

原 著

## 高齢者における結核診断法の検討 —ツベルクリン反応二段階試験とインターフェロン $\gamma$ アッセイ—

<sup>1</sup>須田 明   <sup>2</sup>鈴木 公典   <sup>2</sup>志村 昭光   <sup>3</sup>中谷 達廣  
<sup>4</sup>森 亨   <sup>4</sup>原田 登之   <sup>4</sup>樋口 一恵   <sup>1</sup>栗山 喬之

<sup>1</sup>千葉大学医学部呼吸器内科, <sup>2</sup>結核予防会千葉県支部,  
<sup>3</sup>千葉南病院, <sup>4</sup>結核予防会結核研究所

### STUDY OF THE TWO-STEP TUBERCULIN TESTS AND GAMMA-INTERFERON ASSAYS IN ELDERLY PERSONS

<sup>1</sup>\*Akira SUDA, <sup>2</sup>Kiminori SUZUKI, <sup>2</sup>Akimitsu SHIMURA,  
<sup>3</sup>Tatsuhiro NAKATANI, <sup>4</sup>Toru MORI, <sup>4</sup>Nobuyuki HARADA,  
<sup>4</sup>Kazue HIGUCHI, and <sup>1</sup>Takayuki KURIYAMA

<sup>1</sup>\*Department of Chest Medicine, Chiba University School of Medicine, <sup>2</sup>Chiba Anti-Tuberculosis Association,  
<sup>3</sup>Chiba Minami Hospital, <sup>4</sup>Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Association

Recently, an outbreak of lung tuberculosis among elderly residents happened in the home for aged, and it has become a social problem. To analyze the problem of tuberculosis in the elderly persons, we performed two-step tuberculin tests at two weeks interval and gamma-interferon assays for diagnosis of human tuberculosis to residents in the home for aged. 45 males (age;  $77.3 \pm 8.9$  SD) and 118 females (age;  $81.9 \pm 8.6$  SD) elderly persons ( $\geq 60$ ) were examined. Standard dose of PPD was injected intracutaneously, and read at 48 hours. Erythema of 10 mm diameter or more was considered positive. The results were as follows. (1) The percentages of positive reactors in the 1st (T1) and the 2nd (T2) tuberculin tests were 50.3% and 68.1%, respectively. (2) The diameters of erythema and percentage of positive reactors (T1) did not vary with age, but the size of erythema increased from 13.5 mm (T1) to 21.2 mm (T2) among those below 80 years, and from 13.0 mm (T1) to 16.4 mm (T2) among those 80 years or higher ( $p < 0.01$ ). (3) The percentage of positive reactors (T1) varied by sex, namely males react stronger than females. (4) A dose of interferon- $\gamma$  released specifically in response to PPD stimulation of whole blood cultures showed no close relation with the diameters of erythema.

In conclusion, tuberculin reactivity waned among elderly persons, and the fact suggests that they would have lower resistance against new infections, and as a result, they might have higher risk of developing tuberculosis. Elderly residents should be performed two-

\*〒260-8670 千葉県千葉市中央区亥鼻1-8-1

\* 1-8-1, Inohana, Chuo-ku, Chiba-shi, Chiba 260-8670  
Japan.  
(Received 20 Apr. 2000/Accepted 7 Jun. 2000)

step tuberculin tests at the time of their entrance to the home for aged, and negative reactors should carefully be followed up.

**Key words:** Pulmonary tuberculosis, Elderly persons, Two-step Tuberculin testing, Interferon-gamma

キーワードズ: 肺結核, 高齢者, ツベルクリン反応二段階試験, インターフェロニン $\gamma$

## 緒言

結核の新登録患者数が平成9年より増加に転じて問題となっている。中でも70歳以上の塗抹陽性患者発生数は1980年の2191人から1997年の5728人と2.6倍に膨れ上がり、また、60歳以上の塗抹陽性患者の割合も1977年の31.3%から1997年には56.3%に達している<sup>1)</sup>。近年新潟県で発生した高齢者入所施設における結核集団感染事例に見られるように、高齢者の結核は今後一層大きな問題になることが予想される。

高齢者ではツベルクリン反応(以下、ツ反応)が、若年者に比較して減弱するという報告が多いが<sup>2)3)</sup>、一方でツ反応は抗原物質を生体内に投与するため、繰り返して検査を行うとBCG既接種者や結核既感染者では反応が強くなる、いわゆるブースター効果を引き起こすことも知られている。そこで本研究では高齢者に対して二段階試験を用いたツ反応を行い、ブースター効果を含めた高齢者の反応状況を解析し、今後の高齢者結核予防対策に関する検討を行った。

ツ反応はブースター効果のほかに接種や計測の際に手技的なばらつきが起りやすく、また接種から判定まで48時間要することなどの問題点も挙げられている。これらのツ反応の欠点を補う検査法として近年、ヒトPPD添加血液培養上清液中のインターフェロニン $\gamma$ の測定が結核の補助診断法として有効であるとされ、今後の臨床応用が期待されている。本研究では高齢者における本検査法も併せて施行してツ反応との関係を検討した。

表1 対象

	総数	男性	女性
総数	163	45	118
60～	22	10	12
70～	50	15	35
80～	66	16	50
90～	25	4	21
平均年齢	80.6±8.9	77.3±8.9	81.9±8.6

## 対象および方法

対象は口頭による同意が得られた某老人施設入所中の60歳以上の高齢者163名(表1)。性別は男性45名、女性118名であり、平均年齢は男性77.3歳、女性81.9歳、全体では80.6歳であった。

全症例に対してPPDs 0.05  $\mu$ g/0.1ml(日本BCG)による(前腕屈側にMantoux法)ツ反応を施行(以下、T1)した。強陽性者が存在しないことを確認して2週間後に対側前腕に再度ツ反応を施行(以下、T2)して最大発赤径(以下、発赤径)、最大硬結径(以下、硬結径)を計測した。判定に当たって発赤径および硬結径のカットオフ値は10mmとした。また、PPD接種と判定は3名の訓練されたスタッフにより施行した。

T1の前に採血を行い、採取した血液は、ヘパリンを添加し1mlずつ分注して、生理食塩水(Nil control)、ヒトPPD(Human PPD)、トリPPD(Avian PPD)、マイトジェン(Mitogen control, PHA)抗原を加えて一晚培養し、培養上清液中のインターフェロニン $\gamma$ (IU/ml)をELISA法により測定した。測定はCSL社(Melbourne, Australia)製Quanti Feron-TBキットを用いた。測定結果は% Human response = (Human PPD-Nil control)/(Mitogen control-Nil control)で示される式で求め、% Human response > 0.15かつ(Avian PPD-Human PPD)/(Human PPD-Nil control) < 0.1をとともに満たす者を本検査法の陽性者とした。Mitogen control < 0.5 IU/mlを示した者は製品の添付文書に従って免疫抑制状態にあると判断してインターフェロニン $\gamma$ の判定症例より除外した。統計学的解析に当たってはMann-Whitney U-test、カイ二乗検定を用い、両側5%未満の危険率をもって有意差ありとした。

## 結果

### I. ツ反応二段階試験

ツ反応発赤径の度数分布を示す(図1)。T1の平均±標準偏差は13.2±11.3mmであり中央値10mm、T2の平均±標準偏差は18.6±15.1mmであり中央値16mm

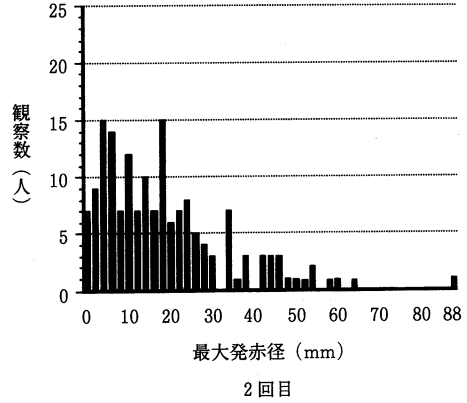
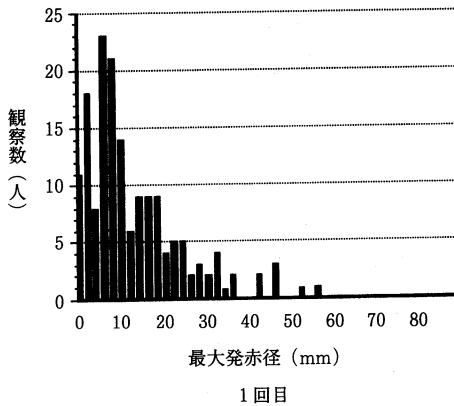


図1 ツベルクリン反応の発赤径分布

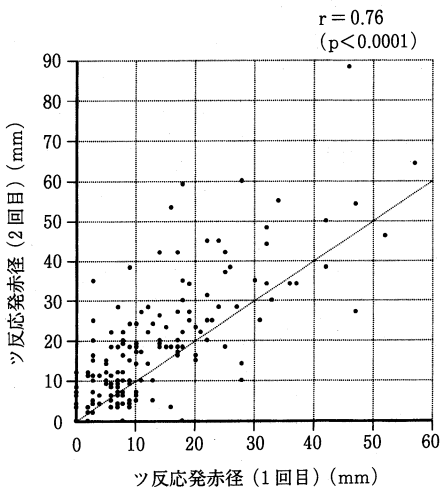


図2 ツベルクリン反応の発赤径：二段階検査法

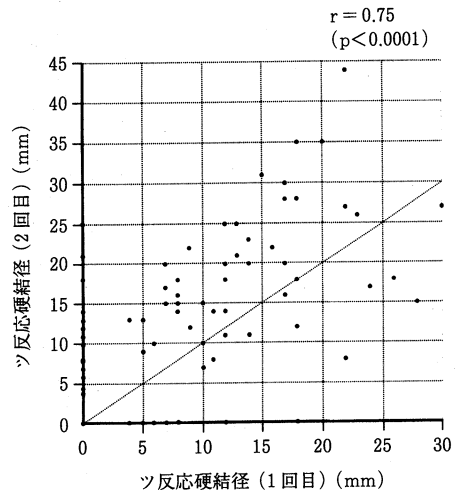


図3 ツベルクリン反応の硬結径：二段階検査法

であった。ツ反応二段階試験のT1とT2の発赤径および硬結径は、相関係数が各々0.76、0.75で示される一次直線の関係を示した(図2、3)。T1とT2の発赤径差(T2-T1)(以下、発赤径差)の平均±標準偏差は5.3±9.9mm、最大42mmであり、0mm未満;40例(24.5%),0~9mm;81例(49.7%),10~19mm;29例(17.8%),20~29mm;8例(4.9%),30mm以上;5例(3.1%)であった。T1で10mm未満であった81例のうち、36例(44.4%)はT2で10mm以上になった。

発赤径を性別および年齢階級別(60~79歳と80歳以上)に比較した(表2)。全症例での陽性率はT1が50.3%,T2が68.1%であった。性別の比較ではT1,T2とも男性は女性に比較して有意に発赤径が大きかった(T1:

p=0.016,T2:p=0.014)。一方、年齢階級別の検討では、T1,T2の発赤径および陽性率は2群間で差を認めなかったが、発赤径差は60~79歳群;7.7mm,80歳以上群;3.4mmであり有意差を認めた(p=0.007)。

## II. インターフェロニアッセイ

インターフェロニアッセイを施行した163例中、Mitogen control $\geq$ 0.5を満たした160例についてのT1,T2の発赤径および硬結径とインターフェロニアッセイとの関係を示した(表3)。全症例でのインターフェロニアッセイ陽性率は33.8%(54/160)であり、1回目のツ反応との関係では硬結径が陽性であった症例のうち82.5%(33/40)はインターフェロニアッセイが陽性、硬結径が陰性であった症例のうち82.5%(99/120)は陰

表2 ツベルクリン反応の陽性率と発赤径：性別・年齢階級別

	対象	観察数	1回目	2回目	発赤径差
陽性率 (%)	全体	163	50.3	68.1	
	男性	45	64.4	77.8	
	女性	118	44.9	64.4	
	60~79歳	72	50.0	72.2	
	80歳~	91	50.5	64.8	
発赤径 (mm)	全体	163	13.2±11.3	18.6±15.1	5.3±9.9
	男性	45	17.2±13.4	24.1±18.6	6.9±10.7
	女性	118	11.7±10.1	16.4±13.0	4.7±9.5
	60~79歳	72	13.5±12.2	21.2±16.3	7.7±10.7
	80歳~	91	13.0±10.6	16.4±13.7	3.4±8.7

\* : p &lt; 0.05 \*\* : p &lt; 0.01

表3 インターフェロニンとツベルクリン反応

	発赤径		硬結径		合計
	陽性	陰性	陽性	陰性	
1回目のツ反応との関係					
IFN-ガンマ					
陽性	45	9	33	21	54
陰性	37	69	7	99	106
合計	82	78	40	120	160
2回目のツ反応との関係					
IFN-ガンマ					
陽性	51	3	43	11	54
陰性	59	47	16	90	106
合計	110	50	59	101	160

## 考 察

性であった。1回目のツ反応硬結径とインターフェロニンアッセイを陽性群と陰性群に分類した場合、カイ二乗検定では二つの検査法の結果には  $p < 0.0001$  の関係が認められ、ツ反応硬結径とインターフェロニンアッセイの計測値との相関係数は  $0.42$  ( $p < 0.0001$ ) であった。同様に2回目のツ反応硬結径との関係でもカイ二乗検定では  $p < 0.0001$  であり、ツ反応硬結径とインターフェロニンアッセイ計測値との相関係数は  $0.28$  ( $p = 0.0003$ ) であった。また、1回目と2回目のツ反応がともに陰性でインターフェロニンアッセイが陽性であった症例は  $4.7\%$  ( $2/43$ ) であった。一方、インターフェロニンアッセイで Mitogen 刺激に対してインターフェロニンの産生が  $0.5$  IU/ml 未満であった症例が3例存在した。

今回の60歳以上の高齢者でのツ反応二段階試験の検討では、発赤径差の平均値±標準偏差は  $5.3 \pm 9.9$  mm であり、重藤らが病院職員 ( $22 \sim 57$  歳) を対象に行った同様の調査結果<sup>4)</sup>の  $9.8 \pm 11.1$  mm と比較して小さかった。本研究結果について80歳を境界とした年齢階級別の観察を行ってみても、80歳以上の超高齢者群では発赤径差の平均値±標準偏差は  $3.4 \pm 8.7$  mm であり、60~79歳群の  $7.7 \pm 10.7$  mm に比較して有意に小さいことが示され、高齢者とくに80歳以上の超高齢者は結核既感染率が高いと予想される<sup>5)</sup>にもかかわらずブースター効果が減弱している可能性も考えられた。高齢者でツ反応が減弱するという報告は少なくないが<sup>2)3)</sup>、そ

の原因としては、横田らは(1)結核感染から時間を経た者が多いこと、(2)加齢による細胞免疫機能の低下、(3)加齢による皮膚の反応性の低下を挙げている<sup>3)</sup>。一方、Steadらは二回のツ反応を行った場合には、結核菌感染後にまだ菌が生体内で残存していればT1、T2とも陽性となり、時間が経つに従い生体内で菌が死滅して、まずはT1が陰性となりやがてT1、T2ともに陰性になる可能性を示し、このような症例では、過去に感染をしても、新たな結核菌の曝露を受ければ二次的な発病の危険があるとしている<sup>6)</sup>。

本研究では60歳以上の対象においてT1、T2とも陰性の者の割合は27.6% (45/163)と高い数値を示した。このようなT1、T2陰性症例においては、新たな感染による発病や、既存感染からの再発病の可能性が危惧される。厚生省新興再興感染症研究事業の積極的結核疫学調査緊急研究班では結核院内(施設内)感染予防の手引きのなかで、高齢者入居施設における結核施設内感染防止のポイントも挙げて胸部X線写真の入所時・定期観察や咳などの症状への注意を喚起している。高齢者入居施設入所時には、ツ反応の解釈の基礎データとして全症例に対しツ反応二段階試験を行い、陰性と判定されたものは結核菌曝露時にツ反応を施行して、陽性になった場合には胸部X線で所見を認めなくても結核感染を考慮して予防内服の適応を含めた精密検査を行うという対応も考えられる。

高齢者のツ反応の男女差については本研究結果と同様に、結核患者を除いた一般の人々で見ると40歳以上では女性のほうが有意にツ反応が弱いことは、結核実態調査などで繰り返し認められている<sup>3)</sup>。しかし、肺結核患者を対象とした研究では性別によるツ反応の大きな違いはないとする報告も見られる<sup>2)</sup>。本研究において女性が男性よりもツ反応が弱かった原因としては、横田らが示すように女性のほうが若い頃感染率が低かった、あるいは女性では若い頃に結核感染を受けても完全に治癒してしまい、いわゆる陽性アネルギーになる比率が男性よりも高率であるという可能性<sup>3)</sup>も考えられる。

Rothelらは牛の結核感染に関して、bovine PPD刺激抗原で培養した血液のインターフェロンをEIA法にて計測することにより簡潔で正確な診断法を確立させた<sup>7)</sup>、オーストラリアのCSL社では人の血液にhuman PPD抗原を添加して培養し、その上清液中のインターフェロンを測定することで人の結核感染へ応用する診断法を開発した。本検査法は、ツ反応と異なり体内に抗原物質を投与したり皮内反応を用いないため、ブースター効果を与えたり皮膚反応因子<sup>8)</sup>の影響を受けることもなく、また技術的な測定誤差も少ない。これらの点からツ反応の欠点を補う検査法として広く期待が寄せ

られている。Streetonらは952人のボランティアを対象とした臨床研究でツ反応の結果を元にした本検査法の特異度は97.6% (407/417)、感度は89.6% (163/182)、活動性結核患者、既治療者、非活動性未治療者での陽性率は各々83.3% (10/12)、58.5% (24/41)、79.8% (134/168)であると報告し<sup>9)</sup>、Pottumarthyらは活動性結核患者における本検査法の陽性率を77%と報告している<sup>10)</sup>。今回の検討からも、この診断方法はツ反応硬結径と0.42という相関係数を示し、今後の臨床応用が期待されると考えられた。しかし、本検査法はBCG接種後や結核既感染者での検討は十分にされておらず今後の症例の集積が待たれる。また、ツ反応の硬結径との比較でカットオフ値が定められてきた経緯があるため(CSL社社内資料)、本邦で今後データを集積する際にはカットオフ値の設定などについても更なる検討が必要と思われる。一方、T1とT2がともに陰性の症例でもこのアッセイで陽性となる者が少数ながら存在した。ツ反応の技術的な偽陰性の可能性も否定できず、このようなツ反応陰性群での*in vitro*で行う本アッセイの検討も興味深い課題と思われる。また、Mitogen刺激に対するインターフェロン $\gamma$ の産生が低下した症例が3例認められた。平均年齢80.3歳で3例中2例はT1、T2も陰性であり、それらの症例は基礎疾患に脳出血後遺症、慢性腎不全(ネフローゼ症候群)を有しており免疫抑制状態が示唆された。

## 結 語

老人施設入所中の60歳以上の高齢者163名を対象にツ反応二段階試験、刺激抗原添加後の血液培養上清液中のインターフェロン $\gamma$ を測定し、以下の成績を得た。

- ①ツ反応陽性率(発赤径)は1回目50.3%、2回目68.1%であった。
- ②1回目、2回目のツ反応のいずれも男性は女性に比較して発赤径差が有意に高かった。
- ③80歳を境界とした年齢階級別の検討では、1回目と2回目の発赤径差が80歳以上の群で有意に小さかった。
- ④インターフェロン $\gamma$ はツ反応硬結径と相関係数0.42を示し、ツ反応と同様に良好な結核補助診断法となる可能性がある。
- ⑤高齢者の結核予防対策として、老人施設入所時にはツ反応の解釈の基礎データとしてツ反応二段階試験を行い、陰性者が結核菌曝露後に陽性を示す場合には胸部X線で所見を認めなくても、結核感染を考慮して予防内服の適応を含めた精密検査を行うという対応も考えられる。

本稿の要旨は第74回日本結核病学会総会(1999年4

月, 宇都宮)にて発表した。また本研究の一部は結核予防千葉基金医学研究助成金によった。

### 文 献

- 1) 財団法人結核予防会:「結核の統計 1998」, 厚生省保健医療局結核感染症課監修, 1998, 13.
- 2) 高井鐮二, 森 亨: PPDの臨床応用上の最近の知見. 結核および呼吸器疾患文献の抄録速報. 1975; 26: 327-329.
- 3) 横田英夫, 熊谷美津子, 泉 淳, 他: 高年齢者のツベルクリン反応成績—特にブースター現象について—. 日本醫事新報. 1985; 3201: 29-34.
- 4) 重藤えり子, 横崎恭之, 村上 功: 看護学生と病院職員における二段階ツベルクリン反応検査. 結核. 2000; 75: 27-31.
- 5) 森 亨: 老人施設での結核予防. 複十字. 1998; 264: 2-5.
- 6) Stead WW, Lofgren JP: Medical perspective— Does the risk of tuberculosis increase in old age? J Infect Dis. 1983; 147: 951-955.
- 7) Rothel JS, Jones SL, Corner LA, et al.: A sandwich enzyme immunoassay for bovine interferon- $\gamma$  and its use for the detection of tuberculosis in cattle. Aust Vet J. 1990; 67: 134-137.
- 8) 戸井田一郎: 結核の免疫. 「結核病学 基礎・臨床編」, 第3版, 岩井和郎編集, 財団法人結核予防会, 東京, 1989, 84-85.
- 9) Streeton JA, Desem N, Jones SL: Sensitivity and specificity of a gamma interferon blood test for tuberculosis infection. Int J Tuberc Lung Dis. 1998; 2: 443-450.
- 10) Pottumarthy S, Morris AJ, Harrison AC, et al.: Evaluation of the tuberculin gamma interferon assay: potential to replace the Mantoux skin test. J Clin Microbiol. 1999; 37: 3229-3232.