

し、患者情報の守秘義務の励行に努めた。

C. 研究結果

マイクロダイセクションでは1個の白血球、1個の細菌さえも取り出せることが可能であった。また、核酸抽出に関しては微小なダイセクション・サンプルを用いるため、抽出効率が優れていて、洗浄操作により核酸が脱落しない方法を採用することにより48%の抽出効率を実現することができた。ランダム・プライマーを用いた遺伝子増加法はヒト培養細胞であるHeLa細胞のGAPDH遺伝子や細菌の16S RNAを同等(100倍前後)に増加させることが判明した。定量的Multiplex PCRはサンプルに含まれている10種の遺伝子を同時に定量的に増加させることが可能であった。

D. 考察

感染症は生体と病原微生物が織り成す免疫反応であるが、薬剤耐性菌の出現は治療に起因した医原的な問題である。薬剤耐性菌の解決手段として今までは新たに開発された薬により問題を解決してきたが、世界中で蔓延している多剤耐性菌による感染症の解決には的確な診断法と治療法の確立が求められている。我々の研究で多剤耐性結核菌の発生場所として生体の最終的な免疫反応である肉芽腫に封じ込められた結核菌が耐性化するのではないかと想定しているが、今までは測定手段が存在しないため証明することが困難であった。今回、開発したマイクロダイセクション法と定量的マイクロアレイを用いることにより新たな知見が見出されることが期待される。

結核診療における RFP 耐性遺伝子検査の有用性

分担研究者：

鈴木克洋 近畿中央胸部疾患センター 感染症研究部長

研究要旨

RFP は結核短期化学療法 of 要となる薬剤であり、結核菌が RFP に感受性か否かは治療法や予後に大きな影響を及ぼす。今回我々は通常の薬剤感受性検査では RFP が感受性であるが、臨床経過から RFP 耐性が疑われ、RFP の耐性遺伝子変異を認めた 5 症例を経験した。また RFP の薬剤感受性検査に変動があり、臨床的にも RFP 耐性が疑われ、遺伝子変異から RFP 耐性が確定できた 3 症例も経験した。全 9 例中 8 例は INH も耐性で、耐性遺伝子変異の検出により多剤耐性結核と判定された。また RFP 耐性遺伝子を調べることで早期に多剤耐性と判定し、陰圧個室に隔離できた症例を経験した。

A. 研究目的

結核が克服されたのは強力な化学療法が発達したためで、薬剤耐性菌の存在はその状況を脅かす事態である。特に現在の短期化学療法 of 要である INH と RFP 両剤耐性（多剤耐性結核）は現在でも難治であり、その対策は急務となっている。結核菌の薬剤感受性は薬剤含有培地上での培養状況により決定する方法が従来から用いられている。現在世界的に標準となっているのは、卵培地上でのコロニー数を比較する比率法である。他に液体培地を用い迅速に薬剤感受性を判定する方法もある。しかし培養法を用いる薬剤感受性検査は生物学的アッセイ系であるため、過大評価（本当は感受性なのに耐性と判定する）と過小評価（本当は耐性なのに感受性と判定する）が避けられない。我々は小川比率法（ウエルパック）と液体培地法（MGIT960）では RFP 感受性であるが、臨床経過から RFP 耐性が疑われた症例、ウエルパックや MGIT960 の結果が動揺する例の RFP 感受性

を確定するため、RFP 耐性遺伝子（*rpoB*）の変異の有無を検討した。また院内感染対策の一環として、ガフキー陽性かつ PCRTB 陽性例に同法を応用し、早期に隔離に成功した症例を経験した。

B. 研究方法

ウエルパックと MGIT960 による薬剤感受性検査は、説明書に従い通常の方法で実施し判定した。RpoB 変異は、市販の line probe assay キット（ジェノスカラー TB）を用いて判定した。その概略は以下の通り：*rpoB* の変異が集中しているホットスポットに重なり合う 5 個の野生型のプローブ（S1-S5）と代表的な耐性パターンの 4 プローブ（R2-R5）を設定する。結核菌 DNA を PCR で増幅し、先述したプローブとの結合の有無を発色反応で検出するものである。全ての S プローブが発色し、R プローブが一切発色しない場合が RFP 感受性と、それ以外の場合（S の欠損または R の存在）が RFP 耐性と

判定される。

C. 研究結果

発端となった 3 症例はほぼ同時期に当院に入院となった結核症例で全員が男性で大阪南部の同一市の居住者であった。INH を含む複数薬剤に耐性を示したが、RFP を含む複数の薬剤に感受性があり、入院 DOTS 下に有効薬による多剤併用療法を実施したにも関わらず、排菌が続き画像上の改善もないため RFP 耐性が疑われた。RFP 感受性はウエルパック、MGIT 両法で複数回確認した。ジェノスカラーTB では、全例 S4 欠損パターンで RFP 耐性が証明された。住所が同じ市であったため、IS6110 による RFLP を実施したところ同一パターンを示し同一菌株であった。その後 RFP 感受性でありながら排菌が停止しない 2 症例で、やはり *rpoB* の変異を認めた(一例は S1 欠損、一例は S2 欠損)。これら 2 症例由来結核菌の RFLP は前 3 症例ともまた互いにも異なるものであった。次いでウエルパックと MGIT による薬剤感受性結果に変動がある 3 症例の異なる時期にとられた複数菌株に対してジェノスカラーTB を実施したところ、全菌株で RFP 耐性が証明された(それぞれ S1、S3、S4 欠損)。

さらに平成 19 年 9 月より同法をルーチンに応用し、ガフキー陽性結核患者から 7 日以内に多剤耐性結核患者を発見し、早期隔離に成功した。

D. 考察

多剤耐性結核の克服にとって、正しい薬剤感受性検査が迅速に得られることは必須の項目である。今回の症例は従来の培養法を用いる薬剤感受性結果に重大な疑義を投じ

るものであった。しかし今回のような例が多い訳ではなく、ほとんどの症例で従来の薬剤感受性結果と臨床経過はよく相関している。培養法による薬剤感受性検査は、どのような方法論を用いるにせよ、生物学的アッセイであるため、過大評価と過小評価が避けられない。その点薬剤耐性遺伝子の変異の有無の検討は遺伝子工学的的方法論により比較的安定した結果が得られるものと考えられる。実際今回の検討でも、臨床経過とよく相関する結果が全例で得られている。しかしながら耐性遺伝子が 1 個の RFP と異なり、耐性遺伝子が複数存在している INH などでは、耐性遺伝子変異を検討するキットの開発が難しいのが現状である。今後一般臨床で使用できる主要薬剤に対する耐性遺伝子変異の検出キットが開発・普及することが望まれる。

E. 結論

通常の薬剤感受性結果では RFP 感受性でありながら、臨床経過から RFP 耐性が疑われた 5 症例由来の 5 菌株には全て RFP 耐性遺伝子の変異が認められた。通常の薬剤感受性結果より、遺伝子変異の有無の検討の方が、臨床的な経過とよく相関していた。

G. 研究発表

論文発表

原著

1)御手洗聡、小林郁夫、阿部千代治、和田雅子、鈴木克洋、高島哲也、川辺芳子、町田和子、田野正夫、瀧川修一、鎌田有珠、重藤えり子、藤井俊司、森健一、須山尚史、矢野修一、川城丈夫、尾形英雄. バクテック MGIT960 結核菌薬剤感受性検査用ミジット

シリーズ (MGIT AST) および小川標準法によるイソニアジド低濃度薬剤感受性検査の判定不一致に関する検討. 結核 82(5):449-454、2007

2) 吉田志緒美、鈴木克洋、露口一成、岡田全司、坂谷光則: 結核菌の分子疫学的解析—多剤耐性結核菌と全剤感受性結核菌の比較— 結核 82:531-550、2007

総論

3) 鈴木克洋: わが国における結核の現状とクオンチフェロン検査. Schneller 62: 20-25、2007

4) 鈴木克洋: 結核患者院内発生時の対応—QuantiferON の可能性も含めて. 感染症 37(3): 105-108、2007

5) 審良正則、鈴木克洋、喜久山綾乃: 肺結核の典型像、非典型像. 日本医事新報 4358: 53-56、2007

6) 鈴木克洋、審良正則、喜久山綾乃: 肺非結核性抗酸菌症の画像所見. 日本医事新報 4362: 53-56、2007

7) 鈴木克洋: 非結核性抗酸菌症、小児科診療 71(1):83-88、2008

口演発表

8) 鈴木克洋: 肺カンサシ症の病態と治療「ワークショップ 非結核性抗酸菌症の病態と治療」第47回日本呼吸器学会学術講演会 (2007 5.12 東京)

9) 鈴木克洋: そこが知りたい結核の臨床「呼吸器学会・結核病学会合同プログラム 未来に繋がる結核対策」第47回日本呼吸器学会学術講演会 (2007 5.11 東京)

10) 鈴木克洋: 非結核性抗酸菌症の診断と治療 教育講演 第81回日本感染症学会 (2007 4.10 京都)

11) 鈴木克洋: 多剤耐性結核 教育講演 第82回日本結核病学会学術講演会 (2007、6.6 大阪)

12) 鈴木克洋: 難治抗酸菌感染症の治療「合同シンポジウム感染症成立機構と化学療法—難治感染症の克服」第50日本感染症学会中日本地方会・第55回日本化学療法学会西日本支部総会 (2007.10.30. 神戸)

13) 鈴木克洋: 肺真菌症の診断と治療—新しい抗真菌薬を中心に—教育セミナー 第70回日本呼吸器学会近畿地方会・第100回日本結核病学会近畿地方会 (2007.12.8、京都)

結核菌に関する研究

小児結核の予防方策及び診療システムの確立

分担研究者：

高松 勇 地方独立行政法人・大阪府立病院機構
大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター 小児科部長

研究要旨

小児結核の予防方策及び診療システムの確立」に関して以下のような4課題に関して研究を実施した。

1. 小児における結核感染の診断にインターフェロン γ 応答試験（QuantiFERON）の有用性の検討。活動性結核患者の治療開始時に QFT を実施した 35 症例について検討した結果、陽性 29 例（82.9%）、判定保留 1 例（2.96%）、陰性 5 例（14.3%）であった。小児の活動性結核症の診断において、QFT はより迅速で適確な診断に役立つ有用性の高い検査法である。特に結核発病の可能性が高いにもかかわらず結核菌の証明が困難な症例において、QFT 陽性と判明した場合の診断的意義は非常に大きい。感染源・喀痰塗抹陽性者と濃厚接触を有した接触者健診例における QFT とツ反を検討した。BCG 未接種群 8 例中、ツ反陽性者 4 例中 QFT 陽性は 2 例、肺結核の母から生まれた乳児でツ反陽性者 2 例における QFT は陰性であった。BCG 接種群 70 例では陽性例は 19（27.1%）であった。年齢別の分析結果より、中学生では QFT は化学予防適応基準になりうるが、それ以下の年齢では、ツ反と QFT は相補的に使用するのが妥当である。乳幼児では従来通りツ反を用いた総合判断が望ましい。
2. コッホ現象を評価するために BCG 接種後の局所反応を grade 化し客観化を試みた BCG 接種後 1 週間以内の局所反応が grade3 以上であり、かつ経過中に反応が減弱しない場合、コッホ現象の可能性が考えられるため、BCG 接種後遅くとも 2 週間以内にツベルクリン検査を実施すべきであると考えられた。
3. 小児結核患者症例検討会
関西圏で平成 15 年度より①発病予防の可能性、②治療支援の必要性、③院内感染防止上の観点などを検討するために、検討会の開催（1 回/年）によって、診療ネットワークを形成した。

4. BCG 副反応症例を検討した結果、平成 14 年以後は BCG 接種後の特に全身性の皮疹が急速に増加した。1983 年から 2007 年の文献検索より 16 症例の骨関連病変が抽出された。乳幼児期の BCG の副作用についてのモニタリングの必要性が示唆された。

研究協力者

徳永 修 (国立病院機構南京都病院
小児科)

宮野前 健 (国立病院機構南京都病
院 小児科)

宮川 知士 (東京都立清瀬小児病院
呼吸器科)

岡田 賢司 (国立病院機構福岡病院
小児科)

原田 登之 (結核予防会結核研究所
抗酸菌レファランスセンター免疫検
査科)

藤井 史敏 (堺市保健所医療対策課)

永井 仁美 (大阪府茨木保健所地域
保健課)

森 亨 (国立感染症研究所ハンセ
ン病研究センター)

山内祐子 (結核予防会結核研究所)

柳 元和 (帝塚山大学教授)

A. 研究目的

(1) 小児活動性結核症例におけるインターフェロニンγ 応答試験 (以下 QFT と略す) の反応性を明らかにすることを目的に小児結核症例を多く診療する 4 施設で経験した小児症例 38 例を対象に本検査を実施し、その反応結果について検討した。また、一部の症例では繰り返し本検査を実施し、治療継続に伴う反応性の変化についても検討した。また、感染源・喀痰塗抹陽性者と濃厚接触を有した接触者検診例における QFT とツ反

を検討した。

(2) 平成 17 年 4 月より乳幼児に対してツベルクリン検査をせず直接 BCG 接種をすることとなり、それに伴いコッホ現象と呼ばれる反応が注目されることとなった。コッホ現象は、結核の既感染者に BCG を接種すると、接種後 3~10 日以内 (ピークは 3 日めが最も強い) に、接種部位に強い局所反応 (発赤・硬結、膿疱、潰瘍、痂皮) が生じるといわれている。しかしながら、コッホ現象であるかどうかの判断は困難であり、見逃された場合、結核性髄膜炎、粟粒結核などといった重症結核を発病する危険性がある。そのため今回、我々は、コッホ現象を判断する上で指標とすべく grade 化を試み、それを利用してコッホ現象と認められた症例について検証した。

(3) 小児結核対策の個別的・重点的対策への重点化を目指した大阪地区での「医療機関・保健所の合同小児結核患者症例検討会」の 5 年目として実施した。

(4) BCG 接種による副反応としてはこれまで腋窩リンパ節腫大が頻度からもまたその取り扱いの点からも重視されてきたが、近年皮膚病変事例が増える傾向が懸念されていることから、本研究ではこれを採り上げて、対応について検討した。

B. 研究方法

(1) 小児における結核感染の診断にインターフェロニンγ 応答試験 (QuantiFERON) の有用性の検討

1) 活動性結核患者における使用成績

2005年4月より2007年10月までに大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター小児科、東京都立清瀬小児病院呼吸器科、国立病院機構南京都病院小児科、国立病院機構福岡病院小児科で診療を行った小児活動性結核症例38例を菌陽性例(17例)、臨床診断例(16例)、疑い例(5例)の三群に分けて検討した。

2) 接触者検診での成績(高松)、使用指針の作成(高松)

2005年8月～2007年12月に当該病院小児科で接触者検診を実施した症例のうち感染源の状況や接触頻度、ツ反結果が明らかであり、感染危険度の高い検診例(塗抹陽性患者と頻回濃厚な接触のあったケース)南京都病院32例、大阪府立呼吸器アレルギー医療センター46例、合計78例。うち、①BCG未接種群8例、②BCG接種群70例の2群に分けて検討した。

(2) コッホ現象スペクトラムと対応指針作成の試み—コッホ現象に対するGrade化評価による経過分析、対応指針の作成—(永井、藤井)

コッホ現象を評価するためにBCG接種後の局所反応をgrade化し客観化を試みた。

(3) 小児結核患者症例検討会(永井)

検討会は、平成15年度より検討会を開催(1回/年)し、今年度もこれまでの検討会と同様に、土曜日午後の半日に症例検討会を開催した。

(4) BCG副反応症例の検討:「最近の報告増加」の実態の検討

1) 皮膚科関連副作用の増加(森)

予防接種副作用報告、医学文献データベースからBCGの副作用としての皮膚病変

を検討した。

2) BCG骨炎の文献レビューに関する研究(柳)

医学中央雑誌Web版(Ver.4)Advancedモードを利用するにあたってキーワードを決定するために“BCG”をキーワードとして検索をかけ、抽出されたシソーラス用語の内、副作用と関連があると思われるものを選び出した。これらをキーワードとして用い1983年～2007年のデータベースを2007年6月に検索し、656件が抽出された。今回は656件の中から、比較的多くはあるが重篤な副作用の代表として骨病変に注目し、レビューを行った。

C. 研究結果

(1) 小児における結核感染の診断にインターフェロンγ応答試験(QuantiFERON)の有用性の検討

1) 活動性結核患者における使用成績

治療開始前にQFTを実施した35例中、陽性29例(82.9%)、判定保留1例(2.96%)、陰性5例(14.3%)であった。菌陽性例に限ると15例中14例(93.3%)が陽性を示した。

2) 接触者検診での成績(高松)、使用指針の作成(高松)

感染源・喀痰塗抹陽性者と濃厚接触を有した接触者検診例におけるQFTとツ反を検討した。BCG未接種群でQFT陽性率は、2/8(25%)であった。さらに、喀痰塗抹陽性の肺結核患者である母親と濃厚接触した生後すぐの乳児(BCG未接種児)の経過をみた2例の経験では、ツベルクリン反応は陽性化したが、QFTは陰性、もしくは判定不可のままであった。BCG接種群では、QFT陽性率は、19/70(27.1%)であった。

(2) コッホ現象スペクトラムと対応指針作成の試み—コッホ現象に対する Grade 化評価による経過分析、対応指針の作成—(永井、藤井)

BCG 接種後の局所反応の経過には、BCG 接種 1 週間以内の反応が grade3 以上であり、経過中軽減することなく、本来出現する局所反応は出現しないか、出現しても直後の方が反応が強い「直後型」。また BCG 接種直後より、接種 12 ヶ月後に出現する本来の反応の方が強い「非直後型」、一方、直後の局所反応が強くと出現しても数日で改善し、本来の反応の方が強く見られる正常あるいはコッホもどきと考えられる「非特異的型」の 3 パターンがあるように考えられた。そのうち、「直後型」「非直後型」を示すものがコッホ現象と考えられる。

(3) 小児結核患者症例検討会(永井)

今回の検討会の対象事例は 2007 年に登録された 14 歳以下の小児結核事例とし、大阪府下での事例が 2 例、兵庫県および京都市の事例がそれぞれ 1 例ずつの合計 4 例について、医療機関側と保健所側からそれぞれプレゼンテーションを行い、フロアも交えて検討・議論をおこなった。内容的に①発病予防の可能性、②治療支援の必要性、③院内感染防止上の観点などを検討した。また、事例検討に入る前に大阪府・大阪市より 2007 年における小児結核の現状について報告をおこなった。参加者は医師・保健師・看護師・事務職・技師等さまざまな職種から合計 84 名であり、これまでで最多となった。関西圏で小児結核の診療ネットワークを形成したと言える。

(4) BCG 副反応症例の検討:「最近の報告増加」の実態の検討

1) 皮膚科関連副作用の増加(森)

1. 予防接種副反応報告による症例の推移では、本制度が発足して以来平成 18 年 3 月末までに報告された BCG 副反応事例の累計分である。最も多く見られるのが「1. 腋窩リンパ節腫大」であり、全報告例の 59% (「6A 腋窩以外のリンパ節腫大」を含めると 64%) を占める。ついで「2. 局所反応」(遷延性の潰瘍や、膿瘍形成)、「6C. ケロイド」などであり、「4. 皮膚結核様病変」がこれに続く(まれにこれら 2 種以上の反応を併発する者もあるが絶対数は小さい)。この間の接種件数は 2,577 万人なので、これらの発生率(接種 100 万件対)は、リンパ節腫大 21、局所反応 5、そして皮膚病変は 2.3 と、前 2 者に比して皮膚病変はごく少数に留まっている。

しかし、その経年的変化は特異である。平成 11 年には皮膚病変は 4 例だったが、その後不規則ながらも増勢を示し、平成 14 年以後は急速に増加した。平成 15~17 年度の報告件数は年平均で 13.3 件であり、これはそれ以前の年平均 2.0 件の 6 倍強に相当する。また平成 15~17 年度の報告が平成 14~16 年度の接種から発生したとすると、発生率は 100 万対 9.3、0~3 歳に限定すると 11.7 となる。なお、この間腋窩リンパ節腫大も平成 15~17 年報告の年平均は 53.0 件で、それ以前の 45.8 件よりもやや増加したが、その幅は皮膚病変ほどではない。

皮膚病変の接種時年齢は全 58 例中、50 例(86%)が 0 歳であるが、1 歳 5 例、2 歳 1 例、4 歳を超える者も 2 例あった。接種後病変発生までの時期を見ると、全体の 28% が 1 カ月以内に、また 85% (累計) が 2 カ月以内に発生している。残りの 15% がその

後半年間に発生していた。

2. 文献調査による発生・臨床像の動向

収集された報告は平成9年以来総数80件であった。報告の記述から調査の対象である「皮膚病変」を「I群：全身性の皮疹」「II群：限局性病変・その他」に大別し、その中を記載されている診断名で分類した。それらの報告が行われた年次の分布を見ると報告件数においてもやはりこの数年間の増加傾向は著しい。I、II群のいずれも増加しているが、どちらかえば前者の報告件数の増加が著しい。ちなみに平成1997～2001年、2002～2006年の前後5年ずつに報告件数を見ると、I群は前後で14件から34件に、またII群は15件から17件に増えていた。予後は概ね良好であり、大半が2カ月後に皮疹は消退していた。この間行われた治療は、記載のあった36例中「なし(経過観察のみ)」が23例(64%)、イソニアジド使用はわずか6例(17%)、その他は副腎皮質ホルモン剤2例、抗アレルギー剤2例などであった。

2) BCG 骨炎の文献レビューに関する研究(柳)

抽出された656件のうち、除外キーワードによって絞り込まれた文献は97件であった。タイトルと抄録から骨病変と関連があると思われるものが18件抽出された。これらを詳細に検討したところ、骨関連病変を有する16症例が抽出された。この中で免疫不全を認めなかったと記載しているものは8例、不明5例、免疫不全ありが3例であった。今回の検索結果は既報と一致度が高く、検索の悉皆性はかなり高いと考えられた。また抽出された16例中、月齢5ヶ

月未満での接種例が少なくとも9例あり、乳児、特に新生児期のBCG接種の副作用について、詳細なモニタリングの必要性が強く示唆された。

D. 考察

乳児期早期発症例を含む初期変化群症例においても陽性率は高く、菌陰性例の多い小児活動性結核症例の補助的診断方法として非常に有用であることが示唆された。一方でQFT陽性を呈さなかった菌陽性例も見られ、QFTのみではなく、良質な検体による細菌学的検査、慎重な画像的検索、さらに問診やツ反結果を併せた総合的な評価に基づく診断が重要である。

接触者検診におけるQFTは、感染性の高い感染源と頻回かつ濃厚な接触を有し、結核感染成立が強く疑われた小児例における年齢別QFT陽性頻度やツ反発赤径とQFT結果の相関等の検討などより、潜在性結核診断におけるQFTの感度が乳児例で低い可能性が示唆された。年齢別の分析結果より、中学生ではQFTは化学予防適応基準になりうるが、それ以下の年齢では、ツ反とQFTは相補的に使用するのが妥当である。乳幼児では従来通りツ反を用いた総合判断が望ましい。

コッホ現象については、今まで報告のあった事例を合わせて検討してみると、局所反応がgrade3以上で、経過中軽減することなく、ツ反が陽性であるコッホ現象と判断された事例において、胸部X線検査など画像検査の確認後、発病していた場合は即時治療となり、発病していなければ化学予防を行うこととなる。一方、

数日で局所反応が軽減し、しかもツ反を実施すると陰性である非特異的型であれば結核菌に感染していないと考えられるため、フォローを終了という措置も可能と考えられる。

以上のことから、コッホ現象を診断する場合、BCG 接種後 1 週間以内の局所反応が grade3 以上であり、かつ経過中に反応が減弱しない場合、コッホ現象の可能性が考えられるため、BCG 接種後遅くとも 2 週間以内にツベルクリン検査を実施すべきであると考えられる。

小児結核患者症例検討会では、引き続き大阪地区では小児結核患者発生数は現象をみており、今回の検討会を含めた大阪地区における積極的な小児結核対策キャンペーンは、大阪地区の小児結核患者の減少を促していると考えられた。大阪地区において取り組んだ「小児結核に対する効果的対策－医療機関・保健所の合同症例検討会」方式の対策は、今後全国の大都市部の小児結核対策に拡大され、今後の行政施策に大きく貢献できる可能性がある。

日本で近年 BCG 接種副反応としての皮膚病変とくに結核疹様の病変が増加したように見えるこの状況をどのように考えるべきか。仮説①「予防接種副反応への関心の高まりで、副反応報告が積極的に行われるようになった」－これは他の種類の副反応の報告の変化と一致しないので考えにくい。また学会での報告の増加傾向を説明しない。仮説②「皮膚病変への関心が高まった」－何らかの理由で皮疹症例が小児科でなく皮膚科に紹介されることが多くなり、この症状が小児科よりももっと注意され、診断されやすくなった。このような患者が皮膚科

をより多く受診するようになったか否かは分からないが、可能性は否定できない。仮説③皮膚病変は若い乳児に多く、乳児期とくに生後 6 カ月以前に接種される者が多くなった。この仮説は、前半・後半ともに未検証であるが、6 カ月以前の接種が以前から多かった東京都のようところでこの副反応が多かったという事実もないことは否定的な材料である。一方、「副反応報告」の大幅増加が平成 17 年度に起こったことは、この時期に新制度による生後 6 カ月前実施が導入されたことと一致している。これら①～③の仮説のいずれが立証されるのかは今後にまつほかない。

E. 結論

1. 小児における結核感染の診断にインターフェロングamma 応答試験 (QuantiFERON) の有用性の検討。活動性結核患者の治療開始時に QFT を実施した 35 症例について検討した結果、陽性 29 例 (82.9%)、判定保留 1 例 (2.96%)、陰性 5 例 (14.3%) であった。小児の活動性結核症の診断においては QFT はより迅速で適確な診断に役立つ有用性の高い検査法である。特に結核発病の可能性が高いにもかかわらず結核菌の証明が困難な症例において、QFT 陽性と判明した場合の診断的意義は非常に大きい。感染源・喀痰塗抹陽性者と濃厚接触を有した接触者健診例における QFT とツ反を検討した。BCG 未接種群 8 例中、ツ反陽性者 4 例中 QFT 陽性は 2 例、肺結核の母から生まれた乳児でツ反陽性者 2 例における QFT は陰性であった。BCG 接種群 70 例では陽性例は 19 (27.1%) であった。年齢別の分析結果より、中学生では QFT は化学予防適応基準になりうるが、

それ以下の年齢では、ツ反と QFT は相補的に使用するのが妥当である。乳幼児では従来通りツ反を用いた総合判断が望ましい。

2. コッホ現象を評価するために BCG 接種後の局所反応を grade 化し客観化を試みた

BCG 接種後 1 週間以内の局所反応が grade3 以上であり、かつ経過中に反応が減弱しない場合、コッホ現象の可能性が考えられるため、BCG 接種後遅くとも 2 週間以内にツベルクリン検査を実施すべきであると考えられた。

3. 小児結核患者症例検討会

関西圏で平成 15 年度より①発病予防の可能性、②治療支援の必要性、③院内感染防止上の観点などを検討するために、検討会の開催 (1 回/年) によって、診療ネットワークを形成した。

4. BCG 副反応症例を検討した結果、平成 14 年以後は BCG 接種後の特に全身性の皮疹が急速に増加した。1983 年から 2007 年の文献検索より 16 症例の骨関連病変が抽出された。乳幼児期の BCG の副作用についてのモニタリングの必要性が示唆された。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 徳永 修, 村田祐樹, 濱谷 舟, 宮野前健¹⁾, 末永麻由美, 宮川知士, 錦戸知喜, 吉田之範²⁾, 亀田 誠, 高松 勇, 土居 悟, 岡田 賢司, 樋口 一恵, 原田 登之. 小児活動性結核症例におけるクオンティフェロン[®]TB-2G 反応性の検討. 日本小児呼吸器

疾患学会雑誌 (投稿中)

2. 学会発表

1) 徳永 修, 宮野前 健, 宮川知士, 高松 勇, 樋口一恵, 原田登之. 小児期活動性結核症例におけるクオンティフェロン[®]TB-2G 反応性の検討. 第 40 回日本小児呼吸器疾患学会 (大阪)

2) 高松 勇, 錦戸知喜, 吉田之範, 西川嘉英, 亀田誠, 土居悟, 樋口一恵, 原田登之. 小児における QFT-2G 検査の検討-接触者検診での検討. 第 40 回日本小児呼吸器疾患学会 (大阪)

3) 高松 勇. 小児における QFT 検査使用指針作成の試み. 第 40 回日本小児呼吸器疾患学会 (大阪)

4) 錦戸 知喜, 高松 勇, 吉田 之範, 亀田 誠, 土居 悟. Koch 現象を契機に発見された肺門リンパ節結核の 5 ヶ月乳児例 第 21 回 近畿小児科学会 (大阪市) 平成 20 年 3 月 16 日

5) 藤井史敏, 柴田仙子, 福田雅一, 永井仁美, 高松 勇. 堺市で経験したコッホ現象 4 症例の検討、コッホ現象に対する Grade 化評価による経過分析. 第 21 回 近畿小児科学会 (大阪市) 平成 20 年 3 月 16 日

6) 永井仁美, 藤井史敏, 高松 勇. 大阪府におけるコッホ現象の現状と検討. 第 21 回 近畿小児科学会 (大阪市) 平成 20 年 3 月 16 日

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

平成 19 年度厚生労働科学新興・再興感染症研究事業 “結核菌に関する研究”

分担研究「小児結核の予防方策及び診療システムの確立」

(分担研究者 大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター小児科部長 高松勇)

研究課題 “小児活動性結核症例におけるクオンティフェロン®TB-2G 反応性の検討”

研究協力者

国立病院機構南京都病院 小児科 徳永 修・宮野前 健

東京都立清瀬小児病院 呼吸器科 宮川 知士

大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター 小児科 高松 勇

国立病院機構福岡病院 小児科 岡田 賢司

結核予防会結核研究所抗酸菌レファランスセンター免疫検査科 原田 登之

A. 研究目的

近年、結核診療に新たに導入された結核感染体外診断法“クオンティフェロン®TB-2G”（以下、QFT）は BCG 菌や多くの非結核性抗酸菌には存在しない、結核菌に特異的な 2 種の抗原蛋白 ESAT-6 (the early secretory antigen target 6 kDa protein) 及び CFP-10 (10kDa culture filtrate protein) を被験者の全血に添加・培養し、その effector T cell より遊離される IFN- γ を定量測定することにより結核感染の有無を判定する方法であり、成人活動性結核症例を対象とした種々の検討において高い感度と特異度が報告されている。米国 CDC や日本結核病学会等により提唱されている QFT 使用に関するガイドラインでは、ツベルクリン反応（以下、ツ反）に代わる結核感染診断方法として、接触者健診、医療関係者の結核管理、さらに細菌学的な確証に乏しいが結核性の疾患が疑われるケースの補助診断などでの使用が推奨されている。小児活動性結核症例では菌陰性例が多く、発症例診断における本検査の有用性が高く期待されている。一方で、これらの年齢では細胞性免疫能が未成熟である、成人型症例に比して体内の菌量も少なく結核菌免疫応答が弱い可能性がある、等の問題点があり、成人症例と同様に良好なパフォーマンスを示すかは不明である。これまで小児例を対象とした QFT 反応性に関する検討報告例も乏しく、種々のガイドラインや IFN- γ release assays (IGRAs) に関する綜説においても小児における本検査の妥当性や診断基準の設定は今後の検討課題とされている。

小児活動性結核症例における QFT の反応性を明らかにすることを目的に小児結核症例を多く診療する 4 施設で経験した小児症例 38 例を対象に本検査を実施し、その反応結果について検討した。また、一部の症例では繰り返し本検査を実施し、治療継続に伴う反応性の変化についても検討した。

B. 研究方法

【検討対象期間及び症例】

2005年4月より2007年10月までに大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター小児科、東京都立清瀬小児病院呼吸器科、国立病院機構南京都病院小児科、国立病院機構福岡病院小児科で診療を行った小児活動性結核症例38例（生後1ヶ月～16歳；府立呼吸器・アレルギーセンター12例、清瀬小児病院12例、南京都病院10例、福岡病院4例）（図1）。

その診断根拠により以下の3群に分けて検討した。

即ち、

①菌陽性例（17例）；結核発症が示唆される画像所見に加え、喀痰・胃液・その他の検体の塗抹検鏡・培養或いはPCR検査陽性により診断された例

②臨床診断例（16例）；各種菌検査陰性も結核発症が強く示唆される画像所見の他、感染源との接触歴やツ反結果、抗結核剤治療への反応などより総合的に診断された例

③疑い例（5例）；結核患者との接触歴やコッホ現象を認め、かつ結核発症の可能性も否定できない画像所見を認める為、結核発症が否定できず治療を開始した例（各種菌検査陰性）。尚、結核発症が示唆される胸部画像所見とは、初期変化群病変を示唆する肺野の結節影・浸潤影や肺門部・縦隔リンパ節の腫大、粟粒結核症を示唆する両側肺野にびまん性に分布する粟粒影や小粒状影、二次型結核症を示唆する結節影や空洞・浸潤影などである。

各症例群の病型内訳を表1に示す。肺結核症例の中には胸部単純写真では有意な所見は認めないが、CTにて経気道性散布病巣や小結節影などを認めた4症例を含む。

【検査方法】

対象症例38例中35例で治療開始時にQFTを実施、残り3例では治療継続途中、或いは治療終了時に初めてQFTを実施した。また、12例では治療開始時から繰り返し検査を実施し、治療継続に伴うQFT反応性の時間的消長を検討した。

検査方法及び判定方法は日本結核病学会予防委員会による“クオンティフェロン®TB-2Gの使用指針”に準拠して行った。尚、一部の乳幼児例では1ウェルあたりの血液量を1mlから0.5mlに減らして抗原添加、培養を行った（原田は同一検体を用いて検体量1ml及び0.5mlのアッセイ系でEAST-6及びCFP-10を添加しそれぞれのIFN γ 産生量について検討したが、互いに直線的な相関関係を認め $r=0.9887$ 及び 0.9894 とそれぞれの値はほぼ一致していた）。ステージ1、即ち全血への特異抗原及びコントロールの添加培養、その上清回収を府立呼吸器・アレルギー医療センター、南京都病院症例は自施設にて、清瀬小児病院、福岡病院症例は結核研究所抗酸菌レファレンスセンターにて実施した。ステージ2、即ちELISA法によるIFN γ 定量は結核研究所抗酸菌レファレンスセンターにて実施した。

C. 研究結果

1) 対象症例におけるQFT陽性例の頻度（表2）

治療開始前に初回のQFTを実施した35例のうち、QFT陽性が29例（82.9%）、陰性が5例（14.3%）、判定保留が1例（2.9%）であった。このうち、菌陽性例15例に限ると14例（93.3%）がQFT陽性であった。尚、QFT陽性29例のうち、ツ反陰性（発赤径10mm未満）は1

例のみであった。

2) 各症例群における QFT 反応性 (図 2)

菌陽性例、臨床診断例、疑い例の 3 症例群について、その QFT 反応性 (ESAT-6、CFP-10 の 2 種の抗原刺激のうち、より優位な反応を示した値を採用) を比較検討した。菌陽性例及び臨床診断例は、ほぼ同等の QFT 反応性を示しており、両群間に有意な差異は認めなかった。

3) 乳児例における QFT 反応性 (図 3)

検討対象例には生後 1 ヶ月、3 ヶ月、4 ヶ月の乳児例 (全て初期変化群症例) も含まれた。これらの症例においても年長児の症例と同様に Mitogen (PHA) 及び結核菌特異抗原刺激に対して良好な IFN- γ 産生応答を示しており、乳児早期発症例においても本検査の感度が良好であることが示された。

4) QFT 陽性を呈しなかった菌陽性症例 (図 4)

菌陽性肺結核例全 17 例 (治療中途に初めて検査を実施した 2 例を含む) のうち QFT 陽性を呈しなかった症例は 2 例であった (陰性 1 例、判定保留 1 例)。共に広汎な経気道性散布病巣を認め、診断時にはツ反アネルギーを呈していた。Mitogen 刺激に対する IFN- γ 産生応答も比較的 low、重症結核罹患に伴う細胞性免疫能減弱を反映しているものと考えた。

5) 病型と QFT 反応性 (図 5)

乳幼児に多い初期変化群症例 (13 例; うち菌陽性 3 例) 及び主に小・中学生に発症した肺結核 II 型、III 型症例 (13 例; うち菌陽性 10 例) の QFT 反応性 (ESAT-6、CFP-10 の 2 種の抗原刺激のうち、より優位な反応を示した値を採用) を比較検討した。両群の QFT 反応性に有意差は認めず、病変の拡がりも大きく菌陽性例の多い肺結核 II 型、III 型症例群の方でむしろ低い傾向が見られた。

6) 治療継続に伴う QFT 反応性の推移 (図 6)

治療開始時より経時的に QFT を繰り返し実施した 12 例のうち、治療開始時 QFT 陽性であった 10 例の治療継続に伴う QFT 反応性の推移を図に示す。全ての症例で治療継続、菌検査や画像所見の改善に伴って QFT 反応性の減弱を認めている。しかし、治療終了時まで反応性の推移を追跡した 6 例のうち、治療終了時に QFT 陰性であったのは 1 例のみであり、3 例が陽性、2 例が判定保留であった。

D. 考察

小児結核症例では成人結核症例と異なり塗抹検鏡、培養、PCR 検査などにより菌が証明される例は約 30% と少なく、その診断は感染源との接触歴や BCG 接種歴などに関する問診、ツ反結果、胸部画像所見を組み合わせた総合的評価によりなされてきた。

しかし、乳児期の BCG 接種を勧奨している我が国ではツ反による結核感染陽性的中率は低く、また胸部画像所見にも診断特異性に乏しい所見 (例えば、乳幼児の背側下肺野に認める浸潤影) も多く、その診断に苦慮するケースも多い。感染源との接触歴を重視し過剰な

治療適応判断 (over-diagnosis & over-treatment) がなされるケースもある。この為、既往の BCG 接種の影響を受けないとされる QFT を小児結核診療に導入することにより感染診断精度が向上することが期待されている。

しかし一方で、乳幼児では種々の抗原刺激に対する IFN- γ 産生応答が低い、小児では体内の菌量が少ない一次結核症が多く、成人型結核症例に比して結核免疫応答が弱いことが予想される、などの点から小児における QFT 反応性が成人例に比して低い可能性も懸念されている。

これまで小児結核症例における本検査の有用性を検討した報告例は乏しく、またその多くは潜在性感染例を交えた報告や対象症例数が少ない報告であった。今回、我々は小児結核症例を多く診療する 4 施設で経験した小児活動性結核症例 38 例を集積し、これまでの報告例を凌ぐ多数の小児症例を対象として QFT の反応性を検討した。

その結果、治療開始前に QFT を実施した 35 例のうち 29 例 (82.9%) が、さらに菌陽性例 15 例に限ると 14 例 (93.3%) が QFT 陽性であり、これまでの成人発症例に関する報告例と同様に高い感度を有することが明らかとなった。特に乳幼児に多く、菌陰性例も多い初期変化群症例における本検査の感度不良が懸念されたが、今回の検討では年長児の肺結核 II 型、III 型症例と同等以上の QFT 反応性を示しており、菌陽性例・臨床診断例を併せた初期変化群症例 13 例全例が QFT 陽性であった。生後 6 ヶ月未満の乳児発症例 3 例 (全例が初期変化群症例) も年長児例と同様に結核菌特異抗原及び Mitogen 刺激に対して良好な IFN- γ 産生応答を示した。これらより菌陰性例の多い小児活動性結核症例においても高い検査感度が確認され、小児例においても発症例の補助的診断方法として非常に有用であることが示唆された。

一方で、喀痰塗抹陽性例でありながら QFT が陽性を示さなかった例も 2 例見られた。この 2 例は共に胸部画像上広汎な経気道性散布性病巣を呈し、診断時にツ反はアネルギーを呈していた。Mitogen 刺激に対する IFN- γ 産生応答も比較的強く、重症結核罹患に伴う細胞性免疫能の減弱を反映している可能性が考慮された。Dewan らはサンフランシスコ公衆衛生局に登録された菌陽性肺結核症例 37 例のうち 13 例 (35%) が QFT 陰性であったことを報告しており、QFT 陰性が活動性結核否定の根拠とはならないことを含め、本検査の限界を強調している。また、これまでの接触者健診例に対する種々の報告例にもある通り、QFT 陽性例をその反応性 (IFN- γ 産生量の多寡) によって活動性症例と潜在性症例とに区別することは不可能とされている。即ち、結核既感染率の低い小児においても QFT 結果のみによって結核発症の有無を診断することはできず、良質な検体による細菌学的検査、小児結核の進展様式を理解した必要十分な画像的検索、さらに問診やツ反結果を総合的に吟味した上で診断することが重要である。

今回の検討では、治療継続に伴う QFT 反応性の推移についても併せて検討した。治療開始時より経時的に QFT を検討した 10 例では全例で治療継続、菌検査及び画像所見の改善と共にその反応性が低下する傾向を認めた。しかし、治療終了時まで反応性の推移を追跡し

た6例のうち、治療終了時にQFTが陰性化した症例は1例のみであった。治療継続に伴うQFTを含むIGRAsの反応性変化、或いは治療効果判定指標としての本検査利用の有用性についてもこれまでいくつかの検討例が報告されている。治療継続に伴って順調に反応性が低下するとした報告例も見られるがその傾向が一定しないとするものも多い。今後、さらに治療終了後の経過追跡例を含む検討対象症例を蓄積し、治療有効例や耐性菌感染に伴う治療無効例、或いは再発例におけるQFTの推移について検討することも重要であろう。尚、今回の報告では小児活動性結核症例のみを対象として本検査の有用性を検討したが、小児潜在性結核症例（＝結核菌に感染したものの発症を示唆する画像所見を有しない症例）診断におけるQFTの感度については特に乳幼児例を中心に感度不良である、とする報告が散見される。今後は小児を対象とする接触者健診例についても多施設で症例を集積し、前方視的な検討の継続により潜在性結核症例診断におけるQFTの感度や限界を明らかにすることが必要であろう。さらに小児結核感染診断における高感度の必要性を考慮すると、QFTより感度が高いと報告されているもう一つのIGRAsであるT-SPOT® TBの検討も望まれる

E. 結論

4医療施設で経験した小児活動性結核症例38例（うち菌陽性例17例）を対象にQFTを実施し、小児結核症例における本検査の反応性について検討した。治療開始前にQFTを実施した35例中29例（82.9%）、菌陽性例に限ると15例中14例（93.3%）がQFT陽性であった。乳児期早期発症例を含む初期変化群症例においても陽性率は高く、菌陰性例の多い小児活動性結核症例の補助的診断方法として非常に有用であることが示唆された。一方でQFT陽性を呈さなかった菌陽性例も見られ、QFT結果のみではなく、良質な検体による細菌学的検査、慎重な画像的検索、さらに問診やツ反結果を併せた総合的な評価に基づく診断が重要であると考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

徳永 修、濱谷 舟、宮野前健、樋口一恵、原田登之：小児結核感染診断における QuantiFERON®TB-2G の有用性に関する検討. 日本小児呼吸器疾患学会雑誌, 18 : 127-136, 2007

学会発表

徳永 修、濱谷 舟、宮野前健、樋口一恵、原田登之：小児結核感染診断における

QuantiFERON TB-2G の有用性に関する検討. 第 82 回日本結核病学会 2007.6 大阪

徳永 修、濱谷 舟、宮野前健、樋口一恵、原田登之：中学校での結核接触者検診における QuantiFERON TB-2G の使用経験. 第 39 回日本小児感染症学会 2007.11 横浜

徳永 修、濱谷 舟、宮野前健、末永麻由美、宮川知士、錦戸知喜、吉田之範、亀田誠、高松勇、土居悟、樋口一恵、原田登之：小児期活動性結核症例におけるクオンティフェロン TB-2G 反応性の検討. 第 40 回日本小児呼吸器疾患学会 2007.11 大阪

徳永 修、濱谷 舟、村田祐樹、宮野前健、樋口一恵、原田登之：小児に対する結核接触者健診におけるクオンティフェロン TB-2G の有用性に関する検討. 第 40 回日本小児呼吸器疾患学会 2007.11 大阪

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

图1. 对象症例年齢分布

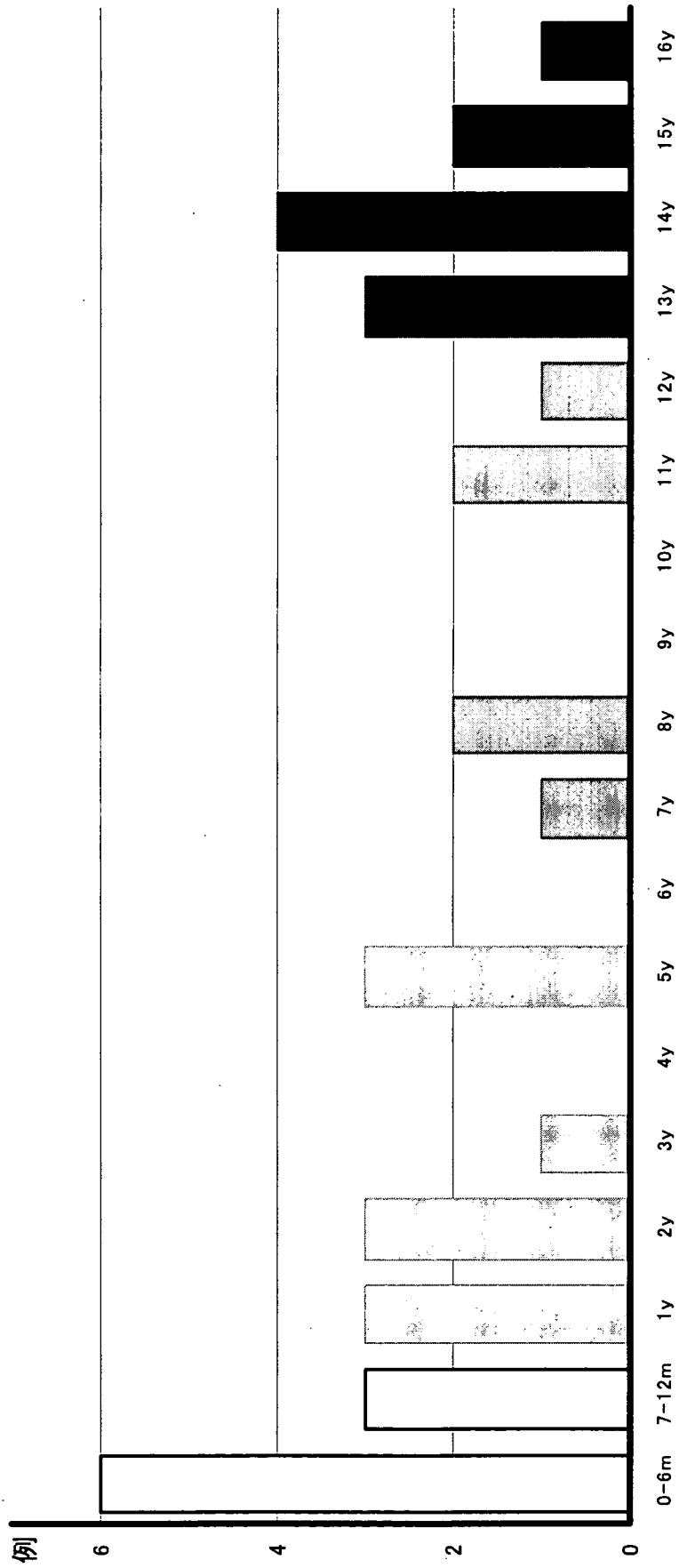


表1. 検討対象症例の内訳とその病型

	初期変化群	肺結核	結核性 胸膜炎	肺外結核	先天性結核
菌陽性例	3	12(*)	1	1(*)	17
臨床診断例	10	6(*)			16
疑い例	3	1			5
	16	19	1	1	38

(*)は治療中途に初めてQFTを測定した症例; 3例