

第 64 回 総会シンポジウム

Ⅲ. 結 核 診 断 法 の 進 歩

座長 岡 安 大 仁 (日本大学第 1 内科)
原 耕 平 (長崎大学第 2 内科)

受付 平成元年 11 月 28 日

The 64th Annual Meeting Symposium

Ⅲ. ADVANCE IN DIAGNOSIS OF PULMONARY TUBERCULOSIS

Chairmen : Masahito OKAYASU *
: Kohei HARA **

Symposists :

1. How to recover live *Mycobacteria* from smear-positive and culture-negative specimens of *Mycobacteriosis* patients : Hiroshi TAKAHASHI (National Institute of Health)
2. Diagnostic value of bronchoscopy in diagnosis of pulmonary tuberculosis : Bronchial aspirate, bronchial washing and TBLB : Shigeru KOHNO (Second Department of Internal Medicine, Nagasaki University School of Medicine)
3. Diagnostic usefulness of the bronchoscopy for pulmonary tuberculosis : Teruhisa HAGIWARA (First Internal Medicine, Nihon University School of Medicine)
4. Basic and clinical evaluation of rapid diagnosis of tuberculosis by detecting tuberculostearic acid : Hisakazu MURANISHI (Research Institute for Diseases of the Chest, Faculty of Medicine, Kyushu University)
5. The serodiagnosis of tuberculosis by enzymed-linked immunosorbent assay with Tuberculin purified protein derivative : Nobuchika KUSANO (Department of First Internal Medicine, School of Medicine, University of the Ryukyus)
6. Tuberculin skin test of patients with active pulmonary tuberculosis and non-tuberculous pulmonary diseases : Takuya KURASAWA (First Internal Medicine, Chest Disease Research Institute, Kyoto University)

Special comment. Improvement in image-diagnosis of pulmonary tuberculosis : Akira SUZUKI (Third Department of Internal Medicine, Sapporo Medical College)

(Received for publication November 28, 1989)

Detection of *Mycobacterium tuberculosis* is critical for diagnosis of pulmonary tuberculosis but is time-consuming. Recent studies have been focussed on rapid diagnosis

* From the First Department of Internal Medicine, Nihon University School of Medicine, Oyaguchi Itabashi-ku, Tokyo 173 Japan.

** From the Second Department of Internal Medicine, Nagasaki University School of Medicine, 7-1 Sakamoto-machi, Nagasaki City 852 Japan.

by serological, radiological or endoscopic techniques.

Since introduction of rifampicin, the problem of smear-positive and culture-negative results due to potent antimicrobial activity has become apparent, but its exact mechanism is still under debate. Pathogenetic diagnosis of pulmonary infection is mainly focused on local sampling of specimens from the infected site and this idea is also accepted to the diagnosis of pulmonary tuberculosis. Endoscopical technique is available for local sampling such as bronchial aspiration, bronchial washing and bronchoalveolar lavage by transbronchial biopsy. The results of these new techniques were compared with conventional diagnostic methods.

Mantoux reaction has been important for diagnosis in spite of its long history of application. However its significance in diagnosis was influenced by BCG inoculation and the change of social background such as the increase of aged people and compromised hosts.

New serological diagnosis like PPD detection by ELISA or TSA detection has been developed for rapid and accurate diagnosis.

New radiological diagnostic technique such as CT or FCR has been studied. These results were discussed in this symposium.

シンポジスト

1. 塗抹陽性培養陰性とその対策
高橋 宏 (国立予研)
2. 局所採痰による結核菌の検索
河野 茂 (長崎大医2内)
3. 経気管支肺生検と気管支肺胞洗浄の意義
萩原照久 (日本大医1内)
4. 結核症の迅速診断における Tuberculostearic Acid (TSA) 検出意義の基礎的、臨床的検討
村西寿一 (九州大医附属胸部疾患研究施設)
5. PPD を抗原とした ELISA 法による血清診断
草野展周 (琉球大1内)
6. ツベルクリン反応の最近の知見
倉澤卓也 (京都大胸部研1内)

(特別発言)

画像診断の進歩

鈴木 明 (札幌医大3内)

はじめに

結核の診断法には、結核菌の検出がまず大切であるが、近年の診断法の進歩によって、その補助的な診断法としての血清診断や画像診断法にも改良が加えられている。

リファンピシンの登場以来、結核菌培養成績において塗抹陽性培養陰性の問題が持ち上がり、その本態については幾つかの討議が行われているものの、その実態については明らかでない。また近年の呼吸器細菌感染症においては、咯出痰のみでなく、なるべく病巣局所から材料を採取して病因的な診断を行おうとの考えが優先してき

て、臨床の場においてもその診断法が応用されてきている。この考えを結核の診断にも応用して、局所から採取した材料についての結核菌の塗抹・培養や肺胞洗浄液の検査、さらには経気管支肺生検による病理学的な検査が行われてきているが、これら検査での実際の成績を提示することも、現今の肺結核の新しい診断法として参考となるだろう。

古くより用いられてきたツベルクリン皮内反応は、未だに結核の診断において重要な意義を有しているが、BCG接種や結核減少の社会的背景に多少とも影響され、一方、肺結核患者の老年層への偏向や、いわゆる

immunocompromised hostの増加に伴って、その意義づけが困難な面もある。結核菌菌体成分の純化とその血清診断法の手技の進歩によって新しいELISA法によるPPD抗原の検出やTSA検出など、新しい血清診断法も行われて、その診断上で占める意義も増えてきてい

るが、ここでは、これらの新しい血清診断法についての方法とその成績が述べられている。

臨床的な画像診断を含めて、肺結核をより確実にするための最新の知見が、このシンポジウムにおいて示されている。

1. 塗抹陽性培養陰性とその対策

国立予防衛生研究所 高橋 宏

1. HOW TO RECOVER LIVE MYCOBACTERIA FROM SMEAR-POSITIVE AND CULTURE-NEGATIVE SPECIMENS OF MYCOBACTERIOSIS PATIENTS

Hiroshi TAKAHASHI

(National Institute of Health)

1. There are two kinds of smear-positive and culture-negative (SPCN) cases. One takes place temporarily when patients are under healing process and another takes place for a long period of time. In the latter situation, probability of detecting live mycobacteria in the SPCN specimens seems to be high.

2. To detect live mycobacteria, we examined 27 specimens which had been designated as SPCN previously, and could recover colonies from 14 specimens. Ten strains of *M. tuberculosis* and 4 strains of *M. chelonae* were identified. We analyzed factors of false results of SPCN specimens in routine examination.

3. Nine out of 10 strains of *M. tuberculosis* were multi-drug resistant, and most of these strains were inhibited their growth on the media by added glycerol. Therefore we concluded that glycerol affected the proliferation of *M. tuberculosis* in SPCN specimens.

4. Moreover, treatment of specimens by NaOH also affected the growth of mycobacteria. The number of colony which we recovered, decreased dramatically after the treatment by 4% NaOH (*M. tuberculosis*) and by 1% NaOH (*M. chelonae*).

Key words: SPCN, Glycerol-sensitive mycobacteria, *Mycobacterium chelonae*, Isolation

キーワード: 塗抹陽性培養陰性, グリセリン感受性菌, *M. chelonae*, 分離培養

RFPを含む強力な化学療法の普及に伴い、これからは微量排菌を重視し、排菌の有無を明確にする必要がある。そのため質的、量的に適切な検体の採取と塗抹検査で菌検出が少ない場合には、諸外国で実施している遠心操作を行い、沈渣を培養する配慮が求められる。

しかし、検体のなかに塗抹陽性培養陰性 (Smear Positive and Culture Negative, SPCN) を示すものがある。その起因には、これまで、①鏡検の誤り、②培養手技の不備、③不活性菌、④死菌などの可能性^{1)~3)}が考えられてきた。このSPCNの出現は化学療

法との関連を認めるものも多いが、これには治癒過程に一時的に認めるものと、長期間にわたって検出されるものがある。後者については、前処理および培地の改善で分離培養の可能性が考えられる。そこでSPCNを示す喀痰の提供を受け、菌検出を試み、2菌種の生菌の関与を認めた。その背景要因について報告する。

方 法

SPCNを示す27検体について、塗抹検査後n-アセチル-L-システイン加1~2%水酸化ナトリウム (Na

表1 塗抹陽性培養陰性検体についての検査成績

| Sample | Smear Culture | | | Sample | Smear Culture | | | Sample | Smear Culture | | |
|---------------------------------|---------------|-------|------|--------------------|---------------|-------|------|--------|---------------|-------|------|
| | (Gaffky) | OGAWA | NGTP | | (Gaffky) | OGAWA | NGTP | | (Gaffky) | OGAWA | NGTP |
| 6 | 8—9 | ++ | ### | 30 | 3 | 2 | 1 | 1 | 3—4 | 0 | 0 |
| 7 | 7—8 | 8 | ### | 36 | 5—9 | 14 | 22 | 2 | 1 | 0 | 0 |
| 8 | 5—7 | 0 | ## | 45 | 3 | + | + | 3 | 2 | 0 | 0 |
| 18 | 2 | 2 | 18 | 47 | 3 | 1 | 1 | 4 | 4 | 0 | 0 |
| 20 | 4—6 | 6 | + | | | | | 5 | 0 | 0 | 0 |
| 31 | 6 | + | ### | | | | | 27 | 0 | 0 | 0 |
| 33 | 5 | + | ### | | | | | 28 | 2 | 0 | 0 |
| 35 | 3 | 1 | 6 | | | | | 29 | 0 | 0 | 0 |
| 42 | 2 | 5 | 42 | | | | | 32 | 6 | 0 | 0 |
| 51 | 6 | 2 | 60 | | | | | 34 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | | | | 43 | 3 | 0 | 0 |
| | | | | | | | | 46 | 3 | 0 | 0 |
| | | | | | | | | 54 | 4—7 | 0 | 0 |
| Species: <i>M. tuberculosis</i> | | | | <i>M. chelonae</i> | | | | | | | |

OH) を等量加えて前処理後、直ちに小川培地と Tween 80 加変法培地 (NGTP 培地) に培養した。この NGTP 培地は、劣勢発育結核菌あるいは牛型結核菌に適する培地としてさきにその組成⁴⁾を示した。前処理には、このほか、1% セシルピリジウム—2% 塩化ナトリウム液 (CPC)、スプートフルオール (SPTF, 関東化学) およびスプタザイム (SPT, 小林製薬) を用いて検討した。分離菌については、*in vitro* および *in vivo* の試験を行い、その性状を確認した。

成 績

同一患者から重複して検査したものを除いた 27 検体から、通常の結核菌と栄養要求を異にする結核菌 10 株と、*M. chelonae* 4 株を分離した。残り 13 検体は分離不能であった。結核菌および *M. chelonae* が分離された背景には、次の特異性が認められた。

A. 結核菌の場合

① 本菌を分離した検体の塗抹および培養所見は表 1 のとおりであり、グリセリンを炭素源とする小川培地には発育が抑制される結核菌である。本菌は小川培地からグリセリンを除いた培地に微細な発育を認め、これにピルビン酸ナトリウムあるいは Tween 80 を加えた培地では、それぞれ漸次良好な発育を認める。さらに両者を加えると、より良好な発育を認める結核菌である。

② グリセリンによる発育抑制は、菌株により多様化しており、表 1 に培養 10 週後の発育を示した。NGTP に極めて大菌量の発育を認めながら、小川培地にほとんど認めないものから、早期には発育抑制を受けるが、最終的に ++ の発育を認めるものがある。

③ 本菌は NGTP 培地に分離後、継代培養すると漸次小川培地にも発育し、ナイアシン陽性、硝酸塩還元反応陽性を示すようになる。

④ ガフキー 8 号の検体番号 7 の喀痰に、2% および 4% NaOH を等量加えて、前処理の影響を調べた。前処理 10 分および 60 分後に、それを直接、10 倍および 100 倍に希釈して、小川および NGTP 培地に培養し、3, 4, 6 および 10 週後の発育を表 2 に示した。NGTP 培地では培養 3 および 4 週に ## および ### の発育がすでに認められる。しかし、小川培地では 10 週後に数個の発育を認めたにすぎない。

前処理の影響を NGTP 培地発育菌についてみると、処理時間の長短よりも、NaOH 濃度の影響が大きい。すなわち、4% NaOH 処理後の発育は、2% NaOH 処理後 100 倍希釈して培養したものに相当し、4% NaOH 前処理は 2% 前処理の約 1/100 に減少することを認めた。

⑤ 本菌を排菌する患者からは、常にこの性状の菌のみが検出される。

⑥ INH のみに耐性を認める 1 株を除いて、INH, RFP, SM, EB および KM の多剤耐性が認められる。

⑦ マウス肺に無数の結核病変を作り、病原性を認める。

⑧ MPB 70 に対するモノクローナル抗体を用いた反応⁵⁾では、対照に用いた牛型結核菌 44 株中、1 株を除く 43 株が陽性を示したのに対し、本菌 7 株を含む結核菌 31 株、*M. africanum* 14 株および *M. microti* 8 株がすべて陰性であった。

従来、*M. africanum* および *M. microti* は結核菌と

表2 グリセリンで発育抑制を受ける結核菌の小川および
NGTP 培地上の発育と前処理による影響

Strain 7.

| Procedures Incubation (weeks) | | Dilution | | | | | |
|----------------------------------|----|----------|------|-------|------|-------|------|
| | | 1 × | | 10 × | | 100 × | |
| | | OGAWA | NGTP | OGAWA | NGTP | OGAWA | NGTP |
| 2% NaOH 10 min. | 3 | 0 | ## | 0 | + | 0 | 10 |
| | 4 | 0 | ### | 0 | + | 0 | 51 |
| | 6 | 0 | ### | 0 | + | 0 | 55 |
| | 10 | 4 | ### | 0 | ## | 0 | 55 |
| 2% NaOH 60 min. | 3 | 0 | ## | 0 | + | 0 | 13 |
| | 4 | 0 | ## | 0 | + | 0 | 50 |
| | 6 | 0 | ### | 0 | ## | 0 | 57 |
| | 10 | 8 | ### | 0 | ## | 0 | 57 |
| 4% NaOH 10 min. | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 4 | 0 | 47 | 0 | 7 | 0 | 0 |
| | 6 | 0 | 57 | 0 | 12 | 0 | 2 |
| | 10 | 0 | 62 | 0 | 12 | 0 | 3 |
| 4% NaOH 60 min. | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 4 | 0 | 18 | 0 | 2 | 0 | 0 |
| | 6 | 0 | 43 | 0 | 4 | 0 | 0 |
| | 10 | 0 | 46 | 0 | 4 | 0 | 1 |

牛型結核菌の中間型として知られてきた。この方法では、本菌はグリセリンで発育抑制を受けるが、牛型結核菌と異なり、結核菌と同じタイプに属している。

⑨ 本菌のほかに、かつて奄美大島の検診の際に、結核菌 248 株を分離し、9 株 (3.6%) が小川培地に劣勢発育を示していた。このうち、3 株が INH 耐性、残りが薬剤感性であった。分離時のグリセリン感受性は不明であるが、おそらくグリセリン発育抑制を受ける本菌と同じものと考えられる。

B. *M. chelonae* の場合

① 同一患者の代表検体番号 36 では、数検体の塗抹検査はガフキー 5~9 号を示し、常に多くの排菌を認めた。しかし、1% NaOH を等量加えた前処理では、いずれも分離不能であった。その後、同一検体を 0.2% NaOH を等量加える前処理では、*M. chelonae* を小川および NGTP 培地に小菌数を分離した。

M. chelonae および *M. fortuitum* の 1 mg/ml 培養菌液に 1% NaOH, CPC, 10 倍および 20 倍希釈 SPTF をそれぞれ等量加えて前処理を行い、1 時間放置後に、前処理の影響を調べた。その結果、CPC は両菌種に全く傷害を与えない。*M. fortuitum* は、1% NaOH, 10 倍および 20 倍希釈 SPTF の前処理で分離菌数がいずれも約 10/1 程度の減少にとどまっている。しかし、*M. chelonae* ではいずれも $1/10^4 \sim 1/10^5$ と著しい減少

を認めた。

SPT を用いた前処理法は、酵素によって容易に均等化された。しかし、培養前に 1% NaOH で酵素を不活化するため、NaOH に著しく感受性を示す本菌には不適であった。

したがって、本菌の前処理には、傷害を受けない酸と CPC で前処理し、NaOH で pH の修正を必要としない培地に培養するのが残された分離法と考える。

② 本菌の至適発育温度が約 30°C であることも、分離不能の一因に考えられる。

③ 本菌が分離された 4 検体に共通する塗抹所見として、単一菌は少なく、数個あるいは十数個の丸形の菌塊、あるいは 10^2 位の無定形の菌塊が認められる。

C. 培養陰性の 13 検体の場合

① SPCN といわれた検体であったが、塗抹陰性が 4 検体含まれていた。

② 2 検体を除く、7 検体が 1 回の検査であり、塗抹所見でガフキー号数の小さいものが多いため検査が十分でなかったが、前述の *M. chelonae* の可能性も考えられる。

考 察

喀痰を NaOH で前処理を行い、中和せずに小川培地に培養する方法⁶⁾ が確立してから、塗抹、培養の 2 本立

の検査が実施されている。培養法では生菌の存在が確認できるために、塗抹法に優ると思われているが、菌検出率からいえば、過去の切除肺あるいは喀痰内の成績は、常に塗抹法が優っている。これは塗抹法が検体中の生、死菌を含むものを観察するのに対し、培養法は前処理および培養の過程で傷害あるいは選択を受け、生き残った菌の観察であり両者を比較することは不自然である。そのため、前処理および培養を改善して、培養法の精度を高める必要がある。

結核菌は、通常培養3~4週後に検出されるが、なかには6、10週あるいはそれ以後に発育を認めることがある。これは前処理による傷害のほかに、培地の色調が淡黄色に呈する程度の劣勢発育菌である場合には、不適培地に起因することを考える必要がある。牛型結核菌の劣勢発育菌は、分裂増殖に脂肪酸が必要であるが、脂肪酸の存在するときに、添加するグリセリンの多寡により発育が阻止あるいは増大することを Schaefer⁷⁾ が認めている。

Tween 80 が抗酸菌の発育にとって良好な炭素源である報告は^{8)~10)} 多く、小川培地に Tween 80 を添加する試みは根本¹¹⁾ ら、平峰¹²⁾ および後藤¹³⁾ らによって、牛型結核菌、結核菌および *M. intracellulare* について、それぞれすぐれていることが報告されている。しかし、Tween 80 とグリセリンが存在する場合に、劣勢発育菌の発育が抑制される報告から、東村¹⁴⁾ は小川培地からグリセリンを除いて、Tween 80 のみを添加した培地で結核菌の分離を行い、すぐれた成績を得ている。

劣勢発育菌の発育に、グリセリンの存在が微妙に影響するこの問題は、正しくは、極めて劣勢発育株では抑制的に、多少良好な菌株では促進的に働くと考えすべきものとする。そこで、東村の培地にピルビン酸ナトリウムを添加した NGTP 培地を用いて、SPCN からの結核菌の検出を試み、好成绩を得たことはすでに述べたが、NaOH 前処理による傷害の大きいこととともに SPCN の起因になったものとする。

MPB 70 に対するモノクローナル抗体を用いた反応では、本菌は牛型結核菌と異なり、通常の結核菌および *M. africanum* と同じタイプに属して興味ある知見であった。

マウスに対して病原性を示す本菌は、多剤耐性を示し難治化が推察される。かつて、奄美大島の検診で3.6%の劣勢発育菌を分離したが、NGTP 培地の使用によってこの種の結核菌の検出はさらに高まるものとする。

一般に抗酸菌は、ほかの細菌にくらべ酸、アルカリによる傷害が少ないという認識から、検体の前処理に用いられてきた。しかし、これらに抵抗性を示す細菌の混入、あるいは均等化が不十分な場合には雑菌汚染を認めるために、不必要な濃度の NaOH を使用する結果を招いて

いる。通常の結核菌と異なり、グリセリンに発育抑制を受ける結核菌では、4% NaOH を等量加える前処理でその影響が著しく、配慮すべき点である。

検体番号 36 は、肺切除によって治癒した症例のものである。この *M. chelonae* は NaOH 前処理で著しい傷害を示すために SPCN の起因となった。東村¹⁵⁾ は、切除肺の乾酪病巣を小川培地に塗抹する方法で9症例から *M. chelonae* のみを分離した報告で、空洞のある割合に検出菌の少ないことを指摘している。

したがって、*M. chelonae* の分離には土井¹⁶⁾ らの考案した CPC とはく酸を含む前処理液を加えて、リン酸二水素ナトリウムを添加し緩衝作用を強化した小川培地に直接接種する方法が適していると考えられる。

結 論

1. SPCN には治癒過程に一時的に認めるものと、長期間にわたって検出されるものがあり、後者には生菌の可能性が高い。

2. SPCN といわれた 27 検体について、分離培養を試み、14 菌株の生菌の関与が明らかになった。そのうち 10 株が結核菌、4 株が *M. chelonae* であった。日常検査で SPCN とされる要因について検討した。

3. 培地内のグリセリンで発育が抑制された結核菌 10 株のうち 9 株が多剤耐性、1 株が INH のみに耐性であった。

4. また、水酸化ナトリウムの発育傷害は、結核菌では 4%、*N. chelonae* では 1% の濃度で著明に認められた。

文 献

- 1) 工藤祐是：喀痰における抗酸菌塗抹陽性培養陰性、結核、56：291~299, 1981.
- 2) 青柳昭雄：塗抹陽性培養陰性結核菌、結核、59：531~538, 1984.
- 3) 東村道雄：外山春雄：塗抹陽性培養陰性結核菌の成因および臨床的意義に関する研究、結核、59：451~459, 1984.
- 4) 工藤祐是、斎藤 肇、高橋 宏：微生物検査必携、第3版、P. F 90~133、日本公衆衛生協会、1987.
- 5) 芳賀伸治、高橋 宏、後藤義孝他：MPB 70 に対する単クローン抗体の作製とこれを利用した蛍光サンドイッチ ELISA による MPB 70 陽性菌株の同定とその意義、結核、64：277~278, 1989.
- 6) 小川辰次：結核菌の定量培養に関する研究、前処理と鶏卵培地中に混入された磷酸塩との関係、結核、24：403~409, 1949.
- 7) Schaefer, W. B. : Growth requirements of dysgonic and eugonic strains of *M. tuber-*

- culosis var bovis, M Exp Med, 96 : 207-219, 1952.
- 8) Dubos, R. J. and B. D. Davis. : Factors effecting the growth of tubercle bacilli in liquid media. J Exp Med, 83 : 409-423, 1946.
- 9) 南 一守, 山根 績, 安居千賀子 : 結核菌の代謝及び発育に対する Tween 80 の作用. I. 休止菌による Tween 80 の代謝について, 福島医学, 3 : 77~85, 1953.
- 10) 加藤睦子 : 牛型菌の発育に及ぼす 2, 3 の炭素源の影響, 結核, 47 : 443~448, 1972.
- 11) 根本 久, 岡 基, 横堀英夫 : 牛型結核菌の培地に関する研究補遺, 農林省家畜衛生試験場研究報告, 33 : 19~30, 1957.
- 12) 平峰 繁 : Tween 80 加卵培地による結核菌分離培養の成績, 衛生検査, 26 : 447~451, 1977.
- 13) 後藤義孝, 高橋 宏, 松矢徳太郎他 : M. intracellulare 感染症の実験的研究 (1) Tween 添加培地による発育促進と CF₁ マウスに対する病原性について, 結核, 57 : 519~524, 1982.
- 14) 束村道雄 : 喀痰から抗酸菌を分離するための新しい卵培地, 医学と生物学, 97 : 129~132, 1978.
- 15) 束村道雄 : Mycobacterium chelonae (borstelense 型) を切除肺病巣から分離した 9 症例, 医学と生物学, 85 : 193~196, 1972.
- 16) 土井教生, 黒田俊吉, 岡沢 豊 : 塩化セチルピリジニウム・コハク酸による前処理と変法小川培地を組み合わせた新しい抗酸菌分離培養法, 結核, 64 : 281, 1989.

2. 局所採痰による結核菌の検索

— 気管支鏡を用いた肺結核の診断法 —

長崎大学医学部第2内科 河野 茂

2. DIAGNOSTIC VALUE OF BRONCHOSCOPY IN DIAGNOSIS OF PULMONARY TUBERCULOSIS : BRONCHIAL ASPIRATE, BRONCHIAL WASHING AND TBLB

Shigeru KOHNO

(Second Department of Internal Medicine, Nagasaki University School of Medicine)

The diagnosis of pulmonary tuberculosis is confirmed by the detection of *Mycobacterium tuberculosis* in sputum. Bronchoscopy has been used for diagnosis of various pulmonary diseases. The value of bronchoscopy such as bronchial aspirate, bronchial washing and transbronchial lung biopsy in diagnosis of pulmonary tuberculosis was evaluated, and the results were as follows :

1. One hundred ninety cases were investigated bronchoscopically due to suspicion of pulmonary tuberculosis with sputum negative smear and 92 cases were confirmed to be pulmonary tuberculosis.

2. Out of 91 cases examined by bronchial aspirate and 46 cases by bronchial washing, smear positivity was 20.9% and 23.9%, and culture positivity was 58.2% and 84.8%, respectively. Transbronchial lung biopsy showed positive findings of tuberculosis in 75.8% out of 33 specimens.

3. Out of 88 sputa taken before bronchoscopy and 50 sputa after bronchoscopy, smear positivity was 0% and 12%, and culture positivity was 54.5% and 40% respectively. Gastric lavage culture positivity was 29.4% in 17 cases examined.

4. Diagnosis of tuberculosis was made most rapidly in 28 cases (30.4%) by smear positive results of bronchial aspirate, bronchial washing and sputa after bronchoscopy, and relatively rapidly in 20 cases (21.7%) by transbronchial lung biopsy.

Key words : Bronchial washing, Bronchial aspirate, TBLB, Rapid diagnosis

キーワード : 気管支洗浄, 気管内採痰, 経気管支的肺生検, 迅速診断

はじめに

活動性肺結核の確定診断は喀痰中の結核菌の証明によってなされるが、胸部レントゲンで肺結核を疑われ、喀痰や胃液の塗抹で陰性の場合、診断的治療が開始されたり、培養の結果が判明するまで経過を見るのが一般的な対処の仕方である。このような症例において気管支鏡を用い、経気管支的肺生検 (TBLB) や気管内採痰、気管支洗浄などにより肺結核の診断が報告されている。われわれも胸部レントゲンで肺結核を疑われ、喀痰の塗抹が陰性の患者において気管支鏡を用いて迅速診断を試みたので報告する。

対象および方法

対象症例は、昭和57年1月より平成元年2月まで長崎大学医学部第2内科、および昭和60年12月より昭和63年11月まで長崎市立病院成人病センターを受診し、胸部レントゲンで肺結核を疑われ、喀痰の結核菌の塗抹が陰性であった173例と喀痰の得られなかった17例の計190例であった。男性125人、女性65人で、平均年齢は46歳(11~85歳)であった。

TBLBは気管支鏡(オリンパス B3R)を病変部近傍に進め、透視下で組織を採取し、10%ホルマリンで固定後、ヘマトキシリンエオジンおよびチールニールセン染色をおこなない病理学的に観察した。気管内採痰は採痰用チューブを病巣部まで進め喫入し、気管支内痰を吸引した。気管支洗浄では気管支鏡を病巣部気管支に喫入し、滅菌生食20mlを注入後気管支洗浄液を吸引した。

表1 気管支鏡検査による結核菌の検出率

| | 気管内採痰 | 気管支洗浄 | TBLB |
|----|---------------|---------------|---------------|
| 塗抹 | 19/91 (20.9%) | 11/46 (23.9%) | — |
| 培養 | 53/91 (58.2%) | 39/46 (84.8%) | — |
| 組織 | | | 25/33 (75.8%) |

気管内採痰で得られた検体は喀痰溶解剤(スプタザイム<小林製薬>)で処理し、気管支洗浄液は遠沈後、沈渣に抗酸菌染色を施し塗抹検鏡し、その後小川培地で培養をおこなった。

成績

胸部レントゲンより肺結核の疑われた190例の対象症例のうち、最終的に結核菌の証明がされたり病理で結核の確定診断がついた症例は92例であった。うち気管内採痰がおこなわれた91例と気管支洗浄のおこなわれた46例における結核菌の検出率を比較した(表1)。塗抹陽性は気管内採痰20.9%、気管支洗浄23.9%であり、培養陽性はそれぞれ58.2%、84.8%であった。TBLBのおこなわれた33例では、75.8%に結核を示唆する所見がみられた。TBLBの所見を肉芽、壊死、抗酸菌の存在に分けて分類すると肉芽が最も多く60.6%に見られ、続いて壊死が33.4%、抗酸菌の存在が12.2%に見られた(表2)。

一般におこなわれる喀痰や胃液での結核菌の検査と比

表2 TBLBの病理所見

| | |
|-----------|---------------|
| 肉芽+壊死+抗酸菌 | 2/33 (6.1%) |
| 肉芽+壊死 | 4/33 (12.1%) |
| 肉芽 | 14/33 (42.4%) |
| 壊死+抗酸菌 | 2/33 (6.1%) |
| 壊死 | 3/33 (9.1%) |
| 計 | 25/33 (75.8%) |

表3 喀痰および胃液からの結核菌の検出率

| | 気管支鏡施行前 喀痰 | 気管支鏡施行翌日の 喀痰 | 胃液 |
|----|---------------|-----------------|--------------|
| 塗抹 | 0/88 (0%) | 6/50 (12%) | |
| 培養 | 48/88 (54.5%) | 20/50 (40%) | 5/17 (29.4%) |

表4 その検査法のみが結核菌陽性であった検体別の診断率

| | 気管内採痰 | 気管支洗浄 | 喀痰 | | 胃液 | TBLB |
|----|-------------|--------------|-------------|-----------|-------------|---------------|
| | | | 気管支鏡前 | 気管支鏡後 | | |
| 塗抹 | 2/91 (2.2%) | 0/46 (0%) | 0/88 (0%) | 1/50 (2%) | | |
| 培養 | 2/91 (2.2%) | 5/46 (10.9%) | 4/88 (4.5%) | 0/50 (0%) | 1/17 (5.9%) | |
| 組織 | | | | | | 11/33 (33.3%) |

較すると、塗抹陽性は気管支鏡の施行前の喀痰では88例中0例(0%)、気管支鏡の施行翌日の喀痰では50例中6例(12%)であった(表3)。培養陽性率は気管支鏡の施行前の喀痰で54.5%、気管支鏡の施行翌日の喀痰では40%、胃液で29.4%であった。

以上の検査法でその検査のみが結核の確定診断に有用であった検体別の陽性率の検討では、TBLBが33.3%と最も高く、次いで気管支洗浄の培養で10.9%、胃液培養で5.9%であった(表4)。

肺結核の確定診断がなされた診断の時間的推移を検討した(図)。92例中気管支鏡を用いた採痰や洗浄で塗抹陽性を示した症例は25例であり、気管支鏡施行翌日の喀痰の塗抹陽性は3例で、これら28例(30.4%)が迅速診断が可能であった。これらが陰性の症例で20例(21.7%)にTBLBで陽性所見が得られ、比較的早期のうち診断がなされた。

なお気管支鏡検査を施行された症例で肺結核の確定診断のなされた92例中2例において、検査施行後一過性の胸部レントゲンの悪化がみられたが、いずれもその後の経過は良好であった。1例は術者の不慣れのため気管支鏡の検査時間が長時間に及んだため、また他の1例は気管支鏡施行後に抗結核剤が投与されなかったためと考えられた。

考 察

胸部レントゲンより活動性肺結核が疑われ、喀痰が得られないか、喀痰の塗抹が陰性の場合、肺癌や肺炎などの鑑別診断ばかりでなく治療法の決定も問題となる。

短期強化療法が一般的治療法である今日、肺結核の迅速診断がいかほど重要であるか議論の残るところであるが、immunocompromised hostにおいて迅速診断が重要であることは異論のないところである。

気管支鏡による検査法は迅速診断法としてばかりでなく、確定診断法としても意義のある検査法である。われわれの検討では、胸部レントゲンで肺結核が疑われ喀痰が得られないか、喀痰の塗抹が陰性の190例中92例で肺結核が確定した。これら肺結核の確定した症例の気管内採痰や気管支洗浄では塗抹陽性が約20%に見られ、培養では前者で58%、後者で85%と極めて高い陽性率が得られ、確定診断法として気管支洗浄が極めて優れた方法であることが示唆された。

また、TBLBでは病理学的に肉芽や壊死さらには抗酸菌の存在により75%で診断が可能であり、早期の診断法としてきわめて優れていた。また、気管支鏡の施行翌日の喀痰は塗抹で12%が陽性となり迅速診断のため無視できない検体と思われた。

すでに報告された成績による文献的考察では、Kvaleらの57例の活動性肺結核の気管支洗浄で18例(32%)しか結核菌の培養が陽性とならず、気管支洗浄法にやや懐疑的な報告がなされた¹⁾。その原因として抗結核剤の投与とリドカインの結核菌に対する抗菌作用のためと考えられた²⁾。

一方Sarkarらは、18例の気管内採痰で12例(66.6%)、12例の気管支洗浄で8例(66.6%)、30例の気管支鏡検査後の喀痰で22例(73.3%)ときわめて高率の塗抹陽性の成績を報告した³⁾。

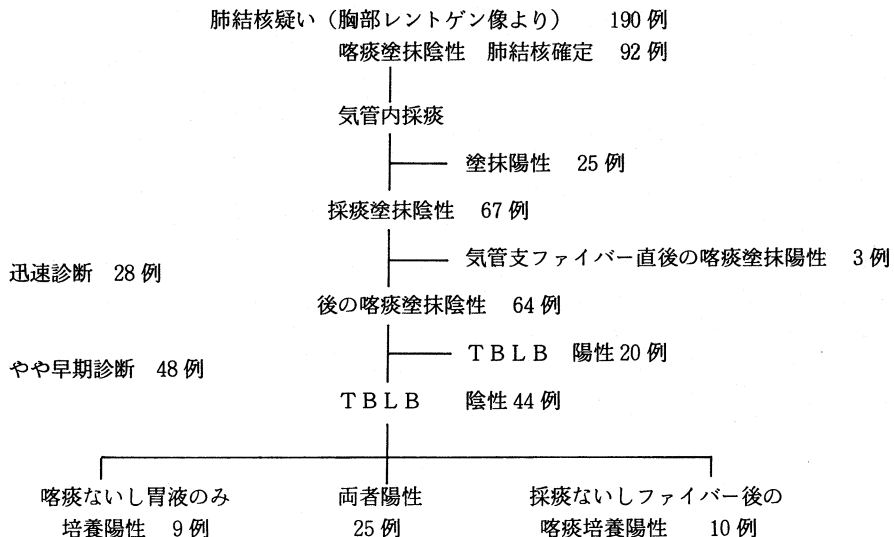


図 気管支鏡により肺結核の確定した症例の診断チャート

Wallace らは胸部レントゲン像より活動性肺結核が疑われ、喀痰の塗抹が陰性か喀痰の得られない 56 例において気管支鏡を施行し、22 例 (39%) の肺結核の確定診断例を報告した⁴⁾。塗抹陽性は気管支洗浄で 13% (3/23), 気管支ブラシで 9% (1/11), 気管支鏡後の喀痰で 9% (2/23) であり、培養陽性は気管支洗浄で 4% (1/23), 気管支鏡の施行前の喀痰で 67% (14/21), 後の喀痰で 35% (8/23) であり、気管支洗浄の培養成績を除いてわれわれの成績と類似していた。また、TBLB で肉芽や壊死、抗酸菌など結核を示唆する所見が 23 例中 10 例 (43.5%) に認められ、迅速診断法として最も優れていた。

de Gracia らは 222 例の肺結核疑いの患者において気管支肺胞洗浄と気管支洗浄を行い、肺結核の確定診断のついた 17 例中、前者で 15 例 (88%), 後者で 9 例 (53%) が診断された⁵⁾。

このように診断率は検査法や報告者によりばらつきはあるものの、気管支鏡検査が有用であることは大多数の報告者の一致するところである。

われわれの症例を診断のなされた時間的推移に従ってまとめた図 (前頁) によると気管支鏡検査による検体の塗抹で 27.1% (25/92) が迅速診断され、さらに 21.7% (20/92) が TBLB でやはり早期のうちに診断されており、神田らの報告と一致した⁶⁾。

なお、気管支鏡検査の副作用として肺結核の悪化に関して、われわれは 190 例中 2 例に悪化をみたが、渡辺らは気管支鏡の施行直後より抗生剤や症例に応じ抗結核剤を開始したため 145 例でまったく悪化を認めなかった⁷⁾。一方坂谷らは、活動性肺結核の 49 例中 5 例の 10.2% と高率に発熱や胸部陰影の悪化を認めた⁸⁾。その後、抗結核剤の予防投与をおこない良好な結果を報告している。

ま と め

1. 胸部レントゲンで肺結核が疑われ、喀痰が得られないか、喀痰の塗抹が陰性の 190 例の患者で気管支鏡による検索をおこない、92 例で結核の確定診断が得られた。

2. 気管内採痰が 91 例、気管支洗浄が 46 例でおこなわれ、塗抹陽性はそれぞれ 20.9%, 23.9% であり、培養陽性は 58.2% と 84.8% であった。TBLB は 33 例におこなわれ 75.8% に結核を示唆する所見が得られた。

3. 気管支鏡の施行前と翌日の喀痰はそれぞれ 88 例、50 例で検討され、塗抹陽性は 0% と 12% であり、培養陽性は 54.5% と 40% であった。胃液培養は 17 例でおこなわれ、29.4% の陽性率であった。

4. 結核の確定診断の時間的推移の検討では、気管内採痰や気管支洗浄および気管支鏡の施行翌日の喀痰の塗抹で 28 例 (30.4%) が迅速診断され、さらに TBLB で 20 例 (21.7%) が比較的早期に診断された。

文 献

- 1) Kvale, P. A., Johnson, M. C. and Wroblewski, D. A. : Diagnosis of tuberculosis : routine cultures of bronchial washings are not indicated, *Chest*, 76 : 140-142, 1979.
- 2) Schmidt, R. M. and Rosenkranz, H. S. : Antimicrobial activity of local anesthetics : lidocaine and procaine, *J Infect Dis*, 121 : 597-607, 1970.
- 3) Sarkar, S. K., Sharma, G. S., Gupta, P. R. et al. : Fiberoptic bronchoscopy in the diagnosis of pulmonary tuberculosis, *Tubercle*, 61 : 97-99, 1980.
- 4) Wallace, J. M., Deutsch, A. L., Harrell, J. H. et al. : Bronchoscopy and transbronchial biopsy in evaluation of patients with suspected active tuberculosis, *Am J Med*, 70 : 1189-1194, 1981.
- 5) de Gracia, J., Curull, V., Vidal, R. et al. : Diagnostic value of bronchoalveolar lavage in suspected pulmonary tuberculosis, *Chest*, 93 : 329-332, 1988.
- 6) 神田哲朗, 河野謙治, 岡三喜男他 : 肺感染症に対する TBLB の適応と限界, *気管支学*, 7 : 431-439, 1985.
- 7) 渡辺講一, 井上祐一, 下田照文他 : 肺結核における気管内採痰法および気管支洗浄法の有用性の検討, *結核* (投稿中)
- 8) 坂谷光則, 荒井六郎, 河原正明他 : 肺結核悪化因子としての気管支内視鏡検査および対策, *結核*, 63 : 773-777, 1988.

3. 経気管支肺生検と気管支肺胞洗浄の意義

日本大学医学部第1内科 萩原 照久

3. DIAGNOSTIC USEFULLNESS OF THE BRONCHOSCOPY FOR PULMONARY TUBERCULOSIS

Teruhisa HAGIWARA

(First Internal Medicine, Nihon University School of Medicine)

We have experienced 83 patients with pulmonary tuberculosis in last 22 months. A rapid diagnosis of pulmonary tuberculosis was established in 14 (16.9%) out of 83 patients by bronchoscopic examinations. Out of 30 bronchoscopic examinations, exacerbation of the chest X ray findings was seen in 4 patients, however there was no significant unfavourable effects on the results of treatment.

A survey on the use of bronchoscopy for diagnosing pulmonary tuberculosis was undertaken through a questionnaire distributed to about 90 hospitals in Japan. Only a few exacerbation was experienced by TBLB, BAL etc in some hospitals.

Above results suggests that bronchoscopy is a useful procedure for the rapid diagnosis of pulmonary tuberculosis.

Key words : Bronchoscopy, Pulmonary tuberculosis, TBLB, Bronchial lavage, Exacerbation

キーワード : 気管支鏡検査, 肺結核, 経気管支肺生検, 気管支洗浄, 悪化

はじめに

肺結核症の診断は検痰等で細菌学的に容易に確定する例も少なくないが、中には悪性腫瘍との鑑別が困難な例もあり、また結果的に治療診断によらざるを得ない例も少なからず経験する。最近では易感染性宿主の結核症の発症もしばしば経験するわけであり、特にこのような例では早急の確定診断が要求されることになる。

今回、肺結核症の診断における気管支鏡検査の有用性を検討するとともに、肺結核症例における気管支鏡検査の問題点についても検討したので報告する。また肺結核症に対する気管支鏡検査の適応等に関しての一般的見解の確認を目的としてアンケート調査を行い、69施設から回答を頂けたので、その結果の一部について簡単にまとめておくことにする。

対象および方法

1. 昭和62年1月から63年10月までの22カ月間に当院結核病棟に結核症または非定型抗酸菌症として1カ

月以上入院し、結核症と確定した男性61例女性22例、計83例における最も早期の確定診断法を検討した。このうち気管支鏡検査で確定した例の検体採取方法別の菌検出率を検討した。またこの83例中、気管支鏡検査を施行した例の問題点について検討した。

2. 昭和53年1月から昭和63年12月までの11年間に施行した経気管支肺生検(TBLB)390例のうち、粟粒結核を疑って施行した13例の組織学的診断率について

表1 結核症と確定した検体の種類別頻度(計83例)

| 細菌学的検査 (80) | | |
|-------------|----|-------------|
| 喀痰 | 61 | 耳漏 (塗抹) 2 |
| 塗抹陽性 | 47 | 膿汁 (") 1 |
| 培養のみ陽性 | 14 | 関節液 (") 1 |
| 気管支鏡検体 | 13 | 胃液 (培養) 1 |
| | | 胸水 (") 1 |
| 組織学的検査 (4) | | |
| TBLB | 2 | リンパ節生検 2 |

表2 気管支鏡検査による検体別の菌陽性例数(計13例)

| 塗抹検体 | 塗抹培養検体 |
|-----------|----------------|
| キュレットージ 4 | 気管支洗浄(BL) 9 |
| ブラッシング 1 | 塗抹 7 |
| | 培養のみ 2 |
| | 気管支肺胞洗浄(BAL) 2 |
| | 塗抹 1 |
| | 培養のみ 1 |

て検討した。

3. 肺結核症の診断を目的として行う気管支鏡検査の適応、有用性の判断等について、アンケート調査を行い、頂いた回答を元にして、現状の解析を試みた。

結 果

1-(1) 入院加療83例のうち、初診時の胸部X線上明らかな病変を認めたのはリンパ節結核2例、中耳結核1例、気管支結核1例、を除いた79例であり、その学会分類別の頻度は、I型4例、II型48例、III型27例である。

これら83例における最も早期の確定診断方法を、細菌学的検査と組織学的検査とにわけて検討した(表1)。上段は細菌学的検査で確定した計80例とその内訳、下段は組織学的検査で確定した4例とその内訳を示した。検痰で塗抹、培養のいずれかが菌陽性のものが、全入院例83例中61例、73.5%を占めていた。また気管支鏡検査で得た検体で細菌学的に確定したのは、83例中13例、15.7%であった。その他、耳漏、膿汁、関節液、胃液、胸水等の細菌学的検査で確定した例がある。また組織学的に確定したのは計4例で、TBLBで2例、リンパ節生検で2例であり、TBLBで確定した1例は細菌学的検査で確定した1例と重複している。

以上のように、83例中、気管支鏡検査で得た検体で初めて本症と確定したのは14例で、83例中の16.9%を占めていた。

次に気管支鏡検査で抗酸菌を証明した13例の採取検体別の陽性例数を検討した。末梢擦過法であるキュレットージやブラッシングは原則として塗抹検体のみ、気管支洗浄(以下BL)、気管支肺胞洗浄(以下BAL)では塗抹培養を行っている。なお当科では明らかに肺結核症が疑われる場合にはBALは積極的には行っておらず、今回のBALは他疾患との鑑別が必要であった、びまん性粒状影を呈した2例のみに行ったものである。胸部X線上の異常影の存在部位等により、アプローチの方法が異なってくるので、すべての症例で同一採取方法による

表3 気管支鏡検査施行後の問題例

| 気管支鏡施行例数 (気管支鏡検査で結核症と確定した例) | 30 (14) |
|--|------------|
| 胸水貯留例で大量の膿汁を喀出した例 $rpl \rightarrow rII_2 rpl$ | 1 |
| 胸部異常影の増悪した例 $rIII_1 \rightarrow rII_2$ | 1 |
| 胸水貯留をきたした例 $rII_1 \rightarrow rII_1 rpl$ $bIII_3 \rightarrow bIII_3 rpl$ | 2 |

検体が得られるわけではなく、ここでは菌陽性を証明した症例の実数を採取方法別に示した(表2)。また同一症例で複数の検体採取を行うので、重複している例も含まれている。このうちBLは計11例で行われているが、そのうち9例81.8%で菌陽性を証明しており、その細菌学的確定率が高いことが指摘できよう。またキュレットージを6例に行い、4例で菌陽性を確定している。

前述のように、気管支鏡検査で得た検体で初めて本症と確定したのは14例で、このうち4例は1度も喀痰検査で菌を証明しておらず、本検査でのみ菌陽性所見を得ている。

1-(2) 今回対象とした83例のうち気管支鏡検査施行例中の問題例を検討した(表3)。

気管支鏡施行前の検痰の結果にかかわらず気管支鏡検査を施行したのは、83例中30例で、前述のように、うち14例は気管支鏡検査で初めて結核症と確定した例である。下段に気管支鏡検査後に問題の起こった例を取り上げた。

第1例は初診時に右大量胸水貯留を認めた例である。気管支鏡検査で可視範囲の生検およびブラッシングを行い、Gaffky1号を認めたが、3日後に約1,000mlの膿汁を喀出したもので、気管支胸腔瘻を形成したものとと思われる。

第2例は右上葉に異常陰影を認めた例である。当初 $rIII_1$ と考えられ、キュレットージでGaffky10号を認めたが、10日後の胸部X線で rII_2 となり、入院加療となった。

第3例は、右上葉に空洞を有する腫瘤状影を認めた例である。キュレットージを施行したところ、約2週間後に胸水貯留を来し、 $rII_1 rpl$ となった例である。

第4例は、粟粒結核治療開始後に気管支結核が出現した例である。その経過観察過程の数回目の気管支鏡検査後に、胸水貯留を来した例である。

今回の対象症例では全気管支鏡検査施行30例のうち4例、13.3%に胸部X線上の増悪を認めたことになるが、粟粒結核の1例を除いては3例とも約3カ月で退院

となっている。

2. 治療開始後の経過も含め、最終的に肺野病変を有する粟粒結核と診断した例の、TBLBによる組織学的診断率を検討したところ、13例中9例69.2%で結核性肉芽腫が認められており、結核症と確定されている。

3. 次に、アンケート調査の結果をまとめておくことにする。

1) 結核症の診断を目的とした気管支鏡の適応に関する質問の結果をまとめると、1. 肺結核およびその疑いの全例に気管支鏡検査を施行することには反対であるが、喀痰検査等で診断が確定できなければ適応となる、2. 悪性腫瘍合併の疑い、孤立性病変やびまん性病変の確定を目的とした検査も適応である、となる。

2) 肺結核症における気管支鏡検査の有用性に関する質問で、初回治療例の何%が気管支鏡検査で診断を確定されているかについてのお答えはさまざまであったが、回答のあった40施設の70%にあたる28施設では、1%ないし20%未満という結果であった。

3) 排菌陽性患者に対して気管支鏡検査を行ったことがあるかどうかについては、52施設、75.4%で経験

があるとされている。

4) 気管支鏡検査で結核症を増悪させた経験があるかどうかについての質問では、20施設で何らかの経験をされており、TBLBで9例、気管支洗浄で8例、BALで6例、末梢擦過で5例、直視下生検3例で気管支鏡検査後に増悪が認められている。

5) 気管支鏡検査による結核性病変の増悪の予防に何か対処しているかどうかについての質問では、20施設では検痰で菌陽性ならば気管支鏡検査はやらない、またBALやBLはやらない、やっても洗浄液が病巣から流れ出さないように注意する、局所に薬剤を注入する、気管支鏡検査前に抗結核薬あるいはそれに匹敵する薬剤をあらかじめ、あるいは検査直後に投与する、などの工夫がおこなわれている。

おわりに

肺結核症の早期の確定診断に気管支鏡検査が有用であることは疑いのないことであるが、その施行にあたっては細心の注意が必要である。自験例、アンケート調査の結果の詳細を本紙に投稿予定である。(文献省略)

4. 結核症の迅速診断における Tuberculostearic Acid (TSA) 検出意義の基礎的、臨床的検討

九州大学医学部附属胸部疾患研究施設 村西寿一・中島道夫
安藤恒二・重松信昭
九州大学薬学部 磯部隆一

4. BASIC AND CLINICAL EVALUATION OF RAPID DIAGNOSIS OF TUBERCULOSIS BY DETECTING TUBERCULOSTEARIC ACID

Hisakazu MURANISHI, Michio NAKASHIMA,
Tsuneji ANDO, Nobuaki SHIGEMATSU

(Research Institute for Diseases of the Chest, Faculty of Medicine, Kyushu University)

Ryuichi ISOBE

(Faculty of Tharmoceutical Sciences, Kyushu University)

Tuberculostearic acid (TSA) is known to be one of the characteristic lipid in the limited species of the order *ACTINOMYCETALE*, including *Mycobacterium tuberculosis*. We studied the significance of detecting TSA in the diagnosis of tuberculosis from clinical specimens collected from 791 patients with various respiratory diseases by using gas-chromatography/mass-spectrometry. By our method, the detectable limit of TSA was around 10^2 – 10^3 bacilli of *Mycobacterium tuberculosis*, and our method is as sensitive as culture examination for tuberculosis. In sputa collected from patients with active

pulmonary tuberculosis (n=169), TSA positivity was around 90%, while less than 10% false positive was also recognized. In pleural effusion (n=81) and bronchial washing (n=91) collected from patients with active tuberculosis, the positivity of TSA was around 70%. We could also detect TSA in about 30% of clinical specimens collected from patients suspected of tuberculosis. The diagnostic sensitivity of TSA for tuberculosis was similar to that of adenosine deaminase activity (ADA), while TSA was slightly superior to ADA in specificity.

These findings indicate that detection of TSA from clinical specimens is useful to make rapid diagnosis of pulmonary tuberculosis.

Key words : Tuberculostearic acid, Pulmonary tuberculosis, Gas-chromatography/mass-spectrometry, Selected ion monitoring

キーワード : ツベルクステアリン酸, 肺結核症, ガスクロマトグラフィー/質量分析法, セレクトドイオンモニタリング

はじめに

TSAは結核菌の脂質成分の1つとして、1929年、Andersonらにより分離同定された分子量298 (C₁₉H₃₈O₂)の側鎖飽和脂肪酸(10-methyloctadecanoic acid)である¹⁾。その後の研究でTSAはACTINOMYCETALE目の一部の菌種に特異的な脂肪酸であることが判明している²⁾。非定型抗酸菌やノカルジアにも含まれるため、それらの菌種との鑑別は不可能であるが、その発症頻度を考慮すると、TSAの検出は臨床的には結核症の診断に有用と考えられる。1979年、Larssonらは喀痰の5日間培養検体中よりGas-Chromatography/Mass-Spectrometry (GC/MS)を用いてTSAを検出し、肺結核症の迅速診断法としての有用性を初めて提唱した²⁾。1987年にはFrenchらが多数の肺結核症患者、および結核性髄膜炎患者についてTSA検出を試み、その有用性を確認している³⁾⁴⁾。われわれもLarssonらの方法に準じて検討を始め、その有用性を認めたため⁵⁾、さらに培養過程を経ず検体からの直接検出を試みるとともに、検出方法の一部にも工夫を加え、より迅速化を図ってみた。また、臨床検体についても喀痰のみならず、胸水や気管支洗浄液等まで範囲を広げ応用してみた⁶⁾。

材料および方法

基礎的検討では結核菌H37RV株を用いて単個菌原液を作成し、倍数希釈列を作ってコロニー形成法にて菌数を算定するとともに、各菌数でのTSA量を測定し本法でのTSAの検出限界を検討した。また、結核菌をDubos液体培地で培養し、菌の増殖に伴うTSA量の変化や抗結核剤の投与に伴うTSA量の変動、菌体外へのTSAの漏出の程度等についても検討した。

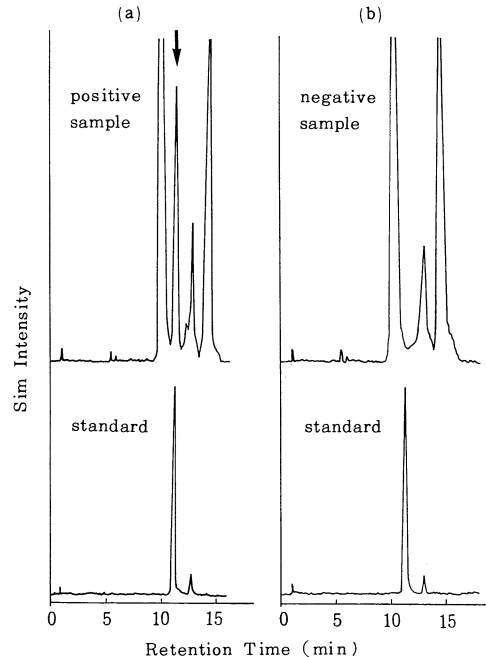


図1

表1

| 疾患群 | 塗抹 | 培養 | 患者数 | TSA (+) (-) | 陽性率 |
|---------|-----|-----|-----|-------------|------|
| 活動性肺結核症 | (+) | (+) | 58 | 58 0 | 100% |
| | (+) | (-) | 4 | 4 0 | 100 |
| | (-) | (+) | 50 | 46 4 | 92 |
| | (-) | (-) | 59 | 46 13 | 78 |
| | 計 | | 171 | 154 17 | 90% |
| 陳旧性肺結核症 | (-) | (-) | 55 | 5 50 | 9.1% |
| 他疾患 | (-) | (-) | 167 | 15 152 | 9.0% |

表2

| 疾患群 | 塗抹 | 培養 | 生検 | 胸 水 | | 気管支洗浄液 | |
|------------|-----|-----|-----|-------------|-----|-------------|------|
| | | | | TSA (+) (-) | 陽性率 | TSA (+) (-) | 陽性率 |
| 活動性 結核症 | (+) | (+) | - | 3 | 0 | 100% | 100% |
| | (-) | (+) | - | 5 | 0 | 100 | 88 |
| | (-) | (-) | (+) | 16 | 9 | 64 | - |
| | (-) | (-) | - | - | - | - | 55 |
| | 計 | | | 24 | 9 | 73% | 70% |
| 他疾患 | (-) | (-) | - | 4 | 44 | 8.7% | 2.8% |

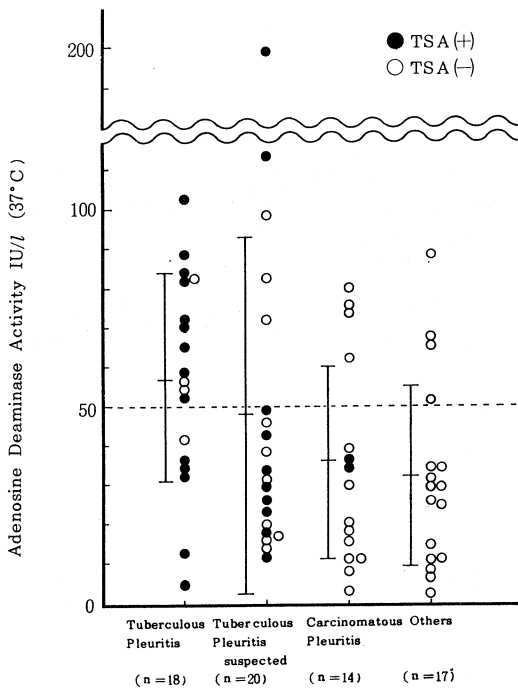


図2

臨床的検討では肺結核症の患者を始めとする種々の呼吸器疾患患者（延べ791名）より採取した喀痰、胸水、気管支洗浄液を用いてTSAの検出を試みた。また、そのうち胸膜炎の69例については、胸水中のTSAとともにAdenosine deaminase activity (ADA)も測定し、両者を比較検討してみた。この場合、結核性胸膜炎に対するADAのcut-off pointは50 IU/l (37°C)とした⁷⁾。

TSAの検出にはEMD-05A（電子科学）、およびJMS-DX 300（島津製作所）の2機種GC/MSを使用した。検出方法の概略は、検体（1~5 ml）に5 N 水酸化ナトリウムを等量加え、オートクレーブにて加熱、

加圧滅菌後、1 ml、2 N 硫酸銅で脂肪酸を分離し、濃塩酸にて酸性化した。クロロホルムで抽出してN₂ガスにて乾固後、3%塩酸メタノールにて80°C、12時間かけてメチルエステル化し、薄層クロマトグラフィー上にヘキサン/エタノール（9/1 vol/vol）で展開した。標品との対応から相当部分をかきとり、酢酸エチルで抽出後、ヘキサンにて適度に希釈し、その1-2 μlをGC/MSに注入してSelected Ion Monitoring (SIM)の手法でTSAを検出した。本法による回収率は約30%で、再現性も良好で、検出は2日以内で可能であった。

結 果

標準株結核菌（H37RV）による基礎的検討から、本法によるTSA検出限界は菌数にして10²-10³程度と考えられた。また、Dubos液体培地による培養実験から、TSA量は培養日数とともに指数関数的に増加していくが、0.2 μのフィルターを通した菌液上清中のTSA量の増加はあまり大きくなく、TSAの菌体外への積極的な分泌は否定的と考えられた。一方、streptomycinを投与すると菌液上清中のTSA量は著明に増加し、溶菌に伴うTSAの菌体外への漏出が推定された。

結核菌培養検査陽性患者31名の喀痰での検討では、塗抹検査におけるGaffky号数とTSA量との間に良好な相関関係が認められた。ここでGaffky 0号、すなわち塗抹検査陰性の喀痰検体からも本法によりTSAを検出し得ることが確認された。喀痰検査でのGC/MSによるTSA検出の実例を図1に示す。TSA陽性例では標品のピークと同じretention time（約11分）の時点でTSAのピークが検出されるが、陰性例ではピークは検出されない。

臨床的検討では喀痰検体の場合、表1に示すように活動性肺結核症患者（n=169）の90%でTSAは陽性であった。また陳旧性肺結核症患者（n=55）では9.1%、他疾患患者（n=167）でも9.0%がTSA陽性であった。塗抹検査陽性例では100%TSAが陽性であったが、培

養検査のみ陽性例では92%がTSA陽性であった。胸水検体(n=81)および気管支洗浄液検体(n=91)の場合は、表2に示すように活動性結核症確定例ではそれぞれ73%、70%でTSA陽性であったが、他疾患との判定例でもそれぞれ8.7%、2.8%のTSA陽性例があった。塗抹・培養・生検のいずれも陰性であるが臨床的に活動性結核症が強く疑われる症例についても検討してみたが、30%程度がTSA陽性を示し、そのうちの抗結核剤投与例については約70%が良好な反応を示し、治療的診断に至っている。胸水中TSAとADAとの比較検討では、図2に示すように、結核性胸膜炎(確定例)ではTSA、ADA共に70%程度の陽性率で、両者間に有意差は認められなかった。一方、他疾患に伴う胸膜炎例の胸水中TSAとADAでも6.5%、19%と若干の偽陽性例が認められたが、特異性の点ではTSAの方が若干優れていると考えられた。

考 案

Frenchらは多数の肺結核症患者の喀痰について検討し、本法の検出感度が塗抹検査のそれよりは優れているが、培養検査よりは若干劣ると結論づけている³⁾。われわれも多数の結核症患者について、その経過を追いつつ検討した結果、培養検査陰性例でもTSAが検出される症例を認めた⁵⁾⁶⁾。Dubos液体培地による培養実験ではTSAが積極的に菌体外に分泌されているとはいえないが、菌体外への漏出も少なからず認められた⁶⁾。治療的診断に至った症例のなかにもTSA陽性例が存在していた点なども考慮すると、本法は必ずしも培養検査より感度が劣るとはいえないようである。本報告では数%の偽陽性が認められているが、これはFrenchらの報告例よりはやや高い。彼らはこの偽陽性の原因の1つに抗生物質、特にamikacinの使用との関連を考察している⁴⁾。われわれもamikacinについては検討してみたが、偽陽性の原因とは考えられず、その原因についてはさらに検討が必要と考えられた。

本法は比較的高価なGC/MSを使用する点、多数の検体の同時測定が不可能な点などの欠点もあるが、比較的特異的な抗原分析法の1つでもある点、機器とスタッ

フが整えば1~2日でも検出可能という迅速性を考慮し、症例を絞り適用すれば、肺結核症の迅速診断法としての意義は大きいと考えられる。

文 献

- 1) Anderson, R. J., Chargaff, E. : The chemistry of the lipids of tuberculi. 6. Concerning tuberculostearic acid and phthioic acid from the acetonesoluble fat, *J Biol Chem*, 85 : 77, 1929.
- 2) Odham, G., Larsson, L., Mardh, P-A. : Demonstration of tuberculostearic acid in sputum from patients with pulmonary tuberculosis by selected ion monitoring, *J Clin Invest*, 63 : 813, 1979.
- 3) French, G. L., Chan, C. Y. et al. : Diagnosis of pulmonary tuberculosis by detection of tuberculostearic acid in sputum by using gas chromatography-mass spectrometry with selected ion monitoring, *J Infec Dis*, 156 : 356, 1987.
- 4) French, G. L., Teoh, R. et al. : Diagnosis of tuberculous meningitis by detection of tuberculostearic acid in cerebrospinal fluids, *Lancet* Jul, 18 : 117, 1987.
- 5) 村西寿一, 中島道夫他 : ガスクロマトグラフィー/質量分析装置を用いたツベルクロスチアリン酸検出による肺結核症の迅速診断, *結核*, 62 : 627, 1987.
- 6) Muranishi, H., Nakashima, M. et al. : Measurement of tuberculostearic acid in sputa, pleural effusions, and bronchial washings : A clinical evaluation for diagnosis of pulmonary tuberculosis, *Diagn Microbiol Infect Dis*. (submit)
- 7) 林隆司郎, 石原陽子他 : 胸水中 Adenosine deaminase (ADA) 活性値の測定—癌性胸膜炎と結核性胸膜炎を中心として—, *日胸疾会誌*, 19 : 35, 1981.

5. PPDを抗原としたELISA法による血清診断

琉球大学第1内科 草野展周

5. THE SERODIAGNOSIS OF TUBERCULOSIS BY ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY WITH TUBERCULIN PURIFIED PROTEIN DERIVATIVE

Nobuchika KUSANO

(Department of First Internal Medicine, School of Medicine, University of the Ryukyus)

Tuberculin purified protein derivative (PPD) is a relatively crude antigen prepared from *Mycobacterium tuberculosis* and has species nonspecificity in immunological reaction. It is, however, more readily available than more highly purified materials. Therefore, the detection of IgG antibody to PPD was done by enzymed-linked immunosorbent assay (ELISA) and its diagnostic usefulness was evaluated in this study. The patients with active tuberculosis had significantly high titer of IgG antibody to PPD compared with healthy persons and the patients without tuberculosis ($P < 0.001$). An upper limit of normal set (=cut-off titer) at 2 standard deviations above mean of logarithmic titers in 220 healthy adult subjects would result in positive test reactions on the sera from 78 of 100 patients with active tuberculosis. Although 8 of 39 with atypical mycobacteriosis would be positive, 6 of 7 were distinguished almost with tuberculosis by detecting antibodies to PPD from *M. intracellulare* and *M. kansasii* concurrently. The antibody titer increased after chemotherapy would be gradually reduced under the cut-off titer when culture of mycobacteria turned to negative and markers of inflammation became negative. In false-negative cases, 4 were patients with hypo-gammaglobulinemia, 6 were with fresh tuberculosis before chemotherapy, 2 were with negative CRP in all clinical course and 4 were with bacilli needed over 7 weeks culture. From these results, this assay is helpful in the diagnosis of tuberculosis and a useful marker for judgment of clinical improvement, although detection of antibody has its limitations.

Key words : Tuberculosis, Serodiagnosis, PPD, ELISA

キーワード : 結核, 血清診断, PPD, ELISA

緒 言

結核ではその治癒機転に細胞性免疫が主に作用しているが、結核菌に対する抗体の存在も早くから認められており、血清診断は迅速診断として古くから試みられ、種々の検討がなされてきた¹⁾。結核の血清診断の検討については、すでに第62回本学会総会にて精製ツベルクリン(PPD)と α 抗原に対する血中抗体価測定の有用性について報告した。これらの抗体価は活動性肺結核患者において有意に高い抗体価を示し、2種の抗原に対する抗体価を同時に測定することで陽性率は高くなり、診断的価値がよりいっそう高いものとなった²⁾。

今回は入手が容易な抗原であるPPDに対する抗体価についてその後の追加データや検討を含め、結核における血清診断の臨床的意義とその問題点について検討した。

対象および方法

1. 対象血清

活動性結核患者100名と非活動性結核患者40名の結核群140名、非定型抗酸菌症の患者39名、Patient control群として呼吸器疾患を中心とした結核以外の患

者120名、陰性コントロールとして結核の明らかな既往がない健康成人220名と健康小児113名の血清を対象とした。

2. 抗体価測定方法

1) 特異的IgG抗体の測定方法

96穴マイクロタイタープレートを用いたELISA間接法にて行い、抗原とした*M. tuberculosis*の精製ツベルクリンは青山B株から精製された日本BCG社製のものを使用し、*M. intracellulare*と*M. kansasii*のPPDは広島大学細菌学教室の田坂博信博士から分与して頂いたものを使用した。標識抗体は抗ヒトIgGアルカリホスファターゼ標識抗体(ヤギ)を使用した。また、基質としてはフェニルリン酸-4-アミノアンチピリン、発色剤としては過ヨウ素酸ナトリウム溶液を使用し、490nmにおける吸光度を測定した²⁾。

2) 抗体価の算出方法

基準とする陽性患者血清の抗体価を終末点法で算出しておき、その血清でマイクロプレート毎に検量線を描き、その検量線により一定希釈した被検血清の抗体価を算出した。一方、3種のPPDに対する抗体価は陰性コントロールとした健常人のプール血清のOD値を1とした

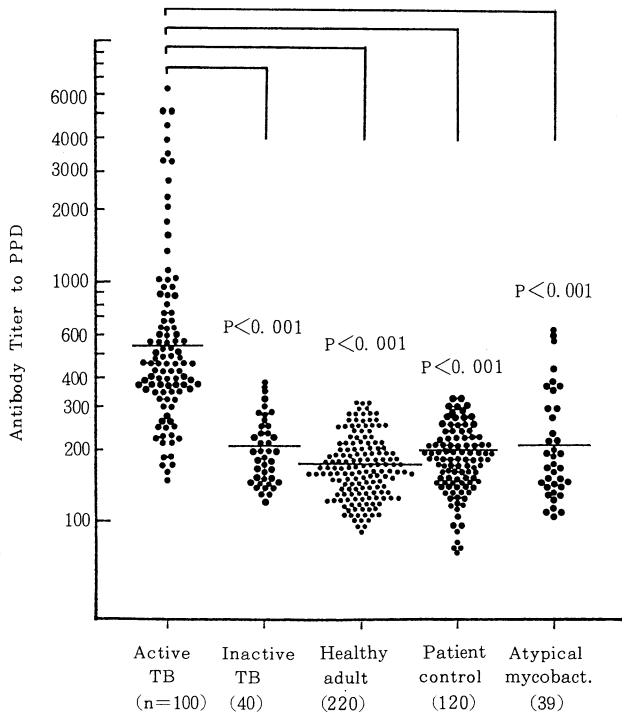


図1 抗PPD-IgG抗体価の分布

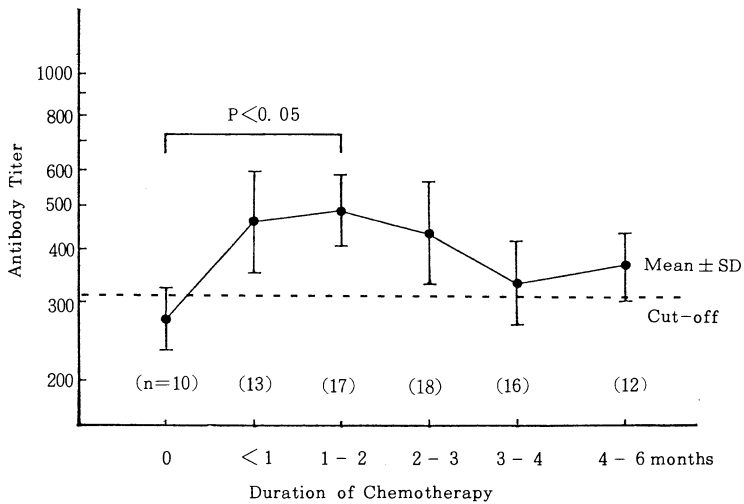


図2 化学療開始後の抗体価の推移

OD比で算出した。ただし、各血清の各PPDに対するOD値は同一プレート上で測定し、算出した。

成 績

1. 抗体価と陽性率

抗体価の各群における分布をみると、活動性結核群は他の4群に比し、有意に高い抗体価を示した ($P < 0.001$) (図1)。健康成人群の抗体価の対数値の平均+2SDを指数変換したものをcut off titer (320)として陽性率を求めると、健康成人群は0.9%、健康小児群は0%、

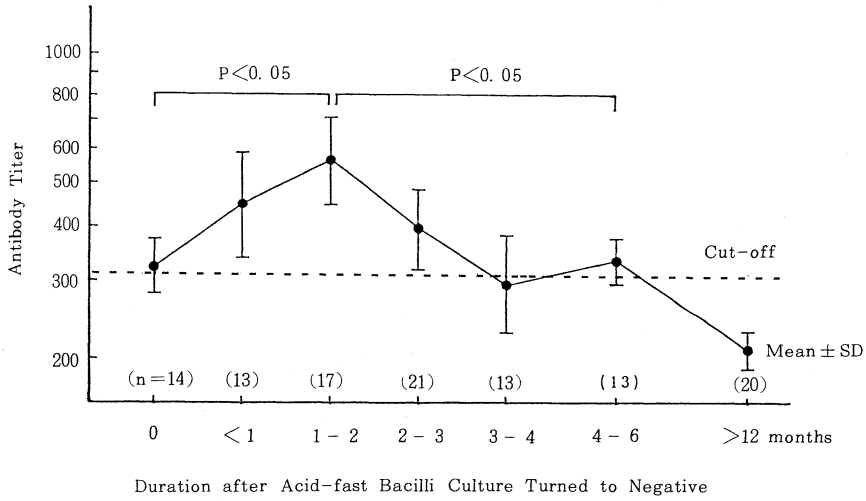


図3 排菌陰性化後の抗体価の推移

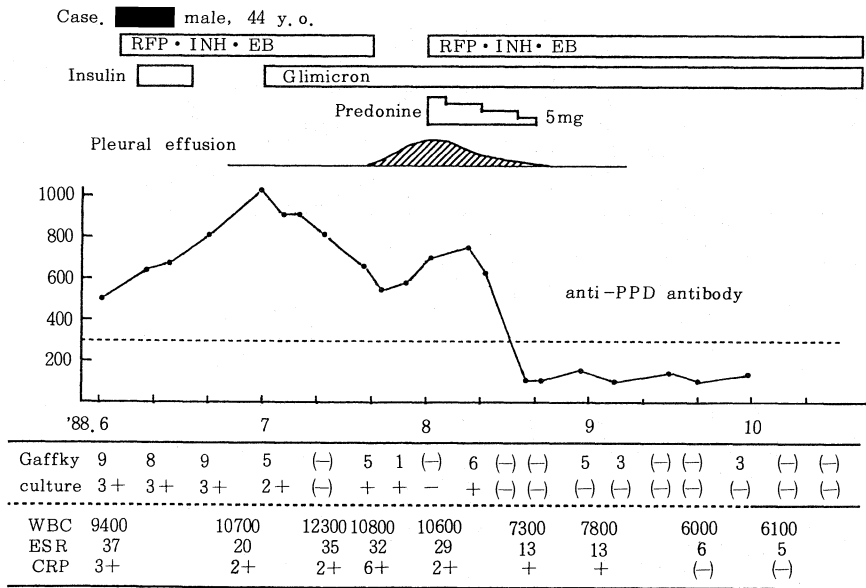


図4 経過表

Patient control 群は 5.8%，非活動性結核群は 7.5%と低く，非定型抗酸菌症群が 20.5%とやや高かったものの，活動性結核群は 78%と高い陽性率を示した。

2. 抗体価の推移

化学療法の期間との関係は，治療開始後抗体価の上昇が認められ，特に 1~2 カ月で最も高くなり，有意差を認めた ($P < 0.05$) (図 2)。また，治療開始前から経時的に採血ができた 41 症例について治療の前後での抗体価の陽性率を見ると，治療前は 65.9% (27/41) で，化

療後は 80.5% (33/41) と高くなった。

化学療法が有効であった症例において排菌陰性化後の抗体価の変動をみると，化療開始後 1~2 カ月で陰性化する症例が多かったため，排菌陰性化後 2 カ月ほどで抗体価の有意な上昇を認めたが，4 カ月以上では抗体価は低下し，1 年以上で正常域値まで低下する傾向にあった (図 3)。特別な例ではあるが，悪化と考えられた症例では，抗体価は化療開始後上昇し，1 カ月後から低下する傾向にあったものの，炎症所見や臨床症状の悪化しだし

表 抗 PPD-IgG 抗体価の低値症例の患者背景

| 症例 | 性 | 年齢 | 基礎疾患 | 学会分類 | 結核菌 | | | 薬剤耐性 | ツ反 | 結核既往 | |
|----|---|----|------|-------|--------|-----|----|--------------|-------|------|---------|
| | | | | | gaffky | 培養 | 回数 | | | | |
| 1 | 女 | 45 | (-) | rII2 | 4 | 7 W | 3 | INH, EB | 50×34 | + | CRP (-) |
| 2 | 男 | 61 | 糖尿病 | lII2 | 4 | 7 W | 2 | INH, RFP, EB | 40×50 | + | |
| 3 | 男 | 70 | 肺化膿症 | bIII1 | 0 | 8 W | 1 | | 11×9 | + | |
| 4 | 男 | 66 | (-) | bII3 | 8 | 4 W | 1 | PZA, INH, EB | 9×8 | + | |
| 5 | 女 | 63 | 糖尿病 | rII1 | 0 | 8 W | 1 | | 25×10 | ? | |
| 6 | 男 | 32 | (-) | bII1 | 0 | 4 W | 1 | | 20×20 | ? | |
| 7 | 女 | 77 | (-) | bII1 | 3 | 4 W | 2 | | | ? | |
| 8 | 女 | 83 | (-) | bII3 | 4* | 4 W | 2 | EB, PZA | 30×42 | + | |

(* : 気管内採痰)

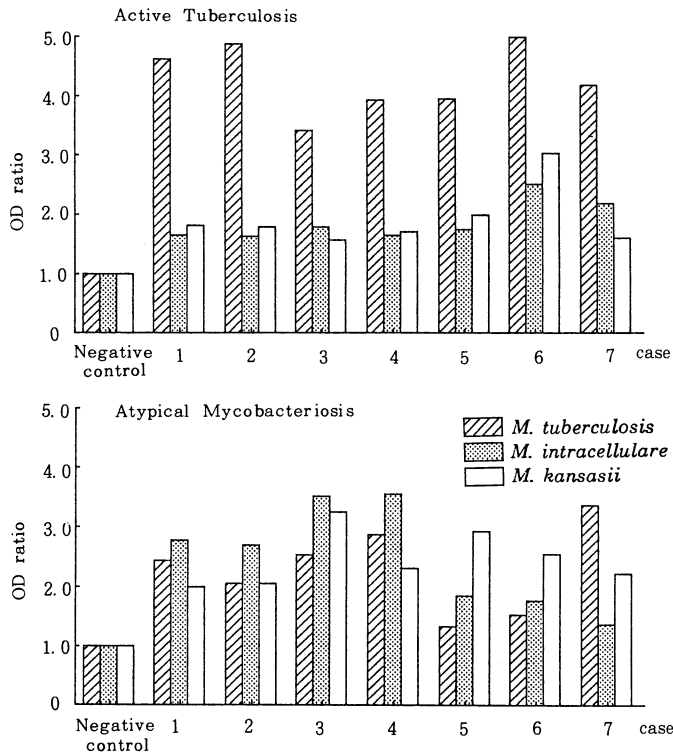


図5 3種のPPDに対する抗体価の比較

た頃より、抗体価の再度上昇が認められた。その後はステロイドが併用されたため、投与2週後から、抗体価は低下し、陰性化した(図4)。

3. 抗体価低値例の患者背景

抗体価が低値であった症例22例中4例は血清のIgGが低値であり、6例が治療開始後抗体価の上昇が認められたが、経時的に観察しても抗体が陰性であったのは8症例であった(表)。症例1, 2, 3, 5は塗抹陽性で

あったものの、7週以上の培養が必要であった。症例6と8は胸部X線は数個のsmall cavityが認められたのみで、症例4と7は炎症所見に乏しく、CRPは経過中すべて陰性であった。残り4例は1回の採血のみで経時的に観察できなかった。

4. 非定型抗酸菌症との交差反応

3種類のPPDに対する抗体価の比較をすると、健常人群28例ではほとんどがOD比は1前後であり、全例

2以下であったのに対し、活動性結核患者21例では全例が結核菌のPPDにのみ高いOD比を示した(7例についてのみ図5に示した)。一方、非定型抗酸菌症患者では7例中6例が結核菌より非定型抗酸菌のPPDに対してより高いOD比を示した(図5)。

考 察

PPDは比較的 crude な抗原であり、多くの多糖類を含んでいるが、他の精製された抗原に比べると入手が容易であり、以前から抗原として試みられてきたものである¹⁾。しかし、活動性結核患者における抗体の陽性率は高く、ELISA法の迅速性と簡便性からも結核のスクリーニングや補助診断としては有用であろうとの成績が得られた。また、非定型抗酸菌との交差反応は、精製度の高い単一抗原においても species specific でないものでは問題になっているが、非定型抗酸菌のPPDに対する抗体価を同時に測定することにより、1例を除くと鑑別が可能であった。ただし、症例数が少ないため今後の詳細な検討が必要であろう。

抗体価を経時的に観察すると、化療開始前は抗体価が低値を示す傾向であったが、開始後1~2カ月で抗体価が上昇する傾向がみられ、化療開始前後で比較することで診断値が高くなると考えられる。一方、排菌陰性化後は炎症所見の消失とともに6カ月までに正常域値まで低下する傾向にあるが、悪化例では抗体価の再上昇が認められており、治療効果の判定の指標になりうるのではないかと考えられた。

しかし、経時的に観察しても抗体陰性の症例が small cavity のみの症例、発育の遅い耐性菌の分離例や炎症

所見の乏しい症例において認められたが、菌株間の抗原性の相違などの関与による偽陰性も考慮する必要がある。

今回はPPDについてのみ検討したが、抗原としては特異性と精製度の高いものが望ましい。しかし、理想的な抗原は今のところ見つかってはいない。一方、抗体測定は患者の液性免疫の反映であるため、血清IgG低下のみられる病態やステロイド使用時には無効であり、血清診断の限界でもあった。

ま と め

PPDは精製度の低い抗原ではあるが、その抗体価測定は結核のスクリーニングや補助診断として有用性が高いと考えられた。抗体価は化学療法開始後の期間と排菌陰性化後の期間で増減が認められ、病態を把握するのに参考になると考えられたが、抗体測定が患者の免疫状態に左右されることは血清診断の限界でもあった。また、非定型抗酸菌との交差反応は、症例数が少ないものの、非定型抗酸菌のPPDに対する抗体価を同時に測定することにより鑑別がある程度は可能であった。

文 献

- 1) Daniel, T. M. and Debanne, S. M. : The serodiagnosis of tuberculosis and other mycobacterial diseases by enzyme-linked immunosorbent assay, *Am Rev Respir Dis*, 135 : 1137-1151, 1987.
- 2) 草野展周 : ELISA法を用いた活動性肺結核患者の血清中のPPDと α 抗原に対するIgG抗体測定の診断的有用性の検討, *結核*, 62 : 211, 1987.

6. ツベルクリン反応の最近の知見

京都大学胸部疾患研究所第1内科 倉澤卓也

6. TUBERCULIN SKIN TEST OF PATIENTS WITH ACTIVE PULMONARY TUBERCULOSIS AND NON-TUBERCULOUS PULMONARY DISEASES

Takuya KURASAWA

(First Internal Medicine, Chest Disease Research Institute, Kyoto University)

The maximum diameter of redness of tuberculin skin test (PPD) was studied in patients with active pulmonary tuberculosis (TB) (257 cases) and with various non-tuberculous pulmonary disorders (Non-TB) (328 cases).

Negative rate of PPD (maximum diameter under 9mm) was 9.3% in patients of TB ; 6.5% in patients without underlying disorders and 16.3% with underlying disorders, which may affect the break-down of tuberculosis.

In patients with miliary tuberculosis, the negative rate was high and PPD reaction became weaker in advanced patients and patients with pleurisy. High age, hypoalbuminemia and lymphocytopenia in peripheral blood were the factors influencing the negative conversion of PPD skin test.

In Non-TB patients, positive rate of PPD was similar between patients with and without past history of tuberculosis and the rate of patients with maximum redness over 35mm were about 10%, regardless of sex, age and disorders. But there was a difference in the positive rates of PPD between male and female ; the positive rate of PPD skin test was highest in male with lung cancer, and there was a difference in the positive rate of PPD between the age groups in male, but there was no difference in females regardless of age and with or without lung cancer.

Key words : Tuberculin skintest, Maximum diameter of redness

キーワード : ツベルクリン皮内反応, 最大発赤径

1. はじめに

結核菌感作の有無を検査するツベルクリン皮内反応(以下, ツ反と略す)は, BCGや非定型抗酸菌の感作による交差反応や非特異的反應による弱い偽陽性反応も見られるが, ツ反は結核症の診断, BCG接種や化学予

防の是非の判定, 細胞性免疫機能の判定などに, 広く用いられている¹⁾。

低蔓延率化や患者の高齢化など, 結核症を巡る疫学が大きく変貌して来た今日, 結核患者および非結核性呼吸器疾患患者のツ反の検討を通して, ツ反の結核症診断上の今日的意義について考察した。

表1 肺結核症例

| 合併症 (-) | | 年齢 | | | | | | | 合計 |
|---------|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-----|-----|----|
| 年齢 | <19 | 20~29 | 30~39 | 40~49 | 50~59 | 60~69 | ≥70 | 合計 | |
| 男性 | 5 | 29 | 23 | 20 | 23 | 20 | 17 | 137 | |
| 女性 | 2 | 8 | 9 | 9 | 7 | 5 | 7 | 47 | |
| 合計 | 7 | 37 | 32 | 29 | 30 | 25 | 24 | 184 | |

合併症 (+)

| 合併症 (+) | | 年齢 | | | | | | | 合計 |
|---------|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-----|----|----|
| 年齢 | <19 | 20~29 | 30~39 | 40~49 | 50~59 | 60~69 | ≥70 | 合計 | |
| 男性 | | | 5 | 6 | 21 | 14 | 13 | 59 | |
| 女性 | | 1 | | 1 | 3 | 4 | 5 | 14 | |
| 合計 | 0 | 1 | 5 | 7 | 24 | 18 | 18 | 73 | |

肺結核患者の合併症

| | 男性 (n = 59) | 女性 (n = 14) |
|--------|----------------|----------------|
| 糖尿病 | 29 | 5 |
| 胃切後 | 6 | 2 |
| 悪性腫瘍 | 13 | 6 |
| 肝硬変 | 5 | |
| 硅塵肺 | 3 | |
| ステロイド薬 | 6 | 2 |
| その他 | 2 | 1 |

結核既往歴(-) 表2 非結核患者

| | <19 | 20~29 | 30~39 | 40~49 | 50~59 | 60~69 | ≥70 | 合計 |
|----------|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-----|-----|
| 非肺癌患者 男性 | 7 | 16 | 6 | 12 | 18 | 23 | 28 | 110 |
| 女性 | 2 | 8 | 8 | 9 | 18 | 16 | 16 | 77 |
| 肺癌患者 男性 | | | | 4 | 11 | 23 | 29 | 67 |
| 女性 | | | | 2 | 5 | 9 | 8 | 24 |
| 合計 | 9 | 24 | 14 | 27 | 52 | 71 | 81 | 278 |

結核既往歴(+)

| | <19 | 20~29 | 30~39 | 40~49 | 50~59 | 60~69 | ≥70 | 合計 |
|----------|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-----|----|
| 非肺癌患者 男性 | | | 2 | 1 | 2 | 5 | 10 | 20 |
| 女性 | | | 2 | 2 | 3 | 4 | 7 | 18 |
| 肺癌患者 男性 | | | | | 3 | 4 | 5 | 12 |
| 女性 | | | | | | | | |
| 合計 | | | 4 | 3 | 8 | 13 | 22 | 50 |

非肺癌呼吸器疾患患者の一覧

| | |
|------------|----|
| 急性上下気道炎 | 17 |
| 肺炎, 肺化膿症 | 74 |
| 慢性閉塞性肺疾患 | 27 |
| 慢性下気道感染症 | 27 |
| 喘息, 過敏性肺臓炎 | 31 |
| 自然気胸 | 22 |
| 慢性間質性肺炎 | 6 |
| その他 | 21 |

表3

肺結核, 合併症(-)のツベルクリン反応

| | <10 | 10~14 | 15~19 | 20~34 | 35~49 | ≥50 | 合計 |
|----|-----|-------|-------|-------|-------|-----|-----|
| 男性 | 10 | 17 | 15 | 42 | 28 | 25 | 137 |
| 女性 | 2 | 5 | 1 | 17 | 9 | 13 | 47 |
| 合計 | 12 | 22 | 16 | 59 | 37 | 38 | 184 |

肺結核, 合併症(+)のツベルクリン反応

| | <10 | 10~14 | 15~19 | 20~34 | 35~49 | ≥50 | 合計 |
|----|-----|-------|-------|-------|-------|-----|----|
| 男性 | 9 | 6 | 7 | 17 | 14 | 6 | 59 |
| 女性 | 3 | 1 | 0 | 5 | 4 | 1 | 14 |
| 合計 | 12 | 7 | 7 | 22 | 18 | 7 | 73 |

2. 対象

1987年1月より12月までの1年間に各種呼吸器疾患にて入院し, 一般診断用 PPD 皮内反応が施行された患

者を対象とした。なお, ツ反はその最大発赤径にて検討した。

対象とした結核患者(表1)は, 喀痰, 胃液, 胸水などから結核菌が培養陽性であった初回治療患者257例

(男性 196 例, 女性 61 例) である。結核症の発病に悪影響を与えると考えられる各種の合併症を有する患者(以下, 合併症 (+) とする) は 73 例, これらの合併症のない患者(以下, 合併症 (-) とする) は 184 例であり, 合併症の内訳は一部の重複例を含め, 表 1 に一覧した。

また, 対象とした非結核患者(表 2) は, 結核既往歴のない非肺癌患者 187 例, 肺癌患者 91 例, 結核既往歴を有する非肺癌患者 38 例, 肺癌患者 12 例の計 328 例(男性 209 例, 女性 119 例) である。非結核非肺癌呼吸器疾患患者の主な疾患名は表 2 に一覧した。

3. 結 果

1) 結核患者の PPD 皮内反応の最大発赤径(表 3)

結核菌陽性の結核患者 257 例全体のツ反の最大発赤径の分布は, 10 mm 未満 24 例 (9.3%), 10~14 mm 29 例 (11.3%), 15~19 mm 23 例 (8.9%), 20~34 mm 81 例 (31.5%), 35~49 mm 55 例 (21.4%), 50 mm 以上 45 例 (17.5%) であった。ツ反の最大発赤径が 10 mm 未満の割合(以下, ツ反陰性率とする) は男性 196 例中 19 例 (9.7%), 女性 61 例中 5 例 (8.2%) で, 性差は見られない。

また, 合併症 (-) 患者 184 例では, 10 mm 未満 12 例 (6.5%), 10~14 mm 22 例 (12.0%), 15~19 mm 16 例 (8.7%), 20~34 mm 59 例 (32.1%), 35~49 mm 37 例 (20.1%), 50 mm 以上 38 例 (20.7%) であり, 合併症 (+) 患者 73 例では, 10 mm 未満 12 例 (16.4%), 10~14 mm 7 例 (9.6%), 15~19 mm 7 例 (9.6%), 20~34 mm 22 例 (30.1%), 35~49 mm 18 例 (24.7

%), 50 mm 以上 7 例 (9.6%) で, 個々の合併症のツ反への影響は一律ではないと思われるが, 合併症 (+) 結核患者ではツ反陰性例も多く, 統計学的有意差は認められないが, 全般にツ反の減弱化傾向がうかがえる。

一方, 学会分類病型の明らかな 245 例の病型別のツ反の最大発赤径は, 「拡がり 3」の重症例, 高齢者が多い病型「Ⅲ₂」, 胸膜炎例では, 病型「Ⅱ_{2,1}」「Ⅲ₁」, 気管支結核例に比べ, 統計学的に有意に減弱化向が認められ, ツ反陰性率は, 病型「Ⅱ₁」例の 100% の陽性率を除き, 各肺野病型とも, 10% 前後であった。なお, 合併症の有無による病型の分布には差は認められなかった。また, 対象症例の調査期間は異なるが, 自験粟粒結核症 16 例のツ反は, 11 例が最大発赤径 10 mm 未満であり, 粟粒結核症例では明らかにツ反の減弱化がうかがえる²⁾。

2) 結核患者のツ反と各種の臨床検査値

ツ反に影響を及ぼす各種の臨床検査値について検討した。なお, 以下の検討は, ツ反の最大発赤径の大きさにより, 10 mm 未満, 10~14 mm, 15~19 mm, 20~34 mm, 35 mm 以上の 5 群に分類して行った。

各ツ反の大きさ群の平均年齢および標準偏差は, 合併症 (-) 患者では, 10 mm 未満群 55.9 ± 19.6 歳, 10~14 mm 群 51.6 ± 20.0 歳, 15~19 mm 群 46.4 ± 16.0 歳, 20~34 mm 群 46.6 ± 18.1 歳, 35 mm 以上群 41.1 ± 15.9 歳で, 合併症 (+) 患者では, 10 mm 未満群の 66.2 ± 11.1 歳, 10~14 mm 群 63.3 ± 12.2 歳, 15~19 mm 群 61.4 ± 8.5 歳, 20~34 mm 群 60.1 ± 10.3 歳, 35 mm 以上群 54.0 ± 12.9 歳であり, 全体では, 10 mm 未満群 61.0 ± 16.8 歳, 10~14 mm 群 53.7 ± 19.1 歳, 15~19

表 4

非結核患者, 結核既往歴(-)のツベルクリン反応

| | <10 | 10~14 | 15~19 | 20~34 | 35~49 | ≥50 | 合計 |
|--------|-----|-------|-------|-------|-------|-----|-----|
| 肺 癌 男性 | 12 | 13 | 11 | 21 | 5 | 5 | 67 |
| 女性 | 11 | 4 | 4 | 2 | 2 | 1 | 24 |
| 非肺癌 男性 | 42 | 16 | 9 | 30 | 5 | 8 | 110 |
| 女性 | 33 | 16 | 7 | 15 | 4 | 2 | 77 |
| 合 計 | 98 | 49 | 31 | 68 | 16 | 16 | 278 |

非結核患者, 結核既往歴(+)のツベルクリン反応

| | <10 | 10~14 | 15~19 | 20~34 | 35~49 | ≥50 | 合計 |
|--------|-----|-------|-------|-------|-------|-----|----|
| 肺 癌 男性 | 3 | 1 | 4 | 3 | 1 | | 12 |
| 女性 | | | | | | | |
| 非肺癌 男性 | 7 | 5 | 3 | 3 | 2 | | 20 |
| 女性 | 10 | 3 | 1 | 2 | 2 | | 18 |
| 合 計 | 20 | 9 | 8 | 8 | 5 | | 50 |

mm 群 51.9±15.5 歳, 20~34 mm 群 50.2±17.4 歳, 35 mm 以上群 44.4±16.2 歳であった。合併症 (-), 合併症 (+) とともに, ツ反の最大発赤径の小さい群ほど平均年齢が高く, 全症例での一元配置分散分析とボンフェローニ法による有意差の検定では, 10 mm 未満群と 20~34 mm 群および 35 mm 以上群の間, 10~14 mm 群と 35 mm 以上群の間に各々有意差が認められ, 高齢者ほどツ反の減弱を来すことがうかがわれた。

同様の方法にて, ツ反の大きさと血沈値, 末梢血白血球数, リンパ球数, 総蛋白量, アルブミン値の関連について検討した。ツ反の大きさと血沈値, 末梢血の白血球数, 総蛋白量との間には有意な相関は認められなかったが, 末梢血のリンパ球数, アルブミン値との間には一部に有意の正の相関が認められた。

3) 非結核呼吸器疾患患者の PPD 皮内反応の最大発赤径 (表 4)

非結核患者のツ反の最大発赤径は, 結核既往歴のない患者 278 例では, 10 mm 未満 98 例 (35.3%), 10~14 mm 49 例 (17.6%), 15~19 mm 31 例 (11.1%), 20~34 mm 68 例 (24.5%), 35~49 mm 16 例 (5.8%), 50 mm 以上 16 例 (5.8%) で, 結核既往歴を有する患者 50 例では, 10 mm 未満 20 例 (40.0%), 10~14 mm 9 例 (18.0%), 15~19 mm 8 例 (16.0%), 20~34 mm 8 例 (16.0%), 35~49 mm 5 例 (10.0%) であり, 結核既往歴の有無によるツ反の分布に差は認められず, 最大発赤径 35 mm 以上の陽性例はともに 11% 内外であった。

このうち, 肺癌患者 103 例では, 10 mm 未満 26 例 (25.2%), 10~14 mm 18 例 (17.5%), 15~19 mm 19 例 (18.4%), 20~34 mm 26 例 (25.2%), 35~49 mm 8 例 (7.8%), 50 mm 以上 6 例 (5.8%) であり, 最大発赤径 35 mm 以上の陽性例は 13.6% で, ツ反陰性率は, 男性 19.0%, 女性 45.8% であった。一方, 非肺癌患者 225 例では, 10 mm 未満 92 例 (40.9%), 10~14 mm 40 例 (17.8%), 15~19 mm 20 例 (8.9%), 20~34 mm 50 例 (22.2%), 35~49 mm 13 例 (5.8%), 50 mm 以上 10 例 (4.4%) であり, 最大発赤径 35 mm 以上の陽性例は 10.2% で, ツ反陰性率は男性 37.7%, 女性 45.3% であった。

女性では, 担癌の有無や各年齢層によるツ反陰性率に差異は見られず, 各々 40% 強であったが, 男性の年齢層別ツ反陰性率は, 肺癌で, 40~59 歳 28.0%, 60 歳以上 14.4%, 非肺癌で, 40 歳未満 41.2%, 40~59 歳 27.7%, 60 歳以上 48.6% であった。

なお, 主な疾患別のツ反陰性率は, 急性上・下気道炎 23.5%, 肺炎・肺化膿症 43.3%, 慢性下気道感染症 40.7%, 気管支喘息・過敏性肺臓炎 37.9%, 自然気胸 18.2% などであった。疾患自体によるツ反への影響や

構成年齢の相違のため, ツ反陰性率は疾患により大きな変動がみられた。

4. 考 察

1) 結核症患者のツベルクリン反応

森³⁾は排菌陽性の肺結核患者のツ反の平均発赤径を検討し, 10 mm 未満の陰性率は 2.2% であると報告している。今回の私共の最大発赤径の検討では, ツ反陰性率は, 合併症 (-) 群で 6.5%, 合併症 (+) 群で 16.4%, 全体では 9.6% であり, 森の成績に比べ, 明らかに高率であり, 本田⁴⁾の肺結核のツ反陰性率 9% との報告とほぼ同様の成績であった。

ツ反陰性化の原因として, 使用する PPD の力価やツ反施行上の技術的問題, 誤記録などのほかに, 患者側の各種の要因が挙げられている⁵⁾。私共の今回の検討でも, 粟粒結核では約 7 割が陰性であり, 「拡がり 3」の重症例, 高齢者の多い病型「Ⅲ₂」や胸膜炎例にツ反減弱傾向が認められた。一方, ツ反に影響を及ぼす各種の臨床検査値の検討では, 高年齢, 末梢血の低リンパ球症, 低アルブミン血症が, ツ反の減弱化に影響していた。森³⁾も年齢とツ反とは負の相関を示すと述べ, 著者のツ反陰性結核患者の検討⁶⁾でも同様であった。また, 本田⁴⁾はツ反陰性群と中等度以上の陽性群との間には, PHA 皮内反応, 末梢血アルブミン値, 末梢血リンパ球数などに有意差が認められたと報告している。

結核菌陽性患者のツ反陰性率が約 1 割を占めることは, 結核症の診断上留意すべき点と思われる。

2) 非結核患者のツベルクリン反応

本邦の結核の年間感染危険率は, 近年著しく低下し, 1990 年には 0.05% 前後と推定されている⁷⁾。この推計によると, 調査時の結核既感染率は, 60 歳以上はほぼ 100%, 50 歳代は 60% 前後, 40 歳代は 25% 前後, 30 歳代は 10% 前後, 20 歳代は数% と推定され, 年齢層によって既感染率に著しい差異がみられる。一方, 本邦では乳幼児, 学童, 生徒などを対象に, BCG 接種が広く施行されており, BCG を含む既感染率はほぼ 100% であると考えられる。

今回の検討症例では, 結核既往歴の有無によるツ反陰性率に差はなく, 最大発赤径が 35 mm 以上の症例は, 担癌の有無, 性別, 年齢に関わらず 10% 前後であり, 非結核疾患でも比較的強いツ反も稀ではない。一方, 肺癌, 非肺癌の各年齢層別の陽性率は, 女性では担癌の有無や年齢層による差はみられないが, 男性では肺癌, 非肺癌とも年齢層で差がみられた。すなわち, 女性および 40 歳未満と 60 歳以上の非肺癌男性患者のツ反陽性率は 50~60% とほぼ同率であった。既感染や BCG 接種によるツ反陽性持続期間は不明であるが, 上述の既感染率から推測すると, 男性の肺癌例を除き, 全般に陽性率が

低めである。この差は、入院の原因となった個々の呼吸器疾患によるツ反陽性率の差⁴⁾⁸⁾によるとも考えられるが、肺癌例の比較では、男性は女性に比べ陽性率が高く、ツ反陽性率の性差を論じた報告は見あたらないが、結核の発病と同様に、ツ反陽性率にも性差が存在するためとも考えられる。

5. ま と め

1) 結核菌陽性結核患者のツ反陰性率は9.3%で、合併症のない群6.5%、合併症を有する群16.4%であった。

2) 「拡がり3」の重症例、高齢者の多い病型「Ⅲ₂」や胸膜炎例では、ツ反減弱化が認められた。

3) 高年齢、低リンパ球症、低アルブミン症がツ反減弱化に影響する。

4) 非結核性呼吸器疾患患者で最大発赤径35mmの群は、性、年齢、背景とする呼吸器疾患に関わらず、10%前後であった。

5) 非結核性呼吸器疾患患者のツ反陽性率は、結核既往歴の有無による差がない。男性では肺癌例の陽性率が高く、年齢層により差が見られたが、女性では担癌の有無や年齢による差はみられず、ツ反陽性率の性差の存在が推測された。

(貴重な症例をご提供頂いた、国療南京都病院内科、

福井日赤呼吸器科、和歌山日赤呼吸器内科、大阪日赤呼吸器内科、済生会中津病院呼吸器内科、神戸市立中央市民病院呼吸器内科、神戸市立玉津病院内科、国立姫路病院内科の各先生方に深謝致します。)

文 献

- 1) 泉 孝英：ツベルクリン反応—その新しい考え方—、中外医学社、東京、1983.
- 2) 村山尚子他：粟粒結核の臨床的検討、結核、64：103、1989.
- 3) 森 亨：改訂 ツベルクリン反応、結核予防会、東京、1988.
- 4) 本田和徳：各種呼吸器疾患におけるツベルクリン反応陰性化現象とその機序に関する検討、京大胸部研究紀要、19：100~112、1986.
- 5) American Thoracic Society：The tuberculin skin test, Am Rev Respir Dis, 124：356-363、1981.
- 6) 倉澤卓也：ツベルクリン陰性結核、非定型抗酸菌症のツベルクリン反応、結核、58：547~549、1983.
- 7) 島尾忠男編：結核病学 II、疫学・管理編、結核予防会、東京、1985.
- 8) 泉 孝英：ツベルクリン反応の臨床的意義、結核、58：541~544、1983.

特別発言

画 像 診 断 の 進 歩

札幌医科大学第3内科 鈴木 明

Special comment

IMPROVEMENT IN IMAGE-DIAGNOSIS OF PULMONARY TUBERCULOSIS

Akira SUZUKI

(Third Department of Internal Medicine, Sapporo Medical College)

The results of experimental studies using a phantom suggest that the calculation of CT values pulmonary nodular shadows is not so reliable.

The CT images of bronchogenous spread type tuberculous lesions reveal a regularity that corresponds to the bronchial branching pattern, called centrilobular shadows. On the other hand, hematogenous spread type lesions (miliary tuberculosis) distribute randomly regardless of bronchial branching.

Centrilobular shadows, lobular shadows and multilobular shadows are the fundamental

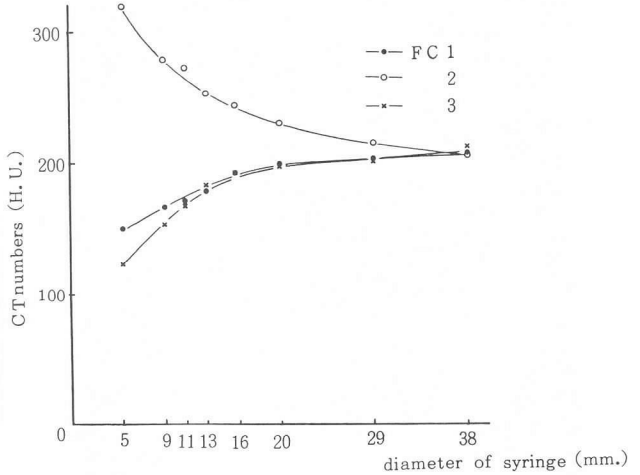
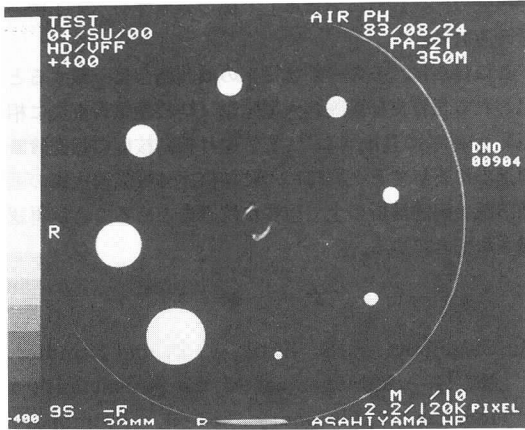


図1 被写体の大きさと再構成関数がCT値に及ぼす影響—ファントム実験

pattern of pulmonary tuberculosis on CT images.

Shadows showing croncho-vascular dilatation as a projection of the tuberculous bronchitis are also important findings on CT images of pulmonary tuberculosis.

Thus, CT is best suited for the precise image analysis of the disease.

Key words : CT value, Pulmonary tuberculosis, CT images

キーワード : CT 値, 肺結核症, CT 像

肺結核症の画像診断における最近の進歩に関しては、第63回(1988年)の本学会総会シンポジウムにおいて論議されているので、今回はその座長であった立場から、それらの結果をふまえてCT像による診断について述べる。

CT (computed tomography) は、被写体内部のX線学的な濃度分布をピクセル単位の数値 (CT 値) としてとらえ得るので、すぐれた濃度分解能が得られると同時に、濃度の定量的な評価も可能である。

この特性を利用して、肺の結節性病変の鑑別¹⁾・石灰沈着の有無の判断²⁾などが試みられているが、CT 値の再現性・信頼性には種々な点で問題がある。

図1は、われわれの行ったファントム実験³⁾の代表的なもので、空気を入れたファントム中に置かれているディスクシリンジ (内径5~38 mm の8種類でいずれも100 μg/ml の塩化カルシウム水溶液で満たす) を被写体として、3種類の再構成関数 (腹部一般用; FC1, 頭部用; FC2 および胸部用; FC3) を内蔵する TCT-60 A 27

型による撮影の結果を示す。

CT 値は、シリンジ径が少なくとも30 mm 程度であれば再構成関数にかかわらず一定であるが、20 mm 以下では再構成関数によって著しく影響されるもので、他の実験結果を併せると、CT 値を用いた定量的診断にあたっては、病変の大きさ・周囲の性状・スキャン条件・再構成関数の種類および用いる CT 装置の特性などを十分把握しなければならないと考えられる。

一方、CT 像は従来の単純あるいは断層 X 線像に比べて、極めて重なりが少なくボケ像や流れ像などのない横断面の画像という特徴があり、高分解能 CT 像の場合には空間分解能も向上して、およそ径1 mm 程度の小血管まで描出可能とされる⁴⁾。

これは、ほぼ終末細気管支に伴随する肺動脈に相当するので、小葉 (2次小葉) 内部の肺の既存構造や病変を画像としてとらえ得るようになったことを意味する。

これは、水平断方向にスライスした伸展固定肺の軟 X 線像・CT 像および実体顕微鏡像・組織像などを総合

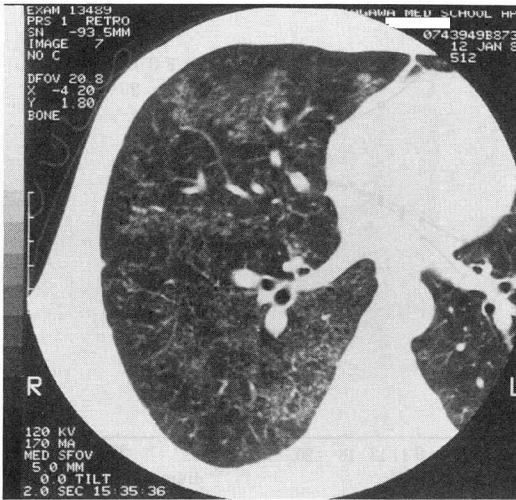


図2 小葉中心性陰影を示す肺結核症のCT像
場所によって粗密はあるが、かなりびまん性に微細な粒状ないし線状の陰影がみられる。分布の比較の粗な部分でみると、線状影は気道分岐に類似し、胸膜から離れた分布を示す。

して、画像と被写体の実体との詳細な対比に裏付けられて、2次小葉に関する理解が深められ、それと関連して病変分布の解析が進められつつある^{4)~7)}。

その結果、終末細気管支から呼吸細気管支のレベルに気道性に生ずる病変は、小葉（細葉）中心性病変の概念の下に理解され、終末細気管支およびそれに随伴する肺動脈影からの分岐に一致する小粒状影が、肺野最外側（胸膜）・小葉間結合織ないし小静脈影から一定の距離をおいて規則的に配列する画像上の特徴として位置づけられている。

肺結核症の基本的な進展様式の1つである経気道散布病変は、この小葉中心性陰影の典型に属し、さらにそれらの融合した像と思われる小葉性陰影・小葉性融合陰影を併せて肺結核症のCT像の基本とされる^{8)~10)}。

一方、肺結核症のもう1つの基本的な進展様式である血行散布性病変（粟粒結核）は、経気道散布病変と対照的に既存構造と無関係にランダムに分布することが明らかにされている⁸⁾。

図2は、単純像の上では微細粒状影が両側肺野にびまん性に分布するために粟粒結核症が疑われたが、CT像

の上では小葉中心性陰影の特徴が見出されたもので、肺結核症の画像診断におけるCT像の有用性を示す1例と考えられる。

このほかに、その一部は従来の巣門結合に一致すると思われる気管支肺動脈腫大型陰影（結核性気管支炎に相当）も高率に見出され⁹⁾、CT像は肺結核症の画像診断の進歩に寄与すると同時に、肺結核症は呼吸器疾患の画像診断と病態解析の上で重要な位置を占めることが再認識されてきている。

文 献

- 1) Siegelman, S. S., Stitik, F. P. and Summer, W. R. : Management of the patient with a localized pulmonary lesion, *Pulmonary System* : 339-358, 1979.
- 2) 荒井六郎, 山本益也, 児玉長久他 : 肺野孤立性陰影の鑑別診断—主として肺野結核診断の立場から—, *結核*, 61 : 28~31, 1986.
- 3) 森 雅樹, 森 拓二, 五十嵐知文他 : 肺内腫瘍のCT値に影響する因子の検討—自作ファントムを用いた検討—, *日胸疾会誌*, 22 (suppl.) : 86, 1984.
- 4) Murata, K., Itoh, H., Todo, G. et al. : Centri lobular lesions of the lung : demonstration by high-resolution CT and pathologic correlation, *Radiology*, 161 : 641-645, 1986.
- 5) 西村浩一, 伊藤春海 : 肺の正常末梢構造—特に小葉内の構造について—, *結核*, 64 : 55~61, 1989.
- 6) Itoh, H. Tokunaga, S., Asamoto, H. et al. : Radiologic-pathologic correlation of small lung nodules with special reference to peribronchiolar nodules, *A J R* 130 : 223-231, 1978.
- 7) 伊藤春海, 村田喜代史, 藤堂義郎他 : 肺小葉からみた呼吸器疾患, *臨放*, 28 : 1029~1036, 1983.
- 8) 小場弘之 : 伸展固定肺を用いた病理像とX線像の対比, *結核*, 64 : 61~66, 1989.
- 9) 片桐史郎, 河端美則 : CT像による肺結核症の画像診断, *結核*, 64 : 66~71, 1989.
- 10) 伊藤春海, 金岡正樹, 西村浩一 : びまん性肺疾患の胸部X線・CT所見, *綜合臨床*, 37 : 2606~2619, 1988.