

平成27年6月26日現在

機関番号：34401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860889

研究課題名(和文) 小児炎症性腸疾患における新規便中カルプロテクチン測定法の臨床的有用性の検討

研究課題名(英文) Usefulness of a Novel and Rapid Assay System for Fecal Calprotectin in Pediatric Patients with Inflammatory Bowel Diseases.

研究代表者

青松 友槻 (Aomatsu, Tomoki)

大阪医科大学・医学部・助教

研究者番号：10465619

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：短時間で測定が完了する新規便中カルプロテクチン濃度(FC)の測定法である金コロイド凝集(CGA)法は小児IBDの腸管炎症を正確に診断することができた。また、CGA法で測定したFCは、粘膜治癒や臨床的寛解例における潜在炎症の診断にも有用であった。以上より、従来の測定法であるELISAに代わり得ると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Novel assay system for fecal calprotectin (FC), colloidal gold aggragation assay (CGA), had excellent performance for assessing mucosal inflammation of pediatric inflammatory bowel diseases, and can be replaced for conventional ELISA. FC measured by CGA was also useful for assessing mucosal healing and identifying subclinical inflammation of the colon.

研究分野：消化器病学

キーワード：炎症性腸疾患 小児 バイオマーカー

1. 研究開始当初の背景

(1) 潰瘍性大腸炎(UC)とクローン病(CD)を代表とする炎症性腸疾患(IBD)は若年者に好発する難治性の慢性腸炎であり、患者数が爆発的に増加している。現在、IBDの疾患活動性評価のgold standardは内視鏡検査であるが、小児では入院や全身麻酔が必要になるなど成人以上に困難を伴う。このような背景から、簡便で信頼性の高いバイオマーカーの確立が急務とされている。

(2) カルプロテクチンはカルシウムと亜鉛イオンに結合するS100蛋白のノヘテロダイマーであり、好中球の細胞質に豊富に含まれている。好中球が活性化されると細胞外へ放出されるため、便中カルプロテクチン濃度(FC)は腸管炎症の指標となる。近年、成人ではFCがIBDの臨床的活動性や内視鏡所見と相関することが報告されているが、小児ではほとんど未検討なのが現状である。

(3) 現在のFCの主な測定法であるELISA法は測定に長時間を要することが問題点であり、臨床応用するうえで大きな障害となっている。我々は、ELISA法にかわる新しい測定法として金コロイド凝集法(CGA法)を開発してきた。最大の特徴は、自動分析装置で測定できることと、反応時間が5~10分と短時間なことである。測定にかかるコストを約半分に抑えることも大きな利点である。

2. 研究の目的

今回のプロジェクトでは、小児IBDにおいて金コロイド凝集法で測定したFCが腸管炎症の評価において有用かどうかを明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

小児IBD患者から252検体(UC131、CD121)、健常児(HC)から57検体の便を採取した。FCをCGA法で測定し、ELISA法との一致性や内視鏡所見との相関を検討した。大腸内視鏡所見の評価は、UCではMatts'score(1~4)を用いた。大腸を盲腸、上行結腸、横行結腸、下行結腸、S状結腸、直腸の6つのセクションに分け、それぞれのセクションでMatts'scoreを評価してすべてを合計したものをThe sum of Matts'scoreとして(6~24)を用い、6を内視鏡的寛解、7以上を内視鏡的活動とした。CDではSimple Endoscopic Score for Crohn's diseases (SES-CD、0~56)を用い、0~2を内視鏡的寛解、3以上を内視鏡的活動とした。臨床的寛解は小児IBDで最もよく用いられるスコアで定義し、UCはPediatric Ulcerative Colitis Activity Index < 10、CDはPediatric Crohn's disease Activity Index < 10とした。

4. 研究成果

CGA法とELISA法の測定値の一致性は高か

った($r=0.98$ 、級内相関係数 0.980 、係数 0.842 、 $n=309$) (図1)。UC、CDの両方で、CGA法の便CaIは内視鏡スコアと正の相関を認め(UC: $r=0.70$ 、 $P<0.01$ 、 $n=85$ 、CD: $r=0.58$ 、 $P<0.01$ 、 $n=60$) (図2、4)、内視鏡活動群のFC(UC:中央値 569.0 、CD:中央値 816.5)は、内視鏡寛解群(UC:中央値 31.5 、CD:中央値 113.3)、健常児(中央値 33.3)より有意に高値であった(図3)。CDの内視鏡寛解群のFCは、軽度ではあるが健常児より有意に高値であった(図5)。CGA法によるFCの内視鏡的活動病変を検出する感度、特異度はそれぞれ、UCでは 91.7% 、 85.7% 、CDでは 96.1% 、 50.0% であった(表1)。潜在的に腸管炎症を有する患児、つまり臨床的には寛解であるが内視鏡では活動病変を有する患児(UC38、CD32)において、FCが異常値を示す確率(陽性率)は、他の検査所見(CRP、赤沈、便中ヘモグロビン)より有意に高値であった(表2)。

以上より、CGA法で測定したFCは、臨床的寛解例も含めて、小児IBDの腸管炎症の評価に有用であると結論付けられた。CDでは内視鏡で異常がなくてもFCは軽度高値を示しており、小腸など他の部位に炎症が残存している可能性が示唆された。一方、UCでは内視鏡寛解群のFCは健常児と有意差なく低値であり、FCは粘膜治癒の判定にも有用であると考えられた。短時間かつ自動分析装置で測定可能なCGA法によるFCの普及により、IBDの腸管炎症を臨床現場でリアルタイムにモニタリングできるようになることが期待される。

図1. ELISA法とCGA法で測定したFCの比較

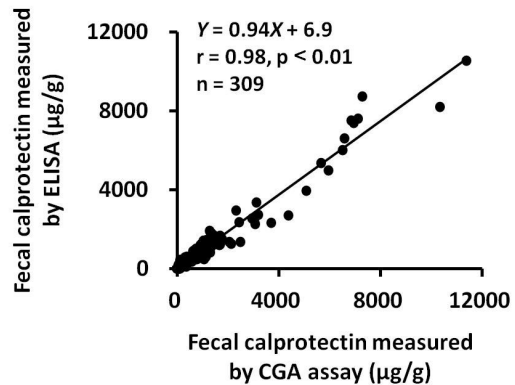


図 2. FC と内視鏡所見の相関 (UC)

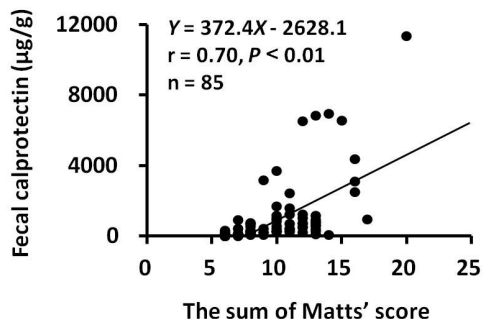


図 3. 内視鏡的活動性による FC の比較 (UC)

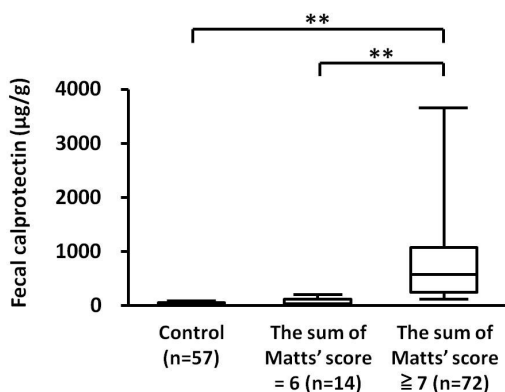


図 4. FC と内視鏡所見の相関 (CD)

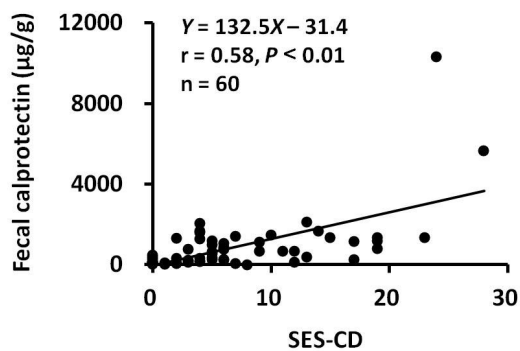


図 5. 内視鏡的活動性による FC の比較 (CD)

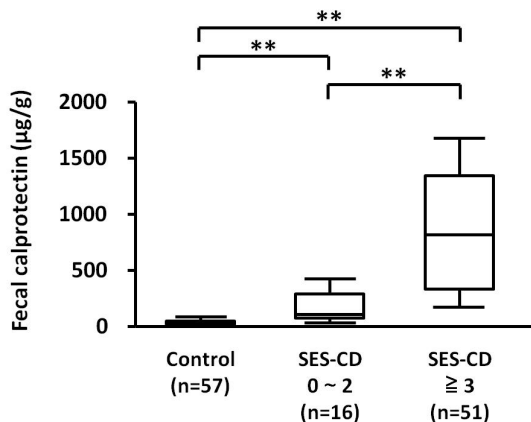


表 1. FC (CGA 法) が腸管炎症を診断する精度

	感度 (%)	特異度 (%)	PPV (%)	NPV (%)
UC	91.7	85.7	97.1	66.7
CD	96.1	50.0	86.0	80.0
UC + CD	93.5	66.7	92.0	71.4

表 2. 臨床的寛解例において、潜在的な腸管炎症を有する場合に異常と判定する各パラメータの頻度

	内視鏡的活動性		P値*
	寛解期	活動期	
UC			
FC** (n = 38)	1/11 (9.1%)	21/27 (77.8%)	<0.01
CRP (n = 38)	0/11 (0%)	2/27 (7.4%)	0.35
ESR (n = 37)	0/11 (0%)	8/26 (30.8%)	0.04
便中ヘモグロビン (n = 36)	2/10 (20.0%)	16/26 (61.5%)	0.03
CD			
FC** (n = 32)	7/15 (46.7%)	16/17 (94.1%)	<0.01
CRP (n = 32)	2/15 (13.3%)	8/17 (47.1%)	0.04
ESR (n = 28)	2/13 (15.4%)	7/15 (46.7%)	0.08
便中ヘモグロビン (n = 27)	1/13 (7.7%)	3/14 (21.4%)	0.32

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計1件)

Inoue H, Aomatsu T, Yoden A, Okuhira T, Kaji E, Tamai H. Usefulness of a Novel and Rapid Assay System for Fecal Calprotectin in Pediatric Patients with Inflammatory Bowel Diseases. J Gastroenterol Hepatol 査読あり 29 巻、2014 年、1406-1412
DOI: 10.1111/jgh.12578.

〔学会発表〕(計3件)

第 41 回日本小児栄養消化器肝臓学会 (2014 年 10 月 10 日~10 月 12 日、東京ステーションコンファレンス、東京都千代田区)「小児炎症性腸疾患における、新規便中カルプロテクチン測定法の有用性」
井上敬介、青松友槻、奥平尊、梶惠美里、余田篤、玉井浩

JDDW2014 (2014 年 10 月 23 日~10 月 26 日、神戸国際会議場、兵庫県神戸市)「小児炎症性腸疾患における新規便中カルプロテクチン測定法の有用性」
青松友槻、井上敬介、余田篤、玉井浩

PIBD2014 (2014 年 9 月 11 日~9 月 13 日、ロッテルダム、オランダ)「Usefulness of a Novel and Rapid Assay System for Fecal Calprotectin in Pediatric Patients with Inflammatory Bowel Diseases.」
Tomoki Aomatsu, Keisuke Inoue, Atsushi Yoden, Takeru Okuhira, Emiri Kaji, Hiroshi Tamai

〔図書〕（計0件）

〔産業財産権〕

出願状況（計0件）

取得状況（計0件）

6．研究組織

(1)研究代表者

青松 友槻（Aomatsu Tomoki）

大阪医科大学医学部・助教

研究者番号：10465619