

●原 著

結核性胸膜炎診断における胸水 QuantiFERON®-TB Gold 検査の有用性

清水 崇^a 桑原 克弘^a 木村 夕香^a 松山 菜穂^a 岡田 英^b
 松本 尚也^a 渡辺 健寛^b 宮尾 浩美^a 齋藤 泰晴^a 大平 徹郎^a

要旨：今回、胸水を検体とした QuantiFERON®-TB Gold (QFT-3G) 検査が、結核性胸膜炎と非結核性胸膜炎の鑑別に有用であるかを検討した。結核性胸膜炎 9 例と非結核性胸水 35 例において、胸水での QFT-3G の測定を行った。QFT-3G の陰性コントロールの値は結核性胸膜炎群において有意に高値であり、非結核性胸水群の最高値 (0.7 IU/ml) よりも結核性胸膜炎群の最低値 (3.2 IU/ml) の方が高かった。胸水での QFT-3G 検査は、結核性胸膜炎の補助診断として簡便で迅速かつ有用な検査と考えられる。

キーワード：結核性胸膜炎, 結核, 胸水, クオンティフェロン

Tuberculous pleurisy, Tuberculosis, Pleural effusion, QuantiFERON

緒 言

結核性胸膜炎の診断は胸水での結核菌塗抹陽性もしくは培養陽性によって確定されるが、その感度は低いうえ、培養には非常に時間がかかる。胸腔鏡による胸膜生検は診断に有用であるが侵襲性が高い。日常診療においては胸水中の adenosine deaminase (ADA) 値を目安に診断することも多いが、非結核性の病態でも上昇することがあり、特異性が十分高いとはいえない。

QuantiFERON®-TB Gold (QFT-3G) は、BCG 接種に影響を受けない結核感染診断法として我が国で広く普及している。血液を検体として、結核菌抗原添加による T 細胞の interferon- γ (IFN- γ) 産生量の変化をみることにより、血液中に結核菌特異抗原に対しての感作 T 細胞が存在するかどうかを判断している。採血管は陰性コントロール、結核菌抗原、陽性コントロールの 3 本からなり、各培養後の IFN- γ の値を ELISA 法にて測定する。前二者の差 (結核菌抗原刺激培養後の値 - 陰性コントロール値) が 0.35 IU/ml 以上のときには結核感染 (もしくは既感染) が疑われる。

結核性胸膜炎の胸水は通常リンパ球優位であり、それらのリンパ球中には結核菌抗原感作 T 細胞も多数存在

することが予想される。胸水中のリンパ球を検体として QFT-3G 検査を行った場合にも、得られる IFN- γ の値が結核性胸膜炎と非結核性胸水との間で異なる可能性はある。Ariga ら¹⁾ は 2007 年に結核性胸膜炎による体腔液の QFT による解析を報告しており、結核菌抗原刺激後の値と陰性コントロールの値の差である体腔液抗原応答の値が鑑別に有用としている。しかし当時は QFT-2G での解析であり、また手技として体腔液の細胞濃度調整を必要とするものであった。

今回我々は、穿刺により得られた胸水をそのまま QFT-3G の採血管に入れ、血液検体と同様の手順で胸水中の IFN- γ の値を測定するという方法を用いて、結核性胸膜炎診断における有用性について検討を行った。

研究対象, 方法

1. 対 象

2012 年 8 月から 2013 年 11 月の間に、西新潟中央病院において診断目的に胸水穿刺を行った 44 症例を対象に、胸水を検体とした QFT-3G の各項目の値や胸水 ADA 値などを検討した。

結核性胸膜炎の診断基準は、胸水もしくは痰の培養から結核菌が検出されたものとし、非結核性胸水の診断基準は、胸水の原因病名が最終的に結核性胸膜炎以外に確定したものとした。

2. IFN- γ の測定

IFN- γ の測定は、QuantiFERON®-TB Gold (Cellestis Ltd., Chadstone, Australia) を使用した。胸水穿刺により得られた胸水を、血液検体の場合と同様にそのまますぐに QFT-3G の 3 本の採血管内に 1 ml ずつ入れ、その

連絡先：清水 崇

〒950-2085 新潟市西区真砂 1-14-1

^a 国立病院機構西新潟中央病院呼吸器センター内科

^b 同 呼吸器外科

(E-mail: m94a058e2006@yahoo.co.jp)

(Received 30 Dec 2013/Accepted 17 Mar 2014)

表1 患者背景および臨床診断

	TB pleurisy (n=9)	Non-TB pleural effusion (n=35)
Age		
Mean \pm SD	75.0 \pm 19.0	75.6 \pm 10.1
Range	29-94	56-93
Sex (M : F)	7 : 2	25 : 10
Clinical diagnosis	Tuberculous pleurisy	Cancerous pleuritis (n=15) Parapneumonic effusion (n=12) Heart failure (n=3) Malignant mesothelioma (n=2) Asbestos pleurisy (n=1) Chylothorax (n=1) Meigs syndrome (n=1)

TB : tuberculous.

表2 結核性胸膜炎群および非結核性胸水群において胸水を検体とした QuantiFERON®-TB Gold により測定した IFN- γ および ADA 値

Variable	TB pleurisy	Non-TB pleural effusion	p
	(n=9)	(n=35)	
Negative control	7.0 (5.2-12.1)	0.07 (0.04-0.18)	<0.001
TB antigen	13.7 (9.9-15.4)	0.11 (0.06-0.51)	<0.001
TB antigen minus negative control	3.4 (2.3-9.2)	0.03 (0.00-0.22)	0.003
ADA	92 (77-124)	21.5 (16.0-32.8)	<0.001

データは median (interquartile range). 2 群間の比較検定には Mann-Whitney の U 検定を用いた.

TB : tuberculous, ADA : adenosine deaminase.

後は血液の場合とまったく同じ手順で測定操作を行った。以上の手順により、各採血管における培養後の胸水中 IFN- γ の値を ELISA 法にて測定した。

3. 統計処理

統計ソフトはエクセル統計 2010 (Social Survey Research Information Co. Ltd., Tokyo, Japan) を使用した。Receiver operating characteristic (ROC) curve を作成し、それぞれの測定項目における area under the ROC (AUROC) curve から、どの測定項目が結核性胸膜炎と非結核性胸水の鑑別により有用かを検討した。2 群間の比較検定には Mann-Whitney の U 検定を用いた。

成 績

1. 患者背景 (表1)

44 例のうち、最終的に 9 例が結核性胸膜炎、35 例が非結核性胸水と診断された。結核性胸膜炎群では、8 例が痰から結核菌が検出され、1 例は胸水から結核菌が検出された。8 例のうち胸水培養で結核菌の発育を認めたものは 3 例のみであったが、8 例とも結核治療により胸水が消失しており結核性胸膜炎の経過に矛盾しなかった。非結核性胸水群の内訳は、癌性胸膜炎が 15 例、肺炎随

伴性胸水が 12 例、心不全が 3 例、悪性胸膜中皮腫が 2 例、良性石綿胸水が 1 例、Meigs 症候群が 1 例、乳び胸が 1 例であった。

2. 胸水を検体とした QFT-3G および ADA の結果

QFT-3G の陰性コントロール値、結核菌抗原による刺激培養後の値、これらの値の差 (結核菌抗原刺激培養後の値 - 陰性コントロール値)、胸水中 ADA 値の中央値を表 2 に示す。また前 3 者の値をプロットしたものを図 1 に示す。

陰性コントロール値においては、結核性胸膜炎群では非結核性胸水群と比較明らかに高値であった (それぞれ中央値 7.0 IU/ml, 0.07 IU/ml)。結核菌抗原による刺激培養後の値においても、結核性胸膜炎の方が有意に高値であった (それぞれ中央値 13.7 IU/ml, 0.11 IU/ml)。結核菌抗原刺激培養後の値と陰性コントロール値との差、および胸水中 ADA 値においても同様の結果が得られた。

これらの検査結果から ROC curve を作成したところ、陰性コントロール値、結核菌抗原刺激培養後の値、これらの値の差 (結核菌抗原刺激培養後の値 - 陰性コントロール値)、胸水中 ADA 値それぞれの AUROC curve は 1.000, 1.000, 0.827, 0.962 であった (図 2, 表 3)。

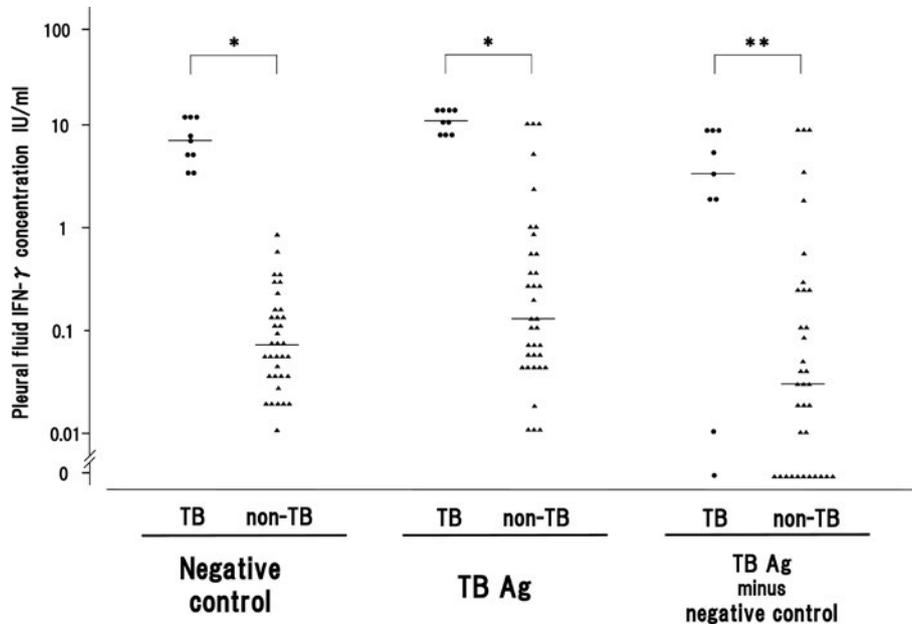


図1 QuantiFERON®-TB Gold により測定した胸水 interferon- γ 値の比較. 結核性胸膜炎群 (n=9) と非結核性胸水群 (n=35) において, QuantiFERON®-TB Gold により測定した胸水 interferon- γ (IFN- γ) 値を比較した. 2 群間の比較検定には Mann-Whitney の U 検定を用いた. いずれの測定項目においても結核性胸膜炎群の方が有意に高値であった. 横線は各群における中央値. TB: 結核性胸膜炎, non-TB: 非結核性胸水, TB Ag: 結核菌抗原刺激培養後. * $p < 0.001$, ** $p = 0.003$.

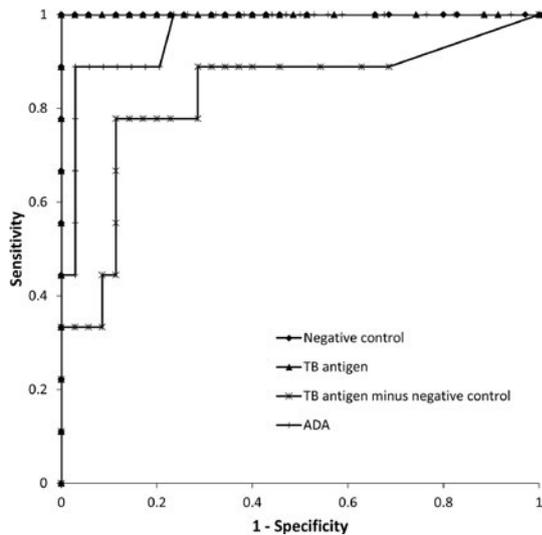


図2 胸水の各測定項目における receiver operating characteristic curves. TB: 結核性胸膜炎, ADA: アデノシンデアミナーゼ.

以上より, 今回解析を行った測定項目の中で結核性胸膜炎と非結核性胸水の鑑別に最も有用であるものは, AUROC curve が 1.000 であつ結核性胸膜炎群での最低値が非結核性胸水群での最高値よりも高い QFT-3G 陰性コントロール値であると考えられた.

表3 各測定項目における area under the receiver operating characteristic curve

Variable	AUROC curve
Negative control	1.000
TB antigen	1.000
TB antigen minus negative control	0.827
ADA	0.962

TB: tuberculosis, ADA: adenosine deaminase, AUROC: area under the receiver operating characteristic.

考 察

胸水を検体とした QFT-3G 検査は, 結核性胸膜炎の補助診断として非常に有用となりうる事が今回の調査から示唆された.

特に陰性コントロール値ではその差は顕著であり ($p < 0.001$), 非結核性胸水群における最高値 (0.7 IU/ml) よりも結核性胸膜炎群における最低値 (3.2 IU/ml) の方が高かつた. つまりこの間にカットオフ値を設定した場合, 感度, 特異度ともに 100%となる.

結核菌抗原刺激培養後の値, および結核菌抗原刺激による IFN- γ の産生量 (つまり結核菌抗原刺激培養後の値 - 陰性コントロール値) においても, 両群間の値は有意

に差が認められたが (それぞれ $p < 0.001$, $p = 0.002$), 非結核性胸水群においても一部高値となる例が認められた. 非結核性胸水でありながら結核菌抗原刺激により IFN- γ の産生が増加する症例については, 胸水中に結核菌抗原への感作 T 細胞が存在すると考えられ, おそらくは結核の既感染があったのだろうと推測される. ただそのような症例であっても, 現在の胸水の原因が結核性でない場合には胸水 QFT-3G の陰性コントロール値は低値であった. 結局, 胸水 QFT-3G の陰性コントロール値, 結核菌抗原による刺激培養後の値, これらの値の差 (結核菌抗原刺激培養後の値 - 陰性コントロール値), 胸水中 ADA 値の 4 つの検査項目のうち, 結核性胸膜炎の診断に最も有用な検査は陰性コントロール値であることが今回の調査から導かれた.

この胸水 QFT-3G の陰性コントロール値というのは, もととの胸水中の IFN- γ の値そのものにほかならない. 結核性胸膜炎において胸水中の IFN- γ が有意に高値であることは以前から報告されている^{2)~6)}. Villena ら⁷⁾ は, 結核性胸膜炎 82 例を含む 595 例の胸水症例において胸水中の IFN- γ を測定している. 彼らによれば, IFN- γ のカットオフ値を 3.7 IU/ml としたところ結核性胸膜炎の診断の感度は 98%, 特異度は 98% であった. よって胸水 ADA よりも胸水 IFN- γ の方が特異性が高い可能性もあるが⁸⁾⁹⁾, 現在の日常診療において胸水 IFN- γ の測定は胸水 ADA ほど一般的に普及していない. この理由として, 胸水 IFN- γ の測定は一部の限られた施設でしか行えないこと, ADA の測定の方がはるかに安価であること¹⁰⁾ などが考えられる. 今回我々が用いた方法であれば QFT-3G の採血管に血液の代わりに少量の胸水を入れるのみであるので, 手技的に非常に簡便でまた単独の IFN- γ の測定よりはやや安価であり, 施設によっては院内でも検査可能である. ただし現時点では胸水を検体とした QFT-3G は保険適応外である.

QFT-3G の採血管に胸水を入れることにより結核性胸膜炎の補助診断を試みるという方法は, 過去にも報告がある¹¹⁾¹²⁾. ただいずれの報告も抗原の添加による IFN- γ の産生量の変化 (つまり結核菌抗原刺激培養後の値 - 陰性コントロール値) を調べたところ, 結核性胸膜炎では判定不能例が多くなってしまっている. そこで Ates ら¹¹⁾ は新たに設けた独自の診断基準を用いることが, Kang ら¹²⁾ は QFT-3G ではなく T-SPOT[®]. TB を用いることが補助診断として有用であるとしている. しかし結核性胸膜炎群で判定不能例が多くなった主な原因としては, 陰性コントロール値が高すぎるためではないかと考えられる. 我々は IFN- γ の産生量の変化ではなく, 陰性コントロールの値そのものに注目したところ良好な結果を得ることができた.

今回の非結核性胸水 35 例には膠原病による胸水が含まれていないため, 膠原病胸水で QFT-3G の陰性コントロール値が上昇していないかどうかは検証できなかった. しかし膠原病による胸水中の IFN- γ 値について解析した報告は散見される. Söderblom ら¹³⁾ は 102 例の胸水症例における胸水中 IFN- γ について調査し, うち 11 例が関節リウマチによる胸水であったが, 11 例すべてにおいて IFN- γ は検出感度以下であったと報告している. また Aoki ら¹⁴⁾ は 39 例の胸水中 IFN- γ について調査し, うち 4 例が自己免疫性疾患による胸水であったが, 4 例とも 0.3 IU/ml 以下であったと報告している. よって膠原病による胸水においても, QFT-3G の陰性コントロール値はおそらく上昇していないものと推測されるが, この点については今後症例数を増やして再検討が必要である. また今回の調査では血液検体での QFT-3G は行っておらず, 両者の比較はできていない. 今後は同一患者での, 胸水と血液の QFT-3G 結果の比較検討を行ってきたい.

そのほか本研究の今後の課題や問題点としては, 以下のような点もあげられる. 日常診療において結核性胸膜炎の否定に難渋する胸水症例は, 「胸水以外には肺内に結核性の陰影を認めず, かつ胸水検体からも結核感染症である証拠が得られない症例」, つまり結核菌の菌量が非常に少ない症例である. そのような症例であっても, 臨床的に抗結核薬が奏効した場合には結核性胸膜炎であるといえる. 今回の胸水の調査ではそのような症例は 1 例もなく, 結核性胸膜炎群にも含まれていない. 胸水中の結核菌量が非常に少ない場合においても同様の結果が得られるのかどうかは, 今後症例数を積み重ねていく必要がある. ただし今回の結核性胸膜炎群の中にも, 肺結核を認めずかつ胸水検査で抗酸菌塗抹陰性でのに胸水培養で結核菌の発育が認められた症例があり, この症例では結核菌の菌量はかなり少なかったと思われる. この症例でも胸水での QFT-3G 陰性コントロール値は 12.7 IU/ml と上昇していた. よって結核菌の菌量が非常に少ない胸水症例においても, 同様の結果が得られるのではないかと推測される.

以上より, 胸水を検体として QFT-3G 検査を行いその陰性コントロール値を測定することは, 結核性胸膜炎の補助診断として非常に簡便で迅速かつ有用な検査となりうる今回の調査から示唆された. 日常診療において原因不明の胸水に遭遇した場合, 結核性胸膜炎の否定は困難な場合が多い. そのような状況において, 本法は十分に意義のある方法になりうると思われる. さらに QFT-3G であれば IFN- γ 単独の測定と異なり, 結核菌抗原刺激培養後の IFN- γ の値も同時に測定ができる. 今回の調査結果では陰性コントロールだけでも有用との結論

になったが、刺激培養後の値が得られることの利点についても症例を積み重ねて検討していきたい。

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

引用文献

- 1) Ariga H, et al. Diagnosis of acute tuberculous serositis by antigen-specific interferon-gamma response of cavity fluid cells. *Clin Infect Dis* 2007; 45: 1559-67.
- 2) Valdés L, et al. Diagnosis of tuberculous pleurisy using the biologic parameters adenosine deaminase, lysozyme, and interferon gamma. *Chest* 1993; 103: 458-65.
- 3) Shimokata K, et al. Cytokine content in pleural effusion. *Chest* 1991; 99: 1103-7.
- 4) Ribera E, et al. High level of interferon gamma in tuberculous pleural effusion. *Chest* 1988; 93: 308-11.
- 5) Barnes PF, et al. Compartmentalization of a CD4⁺ T lymphocyte subpopulation in tuberculous pleuritis. *J Immunol* 1989; 142: 1114-9.
- 6) Villena V, et al. Interferon-gamma in 388 immunocompromised and immunocompetent patients for diagnosing pleural tuberculosis. *Eur Respir J* 1996; 9: 2635-9.
- 7) Villena V, et al. Interferon gamma levels in pleural fluid for the diagnosis of tuberculosis. *Am J Med* 2003; 115: 365-70.
- 8) Greco S, et al. Adenosine deaminase and interferon gamma measurements for the diagnosis of tuberculous pleurisy: a meta-analysis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2003; 7: 777-86.
- 9) Khan FY, et al. Diagnostic value of pleural fluid interferon-gamma and adenosine deaminase in patients with pleural tuberculosis in Qatar. *Int J Gen Med* 2013; 6: 13-8.
- 10) Sharma SK, et al. Pleural fluid interferon-gamma and adenosine deaminase levels in tuberculosis pleural effusion: a cost-effectiveness analysis. *J Clin Lab Anal* 2005; 19: 40-6.
- 11) Ates G, et al. Adapted T cell interferon-gamma release assay for the diagnosis of pleural tuberculosis. *Respiration* 2011; 82: 351-7.
- 12) Kang JY, et al. Clinical utility of two interferon-gamma release assays on pleural fluid for the diagnosis of tuberculous pleurisy. *Tuberc Respir Dis* 2012; 73: 143-50.
- 13) Söderblom T, et al. Pleural fluid interferon- γ and tumour necrosis factor- α in tuberculous and rheumatoid pleurisy. *Eur Respir J* 1996; 9: 1652-5.
- 14) Aoki Y, et al. A comparison study of IFN- γ , ADA, and CA125 as the diagnostic parameters in tuberculous pleuritis. *Respir Med* 1994; 88: 139-43.

Abstract**Clinical utility of QuantiFERON®-TB Gold assay on pleural fluid for the diagnosis of tuberculous pleurisy**

Takashi Shimizu^a, Katsuhiko Kuwabara^a, Yuka Kimura^a, Naho Matsuyama^a,
Akira Okada^b, Naoya Matsumoto^a, Takehiro Watanabe^b, Hiromi Miyao^a,
Yasuharu Saito^a and Tetsuro Ohdaira^a

^aDepartment of Respiratory Medicine, Nishi-Niigata Chuo National Hospital

^bDepartment of Respiratory Surgery, Nishi-Niigata Chuo National Hospital

Conventional methods for diagnosing tuberculous (TB) pleurisy require either an invasive procedure or long periods of time. We performed QuantiFERON®-TB Gold (QFT-3G) tests on pleural fluid and evaluated a diagnostic utility for distinguishing between TB pleurisy and non-TB pleural effusion. The QFT-3G tests and adenosine deaminase assays were performed on pleural fluid from 9 patients with TB pleural effusion and 35 patients with non-TB pleural effusion. The interferon- γ concentrations in the negative control samples were significantly higher in the TB pleurisy group than in the non-TB pleural effusion group. The values were all higher than 3.2 IU/ml in the 9 TB pleurisy group (median: 7.0 IU/ml). On the contrary, the values were all less than 0.7 IU/ml in the 35 non-TB pleural effusion group (median: 0.07 IU/ml). These findings suggest that the pleural fluid QFT-3G assay could be an accurate and prompt method for diagnosing TB pleurisy.