

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
徳永 修、宮野前健	結核感染が疑われる小児に対する適切な感染診断とは？	日本小児呼吸器疾患学会雑誌	22	23-29	2011
永井 仁美	コッホ現象の対応について	日本小児呼吸器疾患学会雑誌	22	30-39	2011
徳永 修、宮野前健、樋口一恵、原田登之	小児を対象とした精度の高い結核感染診断に向けて—2種のIGRA及びIP-10測定と比較検討—	結核	86	991-994	2011
徳永 修、宮野前健	小児結核の診断と治療のポイント	日本臨床	69	1408-1412	2011
徳永 修	BCGワクチン—BCGワクチンは継続すべきか	小児科診療	75	644-648	2012
Fujita A, Ajisawa A, Harada N, Higuchi K, Mori T	Performance of a Whole-Blood Interferon-Gamma Release Assay with Mycobacterium RD1-Specific Antigens among HIV-Infected Persons.	Clin Dev Immunol.	2011	pii: 325295	2011
Mitarai S, Kato S, Hideo O, Aono A, Chikamatsu K, Mizuno K, Toyota E, Sejimo A, Suzuki K, Yoshida S, Saito T, Moriya A, Fujita A, Sato S, Matsumoto T, Ano H, Suetake T, Kondo Y, Kirikae T, Mori T.	Comprehensive Multicenter Evaluation of a New Line Probe Assay Kit for Identification of <i>Mycobacterium</i> Species and Detection of Drug-Resistant <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .	<i>J. Clin. Microbiol.</i>	50	884-890	2012
和田 崇之、前田伸司	ゲノム配列にもとづく結核菌群の発生と進化の理解	化学療法の領域	Vol.27, No.6	25-31	2011

#### IV 研究成果の刊行物・別刷(一部)

## 結核感染が疑われる小児に対する適切な感染診断とは？

徳永 修, 宮野前 健

国立病院機構東京都病院小児科

要旨:小児結核症例の減少に伴い,一般小児科医が結核に遭遇する機会は非常に少なくなっており,小児結核感染症例に対する診断精度低下も強く危惧されている。また,近年結核感染診断に新たにQFT等のIFN $\gamma$  release assay (IGRA)が導入され,ツベルクリン反応の欠点を補う鋭敏な診断法として大きな期待を集めている。

小児結核を診療する小児科医とIGRA研究者によって組織された「小児QFT研究会」において,これまで蓄積された小児を対象としたQFT適用例を検討し,①0・1歳児では陽性コントロール刺激に対するIFN $\gamma$ 産生応答が年長児に比して乏しく「判定不可」例が多く出現する,②乳児を含む小児活動性結核症例では成人を対象とした検討と同等に良好な感度を認め,菌陰性例の多い小児活動性結核の補助的診断法として非常に有用である,③乳幼児を対象とした潜在性結核感染診断ではQFTの感度不良が示唆される,等の事実を明らかにした。さらに,これらの検討結果に基づいて「小児結核感染診断におけるQFT使用指針」を提唱したので,その内容も紹介する。

Key Words : 小児結核, LTBI, IGRA (Interferon- $\gamma$  release assay), QuantiFERON<sup>®</sup>TB

## はじめに

我が国の小児結核症例は順調な減少傾向を続けており,2006年以降の年間新登録患者数(0~14歳)は100例未満で推移している<sup>1)</sup>。しかし,成人を含めた結核罹患率は未だ世界的には「中蔓延」と評価され,子どもたちにとっての結核感染機会は決して無視できる状況ではない。また,小児結核症例の減少に伴い,一般小児科医が結核に遭遇する機会は非常に少なくなっており,小児結核感染症例に対する診断精度低下も強く危惧される。

周囲に結核患者が発生する,など結核感染のリスクを有する小児に対して精度の高い感染診断を行うことは,既に発病に至っている例を早期に発見する目的の他,未だ発病に至っていない感染例を発見し予防的治療を適用することで将来の発病例を減らす意義も有している。この発表では近年,新たに結核感染診断に導入され

た検査法IGRA (IFN $\gamma$  release assay)の小児結核診療における有用性と限界を紹介し,結核感染が疑われる小児に対する適切な感染診断について考える。

## 結核の感染と発病;小児における特殊性

結核は感染源となりうる結核患者への曝露により,結核菌を肺内に吸引し初期変化群が形成されることで感染が成立する。その一部は初感染に引き続いて,肺野原発巣の増大,肺門・縦隔リンパ節の腫大等の病像を呈して発病に至る(=初感染型結核症,小児型結核症)が,多くは初感染後,結核免疫が成立し菌の増殖は抑えられ,潜在性結核感染(LTBI:latent tuberculosis infection)と呼ばれる状態へ移行する。しかし,一部の症例では宿主の免疫能減弱等に伴って感染後数年から数十年を経て発症に至る(=慢性型結核症,成人型結核症)。小児,特に乳幼児では感染後発病に至るリスクが高

い<sup>2)</sup> (表 1), 感染後早期に発病することが多い, 髄膜炎・粟粒結核などの重症型結核へと進展しやすい, 等の特徴が見られる。このため, 感染が疑われる小児に対する精度の高い感染診断の適用, さらに「感染」例に対する発症診断を目的とした画像精査と未発症例 (LTBI 例) に対する積極的な化学予防 (LTBI 治療) 適用が重要である。

### 小児を対象とした結核感染診断

小児を対象に結核感染診断を適用する場面としては, ①周囲に感染源となりうる結核患者が発生した後に実施される「接触者健診」, ②臨床的に結核発症が疑われる例に対する補助的診断 (発症診断の gold standard は細菌学的診断), ③ BCG 直接接種後にコッホ現象が疑われる局所所見を認めた例への対応, などが想定される。

結核感染を判断するための診断材料として, 旧来より実施されてきた, ①感染・発病のリスクを評価する問診や情報収集, ②ツベルクリン反応 (以下, ツ反) に加え, 近年新たに③ IGRA (IFN $\gamma$  release assay; 結核菌特異抗原刺激による IFN $\gamma$  放出試験) が加わった。

#### 感染・発病リスクを評価する問診・情報収集

感染源患者の感染性を評価するため, その病型 (空洞の有無や病変の拡がりや気道病変の有無), 菌所見 (喀痰塗抹所見), 症状 (特に咳嗽

の有無), 感染性期間, さらに他の接触者の間での感染・発症例の拡がりなどの情報を, また, 接触者の感染・発病リスクを評価するため, 感染源との接触頻度とその状況, 年齢や BCG 接種歴, 基礎疾患等の情報を収集する。

#### ツベルクリン反応

結核菌の培養液から作成された PPD (purified protein derivative) に対する遅延型過敏反応を皮膚炎症反応 (発赤及び硬結) として検出することにより感染診断を行う方法であり, 「結核感染が考えられる」, 「結核感染の可能性が有意に大きい」有意な反応として日本結核病学会から BCG 接種歴や結核患者との接触歴に応じた判定基準が示されている (表 2. “今後のツ反検査の暫定的技術基準”)<sup>3)</sup>。本検査法は長い年月にわたって使用されてきた, 感度が優れた感染診断法であるが, 一方で, BCG 既接種者あるいは非結核性抗酸菌感染でも陽性反応を示す, PPD 注射や反応の測定には技術的なばらつきが大きい, 結果判定を目的に接種 2 日後に再度医療機関を訪れる必要がある, PPD を繰り返し接種することに反応が強くなる (Booster 現象), などの欠点や課題を有する。

#### 新たに導入された結核感染診断法 IGRA について

先に挙げたツ反の欠点を補う新たな感染診断法として, 我が国においても 2006 年より「クオ

表 1 正常な免疫能を有する小児が初感染後発病へと至る年齢別のリスク

初感染を受けた年齢	発病へと至るリスク (%)		
	発病しない	肺結核発症	粟粒 (播種性) 結核または結核性髄膜炎
1 歳未満	50%	30 ~ 40%	10 ~ 20%
1 ~ 2 歳	75 ~ 80%	10 ~ 20%	2 ~ 5%
2 ~ 5 歳	95%	5%	< 0.5%
5 ~ 10 歳	98%	2%	< 0.5%
10 歳以上	80 ~ 90%	10 ~ 20%	< 0.5%

Marais, B.J. et al.: The natural history of disease of childhood Intra-thoracic tuberculosis: a critical review of the pre-chemotherapy literature. *Int J Tuberc Lung Dis*, 8; 392-402, 2004.

表2 日本結核病学会「今後のツ反検査の暫定的技術基準」[結核感染が考えられる]、[結核感染の可能性が有意に大きい] 有意な反応

		接触歴* (原則として塗抹陽性)	
		なし	あり
BCG 接種歴	なし	硬結 15 mm 以上または 発赤 30 mm 以上	硬結 5 mm 以上または 発赤 10 mm 以上
	あり	硬結 20 mm 以上または 発赤 40 mm 以上	硬結 15 mm 以上または 発赤 30 mm 以上

※尚, 小児とくに乳幼児においてはこれよりも小さい値を基準として用いることが有用である。

ンティフェロン®TB-2G」が保険収載され臨床診療で使用され始めた<sup>4)</sup>。IGRAは結核菌に感染し、感作されたメモリーT細胞からIFN $\gamma$ 産生を強く誘導する性質をもつ結核菌特異抗原(ESAT-6及びCFP10;これらの抗原をコードしている遺伝子はBCG菌やほとんどの非結核性抗酸菌には存在していないRD1領域に存在している)を被験者血液に添加・培養し、遊離されるIFN $\gamma$ の多寡により結核感染の有無を判定する検査法である。IGRAには①全血に対して特異抗原を添加・培養し、上清中に遊離したIFN $\gamma$ をELISA法で測定するQuantiFERON®TB(以下QFT;Cellestis社)と②単核球を分離・洗浄,細胞数を調整した後,抗原を添加・培養しIFN $\gamma$ が産生された細胞を発色させELISPOT法によりそのスポット数を測定するT-SPOT®TB(以下T-SPOT;Oxford Immunotec社)の2種の検査方法がある。このうち、T-SPOTは我が国では未だ認可されていないが、欧州や米国では汎用されている。また、QFTは予め採血用試験管内に3種の結核菌特異抗原(ESAT-6, CFP10に加えTB7.7)が添加されている製品(商品名「クオンティフェロン®TBゴールド」, 欧米では「QuantiFERON TB®Gold In-tube」)が臨床現場で使用されている。

成人活動性結核患者及び感染リスクの低いコントロール群を対象としたQFTのパフォーマンスに関するメタアナリシスでは高い感度(81

~87%)及び特異度(98~100%)が示されている<sup>5)</sup>。

#### 小児結核感染診断におけるQFTの有用性と限界

感染後発病に至るリスクが高い、あるいは発症例においても細菌学的診断が困難な症例が多い小児に対してQFT等を適用することで、より精度の高い感染診断が導かれる可能性に対する期待は大きい。一方で、細胞性免疫能が幼弱な乳児を対象としても、あるいは、成人症例に比して病巣内の結核菌菌量が少ないと思われる小児症例を対象としても、成人症例を対象とした検討成績と同様に良好な感度が期待できるのか?という懸念もある。

このような疑問を明らかとするため、小児結核を診療する小児科医とIGRA研究者によって「小児QFT研究会」が組織され、小児を対象とする結核感染診断におけるQFTの有用性と限界について検討を行った。

##### 1) 年齢によるIFN $\gamma$ 産生応答の差異

結核感染診断を目的にQFT-2Gを適用した例で陽性コントロール(PHA)刺激に対するIFN $\gamma$ 産生量を年齢群毎に比較したところ、0歳群、1歳群で6歳以上の年長児に比して反応性が有意に低いことが明らかになった<sup>6)</sup>(図1)。このことより0歳、1歳児を対象に本検査を適用した場合、陽性コントロールに対する反応性が低いために「判定不可」を呈する例が多いこ

と (0歳例で約40%, 1歳例で10~20%が「判定不可」を呈する), またこれらの年齢層では結核菌特異抗原に対する反応性も乏しい (=偽陰性を呈する) 可能性があることに注意を払う必要がある。

## 2) 小児活動性結核症例における QFT-2G の有用性

大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター, 東京都立清瀬小児病院 (現東京都立小児総合医療センター) など4医療機関で診療を行った小児活動性結核症例38例を対象に QFT-2G の反応性を検討した。このうち治療開始前の QFT-2G データが把握できた35例では29例(82.9%)が陽性を示し, さらに細菌学的な診断が可能であった15例に限ると14例(93.3%)が陽性を示した<sup>7)</sup>。また, 乳児早期の発症例も含む0歳児例でも年長の小児群と同様に良好な感度を示すことも明らかとなった (図2)<sup>5)</sup>。このことより QFT が菌陰性例の多い小児活動性結核の補助的診断法として非常に有用であることが示唆

された。

## 3) 小児潜在性結核感染診断における QFT-2G の有用性

大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター及び国立病院機構南京都病院において接触者健診を実施した小児例を対象として小児潜在性結核感染 (LTBI) 診断における QFT-2G の有用性について検討した (対象は187例/321検体, このうち喀痰塗抹陽性感染源と同居していた健診例は82例)。表3に示す通り, 接触のあった結核患者の感染性及び患者との接触頻度等に基づく感染リスクに応じて QFT 陽性頻度が変化していることが明らかとなった。LTBI 診断の Gold standard が存在しないため, 個々の健診例について QFT に基づく感染判断の妥当性を判定することは不可能である。このため, 喀痰塗抹陽性結核患者と同居し, 感染リスクが高い健診例における年齢群毎の QFT 陽性率を過去の疫学データに基づく推定結核感染率 (概ね30~50%)<sup>8)</sup> と比較し, QFT 判定結果妥当性の検

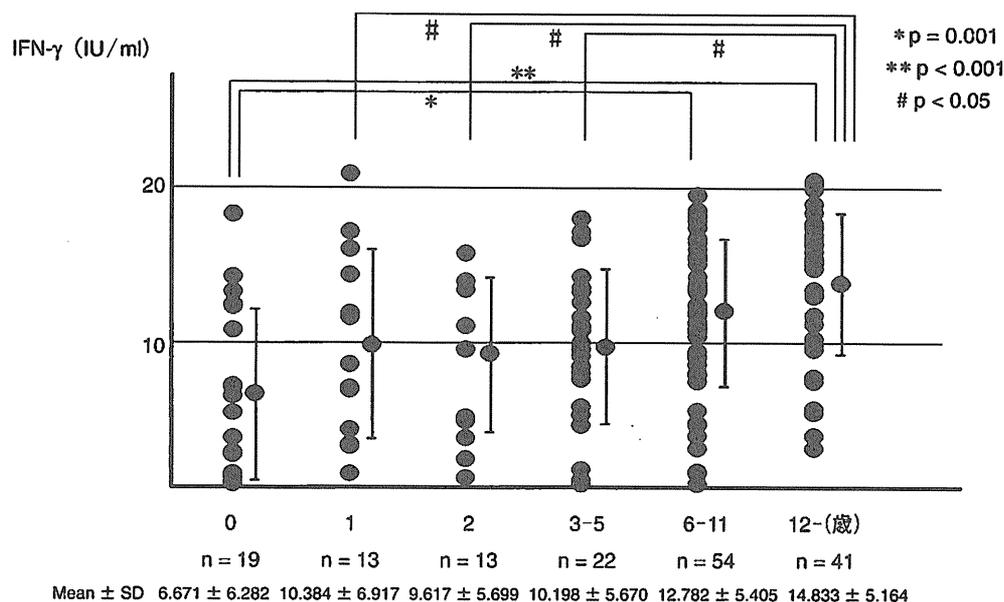


図1 Mitogen 刺激に対する IFN  $\gamma$  産生応答の年齢群間での差異に関する検討 (文献6) 検討対象期間に QFT 測定を行った小児結核関連症例 89 症例 (163 検体)

内訳 菌陽性例（各種検体の菌検査所見より診断）17例  
臨床診断例（接触歴や画像所見，治療への反応などより総合的に診断）16例

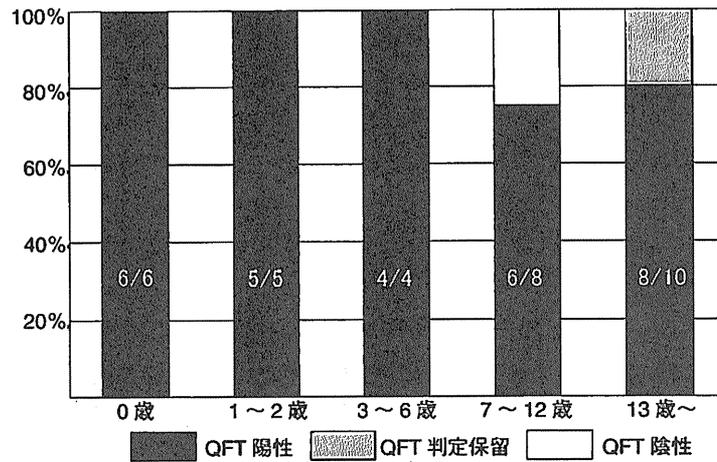


図2 小児活動性結核症例33例における年齢群別QFT陽性率

表3 小児接触者健診症例187例における感染源及び接触者の感染・発病リスクとQFT結果の関連性

	感染源 塗抹陽性	感染源 塗抹陰性 培養陽性	感染源 塗抹陰性 培養陰性	計
同居	82例	18例	7例	107例
	22例 (26.8%)	2例 (11.1%)	0例 (0.0%)	24例 (22.4%)
非同居	69例	8例	3例	80例
	4例 (5.8%)	0例 (0.0%)	0例 (0.0%)	4例 (5.0%)
計	151例	26例	10例	187例
	26例 (17.2%)	2例 (7.7%)	0例 (0.0%)	28例 (15.0%)

上段は対象症例数，下段はQFT陽性例数（QFT陽性率）を示す

証を試みた。図3に示す通り，3歳以上の各群（3～6歳，7～12歳，13歳以上）では推定感染率と同等のQFT陽性頻度を示したが，0歳，1～2歳の各群では発症が明らかであった例を除いてQFT陽性例は認めなかった<sup>7)</sup>。また，父母が喀痰塗抹陽性肺結核を発症したBCG未接種乳児に対する接触者健診で結核発症が否定された5例で全例がQFT陰性または判定不可で経過したが，うち2例でツベルクリン反応の陽転が確認された。これらより乳幼児を対象としたLTBI診断におけるQFTの感度不良が示唆さ

れ，このような場面で「QFT陰性」のみを感染否定の根拠とすることにより多くの感染例が見逃されることが懸念される。

小児を対象とした結核感染診断において，どのようにQFTを利用すればよいのか？

上記の検討結果をふまえ，小児QFT研究会では以下の通り，「小児結核感染診断におけるQFT使用指針」を作成した。

・QFTは小児においても結核感染が疑われるケースでも実施する意義のある有用な検査法で

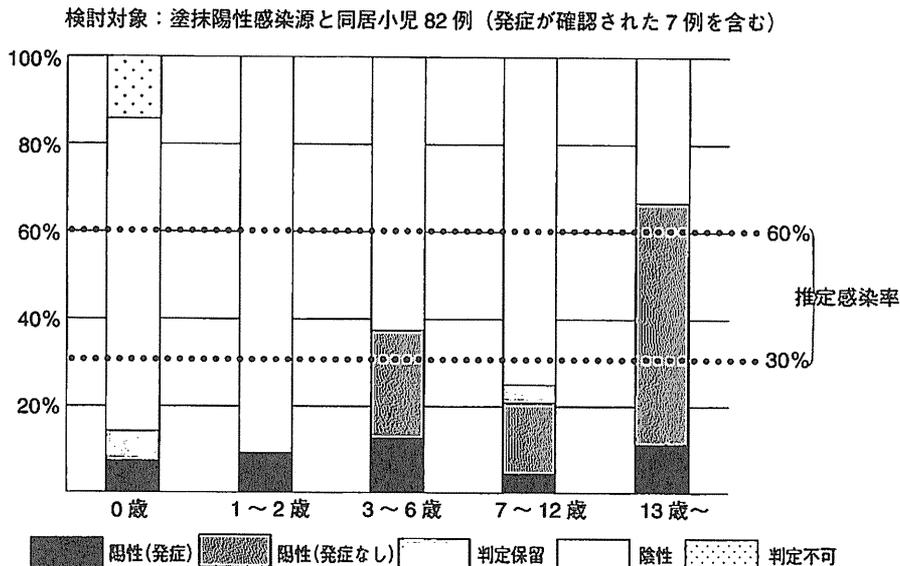


図3 塗抹陽性感染源と同居小児に対する接触者健診における年齢群別 QFT 陽性率

ある。

・特に発病を前提とした結核感染診断において感度の高い有用な検査法であり、結核患者との接触歴や画像所見より発病の可能性が高いと評価されるにもかかわらず、菌の証明が困難な症例で「QFT 陽性」と判明した場合の診断的意義は非常に大きい。

・また、感染・発病リスクの高い接触者健診例で QFT 陽性が明らかになった場合には発病の可能性も念頭に慎重な画像評価を行うことが必要である。

・一方で、小児、特に乳幼児を対象とした潜在性結核感染例診断（≒旧来の化学予防適応判断）においては QFT の感度はツ反に比して必ずしも高いものではなく、「QFT 陰性」のみを根拠として感染を否定することは不適切である。

・小児を対象とした潜在性結核感染診断に際しては、その年齢や基礎疾患、BCG 接種歴、感染源の病型と排菌の程度、接触状況、周囲の発病・感染者の出現状況などを総合的に勘案してリスク評価を行い、

- ① 乳幼児・学童に対してはツ反を優先して
- ② 中学生以上に対しては QFT を優先（必要に応じてツ反を併用）して

感染判断を行う姿勢が適当である。

・尚、この方針は乳幼児・学童を対象とした健診での QFT 実施の意義を否定するものではなく、「陽性」と判明した場合には最近の結核感染を強く示唆する所見として発症の可能性も念頭に慎重に症状や胸部画像所見を検討することが必要である。

#### まとめ

小児結核感染診断への QFT 適用成績を紹介し、小児結核感染診断における QFT の有用性と限界について考察した。本検査法はツ反の欠点を補う有用な検査法であるが、その限界も明らかとなってきた。旧来から結核感染診断に利用されている、①感染・発病のリスクを評価する問診や情報収集、②ツ反結果等の情報も十分に考慮に入れた上で慎重な感染診断を行うことが肝要と考える。

文 献

- 1) 結核研究所疫学情報センター：結核年報 2009 Series3. 小児結核, 結核, 86: 553-556, 2011.
- 2) Marais, B.J., Gie, R.J., Schaaf, H.S. et al.: The natural history of disease of childhood Intra-thoracic tuberculosis: a critical review of the pre-chemotherapy literature, *Int J Tuberc Lung Dis*, 8: 392-402, 2004.
- 3) 日本結核病学会予防委員会：今後のツベルクリン反応検査の暫定的技術的基準, 結核, 387-391, 2006.
- 4) 日本結核病学会予防委員会：クオンティフェロン®TB-2G の使用指針, 結核, 81: 393-397, 2006.
- 5) Roland, D., Loddenkemper, R., Niehaus, A.: Evidence-based comparison of commercial interferon- $\gamma$  release assays for detecting active TB; A metaanalysis, *Chest*, 137: 952-968, 2010.
- 6) 徳永 修, 濱谷 舟, 宮野前 健, 他：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, 日小呼誌, 18: 127-136, 2007.
- 7) 徳永 修, 村田祐樹, 濱谷 舟, 他：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, 日小呼誌, 19: 112-121, 2008.
- 8) Sepkowitz, K.A.: How contagious is tuberculosis?, *CID*, 23: 954-962, 1996.
- 9) 徳永 修, 宮野前健：小児への QFT 等の適用とその課題, 結核, 85: 21-23, 2010.

- る結核感染診断に対してのQuantiFERON®-TB第2世代の有用性についての検討。結核。2007；82：635-640。
- 8) Harada N, Higuchi K, Yoshiyama T, et al.: Comparison of two whole blood interferon- $\gamma$  assays in tuberculosis patients and healthy controls. J Infection. 2008；56：348-353.
- 9) Inoue T, Nakamura T, Katsuma A, et al.: The value of QuantiFERON TB-Gold in the diagnosis of tuberculosis among

- dialysis patients. Nephrol Dial Transplant. 2009；24：2252-2257.
- 10) 坂野章吾：クオンティフェロンTB-2Gの関節リウマチにおける潜在性結核診断の有効性と限界。第84回総会ミニシンポジウム「免疫抑制療法と結核」。結核。2010；85：40-42.

### 3. 小児を対象とした精度の高い結核感染診断に向けて — 2種のIGRAおよびIP-10測定と比較検討 —

国立病院機構南京都病院小児科 徳永 修, 宮野前 健  
結核予防会結核研究所抗酸菌レファレンス部 樋口 一恵, 原田 登之

#### 1. はじめに

小児, 特に乳幼児では感染後発症に至る頻度が成人に比して高く, 感染源となりうる結核患者との接触が判明した後に精度の高い感染診断を行い, その判断結果に従った適切な事後処置を行うことが特に重要である。近年, 結核感染診断に導入されたQuantiFERON®TB (以下, QFT) に関してはつ反に代わる鋭敏な感染診断法として大きな期待が寄せられてきたが, 特に小児を対象としてはその有用性ととも限界も明らかとなってきた。われわれは小児を対象により精度の高い結核感染診断法を導入することを目的に, 欧米において既に汎用されているもう一つのIGRA, T-SPOT®.TB (以下, T-SPOT) やIFN- $\gamma$ 以外のbiomarkerを指標とした感染診断法の有用性についても検討を行ってきた。今回のシンポジウムではこれまでに明らかとなった小児を対象としたQFT-2Gの有用性と限界を整理し, さらに, T-SPOT®.TBやIP-10を指標とした感染診断の検討結果について紹介した。

#### 2. 小児を対象とした結核感染診断におけるQFT-2Gの有用性と限界

われわれは2005年以降「小児QFT研究会」において, 小児を対象としたQFT-2Gの反応性に関する検討を行い, 以下のとおりその有用性と限界が明らかとなった。

①0歳児ではMitogen (PHA) 刺激に対するIFN- $\gamma$ 産生応答が弱いためにQFT-2Gが「判定不可」を呈する例が40%近くに達する。

②小児においても結核発症例を対象とした検査感度は良好であり, 年齢や病型にかかわらず約90%の例が陽性を呈する。菌陰性例の多い小児活動性結核の補助的診断法として非常に有用である。

③父母などの同居家族が塗抹陽性肺結核を発症し, 感染リスクが高いと評価された小児接触者健診例を対象に

年齢群ごとのQFT-2G陽性頻度を比較したところ, 3歳以上の年齢群では過去の疫学データより推定される結核感染率 (30~50%) と同等の陽性頻度を認めたとに対し, 0~2歳児群では発症例を除いて陽性を呈した例はきわめて少なかった。このことより乳幼児を対象とした潜在性結核感染例 (LTBI) 診断においてはQFT-2Gが満足できる検査感度を有していないことが示唆された。

#### 3. 小児を対象とした結核感染診断におけるQFT-2GおよびT-SPOT®.TB反応性の比較検討

2007年10月~2010年6月の間に結核感染が疑われたために国立病院機構南京都病院小児科でQFT-2Gを適用した例のうち, 本人あるいは保護者の同意が得られた例でT-SPOTも同時に実施し, 2種のIGRA判定結果を比較検討した。検討対象となった例は121例 (225検体) で, その内訳は結核発症例8例 (26検体), 家族健診例60例 (119検体), 非濃厚接触例37例 (63検体), コッホ現象疑い例4例 (5検体), 結核除外目的例12例 (12検体) であった。

その結果,

①QFT-2Gでは0歳で約35%, 1歳でも約10%の例が判定不可を呈したのに対し, T-SPOTは年齢群によって判定不可頻度の有意な差異を認めなかった (Fig. 1)。

②結核発症と診断された8例では2種のIGRA判定結果が一致した (8例のうち, 7例が共に陽性, 1例は共に陰性)。

③同居家族内に喀痰塗抹陽性肺結核患者が発生した接触者健診例 (34例) を対象として, QFT-2Gでは0歳, 1~2歳に陽性例を認めなかったのに対し, T-SPOTではこの年齢群を含め, 各年齢群で20%以上の頻度で陽性例を認めた (Fig. 2)。T-SPOTのみが陽性を呈した例における結核菌特異抗原刺激発色スポット数は結核発症例やQFT-2G, T-SPOTが共に陽性を呈した例でのスポット

数に比して有意に少ない数であった (Fig. 3)。また、T-SPOTのみが陽性を呈した例の中には経時的に複数回の検査を行ったところ、陰性→陽性へ、あるいは陽性→陰性へと判定が揺らぐ例も多く含まれた。

などが明らかとなった。

これらより、T-SPOTが0歳児を含む低年齢小児においても良好な感度で結核感染を検出している可能性が期待される。一方で、T-SPOTのみが陽性を呈した例から発症に至った例は確認されておらず、逆に特異度が劣っている可能性も否定できない。

2種の感染診断結果が異なった例を対象にその後の発症の有無を慎重に追跡するとともに、感染リスクの乏しい小児を対象としたT-SPOTの特異度検討も必要と考える。

4. 小児を対象とした結核感染診断におけるQFT抗原刺激上清中IP-10定量測定に関する検討；QFT-3GおよびT-SPOT反応性との比較検討

IP-10 (IFN- $\gamma$ -inducible protein-10 kDa；別名CXCL10)はCXC chemokine familyに属する向炎症性ケモカインで、リンパ球や単球に発現し炎症局所に単球や活性化されたTh1リンパ球を走化誘導する働きをもつ。種々の疾患に関連してその病巣局所や血中で多く発現することが知られているが、結核感染においてもその病勢に応じて血中濃度が増減することが報告されている<sup>2)</sup>。2007年以降、被検者全血を結核菌特異抗原刺激で刺激することにより血中に放出されるIP-10を指標とすることでIGRAと同様に、あるいは、より鋭敏に結核感染の有無を判断

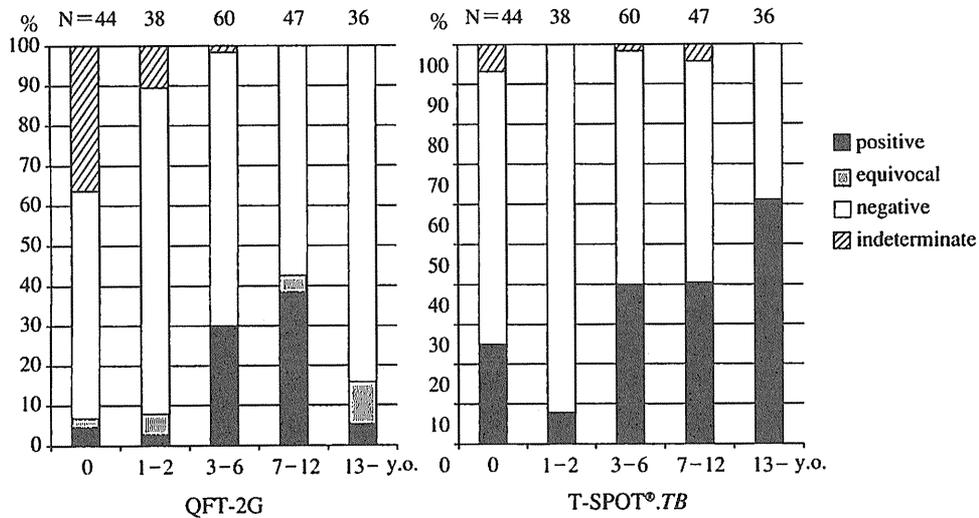


Fig. 1 Comparison of results distribution on in QFT-2G and T-SPOT®.TB assays among 225 samples from 121 children with suspicion of tuberculosis infection

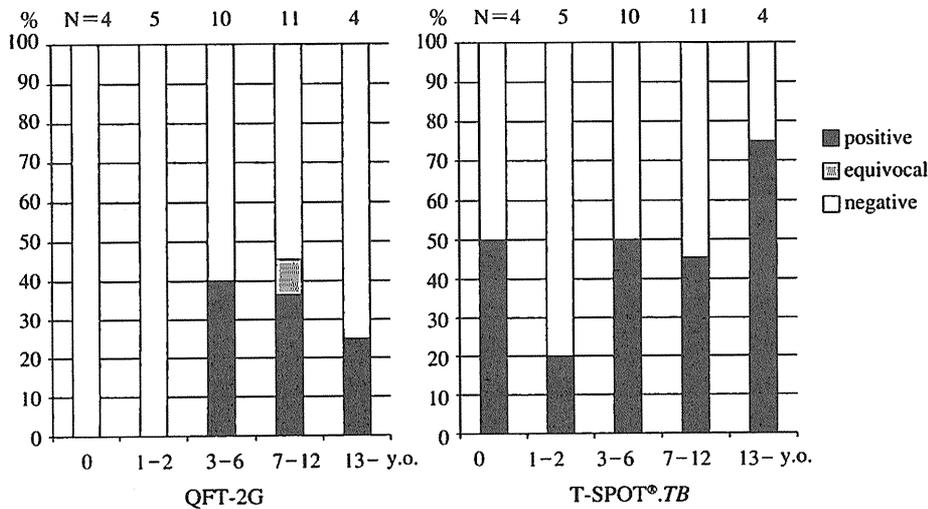


Fig. 2 Comparison of results distribution in QFT-2G and T-SPOT®.TB assays among 34 children who had household contact with contagious tuberculosis patients

することができる、とした報告<sup>3)~5)</sup>も相次いでおり、小児を対象とした有用性も期待されている<sup>6)7)</sup>。

われわれは2010年3月~2011年2月の間に結核感染が疑われ国立病院機構南京都病院小児科を受診した例のうち、本人あるいは保護者の同意が得られた例を対象にQFT-3G, T-SPOTに加え、QFT-3G結核菌特異抗原刺激・培養後上清中のIP-10をELISA法により定量測定し、2種のIGRAおよびIP-10に基づいた感染診断結果について比較検討を行った。検討対象となった例は47例(71検体)で、その内訳は結核発症例4例(8検体)、家族健診例23例(35検体)、非濃厚接触例13例(20検体)、コホ現象疑い例3例(4検体)、結核除外目的例4例(4検体)であった。なお、IP-10については特異抗原刺激により放出された量から陰性コントロールのIP-10を減じた値を診断の指標とし、過去の報告例<sup>4)</sup>に倣って455 ng/mlをcut-off値に設定して感染の有無を判定した。

その結果、

①陽性コントロール(PHA)刺激に伴うIP-10放出量に

年齢群間で有意な差は認めなかった。

②結核発症例における判定結果は3種の診断方法で相違する例はなかった。

③接触者健診例(家族健診例および非濃厚接触例)でQFT-3Gが陽性を呈した例はIP-10およびT-SPOTも共に陽性を呈した。一方でIP-10のみ、あるいはT-SPOTのみが単独で陽性を呈した例も散見された。

④BCG接種後早期の局所所見推移ヤツ反結果よりコホ現象の可能性が強く疑われた3例でQFT-3GおよびT-SPOTが陰性または判定保留を示したのに対し、IP-10は全例で「陽性」を呈した(Table)。

などが明らかとなった。

これらの結果より、結核菌特異抗原刺激によって放出されるIP-10の多寡を指標とした感染判断は乳幼児を含む小児において、QFT-3GやT-SPOTと同等の、あるいはこれらに優る良好な検査感度を有していることが期待された。一方で、T-SPOTと同様に特異度が劣っている可能性も否定できず、単独陽性例からの発症の有無に関する追跡や感染リスクが乏しい小児を対象とした特異度の検討も必要である。

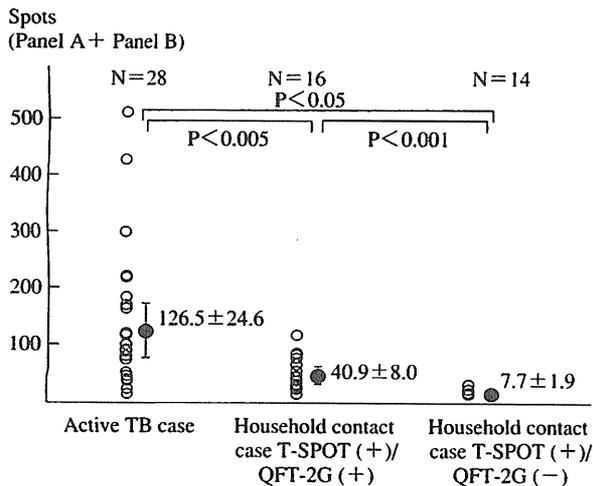


Fig. 3 Spot numbers with *M.tuberculosis* specific antigen stimulation (∑ Spots numbers of Panel A + B) in T-SPOT®. TB assay of 3 patient categories; active TB cases, household contact cases with T-SPOT (+)/QFT-2G (+), and household contact cases with T-SPOT (+)/QFT-2G (-)

5. まとめ

結核感染の可能性が疑われ、当科で診療を行った小児例を対象にQFT, T-SPOT, QFT検体上清中のIP-10定量検査を適用し、それぞれの反応態度を比較した。その結果、発症例では3種の診断法で判定結果の相違を認めなかったが、感染リスクの高い健診例やコホ現象例では異なる反応態度を示し、IP-10あるいはT-SPOTがQFTよりも鋭敏に結核感染を検出している可能性が期待された。一方で、これら2種の感染診断法の特異度が劣っている可能性も否定できず、これらの単独陽性例からの発症の有無に関する追跡とともに、感染リスクが乏しいコントロール群を対象とした反応態度の検討が必要と考える。

文 献

1) 徳永 修, 宮野前健: 小児へのQFT等の適用とその課

Table 3 infants with Koch's phenomenon after direct BCG vaccination, who were tested QFT-3G, T-SPOT®, TB and IP-10 release assays simultaneously

Age	TST	Timing of testing	QFT-3G		T-SPOT®.TB			IP-10	
			TB Ag-nil	Judge	Panel A-nil	Panel B-nil	Judge	TB Ag-nil	Judge
6 m	Negative		0.03	Negative	3	0	Negative	2307.98	Positive
4 m	Induration 4 mm Erythema 10 mm		0.10	Equivalent	0	0	Negative	1149.04	Positive
		+ 2 m	0.00	Negative	0	0	Negative	398.52	Negative
5 m	Induration 9 mm Erythema 13 mm		0.01	Negative	0	0	Negative	9782.54	Positive

- 題. 第84回総会シンポジウム「新しい結核感染診断法の課題と展望」. 結核. 2010; 85: 21-23.
- 2) Azzurri A, Sow YS, Amedei A, et al.: IFN- $\gamma$ -inducible protein 10 and pentraxin 3 plasma levels are tools for monitoring inflammation and disease activity in *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Microbes and Infection*. 2005; 7: 1-8.
  - 3) Ruhwald M, Bjerregaard-Andersen M, Rabna P, et al.: CXCL10/IP-10 release is induced by incubation of whole blood from tuberculosis patients with ESAT-6, CFP10 and TB7.7. *Microbes and Infection*. 2007; 9: 806-812.
  - 4) Ruhwald M, Bodmer T, Maler C, et al.: Evaluating the potential of IP-10 and MCP-2 as biomarkers for the diagnosis of tuberculosis. *Eur Respir J*. 2008; 32: 1607-1615.
  - 5) Ruhwald M, Dominguez J, Latorre I, et al.: A multicentre evaluation of the accuracy and performance of IP-10 for the diagnosis of infection with *M.tuberculosis*. *Tuberculosis*. 2011; 91: 260-267.
  - 6) Whittaker E, Gordon A, Kampmann B.: Is IP-10 a better biomarker for active and latent tuberculosis in children than IFN  $\gamma$ ?. *PLoS ONE*. 2008; 3: e3901.
  - 7) Lighter M, Rigaud M, Huie C-H, et al.: Chemokine IP-10: an adjunct marker for latent tuberculosis in children. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2009; 13: 731-736.

#### 4. 局所検体を用いてT-SPOT.TBによる結核感染診断の臨床評価

川崎医科大学呼吸器内科 小橋 吉博, 岡 三喜男

##### はじめに

Interferon-gamma release assay (IGRA) には, 全血を用いてT細胞によって産生されたIFN- $\gamma$ をELISA法で測定するクオンティフェロン (QFT) と, 分離した単核球の中からIFN- $\gamma$ 反応T細胞数をELISPOT法で抽出するT-SPOT.TBの2つの方法がある。このうちより感度に優れているとされているT-SPOT.TB法は単核球を分離後, 細胞数を調整してからIFN- $\gamma$ 反応T細胞を測定することから, QFTに比して操作は煩雑であるが, 末梢血以外の臨床検体からの結核感染診断にも応用することができる。

このT-SPOT.TBを用いて, 2006年にJafariらが気管支肺胞洗浄液 (BALF) を用いて塗抹陰性の肺結核の早期診断の有用性を報告した<sup>1)</sup>。次いで, 2007年にはLosiら<sup>2)</sup>が胸水を用いて結核性胸膜炎の診断に, その後, 髄液<sup>3)</sup>, 心嚢液<sup>4)</sup>, 腹水<sup>5)</sup>を用いてそれぞれの活動性結核の早期診断の有用性を報告した。

私どもも2007年以降, T-SPOT.TBを導入し, 臨床的に結核疑いの患者に末梢血のみでなく胸水やBALFを用いて, 結核感染診断の補助的診断法として有用化を検討しており, その成績および問題点を報告する。

##### 対象と方法

###### (1) 結核性胸膜炎

2007年以降, 当施設および関連施設においてリンパ球優位の滲出性胸水貯留を認めた45例とした。これらの症例に末梢血と胸水でT-SPOT.TBを測定し, 結核性胸膜炎確定例 (結核菌培養陽性もしくはPCR陽性) と疑診例 (結核菌培養陰性だが抗結核薬による治療奏功例), その他の疾患例に分けて成績を比較検討した。方法は,

胸水を100~200 ml採取後, Losiらが述べた方法<sup>2)</sup>に準じて $2.5 \times 10^5$  cellsに調整した単核球を結核菌特異蛋白抗原で刺激後に得られたIFN- $\gamma$ 産生T細胞数をELISPOT法で測定した。

###### (2) 肺結核

2008年以降に当施設および関連施設において肺結核を疑い, 気管支鏡検査を施行し, 気管支肺胞洗浄液 (BALF) を回収できた症例79例とし, これらの症例を肺結核確定例 (結核菌培養陽性もしくはPCR陽性) と疑診例 (結核菌培養陰性だが抗結核薬による治療奏功例), 肺非結核性抗酸菌症例 (2008年に日本結核病学会が提唱した診断基準<sup>6)</sup>を満たした症例), 陳旧性肺結核症例, その他の症例に分類して成績を比較検討した。方法は, BALFを30~100 ml採取後, Jafariら<sup>1)</sup>が述べた方法に準じて胸水と同様にELISPOT法で測定した。

なお, 判定基準に関してはこれまで胸水やBALFを用いてのガイドラインがないことから, 末梢血によるLalvaniらの報告<sup>7)</sup>に準じて行った。

##### 結 果

###### (1) 結核性胸膜炎

確定例は10例, 疑診例は8例, 他疾患例は27例であった。他疾患であった症例の最終診断は癌性胸膜炎19例, 石綿関連胸膜病変5例, 膠原病に伴う胸膜炎2例, 悪性リンパ腫1例であった。3群間での臨床所見の比較では, 他疾患群で肺癌症例が多かったため, 呼吸器系の基礎疾患を有する比率が有意に高かった以外には背景因子, 検査所見において有意差はなかった。胸水所見では, 総細胞数やリンパ球数においては有意差はみられなかったが, 胸水中ADAは45 IU//をカットオフ値とした

## 特集 今だから知っておきたいワクチンの話題

## Ⅱ. 各ワクチンの現状と話題

## BCG ワクチンー BCG ワクチンは継続すべきか

とく なが おさむ  
徳 永 修 国立病院機構南京都病院小児科

要

旨

わが国の小児結核症例は順調に減少し、低蔓延国の代表である米国を下回る状況に至っている。2005年からの生後3～6カ月でのBCG直接接種導入後、高い接種率を維持している一方で、皮膚結核様病変や骨炎症例などの副反応事例の増加傾向も注目されている。成人を含めた結核罹患状況を考えると、現時点でのBCGワクチン接種廃止は時期尚早と考えられるが、今後の罹患状況推移や副反応の発生動向にも十分な注意を払い、乳児期全例接種の存廃を含むBCGワクチン接種計画を論議していくことも必要と考える。

Key words BCG ワクチン、小児結核、BCG骨炎、Koch現象

## わが国の小児結核の現況

わが国の結核罹患率は緩徐に減少する傾向を続けており、2010年には人口10万対19.0まで低下したが、世界的にはいまだ「中蔓延」と評価される状況にある(2009年の低蔓延国の罹患率、米国3.7、カナダ4.3、スウェーデン5.1:それぞれ人口10万対)。一方で、小児(0～14歳)における状況に目を向けると、2006年以降は年間新登録患者数が100例未満で推移しており(表1)、小児にかぎった罹患率は低蔓延国の代表である米国を下回る状況に至っている(2008年の小児結核罹患率、日本0.6、米国1.3:それぞれ人口10万対)<sup>1)</sup>。筆者らは、このように症例数が減少した状況で発症に至った小児結核の症例背景などを明らかにすることを目的に、2008、2009年に「結核登録者情報システム」に登録された小児結核症例全例(168例)を対象とした実態調査を行った(調査票未回収例や登録後結核以外と判明された例を除く141例を対象に検討)<sup>2)</sup>。その結果、①年齢分布は0～2歳

および中学生に二つのピークを有し、地域的には首都圏、大阪府、愛知県などの大都市部に集中する傾向を認めた、②全症例のうち外国籍および高蔓延国に居住歴を有した小児が約15%を占めた、③BCG (bacillus Calmette-Guérin) 未接種例は18%にとどまり、以前に比してその割合は低下していた、④病型は空洞を有しない肺結核や肺門リンパ節結核など初期変化群結核例が約3/4を占めたが、結核性髄膜炎や粟粒結核などの重症例も6例発生していた、⑤診断契機は周囲に感染源となりうる結核患者が発生した後の接触者健診がもっとも多く(64%)、以下、有症状受診(26%)、学校健診(4%)、Koch現象(2%)などであった、などが明らかとなった。

## BCG ワクチンの有効性

BCG ワクチンはフランスの Calmette と Guérin が 1906～1919年までの13年間、ウシ型結核菌を継代培養し、弱毒化して開発した生菌ワクチンであり、第2次世界大戦後、結核発病予防を目的とし

表1 新登録小児結核患者数（罹患率）および特定肺外結核，1965～2009年（文献1）より引用

年	0～14歳新登録患者		結核性髄膜炎数		粟粒結核数	
	数	率	0～14歳	0～4歳（率）	0～14歳	0～4歳（率）
1965	44,180	175.6	—	—	—	—
1970	18,197	73.4	—	—	—	—
1975	4,905	18.0	28	22 (0.221)	—	—
1980	1,893	6.9	22	14 (0.164)	—	—
1985	1,088	4.2	—	—	—	—
1990	518	2.3	9	4 (0.061)	10	8 (0.122)
1995	340	1.7	8	8 (0.136)	8	8 (0.136)
2000	220	1.2	7	4 (0.069)	3	3 (0.052)
2005	117	0.67	3	1 (0.018)	3	1 (0.018)
2006	85	0.49	0	0	1	1 (0.018)
2007	92	0.53	0	0	0	0
2008	95	0.55	0	0	1	1 (0.019)
2009	73	0.43	1	1 (0.019)	4	4 (0.056)

肺外結核：重複あり，率：当該年齢人口10万対，—：情報なし

たワクチンとして多くの国々に普及した。

BCG ワクチンによる結核発病予防効果に関しては、これまで多くの randomized controlled study (RCS) や case-control study (CCS) によって検討されてきたが、それらの結果は高い有効性を認めたものから、「全く効果を認めなかった」とするものまでさまざまであった。このような状況を受けて、ColditzらはBCGの発病予防効果に関する論文1,264編を検討し、このうち研究手法の優れた14件のRCS、12件のCCSを抽出して詳細に検討し、BCG ワクチンの発病予防効果に関する meta-analysisを行った<sup>3)</sup>。また、新生児・乳児を対象とした有効性についても同様の手法を用いて検討した<sup>4)</sup>。その結果、「結核性髄膜炎や粟粒結核などの重症結果には70～80%の高い有効性を認め、肺結核においても約50%の発病予防効果（新生児・乳児を対象としては74%）を認める」と報告し、現在はこの報告がBCG ワクチン有効性評価に関する世界的なコンセンサスとなっている。

### わが国のBCGワクチン接種制度と接種状況

わが国では1948年より予防接種法にBCGワク

チンが組み込まれ、1967年からは日本独自の経皮管針法による接種が導入された。乳幼児期にツベルクリン反応検査（以下、ツ反と略す）陰性を確認して初回接種を実施し、その後、小学校、中学校時にツ反非陽転が確認された児童・生徒に対してBCG再接種を行う方式が長くとられてきたが、①結核蔓延状況の改善、BCG再接種の有効性に関する否定的な評価、再接種に伴う皮膚瘢痕など副反応事例も多い、などを受けて2003年よりBCG再接種が中止され、さらに、②0歳児の結核既感染率がきわめて低い状況に至り、ツ反を先行させることによるデメリット（偽陽性によりワクチン接種機会が失われる、くり返し接種機会に足を運ばなければいけない）がメリット（ツ反自然陽転を発生し結核の重症化を防ぐ）を凌ぐと判断され、2005年からはツ反を実施することなくワクチン接種を行う「直接接種」が導入された。同時に接種時期についても見直しがなされ、①乳児期早期のワクチン接種率を高め、乳児の結核免疫力を強化する、②既感染例をワクチン接種後のKoch現象\*により早期に発見して重症化を防ぐこと、などを目的に生後3～6カ月までの短い期間に設定された。この接種時期短縮に伴って接種率

表2 BCGワクチン主要副反応の頻度の推移

年度(平成)	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
腋窩リンパ節腫脹	66	60	61	41	48	53	61	48	75	74
局所の潰瘍・膿瘍	12	7	3	17	11	7	7	7	10	9
骨炎	—	3	1	1	2	1	1	4	2	9
皮膚結核様病変	3	4	2	5	7	10	23	21	15	39
全身播種性BCG炎	—	1	—	—	—	1	—	3	—	2

0～4歳、予防接種後副反応報告による

が低下し接種漏れ者が増加することが懸念されたが、高山らの調査より2006年以降、生後6カ月に達するまでに97%以上の累積接種率を達成していることが確認された<sup>5)6)</sup>。近年の小児結核症例数の順調な減少には乳児早期での高いBCGワクチン接種率維持が一因として働いていることが推測される。

### BCGワクチン副反応の状況

先に述べたとおり、BCGワクチンはウシ型結核菌の生菌であり、無毒菌ではなく弱毒菌のため被接種者の免疫学的状況や接種菌量などによっては重大な副反応をおこすこともありうる。しかし、わが国で用いられているワクチン株(Tokyo172株)は他の国で使用されている株に比して毒力が弱く、また日本独自の経皮接種法で行われているので、諸外国に比して副反応の頻度は圧倒的に低く軽い<sup>8)</sup>。

副反応としては、その頻度順に腋窩リンパ節の腫大、皮膚結核様病変、遷延する接種局所の潰瘍・膿瘍などが多く、他に骨炎(骨髄炎)、全身播種性BCG炎などが知られている。

重症複合免疫不全症(severe combined immunodeficiency:SCID)などT細胞の、あるいは慢性肉芽腫症(chronic granulomatous disease:CGD)など食細胞の機能不全を有する先天性免疫不全児にこのワクチンを接種すると、全身播種性BCG炎(時に致死的な経過をとる)などの重大な副反応をおこすことが知られており、接種前の問診においてワクチン接種時期までに免疫不全が疑われる症状・所見がなかったことを確認することが大切である。表2にこれらの主要副反応報告例の年度ごと推移を示す。表2のとおり、腋窩リンパ節腫脹、皮膚結核様病変、骨炎症例が近年増加する傾向を認め、注目されている。このうち、腋窩リンパ節腫脹は2～3カ月程度の経過で自然軽快する例がほとんどであり、また皮膚結核様病変もその約3/4を占める結核疹様病変はワクチン菌体成分に対する過敏性反応と評価されており、経過観察のみで軽快する例が多い。接種局所近傍の肉芽腫・潰瘍などを呈する真正皮膚結核様病変も抗結核薬治療[イソニアジド(INH)単剤あるいはINH+リファンピシン(RFP)投与]に対する反応が良好であり、過度の心配は不要と考えられ

### 補 足

#### \*Koch現象<sup>7)</sup>

すでに結核菌に感染している児にBCGワクチンを接種することにより、接種局所に本来のワクチン接種後の反応よりも、早く、かつ強い反応が見られることを指す。ツ反を先行させないBCG

ワクチン直接接種導入に際して、乳児既感染例(=旧来のツ反自然陽転例)を見逃さないために本現象の有無に関する観察と疑い例に対する適切な対応が強く望まれている。

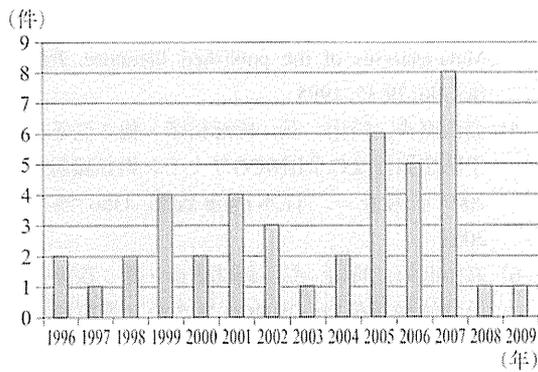


図 BCG接種年ごとBCG骨炎発生件数  
文献10) 11)の数値より作成

学会・学会誌での症例報告例や日本小児整形外科学会評議員に対するアンケート調査などにより把握できた骨炎症例<sup>10)</sup>に日本BCG研究所 小山 明先生が収集・把握した症例<sup>11)</sup>を加えた全42例(両調査の重複例を除く)のBCG接種年ごとの発生件数分布

る<sup>9)</sup>。一方で、骨炎症例は外科的な搔爬術や長期にわたる抗結核薬内服などの治療を要し、また将来、機能的な後遺症を残す可能性も懸念される重大なワクチン関連副反応である。筆者らは学会・学会誌での症例報告例や日本小児整形外科学会評議員に対するアンケート調査などによりBCG骨炎症例の把握を試み、1996年以降に発症した38症例を確認した<sup>10)</sup>。小山らが調査し別に把握していた症例<sup>11)</sup>を加えたBCG骨炎症例42例の接種年ごとの発生件数を図に示す。2004年以前も毎年1~4症例の発生を認めていたが、生後3~6カ月での直接接種が導入された2005年以降は3年続けて6例以上の発生例が確認されており、乳児早期での接種例が急増したこととの関連性も考慮されている。今後もBCG骨炎の発生動向を注視し、同様の傾向が続くようであれば増加要因に関する慎重な評価と対策が必要と考える。なお、BCG骨炎はワクチン接種から1年前後を経て発症することが多く、上腕骨や大腿骨など四肢長幹骨の骨端に好発する。発熱を伴う例は少なく、患部の腫脹・発赤・疼痛、可動域制限、跛行・歩行困難などの症状、所見を呈することが多い。当初、化膿性骨髄炎などが疑われ初期治療を開始するも軽快傾向を認めないBCGワクチン接種後の幼児では、

BCG骨炎も鑑別診断の一つとして念頭におき、検索(とくに病巣吸引または生検検体の細菌学的検索)を進めることも必要であろう<sup>11)</sup>。また、複数の骨炎病巣を認める例ではIFN- $\gamma$ R1異常症など抗酸菌に対する易感染性を示す免疫不全を合併する例も多く、IFN- $\gamma$ /IL-12経路に関連する遺伝子異常について検索を行うことも必要である<sup>12)</sup>。

### わが国においてBCGワクチン接種は継続すべきか

近年の小児結核患者数の順調な減少を受け、「わが国も乳児全例に対するBCGワクチン接種(ユニバーサルワクチネーション)中止の判断をする時期では」との意見も聞かれる。IUATLD(International Union Against Tuberculosis and Lung Disease)はユニバーサルワクチネーション中止を判断する国際的基準として、よく機能している結核対策プログラムがあることを前提に、①最近3年間、塗抹陽性肺結核罹患率が人口10万対5未満である、または②5歳以下の結核性髄膜炎の罹患率が最近5年以上全年齢人口1,000万対1以下である、または③結核感染危険率が0.1%以下である、の三つの基準をあげており<sup>13)</sup>、現在の日本は上記基準のうち②および③をすでに満たしており、「中止を判断すべき」との意見である。しかし、このうち、②は乳児に対するBCGワクチン接種の効果に負うところが非常に大きいと推測され、ワクチン接種中止に伴って乳幼児での発症例が増加し、これに伴って髄膜炎などの重症例が増えることが強く懸念される。同様に、人口全体では「中受延」と評価される結核罹患率にとどまる中で、小児において非常に低い罹患率を達成している要因として、感染源となりうる結核患者発生後の精度の高い接触者健診と適切な事後処置の適用とともに、乳児に対するユニバーサルワクチネーションの継続もあげられる。

森は現在の疫学的状況におけるBCGワクチン接種による結核発症予防効果を検討するため、こ

れまでの疫学データに基づいて推定した結核感染危険率、感染時年齢および感染後の年数による発病率を用いて、数学モデルによる解析を行った<sup>14)</sup>。その結果、2008年時点で0～4歳の乳幼児から41人が発病していたが、BCGワクチン接種がされていなければ300人が発症していたと推定した〔すなわち、BCGワクチンによる発症予防効果を $(300-41) \div 300 = 86\%$ と推定〕。また、このモデルに基づいて2010年にBCGワクチンを全面的に廃止した場合、2015年の結核発病者が0～4歳で230人、5～9歳で50人、また2020年にはそれぞれ192人、108人と推定した。

成人を含めたわが国の結核罹患状況を考慮に入れると、現時点ではBCGワクチン接種継続の便益・効果（小児結核患者、とくに髄膜炎などの重症例の発生予防）は経費および損失（ワクチンに伴う副反応）を十分に上回ると判断され、中止を検討するのは時期尚早と考える。一方で、今後のわが国の結核罹患状況の推移やBCGワクチン副反応の発生動向にも十分な注意を払い、BCGワクチン接種の効果・経費バランスに関する検討を継続し、ユニバーサルワクチネーションの存廃を含むBCGワクチン接種計画を論議していくことが必要と考える。

## 文 献

- 1) 結核研究所疫学情報センター：結核年報2009 Series 3. 小児結核. 結核 86:553-556, 2011
- 2) 徳永 修：近年発症に至った小児結核症例の実態に関する研究—小児結核症例実態調査—, 厚生労働科学研究研究費補助金新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業 結核対策の評価と新たな診断・治療技術の開発・実用化に関する研究. 平成22年度総括・分担研究報告書, 83-92, 2011
- 3) Colditz GA, Brewer TF, Catherine SB et al.: Efficacy of BCG vaccine in the prevention of tuberculosis. Meta-analysis of the published literature. JAMA 271:698-702, 1994
- 4) Colditz GA, Catherine SB, Frederick M et al.: The efficacy of Bacillus-Guérin vaccination of newborns and infants in the prevention of tuberculosis: Meta-analyses of the published literature. Pediatrics 96:29-35, 1995
- 5) 高山直秀, 崎山 弘, 岡部信彦・他：改正結核予防法施行後の全国BCGワクチン累積接種率—2007年調査—, 日本医事新報 4386:75-78, 2008
- 6) 高山直秀, 崎山 弘, 岡部信彦・他：改正結核予防法施行後の全国BCGワクチン等累積接種率：2008年度調査結果. 日本医師会雑誌 137:2132-2136, 2009
- 7) 永井仁美：コホ現象の対応について. 日本小児呼吸器疾患学会雑誌 22:30-40, 2011
- 8) 青木正和：BCG接種の副反応. 医師・看護職のための結核病学, 財団法人結核予防会, 34, 2008
- 9) 森 亨, 山内祐子：BCG接種副反応としての皮膚病変の最近の動向. 結核 84:109-115, 2009
- 10) 徳永 修：BCG骨炎症例把握に向けた研究. 厚生労働科学研究研究費補助金新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業 結核対策の評価と新たな診断・治療技術の開発・実用化に関する研究. 平成22年度総括・分担研究報告書, 93-98, 2011
- 11) 小山 明, 宮川知士, 石立誠人・他：BCG接種後の骨炎—発生頻度と診断・治療—, 関節外科 29:90-100, 2010
- 12) 保科隆之, 高田英俊, 佐々木由佳・他：BCG骨髄炎27例の検討. 小児感染免疫 23:227-232, 2011
- 13) IUATLD: Criteria for discontinuation of vaccination programmes using BCG in countries with a low prevalence of tuberculosis. A statement of IUATLD. Tuber Lung Dis 75:179-180, 1994
- 14) 森 亨：最近のBCG接種計画とその効果に関する分析. 厚生労働科学研究研究費補助金新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業 結核対策の評価と新たな診断・治療技術の開発・実用化に関する研究. 平成22年度総括・分担研究報告書, 99-105, 2011

著者連絡先 . . . . .  
〒610-0113 京都府城陽市中芦原11  
国立病院機構南京都病院小児科  
徳永 修

## Clinical Study

# Performance of a Whole-Blood Interferon-Gamma Release Assay with *Mycobacterium* RD1-Specific Antigens among HIV-Infected Persons

Akira Fujita,<sup>1</sup> Atsushi Ajisawa,<sup>2</sup> Nobuyuki Harada,<sup>3</sup> Kazue Higuchi,<sup>3</sup> and Toru Mori<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Department of Pulmonary Medicine, Tokyo Metropolitan Tama Medical Center, 2-8-29 Musashidai, Fuchu-shi, Tokyo 183-8524, Japan

<sup>2</sup> Department of Infectious Diseases, Tokyo Metropolitan Cancer and Infectious Diseases Center Komagome Hospital, 18-22-3 Honkomagome, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8677, Japan

<sup>3</sup> The Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Association, 3-1-24 Matsuyama, Kiyose-shi, Tokyo 204-8533, Japan

Correspondence should be addressed to Akira Fujita, akira\_fujita@tmhp.jp and Nobuyuki Harada, harada@jata.or.jp

Received 23 May 2010; Accepted 7 July 2010

Academic Editor: Katalin Andrea Wilkinson

Copyright © 2011 Akira Fujita et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

**Objective.** To evaluate the usefulness of one of IGRAs, QuantiFERON-TB Gold (QFT-G), in human immunodeficiency virus (HIV-) infected patients with various CD4<sup>+</sup> T cell counts. **Methods.** The QFT-G assay was performed using QFT-G kits among 107 HIV-infected patients including 9 cases with active tuberculosis (TB). **Results.** In HIV-infected patients with CD4<sup>+</sup> > 50/ $\mu$ L, QFT-G positive rate for active TB patients was 5/6 (sensitivity = 83%), and that for those without active disease was 1/69 (specificity = 99%). The frequency of indeterminate QFT-G test was significantly higher in those with CD4<sup>+</sup> less than 50/ $\mu$ L ( $P < .0001$ ). At the same time there was a proportional relationship between CD4<sup>+</sup> and interferon-gamma response to mitogen (positive control) in QFT-G test ( $P = .0001$ ). **Conclusions.** Our data suggested that QFT-G had high sensitivity and specificity in HIV-infected populations with CD4<sup>+</sup> greater than 50/ $\mu$ L. However, QFT-G did not perform well in HIV-positive patients with CD4<sup>+</sup> less than 50/ $\mu$ L.

## 1. Introduction

Human immunodeficiency virus (HIV) infection is one of the greatest risks for developing active tuberculosis (TB) if HIV-infected individuals are or have been infected with *M. tuberculosis* (MTB). The risk for developing TB in HIV coinfecting persons increases approximately 20- to 200-fold compared with immunocompetent individuals [1]. Therefore, chemotherapy for HIV-infected persons with latent TB infection (LTBI) is recommended [1]. Although prevalence of HIV infection in Japan is low (<0.1), the number of HIV-infected persons is increasing year by year [2].

In the USA, prophylactic treatment for LTBI has been strongly recommended for HIV-infected persons who have an induration of 5 mm or greater in the tuberculin skin test (TST) [3]. Although the TST has been provisionally proposed as a test for TB infection in HIV-infected subjects in Japan [4], the validity of the TST in this population has

not been sufficiently evaluated. This is especially the case in Japan where TST performance is compromised by the past vaccination with Bacillus Calmette-Guerin (BCG) [5], which has been widely used in Japan.

In 2005, a new diagnostic test for MTB infection, QuantiFERON-TB Gold (QFT-G), was approved in Japan. QFT-G measures T cell responses to *Mycobacterium* RD1-specific antigens, which are absent from BCG vaccine strains and most nontuberculous mycobacteria (NTM) and thereby is more specific than TST [6]. However, as QFT-G measures interferon- (IFN-) gamma production from T cells responding to the *Mycobacterium* RD1-specific antigens, it is likely that the responses in HIV-infected individuals with lower T cell number would decline. In acknowledgement of this, both the US Centers for Disease Control and Prevention (CDC) and the Japanese Society for Tuberculosis state in their guidelines the necessity for further research on the use of QFT-G in immunocompromised populations,

including HIV infected [7, 8]. The CDC guidelines for opportunistic infections in HIV infected persons, issued in April 2009, state that IFN-gamma release assays (IGRAs) such as QFT-G can be used for the diagnosis of LTBI in this population [9]. Although several reports indicate that QFT-G had better performance in diagnosing TB infection in HIV-infected individuals than the TST, sensitivity and specificity vary depending on the setting [10, 11]. In Japan, the only published study of QFT-G in HIV-infected reported a moderate sensitivity of 67% (6/9) in AIDS-TB comorbidity patients; however the size of the study was insufficient to address the general applicability of QFT-G in HIV-infected individuals [12].

In the present study, we have examined the usefulness of QFT-G to diagnose MTB infection in HIV-infected individuals as well as comparing the test performance with that of the TST.

## 2. Materials and Methods

**2.1. Subjects.** Inpatients and outpatients of two public general hospitals (Tokyo Metropolitan Fuchu Hospital, currently Tama Medical Center and Komagome Hospital) who were infected with HIV were enrolled into the study regardless of antiretroviral therapy (ART) status. HIV-TB comorbidity was defined as HIV-infected patients with active TB disease. The active TB diagnosis was confirmed by culture positivity in 6 cases. Two other cases were clinically diagnosed based on radiological findings compatible with active TB and their response to antituberculosis treatment. Still another case with tuberculous meningitis was diagnosed so by the elevation of adenosine deaminase in cerebrospinal fluid.

QFT-G tests were performed together with CD4<sup>+</sup> T cell count. The clinical history and the demographic data were obtained from the medical chart. When possible, the TST was also performed. Healthy subjects who were known to be not infected with HIV and to have no history of active TB nor MTB exposure were also enrolled as controls.

This study was approved by the ethics committees of the two hospitals, and informed consent was obtained from all subjects.

**2.2. Tuberculin Skin Test (TST).** For patients who could revisit their hospital 48 hours after placement for test reading, the TST was performed using the defined standard test dose of tuberculin PPD in Japan (Nippon BCG Manufacturing Co. Ltd, Tokyo, Japan), which is equivalent to 2.5 TU of PPD-S [13], injected intradermally into the volar aspect of the forearm. Transverse induration and erythema diameters were measured 48 to 72 hours later and recorded by trained healthcare workers. Individuals performing and reading the TST were blinded to the QFT-G test results. Induration of 5 mm or greater was interpreted as positive, following the cutoff recommended by the CDC for HIV-positive individuals.

**2.3. QuantiFERON-TB Gold (QFT).** The QFT-G assay was performed using QFT-G kits (Cellestis Limited, Carnegie, Australia) according to the manufacturer's instructions. All

blood samples were stimulated with *Mycobacterium*-specific antigens within 8 hours of collection. For those subjects who were tested also with the TST, blood collection was done prior to or simultaneously with the QFT-G test. QFT-G results were interpreted according to CDC guidelines [8]. IFN-gamma responses to either ESAT-6 and/or CFP-10 that were greater than or equal to 0.35 IU/mL above the value for the respective Nil control were interpreted as positive. If a person's response (corrected for the Nil control) was less than 0.35 IU/mL for both TB-specific antigens and their response to the mitogen-positive control was above 0.5 IU/mL, they were considered test negative. If the Nil-corrected IFN-gamma response for an individual was less than 0.35 IU/mL for the antigens and less than 0.5 IU/mL for the mitogen-positive control, an indeterminate result was recorded. As per the Japanese interpretation criteria of QFT, a further possible result for QFT-G, "doubtful positive", was recorded if the subject's response to ESAT-6 and/or CFP-10 was between 0.1 and 0.35 IU/mL and the mitogen response greater than 0.5 IU/mL [14].

**2.4. Data Analysis.** The relationship between the QFT-G results or TST results in association with CD4<sup>+</sup> T cell count in each patient was analyzed. CD4<sup>+</sup> T cell count was classified in four categories: less than 50/ $\mu$ L, between 50 and 199/ $\mu$ L, between 200 and 499/ $\mu$ L, and 500/ $\mu$ L and more. QFT-G results were entered into Excel 2003 (Microsoft, Redmond, WA) and transferred to SPSS version 11.0J (SPSS, Inc. Chicago, IL) for statistical analysis. Chi-squared test or Fisher's exact test was used to test the comparison of proportions, and Kruskal-Wallis test was used for testing correlation between IFN- $\gamma$  response to the mitogen and the CD4<sup>+</sup> T cell count level.

## 3. Results

**3.1. Characteristics of Patients.** A total of 107 cases including 103 Japanese and 4 Thai were enrolled during the study period (Table 1). The majority of the patients were males (92.5%), with a mean age of 46 years (range: 23–75), and mean  $\pm$  standard deviation of CD4<sup>+</sup> T cell count was  $215 \pm 217/\mu$ L (range: 4–934). Fifty-one patients were treated with ART, of whom only one patient had the CD4<sup>+</sup> T cell count below 50. Ninety-eight subjects did not have active TB disease while 2 of these had chest X-ray finding compatible with old TB, and one subject had *M. kansasii* disease. There were 9 subjects with active TB, including one newly infected case who had recent contact with an infectious patient.

CD4<sup>+</sup> T cell counts were distributed as shown in Table 1 in patients with or without active TB. The mean cell count tended to be lower for those with TB than those without TB.

There were 29 healthcare workers (male: 13.8%) with a mean age of 42 years (range: 23–67), recruited as control subjects into the study, and the QFT-G assay was performed for all. They were all negative in the QFT-G assay.

**3.2. TST in HIV-Infected Patients.** Because many of the subjects enrolled into the study were outpatients, they could