

第85回総会特別講演

QFTからみた結核感染免疫の動態

原田 登之

要旨：クオンティフェロン (QFT) 検査は、日本において2005年4月に承認され、さらに2006年1月に健康保険に採用され、現在では結核感染診断法として特に接触者健診ではなくてはならない検査法となっている。QFT検査では、BCGや大部分の非結核性抗酸菌には存在しない結核菌特異抗原により血液を刺激し、結核菌感染により分化した抗原特異的T細胞からのインターフェロン- γ (IFN- γ) を測定することにより感染診断を行うため、BCG接種や大部分の非結核性抗酸菌感染の影響を受けず高特異度で診断することが可能である。また、QFTと同様の結核菌特異抗原を用い、やはりIFN- γ を測定し結核感染診断を行うT-SPOT.TBがあり、両者を合わせてIGRAs (Interferon-Gamma Release Assays) と呼ばれている。一方、抗結核防御免疫の観点から考えると、IFN- γ 産生応答は免疫応答のごく一部であることから、IGRAs検査の結果から結核感染免疫の動態は十分把握できない。今後、IFN- γ 以外のバイオマーカーや、現在IGRAsに用いられている結核菌抗原以外の抗原を使用した感染診断法の開発が待たれる。

キーワード：IGRAs, QFT, T-SPOT, インターフェロン- γ , 結核感染免疫

はじめに

クオンティフェロン (QFT) 検査は、結核菌群特異抗原で全血を刺激後、産生されるインターフェロン-ガンマ (IFN- γ) を定量することにより、従来のツベルクリン反応 (ツ反) と異なりBCG接種、あるいは大多数の非結核性抗酸菌感染の影響を受けることなく結核感染を診断する検査法である。また日本では未承認であるが欧米で結核感染診断法として承認されている、やはり結核菌群特異抗原を刺激抗原として用いIFN- γ 産生を指標とする検査法T-SPOT.TB (T-SPOT) があり、両者はまとめてIGRAs (Interferon-Gamma Release Assays) と呼ばれている。結核研究所においてQFT-2Gというプラットフォームを用いた世界初の臨床試験¹⁾を行って以降約8年程度の時間経過であるが、現在既にIGRAsに関して500以上もの論文が出されているという非常に研究が活発に行われている分野である。本講演では、これまで得られたQFTを含むIGRAsに関する知見、および結核感染に対する防御免疫を考察し将来への研究課題を提起したい。

IGRAs検査の原理と特性

〔QFT検査〕

結核感染、特に潜在性感染を診断できる方法は、ごく最近まで唯一ツ反のみであった。ツ反はPPD (Purified Protein Derivative) 投与によって起こる遅延型過敏反応を観察するものであるが、PPDに含まれる大部分の結核菌抗原がBCGや非結核性抗酸菌のもつ抗原と類似性が高いため、BCG接種や非結核性抗酸菌感染によってもツ反は陽性を示すことがあるという、特異度の点で重大な問題をもっていた。この問題点を解決する結核感染診断法として、結核菌群特異抗原を用いたQFTあるいはT-SPOTが開発された。QFTには、QFT-2Gとその後継試薬としてクオンティフェロン[®]TBゴールド (QFT-3G) があり、QFT-2Gは2010年7月末をもって発売中止となっている。QFT-3Gは、結核菌特異抗原ESAT-6, CFP-10およびTB7.7により全血を刺激後、血漿中に産生されたIFN- γ 量をELISA法により測定し結核感染を診断する方法である。これらの抗原は、BCGや大多数の非結核性抗酸

菌に存在しない抗原のため、QFT-3G検査はツ反と異なりBCG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。QFT-3Gの大きな改善点は、QFT-2Gと比較し採血後直ちに血液刺激が可能になっていることである。Fig. 1に示すように、QFT-3Gでは1被験者に対し専用の1 ml用採血管3本（陰性コントロール、陽性コントロール、結核菌特異抗原）が1セットになっており、採血管内にあらかじめ刺激抗原等が添加されている。従って採血後、採血管内の刺激抗原と血液を十分混和し培養器に入れることにより、採血場所において直ちに血液培養が可能である。一方QFT-2Gでは、採血した血液を培養用プレートに分注し結核菌特異抗原を添加後培養する必要があり、また、採血から培養まで12時間以内に処理しないといけないという制限があったため、採血現場と培養施設が離れており検査を実施できない地域も一部あった。しかし、QFT-3Gを用いることにより、このような地域においても簡易型培養器さえあれば検査は可能となる。また、QFT-3Gでは採血後から培養までの時間制限が12時間から16時間と4時間延長されており、これも改善された点であろう。さらに、QFT-2Gで用いられた結核菌抗原はESAT-6とCFP-10の2種類であったが、QFT-3Gでは新たにTB7.7が加えられており、感度が上昇していることが期待された。事実、われわれはQFT-3GとQFT-2Gの診断性能を比較する臨床試験を行い、QFT-3GはQFT-2Gよりも感度が高く、かつ高特異度は維持していることを報告した²⁾。

[T-SPOT検査]

もう一つのT-SPOTは、やはりIFN- γ 産生を診断の指標とするが、QFTと異なりELISPOT法を用いIFN- γ 産生細胞数を計測するものである (Fig. 2)。T-SPOT検査は、

ヘパリン加採血された血液検体からFicoll-Paque Plus等を用い末梢血単核球 (PBMCs) を分離・洗浄し、細胞数を計測後一定数のPBMCsをT-SPOT専用の培養プレートに添加し結核菌抗原およびコントロール試薬と共に培養する。培養は、加湿CO₂インキュベーター内で37℃、5%CO₂条件下で16~20時間行い、培養後プレート内の細胞を洗浄し酵素標識された二次抗体を添加し1時間反応させる。反応後、二次抗体を洗浄し酵素基質を添加し7分間反応を行う。この間に酵素基質は、酵素により不溶性の沈殿となるため、IFN- γ を産生した細胞を中心とした円状のスポットが形成される。すなわち、1個のスポットが1個のIFN- γ 産生細胞に相当し、このスポット数を計測することにより感染を判断する。QFTとT-SPOTは、それぞれその検査法の違いから長所・短所をもつ。例えば、QFTは全血を用いるため、血液中のリンパ球数が減少傾向にあると十分な免疫応答が行われず「判定不可」となる可能性も高く、あるいはあらかじめ血中にIFN- γ が高値に存在していると陰性コントロール値が高くなるため結果の信頼性が低下すると考えられるが、T-SPOTでは一定数のPBMCsを用い、またPBMCs調整中に既存のIFN- γ は除去されるため、このような心配は少ないと思われる。さらに、T-SPOTに用いる血液検体は、採血後32時間まで使用可能であるのもT-SPOTの長所と考えられる。一方、T-SPOTではPBMCsを調整するため、培養するまでにQFTよりも多くの時間が必要となる。QFTとT-SPOTの性能比較も多数されており、一般的に感度はT-SPOTが高く特異度はQFTが高いことが報告されている³⁾。われわれも、既にQFTとT-SPOTの比較検討を行っており、これらと同様の結果を報告している⁴⁾。

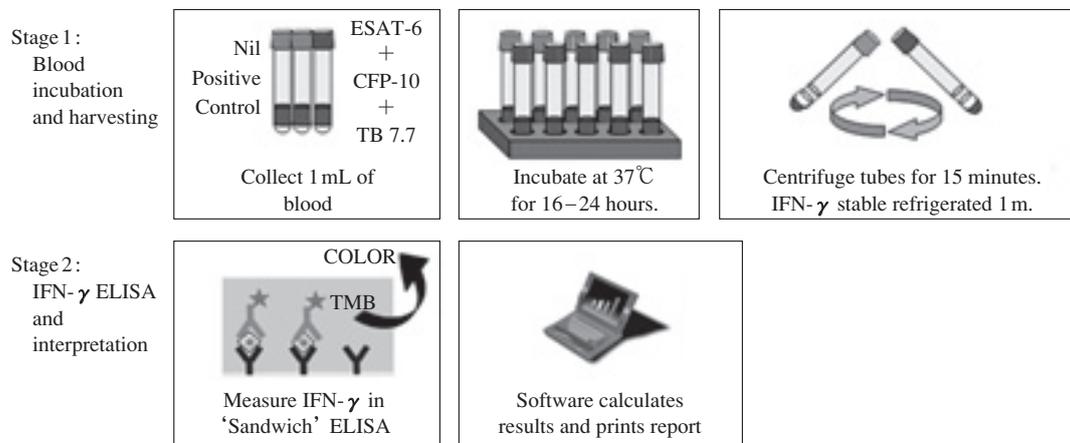


Fig. 1 Assay system of QFT-3G.

In stage 1, blood can be taken into blood collection tubes exclusive to the QFT-3G test. After mixing blood collection tubes and incubating tubes for 16 to 24 hours, produced IFN- γ in plasma is measured by ELISA in stage 2.

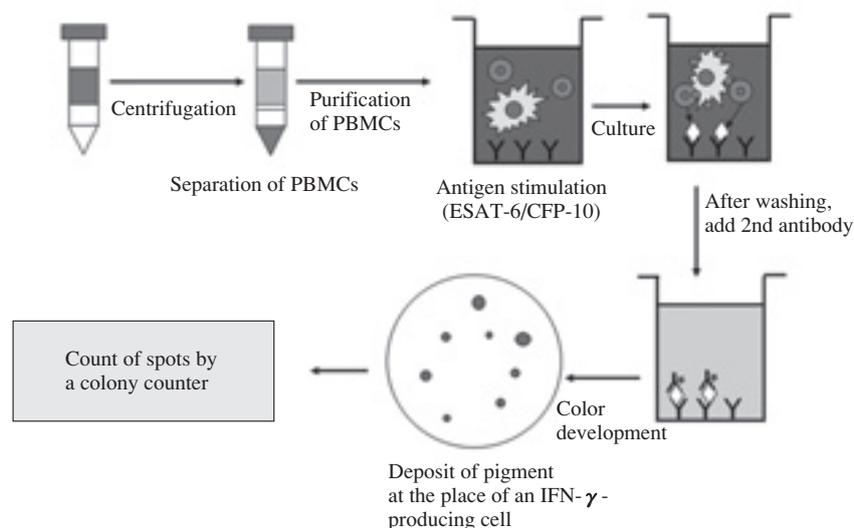


Fig. 2 Assay system of T-SPOT.TB

Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) are purified from heparinized blood samples and 2.5×10^5 PBMCs are added into each well of ELISPOT culture plates together with MTB-specific antigens. After incubating for 16 to 20 hours, plates are washed and second antibody is added into each well. After 1 hour, IFN- γ -producing cells are visualized by adding enzyme substrate solution.

[IGRAs検査の特性]

IGRAs検査は、QFTとT-SPOT両者共に24時間以内の抗原刺激系を用いており、このような短時間で抗原刺激によりIFN- γ を産生する細胞はエフェクターT細胞と考えられている⁹⁾。すなわち、採血時点で既に結核菌抗原に感作され活性化しているT細胞の反応を見ていることになるため、IGRAs検査陽性の意味合いというのは、「現在、少なくとも活動期の結核菌が被験者体内に存在し、抗原提示できる程度に結核菌抗原を産生している」ことを示唆していると考えられる。従って結核感染の時期、あるいは治療や発病の有無に関係なく、このような活動期の結核菌が体内に存在すればIGRAs検査は陽性となるため、IGRAs検査では活動性結核と潜在性結核感染の区別、あるいは「過去の感染」と「最近の感染」は区別できない。このことは、活動性結核の診断には必ず他の臨床所見が必要であることを示している。また潜在性感染の場合、予防内服の効果が考えられるのは感染初期(概ね2年以内)と考えられるため、「過去の感染」と「最近の感染」を区別することは重要であるが、これを特定することはきわめて困難である。実際には、個人の過去の接触歴・職歴等を詳細に調べ、総合的に判断するしか方法がないのが実情である。従って、感染リスクの高い集団、例えば医療従事者における結核感染を判断するためには、あらかじめIGRAs検査を実施しベースラインをとっておくことが非常に有意義であると考えられる。

一方、エフェクターT細胞からのIFN- γ 産生応答は抗原量と相関すると考えられており、抗原特異的IFN- γ

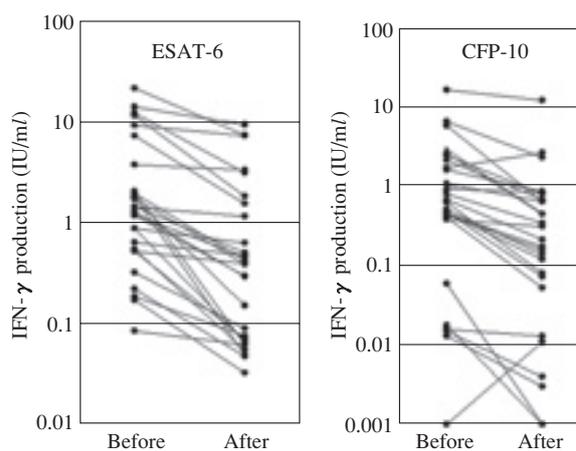


Fig. 3 IFN- γ responses before and after chemotherapy. IFN- γ production levels measured by QFT-2G of each individual were plotted before and after chemotherapy for ESAT-6 and CFP-10.

産生量から結核発病を予想することが可能であるかもしれないという仮説が出されている⁶⁾。この仮説が正しいならばIFN- γ 産生量が多いほど抗原量が多い、すなわち結核菌数が多いということになり、当然結核発病のリスクが高いという相関がみられると考えられる。実際にわれわれの研究において、潜在性結核感染症治療を行うとQFT検査の反応値は低下する傾向が有意にみられており(Fig. 3)^{7,8)}、さらに同様の報告が結核治療や潜在性結核感染症治療においても多数行われていることから^{9)~17)}、IFN- γ 産生応答は抗原量と相関することは強く示唆され

ている。しかし一方では、治療終了後における IGRAs 検査の陰性化率は高くなく、例えばわれわれの潜在性結核感染症治療後の QFT 検査の陰性化率は 30% 程度であり、多数の感染者は治療にもかかわらず結核菌が残存していることをうかがわせる結果であった。活動性結核の化学治療後の陰性化率は、報告によりかなり変動がみられるが平均的には約 50% 程度であり、約半数の結核患者が治療終了後も活動期の結核菌を保持していると考えられる。また、われわれは活動性結核の初期において、潜在性結核感染時よりも QFT 検査の数値は有意に高いことを認めており¹⁸⁾、この結果も上記の仮説を支持するものと考えている。しかしながら、ある程度相関は認められたものの、Fig. 4 に見るように各個人の数値は幅広く分布していることから、活動性結核進展への基準値を設定することは困難であることも示唆された。今後、この分野の研究が進展することにより、検査値のみでなくその個人の遺伝的要素や環境要因等を含めた総合的な判断を行うことにより、より正確に活動性結核への進展を予測できる可能性はあるものと期待している。

結核感染免疫の動態

一般的に結核菌に感染した場合、生涯にわたり発病するリスクは約 10% 程度であり、残り 90% 程度の人は発病に至らないとされている¹⁹⁾。これら多数の非発病者は、自己の抗結核防御免疫により結核菌の増殖を抑制していると考えられている。結核感染後、結核菌を抑制するた

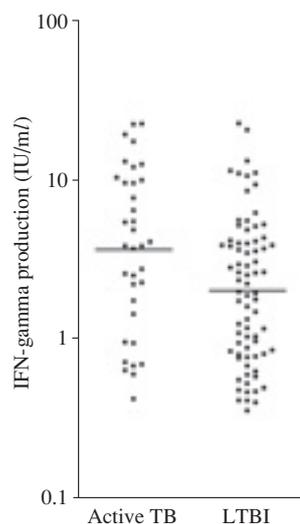


Fig. 4 Distribution of IFN- γ production levels. The geometric mean (as shown by a bar) and the higher IFN- γ production level in response either to ESAT-6 or CFP-10 of each individual in two groups are shown. Geometric mean \pm SD for active TB was 3.65 ± 3.23 ($n=35$), and for LTBI was 2.02 ± 2.80 ($n=76$). P value of t-test for comparison of means = 0.013.

め最初に自然免疫系が動員されるが、結核菌は自然免疫系では抑制できないため、次により効果的な獲得免疫系が惹起される。結核菌は細胞内寄生菌であり、主にマクロファージの食胞内で生存する病原菌であるため、結核菌の抑制には細胞性免疫系の中でも特に MHC class II による抗原提示を介した $CD4^+$ Th1 細胞の活性化が重要であると考えられている (Fig. 5)²⁰⁾²¹⁾。さらに、結核菌は $CD4^+$ T 細胞のみならず $CD8^+$ T 細胞も活性化することが知られており、Th1 細胞と同様のサイトカイン産生パターンをもつ $CD8^+$ Tc1 細胞も結核菌の抑制に関与していることが報告されている (Fig. 5)²²⁾。これら Th1 および Tc1 細胞が産生するサイトカインの中において、IFN- γ は結核菌を抑制するうえで最も重要なサイトカインの一つである。IFN- γ の働きは、結核菌を貪食したマクロファージを活性化することにより、マクロファージ内の結核菌をより効率よく排除すると考えられている²³⁾。一方、免疫系を抑制する方向の反応を誘導する T 細胞 (制御性 T 細胞; regulatory T cell (Treg)) が結核発病と関連することを示唆する報告もされており^{24)~26)}、活動性結核への進展と Treg の関係は今後の結核感染免疫の動態を理解するうえで非常に興味深い課題である。さらに、最近 IL-17 を産生するヘルパー T 細胞亜集団 (Th17) が見出され、結核免疫においても重要な役割をしていることが示唆されており²⁷⁾、今後の進展が注目される。

このように結核感染に対する防御免疫を概観すると、詳細な抗結核防御免疫の機構は十分解明されておらず、今後も重要な役割を果たしている細胞やサイトカインが

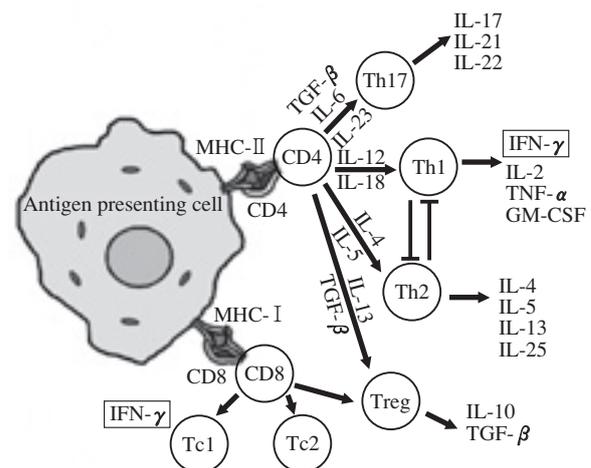


Fig. 5 Immune responses against TB infection. During TB infection, $CD4^+$ T cells are activated with antigen presentation through MHC class II, and $CD8^+$ T cells are also activated with antigen presentation through MHC class I. IFN- γ in acquired immune responses is mainly produced by Th1 and Tc1. Other T cell subsets, such as Th17 or Treg modulate immune responses against TB infection.

見出される可能性があり、その中においてIFN- γ 産生は抗結核防御免疫のごく一部の反応である。従ってIFN- γ 産生を指標とするIGRAs検査は、抗結核防御免疫反応のごく一部分を見ているにすぎないと考えられ、今後IFN- γ 産生以外の反応を指標とする感染診断法が開発される可能性は十分考えられる。事実、IP-10を含むいくつかのモノカイン等がQFT-3Gの検査検体において抗原特異的に産生され、結核感染診断への応用が示唆される報告がされており²⁸⁾、このような方法が将来活用できるようになるのかもしれない。

将来の研究課題

以上のIGRAs検査の原理と特性、および結核感染免疫の動態を考慮したうえで、免疫学的結核感染診断法の今後の研究課題を考察したい。まず活動性結核と潜在性結核感染の区別であるが、VincentiらはESAT-6の特定の部分を刺激抗原として用いることにより、活動性結核と潜在性結核感染の反応性が異なることを報告している²⁹⁾。また最近、結核菌の抗原量が多い場合、すなわち活動性結核で菌数が多い場合はエフェクターT細胞からのIFN- γ 産生が主であり、一方潜在性結核感染で菌数が少ない場合はセントラルメモリーT細胞やエフェクター/メモリーT細胞が存在し、これはIL-2単独か、あるいはIFN- γ とIL-2の両者を産生するため、これらのサイトカインを同時に測定することにより、結核の感染状況を知ることができる可能性が報告されている^{30)~32)}。このように、現在使用している以外の刺激抗原の使用や、あるいは複数のサイトカインを同時に測定することにより、活動性結核と潜在性結核感染を区別できる可能性が考えられる。

一方、潜在性結核感染といっても、結核菌の生存状態を考えてみると幅広いスペクトルが想像できる。結核菌はマクロファージ内部や肉芽腫内部で増殖、あるいは生存する病原菌であるが、抗結核防御免疫により増殖を抑制されると、このような結核菌の生存にとって厳しい環境に適応するために、いわゆる休眠状態になると考えられている病原菌である³³⁾。休眠状態になると、この環境に適応するため一連の遺伝子群が発現されるが、一方結核菌の増殖期に分泌されるESAT-6/CFP-10の産生が減少し抗原提示が行われなくなるため最終的にはIGRAs検査が陰性化すると考えられる。すなわち、結核感染者においてIGRAs検査陰性化の意味は、治療や自己の免疫防御機構により結核菌が休眠期に入っているのか、あるいは結核菌が体内より消滅したかの2通りが考えられる。このように潜在性結核感染の動態に関して、より幅広く菌の活動状態を考慮した区別を導入してもよいのではないと思われる。これらを区別するために、例えば

ESAT-6/CFP-10に反応する従来の潜在性結核感染 (Latent TB infection ; LTBI) と、ESAT-6/CFP-10には反応しないが結核菌が休眠期にある休眠性結核感染 (Dormant TB infection ; DTBI) というように区別する考え方が可能である (Fig. 6)。現在の日本の高齢者は、過去に多数感染していると推定されているが、実際にQFT検査を行うと陽性率は推定既感染率よりもかなり低いことが知られている (Fig. 7)³⁴⁾。このように、高い推定既感染率と実際の低いQFT陽性率の大きな乖離の原因として、多くのQFT陰性的高齢者がこのDTBIの状態にあるのかもしれない。従って、このDTBIの検出が可能になると、高齢者の結核対策にとって非常に重要な知見を与えられられる。DTBIを検出するためには、休眠期において産生される結核菌抗原を用いる必要がある。このような可能性をもつ結核菌抗原として、Leytenら³⁵⁾、あるいはSchuckら³⁶⁾の報告がある。将来、これらの新たな抗原、あるいは他のサイトカインの測定を組み入れることにより、より詳細な結核感染免疫の動態が明らかにされることが期待される。

IGRAs Negative	IGRAs Positive	IGRAs Positive
Dormant TB Infection (DTBI)	Latent TB Infection (LTBI)	Active TB

Fig. 6 Spectrum of TB infection.

The status of TB infection could be divided in three different situations. In active TB and LTBI, *M. tuberculosis* (MTB) can produce ESAT-6/CFP-10, resulting that those with active TB or LTBI show positive responses in IGRAs. When MTB enters into the dormant stage, MTB would stop producing ESAT-6/CFP-10 and produce different set of antigens which could be under the control of DosR. Thus, without antigen presentation of ESAT-6/CFP-10 in DTBI, IGRAs response would become negative, whereas MTB still persist in hosts.

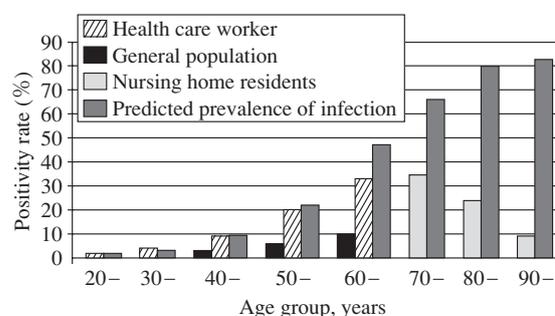


Fig. 7 Age-specific QFT-G positivity in selected populations in comparison with predicted prevalence of tuberculosis infection.

おわりに

IGRAs検査が開発された結果、従来のツ反より高感度かつ高特異度で結核感染を診断できるようにはなったが、結核感染に対する免疫応答の一部を見ているにすぎず、依然として診断特性において解決されるべき課題も多く残されている。特に、活動性結核と潜在性感染の区別、感染時期の特定、あるいは休眠性感染の診断法等が今後の研究課題になると考えられる。

文 献

- 1) Mori T, Sakatani M, Yamagishi F, et al.: Specific detection of tuberculosis infection with an interferon-gamma based assay using new antigens. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004 ; 170 : 59-64.
- 2) Harada N, Higuchi K, Yoshiyama T, et al.: Comparison of two whole blood interferon- γ assays in tuberculosis patients and healthy controls. *J Infection.* 2008 ; 56 : 348-353.
- 3) Diel R, Loddenkemper R, Nienhaus A: Evidence-based comparison of commercial interferon-gamma release assays for detecting active TB: a metaanalysis. *Chest.* 2010 ; 137 : 952-968.
- 4) 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.
- 5) Kaech SM, Wherry EJ, Ahmed R: Effector and memory T-cell differentiation: implications for vaccine development. *Nat Rev Immunol.* 2002 ; 2 : 251-262.
- 6) Andersen P, Doherty TM, Pai M, et al.: The prognosis of latent tuberculosis: can disease be predicted? *Trends Mol Med.* 2007 ; 13 : 175-182.
- 7) Higuchi K, Harada N, Mori T: Interferon-gamma responses after isoniazid chemotherapy for latent tuberculosis. *Respirology.* 2008 ; 13 : 468-472.
- 8) 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.
- 9) 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.
- 10) 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.
- 11) 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.
- 12) 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.
- 13) Katiyar SK, Sampath A, Bihari S, et al.: Use of the QuantiFERON-TB Gold In-Tube test to monitor treatment efficacy in active pulmonary tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2008 ; 12 : 1146-1152.
- 14) Ribeiro S, Dooley K, Hackman J, et al.: T-SPOT.TB responses during treatment of pulmonary tuberculosis. *BMC Infect Dis.* 2009 ; 9 : 23.
- 15) Kobashi Y, Mouri K, Yagi S, et al.: Transitional changes in T-cell responses to *Mycobacterium tuberculosis*-specific antigens during treatment. *J Infect.* 2009 ; 58 : 197-204.
- 16) Bosshard V, Roux-Lombard P, Perneger T, et al.: Do results of the T-SPOT.TB interferon-gamma release assay change after treatment of tuberculosis? *Respiratory medicine.* 2009 ; 103 : 30-34.
- 17) Dominguez J, De Souza-Galvao M, Ruiz-Manzano J, et al.: T-cell responses to the *Mycobacterium tuberculosis*-specific antigens in active tuberculosis patients at the beginning, during, and after antituberculosis treatment. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2009 ; 63 : 43-51.
- 18) 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.
- 19) Small PM, Fujiwara PI: Management of tuberculosis in the United States. *N Engl J Med.* 2001 ; 345 : 189-200.
- 20) Flynn JL, Chan J: Immunology of tuberculosis. *Annu Rev Immunol.* 2001 ; 19 : 93-129.
- 21) Kaufmann SH: How can immunology contribute to the control of tuberculosis? *Nat Rev Immunol.* 2001 ; 1 : 20-30.
- 22) van Pinxteren LA, Cassidy JP, Smedegaard BH, et al.: Control of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection is dependent on CD8 T cells. *Eur J Immunol.* 2000 ; 30 : 3689-3698.
- 23) Flynn JL, Chan J, Triebold KJ, et al.: An essential role for interferon gamma in resistance to *Mycobacterium tuberculosis* infection. *J Exp Med.* 1993 ; 178 : 2249-2254.
- 24) Chen X, Zhou B, Li M, et al.: CD4 (+) CD25 (+) FoxP3 (+) regulatory T cells suppress *Mycobacterium tuberculosis* immunity in patients with active disease. *Clin Immunol.* 2007 ; 123 : 50-59.
- 25) Li L, Lao SH, Wu CY: Increased frequency of CD4 (+) CD25 (high) Treg cells inhibit BCG-specific induction of IFN-gamma by CD4 (+) T cells from TB patients. *Tuberculosis.* 2007 ; 87 : 526-534.
- 26) Guyot-Revol V, Innes JA, Hackforth S, et al.: Regulatory T cells are expanded in blood and disease sites in patients with tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006 ; 173 : 803-810.
- 27) Khader SA, Cooper AM: IL-23 and IL-17 in tuberculosis. *Cytokine.* 2008 ; 41 : 79-83.
- 28) Ruhwald M, Bjerregaard-Andersen M, Rabna P, et al.: IP-10, MCP-1, MCP-2, MCP-3, and IL-1RA hold promise as

- biomarkers for infection with *M. tuberculosis* in a whole blood based T-cell assay. BMC Res Notes. 2009 ; 2 : 19.
- 29) Vincenti D, Carrara S, De Mori P, et al.: Identification of early secretory antigen target-6 epitopes for the immunodiagnosis of active tuberculosis. Mol Med. 2003 ; 9 : 105–111.
- 30) Millington KA, Innes JA, Hackforth S, et al.: Dynamic relationship between IFN-gamma and IL-2 profile of *Mycobacterium tuberculosis*-specific T cells and antigen load. J Immunol. 2007 ; 178 : 5217–5226.
- 31) Sargentini V, Mariotti S, Carrara S, et al.: Cytometric detection of antigen-specific IFN-gamma/IL-2 secreting cells in the diagnosis of tuberculosis. BMC Infect Dis. 2009 ; 9 : 99.
- 32) Casey R, Blumenkrantz D, Millington K, et al.: Enumeration of functional T-cell subsets by fluorescence-immunospot defines signatures of pathogen burden in tuberculosis. PLoS One. 2010 ; 5 : e15619.
- 33) Wayne LG, Sohaskey CD: Nonreplicating persistence of *Mycobacterium tuberculosis*. Annu Rev Microbiol. 2001 ; 55 : 139–163.
- 34) 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.
- 35) 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.
- 36) Schuck SD, Mueller H, Kunitz F, et al.: Identification of T-cell antigens specific for latent *Mycobacterium tuberculosis* infection. PLoS One. 2009 ; 4 : e5590.

————— The 85th Annual Meeting Special Lecture —————

A VIEW OF DYNAMICS OF IMMUNE RESPONSES AGAINST
TUBERCULOSIS INFECTION THROUGH QFT

Nobuyuki HARADA

Abstract QFT has been approved as a diagnostic test of TB infection in April 2005 in Japan, and further adopted to health insurance in January 2006. QFT is now a necessary tool to diagnose TB infection, especially in contact investigation. Since QFT uses *M. tuberculosis*-specific antigens, which are absent from BCG and most of non-tuberculous mycobacteria, to stimulate blood samples, and Interferon-gamma (IFN- γ) produced with antigen-specific T cells is measured to diagnose TB infection, QFT can specifically diagnose TB infection without influence of BCG vaccination or infection of most of non-tuberculous mycobacteria. There is another diagnostic test, T-SPOT.TB, which uses similar antigens to QFT, and these two tests are called as IGRAs (Interferon-Gamma Release Assays). However, as production of IFN- γ is a small part of protective immune responses against TB infection, it is difficult from this point of view to understand the dynamics of protective immune responses against TB infection through IGRAs results. Especially, it is impossible to distinguish between active TB and latent TB infection, to identify time of TB

infection, or to detect dormancy TB infection using current IGRAs. Using biomarkers other than IFN- γ or antigens other than antigens used in current IGRAs, development of newer diagnostic tests which have these performances would be awaited.

Key words : IGRAs, QFT, T-SPOT, Interferon- γ , TB immune response

Department of Mycobacterium Reference and Research, Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Association

Correspondence to: Nobuyuki Harada, Department of Mycobacterium Reference and Research, Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Association, 3-1-24, Matsuyama, Kiyose-shi, Tokyo 204-8533 Japan.
(E-mail: harada@jata.or.jp)