

- (3) 喜多洋子、橋元里実、林清二、岡田全司．新しい結核治療ワクチンの開発（Hsp65+IL-12 DNAワクチン）と他の薬剤・ワクチンとの相乗効果及びキラーT細胞分化．平成25年結核病学会総会（千葉） 2013.3月
- (4) 西松志保、喜多洋子、橋元里実、仲谷均、西田泰子、林清二、岡田全司、高森靖．患者血清中のGranulysinやKsp37等による結核慢性排菌や再発の予後診断法開発．平成25年日本呼吸器学会（東京） 2013.4月
- (5) 金丸典子、喜多洋子、橋元里実、高見泰子、仲谷均、岸上知恵、西松志保、名倉香織、林清二、豊田恵美子、加藤誠也、岡田全司．新結核化学療法剤を含めた治療方式の開発・評価．平成24年日本呼吸器学会（兵庫） 2012.4月

結核の病態に関連する新規遺伝子/タンパク発現制御マーカーの探索

研究分担者 慶長直人（国立国際医療研究センター研究所・呼吸器疾患研究部・部長）  
研究協力者 土方美奈子（国立国際医療研究センター研究所・呼吸器疾患研究部・室長）

研究要旨

マイクロ RNA (miRNA) は、近年、様々な疾患で、標的遺伝子のタンパク発現を動的に制御することが知られ、ここ 1、2 年、感染免疫病態の指標としても注目されている。結核患者血液中の miRNA および関連するタンパク指標を測定の軸として、宿主免疫応答、臨床疫学データとの関連を検討することにより、結核感染、発症の診断補助、治療反応性などに関連する新規指標（バイオマーカー）が得られる可能性がある。今年度我々は、治療中の多剤耐性結核患者 58 例の全血由来の RNA を得て、miRNA である miR-31, miR-144, miR-155 の発現と細胞性免疫に関わる代表的なサイトカイン、サイトカイン受容体遺伝子群の発現をリアルタイム RT/PCR 法で定量し、各発現パターンについて相関解析を行なった。その結果、miR-31 とインターロイキン 12 受容体  $\beta 2$  鎖 (*IL12RB2*) の mRNA 発現量が正の相関を示していた。*IL12RB2* の 3' 非翻訳領域には miR-31 結合配列が予測されており、miRNA による蛋白発現制御と宿主免疫反応修飾の可能性が示唆された。

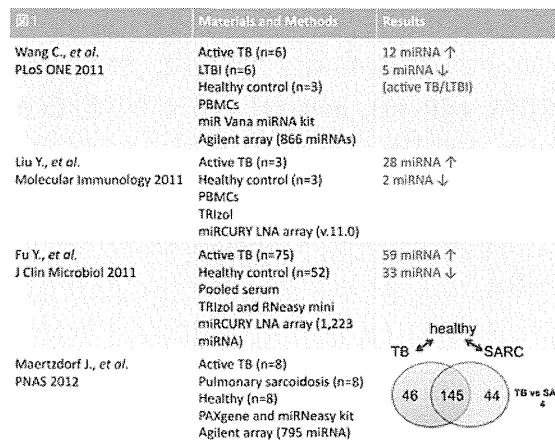
A. 研究目的

結核は、世界の人口の 3 分の 1 が結核菌に感染し、年間の新規発症者数は 870 万人と推定されている。近年、さらに結核高蔓延国では多剤耐性結核が大きな問題となっている。結核の感染・発症・再発には病原体である結核菌によって規定される部分と、結核菌感染に対する宿主本来の免疫防御能が環境要因による影響を受け、多様な応答性を示す部分とがある。宿主の個体差による免疫防御能の違いを解明し、結核菌への感染あるいは感染から発症への高危険群の同定、治療反応性の評価に関連する新規指標（バイオマーカー）となる宿主側の因子を明らかにすることは、今後、薬剤耐性結核の増加が危惧される中で、抗結核剤以外の方法を用いた結核対策に大きく貢献する可能性がある。

近年様々な疾患でマイクロ RNA (miRNA) による蛋白発現の制御が注目されている。miRNA は動植物に存在する 20 塩基程度の蛋白質をコードしない small RNA で、特定の蛋白と結合して RNA-蛋白質複合体を形成し、標的となる遺伝子 mRNA の主に 3' 非翻訳領域の相補的な配列部分に結合し、その遺伝子の発現を調整する。ヒトでは現在までに約 2,000 種類の miRNA が見いださ

れている。miRNA による遺伝子発現の制御の特徴は、相補的に mRNA と結合する配列の長さが短く、ひとつの miRNA がいくつもの mRNA に結合することができ、逆にひとつの mRNA にいくつもの miRNA が結合することができるということ、miRNA はエクソソームに包まれ、あるいは蛋白質と結合して細胞から体液中に分泌され、遠隔の細胞にとりこまれてそこで遺伝子発現を調節することも可能であるということの 2 点がある。

感染症において miRNA の持つ役割の研究はまだ始まったばかりであるが、特に結核では RNA レベルでの研究はまだ数が少ない (図 1)。



我々は、結核患者血液中の miRNA および関連する蛋白指標を測定のための軸として、宿主免疫反応、臨床疫学データとの関連を検討し、結核感染・発症・治療反応性などに関連するバイオマーカーを得ることを本研究の目的としている。今年度は、治療反応性に関連する宿主因子を検討するために、治療中の多剤耐性結核患者を対象とした解析を行った。

## B. 研究方法

ベトナム南部のホーチミン市にあるファムゴックタック病院は、ベトナム国内南北2カ所の薬剤感受性検査を実施する結核レファランスセンターのうちベトナム南部の結核対策の責任病院である。耐性結核の宿主要因の候補遺伝子の特徴的な遺伝子変異、アジア人の遺伝子分布の特徴を明らかにすることを目的として共同研究を実施しており、この宿主側研究の副次研究として本 miRNA 研究を行った。エントリー基準は、薬剤感受性試験で多剤耐性結核 (INH, RFP 耐性) と診断された 16 歳以上 70 歳までの患者で、18 か月の治療観察期間を完遂できる見通しがあり、書面同意を得たものとし、HIV 陽性、悪性腫瘍、免疫抑制剤の使用者を除外した。外来通院中の多剤耐性結核患者 58 名から血液サンプルを収集し、EDTA 添加血より血漿 (血中タンパク濃度測定用) を得て、また RNA 安定化剤を付加して凍結した全血より total RNA を抽出した。

miRNA の定量的 RT-PCR 解析は、miScript II RT Kit を用いて polyA 付加反応と逆転写反応を同時に行った上で、miScript SYBR Green PCR Kit と miScript Primer Assays を用いてリアルタイム PCR を行った。ターゲットとして測定する miRNA としては、図 1 に示す結核における miRNA 解析の報告のうち複数で関連が示されている上に免疫反応への機能的関連が示唆されている miR-144 と miR-155、および結核との関連の報告はないが血液中によく検出されている miR-31 を選び、コントロールとしては、RNU6-2, SNORD68, SNORD95, miR-103, miR-191 の 5 つの平均 Ct 値を用いた。それぞれの PCR 系の増幅については、Tm 値の確認を行い、予想される Tm 値の範囲からはずれたものについては増幅されていないと判断した。

全血より抽出した RNA を SuperScript III Reverse Transcriptase と random nonamer で逆転写し、TaqMan Gene Expression Assays を用いたリアルタイム RT-PCR 解析系にて、細胞性免疫に関わる代表的なサイトカイン、サイトカイン受容体等遺伝子群 (*IFNG*, *IFNGR1*, *IFNGR2*, *IL12A*, *IL12B*, *IL12RB1*, *IL12RB2*, *TNF*, *CXCL10*, *IL10*, *IL4*, *FOXP3* 等) の mRNA 発現量を、測定した。

血漿中の 27 種類のサイトカイン等の生理活性物質 (IL-1b, IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12(p70), IL-13, IL-15, IL-17, Eotaxin, FGF-2, G-CSF, GM-CSF, IFN-g, IP-10, MCP-1, MIP-1a, MIP-1b, PDGF-BB, RANTES, TNF-a, VEGF) の濃度を、蛍光ビーズアレイ (Bio-Plex サスペンションアレイシステム) によりスクリーニング測定を行なった。

(倫理面への配慮)

事前に研究計画書は、両国の倫理委員会の承認を得た上で実施した。

## C. 研究結果

全血中の miRNA, 免疫関連分子の遺伝子の各発現パターンについて、RNA 抽出時の総回収量が十分であった 48 例について、順位相関係数を算出した結果 (図 2)、miR-31 とインターロイキン 12 受容体  $\alpha 2$  鎖 (*IL12RB2*) の発現量が正の相関を示した (Spearman の相関係数 = 0.41,

図2 Correlation between miRNA and mRNA levels of immune genes in the whole blood of MDR-TB patients (N=48)

Nonparametric:			
Variable	by Variable	Spearman $\rho$	Prob> p
miR31-1	IL12RB2	0.407	0.0034
miR31-1	GNLY	0.375	0.0073
miR144-4	STAT6	0.369	0.0083
miR31-1	STAT4	0.360	0.0103
miR155-2	IL18	0.352	0.0122
miR31-1	GZMB	0.352	0.0122
miR31-1	PRF1	0.338	0.0164
miR31-1	IFNGR2	-0.332	0.0186
miR31-1	LTA	0.312	0.0277
miR31-1	IL12RB1	0.293	0.0388
miR31-1	GATA3	0.293	0.0390
miR31-1	TBX21	0.287	0.0432

全血中miRNAと血液細胞中の免疫関連遺伝子mRNA発現量との相関 (P値<0.05は上位12セットに見られた)

P=0.0034)。

全血中の miRNA 発現量と血漿中のサイトカイン量については、図 3 に示すような結果が得られた。

図3 Correlation between cytokine concentrations and miRNA levels in the whole blood of MDR-TB patients (N=58)

Nonparametric:			
Variable	by Variable	Spearman $\rho$	Prob>  $\rho$
IL-9	miR144-4	-0.3721	0.0040
IL-5	miR144-4	-0.3455	0.0079
IL-7	miR144-4	-0.3457	0.0079
MIP-1 $\beta$	miR31-1	-0.3386	0.0093
IL-8	miR144-4	-0.3158	0.0157
MIP-1 $\alpha$	miR144-4	-0.3137	0.0165
IL-10	miR144-4	-0.3087	0.0184
IL-13	miR144-4	-0.3008	0.0218
FGF	miR144-4	-0.2922	0.0260
IL-4	miR144-4	-0.2921	0.0261
IL-17	miR144-4	-0.2916	0.0264
Eotaxin	miR31-1	-0.2666	0.0431
MCP-1	miR155-2	0.2619	0.0470

全血中miRNAと血液中のサイトカイン濃度との相関 (P値<0.05は上位13セットに見られた)

#### D. 考察

miR-155は、過去の報告で最も多く結核との関連が報告されているが、結核で発現量が増加するという報告と減少するという報告がそれぞれ複数存在する上に、機能的にも、TNF- $\alpha$ の合成を増強するというものと、結核菌の複製に有利に働くというものがあり、その役割が注目されているものの一定の見解が得られてはいない。また、miR-144は結核での発現増加が複数報告されており、その合成過程の相補鎖である miR-144\* (miR-144-5p) は TNF- $\alpha$  と IFN- $\gamma$  の産生や T 細胞の増殖を抑制する可能性が示されている。このような報告から、今回我々は、第一にこれらの miRNA を解析の候補としたが、今年度の結果では、これら miR-155, miR-144 よりも miR-31 と血中 *IL12RB2* mRNA 発現量との正の相関が注目された。miR-31 は、これまでに転写因子である *FOXP3* の 3'UTR との結合と発現の抑制が報告されており、結核免疫との関わりがある可能性を考え今回の解析に含めたが、*FOXP3* の mRNA 発現量とは相関がみられなかった。*IL12RB2* の 3'UTR 領域には miR-31 の結合部位が予想されている (microRNA.org)。miR-31 は、ヒト 9 番染色体上、非翻訳 RNA (non-coding transcription unit) である *MIR31HG* のイントロンに存在する。*MIR31HG* の転写制御についてはまだ明らかでないが、miR-31 と *IL12RB2* mRNA 発現量が正の相関を示したことから、類似の転写調節機構により制御されるのかもしれない。その場合、*IL12RB2* mRNA 発現が誘導されても同時に miR-31 が発現誘導され、*IL12RB2* の 3'UTR 領域に結合し、結果的に *IL12RB2* 蛋白の翻訳が抑制されるのであれば、*IL12RB2* の機能は、むしろ negative に制御されるかもしれない。

今回の血漿中のサイトカイン等の生理活性物

質の量のスクリーニングでは、miR-31 とサイトカイン量とのはっきりした関連はみられなかったが、IL12-IL12 受容体系は Th1 誘導およびその維持の主要経路であるため、miR-31 が IL12 受容体の発現に影響を与えるということは、直接、結核免疫の制御に関連する可能性も考えられる。今年度の検討は、パイロットスタディとして行われた 58 例の検討であったため、治療の結果との関係を十分に検討することができなかったが、次年度以降、結核感染・非感染血液検体、活動性結核の治療前後の検体等に対象を拡大し、さらに病態との関連を検討する予定である。

#### E. 結論

治療中の多剤耐性結核患者 58 例の全血由来の RNA を得て、miRNA である miR-31, miR-144, miR-155 の発現と細胞性免疫に関わる代表的なサイトカイン、サイトカイン受容体遺伝子群の発現をリアルタイム RT/PCR 法で定量し、各発現パターンについて相関解析を行なった。その結果、miR-31 とインターロイキン 12 受容体  $\beta 2$  鎖 (*IL12RB2*) の mRNA 発現量が正の相関を示していた。*IL12RB2* の 3'非翻訳領域には miR-31 結合配列が予測されており、miRNA による蛋白発現制御と宿主免疫反応修飾の可能性が示唆された。

#### F. 健康危険情報

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- Hijikata M, Shojima J, Matsushita I, Tokunaga K, Ohashi J, Hang NTL, Horie T, Sakurada S, Hoang NP, Thuong PH, Lien LT, Keicho N. Association of IFNGR2 gene polymorphisms with pulmonary tuberculosis among the Vietnamese. *Hum Genet* 131 (5): 675-682, 2012.
- Keicho N, Matsushita I, Tanaka T, Shimbo T, Hang NT, Sakurada S, Kobayashi N, Hijikata M, Thuong PH, Lien LT. Circulating levels of adiponectin, leptin, fetuin-A and retinol-binding protein in patients with tuberculosis: markers of metabolism and inflammation. *PLoS One* 7 (6): e38703, 2012.
- Kobayashi K, Yuliwulandari R, Yanai H, Naka I, Lien LT, Hang NT, Hijikata M, Keicho N, Tokunaga K. Association of TLR polymorphisms

with development of tuberculosis in Indonesian females. *Tissue Antigens* 79 (3): 190-197, 2012.

4. Sakurada S, Hang NT, Ishizuka N, Toyota E, Hung LD, Chuc PT, Lien LT, Thuong PH, Bich PT, Keicho N, Kobayashi N. Inter-rater agreement in the assessment of abnormal chest X-ray findings for tuberculosis between two Asian countries. *BMC Infect Dis* 12 (1): 31, 2012.

5. Sapkota BR, Hijikata M, Matsushita I, Tanaka G, Ieki R, Kobayashi N, Toyota E, Nagai H, Kurashima A, Tokunaga K, Keicho N. Association of SLC11A1 (NRAMP1) polymorphisms with pulmonary Mycobacterium avium complex (MAC) infection. *Hum immunol* 73 (5): 529-536, 2012.

## 2. 学会発表

1. Hijikata M, Hang NTL, Yen NTB, Hong NT, Sakurada S, Lan NN, Kobayashi N, Dung NH, Keicho N. Association between Immune Gene Expression Levels in the Whole Blood from Patients with Multidrug-resistant Tuberculosis and Their Treatment Outcome. In: 第 52 回日本呼吸器学会総会, 4 月 20 日-22 日, 神戸, 2012.

## H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他

厚生労働科学研究補助金新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業  
研究分担報告書  
「小児結核全般の実態調査」

小児結核発病例の実態に関する調査研究  
～2011年結核登録者情報システム登録小児結核発病例を対象とした実態調査～

研究分担者  
徳永 修 国立病院機構南京都病院 小児科医長

研究要旨

低蔓延状況において発病に至った小児結核症例の背景要因や診断・治療適用に関連する課題を明らかにし、さらに有効な小児結核対策を考案・適用することを目的として、2011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を対象とした実態調査を実施した。

その結果、①小児結核発病例が大都市部に偏在する傾向、②結核高蔓延国での居住歴を有する小児が全体の約15%、③BCG未接種例は全体の10%未満、④全例の約70%が接触者健診により、約25%が有症状受診により診断に至り、約75%でその感染源が同定可能、等の結果が明らかとなった。これらの結果をふまえ、さらに小児結核症例を順調に減少させるため、

①平成25年4月以降にワクチン接種時期が変更されたのちも高いBCGワクチン接種率を維持する、②症例が特に集積している大都市部を対象とした選択的な対策の継続（首都圏及び近畿地区小児結核症例検討会の継続的開催等）、③結核高蔓延国からの転入小児に対するタイムリーかつ有効な発病スクリーニング検査の適用、④結核感染・発病リスクが高い環境（衛生意識の低い家庭環境、被虐待例、経済的な貧困等）で生活する子どもたちに対する積極的な支援

⑤小児に対する「結核医療の基準」の呈示、⑥小児結核症例全例の発症時登録制度をスタートさせ、その感染・発病診断、治療内容に関して小児結核専門医からタイムリーな助言や指導を受けることが可能なシステムを構築する、等の取り組みが必要と考える。

A. 研究目的

わが国の小児結核は米国を含む諸外国に比しても極めて低い罹患状況に至っており、2006年以降は年間新登録症例数が100例未満で推移しており、全例の詳細な検討も可能な状況となっている。このような低蔓延状況において発病に至った小児結核症例の背景要因や診断・治療適用に関連する課題を明らかにし、さらに有効な小児結核対策

を考案・適用することを目的として、平成22、23年度厚労科研「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」に引き続いて、2011年に結核登録者情報システムに登録された小児結核発病例全例を対象とした調査研究を実施した。

B. 研究方法

厚生労働省健康局結核感染症課の協力のもと

と、2011年に結核登録者情報システムに0～14才の全結核症例（潜在性結核感染症を除く）が登録されていた保健所名の開示を受けた。症例登録が行った保健所所長宛に2013年1月に調査票を送付し、回答を依頼した。回収可能であった64例の調査票内容を集計し、発病例の症例背景や診断・治療経過に関する情報を整理した。

尚、調査項目は以下の通り、

- ・症例背景； 性別・登録時年齢（月齢）・居住地・国籍・結核高蔓延国での居住歴・BCG接種歴・保険の種別・LTBI及び活動性結核治療の既往・基礎疾患など
- ・診療医療機関； 届出医療機関・治療医療機関/診療科
- ・病型；
- ・菌検査所見； 抗酸菌染色塗抹・結核菌群PCR・抗酸菌培養・抗結核剤感受性検査
- ・感染診断結果； ツベルクリン反応・QFT
- ・症状； 症状の有無・「有り」の場合にはその症状と持続期間
- ・画像検査所見； 学会分類・CT所見
- ・治療内容； 治療レジメとその投与期間・抗結核剤以外の治療（外科的治療やステロイド投与等）・治療開始時入院の有無と期間・治療に伴う副作用・治療中断の有無・DOTSの有無・治療終了後の再発
- ・症例発見契機； 接触者健診/有症状受診/コッホ現象/学校健診/その他
- ・感染源に関する情報； 同定可能な感染源の有無・感染源の続柄と接触機会・感染源の病型や菌検査所見及び有症状期間
- ・感染の拡がり； 症例及び感染源症例以外の家族・集団内での感染・発症例
- ・発症に至った要因；
- ・診断・治療実施に関わる課題

倫理面への配慮

研究実施に先立ち、当院倫理審査委員会（平成24年11月開催）を受審しその実施について承認を得た。

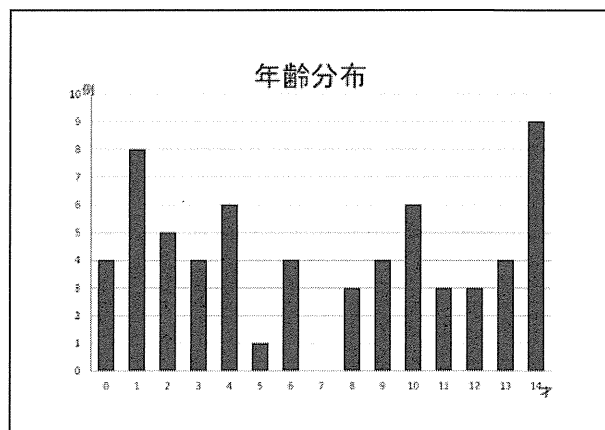
### C. 研究結果

厚生労働省健康局結核感染症課より、2011

年に結核登録者情報システムに小児（0～14才）結核症例を登録した保健所名の開示を受け（全63保健所）、平成25年1月中旬に全保健所を対象に調査票を送付し、調査への協力を求めた。平成25年3月末までに、調査票が返送されなかった6保健所、「該当症例なし」との返信があった9保健所を除く、48保健所から64症例に関する調査票が回収された。「結核の統計」では0～4才33例、5～9才20例、10～14才31例（計84例）の登録が報告されているが、今回の調査では0～4才27例、5～9才12例、10～14才25例（計64例）の調査票が回収された。

年齢分布；

例年、0～1才、12才～14才に2つのピークを示した分布を見せているが、2011年は例年に比して0才児例が少なく、また幼児・学童期にも比較的多くの発病登録例を認めた。個々の症例情報に関する検討より幼児・学童例を中心に過剰な発病診断適用が疑われる例（例えば、結核発病例としては典型的ではない画像所見にもかかわらずQFT陽性を根拠として発病例と診断）もあり、その結果、幼児・学童での発病登録例が増えた可能性も否定できない。



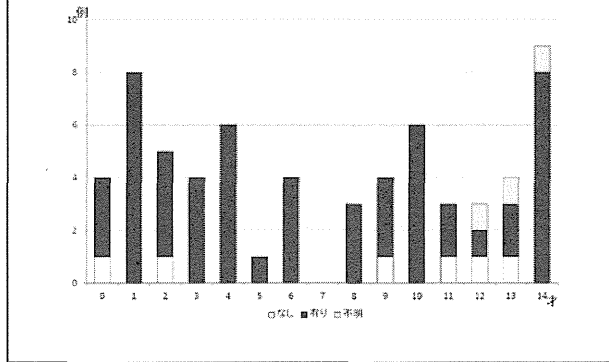
地域分布；

これまでの検討と同様に症例の多くが大都市部（東京18例、愛知5例、千葉・神奈川・大阪各4例など）に集積していたが、一方で例年は小児結核登録例数が多くない県（岡山、茨城、岐阜）からも3例以上の症例が登録されていた。

### 地域分布

都道府県名	例数(例)	都道府県名	例数(例)
東京都	15	埼玉県	1
愛知県	5	新潟県	1
岡山県	5	山梨県	1
千葉県	4	兵庫県	1
神奈川県	4	奈良県	1
大阪府	4	和歌山県	1
茨城県	3	広島県	1
岐阜県	3	愛媛県	1
栃木県	2	高知県	1
山口県	2	佐賀県	1
長崎県	2	大分県	1
福島県	1		

### BCGワクチン接種状況



外国籍及び結核高蔓延国での居住歴がある小児；

外国籍及び高蔓延国での居住歴がある小児は10例（フィリピン5例、中国2例、インドネシア・ネパール・マラウイ各1例）で、調査票が収集された例の約16%を占めていた。この割合は2008年以降、ほぼ同程度で推移している（2008年17.1%、09年10.8%、10年17.5%）。その居住地は東京4例、愛知2例、千葉・神奈川・岐阜・岡山1例であった。

病型；過去3年間の調査と同様に「空洞を伴う肺結核」は6例（9%）に留まり、多くは「空洞を伴わない肺結核」（37例）、「肺門部・縦隔リンパ節結核」（4例）等の初期変化型症例であった。「結核性胸膜炎（±肺野病変）」は10才以上の6例が登録されていた。肺外結核症例10例のうち、頸部リンパ節結核の3例は全て高蔓延国での居住歴がある小児であった（フィリピン、中国、マラウイ）。腋窩リンパ節結核として登録された4例は0～2才の接触者健診例で、全例で胸腔内病巣は指摘されていなかった。骨結核2例は1才及び2才例で、共に感染源は同定されず、また胸腔内病巣も指摘されていなかった。BCGワクチン由来の骨病巣（BCG骨炎）であった可能性も強く疑われた。

### 高蔓延国に居住歴があった症例

年齢(才)	居住地のある高蔓延国	BCG接種歴	病型	感染源	感染経路	備考
1	フィリピン	あり	肺結核(空洞あり)	接触者健診(家族)	同定可能	
2	フィリピン	あり	肺結核(空洞あり)	有症状接触	同定不可	
1	中国	あり	肺門部・縦隔結核	接触者健診(家族)	同定可能	
4	フィリピン	あり	肺門部・縦隔結核	有症状接触	同定不可	
4	ネパール	あり	肺結核(空洞あり)	接触者健診(家族)	同定可能	
4	マラウイ	あり	肺門部・縦隔結核	接触者健診(家族)	同定可能	
9	フィリピン	なし	肺結核(空洞あり)	接触者健診(家族)	同定可能	
11	フィリピン	あり	肺結核(空洞あり)	接触者健診(家族)	同定可能	
13	インドネシア	あり	肺結核(空洞あり)	有症状接触	同定不可	
14	中国	あり	肺門部・縦隔結核	有症状接触	同定不可	

BCGワクチン接種状況；

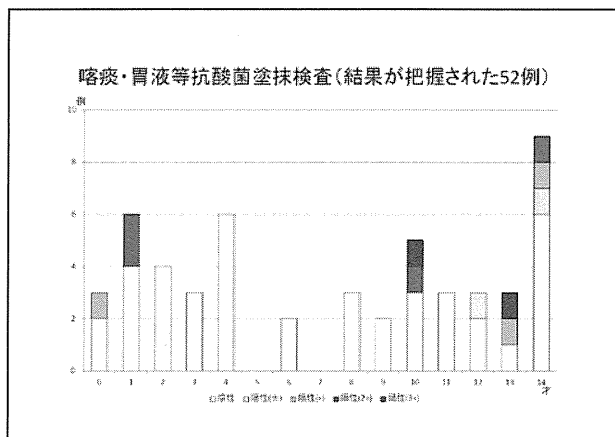
ワクチン接種歴が明らかであった61例中、ワクチン未接種は6例のみであった。未接種6例のうち、経済的な困窮が想定される生活保護受給家庭が1例、児に対するネグレクトが疑われる例が1例、医療機関受診の遅れにより感染源が多量排菌の状態で見られ、その周囲に複数の感染例を認めた例が3例など、BCG未接種の子どもたちにおいてワクチンによる発病予防効果が期待されないのみではなく、結核感染・発病リスクを高める環境要因を併せ持っていることが推測された。

### 病型

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	計
肺結核(空洞あり)	1	3	3	4	3	1	4		3	4	3	3	1	1	3	37
肺結核(空洞なし)	1									2				2	1	6
肺門部・縦隔リンパ節結核		2			1											3
結核性胸膜炎										1		1	1	3		6
肺野リンパ節結核		1			2											3
肺門部・縦隔結核		2	1	1												4
縦隔結核															1	1
骨結核			1	1												2
異形結核・結核性胸膜炎													1			1
合計	4	9	5	4	6	1	4	0	3	4	6	3	3	4	9	64



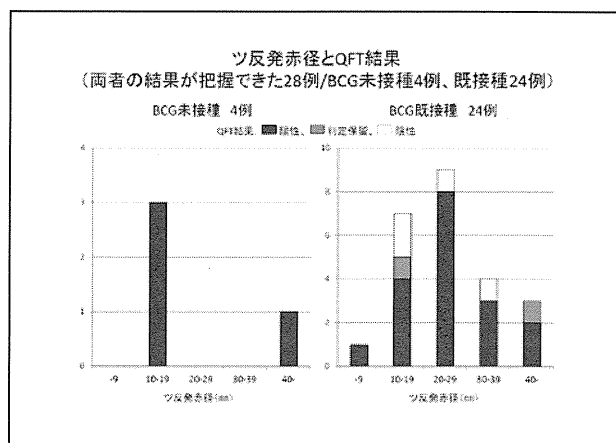
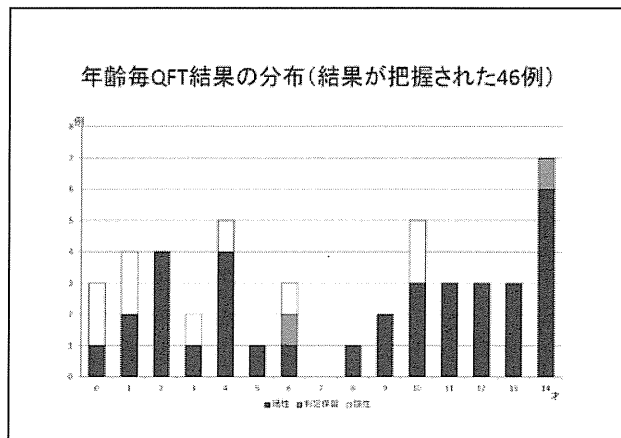
検査所見；喀痰・胃液等の抗酸菌検査結果が明らかであった52例のうち、塗抹陽性は11例、培養陽性は18例であった。塗抹・培養・PCR検査のいずれかにより細菌学的診断が可能であった例は19例（35%）のみであった。



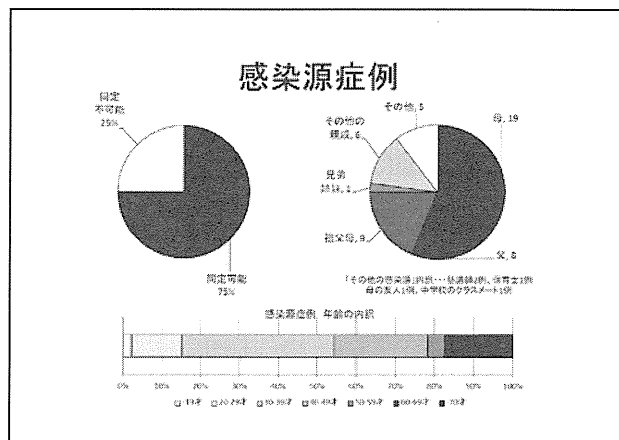
診断時に多量排菌があった5例

年齢(歳)	感染	培養陽性	培養陽性	診断法	症状	症状発症時期	接触者の感染状況	感染源
1	肺結核(空菌なし)	陽性(2+)	(2+)	胸部レントゲン	咳・発熱・盗汗	6ヶ月	あり	同定不可
10	肺結核(空菌あり)	陽性(3+)	(3+)	胸部レントゲン	咳	6ヶ月	なし	同定不可
10	肺結核(空菌あり)	陽性(2+)	(2+)	胸部レントゲン	咳・発熱	5ヶ月	あり	同定可能
13	肺結核(空菌あり)	陽性(3+)	(3+)	胸部レントゲン	咳・発熱・盗汗	1ヶ月	あり	同定不可
14	肺結核(空菌あり)	陽性(2+)	(2+)	胸部レントゲン	咳・発熱	1ヶ月	あり	同定不可

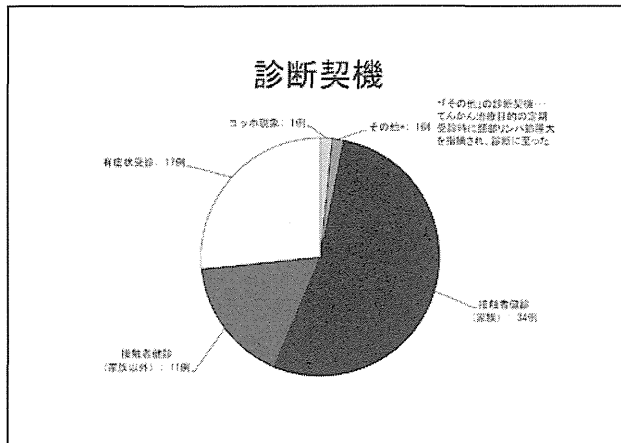
QFT結果が把握できた46例の内訳は陽性35例（76%）、判定保留2例、陰性9例であり、QFT陽性例の約7割はツ反で「結核感染が疑われる有意な反応」（＝BCG既接種例で発赤径30mm未満）を認めていなかった。



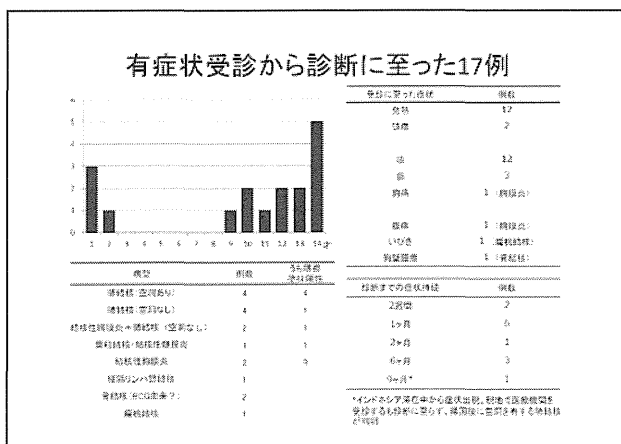
感染源；小児発症例発見後の感染源探索によりその感染源が発見された例を含め、64例中48例（75%）で感染源症例の同定が可能であった。その内訳は母19例、父8例、祖父母9例、兄1例など身近な親族が多くを占めていたが、保育士や塾講師、クラスメートなど家庭外での接触による感染例も5例認められた。同定された感染源症例の約70%が20～40歳代であった。



診断契機；過去3年間の調査と同様に約7割が接触者健診を契機に、また約25%（17例）が有症状受診を契機として診断に至った。



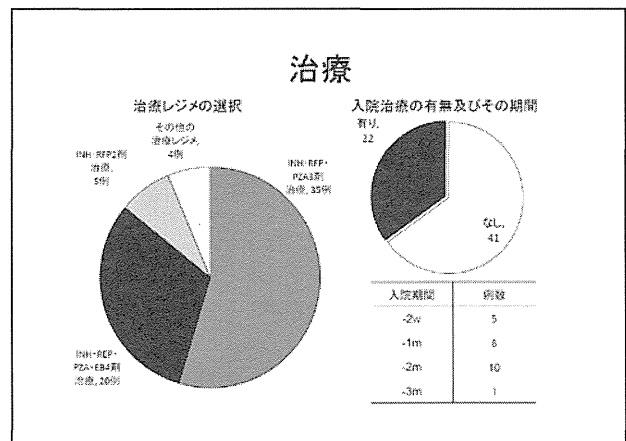
有症状受診により診断に至った例は小学校中学年より高い年齢層に多く分布しており、肺野に病巣を認めた11例のうち、7例が喀痰塗抹陽性であり、5例では患児を中心とした結核感染の拡がり確認された。有症状期間が明らかであった13例のうち、8例は1ヶ月程度で診断に至っているが、症状出現後6ヶ月以上を経て診断に至った例も4例見られた。



2011年にもコッホ現象を契機に発病診断に至った乳児例が1例確認された（周囲に感染源症例は同定されず）。これまでの調査でも2008年1例、09年2例、10年1例と毎年1～2症例がコッホ現象を契機に発病診断に結び付いている。

治療に関する情報；治療内容は小児結核の標準的治療レジメであるHRZ3剤、或いはHRZE4剤によるレジメが選択された症例が多数を占めていたが、HR2剤、HRE3剤などの治療レジメが適用された例も少数例

見られた。尚、患児からの分離菌或いは患児の感染源症例分離菌で薬剤耐性が明らかであった症例は5例確認されたが、うち1例で耐性内容（INH耐性）を考慮した治療レジメに変更されていた（他の4例はSM耐性例で治療レジメ選択に影響は及ぼさなかった）。抗結核剤以外の治療としては骨結核（2例）、扁桃結核で外科的切除・搔爬術が適用され、また粟粒結核・結核性髄膜炎例でステロイド投与が併用された。全国の36医療機関で治療が行われたが、うち結核病床を有する医療機関が15、感染症病床を有する医療機関が3、モデル病床を有する医療機関が1であった。また、22例（34%）で当初、入院治療が選択されたが、17例は結核病床を有する医療機関、3例は感染症病床を有する医療機関、2例は大学附属病院において入院治療が開始されていた。ほとんどの症例（54例）では小児科医師が診療を担当していたが、内科・呼吸器科（8例）、整形外科、小児外科（各1例）の医師が診療を担当したケースも見られた。抗結核剤治療に伴う副反応を認めた例は9例報告されており、その内訳は発疹3例、皮膚掻痒感2例、薬剤熱、無顆粒球症、肝機能障害、高尿酸血症がそれぞれ1例であった。このうち3例では原因と推定される抗結核剤が中止された。



発病に至った要因；「感染源症例発見・治療の遅れ」が最も多く（47例）、そのほかに「感染源発見後の接触者健診における不備」（3例）、「BCG未接種」（1例）、「免疫抑制剤の服用」（1例）が挙げられていた。

## 発病に至った要因

感染源発見/治療開始の遅れ	47
感染源発見後の接触者健診のおける不備	3
不適切な健診対象選択 (母が陽性として登録されていたが産後隔年であったために健診が実施されなかった)	
不適切な健診実施時期設定 (感染源との接触状況に関する正しい情報収集ができていなかった)	
不適切な検査適用 (胸部レントゲンによるスクリーニングのみ適用 感染診断検査を早期に適用しなかった)	
BCG未接種	1
さらに健診受診の遅れも重なる (児に対して適切な医療を受けさせない家庭)	
免疫抑制剤の服用	1

診断に関わる課題；当該症例の診断に関わる課題についても依頼した。「有症状受診例の診断の遅れ」、「健診実施時期の遅れ」、「小児へのCT検査適用」等の課題が挙げられていた。

## 診断に関わる課題

有症状受診例の診断の遅れ	19件
感染源発見の診断の遅れ	7件
感染源発見の連絡機関連節の遅れ	5件
健診実施時期の遅れ	2件
健診受診の遅れ・BCG未接種・ネグレクトの可能性	1件
1回1回健診利用（早期に健診すべきでなかったか？）	2件
ハイリスク接触者への対応、BCG未接種別	1件
外国人受診への対応（医師や健診者の理解に結び付きにくい）	1件
高蔓延国においてなされた感染発見診断の信頼性	1件
小児へのCT適用、診断における有用性	1件
小児へのCT適用：放射線管理を怠れて実際に同意が得られない	1件
診断目的の入院が負担に	1件
感染経路の信頼性	2件
小児を対象とした感染診断の難しさ	1件

治療適用・継続に関わる課題；「服薬継続に向けた治療支援が必要」、「小児結核を診療する医療機関が少ない」、「保育所・学校への十分な説明」などの課題が挙げられていた。

## 治療適用・継続に関わる課題

服薬継続に向けた治療支援が必要	12件
健診に服薬できるよう、母児に合わせた継続したサポートが必要	
もとより養育環境が悪い家庭（母へのネグレクト傾向を有する家庭）への支援	
小児結核を診療する医療機関が少ない	6件
治療継続に係る家族の負担が大きい	5件
医療機関へのアクセス不良、遠方の医療機関に定期的に通院する必要がある	1件
保育所・学校に十分な説明をして理解を得る	3件
健診実施に向けて/発症・発病に向けて	
必要な情報が無い	3件
標準的な対応が示されていない	
外国人家族への治療支援が必要	3件
治療継続に向けて十分な理解が得られるように支援支援が必要	
感染経路・感染源が特定困難 適用する治療選択に難渋	1件
高蔓延国からの転入前より過去の感染機会が多い小児で右戻化を伴う病変を認められた場合	

## D. 考察

平成 22 年、23 年度厚労科学研究「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」に引き続き、本研究

においても 2011 年に結核登録者情報システムに登録された全小児結核症例を対象に、保健所宛に調査票を送付し、各症例に関する詳細な情報の収集を試みた。今回は過去 2 回の調査に比して「該当症例なし」（＝“管轄地域内で該当する小児結核発病例の発生はなかった”）との返答が多く、登録例のうち情報収集が可能であった症例の割合は低いものとなった。この原因として、①結核サーベイランスシステムに正確な症例登録がされていない可能性、或いは②登録されたサーベイランスデータから正確なデータ抽出ができていなかった、等の可能性が考慮される。

過去 3 年間の調査と同様に、小児結核発病例が東京、愛知、神奈川、大阪などの大都市部に集積する傾向が見られ、またフィリピン、中国などの結核高蔓延国での居住歴を有する小児が全体の約 15% を占めており、これらの地域や集団を対象として選択的かつ集中的な小児結核対策を適用することの重要性に変化はない。

大都市部を対象とした対策として、過去の研究班から継続して近畿地区及び首都圏における小児結核症例検討会を継続的に開催しており、特に大阪地区ではこの検討会の効果も重なり、小児結核症例数の順調な減少傾向が確認されている。一方で、首都圏、特に東京都ではこの数年間、小児結核症例が多発する状況が続いており、今後も症例検討会等を通じて小児結核に関する関心を喚起する、正確な知識を啓蒙するなどの取り組みを継続することが益々重要であろう。高蔓延国からの転入小児を対象として、学齢期児童・生徒については学校検診を利用した発病スクリーニングが可能である。転入後、或いは学校入学時に漏れることなくスクリーニング検査（診察及び胸部レントゲン検査）を適用し、発病例の早期診断に繋げることが非常に重要である。学齢期未満の乳幼児についても同様の発病スクリーニングが適用されるような制度検討も必要であろう。さらに、学校検診要精検例への IGRA 導入の是非も検討すべき課題と考え

る。IGRA 導入の目的・効果として、①発病の有無に関する慎重な定期フォローを適用すべき対象小児（＝結核既感染と思われる小児）が抽出できる、或いはさらに積極的に、②発病が否定された IGRA 陽性小児に対して LTBI 治療を適用して将来の発病リスクを低くする、などが期待される。一方で、①検診適用集団における結核感染危険率の多寡によって、IGRA 陽性による真の「感染例」検出確率（陽性的中率）が変動すること、②抽出される「感染例」は必ずしも最近の感染例とは限らず、発病リスクが高くない「感染例」（＝“古い”感染例）に対しても定期フォローや LTBI 治療が適用される可能性がある、等の点も認識し、このスクリーニングの有用性を評価することも必要である。

また、例年は小児発病例が少ない一部の県から 3～5 症例が登録されていた。これらは集団感染事例ではなく、異なった感染源症例の接触者健診により発病例との診断に至った例であった。これらの地域において結核感染の連鎖が広がっている可能性と共に、過剰な発病診断が適用されている可能性（；QFT 陽性に加え、結核発病例として必ずしも典型的とはいえない画像所見を根拠に発病例と診断するなど）も念頭に小児結核発生動向に注視することが必要であろう。近年の傾向として小児発病例に占める BCG 未接種例の頻度が少なく推移しているが、2011 年も全体の 10%未満（6 例）であった。また、例年に比して 0 歳児での発病例が少ないことも特徴的であった。小児結核発症例数の順調な減少も含め、2005 年以降の BCG ワクチン接種時期の変更に伴って生後 6 ヶ月までに極めて高い BCG ワクチンカバー率が達成されていることの効果とも類推される。今年 4 月以降、ワクチン接種時期が生後 12 ヶ月まで延長され、標準的な接種時期が生後 5 ヶ月以降 8 ヶ月未満と設定されたことにより、ワクチン接種率が低下することも強く懸念される。現在のわが国成人における結核蔓延状況を考えると、乳児期に高い BCG ワクチン接種率を維

持することは未だ重要な小児結核対策であることに代わりはなく、保護者に対して必要な情報提供と啓蒙を行っていくことも大切である。

一方、ワクチン接種に関する関心が高まってきた現在の状況で、ワクチン未接種のまま経過している小児は、ワクチンによる発病予防効果が期待されないのみではなく、結核感染・発病リスクを高める環境要因（衛生意識の低い家庭環境、子どもに対する積極的或いは消極的なネグレクト、経済的な貧困等）を併せ持っていることも推測される。さらに小児結核を順調に減らすためにはこのような社会的背景を有している家庭や子どもたちへの積極的な支援も必要と考える。

それぞれの症例に関する診断時情報の検討から「過剰な発病診断が適用されているのではないか？（LTBI 例と判断することが適当では？）」、「BCG 由来の病巣ではないか？」、「薬剤選択が望ましくないのでは？」等と疑問を抱くような症例も散見された。結核に対する適正な医療の適用（正確な診断と適切な治療の適用）については「結核医療の基準」に基づいて地域の感染症診査会において検討・指導されているが、小児結核に関する専門的知識を有するメンバーが加わることは稀で、また小児結核に関する「結核医療の基準」も示されていない。結核感染・発病が疑われる子どもたちに適正な医療を提供するために、①小児に対する「結核医療の基準」を示すこと、或いは②小児結核症例全例の発症時登録制度をスタートし、その感染・発病診断や治療内容に関して小児結核専門医からタイムリーな助言や指導を受けることが可能なシステムを構築すること、などが必要と考える。

#### E. 結論

小児結核罹患率が順調に減少してきた現在の状況における小児結核の予防・診断・治療に関する問題点を分析し、今後取り組むべき対策を明らかにするため、2011 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を対象とした実態調査を

実施した。平成 25 年 3 月末までに 64 症例の調査票が回収された。

その結果、2008 年～2010 年の登録例を対象とした過去の調査と同様に①小児結核発病例が大都市部に偏在する傾向が確認された、②結核高蔓延国での居住歴を有する小児が全体の約 15%を占めた、③BCG 未接種例は全体の 10%未満に留まっていた、④全例の約 70%が接触者健診により、また約 25%が有症状受診により診断に至り、約 75%の症例でその感染源が同定可能である、等の傾向が観察された。また、発病診断や適用治療内容について疑問を抱くような症例も散見された。

これらの結果をふまえ、さらに小児結核症例を順調に減少させるため、

①平成 25 年 4 月以降にワクチン接種時期が変更されたのちも高い BCG ワクチン接種率を維持する

②症例が特に集積している大都市部を対象とした選択的な対策の継続；首都圏及び近畿地区小児結核症例検討会の継続的開催

③結核高蔓延国からの転入小児に対するタイムリーかつ有効な発病スクリーニング検査の適用

④結核感染・発病リスクが高い環境（衛生意識の低い家庭環境、被虐待例、経済的な貧困等）で生活する子どもたちに対する積極的な支援

⑤小児に対する「結核医療の基準」を呈示する

⑥小児結核症例全例の発症時登録制度をスタートさせ、その感染・発病診断や治療内容に関して小児結核専門医からタイムリーな助言や指導を受けることが可能なシステムを構築する

等の取り組みが必要と考える。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表 なし

H. 知的財産権の出願・登録状況 なし

厚生労働科学研究補助金新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業  
研究分担報告書  
「小児結核全般の実態調査」

小児を対象とした結核感染診断における QFT-GIT 及び T-SPOT TB 反応性の比較

研究分担者

徳永 修 国立病院機構南京都病院 小児科医長

研究要旨

2010 年以降、新たに導入された QFT-GIT のパフォーマンス評価及び、T-SPOT との性能比較を目的に、2010 年 3 月以降 2013 年 1 月までに当院において結核感染診断を目的に IGRA を適用した小児例を対象にその症例背景及び判定結果について後方視的な検討を行った。その結果、QFT-G から QFT-GIT への変更により、小児を対象とした結核感染感度が向上した可能性が示唆された。また、新たに導入された T-SPOT 判定結果との一致率は非常に高く、これら 2 種の IGRA のパフォーマンスに有意な差異はないものと推測された。

研究協力者

原田 登之（結核研究所抗酸菌レファレンス部）  
樋口 一恵（結核研究所抗酸菌レファレンス部）  
宮野前 健（国立病院機構南京都病院小児科）

研究目的

これまでに我々は第 2 世代の QFT キットである QuantiFERON<sup>®</sup> TB Gold (QFT-G、日本での名称クオンティフェロン<sup>®</sup> TB-2G) を適用された小児例データを集積・検討し、①乳児例では陽性コントロール刺激に対する反応性が乏しい為に「判定不可」を呈する例が約 30% を占めた、②乳児例も含む発病例では成人例と同様の感度を認めた、③同様の感染リスクを有する接触者健診例における QFT 陽性頻度が 0~2 才の乳幼児ではそれ以上の年齢群の小児に比して有意に低く、この年齢層を対象とした LTBI 診断にお

ける感度不良が示唆された、等を明らかにした。また、T-SPOT<sup>®</sup> TB (T-SPOT) 及び QFT-G を同時に適用した小児例データの蓄積より、①全年齢層で両検査結果が一致しない例が 20% 以上を占め、特に 0 才では約 60% が、1 才でも 30% 以上の例で不一致を認めた、②結果不一致例の多くは QFT-G 判定不可 / T-SPOT 陰性例、QFT-G 陰性 / T-SPOT 陽性例であった、ことをまとめ、小児を対象としては T-SPOT が QFT-G に比してより良好な感度を有している可能性を示した。わが国では 2010 年より第 3 世代のキットである QuantiFERON TB Gold-In-Tube (QFT-GIT、日本での名称クオンティフェロン<sup>®</sup> TB ゴールド) が導入されており、キット変更が小児を対象とした結核感染診断に及ぼす影響、さらに T-SPOT との反応態度の差異を検討することを目的として今回の検討を行った。

## 研究方法

### 1. 各種背景を有する小児例における QFT-GIT の反応性検討

2010年3月以降、2013年1月までに結核に関する診療を目的に当院小児科を初めて受診し、QFT-GIT等の感染診断検査を適用した小児例 69例(110検体)について、症例背景毎の陽性頻度等について検討を行った。尚、5例を除いた64例(105検体)では同時に T-SPOT も適用された。

### 2. 年齢群による QFT-GIT 判定不可例頻度の差異

### 3. 同時に適用された QFT-GIT 及び T-SPOT 結果の比較検討

2010年3月以降、2013年1月までに結核感染診断を目的に QFT-GIT 及び T-SPOT を同時に適用した小児例 90例(142検体)を対象として、年齢群毎の QFT-GIT 判定不可例の頻度差異及び2種の IGRA 検査結果の一致状況について検討を行った。尚、QFT-GIT 検査のうち、抗原との培養、培養終了後の上清分離までを、また、T-SPOT 検査のうち、被検者血液への抗原添加・培養、スポット発色までを当院で実施し、ELISA による IFN $\gamma$  定量測定 (QFT-GIT)、及びスポットリーダーによる発色スポットのカウント (T-SPOT) は公益財団法人結核研究所抗酸菌レファレンス部免疫検査科にて行った。

### 倫理面への配慮

T-SPOT 検査実施に際しては、対象小児の保護者に対して「①T-SPOT は欧州や米国では結核感染診断法として認可され広く使用されているが、わが国では未だ認可・保険収載された検査法ではないこと、②感染の有無に関する判断は本検査結果のみならずツ反や QFT-GIT、他の感染リスクを基に総合的に判断すること、③本検査は採取した血液を用いて実施する体外検査法でありその実施により副反応等の損害を被ることがないこと、④この検査結果については対象例が特定されないように配慮した上でその有効性の検討とその報告を目的に使用すること」な

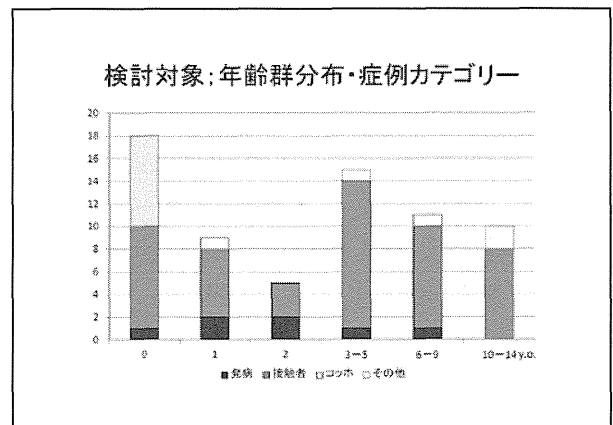
どを文書にて説明し、文書による同意を得た。

## 研究結果

### 1. 各種背景を有する小児例における QFT-GIT の反応性検討

検討期間中に0~14才の小児68人が結核に関する診療を目的として新たに当院を受診し、QFT-GIT を含む結核感染診断が適用された(複数回にわたって感染診断が適用された例も含まれ全110検体)。その症例背景により①発病例(細菌学的、或いは感染源との接触歴や画像所見、感染診断所見などに基づく総合的な判断により発病例と診断された例)、②接触者健診例、③コッホ現象疑い例、④その他の4つのカテゴリーに分けた。それぞれの症例カテゴリー毎の症例(検体)数及び年齢群分布は表、図に示す以下の通りであった。

発病例	7例(15検体)
接触者健診例	感染源と同居 2例(40検体)
	感染源と同居 2例(20検体)
	感染源と同居 2例(20検体)
	感染源と同居 2例(20検体)
コッホ現象疑い例	8例(14検体) うち1例から発病が判明、上記発病例とも重複
その他	5例(5検体)
計	60例(110検体)



### ①発病例での QFT-GIT 結果

検討期間中に発病例と診断された小児7例(0~6才)での QFT-GIT 及び T-SPOT データを表に示す。1例を除く6例が陽

性を呈しており、QFT-G と同様に小児においても結核発病例においては良好な感度を有することが推測された。尚、0 才児例では初回検査時に QFT-GIT 陽性／T-SPOT 判定不可と結果の乖離が見られたが、1 ヶ月後の再検時には共に陽性を示した。

結核発病例でのQFT-GIT結果

年齢	病型	IFN-γ	IFN-γ Ag	IFN-γ/IFN-γ Ag	IFN-γ/IFN-γ Ag (Myc)	QFT-GIT 判定	T-SPOT 判定
0y	肺結核	0.07	>10	>10	>10	陽性	判定不可
1y	肺結核	0.08	0.09	>10	0.04	陰性	陰性
1y	肺結核	0.07	7.09	>10	7.02	陽性	陽性
2y	肺結核	0.14	>10	>10	>10	陽性	陽性
2y	鎖骨リンパ節結核	0.10	>10	>10	>10	陽性	陽性
5y	肺結核	0.11	>10	>10	>10	陽性	陽性
6y	肺結核	0.09	>10	>10	>10	陽性	陽性

②コッホ現象疑い例での QFT-GIT 結果  
 検討期間中に BCG ワクチン接種後早期（1 週間以内）に接種局所管針に一致した発赤や硬結などを認めたためにコッホ現象が疑われ、当院を紹介受診した乳児例 9 例での QFT-GIT 及び T-SPOT 結果を表に示す。このうち、症例番号②、③、④、⑦、⑧、⑨の 6 例は接種局所所見の推移及びツベルクリン反応結果より真の「コッホ現象」（即ち、BCG ワクチン接種時既感染例）と判断された。その後の画像精査で結核発病が明らかとなった症例⑨を除いた他の 5 例では QFT-GIT 及び T-SPOT 両者共に陰性を示した。

コッホ現象疑い例でのQFT-GIT結果

	IFN-γ	IFN-γ Ag	IFN-γ/IFN-γ Ag	IFN-γ/IFN-γ Ag (Myc)	QFT-GIT 判定	T-SPOT 判定	結核・発病判定
①	0.03	0.11	>10	0.03	陰性	陰性	
②	0.16	0.26	>10	0.1	陰性	陰性	LTBI
③	0.07	0.06	>10	-0.01	陰性	陰性	LTBI
④	0.04	0.05	6.02	0.01	陰性	陰性	LTBI
⑤	0.04	0.09	>10	0.05	陰性	陰性	
⑥	0.06	0.07	>10	0.01	陰性	陰性	
⑦	0.35	0.32	>10	-0.03	陰性	陰性	LTBI
⑧	0.06	0.06	>10	0	陰性	陰性	LTBI
⑨	0.07	>10	>10	>10	陽性	判定不可	Active TB

③接触者健診例での QFT-GIT 結果  
 検討期間中に接触者健診を目的に当院を初めて受診した 48 例における QFT-GIT

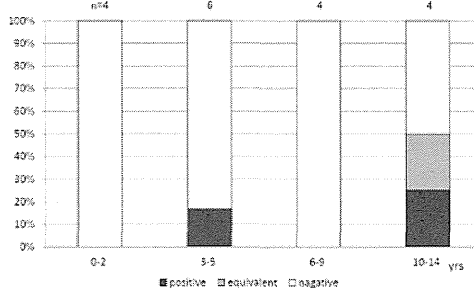
及び T-SPOT 結果を感染源との接触状況、感染源喀痰塗抹所見によるクロス集計表に示す。感染源との同居例では 4 例/27 例、非同居例では 0 例/21 例が陽性を示し、感染リスクによる陽性頻度の差異が確認された。一方で感染源の排菌状況と QFT-GIT 陽性頻度については有意な関連性は指摘することは困難であった。48 例中 45 例では同時に T-SPOT も適用されていたが、QFT-GIT と同一の反応態度を示した。

接触者健診例48例におけるQFT-GIT/T-SPOT結果

感染源との接触状況	QFT-GIT適用例 48例			T-SPOT適用例 45例		
	感染源との接触状況		判定結果	感染源との接触状況		判定結果
	同居	非同居		同居	非同居	
—	2/9例	0/4例	2/13例	2/9例	0/4例	2/13例
±~1+	0/9例 <small>判定異常例 0例</small>	0/5例 <small>判定異常例 0例</small>	0/13例 <small>判定異常例 0例</small>	0/9例	0/3例	0/12例
2+~3+	2/9例	0/12例	2/21例	2/9例	0/11例	2/20例
	4/27例	0/21例	4/40例	4/27例	0/18例	4/45例

結核感染リスクが高いと想定される接触者健診例、即ち、喀痰検鏡塗抹陽性結核患者と同居していた健診受診小児 18 例における、その年齢群毎の QFT-GIT 結果頻度の内訳を図に示す。検討対象例は 18 例と少数であり、さらにそのうち QFT-GIT 陽性例は 2 例のみであったため、年齢群による陽性頻度の差異を検討することは困難であった。

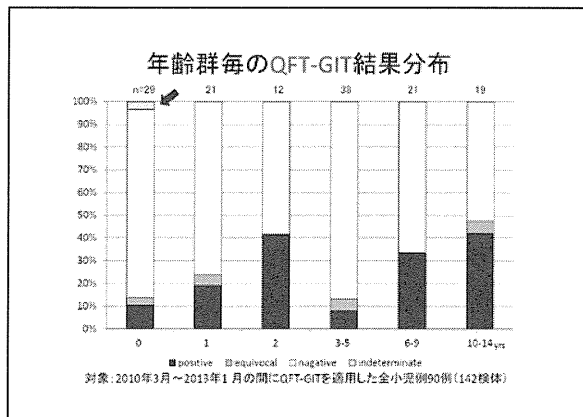
喀痰塗抹陽性結核患者と同居していた接触者健診例18例 (=感染リスクが高い健診例)の年齢群別QFT-GIT判定結果



2. 年齢群による QFT-GIT 判定不可例頻度差異の検討  
 検討期間に当院で QFT-GIT が適用され



た小児 90 例の 142 検体におけるその判定結果頻度を年齢群（0 才、1 才、2 才、3～5 才、6～9 才、10～14 才）毎に図に示す（注；種々の感染リスクを持つ症例の QFT 結果分布を示したデータであり、年齢群による陽性頻度の比較には意味を持たない）。



QFT-G を適用した小児集団における同様の検討では、0 才群で約 30%、1 才群で 10% 弱が判定不可を示していたが、QFT-GIT では 0 才で約 3%（1 例 / 29 例）のみ、1 才より上の年齢群では判定不可例を認めなかった。

3. 同一被検児に同時に適用された QFT-GIT 及び T-SPOT 結果の比較検討  
 検討期間に QFT-GIT と T-SPOT が同時に適用された 131 検体の 2 種の検査結果をクロス集計表に示す（横に 2007 年 12 月から 2010 年 3 月までの間に結核感染診断を目的に QFT-G と T-SPOT が同時に適用された 181 検体の 2 種の結果内訳も示す）。QFT-G とは異なって T-SPOT 結果と乖離した例は極めて少なく、QFT-G でしばしば認めた QFT 陰性 / T-SPOT 陽性例や QFT 判定不可 / T-SPOT 陰性例は有意に少数であった。

QFT-GIT/QFT-Gと同時にT-SPOT TBを適用した検体における判定結果一致の状況

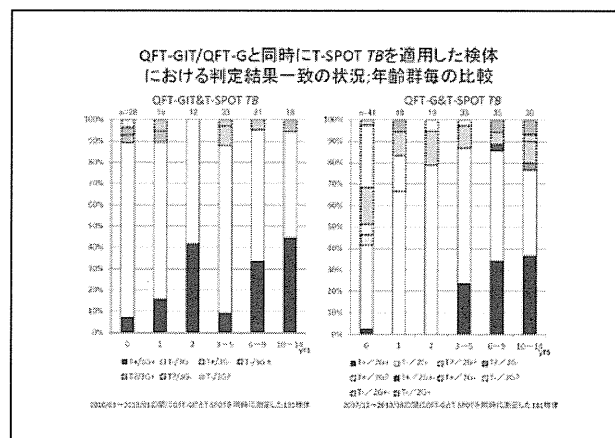
		T-SPOT			合計
		陽性	陰性	判定不可	
QFT-GIT	陽性	28	0	1	29
	判定不可	0	3	0	3
	陰性	3	92	3	98
	判定不可	0	1	0	1
		31	96	4	131

2009年9～2010年3月の間にQFT-GITとT-SPOTを同時に適用した131検体

		T-SPOT			合計
		陽性	陰性	判定不可	
QFT-G	陽性	33	5	0	38
	判定不可	1	4	0	5
	陰性	19	97	1	117
	判定不可	2	17	2	21
		55	123	3	181

2007年12～2010年3月の間にQFT-GとT-SPOTを同時に適用した181検体

また、年齢群ごとの 2 種の IGRA の判定結果一致状況を図に示す（同様に横に QFT-G 及び T-SPOT 同時適用例での年齢群毎の結果一致状況を示す）。QFT-G では 0～2 才の低年齢群で 2 種の IGRA 不一致例を多く認めていたが、QFT-GIT では年齢群に関わらず非常に少数例であることが分かる。



### 考察

2006 年以降、わが国の結核感染診断に QFT-G が導入され、ツ反の欠点を補う、感度の高い感染診断法として大いに期待された。しかし、小児を対象としては QFT-G 適用データの蓄積に伴って、① 0～2 才の乳幼児では幼弱な免疫能も関与して、陽性抗原刺激に対する反応性が乏しく「判定不可」を呈する例が多いことや②未発病感染例（≒ LTBI 症例）診断感度が年長小児に比して劣っている可能性が高い、ことが明らかとなり、現在の QFT 使用指針においても 5 才未満の小児に対する適用は推奨されていない。

2010 年より導入された QFT-GIT は①採血管内に予め刺激抗原が添加されている、

②結核菌特異抗原として、これまでも使用されてきた ESAT-6,CFP-10 の他に TB7.7 が追加され、これら 3 種の抗原が 1 本の採血管内にまとめて添加されている、等の点で QFT-G と異なる。

QFT-G から QFT-GIT への変更による、小児を対象とした結核感染診断のパフォーマンスへの影響を検討するために今回の検討を実施した。

結果に示した通り、①0~2 才を含む全ての年齢群で「判定不可」例の頻度は著明に減少、年齢群による頻度の差異も見られない、②結核発症小児を対象としては、QFT-G と同様に良好な感度を有している、③同時に実施した QFT-GIT 及び T-SPOT 判定結果の一致率は非常に高かった、④BCG 接種後早期の接種局所所見推移やツ反結果より真の「コッホ現象」と診断した例では、発病例を除いて 2 種の IGRA が陽性を呈した例は見られなかった、等が明らかとなった。

QFT-GIT への変更後、「判定不可」例が極めて少数となった理由としては、①採血管内に抗原が事前に添加されているため、検体採取直後から抗原との混和が可能となったこと、②キットの変更に伴って添加抗原量に変更された可能性、なども類推される。しかし、①については当院では QFT-G の検体処理においても検体採取後早期に検査用ウェル内での抗原添加・培養を開始しており、②についてもメーカーよりキット変更に伴う抗原添加量の変更はない、との情報を得ており、その正確な理由は不明である。

同一検体を対象とした 2 種の IGRA 判定結果比較で、QFT-G では T-SPOT との結果不一致例が多く、T-SPOT に比して結核感染感度が劣っていることが強く懸念されたが、QFT-GIT においては非常に高い一致率が示され、QFT-GIT と T-SPOT が小児を対象としてほぼ同等の感度を有しているものと推測できる。

一方で、BCG ワクチン接種後早期の局所所見推移やツ反結果より真の「コッホ現

象」と診断された例では発病例を除いて、2 種の IGRA が陽性を呈した例はなく、IGRA が乳児早期の未発病感染例（≒LTBI 例）を正確に検出できない可能性も疑わせる。

小児を対象に精度の高い結核感染診断を適用することは、①感染後、成人よりも高い確率で発病に至る小児結核感染例に適切に検出して発病予防を目的とした治療を適用するために、また②早期に重症化に至る発病例を正確に診断して必要十分な発病治療を適用するためにも、非常に重要である。

現在、わが国で使用可能な 2 種の IGRA、QFT-GIT 及び T-SPOT の小児を対象としたパフォーマンスをさらに正確に評価し、一般小児科臨床医や健診を担当する保健所スタッフが依拠することが可能な「小児を対象とした IGRA 使用指針」の作成に繋げることが強く望まれる。

また、IGRA に加え、IFN $\gamma$  以外の biomarker（例えば結核免疫に関与するケモカインの一つである IP-10 など）を使用した感染診断を併用することで、小児を対象とした結核感染診断の感度がさらに向上することも期待されている。当分担研究においても IP-10 を指標とした感染診断法（TB-antigen stimulated IP-10 release assay）の有用性検討に取り組んでおり、小児を対象としたより鋭敏な結核感染診断法導入に繋げたい。

## 結論

QFT-G から QFT-GIT への変更により、小児を対象とした結核感染感度が向上した可能性が示唆された。また、新たに導入された T-SPOT 判定結果との一致率は非常に高く、これら 2 種の IGRA のパフォーマンスに有意な差異はないものと推測された。

健康危険情報 なし

研究発表 なし

知的財産権の出願・登録状況 なし

厚生労働科学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  
研究分担報告書  
「小児結核全般の実態調査」

BCG ワクチン接種に関連する副反応の発生頻度把握を目的とした調査研究

研究分担者

徳永 修 国立病院機構南京都病院 小児科医長

①BCG ワクチン接種に関連して発生する副反応症例の発生頻度や発生に至るリスク要因などを詳細に検討し、安全かつ有効な BCG ワクチン接種プログラム検討の材料とする、②BCG ワクチン副反応症例の診断・治療経過、転帰などに関する情報を集積し、副反応事例への対応指針作成へと繋げる、ことなどを目的に全国の小児科医療機関（病院のうち小児科を標榜している施設）2928 施設を対象にアンケート調査を行った。1 次調査では平成 23 年 1 月から 12 月までの間の BCG ワクチン関連副反応症例（腋窩リンパ節の腫脹、接種局所の膿瘍、骨炎・骨髄炎、皮膚結核様病変、全身播種例 BCG 感染症、腋窩以外のリンパ節腫脹、その他の異常反応）の診療経験の有無を、さらに、1 次調査で副反応症例診療経験「あり」と回答のあった施設を対象に 2 次調査票を送付して個別の症例に関する詳細な情報収集を行った。平成 25 年 3 月末までに 1598 施設より 1 次調査票の返信があり、うち 124 施設から 181 例の副反応症例の診療経験が報告され、2 次調査を実施した。181 例のうち、2 次調査票の回答を得ることができたのは 68 症例のみであり、また、そのうち調査対象期間と設定した平成 23 年 1 月～12 月に診療された症例は 34 例のみであった。対象症例はそのほとんどが外来のみでの診療例であり、後ろ向きに遡って検索することが難しかった為に把握可能例が少数に留まったものと推測された。

乳児早期からの結核発病を予防する本ワクチンを、最もその効果が期待される時期に、安全に接種するためには、骨炎・骨髄炎を含む副反応事例の確実な把握が極めて重要である。本年 3 月末より予防接種法が一部改正され、定期の予防接種等に伴う副反応例報告制度の改正（；定期の予防接種等による副反応例を診療した医師は速やかに厚生労働大臣に対して報告することが義務付けられた）がなされたところであるが、各自治体及び診療現場において本制度改正の主旨が十分に理解され、適正な運用がされることが強く望まれる。さらに、報告された副反応事例についてはその専門家が報告事例の検討に関与し、その結果を予防接種制度の評価・見直しへの反映のみならず、副反応事例への対応や副反応が発生しやすいハイリスクグループの抽出などにも有効に利用することも必要と考える。

研究目的

1) 研究の背景;わが国における結核罹患率は世界的には未だ中蔓延と評価される状況に留まっており、子どもたちにとっての結核感染機会は未だ無視できる状況ではない。小児、特に 0～2 才の乳幼児は一旦結核に感染すると高い頻度で

発病に至り、また発病例は早期に髄膜炎など重症化に至るという特徴を有しており、わが国では結核発病予防を目的に乳児早期での BCG ワクチン接種を勧奨している。2005 年春に生後 3～6 ヶ月での直接接種へと接種様式が変更されて以降、生後 6 ヶ月時点のワクチン累積接種率は 97%以上を

維持しており、その効果も相まってわが国の小児結核罹患率は低蔓延国の代表である米国をも下回る状況まで低下してきた。一方で、近年 BCG ワクチン接種後の副反応症例、特に皮膚結核様病変や骨炎（骨髄炎）などの報告件数が増加する傾向が指摘されている。2005 年からのワクチン接種時期変更と時期を同じくして副反応症例の増加傾向を認めており、生後 3～4 ヶ月の免疫能が幼弱な時期にワクチン接種を受ける例が増えたことがその一因では？との推論も聞かれる。安全なワクチン接種継続に向けて、副反応症例を確実にモニターし、その発生动向を正確に評価することが非常に重要である。わが国では「予防接種後副反応報告制度」に基づいて厚生労働省に報告された副反応例数が公表されているが、その報告基準は一定でなく、またワクチン接種との関連性を評価した上での症例集計ではないため、この報告制度から正確な副反応発生动向を評価することは困難である。

わが国の結核蔓延状況がさらに改善するまでの期間、安全かつ有効に乳児に対する BCG ワクチン接種を継続するため、ワクチン接種に関連する副反応発生頻度の正確な把握と各種副反応事例の診断・治療経過、転帰に関する情報の集積が強く望まれる。

## 2) 研究の目的；

- ・ BCG ワクチン接種に関連して発生する副反応症例の発生頻度や発生に至るリスク要因などを詳細に検討し、安全かつ有効な BCG ワクチン接種プログラム検討の材料とする

- ・ 副反応症例の診断・治療経過、転帰などに関する情報を集積し、BCG ワクチン副反応事例への対応指針作成へと繋げる

## 研究方法

全国の小児科医療機関（病院のうち小児科を標榜している施設）を対象に 1 次調査票（添付資料 1）を送付して、平成 23 年 1 月から 12 月までの間の BCG ワクチン関連副反応症例の診療経験の有無を尋ねた。

さらに、1 次調査票で副反応症例診療経験

「あり」と回答のあった施設を対象に 2 次調査票（添付資料 2～8）を送付して、個別の症例に関する詳細な情報収集を行った。倫理面への配慮

研究実施に先立ち、当院倫理審査委員会（平成 24 年 11 月開催）を受審しその実施について承認を得た。

## 研究結果

### 1. 1 次調査

平成 24 年 12 月末に全国の小児科医療機関（病院のうち小児科を標榜している施設）2928 施設を対象に調査協力依頼文書・1 次調査票を送付し、平成 25 年 3 月末までに 1598 施設より返信があった。その内訳は、「該当 BCG ワクチン副反応症例有り」124 施設、「該当する副反応症例なし」1404 施設、「現在、小児科の診療を行っていない」56 施設などであった。

1 次調査票で「副反応あり」と報告された、それぞれの副反応毎の症例数は以下の通り。

	症例数	うち男児
腋窩リンパ節の腫脹	103	53
接種局所の腫瘍	27	18
骨炎・骨髄炎	5	4
皮膚結核様病変	24	11
全身性播種性 BCG 感染症	3	3
腋窩以外のリンパ節腫脹	8	3
その他異常反応	11	6

（尚、後述する通り、「副反応あり」と報告された症例を対象とした 2 次調査の結果、調査対象として定義した「平成 23 年に診療された症例」ではなく、それ以前或いは以後に診療された症例も多く含まれていたことが明らかとなった）

### 2. 二次調査

1 次調査で「副反応あり」と返信があった施設（124 施設）を対象に 2 次調査票を送付し、調査協力を依頼した。62 施設より 2 次調査票の返信があり、66 例の副反応に関する 2 次調査票が回収された（腋窩リンパ