

論文内容の要旨

Influence of endotoxin in blood collection tubes on the results of the tuberculosis diagnosis test QuantiFERON-TB Gold

(結核診断キットであるクオンティフェロン・ゴールドのエンドトキシン汚染による診断の影響について)

(岩手医学雑誌66巻, 1号 平成26年4月掲載)

秋富 慎司

I. 研究目的

最近, 結核の診断法として被験者血液を培養し遊離したインターフェロン- γ (IFN- γ) を測定するクオンティフェロン[®]TB-ゴールド (日本 BCG 製造株式会社 QFT-G) が用いられるようになった. ここ最近, 判定保留が多くリコールが重なり問題となっていた. この方法は結核菌抗原に特異的な感作リンパ球の刺激により産生された IFN- γ 量を定量する. 今回我々は, エンドトキシンが採血管に混入した場合の, QFT-G の最終判定に与える影響について検討した.

II. 研究方法

- 1) QFT-G の 3 本組の採血管 (陰性コントロール, 結核菌抗原, 陽性コントロール) に健常者血液を 1 ml 加えて 37°C で 18 時間培養し, その遠心上清 (血漿) を採取し ELISA により IFN- γ 量を測定し判定した. エンドトキシンは, 各採血管に 1 ml の蒸留水を加えて一定時間攪拌し, カプトガニ血球抽出液試薬 (エンドトキシン-シングルテストワコー) に加えてトキシノメーターでゲル化時間を判定するリムルステストでおこなった.
- 2) 健常者 7 名の血液に微量のエンドトキシン (*E. coli* 0111:B4 由来 LPS) を加え, IFN- γ 産生を測定した.
- 3) エンドトキシンを中和するためにポリミキシン B を採血管に添加し, そこへ血液を加えた場合の IFN- γ 産生を調べた.
有意差は t 検定を用い, $p < 0.05$ で有意差有りとした.

III. 研究結果

- 1) 採血管のエンドトキシン混入量: 5 ロットの採血管のエンドトキシン量にはロット差があり, 陰性コントロール, 結核抗原, 陽性コントロールの採血管でそれぞれ 0.1 ~ 15, 0.4 ~ 40.1, 45.4 ~ 12,670 (pg/tube) が検出された. エンドトキシンを中和するポリミキシン B やリムルス活性を抑制する抗 C 因子単クローン抗体による抑制

- 効果が認められ、エンドトキシンの存在が確認された。特に陽性判定が多いためリコールされたロットの結核抗原の採血管のエンドトキシン量は 40.1 pg/ml であった。
- 2) 7名中4名で微量の LPS 1 pg/ml という量で有意に産生された。またエンドトキシンによる IFN- γ 産生には個体差があることを認めた
 - 3) ポリミキシン B を加えた場合 IFN- γ 産生が減少する場合があります。16名の被験者のうちの3名の判定結果が、「陽性」から「陰性」に、「陽性」から「判定保留」に、「判定保留」から「陰性」になった。

IV. 結語

この研究から、QFT-G 採血管のエンドトキシン混入により IFN- γ 産生が修飾され、判定に影響する場合がありますことを認めた。またエンドトキシンによる IFN- γ 産生には、個体差があることも示唆された。QFT-G におけるエンドトキシン混入量について 1 pg/tube (エンドトキシン単位 EU で 0.007) 未満とすべきことを提案した。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 諏訪部章（臨床検査医学講座）

副査 教授 山内広平（内科学講座：呼吸器・アレルギー・膠原病内科分野）

副査 教授 遠藤重厚（救急医学講座）

著者は、新しい結核診断法について、エンドトキシン混入が結果判定に重大な誤りをもたらす場合があることを明らかにした。また、医薬品や医療器具等におけるエンドキシン汚染は医療行為の遂行に大きな妨げになり、エンドトキシン試験法に則り規格値が厳しく規制されている。しかし、新しい結核診断法のような血液の *in vitro* 培養による診断法にはエンドトキシン混入の国際的規制がいまだなく、著者は詳細な研究により規格値を設定すべきことを明らかにした。きわめて意義のある知見である。

試験・試問の結果の要旨

新しい結核診断法、エンドトキシン試験法や、エンドトキシンの生物活性特に敗血症等の病態における役割について試問し満足すべき解答を得、十分な学識と研究指導能力のあることを認めたので学位に値する。また、英語の審査にも合格した。

参考文献

- 1) A case report on consecutive measurements of nitrite/nitrate (NO_x) and cytokines from the early stage of septic acute respiratory distress syndrome (ARDS) (敗血症性 ARDS 患者における、早期の NO_x とサイトカインの連続測定に関する症例報告) (秋富慎司, 他 3 名と共著) Medical Post Graduates (2009)
- 2) Effect of linezolid on cytokine production capacity and plasma endotoxin levels in response to lipopolysaccharide stimulation of whole blood (LPS 刺激をした血液における、サイトカイン産生能力と血漿中エンドトキシン濃度のリネゾリドの効果について) (高橋学, 他 13 名と共著) Journal of Infection and Chemotherapy (2010)
- 3) Significance of measuring S100A12 and sRAGE in the serum of sepsis patients with postoperative acute lung injury. (術後急性肺損傷を伴った敗血症患者の血清における、S100A12 と sRAGE 測定の有意性について) (吉川智宏, 他 9 名と共著) Digestive Surgery (2011)
- 4) Retrospective study on the effect of tight glucose control in postoperative sepsis patients using an artificial pancreas. (術後の敗血症患者の血糖における、人工膵臓によるシビアコントロール効果の後向き研究) (高橋学, 他 11 名と共著) Journal of Infection and Chemotherapy (2011)