

氏 名	井 上 敬 介
(ふりがな)	(いのうえ けいすけ)
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲 第 号
学位審査年月日	平成 27年 1月 14日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題名	Usefulness of a novel and rapid assay system for fecal calprotectin in pediatric patients with inflammatory bowel diseases (小児炎症性腸疾患患者における新規便中カルプロテクチン迅速測定法の有用性)
論文審査委員	(主) 教授 樋 口 和 秀 教授 内 山 和 久 教授 林 道 廣

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

《背景と目的》

炎症性腸疾患 (inflammatory bowel disease ; IBD) は潰瘍性大腸炎 (ulcerative colitis ; UC)、Crohn 病 (Crohn's disease ; CD) からなる原因不明の消化管の慢性炎症性疾患である。IBD では腸管粘膜の寛解は長期予後を改善するとされている。しかし小児領域の内視鏡検査は、麻酔の必要性や侵襲性が高いため、繰り返し実施することが困難である。そのため、腸管炎症や粘膜治癒を非侵襲的に評価できる炎症マーカーの確立が強く望まれている。

カルプロテクチンは主に好中球の細胞質中に含まれる蛋白であり、活性化した好中球より放出される。現在、便中カルプロテクチン (fecal calprotectin ; FC) は IBD において、腸管炎症を反映する感度の高いバイオマーカーであるという報告が増加している。

しかし、従来からの ELISA 法は測定時間が長く、測定方法が煩雑である。そのため、短時間で測定でき、簡便な方法が望まれる。金コロイド凝集法 (colloidal gold aggregation assay ; CGA 法) は、抗体結合金コロイドを用いてサンプル溶液の色調変化から濃度を測定する。すでに実用化されており、自動分析装置を用いて短時間で測定できることが特徴である。今回、CGA 法を用いて FC を測定し、小児 IBD 患者で腸管炎症の評価に有用かどうかを検討した。

《対象・方法》

2008 年 4 月から 2012 年 12 月に大阪医科大学附属病院小児科で治療を行った 18 歳未満の IBD 患者 (UC : 45 人、CD : 42 人) から 252 検体 (UC : 131 検体、CD : 121 検体)、健常児 57 人から 57 検体を採取し、その FC を臨床的活動性、内視鏡所見、他の炎症マーカーと比較検討した。ELISA 法は測定キット (PhiCal、Immunodiagnostik AG、Bensheim、Germany) で測定し、CGA 法は抗ヒトカルプロテクチン抗体結合金コロイド (Mikuri Immunological Lab. Co. Osaka Japan) を用いて日立 7170 型自動分析装置 (Hitachi High-Technologies Co. Tokyo Japan) で測定した。臨床的活動性の評価を UC は Pediatric ulcerative colitis activity index (PUCAI、0~85)、CD は Pediatric Crohn's disease activity index (PCDAI、0~100) で行い、ともに score < 10 を寛解とした。また内視鏡的活動性の評価は UC では Matts' score (0~4) を改編し、結腸を 6 区分に分けそれぞれで Matts' score で評価した、The sum of Matts' score (6~24) を用い、CD では Simple Endoscopic Score for Crohn's Disease (SES-CD、0~56) を用いて評価した。UC は score=6、CD は score ≤ 2 を寛解とした。

統計学的解析は Spearman の順位相関係数、Mann-Whitney U の検定、 χ^2 二乗検定を行い、 $p < 0.05$ を有意水準とした。カルプロテクチンはコントロール群の 95 パーセンタイル値である 118.0 μ g/g を cut-off 値とした。

《結 果》

ELISA 法と CGA 法は強い相関を認めた ($r = 0.98$ 、級内相関係数 0.980 、 k 係数 0.842 、 $n=309$)。また、UC、CD とともに臨床的活動群は UC (中央値 : $525.5\mu\text{g/g}$ 、 $n=66$) CD (中央値 : $106.0\mu\text{g/g}$ 、 $n=59$) とともに健常児群 (中央値 : $33.3\mu\text{g/g}$ 、 $n=57$) にくらべ FC (CGA 法、以後 FC は全て CGA 法) が有意に上昇していた ($p < 0.01$)。同様に、臨床的寛解群でも UC (中央値 : $147.2\mu\text{g/g}$ 、 $n=65$)、CD (中央値 : $330.4\mu\text{g/g}$ 、 $n=59$) とともに健常児群とくらべ FC が有意に上昇していた。

また、UC では内視鏡的活動性と FC は強い正の相関を認めた ($r=0.70$ 、 $p < 0.01$ 、 $n=85$)。また、UC の内視鏡的活動群 (中央値 : $569.5\mu\text{g/g}$ $n=72$) は健常児群より有意な FC の上昇を認めた ($p < 0.01$) が、内視鏡的寛解群 (中央値 : $31.5\mu\text{g/g}$ 、 $n=14$) と健常児群で有意差を認めなかった。CD では内視鏡的活動性と FC は有意な正の相関を認めた ($r=0.58$ 、 $p < 0.01$ 、 $n=60$)。また UC 同様、内視鏡的活動群 (中央値 : $816.5\mu\text{g/g}$ 、 $n=51$) は健常児群にくらべ有意に FC が上昇していた ($p < 0.01$)。一方、UC とは異なり内視鏡的寛解群 (中央値 : $113.3\mu\text{g/g}$ 、 $n=16$) も健常児群より有意に FC が上昇していた ($p < 0.01$)。

内視鏡的活動群に対する FC の感度は 93.5% 、特異度 66.7% (UC : 感度 91.7% 、特異度 85.7% CD : 感度 96.1% 、特異度 50.0%) であった。

臨床的寛解群中の内視鏡的活動例に対する FC の陽性率 (UC : 77.8% 、CD : 94.1%) は他の炎症マーカーである CRP (UC : 7.4% 、CD : 47.1%)、血沈 (UC : 30.8% 、CD : 46.7%)、便中ヘモグロビン (UC : 61.5% 、CD : 21.4%) に比べて高率であった。また UC、CD とともに内視鏡的活動例と寛解例間で有意差を認めたのは、FC のみであった。

《考 察》

小児 IBD 患者の腸管炎症の評価において CGA 法は従来の ELISA 法と同等の有用性を認めた。また、短時間で簡便に多量の検体を自動分析装置で測定可能であり、従来の ELISA 法の半分程度の費用で測定可能であることから、今後さらに臨床の場で利用されると考えられる。

腸管炎症に対する FC の感度、特異度は既報通りであったが、CD の特異度はやや低値であった。これは潜在的な全層性炎症を反映しているか、或いは内視鏡検査の及ばない小腸病変の影響があるかもしれない。

また、UC の内視鏡的寛解群の FC は健常児群と有意差を認めなかった。これは FC が粘膜治癒の評価に有用であることを示している。一方、CD では内視鏡的寛解群と健常児群では有意差を認めており、これも全層性炎症の影響または小腸病変の影響が考えられた。また、臨床的寛解群中の内視鏡的活動例での陽性率を CRP、血沈、便中ヘモグロビン量と比較したところ、CD、UC とともに内視鏡的寛解群と有意差を認めたのは FC のみであった。また、陽性率も他のマーカーに比べ高いことから、腸管粘膜への炎症細胞の浸潤を病態とする IBD の活動性評価には適切なマーカーであると考えられる。

《結 論》

小児 IBD 患者の腸管炎症の評価において、CGA 法は従来の ELISA 法と遜色のない結果であった。安価で短時間で測定できる CGA 法は、IBD の診療に有用と考えられた。疾患活動性を短時間に知ることができる。CGA 法が臨床応用されると、IBD の疾患活動性を短時間で評価でき、迅速で適切な治療変更が可能となる。

論文審査結果の要旨

炎症性腸疾患 (inflammatory bowel disease ; IBD) は原因不明の慢性腸炎であり、潰瘍性大腸炎 (ulcerative colitis ; UC)、Crohn 病 (Crohn's disease ; CD) からなる。近年本邦でも罹患者数が急増している。同疾患の診断、疾患活動性の評価のゴールドスタンダードは内視鏡検査であるが、小児患者にとっては侵襲性が高く、繰り返し施行することは困難を伴う。また、IBD の活動性の評価にはこれまで様々な、臨床的活動性スコア、炎症マーカーが報告されてきた。その中で腸管炎症を正確に評価するマーカーでは、便中カルプロテクチン量の増加があげられるが、従来の測定法である ELISA 法は測定法の煩雑さと測定時間の長さにより、日常診療への導入が困難であった。

金コロイド凝集法 (colloidal gold aggregation assay ; CGA 法) は一般病院で使用されている自動分析装置を用い、5~10 分間の短時間で、多数の検体を安価に自動測定が可能であり、従来の ELISA 法と強く相関している。臨床活動性の評価、内視鏡活動性の評価との比較においても、ともに活動期、寛解期で有意差を示した。また、臨床的には寛解であるが内視鏡的には活動性を認める症例群においても、CRP、血沈、便中ヘモグロビン評価にくらべ高い陽性率を示し、内視鏡的寛解群、内視鏡的活動群で有意差を認めた。

主に好中球に由来する便中カルプロテクチンは IBD の病態を反映していると考えられ、CGA 法の導入により不必要な内視鏡検査を減らすことが可能になり、小児患者の負担を軽減できる。また、短時間に多数の検体を測定できることは日常診療において、測定結果から治療内容を迅速に変更することが可能になり IBD の診療に有用と考えられる。

以上により、本論文は本学大学院学則第 11 条第 1 項に定めるところの博士 (医学) の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

Journal of Gastroenterology and Hepatology 29 (7): 1406-1412, 2014