

D. T-SPOT®.TB (T-Spot)

T-Spotは日本では診断試薬として認可されていないが、ようやく臨床試験が始まった。リンパ球と刺激抗原のESAT-6とCFP-10を用いる点ではクオンティフェロン®-TBと同様である。T-Spotは、ELISpot (Enzyme-Linked ImmunoSpot) 法を用いた診断法である。ELISpotは、一般的には特定のサイトカインを産生する細胞をスポット (点) として可視化し、サイトカイン産生細胞数を測定する方法である。ヨーロッパを中心に使用されていたが、米国のFDAでも認可された。

ヘパリン採血した血液より末梢単核球を分離し、抗ヒトIFN- γ 抗体をコーティングしたpolyvinylidene fluoride (PVDF) 膜などで底を覆った96穴培養プレートに一定数を分注する。結核菌特異抗原ESAT-6およびCFP-10を添加して、20時間前後培養する。結核感染者の末梢単核球からはIFN- γ が分泌され、その場所で直ちにPVDF膜上の抗ヒトIFN- γ 抗体と結合する。分泌されたIFN- γ を染色することで、IFN- γ 産生細胞の存在した場所をスポットとして可視化する。スポット1個が、IFN- γ 産生細胞1個に相当すると考えられる。IFN- γ を産生する細胞の個数を計測し、その数により結核感染を診断する。

E. IGRAsの有用性

Moriら⁴⁾によるQFT-2Gの検討では、治療開始1週間以内の結核患者119人においてQFT-2G陽性率(すなわち感度は)は89.0% (95%信頼区間 81.9-94.0%)であった。特異度をみるためには、明らかに結核に感染していない群が必要だが、結核に感染していないと判断できる絶対規準は存在しない。そこで明らかな結核感染曝露の機会のない若者は予測既感染率が極めて低いので、

事実上未感染と考えられ、Moriら⁴⁾は日本のいくつかの看護学生のボランティアにツ反とともにQFT-2Gを行った。被験者216人の平均年齢は20歳、大半が1回以上のBCG接種歴をもっていた。QFT-2G陽性率は、1.9% (95%信頼区間 0.5-4.7%)であった。つまりこの群に結核感染が全くないと仮定すれば、QFT-2Gの特異度は98%となる。

わが国におけるQFT-2GとQFT-Gの比較検討では、QFT-2Gの感度81.4%に対し、QFT-Gの感度は92.6%と有意に高く、特異度は共に98.8%であったという⁵⁾。HiguchiらのT-SpotとQFT-2Gの比較検討では、T-Spotは感度がより良好であり、QFT-2Gは特異度がより良好であった⁶⁾。

IGRAsに関する論文が多数発表され、それらを踏まえたメタアナリシスがPaiら⁷⁾により報告された。2008年3月31日までに発表された38論文について検討している。

感度は、QFTについては22論文(1369例)、T-Spotについては13論文(726例)に記載があった。全体の感度は、QFT-2Gは78% (95%信頼区間 73-82%)、QFT-Gは70% (95%信頼区間 63-78%)、T-Spotは90% (95%信頼区間 86-93%)であった。2つのQFTの感度には差がなかったが、T-Spotの感度は両QFTよりも高かった。

ツ反の感度は20論文(1193例)で示され、全体で77% (95%信頼区間 71-82%)であった。ツ反の感度は2つのQFTと同程度であったが、T-Spotより低かった。

特異度は両QFTを合わせて、BCG未接種者では99% (95%信頼区間 98-100%)、BCG接種者では96% (95%信頼区間 94-98%)であった。T-Spotの特異度は93% (95%信頼区間 86-100%)であり、6論文中5論文でBCG接種者を含んでいた。QFTの特異度は多数の報告に基づいており、非常に高い特異度であることがわかる。

T-Spotの特異度はやや低いが報告が限られており、さらにデータの集積が必要であるとされた。ツ反の特異度は、BCG未接種者では97% (95%信頼区間 95-99%) と高いが、BCG接種者では59% (95%信頼区間 46-73%) と低く、ばらつきも大きかった。

Paiら⁷⁾は、多くの報告はサンプルが少なく、いくつかの問題点があると述べている。それは潜在性結核感染症の診断基準がないこと、ツ反の方法にばらつきがあることなどである。

免疫機能低下例 (項目F参照) ではツ反の診断能力は低下し、特に細胞性免疫機能が著しく低下するHIV感染症では、ツ反の有用性は低下する⁸⁾。結核感染の診断において高い感度を示すIGRAsの有用性がHIV感染症でも期待されるが、過去の報告では結論にばらつきがあり、感度はツ反と同等であるという報告とツ反よりも高いという報告がある。現時点ではツ反と同等かそれ以上の感度を示すと考えてよいであろう⁹⁾。

F. 免疫機能障害患者におけるIGRAsの有用性—HIV感染症を中心に—

細胞性免疫機能が著しく低下するHIV感染症では、ツ反応の診断能力は低下する。Johnsonら⁸⁾によれば活動性結核を合併したHIV感染者の30%、AIDS発病例の60%以上はツ反応硬結径が10mm以下であったという。したがって、HIV感染症では結核感染の診断法としてツ反応の有用性は低下する。そこで、結核感染の診断において高い感度を示すIGRAsが期待される。

IGRAsを用いてHIV感染症における結核診断を行う際に注意が必要な点は、細胞性免疫機能が低下しているので、PHAによる陽性コントロールが確実に得られるかという点である。これが得られない場合は判定不可となる。

Brockら¹⁰⁾によれば、590名のHIV感染者に

QFT-Gを行ったところ、陽性者には潜在性結核感染症のリスクをもった症例や結核の既往のある症例が多かった。しかし、CD4数が少ないほど判定不可例が多かった。

T-SpotについてはHIV感染症においても十分にPHAに反応し、CD4数に影響を受けないという報告¹¹⁾がある。QFT-2GとT-Spotを比較した報告¹²⁾では、判定不可例はQFT-2G 11%、T-Spot 3%とQFT-2Gのほうが多かった。特に5歳以下ではQFT-2Gでは判定不可が多かった。南アフリカのHIV感染症および結核の非常に多い地域において、活動性結核を発病していない160名 (HIV陽性者74名、陰性者86名) に対して、T-Spot、QFT-2G、ツ反応を施行した報告¹³⁾がある。HIV陽性者は陰性者に比べ、ツ反応の陽性率は有意に低かった。しかし、T-Spot (陽性率: HIV陽性者52%、HIV陰性者59%) もQFT-2G (陽性率: HIV陽性者43%、HIV陰性者46%) も陽性率にHIV陽性・陰性に差がなかった。両者とも中等度に進んだHIV感染症では感度が落ちないとしている。ただし、判定不可例はT-Spotで1%、QFT-2Gで7%認められている。上記の報告^{12,13)}をみるとT-Spotに比べ、QFT-2Gは免疫能が低下した状態では判定不可例が生じやすいと考えられる。

HIV感染症合併結核におけるIGRAsの有用性についての報告は少なく、ELISpotについての報告が散見されるのみである。Chapmanら¹⁴⁾は39例のHIV感染症合併結核におけるT-Spotの感度は90%と非常に高く、有用であったと報告している。

Liebeschuetzら¹⁵⁾によるAfricaの小児の前向き研究では、T-Spotの結核診断の感度は83%であり、ツ反応の感度の63%に比較し有意に高かった。免疫機能が低下していると考えられる3歳以下の小児、HIV感染症、低栄養状態における結核感染に対するツ反応の感度は51%、36%、44%であった。これに対してT-Spotはそれぞれ、

85%, 73%, 78%と高値であり, T-Spotは免疫機能の低下にも影響を受けにくいという結果であった。

G. IGRAsの今後の課題

解決しなければならないIGRAsの課題の一部を以下にあげる^{3,9)}。

- ・ IGRAsは将来活動性結核となることを予測できるか。IFN- γ が高値の症例は活動性結核を発病するリスクが高いか。
- ・ 結核菌感染後, IGRAs陽性になるまでの程度時間がかかるか (ツ反同様8~10週後といわれている)。
- ・ IGRAsの感度と特異度をさらに上げる方法はあるか。
- ・ 小児におけるIGRAsの精度と信頼性はどの程度か。
- ・ HIV感染症を代表とする免疫機能低下例における有用性はどの程度か。
- ・ 宿主と結核菌の遺伝子的要素の影響はあるか。

これらの疑問に答えるためには, 精力的に症例を集積し臨床経過を十分検討すると同時に基礎的研究を積み上げていかなければならない。

文献

- 1) Mazurek GH, Villarino ME, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Guidelines for using the QuantiFERON-TB test for diagnosing latent *Mycobacterium tuberculosis* infection. MMWR. 2003; 52(RR-2): 15-8.
- 2) Mazurek GH, Jereb J, Lobue P, et al. Division of Tuberculosis Elimination, National Center for HIV, STD, and TB Prevention, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Guidelines for using the QuantiFERON-TB Gold test for detecting *Mycobacterium tuberculosis* infection, United States. MMWR. 2005; 54 (RR-15): 49-55.

- 3) Mazurek M, Jereb J, Vernon A, et al. IGRA Expert Committee; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Updated guidelines for using Interferon Gamma Release Assays to detect *Mycobacterium tuberculosis* infection - United States, 2010. MMWR. 2010; 59(RR-5): 1-25.
- 4) Mori T, Sakatani M, Yamagishi F, et al. Specific detection of tuberculosis infection: an interferon-gamma-based assay using new antigens. Am J Respir Crit Care Med. 2004; 170: 59-64.
- 5) Harada N, Higuchi K, Yoshiyama T, et al. Comparison of two whole blood interferon- γ assays in tuberculosis patients and healthy controls. J Infection. 2008; 56: 348-53.
- 6) Higuchi K, Kawabe Y, Mitarai S, et al. Comparison of performance in two diagnostic methods for tuberculosis infection. 2009; 198: 33-7.
- 7) Pai M, Zwerling A, Menzies D. Systematic review: T-cell-based assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection: an update. Ann Intern Med. 2008; 149: 177-84.
- 8) Johnson MP, Coberly JS, Clermont HC, et al. Tuberculin skin test reactivity among adults infected with human immunodeficiency virus. J Infect Dis. 1992; 166: 194-8.
- 9) Pai M, Dheda K, Cunningham J, et al. T-cell assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection: moving the research agenda forward. Lancet Infect Dis. 2007; 7: 428-38.
- 10) Brock I, Ruhwald M, Lundgren B, et al. Latent tuberculosis in HIV positive, diagnosed by the *M. tuberculosis* specific interferon-gamma test. Respir Res. 2006; 7: 56.
- 11) Dheda K, Lalvani A, Miller RF, et al. Performance of a T-cell-based diagnostic test for tuberculosis infection in HIV-infected individuals is independent of CD4 cell count. AIDS. 2005; 19: 2038-41.
- 12) Ferrara G, Losi M, D'Amico R, et al. Use in routine clinical practice of two commercial blood tests for diagnosis of infection with *Mycobacterium tuberculosis*: a prospective study. Lancet. 2006; 367: 1328-34.
- 13) Rangaka MX, Wilkinson KA, Seldon R, et al. Effect of HIV-1 infection on T-cell-based and skin test detection of tuberculosis infection. Am J Respir Crit Care Med. 2007; 175: 514-20.

特集 HIV 感染症と呼吸器疾患

HIV 感染症と結核・非結核性抗酸菌症

永井英明*

Summary

HIV 感染症では抗酸菌症の合併リスクが高い。HIV 感染者が増加傾向にあり、結核の中蔓延国である日本では、結核患者では HIV 検査は必須である。HIV 感染症結核合併例の治療では、薬剤の副反応、rifamycin 系薬剤と抗 HIV 薬の相互作用、免疫再構築症候群の合併に注意が必要である。結核の治療開始後、早期に抗 HIV 療法を開始すべきであるという傾向にあるが、開始時期については症例ごとに慎重な検討が必要であると考えている。

Key words HIV 感染症, AIDS, 結核, 非結核性抗酸菌症, 抗 HIV 療法/human immunodeficiency virus infection, acquired immunodeficiency syndrome, tuberculosis, nontuberculous mycobacteriosis, highly active antiretroviral therapy

HIV 感染症と結核

1 はじめに

細胞性免疫は結核の感染防御を担っており、この機能が著しく低下する HIV 感染症では結核の感染・発病のリスクは極めて高い。

日本の結核の罹患率は人口 10 万対 19.0 (2009 年) まで低下したが、欧米先進国の中には罹患率が 5 前後の国もあり、日本は結核については中蔓延国である。また、HIV 感染者数は年々増加している。このような状況下では、今後 HIV 感染症合併結核の症例が増加

する可能性が高い。

結核患者における HIV 陽性率については、前向きな全国調査において 0.37% (関東 7 都県では 0.65%) という報告がある¹⁾。当院では結核患者全体では 3.2%、HIV 感染症が疑われなかった症例では 1.0%、粟粒結核では 28.6%であった²⁾。当院のデータは結核患者も HIV 感染者も多い東京地区のデータであることを認識しておかなければならないが、当院では結核患者全員に HIV 検査を行っている。

2 HIV 感染症における結核発病のリスク

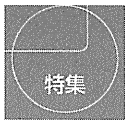
HIV により CD4 陽性リンパ球細胞 (CD4)

Tuberculosis and Nontuberculous Mycobacteriosis among HIV-infected Patients

Hideaki NAGAI*

* Department of Respiratory Diseases, National Hospital Organization Tokyo Hospital, Tokyo

* 国立病院機構東京病院呼吸器疾患センター (〒204-8585 東京都清瀬市竹丘 3-1-1)



数が極端に減少することにより重篤な細胞性免疫障害が生じるが、CD4 の障害はさらにマクロファージ機能（抗原提示能、遊走能、活性化）の障害をもたらす。結核の感染防御に最も重要な働きを示すのは、CD4 とマクロファージである。したがって、これらの細胞の機能障害が生じる HIV 感染症では結核に感染し発病しやすい。細胞性免疫が低下した状態で結核を発病すると、肉芽腫の形成不全、結核菌の抑制不全、大量の結核菌による頻回の再燃、局所リンパ節への波及（肺門、縦隔リンパ節）、血行性の全身播種が起こり得る。この場合、乾酪性壊死と空洞形成は起こりにくくなる。

非 HIV 感染者が結核に感染した場合、結核が発病する確率は一生涯に 5~10%といわれているが、HIV 感染者が結核に感染した場合は、その発病する率は年間 5~10%といわれ高率であり、その 50%は 2 年以内に発病するといわれている³⁾。

3 臨床像

結核菌は HIV 感染症に合併する日和見感染症を引き起こす病原体の中では比較的強毒性のため、結核症は早期（CD4 数 300~400/ μ l）から合併しやすい。症状は、発熱、倦怠感、体重減少、盗汗、咳嗽、喀痰などで、非 HIV 感染者の結核と同様であるが、ほかの日和見感染症にも見られる症状である。進行が速い場合があるので早期発見が重要である。ツベルクリン反応（ツ反）は細胞性免疫の低下のため陰性であることが多い。

胸部 X 線写真では、免疫能が比較的保たれている時期では、肺尖部に空洞形成を伴う典型的な像を呈する。しかし、免疫能が低下し

た時期では、下葉の病変、非空洞形成、肺門・縦隔のリンパ節腫脹、粟粒影など非典型像を認めるようになる（図）。

HIV 感染症に合併した結核では、肺外結核の頻度が高いのが特徴である。肺外結核としては、リンパ節結核および播種型が最も多い。ほかに消化管、泌尿生殖器、中枢神経系の結核もしばしば見られる。HIV 感染者では非 HIV 感染者に比較し、2 倍の頻度で肺外結核を合併するといわれている。また HIV 感染者の中でも、肺外結核を合併した症例は、合併しない症例より CD4 数が低値である。

4 診断

HIV 感染者に合併する結核は非典型的な胸部 X 線写真所見、ツ反陰性、肺外病変などを呈する場合があります。臨床所見からただちに結核を疑うことが困難な場合もある。したがってまず結核を疑えるかどうかが重要である。HIV 感染者の結核では喀痰塗抹検査の陽性率は 50~60%といわれている。喀痰以外では、気管支洗浄液、胸水、リンパ節穿刺液・組織、骨髓、尿、便、血液、脳脊髄液、脳組織などから結核菌の検出が可能である。血液培養での結核菌の検出は、非 HIV 感染者の結核ではまれであるが、HIV 感染者の結核ではしばしば認められる。

結核患者として受診してくる患者の中に HIV 陽性者が存在する可能性がある。米国では結核患者の全例に HIV 抗体検査を行うことが推奨されている。わが国では、今のところ結核患者も HIV 感染者も多い都会では結核患者全例に HIV 検査を行うべきであるが、HIV 感染者が少ない地域では、HIV 検査を行う患者を選ばなければならない。HIV 感染症

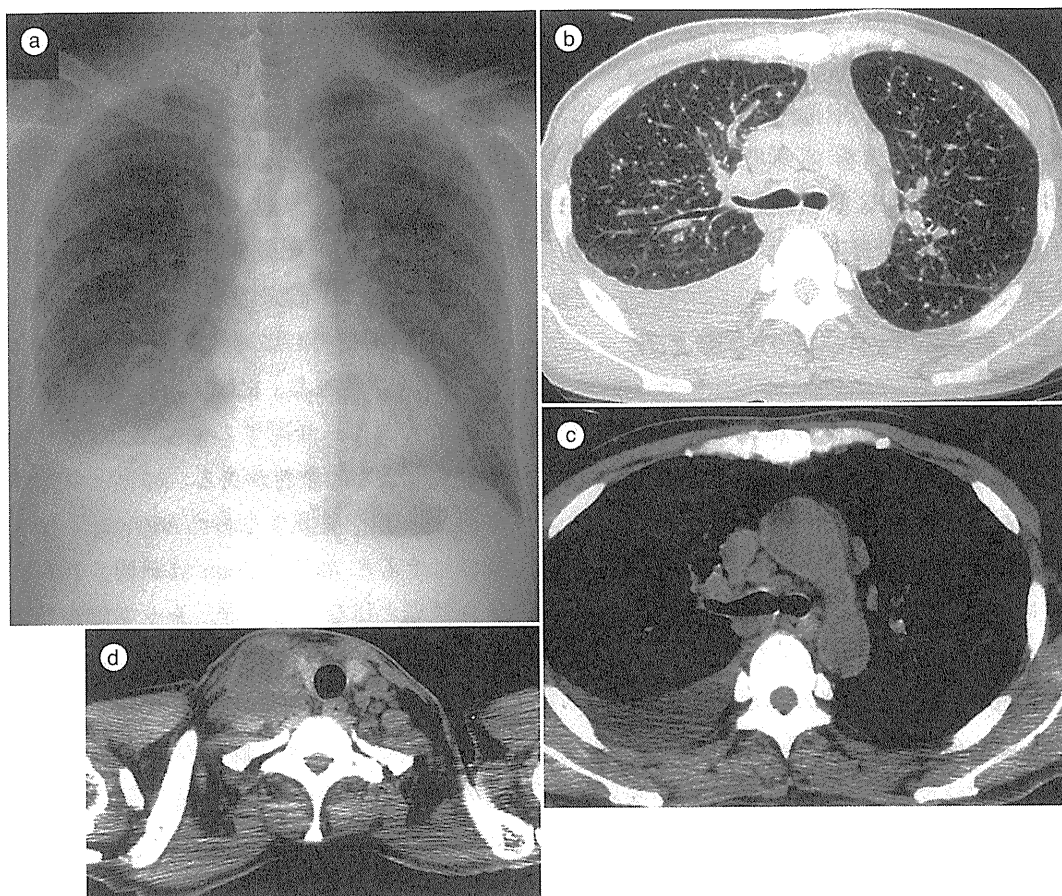


図 HIV 感染症に合併した粟粒結核，頸部リンパ節結核

40 歳代，男性。CD4 $31/\mu\text{l}$ ，HIV 5.9×10^4 cpies/ml。粟粒結核，頸部リンパ節結核の症例。CMV 腸炎も合併していた。

- a. 胸部正面 X 線写真では両肺びまん性粒状影，右胸水を認める。
 b, c. 胸部 CT では両肺びまん性粒状影，右胸水，縦隔リンパ節腫大を認める。
 d. 頸部 CT では内部に壊死を伴う頸部リンパ節腫大を認める。

を疑うポイントとしては，非典型的な胸部 X 線写真像，特に肺門・縦隔リンパ節の腫脹を伴う肺結核・粟粒結核，肺外結核，血清梅毒反応・B 型肝炎ウイルス抗原および抗体・C 型肝炎ウイルス抗体のうち複数が陽性，ツ反陰性，口腔カンジダ症，頻回の海外渡航歴（特に東南アジア，アフリカ）などが挙げられる。今後は性交渉歴を病歴聴取の必須項目に加えなければならないであろう。

5 強力な抗 HIV 療法時代における AIDS と結核

強力な抗 HIV 療法（highly active antiretroviral therapy：HAART）が導入されてから HIV 感染症の予後は著明に改善し，AIDS 関連疾患の減少と HIV 感染者の死亡率の減少が認められている。また，HAART は HIV 感染症における活動性結核の合併リスクを減少させたという報告も見られる⁴⁾⁵⁾。

Girardi ら⁴⁾によれば，HIV 感染症合併結核

症例に対して抗 HIV 療法を行わなかったかあるいは抗 HIV 薬を 1 剤しか投与しなかった群の死亡についての hazard ratio を 1 とした場合、抗 HIV 薬を 3 剤投与した群では 0.14 であり、有効な HAART を行った場合、HIV 感染症合併結核例の生存率は著明に改善したという。

6 HIV 感染症合併結核の治療上の問題点

HIV 感染症合併結核の治療を行ううえで注意すべき点としては、主に以下の 3 点が挙げられるが、両者の治療を並行して行う場合の薬剤の多さが患者の負担になる場合もある。

① 薬剤の副反応が起こりやすい

HIV 感染症では薬剤の副反応が起こりやすく、細心の注意を払う必要がある。特に、抗結核薬では皮疹と肝障害の副作用が多い。抗結核薬と抗 HIV 薬を同時に内服する場合は両者の副反応を生じる可能性が高く、原因薬剤の同定が困難となるだけでなく、すべての治療を中断せざるを得ない状況に追い込まれることがある。

② Rifamycin 系薬と抗 HIV 薬との間に薬剤相互作用がある

Rifamycin 系薬〔rifampicin (RFP), rifabutin (RBT), rifapentine〕は肝臓と腸管において cytochrome P450 (特に CYP3A4) の誘導作用が強い。CYP3A4 により代謝されるプロテアーゼ阻害薬や非核酸系逆転写酵素阻害薬の血中濃度は、rifamycin 系薬と併用することにより著しく低下し、抗 HIV 作用は低下する。したがって、プロテアーゼ阻害薬および非核酸系逆転写酵素阻害薬と rifamycin 系薬との併用は注意が必要である。

結核の治療中に上記 2 系統の抗 HIV 薬を開始する場合は、RFP よりも CYP3A4 の誘導が弱い RBT を用いることが多かったが、RFP と efavirenz との併用が可能と判明したため選択肢が増えた⁶⁾。

インテグラーゼ阻害薬である raltegravir (RAL) は主に UDP-glucuronosyl transferase 1A1 (UGT1A1) によるグルクロン酸抱合によって代謝される。RFP は強力な UGT1A1 誘導剤であり、併用すると RAL の血漿中濃度が低下する可能性がある。RFP と併用する場合、RAL を倍量すなわち 800 mg 1 日 2 回投与にすると AUC, Cmax は維持されるので併用禁忌とはならないが、トラフ値が低値となる可能性があることを覚えておかなければならない⁷⁾。

Rifamycin 系薬剤と個々の抗 HIV 薬との併用の仕方については文献 15) を参照されたい。

③ 免疫再構築症候群 (immune reconstitution inflammatory syndrome : IRIS) が起こることがある

結核治療中に早期に HAART を開始した場合、結核の一時的悪化を見ることがある⁸⁾。症状・所見としては高熱、リンパ節腫脹、胸部 X 線所見の悪化 (肺野病変および胸水の増悪) などが見られる。この反応は細胞性免疫能が回復し、生体側の反応が強くなったために引き起こされると考えられている。IRIS は CD4 数が低いほど、HAART の開始が早いほど発症しやすく、結核の治療を開始後、2 カ月以内に HAART を始めた場合に高率に見られる⁹⁾。

IRIS と診断された場合は抗結核薬の変更は必要ないが、症状が強い場合は抗炎症薬や

短期の副腎皮質ステロイドの投与、重症例では抗 HIV 薬の中止が必要になることがある。

7 HIV 感染症合併結核の治療

感受性菌であれば、非 HIV 感染者における結核と同様に抗結核薬によく反応する。治療法としては、isoniazid (INH), RFP, pyrazinamide (PZA), ethambutol (EB) (あるいは streptomycin) の 4 剤を 2 カ月間投与し、その後 INH, RFP の 2 剤を 4 カ月継続して、全治療期間を 6 カ月とする、いわゆる短期療法でよいとされている¹⁰⁾。しかし、6 カ月治療では再発率が高く、治療期間を延長した方がよいという報告があり¹¹⁾、適切な治療期間については議論がある。臨床的に効果の遅い症例や 3 カ月以上結核菌の喀痰培養が陽性の症例では治療期間を 3 カ月間延長すべきである。

多剤耐性菌の場合は予後不良であるが、感受性の残った薬剤と fluoroquinolone などを用い、長期の治療が必要となる。

結核の治療と HAART を同時に行う場合は、RFP による結核の治療中であれば efavirenz を用い、RBT による結核治療中であれば PI を用いる方法が主流である¹⁰⁾¹²⁾。

8 HAART の開始時期

結核の診断がついたときに、すでに以前より HAART を行っている患者では、HAART がウイルス学的に有効であれば抗 HIV 薬はそのまま継続し、結核の治療を開始する。ただし、HAART の内容により、rifamycin 系薬との相互作用に注意する。HAART がウイルス学的に有効でなければ中止し、結核の治療を優先する。

結核の診断がついた時点で抗 HIV 薬の投与を行っていない症例については、結核の治療を優先する。結核の治療を失敗した場合、死に至る可能性があるためだけでなく、周囲への二次感染を引き起こし、多剤耐性結核菌の出現をもたらす可能性があるからである。

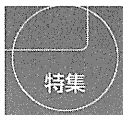
結核の治療開始後に新たに HAART を開始する場合は、「HIV 感染症合併結核の治療上の問題点」で示した 3 点についての配慮が必要であり、いつから HAART を開始すべきか悩む症例が多い。

しかしながら、HAART の開始時期について randomized controlled trial が行われ、早期に HAART を開始することにより、死亡率の低下が認められた¹³⁾¹⁴⁾。その結果、HAART の早期開始が勧められるようになった。

以下に米国保健福祉省 (Department of Health and Human Services : DHHS) (2011 年版)¹⁵⁾ の推奨を示す。

- (1) CD4 < 200 cells/ μ l : 結核治療の開始後 2~4 週間以内に HAART を開始する。
- (2) CD4 200~500 cells/ μ l : 結核治療の開始後 2~4 週間以内、あるいは少なくとも 8 週までには HAART を開始する。
- (3) CD4 > 500 cells/ μ l : 結核治療の開始後 8 週以内に HAART を開始することを勧める。

上記のように、結核合併 HIV 感染症においては、結核の治療開始後 8 週以内に HAART を開始することが勧められるようになった。しかし、当院の経験では抗結核薬の副作用のために予定どおり HAART を開始できない症例も少なくない。HAART 開始時期について



は症例ごとに慎重な検討が必要であると考えている。

9 結核の予防

米国では HIV 感染者に対してはツ反を行い、硬結が 5 mm 以上を陽性とし、結核の感染ありとした。これらの患者では活動性結核を合併しているかどうかの精査を行い、活動性結核がない場合は INH の予防投与 (300 mg/日 9 カ月間) を行うとしている¹⁰⁾。日本では BCG の施行例が多く、HIV 感染者におけるツ反の評価は難しい。

しかし、結核感染診断法としてリンパ球のインターフェロン γ 産生能を測定する方法が普及し、HIV 感染症合併結核例での有用性が示唆されている。QuantiFERON-TB[®] 第 2 世代法は免疫機能が著しく低下した症例では陽性コントロールにも反応しなくなり判定不可例が出る可能性があるが、AIDS 合併結核 13 例¹⁶⁾では、判定不可例は 1 例、陽性率 76.9% とツ反の 15.4% に比較し感度は有意に高く、HIV 感染症においても有用と思われる。

HIV 感染症と非結核性抗酸菌症

1 はじめに

HIV 感染者から分離された非結核性抗酸菌は表に示すように多数報告されているが、*Mycobacterium avium* (*M. avium*) complex (MAC) が圧倒的に多い^{17)~21)}。従来、MAC に次いで多い分離菌は *M. kansasii*¹⁷⁾¹⁸⁾ といわれていたが、*M. xenopi* が *M. kansasii* よりも多い^{19)~21)} という報告もある。これらによる非結核性抗酸菌症が非 HIV 感染者におけ

表 HIV 感染者から分離された非結核性抗酸菌 (報告例)

<i>Mycobacterium avium</i> complex
<i>M. kansasii</i>
<i>M. xenopi</i>
<i>M. fortuitum</i>
<i>M. chelonae</i>
<i>M. abscessus</i>
<i>M. terrae</i>
<i>M. flavescens</i>
<i>M. szulgai</i>
<i>M. scrofulaceum</i>
<i>M. marinum</i>
<i>M. malmoeense</i>
<i>M. haemophilum</i>
<i>M. simiae</i>
<i>M. gordonae</i>
<i>M. genavense</i>
<i>M. celatum</i>
<i>M. ulcerans</i>
<i>M. lentiflavum</i>
<i>M. triplex</i>

るものと異なる点は、全身播種型が多い、複数菌の同時感染を呈することがあるなどである。

ここでは、分離頻度が高く起炎性の明らかな MAC, *M. kansasii* を中心に述べる。ただし、HAART の普及により、非結核性抗酸菌症の合併例は減少しており、最近の論文は少ない。以下の引用文献は HAART 普及前のものが多いことを念頭に置き、HAART 普及後であれば頻度も臨床像も修飾される可能性があることを考慮していただきたい。

2 *M. avium* complex (MAC)

MAC は HIV 感染症に合併する非結核性抗酸菌症の中で、64.0~96.1%¹⁸⁾²⁰⁾²¹⁾ を占め、最も多い起炎菌である。MAC のうち HIV 感染症に合併するのは 95%以上が *M. avium* である。

MAC は HIV 感染症の病初期から合併して

くる結核と異なり、病期が進行し免疫能が低下 (CD4 数 $50/\mu\text{l}$ 以下) すると高頻度に合併する。効果的な抗 HIV 療法や予防的な治療を受けていない AIDS 患者の 20~40% に合併するといわれている²²⁾²³⁾。

しかしながら、HAART が行われるようになってから HIV 感染症の予後は著明に改善し、HAART は HIV 感染症における MAC 症の合併リスクを減少させたという報告⁴⁾⁵⁾も見られるようになった。

HIV 感染症に合併する MAC 症は、呼吸器に限局した病像を呈することは少なく、ほとんどが播種型である。したがって、診断は喀痰培養ではなく、血液培養である。

MAC は結核のように内因性の再燃により発病するのではなく、外来性の感染により発病するといわれている。感染経路は消化管・呼吸器といわれているが、MAC 感染者との同居や接触での感染リスクは認められず、ヒト-ヒト感染は考慮しなくてよい。

CD4 数が $50/\mu\text{l}$ 未満になると MAC 感染症を合併するリスクが高くなる。その他の危険因子としては HIV-RNA が 100,000 コピー/ml 以上、日和見感染症の既往、呼吸器や消化管への MAC の colonization の既往などが挙げられる。

A 症状・検査所見

HAART を行っていない場合は全身性播種性 MAC 症となり、その症状としては発熱、盗汗、倦怠感、体重減少、慢性下痢、腹痛、慢性吸収不良などが見られる²⁴⁾。HAART を行い治療に反応している場合は、頸部あるいは腹腔内リンパ節炎、肺炎、心膜炎、骨髄炎、皮膚軟部組織膿瘍、陰部潰瘍、中枢神経感染

症などの局所感染症を起し、その症状が出現する。

検査所見では、播種性 MAC 症では貧血、ALP 高値などが認められる。肝腫大、脾腫大、リンパ節腫大 (頸部、腹腔内) などが認められることがある。

B 診断

播種性 MAC 症の診断は、臨床症状に加え、本来無菌的な組織や体液 (血液、骨髄、リンパ節) から MAC を検出することにより行われる。CD4 数が $50/\mu\text{l}$ 以下で、原因不明の発熱が続く場合は、血液培養を頻回に行うべきである。血液培養の診断率は高く、1 回では 91%、2 回では 98% の診断率といわれている。

C 治療と予防¹⁰⁾²⁵⁾

● 治療

AIDS に合併した全身播種性 MAC 症の治療は、clarithromycin (CAM) あるいは azithromycin (AZM) に EB を加えた治療が基本である。

播種性 MAC 症の診断がついた場合は、HAART を始めていなければ、MAC 症の治療を 2 週間行ってから、HAART を開始すべきである。薬剤相互作用や副作用や免疫再構築症候群のリスクを避けるためである。すでに HAART を行っている患者に播種性 MAC 症を合併した場合は、HAART はそのまま継続する。もし、免疫再構築症候群を合併し症状の強い場合はまず非ステロイド系抗炎症薬を投与し、それでも治まらない場合は prednisolone 20~40 mg/日を 4~8 週間投与する。

- ① 推奨: CAM 500 mg × 2/日 + EB 15 mg/kg/日 ± RBT 300 mg/日



② 代替：AZM 500 mg/日 + EB 15 mg/kg/日 ± RBT 300~450 mg/日

(aminoglycoside, fluoroquinolone の追加併用可)

HAART により免疫機能が回復しなければ治療を継続する。全身播種性 MAC 症の治療が 12 カ月以上行われ、MAC 症の症状が消失している場合は、CD4 数が 100/ μ l 以上の期間が 6 カ月以上あれば、治療を中止してよい。その後、再び CD4 数が 100/ μ l 未満に低下した場合は、予防投与(下記)を開始する(2 次予防)。

RBT や RFP は、CAM の血中濃度を 50% 以上低下させるといわれているが、このことが MAC の治療にどのような影響を与えているか明確にされていない。

● 予防

AIDS 患者においては全身播種性 MAC 症を予防するために、CD4 数が 50/ μ l 未満になった時点で、AZM あるいは CAM の予防投与を開始する(1 次予防)。HAART により CD4 数が 100/ μ l を超えた期間が 3 カ月以上維持されれば、この 1 次予防を中止してよい。CD4 数が再び 50~100/ μ l 未満に低下した場合は、予防投薬を再開する。

① 推奨：AZM 1,200 mg/週

② 代替：CAM 500 mg × 2/日あるいは RBT 300 mg/日

CAM 毎日投与は AZM 週 1 回投与よりも耐性化しやすい。予防投与開始前に、MAC 症を合併していないかを確認する必要がある。RBT を投与する場合は活動性結核を否定する必要がある。RFP 耐性結核を作る可能性があるからである。AZM の 600 mg 錠は

AIDS に伴う播種性 MAC 症の発症抑制および治療に適応がある。

3 *M. kansasii*

米国のもとと *M. kansasii* 症が多い地域では、播種性の *M. kansasii* 症は AIDS 患者の 0.44% に合併するといわれている¹⁸⁾。*M. kansasii* は HIV 感染症に合併する非結核性抗酸菌症の起炎菌の中では、10% 以下(2.9%¹⁸⁾, 6.6%²⁰⁾) の頻度である。

HIV 感染症に合併した場合の病型としては、播種型と肺限局型の 2 つある。播種型は肺やリンパ節以外の臓器、血液、骨髄から *M. kansasii* を検出した場合をいう。肺限局型は呼吸器症状、胸部 X 線写真の異常を認め、肺から *M. kansasii* を検出し、他臓器に病変がない場合をいう。播種型の頻度は 26.3~39.3%^{26)~28)} で *M. kansasii* 症の約 1/4~1/3 を占める。

M. kansasii 症を合併した時点での平均 CD4 数は 12~66/ μ l^{26)~28)} と 100/ μ l 以下の報告が多い。播種型の方が肺限局型に比べ CD4 数が少ないといわれている(それぞれ 28/ μ l, 75/ μ l)²⁸⁾。このように *M. kansasii* 症は HIV 感染症の進行した状態で合併するので、ほかの日和見感染症を同時に合併していることがある。Witzig ら²⁸⁾によれば、HIV 感染症に合併した *M. kansasii* 症 49 例中 13 例において MAC を同時に検出したという。

症状は発熱、咳嗽、喀痰、体重減少、息切れ、盗汗などで特異的なものはない。

胸部 X 線写真では、浸潤影、間質影が多く、空洞影は少ない。ほかに、結節影、肺門リンパ節腫脹、胸水などを認める場合がある。

治療²⁵⁾は INH 5 mg/kg/日(最大 300 mg/

日), RFP 10 mg/kg/日 (最大 600 mg/日), EB 15 mg/kg/日の 3 剤治療である。治療は 12 カ月間の培養菌陰性化を確認できた時点で終了とする。

予後は非 HIV 感染者では、一般に良好であるが、HIV 感染者では予後不良という報告が多い。肺限局型と播種型の平均生存期間はそれぞれ 15.1 カ月, 8.1 カ月²⁸⁾とやはり播種型の予後が不良である。

4 その他の非結核性抗酸菌

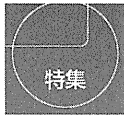
M. xenopi は米国ではまれであるが、カナダや英国²⁰⁾では MAC に次いで多い分離菌であり、*M. kansasii* よりも多い。同時にほかの日和見感染症を合併していることが多く、その起炎性は明らかではない。Colonization という説もあるが、菌血症になった症例¹⁹⁾が報告されており、注意が必要である。

M. genavense は 1990 年に HIV 感染者に合併した感染症の起炎菌としてはじめて報告された菌である。固型培地に生えにくい菌である。HIV 感染症以外の免疫機能低下状態でも発症例の報告はあるが、極めて少ない。CD4 数は極めて低く播種型が多い。発熱、体重減少、下痢などの症状を呈し、肝脾腫、貧血を認める。CAM を含んだ治療が有効といわれている。

M. gordonae は土壌、水、殺菌していないミルクなどから検出される。起炎性は低いが、HIV 感染症ではまれに呼吸器感染症の起炎菌となることがあり、菌血症を呈することもある。CD4 数が 100/ μ l 以下の免疫能が著しく低下した時期に起こるので、同時にほかの呼吸器感染症を合併していることがあり、起炎性の判断は慎重にするべきである。

文献

- 1) 厚生労働省科学研究費補助金新興・再興感染症研究事業 (研究代表者, 加藤誠也). 「結核菌に関する研究」平成 18~20 年度総合研究報告書, 2009 年 4 月.
- 2) 永井英明, 川辺芳子, 長山直弘, ほか. 結核患者における抗 HIV 抗体陽性率の検討. 結核 2001 ; 76 : 679-84.
- 3) Daley CL, Small PM, Schechter GF, et al. An outbreak of tuberculosis with accelerated progression among persons infected with the human immunodeficiency virus. N Engl J Med 1992 ; 326 : 231.
- 4) Girardi E, Palmieri F, Cingolani A, et al. Changing clinical presentation and survival in HIV-associated tuberculosis after highly active antiretroviral therapy. J Acquir Immune Defic Syndr 2001 ; 26 : 326-31.
- 5) Kirk O, Gatell JM, Mocroft A, et al. Infections with *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium avium* among HIV-infected patients after the introduction of highly active antiretroviral therapy. Am J Respir Crit Care Med 2000 ; 162 : 865-72.
- 6) Centers for Disease Control and Prevention. Updated guidelines for the use of rifabutin or rifampin for the treatment and prevention of tuberculosis among HIV-infected patients taking protease inhibitors or nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors. MMWR 2000 ; 49 : 185-9.
- 7) Wenning LA, Hanley WD, Brainard DM, et al. Effect of rifampin, a potent inducer of drug-metabolizing enzymes, on the pharmacokinetics of raltegravir. Antimicrob Agents Chemother 2009 ; 53 : 2852-6.
- 8) Narita M, Ashkin D, Hollender ES, et al. Paradoxical worsening of tuberculosis following antiretroviral therapy in patients with AIDS. Am J Respir Crit Care Med 1998 ; 158 : 157-61.
- 9) Lawn SD, Myer L, Bekker LG, et al. Tuberculosis-associated immune reconstitution disease : incidence, risk factors and impact in an antiretroviral treatment service in South Africa. AIDS 2007 ; 21 : 335-41.
- 10) Kaplan JE, Benson C, Holmes KH, et al. Guidelines for prevention and treatment of opportunis-



- tic infections in HIV-infected adults and adolescents : recommendations from CDC, the National Institutes of Health, and the HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America. *MMWR* 2009 ; 58 : 1-207.
- 11) Nahid P, Gonzalez LC, Rudoy I, et al. Treatment outcomes of patients with HIV and tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2007 ; 175 : 1199-206.
 - 12) Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Managing drug interactions in the treatment of HIV-related tuberculosis. Available from http://www.cdc.gov/tb/publications/guidelines/TB_HIV_Drugs/PDF/tbhiv.pdf (Dec. 2007)
 - 13) Abdool Karim SS, Naidoo K, Grobler A, et al. Timing of initiation of antiretroviral drugs during tuberculosis therapy. *N Engl J Med* 2010 ; 362 : 697-706.
 - 14) Blanc FX, Sok T, Laureillard D, et al. Significant enhancement in survival with early (2 weeks) vs. late (8 weeks) initiation of highly active antiretroviral treatment (HAART) in severely immunosuppressed HIV-infected adults with newly diagnosed tuberculosis. Paper presented at : XVIII International AIDS Conference ; July 18-23, 2010 ; Vienna, Austria. Abstract THLBB106.
 - 15) Department of Health and Human Services (DHHS). Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. Available from <http://aidsinfo.nih.gov/content-files/AdultandAdolescentGL.pdf> (Jan. 10, 2011)
 - 16) 永井英明, 有賀晴之, 川辺芳子, ほか. HIV 感染症におけ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 : 635-40.
 - 17) Fournier AM, Dickinson GM, Erdfrocht IR, et al. Tuberculosis and non tuberculous mycobacteriosis in patients with AIDS. *Chest* 1988 ; 93 : 772-5.
 - 18) Horsburgh CR Jr, Selik RM. The epidemiology of disseminated nontuberculous mycobacterial infection in the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Am Rev Respir Dis* 1989 ; 139 : 4-7.
 - 19) Shafer RW, Sierra MF. *Mycobacterium xenopi*, *Mycobacterium fortuitum*, *Mycobacterium kansasii*, and other nontuberculous mycobacteria in an area of endemicity for AIDS. *Clin Infect Dis* 1992 ; 15 : 161-2.
 - 20) Yates MD, Pozniak A, Grange JM. Isolation of mycobacteria from patients seropositive for the human immunodeficiency virus (HIV) in south east England : 1984-92. *Thorax* 1993 ; 48 : 990-5.
 - 21) Raszka WV Jr, Skillman LP, McEvoy PL, et al. Isolation of nontuberculous, non-avium mycobacteria from patients infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis* 1995 ; 20 : 73-6.
 - 22) Nightingale SD, Byrd LT, Southern PM, et al. Incidence of *Mycobacterium avium-intracellulare* complex bacteremia in human immunodeficiency virus-positive patients. *J Infect Dis* 1992 ; 165 : 1082-5.
 - 23) Chaisson RE, Moore RD, Richman DD, et al. Incidence and natural history of *Mycobacterium avium*-complex infections in patients with advanced human immunodeficiency virus disease treated with zidovudine. *Am Rev Respir Dis* 1992 ; 146 : 285-9.
 - 24) Gordin FM, Cohn DL, Sullam PM, et al. Early manifestations of disseminated *Mycobacterium avium* complex disease : a prospective evaluation. *J Infect Dis* 1997 ; 176 : 126-32.
 - 25) Griffith DE, Aksamit T, Brown-Elliott BA, et al. An official ATS/IDSA statement : diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 2007 ; 175 : 367-416.
 - 26) Levine B, Chaisson RE. *Mycobacterium kansasii* : a cause of treatable pulmonary disease associated with advanced human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Ann Int Med* 1991 ; 114 : 861-8.
 - 27) Bamberger DM, Driks MR, Gupta MR, et al. *Mycobacterium kansasii* among patients infected with human immunodeficiency virus in Kansas city. *Clin Infect Dis* 1994 ; 18 : 395-400.
 - 28) Witzig RS, Fazal BA, Mmera RM, et al. Clinical manifestations and implications of coinfection with *Mycobacterium kansasii* and human immunodeficiency virus type 1. *Clin Infect Dis* 1995 ; 21 : 77-85.



Reversion rates of QuantiFERON-TB Gold are related to pre-treatment IFN-gamma levels

Kosaku Komiya^{a,b,c,*}, Haruyuki Ariga^{a,c}, Hideaki Nagai^a,
 Atsuyuki Kurashima^a, Syunsuke Shoji^a, Hiroshi Ishii^b, Yutsuki Nakajima^a

^a Center for Respiratory Disease, National Hospital Organization, Tokyo National Hospital, Tokyo, Japan

^b Department of Internal Medicine 2, Oita University, Faculty of Medicine, 1-1 Idaigaoka Hasama-machi, Yufu, Oita 879-5593, Japan

Accepted 9 May 2011

KEYWORDS

Tuberculosis;
 Interferon;
 Reversion

Summary Objective: The quantitative interferon (IFN)-gamma in response to *Mycobacterium tuberculosis*-specific antigens declines in tuberculosis patients after starting treatment, however, in some cases remains high despite clinical improvements. Our aim was to evaluate clinical parameters associated with remaining QuantiFERON-TB Gold (QFT-G) positive after treatment.

Methods: A prospective cohort study of 101 culture-positive, positive QFT-G, HIV-uninfected patients with pulmonary tuberculosis. QFT-G was performed at diagnosis, at the end of intensive phase, at treatment completion, and 5–7 months post-treatment completion.

Results: There were 80 patients with complete results, 34 (43%) remaining QFT-G positive and 46 (58%) reverting to QFT-G negative at the 5–7 month post-treatment time point. There was a significant decline in IFN-gamma levels in response to both CFP-10 and ESAT-6 with tuberculosis treatment. Multivariate analysis revealed significant associations between IFN-gamma levels detected before treatment and remaining QFT-G positive post-treatment after adjustment for smear status, presence of cavitation, and positive sputum culture two months after starting treatment.

Conclusions: Quantitative QFT-G responses drop significantly in active tuberculosis patients undergoing treatment, with almost 60% becoming test negative. Reversion to a negative

Abbreviations: CFP, culture filtrate protein; DOT, directly observed therapy; ESAT, early secreted antigen target; HIV, human immunodeficiency virus; IFN, interferon; IGRA, interferon-gamma release assay; LTBI, latent tuberculosis infection; PCR, polymerase chain reaction; QFT, QuantiFERON; QFT-G, QuantiFERON TB Gold; TST, tuberculin skin test.

* Corresponding author. Department of Internal Medicine 2, Oita University, Faculty of Medicine, 1-1 Idaigaoka Hasama-machi, Yufu, Oita 879-5593, Japan. Tel.: +81 97 549 4411; fax: +81 97 549 4245.

E-mail addresses: komiyakh1@oita-u.ac.jp (K. Komiya), arigah-in@tokyo-hosp.jp (H. Ariga), hnagai-in@tokyo-hosp.jp (H. Nagai), krsmgm@gmail.com (A. Kurashima), shoji-in@tokyo-hosp.jp (S. Shoji), hishii@oita-u.ac.jp (H. Ishii), nakajima-in@tokyo-hosp.jp (Y. Nakajima).

^c These authors contributed equally to this work.

QFT-G result was closely associated with the magnitude of the IFN-gamma response prior to treatment and increasing age.

© 2011 The British Infection Association. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

Introduction

Interferon (IFN)-gamma release assays (IGRAs) are approved as diagnostics for *Mycobacterium tuberculosis* infection in many countries.^{1,2} It has also been reported that these assays have usefulness for monitoring disease activity, post-treatment, in patients with either latent tuberculosis infection (LTBI)^{3–7} or active tuberculosis.^{8,9} Although there are several reports demonstrating that overall IGRA positive rates and quantitative IFN-gamma levels significantly decrease with treatment,^{3,4,8,9} we have occasionally encountered patients with active tuberculosis whose IGRA results remain positive results and with high IFN-gamma levels in spite of clinical improvement.¹⁰ Reasons for these clinical discrepancies have not fully been evaluated. There is insufficient evidence to determine whether severity of tuberculosis itself affects IFN-gamma responses, and whether those patients remaining IGRAs positive after treatment completion are more likely to suffer disease relapse, as has been demonstrated for positive sputum culture results at 2 months,¹¹ or the presence of cavity on chest radiograph at the end of treatment.¹²

We conducted a prospective observational study to evaluate which test and clinical parameters were associated with remaining QuantiFERON-TB Gold (QFT-G) positive in active pulmonary tuberculosis patients undergoing treatment.

Materials and methods

This was a cohort study approved by the ethics committee of the National Hospital Organization, Tokyo National Hospital (Tokyo, Japan). Patients were prospectively recruited between June 2004 and November 2008 at National Hospital Organization, Tokyo National Hospital. All patients provided written informed consent.

Adult inpatients or outpatients with pulmonary tuberculosis, confirmed by positive culture and/or polymerase chain reaction (PCR) for *M. tuberculosis* from sputum or bronchoalveolar lavage, were recruited. Patients with human immunodeficiency virus (HIV) positive, receiving immunosuppressive therapy, malignancies, multi-resistant tuberculosis, and bedridden state were excluded. In addition to these criteria, the present study required eligible patients to have a positive QFT-G result before or within 2 weeks of treatment commencement. Culture and drug susceptibility testing were performed for at least one sputum specimen before treatment or during the intensive treatment phase. Chest radiograph findings were evaluated before treatment, at the end of the intensive phase, and at treatment completion. Baseline smear positive patients underwent repeat sputum smear examination at completion of the intensive phase, and all of the patients were tested by sputum culture 2 months after starting treatment. Six-month intensive chemotherapy was preferred as a treatment regimen, using three or four drugs

individualized for each patient. Patients with high risk for hepatotoxicity due to pyridinamide were prescribed a 9-month regimen of rifampicin and isoniazid, with ethambutol, especially during the first 2 months. Directly observed therapy (DOT) was the standard treatment delivery mode under the national tuberculosis programme. QFT-G was performed at the end of the intensive treatment phase, just after completion of treatment, and 5–7 months post-treatment completion. Final reversion judgments, remaining positive or reverting to negative result, were determined on the basis of the last QFT-G result, obtained 5–7 months after treatment completion.

QFT-G test

The QFT-G test was performed according to the recommendations of the manufacturer (Cellestis, Ltd, Carnegie, Victoria, Australia). The test was positive if the IFN-gamma measured in response to *M. tuberculosis*-specific antigens minus the negative control was 0.35 IU/mL or more, and indeterminate if the positive control minus negative control was less than 0.5 IU/mL and the individual did not respond to the *M. tuberculosis*-specific antigens.

Statistical analysis

Statistical analyses were performed using the PASW statistics 18.0 software package (IBM SPSS, Tokyo, Japan). Statistical significance was defined by a *p* value < 0.05 for all analyses. Continuous variables were tested for normality using the Shapiro–Wilk test, and compared using the Student's *t*-test or Mann–Whitney test distribution. Friedman's exact was performed to compare IFN-gamma levels over time in response to culture filtrate protein (CFP)-10 and early secreted antigen target (ESAT)-6. The Kruskal–Wallis test was used to compare positivity of QFT-G among 4 groups according to pre-treatment maximum IFN-gamma level in response to CFP-10 or ESAT-6. Dunn comparison as *post-hoc* was applied when multiple comparisons were done. The chi-square test was applied for comparing categorical variables, unless one of the categories had fewer than 20 observations, in which case, the Fisher's exact test was applied. For statistically different findings between remaining QFT-G positive and reversion to QFT-G negative, we used multiple logistic regression analysis to compare relevant outcomes.

Results

A total of 101 patients were recruited into the present study. All patients received DOT, with 57 (71%) patients completed treatment in 6 months, 17 (21%) in 9 months, and 6 (8%) in 12 months. None of the patients died. Four patients permanently defaulted treatment and 17 failed to return for testing at either the completion of treatment or

5–7 months after completion of treatment time points. Thus, complete study results were available for 80 patients (Fig. 1).

Patient characteristics

Baseline characteristics and the results of clinical examinations of the 80 patients, stratified according to the last QFT-G result, are shown in Table 1. Thirty three of the 34 patients remaining QFT-G positive 5–7 months after the completion of treatment were also positive results at the end of treatment time point. The one other patient, who relapsed six months after completion of the six-month regimen, had temporary reversion to negative at the end of completion time point. The only measured parameter that was statistically different between the group remaining positive and the group reverting to negative QFT-G was the pre-treatment IFN-gamma level in response to specific antigens. There were no significant differences between these two groups in sputum smear status, cavity on chest radiograph, or positive sputum culture two months after starting of treatment.

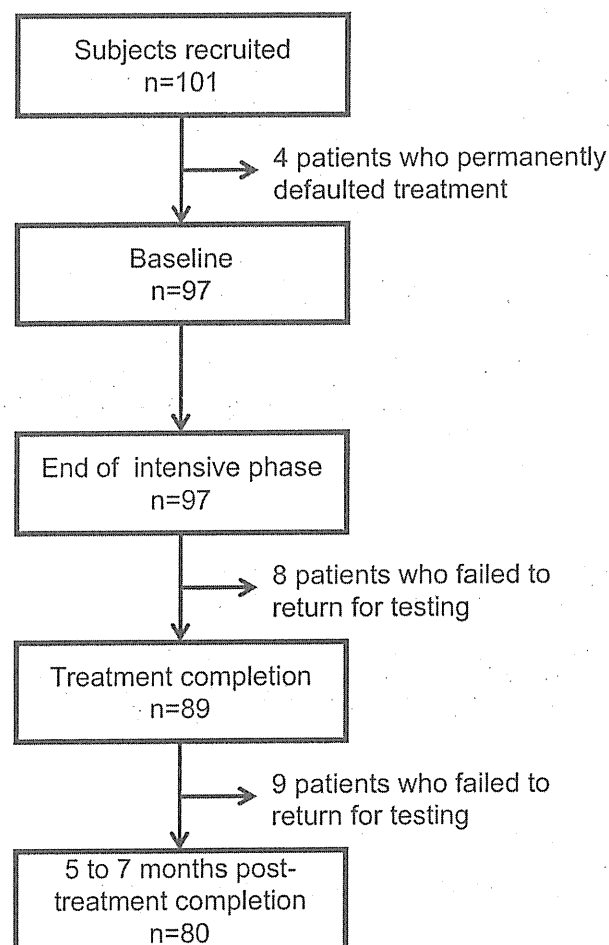


Figure 1 This chart outlines the flow of participants through the course of the study, and the number of subjects at each assay time point.

QFT-G results

The IFN-gamma levels determined by QFT-G before treatment, at the end of intensive phase, at the time of treatment completion, and 5–7 months after the treatment completion are shown in Fig. 2A and B for CFP-10 and ESAT-6 respectively. IFN-gamma levels in response to both CFP-10 and ESAT-6 decreased significantly after starting treatment; however, there were no significant differences between the levels at the time of treatment completion and 5–7 months after the treatment completion.

Factors predictive for QFT-G remaining positive

Table 2 shows the results of non-adjusted and adjusted models of multiple logistic-regression analyses, of measured parameters and remaining QFT positive after treatment. Both univariate and multivariate analyses showed that higher pre-treatment IFN-gamma levels of CFP-10 or ESAT-6 were independent predictors of remaining QFT-G positive. No significant association were found for gender, BMI, initial sputum smear status, treatment period, positive sputum culture 2 months after starting treatment, or cavity on chest radiograph.

Course of positive rates of QFT-G according to pre-treatment IFN-gamma levels

Patients were stratified into four subgroups based on their maximal level of IFN-gamma response to CFP-10 or ESAT-6 at the initial testing point (0.35–1.04 IU/mL, 1.05–2.02 IU/mL, 2.03–3.60 IU/mL and >3.61 IU/mL). As shown in Fig. 3, the rate of QFT-G positive results decreased after treatment commencement in all four subgroups. Positivity in patients with high pre-treatment levels of IFN-gamma (more than 3.61 IU/mL), remained high (more than 70%) even at 5–7 months after treatment completion. This was significantly different ($p = 0.027$) from the rate for patients with low pre-treatment levels of IFN-gamma (less than 1.05 IU/mL), where less than 40% remained positive at the end of the intensive phase of treatment and only 15% at treatment completion.

Discussion

This study demonstrated that the predominant measured factor that was associated with QFT-G results remaining positive after treatment was pre-treatment levels of IFN-gamma, as measured by the test. Increasing age was also associated by multivariate analysis. The severity of disease, as estimated sputum smear positivity, presence of cavitation on chest radiograph, or positive sputum culture results 2 months after starting treatment, were not associated.

Our results were similar to those of previous reports, in which IFN-gamma levels have significantly decreased with tuberculosis treatment.^{4,8,9} Chee and colleagues showed that mean IFN-gamma levels significantly decreased during the early phase of treatment, but did not alter significantly between treatment completion and six months after treatment completion.⁸ In addition, using the T-SPOT[®]-TB assay in tuberculosis contacts, it was reported that the number of IFN-gamma producing T-cells in response to CFP-10 but not

Characteristics	Remaining positive (n = 34)	Reverting to negative (n = 46)	p Value
Age, yr ^a	51(24)	45(30)	0.114
Gender (male) ^b	27(79)	34(74)	0.383
BMI, kg/m ² ^a	20.9(4.6)	20.2(3.2)	0.662
Cavity on chest radiograph ^b	12(35)	20(43)	0.307
Sputum smear 3+ at starting of treatment ^b	6(18)	10(22)	0.436
Positive sputum culture at 2 months ^b	12(35)	18(39)	0.455
Observation period, days ^a	980(258)	950(108)	0.689
Treatment period, months ^a	6(2.5)	6(3.0)	0.377
Pre CFP-10 level, IU/mL ^a	1.047(2.722)	0.389(0.943)	0.016
Pre ESAT-6 level, IU/mL ^a	2.673(3.357)	1.099(1.418)	0.011
Pre maximum level of CFP-10 or ESAT-6, IU/mL ^a	2.971(4.372)	1.401(1.564)	<0.001

BMI, body mass index.
^a Values are presented as median (IQR).
^b Values are presented as No. (%).

to ESAT-6 significantly fell with LTBI treatment,^{5,13} whereas significant declines had been shown in T-cell response to both ESAT-6 and CFP-10 in patients with active tuberculosis.⁸ These findings are consistent with those in the present study.

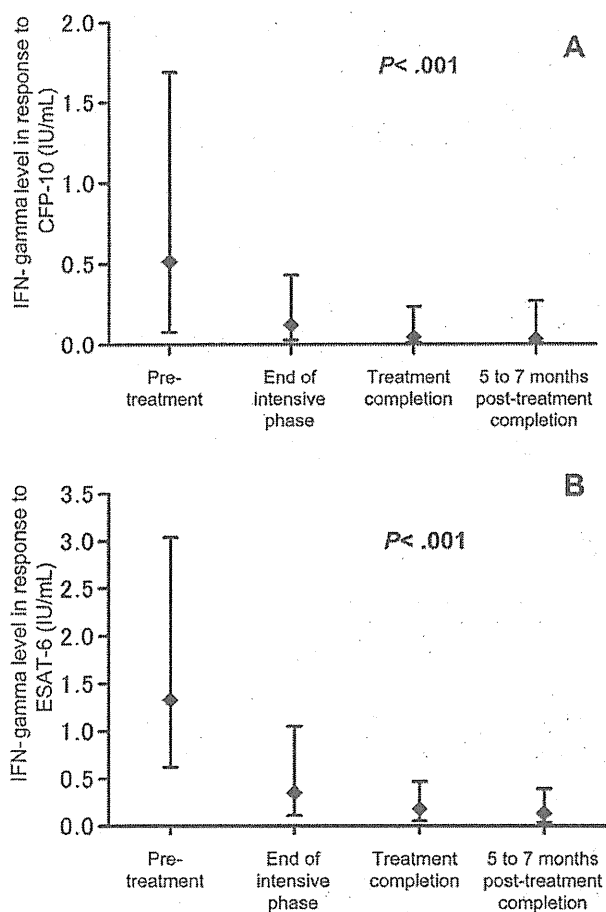


Figure 2 The IFN-gamma levels determined by QFT-G before treatment, at the end of intensive phase, at the time of treatment completion, and 5–7 months after the treatment completion in Fig. 2A for CFP-10 and Fig. 2B for ESAT-6.

In this study, remaining QFT-G positive 5–7 months after completion of treatment was related to the pre-treatment IFN-gamma levels, but not to sputum smear status, cavity on chest radiograph, and positive culture status two months after treatment initiation. These latter findings suggest that reverting to a negative QFT-G result after treatment is not associated with the severity of disease at diagnosis. However, there is no clear definition of severity of tuberculosis and sputum status and presence of cavities by chest radiograph may not be accurate markers.

Another explanation for our results may be related to the efficacy of treatment regimens. Although not reaching significance ($p = 0.104$; Table 2) there was a strong trend (OR 1.523) for patients who had received longer treatment regimens to become QFT-G negative as compared with shorter regimens. If we assume that maintenance of a positive QFT-G response is related to continual presence of antigen in vivo, and thus ongoing infection,¹⁴ this argues for the use of nine month (or longer) treatment regimens rather than those of six month if eradication of infection was the goal of treatment. Since there is no "gold standard" for proving eradication of infection, the goal of treatment may be prevention of recurrence in addition to reversion to negative in smear and culture of bacilli. This is supported to some extent by our finding that the one patient who relapsed in our study completed the short-course (6-month) regimen. This possibility might also be supported by our finding of a significant association between increasing age and remaining positive by QFT-G after treatment, as a combination of treatment and the immune response of a patient are likely both related to eradication of infection and immune responses to wane with increasing age.¹⁵ The depression of immune responses with increasing age may be associated with impairment of ability to kill bacilli, but not with a decline in the ability to produce IFN-gamma.

One of the greatest interests in using IGRAs for monitoring disease activities is whether IGRAs can be used to predict relapses. We found no significant difference in relapse frequencies between those remaining positive and those reverting to negative, however the mean observational period in our study was short, about 3 years, and we only identified one case of relapse. Thus, we have no evidence to

Table 2 Association of measured parameters with positive QFT-G results 5–7 months after treatment completion.

Predictor	Univariate			Multivariate		
	OR	95% CI	p Value	OR	95% CI	p Value
Age	1.021	0.995–1.047	0.110	1.079	1.009–1.153	0.036
Gender (male)	1.290	0.516–3.225	0.586	0.675	0.185–7.019	0.675
BMI	1.069	0.810–1.412	0.637	1.474	0.892–2.438	0.130
Cavity on chest radiograph	0.700	0.196–2.498	0.583	0.174	0.013–2.307	0.185
Sputum smear status at starting treatment	0.740	0.427–1.282	0.284	0.676	0.185–2.468	0.554
Treatment period	1.119	0.881–1.422	0.356	1.523	0.917–2.530	0.104
Positive sputum culture at 2 months	0.833	0.231–3.003	0.780	0.956	0.039–23.504	0.978
Pre maximum level of CFP-10 or ESAT-6	1.493	1.174–1.898	0.001	1.901	1.002–3.607	0.049

OR, odds ratio; CI, confidence interval; BMI, body mass index; CFP-10, culture filtrate protein-10; ESAT-6, early secreted antigen target-6.

support the suggestion that patients remaining QFT-G after completion of treatment are associated with an increased risk of relapse. The one patient who relapsed was QFT-G negative at the completion of therapy (6-month) but became positive by the 5–7 month post-treatment time point, prior to exacerbations in clinical symptoms, chest imaging and sputum smear status. In this context, monitoring for increasing QFT-G results in treated individuals might be important in evaluating the risk of disease relapse.

Another possible application for IGRAs is supported by our findings – monitoring responses after the initiation of treatment as an indicator of drug susceptibility. In our study, the patients demonstrated a decline in QFT-G responses with treatment. Presumably this is an indication that the *M. tuberculosis* strains infecting these patients were susceptible to the respective drugs regimens being used for each patient. This could be especially useful in situations where rapid susceptibility testing is unavailable or impossible (i.e. culture negative patients), and warrants further evaluation.

This study has several limitations. First, the present study required eligible patients to have a positive QFT-G result before or within 2 weeks of treatment commencement. We

did not evaluate the kinetics of QFT-G response with treatment in those who were test negative at the time of diagnosis. Second, our study adopted negative acid-fast bacilli smear and culture not but QFT-G as the indicator for successful of anti-TB therapy. Finally, this study was limited by study of a small population at a single center. The rate of relapse to active tuberculosis after standard therapy is reported to be very low,¹⁶ and was so in our study.

In conclusion, we found that QFT-G results remaining positive after completion of treatment were related to high pre-treatment IFN-gamma levels and increasing age, but not to other clinical parameters regarded as relapse risk factors. Larger long-term observational studies are required to ascertain if maintenance of a positive IGRAs result are related to relapse risk.

Conflict of interest statement

All of the authors have stated explicitly that there are no conflicts of interest in connection with this article.

Source of financial support

The Health and Labour Science Research Grant of Japan.

Acknowledgment

The authors thank Dr. Osamu Takahashi (St. Luke's Life science institute, Tokyo) for his advice and expertise in statistical analyses, Ayako Watanabe and Yasuko Inoue for their technical assistance in the laboratory assays, and Dr. Toshiki Tamura, Dr. Hajime Goto, and all other physicians in National Hospital Organization, Tokyo National Hospital for their support.

References

- Mazurek M, Jereb J, Vernon A, LoBue P, Goldberg S, Castro K, et al. Centers for disease C, prevention: updated guidelines for using interferon gamma release assays to detect *Mycobacterium tuberculosis* infection-United States. *MMWR Recomm Rep* 2010;2010(59):1–25.
- Guideline for the use of Quantiferon TB-2G. *Kekkaku* 2006;81:393–7.

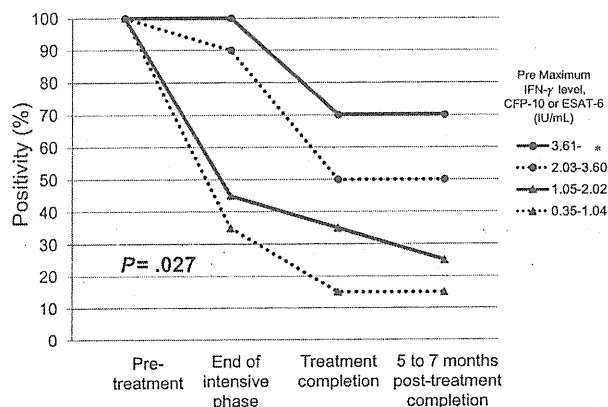


Figure 3 The rate of QFT-G positive results decreased after treatment commencement in each subgroup based on their maximal level of IFN-gamma response to CFP-10 or ESAT-6 at the initial testing point (0.35–1.04 IU/mL, 1.05–2.02 IU/mL, 2.03–3.60 IU/mL and >3.61 IU/mL).

3. Pai M, Zwerling A, Menzies D. Systematic review: T-cell-based assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection: an update. *Ann Intern Med* 2008;149:177–84.
4. Dyrhol-Riise AM, Gran G, Wentzel-Larsen T, Blomberg B, Haanshuus CG, Morkve O. Diagnosis and follow-up of treatment of latent tuberculosis; the utility of the QuantiFERON-TB Gold In-tube assay in outpatients from a tuberculosis low-endemic country. *BMC Infect Dis* 2010;10:57.
5. Chee CB, KhinMar KW, Gan SH, Barkham TM, Pushparani M, Wang YT. Latent tuberculosis infection treatment and T-cell responses to *Mycobacterium tuberculosis*-specific antigens. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;175:282–7.
6. Goletti D, Parracino MP, Butera O, Bizzone F, Casetti R, Dainotto D, et al. Isoniazid prophylaxis differently modulates T-cell responses to RD1-epitopes in contacts recently exposed to *Mycobacterium tuberculosis*: a pilot study. *Respir Res* 2007;8:5.
7. Ewer K, Millington KA, Deeks JJ, Alvarez L, Bryant G, Lalvani A. Dynamic antigen-specific T-cell responses after point-source exposure to *Mycobacterium tuberculosis*. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;174:831–9.
8. Chee CB, KhinMar KW, Gan SH, Barkham TM, Koh CK, Shen L, et al. Tuberculosis treatment effect on T-cell interferon-gamma responses to *Mycobacterium tuberculosis*-specific antigens. *Eur Respir J* 2010;36:355–61.
9. Katiyar SK, Sampath A, Bihari S, Mamtani M, Kulkarni H. Use of the QuantiFERON-TB Gold In-Tube test to monitor treatment efficacy in active pulmonary tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2008;12:1146–52.
10. Pai M, Joshi R, Bandyopadhyay M, Narang P, Dogra S, Taksande B, et al. Sensitivity of a whole-blood interferon-gamma assay among patients with pulmonary tuberculosis and variations in T-cell responses during anti-tuberculosis treatment. *Infection* 2007;35:98–103.
11. Benator D, Bhattacharya M, Bozeman L, Burman W, Cantazaro A, Chaisson R, et al. Rifapentine and isoniazid once a week versus rifampicin and isoniazid twice a week for treatment of drug-susceptible pulmonary tuberculosis in HIV-negative patients: a randomised clinical trial. *Lancet* 2002;360:528–34.
12. Hamilton CD, Stout JE, Goodman PC, Mosher A, Menzies R, Schluger NW, et al. Tuberculosis trials C: the value of end-of-treatment chest radiograph in predicting pulmonary tuberculosis relapse. *Int J Tuberc Lung Dis* 2008;12:1059–64.
13. Aiken AM, Hill PC, Fox A, McAdam KP, Jackson-Sillah D, Lugos MD, et al. Reversion of the ELISPOT test after treatment in Gambian tuberculosis cases. *BMC Infect Dis* 2006;6:66.
14. Dheda K, Udwardia ZF, Hugggett JF, Johnson MA, Rook GA. Utility of the antigen-specific interferon-gamma assay for the management of tuberculosis. *Curr Opin Pulm Med* 2005;11:195–202.
15. Busse PJ, Mathur SK. Age-related changes in immune function: effect on airway inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2010;126:690–9.
16. Vree M, Huong NT, Duong BD, Sy DN, Van LN, Hung NV, et al. Survival and relapse rate of tuberculosis patients who successfully completed treatment in Vietnam. *Int J Tuberc Lung Dis* 2007;11:392–7.

厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業

「日和見感染症の診断/治療およびそれを端緒とする
HIV感染者の早期発見に関する研究」班
平成21-23年度 総合研究報告書

発行日 2012年3月31日

発行者 研究代表者 安岡 彰
長崎大学病院 感染制御教育センター
〒852-8501 長崎市坂本1丁目7-1
