

第85回総会ミニシンポジウム

III. QFTの臨床応用—その可能性と限界

座長¹佐藤 滋樹²永井 英明

キーワード：クオンティフェロン (QFT)，結核，インターフェロン，移植，TNF，免疫抑制

シンポジスト：

1. 腎移植と結核—潜在性結核感染者に対する移植後モニタリング
後藤憲彦 (名古屋第二赤十字病院移植・内分泌外科)
2. 関節リウマチにおけるTNF阻害剤投与時のQFTの意義
坂野章吾 (愛知医科大学腎臓・リウマチ膠原病内科)
3. Compromised host とQFT—感度に影響する宿主因子
有賀晴之 (独立行政法人国立病院機構東京病院呼吸器科)
4. 病院職員に対するQFTの実施状況と肺結核症の発症に関する検討
小栗 晋 (独立行政法人国立病院機構東京都病院呼吸器科)

クオンティフェロン®TB-2G (QFT) は結核感染有無の判定における有用性の高さから臨床の場で広く用いられるようになってきた。周知のとおり、QFTは結核菌が特異的にもつ2つのタンパク抗原 (ETAT-6, CFP-10) を用いて、試験管内で末梢血から採取したリンパ球を刺激し、releaseされたインターフェロン γ を定量することで判定する (IFN- γ release assay)。従ってリンパ球を含む免疫担当細胞の機能が抑制されており、インターフェロン γ が産生されにくい個体において、正確に判定できるのかどうか疑問がおこる。

人工透析患者の結核発症率は高い。さらに腎移植に至った場合、その後の主にT細胞系を抑制する免疫抑制剤の使用により、移植後1~6カ月は結核発症の危険はとくに高いと推測される。QFTを用いた腎移植前潜在性結核患者にどのように対応し発症を抑制するか、また移

植後にQFTを施行した場合どのように解釈するかは大きな臨床的問題である。

近年関節リウマチを中心にTNF阻害薬を使用する機会が増加している。TNF阻害薬投与前の潜在性結核の診断にQFTの有用性はあるかということも重要な問題と思われる。とくに関節リウマチではTNF阻害薬を投与する前に、免疫機能に影響するメソトレキセートやステロイドホルモンなどを使用されていることが多く、QFTの結果解釈を難しくすると想像される。また、TNF阻害薬使用中にQFTのインターフェロン産生能が変化するかどうかも、偶然の結核感染機会があった場合の参考になると思われる。

このように、免疫抑制状態の被検者にQFTを行う際にはその限界を知っておく必要があり、また、結果を左右するパラメーター (例えばリンパ球数など) は何かを理解しておくことも重要である。

結核接触者健診におけるQFTの有用性の高さは確立してきたものと思われる。医療従事者とくに看護師の結核感染率は高い。医療従事者の結核感染対策にはツベルクリン反応の二段階法が用いられていたが、やはり診断精度は十分でなかった。QFTの利用によって感染者の判定の精度が増し結核院内感染対策に有用であるという報告が散見されるが、実際の使用方法は明らかではない。

本シンポジウムではこのような特殊状況下でQFTはどこまで適応可能であるか、その可能性を議論していただいた。各演者の要点をまとめると以下のとおりであった。

後藤憲彦先生のご発表では、腎移植患者に移植前にツベルクリン反応 (TST) とQFTを施行し、TST陽性患者60名のうちQFT陽性患者は8名のみで、TST陰性患者

¹名古屋市立大学呼吸器内科、²国立病院機構東京病院呼吸器科

連絡先：佐藤滋樹，名古屋市立大学呼吸器内科，〒467-8601 愛知県名古屋瑞穂区瑞穂町字川澄1 (E-mail: ssato@med.nagoya-cu.ac.jp) (Received 15 Oct. 2010)

40名中QFT陽性患者は1名であった。腎移植後1カ月では免疫抑制剤が多いためQFTは信頼できなかったが、移植後6カ月以降の維持免疫抑制状態では判定可能になっていた。また、移植前の結核感染スクリーニングはQFTのみで十分で、TST判定による過剰なイソニアジド(INH)予防投与を防ぐ可能性を示された。

坂野章吾先生のご発表では、TNF阻害薬未投与の関節リウマチ患者を対象に胸部CTと詳細な問診を行い、潜在性結核感染(LTBI)が明らかにあると思われる患者とその可能性がきわめて低い患者に分けてQFTの結果をROC解析し、cut-off値を疑陽性基準の0.1 IU/mlと低くすると、AUCが0.77(95%CI: 0.64-0.91, $P < 0.005$)と有意であった。メトトレキサート(MTX)投与・非投与群に分けるとQFTの結果に差はなく、関節リウマチで使用するMTX量では影響を与えないとした。さらにTNF阻害薬投与後6カ月でIFN産生量は減る傾向であったが、TNF阻害薬投与中もQFT検査は可能であると考えられた。

有賀晴之先生は、結核感染が疑われた3017名の患者に連続的にQFTを施行し、患者の背景と判定不可出現の

関連とを検討された。リンパ球数正常($>1800/\mu\text{L}$, $n = 104$)では陽性率89.3%, 判定不可0%であったが、リンパ球数300~500/ μL ($n = 57$)では陽性率49.1%, 判定不可14%, リンパ球数300/ μL 以下($n = 45$)では陽性率26.7%, 判定不可37.8%で、リンパ球数の減少をきたす免疫背景を有する被検者においてはQFTの結果の解釈に留意が必要であることを明らかにされた。

小栗晋先生は、全国の国立病院機構(NHO)における職員のQFT検査のアンケート結果を報告し、結核病床をもつ施設で陽性率が高い傾向であることを明らかにされた。さらにNHO南京都病院における定期的な職員のQFTの結果をみたところ、2007年から2009年にかけて陰性から判定保留に変化したものが6人、判定保留から陽性に変化したものが1人みられ、QFTの結果により潜在性結核治療を行ったことを報告された。

いずれの報告からもQFT検査のさらなる感度の改善が求められ、第3世代のクオンティフェロン®TBゴールド(QuantIFERON-TB Gold in Tube)やT-SPOT.TBなどELISPOT法に期待がもたれる。

1. 腎移植と結核—潜在性結核感染者に対する移植後モニタリング

名古屋第二赤十字病院移植・内分泌外科 後藤 憲彦

はじめに

免疫抑制剤の進歩により、2000年以降、腎移植の成績は著しく上昇した。しかし、移植腎が機能している間は、免疫抑制剤内服をし続けなければいけない。今後も強化されるであろう免疫抑制療法から引き起こされる感染症に対して、移植医は、常に注意する必要がある。

その感染症のうちの一つとして、結核菌感染症がある。結核菌は細胞内寄生菌であり、潜在性感染者からの菌検出が困難である。また、結核菌感染において体液性免疫応答は弱い。血液疾患における免疫抑制療法と違い、臓器移植後免疫抑制療法は、主にT細胞系を抑制する。そのため、腎移植後の免疫抑制下では、潜在性結核感染している腎移植レシピエント候補者から、移植後1~6カ月に結核発症の可能性が高くなる¹⁾。移植後結核発症を予防するためには、この潜在性結核感染者をきちんとフォローし、活動性結核へ進展させないことが重要である。

BCGは、結核感染症に対して不完全なワクチンである。欧米では使用されないため、ツベルクリン反応(TST)陽性が潜在性結核感染を意味する。欧米のガイドラインでは潜在性結核感染者に対し、術後6カ月のイソニア

ジド(INH)予防投与を推奨している²⁾。当科でも1972年の最初の腎移植以降、TST陽性か結核の既往があったレシピエントに対しては、術後6カ月間のINH予防投与をしていた。しかし本邦では先行するBCG接種のため、TSTで潜在性結核感染者を診断するのは困難である。

2006年1月にTSTの欠点を克服するクオンティフェロン®TB-2G(QFT-2G)が保険適応となった。QFT-2Gは特異的なESAT-6、CFP-10蛋白を抗原とし、これらを全血に添付して、血液中のエフェクターTリンパ球(感作白血球)を刺激し、その結果放出されるインターフェロン γ (IFN- γ)を定量する。ステロイド、カルシニューリンインヒビターは、抗原提示細胞、T細胞、IFN- γ を抑制するため、腎移植後の免疫抑制下では、その値の信頼性が問題である。

方 法

1972年から当院で腎移植を施行した1200名の術後結核発症患者の発症頻度と予後を検討した。

次に、QFT-2Gを測定し始めた2006年9月以降の連続した100名の生体腎移植レシピエント候補者に対して、TSTに加えてQFT-2Gを施行し、移植後も1, 6カ月の陽性コントロール、陰性コントロールを含めたQFT-2G実

測値 (Nii, ESAT-6, CFP-10, Mitogen) の推移を検討した。

TSTは発赤 10 mm×10 mm 以上を陽性、QFT-2Gは0.1 IU/mL以上を陽性とし、Mitogen刺激に対するもの(陽性対照)－生理食塩水添加に対するもの(陰性対照)が0.5 IU/mL未満を判定不可とした。また、移植前QFT-2G陽性患者については、6カ月間INH内服終了後の移植後12、24カ月のQFT-2Gも検討した。

免疫抑制剤

最近のABO適合腎移植の免疫抑制療法をFig. 1に示す。

プレドニン、カルシニューリンインヒビター、ミコフェノール酸モフェチル、バジリキシマブ(抗CD25抗体)の4剤で導入し、維持免疫抑制はプレドニン、カルシニューリンインヒビター、ミコフェノール酸モフェチルの3剤で行う。ABO不適合間や抗ドナー抗体を認めるレシピエントに対しては、リツキサンを追加した5剤で導入している。いずれの場合も、移植後3カ月以降は維持免疫量となるが、移植腎が機能しているうちは免疫抑制剤3剤で内服継続が必要である。

結 果

1200名中、移植後に結核を発症した患者は2名のみであった。1名は移植前TST陽性のためINH予防内服あり。他の1名はINH予防内服なしであったが、結核性胸膜炎の既往があった。INH+エタンブトール(EB)+リファンピシン(RFP)の3剤と免疫抑制剤減量により、2名ともgraft lossなく軽快した。

TSTとQFT-2G両方を測定した2006年9月からの連続した100名の生体腎移植レシピエントの検討では、移植前TST陽性患者60名中、QFT-2G陽性患者(0.1 IU/mL以

上)は8名のみであった。陰性は53名であった。移植前TST陰性患者40名中、QFT-2G陽性患者は1名、陰性は39名であった。

TST陽性患者に対して移植後6カ月間INH予防投与を行い、結核発症者はいなかった。陽性コントロールと陰性コントロール差は、移植後1カ月の免疫抑制下において、5名中4名で0.5 IU/mL未満の判定不可であった。移植前の判定不可はなかった。6カ月後での判定不可は100名中3名(3%)で(Fig. 2)、移植前 9.7 ± 5.3 IU/mL、移植後6カ月での免疫抑制状態では、 10.4 ± 5.0 IU/mL ($p = 0.29$)であった。

TST陰性でありながらQFT-2G陽性であった1名を加えた、移植前QFT-2G陽性患者9名に対しては、移植後6カ月間INH予防投与した。そのうち12カ月後もQFT-2G陽性であった患者は5名であった(Fig. 3)。その陽性患者5名は移植24カ月後でも持続して陽性である。しかし、結核発症者はいない。

考 察

一般人に比べ、移植患者における活動性結核は20～74倍多いと言われている³⁾。感染のしかたは、①潜在性結核感染レシピエントから再燃、②レシピエントが新たに感染、③ドナーから感染、の3つであるが、レシピエントでの再燃が圧倒的に多い。そのため、術前の潜在性結核感染者をきちんと把握しその患者が活動性結核を発症しないようにフォローすることが大切である。

2006年1月から本邦でもQFT-2Gが測定できるようになった。免疫抑制下の患者においても、TSTよりQFTのほうが診断方法として有用であるとされている⁴⁾。しかし、感度89%、特異度98.2%であり、約1割がスクリーニングをすり抜ける。また、免疫抑制状態ではT細胞が

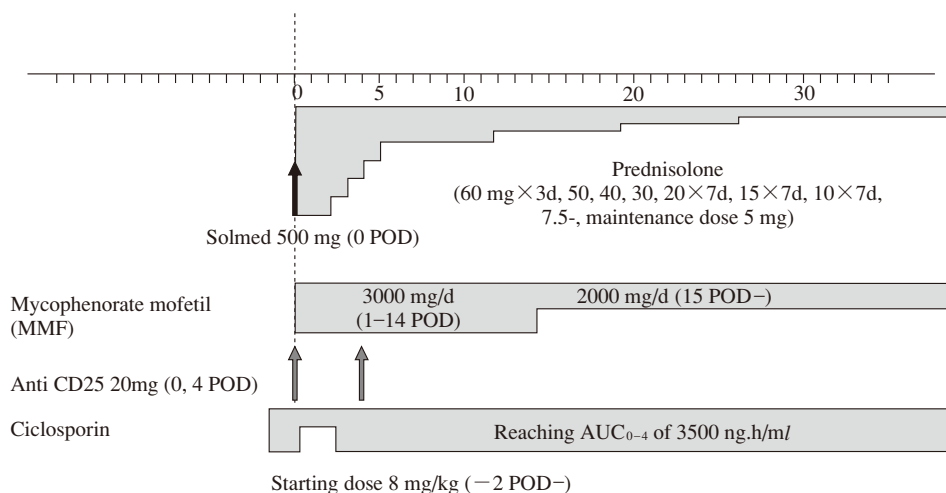


Fig. 1 Recent immunosuppressive regimen in ABO compatible kidney transplant (Kidney Center, Nagoya Daini Red Cross Hospital)

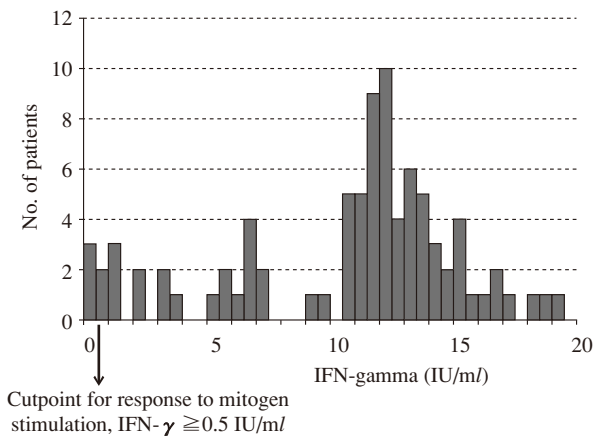


Fig. 2 Mitogen response at 6 months after kidney transplant

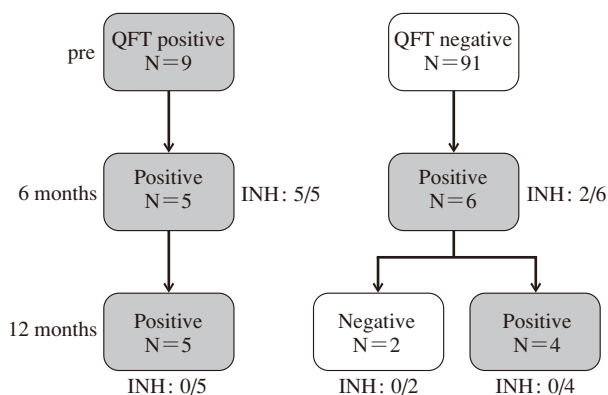


Fig. 3 11 QFT + recipients at 6 months after kidney transplant

IFN- γ を産生する能力が低く、判定不可となる可能性がある。移植医は、常にこのことを頭において患者に対応すべきである。

TSTは、潜在性結核感染者の診断に対して、特異度は低い、感度は高い検査である。BCG接種がなければTSTにより潜在性結核感染者を診断するのがよい⁵⁾。TSTで発赤10 mm以上を陽性とした場合、その感染診断の感度はおそらく95%程度である。特異度は対象がBCG未接種者であれば97%であるが、BCG既接種集団であれば50%を割ることもまれではない。

2005年の本邦のガイドラインからはBCGの乳幼児時期以外の接種は廃止された。小学1年生、中学1年生にBCGを施行しなかった世代が、腎移植レシピエント候補者となる将来、TSTで潜在性結核感染者を見つけるのがコスト的にもいいのかもしれない。しかし、現時点で、腎移植レシピエント候補者が潜在性結核感染者かどうか判定するには、TSTよりQFTのほうがよい⁶⁾。また、TSTは接種者による技術差が大きいことや2日にわたって来院しなくてはいけないデメリットがある。

当院では1972年当時からすべてのTST陽性と結核の既往があったレシピエントに対しINH予防投与を行ってきた。1200名という多くの腎移植レシピエントのうちで、活動性結核を発症したのは2名のみであった。INH予防投与が潜在性結核感染者からの結核発症に効果的であった可能性はあり、移植後の結核発症を抑えるためにはTSTのような感度の高い検査を選択したほうがよいとの考えもある。しかし、移植前TST陽性患者60名中、QFT-2G陽性患者は8名のみであり、不必要なINHによりかなりの患者に肝機能上昇がみられること⁷⁾、移植直後のCNI毒性との鑑別が難しくなることを考えると、QFT-2GはTSTに代わって移植前の潜在性結核感染のスクリーニング検査になっていくことが予想される。

腎移植後1カ月では免疫抑制剤が多いため、QFT-2Gは信頼できなかつた。しかし、移植後6カ月以降の維持免疫抑制状態では、結核発症の有用な指標になる可能性がある。

今回の結果を参考にして、当院では、①移植前にQFT-2Gを検査(TSTは施行しない)、②QFT-2G陽性なら潜在性結核感染者として、移植後INH6カ月間予防投与、③免疫抑制下の移植後6カ月でQFT-2G再検、④陽性なら引き続きQFT-2Gフォローアップ、⑤不明熱時はQFT-2Gを検査する。免疫抑制下コントロール値(移植後6カ月のQFT-2G)より増加していたら結核発症も考慮することにしていく。

2008年5月以降現在まで、約180名に対して、移植前のQFT-2G陽性患者のみにINH予防投与しているが、腎移植後に活動性結核を発症した患者はいない。

また、2010年8月からクオンティフェロン[®]TB-3G(QFT-3G)が使用できるようになる⁸⁾。潜在性結核感染者の診断として、QFT-2Gに比べ、感度が数パーセント高まった検査に期待したい。

文 献

- 1) Fishman JA: Infection in solid-organ transplant recipients. *N Engl J Med.* 2007; 357: 2601-2614.
- 2) Kasiske BL, Cangro CB, Hariharan S, et al.: The evaluation of renal transplantation candidates: clinical practice guidelines. *Am J Transplant.* 2001; 1 Suppl 2: 3-95.
- 3) Muñoz P, Rodríguez C, Bouza E: *Mycobacterium tuberculosis* infection in recipients of solid organ transplants. *Clin Infect Dis.* 2005; 40: 581-587.
- 4) Kobashi Y, Mouri K, Obase Y, et al.: Clinical evaluation of QuantiFERON TB-2G test for immunocompromised patients. *Eur Respir J.* 2007; 30: 945-950.
- 5) Kang YA, Lee HW, Yoon HI, et al.: Discrepancy between the tuberculin skin test and the whole-blood interferon gamma assay for the diagnosis of latent tuberculosis infection in an intermediate tuberculosis-burden country. *JAMA.* 2005;

- 293 : 2756-61.
- 6) Winthrop KL, Nyendak M, Calvet H, et al.: Interferon-gamma release assays for diagnosing *Mycobacterium tuberculosis* infection in renal dialysis patients. Clin J Am Soc Nephrol. 2008 ; 3 : 1357-1363.
- 7) Thomas PA Jr, Mozes MF, Jonasson O: Hepatic dysfunction during isoniazid chemoprophylaxis in renal allograft recipients. Arch Surg. 1979 ; 114 : 597-599.
- 8) Harada N, Higuchi K, Yoshiyama T, et al.: Comparison of the sensitivity and specificity of two whole blood interferon-gamma assays for *M. tuberculosis* infection. J Infect. 2008 ; 56 : 348-353.

2. 関節リウマチにおけるTNF阻害剤投与時のQFTの意義

愛知医科大学腎臓・リウマチ膠原病内科 坂野 章吾

はじめに

関節リウマチ (RA) 治療は、現在、臨床的寛解を明確な治療目標としてさだめ、疾患活動性指標を用いて評価しながら積極的に行う時代である。免疫抑制状態になるRA治療を推進していくに際し、合併症併発時の迅速な対応が求められるが、重要なことはリスク評価である。生物学的製剤によるRA治療において、潜在性結核感染 (LTBI) の内因性再燃による結核発病リスクがあり、海外において、肺外結核をはじめ、結核発病が報告されてきた。本邦でもガイドラインにより胸部X線、ツ反 (TST)、問診による結核リスク評価が行われ、胸部X線で陳旧性結核病変、TSTで発赤径20 mm以上、または硬結、問診で結核既感染のいずれかがある場合はLTBIとしてINH予防投与が推奨されている。本邦ではBCGの影響により、TSTは疑陽性が多く、免疫抑制状態での偽陰性の問題等もあり、TSTの有用性が疑問視されている。クォンティフェロンTB-2G (QFT-2G) は活動性肺結核診断、接触者検診で有効性が報告されているが、免疫能低下、免疫抑制剤投与の影響もあるRAでQFT-2Gは有効であるのかは明らかでない。QFT-2GはTSTに代わり、結核リスク評価検査のひとつとしてどこまで有効なのか、本邦独自に検討する必要がある。われわれはRAにおける、LTBI補助診断としてQFT-2Gの有効性を検討してきた。

関節リウマチでの結核既感染者におけるQFT-2Gのcut off

生物学的製剤投与に際しての結核リスク評価で重要なことは、LTBIとして、INH予防投与を行う必要のある結核既感染者を抽出することである。QFT-2Gにおける活動性結核の陽性cut offは0.35 IU/ml以上、0.1~0.35 IU/mlの偽陽性者は感染リスクを評価し、総合的に判断する必要があり、判定保留とされ、PHA (陽性マイトジェン) によるIFN- γ 値<0.5 IU/mlは判定不能 (indeterminate result)

として報告されている。

われわれはTNF阻害剤投与時のLTBI評価に際して、活動性肺結核におけるQFT-2Gのcut off 0.35 IU/mlを、そのまま使用するのではなく、結核既感染者を抽出するためにcut offを下げるのが可能なのかを検討してきた。LTBI診断にはgold standardがなく、感度、特異度を求めるのが困難である。名古屋市立大学病院膠原病内科に通院中のRA患者 (TNF阻害剤未投与) 370例より結核既感染群 (n=22) を陽性コントロール、非結核暴露群 (n=27) を陰性コントロールとして抽出した。結核既感染群は、問診により結核治療歴が確認でき、さらに胸部CTにて陳旧性結核病変が明らかにあるものを抽出した。非結核暴露群は、胸部CTでこれらがなく、既往歴および接触歴、家族歴を確認し、結核暴露の可能性がないものを抽出した。これらの両群においてQFT-2G、TSTを測定した。QFT-2GのIFN- γ 値は結核既感染群 (0.110±0.189 IU/ml)、非結核暴露群 (0.001±0.040 IU/ml) で有意に (P<0.01)、結核既感染群が高値であった。TSTは、結核既感染群、非結核暴露群それぞれ、発赤径は11.5±9.3 mm, 13.5±13.8 mm, 両群間に有意差はなかった。QFT-2Gのcut offを疑陽性基準の0.1 IU/mlとすると、結核既感染診断の感度、特異度は0.27±0.46, 1.00±0.00であった。一方、TSTは発赤径cut off 10 mmとすると、感度、特異度は0.53±0.51, 0.48±0.51であった。QFT-2GはTSTよりも特異度は非常によいが、感度が低く、QFT-2Gが陰性でも結核既感染であることの否定はできないと考えられた。

ROC解析の結果、QFT-2GのAUCは0.77 (95%CI:0.64-0.91, P<0.005) と有意であった。一方、TSTには有意差はなく、結核既感染の診断においてQFT-2GはTSTよりも優れていると考えられた。RAにおいて結核既感染者のQFT-2Gのcut off値は0.35 IU/mlではなく、少なくとも、0.1 IU/ml (活動性結核の偽陽性判定基準) まで下げ、INH投与基準のひとつとすることも可能と考えられた²⁾。

胸部CTの陳旧性結核病変の有無による QFT-2GおよびTSTの検討

結核既感染歴、家族歴が問診により明らかではないが、胸部CTにより結核既感染（陳旧性肺結核）と診断されたRA患者のQFT-2G、TSTの結果の一致性について検討した。TNF阻害剤未投与のRA105例を対象にして、胸部CTで陳旧性結核病変の有無により、陳旧性結核群（ $n=52$ ）、結核否定群（ $n=53$ ）の2群に分け、QFT-2G、TSTを比較検討した。また、メトトレキセート（MTX）、プレドニゾン（PSL）など投与薬剤の影響についても検討した。

陳旧性結核群、結核否定群の年齢はそれぞれ、62歳、44歳で有意に（ $P<0.001$ ）、陳旧性結核群が高齢であった。MTX投与例はそれぞれ69%、85%であったが、有意差はなく、またPSL投与例も両群間で差はなかった。WBC、CRP、MMP-3値も有意差はなかった。QFT-2GのIFN- γ 値は陳旧性結核群0.09 IU/ml、結核否定群0.01 IU/mlで有意に（ $P<0.01$ ）、陳旧性結核群が高値を認めた。QFT-2Gのcut off 0.35 IU/ml、0.1 IU/mlでの陽性率は陳旧性結核群で、それぞれ5.8%、23.1%であった。PHA刺激によるIFN- γ 値は陳旧性結核群、結核否定群で両群に有意差はなく、判定不能例（PHAによるIFN- γ 値 <0.5 IU/ml）もそれぞれ、3.8%、5.7%で差はなかった。TSTの発赤径は陳旧性結核群10.4 mm、結核否定群17.0 mmで有意に（ $P<0.01$ ）、結核否定群が大きかった。発赤径10 mm、cut offでは、それぞれ50%、55%が陽性であり、20 mm、cut offでは陽性率は陳旧性結核群13%、結核否定群31%で有意（ $P<0.01$ ）に結核否定群に多く認められた。QFT-2G（cut off 0.1 IU/ml）とTST（cut off 10 mm）がともに陽性または陰性で一致する例は陳旧性結核群58%（ κ 統計量0.5）、結核否定群42.9%（ κ 統計量-0.05）であった。陳旧性結核群ではQFT-2G、TSTの一致するものが多く認められた。QFT-2G陰性、TST陽性例は44%と多く認め、これらはBCGの影響によりTSTが陽性を示した若年者に多く認めた。またQFT-2G陽性、TST陰性例は5%と少なく、QFT-2GはLTBIでは感度が低いいため、限界があるものと考えられた。

MTX投与79例（MTX平均投与量7.5 mg/週）、非投与26例におけるQFT-2GのIFN- γ 値の有意差はなく、またPHA刺激によるIFN- γ 値もMTX投与例11.4 IU/ml、MTX非投与例14.3 IU/mlで有意差はなかった。判定不能例もそれぞれ5.1%、3.8%でMTX投与例、非投与例で差はなかった。判定不能例はRA105例中5例（4.8%）で頻度は低かった。HIV感染において判定不能例がCD4陽性Tリンパ球数低下のため、多く報告されているが、RAではMTX投与によるリンパ球数低下をきたす症例が少ない

ため判定不能例は少ないと考えられた。

TNF阻害剤投与前後のQFT-2Gの推移

活動性肺結核の治療後、QFT-2GのIFN- γ 値は低下していくが、長期にわたりQFT-2GによるTリンパ球の免疫応答は残ることが報告されている³⁾。TNF阻害剤など生物製剤投与に伴い、免疫能低下をきたし、QFT-2Gは判定不能例が増加するのかが明らかではない。われわれは、TNF阻害剤投与前後のQFT-2Gの経過について検討した。対象はRA21例、平均年齢48歳。全例、MTX投与され、平均MTX投与量は8 mg/週であった。TNF阻害剤はinfliximab 6例、etanercept 15例で、21例中、INH投与は5例に行われた。IFN- γ 値を0.1 IU/mlの疑陽性基準をcut offとすると、開始前より陽性は1例に認めた。6カ月後に21例中4例が0.1 IU/ml以上になったが、12カ月後には低下した。INH投与5例中、0.1 IU/ml以上になった4例は12カ月後には3例が0.1 IU/ml未満に低下した。経過中、0.35 IU/ml以上となった例は認めなかった。判定不能例も12カ月後には3例（14.3%）となったが、PHA刺激によるIFN- γ 値は、TNF阻害剤投与により6カ月後には低下した例も、12カ月後には回復していた（Fig.）。PHA刺激によるIFN- γ 値は開始前、6カ月後、12カ月後は、それぞれ9.6 IU/ml、5.6 IU/ml、10.5 IU/mlであった。生物製剤投与中でも、QFT-2Gは評価可能と考えられたが、経過中、活動性結核発病例はなく、QFT-2G、IFN- γ 値の上昇が結核発症につながるのかが不明である。

まとめ

QFT-2Gは、RAにおけるLTBI診断として特異度は高く有効であるが、感度が低い点が問題である。QFT-2Gが陰性でもLTBIの否定はできず、QFT-2Gには限界があり、問診、胸部画像を合わせて検討する必要がある。QFT-2Gのcut offを少なくとも、0.1 IU/ml以上を陽性と考え、結核既感染例としてINH予防投与を検討し、IFN-

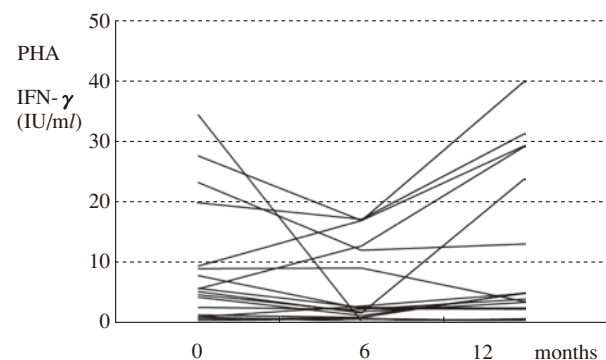


Fig. IFN- γ response by stimulated PHA mitogen during treatment (12 months) of TNF inhibitors in 21 RA patients.

γ 値が0.35 IU/ml以上を示す例はLTBIよりも結核発病を疑う必要がある。QFT-2Gは特異度が高く、cut off 0.35 IU/ml以上の症例は胸部画像で陳旧性結核病変がない場合でも、TNF阻害剤投与を行う際には、経過中に結核再燃に注意する必要があると考えられる。TSTは若年者では疑陽性、高齢者では疑陰性の可能性があるが、QFT-2Gの特異度は高く、生物製剤投与時のリスク評価ではTSTよりも有用であると考えられる。

現在、本邦では5種類の生物製剤が使用可能であるが、今後も若年層で投与例がさらに増加してくる。TNF阻害剤抵抗例は他剤に変更され、生物製剤の変更ごとにTSTを結核リスク評価として行っているが、TSTの有用性は疑問である。生物製剤投与前にQFT-2Gをベースライン値として測定し、生物製剤変更時にもQFT-2Gを測定し

て、結核リスク再評価を行うことを検討する必要がある。

文 献

- 1) Smolen JS, Aletaha D, Bijlsma JW, et al.: Treating rheumatoid arthritis to target: recommendations of an international task force. *Ann Rheum Dis.* 2010; 69: 631-637.
- 2) Maeda T, Banno S, Maeda S, et al.: Usefulness and limitations of QuantiFERON-TB Gold in Japanese rheumatoid arthritis patients: Proposal to decrease the lower cutoff level for assessing latent tuberculosis infection. *Mod Rheumatol.* 2010; 20: 18-23.
- 3) Kobashi Y, Mouri K, Yagi S, et al.: Transitional changes to in T-cell responses to *Mycobacterium tuberculosis*-specific antigens during treatment. *J Infect.* 2009; 58: 197-204.

3. Compromised host と QFT—感度に影響する宿主因子

独立行政法人国立病院機構東京病院呼吸器科 有賀 晴之

はじめに

HIV感染者、ステロイド、抗TNF阻害剤などの免疫抑制剤投与患者、糖尿病、担癌状態、低栄養、超高齢者などの宿主は、結核発病のハイリスクグループである。このような集団にターゲットを絞った結核感染の検出および化学予防が、結核発病、結核蔓延の制御に重要である。欧州、米国あるいは日本において、特異性の高いIFN- γ release assay (IGRA) がツベルクリン反応 (ツ反) に代わって導入され、結核感染診断に適用する意義が明らかになってきている。BCG接種が普及している日本においてQuantiFERON-TB 2G (現在はQFT-3G) が保険適応となり、特異度の低いツ反を用いた場合に比べ、接触者の予防内服対象者を減少させることが可能となった。日本結核病学会予防委員会のガイドラインにおいて、免疫抑制者においてはQFTを結核感染診断に用いることを推奨している。

結核感染者におけるIFN- γ 応答値の予測因子

IGRAは宿主の細胞性免疫応答を原理として用いた検査法であり、細胞性免疫が低下した状態では結核感染を適確に検出できない可能性が想定される。免疫抑制が示唆される被検者にQFTを行う場合、臨床検査としての限界をあらかじめ知っておく必要がある。被検者の免疫力と、*in vitro*におけるIGRAの特異的IFN- γ 応答との関連に関して明確な回答は得られていない。全血を用いたQFTにおけるIFN- γ の主要な産生源はCD4を主体とした

T細胞である。細胞内サイトカイン染色法を用いたフローサイトメトリーによるわれわれの解析では一部の被検者で、CD8陽性細胞も抗原特異的にIFN- γ を産生していることを確認した。細胞性免疫に重要な役割を演じる末梢血リンパ球数の低下やリンパ球機能異常がQFTの感度に影響する可能性が推察される。この仮説を検証するために以下の検討を行った。2006年から2008年の間に当院を受診し、結核感染が疑われた患者 (n=3017) に対し連続的にQFTを施行した。その中で、喀痰や気管支洗浄液の抗酸菌検査により結核菌培養陽性が確認された727名を解析対象とした。この集団には、検診発見の軽症肺結核や、空洞を有する重症結核、栄養状態、全身状態不良者、担癌患者など、多様な免疫背景を有する宿主が含まれている。この結核感染集団における末梢血ESAT-6、CFP-10刺激IFN- γ 産生量のpredictorとして、年齢、リンパ球数、単球数、好中球数、好酸球数、陽性コントロールIFN- γ 値、血清アルブミン値、ヘモグロビン値、CRP、血清クレアチニン値、AST、ALTを設定し、linear regression modelを適用し解析した。結果、末梢血リンパ球数、陽性コントロールIFN- γ 値が有意であり、結核感染者におけるIFN- γ 応答値に強く関連していると考えられた (Table)。対象患者をリンパ球数により亜集団に層別化し、それぞれの集団におけるQFTの結果を解析した。全体のQFTの結果は、陽性、陰性 (判定保留を含む)、判定不可はそれぞれ68%、25.8%、6.2%であった。リンパ球数正常 (>1800/ μ L, n=104) では陽性率89.3%、判定不可0%であったが、リンパ球数の減少とともに

に陽性率は低下した。リンパ球数300~500/ μ L (n=57)では陽性率49.1%, 判定不可14%, リンパ球数300/ μ L以下 (n=45)では陽性率26.7%, 判定不可37.8%であった。よって, QFTによる結核感染の診断において, リンパ球数の減少をきたす免疫背景を有する被検者においては, QFTの結果の解釈に留意が必要である。低栄養, HIV感染症, 進行癌, 透析中の慢性腎不全, 重症の活動性結核, 全身免疫抑制剤投与などの患者で細胞性免疫の障害やリンパ球数減少が示唆される。免疫抑制者では, 日本独自のQFT判定基準であるグレーゾーンの判定保留域 (IFN- γ 応答値0.1~0.35 IU/ml)でも事実上の結核感染を想定して, レントゲン所見その他の臨床情報を含め総合的な評価が必要であると考えられる。

ELISA法とELISPOT法の感度比較

QFTは全血を直接結核菌抗原で刺激培養し, 上清中のIFN- γ をELISA法にて測定する。もう一つのIGRAであるELISPOT法は, 末梢血からperipheral blood mononuclear cell (PBMC)を精製し1ウェル当たりの細胞数を調整, 均一化し, 特異抗原で刺激, 培養しELISPOT法によりIFN- γ 産生細胞を可視化, 細胞数をカウントする。末梢血からリンパ球分画が濃縮されリンパ球数が培養段階で均一化される点で, 患者の末梢血リンパ球数減少の影響を回避でき, 細胞性免疫抑制者においても, ELISPOT法を用いたIGRAがより高感度に結核感染を検出できる可能性がある。そこで, 当院における菌培養陽性肺結核患者230例に対し, 治療開始14日以内にQFTとELISPOT法を同時に行い, 感度について比較検討した。全血法と

PBMC法, ELISA法とELISPOT法の違いを明確にすることを目的とし, ELISPOT法においてQFTと同じ配列のoverlapping peptidesを合成し使用した。末梢血から分離した単核球を250,000個/ウェルに調整, AIM-V培地 (GIBCO)にて培養し, human IFN- γ ELISPOT kit (BD)を用いてassayを行った。Spot解析はKS ELISpot (Carl Zeiss)にて行った。ELISPOTの判定はT-SPOT.TBの製造元の基準に準拠した(抗原刺激スポット数6個以上陽性)。結果, 全体の陽性率はQFT 74%, ELISPOT 92%であった。リンパ球数1,000/ μ L以上の集団では, 陽性率はQFT88%, ELISPOT 97%であったが, リンパ球数500/ μ L未満の場合, 陽性率QFT 39%, ELISPOT 81%とQFTで著しく陽性率が低下した (Fig. 1)。¹⁾ 全血QFTはELISPOT法より検査手技において技術的に, より簡便であるが, リンパ球減少, 細胞性免疫が障害されている被検者では, ELISPOT法によるIGRAが結核感染診断上, 優位である。しかし, 現時点で, 本邦ではQFTのみが普及しており, 将来的に, 免疫健全被検者を含めすべてに対しELISPOT法を適用する必要性はないと考えられるが, 結核感染が強く疑われ, 発病のリスクの高い免疫脆弱被検者に対してはELISPOT法が有用であるかもしれない。IGRAが用いられる最も重要なsituationとして, 集団感染などの接触者検診があげられる。今後, 高齢化が進む日本において, 高齢者施設などでの免疫脆弱集団における感染などでは, ELISPOT法が適切かもしれない。欧米で利用されているT-SPOT.TB (Fig. 2)は日本では現時点で保険の適応はない(現時点で日本での臨床試験が予定されている)。また, PBMCを分離するという工程が加わり, 全血

Table Regression coefficients and associated statistics

Predictors	Coefficient	SE	t	P	95% CI	
					Lower	Upper
Age (y)	-0.0030	0.0027	-1.12	0.26	-0.0083	0.0023
Nil control (IU/ml)	0.57	0.089	6.46	<0.0005	0.40	0.75
Mitogen control (IU/ml)	0.016	0.0056	2.78	0.006	0.0046	0.027
Albumin (g/dl)	0.0055	0.11	0.05	0.96	-0.21	0.22
Hemoglobin (g/dl)	-0.023	0.029	-0.79	0.43	-0.080	0.034
Neutrophil (1000/mm ³)	-0.14	0.021	-6.51	<0.0005	-0.18	-0.095
Monocyte (1000/mm ³)	0.26	0.23	1.13	0.26	-0.19	0.72
Lymphocyte (1000/mm ³)	0.61	0.13	4.65	<0.0005	0.35	0.87
Eosinophil (1000/mm ³)	-0.63	0.44	-1.43	0.15	-1.5	0.23
CRP (mg/dl)	-0.015	0.012	-1.27	0.21	-0.038	0.0081
AST (IU/l)	-0.0023	0.0030	-0.76	0.45	-0.0082	0.0036
ALT (IU/l)	0.0047	0.0032	1.48	0.14	-0.0015	0.011
Creatinine (mg/dl)	0.18	0.12	1.48	0.14	-0.058	0.41
Mitogen \times Lymphocyte	-0.0073	0.0034	-2.16	0.031	-0.014	-0.00067
Intercept (ln IU/ml)	0.22	0.47				

NOTE. Regression coefficients for linear regression of log-transformed antigen-stimulated IFN- γ production by the QuantiFERON[®]-TB Gold. Wald (t) test statistics are based upon 698 degrees of freedom. P-values are not adjusted for multiplicity. Diagnostic plots do not indicate significant departures from normality for the distribution of residuals, or nonlinearity in the predictions. The maximum variance inflation factor (<4) is within an acceptable range. CRP, C-reactive protein; AST, aspartate amino transferase; ALT, alanine aminotransferase; SE, standard error; CI, confidence interval

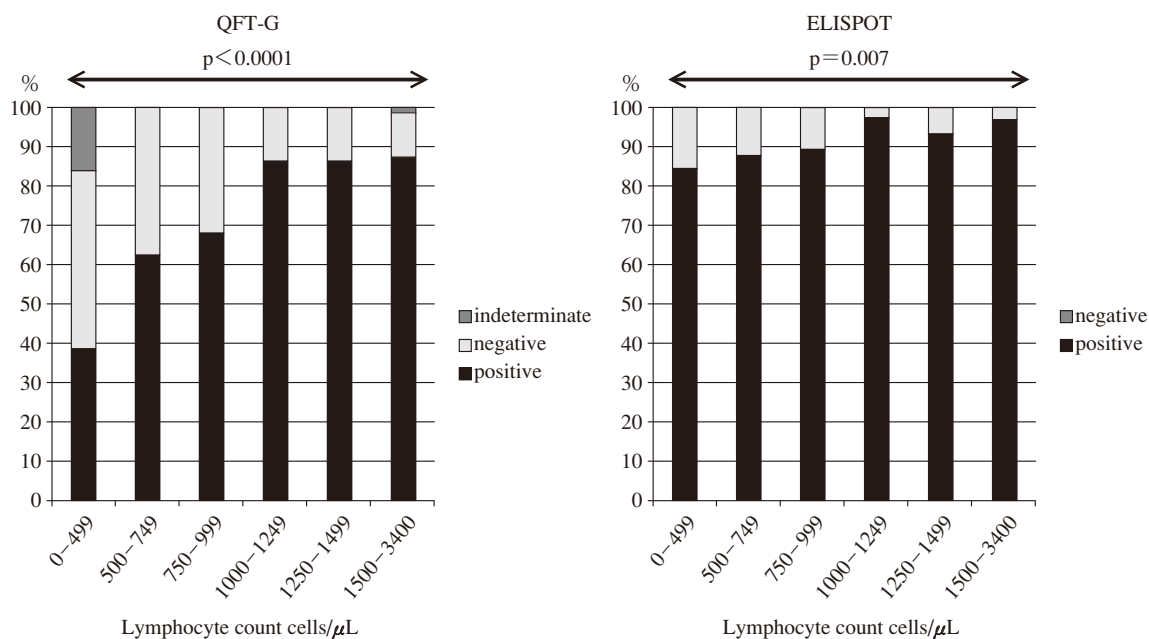


Fig. 1 Influence of lymphocyte count on performance of the QFT-G and ELISPOT analysis in pulmonary tuberculosis patients. For all patients the % of positive, negative and indeterminate was grouped by the individual number of lymphocyte count cells/ μ L. P-values are for chi-square exact for linear trend. The number of patients in each lymphocyte count group was: 0-499 : 31, 500-749 : 30, 750-999 : 28, 1000-1249 : 37, 1250-1499 : 29, 1500-3400 : 60.

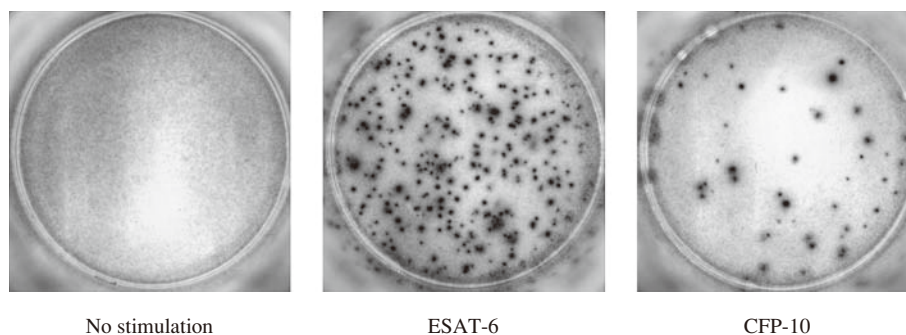


Fig. 2 Detection of specific IFN- γ producing cells by ELISPOT assay (T-SPOT.TB)

法QFTに比べると技術的にやや煩雑である。スポットを可視化するシステムを要するため、機器整備などハード面の問題もある。高蔓延途上国での一次的使用は現実的ではないであろう。さらには、IGRAは結核既往と最近の曝露を区別することができず、T-SPOT.TBの特異度や費用対効果も含め、今後の検討課題である。

文 献

- 1) Komiya K, Ariga H, Nagai H, et al.: Impact of Peripheral Lymphocyte Count on the Sensitivity of 2 IFN- γ Release Assays, QFT-G and ELISPOT, in Patients with Pulmonary Tuberculosis. *Inter Med.* 2010 ; 49 : 1849-1855.

4. 病院職員に対するQFTの実施状況と肺結核症の発症に関する検討

独立行政法人国立病院機構南京都病院呼吸器科 小栗 晋

はじめに

「QFTのQ&Aと使用指針の解説」において結核感染の暴露の機会が予想される職場に就職、配属される職員についてはQFTを行うべきであると記載されている¹⁾。過去の報告でも看護師のQFTの陽性率が高いことが知られているが、結核モデル病床においても職員の定期検査を行っている施設は40%と報告されている²⁾³⁾。

国立病院機構（NHO）では結核病棟を有する病院が多く、職員の院内結核感染対策は重要である。NHOと当院の職員のQFTの結果と肺結核症の発生状況をあわせて報告する。

方法と結果

アンケート方式でNHOにおけるQFTの実施状況とその結果を調査した。結核病棟のある45施設、結核病棟のない57施設より回答が得られ、それぞれ21施設、6施設でQFTが行われていた。QFTの対象者は、大部分の施設では日常の業務で結核患者と接触する職員に限られていた。2006年、2007年のQFTの検査成績は、結核病棟を有する施設では陽性6.9%、判定保留5.6%であり、結核病棟をもたない施設では陽性4.4%、判定保留3.9%であった。

南京都病院では就職時には全職員に実施し、結核病棟に勤務する看護師、医師、薬剤師、検査技師、放射線技師の全員には定期的に実施しており、2010年からは看護師は全員を対象としている。2007年では陽性8%、判定保留9%、2008年では陽性8%、判定保留6%、2009年では陽性6%、判定保留6%であった。2007年から2009年にかけて陰性から判定保留に変化したものが6人、判定

保留から陽性に変化したものが1人みられた。陽性から陰性または判定保留に変化したものはなく、判定保留から陰性に変化したものもなかった。

2007年、2008年でのNHOにおける結核発症例について調査を行った。結核病棟を有する施設（職員総数13,515人）では9人の発症がみられ、結核病棟のない施設（職員総数21,314人）では5人の発症を認め、おのおの人口10万人あたり33.3人、11.7人の罹患率であった。

まとめ

今回の調査では対象者の年齢、職種が含まれていないためQFTの陽性率を評価するのは難しい。南京都病院では就職時に陰性の職員が陽性または判定保留に変化する例が認められ、潜在性結核治療を実施した症例がみられた。過去の報告でも結核診療施設でのQFTの陽転化率は3.7%であった⁴⁾。少なくとも結核病棟を有する施設においては職員の定期的なQFTを実施し、経年的に陽性化率をみることが院内感染対策の評価にも有用であると考えられた。

文 献

- 1) 鈴木公彦：「QFTのQ&Aと使用指針の解説」。森亮監修，結核予防会，東京，2004，19。
- 2) 伊藤邦彦：結核モデル病床における職員の結核感染モニターの現状。結核。2009；84：79-82。
- 3) 矢野修一，小林賀奈子，池田敏和，他：当院結核病棟に勤務歴を有する看護師におけるQuantiferon®TB-2Gの検討。結核。2008；83：359-363。
- 4) 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。2009；83：445-450。

————— The 85th Annual Meeting Mini-Symposium —————

THE CLINICAL APPLICATION OF QuantiFERON TB-2G: ITS USEFULNESS AND LIMITATIONS

Chairpersons: ¹Shigeki SATO and ²Hideaki NAGAI

Abstract QuantiFERON TB-2G (QFT) is widely used in clinical settings for the identification of tuberculosis infection because of its high level of utility. It is well known that QFT stimulates peripheral blood lymphocytes *in vitro* by means of *M. tuberculosis*-specific protein, and that infection is identified by measuring the interferon- γ released. Interpretation of QFT results is therefore difficult in immunosuppressed subjects in whom the function of immunocompetent cells, including lymphocytes, is suppressed, making it difficult for them to produce interferon- γ .

There is a high incidence of tuberculosis among hemodialysis patients. It has been conjectured that the use of powerful immunosuppressive agents following kidney transplantation results in a high risk of tuberculosis. How QFT results change immediately following kidney transplantation is an extremely interesting question. In recent years, an increasing number of institutions have been using TNF- α inhibitors to treat rheumatoid arthritis patients. Is QFT useful for identifying whether patients have latent tuberculosis infection before the administration of anti-TNF antibodies? In particular, many rheumatoid arthritis patients may have been given methotrexate or glucocorticoids, which suppress the immune system, prior to the administration of TNF- α inhibitors, possibly making it difficult to interpret the QFT results. We must be aware of this limitation when performing QFT on immunosuppressed patients. It is also important that we understand the clinical parameters influencing QFT results (such as lymphocyte counts). The morbidity rate of tuberculosis is high among healthcare workers, particularly nurses. A number of studies have reported that QFT is useful in hospital infection control for tuberculosis, but the effectiveness of QFT for monitoring the health of healthcare workers is still not fully understood.

In this symposium, we will debate how far QFT can be used and the extent of its usefulness under exceptional circumstances.

1. How do we manage kidney transplant recipients with latent tuberculosis infection?: Norihiko GOTO (Transplant Surgery, Nagoya Daini Red Cross Hospital)

It is unclear whether QuantiFERON[®]-second generation (QFT-2G) is useful for diagnostic screening and follow up of latent tuberculosis infection (LTBI) in immunosuppressed kidney transplant (KTx) recipients. The QFT-2G assay that included response to mitogen stimulation was performed before and 6 months after KTx. Non responder was 0 (0%) at baseline, 3 (3%) at 6 months. Response to mitogen stimulation was 9.7 ± 5.3 IU/mL at baseline vs. 10.4 ± 5.0 IU/mL at

6 months after KTx ($p=0.29$). QFT-2G is a useful screening test for LTBI and active tuberculosis (TB) even during maintenance of immunosuppression of KTx.

2. QuantiFERON-TB Gold in Japanese rheumatoid arthritis patients for assessing latent tuberculosis infection prior treatment of anti-tumor necrosis factor antibody: Shogo BANNO (Division of Rheumatology and Nephrology, Department of Internal Medicine, Aichi Medical School of Medicine)

To determine the positive rate of LTBI in RA patients using the QFT-2G test, we divided RA patients into two groups: with or without old TB findings by chest CT. With a cutoff level set at 0.35 IU/ml, the positive rate of QFT-2G in LTBI was detected only 5.8%, when setting cutoff at 0.1 IU/ml (lower cutoff level), 23.1% was detected in LTBI patients. The positive TST results were significantly increased in non-LTBI patients compared than in LTBI patients. The QFT-2G test was not affected by the treatment of MTX, and the incidence of indeterminate result was low. The QFT-2G was useful compared to TST before administration of TNF inhibitors in RA patients, because of superior specificity of QFT-2G.

3. Clinical parameters that influence the sensitivity of T-cell assays: Haruyuki ARIGA (National Hospital Organization Tokyo National Hospital)

The detection of tuberculosis (TB) infection in compromised hosts is essential for TB control, but T cell assay might be influenced by the degree of cell-mediated immunosuppression. The relationship between immunocompetence and specific interferon (IFN)- γ response in whole blood QuantiFERON-TB Gold (QFT) is uncertain. Immune-related clinical indicators associated with the degree of antigen-specific IFN- γ production were analysed using a large immunologically-unselected population with obvious TB infection. The absolute number of blood lymphocyte in TB patients was significantly associated with specific IFN- γ production in a linear regression model. Sensitivity of 2 IFN- γ Release Assays, QFT and ELISPOT, partly depends on peripheral lymphocyte counts. At low lymphocyte count conditions, ELISPOT assay is superior to whole blood QFT for detecting tuberculosis infection.

4. QuantiFERON TB-2G among staffs in the hospitals of Nationao Hospital Organization: Susumu OGURI, Chihiro NISHIO, Kensuke SUMI, Masayoshi MINAGUCHI, Tomomasa TSUBOI, Atuo SATOU, Osamu TOKUNAGA, Takeshi MIYAMOMAE, Takuya KURASAWA (National Hospital Organization Minami-Kyoto National Hospital)

[Purpose] To investigate the infection rate of tuberculosis among staffs working in the hospitals of NHO.

[Method] Questionnaires were sent to the hospitals and the responses were analyzed.

[Result] Among the staffs working in the hospitals with tuberculosis wards, positive rate of QuantiFERON TB-2G was 6.9%, probable positive rate was 5.6%. On the other hand, among the staffs working in the hospitals without tuberculosis wards, positive rate was 4.4%, probable positive rate was 3.9%.

[Conclusion] It is necessary to monitor the infection rate among hospital staffs.

Key words: QuantiFERON-2G (QFT), Tuberculosis, Interferon- γ , Transplant, TNF, Immunosuppression

¹Graduate School of Medical Sciences, Nagoya City University,

²National Hospital Organization Tokyo National Hospital

Correspondence to: Shigeki Sato, Department of Medical Oncology and Immunology, Graduate School of Medical Sciences, Nagoya City University, 1 Kawasumi, Mizuho-cho, Mizuho-ku, Nagoya-shi, Aichi 467-8601 Japan.

(E-mail: ssato@med.nagoya-cu.ac.jp)