

原 著

## *Helicobacter pylori* 感染の診断におけるモノクローナル抗体を用いた 便中 *Helicobacter pylori* 抗原測定法と迅速ウレアーゼ試験との比較検討

東京女子医科大学東医療センター検査科

\*東京女子医科大学東医療センター病院病理科 (指導: 芳賀駿介教授)

サカモト	テルヒコ	カトウ	ヒロユキ	ヤマダ	リエ	コ
坂本	輝彦	・加藤	博之	・山田	理恵子	
ツノダ	チヒロ	アイバ	モトヒコ	ハガ	シュンスケ	
角田	千尋	・相羽	元彦*	・芳賀	駿介	

(受理 平成 19年 5月 22日)

### Comparison of a Monoclonal Stool Antigen Test and a Rapid Urease Test in the Diagnosis of *Helicobacter pylori* Infection

Teruhiko SAKAMOTO, Hiroyuki KATO, Rieko YAMADA,  
Chihiro TSUNODA, Motohiko AIBA\* and Shunsuke HAGA

Department of Clinical Laboratory, Tokyo Women's Medical University Medical Center East

\*Department of Surgical Pathology, Tokyo Women's Medical University Medical Center East

Our aim is to compare the diagnostic accuracies of a monoclonal *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) stool antigen test (mHpSAT) and a rapid urease test (RUT) in the detection of *H. pylori* infection. In the untreated patients, both mHpSAT and RUT were equally useful for the detection of *H. pylori* infection. However in the patients who underwent eradication therapy, mHpSAT was significantly better than RUT with regard to the efficiency, specificity and false positive rate. Therefore we concluded that mHpSAT is an accurate non-invasive method both for the initial diagnosis of *H. pylori* infection and confirmation of its eradication after therapy.

**Key words:** diagnostic accuracy, monoclonal *Helicobacter pylori* stool antigen test, rapid urease test

#### はじめに

*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) 感染の診断は、2003年日本ヘリコバクター学会ガイドライン (ガイドライン)<sup>1)</sup>によれば、新たに便中 *H. pylori* 抗原測定法が追加された。内視鏡を用いる侵襲的検査法では、迅速ウレアーゼ試験 (rapid urease test; RUT)、培養法、鏡検法が、内視鏡を使用しない非侵襲的検査法では、便中 *H. pylori* 抗原測定法、尿素呼気試験、抗 *H. pylori* 抗体測定が推奨されている。しかし、非侵襲的検査法が望まれる中で、RUT が頻用されている。今回われわれは、新たにガイドラインに追加され、これまで十分に比較検討されていないモノクローナル抗体を用いた便中 *H. pylori* 抗原測定法 (monoclonal *H. pylori* stool antigen test; mHpSAT) と RUT を比較検討し、mHpSAT の有用性を検討した。

#### 対象と方法

##### 1. 対象

2005年5月~2006年5月までに東京女子医科大学東医療センターにおいて上部消化管内視鏡検査を施行され、*H. pylori* 感染の診断として、RUTが必要であるか、もしくはRUTを希望した症例で、mHpSATを同時期に施行した57例を対象とした。内訳は、男性35例、女性22例で、除菌前後で測定した重複例が8例あり、計65検体をprospectiveに検討した。すなわち、49検体 (男性32、女性17) が *H. pylori* 感染の除菌前診断 (感染診断)、16検体 (男性9、女性7) が感染診断+除菌後診断 (除菌判定) である。なお、全例から文書によるインフォームドコンセントを得た。また、ヘルシンキ宣言に基づき研究を施行した。

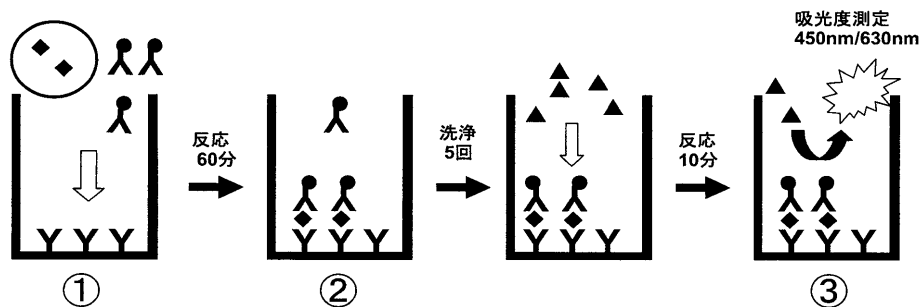


図 テストメイトピロリ抗原 EIA<sup>®</sup> キットの測定方法

①マイクロプレートに固相化された抗 *H. pylori* 抗体と、検体中の *H. pylori* 抗原および酵素標識した抗 *H. pylori* 抗体を反応させる（反応時間 60 分）。

②「固相化抗体-抗原-酵素標識抗体」からなる免疫複合体を形成する。その免疫複合体に含まれる酵素の量は抗原量を反映する。

③その酵素活性を基質液（テトラメチルベンジジン-過酸化水素）を用いて発色させることにより、糞便中の *H. pylori* 抗原の有無を判定する（反応時間 10 分）。

Y 固相抗体：抗 *H. pylori* マウスモノクローナル抗体、◆ *H. pylori* 抗原：糞便中の native カタラーゼ、● 酵素標識抗体：ペルオキシダーゼ標識抗 *H. pylori* マウスモノクローナル抗体、▲ 発色液：3,3', 5,5'-テトラメチルベンジジン。

## 2. 方法

### 1) *H. pylori* 感染の診断

原則として mHpSAT と RUT の 2 法で検討した。2 法の結果が不一致である場合も考慮し、抗 *H. pylori* 抗体測定のための血清採取と鏡検法のための生検を採取した。

### 2) 検体測定法

#### (1) mHpSAT

テストメイトピロリ抗原 EIA<sup>®</sup> キット（製造販売元：わかもと製薬、販売元：協和メデックス）を使用し測定した。便は、容器に採取した状態で、測定時まで  $-20^{\circ}\text{C}$  以下で保存し、採取後 3 日以内に当センター検査室にて測定した。測定原理は、96 穴マイクロタイタープレートを固相としたサンドイッチ酵素免疫測定法に基づいている（図）。マイクロプレートに固相化された抗 *H. pylori* 抗体（固相化抗体）と検体中の *H. pylori* 抗原および酵素標識した抗 *H. pylori* 抗体（酵素標識抗体）が反応し、「固相化抗体-抗原-酵素標識抗体」からなる免疫複合体を形成する。その免疫複合体に含まれる酵素の量は抗原量を反映するので、その酵素活性を基質液（テトラメチルベンジジン-過酸化水素）を用いて発色させることにより、糞便中の *H. pylori* 抗原の有無を判定するというものである。判定は最終的な発色を吸光度測定（450nm/630nm）し、吸光度が 0.100Abs 以上を陽性、0.100Abs 未満を陰性として判定した。

#### (2) RUT

MR ウレア<sup>®</sup>S（製造販売元：特殊免疫研究所、販売元：アルフレッサファーマ）を使用した。生検は胃幽門前庭部および胃体上部の大弯の 2 カ所から行った。測定原理は、基質試薬を溶解した溶液内に生検組織を接種すると、検体中に含まれる *H. pylori* 由来のウレアーゼが基質試薬中の尿素を加水分解して、アンモニアを生じ、そのアンモニアにより、基質試薬中の pH 指示薬であるフェノールレッドが黄色から赤色に変化することで *H. pylori* の検出をするというものである。その色調変化を 120 分後に目視判定した。

#### (3) 抗 *H. pylori* 抗体測定法

データミナー<sup>®</sup> *H. pylori* 抗体 J（製造販売元：SHIMEDX、販売元：協和メデックス）を使用し、酵素免疫測定法にて測定した。測定原理は、以下のごとくである。緩衝液で希釈された検体を特定抗原が固相化されたウェルに加えることで検体中の抗体量に応じて抗原-抗体複合体が形成される。未反応の検体を洗浄除去し、酵素標識抗ヒト IgG 抗体（ヤギ）を加え、抗原-抗体-酵素標識抗体の免疫複合体を形成する。未反応の標識抗体を洗浄除去したのち、基質（3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン）と反応させ発色させる。反応停止後、この吸光度を主波長 450 nm、副波長 620~690nm で測定し、計算により抗体価（ELISA VALUE；EV）を求める。EV は製造販売元が独自に設定した単位であり、3 点のコントロールについて X 軸に各コントロールの EV を、Y

表1 感染診断と除菌後診断での総合的診断の結果と mHpSAT および RUT の結果との比較

		総合的診断					
		感染診断 (n = 49)		除菌後診断 (n = 16)		全検体 (n = 65)	
		+	-	+	-	+	-
mHpSAT	+	39	0	2	0	41	0
	-	2	8	1	13	3	21
RUT	+	41	4	2	5	43	9
	-	0	4	1	8	1	12

mHpSAT : monoclonal *H.pylori* stool antigen test, RUT : rapid urease test.

表2 mHpSAT と RUT の比較 (n = 65)

	mHpSAT (%)	RUT (%)	検定
感度	93.2	97.7	N.S
特異度	100	57.1	p < 0.001
偽陽性率	0	42.9	p < 0.001
偽陰性率	6.8	2.3	N.S
陽性反応予測値	100	82.7	p < 0.01
有効度	95.4	84.6	p < 0.05

mHpSAT : monoclonal *H.pylori* stool antigen test, RUT : rapid urease test.

表3 感染診断群 49 検体での mHpSAT と RUT の比較

	mHpSAT (%)	RUT (%)	検定
感度	95.1	100	N.S
特異度	100	50	p < 0.05
偽陽性率	0	50	p < 0.05
偽陰性率	4.9	0	N.S
陽性反応予測値	100	91.1	N.S
有効度	95.9	91.8	N.S

mHpSAT : monoclonal *H.pylori* stool antigen test, RUT : rapid urease test.

軸に吸光度をプロットして回帰直線を引き、検体の吸光度をこの回帰直線に当てはめ検体の EV を読み取ることで結果判定を行う。EV 値 2.3 以上を陽性と判定した。

#### (4) 鏡検法

上部消化管内視鏡下生検で採取した組織は、当センター病院病理科で hematoxylin eosin および Giemsa 染色を施行し判定した。

(3) および (4) の結果は、(1) と (2) が不一致の場合参考とした。なお、除菌後症例は、除菌終了 4 週間以後に判定した。

#### 3) 結果分析

(1) と (2) の結果が不一致であった例は (3) および (4) の結果も考慮し総合的に *H. pylori* 感染を診断 (総合的診断) した。総合的診断の判定は、(3) と (4) が一致した場合はその結果を総合的診断とし、不一致の場合は (4) の結果を優先し (3) を参考として診断した。

また、除菌前後で検査施行された 8 例 (重複例)、mHpSAT と RUT の結果が不一致であった 13 例 (不一致例) は別に検討した。統計は、統計ソフト Stat Mate III™ を使用し、mHpSAT と RUT の *H. pylori* 感染に対する感度、特異度などを算出し、2 法を比較した。また、 $\chi^2$  検定を用い、p < 0.05 をもつ

表4 除菌判定群 16 検体での mHpSAT と RUT の比較

	mHpSAT (%)	RUT (%)	検定
感度	66.7	66.7	N.S
特異度	100	61.5	p < 0.05
偽陽性率	0	38.5	p < 0.05
偽陰性率	33.3	33.3	N.S
陽性反応予測値	100	28.6	N.S
有効度	93.8	62.5	p < 0.05

mHpSAT : monoclonal *H.pylori* stool antigen test, RUT : rapid urease test.

て有意差ありとした。

## 結 果

### 1. mHpSAT および RUT と総合的診断との比較

検討した 65 検体の mHpSAT および RUT の結果と感染診断、除菌後診断での総合的診断との関係を表 1 に示した。総合的診断を基準とした場合の mHpSAT, RUT の感度、特異度などを分析し比較すると、特異度、有効度、偽陽性率、陽性反応予測値で mHpSAT は RUT に比較して有意に優れていた (表 2)。

### 2. 除菌前後での検討

感染診断は 49 検体、除菌判定は 16 検体で施行された。感染診断群では、mHpSAT と RUT は有効度

表5 除菌前後にて検討しえた8例(重複例)の分析

No	年齢	性別	内視鏡診断	mHpSAT	RUT	抗Hp抗体	鏡検法	総合的診断	内服薬
1	54	M	GU A1	+	+	+	+	+	OPZ
			GU S2	-	-	-	-	-	FAM
2	71	M	GU A2	+	+	+	+	+	なし
			GU S2	-	-	-	-	-	FAM
3	39	M	DU A1	+	+	+	+	+	なし
			DU S1	-	-	-	-	-	FAM
4	36	M	DU A2	+	+	+	+	+	なし
			DU S2	-	-	-	-	-	FAM
5	46	M	DU S1	+	+	+	+	+	なし
			DU S2	-	-	-	-	-	FAM
6	42	M	GU A2	+	+	+	+	+	なし
			GU S1	-	+	-	-	-	FAM
7	77	F	gastritis	+	+	+	+	+	なし
			gastritis	+	-	+	+	+	RAN
8	60	F	GU H1	+	+	+	+	+	なし
			GU S2	-	+	-	-	-	FAM

内視鏡診断；上段が除菌前，下段が除菌後。内服薬；OPZ：omeprazole，FAM：famotidine，RAN：ranitidine。  
mHpSAT：monoclonal *H.pylori* stool antigen test，RUT：rapid urease test，GU：gastric ulcer，DU：duodenal ulcer，  
A：active stage，H：healing stage，S：scar stage。

表6 総合的診断とmHpSATおよびRUTの結果が不一致であった13検体の分析

No	年齢	性別	内視鏡診断	除菌の有無	mHpSAT	RUT	抗Hp抗体	鏡検法	総合的診断	内服薬
1	14	M	GU	除菌前	-	+	-	-	-	OPZ
2	52	M	GU	除菌前	-	+	-	-	-	なし
3	40	F	gastritis	除菌前	-	+	-	-	-	六君子湯
4	46	F	GU	除菌前	-	+	-	-	-	FAM
5	56	M	GU	除菌後	-	+	-	-	-	FAM
6	79	F	MALT	除菌後	-	+	-	-	-	RPZ
7	42	M	GU	除菌後	-	+	-	-	-	FAM
8	60	F	DU	除菌後	-	+	-	-	-	FAM
9	52	M	DU	除菌後	-	+	-	-	-	FAM
10	77	F	GU	除菌後	+	-	+	+	+	RAN
11	76	F	GU	除菌前	-	+	+	+	+	FAM
12	22	F	DU	除菌前	-	+	+	+	+	FAM
13	55	F	DU	除菌後	-	+	+	+	+	FAM

内服薬；OPZ：omeprazole，FAM：famotidine，RAN：ranitidine。

GU：gastric ulcer；DU：duodenal ulcer；MALT：mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma。

ではほぼ同等であるが，特異度，偽陽性率ではmHpSATがRUTに比べ有意に優れていた(表3)。また，除菌判定群ではmHpSATが，有効度，特異度，偽陽性率でRUTに比べ有意に優れていた(表4)。

### 3. 重複例の検討(表5)

*H. pylori* 感染の診断が陽性で除菌治療が施行され，除菌前後で診断を行った例は8例(男性6，女性2)であった。除菌後の総合的診断は8例中7例が陰性(除菌成功率87.5%)であったが，うち3例は不一致例で，いずれも総合的診断とRUTが不一致であった。

### 4. 不一致例の検討(表6)

mHpSATとRUTの不一致例は13検体(男性5，女性8)と女性に多い傾向であった( $p=0.09$ )。この内訳は，感染診断6検体(感染診断群の12%)，除菌判定7検体(除菌判定群の44%)であり，除菌判定群で有意に多く見られた( $p<0.01$ )。また，総合的診断との不一致例はRUTに多かった。

### 考 察

*H. pylori* 感染の診断法の中で，胃粘膜組織の一部を採取し検査する侵襲的方法では，RUT，鏡検法，培養法が，内視鏡検査を必要としない非侵襲的方法

としては、尿素呼気試験(urea breath test, UBT)、抗 *H. pylori* 抗体測定、便中 *H. pylori* 抗原測定がある。このうち RUT は、内視鏡検査時に同時に実施でき、判定結果を2時間程度で知ることが可能で、検査当日に除菌治療を開始することができる。このため多くの施設で頻用されている。

しかし、抗凝固剤を内服している患者や出血素因のある患者など、組織を採取することのできない患者、また、小児や食道狭窄のある患者など内視鏡が施行困難な患者については利用できない。そこで、望まれるのは非侵襲的検査法である。このうち、UBT は、これまで数多くの報告<sup>2)~4)</sup>があり、簡便で感度、特異度とも高く、小児の検査が可能、などの理由でガイドラインでも感染診断、除菌判定ともに有用とされている。便中 *H. pylori* 抗原測定も、ガイドラインにおいて非侵襲的かつ簡便で、除菌前の感染診断、除菌判定ともに信頼性が高いと記載されている。便中 *H. pylori* 抗原測定には、ポリクローナル抗体を用いるメリディアン HpSA ELISA<sup>®</sup> (製造元: Meridian Bioscience 社, 輸入販売元: ティエフビー) と、モノクローナル抗体を使用したテストメイトピロリ抗原 EIA<sup>®</sup> の2つのキットがある。

この2つの方法の比較を行った結果によれば、その測定結果の一致率は95.7% とほぼ同等との報告<sup>5)</sup> や、テストメイトピロリ抗原 EIA<sup>®</sup> がより特異度が高いとの報告<sup>6)</sup> がある。海外では、モノクローナル抗体による便中 *H. pylori* 抗原測定法がより感度が高い<sup>7)</sup> との報告がある。また、*H. pylori* 特有で非常に安定な native カタラーゼを検出する試薬であることも考慮し、われわれはモノクローナル抗体を用いた便中 *H. pylori* 抗原測定法 mHpSAT にて、RUT との比較試験を行うこととした。

結果に示したごとく、検査施行した全検体で mHpSAT と RUT を比較すると、mHpSAT は、特異度、有効度が有意に高く、より有用であると考えられた。特に、感染診断では両者の有効度に差はなかったが、除菌判定では mHpSAT が有意に優れていると考えられた。これは RUT に関するこれまでの報告<sup>8)9)</sup> を裏付けるものである。

重複例の検討では、除菌判定群で3例が mHpSAT と RUT の不一致例で、いずれも総合的診断と RUT の不一致であった。この3例のうち2例が除菌成功例であった。RUT が偽陽性になる原因として、他の細菌群<sup>10)</sup> や *Helicobacter* 群の影響<sup>11)</sup> で尿素が分解されることがあり、偽陰性の原因としては

*H. pylori* が胃内で均一に分布していないために生検組織内に *H. pylori* の量が不足していることや<sup>12)13)</sup>、投与された薬剤による胃内 pH の上昇などが考えられる。

不一致例は、感染診断が6検体(感染診断群の12%)、除菌判定が7検体(除菌判定群の44%)であり、除菌判定群に有意に多く見られ、mHpSAT と RUT の総合的診断との一致率は mHpSAT に高い傾向があった。この原因として、RUT における偽陽性例については重複例の項で先に述べた理由が考えられ、感染診断においても同様と考えられる。また、偽陰性の1検体については生検検体採取時の問題(部位、検体量)あるいは除菌後内服していた Famotidine の影響も考慮できる。

mHpSAT では、総合診断との不一致が感染診断で2検体、除菌診断で1検体認められ、いずれも偽陰性例であった。偽陰性例については、ガイドラインにも記載があり、糞便採取上の問題や抗原量の少ない例<sup>14)</sup> も考えられる。また、現在の保険適用では、偽陰性が疑われる場合にのみ他法による再検査が認められるので、偽陰性例には他の診断法を併用するのが望ましいと考える。

以上の検討から、RUT は、感染診断には有効であるが、除菌判定では十分といえないと考えた。これに対し、mHpSAT は、RUT に比べ、特異度や有効度に有意に優れ、より有用と考えられた。2005年に行われた Maastricht 3 Meeting<sup>15)</sup> では、UBT および便中 *H. pylori* 抗原測定が、感染・除菌判定ともに推奨され、また、もしできれば、モノクローナル抗体を使用することが推奨されている。その意味で、これまでの検討が主としてポリクローナル抗体を検討したものであったことを考慮すれば、今回の検討は意義あるものと考えられ、また、得られた結果からも mHpSAT の十分な有効性が示されたと考えた。

## 結 語

*H. pylori* 感染の診断における mHpSAT と RUT との比較検討を行った。mHpSAT は、感染診断において RUT とほぼ同等と考えられたが、除菌判定においては、mHpSAT の有効度が RUT より有意に高く、また、非侵襲的検査法であることを考慮すると、*H. pylori* の感染診断・除菌判定ともに、安全かつ有用な検査法であると考えられた。

## 文 献

- 1) 日本ヘリコバクター学会ガイドライン作成委員会: *H. pylori* 感染の診断と治療のガイドライン

- 2003年改訂版. 日本ヘリコバクター会誌 4 (Suppl) : 2-17, 2003
- 2) **Graham DY, Klein PD, Evans DJ Jr et al:** Campylobacter pylori detected non-invasively by the  $^{13}\text{C}$ -urea breath test. *Lancet I*: 1174-1177, 1987
  - 3) **Kato M, Asaka M, Ohara S et al:** Clinical studies of  $^{13}\text{C}$ -urea breath test in Japan. *J Gastroenterol* **33** (Suppl): 36-39, 1998
  - 4) **Ohara S, Kato M, Asaka M et al:** Studies of  $^{13}\text{C}$ -urea breath test for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in Japan. *J Gastroenterol* **33**: 6-13, 1998
  - 5) 小池通夫, 田尻 仁, 奥田真珠美ほか: 新しい便中抗原測定法の小児期 *H. pylori* 感染診断に対する有用性評価. 日本ヘリコバクター会誌 7 : 1-12, 2005
  - 6) 高木潤一, 平田晴久, 福田能啓: 便中 *Helicobacter pylori* 抗原検出法の有用性. 細胞 37 : 34-37, 2005
  - 7) **Gisbert JP, de la Morena F, Abaira V:** Accuracy of monoclonal stool antigen test for the diagnosis of *H. pylori* infection: a systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* **101**: 1921-1930, 2006
  - 8) **Murata H, Kawano S, Tsuji S et al:** Evaluation of the PyloriTek test for detection of *Helicobacter pylori* infection in cases with and without eradication therapy. *Am J Gastroenterol* **93**: 2102-2105, 1998
  - 9) **Nishikawa K, Sugiyama T, Kato M et al:** A prospective evaluation of new rapid urease tests before and after eradication treatment of *Helicobacter pylori*, in comparison with histology, culture and  $^{13}\text{C}$ -urea breath test. *Gastrointest Endosc* **51**: 164-168, 2000
  - 10) **Katellaris PH, Lowe DG, Norbu P et al:** Field evaluation of a rapid, simple and inexpensive urease test for the detection of *Helicobacter pylori*. *J Gastroenterol Hepatol* **7**: 569-571, 1992
  - 11) **Heilmann KL, Borchard F:** Gastritis due to spiral shaped bacteria other than *Helicobacter pylori*: clinical, histological, and ultrastructural findings. *Gut* **32**: 137-140, 1991
  - 12) **Genta RM, Graham DY:** Comparison of biopsy sites for the histopathologic diagnosis of *Helicobacter pylori*: a topographic study of *H. pylori* density and distribution. *Gastrointest Endosc* **40**: 342-345, 1994
  - 13) **Hazell SL, Hennessy WB, Borody TJ et al:** Campylobacter pyloridis gastritis II: Distribution of bacteria and associated inflammation in the gastroduodenal environment. *Am J Gastroenterol* **82**: 297-301, 1987
  - 14) 福田能啓, 富田寿彦, 堀 和敏: 便中 *Helicobacter pylori* 抗原測定キット「テストメイトピロリ抗原 EIA」の臨床評価. 医と薬学 52 : 261-266, 2004
  - 15) **Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C:** The Maastricht 3 Consensus Report: Guideline for the Management of *Helicobacter pylori* infection. *Eur Gastroenterol Rev* **59**: 62, 2005 [<http://www.helicobacter.org/download/>]