

Tスポット®.TB について



結核研究所

副所長 加藤 誠也

結核の感染診断法としてはツベルクリン反応（以下、ツ反）が使われてきたが、BCG接種や非結核性抗酸菌による影響を受けるために結核感染との判別が困難なことがあった。また、BCG接種後のツ反は数年の間に減弱するが、ツ反を行うことによって接種直後の反応に回復するブースター現象があるために、短期間に2回実施するような場合には結果の解釈が難しいことがあった。

結核菌特異抗原であるESAT-6、CFP-10等による抗原刺激によってリンパ球から産生されるγインターフェロンを測定する検査はInterferon Gamma Release Assay（インターフェロンγ遊離試験、以下IGRA）と総称され、BCG接種や非結核性抗酸菌の影響を受けないため、ツ反に比較して特異度が高い。日本では2000年のはじめころからクオンティフェロン®TB（以下、QFT）が使われるようになり、今では接触者健診等の感染診断で欠くことのできない検査法になっている。

Tスポット®.TBとは

Tスポット®.TB（以下、T Spot）はIGRAの一つである。QFTが全血を用いて特異抗原刺激を行った後のインターフェロンγ量をELISA法で測定するのに対して、T Spotは血液からリンパ球を分離して、その数を調整した後に、特異抗原ESAT-6とCFP-10をそれぞれ添加して刺激を行う。その結果、反応したリンパ球に対応するSPOT（点）の数と抗原刺激を行わないコントロールのSPOTを計測し、これらの差を判定値とする。

平成24年10月9日付で体外診断薬として承認を受け、11月13日に保険適用となった。QFTと全く同じ扱いとなっており、血漿蛋白免疫学的検査の結核菌特異的インターフェロン-γ産生能として630点、検体検査判断料の免疫学的検査判断料として144点（月1回）になっている。インターフェロン-γ産生能は、診察または画像診断等により結核感染が強く疑われる患者を対象として測定した場合のみ算定できる。

検査手順

1. 血液6ml以上を採血し、18～25℃で保管する。
2. 全血から末梢単核細胞（PBMC）を分離し、規定の

細胞数となるよう調製する。

3. 抗IFN-γ抗体を固相したマイクロプレートのウェルにPBMC検体を加え、結核菌特異抗原（パネルA抗原:ESAT-6とパネルB抗原:CFP-10）と16～20時間反応させる。
4. ウェルを洗浄したのち、標識抗体試薬を加える。
5. ウェルを洗浄して非結合の抗体を除去後、基質試薬を加えると、暗青色の「スポット」として発現するIFN-γを産生したエフェクターT細胞の痕跡数を計測し、感染の有無を判定する。

血液採取後、専用の試薬（T-Cell Xtend®試薬）を添加すれば採血後32時間まで検査ができる。T-Cell Xtend®試薬の添加はPBMCの分離前であれば採血後32時間までのどの時点でもよく、検査機関で行うこととなっている。T-Cell Xtend®試薬を加えない場合は、採血後8時間以内に検査を開始する。

判定基準

1. 以下の計算式を用いて、(1) ESAT-6分および(2) CFP-10分の数値を算出する。
 - (1) パネルAウェル（ESAT-6）のスポット数 - 陰性コントロールウェルのスポット数
 - (2) パネルBウェル（CFP-10）のスポット数 - 陰性コントロールウェルのスポット数
2. 判定基準は以下のとおりである。（表1参照）

表1 日本における判定基準

		(2) CFP10			
		4以下	5	6, 7	8以上
(1) ESAT-6	4以下	陰性	陰性・判定保留	陽性・判定保留	陽性
	5	陰性・判定保留	陰性・判定保留	陽性・判定保留	陽性
	6, 7	陽性・判定保留	陽性・判定保留	陽性・判定保留	陽性
	8以上	陽性	陽性	陽性	陽性

陽性：(1) および(2)の双方、あるいはいずれか一方が6スポット以上の場合

陰性：(1) および(2)の双方が5スポット以下の場合

判定保留：(1) および(2)の双方の最大値が5～7の場合とされている。この場合、「陽性」または「陰

性」の判定結果自体は有効でだが、数値が8以上または4以下となった場合と比較して、信頼性がやや低下する可能性があるため、再検査が推奨されている。「判定保留」による再検査の結果が再度「判定保留」となった場合は、他の診断方法を用いるか、臨床的・医学的症状や患者背景を考慮の上、医師による総合的な判断のもとで、結核菌感染の診断を行う。

判定不可：陰性コントロールのスポット数が10を超える場合及び陽性コントロールのスポット数が20未満となる場合は「判定不可」であるため再検査が推奨される。

米国における判定基準は表2に示すように、ESAT-6とCFP-10の大きい方の値が4以下の場合が陰性、5-7は判定保留、8以上が陽性となっているが、日本の判定基準はヨーロッパで使われている基準と同様である。

表2 米国における判定基準

判定	Nil	特異抗原	Mitogen
陽性	10 以下	8 以上	問わず
判定保留	10 以下	5,6,7	問わず
陰性	10 以下	4 以下	
判定不可	10 超	問わず	問わず
	10 以下	5 未満	20 未満

Nil: コントロール値,
 特異抗原: 特異抗原添加時の値-コントロール値,
 Mitogen: 非特異抗原添加時の値

検査適用

適用はQFTと同様で、感染の有無の検査として以下のような場合が考えられる。QFTとT Spotは、一方ではっきりとした結果が得られないような場合に他方で実施するようなことは考えられるが、当初から組み合わせて用いることは通常ないと思われる。

1. 接触者健診

感染性結核患者の接触者を対象に実施する。

2. 医療従事者の健康管理

医療従事者の入職時あるいは結核感染リスクの高い職場の定期健康診断として実施する。

3. 免疫抑制状態における患者での健康管理

HIV、慢性腎不全、透析患者等、生物製剤の使用などの免疫低下を引き起こす患者の潜在性結核感染症(LTBI)治療の適用のために実施する。

4. 活動結核の補助診断

活動性結核が疑われるが菌陰性の患者の補助診断の目的で実施する。

診断上の注意

1. 交差反応

結核菌特異抗原としてESAT-6およびCFP10の2種を使用しているため、BCGワクチンや結核菌以外のほとんどの抗酸菌とは交差性は示さないが、M.kansasii, M.szulgai, M.marinum, M.gordonae感染では陽性の結果を示すことが分かっている。これらの感染が疑われる場合には、他の診断方法を考慮する。

2. 感染から陽性化するまでの期間

QFTの経験からIGRAは感染後、陽性化まで8-10週さらに長期間経過後に陽性化することもある。検査実施・解釈に際して、考慮に入れる必要がある。

3. 感染時期

検査結果が陽性を示しても、最近起こった感染か、長期間経過したかは判定できない。発病事例の補助診断のために適用する場合には、IGRAが陽性であっても過去の感染を反映した結果で胸部異常影は他の原因によることもあるので注意が必要である

QFTとの違い

診断特性については、QFTよりも感度は高いが、特異度は低いとの報告が多かったが¹⁾、近年、特異度はQFTと変わらないとの報告もある²⁾。

免疫が低下した病態や免疫抑制作用を持つ薬剤を投与された状態ではQFT、T Spotとも感度が低下するが、リンパ球を分離して数を調整する過程があるT Spotは、特にリンパ球が減少するような状況では、感度低下の程度は少ないとの報告がある³⁾。

採血は通常のヘパリン入り採血管で6mL以上と簡便だが、検査自体の操作性はリンパ球の分離・調整の過程などがあり、QFTよりも複雑である。日本での評価には実際の運用状況でのデータや経験の蓄積が必要と思われる。

【参考資料】

- 1) Pai M, Joshi R, Dogra S et al. Serial testing of health care workers for tuberculosis using interferon γ assay. Am J Respir Crit Care Med 2006; 174: 349- 355
- 2) Higuchi K, Sekiya Y, Igari H et al. Comparison of specificities between two interferon-gamma release assays in Japan. Int J Tuberc Lung Dis 2012; 16:1190-1192
- 3) 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