

肺膿瘍を合併し診断・治療に苦慮したキャピリアTB 陰性肺結核の1例

¹上野沙弥香 ¹佐野 由佳 ¹吉岡 宏治 ¹西野 亮平
¹池上 靖彦 ¹山岡 直樹 ¹倉岡 敏彦 ²大塚 崇通
³近松 絹代 ³御手洗 聡

要旨：28歳男性。健診の胸部単純X線検査で異常を指摘され、胸部CTで両側上葉に結節影と粒状影を認めたため当院を受診。喀痰、胃液、気管支洗浄液の抗酸菌塗抹・結核菌群PCRは陰性であったが、インターフェロン γ 遊離試験が陽性であり、臨床的に肺結核と診断しHERZ治療を開始した。治療前より発熱と右中肺野に浸潤影が生じ、開始後も改善せず空洞を伴う腫瘤様陰影になった。治療開始4週後に気管支洗浄液の抗酸菌培養が陽性となったがCapilia®TB-Neo（キャピリアTB）で陰性が判明した。増悪した陰影は一般菌による肺膿瘍と診断し、HERZ中止しSTFXを投与したところ症状、画像所見ともに改善した。結核治療中止1週後にDDH法で抗酸菌は改めて結核菌群と診断され、HERZを再開した。分離株の遺伝子検索を行った結果、*mpb64*遺伝子領域において63塩基対の欠失を認め、本欠失がキャピリアTB陰性の原因と考えられた。キャピリアTBは結核菌群特異的な分泌蛋白のMPB64を検出する迅速簡便なキットで、感度特異度ともに良好である。しかし本例のように稀に陰性となる例もあるため、遺伝子学的手法など他の同定検査で必ず確認するべきと改めて認識させられた。

キーワード：肺結核、イムノクロマトグラフィ法、MPB64蛋白

緒 言

Capilia®TB-Neo（極東製薬工業；以下、キャピリアTB）はイムノクロマトグラフィ法（以下IC法）を用いた簡便で精密、迅速な結核菌群同定キットであり、結核菌群に特異的な分泌蛋白であるMycobacterial protein fraction from BCG of Rm 0.64 in electrophoresis (MPB64)を標的として検出する¹⁾。感度、特異度ともに優れた検査キットであるが、この度キャピリアTB陰性の肺結核を経験したため、報告する。

症 例

症 例：28歳，男性。

主 訴：胸部異常陰影。

現病歴：健診で胸部単純X線検査にて異常陰影を指摘され、胸部単純CT検査を施行された。画像上肺結核を

疑われたため、当院を紹介受診した。

既往歴：10歳代でベーチェット病の治療歴あり。

生活歴：喫煙 5本/日，9年間。飲酒 ビール1缶/日，職業 接客業。

胸部単純X線検査：両側上肺野に一部浸潤影を伴う粒状影を認めた（Fig. 1a）。

胸部単純CT検査：両側上葉を中心に結節を伴う粒状影を認めた（Fig. 1b, c）。

血液検査：HIV抗体は陰性，IFN- γ 遊離試験（T-SPOT®）は陽性であった（Table）。

細菌学的検査：喀痰一般菌培養では口腔内常在菌のみ認め、気管支洗浄液の一般菌培養では有意菌は認めなかった。抗酸菌検査では、喀痰、胃液、気管支洗浄液の抗酸菌塗抹は陰性であり、また各検体それぞれを用いた結核菌群PCR（コバスTaqMan® MTB；ロシュ・ダイアグノスティックス）も陰性であった。

¹国家公務員共済組合連合会吉島病院呼吸器センター呼吸器内科，²同臨床検査科，³結核予防会結核研究所抗酸菌部細菌科

連絡先：上野沙弥香，国家公務員共済組合連合会吉島病院呼吸器センター呼吸器内科，〒730-0822 広島県広島市中区吉島東3-2-33（E-mail: jkicg567@ybb.ne.jp）

（Received 7 Aug. 2017/Accepted 4 Oct. 2017）

経過：複数回の喀痰検査，胃液検査および気管支洗浄液検査から結核菌の存在は確認できなかった。しかしIFN- γ 遊離試験が陽性であることと画像所見から活動性肺結核と診断し，isoniazid, ethambutol, rifampicin, pyrazinamideの4剤による治療（HERZ）を開始した。治療後の経過をFig. 2に示す。治療開始前より発熱や胸部単純X線右上中肺野に新たな浸潤影を認めていたが，治療開始後も明確な病状の改善は示さなかった。治療開始15日目に胸部単純CT検査を施行したところ右中肺野の浸潤影は空洞を伴う腫瘤様陰影を形成していた（Fig. 3a, b）。治療27日目に塗抹，PCRで陰性であった気管支洗浄液の抗酸菌培養でコロニーを少数検出したが，コロニーを用いてキャピリアTB検査を施行し陰性が判明した。治療30日目に再度胸部造影CT検査を施行したところ，腫

瘍様陰影はさらに増大し腫瘤の内部は造影効果がなく，ニボーを伴い液体貯留が疑われた（Fig. 3c, d）。キャピリアTB陰性の結果から，CTで認めた粒状陰影は結核菌以外の抗酸菌症と判断しHERZを中止した。また，培養で起因菌は不明であったが，空洞を伴う腫瘤様陰影は一般菌による膿瘍形成と考え，sitafloxacin（STFX）による治療を開始した。その結果発熱は軽快し，腫瘤陰影は縮小，消退した。しかし抗結核薬中止1週間後に培養したコロニーのDNA-DNA-ハイブリダイゼーション（DDH法；DDHマイコバクテリア‘極東’；極東製薬工業）の結果が判明し，結核菌群であったため一般菌による肺膿瘍を合併した肺結核と診断し，肺膿瘍に対するSTFX継続のうえHERZ治療を再開した。キャピリアTB陰性菌株を結核予防会結核研究所に同定を依頼したところ，結核

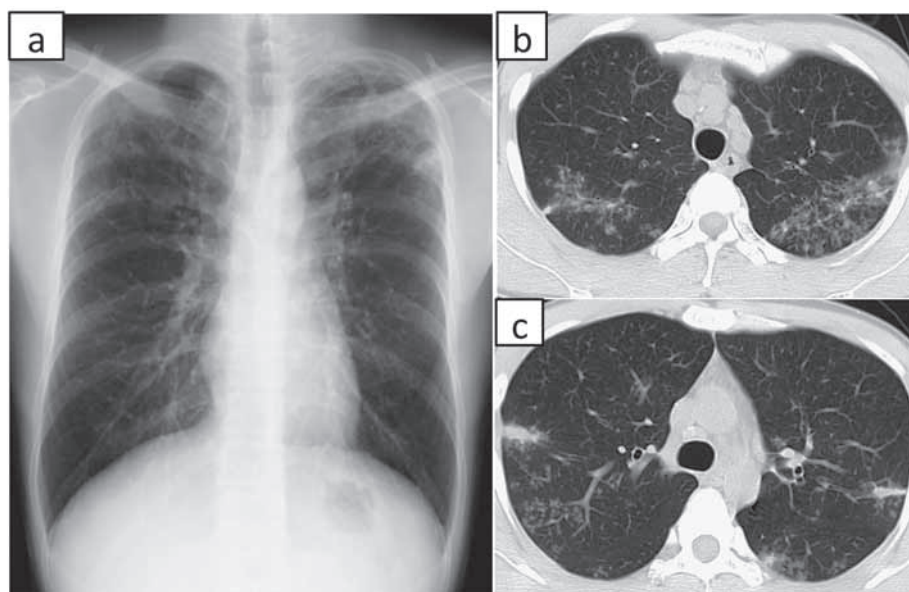


Fig. 1 Chest X-ray (A) and Chest CT (B, C) findings on his first visit

Table Laboratory data on the first medical examination

Hematology		Biochemistry		Serology	
WBC	6790 / μ l	AST	19 IU/l	CRP	1.28 mg/dl
Ne	53.2 %	ALT	13 IU/l	IgG	1950 mg/dl
Ly	33.4 %	LDH	152 IU/l	IgA	436 mg/dl
Mo	9.6 %	ALP	272 IU/l	IgM	108 mg/dl
Eo	3.1 %	γ -GTP	13 IU/l	CD4/8 ratio	1.15
Ba	0.7 %	T-Bil.	0.6 mg/dl	IGRA (T-SPOT)	(+)
RBC	557 $\times 10^4/\mu$ l	CPK	84 IU/l	HIV antibody	(-)
Hb	15.2 g/dl	TP	8.5 g/dl	HBs-Ag	(-)
Ht	46.3 %	Alb	3.9 g/dl	HCV-Ab	(-)
PLT	34.5 $\times 10^4/\mu$ l	BUN	7.2 mg/dl		
		Cr	0.73 mg/dl		
		Glu	88 mg/dl		
		Na	140 mEq/l		
		K	4.0 mEq/l		
		Cl	106 mEq/l		

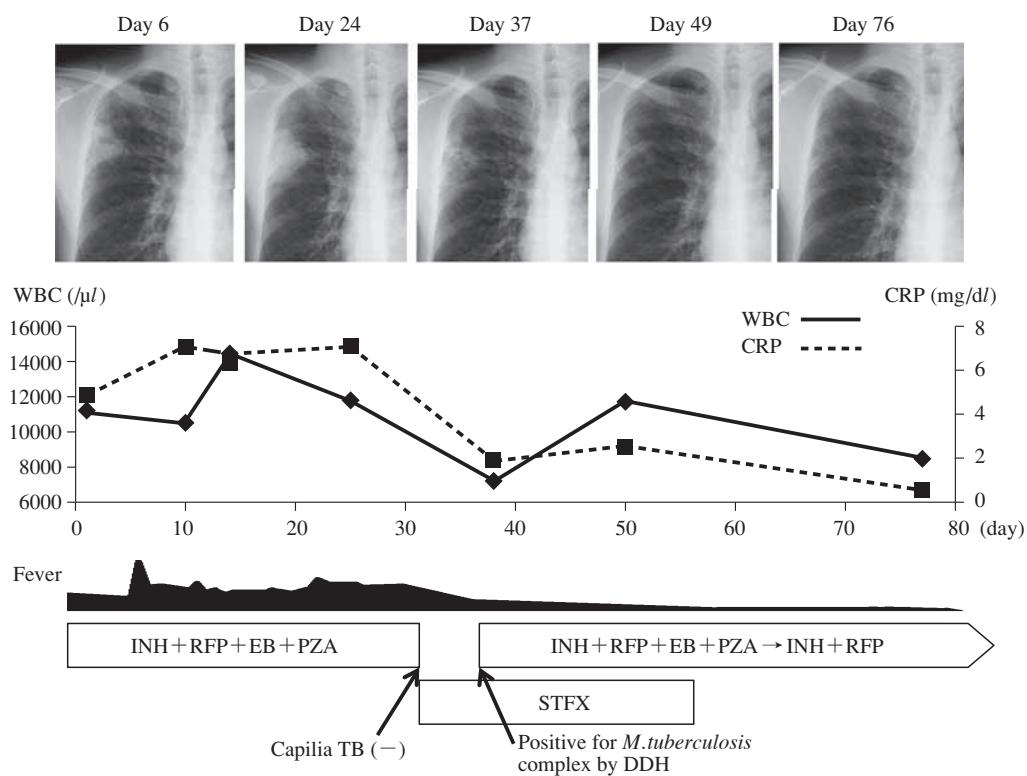


Fig. 2 Clinical course of the case after initiation of treatment

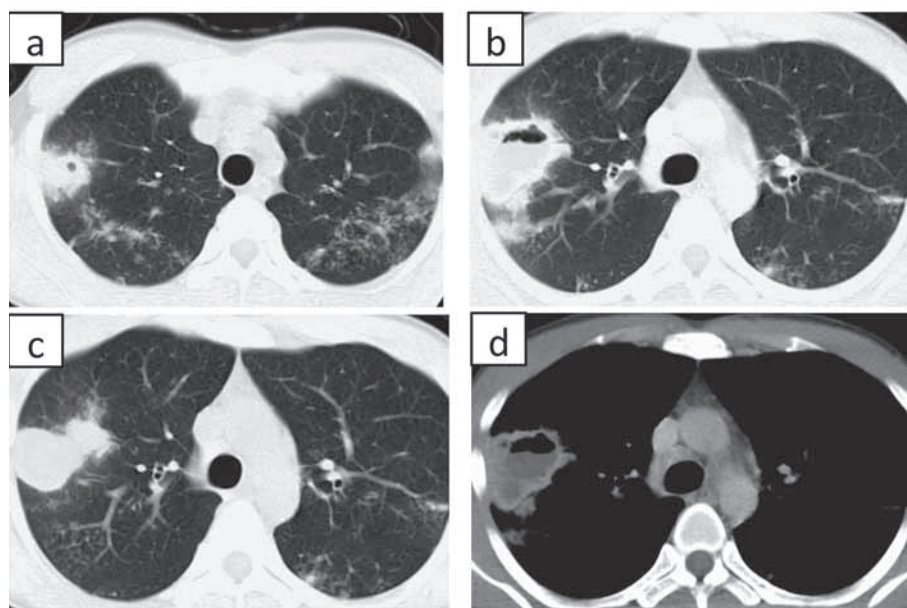


Fig. 3 Chest CT findings on the 15th day (a, b) and on the 30th day (c, d) after initiation of anti-tuberculosis treatment

菌群のうちPCRで *cfp32*, RD 9, RD 12 の遺伝子産物の増幅を認め (Fig. 4), ヒト型結核菌と診断した²⁾。さらに増幅した *mpb64* 遺伝子領域のダイレクトシーケンス法にて解析したところ, 196C から 258C の 63 塩基対の欠失を認めた。以上より *mpb64* 遺伝子の欠失, 変異によってキャピリア TB が陰性であったものと考えられた。HERZ

治療再開後は特に問題なく経過し, 肺結核に対する治療を完遂後 2 年以上再発は認めていない。

考 察

今回われわれは, キャピリア TB が陰性であったため抗結核療法を中断し, 診断および治療の遅れをきたした

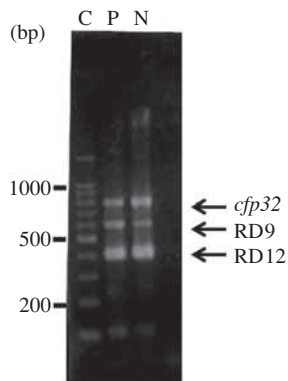


Fig. 4 Discrimination of *M. tuberculosis* complex by electrophoresis of the PCR product.

C: this case P: positive control (*M. tuberculosis* H37Rv)
N: negative control

肺結核の1例を経験した。肺結核の診断は早期かつ正確に診断することが重要であり、迅速診断法としては遺伝子学的手法、すなわち喀痰検体に対しPCR法等を用いれば数時間～1日程度で結果が判明する。しかし遺伝子学的手法で検出されない場合は培養法で抗酸菌を検出するまで待機することとなる。培養から抗酸菌が検出された場合、IC法が15分ほどで結核菌の有無を判断でき、最も迅速性に優れている。IC法は金などのコロイド粒子を標的とした抗体と測定対象である抗原とを反応させるものである。抗原としてのMPB 64はNagaiらによってBCGの培養濾液より分離された分泌タンパクであり³⁾、Harboeらによって結核菌群で特異的に産生される蛋白と報告された⁴⁾。このMPB 64を標的としたIC法の迅速キットとして日本ではキャピリアTBが開発された。現在利用可能なIC法の診断キットとして、主に韓国で使用されているSD Bioline TB Ag MPT64 rapid test kitsや米国で開発されたBD MGIT TBc Identification testなどがあり⁵⁾、いずれもMPB 64を標的としている。キャピリアTBの感度は95～99.2%、特異度は97.6～100%と優れており^{6)～8)}、他の2種も高い感度・特異度をもつ⁷⁾。

本症例ではキャピリアTB陰性のために結核と確定診断するために時間を要したが、偽陰性となる原因はMPB 64タンパク非産生株の存在すなわちMPB 64をコードする遺伝子の変異や欠失であると報告されている^{8)～11)}。HiranoらやNgamlertらの報告では、*mpb64*遺伝子領域の異常で最も多く認められたのが512番から872塩基対の欠損で、196番から63塩基対の欠損も複数の例で認められた⁸⁾⁹⁾。本症例における分離菌株は、キャピリアTB陰性株の中で比較的頻度の高いと考えられる196番から63塩基対の欠失を有していた。本症例は最終的にDDH法で結核菌群陽性となる菌株を排菌した肺結核と診断されたが、DDH法は対象菌株より抽出したDNAと、抗酸菌18菌種の各標

準株由来の染色体DNAとの間でハイブリダイゼーションさせる検査であり¹²⁾、MPB 64タンパク発現の有無とは無関係である。またPCR法は結核菌群の16S-rRNA遺伝子領域に対して核酸増幅を行っており、*mpb64*遺伝子領域とは異なる部位である。ゆえにキャピリアTBが陰性の場合には本症例でも施行したようにDDH法、PCR法などの追加検査を行い、確実に診断していく必要がある。しかし結核菌の存在を除外することが最優先される場合は、結果の迅速性からPCR法やLAMP法¹³⁾などの遺伝子検査を優先すべきかもしれない。また、近年質量分析計(MALDI-TOF MS)の抗酸菌菌種同定への有用性が報告されており¹⁴⁾、本例のようなコロニー検出例での適応は今後考慮するべきである。

本例は結核治療開始後に浸潤影の増悪を認め、画像上は肺膿瘍を呈していた。結核菌を起炎菌とする肺膿瘍の症例は過去の報告に散見される¹⁵⁾が、本例は肺膿瘍を呈した部位に初診時から陰影を認めており、同部に気管支鏡を介したブラシ擦過や気管支洗浄の操作が加わったことから、操作を契機に一般菌による急性感染症としての肺膿瘍をきたした可能性を考えた。一般菌の培養結果は有意菌がなく起炎菌は不明であったが、HERZを中止しSTFXに変更後に軽快し、かつ後に培養で検出した結核菌の薬剤感受性で耐性がなかったことから、肺膿瘍の起炎菌が結核菌であり、かつHERZ治療が奏効しなかったという可能性は否定的と考えた。肺結核の初期悪化の可能性についてはHERZ治療前より徐々に悪化していた経過から否定的と考えた。結果本症例は一般菌による肺膿瘍の治療にSTFX投与とし、肺結核にはHERZとしたことで、良好な経過をたどったと考えた。

以上、肺膿瘍を合併し診断、治療に苦慮したキャピリアTB陰性肺結核の症例を経験した。キャピリアTB陰性のために一時的に抗結核療法を中断するなど治療方針に混乱をきたした。キャピリアTBは迅速、簡便で信頼性の高い検査であるが、まれながら偽陰性症例があることを念頭に置き、血液検査や画像所見などの結果を総合して対処する必要があると考えられた。

著者のCOI (conflicts of interest) 開示：本論文発表内容に関して特になし。

文 献

- 1) 長谷川美幸, 小山悦子, 内野卯津樹, 他: 免疫クロマトグラフィによる結核菌群迅速同定に関する検討. 感染症学雑誌. 2003; 77: 110-115.
- 2) Huard RC, Lazzarini LC, Butler WR, et al.: PCR-based method to differentiate the subspecies of the *Mycobacterium tuberculosis* complex on the basis of genomic deletions. J Clin Microbiol. 2003; 41: 1637-1650.

- 3) Nagai S, Matsumoto J, Nagasuga T: Specific skin-reactive protein from culture filtrate of *Mycobacterium bovis* BCG. *Infect Immun.* 1981 ; 31 : 1152–1160.
- 4) Harboe M, Nagai S, Patarroyo ME, et al.: Properties of proteins MPB 64, MPB 70, and MPB 80 of *Mycobacterium bovis* BCG. *Infect Immun.* 1986 ; 52 : 293–302.
- 5) Oettinger T, Andersen AB: Cloning and B-cell-epitope mapping of MPT64 from *Mycobacterium tuberculosis* H37 Rv. *Infect Immun.* 1994 ; 62 : 2058–2064.
- 6) Muchwa C, Akol J, Etwon A, et al.: Evaluation of Capilia TB assay for rapid identification of *Mycobacterium tuberculosis* complex in BACTEC MGIT 960 and BACTEC 9120 blood cultures. *BMC Res Notes.* 2012 ; 44 : 1–6.
- 7) Yin X, Zheng L, Lin L, et al.: Commercial MPT-64-based tests for rapid identification of *Mycobacterium tuberculosis* complex: A meta-analysis. *J Infect.* 2013 ; 67 : 369–377.
- 8) Hirano K, Aono A, Takahashi M, et al.: Mutations including IS6110 insertion in the gene encoding the MPB64 protein of Capilia TB-negative *Mycobacterium tuberculosis* isolates. *J Clin Microbiol.* 2004 ; 42 : 390–392.
- 9) Ngamlert K, Sinthuwattanawibool C, McCarthy KD, et al.: Diagnostic performance and costs of Capilia TB for *Mycobacterium tuberculosis* complex identification from broth-based culture in Bangkok, Thailand. *Trop Med Int Health.* 2009 ; 14 : 748–753.
- 10) Hillemann D, Rusch-Gerdes S, Richter E: Application of the Capilia TB assay for culture confirmation of *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2005 ; 9 : 1403–1408.
- 11) Martin A, Bombeeck D, Fissette K, et al.: Evaluation of the BD MGIT TBc Identification Test (TBc ID), a rapid chromatographic immunoassay for detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex from liquid culture. *J Microbiol Methods.* 2011 ; 84 : 255–257.
- 12) 大楠清文：抗酸菌の同定。「抗酸菌検査ガイド2016」, 日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会編集, 南江堂, 東京, 2016, 53.
- 13) Iwamoto T, Sonobe T, Hayashi K: Loop-mediated isothermal amplification for direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex, *M. avium*, and *M. intracellulare* in sputum samples. *J Clin Microbiol.* 2003 ; 41 : 2616–2622.
- 14) Seng P, Rolain JM, Fournier PE, et al.: MALDI-TOF-mass spectrometry applications in clinical microbiology. *Future Microbiol.* 2010 ; 5 : 1733–1754.
- 15) 小橋吉博, 二木芳人, 川根博司, 他：明らかなニボー像を有する肺膿瘍様陰影を呈した肺結核の4症例：ニボー像形成機序に関する考察. *結核.* 1996 ; 71 : 311–316.

Case Report

A CASE OF PULMONARY TUBERCULOSIS WITH NEGATIVE RESULT OF CAPILIA TB[®], COMPLICATING LUNG ABSCESS WHICH PRESENTS DIFFICULTY IN DIAGNOSIS AND TREATMENT

¹Sayaka UENO, ¹Yuka SANO, ¹Koji YOSHIOKA, ¹Ryouhei NISHINO,
¹Yasuhiko Ikegami, ¹Naoki YAMAOKA, ¹Toshihiko KURAOKA, ²Takamichi OHTSUKA,
³Kinuyo CHIKAMATSU, and ³Satoshi MITARAI

Abstract A 28-year-old male consulted our clinic for abnormal shadow in his chest X-ray and Chest plain CT, which showed nodular and granular shadows in the bilateral upper lung lobe. We found no evidence of mycobacterium organism by smear test from his sputum, gastric juice and bronchial lavage fluid, and couldn't find tuberculosis complex by PCR test from the same material. However the result of interferon gamma releasing assay was positive, so we started anti-tuberculosis therapy (HERZ). Before starting medication he complained of fever and we found a new infiltration shadow in the right lung field in his chest X-ray, and the shadow developed cavity formation after starting therapy. Four weeks after starting medication a mycobacterium culture test from bronchial lavage fluid proved positive but Capilia[®]TB-Neo (Capilia TB) was negative. Under diagnosis of lung abscess due to bacterium other than tuberculosis we stopped medication for tuberculosis and prescribed STFX, which resulted in improvement of symptom and laboratory data. However, the isolate from bronchial lavage fluid positive was identified *M.tuberculosis* complex by DNA-DNA hybridization (DDH) after seven days stopping the treatment with anti-tuberculosis agents. Therefore, the patient was diagnosed newly pulmonary TB disease, and received the TB treatment (HERZ) again.

The clinical isolate with negative results by Capilia TB, which based on MPB64 protein detection has been developed for rapid identification of *M.tuberculosis* complex, and had mutations in the *mpb64* gene including a 63-bp deletion from nucleotides 196C to 258C. Capilia TB is a rapid and easy-to-use diagnostic kit detecting MPB64 protein, a specific secreting protein by tuberculosis complex, with high sensitivity and specificity. However we should keep in mind that there are rare false negative cases such as this case, and even if the result of Capilia TB is negative we must confirm by other methods such as genetic examination.

Key words: Pulmonary tuberculosis, Immunochromatographic assay, MPB 64 protein

¹Department of Respiratory Medicine, ²Department of Clinical Examination, Yoshijima Hospital; ³Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Association

Correspondence to: Sayaka Ueno, Department of Respiratory Medicine, Yoshijima Hospital, 3-2-33, Yoshijima-higashi, Naka-ku, Hiroshima-shi, Hiroshima 730-0822 Japan.
(E-mail: jkicg567@ybb.ne.jp)