

便中カルプロテクチン

よし まつ ゆう すけ なが ぬま まこと かな い たか のり
 吉 松 裕 介 : 長 沼 誠 : 金 井 隆 典
 Yusuke YOSHIMATSU Makoto NAGANUMA Takanori KANAI

はじめに

便中カルプロテクチン検査は、潰瘍性大腸炎 (ulcerative colitis ; UC) の病態把握を目的として、2017年6月に本邦で保険収載された。

カルプロテクチンとは、腸管内の好中球に由来するカルシウム結合蛋白で、これまで汎用されてきた血清バイオマーカーと比較して、腸管局所の炎症をより直接的に反映していることが想定される。また、主に UC の診療を行う際に用いられてきた大腸内視鏡検査と比較して非侵襲的であり、既存の検査の代用による患者負担の軽減や併用することによる診療レベルの向上が期待されている。

I. カルプロテクチンとは

UC は、根本的な治療が見出せていない中、近年若年層を中心に増加の一途をたどっている。そのため、現状、寛解維持が診療の目標となっている。

検査に関して、UC の病態を把握するために最も有用かつ頻用されているのは大腸内視鏡検査である。内視鏡検査は活動性の評価としてだけでなく、大腸炎関連発癌 (colitis-associated cancer ; CAC) のサーベイランスとしても、実臨床で用いられている¹⁾。

また、UC の長期予後の観点では、近年、粘膜治療の重要性が報告されており、臨床的寛解期においても、大腸内視鏡検査による炎症の評価は重要と考えられている^{1,2)}。

一方で、内視鏡は、UC の可能性の低い患者に対

する除外診断や疾患活動性評価のたびに行う検査としては、前処置の使用や検査自体の苦痛による侵襲性の問題が存在する。

そこで、簡便かつ低侵襲に患者の状態を把握するため、これまで様々なバイオマーカーが用いられてきた。なかでも、IBD の臨床的、内視鏡的な疾患活動性との相関が知られている血清マーカーである C 反応性蛋白 (C-reactive protein ; CRP) などの急性期蛋白は、安価である反面、感染や他の炎症の影響を受けやすく、非特異的である³⁾。特に、UC では活動性が比較的高い症例においても、腸管局所の炎症のみで、血清マーカーが上昇しないケースも多い。

そこで、候補に挙げられた糞便バイオマーカーの一つが、便中カルプロテクチンである。カルプロテクチンとは S-100 蛋白ファミリーに属するカルシウム結合蛋白で、顆粒球、単球・マクロファージや上皮細胞から産生される⁴⁾。具体的には、炎症などの刺激を受けると、単球系のマクロファージから放出されたカルプロテクチンが、好中球の遊走やサイトカイン分泌を促し、結果的に好中球や上皮細胞から管腔側へのカルプロテクチンの放出が誘導される (図 1)⁵⁾。そのため、便中カルプロテクチンを測定することは直接的に腸管粘膜の炎症の程度を反映すると考えられ、実際に腸管内の好中球量と比例することが知られている⁶⁾。

さらに、好中球が数時間の寿命であるのに対し、カルプロテクチンは腸内細菌により分解されず、常温で 1 週間以上安定しており、検体としての扱いやすさもある⁷⁾。

同じ糞便バイオマーカーとして知られているものにラクトフェリンがある。ラクトフェリンは鉄結合

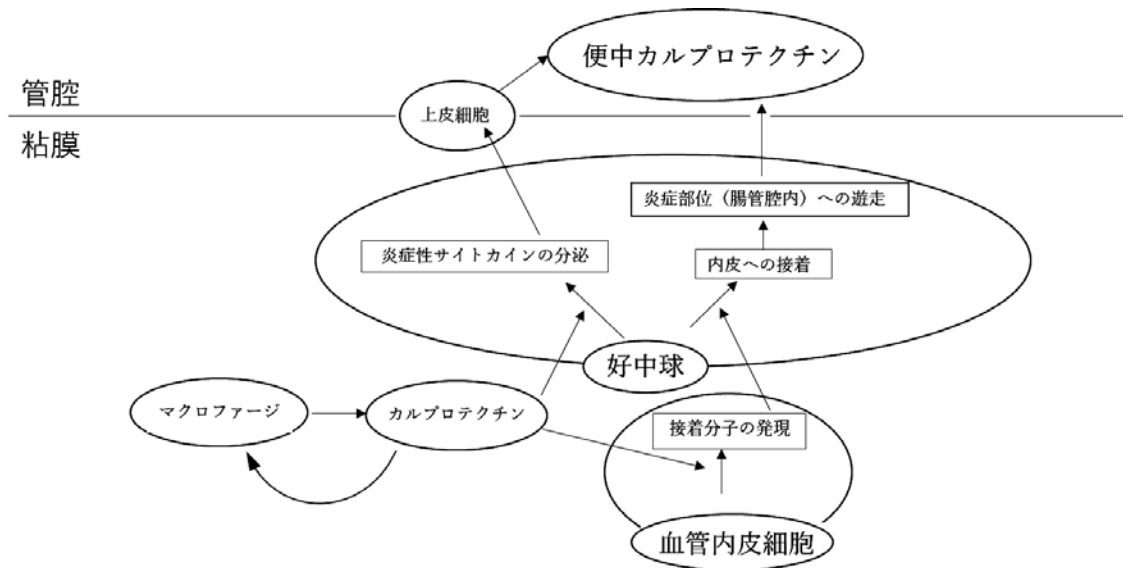


図1 便中カルプロテクチンが産生される機序⁵⁾

蛋白で、好中球中の二次顆粒の成分である。好中球が脱顆粒するとともに放出され、抗菌作用を有する。カルプロテクチンと同様、腸内細菌により分解されず、常温で4日間安定であり、糞便中の好中球量を反映している点もカルプロテクチンと同様である⁸⁾。実際に、ラクトフェリンはIBDとIBSや健常者との鑑別に有用であり、内視鏡的・組織学的な疾患活動性とも相関していることが報告されている^{9,10)}。

また、大腸癌のスクリーニングとして広く用いられている便潜血反応 (Fecal immunochemical test ; FIT) については、UCの粘膜治癒予測にも有用であることが知られているが、2015年に本邦でカルプロテクチンとともに粘膜治癒予測における有用性を検証した報告がある。同報告では両者ともに内視鏡的活動性と有意に相関していた^{11,12)}。

他の糞便のバイオマーカーとして知られているライゾチーム、polymorphonuclear (PNH) elastase、ヒト好中球リポカリンなどはUCの疾患活動性とのある程度の相関は知られているが、他疾患との鑑別においての相関が少なく、診断的意義に欠いている¹³⁾。

そこで、UC診療において、診断・疾患活動性評価・予後予測の観点で、便中カルプロテクチンの有用性について、他のバイオマーカーとの比較を含めてここで解説する。

II. 診断における意義

炎症性腸疾患 (IBD) を診断するにあたり、過敏性腸症候群 (IBS) をはじめとする機能性疾患との鑑別において、血便などの症状が出現せずに、腹痛や腹部膨満感、排便性状の変化などの共通する症状で発症するケースは少なくない。

しかし、発症早期に診断をするにあたり、内視鏡やCT、注腸といった検査は侵襲性や被曝などの問題から、訴えの比較的軽い患者全例に対して逐一行う検査としては非現実的である。一方で、機能性消化管障害の診断基準として推奨されているRome分類は存在しているものの、一般診療では使用されていないことも多い。

そこで、IBDや大腸癌に代表される器質的疾患とIBSに代表される機能性疾患との鑑別として、簡便に行うことができる便中カルプロテクチンが有用であることを示した前向き試験の報告がある¹⁴⁾。同報告では便中カルプロテクチンがRome I分類 (当時の診断基準) と同様に、血中の急性期蛋白 (CRP・ESR) と比較して両者の鑑別に有用であることを示した。

このように、UCの診断の段階で、便中カルプロテクチンを確認することで、内視鏡検査の適応の患者を選択することが可能と考えられる。

Ⅲ. 疾患活動性評価における意義

1. 成人症例での検討

UCの臨床経過をモニタリングするにあたっては、大腸癌のサーベイランスを兼ねて定期的な大腸内視鏡検査を施行することが推奨されている。しかし、活動性の評価のみの目的で検査の頻度が増すと患者側の負担も重くなる。

そこで、疾患活動性の評価の代用検査としての便中カルプロテクチンの有用性について、実際に、多くの研究が報告されている。

先駆けとして、1997年に、UC62例(健常者125例)を対象に行われたノルウェーの研究では、内視鏡的スコアと組織学的スコアで層別化された重症群、軽症群、健常者群の順に有意差を持って便中カルプロテクチン値が高いことが初めて示された¹⁵⁾。

また、多施設共同での前向き研究としては、2013年にUC305例を対象に行われたスイス・ドイツの研究では、便中カルプロテクチンが内視鏡的な疾患活動性(modified Baron Score)ごとに強い相関を示した。一方で、CRP、ヘモグロビン値、血小板数、白血球数などの血清バイオマーカーは内視鏡的な疾患活動性との相関が認められなかった¹⁶⁾。

このように、便中カルプロテクチンは、UCの疾患活動性を評価する観点においては、内視鏡の代用検査となりうるといえる。

2. 小児症例での検討

IBDは若年層に多い疾患であり、UCについても若年発症の場合は重症化しやすく、また、罹患年数も長くなることでCACのリスクが高くなることが想定され、小児期には慎重かつ積極的な治療戦略が求められる。しかし、小児においてはその安全性から一般的には全身麻酔下での内視鏡検査が推奨されており、経過観察や粘膜治療を確認する目的などでの施行は侵襲度が高い¹⁷⁾。

そこで、便中カルプロテクチン検査は小児症例においても活動性評価を目的に他の検査の代用となれば、低侵襲で優れた検査法であると考えられる。

本邦では、2014年に小児のUC患者45例(便131検体)、Crohn病(Crohn's disease; CD)患者42例

(便121検体)を対象に便中カルプロテクチンの有用性を検討した報告がある¹⁸⁾。同報告では、従来のELISAよりも簡便で迅速なCGA(colloidal gold aggregation)キットを用いて便中カルプロテクチンを測定し、小児においてもUC・CDともに、便中カルプロテクチンが、臨床的な疾患活動性だけでなく、内視鏡的な疾患活動性との強い相関があることを示した。

また、臨床的寛解例において内視鏡的活動性を有する症例は、内視鏡的寛解例に比べ、便中カルプロテクチン値が高値を示した割合が有意に高く、他のバイオマーカーと比較して、内視鏡的活動度をより反映していることも示された。

このように、便中カルプロテクチンは、小児においても、疾患活動性を評価する目的としては、内視鏡検査の代用となりうる検査であることが示唆される。

Ⅳ. 再燃予測における意義

1. 臨床的寛解例における再燃予測

前述の通り、UC患者において、臨床症状が顕在化せずとも、内視鏡的に腸管粘膜に炎症が残存していることがあり、この炎症の残存が再燃やCAC発症につながる。そのため、近年、粘膜治癒(内視鏡的寛解)の重要性が唱えられている。そのため、CACのサーベイランス以外に粘膜の炎症を評価する意義でも定期的な内視鏡検査が望まれる。

そこで、便中カルプロテクチンは、予後予測においても内視鏡検査の代用となりうるかを検討された。

具体的には、便中カルプロテクチンが再燃予測の指標として有用であるかを検討した前向き試験が2000年に報告された(図2)¹⁹⁾。

同報告では、臨床的寛解を1-4か月間続けているIBD患者80例(UC:37例、CD:43例)を対象に行われた。検査後12ヶ月の期間中の再燃群と非再燃群で比較したところ、試験参加時の便中カルプロテクチン値がUC、CDの患者でともに有意に再燃群で高く、基準値を定めたときには、検査感度90%、検査特異度83%と高値を示したことが判明した。

他の糞便バイオマーカーのラクトフェリンとの比較としては、本邦のUC患者を対象に、寛解期の糞

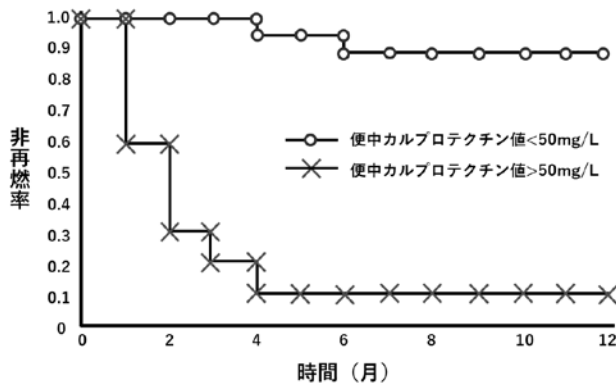


図2 寛解期 UC の再燃予測における便中カルプロテクチンの意義^{19(改変)}

便バイオマーカーと UC 再燃の相関を確認するために行った 2014 年の単施設前向き試験の報告が挙げられる²⁰⁾。

同試験では、5-ASA の内服のみで 3 か月間臨床的寛解が得られている UC 患者 80 例から便を回収し、同患者の状態を 2 ヶ月毎に 12 ヶ月間経過観察した。その結果、当該期間に再燃した患者群では、臨床試験開始時に測定した便中カルプロテクチン・ラクトフェリンともに有意に高く、再燃予測における有用性が明らかとなった。

さらに、カルプロテクチンはラクトフェリンよりも感度・特異度ともに再燃予測において上回っており、再燃予測因子について年齢、罹患期間、再燃の既往 (5 回以上)、過去の重症度などと多変量解析を行ったところ、カルプロテクチンが唯一、予測因子として有意であるという結果が得られた。

2. 内視鏡的寛解例における再燃予測

さらに、内視鏡的寛解例の再燃予測をするにあたり、便中カルプロテクチンの有用性を組織学的な重症度と比較する形で評価した試験が報告された²¹⁾。

具体的には、IBD 患者 (UC、CD、IBD-unclassified (IBD-U)) 162 例を対象に、内視鏡的寛解が得られた症例に限り、同患者群の便中カルプロテクチンと、2 年以内 (中央値 12 か月) の再燃の関連を検討した。その結果、便中カルプロテクチンの方が、組織学的重症度 (maximal Geboes score (大腸の 4 部位から採取した中で最も重症な病理組織学的スコア)) より高い感度で、再燃を予測できることが示唆された。

つまり、便中カルプロテクチンは、臨床的・内視

鏡的寛解の得られた症例において再燃予測の指標として有用であると考えられる。

おわりに

便中カルプロテクチンは UC の診断、疾患活動性の評価、再燃予測において有用である。

疾患活動性の評価においては、内視鏡的な活動性を反映していること、また、寛解期においては、組織学的評価よりも再燃予測に優れていることなど、特に小児や長期罹患例にとっては非侵襲的な検査法として大変魅力的である。

しかし、便潜血検査などと比較すると、コストの問題から、検査時期のタイミングを見極める必要があることなど検討すべき事項も存在する¹²⁾。

また、今後は、具体的な治療戦略を組んでいくにあたり、便中カルプロテクチンと長期予後との関連を見出していくことが将来的な目標である。

文 献

- 1) Cancer surveillance in longstanding ulcerative colitis: endoscopic appearances help predict cancer risk. *Gut*. 2004 ; **53** : 1813-1816.
- 2) Mari Arai et al. The Ulcerative Colitis Endoscopic Index of Severity is Useful to Predict Medium- to Long-Term Prognosis in Ulcerative Colitis Patients with Clinical Remission. *Journal of Crohn's and Colitis*. 2016. 1303-1309.
- 3) Craig A. Solem et al. Correlation of C-Reactive Protein with Clinical, Endoscopic, Histologic, and Radiographic Activity in Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2005 ; **11** : 707-712.
- 4) Fagerhol MK et al. Calprotectin [the L1 leukocyte protein]. Smith VL et al (ed). *Stimulus Response Coupling: The Role of Intracellular Calcium-Binding Proteins*. Boca Raton. CRC Press. 1990. 187-210.
- 5) D Foell et al. Monitoring disease activity by stool analyses: from occult blood to molecular markers of intestinal inflammation and damage. *Gut*. 2009 ; **58** : 859-868.
- 6) Røseth AG et al. Correlation between faecal excretion of indium-111-labelled granulocytes and calprotectin, a granulocyte marker protein, in patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 1999 ; **34** : 50-54.
- 7) Røseth AG et al. Assessment of the neutrophil dominating protein calprotectin in feces. A methodologic study. *Scand J Gastroenterol*. 1992 ; **27** (9) : 793-798.
- 8) Guerrant RL et al. Measurement of fecal lactoferrin as a marker of fecal leukocytes. *J Clin Microbiol* 1992 ; **30** : 1238-1240.

- 9) Sunanda V Kane et al. Fecal Lactoferrin Is a Sensitive and Specific Marker in Identifying Intestinal Inflammation. *The American Journal of Gastroenterology*. 2003 ; **98** : 1309-1314.
- 10) Renata D' Inca et al. Calprotectin and lactoferrin in the assessment of intestinal inflammation and organic disease. *Int J Colorectal Dis*. 2007 ; **22** : 429-437.
- 11) Asuka Nakarai et al. Evaluation of Mucosal Healing of Ulcerative Colitis by a Quantitative Fecal Immunochemical Test. *Am J Gastroenterol*. 2013 ; **108** : 83-89.
- 12) Shiho Takashima et al. Evaluation of Mucosal Healing in Ulcerative Colitis by Fecal Calprotectin Vs. Fecal Immunochemical Test. *Am J Gastroenterol*. 2015 ; **110** : 873-880.
- 13) Andrew D. Sutherland et al. Review of fecal biomarkers in inflammatory bowel disease. *Diseases of the Colon & Rectum*. 2008 ; **51** : 1283-1291.
- 14) Jeremy A. Tibble et al. Use of Surrogate Markers of Inflammation and Rome Criteria to Distinguish Organic From Nonorganic Intestinal Disease. *Gastroenterology*. 2002 ; **123** : 450-460.
- 15) Røseth AG et al. Assessment of Disease Activity in Ulcerative Colitis by Faecal calprotectin, a Novel Granulocyte Marker Protein. *Digestion*. 1997 ; **58** : 176-180.
- 16) Alain M. Schoepfer et al. Fecal Calprotectin More Accurately Reflects Endoscopic Activity of Ulcerative Colitis than the Lichtiger Index, C-reactive Protein, Platelets, Hemoglobin, and Blood Leukocytes. *Inflamm Bowel Dis*. 2013 ; **19** : 332-341
- 17) van Beek EJ, Leroy PL. Safe and effective procedural sedation for gastrointestinal endoscopy in children. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr*. 2012 ; **54** : 171-185.
- 18) Keisuke Inoue et al. Usefulness of a novel and rapid assay system for fecal calprotectin in pediatric patients with inflammatory bowel diseases. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 29. 2014. 1406-1412.
- 19) Jeremy A. Tibble et al. Surrogate Markers of Intestinal Inflammation Are Predictive of Relapse in Patients With Inflammatory Bowel Disease. *GASTROENTEROLOGY* 2000 ; **119** : 15-22.
- 20) Takayuki Yamamoto et al. Fecal calprotectin and lactoferrin as predictors of relapse in patients with quiescent ulcerative colitis during maintenance therapy. *Int J Colorectal Dis*. 2014 ; **29** : 485-491.
- 21) Erik Mooiweer et al. Low Fecal Calprotectin Predicts Sustained Clinical Remission in Inflammatory Bowel Disease Patients: A Plea for Deep Remission. *Journal of Crohn's and Colitis*, 2015, 50-55.