

論文内容の要旨

早産児の便中 eosinophil-derived neurotoxin の経時的測定と、  
その影響因子解析

(塩畑 健, 小田翔一, 浮津真弓, 佐々木美香, 千田勝一)  
(岩手医学雑誌 66 巻, 4 号 平成 26 年 10 月掲載 (予定))

I. 研究目的

便中 eosinophil-derived neurotoxin (EDN) は, 成人や乳幼児の消化管食物アレルギーの非侵襲的マーカーとして注目されている. 本研究では, 早産児のミルクアレルギーの便中マーカーとして EDN の有用性を評価するのに先立ち, 便凍結保存までの時間による EDN 測定値への影響を検討した. また, 早産児の便中 EDN を経時的に測定し, この測定値への影響因子を解析した.

II. 研究対象及び方法

本研究は岩手医科大学の倫理委員会の承認を得て行なった.

1. 対象

便凍結保存までの時間による EDN 測定値への 2 つの方法による影響は, 当院に入院中で全身状態が安定している早産児と正産児の計 8 人ずつを対象とした. 便中 EDN の経時的測定と影響因子解析には, 当院 NICU へ入院し, ミルクアレルギーの症候がない早産児 57 人を対象とした.

2. 便の採取と保存

便は洗腸排便直後におむつ上でよく混ぜた後, 0.010~0.020g を保存チューブに採取した. 便凍結保存までの時間による影響は異なる対象について 2 つの方法で行った. 方法 1 は排便直後と, おむつ上に 2 時間置いた後に凍結保存したものとを比較し, 方法 2 は同一検体を 3 本の保存チューブに取り分け, 排便直後と, 室温に 2 日間および 7 日間置いた後に凍結保存したものとを比較した. 早産児の便中 EDN 値は, 生後 0-1 日, 2-3 日, 4-5 日, 1 週, 2 週, 4 週, 6 週, 8 週に採取してすぐに凍結保存してから測定した.

3. 便中 EDN の測定

便中 EDN は便, 尿, 血清, 血漿用 EDN ELISA kit (Immunodiagnostik, Bensheim, Germany) で測定した.

4. 影響因子解析

生後 0-1 日, 1 週, 2 週, 4 週, 8 週の便中 EDN に影響を及ぼすと考えられる因子を記録した. この時期は日常管理に必要な採血時期とした. 共通項目は在胎期間, 出生体重, small-for-dates 児, 性別, 両親の小児期アレルギー歴の有無とし, 生後時期別に母体・新生児情報と採血結果 (白血球数, 好酸球数, CRP 値) の約 20 項目を選択した.

5. 統計学的解析

2 群間の比較は Wilcoxon の符号付き順位検定で、多群間の比較は Wilcoxon の符号付き順位検定 (Bonferroni 補正) で行った。影響因子解析は便中 EDN 測定値を従属変数に、生後時期ごとの因子を独立変数とした重回帰分析で行なった。有意水準は  $p<0.05$  とし、数値は中央値 (範囲) で表した。

### III. 研究結果

#### 1. 便凍結保存までの時間による EDN 測定値への影響

方法 1 の便中 EDN 値は排便直後が 630.9ng/g (111.8~2324.3), おむつ上に 2 時間置いた後が 757.8ng/g (160.4~2511.8) ( $p=0.401$ ), 方法 2 の便中 EDN は排便直後が 788.4ng/g (102.1~1,524.2), 室温に 2 日間および 7 日間置いた後がそれぞれ 548.4ng/g (145.8~1903.3), 471.6ng/g (205.7~1,565.9) ( $p=0.325$ ) であり、群間で有意差を認めなかった。しかし、個々の検体の測定値は一定でなかった。

#### 2. 早産児の便中 EDN の経時的測定と影響因子解析

早産児の便中 EDN は生後 0-1 日が 851.1ng/g (112.7~9,043.5), 2-3 日が 577.8ng/g (0~4,076.2), 4-5 日が 463.4ng/g (55.9~2,472.8), 1 週が 477.8ng/g (0~3,733.5), 2 週が 631.0ng/g (0~3,534.8), 4 週が 734.7ng/g (0~6,566.3), 6 週が 874.6ng/g (0~3,982.2), 8 週が 919.6ng/g (134.3~6,060.4) であった。この値は生後 1 週まで有意差がなく、その後は 1 週よりも 6 週 ( $p<0.001$ ) と 8 週 ( $p<0.001$ ) で、また 2 週よりも 8 週 ( $p=0.001$ ) で有意に高かった。便中 EDN は生後 1 週の母乳栄養と有意な負の関連が認められた ( $R^2=0.323$ ,  $p<0.001$ )。

### IV. 結 語

早産児の便中 EDN 測定値は、便を常温に置いても 7 日後まで有意な変化を認めなかったが、個々の検体では一定でなかった。生後時期別の便中 EDN 測定値は分布範囲が大きかったが、早産児の消化管アレルギー検査の参照値として使用できると考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

### 論文審査担当者

主査 教授 松本 主之 (内科学講座：消化器内科消化管分野)

副査 教授 山内 広平 (内科学講座：呼吸器・アレルギー・膠原病内科分野)

副査 教授 福島 明宗 (臨床遺伝学科)

消化管食物アレルギーの便中バイオマーカーとして、好酸球顆粒由来蛋白である eosinophil-derived neurotoxin (EDN) が注目されている。本論文の目的は、早産児を対象とし便中 EDN の標準値を確立すること、および消化管食物アレルギー非発症例において便中 EDN 濃度に影響を与える要因を明らかにすることである。岩手医科大学 NICU 入院の早産児 8 例を対象とし、種々の採便方法で採取した便中 EDN を測定し、採便環境が結果に与える影響を検討した。次に、早産児 57 例を対象とし、出生 8 週間後までの便中 EDN の経時的推移と測定値に影響を及ぼす臨床的要因を検討した。採便法の影響として、排便直後の便、および 2 時間放置した便の間、および排便直後、2 日後、および 7 日後に冷凍した便の間で測定値に差はなかった。経時的推移の検討では、便中 EDN が出生 1 週間後より上昇し、4 週間後にピークとなった。出生 1 週間後の便中 EDN 濃度に影響を与えた要因として、母乳栄養の有無が抽出された。

本論文は、乳幼児における消化管食物アレルギーにおけるバイオマーカーとしての便中 EDN の標準値を明らかにし、今後の臨床応用の可能性を示唆する貴重な研究報告といえる。学位に値する論文である。

## 試験・試問の結果の要旨

乳・幼児期における好酸球性消化管障害の分類と便中バイオマーカーの関係、EDN の測定法、データ解析における統計学的手法、結果の解釈について試問を行い、適切な回答を得た。学位に値する学識を有していると考ええる。

## 参考論文

- 1) 東日本大震災が気仙医療圏の小児医療に与えた影響とこれからの課題(林 祐子, 他 7 名と共著)  
岩手県立病院医学会雑誌, 51 巻, 2 号(2011): p87-92.
- 2) 早産児の便中 calprotectin の経時的測定とその影響因子解析(浮津真弓, 他 3 名と共著)  
岩手医学雑誌, 64 巻, 4 号(2012): p247-253.