自由度が大きい反応
B/F分離	分離系	非分離系
反応シグナル	発色系	比濁系
反応機序	IgG標識抗体による選択的反応	ホモジニアスな凝集反応による網羅的反応
測定時間	約60分	約10分
測定装置	専用機	汎用機
検出抗体	IgGのみ	IgG, IgAなど
単位	U/ml	U/ml
測定範囲	3.0 ~ 100	3.0 ~ 100
カットオフ値	10	10

を対象としてその抗体価をEプレートとLZテストで同時に測定し、両者の10U/ml未満の感染状態別の症例割合を比較し、さらに対象に2016年度版「胃がんリスク層別化検査（抗体価カットオフ値=3.0U/ml、ペプシノゲン（以下、PGと略）法は変更なし）；ABC分類運用ワーキンググループ」（以下、新ABC分類と略）⁴⁾を適応し両検査法の分類精度について検討した。

対象と方法

対象は2014年3月から2016年2月に当クリニックにおいて上部消化管内視鏡検査を受け、EプレートとLZテストによる抗体価およびPG I・IIを測定した症例のうち、両検査法による抗体価の少なくとも一方が10U/ml未満であった230例である。対象の*H. pylori*感染状態を以下の手順により判定し、現感染・既感染・未感染の3群に分類した。除菌歴を有する症例については、内視鏡時の迅速ウレアーゼ試験（以下、RUTと略す）が陰性であり既感染の内視鏡的胃粘膜所見を認めた場合に既感染と判定した。また、当クリニックにおいて除菌した症例については除菌後の便中抗原試験が陰性であることも参考とした。除菌歴のない症例については、RUTが陽性の場合には胃粘膜

所見に関係なく現感染と判定し、RUTが陰性の場合には胃粘膜所見により現感染・既感染・未感染を判定した。なお、胃粘膜所見による感染状態は当クリニックの内視鏡的*H. pylori*感染診断基準（表2）および「胃炎の京都分類」⁵⁾に準じて判定した。

Eプレートは標準ピロリ抗体に0.5, 1.0U/mlを加えて実測下限を0.5U/mlに引き下げた高感度測定²⁾を行い、LZテストは2SD法により1.0U/mlまで実測可能であることを確認した。実測下限を下回る抗体価（Eプレート0.5U/ml未満、LZテスト1.0U/ml未満）は計算上の推定値を使用した。PG I・IIは「LZテスト‘栄研’ペプシノゲンIおよびII」により測定した。分析装置はEプレート「EIA分析装置AP-X（協和メデックス）」、LZテストおよびPG I・II「BioMajesty JCA-BM6050（日本電子）」を使用した。

EプレートとLZテストによる感染状態別の抗体価、両検査法の陰性高値および陰性低値における感染状態別の割合を比較した。さらに、対象に新ABC分類を適応して両検査法の分類精度を比較した。ただし、新ABC分類の適応にあたっては除菌歴のある症例、プロトンポンプ阻害薬内服中の症例および腎機能障害のある症例を除外した。

表2 当院における内視鏡的*H. pylori*感染診断基準

I. 通常観察	II. 色素観察
1) 現感染に特徴的な所見	1) 現感染に特徴的な所見
1. 点状・斑状発赤(穹窿部、体部)	19. 胃小区腫大(前庭部)
2. 粘液の付着	2) 現感染、既感染に共通な所見
3. 鳥肌粘膜	20. 胃小区間溝による網目状模様(前庭部)
4. びまん性発赤	3) 既感染に多いが現感染でも観られる所見
2) 現感染、既感染に共通な所見	21. 発赤陥凹(前庭部、胃角部、体部小弯)
5. 萎縮粘膜	4) 未感染に多いが既感染でも観られる所見
6. ヒダの腫大・蛇行(体部大弯)	22. 大きめで直線的な微細ひび割れ模様(前庭部)
7. 黄色腫	5) 未感染に特徴的な所見
8. 光沢のない凹凸のある粘膜(前庭部)	23. 曲線的な微細ひび割れ模様(前庭部)
9. 縦走ヒダの消失(体部小弯)	24. 平滑な粘膜(前庭部)
3) 既感染に多いが現感染でも観られる所見	
10. 境界不明瞭な淡い発赤班(前庭部)	
4) 未感染に多いが既感染でも観られる所見	
11. 胃底腺ポリープ	
12. RAC*(体部、胃角部)	
13. ヘマチン付着	
14. 噴門から体部下部小弯まで続く縦走ヒダ(体部小弯)	
5) 未感染に特徴的な所見	
15. 細く平行に走るヒダ(体部大弯)	
16. 光沢のある平滑な粘膜面	
17. 多発性の胃底腺ポリープ	
18. 線状発赤(体部小弯、前庭部)	

(* regular arrangement of collecting venules)

結果

対象230例の性別(男性:女性)は85:145, 年齢(平均±SD)は58.6±13.5歳であり, *H. pylori* 感染状態は未感染105例, 既感染115例(除菌後既感染97例, 非除菌後既感染18例), 現感染10例であった。

感染状態別の抗体価(平均±SE)は, 未感染Eプレート0.86±0.05 U/ml / LZテスト1.65±0.16 U/ml, 以下同様に, 既感染3.57±0.20 / 5.13±0.37, 現感染15.33±3.71 / 7.79±1.60であった。LZテストによる未感染, 既感染の抗体価はEプレートに比べ有意に高値であった(未感染 $p=4.61 \times 10^{-7}$, 既感染 $p=1.43 \times 10^{-6}$; Wilcoxon t-test)。

未感染, 既感染, 現感染におけるEプレートとLZテストによる抗体価の相関関係をそれぞれ図1a~cに示す。さらに, 図1dに抗体価10U/ml

未満領域における3群を重ね合わせた相関関係を示す。未感染の抗体価は有意な相関(相関係数0.237, $p=0.015$; Spearman's correlation)を認めたが, 抗体価の分布範囲はEプレートが0.1~2.6 U/mlであったのに対し, LZテストは0.1~8.4 U/mlとなり陰性低値から陰性高値に及ぶ範囲であった(図1a)。既感染における両検査法の抗体価には非常に強い相関(相関係数0.722, $p=9.17 \times 10^{-20}$; Spearman's correlation)を認めた(図1b)。

対象のうち抗体価が陰性高値であった症例はEプレート45例, LZテスト71例であり, 各々の感染状態別の症例数はEプレートでは未感染0例(0%), 既感染41例(91.1%), 現感染4例(8.9%), LZテストでは未感染16例(22.5%), 既感染48例(67.6%), 現感染7例(9.9%)であった。LZテ

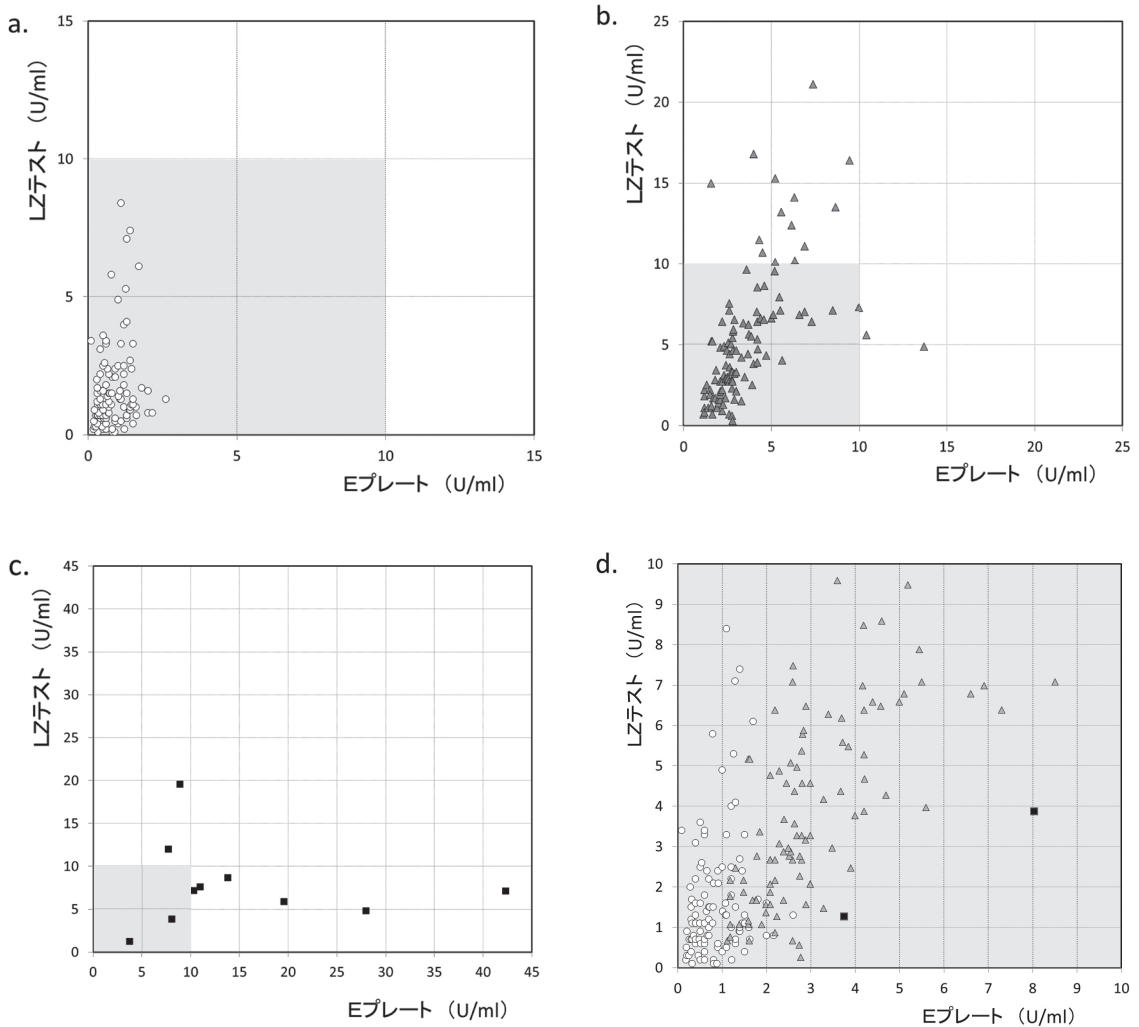


図1 EプレートとLZテストの感染状態別の抗体価の関係

- a. 未感染 b. 既感染 c. 現感染
d. 抗体価10U/ml未満における全感染状態

ストの陰性高値に含まれる未感染の割合はEプレートに比べ有意に高かった ($p = 6.04 \times 10^{-4}$; Chi square test)。

対象のうち抗体価が陰性低値であった症例はEプレート158例, LZテスト126例であり, 各々の感染状態別の症例数はEプレートでは未感染105例 (66.5%), 既感染53例 (33.5%), 現感染0例

(0%), LZテストでは未感染89例 (70.6%), 既感染36例 (28.6%), 現感染1例 (0.8%)であった。LZテストの陰性低値に含まれる未感染の割合はEプレートに比べ高い傾向があったが有意差を認めなかった。

対象のうち新ABC分類を適応可能であった122例の感染状態別の症例数は未感染98例, 既感染17

表3 新ABC分類による感染状態別の分類結果
a. Eプレート b. LZテスト

a.	A 群	B 群	C 群	D 群
未感染	97	0	0	1
既感染	11	6	0	0
現感染	0	4	3	0

b.	A 群	B 群	C 群	D 群
未感染	83	15	0	0
既感染	5	11	0	0
現感染	1	5	2	0

例, 現感染7例であった。EプレートおよびLZテストで行った場合の新ABC分類による感染状態別の分類結果を表3に示す。Eプレートによる分類結果はA群108例, B群10例, C群3例, D群1例であり, 未感染98例はA群97例(99.0%), B群・C群・D群を合わせた群(以下, [BCD]群と略)1例(1.0%), 既感染と現感染を合わせた24例はA群11例(45.8%), [BCD]群13例(54.2%)であった。LZテストによる分類結果はA群89例, B群31例, C群2例, D群0例であり, 未感染98例はA群83例(84.7%), [BCD]群15例(15.3%), 既感染と現感染を合わせた24例はA群6例(25.0%), [BCD]群18例(75.0%)であった。新ABC分類をLZテストで行うと[BCD]群に分類される未感染がEプレートに比べ有意に多くなり($p=2.60 \times 10^{-4}$; Chi square test), A群に分類される既感染・現感染が少ない傾向があった。

考察

今回の検討により, LZテストにおける未感染の抗体価はEプレートに比べ有意に高く, LZテストの陰性高値内には未感染例がEプレートに比べ有意に多く含まれることが明らかになった。また, Eプレートの陰性高値には未感染の混入がきわめて少なく現感染・既感染が多く含まれることはこれまで多数の報告^{2)~4)}があるが, 今回の検討によりLZテストの陰性高値には未感染・既感染・現

感染が混在していることが明らかとなった。すなわち, LZテストの陰性高値はEプレートの陰性高値と同様に取り扱いすることはできないことが示唆された。

2005年井上らは抗体価による*H. pylori*感染判定と萎縮性胃炎の指標であるPG法⁶⁾を組み合わせ胃がんリスクを推定するABC分類を考案し, 胃がん有リスク者に対し内視鏡検査を推奨する新たな胃がん検診システム(以下, ABC検診と略)を提唱⁷⁾した。近年, ABC検診は, 任意型検診だけでなく, 受診率が低迷する胃X線検診を補完する形で対策型検診として多くの自治体や企業で採用⁸⁾されている。しかし, ABC検診が普及する一方で, 2010年頃より胃がん低リスクとされるA群(感染陰性かつPG法陰性の群)に含まれる胃がん高リスク者(以下, 偽A群と略)が無視できない割合で存在する実態^{9), 10)}が明らかとなり, ABC検診の根幹を揺るがす重大な問題^{11)~13)}として関連学会で議論されるに至っている。

2012年以降, ABC検診の運用法を見直して偽A群を減らす対策が複数提案された。見直し案の中心は抗体価のカットオフ値の引き下げであり, 新カットオフ値としていくつかの値が推奨^{14)~18)}されたが, 岡らは究極の値とも言うべきEプレートの測定下限3.0U/mlをカットオフ値として提案¹⁹⁾した。2015年「日本胃がん予知・診断・治療研究機構」は岡らの意見を取り入れカットオフ値3.0U/

mlを推奨²⁰⁾し、さらに「ABC分類運用ワーキンググループ」も新カットオフ値を3.0U/mlとする新ABC分類を発表⁴⁾した。ここで注意を要するのは、新ABC分類は栄研化学社製のEプレートで測定した抗体価を用いることが大前提であり、LZテストあるいは他社の抗体価測定キットでは陰性高値の存在すら証明されていない点である。

今回の検討により、LZテストの陰性高値は未感染・現感染・既感染が混在しており、Eプレートの陰性高値ほど効率よく胃がん高リスク者を特定できないことが示唆された。新ABC分類にLZテストを使用した場合、未感染がB群に混入する割合が多くなり胃がん低リスク者に精密検査を推奨する事例が増えることになることが考えられる。本来、ABC検診の重要な役割のひとつは、受診者の中から胃がん低リスクである未感染者を抽出し、内視鏡検査を中心とする精密検査から除外することで内視鏡医のマンパワーに見合った検査数に絞り込むことである。近年の*H. pylori*感染率は中学生で約5%、40歳代で約20%と報告^{21), 22)}されており、将来的にABC検診受診者に占める未感染者の割合は急速に増加することが予測される。今後、ABC検診には高い精度で未感染者をA群と判定することがより重要となることを考えると、新ABC分類によるABC検診はLZテストよりもEプレートで行うことが望ましいと思われる。すなわち、EプレートとLZテストの選択が可能な施設であれば、ABC検診ではEプレートを使用し、臨床においては迅速な感染判定が可能なLZテストを選択することが推奨される。

最後に、本検討は栄研化学社製の抗体価測定キットであるLZテストとEプレートとの単純比較であり、他社の抗体価測定キットでも同様の傾向があるかは不明である。

結語

LZテストは測定時間が早く汎用自動分析装置が使えるため、臨床において*H. pylori*感染診断としてLZテストを導入するメリットは大きい。しかし、胃癌リスクの有無が問題となるABC検診

においてはLZテストよりもEプレートの方が未感染の拾い上げの点で優れており、ABC検診はEプレートで行うことが望ましいことが示唆された。

本論文の要旨は第54回日本消化器がん検診学会大会 (JDDW2016) において発表した。

本論文内容に関連する著者の利益相反
: なし

文 献

- 1) 井上和彦, 前田憲男, 吉岡 毅, 他. *Helicobacter pylori*感染診断における「LZテスト‘栄研’H.ピロリ抗体」の有用性の検討. 医学と薬理 2015; 72: 331 - 337.
- 2) 大原信行, 関根和人. 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—. 日ヘリコバクター会誌 2015; 16: 18 - 25.
- 3) 乾 正幸, 大和田進, 乾 純和, 他. 血清ABC分類におけるA群のピロリ菌感染状態の解析と診断精度向上にむけて. 日ヘリコバクター会誌 2016; 17: 67 - 73.
- 4) 加藤勝章, 笹島雅彦, 伊藤公訓, 他. Eプレート‘栄研’H.ピロリ抗体IIの抗体価陰性高値の取扱いについて—胃がんリスク層別化のための血清*H. pylori*抗体価の適正な判定基準とは—. 日ヘリコバクター会誌 2017; 18: 64 - 71.
- 5) 鎌田智有. 胃炎の内視鏡所見 総論. 胃炎の京都分類, 春間 賢監, 日本メディカルセンター, 東京, 2014, 25 - 29.
- 6) Miki K, Ichinose M, Shimizu A, et al. Serum pepsinogens as a screening test of extensive chronic gastritis. Gastroenterol Jpn 1987; 22: 133 - 141.
- 7) 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—. 日消集検誌 2005; 43:

- 332 - 339.
- 8) 鈴木英雄, 齋藤洋子. 「胃がんリスク評価のABC分類」導入自治体の現状調査. 日消がん検診誌 2015; 53: 463 - 470.
 - 9) 山岡水容子, 中島滋美. 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. 日消がん検診誌 2011; 49: 20 - 31.
 - 10) 望月直美, 小林正夫, 西大路賢一, 他. 人間ドックにおける胃がんリスク評価 (ABC分類)の有用性と課題. 日消がん検診誌 2014; 52: 545 - 555.
 - 11) 一瀬雅夫. 胃癌リスク診断を巡って—いわゆるABC検診の問題点—. 日がん検診断会誌 2014; 21: 262 - 267.
 - 12) 一瀬雅夫. 胃癌発生の自然史から考える今後の胃癌対策. 日消がん検診誌 2015; 53: 357 - 364.
 - 13) 井上和彦, 乾 純和, 間部克裕, 他. 胃がんリスク検診 (ABC検診) マニュアル. 第2版, 日本胃がん予知・診断・治療研究機構編, 東京, 南山堂, 2014, 72 - 78.
 - 14) 千葉大輔. ABC検診における血清抗*H. pylori*抗体価のカットオフ値に対する検討. 日ヘリコバクター会抄録 2012; 68.
 - 15) 木村一史, 木村秀和. ABC検診における血清抗ヘリコバクター IgG抗体検査のcut off値について. 日ヘリコバクター会抄録 2013; 173.
 - 16) 近藤秀則, 米田昌道, 井上和彦. 対策型胃がん検診への胃がんリスク評価 (ABC分類)の導入—岡山県真庭市における現状と問題点—. 日消がん検診誌 2015; 53: 589 - 599.
 - 17) 藤田映輝, 大塚博紀, 河村正敏, 他. 胃がんリスク検診と上部消化管内視鏡での胃粘膜萎縮所見との関連—中・高度萎縮のA群への混入を減らすために—. 人間ドック 2015; 30: 38 - 45.
 - 18) 曾我忠司. 胃がんリスク診断: 追加基準による偽A群対策. 日消がん検診誌 2015; 53: 782 - 791.
 - 19) 岡 政志, 山道信毅. 「A群」の分類の試みおよび胃がん発症リスクについて. Gastroenterol Endosc 2015; 57 (Sppl. 2): 2084.
 - 20) 笹島雅彦, 伊藤史子, 乾 純和, 他. 胃がんリスク検診 (ABC検診) における*Helicobacter pylori*感染診断. Helicobacter Res 2015; 19: 578 - 585.
 - 21) 近藤秀則, 井上和彦. 中学生*Helicobacter pylori*検診と除菌治療—真庭市における3年間の成績—. 日ヘリコバクター会誌 2017; 18: 14 - 20.
 - 22) 鎌田智有, 春間 賢, 井上和彦, 他. 本邦における40年間の*H. pylori*感染率および組織学的胃炎の推移. 日ヘリコバクター会誌 2016; 17: 6 - 9.

論文受付 平成29年4月9日

同 受 理 平成29年6月1日

Is it possible to treat high negative titers in the new latex turbidimetric immunoassay as in ELISA?

Nobuyuki OHARA

Ohara Family Clinic

A serum *H. pylori* antibody titer measuring kit termed the “LZ test,” which is based on the principle of latex immunoassay (LIA), was launched in 2014. The LZ test is a different measuring system from that of the E Plate of the conventional ELISA; thus, findings from the E Plate cannot necessarily be used in the LZ test. In this study, we examined whether high negative titers in the LZ test (antibody titers of 3.0–9.9 U/ml) can be treated in the same manner as those in the E Plate. The subjects were 260 patients of whose antibody titers were measured by both of these methods at the same time and at least one of the two titers were under 10 U/ml. The antibody titers, the constituent ratios of *H. pylori* infection statuses within high negative titer groups and the results based on the “New ABC classification” system (cut-off value, 3.0 U/ml) were compared. The numbers of uninfected subjects included in the high negative titer groups were 0 with the E Plate and 16 (22.5%) with the LZ test. When the new ABC classification was applied to 98 uninfected subjects, there were 97 subjects (99.0%) in the A group and 1 (1.0%) in the D group for the E Plate and 83 subjects (84.7%) in the A group and 15 (15.3%) in the combined BCD group for the LZ test. Many uninfected subjects are included in the high negative titer group when using the LZ test, and when the new ABC classification is applied with the LZ test, the ratio of uninfected subjects for whom close examination is recommended will increase. Therefore, to perform screening wherein uninfected subjects account for most of the population, use of the E Plate is desirable.

Keywords : *Helicobacter pylori*, serum antibody titer, ABC classification, E Plate, LZ test