

原 著

当センターにおけるB型肝炎マーカー検査の現況 ～免疫抑制・化学療法により活性化するB型肝炎対策に関連して～

臨床検査科

四 井 昭 二 入 汐 弘 美 松 田 忠 司 小 倉 眞 紀 今 西 啓 子
岡 田 倫 之

Status of hepatitis B maker tests at Osaka General Medical Center—as related to prevention of
hepatitis B virus reactivation by immunosuppressive therapy—

Shoji Yotsui, Hiromi Irishio, Tadashi Matsuda, Maki Ogura, Keiko Imanishi, Noriyuki Okada

Abstract

Patients with a history of hepatitis B virus (HBV) infection who receive immunosuppressive therapy have recently been at risk of HBV reactivation. The Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan formulated the guidelines for prevention of hepatitis B virus reactivation with immunosuppressive therapy in 2009. The Japan Society of Hepatology published guidelines for management of HBV Infection in 2011 and 2015. Examination of only two hepatitis B markers (HBsAg/HBsAb or HBsAg/HBcAb) is insufficient for prevention of HBV reactivation. At Osaka General Medical Center, a message alert system has been introduced to order tests for HBV markers when immunosuppressive drugs are prescribed. In July 2015, 12.5% of patients were tested for only two hepatitis B markers., and 87 out of 297 HBsAg (–) patients were HBsAb (+) and/or HBcAb (+). Moreover, one out of nine HBsAg (–) /HBsAb (–) /HBcAg (+) patients proved to be positive for HBV-DNA. There were differences in the numbers of tested hepatitis B markers among immunosuppressive agents. We should check three hepatitis B markers (HBsAg, HBsAb and HBcAb) based on guideline before immunosuppressive therapy to prevent HBV reactivation.

Key words : hepatitis B virus marker, HBsAg, HBsAb, HBcAb, de novo hepatitis B

要 旨

免疫療法や化学療法など宿主免疫を強力に抑制する治療によるHBVキャリア患者のHBV再活性化や既往感染患者のHBV再活性化によるde novo B型肝炎が問題となっている。これに対して厚生労働省は2009年に免疫抑制・化学療法に発

症するB型肝炎対策ガイドラインを策定した。日本肝臓学会でも2011年とその改訂版を2015年にB型肝炎治療ガイドラインを策定した。HBVの再活性化を予防するにはHBs抗原とHBs抗体あるいはHBs抗原とHBc抗体の2項目では不十分で、3項目が必要とされている。当センターでも免疫抑制薬

を処方する際にB型肝炎マーカーの検査オーダーを促すメッセージが出るシステムが導入された。2015年7月で見ると12.5%の患者が2項目しか検査されていなかった。297例のHBs抗原陰性患者の87例にHBs抗体、HBc抗体の両方あるいはいずれかの陽性がみられた。さらに9例のHBs抗原陰性/HBs抗体陰性/HBc抗体陽性の患者の1例でHBV-DNAが陽性であった。使用薬剤から検査状況を調査した結果、薬剤によって検査実施状況に差がみられた。免疫療法や化学療法を実施する際にはHBV活性化を予防するためにHBs抗原、HBs抗体、HBc抗体の3項目を検査する必要がある。

は じ め に

近年、免疫療法や化学療法の著しい進歩に伴い、これら治療によるB型肝炎ウイルス（HBV）キャリアのHBV再増殖による重症肝炎、既往感染者のHBV再活性化が惹起され肝炎が再燃するde novo B型肝炎が問題となっている。持田によるとde novo 肝炎発症にエンテカビル投与が必要な再活性化の頻度はリツキシマブ、副腎皮質ホルモン投与で8%、化学療法で3～4%、固形癌で1～2%と報告されている¹⁾。これらの発症を防ぐ対策が重要であり、2009年1月に「免疫抑制・化学療法に発症するB型肝炎対策ガイドライン（厚生労働省研究班）」が策定された²⁾。当センターにおいても2015年7月、B型肝炎再活性化対策委員会によりガイドラインに従って対象薬剤を処方した際に、再活性化の阻止に必要なHBV関連マーカー測定依頼を促すアラームが出される仕組みが構築された。今回、当センター臨床検査科にオーダーされたHBV関連マーカー検査の現況について、上記ガイドラインに準じた項目を中心に検討を行ったので報告する。

対 象 と 方 法

1. 対象

2010年1月から2014年12月の5年間に当センター臨床検査科へオーダーのあったB型肝炎マーカー検体98,832件、2015年7月1ヶ月間にオーダーのあった2,723件、2012年8月から2015年7月までの3年間にオーダーのあったHBs抗原検査46,584件を対象とした。

2. 測定方法

対象項目：HBs抗原、HBs抗体、HBc抗体、HBe抗原、HBe抗体、HBcIgM抗体

測定機器：ARCHITECT i2000SR（アボット ジャパン株式会社）

測定原理：化学発光免疫測定法（Chemiluminescent immuno assay：CLIA）日本肝臓学会 B型肝炎治療ガイドライン 準拠法

測定試薬（カットオフ値）：HBs抗原：アーキテクト®・HBsAg QT（0.05IU/ml）、HBs抗体：アーキテクト®・オーサブ®（10.00mIU/ml）、HBc抗体：アーキテクト®・HBc II（1.0S/CO）、HBe抗原：アーキテクト®・HBeAg（1.0S/CO）、HBe抗体：アーキテクト®・HBeAb（50%INH）、HBcIgM抗体：アーキテクト®・HBc-M（1.0S/CO）（アボット ジャパン株式会社）

HBV-DNA：TaqMan PCR法（測定原理：ロシュ/リアルタイムPCR法、外注先：株式会社LSIメディエンス）

結 果

1. 2010年1月から2014年12月の5年間の各マーカー検査件数の推移（図1）

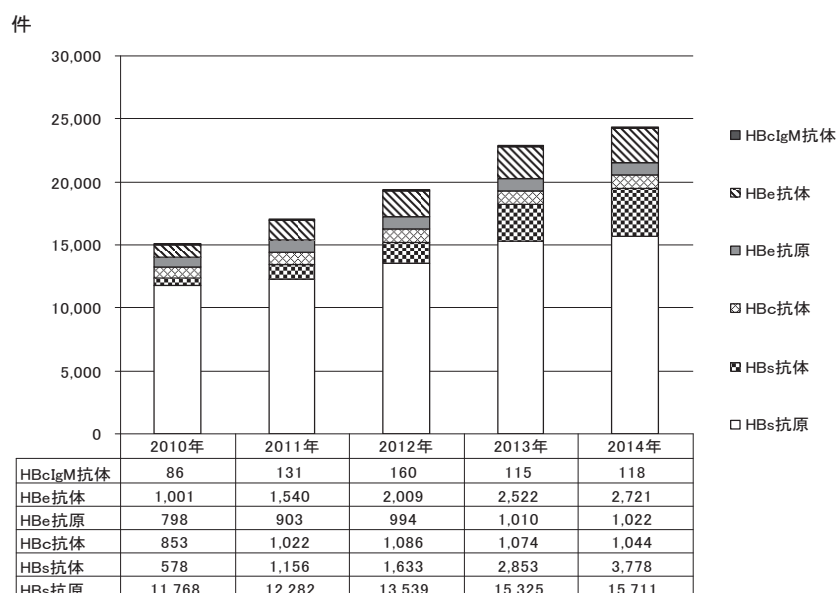


図1 B型肝炎マーカー年別推移

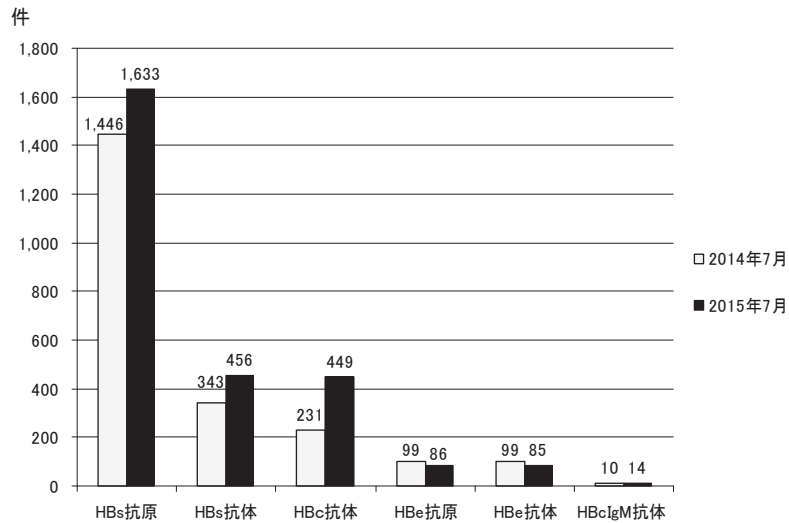


図2 2014年7月と2015年7月の件数比較

全体及び全項目とも増加傾向が見られた。全件では、2010年の15,084件から2014年の24,394件と61%の増加が見られ、HBs抗原で1.3倍、HBs抗体で6.5倍に増加したが、HBc抗体は1.2倍にとどまった。

2. 2014年7月と2015年7月の各マーカー検査件数の比較 (図2)

HBV関連マーカー測定オーダーのアラームが出された2015年7月と前年の7月を比較すると、HBs抗原、HBs抗体、HBc抗体の各項目で増加が見られたが、なかでもHBc抗体が1.9倍と著しく増加した。

3. 2015年7月の肝炎マーカー6項目の陽性率

2015年7月にオーダーされた肝炎マーカー項目は2,723件であり、HBs抗原検査は1,535件中98件が陽性で陽性率6.0%、HBs抗体23.2%、HBc抗体29.6%、他項目の陽性率は、表1に示す結果となった。

表1 2015年7月 各項目陽性率

	HBs抗原	HBs抗体	HBc抗体	HBe抗原	HBe抗体	HBcIgMAb
陽性件数	98	106	133	14	60	1
陰性件数	1,535	350	316	72	25	13
計	1,633	456	449	86	85	14
陽性率(%)	6.0	23.2	29.6	16.3	70.6	7.1

表2 2015年7月 3項目全てにオーダーがあった296例の内訳

HBs抗原(+) 18 (6.1%)				HBs抗原(-) 278 (93.9%)			
HBs抗体(+) 2 (0.7%)		HBs抗体(-) 16 (5.4%)		HBc抗体(+) 67 (22.6%)		HBc抗体(-) 211 (71.3%)	
HBc抗体(+)	HBc抗体(-)	HBc抗体(+)	HBc抗体(-)	HBc抗体(+)	HBc抗体(-)	HBc抗体(+)	HBc抗体(-)
2 (0.7%)	0 (0%)	16 (5.4%)	0 (0%)	55 (18.8%)	12 (4.0%)	20 (6.8%)	191 (64.5%)

4. 2015年7月におけるHBs抗原、HBs抗体、HBc抗体の同時オーダー例の内訳

2015年7月にHBs抗原、HBs抗体、HBc抗体すべてにオーダーがあった296例の結果を調査した。3項目とも陰性が最も多く191例(64.5%)であったが、HBs抗原陰性でHBs抗体、HBc抗体の両方またはいずれかで陽性であったものが87例(29.4%)あった。(表2)

そこで、HBs抗原陰性でHBs抗体、HBc抗体のいずれか、または両方陽性であった87例について疾患、使用薬剤等の背景について調査した。(表3)

87例中肝疾患は17例あり、再活性化が問題となる薬剤の使用を44例に認めた。

5. 2015年7月におけるHBs抗原とHBs抗体、HBs抗原とHBc抗体の同時オーダー例の内訳 (表4)

2015年7月にHBs抗原とHBs抗体のオーダーがあった79

表3 2015年7月 HBs抗原陰性でHBs抗体HBc抗体両方またはいずれかで陽性であった87例の内訳

HBs抗原(-)、HBs抗体(+)、HBc抗体(+)55例 (男性34人、女性21人、年齢40~88才)

	薬剤あり	薬剤なし
外科系	14	2
免疫系	4	1
泌尿器系	2	0
肝疾患	6	6
その他	9	11

HBs抗原(-)、HBs抗体(+)、HBc抗体(-)12例 (男性6人、女性6人、年齢30~83才)

	薬剤あり	薬剤なし	HBVワクチン
外科系	0	1	0
免疫系	1	1	0
泌尿器系	1	0	0
肝疾患	1	0	2
その他	2	3	0

HBs抗原(-)、HBs抗体(-)、HBc抗体(+)20例 (男性15人、女性5人、年齢57~93才)

	薬剤あり	薬剤なし
外科系	0	5
免疫系	4	2
泌尿器系	0	2
肝疾患	0	2
その他	0	5

例、及びHBs抗原とHBc抗体のオーダーがあった73例の結果を調査した。HBs抗原陰性、HBs抗体陰性でHBc抗体の結果が不明な36例、HBs抗原陰性、HBc抗体陰性でHBs抗体の結果が不明な56例を認めた。

6. HBs抗原、HBs抗体、HBc抗体3項目いずれかで陽性であった例のHBV-DNA検査結果(表5)

2015年7月に、3項目のいずれかで陽性であった105例について、HBV-DNA検査(Taqman PCR法)の有無と検査結果を調査した。105例中49例でHBV-DNA検査が実施された。HBs抗原陰性、HBs抗体陰性、HBc抗体陽性の9例中1例にHBV-DNA陽性が認められた。その患者は胃癌により胃全摘を受け、約5年経過しており、化学療法等は受けていない。

表4 2015年7月 2項目にオーダーがあった内訳

HBs抗原とHBs抗体にオーダーがあった79例の内訳

HBs抗原(+) 29 (36.7%)		HBs抗原(-) 50 (63.3%)	
HBs抗体(+)	HBs抗体(-)	HBs抗体(+)	HBs抗体(-)
2 (2.5%)	27 (34.2%)	14 (17.7%)	36 (45.6%)

HBs抗原とHBc抗体にオーダーがあった73例の内訳

HBs抗原(+) 2 (2.7%)		HBs抗原(-) 70 (97.3%)	
HBc抗体(+)	HBc抗体(-)	HBc抗体(+)	HBc抗体(-)
2 (2.7%)	0 (0%)	15 (20.6%)	56 (76.7%)

7. 2012年8月から2015年7月までの3年間のHBs抗原結果の陽性化症例(図3)

2012年8月から2015年7月までの3年間にオーダーされたHBs抗原検査46,584件を調べた結果、陰性結果が陽性化した症例が2例あり、そのうちの1例は薬剤が原因と考えられた。

[症例]

70歳代の女性。乳癌を疑われ受診。

初診時の検査でHBs抗原陰性(0.04IU/ml)であった。

乳癌に対して、右乳房円状部切除手術を受け、1ヶ月半後より化学療法が開始された。化学療法開始5ヶ月後、HBs抗原陽性(10.06IU/ml)、HBV-DNA 2.1 Log copies/ml(Taqman PCR法)と陽性化した為、抗ウイルス療法(エンテカビル)

表5 3項目中いずれかで陽性であった例中、HBV-DNAの依頼があった例

HBs抗原(+), HBs抗体(+), HBc抗体(+)

例数	
HBV-DNA (+)	1
HBV-DNA (-)	1
合計	2

HBs抗原(-), HBs抗体(+), HBc抗体(+)

例数	
HBV-DNA (+)	0
HBV-DNA (-)	20
合計	20

HBs抗原(-), HBs抗体(-), HBc抗体(+)

例数	
HBV-DNA (+)	1
HBV-DNA (-)	8
合計	9

HBs抗原(+), HBs抗体(-), HBc抗体(+)

例数	
HBV-DNA (+)	10
HBV-DNA (-)	4
合計	14

HBs抗原(-), HBs抗体(+), HBc抗体(-)

例数	
HBV-DNA (+)	0
HBV-DNA (-)	4
合計	4

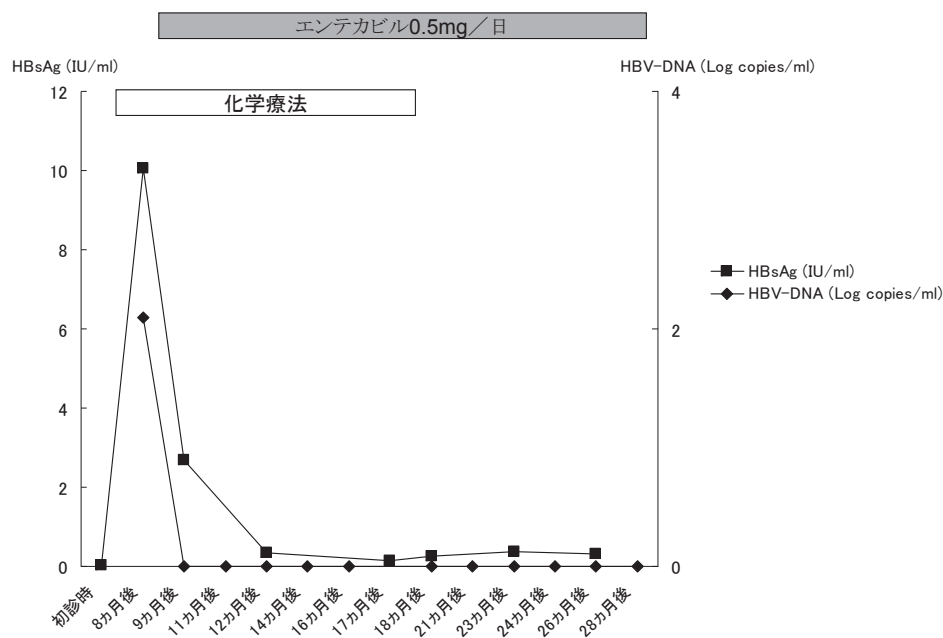


図3 陽転化症例でのHBs抗原とHBV-DNAの推移

が開始された。化学療法は開始から1年2ヶ月後に終了した。化学療法終了から10ヶ月経過した現在までエンテカビルが継続されている。一方、HBV-DNA検査ではエンテカビル導入後1ヶ月より<2.1 Log copies/ml（検出）となり、1～3ヶ月ごとに測定され、DNA量は<2.1 Log copies/ml（検出または検出せず）で現在まで継続している。

8. 主な薬剤使用時の検査オーダーについて（表6）

2015年7月に免疫抑制剤であるエベロリムス、タクロリムス、シクロスポリンを使用した患者について、病院情報検索支援システムPC-KAGLAを用いてHBs抗原、HBs抗体、HBc抗体の検査状況を抽出した。エベロリムス、タクロリムス使用患者については、HBs抗原、HBs抗体、HBc抗体の3項目がそれぞれ97.7%、89.1%と高い率でオーダーされていた。一方でシクロスポリンでは3項目オーダーは59.7%にとどまり、薬剤により肝炎マーカーのオーダー率に差が見られた。また高い確率で肝炎の再活性化を来すことがあるリツキシマブは、1例に使用され、3項目とも検査オーダーされていた。

表6 薬剤使用症例での検査実施状況

検査項目	エベロリムス		シクロスポリン		タクロリムス	
	例数	%	例数	%	例数	%
HBs抗原+HBs抗体+HBc抗体	42	97.7	89	59.7	57	89.1
HBs抗原+HBs抗体	0	0.0	3	2.0	1	1.6
HBs抗体+HBc抗体	0	0.0	3	2.0	0	0.0
HBs抗原	1	2.3	42	28.2	5	7.8
未検査	0	0.0	12	8.1	1	1.6

考 察

免疫抑制剤・化学療法によるHBV再活性化対策として、ガイドラインが2009年1月に厚生労働省研究班より、また2013年5月に日本肝臓学会より治療ガイドラインが公表され、2015年5月には厚生労働省ガイドラインの改訂版である第2.1版が公表された。リウマチ学会からも2011年9月にB型肝炎ウイルス感染リウマチ性疾患患者への免疫抑制療法に関する提言が提示された。これらガイドラインでは、HBs抗原陰性であっても、その中にHBs抗体、HBc抗体が陽性である既往感染者が存在し、既往感染者に化学療法・免疫療法をおこなえば、HBVが再活性化し重篤な肝障害を引き起こす場合がある為、HBs抗原陰性の場合には必ずHBs抗体、HBc抗体の測定を行い既往感染の有無をチェックする事が示されている。2010年から2014年の5年間のB型肝炎マーカー件数の増加、中でもHBs抗体の6.5倍、HBc抗体の1.2倍へ増加し、延入院患者数の2010年256,296人から2014年261,329人への1.02倍の増加や延外来患者数の2010年284,457人から2015年の304,639人への1.07倍の増加に比べて高い増加であったことは、上記も一つの要因と考えられる。また、2015年7月と1年前である2014年7月との項目別件数比較で、HBc抗体が約

2倍と他の肝炎マーカー項目より増加率が高かった。HBs抗体は従来よりHBs抗原と同時にオーダーされる事が多かったが、HBc抗体は対象薬剤を処方した際に、HBV関連マーカー測定オーダーを促すアラームが出される仕組みが出来た事により増えた事が考えられる。

6項目のうちHBs抗体、HBc抗体の陽性率がHBs抗原の陽性率の約5倍以上であるのはHBVの既往感染者が多く、de novo 肝炎発症に注意が必要である根拠となっている。当センターにおいてHBs抗原、HBs抗体、HBc抗体全てに依頼があった296例中、HBs抗原が陰性であった278例のうち、HBs抗原陰性でHBs抗体、HBc抗体のいずれか、または両方で陽性であったものが87例あった。そのうち44例でRA、皮膚筋炎、急性進行性腎炎、肺癌、結腸癌に対し免疫抑制剤、副腎皮質ホルモン、抗悪性腫瘍剤、抗リウマチ剤が投与されていた。上記87例中、33例においてHBV-DNA検査オーダーがあり、HBc抗体のみ陽性の1例でHBV-DNAの検出が見られた。HBc抗体を測定しないと、このような症例を見逃してしまう可能性が有る。

HBs抗原以外に、HBs抗体、HBc抗体の何れか1項目のオーダーが152例あった中でHBs抗原陰性、HBs抗体陰性が36例であり、HBs抗原陰性でHBc抗体陰性が56例であった。これら92例はそれぞれHBc抗体、HBs抗体検査を行っていない点で、既往感染者である可能性が否定できない例と言える。

2012年8月から2015年7月までの3年間にオーダーされたHBs抗原検査を調べた結果、抗悪性腫瘍剤が投与され陰性が陽性化した症例（図3）において、初回HBs抗原検査の値が0.04 IU/mlとカットオフ値0.05 IU/mlをわずかに下回った。その時点でHBs抗体、HBc抗体が行われていたなら、HBV-DNAを早期に検出出来たかもしれない。

今回調査した中で結果に示さなかったが、薬剤使用があるにもかかわらず、肝炎マーカーをHBs抗原とHBs抗体、HBc抗体の何れか一方しか測定していない例が12.5%見られた。HBV再活性化を見逃すリスクが高まると考える。また、最近HBs抗体、HBc抗体の検査データが測定方法により差があることが報告された^{3, 4)}。いずれも国内シェアの高い方法での比較であり、当検査室で測定している方法も含まれている。HBs抗体では当検査室で測定している方法（アーキテクト®）と、ルミパルス®（富士レジオ社）との比較を行った結果で、両方法の一致率は92.9%と報告されている。不一致の理由としては、HBVの遺伝子型により検出感度が異なる事が一因として挙げられている。HBc抗体ではアーキテクト®とルミパルス®、HISCL®（Sysmex社）の3方法での比較であり、HBs抗体の一致率は、アーキテクト®とルミパルス®で96.1%、アーキテクト®とHISCL®で79.2%と報告されている。不一致の理由として測定試薬でのIgM型HBc抗体検出の感度が挙げられている。いずれも偽陽性、偽陰性を含み今後

の標準化が望まれている。

肝炎マーカー検査では、カットオフ値付近を含めた測定結果にはバラツキを生じることを考慮しなくてはならない。とくにHBs抗体、HBc抗体検査において偽陰性となる場合があり、HBs抗体、HBc抗体とを同時に測定する事が重要である。化学療法歴のある症例、免疫抑制状態にある症例ではHBs抗体、HBc抗体の抗体価が低下している場合がある。その為、初回化学療法の段階からHBs抗体、HBc抗体のチェックが必要である。

以上の事からHBVキャリアおよび既往感染者のHBV再活性化による肝炎を予防するためには、「免疫抑制剤・抗癌剤により発症するB型肝炎対策ガイドライン」に従いHBs抗原陰性であった場合、必ずHBs抗体、HBc抗体測定が必要であると考ええる。

ま と め

化学療法、免疫療法が広く行われるようになり、治療に使用される薬剤による肝炎の再燃を念頭に置く必要が有る。劇症化しやすく予後不良であるde novo B型肝炎を起こす可能性が有るHBs抗原陰性の既往感染例に関してはとくに注意を払う必要が有る。HBs抗体、HBc抗体検査を行う事によるB型肝炎既往例の把握、注意深いモニタリング等のガイドラインに沿った対応が必要であると考ええる。検査室としては、ガ

イドライン徹底の為の各診療科への情報提供、検体数増加への対応、より感度の優れたHBs抗原試薬の検討、加えてHBs抗体、HBc抗体の標準化を検討する予定である。

文 献

- 1) 持田智：B型肝炎ウイルス感染症 一再活性化，肝炎劇症の実態と対策一，第89回日本感染症学会学術講演会，2015
- 2) 坪内博仁，熊田博光，清澤研道，持田智，坂井田功，田中榮司，市田隆文，溝上雅史，鈴木一幸・他：免疫抑制・化学療法により発症するB型肝炎対策—厚生労働省「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究」班 劇症肝炎分科会および「肝硬変を含めたウイルス性疾患の治療の標準化に関する研究班」班合同報告，肝臓 50，38－42，2009
- 3) 大根久美子，可児里美，大橋実，新海登，井上貴子，脇本幸夫，田中靖人：HBs抗体の測定方法間差～HBワクチン接種者由来モノクローナルHBs抗体を用いた検証，臨床病理 63，907－912，2015
- 4) 岩瀬友也，大根久美子，小池史泰，可児里美，脇本幸夫，田中靖人：各種HBc抗体試薬の性能比較—低力価試料を用いた特異性評価一，医学検査 64，605－609，2015