

## Interferon-gamma release assays (IGRAs) の研究課題

樋口 一恵 原田 登之

最近、ツベルクリン反応（ツ反）よりも特異度の高い診断法が開発され、広く用いられるようになってつつある。これらの診断法は、結核菌特異抗原 ESAT-6 と CFP-10 でリンパ球を刺激後、産生されるインターフェロン-ガンマ（IFN- $\gamma$ ）量で結核感染を診断する方法であり、IGRA (Interferon-Gamma Release Assays) と呼ばれている。現在世界で市販される IGRA は 2 種類あり、一つは全血を用いるクオンティフェロン®TB-第二世代（QFT-2G、海外では QuantiFERON®-TB Gold と呼ばれる）である。日本で QFT-2G は診断試薬として認可されており、平成 19 年の新たな接触者健診ガイドラインにおいて積極的に使用することが推奨されている。もう一つは、現在日本では診断試薬としては認可されていないが、全血ではなく精製リンパ球を用いる T-SPOT®.TB (T-SPOT) である。IGRA は開発されてから間もないため、解明されるべき課題が多数残されている。2007 年に Pai らにより、IGRA の今後の研究課題がまとめられ報告された<sup>1)</sup>。本稿では、この総説を日本語訳で紹介しながら、これらに付随して（破線以下）われわれの研究成果や課題を解説する。なお、原著の参考文献はそのまま掲載し、新たな追加文献はローマ数字で記載した。

**キーワード:** 結核感染診断, ツベルクリン反応, インターフェロン- $\gamma$  放出アッセイ, クオンティフェロン®TB-2G, T-SPOT®.TB, 研究課題

### はじめに

全世界人口の 3 分の 1 が結核に感染しており<sup>1)~3)</sup>、この巨大な潜在性結核感染者の集団が結核根絶にとって障害となっている。HIV 共感染者を含む潜在性結核感染者への治療は、活動性結核への進展リスクを効果的に減少させるが<sup>4)~7)</sup>、今もって、結核症へ進行するリスクの最も高い潜在性結核感染者を選択する正確な方法はない。ごく最近まで結核感染、特に潜在性感染を診断する方法は、唯一ツベルクリン反応（ツ反）のみであったが、ツ反は臨床的使用での有用性は証明されているが、精度と信頼性の点では制限もある<sup>8)~10)</sup>。

しかし、近年の結核菌遺伝子および抗原解析の進展に伴い、BCG ワクチン接種やほとんどの非結核性抗酸菌感染の影響を受けない結核感染診断法が開発された。これらは、結核菌特異抗原 ESAT-6 と CFP-10 の一部に相応する合成ペプチドによりリンパ球を刺激後、T 細胞よ

り産生される IFN- $\gamma$  量を測定し結核感染を診断する方法で IGRA と呼ばれている。これら ESAT-6 と CFP-10 は、BCG や大部分の非結核性抗酸菌に存在しないため、ツ反と比較し特異度が格段によくなっている。現在 2 種類の IGRA が診断試薬として市販されており、一つは全血を試験検体として用いる QFT-2G で、日本で診断試薬として認可されている。さらに日本以外では既に使用されている、QFT-2G の次世代である QuantiFERON®-TB Gold In Tube が開発された。他の一つの IGRA は、未だ日本では診断試薬として認可されていないが、精製リンパ球を用い IFN- $\gamma$  産生細胞数を ELISPOT 法により定量する T-SPOT である。

このような標準化された診断法が使用可能になったため、様々な状況での使用に対してこれらの検査に大きな関心が寄せられている。IGRA に関して利用できる研究の証拠は、多数の総説やガイドラインに要約されている<sup>11)~23)</sup>。多数の報告を総合すると、IGRA はツ反よりも

特異度が高く、低蔓延下では結核曝露とよく相関し、BCG接種の影響は受けないことが示されている。また、IGRAは少なくともツ反と同程度の感度で活動性結核（潜在性感染の代わりとして用いられる）を検出すると思われるが、一方では活動性結核の検出感度は必ずしも高くないという懸念も出てきている<sup>18)24)</sup>。潜在性結核感染の絶対基準（Gold Standard）がないため、潜在性結核感染に対して感度、特異度は直接推測することができない。しかし高特異度に加えIGRAは、ロジスティック面での利便性、被験者の再診不要、より信頼できる客観的な測定法、ブースター現象をもたない等、ツ反と比較すると有利な点をもつ。

全般的に言えば、高特異性とその他の利便性のため、IGRAは低蔓延で高所得の国という環境ではツ反に代わることが予想される。実際に米国CDCは、接触者健診、移民の評価、医療従事者の連続的検査等を含むすべての状況で、QFT-2Gをツ反に代えて使用可能であると推奨している<sup>18)</sup>。英国でのガイドラインでは、ツ反でスクリーニングを行い、ツ反陽性をIGRAにより確認するという混合型が推奨されている。しかし、この混合型の有効性と費用対効果は、今後確認されるべきものである。

#### T細胞を基礎にした結核診断に関する研究 についての指針作成

多数のレビュー、解説書、あるいはガイドラインから明らかなように、IGRAの使用を支持する文献数は急速に増加している<sup>11)~20)22)23)</sup>。しかし、多くの文献が出されているにもかかわらず、いくつかの未解決や説明できない問題点は残ったままである。これらは、ツ反とIGRAの結果における説明のできない不一致性、結核菌数とT細胞応答の関連性、結核発症に対するIGRAの予測能力、HIV感染者や小児のようなハイリスク集団における診断性能、結核治療のT細胞応答に及ぼす影響、連続的な検査におけるIGRAの診断性能、疫学的研究におけるIGRAの有用性等である。また科学的な知見の不足と同時に、問題は結核高蔓延で資源が限られた状況における、これらの検査法実施の実用性、適用範囲、経費対効果等のデータも不足しているということである。

このような知識の欠落について効果的に取り組むためには、国際的的努力が必要とされ、その結果として専門家集団が2006年3月スイス・ジュネーブにStop TB Working Group on New Diagnosticsにより集められた。この会議はまた、FINDとWHOとの協賛でもあった。出席者は、特に資源が限られた状況に焦点を絞りIGRAの有用性、臨床的利用と限界、今後の研究の方向性等を支持する研究成果を再検討した。最も重要な目標は、IGRAの研究および実施という点に関し、必須の領域を明らかにする

ことにより、この分野を前進させることにあった。

提唱された研究課題は、このワークショップにおける発表や討論、最近のIGRAに関するレビュー、およびガイドラインに基づいている<sup>13)14)17)~19)</sup>。研究課題は、研究者や臨床医にとって有益な供給源となるよう意図された。全体として、研究課題は以下の7つの領域に分類できる：①生物学的側面と検査法の開発、②ハイリスク集団と十分な研究が行われていない集団における検査性能、③危険予測とモデル化、④検査の再現性と連続的検査、⑤治療期間中のT細胞応答と治療モニターにおける役割、⑥疫学とフィールドへの応用、⑦保健システム、戦略研究および経済学的研究。各領域の研究課題には、国により優先性が異なるため優先順位は付けられていない。

#### 1. 生物学的側面と検査法の開発

この領域は、免疫学、検査結果の解釈、および現行のIGRAの改良に焦点を当てている。パネル1に示すように研究課題は、ツ反とIGRA間の不一致性についての生物学的原理、異なる集団におけるIGRA陽性の適切な判定基準値（閾値）の選択、菌量とT細胞応答の相関、IGRA陽性結果が「古い感染（感染除去あるいは持続的感染）」と「最近の感染」をどの程度示唆するのか、といった問題点を含んでいる。

これらの問題点は、IGRAとツ反がおそらく細胞性免疫の同じ構成要素を測定していないという研究的観察に起因したものである。これはまた別にレビューされているが、いくつかの研究においてツ反とIGRA間においてなぜ説明のつかない不一致性が見られるのかを説明するかもしれない<sup>13)25)</sup>。T細胞検査の結果は、これまでツ反では証明されていないが、菌数と相関しているように見える<sup>26)~29)</sup>。短期間培養のIGRA（例えば、市販の両検査法は16~24時間培養）は、*in vivo*で最近抗原と遭遇したものを*in vitro*で刺激し、そのため急速にIFN- $\gamma$ を放出する活性化エフェクターT細胞の反応を検出しているという仮説が立てられている<sup>26)27)30)</sup>。対照的に、病原体が排除された後（例えば、治療終了後の結核）でも長期間生存するセントラルメモリーT細胞は、短時間培養ではIFN- $\gamma$ を放出する可能性は低いと考えられる。おそらくエフェクター応答は、抗原（菌）量により駆動されると考えられ、治療による抗原量の減少がT細胞応答を低下させるという証拠がいくつもある<sup>26)~29)</sup>。しかし一方では、治療後も変化しない、一貫性のない変化、あるいはT細胞応答が逆に増強するという研究報告もある<sup>31)~37)</sup>。このように、T細胞応答の動的性質を、特にこれはIGRAの解釈と関連するため、研究する必要がある。伝統的にツ反陽性は、潜在性結核感染の診断と定義に用い

### パネル1 生物学的側面と検査法の開発

#### 研究課題

1. IGRAによりどのタイプのT細胞が検出されているのか—エフェクターT細胞か、メモリーT細胞か？
2. IGRA陽性の結果は、どの程度「過去の感染」と「最近の感染」を反映しているか？
3. 新たな結核菌特異抗原の使用は、高特異度を損ねることなくT細胞を基礎とした検査法の感度を高めるのに有用か？
4. 新たな結核菌特異抗原（あるいはバイオマーカー）の使用は、潜在性結核感染と活動性結核を区別するのに有用か？
5. ツ反の試薬は改良可能か？ ESAT-6とCFP-10は皮膚検査試薬として使用できるか？
6. ツ反とIGRAの結果の不一致性の生物学的機序は何か？
7. 結核菌感染の後、IGRA陽性になるまでどの程度時間がかかるか？ 感染後、潜在性感染をどれだけ早く検出できるか？
8. 商品化されたIGRA (QuantiFERON<sup>®</sup>-TB GoldとT-SPOT<sup>®</sup>.TB)の直接比較における性能特性（例えば、感度や判定不可率）の違いは何か？
9. IGRAの最適な判定基準値を決定するための最善の方法は何か？ ハイリスク集団（例えばHIV感染者）において、IGRAの基準値をより低く設定する必要があるか？
10. 全リンパ球数と特異抗原に対するT細胞応答との相関は何か？ 全血を用いるIGRAの性能は、全リンパ球数の変動により影響されるのか？
11. マイトージェン（陽性コントロール）応答とIGRAの感度との間に相関はあるのか？ 強いマイトージェン応答を示す結核患者においては、IGRAの感度はより高いのか？
12. 血液検体処理の遅れが、どのようにIGRAの性能に影響を及ぼすか？ より長時間の培養はどのように検査感度に影響を及ぼすか？
13. T細胞応答に対する菌株タイプの影響は？ 特定の菌株の感染は、ESAT-6とCFP-10に対する免疫応答に影響するのか？
14. T細胞応答に対する宿主の遺伝学的因子の影響は何か？
15. 資源が制限されている状況においてIGRA実施の可能性を広げるため、IGRA技術を、例えば毛細血管採取のような血液量の少量化、あるいはイムノクロマト法等で、より簡素化ができないか？

られてきた<sup>38)</sup>。T細胞検査の出現により、潜在性結核感染の伝統的な定義を再考することが必要になるだろう。

多くの報告が、IGRAはより高特異度をもつことを示しているが、特に単一の結核菌抗原（例えば、ESAT-6）のみを使用した場合<sup>11) 13) 39)</sup>、IGRAはツ反より感度が低いかもしれないという懸念が幾分ある<sup>18) 24)</sup>。従って、T細胞を基礎とした検査の特異度を損なうことなく、感度を上昇させることのできる結核菌特異抗原の同定とその確認が必要とされる<sup>11) 17)</sup>。現在利用可能なIGRAは、潜在性感染と活動性結核を区別できない<sup>24)</sup>。従って、これらを区別できる新たな抗原やバイオマーカーの同定と確認が必要であり<sup>40) 41)</sup>、これは特に高蔓延地域では有用であろう。

市販のIGRAとその変法の範囲が広がっているため、性能の違いや実施の可能性を明らかにするために、同一対象集団において直接的に比較し評価する必要がある。これらの結果は出されつつあり、特定の用途や集団に対する適切な検査法を選定する際に大いに役立つであろう<sup>42)~44)</sup>。

最後に、IGRA技術の簡素化や、あるいは資源が限られたフィールドの状況下における適用性を高めるために他の方式を開発する必要がある。これは、改良型ツ反試薬（PPDが結核菌特異抗原混合物に置き換わる）や<sup>45)</sup>、IGRAの技術を簡素化（例えば、より少量の血液量を用いるラテラルフローディップスティック法等）が含まれる。

結核研究所では、課題7〔結核菌感染の後、IGRA陽性になるまでどの程度時間がかかるか。感染後、潜在性感染をどれだけ早く検出できるか〕について報告した<sup>ii)</sup>。これによると、最終接触から3カ月後の検査で、ほとんどの結核感染者がQFT-2G陽性になることが示唆された。しかし、対象者数が少数であるため、さらなる大規模な研究が必要と考えられる。また、結核研究所からは課題8〔商品化されたIGRA (QuantiFERON<sup>®</sup>-TB GoldとT-SPOT<sup>®</sup>.TB)の直接比較における性能特性（例えば、感度や判定不可率）の違いは何か〕についても既に報告しており<sup>iii)</sup>、他の研究と同様に感度はT-SPOTがより高く、特異度はQFT-2Gが優っていた。



## 2. ハイリスク集団と十分な研究が行われていない集団における検査性能

IGRAは多くの評価研究がなされているが、免疫抑制患者（例えばHIV感染、糖尿病、癌、腎不全、免疫抑制剤治療、臓器移植などの患者）、小児、老人、医療従事者、あるいは肺外結核や非結核性抗酸菌感染をもつようなハイリスク集団についての研究は数少ない。最近の報告では、IGRAはHIV感染者や免疫抑制患者<sup>46)~50)</sup>、小児<sup>51)~54)</sup>においても期待できることが示唆されているが、これらの集団における検査能力と可能性を確認するために、さらなる評価が緊急に必要なためである。

前述の集団の多くにおいてツ反はアネルギーのためにより感度が低下している可能性があるため、これに代わる検査法が緊急な優先事項である<sup>4)55)</sup>。これは高HIV蔓延状況下において、予防的治療の効果的な実施に対し重大な問題を引き起こしている。IGRAはツ反よりもアネルギーの影響を受けにくいという証拠はあるが、これは確認が必要とされる<sup>47)~50)</sup>。もしIGRAが免疫抑制状態の個人においても感度、特異度を保持するならば、IGRAは適切な予防的治療を指示し、また良い疫学的影響をもつ可能性がある。重度の免疫抑制状態にある個人に使用する際の臨床的な解釈を考えるために、免疫抑制の程度（例えば、CD4細胞数）とIGRAの「判定不可」（すなわち、陽性コントロールに対するT細胞不応答）との関連は、さらに研究する価値のある問題点である<sup>46)48)56)57)</sup>。抗原特異的アネルギーが起こることがあり、そのため結

核菌抗原に対する応答が必ずしも陽性コントロール（Mitogen）に対する応答と相関しないことがあることを認識することが重要である。

小児においては、細菌学的に確認された活動性結核の診断法の確立は困難である<sup>58)59)</sup>。結核感染の検査は2つの目的をもつ：①例えば、接触者健診や移民のスクリーニングの一環としての潜在性感染の診断、②他の検査と総合し活動性結核診断の裏付け、あるいは除外である。IGRAは小児においても実施可能であり、能力的にこれらの両目的のために有用であることが示されているが<sup>51)~54)60)</sup>、判定不可や採血の失敗についての懸念も残されている<sup>61)62)</sup>。特にHIV感染小児において、活動性結核を除外するための検査としてのIGRAの役割を確定する研究がさらに必要である<sup>22)</sup>。パネル2は、この領域のその他の研究課題を列挙している。

結核研究所では共同研究により、研究課題5〔肺外結核診断におけるT細胞を基礎とした検査の正確性と信頼性、および少菌型肺外結核においては、IGRA検査は正確さがより下がるか〕について報告し<sup>iv)</sup>、肺外結核診断においては、若干感度は低下するものの有用な診断法であることが示されている。

## 3. 危険予測とモデル化

ツ反の最も有利な点の一つは、ツ反の強さ別とか、様々な集団に対して多くのコホート研究により活動性結核への進展リスクが確立され、また臨床的状态と関連付け

### パネル2 ハイリスク集団と十分な研究が行われていない集団における検査性能 研究課題

1. 小児の活動性結核と潜在性結核感染の診断においてT細胞を基礎とした検査の精度と信頼性は？ 肺結核や重症/播種性結核の小児において、IGRAはより感度が低いのか？
2. HIV感染者の活動性結核と潜在性結核感染の診断において、T細胞を基礎とした検査の精度と信頼性は？ IGRAは、HIV感染者において前臨床期の結核を検出できるのか？ IGRAの使用は、HIV高蔓延集団における予防的治療の適応と有効性を高めるか？
3. HIV感染者において、T細胞を基礎とした検査はより多くの判定不可の結果を生じるか？ 免疫抑制の程度（例えば、CD4細胞数）と抗原特異的T細胞応答の間に相関はあるのか？
4. 免疫抑制的治療（例えば、TNF $\alpha$ 阻害剤、ステロイド）や他の免疫抑制状態（例えば、糖尿病、癌、腎不全、臓器移植）にある人の活動性結核と潜在性結核感染の診断において、T細胞を基礎とした検査の正確性と信頼性は？
5. 肺外結核診断におけるT細胞を基礎とした検査の正確性と信頼性は？ 少菌型肺外結核においては、T細胞検査の正確さはより低下するか？
6. 活動性結核の濃厚接触者において、T細胞を基礎とした検査は結核曝露との相関がツ反よりも強いのか？
7. 非結核性抗酸菌感染がIGRAに及ぼす影響は？
8. 免疫抑制の度合いとIGRAの判定不可、あるいは陰性結果との関連は？ アネルギーのIGRAに対する影響は？

られていることである<sup>9)</sup><sup>63)</sup><sup>64)</sup>。さらに多くの無作為化試験において、ツ反陽性者の治療は活動性結核のリスクを減少させている<sup>4)~6)</sup>。この豊富な研究的証拠は、ツ反検査の対象選定と潜在性感染治療のガイドラインに生かされている<sup>4)</sup>。現在、IGRAではこれに匹敵するデータはない。このように重要な未解決の問題点は、IGRAが最も活動性結核に進行する可能性が高く、それゆえ最も予防治療の恩恵を受けるべき潜在性感染者を見つける能力をもっているか否かである。結核患者の接触者において、ESAT-6に対するIFN- $\gamma$ 応答とその後の活動性結核への進行との相関について一つの小規模な研究を基にした限られたデータはあるが<sup>65)</sup>、IGRA陽性結果に対する予後の重要性はほとんど分かっていない。倫理的問題はあるものの、このきわめて重要な知識が欠落していることに取り組むために、大規模で長期的なコホート研究が緊急に必要である。

IGRAは潜在性結核感染を検出するために設計されているが、これらは活動性結核を除外する検査として役立つことが示唆されている。IGRAの成績が陰性であることにより感染の存在が除外され、その結果活動性結核を除外するために使える<sup>14)</sup><sup>17)</sup>。活動性結核に対するIGRAの陰性的中率を推定する研究が必要である。これは、特に従来の検査を用いて活動性結核の診断を確立するのが困難な特定の集団（例えば、塗抹陰性肺結核患者やHIV感染者）において有用であろう。

潜在性結核感染の診断に対する絶対基準 Gold Standardがないため、真の感染状態が分からない状況ではIGRAの感度と特異度、および潜在性結核の頻度を推定するために使える数学的モデルの技術を研究する必要がある<sup>66)</sup>。

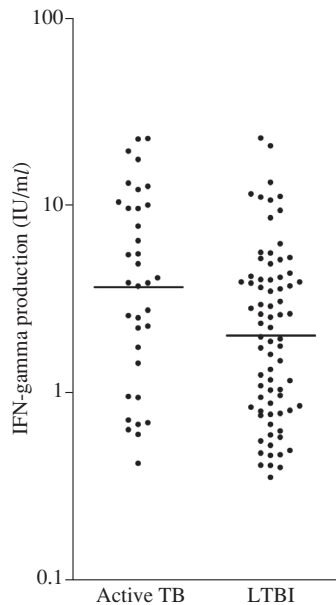
これは、混合分布モデル<sup>67)</sup>や潜在クラスモデル<sup>68)</sup>のようなベイズ法を含んでいる。モデル化は、またIGRAの判定基準値の決定にも有用であろう<sup>69)</sup>。ツ反と同様に、IGRAの結果は本来的に連続的であり、基準値はそれを2分割（注：陽性、陰性）の結果に変換するために使われる。しかし、ほとんどの研究はIGRAの結果を2分割の結果（注：本来は陽性も陰性も連続した数値を含有する）として解析しており、多様な集団における基準値の有効性の証明に関する研究は数少ない<sup>25)</sup>。ツ反の結果を解釈するために使われるリスクを階層化した基準値を支持する疫学的証拠はあるが<sup>4)</sup>、IGRAに関しては、そのようなデータは現在存在しない。このように、IGRAの閾値が多様な集団において有効であることを証明する必要がある。ツ反とIGRAの間で見られるいくつかの不一致性は、IFN- $\gamma$ の基準値をさらに検討し、ツ反とIGRAの結果を連続的結果として解析することにより一部解決されるかもしれない。パネル3は、この領域で考えられるその他の研究課題を列挙している。

研究課題2 [IFN- $\gamma$ 反応の絶対値の重要性と陽性的中率はどれぐらいか、およびIGRA陽性者において、IFN- $\gamma$ 反応のより高い、あるいは上昇する人は、潜在性感染から活動性病変により進行しやすいか] について、結核研究所ではIFN- $\gamma$ 産生量が多いほど結核発病リスクも高いという相関を報告した (Fig. 1)<sup>9)</sup>。しかし一方では、数値のバラツキもかなり大きいため、発病リスクを予測するcut-off値の設定は難しいと考えられる。

### パネル3 危険予測とモデル化

#### 研究課題

1. IGRAの陽性者と陰性者における活動性病変への進展のリスクはどれぐらいか？ 陽性のインターフェロン- $\gamma$ 応答をもつ人は、活動性病変へ進行するリスクが大きいのか、あるいは低いのか？ ツ反陽性と比較し、IGRA陽性の発病予測力はどれぐらいか？
2. インターフェロン- $\gamma$ 反応の絶対値の意義と発病予測力はどれぐらいか？ IGRA陽性者において、インターフェロン- $\gamma$ 応答のより高い、あるいは上昇する人は、潜在性感染から活動性病変により進行しやすいか？
3. 初期や前臨床期の結核を予測するIGRAの基準値を決定することは可能か？
4. 活動性結核を除外する検査としてIGRAの精度と役割は、どのようなものか？ 活動性結核に対するIGRAの陰性的中率はどの程度か？
5. 潜在性結核感染の絶対基準Gold Standardがない状況において、様々な集団でIGRAとツ反にとって適切な基準値を導き出す数学的モデルによるアプローチの役割は何か？
6. 潜在性結核感染の絶対基準Gold Standardがない状況において、IGRAの感度と特異度、また潜在性結核感染の蔓延度を決定するためのベイズ・モデルによるアプローチ（例えば、潜在感染クラスと混合理論モデル）の役割は何か？
7. IGRAの的中率を長期的に研究することに関連する倫理問題は何か？



**Fig. 1** Distribution of IFN- $\gamma$  production levels. The geometric mean (as shown by a bar) and the higher IFN- $\gamma$  production level in response either to ESAT-6 or CFP-10 of each individual in two groups are shown. One group including those who were QFT-G positive without developing TB (LTBI), and the other group including those who were QFT-G positive with developing TB (active TB). Geometric mean  $\pm$  SD for active TB was  $3.65 \pm 3.23$  ( $n=35$ ), and for LTBI was  $2.02 \pm 2.80$  ( $n=76$ ). P value of t-test for comparison of means =  $0.013^{vi}$ .

#### 4. 検査の再現性と連続的検査

結核は、医療従事者において重要な職業上の健康問題である<sup>70) 71)</sup>。潜在性結核感染のための医療従事者の定期的なスクリーニングは、結核対策上重要な要素である<sup>72)</sup>。よく分かっている制約に加え、連続的ツ反検査の解釈はブースター現象、陽転、陰転などのため非常に難しい<sup>63)</sup>。IGRAは、ツ反より特異度が高く、感作やブースター反応もなく繰り返し使え、再診が不要で二段階検査を必要としない点から連続検査に適した特性をもつ。しかし、短期間と長期間におけるIGRAの再現性、特に陽転や陰転が起こりえる連続試験における個体内での変動についてのデータはほとんどない。継時的変化と生物学的変動に関するデータなしでは、IGRAの結果を解釈することは難しい<sup>73)</sup>。

QFT-2Gは連続検査に推奨されているが<sup>18) 72)</sup>、この実施を支持するにはこれまでのデータでは限界がある。IFN- $\gamma$ が新たな感染(すなわち陽転)によりどの程度変化するのか、そしてこれと検査に関連した誤差や時間経過に伴う生物学的変化と区別する方法についてのデータ(すなわち再現性)は限られている。ツ反と同様にIGRAにおける連続検査での陽転、陰転、あるいは非特異的変

動について示した研究がひとつある<sup>73)</sup>。この研究は、連続検査におけるIFN- $\gamma$ の個体内変動、IGRAの陽転と陰転の頻度、および新たな感染と非特異的変動を区別する最適の閾値(基準値)に関する研究が必要であることを強調した<sup>73)</sup>。

連続検査に関連し、ツ反陽転はIFN- $\gamma$ 応答の強い上昇と相関しているという証拠はいくつかある。インドでの研究では、強い曝露後ツ反陽転した医療従事者が、ESAT-6とCFP-10に対して強いIFN- $\gamma$ 応答(QuantiFERON<sup>®</sup>-TB Gold In Tubeにより測定された)を示した<sup>73)</sup>。QuantiFERON<sup>®</sup>-TB Gold In Tubeは、ツ反陽転者すべてをうまく検出し、ツ反硬結が大きく増大したすべての医療従事者で、診断の基準値をはるかに凌ぐ非常に高いIFN- $\gamma$ 応答の上昇があった<sup>73)</sup>。家族内接触者におけるウガンダでの別の研究では、曝露された人達の間でツ反陽転とIFN- $\gamma$ 応答の上昇とが強く相関したことを報告している<sup>74)</sup>。このように、最近感染した人においては、活発な菌の増殖のために、非常に強くT細胞応答が上昇すると考えることは妥当であろう。ツ反陽転した人は活動性結核に進展する可能性が高いことが十分記載されているため<sup>63)</sup>、最近の感染後IFN- $\gamma$ 応答の顕著な上昇は活動性結核への進展の予測になるかもしれない。

また、陽性反応の生物学的変動(すなわち、それらが陽性検出限界、あるいは陽性基準値の上下でしばしば揺れ動くこと)と、このような変動の結果起こる陰転と偽陽性の頻度を区別するための研究が必要である。このように、連続検査におけるIGRAの役割をよりよく明らかにするためにコホート研究が必要である。パネル4は、この領域における特有の研究課題を列挙している。

研究課題4 [連続的ツ反とIGRAでスクリーニングされた医療従事者におけるIGRAとツ反陽転間の一貫性はどの程度あるか? 絶対的ツ反の変化幅とIFN- $\gamma$ レベル間の相関関係について] および研究課題5 [IGRA陰転はどのように定義されるべきか。どれくらい一般的に陰転は起こるか。陰転の臨床/疫学的意義は何か。治療、ベースラインIFN- $\gamma$ レベル、基準値周辺での変動等を含むIGRA陰転の要因との関係] について、結核研究所からはいくつかの報告を行った<sup>vi) vii)</sup>。研究課題4では、日本における医療従事者の結核感染スクリーニングにツ反二段階法とQFT-2G検査を用い、ツ反で感染と判断された者がQFT-2G検査では全員陰性という、両者間の大きな乖離が見られている。また、研究課題5に関してはQFT-2G陽性者が年間3.2%の割合で陰転するという観察を報告した。

#### 5. 治療期間中のT細胞応答と治療モニターにおける役割

もうひとつ議論の的となる課題は、活動性結核や潜在



性感染の治療期間中と終了後の T細胞応答の動態である。この問題は、十分に明らかにされていない T細胞検査結果と菌量間の相関性と密接に重なる<sup>26)~29)</sup>。他でレビューされたように<sup>13) 14)</sup>、いくつかの研究は治療後の低下を示している（主に ELISPOT 検査による）が、別の研究では治療期間中における反応は変化しないとか、不安定であるとか、さらには上昇するなど報告している。病気の重篤度、検査の再現性、培養時間、抗原（タンパク対ペプチド）、エンドトキシンの混入、非結核性抗酸菌感染、あるいは検査方式における違いがこれらいくつかの相違を説明するかもしれない<sup>17)</sup>。証明されていないが、T細胞を基礎とした検査はツ反より潜在性結核感

染の定量的で動的な評価を反映するものかもしれないという証拠が出されつつあり、そしてこの可能性は新たなワクチンや治療薬の作用を研究するために利用されるかもしれない<sup>28) 73) 75) 76)</sup>。

全般的に言えば、IGRA が潜在的結核感染と活動性結核の治療のモニターとして使用できるか否を判断するためには、さらなる研究が必要である。もし使用できることが証明されれば、IGRA は新たな薬剤や治療の評価において長期間の効果の代理マーカーとして役立つであろう。パネル 5 はこの領域での研究課題を列挙している。

研究課題 2〔潜在性結核感染の治療期間中と終了後に T

#### パネル 4 検査の再現性と連続的検査

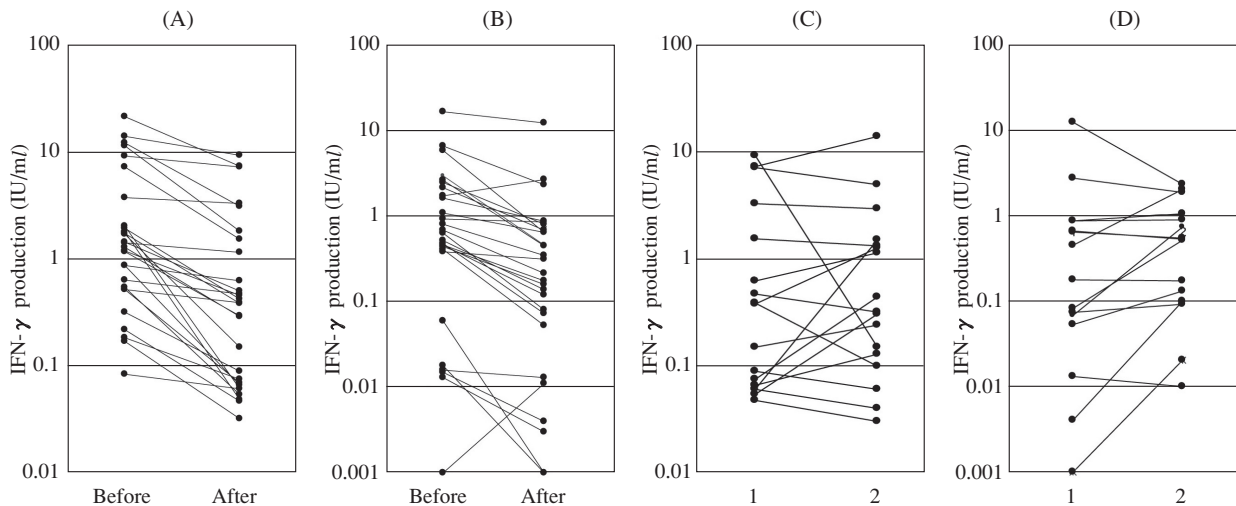
##### 研究課題

1. T細胞応答における検査に関連した変動要因—例えば、検査実施者、検査室、検体処理間隔、培養時間、抗原（タンパク対ペプチド）、検査方式（ELISA 対 ELISPOT）、新鮮検体対凍結検体（ELISPOT のために）—は何か？
2. 結核曝露がない状況下で、IFN- $\gamma$  レベルの日・週・あるいは月単位の変動を含む、同一個人における時間経過に伴う IFN- $\gamma$  応答の偶然変動あるいは生物学的要因による変動はどの程度か？
3. IGRA による医療従事者への連続的検査に対し、本当の感染（すなわち陽転）と非特異的なランダムな変動を区別するための IFN- $\gamma$  の判定基準（閾値）はどれが最適か？
4. 連続的ツ反と IGRA でスクリーニングされる医療従事者において、IGRA とツ反陽転間の一致性はどの程度か？ 絶対的ツ反応答の変化と IFN- $\gamma$  のレベル間の相関関係はどの程度か？
5. IGRA 陰転はどのように定義されるべきか、どの程度一般的に陰転は起こるか、そして陰転の臨床/疫学的意義は何か？ 治療、ベースライン IFN- $\gamma$  レベル、判定基準値周辺での変動等を含めてどのような要因が IGRA 陰転と関係しているか？
6. ツ反が以降の IGRA の結果に及ぼす影響は何か—例えば、ツ反が以降の IGRA の結果を増幅するか？
7. ツ反と IGRA 間の不一致が起きた場合、全体的不一致のどれだけの割合がツ反と IGRA の判定基準値周辺の変動により起きるか？ 不一致例を再検査した場合、どの程度の割合で一致するか？
8. 連続的検査において T細胞応答が強く増加している人は、より活動性結核に進行する可能性が高いか？ 強い増加はより最近の感染で見られるものか？

#### パネル 5 治療期間中の T細胞応答と治療モニターにおける役割

##### 研究課題

1. 菌量と T細胞応答の間に相関はあるか？
2. 潜在性結核感染の治療期間中と終了後に T細胞応答がどのように変化するか？ 宿主、病気、あるいは検査法の特性等の、どのような因子が治療後の応答の変動に影響を及ぼすか？
3. 活動性結核の治療期間中と終了後に T細胞応答がどのように変化するか？ 宿主、病気、あるいは検査法の特性等の、どのような因子が治療後の応答の変動に影響を及ぼすか？
4. T細胞を基礎とした検査は、潜在性感染や活動性結核の治療に対する応答をモニターするうえで有益な役割を果たすか？
5. 治療初期の T細胞応答調整の失敗は、その後の再発を予測するか？
6. IGRA 陽性者の治療は将来の活動性結核の確率を減少させるか？
7. 潜在性感染および活動性結核の両者の治療後、IGRA は新たな感染を検出する能力があるか？



**Fig. 2** IFN- $\gamma$  responses before and after chemotherapy. IFN- $\gamma$  levels measured before and immediately after chemotherapy by QFT-G for ESAT-6 (A) and CFP-10 (B) are plotted for each individual. IFN- $\gamma$  responses to ESAT-6 and CFP-10 were significantly decreased after chemotherapy (geometric mean of ESAT-6 changing from 1.398 to 0.362, with p of Wilcoxon's rank test being 0.000 [ $Z = -4.623$ ], and that for CFP-10, from 0.312 to 0.120, with  $p = 0.000$  [ $Z = 4.623$ ]). IFN- $\gamma$  levels measured immediately after chemotherapy and 18 months after chemotherapy by QFT-G for ESAT-6 (C) and CFP-10 (D) are plotted for each individual. The IFN- $\gamma$  responses to ESAT-6 and CFP-10 in the QFT-G test did not decline compared with those at the completion of INH chemotherapy (geometric mean of ESAT-6 changing from 0.381 to 0.442, with p of Wilcoxon's signed rank test being 0.332 [ $Z = 0.970$ ], and that for CFP-10, from 0.087 to 0.192, with  $p = 0.344$  [ $Z = 0.947$ ]).<sup>viii)</sup>

細胞応答がどのように変化するか。宿主、病気、あるいは検査法の特性等の、どのような因子が治療後の応答変動に影響を及ぼすか) に関して、結核研究所では集団感染2事例に基づいて検討をした<sup>viii)</sup>。潜在性結核感染治療前と終了直後のIFN- $\gamma$ 量を比較すると、治療終了後では統計学的に有意の低下が見られた。しかし、QFT-2Gの陰性化という視点で見ると、2事例とも20~30%の対象者が陰性化したにすぎなかった (Fig. 2)。さらに、治療終了後1年から1年半後の再検査でも、陰性化率の上昇は見られなかった。このように、潜在性結核感染治療の成功をQFT-2Gの陰性化と定義すると、QFT-2Gは治療のモニターには適していないことが示された。

## 6. 疫学とフィールドへの応用

疫学研究は、地域における疾病負担とリスク因子の理解に寄与しており、特定対象への介入の影響を評価することを可能にする<sup>77)</sup>。歴史的にツ反は、これらの目的にとって有用であることが証明されている。ツ反を用いた地域調査は、ほとんどが高蔓延国における潜在的結核感染の拡がりや年間結核感染危険率を見積もるために使われた<sup>67) 77) ~ 80)</sup>。今までのところ、IGRAを用いたこのような地域調査は行われていない。特にBCG接種が高度に普及している集団において、IGRAの高特異度は重要な利点であるが、現場では検査室の人員、インフラ、そして採血、特に対象者が小児の場合は重大な実施上の制

限となっている<sup>62) 67)</sup>。

現在まで、IGRAについてのほとんどの研究は低蔓延国で行われており、高蔓延国で行われた少数の研究は低蔓延国で行われた研究で得られた知見とは一致しないことを報告している<sup>43) 51) 81) 82)</sup>。このように、集団、背景となる有病率や、HIV有病率、栄養不良、BCG接種、非結核性抗酸菌感染、ハンセン病、免疫反応を変化させる可能性のある蠕虫や他の熱帯病といったその他の因子により、T細胞検査の性能は変動するかもしれない<sup>17) 83)</sup>。従って、地理的に多様で結核蔓延の状況において、とくにT細胞を基礎とした検査を使用することで最も利益を得る可能性のある患者や特定集団に対してさらなる研究を進めることが必要である。らい菌、あるいは*M.kansasii*や*M.marinum*等の非結核性抗酸菌はESAT-6とCFP-10の相同タンパクをもっているが、これらの菌のIGRA偽陽性への影響を評価するために、高蔓延で熱帯国における研究が必要であろう<sup>84) ~ 87)</sup>。パネル6は、この分野におけるその他の研究課題を列挙している。

## 7. 保健システム、戦略研究および経済学的研究

IGRAの受け入れに対する一つの律速因子は、特に高蔓延で資源が限られている国においては、材料費が高く、検査室のインフラと訓練された職員を必要とする点であろう。公衆衛生や通常の臨床的環境条件におけるIGRAの役割をよりよく示すためには、経済的評価と決



### パネル6 疫学とフィールドへの応用

#### 研究課題

1. IGRAは、年間結核感染危険率を推定するためにフィールド調査に使用できるか？ それらは地域ベースの蔓延率調査のために使用できるか？
2. ツ反とIGRAを組み合わせて使用するふり分け—例えば最初のふり分けにツ反を用い、陽性をIGRAで確認する—の精度と有用性は？
3. 結核高蔓延と低蔓延状況の間でIGRAの性能はどのように変化するか？ 地理的な違いに加え、IGRAの性能における人種的/民族的な違いがあるのか？
4. 熱帯の結核高蔓延状況において、栄養失調、BCG接種、非結核性抗酸菌感染、ハンセン病、蠕虫感染症のような免疫系を変調する要因が、T細胞を基礎とする検査にどのように影響するのか？
5. ワクチンの臨床試験において、IGRAが防御免疫と相関しているのか？ これらは、「ワクチンがついた」状態を測るのに使用できるか？ これらは、ワクチンの臨床試験におけるフォローアップで活動性結核症例を診断するのに有用か？
6. 高蔓延である途上国において、どのような患者や人口内の特定集団—例えば、HIV感染者、5歳未満の小児、接触者、医療従事者、ツ反に対しアレルギーである可能性が最も高い人々—が、最もT細胞を基礎とする検査の利益を得るか？
7. 研究者はIGRAを用い、例えば結核感染の世界的蔓延度、結核発病の生涯危険率、新規の塗抹陽性結核例の発生率と年間感染危険率の比に関するStybloの法則などのような伝統的な結核疫学で使われているいくつかの率や比の推定値を再検討し、修正することができるか？
8. IGRAの結果は、結核蔓延度や感染危険率の調査においてツ反の判定基準値を改善するために利用できるか？

### パネル7 保健システム、戦略研究および経済学的研究

#### 研究課題

1. いろいろなスクリーニングプログラム—例えば移民の検診、接触者健診、医療従事者への連続テスト等—に対する経済学および意思決定分析において、IGRAとツ反の違いはどうか？
2. 検査室や診療所の作業負担、職員の作業負担、対策経費、患者の便宜、検査と追跡へのコンプライアンス等に対して、ツ反からIGRAへの変更がどのように影響するか？
3. 広く様々なスクリーニングの対象となる集団—例えば接触者、移民、HIV感染者、医療従事者等—へIGRAはどの程度受け入れられるか？
4. 世界的な結核対策に関して、潜在性結核感染診断と治療がどのような効果を及ぼすか？ 潜在性結核感染診断法のどのような特性がこの効果を強めるか？
5. 発展途上国においてIGRAのような新しいツールの実施を可能にするうえで、どのような資源が検査室の能力を増やすために必要か？

定分析が必要である（パネル7）。少なくともある条件下においては、ロジスティック面での利便性と高度に特異的な血液検査の利点は、高価格を凌ぐ可能性がある<sup>88)</sup>。ツ反とIGRAを組み合わせた混成方式が、より費用効果が高いことも示唆されている<sup>19) 89) 90)</sup>。これを確認するために、さらなる研究が必要である。対策計画の観点から、IGRAのような新たな手法を実施可能にするため、開発途上国における検査室の能力を高めるには、どのような資源が必要か判断することが必須である。これと並行して、改良された潜在性結核感染診断と治療が世界的結核負担に及ぼす潜在的効果と、結核根絶の目標を支援することにおける、これら検査の役割を予測するためのモデ

ル化が必要である。

ツ反とIGRAの組み合わせ方式に関しては、結核研究所からも同様の報告を行っている<sup>x)</sup>。

#### 8. 資源が限定されたHIV高蔓延状況での優先目標

結核低蔓延の状況では、潜在性結核感染の発見と治療は結核対策の重要な要素の一つである<sup>4) 91)</sup>。しかし、高蔓延の状況では、活動性結核症例の診断と治療が最優先であり<sup>92)</sup>、潜在性結核感染診断の役割は現状では限られている。しかし、世界的なDOTSの急速な広がりにより、活動性結核症例の割合が減少しているので、潜在性結核

感染診断と治療は結核根絶のために2050年までに公衆衛生の問題としてますます重要になるであろう。さらに、Global Plan to Stop TB, 2006-2015に述べられたように<sup>93)</sup>、HIV高蔓延状況下における潜在性結核感染の制圧は、DOTS拡大と結核/HIVの予防・治療パッケージの提供と並んで、結核制圧さらには結核根絶のために最重要のものになるであろう。このような状況下において、IGRAの使用に関する未解決の問題に取り組むために研究を促進させ、また世界的な結核とHIVの流行に対する改善された潜在性結核感染管理の効果について、よりよく理解するためにモデル化の研究が行われるべきである。

現行IGRA検査方式の簡易化、官民連携や協同<sup>94)</sup><sup>95)</sup>あるいは大量購入を通じての価格の低減は、結核高負担状況において、特に小児、HIV感染者、感染性結核症例の接触者のような特定集団でのIGRAの受け入れの可能性を大きくするであろう。加えて、もしIGRAがツ反よりも活動性結核をよく予測することが示されたなら、結核の診断と治療に対する人類の取り組みに革命を起こす可能性を含みつつ、IGRAの使用は指数関数的に拡大すると期待される。

IGRAは、また特に疫学研究において有益な研究手段となりえるであろう。ほぼ100年にわたり、研究者は潜在性結核感染の研究にたった一つの検査法に頼っていた。今やIGRAは、潜在性結核感染の生物学および疫学に2番目の手段を与え、研究者はIGRAを用い、特にHIV高蔓延状況下における、世界の結核感染の蔓延率<sup>1)78)96)</sup>、感染後の結核発病の生涯危険率<sup>64)91)</sup>、新規塗抹陽性結核例の罹患率と感染年間危険率関連に関するStybloの法則<sup>97)</sup>といった伝統的な結核疫学で使われているいくつかの率やリスクの推定を再検討し修正することができるかもしれない。これらのリスクの推定は、HIV流行以前にツ反のような検査法を用いて行われたため、HIV流行が結核流行の過程に及ぼした影響の観点から改定する必要がある<sup>2)80)</sup>。これらの重要な疫学的パラメーターの正確な推定は、世界的な結核/HIV負担のよりよいサーベイランスと監視を可能にし、政策立案者が新たな世界的結核対策の効果を評価できるようにするであろう<sup>98)</sup>。

## 9. 結 論

潜在性結核感染と活動性結核の正確かつ迅速な診断法の欠如は、効果的な結核対策にとって大きな障害である<sup>94)95)99)</sup>。Stop TB Partnership, WHO, FINDあるいはBill & Melinda Gates Foundationのような機関の取り組みが、新たな結核診断法の開発に対する関心の回復をもたらした<sup>94)95)100)</sup>。実際、新たな手法の開発と既存の手法の評価が、Global Plan to Stop TB, 2006-2015<sup>93)</sup>とStop TB (2006)<sup>98)</sup>

の新たな世界戦略の中で顕著に目立っている。このように、IGRAのような新たな手法の出現は、潜在性結核感染の診断手段を初めて拡大させたものであり、喜ばしい進展である。臨床的使用に加え、これらの検査は潜在性結核感染とその疫学に関する人類の知識を進歩させるための研究手段として非常に有望である。ここに提唱された研究課題は、特にHIV流行状況下において、結核対策上潜在性結核感染診断法の適切でかつ最も可能性のある利用法を確実にするために、注目に値する重要な研究上の問題を包括的に編纂したものである。この指針は、重点的で高い影響力をもつ研究を刺激することによりこの分野に進歩をもたらし、より広範な研究者や研究機関の連携を推進することを目的としている。これはまた、特に結核とHIVが蔓延し資源が限られている状況において、非常に重要で潜在的影響力をもつ研究課題に取り組むために必要とされる資源の投資を促進するであろう。

なお、これらIGRAsに関する研究課題の討議が行われた2006年3月以降、現在まで300以上もの各分野における論文が報告されており非常に活発な研究領域であるため、今後いくつかの研究課題についての解答が得られるものと期待される。

## 文 献

- 1) Dye C, Scheele S, Dolin P, et al.: Consensus statement. Global burden of tuberculosis: estimated incidence, prevalence, and mortality by country. WHO Global Surveillance and Monitoring Project. JAMA. 1999; 282: 677-686.
- 2) Corbett EL, Watt CJ, Walker N, et al.: The growing burden of tuberculosis: global trends and interactions with the HIV epidemic. Arch Intern Med. 2003; 163: 1009-1021.
- 3) WHO: Global tuberculosis control. Surveillance, planning, financing. WHO Report 2005. Geneva: World Health Organization, 2005.
- 4) American Thoracic Society: Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. Am J Respir Crit Care Med. 2000; 161: S221-247.
- 5) Comstock GW: How much isoniazid is needed for prevention of tuberculosis among immunocompetent adults? Int J Tuberc Lung Dis. 1999; 3: 847-850.
- 6) Ferebee SH: Controlled chemoprophylaxis trials in tuberculosis. A general review. Bibl Tuberc. 1970; 26: 28-106.
- 7) Woldehanna S, Volmink J: Treatment of latent tuberculosis infection in HIV infected persons. Cochrane Database Syst Rev. 2004; 1: CD000171.
- 8) Huebner RE, Schein MF, Bass JB Jr: The tuberculin skin test. Clin Infect Dis. 1993; 17: 968-975.
- 9) Menzies RI: Tuberculin skin testing. In: Tuberculosis: a comprehensive international approach, Reichman LB, Hershfield ES, eds., Marcel Dekker, New York, 2000, 279-322.
- 10) Farhat M, Greenaway C, Pai M, et al.: False-positive tuber-

- culin skin tests: what is the absolute effect of BCG and non-tuberculous mycobacteria? *Int J Tuberc Lung Dis.* 2006 ; 10 : 1192–1204.
- 11) Andersen P, Munk ME, Pollock JM, et al.: Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. *Lancet.* 2000 ; 356 : 1099–1104.
  - 12) Menzies D, Pai M, Comstock G: Meta-analysis: new tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection: areas of uncertainty and recommendations for research. *Ann Intern Med.* 2007 ; 146 : 340–354.
  - 13) Pai M, Riley LW, Colford JM Jr: Interferon-gamma assays in the immunodiagnosis of tuberculosis: a systematic review. *Lancet Infect Dis.* 2004 ; 4 : 761–776.
  - 14) Dheda K, Udawadia ZF, Huggett JF, et al.: Utility of the antigen-specific interferon-gamma assay for the management of tuberculosis. *Curr Opin Pulm Med.* 2005 ; 11 : 195–202.
  - 15) Rothel JS, Andersen P: Diagnosis of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection: is the demise of the Mantoux test imminent? *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2005 ; 3 : 981–993.
  - 16) Hauer B, Loddenkemper R, Detjen A, et al.: Interferon-gamma assays — description and assessment of a new tool in the diagnosis of tuberculosis. *Pneumologie.* 2006 ; 60 : 29–44.
  - 17) Pai M, Kalantri S, Dheda K: New tools and emerging technologies for the diagnosis of tuberculosis: part II. Active tuberculosis and drug resistance. *Expert Rev Mol Diagn.* 2006 ; 6 : 413–422.
  - 18) Mazurek GH, Jereb J, Lobue P, et al.: Guidelines for using the QuantiFERON-TB Gold test for detecting *Mycobacterium tuberculosis* infection, United States. *MMWR Recomm Rep.* 2005 ; 54 (RR-15) : 49–55.
  - 19) NICE. Clinical guideline 33. Tuberculosis: clinical diagnosis and management of tuberculosis, and measures for its prevention and control. London: National Institute for Health and Clinical Excellence, 2006. <http://www.nice.org.uk/page.aspx?0=CG033NICEguideline> (accessed Feb 22, 2007)
  - 20) Nahid P, Pai M, Hopewell PC: Advances in the diagnosis and treatment of tuberculosis. *Proc Am Thorac Soc.* 2006 ; 3 : 103–110.
  - 21) Brodie D, Schluger NW: The diagnosis of tuberculosis. *Clin Chest Med.* 2005 ; 26 : 247–271, vi.
  - 22) Starke JR: Interferon-gamma release assays for diagnosis of tuberculosis infection in children. *Pediatr Infect Dis J.* 2006 ; 25 : 941–942.
  - 23) Connell TG, Rangaka MX, Curtis N, et al.: QuantiFERON-TB Gold: state of the art for the diagnosis of tuberculosis infection? *Expert Rev Mol Diagn.* 2006 ; 6 : 663–677.
  - 24) Pai M, Menzies D: Interferon-gamma release assays: what is their role in the diagnosis of active tuberculosis? *Clin Infect Dis.* 2007 ; 44 : 74–77.
  - 25) Pai M, Kalantri S, Menzies D: Discordance between tuberculin skin test and interferon-gamma assays. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2006 ; 10 : 942–943.
  - 26) Lalvani A: Counting antigen-specific T cells: a new approach for monitoring response to tuberculosis treatment? *Clin Infect Dis.* 2004 ; 38 : 757–759.
  - 27) Carrara S, Vincenti D, Petrosillo N, et al.: Use of a T cell-based assay for monitoring efficacy of antituberculosis therapy. *Clin Infect Dis.* 2004 ; 38 : 754–756.
  - 28) Aiken AM, Hill PC, Fox A, et al.: Reversion of the ELISPOT test after treatment in Gambian tuberculosis cases. *BMC Infect Dis.* 2006 ; 6 : 66.
  - 29) Pathan AA, Wilkinson KA, Klenerman P, et al.: Direct ex vivo analysis of antigen-specific IFN-gamma-secreting CD4 T cells in *Mycobacterium tuberculosis*-infected individuals: associations with clinical disease state and effect of treatment. *J Immunol.* 2001 ; 167 : 5217–5225.
  - 30) Leyten EM, Mulder B, Prins C, et al.: Use of enzyme-linked immunospot assay with *Mycobacterium tuberculosis*-specific peptides for diagnosis of recent infection with *M. tuberculosis* after accidental laboratory exposure. *J Clin Microbiol.* 2006 ; 44 : 1197–1201.
  - 31) Wu-Hsieh BA, Chen CK, Chang JH, et al.: Long-lived immune response to early secretory antigenic target 6 in individuals who had recovered from tuberculosis. *Clin Infect Dis.* 2001 ; 33 : 1336–1340.
  - 32) Ferrand RA, Bothamley GH, Whelan A, et al.: Interferon-gamma responses to ESAT-6 in tuberculosis patients early into and after anti-tuberculosis treatment. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2005 ; 9 : 1034–1039.
  - 33) Pai M, Joshi R, Dogra S, et al.: Persistently elevated T cell interferon-gamma responses after treatment for latent tuberculosis infection among health care workers in India: a preliminary report. *J Occup Med Toxicol.* 2006 ; 1 : 7.
  - 34) Pai M, Joshi R, Bandyopadhyay M, et al.: Sensitivity of a whole-blood interferon-gamma assay among patients with pulmonary tuberculosis and variations in T-cell responses during anti-tuberculosis treatment. *Infection.* 2007 ; 35 : 98–103.
  - 35) Ulrichs T, Anding R, Kaufmann SH, et al.: Numbers of IFN-gamma-producing cells against ESAT-6 increase in tuberculosis patients during chemotherapy. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2000 ; 4 : 1181–1183.
  - 36) Vekemans J, Lienhardt C, Sillah JS, et al.: Tuberculosis contacts but not patients have higher gamma interferon responses to ESAT-6 than do community controls in The Gambia. *Infect Immun.* 2001 ; 69 : 6554–6557.
  - 37) Chee CB, KhinMar KW, Gan SH, et al.: Latent tuberculosis infection treatment and T-cell responses to *Mycobacterium tuberculosis*-specific antigens. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007 ; 175 : 282–287.
  - 38) American Thoracic Society: Diagnostic standard and classification of tuberculosis in adults and children. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000 ; 161 : 1376–1395.
  - 39) Pai M, Riley LW, Colford JM Jr: Interferon-gamma assays in the diagnosis of tuberculosis: impact of antigens on diagnostic accuracy. *Proc Am Thorac Soc.* 2005 ; 2 : A270.



- 40) Demissie A, Leyten EM, Abebe M, et al.: Recognition of stage-specific mycobacterial antigens differentiates between acute and latent infections with *Mycobacterium tuberculosis*. Clin Vaccine Immunol. 2006; 13: 179–186.
- 41) Leyten EM, Lin MY, Franken KL, et al.: Human T-cell responses to 25 novel antigens encoded by genes of the dormancy regulon of *Mycobacterium tuberculosis*. Microbes Infect. 2006; 8: 2052–2060.
- 42) Lee JY, Choi HJ, Park IN, et al.: Comparison of two commercial interferon-gamma assays for diagnosing *Mycobacterium tuberculosis* infection. Eur Respir J. 2006; 28: 24–30.
- 43) Mahomed H, Hughes EJ, Hawkrige T, et al.: Comparison of mantoux skin test with three generations of a whole blood IFN-gamma assay for tuberculosis infection. Int J Tuberc Lung Dis. 2006; 10: 310–316.
- 44) 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.
- 45) Aggerbeck H, Madsen SM: Safety of ESAT-6. Tuberculosis. 2006; 86: 363–373.
- 46) 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.
- 47) 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.
- 48) 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.
- 49) Passalent L, Khan K, Richardson R, et al.: Detecting latent tuberculosis infection in hemodialysis patients: a head-to-head comparison of the T-SPOT.TB test, tuberculin skin test, and an expert physician panel. Clin J Am Soc Nephrol. 2007; 2: 68–73.
- 50) Piana F, Codecasa LR, Cavallerio P, et al.: Use of a T-cell-based test for detection of tuberculosis infection among immunocompromised patients. Eur Respir J. 2006; 28: 31–34.
- 51) Dogra S, Narang P, Mendiratta DK, et al.: Comparison of a whole blood interferon-gamma assay with tuberculin skin testing for the detection of tuberculosis infection in hospitalized children in rural India. J Infect. 2007; 54: 267–276.
- 52) 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.
- 53) Nicol MP, Pienaar D, Wood K, et al.: Enzyme-linked immunospot assay responses to early secretory antigenic target 6, culture filtrate protein 10, and purified protein derivative among children with tuberculosis: implications for diagnosis and monitoring of therapy. Clin Infect Dis. 2005; 40: 1301–1308.
- 54) Nakaoka H, Lawson L, Squire SB, et al.: Risk for tuberculosis among children. Emerg Infect Dis. 2006; 12: 1383–1388.
- 55) Pesanti EL: The negative tuberculin test. Tuberculin, HIV, and anergy panels. Am J Respir Crit Care Med. 1994; 149: 1699–1709.
- 56) Ferrara G, Losi M, Meacci M, et al.: Routine hospital use of a new commercial whole blood interferon-gamma assay for the diagnosis of tuberculosis infection. Am J Respir Crit Care Med. 2005; 172: 631–635.
- 57) Pai M, Lewinsohn DM: Interferon-gamma assays for tuberculosis: is anergy the Achilles' heel? Am J Respir Crit Care Med. 2005; 172: 519–521.
- 58) Marais BJ, Gie RP, Schaaf HS, et al.: Childhood pulmonary tuberculosis: old wisdom and new challenges. Am J Respir Crit Care Med. 2006; 173: 1078–1090.
- 59) Nelson LJ, Wells CD: Tuberculosis in children: considerations for children from developing countries. Semin Pediatr Infect Dis. 2004; 15: 150–154.
- 60) Ewer K, Deeks J, Alvarez L, et al.: Comparison of T-cell-based assay with tuberculin skin test for diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection in a school tuberculosis outbreak. Lancet. 2003; 361: 1168–1173.
- 61) Connell TG, Curtis N, Ranganathan SC, et al.: Performance of a whole blood interferon gamma assay for detecting latent infection with *Mycobacterium tuberculosis* in children. Thorax. 2006; 61: 616–620.
- 62) Tsiouris SJ, Austin J, Toro P, et al.: Results of a tuberculosis-specific IFN-gamma assay in children at high risk for tuberculosis infection. Int J Tuberc Lung Dis. 2006; 10: 939–941.
- 63) Menzies D: Interpretation of repeated tuberculin tests. Boosting, conversion, and reversion. Am J Respir Crit Care Med. 1999; 159: 15–21.
- 64) Comstock GW, Livesay VT, Woolpert SF: The prognosis of a positive tuberculin reaction in childhood and adolescence. Am J Epidemiol. 1974; 99: 131–138.
- 65) Doherty TM, Demissie A, Olobo J, et al.: Immune responses to the *Mycobacterium tuberculosis*-specific antigen ESAT-6 signal subclinical infection among contacts of tuberculosis patients. J Clin Microbiol. 2002; 40: 704–706.
- 66) Pai M, Dendukuri N, Wang L, et al.: Estimation of prevalence of tuberculosis infection among Indian health care workers: comparison of conventional and model-based approaches. Int J Tuberc Lung Dis. 2006; 10 (11 suppl 1): S102–03.
- 67) Rieder H: Annual risk of infection with *Mycobacterium tuberculosis*. Eur Respir J. 2005; 25: 181–185.
- 68) Walter SD, Irwig LM: Estimation of test error rates, disease prevalence and relative risk from misclassified data: a review. J Clin Epidemiol. 1988; 41: 923–937.
- 69) Jeffries DJ, Hill PC, Fox A, et al.: Identifying ELISPOT and skin test cut-offs for diagnosis of *Mycobacterium tubercu-*

- losis* infection in The Gambia. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2006 ; 10 : 192–198.
- 70) Menzies D, Joshi R, Pai M: Risk of tuberculosis infection and disease associated with work in health care settings. *Int J Tuberc Lung Dis.* (in press)
  - 71) Joshi R, Reingold AL, Menzies D, et al.: Tuberculosis among health-care workers in low- and middle-income countries: a systematic review. *PLoS Med.* 2006 ; 3 : e494.
  - 72) Jensen PA, Lambert LA, Iademarco MF, et al.: Guidelines for preventing the transmission of *Mycobacterium tuberculosis* in health-care settings, 2005. *MMWR Recomm Rep.* 2005 ; 54 (RR-17) : 1–141.
  - 73) Pai M, Joshi R, Dogra S, et al.: Serial testing of health care workers for tuberculosis using interferon-gamma assay. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006 ; 174 : 349–355.
  - 74) Whalen CC, Chiunda A, Zalwango S, et al.: Immune correlates of acute *Mycobacterium tuberculosis* infection in household contacts in Kampala, Uganda. *Am J Trop Med Hyg.* 2006 ; 75 : 55–61.
  - 75) Ewer K, Millington KA, Deeks JJ, et al.: Dynamic antigen-specific T-cell responses after point-source exposure to *Mycobacterium tuberculosis*. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006 ; 174 : 831–839.
  - 76) Nardell EA, Wallis RS: Here today—gone tomorrow: the case for transient acute tuberculosis infection. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006 ; 174 : 734–735.
  - 77) Rieder HL: *Epidemiologic basis of tuberculosis control.* Paris: International Union Against Tuberculosis and Lung Disease, 1999.
  - 78) Cauthen GM, Pio A, ten Dam HG: *Annual risk of tuberculous infection.* Geneva: World Health Organization, 1988.
  - 79) Arnadottir T, Rieder HL, Trébucq A, et al.: Guidelines for conducting tuberculin skin test surveys in high prevalence countries. *Tuber Lung Dis.* 1996 ; 77 Suppl 1 : 1–19.
  - 80) Borgdorff MW: Annual risk of tuberculosis infection: time for an update? *Bull World Health Organ.* 2002 ; 80 : 501–502.
  - 81) Hill PC, Brookes RH, Fox A, et al.: Large-scale evaluation of enzyme-linked immunospot assay and skin test for diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection against a gradient of exposure in The Gambia. *Clin Infect Dis.* 2004 ; 38 : 966–973.
  - 82) Pai M, Gokhale K, Joshi R, et al.: *Mycobacterium tuberculosis* infection in health care workers in rural India: comparison of a whole-blood interferon gamma assay with tuberculin skin testing. *JAMA.* 2005 ; 293 : 2746–2755.
  - 83) Rook GA, Dheda K, Zumla A: Immune systems in developed and developing countries; implications for the design of vaccines that will work where BCG does not. *Tuberculosis.* 2006 ; 86 : 152–162.
  - 84) Arend SM, de Haas P, Leyten E, et al.: ESAT-6 and CFP-10 in clinical versus environmental isolates of *Mycobacterium kansasii*. *J Infect Dis.* 2005 ; 191 : 1301–1310.
  - 85) Arend SM, van Meijgaarden KE, de Boer K, et al.: Tuberculin skin testing and in vitro T cell responses to ESAT-6 and culture filtrate protein 10 after infection with *Mycobacterium marinum* or *M.kansasii*. *J Infect Dis.* 2002 ; 186 : 1797–1807.
  - 86) Geluk A, van Meijgaarden KE, Franken KL, et al.: Identification and characterization of the ESAT-6 homologue of *Mycobacterium leprae* and T-cell cross-reactivity with *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun.* 2002 ; 70 : 2544–2548.
  - 87) Geluk A, van Meijgaarden KE, Franken KL, et al.: Immunological crossreactivity of the *Mycobacterium leprae* CFP-10 with its homologue in *Mycobacterium tuberculosis*. *Scand J Immunol.* 2004 ; 59 : 66–70.
  - 88) Dewan PK, Grinsdale J, Liska S, et al.: Feasibility, acceptability, and cost of tuberculosis testing by whole-blood interferon-gamma assay. *BMC Infect Dis.* 2006 ; 6 : 47.
  - 89) Diel R, Nienhaus A, Lange C, et al.: Cost-optimisation of screening for latent tuberculosis in close contacts. *Eur Respir J.* 2006 ; 28 : 35–44.
  - 90) Wrighton-Smith P, Zellweger JP: Direct costs of three models for the screening of latent tuberculosis infection. *Eur Respir J.* 2006 ; 28 : 45–50.
  - 91) Horsburgh CR Jr: Priorities for the treatment of latent tuberculosis infection in the United States. *N Engl J Med.* 2004 ; 350 : 2060–2067.
  - 92) Baltussen R, Floyd K, Dye C: Cost effectiveness analysis of strategies for tuberculosis control in developing countries. *BMJ.* 2005 ; 331 : 1364.
  - 93) Stop TB Partnership and WHO: *The Global Plan to Stop TB 2006–2015.* Geneva: World Health Organization, 2006. [http://www.stoptb.org/globalplan/plan\\_main.asp](http://www.stoptb.org/globalplan/plan_main.asp). (accessed Feb 22, 2007)
  - 94) Perkins MD, Roscigno G, Zumla A: Progress towards improved tuberculosis diagnostics for developing countries. *Lancet.* 2006 ; 367 : 942–943.
  - 95) Perkins MD, Small PM: Partnering for better microbial diagnostics. *Nat Biotechnol.* 2006 ; 24 : 919–921.
  - 96) Sudre P, ten Dam G, Kochi A: Tuberculosis: a global overview of the situation today. *Bull World Health Organ.* 1992 ; 70 : 149–159.
  - 97) Styblo K: The relationship between the risk of tuberculosis infection and the risk of developing tuberculosis. *Bull Int Union Tuberc.* 1985 ; 60 : 117–119.
  - 98) Raviglione MC, Uplekar MW: WHO's new Stop TB Strategy. *Lancet.* 2006 ; 367 : 952–955.
  - 99) Foulds J, O'Brien R: New tools for the diagnosis of tuberculosis: the perspective of developing countries. *Int J Tuberc Lung Dis.* 1998 ; 2 : 778–783.
  - 100) Keeler E, Perkins MD, Small P, et al.: Reducing the global burden of tuberculosis: the contribution of improved diagnostics. *Nature.* 2006 ; 444 (Suppl 1) : 49–57.

## 追加文献

- i) Pai M, Dheda K, Cunningham J, et al.: T-cell assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection: moving the research agenda forward. *Lancet Infect Dis.* 2007; 7: 428–438.
- ii) 吉山 崇, 原田登之, 樋口一恵, 他: 接触者検診のためのクオンティフェロン®TB-2G検査のタイミングについて. *結核.* 2007; 82: 655–658.
- iii) Higuchi K, Kawabe Y, Mitarai S, et al.: Comparison of performance in two diagnostic methods for tuberculosis infection. *Med Microbiol Immunol.* 2009; 198: 33–37.
- iv) Nishimura T, Hasegawa N, Mori M, et al.: Accuracy of an interferon-gamma release assay to detect active pulmonary and extra-pulmonary tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2008; 12: 269–274.
- v) Higuchi K, Harada N, Fukazawa K, et al.: Relationship between whole-blood interferon-gamma responses and the risk of active tuberculosis. *Tuberculosis.* 2008; 88: 244–248.
- vi) 中島由槻, 尾形英雄, 吉山 崇, 他: 結核病棟を有する医療施設における職員のQFT-2Gの経時的変化とツ反検査結果との対比. *結核.* 2008; 83: 445–450.
- vii) Mori T, Harada N, Higuchi K, et al.: Waning of the specific interferon-gamma response after years of tuberculosis infection. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2007; 11: 1021–1025.
- viii) Higuchi K, Harada N, Mori T: Interferon-gamma responses after isoniazid chemotherapy for latent tuberculosis. *Respirology.* 2008; 13: 468–472.
- ix) 樋口一恵, 岡田賢司, 原田登之, 他: 小児における潜在性結核感染症治療のクオンティフェロン®TB-2G応答に及ぼす影響. *結核.* 2008; 83: 603–609.
- x) 森 亨, 原田登之: 接触者健診における QuantiFERON® TB第二世代による感染診断の経費効果分析. *結核.* 2005; 80: 675–686.

## Report and Information

## RESEARCH AGENDA OF INTERFERON-GAMMA RELEASE ASSAYS

Kazue HIGUCHI and Nobuyuki HARADA

**Abstract** Recently, new diagnostic tests for tuberculosis infection that are more specific than tuberculin skin tests have been developed and have become commercially available. These tests determine interferon-gamma production after stimulation with *M. tuberculosis*-specific antigens, ESAT-6 and CFP-10, and are named Interferon-Gamma Release Assays (IGRA). Currently, two IGRA formats are available. One is QuantiFERON®TB-2G (QFT-2G, called QuantiFERON®-TB Gold outside Japan), which uses the whole blood and has been approved as a diagnostic test for tuberculosis infection in Japan. The use of QFT-2G was recommended for contact investigations in the revised guidelines in 2006. The other format of IGRA is T-SPOT®.TB (T-SPOT), which uses peripheral blood mononuclear cells. T-SPOT has not yet been approved in Japan. IGRA was developed just recently, so there are many research questions to be addressed. In 2007, Pai et al. reported a comprehensive research agenda on

IGRA<sup>1)</sup>. We introduced a review of Pai et al. in Japanese with reference to our published reports. The references in the review of Pai et al. appear as they are, and our new references are numbered with Roman numerals.

**Key words:** Diagnostics for tuberculosis infection, Tuberculin skin test, Interferon-Gamma Release Assays, QuantiFERON®TB-2G, T-SPOT®.TB, Research questions

Immunology Division, Department of Mycobacterium Reference and Research, The Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Association (JATA)

Correspondence to: Kazue Higuchi, The Research Institute of Tuberculosis, JATA, 3-1-24, Matsuyama, Kiyose-shi, Tokyo 204-8533 Japan. (E-mail: higuchi@jata.or.jp)