

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患等政策研究事業
 難治性炎症性腸管障害に関する調査研究
 分担研究報告書（平成 26 年度～平成 28 年度）

ガスクロマトグラフ質量分析計による潰瘍性大腸炎の診断および病勢評価マーカー探索

研究分担者 吉田優 神戸大学大学院医学研究科内科学講座消化器内科学分野 准教授

研究要旨：研究要旨：炎症性腸疾患(Inflammatory bowel disease, 以下 IBD)は、主として潰瘍性大腸炎(ulcerative colitis, 以下 UC)とクローン病(Crohn's disease, 以下 CD)の 2 つの病型からなる慢性の腸管炎症を主体とする疾患である。その病態は不明で、また、特異的な診断法もなく、診断は臨床症候、内視鏡、放射線画像、病理検査によって総合的になされるが、実際には、診断困難例も 2% から 15%存在する。近年、プロテオミクスやメタボロミクスを用いた IBD の病態解析研究が報告され、その有用性が示されている。本研究ではガスクロマトグラフ質量分析(gas chromatography mass spectrometry; 以下 GC-MS)を用いたメタボロミクスを採用し、IBD 患者血清の代謝物プロファイルの解析を行い、新たな IBD のバイオマーカーの探索を行った。その結果、潰瘍性大腸炎に対する非侵襲的な血清診断、および、病勢評価モデルを構築した。

共同研究者（報告当時所属）

上小鶴孝二（兵庫医科大学下部消化管科）
 横山陽子（兵庫医科大学下部消化管科）
 福永健（兵庫医科大学下部消化管科）
 中村志郎（兵庫医科大学下部消化管科）

A. 研究目的

近年、プロテオミクスやメタボロミクスを用いた IBD の病態解析研究が報告され、その有用性が示されている。本研究では GC-MS を用いたメタボロミクスを採用し、IBD 患者血清、結腸粘膜の代謝物プロファイルの解析を行ってきた。過去に我々が行った検討では、アミノ酸、および、TCA 回路関連分子を含む血清代謝物プロファイルにより、健常人、UC 患者、ならびに、CD 患者を識別し得る可能性が示された。本研究では、IBD 患者血清の代謝物プロファイルの解析し、新たな IBD のバイオマーカーの探索を行った。特に、UC 患者の診断、および、病勢評価マーカーの探索を目的とした。

B. 研究方法

UC 患者 120 例、CD 患者 39 例、健常人 120 例から、それぞれ血清を収集した。UC 患者と健常人については、性別と年齢を調整した上で、ランダムに 2 群に、すなわち、training set と validation set に分けた。CD 患者は、その識別を行う診断モデルの構築に用いた。各血清は、メタノール・クロロホルム・水を用いて代謝物を抽出し、水溶性画分を GC-MS に供して、主として、水溶性代謝物の解析を行った。得られた代謝物プロファイルは、volcano plot、および、ステップワイズ法を用いてバイオマーカー候補の 1 次選抜を行った後、training set で多重ロジスティック回帰分析に供し、UC の診断、UC と CD の識別モデル、および、UC の病勢評価モデルをそれぞれ構築した。更に ROC 解析を行い、cut off 値を設定して、validation set でそれぞれの精度を評価した。

（倫理面への配慮）

本研究では、兵庫医科大学および神戸大学

の倫理委員会の承認を経て、ヘルシンキ宣言に基づき同意の得た。

C. 研究結果

GC-MS による代謝物解析結果を多変量解析に供し、診断、および、病勢評価モデルを構築した。その結果、潰瘍性大腸炎と健常人を識別する診断モデルは、training set では AUC 値 0.988, 感度 93.33%, 特異度 95.00%, validation set では感度 95.00%, 特異度 98.33% と高い精度を示した。また、クローン病を識別する診断モデルは、training set では AUC 値 0.965, 感度 85.00%, 特異度 97.44%, validation set では感度 83.33% と高い精度を示した。潰瘍性大腸炎の病勢評価モデルに関しては、training set では AUC 値 0.967, 感度 84.62%, 特異度 88.23%, validation set では感度 84.62%, 特異度 91.18% と高い精度を示し、さらに、validation set で、clinical activity index と有意に高い相関性 ($r_s=0.7371$, $P<0.0001$) を示した。

D. 考察

IBD の診断に関する血清バイオマーカーとして、p-ANCA と ASCA の組み合わせによる診断法(感度 51%, 特異度 94% で UC を識別)や血漿アミノ酸プロファイルに基づく IBD 診断法(multivariate indexes established from plasma aminograms; MIAI、寛解例では AUC 値 0.744, 活動期例では AUC 値 0.879 で UC を識別)が報告されている。我々の診断モデルは、感度 85.00%, 特異度 97.44%, AUC 値 0.965 とより高い精度で UC を識別し得た。

また、UC の病勢を評価し得るバイオマーカーとして、糞便マーカー、特に、カルプロテクチンの有用性が報告され、内視鏡的活動性のみならず臨床的活動性と強い相関性が報告されている(成人例; $r_s = 0.67$, 小児例; $r_s = 0.68$)。また、MIAI は、AUC 値 0.849 と病勢評価においても有用性を示し、clinical activity index と相関性

($r_s = 0.598$) が示されている。我々の病勢評価モデルは、これらのマーカーを上回る診断能 ($r_s = 0.737$, AUC 値 0.967) を示し、有用な臨床ツールとなり得ると考える。

E. 結論

GC-MS を用いたメタボロミクスが、UC のバイオマーカー探索に有用な手法であることを示した。本研究結果は、これまで困難であった UC の早期診断および病勢評価を可能とし、より早期に治療を最適化し得る可能性を示した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Kohashi M, Nishiumi S, Ooi M, Yoshie T, Matsubara A, Suzuki M, Hoshi N, Kamikozuru K, Yokoyama Y, Fukunaga K, Nakamura S, Azuma T, **Yoshida M**. A novel gas chromatography mass spectrometry-based serum diagnostic and assessment approach to ulcerative colitis. *J Crohns Colitis*, 8(9):1010-21, 2014

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし