

# 潰瘍性大腸炎における Endotoxin Activity Assay (EAA)

清水 智治<sup>1)</sup>, 小幡 徹<sup>1)</sup>, 園田 寛道<sup>1)</sup>, 三宅 亨<sup>1)</sup>, 植木 智之<sup>1)</sup>,  
山口 剛<sup>1)</sup>, 飯田 洋也<sup>1)</sup>, 貝田佐知子<sup>1)</sup>, 竹林 克士<sup>1)</sup>, 目片 英治<sup>1)</sup>,  
遠藤 善裕<sup>2)</sup>, 谷 徹<sup>3)</sup>, 谷 眞至<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>滋賀医科大学外科学講座, <sup>2)</sup>同 臨床看護学講座, <sup>3)</sup>同 バイオメディカル・イノベーションセンター

## Endotoxin activity assay (EAA) in patients with ulcerative colitis

Tomoharu Shimizu<sup>1)</sup>, Toru Obata<sup>1)</sup>, Hiromichi Sonoda<sup>1)</sup>, Toru Miyake<sup>1)</sup>, Tomoyuki Ueki<sup>1)</sup>, Tsuyoshi Yamaguchi<sup>1)</sup>,  
Hiroya Iida<sup>1)</sup>, Sachiko Kaida<sup>1)</sup>, Katsushi Takebayashi<sup>1)</sup>, Eiji Mekata<sup>1)</sup>, Yoshihiro Endo<sup>2)</sup>, Tohru Tani<sup>3)</sup>, Masaji Tani<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Surgery, Shiga University of Medical Science

<sup>2)</sup>Department of Clinical Nursing, Shiga University of Medical Science

<sup>3)</sup>Biomedical Innovation Center, Shiga University of Medical Science

### Abstract

Ulcerative colitis (UC) is an idiopathic and chronic inflammatory disorder of the colonic mucosa. Damage to epithelial barrier function due to ulceration and colitis leads to increased permeability of the intestine. This barrier loss causes increased uptake of luminal antigens such as endotoxin (ET). We evaluated ET levels detected by Endotoxin activity assay (EAA) in patients with UC. We measured EAA 8 cases (refractory UC 6 and cancer/dysplasia UC 2) of UC required surgical treatments. Various clinicopathological parameters were reviewed. The severity of UC was evaluated by Seo's index. Pre-operative EAA was 0.14 in patients with cancer/dysplasia UC and 0.4 in patients with refractory UC. EAA levels increased according to severity of UC, mild 0.095, moderate 0.39, severe 0.42 without statistical significance. There was a significantly positive relationship between EAA and Seo's index (Spearman's rank correlation coefficient 0.8333,  $p=0.0102$ ). EAA appeared to be useful biomarker to evaluate patients' severity with UC. Large scale study need to clarify the significance of EAA in patients with UC.

Endotoxin and Innate Immunity 21 : 26~29, 2018

**Key words** : EAA, UC, 重症度, バイオマーカー, 好中球

### はじめに

潰瘍性大腸炎 (Ulcerative colitis : UC) は大腸の粘膜にびらんや潰瘍ができる原因不明の炎症性疾患である。大腸に広範囲の潰瘍性病変を形成して、出血などの症状を来す。大腸粘膜の荒廃により腸内細菌に含まれる ET が生体内へ流入してくる可能性が指摘されている。われわれは、ESP 法による ET 測定が UC 患者の重症度評価として利用できる可能性について報告した<sup>1)</sup>。ET の評価法の一つとして Endotoxin Activity Assay (EAA) がある。EAA はヒト好中球の ET に対する活性酸素産生能を測定する方法である<sup>2)</sup>。UC の病勢の進展には、活性化好中球が関与しており、顆粒球吸着療法が治療法として用いられている<sup>3)</sup>。今回、われわれは、

UC 患者の EAA の検討を行った。

### 1. EAA の測定原理

EAA は、全血を用いて血中の ET 活性を特異的なモノクローナル抗体で測定する試薬である。血中 ET と抗 LPS モノクローナル抗体が結合し免疫複合体が形成され、これに補体が結合しオプソニン化される。好中球はオプソニン化によって貪食されやすくなった免疫複合体を取り込むことが刺激となって活性酸素を産生する。産生された活性酸素は試薬に含まれるルミノールと反応し化学発光として検出される (図 1)。測定結果は、EAA は ET の存在により血中の好中球が産生する活性酸素の量を、好中球の活性酸素産生能の最大値に対する比として計算する。コントロール (Tubel) は

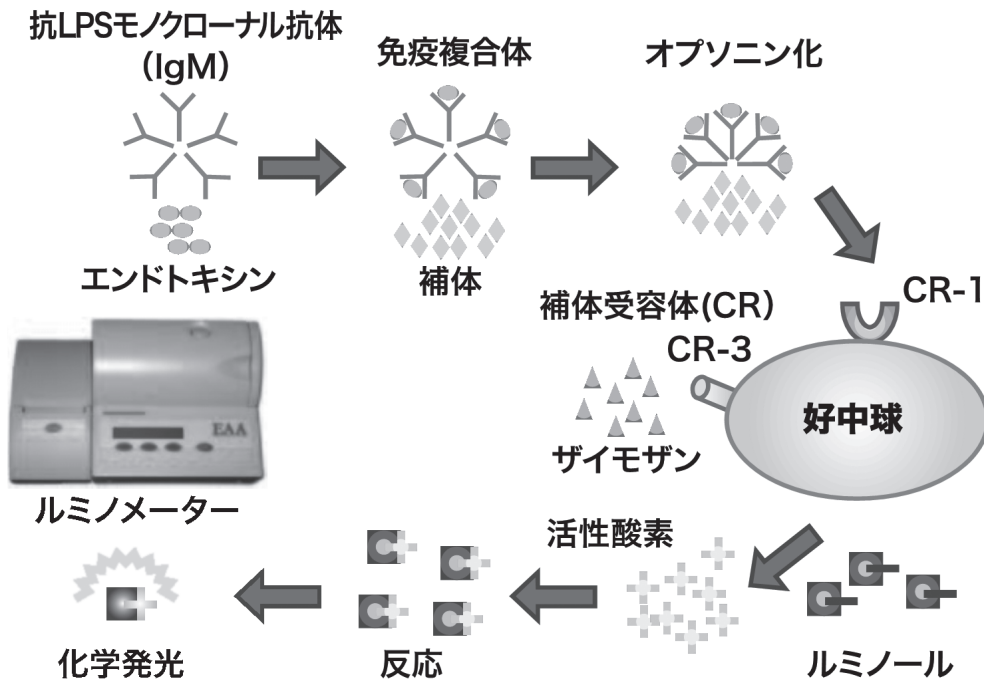


図 1 Endotoxin Activity Assay (EAA) の原理 (メーカー資料より引用)

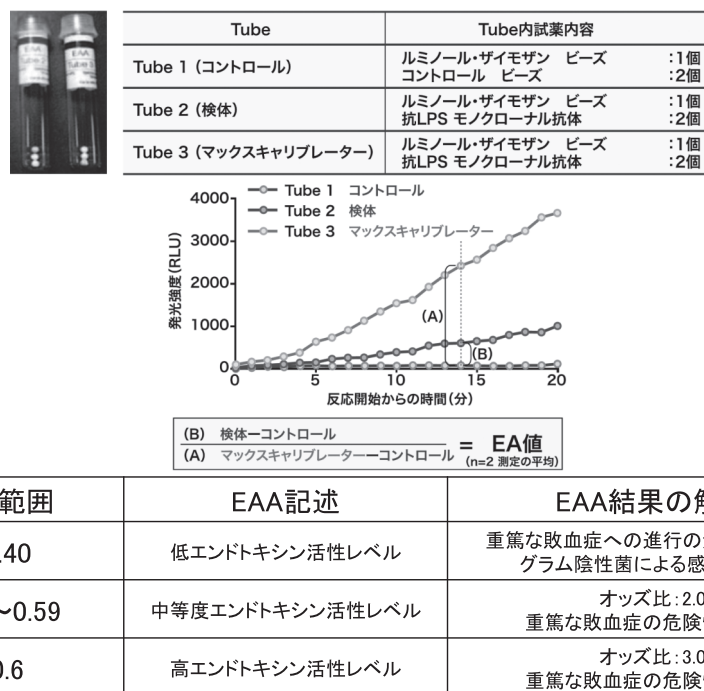


図 2 EAA の測定値の解釈 (メーカー資料より引用)

抗 ET 抗体を含まず、検体に含まれる好中球自体の非特異反応を測定し、これをベースラインとして示す。検体 (Tube2) には、抗 ET 抗体が加えられ検体中の ET 活性を測定する。マックスキャリブレーター (Tube3) には抗 ET 抗体のほかに過剰の ET が添加され、被験者の好中球が示す最大活性酸素産生反応を測定する。EA 値は検体 (Tube2) の発光値をマックス

キャリブレーター (Tube3) から得られる最大化学発光値で除した値として算出される (図 2)。

## 2. UC 患者での測定

外科治療を必要とした 8 人の UC 患者 (癌/Dysplasia 2 名, 難治例 6 例) にて術前の EAA の値と臨床病理学的因子, UC の患者重症度は Seo's index 150>軽症,

表 1 患者背景

	UC	
	癌/dysplasia	難治性
患者数	2	6
性別 (男:女)	2:0	3:3
年齢 (歳)	46.5 (36~57)	40.5 (23~52)
身長 (cm)	169 (164.3~175.2)	160 (154~170)
体重 (kg)	54.5 (51.3~57.7)	45.5 (39~59.9)
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	18.9 (18.8~19.0)	16.6 (15.8~23.5)
術前ヘモグロビン値 (g/dL)	13.4 (11.9~15.1)	10.4 (8.6~12.3)
術前アルブミン値 (g/dL)	3.65 (3.2~4.1)	3.0 (1.9~3.7)
PNI	41.4 (39.6~43.3)	34.3 (26.0~45.5)
Seo's index	138.6 (122.4~154.7)	223.2 (123.1~259)
赤沈値 (mm/h)	7.1 (4.2~10)	15.6 (9~77.5)
術前プレドニン投与量 (mg/day)	5 (0~10)	25 (10~30)
ステロイド使用	1/2	6/6
免疫調整薬	1/2	2/6
免疫抑制薬	1/2	6/6
分子標的薬	0/2	3/6
手術時間 (min)	515 (467~564)	495 (375~601)
出血量 (mL)	195.5 (134~257)	125 (84~755)
腹腔鏡下手術	2/2	6/6
術後在院日数 (日)	29 (25~33)	19 (12~134)
術後合併症	1/2	2/6

BMI : Body mass index, PNI : prognostic nutritional index

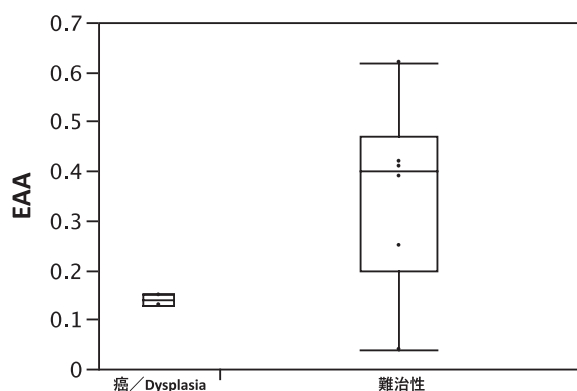


図 3 UC の手術適応と EAA

Wilcoxon 検定 : 癌/dysplasia vs. 難治性  $p = 0.1824$

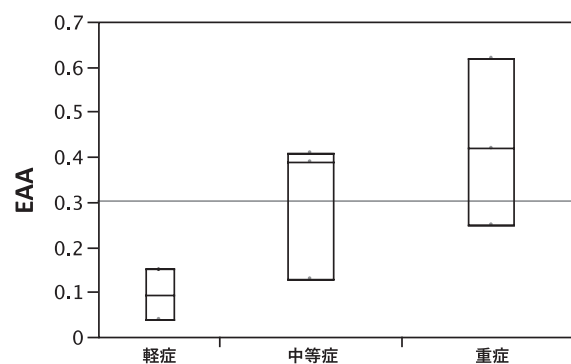


図 4 UC の重症度と EAA

Kruskal-Wallis 検定 :  $p = 0.1512$

150 ≤ 中等症, 220 ≤ 重症として評価した。

患者背景因子では, 難治性 UC 患者の方が BMI, 術前ヘモグロビン値, 術前アルブミン値, Prognostic nutritional index (PNI) が低値の傾向にあり, Seo's index

は高値の傾向にあった。ステロイドや免疫抑制薬, 分子標的薬の使用頻度も高かった (表 1)。

手術前 EAA 値 (中央値) は, 癌/Dysplasia 症例で 0.14, 難治例で 0.4 と難治例で高い傾向にあった (図 3)。また, UC の術前の重症度である Seo's index で分類す

ると術前 EAA 値は軽症 0.095, 中等症 0.39, 重症 0.42 と中等症以上で高値となる傾向にあった (図 4)。術前 EAA 値と Seo's index は有意な正の相関 (Spearman の順位相関係数 0.8333,  $p=0.0102$ ) を認めた。

### 3. UC と EAA

現在, EAA は, 国内では研究試薬として使用が可能である。これまでに UC 患者での EAA 活性の報告はされていない。EAA 自体は, ET を測定するために開発されたが, 患者の好中球活性を利用して測定することを原理としている。

UC の病態には, 好中球の異常活性化が関与しているとされており, 顆粒球吸着療法や白血球除去療法が UC の治療法の一つとして確立されている。EAA が UC の患者の状態を反映することは容易に想像される。今回の検討では症例数が少なく, 統計学的な有意差を検出することはできなかったが, 難治性 UC では EAA が高値を示し, 患者の重症度に応じて EAA の上昇傾向があった。今後, 症例を積み重ねることにより, UC のさまざまな治療効果の評価指標となる可能性が考えられる。

### おわりに

EAA と UC の関連の可能性について報告した。今後, 多数症例での検討を行うことが必要であると考ええる。

### 謝 辞

本研究の一部は JSPS 科研費 JP6K10536 の助成を受けたものです。

### 文 献

- 1) 清水智治, 小幡徹, 赤堀浩也, 他: 潰瘍性大腸炎手術症例での ESP 法でのエンドトキシン推移の検討. “エンドトキシン・自然免疫研究 20” 隅田泰生, 長岡功編. 医学図書出版, 2017, pp22-24
- 2) 池田寿昭, 小野聡, 須田慎吾, 他: ICU における重症患者の EAA (endotoxin activity assay) 値. “エンドトキシン・自然免疫研究 18” 長岡功, 谷徹, 横地高志編. 医学図書出版, 2015, pp47-54
- 3) 馬場重樹, 西田淳史, 森田幸弘, 他: 血球成分除去療法の臨床寛解予測因子に関する検討. 日アフエレス会誌 35: 98-100, 2016