厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）
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（令和元年度）

潰瘍性大腸炎患者における血清バイオマーカー、便中カルプロテクチンと中長期予後との関連の検討

研究分担者　金井隆典　慶應義塾大学医学部消化器内科　教授
研究協力者　長沼　誠　慶應義塾大学医学部消化器内科　准教授

研究要旨：本研究では便中カルプロテクチンを用いて日本人潰瘍性大腸炎における既存マーカーとの比較、および長期予後との関連を明らかにし便中カルプロテクチンの臨床的有用性を明らかにする。本研究は便中カルプロテクチンと便潜血反応、血中炎症反応、大腸内視鏡活動度との関連を検討する研究、および得られた便中カルプロテクチン値と潰瘍性大腸炎長期予後の関連を検討する研究の２つから構成される。平成 28 年 12 月までに約 850 例の登録が終了している。

共同研究者
小林拓、日比紀文（北里大学北里研究所病院）、那須野正尚、本谷聡（札幌厚生病院）、加藤真吾（埼玉医科大学総合医療センター）、佐々木誠人（愛知医科大学）、尾関啓司、谷田諭史（名古屋市立大学）、渡辺憲治（兵庫医科大学・大阪市立総合医療センター）、坂本博次、山本博徳（自治医科大学）、飯島英樹（大阪大学）、横山純二（新潟大学）、松岡克善（東京医科歯科大学）、遠藤豊（大船中央病院）、市川仁志（東海大学八王子病院）、渡辺知佳子、穂苅量大（防衛医科大学）、藤谷幹浩（旭川医科大学）酒匂美奈子（山手メディカルセンター）竹内健、鈴木康夫（東邦大学医療センター佐倉病院）

A．研究目的

潰瘍性大腸炎の病勢の判断には下部消化管内視鏡検査が繁用されており、これまで粘膜治癒は主に内視鏡活動度で評価されてきたが、内視鏡検査は検査に伴う苦痛や偶発症のリスクを伴うことや内視鏡施行者間による内視鏡スコアのインターオブザーバー(観察者間変動)問題がしばしば指摘されている。そこで、内視鏡検査に代わるより安全で簡便な粘膜治癒を評価する代替検査(サロゲートマーカー)の登場が期待されている。

カルプロテクチンは s100 蛋白に属する 36kDa のカルシウム・亜鉛結合蛋白であり、主に好中球の細胞質の主要成分である。腸管局所に炎症が起こると、白血球が腸管壁を通じて移行するため、糞便中の白血球由来物質であるカルプロテクチン量を測定することにより腸管炎症度を把握することが可能となる。また、カルプロテクチンは非常に安定した物質であり、便中カルプロテクチンは室温で少なくとも 3 日間保存が可能である。潰瘍性大腸炎においては、炎症を有する活動期には便中カルプロテクチン値は高値となり、炎症が治まっている寛解期には便中カルプロテクチン値は低値となる。さらに、内視鏡的活動度や中長期予後と便中カルプロテクチン値は相関することが報告されている。

一方便潜血検査は大腸がんのスクリーニング検査として使用されているが、本邦において便潜血定量値と潰瘍性大腸炎の内視鏡活動性や長期予後と関連していることも報告され、さらに内視鏡活動性や予後を予測するバイオマーカーとして便潜血定量値は便中カルプロテクチン値とほぼ同等の診断能を有することも報告されている。

しかし現在までの潰瘍性大腸炎に対する便バイオマーカーに関する研究の対象症例は単施設で 100 例前後の検討が多く、多くの症例を集積した多施設共同研究による研究は多くない。また疾患活動性を評価する方法として血液検査（CRP、血

小板値、ヘモグロビン値、アルブミン値)、大腸内視鏡検査などがあるが、便バイオマーカーと既存のマーカーとを比較した研究は多くない。

本研究はデータの安定性・確実性を高めるために多くの症例を集積した多施設共同研究を行い、日本人における便中カルプロテクチン、便潜血定量検査の内視鏡的活動性や長期予後との関連を検討することを目的とする。

B．研究方法

1) 便中バイオマーカーと内視鏡活動度との関係の検討

大腸内視鏡検査の施行、内視鏡活動度の評価を行う。内視鏡施行後 3 日～1 か月以内に便中カルプロテクチンおよび血液検査・便潜血検査を施行し、カルプロテクチン、便潜血定量と臨床的活動度・内視鏡活動度・血液マーカーとの関連を比較検討した。

2) 便中バイオマーカーと長期予後との関係の検討

臨床的寛解患者を対象に、１）と同様に同意および登録をおこない、便中カルプロテクチン便潜血反応、採血検査を行う。検査後１年間の臨床的再燃の有無を前向きに調査し、カルプロテクチン便潜血定量値と再燃との関係を検討した。

（倫理面への配慮）

主研究施設である慶應義塾大学医学部、および研究協力各施設において、施設内倫理委員会申請を行い、承認後研究が施行された。個人情報については患者氏名・ID・生年月日などが解析者にわからないように連結匿名化され解析が行われた。

C．研究結果

本研究は 2015 年 3 月から 2017 年 3 月までに患者登録が行われ、2018 年 3 月に観察を終了し、その後データを集積・解析が行われた。最終的に 16 施設 879 名の患者が登録された。

１　便中バイオマーカーと内視鏡活動度との関係の検討（コホート１）

427 例が登録され、うち臨床的・内視鏡的活動度の評価が可能であった 382 例について解析を行った。カルプロテクチン値と便潜血定量値は強い相関関係(κ=0.714)を認め、カルプロテクチン値と Mayo 内視鏡スコア(κ=0.586)および UCEIS(κ=0.575)、便潜血定量値と Mayo 内視鏡スコア(κ=0.632)および UCEIS(κ=0.675)は中等度の相関が認められた。一方カルプロテクチン値、便潜血定量値と血液マーカーは弱い相関を認めるのみであった。

また Mayo 内視鏡スコアが１以上の症例のみを対象とした際に、カルプロテクチン値は全大腸炎型・左側大腸炎型において直腸炎型に比べ有意に高値であったが(p<0.001)、便潜血定量値については、全大腸炎型・左側大腸炎型・直腸炎型で有意差は認められなかった(p=0.351)。

さらに ROC 解析による、Mayo 内視鏡スコア 1 以下、および 0 を予測するカットオフ値を検討したところ、カルプロテクチンで 277mg/kg、146mg/kg、便潜血定量では 201ng/mL、77 ng/mL であったが、それぞれを予測する診断能はカルプロテクチンと便潜血定量で有意差は認められなかった。

２　便中バイオマーカーと長期予後との関係の検討（コホート２）

452 例が登録され、うち１年間解析が可能であった 405 例を解析とした。本症例は全例登録時には臨床的寛解(partial Mayo スコア１以下)であったが、3 ヶ月で 9.4%、12 ヶ月で 22.2%が臨床的再燃をきたした。コホート 1 で検討した Mayo 内視鏡スコア 0 のカットオフ値を用いて、12 ヶ月後の再燃率を比較したところ、カルプロテクチンで 146mg/kg 以上の症例では 51.2%、146mg/kg 未満の症例では 9.9%であり、146mg/kg 以上で有意に再燃率が高いことが確認された（OR, 5.21; 95% CI, 3.51-7.69; *P*<0.001）。また便潜血定量 77 ng/mL 以上では再燃率が 55.7%、77 ng/mL 未満では 12.7%であり、同様に便潜血定量 77 ng/mL 以上で再燃率が高いことが確認された(OR, 4.39; 95% CI,

3.07-6.29; $P<0.001$)。この結果は 3 ヶ月後の再燃についてもカルプロテクチンで 146mg/kg 以上または便潜血定量 77 ng/mL 以上で同様に再燃率が高いことが確認された。また血小板値、アルブミン値、TNFα治療を合わせた多変量解析をおこない、再燃予測においてカルプロテクチン値、便潜血定量ともに、便潜血定量ともに独立した因子であることが確認された。さらにカットオフ値が両検査で高値の症例(69.0%)はカルプロテクチン値のみ(31.5%)、便潜血定量のみ(30.0%)高値であった症例に比べ有意に１年後の再燃率が高いことも確認された。

D. 考察

カルプロテクチンと炎症性腸疾患に関する研究は海外を中心に行われており、また本邦でもカルプロテクチンと予後との関連の検討がなされている。本研究を計画した 2015 年には本邦においてカルプロテクチン測定は臨床性能試験がおこなわれているのみで、実臨床で使用されていなかったが、現在は保険収載され、実臨床で測定することが可能である。国内外の臨床試験の報告例は、すべて 200 例以内の報告例であり、これまで本邦で大規模症例を対象とした研究はされていなかった。また近年便潜血定量が簡便で内視鏡的活動度と相関関係があることが報告されているが、内視鏡活動性、カルプロテクチン値、便潜血検査、CRP などの血液マーカーなどとの関連および予後について大規模に解析した報告は皆無であった。そこで、我々は研究班のメンバーを中心とした多施設共同研究を企画した。本研究はこれまでの報告例に比して多くの潰瘍性大腸炎患者の便バイオマーカーを測定し、既報と同様にカルプロテクチン値および便潜血定量値が内視鏡的活動度および予後予測に有用であり、両検査法の診断能力は同等であることが確認された。一方カルプロテクチン値は予後と関連しないという報告もなされているが、少数例・単施設での解析結果であることにより症例の偏りや、統計学的な差がつきにくい要因があると考えられる。我々の研究は多くのデータを集積したことにより、データの妥当性はこれまでの試験に比して、担保されていると考えられる。

２つの便バイオマーカーを同時に測定することの意義については、内視鏡活動性については同時に測定することにより診断能を向上させることは確認されなかったが、臨床的寛解例において、カルプロテクチン検査、便潜血定量検査を組み合わせることにより、高頻度で再燃を予測できることが確認された。実臨床では、治療介入後に寛解導入された症例について、両検査を施行することにより、再燃リスクの高い患者については内視鏡検査により内視鏡活動度や炎症範囲を確認すること、免疫調節薬の増量・介入、診療間隔を短縮するなどの判断に有用である可能性が考えられた。

E. 結論

879 例の潰瘍性大腸炎患者の便カルプロテクチン値、便潜血定量値を測定し、内視鏡的活動度、臨床的寛解例における再燃予測に有用であることが示された。再燃予測については両検査を施行することにより高頻度に再燃しやすい症例を抽出できると考えられた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

１.論文発表

1) Naganuma M, Kobayashi T, Nasuno M, Motoya S, Kato S, Matsuoka K, Hokari R, Watanabe C, Sakamoto H, Yamamoto H, Sasaki M, Watanabe K, Iijima H, Endo Y, Ichikawa H, Ozeki K, Tanida S, Ueno N, Fujiya M, Sako M, Takeuchi K, Sugimoto S, Abe T, Hibi T, Suzuki Y, Kanai T. Significance of conducting 2 types of fecal tests in patients with ulcerative colitis.Clin

Gastroenterol Hepatol. 2019 Aug 5. [Epub ahead of print]
2) Naganuma M, Kanai T. Fecal immunochemical test, in addition to the fecal calprotectin test, is useful for assessing the disease severity. Clin Gastroenterol Hepatol. Sep 18 [Epub ahead of print]

２.学会発表

1) Naganuma M, Kobayashi T, Kanai T. Fecal calprotectin correlates to UCEIS and can predict short-term recurrence in patients with ulcerative colitis. Annual meeting of European Crohn and Colitis Organization. 2019.3
2) Naganuma M, Kobayashi T, Nasuno M, Kato S, Matsuoka K, Hokari R, Sakamoto H, Kanai K. Both fecal immunochemical blood test and calprotectin are useful to predict short-term recurrence in patients with ulcerative colitis. Annual meeting of American Gastroenterological Association. 2019.5

H. 知的財産権の出願・登録状況
（予定を含む）

１．特許取得　特になし

２．実用新案登録　特になし

３．その他

特になし