

HIV 感染症における結核感染診断に対しての QuantiFERON®-TB 第2世代の有用性についての検討

永井 英明	川辺 芳子	有賀 晴之	鳴山 文子
島田 昌裕	久能木真喜子	松井 芳憲	川島 正裕
鈴木 純子	大島 信治	益田 公彦	松井 弘稔
田村 厚久	長山 直弘	赤川志のぶ	町田 和子
倉島 篤行	四元 秀毅		

要旨：〔目的〕リンパ球の IFN- γ 産生能を測定することによって結核感染の診断を行う方法（QFT-2G）が開発された。細胞性免疫機能が著しく低下する HIV 感染症では、判定不可例の増加、感度の低下等が予想されるので、HIV 感染症例における QFT-2G の有用性について検討した。〔対象と方法〕① HIV 感染症合併結核例、②抗 HIV 療法を受けている HIV 感染症例、の 2 群につき、QFT-2G、CD4 数、ツ反応等を検討した。〔結果〕① HIV 感染症合併結核例 13 例では、QFT-2G の感度は 76.9% でツ反応の感度：発赤 38.5%（硬結 15.4%）に比べ有意に高かった。判定不可例が 1 例あり CD4 数は $16/\mu\text{l}$ と最も低い症例であった。②抗 HIV 療法施行中の HIV 感染者 25 例に QFT-2G を行い、判定不可例はなかった。CD4 数は $100 \sim 1157/\mu\text{l}$ であり、非結核既往群では QFT-2G 陽性はなく、結核既往群では陽性は 3 例（27.3%）であった。〔結論〕HIV 感染症において QFT-2G は CD4 数の著減例では判定不可となる可能性があった。HIV 感染症合併結核における QFT-2G の感度は高く、十分有用であると考えられた。結核既往者の中に QFT-2G 陽性者がおり、結核の再燃が起こるのか注意深い観察が必要である。

キーワード：結核、HIV 感染症、QuantiFERON-TB 第 2 世代、ESAT-6、CFP-10

はじめに

従来、結核感染の診断はツベルクリン反応（ツ反応）によって行われてきた。この方法は BCG 未接種者においては感度、特異度ともに高く基本的には優れた方法であるが、BCG 接種者においては、現れる反応が過去の BCG 接種によるものか、最近受けた結核感染によるものかが区別できないという大きな問題がある。BCG 接種に積極的に取り組んできたわが国では、結核感染の有無をツ反応で判定するのはしばしば困難を極める。そこに BCG 接種の影響を受けない新しい結核診断法が開発された。特異的抗原刺激に対するリンパ球のインターフェロン γ （IFN- γ ）産生能を測定することによって結核感染の診断を行う方法（QuantiFERON®-TB 第 2 世代、

以下 QFT-2G）である。

QFT-2G は、結核菌由来の特異抗原 early secreted antigenic target 6（ESAT-6）と culture filtrate protein 10（CFP-10）の刺激による末梢血リンパ球の IFN- γ 産生能を測定する検査法で、結核感染の診断有用性は高い。Mori らによれば QFT-2G の結核感染の診断における特異度は 98.1%、感度は 89% である。

しかしながら、免疫抑制状態では QFT-2G の感度は低下する可能性があり、その有用性についての検討は乏しい。特に細胞性免疫機能が著しく低下する HIV 感染症では、QFT-2G の判定不可例の増加、結核を合併した場合の QFT-2G の感度の低下が予想される。そこで、①結核発病時の HIV 感染症例、②外来通院中の HIV 感染症例（結核の既往例を含む）について QFT-2G を行い、

QFT-2Gの判定不可例の頻度、結核発病時の感度等について検討した。

方 法

① 対象は結核菌を確認できた HIV 感染症合併結核のうち、結核の治療開始直前か、治療開始後1週間以内に QFT-2Gを行えた症例である。結核の既往歴がある症例およびすでに抗 HIV薬の投与を受けている症例は除いた。対象症例は13例あり、男性12例、女性1例であった。年齢は20～67歳（中央値53歳）であった。

② 対象は当院外来通院中で強力な抗 HIV療法（highly active antiretroviral therapy: HAART）を行っていた HIV 感染症例である。結核既往群と非結核既往群に分けて検討した。結核既往群は、結核診断時に HIV陽性と判明した症例で、当院で結核の治療を開始し、その後 HAARTを開始した症例である。結核は治癒し、結核の治療を終了し外来にて HAART施行中に対象とした。非結核既往群は病歴上、結核の既往および結核患者との接触が明らかでない症例である。

外来通院中の HIV感染者のうち QFT-2Gを測定できた症例は25例あり、結核既往群11例（男女比9：2、29～58歳：中央値49歳）、非結核既往群14例（男女比14：0、年齢31～65歳：中央値55歳）であった。

①、②の症例につき QFT-2G、CD4陽性Tリンパ球（CD4）数、ツ反応等について検討し、QFT-2Gの判定不可例の有無、QFT-2Gとツ反応との感度の比較等を行った。

ツ反応は発赤では発赤径10 mm以上を陽性とし、硬結ではATS/CDCの基準²⁾により HIV感染者の場合、硬

結径5 mm以上を陽性とした。QFT-2Gの判定基準は次項に記載した。

QFT-2Gの感度とツ反応の感度の比較には、Fisher's exact probability testを用いた。

なお、QFT-2Gは2006年4月に保険収載となったが、それ以前の検査については当院倫理委員会の承認を得て、説明と同意のうえ行われた。

QFT-2G

Moriら³⁾の方法に準じた。すなわち、被験者から静脈血をヘパリン加採血し、12時間以内にその一定量に ESAT-6抗原、CFP-10抗原、陰性コントロールとしての生理的食塩水、陽性コントロールとしてのマイトジェン（phytohemagglutinin: PHA）を添加し、16～24時間37℃で培養した。培養後に上清を採取し、サンドイッチ酵素免疫測定法（ELISA法）で IFN- γ の濃度を測定した。

刺激抗原 ESAT-6、CFP-10により産生誘導された IFN- γ 値から陰性コントロールの IFN- γ 産生値を差し引いた値のうち高値を選択した。0.35 IU/ml以上を陽性、0.1 IU/ml未満を陰性とした。その間の0.1以上0.35 IU/ml未満は判定保留とした。また、結核特異抗原による IFN- γ 産生値が0.35 IU/ml未満で、陽性コントロールから陰性コントロールを差し引いた値が0.5 IU/ml未満の場合は細胞性免疫応答が低下しているものとし、特異的免疫応答による測定値には信頼性がないとして、判定不可とした。

結 果

① QFT-2Gを行えた HIV感染症合併結核例13例の結核病変は、粟粒結核6例、肺結核6例、リンパ節結核1

Table 1 Results of QFT-2G in tuberculosis patients with HIV infection

Case	Gender/Age	CD4 counts (μ l)	Tuberculin skin test (mm) induration/erythema (double erythema)	QFT-2G
1. Miliary TB	M/45	16	0 × 0/3 × 3	Indeterminate
2. Miliary TB	M/60	23	0 × 0/0 × 0	Positive
3. Pulmonary TB	M/59	27	0 × 0/0 × 0	Intermediate
4. Pulmonary TB	M/57	36	0 × 0/0 × 0	Positive
5. Pulmonary TB	M/47	48	11 × 10/61 × 41	Positive
6. Miliary TB	M/53	60	0 × 0/0 × 0	Intermediate
7. Miliary TB	F/38	63	0 × 0/15 × 13	Positive
8. Pulmonary TB	M/66	68	0 × 0/0 × 0	Positive
9. Miliary TB	M/63	81	0 × 0/5 × 5	Positive
10. Pulmonary TB	M/36	101	0 × 0/0 × 0	Positive
11. Miliary TB	M/67	199	0 × 0/15 × 15	Positive
12. Lymph node TB	M/41	245	15 × 17/20 × 20 (40 × 57)	Positive
13. Pulmonary TB	M/20	320	0 × 0/16 × 21	Positive
	Median 53	Median 63	Sensitivity erythema 38.5% (induration 15.4%)	Sensitivity 76.9%

TB: tuberculosis

Table 2 Results of QFT-2G in HIV-infected patients under HAART

	Number	QFT-2G			CD4 counts (μ l) Median (range)
		Positive	Intermediate	Negative	
Past history of TB (Completion of TB therapy)	11	3	2	6	348 (124–561)
No history of TB	14	0	2	12	496 (100–1157)

TB: tuberculosis

Table 3 Results of QFT-2G in HIV infected persons after completing of TB therapy

QFT-2G	Gender/Age	Duration between QFT-2G and TB diagnosis (months)	CD4 counts (μ l) (at TB diagnosis)	Tuberculin skin test (induration: mm) (at TB diagnosis)
1. Positive	F/40	19	218 (63)	20 (0)
2. Positive	M/42	48	234 (11)	13 (0)
3. Positive	F/29	67	396 (72)	25 (6)
4. Intermediate	M/57	12	124 (27)	12 (0)
5. Intermediate	M/58	93	367 (423)	8 (0)
6. Negative	M/46	30	178 (2)	9 (0)
7. Negative	M/55	42	320 (106)	16 (0)
8. Negative	M/43	50	549 (188)	13 (31)
9. Negative	M/53	55	348 (31)	8 (0)
10. Negative	M/50	77	561 (111)	13 (0)
11. Negative	M/49	85	518 (35)	0 (0)
Positivity rate 27.3%	Median 49	Median 50	Median 348 (63)	Positivity rate 90.9 (18.2) %

TB: tuberculosis

例であった (Table 1)。CD4 数は $16 \sim 320/\mu$ l (中央値 $63/\mu$ l) であった。QFT-2G の結果は、陽性: 13 例中 10 例 (76.9%), 判定保留: 13 例中 2 例 (15.4%), 判定不可: 13 例中 1 例 (7.7%) であった。ツ反応の陽性率は発赤で判定した場合 38.5%, 硬結で判定した場合 15.4% であった。QFT-2G の感度はツ反応硬結の感度よりも有意に高かった ($p < 0.01$)。

判定不可例の CD4 数は $16/\mu$ l と最も低値であった。この症例は HAART を開始後、CD4 数が増加し、陽性コントロールが認められるようになった。しかし、その時点の QFT-2G は陰性であった。

② 外来通院中の HIV 感染者のうち QFT-2G を測定できた症例 25 例は、全例に HAART が施行され、CD4 数は結核既往群 $124 \sim 561/\mu$ l (中央値 $348/\mu$ l)、非結核既往群 $100 \sim 1157/\mu$ l (中央値 $496/\mu$ l) であり、CD4 数が著しく低下している例はなかった (Table 2)。いずれも陽性コントロールに対する IFN- γ 産生は良好で、判定不可例はなかった。非結核既往群 14 例では QFT-2G 陽性はなく、判定保留 2 例、陰性 12 例であった。結核既往群 11 例 (Table 3) では、HAART により CD4 数が増加 (中央値 $63 \rightarrow 348/\mu$ l) し、ツ反応は硬結陽性率が 18.2% から 90.9% へ上昇した。しかし、QFT-2G 陽性者は 3 例 (27.3%) であり、ツ反応の陽性率に比べ低かった。判定保留 2 例、陰性 6 例であった。

考 察

われわれの対象症例数は少なかったが、HIV 感染者においても CD4 数が著しく低下していなければ QFT-2G は判定不可とならず判定可能であると判明した。また、HIV 感染者における活動性結核の発病時においては、QFT-2G はツ反応に比べ陽性率がより高く、結核感染診断の有用性がきわめて高いと考えられた。

結核感染の診断はツ反応で行われてきたが、ツ反応の反応性は細胞性免疫機能に左右される。活動性結核であっても細胞性免疫機能が低下した状態ではツ反応の陽性率は低下し、偽陰性例が増加する。特に細胞性免疫機能が著しく低下する HIV 感染症では、ツ反応の診断能力は低下する。Johnson ら³⁾によれば活動性結核を合併した HIV 感染者の 30%、AIDS 発病例の 60% 以上はツ反応硬結径が 10 mm 以下であったという。したがって、HIV 感染症では結核感染の診断法としてツ反応の有用性は低下する。そこで、近年開発され結核感染の診断において高い感度を示す IFN- γ 産生能を測定する方法が期待される。

IFN- γ 測定法を用いて HIV 感染症における結核診断を行う際に注意が必要な点は、細胞性免疫機能が低下しているため、PHA による陽性コントロールが確実に得られるかという点である。これが得られない場合は判定

不可となる。当院の症例では結核合併例における判定不可例が1例(7.7%)あり、この症例は13例中CD4数が最も低値($16/\mu\text{l}$)であった。やはり免疫機能が著しく低下した症例は判定不可となる可能性があるため、この点については認識しておくべきである。しかし、外来通院中のHAART施行例25例におけるQFT-2G検査では、判定不可例はなかった。25例のCD4数値は $100\sim 1157/\mu\text{l}$ (中央値 $396/\mu\text{l}$)であり、CD4数が著しく低下していなければQFT-2Gは判定不可にならないと考えられた。

Brockら⁹⁾によれば590名のHIV感染者にQuantiferon-TB In-Tube test (In-Tube version)を行ったところ、陽性者には潜在性結核感染症のリスクをもった症例や結核の既往のある症例が多かった。しかし、CD4数が少ないほど判定不可例が多かった。

QFT-2Gと同様にESAT-6およびCFP-10の両特異抗原を利用してリンパ球を刺激し、反応性のIFN- γ の産生を測定するT-SPOT.TBという方法がある。これはIFN- γ 産生測定法としてenzyme-linked immunospot (ELISPOT) assayを用いる方法である。T-SPOT.TBについてはHIV感染症においても十分にPHAに反応し、CD4数に影響を受けないという報告⁹⁾がある。QFT-2GとT-SPOT.TBを比較した報告⁶⁾では、判定不可例はQFT-2G:11%、T-SPOT.TB:3%とQFT-2Gのほうが多かった。特に5歳以下ではQFT-2Gでは判定不可が多かった。南アフリカのHIV感染症も結核も非常に多い地域での活動性結核を発病していない160名(HIV陽性者74名、陰性者86名)に対して、T-SPOT.TB、QFT-2G、ツ反応を施行した報告⁷⁾がある。HIV陽性者は陰性者に比べ、ツ反応の陽性率は有意に低かった。しかし、T-SPOT.TB(陽性率:HIV陽性者52%、HIV陰性者59%)もQFT-2G(陽性率:HIV陽性者43%、HIV陰性者46%)も陽性率にHIV陽性・陰性に差がなかった。両者とも中等度に進んだHIV感染症では感度が落ちないとしている。ただし、判定不可例はELISPOTで1%、QFT-2Gで7%認められている。上記の報告⁶⁾をみるとT-SPOT.TBに比べ、QFT-2Gは免疫能が低下した状態では判定不可例が生じやすい可能性があるため注意が必要である。

当院のAIDS合併結核におけるQFT-2Gの結核感染診断の感度は76.9%であり、ツ反応に比べ有意に高率であり、HIV感染症においても結核感染の診断には有用な検査法と考えられた。また、判定保留症例が2例あったが、いずれもCD4数が $27/\mu\text{l}$ 、 $60/\mu\text{l}$ と低値であることを考慮すると、この2例においても結核感染を示している可能性が高い。免疫低下状態における判定保留症例の扱いについてはさらに症例を集め検討すべきである。

HIV感染症合併結核におけるIFN- γ 産生能測定法の有用性についての報告は少なく、ELISPOTについての

報告が散見されるのみである。Chapmanら⁸⁾は39例のHIV感染症合併結核におけるELISPOTの感度は90%と非常に高く、有用であったと報告している。Liebeschuetzら⁹⁾によるAfricaの小児の前向き研究では、ELISPOTの結核診断の感度は83%であり、ツ反応の感度の63%に比較し有意に高かった。免疫機能が低下していると考えられる3歳以下の小児、HIV感染症、低栄養状態における結核感染に対するツ反応の感度は51%、36%、44%であった。これに対してELISPOTはそれぞれ、85%、73%、78%と高値であり、ELISPOTは免疫機能の低下にも影響を受けにくいという結果であった。この2報告はELISPOTについてであるが、当院のHIV感染症合併結核におけるQFT-2Gの感度76.9%はほぼ同等の結果であった。今後さらに症例を増やし検討したい。

ELISPOTはHIV感染者においても判定不可例が少なく期待される検査法であるが、QFT-2Gに比べ検査法が煩雑であり、現時点では容易にわが国で利用できる状況にはない。QFT-2GはHIV感染者においてもツ反応に比べより有用な結核感染診断法であることは明らかであり、その特徴を十分理解して適切に用いるべきである。

今回の検討で、HAART施行中の結核既往群では、HAARTによりCD4数が増加し細胞性免疫が回復し、ツ反応が90.9%と高率に陽転化していたが、QFT-2G陽性者は27.3%と少なかった。結核の治療歴がある非HIV感染者におけるQFT-2G陽性率については、当院で行った検討¹⁰⁾では、結核の治療終了後1年以上経過している患者43例中、QFT-2G陽性20例(46.5%)、判定保留9例(20.9%)、陰性14例(32.6%)であった。非HIV感染者に比べ、HIV感染者では結核の治療終了後のQFT-2G陽性率はやや低い傾向があった。結核の治療終了後もQFT-2Gが陽性であることの意味付けは難しく、依然として結核菌が存在することを示すのか、免疫の記憶だけが残っているのか議論の多いところである。QFT-2G陽性者についてはQFT-2Gの変動、結核再燃の有無などについて経過を注意深く追う必要がある。

また、HIV感染者における接触者検診や潜在結核感染症の診断にQFT-2Gは有用と考えられる⁹⁾ので、今後のデータの蓄積が必要である。

結 論

(1) HIV感染症合併結核例の13例中1例にQFT-2G判定不可例を認めた。CD4数が著しく低下した症例では判定不可となる可能性がある。

(2) HIV感染症合併結核におけるQFT-2Gの感度は76.9%であり、ツ反応の15.4%よりも有意に高かった。HIV感染症合併結核においてもQFT-2Gは結核感染診断に十分有用であると考えられた。

(3) 結核治療終了例のうち QFT-2G 陽性者が 27.3% あり, この中から結核の再燃が起こるのか注意深い観察が必要と思われた。

〔付記〕

この研究の一部は平成 18 年度厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業『重篤な日和見感染症の早期発見と最適治療に関する研究/主任研究者: 安岡 彰 (長崎大学医学部歯学部附属病院感染制御教育センター)』の分担研究として行われた。

文 献

- 1) Mori T, Sakatani M, Yamagishi F, et al.: Specific detection of tuberculosis infection: an interferon-gamma-based assay using new antigens. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004 ; 170 : 59-64.
- 2) The American Thoracic Society (ATS) and the Centers for Disease Control and Prevention (CDC): Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. *MMWR*. 2000 ; 49 (RR-6) : 1-51.
- 3) Johnson MP, Coberly JS, Clermont HC, et al.: Tuberculin skin test reactivity among adults infected with human immunodeficiency virus. *J Infect Dis*. 1992 ; 166 : 194-198.
- 4) Brock I, Ruhwald M, Lundgren B, et al.: Latent tuberculosis in HIV positive, diagnosed by the *M. tuberculosis* specific interferon-gamma test. *Respir Res*. 2006 ; 7 : 56.
- 5) Dheda K, Lalvani A, Miller RF, et al.: Performance of a T-cell-based diagnostic test for tuberculosis infection in HIV-infected individuals is independent of CD4 cell count. *AIDS*. 2005 ; 19 : 2038-2041.
- 6) Ferrara G, Losi M, D'Amico R, et al.: Use in routine clinical practice of two commercial blood tests for diagnosis of infection with *Mycobacterium tuberculosis*: a prospective study. *Lancet*. 2006 ; 367 : 1328-1334.
- 7) Rangaka MX, Wilkinson KA, Seldon R, et al.: The Effect of HIV-1 Infection on T cell Based and Skin Test Detection of Tuberculosis Infection. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006 Dec 7; [Epub ahead of print].
- 8) Chapman AL, Munkanta M, Wilkinson KA, et al.: Rapid detection of active and latent tuberculosis infection in HIV-positive individuals by enumeration of *Mycobacterium tuberculosis*-specific T cells. *AIDS*. 2002 ; 16 : 2285-2293.
- 9) Liebeschuetz S, Bamber S, Ewer K, et al.: Diagnosis of tuberculosis in South African children with a T-cell-based assay : a prospective cohort study. *Lancet*. 2004 ; 364 : 2196-2203.
- 10) 有賀晴之, 川辺芳子, 永井英明, 他: 結核既往者における QuantiFERON-TB 2G test の検討. *日本呼吸器学会雑誌*. 2005 ; 43 (増刊) : 154.

Original Article

USEFULNESS OF A WHOLE BLOOD INTERFERON GAMMA ASSAY (QuantiFERON®-TB-2G) FOR DETECTING TUBERCULOSIS INFECTION IN HIV-INFECTED PERSONS

Hideaki NAGAI, Yoshiko KAWABE, Haruyuki ARIGA, Fumiko SHIGIYAMA,
Masahiro SHIMADA, Makiko KUNOGI, Yoshinori MATSUI, Masahiro KAWASHIMA,
Junko SUZUKI, Nobuharu OOSHIMA, Kimihiko MASUDA, Hirotoshi MATSUI,
Atsuhisa TAMURA, Naohiro NAGAYAMA, Shinobu AKAGAWA, Kazuko MACHIDA,
Atsuyuki KURASHIMA, and Hideki YOTSUMOTO

Abstract [Background] New blood test (QuantiFERON®-TB-2G: QFT-2G), based on detection of IFN-gamma released by T cells in response to *M. tuberculosis* specific antigens, has the high sensitivity and specificity for diagnosis of tuberculosis. However, it is essential to evaluate this T cell-based approach in individuals with HIV-associated impairment in T cell immunity.

[Methods] We assessed the usefulness of QFT-2G on diagnosis of tuberculosis in 13 HIV-infected patients with tuberculosis and the performance of 25 HIV infected persons under highly active antiretroviral treatment (HAART). QFT-2G, CD4 counts, and tuberculosis skin test and so on were examined.

[Results] The sensitivity of QFT-2G in HIV-infected patients with tuberculosis was 76.9%, which was significantly higher compared with tuberculin skin test, 15.4%. There was one indeterminate case of which CD4 count was 16/ μ l, the lowest count among the all patients. CD4 counts of 25 HIV infected persons under HAART were between 100 and 1157/ μ l. There were 3 QFT-2G positive cases among them,

who had past history of tuberculosis.

[Conclusion] Although the very low CD4 counts in HIV-infected patients might adversely affect QFT-2G performance, the sensitivity of QFT-2G in the most of HIV-infected patients with tuberculosis was high, and it was thought that it was useful enough to diagnose tuberculosis infection. Careful observation is required in whether the recurrence of tuberculosis takes place among QFT-2G positive persons who have past history of tuberculosis.

Key words: Tuberculosis, HIV infection, QuantiFERON-TB-2G, ESAT-6, CFP-10

Department of Respiratory Diseases, National Hospital Organization Tokyo National Hospital

Correspondence to: Hideaki Nagai, Department of Respiratory Diseases, National Hospital Organization Tokyo National Hospital, 3-1-1, Takeoka, Kiyose-shi, Tokyo 204-8585 Japan. (E-mail: hnagai-in@tokyo-hosp.jp)