

全血インターフェロン- γ 応答値定量による結核感染の診断について

青木紀子 田中逸文*¹ 吉田紀美 徳増欽吾 田中 博 大瀬戸光明 井上博雄

A diagnosis of tuberculosis infection by whole blood interferon- γ response quantitative analysis

Noriko AOKI, Itsufumi TANAKA, Kimi YOSHIDA, Kingo TOKUMASU,
Hiroshi TANAKA, Mitsuaki OSETO, Hiroo INOUE

We conducted QuantiFERON[®] TB-2G(QFT-2G) test, which has been newly developed to diagnose *Mycobacterium tuberculosis* infection and well known it's high specificity, to healthcare workers and persons who contacted closely with tuberculosis patients in Ehime prefecture. Out of forty participants in QFT-2G test, one (an employee at a public health center) was positive and two were suspended the determination. These results suggested that QFT-2G test is useful not only for the diagnosis of tuberculosis in the contact with its patients but also for tuberculosis control of such high-risk groups such as healthcare workers.

Keywords : QuantiFERON[®] TB-2G(QFT-2G), *Mycobacterium tuberculosis*, specific antigens (ESAT-6 / CFP-10)

はじめに

愛媛県において2005年に新たに結核を発病した患者数は270人、罹患率は18.4(人口10万対)であった¹⁾。全国値を下回るものの全国20位²⁾であり、依然として中まん延状態である。

平成16年10月18日に厚生労働省により「結核の予防の総合的な推進を図るための基本的な指針」が策定され、この指針に基づいた「愛媛県結核予防計画」においては、平成22年には全結核罹患率を15以下にするという数値目標が設定された。この具体的目標のひとつとして「定期外の健康診断の強化」が掲げられ、その方策として結核菌感染診断用インターフェロン- γ (IFN- γ) 値測定試薬を用いた接触者調査の導入が検討されている。この方法は、結核菌とごく一部の非結核性抗酸菌のみに存在するという特異抗原ESAT-6 (the early secreted antigenic target 6 kDa protein) およびCFP-10 (10kDa culture filtrate protein) で被験者血液を刺激し、産生されたIFN- γ 量をELISA法により測定する方法で、結核感染者の細胞性免疫を判定するものである^{3), 4)}。特異

度及び感度が高く、ツベルクリン反応(ツ反)と異なりBCG接種の影響を受けない検査法として注目されている^{5) -11)}。

今回、試験的に定期外健康診断該当者及び医療従事者等を対象に検査を実施したので報告する。

対象と方法

対象は平成17年11月から12月の県内の3保健所管内の定期外健康診断該当者9名、A病院職員15名、保健所担当職員9名及び当所職員とその家族7名の計40名である(表1)。内訳は男性10名女性30名、年齢は22歳から93歳であった。A病院職員は医師5名と看護師10名で平成17年9月に院内において入院患者(76歳・女性:ガフキー6号)からの感染が疑われた。また被験者のツ反は各保健所あるいは病院にて実施され、参考値として結果を示した。

測定は試薬キット「クオンティフェロン[®] TB-2G」(QFT-2G: (株)日本ビーシージーサプライ)を用いて使用説明書に準じて行った。検体は各保健所および病院にてヘパリン採血管で5mL採血の後、6時間以内に常温で速やかに当所へ搬入された。まず、ステージ1では血液を結核菌特異抗原等で刺激後、血漿を回収し、ステージ2でELISA法によりIFN- γ 量を測定した(図1)。

愛媛県立衛生環境研究所 松山市三番町8丁目234番地

* 1 愛媛県保健福祉部健康増進課 (現愛媛県研修所)

ステージ1で用いる刺激抗原は、結核菌特異抗原として ESAT-6 (E) およびCFP-10 (C) を使用し、陽性コントロールとしてマイトージェン (M)、陰性コントロールとして生理食塩液 (N) をそれぞれ使用した。被検血液にこれらの抗原を各々滴下し、1分間混合した。37℃で静置培養後、血漿を回収した。培養時間は毎回18時間に統一した。

ステージ2では、HRP標識抗ヒトIFN- γ 抗体液を注入した抗ヒトIFN- γ 抗体固相化プレートにステージ1で得られた血漿検体を分注した。同時に標準曲線用の各希釈濃度のヒトIFN- γ 標準液を分注、攪拌後遮光して22℃

で120分間静置した。その後洗浄用緩衝液でプレートを洗浄後、調製した基質発色液を添加し、遮光して22℃で正確に30分間反応させ、酵素反応停止液を加えて、450nmで吸光度を測定した。

(株)日本ビーシーサープライのホームページより解析ソフトをダウンロードして標準曲線を作成した。標準曲線は①相関係数 (r) =0.98以上 ②ヒトIFN- γ 標準液 (原液) の吸光度が1.5以上 ③希釈緩衝液の吸光度が0.1未満であることを検証し、次式により各抗原の測定値を算出した。

表1 QFT-2G対象者数

定期外健診該当者	9
〔家族が結核治療中 職場での感染疑い〕	3 6
A病院職員 (医師5・看護師10)	15
保健所感染症担当職員 (保健師7・放射線技師2)	9
当所職員およびその家族	7
合 計	40

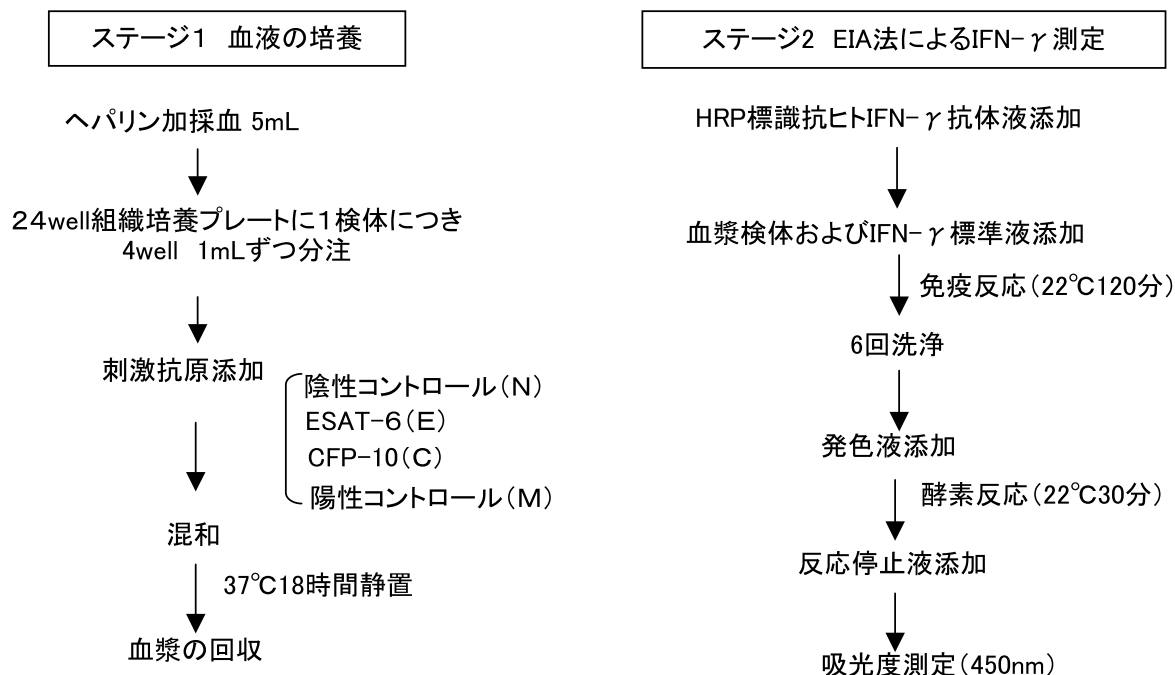


図1 QFT-2Gの測定方法

表2 結果の判定

測定値EまたはC	判定	解釈
0.35IU/mL以上	陽性	結核感染を疑う
0.1IU/mL以上 0.35IU/mL未満	判定保留	感染のリスクを総合的に判定する
0.1IU/mL未満	陰性	結核感染していない

測定値E (IU/mL) = [IFN- γ E*¹] - [IFN- γ N*⁴]

測定値C (IU/mL) = [IFN- γ C*²] - [IFN- γ N]

測定値M (IU/mL) = [IFN- γ M*³] - [IFN- γ N]

*¹ 刺激抗原E添加検体のIFN- γ E濃度 (IU/mL)

*² 刺激抗原C添加検体のIFN- γ C濃度 (IU/mL)

*³ 刺激抗原M添加検体のIFN- γ M濃度 (IU/mL)

*⁴ 刺激抗原N添加検体のIFN- γ N濃度 (IU/mL)

測定値Eおよび測定値Cのカットオフ値は使用説明書により0.35IU/mLに設定し、0.35IU/mL以上を陽性、0.1～0.35IU/mLを判定保留、0.1IU/mL未満を陰性とした(表2)。

結果および考察

今回測定した40名のIFN- γ 値の分布状況を図2に示した。陽性の1例はESAT-6/CFP-10の両抗原に対して明らかに高い反応を示した。また、IFN- γ 値が判定保留域(0.1～0.35IU/mL)の反応を呈したものは2例にすぎなかった。その他の検体でのIFN- γ 値の分布をみると、ESAT-6/CFP-10に対して全く反応性を示さなかった。

表3には、対象者群別のQFT-2G判定結果を示した。定期外健康診断該当者は9名全員が陰性、A病院職員は15名中14名が陰性、1名が判定保留であった。また保健所職員は9名中8名が陰性、1名が陽性、当所職員およびその家族は7名中6名が陰性、1名が判定保留であった。

QFT-2G陽性の保健所職員1名は、測定値Eが0.435IU/mL・測定値Cが0.761IU/mLとなり、ESAT-6/CFP-10に対するIFN- γ 量が明らかにカットオフ値を超える反応を示した。ESAT-6/CFP-10は*Mycobacterium (M.) kansasii*および*M. marinum*等の一部の非結核性抗酸菌にも存在することが確認されている³⁾ことから、QFT-2G陽性例についても医師による画像検査や他の抗酸菌検査等を組み合わせた総合的な鑑別診断が必要である。A病院の1名はESAT-6に対してIFN- γ の産生量が0.106IU/mLと若干高値を示し、最終判定は保留とされた。また当所職員1名は測定値Eが0.154IU/mL・測定値

Cが0.235 IU/mLとなり判定保留とされた。QFT-2G検査は、細胞性免疫に係る記憶T細胞の反応を*in vitro*で測定しており、通常は感染2ヶ月以上経過した後の検査が望ましいとされている¹²⁾。しかし、登録患者との接触から3ヵ月後や6ヵ月後にも反応が上昇する事例もある⁴⁾。また逆に、判定保留となった対象者に対して再試験を行ったところ陰性となった事例もある⁷⁾。これらのことから、判定保留となった場合には、感染のリスクの度合いを考慮して再測定する必要があると思われる。定期外健康診断該当者およびA病院職員は結核感染の可能性が高かったにもかかわらず、24名中23名が陰性と判定され、免疫学的に結核菌感染は認められなかった。

従来から結核の診断にはツ反が用いられてきたが、特異度の低さやブースター効果および接種・判定時の技術的差等问题点が多々指摘されてきた³⁾。QFT-2Gはこれらの問題点を解決し、潜在性の結核感染を含めた感染の有無を判定する特異的な検査法として、臨床での応用が始まっている⁸⁾。また、接触者健診事例や集団感染事例においてツ反と比較した報告が多く見られ、不必要な化学療法を避ける有力な手段になると考えられている^{6), 7), 9) -11)}。今回40名の被験者のうち14名に対して実施されたツ反の結果、発赤30mm以上であった8名のなかにQFT-2G陽性例は検出されず、判定保留の1例を除き結核感染が否定された(表3)。このことから、ツ反の発赤は結核感染による反応ではないことが示唆された。BCGワクチン既接種者集団であり、感染性結核患者との接触機会の多い保健所担当職員や医療従事者など、結核感染のリスクの高いグループに対しては、定期的なIFN- γ 値の測定により感染の有無を確認し、継続することに意義があると思われる。

今後も県内で結核集団感染事例が発生した際にはQFT-2Gを活用することにより、定期外健康診断の強化が期待される。

まとめ

結核感染診断検査「クオンティフェロン® TB-2G」を実施した結果、定期外健康診断該当者は9名全員が陰

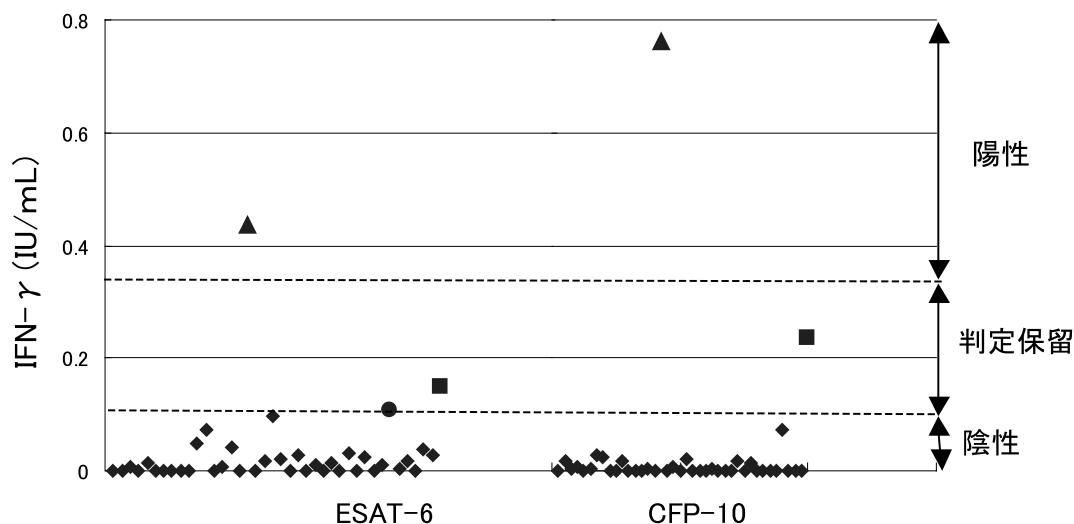


図2 ESAT-6, CFP-10に対するIFN- γ 測定値の分布状況

▲:保健所職員(表3の3) ■:当所職員(表3の2) ●:A病院職員(表3の1)

表3 QFT-2G 判定結果

対象者	ツ反結果 [*]	QFT-2G 結果		
		陰性	判定保留	陽性
定期外健診 該当者 (9)	≧発赤 30mm	2	2	-
	NT	7	7	-
A病院職員 (15)	≧発赤 30mm	4	3	1 ¹⁾
	発赤30mm <	4	4	-
	不明	7	7	-
保健所職員 (9)	≧発赤 30mm	2	2	-
	発赤 30mm <	2	2	-
	NT	5	4	1 ³⁾
当所職員および その家族 (7)	NT	7	6	1 ²⁾
合計		40	37	2

(数字は人数を示す)

*) QFT-2G 測定時における判定 NT : 測定せず

¹⁾ESAT-6 のみ (図2の●)

²⁾ESAT-6・CFP-10 (図2の■)

³⁾ESAT-6・CFP-10 (図2の▲)

性，A病院職員は14名が陰性，1名判定保留であった。保健所職員は8名が陰性，1名が陽性，当所職員およびその家族は6名が陰性，1名が判定保留であった。

今後もBCGの影響を受けないQFT-2Gを定期外健康診断に活用していきたい。

検査にご協力いただきました関係者の皆様に深謝いたします。

文 献

- 1) 愛媛県感染症発生动向調査事業報告書，(2005)
- 2) 結核の統計2006，(財)結核予防会
- 3) 樋口一恵：資料と展望，44，33～44 (2003)

- 4) 樋口一恵：QuantiFERON® TB-2Gによる結核感染診断。医学図書出版。
- 5) Mori T et al：Am J Respir Crit Care Med，170，59～64 (2004)
- 6) 病原微生物検出情報，27，258～262 (2006)
- 7) 岡田美香：宮崎県衛環研年報，54～56 (2005)
- 8) 森雅亮：感染症学雑誌，79，937～943 (2005)
- 9) 原田登之：結核，79，637～643 (2004)
- 10) 船山和志：結核，80，527～534 (2005)
- 11) 宮下 裕文：結核，80，557～564 (2005)
- 12) クオンティフェロン® TB-2Gの使用指針。平成18年5月。日本結核病学会予防委員会