

〈新技術特集〉

便中カルプロテクチン検査の臨床における有用性について

千葉 明子

Clinical usefulness of fecal calprotectin

Sayako Chiba

Summary Recently, number of Inflammatory bowel disease (IBD) patients, which includes Ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease (CD), has been increasing, and many kinds of drugs and diagnostics of biomarkers for IBD are developed. Fecal calprotectin (FC) measurement is an intestinal inflammation biomarker specific to IBD with non-invasive and low-cost. FC measurement has been widely used in Europe and the United States. In Japan, the clinical utilities of FC measurement for IBD has reported and applied to clinical practice, recently. In this paper, we show the clinical usefulness of FC measurement with Fluorescence Enzyme Immunoassay (FEIA) method.

Key words: Calprotectin, Inflammatory bowel disease, Ulcerative colitis, Crohn's disease, Biomarker, Mucosal healing

I. はじめに

炎症性腸疾患 (IBD) の患者数は増加しており、本邦における2015年の研究班による疫学調査では、潰瘍性大腸炎 (UC) の推定患者数がおおよそ22万人、クローン病 (CD) の推定患者数がおおよそ7万人と報告されている^{1,2)}。近年では、IBDの治療薬や治療目標は進歩しており、そのためIBD患者の病態を的確に把握するバイオマーカーが求められてきた。便中カルプロテクチン検査は、本邦では2017年に保険適用となった比較的新しい検査であるが、欧米では本邦に先行して臨床応用が進んでいる。現在では

International organization for the study of inflammatory bowel disease (IOIBD) の報告や European Crohn's and Colitis Organization (ECCO) のガイドラインでもIBDにおける当検査の有用性について示されている^{3,4)}。本稿では、便中カルプロテクチン検査の臨床的有用性について、一部は海外における知見も併せて報告する。

II. 炎症性腸疾患 (IBD)

炎症性腸疾患 (IBD) は、狭義の意味では潰瘍性大腸炎 (UC) とクローン病 (CD) を指す。患者数は増加しており¹⁾、2018年度の衛生行政

サーモフィッシャーダイアグノスティクス株式会社
マーケティング本部自己免疫診断薬部
〒108-0023 東京都港区芝浦4-2-8
住友不動産三田ツインビル東館
Tel: +81-3-6872-6203 Fax: +81-3-6872-6220
E-mail: sayako.chiba@thermofisher.com

Autoimmunity Diagnostics, Marketing Department,
Thermo Fisher Diagnostics
Sumitomo Fudosan Mita Twin Bldg. East Wing 4-2-8,
Shibaura, Minato-ku, Tokyo, 108-0023, Japan

報告例によると、開示されている指定難病全331疾患のうちUCが第2位、CDが第4位の受給者証所持者数となっている⁵⁾。おもな症状は、腹痛、下痢、血便であり、CDではしばしば肛門病変を伴う¹⁾。IBDの発症原因は明らかではないが、遺伝的要因、環境的要因、免疫学的要因、腸内細菌叢などが複雑に絡み合う多因子疾患とされている⁶⁾。遺伝的要因では2005年以降、一塩基多型 (SNP) を対象としたゲノムワイド相関解析 (GWAS) により多くの疾患感受性遺伝子が同定された。これまでに自然免疫にかかわるNOD2やATG16L1、サイトカインシグナル伝達に関与する遺伝子などがIBD疾患感受性遺伝子として挙げられているが、個々の遺伝子との関連は低く、各患者の特定のSNPを調べることが疾患の診断につながる可能性は低い^{6,7)}。環境的要因では、感染、盲腸摘出、ストレス、喫煙習慣、薬物など様々な事項との関連が報告されている。このような遺伝的要因と環境的要因は上皮のバリア機能を減弱させ、腸内細菌の組織内侵入を生じさせる⁷⁾。その結果、免疫細胞の活性化およびサイトカイン・ケモカインの産生が促進される。また、腸内細菌叢の異常 (dysbiosis) もIBDの特徴であるが、正確な役割はあまり明らかとはなっていない⁸⁾。

生物学的製剤である抗TNF α 抗体製剤の登場によりIBDの治療は大きく進歩した⁶⁾。現在では抗TNF α 抗体の他にも、新たな分子標的薬の開発が進んでいる。以前は5-アミノサリチル酸 (5-ASA) 製剤、ステロイド剤などがIBDの治療に使用され、CDではこれらに加えて栄養療法が基本的な治療法であった⁶⁾。しかし、現在では従来の治療法に加えて白血球除去療法、分子標的薬、免疫調節薬、UCにおいてはカルシニューリン阻害薬など、選択の幅が広がっている⁶⁾。また、治療薬の進歩とともに、IBDの治療概念の見直しが行われている。最近、IBDにおいて、長期予後改善のために具体的な目標を設定し治療を行う「Treat to Target」という概念が取り入れられた⁹⁾。これに伴い「臨床的寛解」という治療目標のみでなく、「内視鏡的寛解」に到達させることが重要であると認識されている⁹⁾。実際、UC患者およびCD患者において、粘膜治癒の達成により手術率の低下や予後の改善が報告されている¹⁰⁾。治療目標が高くなるほ

ど、内視鏡検査での疾患活動性の評価が重要となる。しかしながら、内視鏡検査による患者侵襲や医療費の観点から、頻回の検査は困難である¹⁰⁾。

Ⅲ. 便中カルプロテクチン検査の有用性

1. 特徴

便中カルプロテクチン検査はIBD患者の腸管炎症を反映し、本邦では2017年に保険適用を得た比較的新しい検査である。カルプロテクチンとは好中球、単球、マクロファージなどに多く見られるカルシウム結合タンパク質であり、これらの細胞質中のおよそ60%を占める¹¹⁾。腸管局所で炎症が生じると好中球を含む白血球が腸管壁を通じて管腔内に移行するため、糞便中のカルプロテクチン量を測定することで、腸管の炎症状態を把握することができる¹²⁾。したがって、血液検査と異なり全身炎症ではなく腸管局所の炎症を把握できること、内視鏡検査と異なり非侵襲的な検査であることから、他の検査と組み合わせることでより適切な疾患管理が可能となる。さらに、カルプロテクチンは非常に安定性が高いタンパク質であり、室温でも少なくとも3日間は安定であると報告されている¹³⁾。また、糞便中に比較的均一に存在していることから検体採取手技に依存した測定値のばらつきが小さく、非侵襲かつ取り扱いが簡便な、優れた炎症マーカーと考えられている^{10,14)}。

2. 使用目的

本邦で保険適用されている (2020年3月現在) 便中カルプロテクチン検査は、酵素免疫測定法 (ELISA法) と蛍光酵素標識免疫測定法 (FEIA法) の2種類の検査薬が存在する。本稿では、後者であるFEIA法の便中カルプロテクチン検査について言及する。FEIA法である「エリアTMカルプロテクチン2」(サーモフィッシュャーダイアグノスティックス社) は、全自動の専用機器を用いて測定可能な検査薬である。薬事承認された使用目的は、IBDの診断補助とUCの病態把握の補助である。

まず、IBDの診断補助について述べる。IBDと類似した症状の疾患群に機能性腸疾患があり、特に代表的なものは過敏性腸症候群 (IBS)

である。慢性的な消化器症状を呈する点、若年層で多く発症する点がIBDとIBSの類似点であるが、消化器に炎症を生じるIBDと異なりIBSでは器質的な要因がないにもかかわらず消化器症状を示す。IBSは人口の10-20%の有病率であると報告されており、潜在的な患者数は多い¹⁵⁾。IBDの鑑別には長期間を要することが稀ではなく、IBDの診断以前にIBSであると報告される症例がしばしば存在する¹⁶⁾。そのため、IBDの確定診断にはIBSとの鑑別も重要となるが、Tibble JAらは、IBS群と比較し、UC、CD患者の便中カルプロテクチン値は有意に高値を示すことを報告している¹⁷⁾。IBDの診断補助における便中カルプロテクチン検査の位置づけをFig. 1にて示す。慢性的な消化器症状のある患者で、感染性腸炎が否定された患者に、当検査は使用される。Van Rheenen PFらのシステマティックレビューでは、便中カルプロテクチン検査を用いることで、内視鏡検査が必要な患者をより適切にスクリーニングすることができ、成人における内視鏡検査を67%減らすことができると報告している¹⁸⁾ (Fig. 1)。

次にUCの病態把握について述べる。便中カルプロテクチン測定値はUC患者の内視鏡的活動度と相関するが¹⁹⁾、臨床的寛解期のUC患者

においては、臨床的再燃のおよそ8週間前に便中カルプロテクチンの値が上昇してくること²⁰⁾、便中カルプロテクチンの値により12か月後の再燃率が異なること²¹⁾、などといった再燃予測に関する報告もなされている。さらに、内視鏡的寛解期にもかかわらず組織学的炎症がある症例を、便中カルプロテクチンの値で見分けることができるといった報告もある²²⁾。また、Lasson Aらは、便中カルプロテクチン値を基準とした5-ASA製剤を用いた治療介入試験を行い、治療介入群では臨床的再燃率が低下したことを報告している²³⁾。このように、腸管炎症の評価に有用である当検査は、UCの疾患管理に貢献可能である (Fig. 2)。

3.「エリアTMカルプロテクチン2」の性能について
サーモフィッシュャーダイアグノスティックス社にて、「エリアTMカルプロテクチン2」の基本性能の検討を行った。

(1) 測定原理

本品の測定原理は蛍光酵素標識免疫測定法 (FEIA法) であり、標識体にはβ-ガラクトシダーゼを用いている。抗カルプロテクチンモノクローナル抗体結合ウエル上で検体中のカルプロテクチンを反応させ、「抗カルプロテクチン

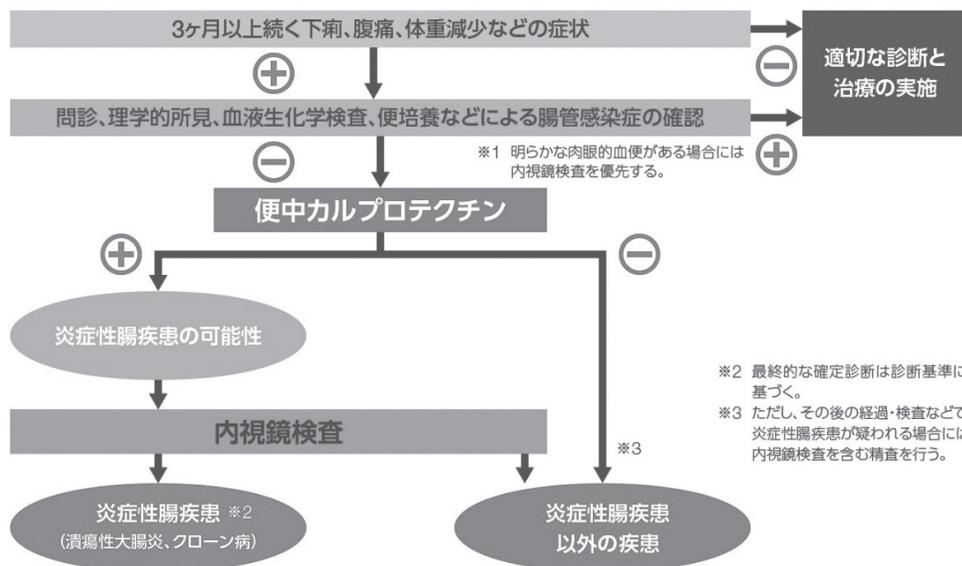
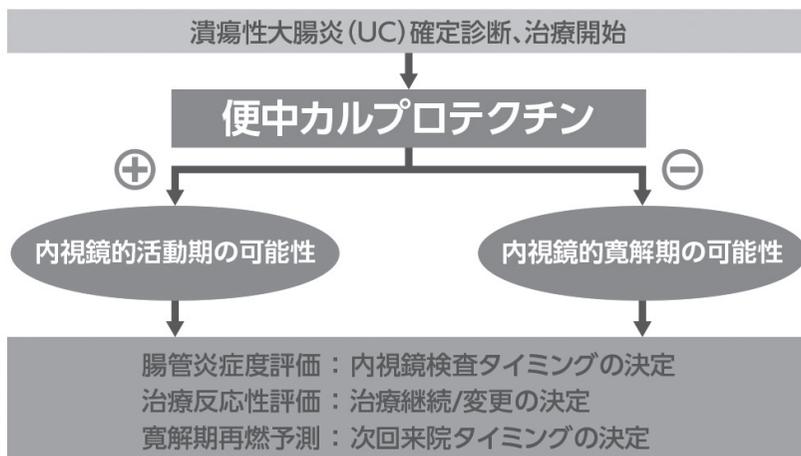


Fig. 1 便中カルプロテクチン検査によるIBDの診断補助 (社内資料)



監修：竹内 健 先生(東邦大学医療センター佐倉病院 消化器内科)

FCによりきめ細かいUC疾患マネジメントが可能となります

Fig. 2 便中カルプロテクチン検査によるUCの病態把握の補助

抗体-カルプロテクチン複合体」を形成させる。未反応カルプロテクチンおよびその他の検体中共存物質の洗浄除去後、酵素標識抗カルプロテクチン抗体を反応させる。さらに、未反応の酵素標識抗カルプロテクチン抗体を洗浄除去した後に基質液を加え、一定時間の反応後に得られた蛍光物質の量に依存した蛍光強度を測定する。同様の手順により濃度既知標準品を測定し、標準曲線を作成する。検体測定により得た蛍光強度を標準曲線と比較し、検体中のカルプロテクチン濃度を算出する。また、本品の測定範囲は3.8 ~ 6000 mg/kg (単位は便1 kgに対してのカルプロテクチン量) である。

(2) 同時再現性

濃度の異なる5検体を10重測定したところ、その平均値および変動係数は、14.8 mg/kg (12.6%)、55.0 mg/kg (5.47%)、199 mg/kg (5.53%)、1149 mg/kg (4.45%)、4568 mg/kg (3.84%) であった。

(3) 日差再現性

濃度の異なる5検体を4重測定にて5日測定したところ、その平均値および変動係数は、10.7 mg/kg (9.38%)、57.1 mg/kg (2.08%)、205 mg/kg (2.83%)、1093 mg/kg (2.21%)、4488 mg/kg (4.24%) であった。

(4) 希釈直線性

各検体 (SA-1 ~ 4) を検体希釈液で適宜希

釈し、各測定ポイントについて3重測定したところ、良好な直線性を示した。(Fig. 3)

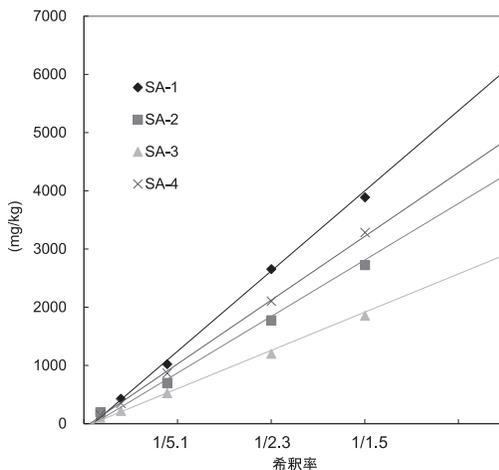


Fig. 3 希釈直線性

4. IBDの診断補助における臨床性能試験の結果

IBSおよびその他機能的腸疾患群 (以下IBS群) 35例、活動期IBD患者群91例 (UC: Partial Mayo合計スコア ≥ 3 かつMayo内視鏡サブスコア ≥ 2 の73例、CD: simple CDAI合計スコア ≥ 4 かつSES-CD合計スコア ≥ 3 の18例) を対象に「エリアTMカルプロテクチン2」を用いて便中カルプロテクチン値を測定したところ、IBS群およ

び活動期IBD群の中央値はそれぞれ24.5 mg/kg および5,774 mg/kgで、両群間には統計学的な有意差を認めた ($p<0.001$)。両群の測定値分布に基づき、50 mg/kgをカットオフと設定した場合、臨床的感度および特異度は100%および74%と良好な成績であり、さらにこの場合の陽性的中率および陰性的中率は91%および100%であった (Fig. 4)。

5. UCの病態把握における臨床性能試験の結果

UCの内視鏡的活動群69例 (Mayo内視鏡サブスコア ≥ 2)、非活動群81例 (Mayo内視鏡サブスコア ≤ 1)を対象に、「エリアTMカルプロテクチン2」を用いて便中カルプロテクチン値を測定したところ、内視鏡的活動群および非活動群の中央値はそれぞれ4,079 mg/kgおよび161 mg/kgで、両群間には統計学的な有意差を認めた ($p<0.001$)。300 mg/kgを判定基準と設定すると、臨床的感度および特異度は97%および64%、陽性的中率および陰性的中率は70%および96%であったことから、300 mg/kgは内視鏡的非活動状態の判定基準として妥当である (Fig. 5)。

Ⅳ. 便中カルプロテクチン検査の注意点

便中カルプロテクチン検査は、IBD以外の疾患でも上昇する。偽陽性となりうる要因には、感染性腸炎、癌、食物アレルギー、非ステロイド性抗炎症薬 (NSAIDs) やプロトンポンプ阻害剤 (PPI) などの薬剤が挙げられる¹⁷⁾。また、5歳未満の若年者でも便中カルプロテクチンの値が高くなるが、出生後の腸管免疫の発達や腸内細菌叢の形成に伴うものではないかと考察されている^{18,24)}。

Ⅴ. まとめ

IBD診療において「Treat to Target」という概念が取り入れられたことに伴い、疾患活動性のモニタリングをとおして、目的に応じた治療目標の達成程度の評価を行うことが必要となった⁶⁾。便中カルプロテクチン検査は、非侵襲的で簡便に腸管炎症状態を把握することができる、本邦では比較的新しい検査である。欧米での便中カルプロテクチン検査の報告は多数なされており¹⁰⁾、IOIBDやECCOによる報告でも有用性が示されている^{3,4)}。今後、便中カルプロテクチン検査が本邦でも浸透し、IBD診療に大きく貢献

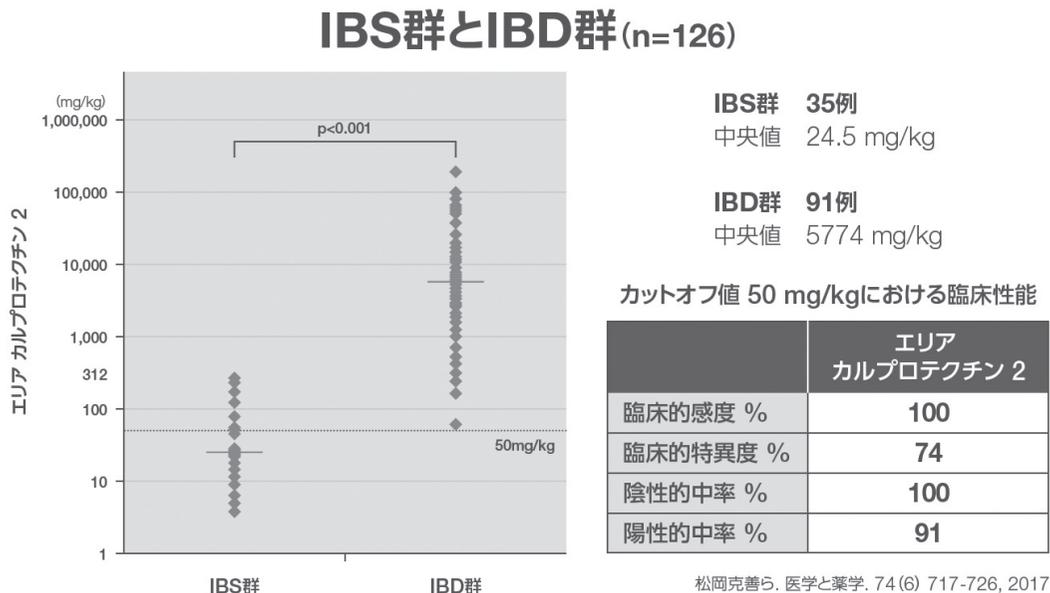


Fig. 4 IBS群と活動期IBD群における便中カルプロテクチン値の分布

UC内視鏡的非活動群と活動群(n=150)

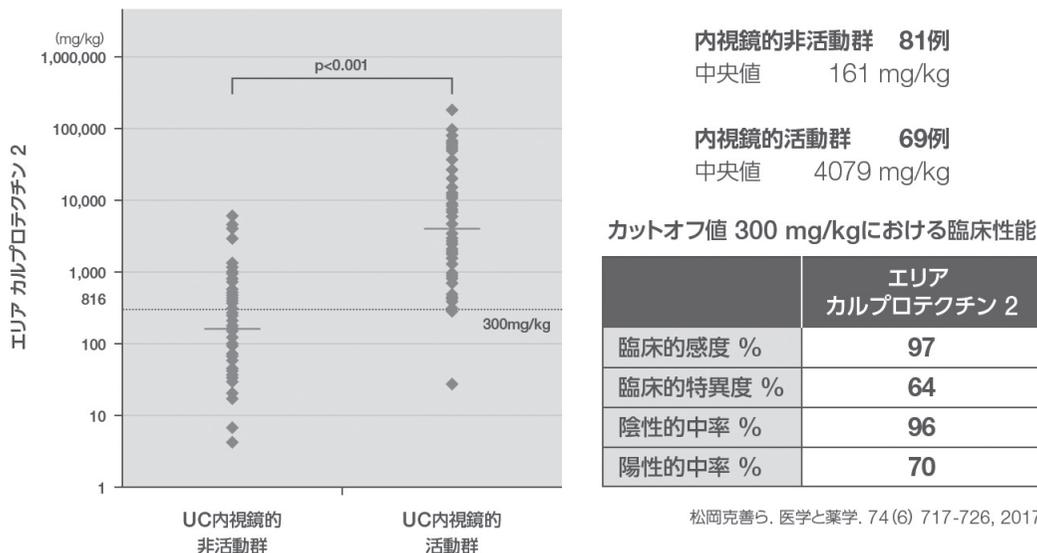


Fig. 5 UC内視鏡的非活動群と活動群における便中カルプロテクチン値の分布

していくことが望ましい。

文献

- 1) 炎症性腸疾患(IBD)診療ガイドライン 2016. 日本消化器病学会, 南江堂, 東京 (2016).
- 2) 西脇祐司 他: 潰瘍性大腸炎およびクローン病の有病者数推計に関する全国疫学調査. 難治性疾患の継続的な疫学データの収集・解析に関する研究 (H26-難治等 (難) -一般-089) 総合研究報告書 (2017).
- 3) Ungaro R, Colombel JF, Lisssoos T, Peyrin-Biroulet L: A Treat-to-Target Update in Ulcerative Colitis: A Systematic Review. *Am J Gastroenterol*, 114: 874-883, 2019.
- 4) Maaser C et al: ECCO-ESGAR Guideline for Diagnostic Assessment in IBD Part 1: Initial diagnosis, monitoring of known IBD, detection of complications. *J Crohns Colitis*, 13: 144-164, 2019.
- 5) 平成30年度 衛生行政報告例 特定医療費 (指定難病) 受給者証所持者数.
- 6) 炎症性腸疾患 (第2版) 病因解明と診断・治療の最新知見. 株式会社 日本臨床社, 7-70, 東京 (2018).
- 7) Neurath MF: Targeting immune cell circuits and trafficking in inflammatory bowel disease. *Nat Immunol*, 20: 970-979, 2019.
- 8) Caruso R, Lo BC, Núñez G: Host-microbiota interactions in inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol*, Jan 31. doi: 10.1038/s41577-019-0268-7. 2020.
- 9) Peyrin-Biroulet L et al: Selecting Therapeutic Targets in Inflammatory Bowel Disease (STRIDE): Determining Therapeutic Goals for Treat-to-Target. *Am J Gastroenterol*, 110: 1324-38, 2015.
- 10) IBD Research 2016 Vol.10 No.4, 株式会社 先端医学社, 6-17, 東京 (2016).
- 11) Røseth AG, Schmidt PN, Fagerhol MK: correlation between faecal excretion of indium-111-labelled granulocytes and calprotectin, a granulocyte marker protein, in patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol*, 34: 50-54, 1999.
- 12) Vermeire S, Van Assche G, Rutgeerts P: Laboratory markers in IBD: useful, magic, or unnecessary toys?. *Gut*, 55: 426-431, 2006.
- 13) Tøn H, Brandsnes, Dale S, Holtlund J, Skuibina E, Schjønsby H, John B: Improved assay for fecal calprotectin. *Clin Chim Acta*, 292: 41-54, 2000.
- 14) Røseth AG, Fagerhol MK, Aadland E, Schjønsby H: Assessment of the neutrophil dominating protein calprotectin in feces. A methodologic study. *Scand J Gastroenterol*, 27: 793-798, 1992.
- 15) Kubo M et al: Differences between risk factors among irritable bowel syndrome subtypes in Japanese adults. *Neurogastroenterol Motil*, 23: 249-254, 2011.
- 16) Vavricka SR et al: Systematic evaluation of risk factors for diagnostic delay in inflammatory bowel dis-

- ease. *Inflamm Bowel Dis*, 18: 496-505, 2012.
- 17) Tibble JA, Sigthorsson G, Foster R, Forgacs I, Bjarnason I: Use of surrogate markers of inflammation and Rome criteria to distinguish organic from nonorganic intestinal disease. *Gastroenterology*, 123: 450-460, 2002.
 - 18) van Rheenen PF, Van de Vijver E, Fidler V: Faecal calprotectin for screening of patients with suspected inflammatory bowel disease: diagnostic meta-analysis. *BMJ*, 15: 341:c3369, 2010.
 - 19) D'Haens G et al: Faecal calprotectin is a surrogate marker for endoscopic lesions in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*, 18: 2218-2224, 2012.
 - 20) Yamamoto T, Shimoyama T, Matsumoto K: Consecutive monitoring of faecal calprotectin during mesalazine suppository therapy for active rectal inflammation in ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther*, 42: 549-558, 2015.
 - 21) Tibble JA, Sigthorsson G, Bridger S, Fagerhol MK, Bjarnason I: Surrogate markers of intestinal inflammation are predictive of relapse in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, 119: 15-22, 2000.
 - 22) Guardiola J et al: Faecal level of calprotectin identifies histologic inflammation in patients with ulcerative colitis in clinical and endoscopic remission. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 12: 1865-1870, 2014.
 - 23) Lasso A, Öhman L, Stotzer PO, Isaksson S, Überbacher O, Ung KA, Strid H: Pharmacological intervention based on faecal calprotectin levels in patients with ulcerative colitis at high risk of a relapse: A prospective, randomized, controlled study. *United European Gastroenterol J*, 3: 72-79, 2015.
 - 24) Rugtveit J, Fagerhol MK: Age-Dependent Variations in Faecal Calprotectin Concentrations in Children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 34: 323-324, 2002.