

氏名	まきた へいし 牧田 英士
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	乙第 819号
学位授与年月日	令和 4年 2月 25日
学位授与の要件	自治医科大学学位規定第4条第3項該当
学位論文名	新生児 food protein-induced enterocolitis syndrome(FPIES)におけるメトヘモグロビン測定の有用性に関する研究
論文審査委員	(委員長) 教授 河野 由美 (委員) 教授 嶋田 明 教授 熊谷 秀規 教授 吉原 重美

論文内容の要旨

1 研究目的

Food protein-induced enterocolitis syndrome(FPIES)は嘔吐や下痢などの消化器症状のみを呈する IgE 非依存性のアレルギー性疾患である。FPIES は、症状による診断基準を満たす、もしくは食物経口負荷試験の陽性判定により診断される。牛乳蛋白による FPIES は新生児期や乳児期早期に発症することが多いが、その時期は消化管機能の未熟性による一過性の嘔吐症や先天性の消化管の器質的疾患など、鑑別すべき疾患が多い。また、IgE 依存性の食物アレルギーにおける抗原特異的 IgE 抗体価のような疾患特異的な検体検査がないため、早期の診断は難しい。FPIES の診断が遅れた場合には繰り返す消化器症状で全身状態が悪化する危険があり、一方で FPIES ではない乳児を FPIES と誤診して食事制限を行うことは栄養状態の悪化のリスクがある。以上の理由により、FPIES の早期診断が重要である。

FPIES の重症例で、メトヘモグロビン血症を合併したという報告がいくつかあるが、メトヘモグロビン血症の症状を有さない FPIES 症例群全体のメトヘモグロビン (MHb) 値を評価した報告はない。FPIES 症例の急性期の MHb 値が高値となる傾向がみられるのであれば、MHb 測定が FPIES の診断に有用であると言える。

今回我々は、新生児期発症の FPIES 症例について、入院中に測定した MHb 値を後方視的に評価し、FPIES 診断における MHb 測定の有用性について検討した。

2 研究方法

2010年4月から2018年11月の期間に、嘔吐を主訴に入院した FPIES の新生児 11 例 (FPIES 群) と他の消化器疾患の新生児 139 例 (対照群)、計 150 例を対象とし、後ろ向き観察研究を行った。患者背景として、性別、在胎週数、出生体重、発症日齢、入院期間、血便の有無、嘔吐出現時のバイタルサイン (体温、心拍数、呼吸数、血圧、経皮的動脈血酸素飽和度)、最終診断病名、メトヘモグロビン血症の家族歴の有無を評価した。血液検査については、MHb 値 (血液ガス分析の際に測定された MHb 値 (%) のうち、消化器症状発症時から 48 時間後までの期間の最高値)、pH、HCO₃⁻、CRP を評価した。患者背景、発症時のバイタルサイン、血液検査データを後方視的に評

価し、FPIES 群と非 FPIES 群の比較検討を行った。

MHb 値と他の検査データについて、FPIES 群と対照群で比較検討を行い、FPIES 診断予測に有用かどうかを評価した。2 群間の比較は、連続変数の場合は Mann-Whitney U 検定、名義変数(比率)の場合には Fisher の正確検定を行った。p<0.05 を有意と定義した。

2 群間で有意差を認めた検査項目について、FPIES と他疾患の判別を指標として Receiver operating characteristic (ROC)分析を行い、ROC 曲線下の面積(Area under the curve, AUC)の比較、カットオフ値での感度、特異度を求めた。

3 研究成果

FPIES 群は 11 例全例が牛乳蛋白(普通ミルク)による FPIES だった。非 FPIES 群 139 例のうち 36 例は器質的疾患であり、その内訳は、新生児メレナ 15 例、Hirschsprung 病 5 例(そのうち鬱滞性腸炎合併は 1 例)、中腸軸捻転症 4 例、食道閉鎖症 3 例、肥厚性幽門狭窄症 2 例、十二指腸狭窄 2 例、十二指腸閉鎖症・回腸閉鎖症・特発性胃破裂・胃軸捻転症・壊死性腸炎が各 1 例だった。103 例は血液検査や超音波検査、X 線検査で異常所見を認めず、数日で嘔吐症状は軽快したため未熟性が原因と考えられる、一過性の特発性嘔吐症であった。

FPIES 群、非 FPIES 群の患者背景と発症時のバイタルサインの比較においては、FPIES 群は非 FPIES 群に比べて発症時日齢が高く(p<0.001)、血便を呈する症例が多く(p<0.001)、入院期間が長かった(p<0.001)。嘔吐症状出現時のバイタルサインに 2 群間の有意差はなかった。全症例でメトヘモグロビン血症の家族歴はなかった。

血液検査については、MHb(%)の中央値(範囲)は FPIES 群 1.1(0.6-10.9)、非 FPIES 群 0.6(0.3-1.2)で、FPIES 群が有意に高かった(p<0.001)。pH、HCO₃⁻、CRP は 2 群間で有意差はなかった。FPIES と他疾患の判別を指標とした、MHb(%)の ROC 分析では、AUC は 0.885 (95%CI 0.758-1)で、カットオフ値 1.0 (Youden index) のとき、特異度 97.1%、感度 72.7%であった。

4 考察

FPIES は嘔吐や下痢といった消化器症状のみを呈する IgE 非依存性のアレルギー性疾患で、Major criterion (被疑食物摂取の 1-4 時間後に嘔吐があり、IgE 依存性アレルギーの様な皮膚・呼吸器症状を伴わない)に加えて、Minor criteria (同一の被疑食物摂取後の頻回嘔吐が 2 回以上、著明な活気低下、皮膚蒼白、救急受診が必要、24 時間以内の下痢、輸液が必要、低体温、低血圧、別の食物摂取から 1-4 時間後の頻回嘔吐)を 3 項目以上満たす場合に診断確定となる。症状や原因抗原が不明確な場合には食物経口負荷試験が推奨されているが、負荷試験により重度の症状を誘発するリスクもある。検体検査によって FPIES である可能性が高いと事前に予測できれば、食物経口負荷試験による症状誘発のリスクが推定できるが、現時点では疾患特異的な検体検査が確立されておらず、食物経口負荷試験以外の検査による FPIES の診断は困難とされている。

メトヘモグロビン血症を合併した FPIES 重症例の報告があるため、我々はメトヘモグロビン血症の症状がない場合にも FPIES 症例は MHb 値がわずかに上昇するという仮説を立て、本研究を行った。その結果、FPIES の新生児は他の消化器疾患の新生児と比較して、嘔吐後の MHb 値が有意に高かったため、MHb 測定は FPIES 診断において有用であると考えられた。

新生児期はそれ以後よりも MHb 値が上昇しやすいとされており、軽微な病態の変化を MHb

値として鋭敏に反映する可能性がある。そのため、新生児期の方がそれ以降の時期よりも、FPIES 診断における MHb 測定の有用が高いと推測された。

ただし、本研究の FPIES 症例は重症例のみで軽症例は含まれず、また MHb 値が上昇しない症例もあったため、MHb 値が正常でも FPIES の除外はできないと考えられる。

5 結果

新生児期発症の FPIES 症例は、嘔吐後の MHb が他の消化器疾患症例と比べて有意に高かった。さらなる研究が必要ではあるが、嘔吐後の MHb 値を評価することによる FPIES の早期診断が期待される。

論文審査の結果の要旨

学位論文の概要

申請者牧田英士氏の論文「新生児 food protein-induced enterocolitis syndrome (FPIES)診断におけるメトヘモグロビン測定の有用性に関する研究」は、新生児期や乳児期早期に発症し、鑑別疾患が多く早期診断が困難なことが多い FPIES の早期診断に、血液ガス分析の際に同時測定ができるメトヘモグロビン(MHb)値が有用であることを示した。嘔吐を主訴に入院した FPIES の新生児 11 例 (FPIES 群) と他の消化器疾患の新生児 139 例 (対照群) の計 150 例において、MHb(%) の中央値(範囲)は FPIES 群 1.1(0.6-10.9)、非 FPIES 群 0.6(0.3-1.2)と FPIES 群が有意に高かった。MHb 値(%)の ROC 分析では、AUC は 0.885 (95%CI 0.758-1)で、カットオフ値 1.0 (Youden index) のとき、特異度 97.1%、感度 72.7%であった。以上から新生児期発症の FPIES の早期診断に MHb 測定が有用であることを明らかにした。

評価

FPIES は、嘔吐や下痢などの消化器症状のみを呈する IgE 非依存性のアレルギー性疾患で、確定診断は症状改善後の食物経口負荷試験で行われることが多い。牛乳蛋白による FPIES は新生児期や乳児期早期に発症することが多く、嘔吐や下痢などの消化器症状は、一過性の特発性嘔吐症の他、先天性消化管異常などの多くの疾患との鑑別が必要である。確定診断で行う経口負荷試験は、症状が消失してから時間をあけて行うことが必要で、診断までに時間がかかり、早期の確定診断は困難である。そのため、本論文で示した FPIES と他の疾患とを早期に鑑別できるバイオマーカーの同定は、本疾患の早期診断・治療介入という点で有意義である。

これまでに、FPIES で MHb 値が高値となった症例の報告はあるが、FPIES 診断群と対照群とで MHb 値を比較した報告はなく、本論文で初めて有意差があることが示された。申請者は、新生児集中治療室で治療をうける新生児で血液ガス分析を行う際に、分析器により MHb 値がリアルタイムに同時測定されることに着目し、FPIES 群と対照群を後方視的に比較した。日常診療で得られるデータを活用して、FPIES 早期診断のバイオマーカーとしての有用性を探索した独創的な研究といえる。

改訂の指導内容

FPIES 群の MHb 高値の機序の考察について、申請者が述べた「結腸内での腸内嫌気性菌による硝酸塩が亜硝酸塩に還元され腸管上皮から血中に流入し Hb が酸化され MHb が上昇する」という機序だけでは説明できないことを審査で指摘された。また、FPIES 群の診断について、より詳しく説明する必要があること、FPIES に関連する他の検査結果の記載とそれらの MHb 値との関連についても記載するように指摘された。指導内容に対し、適切に訂正されたことを確認した。

学位論文としての判断

申請者牧田英士氏の論文審査は合格と判定した。

MHb 値の新生児 FPIES 早期診断のバイオマーカーとしての有用性を科学的に明らかにした本論文の内容は、学問的意義、新規性、独創性の点から学位論文としてふさわしいと判断した。

試問の結果の要旨

発表内容

申請者牧田英士氏は、「新生児 food protein-induced enterocolitis syndrome (FPIES)診断におけるメトヘモグロビン測定の有用性に関する研究」についてスライドを使って発表した。まず、FPIES の概念、診断方法、診断上の問題点から、本研究における仮説「メトヘモグロビン(MHb)血症の症状がない場合にも FPIES 症例は MHb 値が上昇する」にいたった理由を示した。研究対象は、新生児の FPIES 群と、嘔吐で入院した FPIES 以外の消化器疾患と診断された新生児の非 FPIES 群とした。MHb 値は診療で用いる血液ガス分析の際に分光光度計法により測定したものをを用いた。結果は、まず FPIES 群の診断と非 FPIES 群の疾患を示し、患者背景と発症時の比較を表で示した。FPIES 群は非 FPIES 群に比べて発症時日齢が高く、血便を呈する症例が多く、入院期間が長かった。血液検査結果の比較では、MHb 値(%)の中央値(範囲)が FPIES 群 1.1(0.6-10.9)、非 FPIES 群 0.6(0.3-1.2)で、FPIES 群が有意に高値であることを図で示した。FPIES と他疾患の判別を指標とした、MHb(%)の ROC 分析の結果、ROC 曲線下の AUC は 0.885 (95%CI 0.758-1)と大きく、カットオフ値 1.0 (Youden index) のとき、特異度 97.1%、感度 72.7%であることを図表で示した。考察では、MHb 値が高値となる機序について、文献を交えて二つの機序を述べた。1 つ目は、敗血症や著明なアシドーシスによる MHb 血症のように、全身状態不良時に体の細胞内から大量の一酸化窒素(NO)が血中に放出され、NO によりヘモグロビンが酸化され MHb 濃度が上昇するというもの、2 つ目は、腸炎によって腸管内で上昇した硝酸塩が腸内嫌気性菌により亜硝酸塩に還元され腸管上皮へ取りこまれ、血液中に流入した亜硝酸塩によりヘモグロビンが酸化され MHb 濃度が上昇するという機序である。本研究の FPIES 群での MHb の上昇の機序は主に後者が考えられると述べた。研究の限界について、4 点をあげた。対照の非 FPIES 群に感染性胃腸炎の症例がないこと、先天性 MHb 血症に関する検査が行われていないこと、後方視的研究であり、MHb 測定の時期や回数が決まっていなかったこと、入院を要する重症例のみで軽症例は含まれていないことである。これらの点から FPIES の軽症例も含めた前方視的研究への発展が望まれるとした。最後に、結論を述べて発表を終了した。発表時間は予定通

りの 30 分間であった。

審査員の質疑の内容

審査員 A 1) 対象は 2010 年 4 月からの入院例であるが、MHb の高値と FPIES の関係について仮説をたてたのはいつ頃か。2) MHb の高値の機序について、嘔吐のみの例では病変の主座は小腸と考えられるが、嫌気性菌が関与するのは大腸ではないか、また非 FPIES 群の中には腸炎を起こす疾患もあるがそれでは高値になっていないのはなぜか。3) 日齢 69 発症例は早産症例か。

審査員 B 1) FPIES 例で後に IgE が上昇する例はあったか、2) HbF の影響をみるために測定したか。3) 腸内細菌叢を解析したか。4) 年長児の例では MHb 値は上昇するのか。

審査員 C 1) 重症例と非重症例、あるいは嘔吐のみと嘔吐+血便の例など FPIES の症状と MHb 値に関連はあるか。2) 診断のための他の検査 (ALST、便中好酸球、便中 EDM、TALC など) を行ったか。その結果と MHb 値に関連があったか。

審査員 D 1) FPIES 群の 6 例の診断について、具体的に記載した方がよい。症状と MHb 値の関連で、図 1 の FPIES 群で明らかに高値の 2 例はどのような症状だったのか。

申請者の応答とそれに対する評価

1) 本研究にいたる仮説を立てたのは、申請者が新生児医療に関わって診断や検査を行っている時期であり、今回は後方視的研究となった。

2) MHb の高値の機序について、確かに嫌気性菌が関与して亜硝酸塩による Hb の酸化が起こる機序だけでは説明がつかない点があるが、対象例は敗血症や著明なアシドーシスがなく、NO が血中に放出されるような病態ではなかったことから、こちらの機序が主となると考えた。

3) FPIES 群の重症度や症状と MHb 値に明らかな関係はなかった。より詳細な結果については追加する。

4) 図 1 の FPIES 群で高値の 2 例は、特別な重症例ではなかった。

以上が申請者の答えで、質問に対して的確に回答した。検討されていない点については、再検討して追加すると答えた。

試問の可否の判断結果及びその理由

申請者牧田英士の試問は合格と判定した。

学位論文の内容を時間内で適切に発表し、審査者の質問には的確に回答し、修正が必要な点についても真摯に受け答えたことから学位論文の試問として問題はなく、合格と判断した。