

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）

分担研究報告書

有用な結核対策（BCG及び結核感染特異的診断に関する費用対効果分析等）に関する研究

分担研究者 小倉 剛 （財）結核予防会大阪府支部大阪病院 支部長・病院長

研究要旨

当支部が行った大阪府下10市における平成16年度のツベルクリン反応検査とBCG接種事業及び平成17年度のBCG直接接種事業に要した費用について、両年度間及び各市間での実績を調査、比較した。接種1件当りの費用は、9市において17年度費用が16年度費用を上回っていたが、各市間で大きな差が見られ、今後接種事業計画を改善することで費用を節減し得ると考えられた。

A. 研究目的

BCG接種の費用対効果は、現実に行われているBCG接種事業に基づいて検証することが重要である。そこで、従来から当支部が担当してきた大阪府下10市のBCG集団接種に要した費用について、BCG直接接種前・後での増減及び各市間の差をしらべることとした。

B. 研究方法

ツベルクリン反応検査の判定後にBCG接種を行った平成16年度及びBCG直接接種を行った平成17年度について、4月～12月の9ヶ月間の費用と実績を調査、比較した。全てのデータは当支部に保管された個人を特定できないデータで、倫理、個人情報保護上全く問題がなかった。

C. 研究結果

16年度集団接種は、5市（A～E）が1日出動体制で計43回出動し、8,187件のツベルクリン反応検査で7,816件接種した。1回出動当りの接種件数は180件、1件当りの費用は4,095円であった。5市（F～J）は半日出動体制で計24回出動し、ツベルクリン反応検査4,334件で4,331件接種した。1回出動当りの接種件数は176件、費用は3,172円であった。費用の点からは、半日出動体制が望ましいと思われた。

17年度集団接種は10市全てが半日出動体制となり、計136回出動し、1回出動当り接種件数が82件、1件当りの費用は4,356円となり、16年度に比べると10市中9市で1件当り費用が著しく増加した。

D. 考察

17年度集団接種は直接接種となり、ツベルクリン反応に要する費用（800円）が不要になり、半日出動になったにもかかわらず、1件当たり接種費用が増加した。唯一減少したD市（人口12万9千人）の差額は63円と少額で、他の9市では、A市（人口18万1千人）の277円からC市（人口20万4千人）の2,242円やH市（人口7万9千人）の2,422円まで平均1,313円増加した。

増加の程度は、人口を指標とした都市規模とは全く関連が無く、16年度には半日出動体制をしたF～J市では平均1,604円で、1日出動体制のA～E市の平均949円よりも高額であった。

上記の実績は、17年度の1月～3月分が未集計であるが、接種の進捗状況は昨年の同期間と比べると81.2%（I市）～106.6%（B市）～107.3%（F市）と平均93.1%程度で比較的順調に接種が進んでいるが、進捗度と費用増加額との間にも全く関連性が認められなかった。

これらの成績を総合すると、17年度4月～12月実績でみられた接種費用の顕微な増加は、各市における接種実施計画やその情報提供の違いによる可能性がある。来年度は、17年度実績を参考に綿密な実施計画を立案し宣伝活動を進めればより低額で効率的なBCG接種を行いうると思われる。

E. 結論

現在、BCG接種は地方公共団体によっては、個別健診を導入しているところもあるが、料金は5,000円と設定されている。一方、これら10市では乳幼児の結核発生は近年

見られておらず、費用対効果の点から見ると、今後BCG接種事業の効率化を図ることが急務と思われる。

G. 研究発表

論文、学会発表共になし

有用な結核対策（BCG及び結核感染特異的診断に関する費用対効果分析等）に関する研究

分担研究者 倉島篤行 独立行政法人国立病院機構東京病院臨床研究部長

研究要旨

結核性胸膜炎は胸膜腔での結核菌に対する遅延型過敏反応が本質的な病態として把握されているが、臨床での確定診断では、結核菌が確認されることは培養では約25%、核酸増幅でも約65%以下であり各種の補助診断法が用いられている。

今回我々が検討した方法は胸水中の単核球を結核菌特異抗原刺激下で培養、遊離されるIFN- γ をELISAで測定する方法であり、病態に即した本質的な診断法と言える。確定診断された活動性結核胸膜炎胸水14例では非結核性胸水23例に比し、有意な結核特異抗原刺激IFN産生の亢進が見られた。また我々の行った胸水上清を培地mediumとして用いる方法は、結核既往歴のある非結核性胸水とも鑑別可能であり疑陽性のより少ない方法と考えられた。

A. 研究目的

活動性結核性胸膜炎の確定診断は、胸水または胸膜生検組織からの結核菌の同定によるが、その感度は低く、他の原因による胸水貯留疾患との鑑別が問題となる。活動性結核性胸膜炎は、胸腔内病巣において結核菌抗原に対する特異的細胞性獲得免疫応答が成立している。結核性胸膜炎患者の胸水から得られた細胞を、in vitroで結核菌特異的抗原 early secretory antigenic target 6 (ESAT-6)、culture filtrate protein-10 (CFP-10) により刺激、

Interferon- γ (IFN- γ) 応答を測定した。

B. 研究方法

胸腔穿刺または胸腔鏡検査を施行し、確定診断が得られた胸水貯留患者37名について検討した。結核菌が同定された活動性結核性胸膜炎14名、非結核性胸水23名 方法、胸水細胞を、陰性、陽性コントロール、抗原 (ESAT-6またはCFP-10) とともに胸水上清を用いて培養後、上清中のIFN- γ を測定した。

(倫理面への配慮)

本研究については平成16年11月19日の第7回国立病院機構東京病院倫理審査委員会にて承認を受けた。また研究の発表においては全て個人情報匿名可して発表を行った。

C. 研究結果

陰性コントロールに比べESAT-6、CFP-10刺激した場合のIFN- γ は、結核性胸膜炎群において有意に上昇していた

($p=0.0018$)が、非結核性胸膜炎では有意な上昇は認めなかった($p=0.88$)。陰性コントロールのIFN- γ は、非結核性胸水群に比べ、結核性胸膜炎群において有意に高値を示した($p<0.0001$)。非結核性胸水の一部の症例において、陰性コントロールのIFN- γ は比較的高値を示した。このような症例では特異抗原で刺激した場合、IFN- γ は上昇しなかった。

結論：活動性結核性胸膜炎では陰性コントロールのIFN- γ が高く、抗原刺激でさらIFN- γ が上昇する。一方、非結核性胸水では陰性コントロールのIFN- γ が低くても、比較的高値であっても、陰性コントロールに比べ抗原刺激でIFN- γ は有意に上昇しない。このようなパターンを解析することより活動性結核性胸膜炎に特異的な診断が可能であると考えられた。

D. 考察

今回の研究により、活動性結核性胸膜炎とその他の非結核性胸水貯留疾患における結核菌特異抗原に対するIFN- γ 産生応答は、まったく異なるパターンを示すことが明らかとなり、新たな鑑別診断法としての可能性が示唆された。

以前より、活動性結核性胸膜炎において、胸水上清中のIFN- γ は高値を示すとの報告がある。しかし、悪性疾患による胸膜炎などの非結核性疾患における胸水においても高値を示す場合があることも指摘されている。今回の検討において、陰性コントロール(胸水上清を培地として胸水中の細胞をCO₂インキュベーターで18時間培養した上清中)のIFN- γ は、非結核性胸水に比べ、活動性結核性胸膜炎で有意に高値を示した。しかし、非結核性胸水の一部の症例(癌性胸膜炎)において胸水IFN- γ 濃度が活動性結核性胸膜炎と同程度に高値を示した。つまり、従来の胸水上清IFN- γ 濃度測定のみによる診断では、このような偽陽性となる症例を除外することが困難であると考えられる。

細菌学的確証が得られた活動性結核性胸膜炎の患者14例の胸水検体中の細胞をin vitroで結核菌特異的抗原(ESAT-6/CFP-10)とともに培養すると、すべての症例で、陰性コントロールに比べ、IFN- γ 産生が有意に増強した。胸腔内に集積した結核菌抗原特異的T細胞がin vitroでの抗原刺激により特異的に反応し、IFN- γ を産生した結果であると考えられる。活動性結核性胸膜炎が臨床的に強く疑われた症例14例(喀痰より結核菌が証明された肺結核症に合併した胸水貯留患者、胸水から結核菌が証明されなかったが、抗結核薬による治療により胸水が消退した症例)においても全く同様の結果であった(データ非記載)。よって、活動性結核性胸膜炎では、陰性コントロールIFN- γ が1(IU/ml)以上と比較的高値を示し、さらに特異抗原刺激でIFN- γ が有意に上昇するのが特徴的である。

一方、非結核性胸水患者群23例では、陰性

コントロールに比べ、結核菌特異的抗原で刺激した場合、IFN- γ は統計学的に有意に上昇しなかった。陰性コントロールのIFN- γ が1 (IU/ml)以上の比較的高値であった非結核性胸水症例においてもIFN- γ は上昇しなかった。非結核性胸水では総じて陰性コントロールIFN- γ が1 (IU/ml)未満と低値であり、特異抗原刺激でIFN- γ が上昇しないのが特徴である。これは、陰性コントロールIFN- γ 値が活動性結核性胸膜炎と同程度に高値の少数の非結核性胸水症例でも同様である。

肺結核の既往のある非結核性胸水患者で、陰性コントロールと比較し、特異抗原刺激にてIFN- γ が上昇する症例を認めた。結核既往患者が他の原因により胸水貯留を来たした場合、末梢血中の結核菌抗原特異的T細胞が胸水中にも出現し、*in vitro*での抗原刺激でIFN- γ を産生する機序が推測される。特異抗原刺激でのIFN- γ から陰性コントロールのIFN- γ を差し引いた値のみによって評価するのは、結核既感染者に合併した他の胸水貯留疾患においても、“陽性”となってしまう可能性がある。結核性胸膜炎の活動性を反映し、陰性コントロールにおけるIFN- γ が高値となると考えられる。このような場合、陰性コントロールが低値であることにより、活動性結核性胸膜炎と鑑別できると考えられる。

また、胸水中の結核菌量が極めて多い場合、分泌蛋白であるESAT-6/CFP-10の胸水中濃度も高くなると推測される。そのような場合は*in vitro*でESAT-6/CFP-10を刺激抗原として加えてもIFN- γ 産生が増強しない可能性が予想される。また、胸水中のIFN- γ がすでに非常に高いため、特異抗原を加えて

も測定限界以上であり、IFN- γ 産生増強が測定できない場合があり得る。そのような場合、胸水上清を他の培地で希釈して培養を行うなどの方法が必要である。

末梢血を用いた全血によるassay法は、活動性結核性胸膜炎の診断にも有用であると考えられるが、患者の全身状態、免疫状態や、潜在性感染や結核既往の影響を受ける。今回の報告の対象患者において、末梢血を用いた全血による同様のassayを行うと、活動性結核性胸膜炎患者のうち2名が“陰性”であり、非結核性胸水患者のうち“陽性”が2名存在した。今回の診断法は、胸腔内炎症局所に集積したESAT-6/CFP-10反応性T細胞の存在を証明することに他ならず、末梢血を用いた方法以上に特異的な診断法であると考えられる。活動性結核性胸膜炎のみならず、一定の体腔液検体が得られれば、腹腔内、心膜腔に結核性病巣を形成し、浸出液が貯留する活動性の結核性腹膜炎、結核性心膜炎の診断にも応用できる可能性が考えられる。

E. 結語

結核菌特異的蛋白抗原刺激による胸水中細胞のIFN- γ 産生応答を測定することにより、活動性結核性胸膜炎を特異的かつ比較的簡便に診断する方法を報告した。結核性胸膜炎が臨床的に強く疑われるが、細菌学的確証が得られない症例における非侵襲的補助的診断法として臨床的に有用であると考えられる。

F. 健康危険情報

特記なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kurashima A: Novel diagnosis of active tuberculous pleuritis ; Interferon- γ -based assay using M. tuberculosis specific antigen として投稿中。
2. Takakura S, Tsuchiya S, Isawa Y, Yasukawa K, Hayashi T, Tomita M, Suzuki K, Hasegawa T, Tagami T, Kurashima A, Ichiyama S. :Rapid detection of Mycobacterium tuberculosis in respiratory samples by transcription-reverse transcription concerted reaction with an automated system. J Clin Microbiol 43:5435-39, 2005.
3. 田村厚久、蛇沢晶、相良勇三、鈴木純子、益田公彦、永井英明、赤川志のぶ、長山直弘、川辺芳子、町田和子、倉島篤行、小松彦太郎、四元秀毅: 肺癌と活動性肺抗酸菌症の混在する病態の検討。結核 80: 413-419、2005。
4. 倉島篤行: 非結核性抗酸菌症の診断と治療。JIM 15: 398-402、2005。
5. 倉島篤行: 気密空間における感染性疾患。日本胸部臨床 64: 325-332、2005。
6. 倉島篤行: 非結核性抗酸菌症の発生と進展に関する臨床学的研究。結核 79:

737-741、2004。

7. 中田 光、濱野栄美、川辺芳子、益田公彦、永井英明、有賀晴之、倉島篤行、森尾友宏、清水則夫: 多剤耐性結核患者に対する活性化T細胞輸注療法の試み。結核 79:57-60、2004。

2. 学会発表

1. 永井英明(国立病院機構東京病院 呼吸器科)、有賀晴之、川辺芳子、川島正裕、鈴木純子、益田公彦、田村厚久、長山直弘、赤川志のぶ、町田和子、倉島篤行、四元秀毅、森亨: AIDS合併結核におけるQuantiFERON-TB第2世代の有用性についての検討。結核病学会 2005、03
2. 有賀晴之、川辺芳子、永井英明、松井芳憲、田代尚樹、鈴木純子、平間未知大、大島信治、益田公彦、田村厚久、長山直弘、赤川志のぶ、町田和子、倉島篤行、四元秀毅、森亨: 活動性結核治療経過中におけるQuantiFERON-TB2G testの検討。
3. 第81回結核病学会総会発表予定

H. 知的財産の出願・登録状況
未定

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

結核菌症の病態解明と樹状細胞を用いた細胞遺伝子治療の開発に関する研究

分担研究者 原 寿郎 九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野教授

研究要旨

1) マーカーSNPsを用いた候補遺伝子の関連解析：

結核患者87名と正常対照265名を対象として、21の結核感受性候補遺伝子についてマーカー一塩基多型(SNPs)を用いた関連解析を行った。その結果、IL12RB1が結核に関連しており、日本人における結核感受性遺伝子の一つであることが示唆された。

2) マウスにおける細胞免疫療法モデルの作製：

マウス骨髄由来樹状細胞を結核菌抗原とともに培養し、これをマウスに投与した。その結果、結核菌抗原特異的CD8陽性T細胞が肺、脾臓で誘導され、ヒト型結核菌を高濃度気道内感染させるとコントロールマウスと比較して肺で有意な菌数の減少が認められた。以上より、結核菌抗原感作樹状細胞を用いた免疫療法は、難治性結核患者に対するワクチン療法として利用できる可能性が示唆された。

A. 研究目的

日本人において結核の発症に関与する宿主側の遺伝要因を明らかにし、結核治療のテイラーメイド化に役立てるために、一塩基多型(以下SNP)をマーカーとした候補遺伝子の関連解析を行う。

また、抗酸菌易感染性・難治性例に対して新規予防・治療法の開発が求められているが今回、結核菌ペプチド感作樹状細胞(DC)投与マウスモデルにおける抗原特異的T細胞に関する解析、および抗酸菌感染症の治療・ワクチンとしての有用性の評価を行う。

B. 研究方法

1) マーカーSNPsを用いた候補遺伝子の関連解析：

結核患者87名と正常対照265名を対象として、21の結核感受性候補遺伝子についてマーカー一塩基多型(SNPs)を用いた関連解析を行った。複数のマーカーSNPsで結核との関連がみられた候補遺伝子については、その近傍のcoding SNPs (cSNPs)を検索し、non-synonymous cSNPsと結核の関連解析を行った。

2) マウスにおける細胞免疫療法モデルの作製

C57BL/6マウス由来の樹状(DC)細胞を、結核菌由来のTB2ペプチド (MHCクラス I b拘束性)、またはMPT64ペプチド (MHCクラス I a拘束性)で刺激して結核菌抗原感作

DCを作製した。これらをC57BL/6マウスに静脈内投与し、肺、脾臓、PECにおけるIFN- γ 産生抗原特異的CD8陽性細胞数について細胞内染色を行いフローサイトメトリーで解析を行った。また、投与後6日目および60日目に結核菌（H37Rv 株）を気道内感染（ 1.0×10^5 CFU）させ、感染7日後および28日後に臓器内菌数を測定した。

（倫理面への配慮）

本研究は遺伝子解析研究「BCG副反応例および抗酸菌感染症発症に関連する宿主遺伝子要因の解明」として九州大学大学院医学研究院 遺伝子解析倫理審査委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

1) マーカーSNPsを用いた候補遺伝子の関連解析：

合計118個のマーカーSNPsの中で、IL-1 β 遺伝子の3個とIL-12R β 1遺伝子（IL12RB1）の2個が結核と関連していた。陽性マーカーSNPs近傍のcoding SNPs（cSNPs）の検索の結果、IL12RB1の4つのnon-synonymousSNPs（641A/G、1094T/C、1132 G/C、1573G/A）が関連解析の対象として残った。これらは連鎖不平衡にあり、前3者は結核の発症と有意に関連していた。また、これら4つのcSNPs のハプロタイプ解析では、ATGGハプロタイプが結核群で有意に低頻度であった。

2) マウスにおける細胞免疫療法モデルの作製

ペプチド感作DC投与後6～9日目に各臓器でMHC class IaおよびIb拘束性抗原特異的CD8陽性T細胞数がともにピークとなった。以後、各臓器で抗原特異的CD8陽性T

細胞は減少した。また、DC投与後6日目に結核菌を感染させたマウスでは、7日後に肺で、28日後には各臓器で、菌数が有意に減少した。またDC投与後60日目に感染させたマウスでは28日後より肺で菌数が有意に減少した。以上よりDCワクチン療法の有効性が示唆された。

D. 考察

1) 今回解析したcSNPと同じクラスターのSNPについては、赤星らは日本人において結核との関連を認め、ハプロタイプの違いがIL12レセプターの機能と関連することを報告している。多数の候補遺伝子のスクリーニングから得られた今回の結果は、この報告と併せ、IL12RB1が日本人における結核感受性遺伝子の一つであることを強く示唆している。一方、モロッコと韓国での検討ではこのクラスターと結核との関連は認められず、また、モロッコでの検討で関連が認められたプロモーター領域のSNPは今回の解析では関連がみられなかった。IL12RB1の結核感受性への関与は民族間で異なる可能性が考えられる。

2) 結核菌ペプチドを用いたワクチン療法の効果について、本年度に数編の報告がなされているが、その効果は十分なものではないというものであった。使用する樹状細胞の作成方法や、ペプチドの種類により抗原特異的T細胞の誘導に差があることは既知であり、これらの結核菌ペプチドを用いたワクチン療法の報告は我々のモデルと比較しても不十分な点があり、そのために効果がでなかったと思われる。樹状細胞による免疫療法は、短時間で多量の抗原特異的T細胞を誘導できる方法であり、その抗原に対するmemory T細胞を誘導できることからワクチンとして効果があるのみならず、難治症例に対する新規治療方法としてもその効果が期待できると思われる。

E. 結論

1) IL12RB1が結核に関連しており、日本人における結核感受性遺伝子の一つであることが示唆された。

2) 結核菌抗原感作DC投与により結核菌抗原特異的細胞性免疫が誘導されワクチン療法として利用できる可能性が示唆された。

factor-induced macrophages in the presence or absence of mycobacteria by microarray analysis. Experimental Biology 2005, Annual Meeting of AAI, March 31-April 5, 2005, San Diego, CA.

F. 健康危険情報

なし

2. 楠原浩一、佐々木由佳、中尾太、岡田賢司保科隆之、齋藤光正、原寿郎：IL12RB1遺伝子多型と結核菌感受性：マーカーSNPsを用いた候補遺伝子の関連解析 第37回日本小児感染症学会総会・学術集会 2005.11.11-12 津

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Khajoo V, Saito M, Takada H, Nomura A, Kusuhara K, Yoshida S, Yoshikai Y, Hara T: Novel roles of osteopontin and CXC chemokine ligand 7 in the defense against mycobacterial infection Clin Exp Immunol. 143: 260-268, 2005
2. K. Kusuhara, K. Yamamoto, Y. Sasaki, F. Nakao, K. Okada, Y. Mizuno, T. Hara: Association of IL12RB1 polymorphisms with tuberculosis in Japanese: a gene-based analysis. 2005 (submitted)
3. 原 寿郎： STAT1欠損症による免疫不全の病態。日本醫時新報4222：108-110, 2005
4. 原 寿郎： 免疫疾患、小児科学・新生児学テキスト 改訂第5版、2006

3. 土居岳彦、矢島俊樹、原寿郎、吉開泰信：結核菌由来ペプチド／樹状細胞の全身免疫はマイコバクテリアの血行感染に有効だが、気道感染には無効である。第35回日本免疫学会総会・学術集会 2005.12.13-15 横浜

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）
なし

2. 学会発表

1. Khajoo V, Saito M, Takada H, Nomura A, Kusuhara K, Yoshikai Y, Hara T: Gene expression profiles of M-/GM-colony-stimulating

分担研究報告書

ツベルクリン反応に代わる結核菌感染特異的診断の開発に関する研究

分担研究者 螺良英郎 (財)大阪結核研究会 理事長

研究要旨

ツベルクリン反応に代わる結核菌感染特異的診断の開発に成功した。

- (1) ESAT-6抗原、CFP-10抗原(結核菌に存在し、BCG菌に存在しない)を用いた新しい結核特異的診断法を確立した。結核患者と健常人末梢血をESAT-6又はCFP-10で抗原刺激し、産生されるIFN- γ をELISAで測定した。その結果、結核感染に特異度の高い、しかもBCG接種した健常人リンパ球には反応しない、新しい結核感染特異的診断法を開発した。この方法を国立病院機構政策医療呼吸器ネットワーク54施設病院の研究協力者と共に全国の呼吸器疾患病院に普及させたい。
- (2) ツ反に用いられるPPDは多種の蛋白を含む。Dr. Gillisはこれらのアミノ酸配列を解読し、結核感染患者のみにskin test陽性でBCG接種者には反応しない蛋白のアミノ酸配列とDNAをクローニングした。さらに、DPPDのヒト成人のskin testにおいて、結核感染特異性を証明した。すなわち、BCG接種者では、PPD(通常ツベルクリン反応)に対する反応は陽性であったのに対し、DPPDに対するskin testは陰性であった。結核患者ではPPD及びDPPDとも両者皮内反応陽性を示した。これの皮内反応を容易に解析する方法を解析中である。

A. 研究目的

ツベルクリン反応(ツ反)はBCG接種者で陽性に出る欠点があり、結核感染特異的診断は困難である。したがって結核感染特異的診断法が切望されている。

B. 研究方法

BCG菌にはコードする遺伝子が欠失して、ヒト型結核菌に存在するESAT-6及びCFP-10抗原を用いた。結核患者と健常人末梢血を分離せずに全血24wellプレートに1ml培養し、ESAT-6又はCFP-10で抗原刺

激した。16~20時間後に培養上清を集めIFN- γ をELISAで測定した。

また、ESAT-6ペプチド及びCFP-10ペプチドも抗原刺激に用いた。(図1)

米国Corixa研究所Dr.S.Gillis Dr.S.Reedと共同研究を行い、極めて結核感染に特異性の高い、ツ反に代わる新しい診断法の進展が認められた。ツ反に用いられるPPDは多種の蛋白を含む。Dr.Gillisらはこれらの全ての蛋白のアミノ酸配列を解読し、結核感染患者のみにskin test陽性でBCG接種者には反応しない蛋白のアミノ酸配列とDNAをクローニ

ングすることに成功した。さらに、結核患者末梢血Tリンパ球を使つてのin vitroのサイトカイン産生能や増殖反応を解析した。この研究は国立病院機構近畿中央胸部疾患センターで、共同研究を行なつた。さらにブラジルの健常者を対象としてskin testを行った。さらに、particleにこのDPPDを結合させ、ジェット噴射で皮内に免疫する方法を検討した。

(倫理面での配慮)

DPPDのin vitroでのヒトTリンパ球の反応性を見ることにあたり末梢血リンパ球の臨床研究等、研究対象者に対する人権擁護上の配慮を行う文書を作製している。もちろん研究方法による研究対象者に対する不利益、危険性の排除や説明と理解(インフォームド Consent)に対する文面も記載されている。

C. 研究結果

(1) QFTを用いた新しい結核予防診断法；ESAT-6抗原、CFP-10抗原(結核菌に存在し、BCG菌に存在しない)を用いた新しい結核特異的診断法の確立。結核患者と健常人末梢血をESAT-6又はCFP-10で抗原刺激した。16~20時間後に培養上清を集めIFN- γ をELISAで測定した。その結果、結核感染に特異度の高い、しかもBCG接種した健常人リンパ球には反応しない、新しい結核感染特異的診断法を開発した。(図2)(岡田、坂谷、鈴木、井上) さらに、ESAT-6抗原とCFP-10抗原を同時に加えた診断法の方がESAT-6単独刺激又はCFP-10単独刺激よりも感度が良く、カットオフ値が0.35で鋭敏な結核感染特異的診断

法となることを明らかにした。この方法を54国立病院機構政策医療呼吸器ネットワーク呼吸器病院施設、特に、東埼玉病院、福岡東病院、愛媛病院、山陽病院、近畿中央病院、東京病院、結核予防会大阪病院、及び大阪府立呼吸器・アレルギー医療センターで、QFT結核診断予防法を普及させる。

(2) 新しい結核特異的診断法(DPPD)

① BCG接種者では、PPD(通常のツベルクリン反応)に対する反応は陽性であったのに対し、DPPDに対するskin testは陰性であった。結核患者ではPPD及びDPPDとも両者皮内反応陽性を示した。一方、従来PPD陰性で結核感染が完全に否定されていた医療従事者が最近結核感染が強く疑われ、1年以内にPPD陽性となった人においてはDPPD陽性であった。

(S.Gillis, S.Reed, 岡田、坂谷、螺良)

② 数百名の成人健常者に行ったskin test研究においては、DPPD皮内反応は陰性群と陽性群にきれいに分かれた。一方、PPD skin testでは大多数が陽性であった。すなわちDPPD陰性群はBCGを接種した人でも結核非感染者を選別する画期的な方法となることが示された。

③ さらに、皮内にこのPPD蛋白を効率的に免疫する方法として、particleと結合したDPPD蛋白を高速のジェット噴射で導入する試みを行いつつある。

D. 考察

ツ反に代わる画期的な新しい診断法（結核感染特異的）DPPD skin testの本邦での普及を目指したい。DPPDは、大腸菌にDPPD DNAを発現させた場合、大腸菌での発現が低い。したがってこの蛋白の大腸菌での大量発現、大量産生法を検討中である。さらに、DPPDのskin testの際により少量の蛋白を小微粒にコートしskin testを行う方法を開発しつつある。

E. 結論

ツベルクリン反応に代わる結核感染特異的診断法の開発に成功した。ESAT-6抗原、CFP-10抗原（結核菌に存在し、BCG菌に存在しない）を用いた新しい結核特異的診断法を確立した。結核感染に特異度の高い、しか

もBCG接種した健康人リンパ球には反応しない、新しい結核感染特異的診断法を開発した（岡田、坂谷、鈴木、井上）。

ツ反に用いられるPPDは多種の蛋白を含む。Dr.Gillisはこれらのアミノ酸配列を解読し、結核感染患者のみにskin test陽性でBCG接種者には反応しない蛋白のアミノ酸配列とDNAをクローニングした。さらに、我々の研究により、ヒトのin vitroにおけるDPPDに対する末梢血Tリンパ球のIL-2産生能や増殖反応において特異性が示唆された（DPPDはヒトのskin testでPPD以外の蛋白では唯一反応をおこす蛋白であり、他に報告はない）。上記のDPPD大量産生法の開発及びskin testの極めて鋭敏なアッセイ法の開発によりDPPD skin testの臨床試験を目指している。

図1

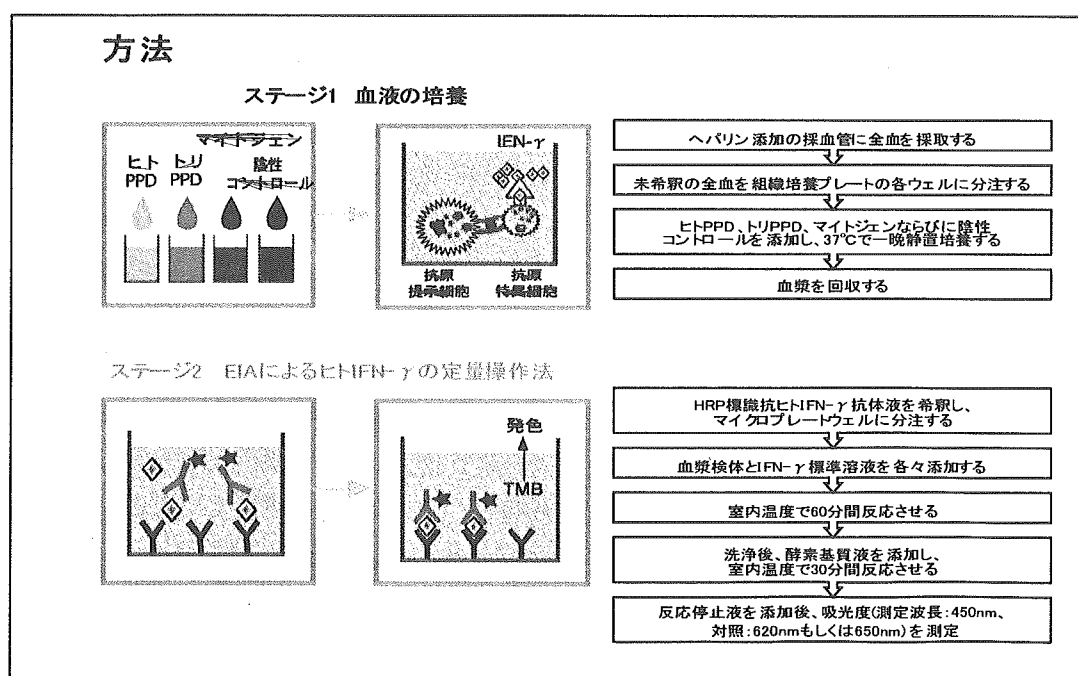
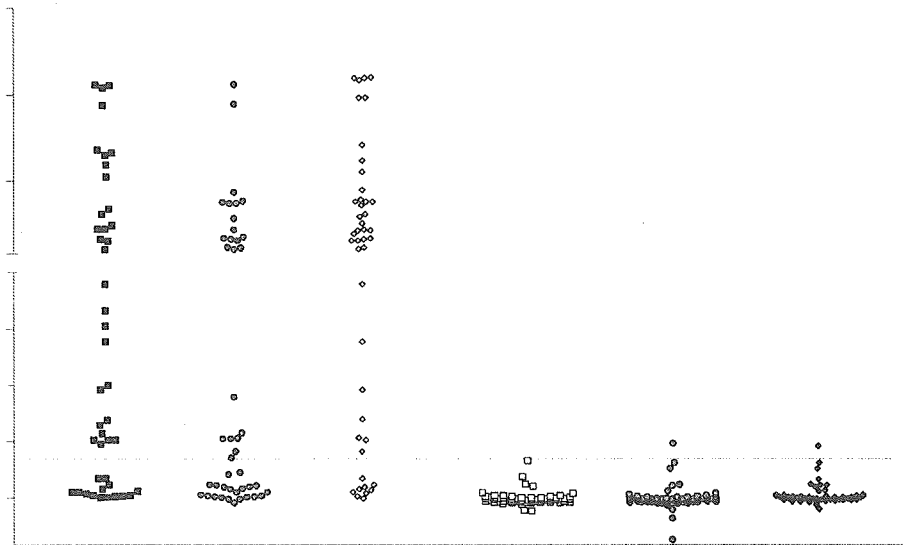


図2

結果

1群及び2群被験者分布図



厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

BCG接種の全体的効果および費用対効果分析

研究協力者 結核研究所研究部 内村和広

研究要旨

一般集団へのBCG接種を中断しこの1割のハイリスク集団への選択的BCG接種を100%実施したとして上記モデルによる分析を行った。結果は、BCG接種を行わなかったときのハイリスク集団からの発生患者推定数は1058名、選択的BCG接種を行った場合の発生患者推定数は862名となり推定予防患者数は196名と推定された。先の分析と同様に費用対効果を考えるとハイリスク集団10万人にたいするBCG接種費用は4億円、患者1名を予防するのに要する費用は204万円にまで対費用効果的となる結果となった。

国家的結核対策の枠組みの中で結核罹患のハイリスク集団の効果的な特定および把握が可能となりその結果選択的BCG接種が可能となれば、対費用効果の側面からみても十分な結果を期待することができると思われる。

A. 研究目的

平成17年4月の結核予防法改正により日本の結核対策の見直しが進められており、ここにBCG接種計画の改定も含まれている。新しい接種計画の正しい評価とさらに積極的な接種計画としてハイリスクおよびデインジャー集団への接種対象拡大のためにもBCG接種の全体的効果の推定とその結果に基づいた費用対効果分析が求められる。本報告では近年において疫学、保健政策決定の多くの場面で用いられている数学モデルによる研究方法論によってこれらの課題の解決を図ることを目的とする。

B. 研究方法

BCG接種全体効果の推定のためのモデル構築を行った。モデルの基本は内村・森（1）のモデルをもとにBCG接種効果のモデル反映の改良を行った。このモデルはBCG効果発現機序を考慮したもので、

BCGによる獲得免疫は初感染巣の成立に干渉し不十分な病巣しか形成させずこのため初期結核への進展の防止および将来の内因性再燃のリスク減少をもたらすとの考えをモデル化したものである。このBCGモデルを組み込む形で、BCG接種による結核疫学への効果を推定するため感染伝播モデルと呼ばれる疫学数理モデルを構築した。このモデルは結

核未感染群から結核菌の感染伝播を模擬する形で感染者群および発病者群、さらにそれぞれにBCG接種による発病予防効果を仮定した群を置き、各群間の遷移係数をパラメータとして連立微分方程式を解くことにより各群に属する人数を推定するものである。実際には数式的解法は困難であり専用ソフトウェア等を用いて数値的解法を行う。

分析は出生コホートを基本とし30年間の患者発生数を推定し分析を行った。

モデルに用いた主な仮定は以下のものである。感染危険率は出生時0.06%とし以降年4%減少ずつの減少とした。また感染危険率は0から12歳まで一定、以後20歳まで上昇し20歳以後は2倍の値で一定とした。結核菌感染による発病率は感染から1年以内が最も高く年間20%とし以後2年目がその0.41、3年目が0.13、4年目が0.086、5年目以降は一定で0.013とした。BCGの発病予防効果は50%、持続期間は接種から15年とし接種率を80%とした。またBCG接種は出生時(3ヶ月から6ヶ月まで)とした。

C. 研究結果

出生コホートを100万人として分析を行うと、新生児BCG接種を中止した場合の30年間累積発生患者数は1175人と推定された。1年間10万人対罹患率に換算すると3.9である。これに出生時BCG接種による発病予防効果を推定すると30年間累積発生患者数は1013人であった。1年間10万人対罹患率に換算すると3.4である。すなわち80万人に対する出生時BCG接種により罹患率を0.5下げる結果と推定された。実数では161名の発病予防で

ある。ここで費用対効果を考えるとBCG費用を1件あたり4000円(集団接種ベース、坂谷班会議報告より)と仮定すると80万件で32億円、1名あたり予防に要する費用は1982万円と推定された。仮にBCG予防効果が80%であったとすると30年間累積発生患者数は913人、1年間10万人対罹患率に換算して3.0となり1名あたり予防に要する費用は1222万円である。ただしこの計算はBCG費用が集団接種ベースであり、今後個別接種割合が増加することを考慮すると(個別接種では1件あたりの費用が6000円から1万円、坂谷班会議報告)さらにBCG接種総費用は増加し1件あたり予防に要する費用は非費用効果的な結果になると考えられる。

次に特定なハイリスクグループへの選択的BCG接種効果の分析を行った。ここでのハイリスクグループとは他の一般集団に対して感染危険率が10倍であるようなグループとする(西欧諸国では高罹患率国からの移民の子供など)。仮にこのようなハイリスクグループが全出生コホート中の1割(10万人)存在したとし、一般集団への

BCG接種を中断しこの1割のハイリスク集団への選択的BCG接種を100%実施したとして上記モデルによる分析を行った。結果は、BCG接種を行わなかったときのハイリスク集団からの発生患者推定数は1058名、選択的BCG接種を行った場合の発生患者推定数は862名となり推定予防患者数は196名と推定された。先の分析と同様に費用対効果を考えるとハイリスク集団10万人にたいするBCG接種費用は4億円、患者1名を予防するのに要する費用は204万円にまで対費用効果的となる

結果となった。

D. 考察および結論

西欧諸国と同様に、日本においても今後結核罹患率の減少が進むと全出生者を対象とする一律的BCG接種の対費用効果はさらに非対費用効果的となっていく。もちろん小児結核の重篤な場合の予後不良を考えると一律的BCG接種中断の判断には慎重を期すことは言うまでもないが、それ以前に国家的結核対策の枠組みの中で結核罹患のハイリスク集団の効果的な特定および把握が可能となりその結果選択的BCG接種が可能となれば、対費用効果の側面からみても十分な結果を期待することができると考えられる。

E. 研究発表

1. 論文発表

1. Hoshino H, Uchimura K(3/4) :
Influences of the adoption of new tuberculosis mass-examination system for school children on tuberculosis in school age.
Kekkaku. 2005 ;80(6):475-9.

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

当院での小児結核の対応結核発症症例と家族検診における課題

研究協力者 宮野前健 国立病院機構南京都病院 小児科
徳永 修 国立病院機構南京都病院
藤本 舟 国立病院機構南京都病院

研究要旨

結核予防法の改正により小児結核への対応が大きく変わってきている。年間の小児結核発症例は約150名から200名程度で全体の年間発症件数（新規登録件数）から見れば150分の一程度と決して多くはない。しかし一つ一つの症例を検討すると現在の小児結核の検診の問題点が見えてくる。

今回当院で経験した小児結核症例と家族（接触者）検診等の結核検診を実施した症例を比較してその問題点、課題について考察した。

A. 研究方法・対象患者

2000年（平成12年）から2005年（平成17年）までの6年間に、当院で経験した小児結核の発症に至った症例の問題点や、家族（接触者）検診、ツ反強陽性、ツ反自然陽転および学校検診要精密検査者の小児結核検診症例から、家族検診の在り方について検討した。

B. 研究結果

当院で治療を行った小児結核症例は15例（男児10例・女児5例）で、3歳未満の若年者が6例、学齢児が8名と2峰性を示している（表1）。小児結核患者15症例中、10症例は家族内に感染源が有り、BCG未接種者は8名、既接種者は7名であ

った（表2）。

表1 結核発症者の年齢分布

年齢	発症者
0歳児	3
1～3歳未満	3
3～5歳未満	1
5～7歳未満	2
7～9歳未満	3
9歳以上	5
合計	15

表2 小児結核症例

症例	年齢	診断の契機	BCG 歴	感染源	症例の問題点
1	0y7m	家族検診	-	父	ハイリスク例であったが化学予防せずに経過観察、1ヶ月後に発症が確認された
2	3y	家族検診	-	祖父	ハイリスク幼児例であったにも関わらず感染源判明後2ヶ月を経過して初回接触者検診を実施
3	5y	家族検診	-	父	感染源判明直後に初回接触者検診を実施した後、2年間経過観察を受けず
4	7y	家族検診 有症状受診	+	祖父?	2年前祖父発症時の接触者検診にてツ反強陽性であったが化学予防対象とならず。半年前から咳声、3ヶ月前から咳嗽が持続していた。塗沫陽性学童例
5	11y	家族検診 有症状受診	+	父	約2ヶ月前に父が発症。接触者検診は未受診
6	0y11m	家族検診	-	祖母	祖母の診断直後に検診実施したが、既に発症していた
7	1y	家族検診	+	父	
8	16y	家族検診	+	母	母親の症状出現児から約5ヶ月後保健所より家族検診で紹介される
9	2y	家族検診	-	祖父	当初、耐性薬剤による化学予防実施。化学予防終了時のCT検査にて発症確認
10	12y	家族検診	+	祖父	初回治療後の再発例(約1年後)
11	12y	有症状受診	-	感染源不詳	小学校1年生時BCG未接種にてツ反強陽性が判明していた(仙骨骨結核と大腿部流注膿瘍と肺野に石灰化)
12	0y7m	有症状受診	-	感染源不詳	生後3ヶ月より不明熱を繰り返していた。
13	14y	有症状受診	+	感染源不詳	約2ヶ月前から湿性咳嗽が遷延していた
14	1y	ツ反自然陽転	-	感染源不詳	BCG接種前のツ反で自然陽転確認。
15	7y	学校検診	+	感染源不詳	結核蔓延国からの入国例の為、結核問診票でチェックされ診断に至った

症例10以外はすべて保健所、他院からの紹介患児である。

初回の家族（接触者）検診の時点で発症が確認された症例は3例であり内2名は有症状であった。家族検診や有症状患者12症例中、5症例は地域保健所での家族検診でハイリスク群と考えられたにもかかわらず化

学予防の未実施（症例1, 2, 3）や初回受診の遅れ（症例4, 5）、あるいは検診後の経過観察が不十分（症例11）で発症に至ったと考えられた（表2）（表3）。

表3 診断に至った経過

接触者（家族）検診	6例
有症状（検診時を含む）	6例
ツ反自然陽転	1例
初回治療後再発	1例
学校検診	1例

症例11はBCG未接種で小学校入学時ツ反が強陽性であったが精査を受けておらず5年後に仙骨骨結核から大腿部に流注膿瘍を発症した。胸部Xp上肺門部に石灰化が認められており、ハイリスクとして胸部Xp診断等の経過観察で早期に発症が確認できた可能性が有る症例であった。

症例15は蔓延国からの帰国子女で小学校入学時の結核問診票で要精査となり、胸部Xpにて結核発症が診断され、学校での結核検診が有効であったケースである。

結核検診対象者は家族検診122例（内58名49%予防内服実施）、ツ反強陽性精査17例（内6例35%予防内服実施）、ツ反自然陽転6名（内4名予防内服実施）、学校検診精査1例の146名であった（表4）。ツ反強陽性者17名はいずれも学齡児で学校検診において指摘されており、ツ反自然陽転者6名はBCG接種前の検査で明らかになった幼少児であった（表5）。

また家族検診対象者122名中、115名（94%）がBCG既接種者であった（表6）。

表5 受診理由別予防内服実施状況

	実施	未実施
ツ反強陽性	6	11
ツ反自然陽転	4	2
家族検診*	58	61
合計	68	74

* 初診時の発症者は除く

表6 BCG接種状況

	既接種	未接種	合計
ツ反強陽性	17	0	17
ツ反自然陽転	0	6	6
家族検診	115	7	122
合計	132	13	145

家族内の結核感染源が明らかとなり保健所より当院に紹介受診するまでに掛かった日数を分析した。直後、1ヶ月以内に受診した76症例中、40症例（53%）は感染リスクが高いと判断し予防内服を実施した。1ヶ月以上3ヶ月未満が経過して検診に訪れた症例は23症例ありそのうち10症例（43%）に予防内服を行った。感染源が明らかとなり初めての検診が3ヶ月以上経過して行われた症例は12で5例（42%）に予防内服を実施している（表7）。また経過観察した症例、予防内服を実施した症例からはこれまでに発症者はでていない（表2 症例9は発症後他院からの紹介であった）。