

東京都における結核菌感染診断用インターフェロン γ 測定検査の 実施状況 (2007年度) と定期外検診における有用性

三宅啓文, 吉田 勲, 向川 純, 保坂三継, 矢野一好

東京都における結核菌感染診断用インターフェロン γ 測定検査の

実施状況 (2007年度) と定期外検診における有用性

三宅啓文*, 吉田 勲*, 向川 純*, 保坂三継*, 矢野一好**

東京都健康安全研究センターでは東京都，特別区および八王子市の保健所からの依頼検体を対象として平成19年度より結核菌感染診断用インターフェロン γ 測定検査（QFT検査）を開始した．平成20年3月までの間に総数3,574件を検査し，その結果は，陽性187件（5.2%），判定保留256件（7.2%），陰性3,089件（86.4%），判定不可11件（0.3%），検査不能31件（0.9%）であり以下のような知見を得た．(1) 検診区分別の検出率では，家族検診，接触者検診，特定施設従事者検診の順に陽性率が高かった．(2) 被験者の年齢別陽性・判定保留の検出率分布図はいわゆる欧米型に近いパターンを示した．(3) 陽性・判定保留例であつてもほとんどの被験者は無症状であつた．(4) 陰性コントロールが高値を示した事例は再検査で測定値に変動がみられ，判定に特に注意を要することが示された．(5) 妊婦では測定値Mがやや低く示される傾向がみられた．(6) 5歳の小児でも妊婦の事例と同様に測定値Mがやや低く示される傾向がみられた．QFT検査は結核の定期外検診において有用であり，被験者の現症状，接触状況等の情報と合わせて解析を行うことで結核の疫学的所見を得ることが出来た．

キーワード：結核，診断法，インターフェロン γ 測定検査，結核菌特異的抗原，QFT，ELISA

はじめに

結核は今なお世界で毎年800万人が新たに発病し，300万人が死亡している感染症である¹⁾．その多くは開発途上国での発生であるものの，日本は他の先進国と比較して罹患率（対人口10万）が22.2（2005年）と高く²⁾，結核中蔓延国とされている．結核は我が国では地域格差が大きく，とりわけ都市部における流行が顕著であり，東京都は我が国における結核の主要な流行地の一つとなっている．そのため結核検査に対する潜在的な需要は大きく，より精度の高い検査法が求められている．

結核の新たな診断法である「結核菌感染診断用IFN- γ 測定検査（QFT検査）」は，BCG (Bacille de Calmette et Guérin) 接種による偽陽性がみられないといった特長を有しており，厚生労働省の通達によりツベルクリン反応に代わり結核診断法の第一優先検査法と位置付けられ，近年その需要が急増している．東京都健康安全研究センターにおいても東京都や特別区の保健所よりQFT検査の実施が要望され，平成19年4月より検査を開始した．

今回，平成19年4月～平成20年3月までの当センターにおけるQFT検査の実施状況を報告し，結核定期外検診におけるQFT検査結果の有用性，および判定に影響を与える要因について考察する．

実験方法

1. 検査対象

東京都，特別区および八王子市保健所において実施された検診の受診者，総数3,574件（内訳は東京都保健所1,989

件，特別区保健所1,410件，八王子市保健所175件）についてQFT検査を実施した．内訳について表1に示す．また被験者の診断区分別内訳について表2に示す．

表1. 検査依頼元内訳

保健所	件数
都	1,989
特別区	1,410
八王子市	175
合計	3,574

表2. 検診区分内訳

検診区分	件数
特定施設従事者検診	35
家族検診	408
接触者検診	3,129
その他	2
合計	3,574

2. 検査法原理

結核菌に感染すると，体内のTリンパ細胞がその情報を記憶し，再び結核菌あるいは結核菌と同様な抗原が体内に侵入した際にインターフェロン γ (IFN- γ) を産生する．QFT検査はこの性質を利用して，受診者より採血した血液に結核菌特異的抗原を加えて培養した後に産生されるIFN- γ 量をELISA法により測定することで，結核感染の有無を検査する方法である．

QFT検査で用いる結核菌特異的抗原には，BCGワクチンに用いるBCGとは異なる領域から産生されるタンパク³⁻⁵⁾を使用するため⁶⁾，過去に受けたBCG接種による影響を受けることなく結核菌感染の診断を行うことができる．

3. 検査方法

受診者のヘパリン加全血を1mlずつ培養用プレートに分

* 東京都健康安全研究センター微生物部病原細菌研究科 169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1

** 東京都健康安全研究センター微生物部

注し、陰性コントロール（生理食塩水）、結核菌特異的刺激抗原2種（ESAT-6：the early secreted antigenic target 6kDa protein（特異的抗原E）、CFP-10：10kDa culture filtrate protein（特異的抗原C））、陽性コントロール（Mitogen）を各々3滴ずつ加え、37℃、湿度飽和状態で16? 20時間培養した。培養後、血漿を分取しその50μlについて抗ヒトIFN-γ抗体固相化プレートを用いてELISA法を行った。得られた吸光度から標準IFN-γを用いた検量線によりIFN-γ濃度（IU/mL）を求め、特異的抗原E、特異的抗原Cならびに陽性コントロール由来の値から陰性コントロールの値（測定値N）を差し引いた値をそれぞれ測定値E、測定値C、測定値Mとした。測定値EまたはCが0.35以上を陽性、0.10以上0.35未満を判定保留（疑陽性）、測定値E、C共に0.10未満を陰性とする

る検査指針に従って判定を行った。以上の操作は日本結核病学会予防委員会の「クオンティフェロン®TB-2Gの使用指針⁷⁾」に従った。

結果及び考察

1. QFT検査結果

総数3,574件のQFT検査結果を表3に示す。陽性187件（5.2%）、判定保留256件（7.2%）、陰性3,089件（86.4%）、判定不可（陽性コントロール値が0.50 IU/ml 未満）11件（0.3%）、検査不能（検体が冷蔵されたり、検体量が不足していたもの）31件（0.9%）であった。

表3. QFT検査結果（2007年4月? 2008年3月）

判定	件数	(%)	判定基準
陽性	187	5.2	測定値Eまたは測定値Cが0.35 IU/ml以上
判定保留	256	7.2	測定値Eまたは測定値Cが0.10 IU/ml以上0.35 IU/ml未満
陰性	3,089	86.4	測定値Eおよび測定値Cが0.10 IU/ml未満
判定不可	11	0.3	陽性コントロール値が0.50 IU/ml 未満
検査不能	31	0.9	検体が冷蔵されたり、検体量が不足していたもの
総数	3,574		

2. 検診区分別検査結果

被験者の検診区分別内訳におけるQFT検査結果について図1に示す。陽性率は家族検診（7.5%）、接触者検診（5.0%）、特定施設従事者検診（2.9%）の順に高かった。初発患者と

の接触の濃密さや、被験者の感染リスクへの注意の有無などが原因と考えられる。

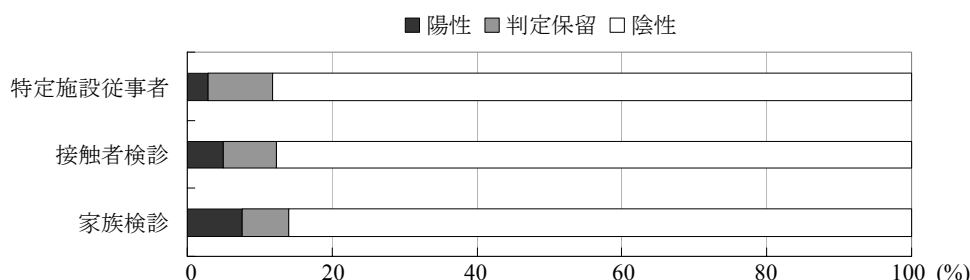


図1. 検診区分別結果

3. 年齢別分布

QFT検査での陽性・判定保留の検出率の、被験者の年齢別分布を図2に示す。概ね被験者の年齢が高くなるに従い検出率が上昇しているが、20代に小さなピークがみられ、いわゆる欧米型のパターン²⁾に近い様態を呈している。これは東京都における結核罹患率のパターンが反映されているものと推察される。

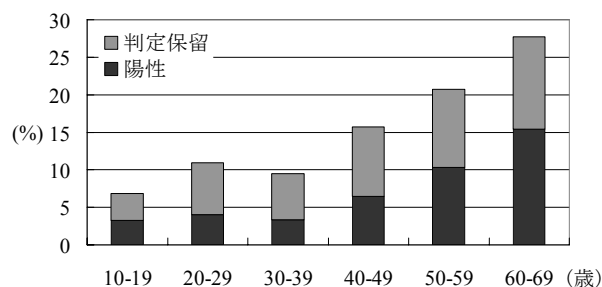


図2. 年齢別陽性・判定保留検出率

4. 被験者の現症状

被験者の現症状とQFT検査での陽性・判定保留の検出率について図3に示す。陰性・陽性に関わらず大半が無症状であった。初発患者が発生した際にその周辺の家族や接触者を検査の対象としているため予想されることではあるが、自覚症状が生じる前に結核の感染者を捉えているものと考えられる。

5. 陰性コントロールが高値を示した事例

陰性コントロールが高値を示した事例の再検査での測定値の変動について表4に示した。アメリカの基準⁸⁾では陰性コントロール値が0.7を超えた場合、測定値EまたはCが陰性コントロール値の半分以上でなければ判定不可とされるが、我が国では陰性コントロール値について特に規定は設けられていない。7例について時期を置いて再検査を行った結果、判定や陰性コントロール値は被験者によって様々に変動がみられた。陰性コントロールが高値を示した場合は、判定に特に注意を要することが示された。

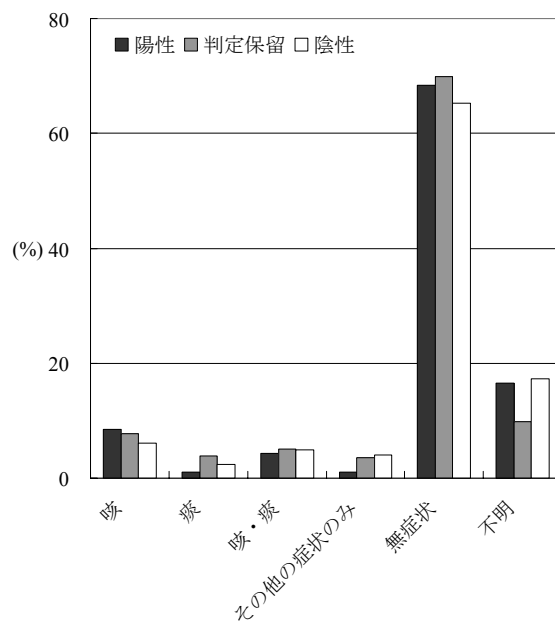


図3. 被験者の現症状

表4. 陰性コントロールが高値を示した事例の測定値変動

被験者	年齢	初回検査						再検査					
		測定値N	測定値E	測定値C	測定値M	判定	最終接触後期間 (週)	測定値N	測定値E	測定値C	測定値M	判定	最終接触後期間 (週)
No.1	22	0.39	0.29	0.14	6.18	判定保留	18	0.13	0.30	0.15	7.39	判定保留	22
No.2	34	4.19	0.00	0.00	12.36	陰性	11	0.52	0.39	0.32	10.89	陽性	13
No.3	41	4.38	0.98	0.37	>15.00	陽性	18	3.61	0.93	0.72	14.39	陽性	22
No.4	19	0.27	0.13	0.12	13.14	判定保留	4	0.12	0.00	0.00	>15.00	陰性	16
No.5	19	0.16	0.13	0.17	14.19	判定保留	4	0.95	0.00	0.00	>15.00	陰性	16
No.6	33	0.50	0.23	0.02	>15.00	判定保留	8	1.47	0.16	0.38	15.00	陽性	10
No.7	39	0.46	0.13	0.04	>15.00	判定保留	8	0.96	0.14	0.06	13.89	判定保留	10

6. 妊婦の検査

妊婦のQFT検査は、例数が少なく有用性が確認されていないため判定には注意を要すとされている。当センターにおける妊婦の検査 (n=7) では測定値Mは5.18-11.59, 平均値7.90であり、全検体の平均値14.65と比較してやや低く示される傾向が見られたが、判定不可となった事例は見られなかった (表5)。

7. 小児の検査

5歳の小児の検査 (n=6) でも妊婦の事例と同様に、全検体 (年齢の平均34.2歳) の平均値14.65と比較して測定値Mがやや低く示される傾向が見られたが (1.96-17.80, 平均値10.31), 判定不可となったケースは見られなかった (表6)。小児については免疫応答が未熟であると考えられる上に十分な実施例数が得られていないため使用指針⁷⁾では適応から除外されている。小児においては接触状況の考慮や時期を置いた追検査も加味した慎重な感染判断を前提とした上で、今後も事例数を増しQFT検査の有用性についてさらに検証したい。

表5. 妊婦のQFT検査結果

年齢	測定値N	測定値E	測定値C	測定値M	判定
32	0.02	0.00	0.00	8.94	陰性
28	0.11	0.00	0.00	6.76	陰性
25	0.04	0.00	0.00	6.40	陰性
39	0.02	0.00	0.00	11.59	陰性
25	0.04	0.00	0.00	5.18	陰性
33	0.02	0.00	0.00	6.18	陰性
36	0.08	2.72	1.59	10.27	陽性

測定値Mの平均値：7.90

表6. 小児のQFT検査結果

年齢	測定値N	測定値E	測定値C	測定値M	判定
5	0.03	0.01	0.00	17.80	陰性
5	0.01	0.01	0.01	15.35	陰性
5	0.02	0.00	0.00	1.96	陰性
5	0.04	0.00	0.01	8.67	陰性
5	0.02	0.00	0.00	13.60	陰性
5	0.01	0.00	0.01	4.49	陰性

測定値Mの平均値：10.31

ま と め

QFT検査は、医療機関従事者や学校・会社における集団の接触者検診、また初発患者の家族の検診等、結核感染の定期外検診において有用であった。

QFT検査の被験者の現症状、接触状況等の情報について収集・解析を行うことで結核の疫学的所見を得ることが出来た。今後さらにQFT検査の事例数を増すと共にその調査・解析を進め、より有効な結核菌感染診断のための情報の提供に努めたい。

文 献

- 1) 国立感染症研究所感染症情報センター: 感染症発生動向調査週報, 2003 年第 7 週号, 13-16, 2003.
- 2) 国立感染症研究所感染症情報センター: 病原微生物検出情報, **27**, 255-256, 2006.
- 3) Andersen, P., Andersen, A. B., Sørensen, A. L., *et al.*: *J. Immunol.*, **154**, 3359-3372, 1995.
- 4) Sørensen, A. L., Nagai, S., Houen, G., *et al.*: *Infect. Immun.* **63**, 1710-1717, 1995.
- 5) Berthet, F. X., Rasmussen, P. B., Rosenkrands, I., *et al.*: *Microbiology*, **144**, 3195-3203, 1998.
- 6) Laurens, A. H., van Pinxteren, *et al.*: *Clin. Diag. Lab. Immunol.* **7**, 155-160, 2000.
- 7) 日本結核病学会予防委員会: クオンティフェロン[®] TB-2G の使用指針, *Kekkaku*, **81**, 393-397, 2006.
- 8) Mazurek, G. H., Iobue, P., Iademarco, M. F., *et al.*: *MMWR*, **54**, 49-55, 2005.

**Interferon γ Assay for the Diagnosis of Tuberculosis
at the Tokyo Metropolitan Institute of Public Health Between April 2007 and March 2008,
and Evaluation of the Usefulness of Non-periodic Medical Examination**

A new diagnostic method for tuberculosis, namely, interferon γ assay (QFT), was introduced recently as a method that is not influenced by the tuberculin skin test. This method has been performed for non-periodic tuberculosis examinations at the Tokyo Metropolitan Institute of Public Health since April 2007. Among 3,574 samples tested between April 2007 and March 2008, 187 (5.2%) were positive, 256 (7.2%) were at the borderline between negative and positive, 3,089 (86.4%) were negative, 11 (0.3%) were indeterminate, and 31 (0.9%) were defective blood samples. The following findings were obtained: (1) The positive rate among examinee types was the following order: family examinations, contact person examinations, and specific facility worker examinations. (2) In the distribution of age of examinees, the positive rate chart was European and American-like. (3) Most of the positive cases were asymptomatic. (4) Although there is no special criterion for negative control values in Japan, fluctuations in judgment were observed in the re-examination cases several weeks after the first test; therefore, judgment needed to be careful. (5) The examinations of pregnant women showed a tendency of reduction in the mitogen value (average: 7.90). (6) The examinations of 5-year-old children also showed a tendency of reduction in the mitogen value (average: 10.31). In summary, QFT is a useful tool for the diagnosis of tuberculosis and will expand epidemiological knowledge.

Keywords: tuberculosis, diagnostic method, interferon γ , TB specific antigen, QFT, ELISA

* Tokyo Metropolitan Institute of Public Health
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073 Japan