

● 診療に必要な知識

治療に必要なバイオマーカーの開発状況

飯島 英樹*

要 旨

炎症性腸疾患の治療は、生物学的製剤をはじめとする新しい薬剤の登場により目覚ましい発展を遂げているが、それらを有効に使用するためには、早期診断、適切な治療法の選択、治療効果予測を行うことが必要である。そのためにはバイオマーカーが有用であり、p-ANCA、ASCAなどの自己あるいは菌体成分に対する抗体、CRP、便中カルプロテクチン、生物学的製剤の血中濃度などの有用性が報告されている。

はじめに

炎症性腸疾患 (IBD) は若年者に発症する難治性再発性腸管炎症で、クローン病 (CD) と潰瘍性大腸炎 (UC) の2疾患を指すが、本邦の患者数は増加の一途をたどっている。IBDの治療は、生物学的製剤である抗TNF α 抗体製剤の登場により大きな進歩を遂げた。生物学的製剤は高い有効性を示すが、その効果をさらに発揮するためにも、治療対象患者の適切な選択や治療効果の判定を行う必要がある。本邦では、内視鏡検査が疾患活動性の把握および治療法の選択のために積極的に行われているが、内視鏡検査は高コストで患者への負担も大きい。簡便・非侵襲的に疾患の状態を評価できるバイオマーカーが求められている。バイオマーカーには、疾患活動性の評価、治療効果の判定や、治療効果予測

への貢献が期待される。IBDのバイオマーカーとして、血液中、便中タンパク質、糞便細菌、遺伝子など数多くが報告されている(表1)が、それらの中でも特に、臨床的な有用性が示されているものに加え、今後の展開が期待されている代表的なバイオマーカーについて概説する。

血清生化学マーカー

血清CRPは炎症マーカーとして広く用いられているが、IBD患者においても腸管炎症の増悪に伴いCRP値の上昇を認めることが多い。CD患者において、CRPは臨床的活動性のみならず、内視鏡的活動性とも相関することが報告されている¹⁾。また、抗TNF α 抗体製剤により治療されたCD患者において、治療前のCRPが高値の患者のほうが低値の患者より治療反応性が良く、CRP値の治療後早期の低下が長期の治療効果と相関する²⁾。UC患者に対しステロイド治療を行った場合においても、治療後早期のCRP値がステロイド反応性と相関することが報告され

表1 代表的な炎症性腸疾患 (IBD) のバイオマーカー

バイオマーカー	特徴、陽性率
p-ANCA	UC 60~70% 陽性、CD 10~15% 陽性、非 IBD 患者の 5% 以下で陽性
ASCA	CD 60~70% 陽性、UC 10~15% 陽性、非 IBD 患者の 5% 以下で陽性
CRP	一般的な急性炎症のマーカーで、疾患の鑑別はできない。疾患活動性を反映する。
便中カルプロテクチン	腸管炎症細胞から産生され、臨床的・内視鏡的疾患活動性を反映する。

略語：巻末の「今月の略語」参照

ている³⁾。赤血球沈降速度 (ESR) も腸管炎症を反映するが、CRPほど鋭敏に腸管炎症を反映しないとされている。一方、内視鏡的に活動性の高い腸管炎症が確認されているIBD症例でも、CRP値が陽性とならない症例も認められるため、さらに鋭敏に腸管炎症を反映するバイオマーカーが求められている。

糞便マーカー

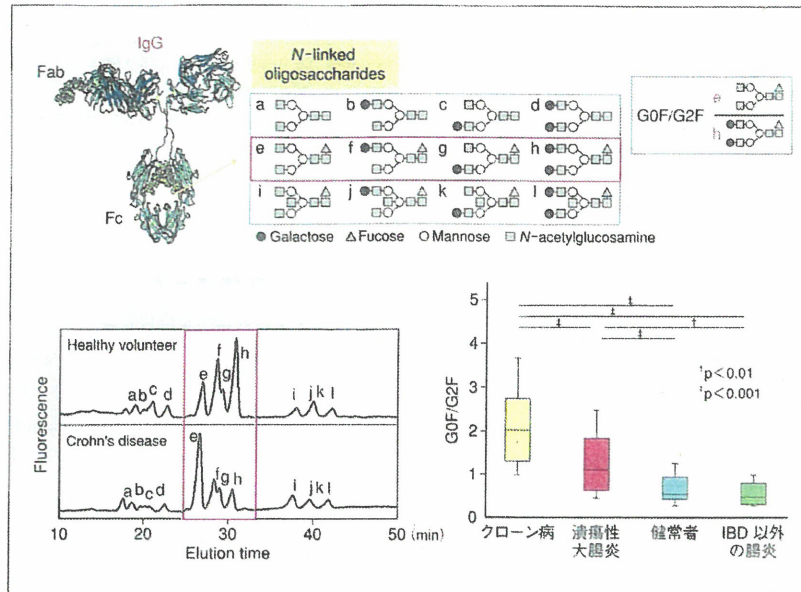
IBDの診断、活動性の評価のため、便中カルプロテクチンやラクトフェリンの有用性が報告されている。カルプロテクチンは、好中球の細胞質に多く存在する36kDのカルシウム垂結合性タンパク質である。ラクトフェリンは、好中球の顆粒や血清中に存在する鉄結合タンパク質である。いずれも腸管炎症により粘膜に分泌される。IBD患者と非IBD患者の鑑別において、便中カルプロテクチンの感度は98%、特異度は91%であり⁴⁾、ラクトフェリンの感度は80%、特異度は82%⁵⁾と報告されている。便中カルプロテクチン、ラクトフェリンは、IBDの診断バイオマーカーとして有用であるばかりでなく、IBD患者の内視鏡的・組織学的疾患活動性とも相関すると報告されている⁶⁾。これらの糞便マーカーは、現在のところ本邦では保険収載されていないが、今後認可されれば広くIBD診療に寄与することが期待される。

抗体マーカー

IBD患者の診断マーカーとして、自己、細菌、糖鎖抗原に対する抗体の有用性が報告されている(表1)。UCにおいては、抗好中球細胞質抗体のうち核周辺が染色される抗体(p-ANCA)の有用性が報告されており、その陽性率はUC患者で60~70%、CD患者で10~15%であり、非IBD腸炎では5%以下とされる⁷⁾。一方CD患者の診断に対しては、*Saccharomyces cerevisiae*の細胞壁表面のマンナンに対する抗*Saccharomyces cerevisiae*抗体(ASCA)の有用性が報告されている。IgG ASCAの陽性率はCD患者で60~70%、UC患者で10~15%、非IBD腸炎患者で5%以下であり、CDの鑑別において特異度96~100%、感度約50%と報告されている⁸⁾。CDとUCの鑑別において、上記のp-ANCAとASCAとの組み合わせは、90%以上の特異度と40~50%の感度を有している⁹⁾。その他の血清学的マーカーとして、*Escherichia coli*外膜タンパク質に対する抗体(outer-membrane porin C:OmpC)、*Pseudomonas fluorescens*の成分I2に対する抗体、および大腸炎マウス常在菌の鞭毛成分であるフラジェリンに対する抗体(CBir1)が報告されている。最近のGlycoChipマイクロアレイを用いた検討により、IgG抗laminaribioside carbohydrate抗体(ALCA)、IgA抗chitobioside carbohydrate抗体(ACCA)、IgG抗

* 大阪大学大学院医学系研究科 消化器内科学 講師

キーワード：炎症性腸疾患、バイオマーカー、カルプロテクチン、CRP、生物学的製剤

図1 糖鎖解析に基づく炎症性腸疾患 (IBD) の疾患鑑別マーカー (文献¹⁷⁾より改変引用)

血清 IgG に付着する N-結合型糖鎖を HPLC にて解析し、ガラクトース欠損フコシル化糖鎖 (G0F) とガラクトース付着フコシル化糖鎖 (G2F) 比を解析したところ、IBD 患者では健康者に比して有意に高値であった。

mannobioside carbohydrate 抗体 (AMCA) などの新たな抗グリカン抗体が CD 患者の血清中で増加していることが報告された⁹⁾。これらの抗体の標的は、酵母、真菌、細菌などの微生物の細胞壁に存在する糖鎖成分であり、CD の鑑別において特異度は 82~93% と良好であるが、感度は 30% 以下にとどまる。

ASCA や p-ANCA 陽性の IBD 患者は疾患の経過が不良であることが、幾つかの研究で示されている。Mow らは、303 人の CD 患者の解析で ASCA、OmpC、および I2 陽性例は難治化を示し、狭窄、内瘻などの合併症の発生および小腸手術率が高いと報告した¹⁰⁾。小児 CD 患者における検討においても、ASCA 陽性患者では瘻孔や膿瘍の発生が多いことが報告されている¹¹⁾。また、ACCA、ALCA、

および ASCA 陽性は内瘻形成や狭窄など疾患の複雑化と関連する⁹⁾。さらに Taylor らは、p-ANCA 陽性 CD 患者では陰性患者と比較してインフリキシマブの治療有効性が低いと報告している¹²⁾。このように幾つかの抗体が治療効果予測に有用であることが示されているが、抗体反応と治療効果の関連がどのような機序によって生じるかについては不明であり、今後の検討が待たれる。

インフリキシマブ血清濃度

中等度から高度活動性 UC 患者に対するインフリキシマブ投与を行った大規模前向き試験である ACT 1 および ACT 2 の解析において、血清インフリキシマブ濃度は寛解維持患者において活動期患者よりも有意に高値で

あり、インフリキシマブ血中濃度とその後臨床経過との関係が示されている¹³⁾。さらに、免疫調節薬未投与の CD 患者に対するインフリキシマブとアザチオプリン併用の有無による治療効果についての前向き比較試験である SONIC trial において、血清 CRP の正常化とともに血清インフリキシマブ濃度が 3.0 μg/mL 以上と高値であることが、26 週後の粘膜治療に有意に相関した¹⁴⁾。このように、生物学的製剤の血中濃度自体が IBD 診療におけるバイオマーカーとなることが示されている。

腸内細菌

CD 患者には高率に腸内細菌の変化 (dysbiosis) が認められる。発症早期で未治療の小児 CD 患者の検討において、健康者に比し Enterobacteriaceae, Pasteurellaceae, Veillonellaceae, Fusobacteriaceae が増加し、Erysipelotrichales, Bacteroidales, Clostridiales が減少することが疾患活動性の増悪と強く相関することが報告された¹⁵⁾。また、生物学的製剤中止により再燃した CD 患者において、糞便中 Firmicutes が少なく、特に免疫調節効果が報告されている *Faecalibacterium prausnitzii* や *Bacteroides* が少ないことが再燃の予測因子となることが示されている¹⁶⁾。このように、腸内細菌叢のパターンが IBD 診断、治療におけるバイオマーカーとなる可能性があるが、現在各方面で精力的に研究されている分野であり、今後のさらなる展開が期待される。

その他のバイオマーカー

上述のように、IBD の診断、活動性評価、治療効果予測に幾つかのバイオマーカーが報告されているが、十分な感度・特異度を持っていないかったり、保険適応がないものが多く、CRP 以外は一般的に使用が困難である。IBD 患者は急速に増加しており、生物学的製剤な

ど高額な薬剤の使用頻度も増えている現状において、医療の効率化のため、より有効なバイオマーカーが求められている。我々は、血清 IgG あるいは IgA の糖鎖構造解析が新たな IBD の診断および疾患活動性を反映するバイオマーカーとなることを報告した (図 1)^{17,18)}。また、プロテオミクス解析によって見いだされた leucin rich α2-glycoprotein (LRG) が、CD および UC における疾患活動性を反映するバイオマーカーであることを報告した¹⁹⁾。これら以外にも、多数のバイオマーカー候補分子が多施設から報告されており、病態を反映し臨床的に有用なバイオマーカーの今後の検討、多数例での評価が必要である。

おわりに

IBD 診療におけるバイオマーカーについて既述した。内視鏡検査やその他の画像診断法などの高コストあるいは侵襲的な検査法を補完し代用できるような、低コスト、簡便、かつ非侵襲的なバイオマーカーが求められており、IBD 治療の標準化、最適化が期待される。

文 献

- 1) Solem C.A. et al: Correlation of C-reactive protein with clinical, endoscopic, histologic, and radiographic activity in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 11 (8): 707-712, 2005.
- 2) Jürgens M. et al: Levels of C-reactive protein are associated with response to infliximab therapy in patients with Crohn's disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 9 (5): 421-427, 2011.
- 3) Travis S.P. et al: Predicting outcome in severe ulcerative colitis. *Gut* 38 (6): 905-910, 1996.
- 4) von Koon A.C. et al: Diagnostic precision of fecal calprotectin for inflammatory bowel disease and colorectal malignancy. *Am J Gastroenterol* 102 (4): 803-813, 2007.
- 5) Gisbert J.P. et al: Fecal calprotectin and lacto-

- ferrin for the prediction of inflammatory bowel disease relapse. *Inflamm Bowel Dis* 15 (6): 1190–1198, 2009.
- 6) Sipponen T, et al: Fecal calprotectin, lactoferrin, and endoscopic disease activity in monitoring anti-TNF- α therapy for Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 14 (10): 1392–1398, 2008.
- 7) Ruemmele F.M, et al: Diagnostic accuracy of serological assays in pediatric inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 115 (4): 822–829, 1998.
- 8) Reese G.E, et al: Diagnostic precision of anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies and perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies in inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 101 (10): 2410–2422, 2006.
- 9) Ferrante M, et al: New serological markers in inflammatory bowel disease are associated with complicated disease behaviour. *Gut* 56 (10): 1394–1403, 2007.
- 10) Mow W.S, et al: Association of antibody responses to microbial antigens and complications of small bowel Crohn's disease. *Gastroenterology* 126 (2): 414–424, 2004.
- 11) Amre D.K, et al: Utility of serological markers in predicting the early occurrence of complications and surgery in pediatric Crohn's disease patients. *Am J Gastroenterol* 101 (3): 645–652, 2006.
- 12) Taylor K.D, et al: ANCA pattern and LTA haplotype relationship to clinical responses to anti-TNF antibody treatment in Crohn's disease. *Gastroenterology* 120 (6): 1347–1355, 2001.
- 13) Adedokun O.J, et al: Association between serum concentration of infliximab and efficacy in adult patients with ulcerative colitis. *Gastroenterology* 147 (6): 1296–1307, 2014.
- 14) Reinisch W, et al: Factors Associated with Short- and Long-term Outcomes of Therapy for Crohn's Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*: 2014. [Epub ahead of print]
- 15) Gevers D, et al: The treatment-naïve microbiome in new-onset Crohn's disease. *Cell Host Microbe* 15 (3): 382–392, 2014.
- 16) Rajca S, et al: Alterations in the intestinal microbiome (dysbiosis) as a predictor of relapse after infliximab withdrawal in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 20 (6): 978–986, 2014.
- 17) Shinzaki S, et al: IgG oligosaccharide alterations are a novel diagnostic marker for disease activity and the clinical course of inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 103 (5): 1173–1181, 2008.
- 18) Inoue T, et al: Deficiency of N-acetylgalactosamine in O-linked oligosaccharides of IgA is a novel biologic marker for Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 18 (9): 1723–1734, 2012.
- 19) Serada S, et al: Serum leucine-rich alpha-2 glycoprotein is a disease activity biomarker in ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 18 (11): 2169–2179, 2012.

Potential Biomarkers Useful in the Treatment of Inflammatory Bowel Diseases

Hideki Iijima

Department of Gastroenterology and Hepatology,
Osaka University Graduate School of Medicine