

## 便中エラスターゼによる乳幼児の膵外分泌不全の診断

研究報告者 成瀬 達 みよし市民病院 院長

### 共同研究者

星野三生子（みよし市民病院小児科），若月 準（みよし市民病院小児科）  
伊藤 治（みよし市民病院消化器科），中島 守（みよし市民病院消化器科）  
木村 純（みよし市民病院消化器科），柴田時宗（みよし市民病院消化器科）  
近藤志保（名古屋大学大学院健康栄養医学），中莖みゆき（名古屋大学大学院健康栄養医学）  
山本明子（名古屋大学総合保健体育科学センター健康栄養医学），石黒 洋（名古屋大学総合保健体育科学センター）  
藤木理代（名古屋学芸大学管理栄養学部），北川元二（名古屋学芸大学管理栄養学部管理栄養学科）

### 【研究要旨】

便中エラスターゼは被験者の負担が全くないため、乳幼児でも測定が可能な膵外分泌機能検査であり、欧米では膵嚢胞線維症(CF)の膵外分泌不全の診断に用いられている。本法によりCF患者の膵外分泌機能を評価するため、1～6歳までの健常な保育園児における便中エラスターゼを測定した。103名の幼児の便中エラスターゼ中央値は544  $\mu\text{g/g}$ (最大値784～最小値174)であった。欧米人と同様に $>200 \mu\text{g/g}$ をカットオフ値とした場合、1名のみが異常低値を示した。便中エラスターゼは特異度の高い膵外分泌不全の診断法であり、幼児のCF患者における膵外分泌不全の診断が欧米人と同じ基準値で可能であると考えられた。

### A. 研究目的

膵嚢胞線維症(嚢胞性線維症CF)はcystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR)と命名されたクロライドイオンチャネルの遺伝子変異を原因とする常染色体劣性遺伝性疾患である<sup>1)</sup>。CFTR遺伝子変異によりCFTRの機能が障害されると、粘稠な分泌液のため消化管をはじめ膵臓の導管や気管支の閉塞が起りやすくなる。新生児では粘調な胎便により腸閉塞がおこる。膵導管は閉塞により嚢胞状に拡張し、膵外分泌不全となる。その結果、脂肪などの消化吸收障害が起きるため脂肪便が生じる。このため患者は栄養障害や発育障害となる。気道では、反復する慢性気管支炎、細気管支炎や副鼻腔炎がおきる。

CFの診断には膵外分泌機能の評価が必要である。CFは膵外分泌不全の有無によりPancreatic Insufficient(PI)とPancreatic sufficient(PS)に分類される。この区分は臨床的に重要で、一般にPIの患者はPSに比べクロライドイオンチャネル機能低下が著しいCFTR遺伝

子変異を伴っており、生命予後も不良である<sup>2,3,4)</sup>。わが国のCFの診断基準では、膵外分泌不全は、大量頻回の悪臭を伴う脂肪便を伴うか、またはPFD試験(BT-PABA試験)における尿中PABA排泄率や便中キモトリプシン活性の低下があることをもって診断することとなっている<sup>5)</sup>。ところが、便中キモトリプシン活性は検査試薬の販売が中止となった。また、PFD試験では検査薬を内服後、6時間にわたり蓄尿する必要があるため6歳以下の幼児に施行することは容易ではない。

膵腺房細胞から分泌されるエラスターゼは比較的安定な酵素で、消化管内で完全に分解されることはなく便中に排泄される<sup>6)</sup>。便中のエラスターゼの濃度は、膵外分泌機能を反映している<sup>7)</sup>。日本人の健常人および慢性膵炎や自己免疫性膵炎により高度の膵外分泌機能低下(セクレチン試験において液量、最高重炭酸塩濃度および総アミラーゼ排出量が低下)を有する患者における便中エラスターゼ試験の感度は、基準値を $>200 \mu\text{g/g}$ と設定すると、72.2%、特異

度は90.2%である<sup>8)</sup>。本法では軽度ないしは中等度の膵外分泌障害の診断はできないが、高度の膵外分泌を確実に捉えることが可能である。

便中エラスターゼの測定は被験者の負担が全くないため乳幼児でも測定が可能である。欧米ではCFの膵外分泌不全の診断に用いられている<sup>9,10)</sup>。しかし、日本人の幼児の便中エラスターゼ濃度については限られた情報しかなく<sup>8)</sup>、欧米や成人の基準値をそのまま用いて良いかは不明である。そこで今回、保護者の同意のもとに健康な幼児の便を採取してエラスターゼ濃度をenzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)法<sup>8,11)</sup>により測定し、小児における基準値を検討した。

## B. 研究方法

みよし市天王保育園および明知保育園の1歳から6歳までの園児で、文書にて保護者の同意を得た125名を対象とした。前日もしくは当日の朝、発熱や下痢等の症状がない状態での排便時に、保護者が約100 mgの検体を採取した。2012年12月10日から12月21日までの12日間に、103名(男61名、女42名)の検体が提出された。検体は保育園で毎朝回収して4°Cで保存し、みよし市訪問看護テーションのスタッフが午前中に回収して、測定まで-20°Cで保存した。便中エラスターゼの測定にはBIOSERV Diagnostics社のPancreatic Elastase ELISAキット(SK15)<sup>8,11)</sup>を用いた。図1に標準曲線を示す。標準検体1(126 μg/g)および標準検体2(177 μg/g)のCVはそれぞれ1.4%および7.9%

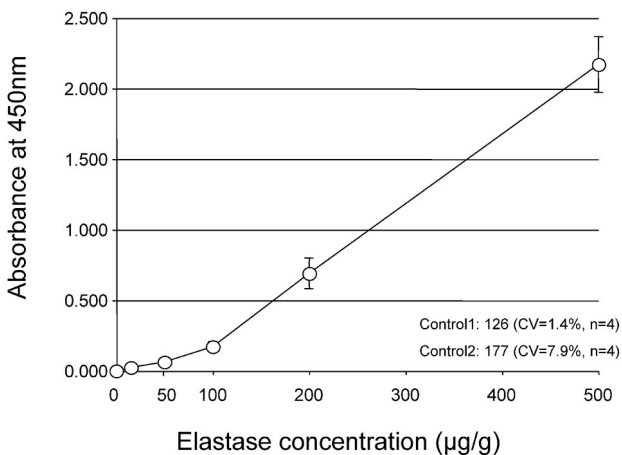


図1 Standard Curve of ELISA

(n=4)であった。測定は対で行い、結果は2つの平均値で示した。

(倫理面への配慮)

本研究はみよし市民病院倫理委員会の承認を受けた(2012年8月6日, 24み病第243号)。本研究に協力された保育園長に研究内容を文書および口頭で説明し、了解を得た。次に園長から保護者に口頭にて説明を行い、文書にて同意を示された保護者にのみ、検体採取を依頼した。本調査は通常の排便後に少量の便を採取するだけなので、身体への影響はない。また検体に付帯する情報は提供者の年齢、性、身長、体重のみであり、提供者の匿名性は守られている。

## C. 研究結果

便中エラスターゼの分布

図2に健常保育園児の便中エラスターゼの分布を示す。103名の幼児の中央値は544 μg/g(最大値784~最小値174)であった。男児(n=61)の中央値549(778~238)は女児(n=42)の値542(784~174)と差はなかった。幼児全体の平均値は517 μg/gであり、平均値-2SDの値は209 μg/gであった。

年齢と便中エラスターゼ

対象幼児の1歳ごとの年齢分布は、1歳1名、2歳5名、3歳12名、4歳30名、5歳34名、6

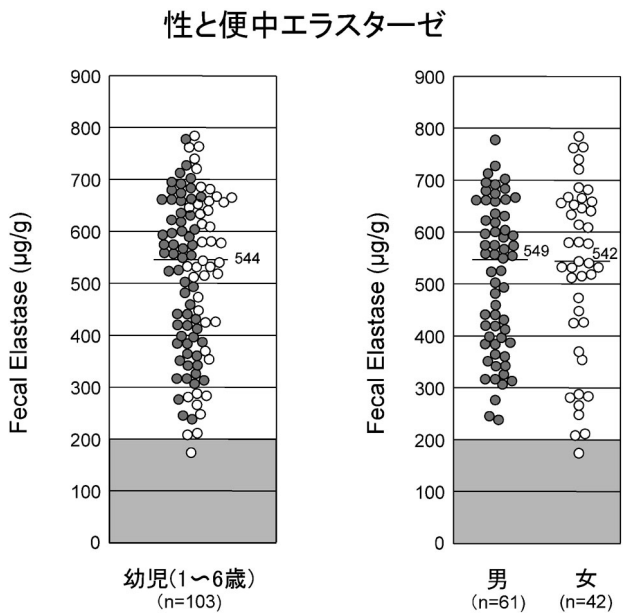


図2 性と便中エラスターゼ

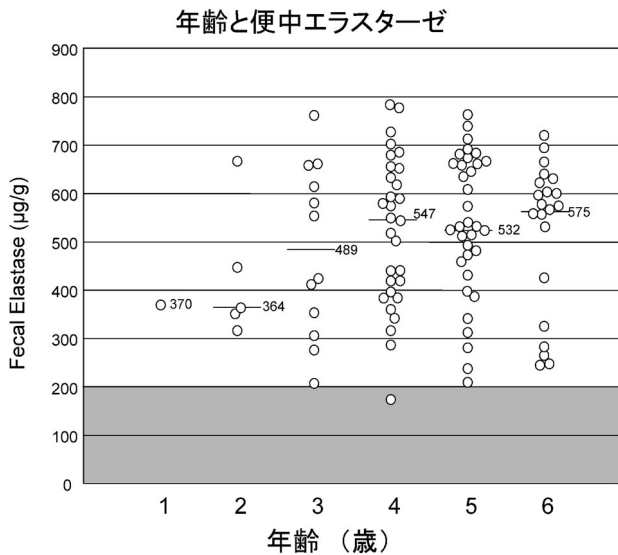


図3 年齢と便中エラスターゼ

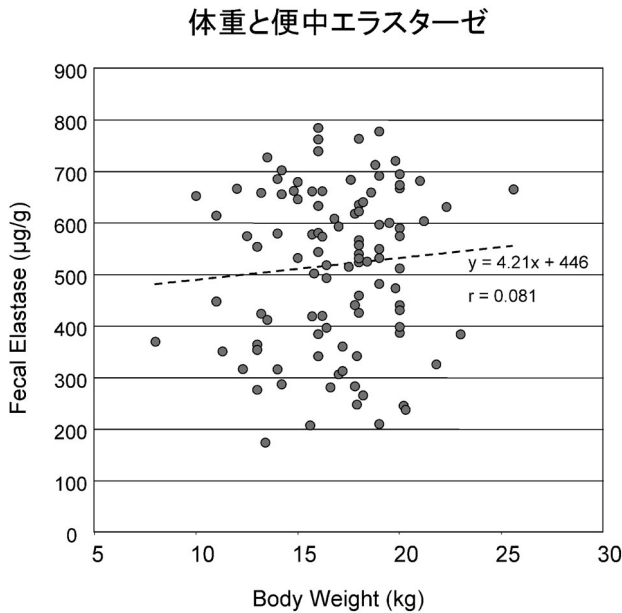


図4 体重と便中エラスターゼ

歳21名であった。図3は年齢別の便中エラスターゼの分布を示す。便中エラスターゼの中央値は3歳が489  $\mu\text{g/g}$ 、4歳は547  $\mu\text{g/g}$ 、5歳は532  $\mu\text{g/g}$ 、6歳575  $\mu\text{g/g}$ と3歳以上の幼児では大きな差はなく、分散もほぼ同じであった。検体数が少ないが、1歳児と2歳児の便中エラスターゼは3歳以上に比べ低い傾向を示した。

#### 身長・体重と便中エラスターゼ

身長 ( $R^2=0.004$ )、体重 ( $R^2=0.0066$ ) (図4)、Body Mass Index (BMI) ( $R^2=0.0012$ ) いずれも便中エラスターゼと有意の相関関係を認めなかった。

#### D. 考察

みよし市の2つの保育園の協力を得て、125名の保護者の同意を得ることができた。12日間の採取期間内に103名の便検体を得た。両保育園の園児、保護者ならびに職員の皆様のご協力に深謝したい。検体を提供された園児の男女比は約3:2で男児が多かった。これは両保育園の園児全体(194名)の男女比(56:44)を反映していると推定される。便中エラスターゼの中央値ならびに分散には男女差は認めなかった(図2)ので、性差はないと考えられる。従って、解析は男女をまとめて行った。

保育園児が対象であるので、3歳から6歳の幼児が94%を占めた。3歳児以上の便中エラスターゼ濃度の中央値(図3)は日本人の健常成人の値(544  $\mu\text{g/g}$ )に相当していた<sup>8)</sup>。身長、体重(図4)、BMIいずれも便中エラスターゼと有意の相関関係を認めなかったので、この年齢層では成人と同等の膵外分泌能があると推定される。全幼児の便中エラスターゼの平均値は517  $\mu\text{g/g}$ 、平均値-2標準偏差の値は209  $\mu\text{g/g}$ であり、これより低い値を示した幼児は2名(174と207  $\mu\text{g/g}$ )であった。成人や欧米人の基準値 > 200  $\mu\text{g/g}$  を正常の膵外分泌機能とした場合、異常低値を示した幼児は1名であった。本法は擬陽性が少なく、特異度の高い検査である。

一方、検体数は少ないが、1歳児と2歳児の便中エラスターゼは3歳児以上に比べ低い傾向を示した。以前に検討した0歳児と1歳児でも、便中エラスターゼの中央値は200~300  $\mu\text{g/g}$ と低めであった<sup>8)</sup>。しかし、約1年後に再検すると中央値は444  $\mu\text{g/g}$ と有意に増加していた。その理由として乳幼児では便の水分含量が多いので見かけ上の低値となることが考えられる。キットのマニュアルには下痢便しか得られない時には、検体が正常の便形状になるまで55°Cで湯煎する方法が述べられている。この温度ではエラスターゼの変性はないとされている。2歳以下で異常低値が観察された場合には1年後に再検して、原因が外分泌不全であるか、それとも希釈効果によるものであるか確認する必要がある。

膵外分泌不全を伴う CF は CFTR の機能が 1 %以下に低下していることが多く<sup>3,4)</sup>、重症の患者が多い。便中エラスターゼは少量の採便で簡単に膵外分泌不全が測定できるので、小児の CF における有用な検査法である。検査マニュアルの判定基準は、便中エラスターゼ < 100  $\mu\text{g/g}$  は高度の膵外分泌不全は、100–200  $\mu\text{g/g}$  は中等度の膵外分泌不全、正常は > 200  $\mu\text{g/g}$  となっているが、今後、わが国の CF 患者において検証する必要がある。

CF 患者では閉塞性呼吸障害や繰り返す気道感染に伴う咳のためエネルギー消費が大きい。このため間食を含め、頻回の食事摂取が推奨されている<sup>12)</sup>。ところが、膵外分泌不全を伴う CF では、食事の度に消化酵素を補充しないと多量の脂肪便が生じる<sup>1)</sup>。実際、膵嚢胞線維症全国疫学調査の二次調査の解析では、ほぼ全例が発育や栄養障害を示していた<sup>13)</sup>。18歳以上に達した成人10例でも BMI の中央値は 15.9 (13.5~18.5) と 9 名が BMI < 18 であった。医療上の必要性の高い未承認薬・適応外薬検討会議の結果を受けて高力価の消化酵素薬が承認されたので、少量の内服で十分な消化を得ることが可能になっている<sup>14)</sup>。今後、便中エラスターゼを測定することにより早期に膵外分泌不全の診断を行い、十分な消化酵素補充療法を行うことにより CF 患者の日常生活の質 (QOL) および栄養状態の改善が期待される。

## E. 結論

便中エラスターゼは簡便で特異度の高い膵外分泌不全の診断法である。小児の CF における膵外分泌不全の診断は、日本人の成人や欧米人の CF 患者と同じ基準値 > 200  $\mu\text{g/g}$  で可能であると考えられる。

## F. 参考文献

1. 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業 難治性膵疾患に関する調査研究班. 膵嚢胞線維症の診療の手引き (大槻眞, 成瀬達編). アークメディア 2008.
2. Kristidis P, Bozon D, Corey M, Markiewicz D, Rommens J, Tsui LC, Durie P. Genetic determi-

- nation of exocrine pancreatic function in cystic fibrosis. *Am J Hum Genet* 1992; 50: 1178–1184.
3. Role of CFTR in airway disease. Pilewski JM, Frizzell RA. *Physiol Rev.* 1999; 79 (Suppl 1): S215–55.
  4. Naruse S, Kitagawa M, Ishiguro H, Fujiki K, Hayakawa T. Cystic fibrosis and related diseases of the pancreas. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2002; 16: 511–526.
  5. 成瀬 達. 膵嚢胞線維症の診断基準. 膵嚢胞線維症の診療の手引き (大槻眞, 成瀬達 編). アークメディア 2008: 18–19.
  6. Sziegoleit A, Krause E, Klör HU, Kanacher L, Linder D. Elastase 1 and chymotrypsin B in pancreatic juice and feces. *Clin Biochem* 1989; 22: 85–89.
  7. Stein J, Jung M, Sziegoleit A, Zeuzem S, Caspary WF, Lembcke B. Immunoreactive elastase I: clinical evaluation of a new noninvasive test of pancreatic function. *Clin Chem* 1996; 42: 222–226.
  8. Naruse S, Ishiguro H, Ko SB, Yoshikawa T, Yamamoto T, Yamamoto A, Futakuchi S, Goto H, Saito Y, Takahashi S. Fecal pancreatic elastase: a reproducible marker for severe exocrine pancreatic insufficiency. *J Gastroenterol.* 2006; 41: 901–908.
  9. Cade A, Walters MP, McGinley N, Firth J, Brownlee KG, Conway SP, et al. Evaluation of fecal pancreatic elastase–1 as a measure of pancreatic exocrine function in children with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2000; 29: 172–176.
  10. Walkowiak J, Nousia-Arvanitakis S, Agguridaki C, Fotoulaki M, Strzykala K, Balassopoulou A, et al. Longitudinal follow-up of exocrine pancreatic function in pancreatic sufficient cystic fibrosis patients using the fecal elastase–1 test. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003; 36: 474–478.
  11. Hahn JU, Bochnig S, Kerner W, Koenig H, Sporleder B, Lankisch PG, et al. A new fecal elastase 1 test using polyclonal antibodies for the detection of exocrine pancreatic insufficiency. *Pancreas* 2005; 30: 189–191.

12. Stallings VA, Stark LJ, Robinson KA, Feranchak AP, Quinton H. Evidence-based practice recommendations for nutrition-related management of children and adults with cystic fibrosis and pancreatic insufficiency: results of a systematic review. J Am Diet Assoc. 2008; 108: 832-839.
13. 石黒 洋, 成瀬 達, 山本明子, 吉村邦彦, 辻一郎, 栗山進一, 菊田和宏, 下瀬川徹. 膵嚢胞線維症患者の栄養障害の実態と治療の現況. 厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)「難治性膵疾患に関する調査研究」平成23年度総括・分担研究報告書 2012: 0359-364.
14. 成瀬 達, 石黒 洋, 吉村邦彦, 辻一郎, 栗山進一, 下瀬川徹, 菊田和宏. 膵嚢胞線維症の未承認薬の使用状況 厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)「難治性膵疾患に関する調査研究」平成23年度総括・分担研究報告書 2012: 355-358.

#### G. 研究発表

1. 論文発表 該当なし
2. 学会発表 該当なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得 該当なし
2. 実用新案登録 該当なし
3. その他 該当なし