<短 報>

高感度 HBs 抗原測定試薬 (BLEIA 法) を用いた検出性能に関する評価

海嶋 照美¹⁾ 藤井 紀子¹⁾ 永島慎太郎¹⁾ 片山 恵子¹⁾
神山 道信²⁾ 大熊 博²⁾ 田中 純子^{1)*}

緒言：厚生労働省健康増進事業に基づく肝炎ウイルス検診等実施要領¹⁾では、HBs 抗原検査は凝集法等を用いて、HBs 抗原の検出を行い陽性又は陰性を判定することとなっている。無症状の住民を対象とした集団検診においては高感度の HBs 抗原測定は必須とはいえず²⁾、凝集法等による HBs 抗原陽性と判定された場合に医療機関受診を勧奨することにより所期の目的を達する。一方、HBV 再活性化の予防診断や慢性 B 型肝炎のモニタリングとしては HBV DNA 量が用いられているが、HBV DNA の感度に相当し、かつ動態を反映しうる HBs 抗原測定が可能であれば、安価で簡便なモニタリングとなり得る。

今回、HBV 感染早期の動態を経時的に観察したチンパンジーの血漿検体³⁾を用いて HBV DNA 量と、microparticle enzyme immunoassay (MEIA 法；以下 MEIA) による HBs 抗原及び生物発光酵素免疫測定法 Bioluminescent enzyme immunoassay (BLEIA 法；以下 BLEIA) による HBs 抗原について感度及び経時的動態の比較検討を行った。

対象および方法：1. 対象：

HBV 最小感染価を明らかにする目的で実施したチンパンジーを用いた感染実験³⁾で採取後、凍結保存したチンパンジー血漿検体を対象とした。この実験では、ヒト HBV 陽性血漿 Genotype A をチンパンジー No. 246, 279 および 280 の 3 頭にそれぞれ 6.9×10^4 copies, 10 copies, 10 copies, また、ヒト HBV 陽性血漿 Genotype C を No. 272, 269 および 285 の 3 頭にそれぞれ 2.7×10^6 copies, 10 copies, 10 copies 接種した。接種直後から 2 日～1 週間の間隔で採取した最大 441 日目までの HBV 感染早期の血漿検体計 281 例を対象とした。

2. 方法：

HBV DNA の定量は TaqMan[®]PCR(カットオフ値 2.1 log copies/ml, ロッシュ・ダイアクノスティックス(株))、HBs 抗原は BLEIA 法 (BLEIA[®]；カットオフ値 0.005 IU/ml, 栄研化学(株))および MEIA 法 (AXSYM[®], カットオフ値 1 S/CO, アボットジャパン(株))で測定した。また、HBc 抗体と HBs 抗体の測定は MEIA 法 (AXSYM[®], アボットジャパン(株))を用いた。各試薬の判定基準を合わせるため、カットオフ値を 1 としたカットオフインデックス値 (シグナル比=S/CO) の推移で比較した。

結果：HBV 感染初期における血漿中の HBV DNA 量と HBs 抗原測定結果を比較した (Fig. 1)。HBV genotype A を接種した No. 246・279・280 の 3 頭では、HBV DNA が検出感度 10^2 copies/ml 以上となったのは接種後 17, 55, 76 日であり、HBs 抗原が cut off 以上となったのは、MEIA では、35, 69, 97 日、BLEIA では、それぞれ 23, 57, 76 日であった。一方、genotype C を接種した No. 272・269・285 の 3 頭では、HBV DNA が検出感度 10^2 copies/ml 以上となったのは、それぞれ 6, 35, 43 日であり、HBs 抗原が cut off 以上となったのは、MEIA では、22, 50, 64 日、BLEIA では、それぞれ 13, 41, 50 日であった。HBV DNA 及び HBs 抗原のいずれも genotype C に感染した個体が、genotype A に感染した個体より早期に検出された。HBV genotype A あるいは genotype C に感染したチンパンジーの感染早期の動態では、BLEIA による HBs 抗原は、HBV DNA より遅く検出されたが、MEIA による HBs 抗原より早期に検出可能であった。

HBV Genotype A に感染した No. 246 および HBV Genotype C に感染した No. 272 の経過をみると、感染初期ではいずれも HBV DNA 量と HBs 抗原測定値は直線的に増加し、HBc 抗体の出現と同時期に増加が止まった。HBV DNA 量の動態と BLEIA による HBs 抗原測定値の動態は非常に近似しており、HBc 抗体が出現するまでの 93 検体を対象に、HBV DNA 量と BLEIA

1) 広島大学大学院医歯薬保健学研究院疫学・疾病制御学

2) 栄研化学株式会社研究開発統括部

*Corresponding author: jun-tanaka@hiroshima-u.ac.jp

<受付日2015年8月13日><採択日2015年12月8日>

Fig. 1 Comparison of the cutoff index value in the detection early stage of HBV infection.

Fig. 2 Correlation between HBsAg (BLEIA) and HBV DNA

による HBs 抗原測定値 (Log (mIU/mL)) を Fig. 2 に示した。両測定値の相関性が高く (回帰式 $r=0.981$, $y=0.967x-1.816$)、BLEIA による検出感度 0.005 IU/ml は HBV DNA 400 copies/ml に相当すると推定された。

考察：B 型肝炎ウイルス (HBV) はヒト以外ではチンパンジーに感染することが知られており、ヒトの代

替動物として 1970 年代よりチンパンジーを用いた感染実験が行われ⁴⁾、ヒトの HBV 感染病態を明らかにしている。独立行政法人理化学研究所が 2002 年 1 月に発表したチンパンジーとヒトのゲノムの相同性は 98.77% と高い値を示している。これまで我々は 2000～2006 年度にチンパンジーを用いた感染実験を行い、チンパンジー血漿は生化学検査値には差異はないこと、遠心分離後の血漿回収率が低い傾向にあること等を認めて

いる. チンパンジーにおける血中の HBV 動態はヒト検体と同一であると判断して, チンパンジー血漿を用いた評価を行った.

本研究において HBc 抗体が出現するまでの HBV 感染早期の HBV DNA と HBs 抗原の動態をみると, BLEIA の検出感度 0.005 IU/ml は HBV DNA の 400 copies/ml 相当と推定され, ヒト検体を用いた Minekawa らの報告⁵⁾による BLEIA と同等の感度を認めた. TaqMan[®]PCR による HBV DNA の検出感度が 100 copies/ml であることから, BLEIA は高感度であると考えられた.

HBV の感染早期を経時的に追跡して採取したチンパンジー血漿を用いて高感度 HBs 抗原を測定した結果, HBV DNA に比べて検出感度は劣るが, 従来の免疫測定試薬に比べ, HBV の早期検出が可能となり, かつ HBV DNA と良好な経時的動態の相関性を示した. HBs 抗原の消失などを含む慢性 B 型肝炎の長期病態の経過をみる指標として本法による HBs 抗原の測定は有用であると考えられた.

索引用語:

HBs 抗原,
Bioluminescent enzyme immunoassay (BLEIA),
チンパンジー

文献: 1) 厚生労働省. 平成 26 年 3 月 31 日; 健発 0331 第 39 号 2) 田中純子. 「厚生労働科学研究費補助金肝炎等克服政策研究事業 「急性感染も含めた肝炎ウイルス感染状況・長期経過と治療導入対策に関する研究」 平成 26 年度 総括・分担研究報告書」 p71—84 3) Komiya Y, Katayama K, Yugi H, et al. *Transfusion* 2008; 48: 286—294 4) Wieland SF. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2015; 5 (6): 1—19 5) Minekawa T, Takehara S, Okamoto H, et al. *CVI* 2013; 20: 1255—1265

本論文内容に関連する著者の利益相反: なし

英文要旨

Evaluation of the sensitivity of bioluminescent enzyme immunoassay for the detection of hepatitis B surface antigen

Terumi Kaishima¹⁾, Toshiko Fujii¹⁾,
Shintaro Nagashima¹⁾, Keiko Katayama¹⁾,
Michinobu Kamiyama²⁾, Hiroshi Okuma²⁾,
Junko Tanaka^{1)*}

The aim of this study was to evaluate the sensitivity of the bioluminescence enzyme immunoassay for the detection of hepatitis B surface antigen (BLEIA[®] EIKEN HBsAg) and to compare the sensitivity with microparticle enzyme immunoassay (MEIA). Samples were collected during the early infection phase from six chimpanzees infected with hepatitis B virus (HBV) genotype A or genotype C. In the early infection phase, there was a direct correlation between HBV DNA and HBsAg until the appearance of anti-HBc and anti-HBs. The cut off value of BLEIA, 0.005 IU/mL, was estimated to correspond to 400 copies/mL. BLEIA detected HBsAg earlier than other methods. Therefore, the measurement of HBsAg by BLEIA is suggested to be useful for the investigation of HBV infection.

Key words: hepatitis B surface antigen,
bioluminescent enzyme immunoassay,
chimpanzee

Kanzo 2016; 57: 42—44

- 1) Department of Epidemiology Infectious Disease Control and Prevention, Institute of Biomedical and Health Sciences, Hiroshima University, Hiroshima, Japan
- 2) Research & Development Division, Eiken Chemical CO., LTD., Tochigi, Japan

*Corresponding author: jun-tanaka@hiroshima-u.ac.jp