集団感染事例における新しい結核感染診断法
QuantiFERON®-TB-2Gの有効性の検討

原田 登之 森 亨 安戸 眞司 椎口 一恵
関谷 幸江

要旨：目的]結核接触者健診における結核感染診断の目的のために、結核菌特異抗原（ESAT-6および
CFP-10）を用いた全血インターフェロンγ応答を定量する方法（QuantiFERON®-TB-2G）がどのよ
うに有効であるかを検討するために本研究を行った。（対象と方法）ある若年者集団（専門学校生）に
おける結核患者の発生に際して、ツ反とともに本法を適用し、その指針をツ反と比較分析した。（結果）
初発患者との接触者がいる群とそれ以外の接触者とは、本法の陽性率に大きな差が見られたが、ツ反
では違いはわずかで、本法が BCG接種の影響を受けずに結核感染診断が正確に行えることを示唆し
ていた。（結論）ツベルクリン反応検査との比較から、この方法は従来のツベルクリン反応検査とそ
の便宜的な診断基準による方法で回避できない不必要な過剰な化学予防の指示を大幅に節減し、また
適正な方法を工夫することによって必要な対象者を最大限補足することが可能になると考えられる。
いっそう信頼性のある方法として広範に利用できるものとなるために克服すべきいくつかの課題が残
されているものの、この方法は今後の結核対策のなかで重要な手段のひとつのとなるであろう。

キーワーズ：結核感染、結核感染、ツベルクリン反応、全血インターフェロンγ応答測定法、予防内服

緒 言

結核感染の頻度が低下しているのに逆比例して、若年者を中心に結核の集団感染（集団発生）のリスクは大き
くなっている。厚生労働省の資料によれば2000年から
2004年の期間に同省に報告された集団感染事例170件のうち60%は学校および若者の多い事業所で
起こっていた。このような事例では感染を受け未だ結核
発病していない者が多かって少なかれ発見されるが、そ
のような者に対しては化学予防を行い、将来の発病の危
険性を下げることが必要である。しかし日本のように
BCG接種が広範に行われている国においては、ツベル
クリン反応検査（以下、ツ反）による正確な結核感染の
診断は困難である。これに対して日本では、「BCG接種
によるツ反応は、確率的に結核感染によるものよりも弱
い」ということを前提に、かなり便宜的な判定基準を設
け3）、さらに過去の反応との比較や BCG接種の状況、被
験者が集団構成員であれば集団全体のツ反の状況など、
といった「状況推定」も考慮に入れた総合的な判断を行
ってきた3）。しかしこの方法はかなりの遺不足（不要と
必要な化学予防指示を必要な人の看過）を免れない。BCG接
種の予防効果を引き寄せるため、われわれはこのような不都
合に甘んじてきただが、同時に BCG接種の影響を受け
ない正確な結核診断技術の開発はわれわれが長年求めて
きたところである。

近年の技術革新により末梢血免疫細胞の特異抗原刺激
に対するインターフェロンγ応答を定量することが可能
になり、その簡易キット（QuantiFERON®-TB、Cellestis社、
オーストラリア）が開発された4）。さらにこれに結核菌
特異抗原として ESAT-6、CFP-10というタンパクを使用
することにより上記の課題がより解決に向かいつつ
ある5）。われわれはこの方法（QuantiFERON®-TB-2G、同

財団法人結核予防会結核研究所

連絡先：原田登之、結核予防会結核研究所抗酸菌レファレンス
センター免疫検査科、〒204-8533 東京都渋谷区松山3-1-24
（E-mail：harada@jata.or.jp）
（Received 25 Aug. 2004/Accepted 14 Oct. 2004）

- 13 -
対象と方法

(1) 集団発生事例の概要

某中都市でそばばん塾・カラオケ教室を経営し、さらに経理関係の専門学校で講師をしていた男性A氏（57歳）が発症患者である。A氏は2002年11月初旬より風邪様症状を発症していたが、12月24日に受診して結核（ガフキー9号、学会病型Ⅳ型2）と診断され、入院した。A氏は結核の既往はなく、1999年4月に近医で胸部X線撮影を受け、異常なしとわれられたが、その後は健診等を受けていない。家族以外の接触者は専門学校生300人（年齢18歳〜25歳）、職員38人のほか、そばばん教室生徒57人（3歳〜12歳）、カラオケ教室生徒などであった。とくに専門学校生のうち、73人は2002年11月30日から12月5日にかけてA氏と共にハワイへの修学旅行に参加していた。

1月27日専門学校生のB氏（18歳、女性）が気胸を発症、ついてで喀痰結核菌PCR陽性と診断された。ついての接触者健診の結果、ハワイ旅行に参加した専門学校生C氏（20歳、男性）が2月3日に活動性結核（Ⅲ型1）と診断された。

接触者に対して行った健診（ツ反、X線検査、およびツ反歴）および本研究で行ったQFTの成績を参考として合計23人（専門学校生18人、そばばん教室生徒5人）に化学予防が指示された。その後2004年7月現在まで患者発生は報告されていない。

(2) QFTによる検査法

QFTの原理や方法の詳細は他36に譲り、ここでは要点のみを記述する。被験者から静脈血を5mlヘパリン採取し、採血後概ね12時間以内にその一定量に抗原（ESAT-6、CFP-10；実際はそれぞれの菌種ベプチドのプール）、および陰性対照用生理食塩水、陽性対照としてPHAをそれぞれ作用させて、免疫細胞からインターフェロンγ（以下IFN-γ）を産生させ。37℃で16〜24時間静置培養した上清をとり、含まれたIFN-γを、QFTキットを用いて、規定の使用法に従って測定した。測定されたそれぞれの抗原刺激によるIFN-γ計測値を陰性対照での計測値を差し引いた値を、対応する実効放出量として、いずれかの抗原での放出量が0.35IU/ml以上を「陽性」と定義した。このカットオフについては別に論じた。

(3) サンプル・QFTの対象と方法

ツ反は日本の現行の制度上化学予防の対象となる30歳未満の接触者である。そばばん教室および専門学校生と定め、通常の方法で実施した。判定者は医師が発赤長径および硬結直径を測定した。二重発赤の有無、水疱等のいわゆる副作用の有無も記載した。本研究では専門学校生をQFT検査の対象としたので、以下この群のみについて記述する。

QFTは原則としてツ反で発赤長径が30mmを超える者を対象とした。QFTの検査に先立ち、定期外健診を担当する職員から本人または保護者に対して説明を行い、承諾をとった。

(4) 分析

ESAT-6、CFP-10による実効IFN-γ放出量にもとづいて各被験者は陽性と陰性に判別されるが、各放出量の分布を検討する場合はその値を対数変換したものを用いた。この際、元の値が0または負の場合には、仮に元の値が仮定的に0.005として集計・解析を進めた。

成績

(1) サンプルの結果

専門学校生270人について行われたツ反発赤径の分布はFig.1に示すとおりである。やや右方に長く幅を引く正規分布に近似した分布で、明らかに二峰性は認めない。平均値は25.8mm（標準偏差16.1mm）で、発赤
10 mm以上が87.8％、20 mm以上47.8％、30 mm以上が27.8％であった。平均年齢は19.7歳（標準偏差は1.8歳）であった。

この群をハワイ修学旅行への参加の有無によって二分し（それぞれ濃厚接触群、非濃厚接触群と呼ぶ）、ツ反発赤分布を比較したのがFig. 2である。ヒストグラムを比較すると、両群はよく似ているが、ハワイ群（a. Close contacts）では非ハワイ群（b. Less close contacts）に比し右方の幅が広くみえ、かすかながら二峰性とみることもある。平均値是有意に前者で大きい（両側検定の
t = 0.0407, p = 0.041）。30 mm以上に達する反応の頻度も37.0％対24.4％で、有意に前者で多い。非濃厚接触群を基準としたOdds比は1.82、カイ自乗のp = 0.040。

（2）QFTの結果

QFT分析は75人に対して行われた。いずれもツ反被検者のうち発赤径30 mm以上の者である。これら両群のIFN-γ産生量の分布をESAT-6、CFP-10について見たのがFig. 3である。IFN-γの分布は対数正規分布をするので、元の値の自然対数変換を行っている。濃厚接触群の分布は明らかに二峰性であり、対数値を-2（真数で0.14 IU/ml）近傍がantimodeとなっている。一方非濃厚接触群では分布はやや不規則な指数関数型の分布で右肩下がりである。0.35 IU/mlを基準として陽性率を見るとTableのようになる。

（3）IFN-γとツ反の相関

Fig. 4はIFN-γ（対数変換済み）とツ反発赤径の相関を示す。ツ反発赤径30 mm以上の者のみについてのQFT応答であるが、両者の間にESAT-6、CFP-10のいずれも弱い相関がみられる（相関係数はそれぞれ0.387、0.207；無相関の検定のp値は0.000、0.074）。相関係数の自乗値（決定係数）はそれぞれ0.15、0.04で、ツ反発赤の変動の15％、4％だけがこれらの抗体への応答に依存することになる。
考察

著者らは初めにQFTの結核感査の診断における特性について感度89.0%、特異度95.1%という知見を得た。ただしこの感度については、目標とする（潜在的）結核感染の代理指標として菌陽性肺結核（治験開始前の）を用いたもので、感染した未発症者に近い状態のQFTがどのようなパフォーマンスを示すかを見たものではない。今回は比較的規模の大きい集団感染、しかも集団を感染啓露の濃淡の差で二つに分ける状況で、検査の所を見つめているので、間接的なより潜在感染における特性についてより詳細に検討することができます。

対象となった専門学校生の集団は年齢が比較的均質な若者で構成されており、初発患者の症状出現から3ヶ月間接触があり、その一部は特に濃厚な接触関係（1週間のハワイ旅行に同行）を持っていた（ただし統発例がこの申告による症状出現時期から2ヶ月で発症していることから、初発患者の発症時期はこれよりさらに以前だった可能性もあり、真の接触期間はもっと長かったかもしれない）。これによって分かった濃厚接触、非濃厚接触間の伝播性結核患者が統計しており、集団感染は何らかの程度で起こっていることは十分考えられました。そして、従来の接触者観察で行われるトワ反検査の成績（濃厚接触群と非濃厚接触群の比較）において、前者でやや強い反応が見られることが、集団感染の存在がさらに疑われた。従来であれば、便宜的に設定されている「30 mm以上（いわゆる強反応）」を「潜在感染」の基準として用い、全接触者中から75人（28%）に対して化
Fig. 4  Correlation between tuberculin reaction and IFN-γ response

学予防を指示することになったはずである。

QFTをこれらの者に適用したところ、2群の反応は感染発露に適応した明確な違いを示した。濃厚接種群では感染群の67%を示す5群の多くを含む1群の2群を示し、非濃厚接種群では低頻度の被感染者の存在は未感染者の応答に覆われてはっきりしない分布となっていた。先に設定されたQFTの診断基準の、濃厚接種群の45.5%、非濃厚接種群71.1%、あわせて40.4%が感染状態であるとされた。これもこの接種者全体からみると、濃厚接種群の20.5%、非濃厚接種群の1.5%、全体では6.7%（95%信頼限界4.3%～10.3%、実人数18）に相当する。集団感染の対照としては、これに基づきこれら18人には化学予防が指示された。QFTを用いることによって化学予防の指示は従来の75人からその4分の1に節減することができたことになる。

非濃厚接触者におけるQFT陽性率1.5%（95％信頼区間0.5%～4.3%）は、1998年の20～29歳に対して森らの推定した既感染率1.6%と類似しており、ここでは感染はそれほど大量に起こっていたわけではないことがうかがわれる。その一方で濃厚接触者群での陽性率20.5%（95％信頼区間12.9%～31.2%）がいかに密接な感染伝播であったかを物語る。

ただし、ここには間隔が少なくとも2点残されている。まずQFTの被感染に対する感度である。上に述べた集団患者におけるQFT陽性率は89%であり、潜伏感染ではIFN-γ応答は患者よりも高いことがあっても低くないとする論拠は少ない（73）。しかし、第2節では（ツ反で30mm以上の者中から）最大10%程度の感染が見落とされることになる。本事例における化学予防の対象者は、抗原特異的IFN-γ産生量が0.35 IU/ml以上の者であり、それに論じたようにこのような既感染者が高層集団に適応する際にはカットオフ値を下げることがより陽性的中率をあまり下げずに見落としを減らすことができる（74）。

第2の問題は、QFTの被検者をツ反40mm以上に確定したことによる感染者の見落としの可能性である。集団患者におけるツ反は平均値を発赤30mm近傍に正規分布である（75）。もし潜伏感染者がツ反がこれと同じ分布に従うとすれば、発赤30mm以上に感染の疑いをかけることにより、発赤の半数にあたる30mm未満の反応の者を見落すことになる。この論議により潜伏感染は患者よりも強いツ反を示す可能性があり、さらにわれわれが問題にしている既接種集団では、接種後の自然感染によるツ反は強くなると考えられる。Fig. 1に見るように感染によって生じたと考えられる二重性の右方のモードは40〜45mm付近にあることからもうなずける。このことはこれまでに報告された学校等での集団感染では塩引返し観察されている（76）。これからすれば、30mmの基準で見落とされるのは被感染者の半数には達しないとしても、いずれにせよかなりの見落としは避けることができない。これは今後QFTを限定的に適用する場合、考えなければならない問題である。ただし現在の化学予防基準と比較する場合には、ツ反発赤30mm以上とすることは見落としを増やすことにはならない。いきなり接触者全員に薬を適用するまではしなくても、たとえば発赤20mm以上に対し適用するなどの妥協を行うだけでツ反による「見落とし」を飛躍的に回復することが可能になるであろう。

BCG既接種者を含む集団での接種者健診にQFTが有用なことを示す事例は最近デンマークから報告されているが、長期間の有症状だっ高校生患者の接触者700人の健診では大半が未接種の高校生および多くの既接種者を含む成人について検査が行われ、未接種者ではQFTとツ反はよく一致し、また既接種者では濃厚接触者と非濃厚接触者の間でQFT陽性率の明らかなからが見られた（陽性率は50％対6％）。既接種集団にはツ反皮膚反応で
謝辞

接触者健診の機会を利用させて頂き、諸般にあたり研究にご協力頂けた保健所職員の皆様、ならびに特異抗原を提供されたCellestis社（オーストラリア）に深謝する。

本研究は平成14年厚生労働科学研究補助金による新興再興感染症研究事業研究課題（主任研究者 森 亨）、および平成15年度厚生労働科学研究補助金による新興再興感染症研究事業研究課題（主任研究者 森 亨）のそれぞれ一部として行われた。

本研究の成果の一部は第79回日本結核病学会総会（2004年、名古屋）で発表した。

文献

1) 厚生労働省結核感染症課：「結核の統計2004」、結核予防会、東京、2004。

2) 厚生省保健医療局疾病対策課結核・感染症対策室長通知：初感染結核に対するINHの投与について、平成元年2月26日保健医療局第40号。

3) 森 亨：ツベルクリン反応検査による予防投薬対象の決定。「命令入所及び初感染結核の取扱いとその説明」、厚生省監修、結核予防会、1989、117。


7) 原田登之、樫口一恵、谷渕幸江、他：結核菌抗体ESAT-6およびCFCP-10を用いた結核菌感染診断法Quantiferon®-TB-IGの基礎的検討。結核。（印刷中）


12) 森 亨：「ツベルクリン反応検査」、結核予防会、東京、1995, 27-29。
USEFULNESS OF A NOVEL DIAGNOSTIC METHOD OF TUBERCULOSIS INFECTION, QuantiFERON®-TB-2G, IN AN OUTBREAK OF TUBERCULOSIS

Nobuyuki HARADA, Toru MORI, Shinji SHISHIDO, Kazue HIGUCHI, and Yukie SEKIYA

Abstract [Objective] The purpose of this study was to evaluate QuantiFERON®-TB-2G (QFT), a novel method of detecting tuberculosis infection among contacts of a tuberculosis patient by determining the whole-blood interferon-gamma response to the specific antigens.

[Subjects and Methods] A teacher of a college who had been coughing for the preceding two months was diagnosed with smear-positive tuberculosis. About 270 students of the college were considered to have been exposed to tuberculosis infection, of whom 73 were in closer contact with the index case because they participated in a one-week group excursion attended by the teacher. Two of the contact students developed active tuberculosis shortly thereafter. Tuberculin tests were conducted to almost all students, and QFT was performed for only those with tuberculin reactions having erythema diameters of 30 mm or larger.

[Results] Tuberculin tests of students, all of whom had been vaccinated with BCG at least once, revealed that the distribution of the close contact group was slightly shifted to right (larger side) than those with less close contacts. The QFT positive rate for close contacts was 45.5%, while that for less close contacts was only 7.1%, which obviously indicates that QFT is hardly affected by the tuberculin allergy due to past BCG vaccination. The distribution of interferon-gamma measurements (log-transformed) of the close contacts showed typical bimodality, one mode representing the infected, another the non-infected. This was not clear for the less close contacts. The correlation of interferon-gamma measurements (log-transformed) with tuberculin reaction erythema size was weak, if not non-significant.

[Conclusion] It was concluded that QFT was a useful method for diagnosing tuberculosis infection and was unaffected by the BCG-caused tuberculin allergy. In the case of the outbreak mentioned above, QFT greatly reduced the indication of chemoprophylaxis, from 28% of all the contacts solely based on tuberculin test to only 7%.

Although there remains some problems to be overcome for QFT to be widely used with high confidence, this technology will provide a high possibility for wider and more accurate indication of chemoprophylaxis and will be one of the essential tools of tuberculosis control of the 21st century in Japan.

Key words: Tuberculosis outbreak, Latent tuberculosis infection, Tuberculin skin test, Whole blood interferon-gamma assay, Chemoprophylaxis

Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Association (JATA)

Correspondence to: Nobuyuki Harada, Immunology Division, Research Institute of Tuberculosis, JATA, 3–1–24, Matsuyama, Kiyose-cho, Tokyo 204–8533 Japan.
(E-mail: harada@jata.or.jp)