

# QFT-3G検査における結核既感染者の結核菌再曝露によるブースター効果の可能性

吉川 秀夫

**要旨：**〔はじめに〕最近、結核感染から年数が経過するとIFN- $\gamma$ の反応が減弱するという報告がなされている。日本の高齢者の多くは結核既感染であるため、IGRAsの陽性者を調査対象とした場合、年齢階級の上昇に伴って、IFN- $\gamma$ 値の平均は低下すると推測される。〔対象と方法〕2010年10月～2011年8月に足立保健所の接触者健診（QFT-3G検査）を受けた20～69歳の接触者1145名とその中のQFT陽性者188名を調査対象とした。年齢階級に分けての多重比較、初発患者との関係性、初発患者の感染力について調査した。〔結果〕QFT陽性者のIFN- $\gamma$ 値の年齢階級間の多重比較では有意差は検出されなかった（Kruskal-Wallis検定、 $P=0.598$ ）。関係性ごとに分けたグループ内での年齢階級での比較では、多くの属性では年齢階級の上昇に伴い平均IFN- $\gamma$ 値は低下したが、医療従事者でのみ年齢階級に比例して平均IFN- $\gamma$ 値が上昇した（Wilcoxon rank-sum test、 $P<0.001$ ）。〔結論〕医療従事者は他の属性と比較して結核患者と接触する機会が多いと考えられる。このため、可能性の一つとしてはあるが、繰り返し結核菌に曝露する人においては、ブースター効果のような結核免疫応答の再賦活が起きる可能性が推測された。

**キーワード：**結核、接触者健診、医療従事者、QFT-3G、IGRAs、ブースター効果

## はじめに

### I. 研究の背景

近年、既往のBCG接種の影響を受けずに結核感染の有無を調べることができるとして、Interferon-gamma release assays（以下IGRAs）の研究が進み、日本における結核の接触者健診においても広く利用されてきている。日本においては、2005年4月に、2種の結核菌特異抗原ESAT-6とCFP-10を用いるIGRAsであるQuantiFERON®-TB Gold（以下QFT-2G）検査が認可され、2007年に出された接触者健診のガイドラインより積極的使用が推奨されている<sup>1)</sup>。さらに、2010年7月よりQFT-2Gに置き代わり、新たに3番目の特異抗原TB7.7を加え、試験管内に刺激抗原が塗布された、より高感度のQuantiFERON®-TB Gold In-Tube（以下QFT-3G）検査が全国的に導入され、2012年現在に至っている。

2010年3月に、日本結核病学会予防委員会より出され

た指針「医療施設内結核感染対策について」<sup>2)</sup>では、健康診断などの機会に行ったQFT検査で陽性になった医療従事者は、最近（概ね2年以内）感染したと思われる場合に治療対象とすることを検討する、としている。2年以内とした理由は、結核発病者のうち65%は感染後2年以内の発病であり<sup>3)</sup>、感染後年月を経た者は発病しにくく、潜在性結核感染症治療のメリットが少ないことを挙げている。また、院内で結核患者発生時、接触者健診でQFT検査陽性だった医療従事者で以前のQFT検査成績が不明の者には治療を勧める、としている。

東京都にある足立保健所で2010年10月1日から2011年8月31日に行われた結核の接触者健診（QFT-3G検査）での対象者の内訳では、医療従事者は20歳から69歳の対象者の27.5%（315/1145）を占めている。その多くはQFT検査を受けた既往がないため、QFT陽性となるとほぼすべてに治療を勧奨する状況である。

足立保健所の接触者健診を受診した医療従事者の

QFT-3G陽性率は15.2% (48/315)であり、これと比較するデータとしてはドイツでの最近の明らかな結核曝露のない医療従事者のスクリーニング検査でのQFT-3G陽性率が9.9% (18/182)であった<sup>4)</sup>との報告が挙げられる。2007年のドイツの人口10万人当たりの結核罹患率は6.1であり<sup>4)</sup>、同年の日本の結核罹患率19.8<sup>5)</sup>の3分の1以下であることを考慮すると、陽性者の中かなりの割合で治療が不必要な対象者を内包している可能性がある。

潜在性結核感染症の治療に用いられる薬剤であるイソニアジド (INH) に関しては肝機能障害の副作用が広く知られており、中園ら<sup>6)</sup>はINH服用に伴う肝機能障害 (ASTもしくはALT 100 IU/ml以上) の発生確率は29歳以下で7.1% (7/99), 30歳以上で18.3% (42/229)であったと報告している。

## II. 結核の感染時期の推定は可能か

樋口ら<sup>7)</sup>は、インドで結核に強く曝露した後ツ反陽転した医療従事者がIGRAsで強いIFN- $\gamma$ 応答を示した事例<sup>8)</sup>や、ウガンダの家族内接触者でツ反陽転とIGRAsのIFN- $\gamma$ 応答値の上昇とが強く相関した事例<sup>9)</sup>を挙げ、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、としている。

また、近年、一般人口において高齢者のQFT陽性率が年齢層から想定される結核既感染率より大幅に低い、という報告がなされている<sup>10)11)</sup>。QFT-2G検査での報告であるが、森らは日本の農村の一般住民に対して観察研究を行い、40歳代、50歳代、60歳代の予想される結核既感染率がそれぞれ8%、22%、47%であるのに対し、実際のQFT-2G陽性率が3%、6%、10%であったことを報告し、仮にこれが結核感染後の年数の経過による自然の減弱によるものとする、感染後陽転した後、年間3.2%の割合で陰転化する、としている。この報告のQFT陽性か否かといった2値データを、連続量であるIFN- $\gamma$ 値に置き換えて考えてみると、結核菌に感染直後、比較的高い位置にあったIFN- $\gamma$ 値が年数の経過とともに徐々に低下して、年率3.2%の割合でcut-off値以下に低下する、と捉えることができる。

日本の一般人口においては、高齢になるほど結核既感染率は高いと推定される<sup>12)</sup>ため、筆者は上記2つの仮説を組み合わせることで、QFT陽性者の集団を解析対象として年齢とIFN- $\gamma$ 値の散布図を作成した場合、若年齢層群では高年齢層群に比較して新しい感染が多いため集団のIFN- $\gamma$ 値の分布は相対的に高い位置にあり、高年齢層群では古い感染が多いため集団のIFN- $\gamma$ 値の分布は相対的に低い位置にあると予想されるため、年齢階級の上昇に伴って平均IFN- $\gamma$ 値は低下するのではないかと予想した。

また、最近結核に曝露した接触者 (結核排菌患者との

最終接触が3カ月以内の接触者、以下同様) の集団においても、QFT陽性者の集団の内には高いIFN- $\gamma$ 値を示す新しい感染群と低いIFN- $\gamma$ 値を示す古い感染 (=既感染) 群が混在すると思われるが、接触者群の年齢層が高いほど結核既感染率は高くなり、低いIFN- $\gamma$ 値を示す古い感染の割合が増えると推定されるため、QFT陽性者の集団の年齢階級ごとの平均IFN- $\gamma$ 値は、年齢階級の上昇に伴って低下すると考えられる。

さらに、この性質と他のいくつかの説明変数から、ロジスティック回帰分析でQFT陽性となった医療従事者の結核感染時期が2年以内か否かを推定できないかと考えた。仮に、2年以上経過した結核感染を推定できるようになれば、特に結核菌曝露の機会が多いと思われる医療従事者に対して不必要な投薬治療を減らすことが可能になると思われる。

## III. 調査研究の段階的实施

上述の調査研究のデザインの検討は、2011年6月および9月に行われた国立保健医療科学院の実地疫学統計研修で行われた。

調査研究を実施するうえでの問題点としては、参考とした報告は一般住民を対象としたスクリーニング検査であったのに対し、調査目的は最近結核に曝露した接触者の接触者健診でのデータを用いての結核感染時期の推定であり、対象者が一般住民から接触者になっても想定した傾向が得られるかどうかを確認する必要があった。

このため、調査研究の段階的实施が計画され、I. 実地疫学統計研修での研究デザインの策定、II. 足立保健所におけるパイロットスタディ、III. 複数保健所による共同研究・外的妥当性の検証、IV. 多変量解析による医療従事者の結核発症時期の推定、の4段階での実施計画が策定された。

2011年10月、I段階目の研究デザインの策定が終わり、II段階目の足立保健所でのパイロットスタディの解析に着手した。II段階目の主目的は、接触者健診のQFT陽性者群において年齢階級が上昇するに従い平均IFN- $\gamma$ 値が低下する、という仮説の検証であった。

## 対象と方法

### I. 対象者

2010年10月1日から2011年8月31日までの間に、足立保健所で行われた結核の接触者健診 (QFT-3G検査) の対象となった結核接触者 (概ね3カ月以内に結核排菌患者と接触した者) のうち、20歳から69歳までの年齢層を今回の解析の対象とした。20歳から69歳までを対象とした理由としては、20歳未満もしくは70歳以上の接触者はほとんどが初発患者の同居家族もしくは別居家族などの親族であり医療従事者はほとんど認められなかつ

たこと、未成年の結核接触者の集団においては結核既感染率が低いため感染拡大のリスクを勘案して広い範囲での接触者健診の設定がされる可能性があることなどから、比較する際に偏りが生じる可能性があったため除外した。

また、結核の接触者健診の対象者としての選定は、「感染症法に基づく結核の接触者健康診断の手引き（改訂第4版）」<sup>13)</sup>に基づいて行われ、初発患者の感染性の高さや、接触者の感染・発病リスクなどを勘案して決定された。

上記のうち、問診もしくは記載に不備があり、再三にわたる再調査でも調査項目の欠損が埋まらなかった例は除外した。

II. 方法（実施方法および解析方法）

実施方法としては、足立保健所の分所的機能をもつ足立区内に5カ所ある保健総合センターで対象者に採血を行い、検体を足立保健所内にある衛生試験所に搬送し、検査を行った。午前中に接触者健診を行う時間帯を設定して対象者から採血し、午後の早い時間帯に搬送するため採血から検査開始までは4~6時間程度であった。各保健総合センターから衛生試験所までの距離は数キロ程度であり、回収車が1時間程度をかけて巡回し、衛生試験所に搬送した。回収車の移動距離としては、出発してからすべての保健総合センターで回収を終えて戻ってくるまで18 km程度であった。衛生試験所に搬入後QFT-3G検査を行いIFN- $\gamma$ 値〔結核菌特異抗原 (Antigen) のIFN- $\gamma$ 値から陰性コントロール (Nil) のIFN- $\gamma$ 値を引いた値。以下同様〕を測定した。QFT-3G検査はすべて足立保健所内にある衛生試験所において実施された。

解析方法としては、対象者の20~69歳の年齢層を10

歳ごとに分け、各年齢層のQFT陽性者群のIFN- $\gamma$ 値に関して多重比較を行った。加えて、初発患者の感染性によるIFN- $\gamma$ 値への影響の度合いを確認するため、初発患者の感染性（胸部X線検査での空洞の有無、喀痰塗抹検査で2+以上か否か）についても調査し、その割合につきFisher's exact testで検定を行った (Table 1)。

また、初発患者との接触状況が接触者群のIFN- $\gamma$ 値に及ぼす影響を調査するため、初発患者との接触状況が比較的はっきりしている関係性（同居家族、別居家族、医療従事者、「その他」）に関して、それぞれの関係性ごとに年齢層とIFN- $\gamma$ 値の比較、初発患者の感染力の比較を行った (Table 2)。同居家族、別居家族、医療従事者を選択した理由としては、同居家族は接触時間も長く、診断前まで無防備に曝露していると予想されること、別居家族は月数回~数カ月に1回程度、1回数時間程度の短時間かつ低頻度の接触が多いと予想されること、医療従事者は1回の接触は家族ほど濃厚ではないものの日常的に呼吸器症状を呈する患者に関わっているため結核菌曝露を受ける機会が多いと予想されることから選択した。

関係性グループ内で50歳を境に二分した理由としては、QFT陽性率は年齢の上昇に従って上昇すると思われるため、10歳刻みで対象者内のQFT陽性者数を見た場合、高年齢層群の接触者にQFT陽性者が多いと考えられた。このため、検定の検出力を高めるため2群のサンプル数が同程度になるよう、対象年齢内で高齢寄りの50歳を境とした。また、関係性グループ内で二分した理由としては、10歳刻みでは細分化されすぎてサンプル数が不足してしまうため、二分化した。

• 解析にはPASW statistics 18.0を用いた。

Table 1 Comparison of IFN- $\gamma$  value of POSITIVES on QFT-G-IT assay between age classes

Age class (years)		20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	Total
Number of subjects		216	266	259	259	145	1145
Outcome of QFT-G-IT	Positive rate (%)	24/216 11.1%	30/266 11.3%	43/259 16.6%	51/259 19.7%	40/145 27.6%	188/1145 16.4%
	IFN- $\gamma$ value# of POSITIVES (IU/mL) Mean (95% CI)	3.07 (1.62-4.51)	3.50 (2.14-4.88)	3.82 (2.59-5.06)	3.79 (2.89-4.69)	3.37 (2.38-4.35)	3.57 (3.07-4.07)
		Not significant*					
Infectivity of INDEX CASE	Lung cavity	144/216 66.7%	154/266 57.9%	139/259 53.7%	152/259 58.7%	85/145 58.6%	674/1145 58.9%
	Direct smear examination (Rate >2+)	51/216 23.6%	92/266 34.6%	93/259 35.9%	90/259 34.7%	65/145 44.8%	391/1145 34.1%
		P<0.01**					
		P<0.001**					

\*Kruskal-Wallis test \*\*Fisher's exact test #Antigen-nil value

**Table 2** Comparison of IFN- $\gamma$  value of POSITIVES on QFT-G-IT assay between age classes in each relationship group

		Household		Relative		Healthcare worker		Others		Total
Age (years)		20-49	50-69	20-49	50-69	20-49	50-69	20-49	50-69	20-69
No. of subjects		34	37	60	19	225	90	422	258	1145
Outcome of QFT-G-IT	Positive rate (%)	10/34 29.4%	15/37 40.5%	11/60 18.3%	5/19 26.3%	26/225 11.6%	22/90 24.4%	50/422 11.8%	49/258 19.0%	188/1145 16.4%
		N.S.		N.S.		P=0.004*		P=0.008*		
IFN- $\gamma$ value# of POSITIVES (IU/mL), Mean (95% CI)		3.41 (1.69-5.13)	3.28 (1.68-4.88)	6.38 (3.94-8.82)	5.48 (2.63-8.33)	1.66 (0.84-2.48)	3.09 (1.91-4.27)	3.92 (2.83-5.01)	3.75 (2.85-4.65)	3.57 (3.07-4.07)
		N.S.		N.S.		P<0.001**		P=0.027**		
Infectivity of INDEX CASE	Lung cavity	19/34 55.9%	14/37 37.8%	25/60 41.7%	9/19 47.4%	100/225 44.4%	45/90 50.0%	293/422 69.4%	169/258 65.5%	674/1145 58.9%
		N.S.		N.S.		N.S.		N.S.		
Direct smear examination (rate >2+)		10/34 29.4%	9/37 24.3%	25/60 41.7%	11/19 57.9%	105/225 46.7%	48/90 53.3%	96/422 22.7%	87/258 33.7%	391/1145 34.1%
		N.S.		N.S.		N.S.		P=0.003*		

\*Fisher's exact test \*\*Wilcoxon rank-sum test #Antigen-nil value  
N.S., not significant

## 結 果

年齢階級間のIFN- $\gamma$ 値の多重比較では有意差は検出されなかった(Kruskal-Wallis test,  $P=0.598$ ) (Table 1)。また、各年齢層の初発患者の感染性の比較では、空洞の有無に関して有意差は認められなかったが、喀痰検査で塗抹2+以上か否かでは、20歳対象者の接触した初発患者は他の各年齢層と比較した場合に塗抹2+以上である割合が低く、有意差が得られた(Fisher's exact test 20歳代と30歳代・40歳代・50歳代がそれぞれで $P<0.01$ , 20歳代と60歳代が $P<0.001$ )。

それぞれの関係性グループ内での年齢階級ごとのIFN- $\gamma$ 値の比較を行ったものをTable 2に示す。医療従事者以外の関係性では、年齢階級の上昇に伴って平均IFN- $\gamma$ 値は減少する傾向を認めた。IFN- $\gamma$ 値の年齢階級ごとの比較では、同居家族群、別居家族群では有意差は検出されず、「その他」の群では有意差は検出されたものの平均IFN- $\gamma$ 値の違いは5%未満と小さかった。医療従事者の群でのみ、年齢階級に比例した平均IFN- $\gamma$ 値の上昇が認められ、IFN- $\gamma$ 値の比較で有意差が認められた(Wilcoxon rank-sum test  $P<0.001$ )。

## 考 察

### (1) 得られた結果に対する考察

今回の調査では、3カ月以内に結核排菌患者に曝露した接触者群のうちのQFT陽性者のみのIFN- $\gamma$ 値を解析対象とした。これは「高年齢層の接触者群ではQFT陽性率が高いため、平均IFN- $\gamma$ 値が高いことは当然である」という議論を避けるためであり、QFT陽性者のみを対象

とした場合、解析対象の集団のQFT陽性率は100%となるため、年齢階級ごとのQFT陽性率の違いを考慮せずに、QFT陽性者のIFN- $\gamma$ 値を取り扱うことが可能となる。参考にした報告<sup>11)</sup>から推察されるように、古い感染群のIFN- $\gamma$ 値が低く、新しい感染群のIFN- $\gamma$ 値が高いという二元論が成立するのであれば、結核既感染者が多く含まれる高年齢層の接触者群においてはIFN- $\gamma$ 値は低下する傾向が認められるはずであるが、Table 1の結果のとおり、そうはならなかった。

参考にした報告<sup>11)</sup>ではサンプル数は1,559人であり、調査の信頼性は高いと思われた。参考にした報告と今回の調査の一番の違いは、参考にした報告での対象者は一般住民であったのに対し、今回の調査での対象は3カ月以内に結核排菌患者に曝露した接触者を対象としていたことであった。

当初、高年齢層の接触者群が接触した初発患者の感染性の高さ(塗抹2+以上の割合)が影響して、本来年齢の上昇に伴って低下するはずのIFN- $\gamma$ 値を修飾しているかと考えられたが、Table 2の関係性グループごとの内訳を見てみると、多くの関係性でIFN- $\gamma$ 値が年齢の上昇に伴って低下する傾向がある中で、医療従事者群のみで有意差をもって年齢の上昇に伴ってIFN- $\gamma$ 値の上昇を認めていた(Wilcoxon rank-sum test,  $P<0.001$ )。一方で、サンプル数が多い「その他」の群では、高年齢層の接触者群で塗抹検査2+以上である確率が高かったにもかかわらず、IFN- $\gamma$ 値は年齢階級の上昇に伴って下降していた。このため、Table 1で見られた対象者全数での年齢階級間でIFN- $\gamma$ 値の比較で有意差が認められなかったことは、初発患者の感染性に起因するものではなく、関係性

ごとに比較した場合、全体的には年齢階級の上昇に伴ってIFN- $\gamma$ 値は下降する傾向にあるものの、全体の27.5% (315/1145)を占める医療従事者の群で有意差をもって、年齢階級の上昇に比例してIFN- $\gamma$ 値が上昇した結果、両者の傾向が入り混じり、年齢階級ごとのIFN- $\gamma$ 値の比較では有意差が得られなかったと考えられた。

医療従事者は他の関係性と比較した場合、呼吸器症状を訴える患者と日常的に接触しているため、結核に接触する機会が多いと考えられる。また、医療従事者群においては高年齢層になるほど、医療への従事年数も長くなるものと考えられ、結核に接触する機会も増えるものと思われた。このため、可能性の一つとしてはあるが、結核既感染者において、いわゆる「ブースター効果」のような既存の結核免疫の再賦活が起きる可能性が考えられた。

先行論文調査においては、重要なものとして、近年、Andersenら<sup>14)</sup>によりIFN- $\gamma$ 値の応答値と抗原量が関連しているという仮説が提唱されていることが挙げられる。これに関連して、樋口ら<sup>15)</sup>は活動性結核患者と潜在性結核感染症患者のQFT検査のIFN- $\gamma$ 値の平均を比較し、活動性結核患者では $3.65 \pm 3.23$  IU/ml、潜在性結核感染症患者では $2.02 \pm 2.80$  IU/mlであり、有意差を確認した、としている。また、原田<sup>16)</sup>は、化学治療あるいは潜在性結核感染症治療を行うことにより結核菌数が減少するため、これらの治療に伴いQFT-2GのIFN- $\gamma$ 値が低下することを予想し、実際に潜在性結核感染症の患者群に対し観察研究を行い、INH6カ月間治療の前後のQFT-2G検査のIFN- $\gamma$ 値を比較して有意に治療後に低下することを確認した、としている。他にもIFN- $\gamma$ 値の推移を取り扱ったものでは、活動性結核患者の治療前後の推移<sup>17)18)</sup>や潜在性結核感染症患者の治療前後の推移<sup>19)20)</sup>を取り扱ったものがあつた。

これらの先行論文からは、QFT検査のIFN- $\gamma$ 値が高ければ高いほど、結核菌が活動期にあり、結核菌量が多く、さらに発病リスクが高いことが推察された。

これらの先行論文と、結核発病者のうち65%は感染後2年以内の発病であり感染後年月を経た者は発病しにくいという報告<sup>3)</sup>からは2年以上の比較的「新しい感染」では結核が活動期にあるため結核を発病しやすくIFN- $\gamma$ 値は比較的高値であり、2年以上経過した「古い感染」では活動性が落ちているため結核発病は少なく、従ってIFN- $\gamma$ 値は低いことが推測された。

本調査では、QFT陽性者の中の感染の新旧の割合で考えると、2年以上経過した古い感染が高年齢層の接触者群で多いと推測されたが、IFN- $\gamma$ 値は高年齢層の接触者群で低くならず、結核排菌患者への曝露の機会が多いと思われる医療従事者群ではむしろ有意差をもって若年層

の接触者群よりも高値であつた。

このことから、結核菌再曝露による結核既感染者における既存の結核免疫の再賦活の可能性が推察されたが、仮にこの「ブースター効果」が実証された場合、高齢者に対するIGRAsのIFN- $\gamma$ 値の解釈には困難をきたす可能性がある。また、IGRAsのIFN- $\gamma$ 値を用いた感染時期の推定や発症予測の研究は困難になることが予想される。

(2) 結果に影響を及ぼす要因についての考察

#### ①年齢階級間の塗抹検査結果の違いについて

初発患者の塗抹検査結果について、年齢階級間で有意差が認められた。これに関して、特に乖離の大きかった20歳代の接触者群と60歳代の接触者群の初発患者を調査してみると、肺炎等の診断で医療機関に入院した後に結核が判明した、より重症度が高いと推測される初発患者の割合は、20歳代の接触者群では28.2% (61/216)であつたのに対し、60歳代の接触者群では42.8% (62/145)であり、有意差が認められた (Fisher's exact test,  $P=0.004$ )。初発患者の平均年齢は、20歳代の接触者群で58.1歳、60歳代の接触者群では68.9歳であり違いが認められたことから、比較的若年で社会行動力のある結核患者が比較的発症早期のうちに、若年者層の接触者群に曝露を広げている可能性が考えられた。

#### ②医療従事者群のIFN- $\gamma$ 値について

医療従事者群の接触者では、QFT陽性者の平均IFN- $\gamma$ 値は20~49歳で1.66 IU/ml、50~69歳で3.09 IU/mlであり、同年齢層の他の関係性ととの横断的な比較では、若年層でも高年齢層でも最も低い値を示した。

医療従事者とその初発患者の接触状況は90.8%が入院時の病棟での接触であり、この場合、病棟看護師等に接触時間の調査を行っても、「実際にベッドサイドにいた時間の総和はわからない」との応答がむしろ普通であり、厳密な接触時間がわからず、勤務時間の総和でもって対象者を勘案することが多い。このため、他の関係性とと比較して過大に接触度合いを算定している可能性がある。また、医療従事者群の初発患者の平均年齢は $76.5 \pm 14.6$ 歳と高齢であり、高齢者の結核では喀痰塗抹陽性であっても感染源として感染を拡大させる者の割合が低い<sup>21)</sup>ことが知られており、これらのことが医療従事者のIFN- $\gamma$ 値が低くなった一因である可能性が考えられる。

同年齢層において関係性ごとのIFN- $\gamma$ 値の横断的な比較を行うことの意味合いを考えると、関係性ごとのQFT陽性率の違いを見ればわかるように、関係性ごとに感染リスクが異なるため、そのIFN- $\gamma$ 値も異なってくる。これを直接比較する意味合いとしては接触状況の違いに対する探索的な検討ということになる。これに対し、同じ関係性グループ内で年齢層ごとの縦断的な比較をする意味合いとしては、接触状況の違いの影響を排除して、

年齢層の変化に伴う IFN- $\gamma$  値の変化を捉える、というものになる。

医療従事者群内での若年層と高齢層の縦断的な（年齢層別の）比較においては、QFT陽性者のIFN- $\gamma$  値に有意差が認められたが、この原因となるような曝露条件の違いは認められなかった。初発患者の感染力の比較では有意差を認めず、初発患者との接触状況も90.8%は入院病棟でのものであり医療従事者の年齢層による曝露条件の違いはないと思われた。また、初発患者の平均年齢も、若年層の医療従事者の初発患者が75.6±16.0歳、高齢層の医療従事者の初発患者が78.7±9.8歳と明らかな違いは認められなかった。

このため、医療従事者の年齢層によるQFT陽性者の平均IFN- $\gamma$  値の違いは、今回の結核排菌患者への曝露条件の違いによるものではなく、両者の前提条件の違いによるものと推察された。医療従事者内の若年層と高齢層の前提条件の違いとしては、①年齢層別結核既感染率、②医療従事年数の違い、の二つが挙げられるが、①年齢層別結核既感染率に関しては、医療従事者に限ったことではなく、他の関係性においても条件は同一であった。医療従事者内の若年層と高齢層のQFT陽性者のIFN- $\gamma$  値の有意差が、②医療従事年数の違いに起因するとすれば、結核患者に曝露した回数の違い（無自覚のものも含めて）によるものの可能性がもっとも考えやすく、これにより結核菌再曝露による既存の結核免疫の再賦活の可能性が考えられた。

### ③検査結果に影響する外的要因について

QFT-3G検査では、採血後の転倒混和や温度管理、搬送時の振動、検査開始までの時間など様々な外的要因の影響を受ける可能性が指摘されている<sup>22)</sup>。今回の調査では保健所のもつ既存のフレームワークを利用したため、採血を行った5カ所の各保健総合センターとQFT-3G検査を行った衛生試験所の場所が離れており、午前中に採血検査を行う時間帯を設定し、昼過ぎに回収車がまとめて検体の回収を行い、15時前後に衛生試験所でQFT-3G検査の培養検査を開始する、という流れをとっていた。このため、午前中の早い時間帯に来た接触者と遅い時間帯に来た接触者の検体で採血から検査開始までの時間が2時間程度違う、回収で最初に回る保健総合センターと最後に回る保健総合センターで、10km強搬送距離が異なり搬送時の振動の影響が異なる、など対象者間で検査条件を完全には統一化できなかった。結果については、各保健総合センター間で明らかな違いは認められなかった。

2012年2月に日本ビーシー製造株式会社が報告した「平成23年度 全国保健所 QFT検査を用いた結核接触者健診の調査集計表」での保健所関連施設（支所含む）

657施設を対象にした調査によれば、QFT検査において、当該保健所施設内で採血している施設は75.9%（497/655）であったが、ELISA検査を行う場所に関して、当該保健所施設内で行っているのは5.1%（30/590）にすぎず、ほとんどの保健所で行われる接触者健診（QFT検査）では、採血場所とELISA検査を行う場所が異なる事実が明らかになっている。

このため、複数保健所で共同研究を行う場合は、採血から検査開始までの時間の違いや、搬送距離の違いによる搬送時の振動の影響の違いをどう取り扱うかが課題になると思われた。さらに、検査施設が異なる場合は、QFT-3G検査の培養過程やELISA法の精度管理方法の統一化についても課題になると思われる。

### 本調査の限界

- 接触者健診の対象範囲は、保健所が初発患者の感染性や接触者の感染リスクを勘案して決定するため、セレクションバイアスの発生が不可避である。加えて、接触状況調査においては、接触者本人や調査者による情報バイアスが高い確率で発生することなどから、厳密な調査には向いていないと思われる。
- 保健所において、より大きいサンプル数を対象とした大規模調査を行う場合、実施可能性の面から既存のフレームワークを利用するのが現実的であるが、採血から検査開始までの時間、搬送距離などの面で完全な統一化は困難であり、これは複数保健所での共同研究などではより顕著に表れてくる問題であると考えられた。
- この結果は、あくまで特定時期に特定地域で行われた数ある調査研究の結果のうちの一つにすぎず、この結果が直ちにIGRAsにおけるブースター効果を証明するものではなく、IGRAsの結果解釈に直接的に影響を与えるものではない。あくまで、考えられる可能性の一つとしての仮説の提唱である。
- 最終的に結核菌再曝露によるブースター効果の存在の有無を証明するためには、バイアスや交絡因子に配慮してデザインされた動物実験による厳格な検証が不可欠であると考えられる。
- 本調査では残念ながら、当初の調査目的であった医療従事者の結核感染が2年以内か否かを予測するための説明変数の傾向確認ができなかった。しかし、IGRAsの挙動に関しての新しい仮説を提唱するに至ったことは収穫であったと考えられる。

### 結 論

- 結核菌曝露の機会が多いと思われる医療従事者群では、QFT陽性者において年齢階級の上昇に伴い平均IFN- $\gamma$  値の上昇を認めた。可能性の一つとしてはあるが、

結核既感染者があらためて結核菌に曝露することで、「ブースター効果」のように結核免疫応答の再賦活化が起こる可能性が示唆された。

- 仮にこの「ブースター効果」が存在した場合、高齢者に対する IGRAs の IFN- $\gamma$  値の解釈には困難をきたす可能性がある。また、IGRAs の IFN- $\gamma$  値を用いた感染時期の推定や発症予測の研究は困難になることが予想される。
- 接触者健診は選択バイアスや情報バイアスの発生する余地が大きい。今回推定された結核菌再曝露による IGRAs の挙動を確認するためには、バイアスや交絡因子の調整に配慮してデザインされた動物実験による、厳格な検証が不可欠であると考えられる。

## 謝 辞

調査研究に協力していただきました足立保健所の皆様、調査研究の計画立案・実践方法をご指導いただきました国立保健医療科学院の実地疫学統計の講師の先生方に感謝を申し上げます。

## 文 献

- 1) 結核予防会：「改正感染症法に基づく結核の接触者健診の手引きとその解説」。結核予防会，東京，2007。
- 2) 日本結核病学会予防委員会：医療施設内結核感染対策について。結核。2010；85：477-481。
- 3) Chiba Y: Significance of endogenous reactivation: 30 year follow up of tuberculin converters. Bulletin of International Union Against Tuberculosis. 1974；49：321-324。
- 4) Ringshausen FC, Nienhaus A, Schablon A, et al.: Predictors of persistently positive *Mycobacterium-tuberculosis*-specific interferon-gamma responses in the serial testing of health care workers. BMC Infectious Diseases. 2010；10：220。
- 5) 結核予防会編：「結核の統計 2011」，結核予防会，東京，2011，27。
- 6) 中園智昭，手塚直子，田川斉之，他：潜在結核感染症治療中に発生した肝機能障害。結核。2011；86：51-55。
- 7) 樋口一恵，原田登之：Interferon-gamma release assays (IGRAs) の研究課題。結核。2009；84：173-186。
- 8) 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。
- 9) 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。
- 10) 鈴木公典，林 文：70歳以上の高齢者における QuantiFERON TB-2G の陽性率の検討。結核。2009；84：382。
- 11) 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。
- 12) 「結核既感染者数の推定」[http://www.jata.or.jp/rit/ekigaku/index.php/download\\_file/-/view/961/](http://www.jata.or.jp/rit/ekigaku/index.php/download_file/-/view/961/) (2012.2.13 アクセス)
- 13) 石川信克，阿彦忠之，森 亨：「感染症法に基づく結核の接触者健康診断の手引き」改訂第4版，結核予防会，東京，2010，18-23。[http://www.phcd.jp/topics/2010TBsesshokusha\\_kenshin\\_tebiki\\_4hannew.pdf#search=%272010%20%E7%B5%90%E6](http://www.phcd.jp/topics/2010TBsesshokusha_kenshin_tebiki_4hannew.pdf#search=%272010%20%E7%B5%90%E6) (2012.2.13 アクセス)
- 14) Andersen P, Doherty TM, Pai M, et al.: The Prognosis of latent tuberculosis: can disease be predicted? Trends in Molecular Medicine. 2007；13：175-182
- 15) 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。
- 16) 原田登之：種々の接触者健診における QFT 結果と解釈について。結核。2010；85：595-599。
- 17) 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。
- 18) 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。
- 19) Chee CB, Khinmar KW, Gan SH, et al.: Latent tuberculosis infection treatment and T-cell responses to *M. tuberculosis*-specific antigens. Am J Respir Crit Care Med. 2007；175：282-287。
- 20) Higuchi K, Harada N, Mori T: Effect of Isoniazid Chemotherapy for Latent Tuberculosis on Whole Blood Interferon- $\gamma$  Responses. Respiriology. 2008；13：468-472。
- 21) 井上武夫，子安春樹，服部 悟：結核感染における加齢の影響—1,141名の喀痰塗抹陽性肺結核患者の疫学的研究。結核。2006；81：567-571。
- 22) 吉川秀夫，馬場幸一郎：接触時間と無相関に高い QFT-3G 陽性率を示した接触者健診での QFT-3G 検査の再現性の検討。結核。2012；87：329-335。

## Original Article

POSSIBLE PRESENCE OF A BOOSTER EFFECT IN PEOPLE REPEATEDLY EXPOSED TO *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* DEMONSTRATED IN A *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*-SPECIFIC INTERFERON-GAMMA RELEASE ASSAY

Hideo YOSHIKAWA

**Abstract** [Introduction] Recently, several reports have described a waning response of *Mycobacterium tuberculosis* (TB)-specific interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) release assays (IGRAs) performed years after the initial TB infection. Since a considerable part of elderly people in Japan was infected with TB in their youth, it was hypothesized that if the general population was screened with IGRAs, the mean IFN- $\gamma$  value of positive subjects (POSITIVES) would be reduced as the age of the subjects increased. Conversely, in subjects who were recently exposed to TB (CONTACTS), it was assumed that the POSITIVES would include subjects with new TB infections who show a high IFN- $\gamma$  value and those with old TB infections who show a low IFN- $\gamma$  value. Since the presence of subjects with old infections among the POSITIVES cannot be avoided during examinations, it is hypothesized that the mean IFN- $\gamma$  value of the POSITIVES decreases as the age of the CONTACTS increases.

[Materials and Methods] To test this hypothesis for CONTACTS, data acquired during the contact examinations at Adachi Public Health Center in Tokyo, Japan were analyzed. Since it is thought that the grade of exposure of the TB index case (INDEX CASE) influences the IFN- $\gamma$  value, its relationship with the INDEX CASE and the infectivity of the INDEX CASE were also investigated. In the CONTACTS, as only a few healthcare workers are <20 years old or >70 years old, the subjects were chosen from individuals aged in the range of 20–69 years who had been in contact with a TB patient within the past 3 months. The IFN- $\gamma$  value of the 188 POSITIVES in the 1145 CONTACTS who underwent a contact examination using the IGRA QuantiFERON®-TB Gold In-Tube (QFT-G-IT) assay was investigated. The POSITIVES were divided according to their age class, and their IFN- $\gamma$  values were compared. In addition, after dividing all POSITIVES into groups to assess their relationship with the INDEX CASE (i.e., household, relative, healthcare worker, and others), the IFN- $\gamma$  values of the 20–49- and 50–69-year-old classes were compared in each group.

[Results] There was no significant difference in the IFN- $\gamma$  values between the age classes, (Kruskal-Wallis test,  $P=0.598$ ). When the IFN- $\gamma$  values of the POSITIVES in the

20–49- and 50–69-year-old classes were compared for each relationship group, the mean IFN- $\gamma$  value of the POSITIVES increased in proportion to the rise in age only in the healthcare worker group. This occurred even though the mean IFN- $\gamma$  value of the POSITIVES decreased in many groups as their age increased. A significant difference was confirmed in the IFN- $\gamma$  values between the age classes in the healthcare worker group (Wilcoxon rank-sum test,  $P<0.001$ ). No significant difference was observed in the infectivity of the INDEX CASE between the age classes in the healthcare worker group.

[Conclusion] Initially, it seemed that the high infectivity of the INDEX CASE affected the IFN- $\gamma$  values of the POSITIVES in the oldest age class; in other words, the factor expected to decrease actually increased. However, comparison of the IFN- $\gamma$  value by age class in each relationship group revealed that, in the healthcare worker group only, the IFN- $\gamma$  value of POSITIVES increased in proportion to the rise in age regardless of infectivity of the INDEX CASE. Since it has been hypothesized that healthcare workers have an increased chance of contact with TB patients than other relationships, this outcome suggests the existence of a booster effect on people who are repeatedly exposed to TB, as assessed using IGRAs, as one of the several possibilities. If this booster effect seen with IGRAs is proven, predicting the development of symptoms and presuming the infection time by using IFN- $\gamma$  values will be difficult. To validate the present results, animal experiments that can be adjusted for various biases and confounding factors are necessary.

**Key words:** Tuberculosis, Contact examination, Healthcare worker, QuantiFERON-TB Gold In-Tube (QFT-G-IT), Interferon-gamma release assays (IGRAs), Booster effect

Kouhoku Total Health Office of Adachi Public Center, Adachi City of Tokyo

Correspondence to: Hideo Yoshikawa, Kouhoku Total Health Office of Adachi Public Center, Adachi City of Tokyo, 2–30–40, Nishiarai Honcho, Adachi-ku, Tokyo 123–0845 Japan. (E-mail: kouhoku-hoken@city.adachi.tokyo.jp)