

## 原著

# BCG 骨髄炎の 2 幼児例

—早期診断のための遺伝子検査の有用性\*—

上野 健太郎<sup>1)</sup> 水流 由美子<sup>1)</sup> 西 順一郎<sup>1)</sup>  
大楠 清文<sup>3)</sup> 川畑 了大<sup>2)</sup> 河野 嘉文<sup>1)</sup>

**要旨** 症例 1 は 1 歳 3 カ月男児、BCG 接種 10 カ月後に左前胸部に皮下腫瘤を認め、左第 6 肋骨の溶骨性変化を認めた。症例 2 は 1 歳 5 カ月男児、接種 6 カ月後から左膝関節の熱感、腫脹を繰り返した。いずれも生検病理組織は乾酪壊死を伴った類上皮肉芽腫で、結核患者との接触はなく、クオンティフェロン検査陰性。症例 1 は遺伝子検査で BCG 東京株と同定した。BCG 既接種者の骨髄炎では、BCG 骨髄炎を疑って早期の抗酸菌培養と遺伝子検査が重要である。

### はじめに

BCG ワクチン、とりわけわが国で用いられている BCG 東京 172 株は副反応のリスクが低く全般的に安全性の高いワクチンとされている<sup>1)</sup>。しかし、まれな合併症として BCG 接種後遠隔期に骨炎・骨髄炎を発症する報告が、海外およびわが国においてみられている<sup>2~4)</sup>。PCR (polymerase chain reaction), RFLP (restriction fragment length polymorphism) など遺伝子診断法の進歩も背景にあり、最近その報告数は増加している<sup>5~7)</sup>。われわれは、1995 年に左橈骨に BCG 骨髄炎を発症した 1 歳 6 カ月女児例を報告<sup>8)</sup>して以来本症をみることはなかった。しかし、2006~2007 年にかけて、BCG 接種後遠隔期に骨髄炎を発症し、病理組織学的に抗酸菌感染症が疑われた 2 幼児例を連続して経験

した。臨床経過から BCG 骨髄炎が最も考えられ、うち 1 例では BCG 株遺伝子を検出し確定したので報告する。

### 1. 症例 1

**症例**：1 歳 3 カ月、男児。

**主訴**：左前胸部の腫瘤。

**家族歴**：兄弟 2 人の第 2 子。周囲に結核患者はいない。

**既往歴**：生来健康。生後 4 カ月時に左上腕に BCG 接種。

**現病歴**：2007 年 2 月 19 日 (1 歳 2 カ月時) に母親が左前胸部の腫瘤に気づいた。近医小児科で胸部 X 線検査、胸部 CT 検査を施行し、左第 6 肋骨の溶骨性変化と皮下腫瘤を認めた (図 1a)。<sup>99</sup>Tc 骨シンチグラフィーで同部位に集積の亢進、MRI 検

\* Two infant cases of BCG osteomyelitis—usefulness of genetic examination for early identification of BCG

**Key words**：BCG 骨髄炎，クオンティフェロン検査，遺伝子検査，PCR

1) 鹿児島大学医学部・歯学部附属病院小児科 Kentaro Ueno, Yumiko Tsuru, Junichiro Nishi, Yoshifumi Kawano

2) 同 整形外科 Ryodai Kawabata  
〔〒 890-8520 鹿児島市桜ヶ丘 8-35-1〕

3) 岐阜大学大学院医学系研究科病原体制御学分野 Kiyofumi Ohkusu

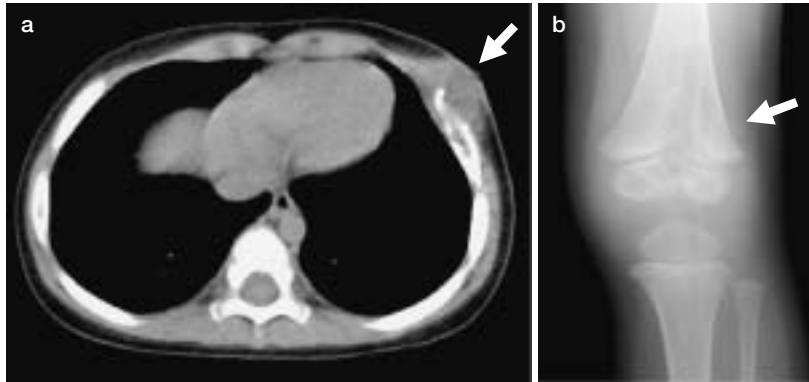


図 1

- a : 症例 1 胸部 CT 像. 左第 6 肋骨に溶骨性変化と皮下腫瘤を認める (矢印).  
 b : 症例 2 左大腿骨遠位端 X 線写真. 骨幹部遠位端, 骨端部に骨透亮像を認め, 一部骨膜反応を認める.

査 T2 強調画像で辺縁に高信号域を認めた. 3 月 14 日 (1 歳 3 カ月時) に当院整形外科で骨生検を施行し, 類上皮肉芽腫, Langhans 型巨細胞を認め, 骨結核が疑われた. 同日精査加療目的で当科に入院となった.

**入院時現症:** 体温 37.3°C, 脈拍 116 回/分, 呼吸数 24 回/分, 頸部リンパ節は触知しなかった. 心音整, 呼吸音清で副雑音なし. 腹部は平坦軟で肝脾腫なし. 左胸部第 6 肋骨部位に, 生検時の手術痕を伴う径 2×3 cm の発赤・熱感を伴う腫瘤を触知した.

**入院時検査所見:** 生検部位の一般細菌培養は陰性, 結核菌群 PCR が陽性 (Roche 製コバスアンプリコア) であった. クオンティフェロン検査は陰性. 3 日間連続の胃液抗酸菌塗抹・培養は陰性. 白血球数 7,020/ $\mu$ l (好中球 37.5%, リンパ球 51.5%), C-reactive protein (CRP) 0.13 mg/dl, 赤沈 27 mm/hr, 好中球貪食能 77%, 好中球殺菌能 89% で好中球機能に異常は認めなかった. リンパ球 CD 4/8 比は 1.0, リンパ球幼弱化試験は PHA 32,140 cpm, ConA 63,280 cpm と正常であった. ツベルクリン反応は発赤 10×10 mm, 硬結がみられ中等度陽性であった.

**入院後経過:** 生検組織の病理組織像 (図 2a) から抗酸菌感染症と考え, 結核性骨髄炎を念頭に, 抗結核薬リファンピシン (RFP) 10 mg/kg/日, イソニアジド (INH) 10 mg/kg/日, ピラジナミド

(PZA) 30 mg/kg/日の 3 剤経口投与を開始した. 治療開始後も創部は離開した状態が続き, 滲出液が持続的に排膿されており, 膿瘍形成や瘻孔形成の可能性があるため 1 カ月の抗結核薬による治療後に当院小児外科で肋骨部分切除を施行した. 創部の滲出液は減少し, 術後 2 週後に退院した. PZA は 2 カ月内服継続した後中止し, RFP, INH は 9 カ月間内服を継続した. 治療終了後 6 カ月が経過するが, 症状の再燃は認めていない.

**抗酸菌遺伝子検査:** 抗結核薬投与前の生検組織 (2007 年 3 月 14 日) と投与後の切除組織 (同 4 月 16 日) から DNA を抽出し, 岐阜大学で抗酸菌の遺伝子検査を施行した (図 3). ヒト型結核菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) では, 9.5 kb の RD1 領域が存在するが, *M. bovis* BCG ではこの RD1 領域が欠失している<sup>9)</sup>. そこで BCG 株を特定するために, BCG 株で抜け落ちている RD1 領域の両端を挟んだプライマーを設定し, BCG 株では 167 bp の増幅産物が得られる条件で PCR を行った. 治療開始前の生検組織では, BCG 東京株と同様の 167 bp の増幅産物を得たが, 治療開始後の検体は陰性であった (図 3 RD1). また, Tablot らは, プライマー ET1 と ET3 により BCG 株では 200 bp の PCR 産物が生じ, プライマー ET2 と ET3 では BCG 株は陰性, 野生株ウシ型結核菌 (*M. bovis*) と *M. tuberculosis* では 150 bp の産物が得られることを報告しており<sup>9)</sup>, これらのプライマーを用い

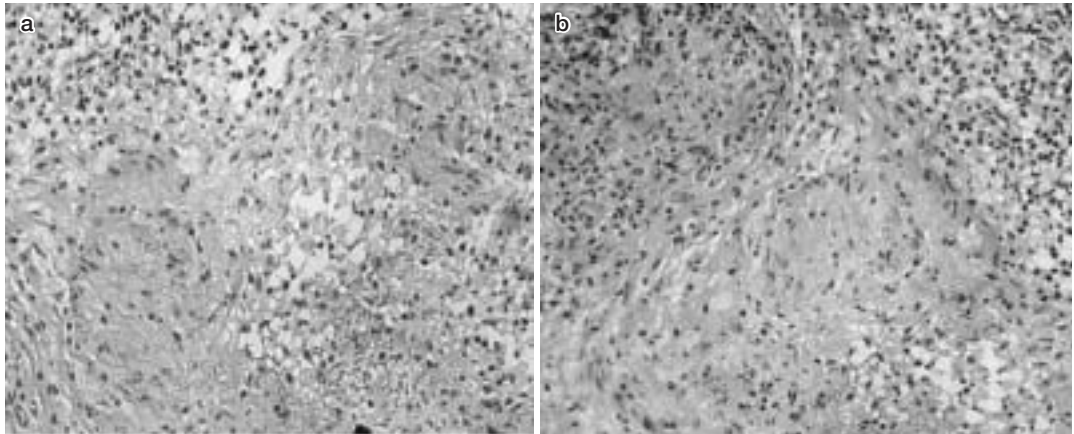


図 2 病理組織所見

a : 左第 6 肋骨組織像 (症例 1). b : 左大腿骨膝関節組織像 (症例 2).  
Hematoxylin-Eosin 染色 400 倍.

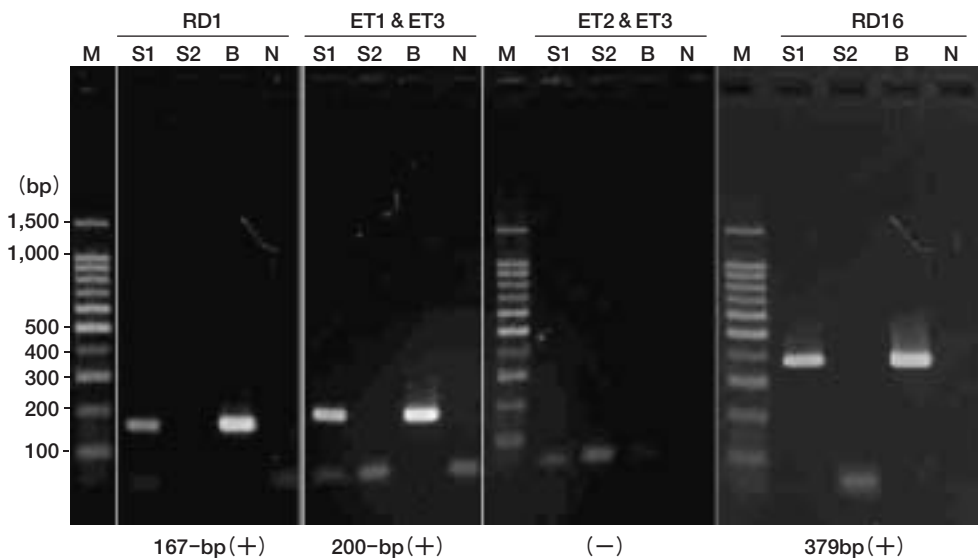


図 3 BCG 遺伝子検査

M : マーカー, S1 : 症例 1 生検組織 (治療前 2007 年 3 月 14 日), S2 : 症例 1 生検組織 (治療開始後 2007 年 4 月 16 日), B : BCG 東京株, N : 陰性コントロール

て PCR を行った。その結果、治療前の組織では ET1 と ET3 の組合わせで BCG 東京株と同様の 200 bp の産物を得 (図 3 ET1 & ET3), ET2 と ET3 の組合わせでは PCR 産物がみられなかった (図 3 ET2 & ET3)。また BCG 東京株は、他国で使用されている BCG 株や *M. bovis* に存在する RD16 領域が欠失しており、これを利用して BCG

東京株では 379 bp の産物が得られるプライマーが報告されている<sup>10)</sup>。これを用いても、治療前の組織で BCG 東京株と一致した 379 bp の産物が検出された (図 3 RD16)。さらに、この増幅産物のシーケンス解析を実施した結果、379 bp の塩基配列が BCG 東京株と完全に一致していた。したがって、本患児の骨髄炎は BCG 東京株が原因で

あったと診断した。

## II. 症 例 2

**症例：**1歳5カ月，男児。

**主訴：**左膝関節の疼痛，熱感，腫脹。

**家族歴：**第1子。周囲に結核患者はいない。

**既往歴：**生来健康。生後4カ月時に左上腕にBCG接種。

**現病歴：**2006年6月15日(1歳0カ月時)，左膝関節の熱感，腫脹がみられ，近医整形外科でX線検査を施行し，左大腿骨遠位端に骨透亮像を認めた。単純性関節炎と診断され無治療で症状は軽快した。同年9月22日(1歳3カ月時)，左膝関節の腫脹が再度出現，38°C台の発熱もみられ，近医整形外科を受診した。発赤，腫脹がみられ，関節穿刺を行い混濁した内容液を認めたため化膿性関節炎と診断，関節内持続灌流，セフォチアム(CTM)静注を行った。しかし，関節液の一般細菌培養は陰性であり，膝関節の発赤，腫脹も軽快したため治療を中止した。10月30日再発熱，左膝関節の腫脹が再燃し鹿児島市立病院に入院した。化膿性関節炎と診断され，セファメジン(CEZ)が投与された。MRIで，左大腿骨遠位端の腫瘍は内部不均一で，周囲の炎症像を認めた。<sup>67</sup>Gaシンチで同部位の集積亢進がみられ，悪性腫瘍の鑑別のため腫瘍の生検が必要と判断され当科紹介入院となった。

**入院時現症：**体温36.8°C，脈拍132回/分。頸部リンパ節は触知しなかった。心音整，呼吸音正常，副雑音なし。腹部は平坦軟，肝脾腫なし。四肢は左膝関節の発赤，腫脹，熱感を認めたが可動域制限は認めなかった。

**入院時検査所見：**白血球数10,300/ $\mu$ l(好中球37%，リンパ球53%)，CRP0.18mg/dl，赤沈21mm/hr。好中球貪食能72%，好中球殺菌能95%で，好中球機能に異常は認めなかった。リンパ球CD4/8比1.1，リンパ球幼弱化試験はPHA41,880cpm，ConA65,270cpmと正常であった。X線検査で，左大腿骨遠位端に骨透亮像を認めた(図1b)。

**入院後経過：**2006年11月24日，当院整形外科で関節鏡下骨生検術，骨搔爬術を行った。病理組織では乾酪壊死と類上皮肉芽腫を認め(図2b)，

結核性骨髄炎が疑われた。ツベルクリン反応10×11mm，硬結あり(中等度陽性)，クオンティフェロン検査陰性。3日間連続の胃液抗酸菌塗抹・培養は陰性。生検組織は一般細菌培養検査陰性，結核菌群PCR(Roche製コバスアンプリコア)陰性であった。胸部CT検査では肺野に結節影を認めなかった。経過からBCG骨髄炎が最も考えられたが，結核性骨髄炎も否定できなかったため，抗結核薬リファンピシン(RFP)10mg/kg/日，イソニアジド(INH)10mg/kg/日，ピラジナミド(PZA)30mg/kg/日の3剤経口投与を開始した。治療開始後も副作用認めず，PZAは2カ月間内服した後中止し，RFP，INHは9カ月間内服した。2007年3月に，患児の生検組織のパラフィン切片を用いて症例1と同様にBCG株の遺伝子検査を施行したが同定し得なかった。治療開始後9カ月が経過したが大腿骨遠位端，骨端線部は徐々に骨化がみられてきており，再燃を認めていない。

両患児のinterferon- $\gamma$ /interleukin-12(IFN- $\gamma$ /IL-12)経路の遺伝子検査

両患児の保護者の承諾を得て，九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野において，ダイレクトシーケンス法でinterferon- $\gamma$ /interleukin-12(IFN- $\gamma$ /IL-12)経路の遺伝子解析を行った(九州大学および鹿児島大学倫理委員会承認済み)。その結果，両者ともにIFN- $\gamma$ レセプター遺伝子(IFNGR1，IFNGR2)，STAT-1遺伝子，interleukin12 receptor  $\beta$ 1遺伝子，interleukin-12 p40遺伝子に異常を認めなかった。

## III. 考 案

BCG接種後遠隔期に骨髄炎を併発し，組織学的に抗酸菌感染症が疑われた2例を経験した。現在臨床検査で汎用されている結核菌群PCRでは，*M. tuberculosis*とBCG株を含む*M. bovis*の区別ができない。そのため，症例1では結核菌群PCRが陽性であったが，結核性骨髄炎とBCG骨髄炎を当初鑑別できなかった。しかし，周囲に結核患者がいなかったこと，またクオンティフェロン検査が陰性であったことから，BCG骨髄炎の可能性が高いと考え治療にあたり，その後の遺伝子検査で確定し得た。症例2は，遺伝子検査は陰性であっ



たが、組織学的に抗酸菌感染症と考えられ、結核の家族歴がないこと、クオンティフェロン検査が陰性であったことなどから、BCG 骨髄炎の可能性が高いと考える。遺伝子検査で同定し得なかったのは、生検組織が保存されておらず、検出率が低下するパラフィン切片を材料としたことも一因と考えられた。

BCG 接種後の重大な副反応について、WHO はワクチンの安全性を報告しており、骨炎・骨髄炎に関しては、10 万人中に 0.1~30 人と報告している。日本では BCG 接種後の骨髄炎の頻度は予防接種ガイドライン（2007 年版）では、100 万人に 0.4 人と記載されており、諸外国に比較してその頻度は少ない。ヨーロッパ諸国では特に頻度が高く、1992 年に Geissler らはスウェーデンやフィンランドで 100 万人中 40 人と報告しており、日本の約 100 倍の頻度であった<sup>2)</sup>。Milstien らは、日本の BCG 東京 172 株の病原性の低さ、有効性、安全性を報告しており、日本での本症の頻度が低いことの根拠としている<sup>1)</sup>。

戸井田らがまとめたわが国における BCG 接種による重大な有害事象 39 例の部位は、骨・関節病変が 27 例 (69.2%) と最も多いことがわかる<sup>4)</sup>。Sirinavin らの報告では、BCG 骨髄炎は接種後 5~33 カ月での発症が多いとされている<sup>11)</sup>。また Pelto らは BCG と因果関係のある 10 例の骨髄炎と 3 例の皮下膿瘍の症例を検討し、骨髄炎は長幹骨の骨幹端や骨端に発症しやすく、皮下膿瘍は全例胸郭発症であったと報告している<sup>3)</sup>。本症例 1 も胸郭左第 6 肋骨発症で皮下膿瘍を形成、肋骨部分切除を必要とした。

同じく戸井田らの報告で、39 例の症例のうち 19 例で何らかの細胞性免疫異常が報告されており、内訳は慢性肉芽腫症や重症複合型免疫不全症、IFN- $\gamma$  受容体遺伝子異常であった<sup>4)</sup>。特に IFN- $\gamma$  遺伝子変異などの抗酸菌特異的な免疫不全に関しては、近年報告が散見されている<sup>12,13)</sup>。両患児とも、既往歴から慢性肉芽腫症や重症複合型免疫不全症は否定的であったが、抗酸菌特異的免疫に関与する interferon- $\gamma$ /interleukin-12 (IFN- $\gamma$ /IL-12) 経路にも異常を認めなかった。抗酸菌特異的免疫不全では、抗酸菌に感染するまで症状は出な

いため、易感染の既往のない BCG 骨髄炎患児でも遺伝子検査が必要となると考える。

今回短期間で 2 例の BCG 骨髄炎を経験したが、特に症例 2 では病状が進行してからの診断となった。その原因として、化膿性骨髄炎との鑑別の判断が遅れたこと、初期に鑑別診断として BCG 骨髄炎を想定できなかったことがあげられる。BCG 骨髄炎の特徴として、限局性の骨破壊像を認めるものの骨膜反応が弱いこと、発赤や腫脹のわりに疼痛などの所見がないこと、反復する症状に対して抗菌薬への反応が乏しいことなどがあげられる<sup>14)</sup>ことを考慮し、BCG 骨髄炎を早期から鑑別すべきと考えられた。また本症が疑われる場合、早期の生検および外科的処置が重要と考えられる。診断確定には、生検組織を材料とした BCG 株の遺伝子検査が有用であるが、一般の臨床検査施設では不可能であるため、早期に専門施設へ依頼することが必要である。

BCG 骨炎・骨髄炎の報告は、以前は散見される程度であったが、最近 2~3 年間は自験例を含めてわが国における報告数が増えている<sup>5~7)</sup>。この原因として、遺伝子診断法の普及により確定診断例が増えているという可能性が考えられる。一方で、2005 年から始まった BCG 直接接種と定期接種期間の短縮化（生後 6 カ月以内）によって、より低月齢での接種が多くなったことによる影響も懸念される。すなわち、低月齢での接種により、接種された BCG 株の血行性播種が容易に起き、遠隔部位での骨炎・骨髄炎のリスクが高まるという仮説である。これについては検証が必要ではあるが、スウェーデンで新生児期に接種していた時期に BCG 骨炎・骨髄炎の罹患率が極めて高かった歴史的な事実は興味深いといえる<sup>15)</sup>。適正な予防接種を推進するためにも、BCG 骨髄炎が実際に増加しているかどうかについて、行政、学会を主導とした全国的な調査が必要であると考えられる。

謝辞：症例 1 の手術を担当された鹿児島大学病院小児外科の中目と彦先生、加治建先生、病理組織診断についてご教示いただいた同院病理部の北島信一先生、症例 1, 2 の interferon- $\gamma$ /interleukin-12 (IFN- $\gamma$ /IL-12) 経路遺伝子解析を施行していただ

きました九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野の楠原浩一先生，齊藤光正先生，保科隆之先生に深謝いたします。

## 文 献

- 1) Milstien JB, et al : Quality control of BCG vaccine by WHO : a review of factors that may influence vaccine effectiveness and safety. Bull World Health Organ 68 : 93-108, 1990
- 2) Geissler W, et al : BCG osteomyelitis as a rare cause of mediastinal tumor in a one-year-old child. Eur J Pediatr Surg 2 : 118-121, 1992
- 3) Peltola H, et al : BCG vaccination as a cause of osteomyelitis and subcutaneous abscess. Arch Dis Child 59 : 157-161, 1984
- 4) 戸井田一郎, 他 : 日本における BCG 接種による重大な有害事象. 結核 82 : 809-824, 2007
- 5) Funato M, et al : Refractory osteomyelitis caused by bacille Calmette-Guerin vaccination : a case report. Diagn Microbiol Infect Dis 59 : 89-91, 2007
- 6) 稲井郁子, 他 : BCG 菌による胸骨骨髓炎を呈した明らかな免疫不全を伴わない女児例. 日児誌 111 : 1177-1180, 2007
- 7) 石和田稔彦, 他 : BCG 菌とヒト型結核菌の迅速鑑別に PCR 法が有用であった胸部皮下膿瘍・肋骨骨髓炎の 1 小児例. 感染症学雑誌 82 : 30-33, 2008
- 8) Nishi J, et al : Bacille Calmette-Guerin osteomyelitis. Pediatr Infect Dis J 16 : 332-333, 1997
- 9) Talbot EA, et al : PCR identification of Mycobacterium bovis BCG. J Clin Microbiol 35 : 566-569, 1997
- 10) Bedwell J, et al : Identification of substrains of BCG vaccine using multiplex PCR. Vaccine 19 : 2146-2151, 2001
- 11) Sirinavin S, et al : Protective efficacy of neonatal Bacillus Calmette-Guerin vaccination against tuberculosis. Pediatr Infect Dis J 10 : 359-365, 1991
- 12) Newport MJ, et al : A mutation in the interferon-gamma-receptor gene and susceptibility to mycobacterial infection. N Engl J Med 335 : 1941-1949, 1996
- 13) Sasaki Y, et al : Genetic basis of patients with bacille Calmette-Guerin osteomyelitis in Japan : identification of dominant partial interferon-gamma receptor 1 deficiency as a predominant type. J Infect Dis 185 : 706-709, 2002
- 14) 山下倫徳, 他 : ウン型結核菌 (BCG) による骨結核の 1 例. 整形外科と災害外科 51 : 653-658, 2002
- 15) Romanus V : Selective BCG vaccination in a country with low incidence of tuberculosis. Euro Surveill 11 : 14-17, 2006

(受付 : 2008 年 5 月 26 日, 受理 : 2009 年 2 月 18 日)

\* \* \*