

TABLE E2. (Continued)

Probe ID	Gene symbol	Gene name	Fold change (pre-IVIG/ post-IVIG)	Fold change (pre-IVIG/ febrile control)	Expression in granulocytes		
					Promyelocyte	Myelocyte	Band
214746_s_at	EZI	Likely ortholog of mouse zinc finger protein EZI	2.3	2.3			+
1552274_at	PXK	PX domain containing serine/ threonine kinase	2.3	2.4			
207224_s_at	SIGLEC7	Sialic acid binding Ig-like lectin 7	2.3	2.2			+
201118_at	PGD	Phosphogluconate dehydrogenase	2.3	2.9			
211974_x_at	RBPJ	Recombining binding protein suppressor of hairless	2.3	2.2			
201702_s_at	PPP1R10	Protein phosphatase 1, regulatory subunit 10	2.3	2.4			
224818_at	SORT1	Sortilin 1	2.3	2.2		+	
1557797_a_at	—	cDNA clone IMAGE:2952955	2.3	2.0			
236338_at	—	Transcribed sequences	2.3	5.9			
225673_at	MYADM	Myeloid-associated differentiation marker	2.3	2.6			
208594_x_at	LILRA6	Leukocyte immunoglobulin- like receptor, subfamily B, member 6	2.3	2.2			
214366_s_at	ALOX5	Arachidonate 5-lipoxygenase	2.3	2.3		+	+
202897_at	SIRPA	Src homology region-2 domain phosphatase substrate-1	2.3	2.0			
239809_at	—	Transcribed sequences	2.3	3.4			
217489_s_at	IL6R	IL-6 receptor	2.2	2.8		+	+
243099_at	NFAM1	Nuclear factor of activated T cells activation molecule 1	2.2	2.2			+
224991_at	CMIP	c-Maf-inducing protein	2.2	2.2		+	+
32091_at	—	KIAA0446 gene product	2.2	2.2			+
232500_at	C20orf74	Chromosome 20 open reading frame 74	2.2	2.2			
203175_at	RHOG	ras homolog gene family, member G (p G)	2.2	2.7			
213926_s_at	HRB	HIV-1 Rev binding protein	2.2	2.0		+	
208637_x_at	ACTN1	Actinin, $\alpha$ 1	2.2	2.5			
240271_at	—	cDNA clone DKFZp566P1724	2.2	2.1			
201389_at	ITGA5	Integrin, $\alpha$ 5 (fibronectin receptor, $\alpha$ polypeptide)	2.2	2.7			+
211299_s_at	FLOT2	Flotillin 2	2.1	2.1		+	+
225530_at	MOBK2A	MOB1, Mps One Binder kinase activator-like 2A (yeast)	2.1	2.0			
200678_x_at	GRN	Granulin	2.1	2.0			
1554952_s_at	NALP12	NACHT, leucine rich repeat and PYD containing 12	2.1	2.7			+
204789_at	FMNL1	Formin-like 1	2.1	2.3		+	+
1559502_s_at	LRRC25	Leucine-rich repeat containing 25	2.1	2.4			
212152_x_at	ARID1A	AT rich interactive domain 1A	2.1	2.0			
226076_s_at	MBD6	Methyl-CpG binding domain protein 6	2.1	2.6			+
204445_s_at	ALOX5	Arachidonate 5-lipoxygenase	2.1	2.0		+	+
212136_at	ATP2B4	ATPase, Ca <sup>++</sup> transporting, plasma membrane 4	2.1	2.1	+		
212014_x_at	CD44	CD44 antigen	2.1	2.1		+	+
225499_at	—	cDNA: FLJ22541	2.1	2.1			
205645_at	REPS2	v-ral simian leukemia viral oncogene homolog binding protein 1 associated Eps domain containing 2	2.1	2.2			+
223014_at	UBE2R2	Ubiquitin-conjugating enzyme E2R 2	2.1	2.1		+	+
213400_s_at	TBL1X	Transducin ( $\beta$ )-like 1X-linked	2.1	2.5			+

(Continued)

TABLE E2. (Continued)

Probe ID	Gene symbol	Gene name	Fold change (pre-IVIG/ post-IVIG)	Fold change (pre-IVIG/ febrile control)	Expression in granulocytes		
					Promyelocyte	Myelocyte	Band
227184_at	—	Hypothetical protein FLJ13213	2.1	2.2			+
225282_at	SMAP1L	Hypothetical protein AL133206	2.0	2.3			+
218023_s_at	FAM53C	Chromosome 5 open reading frame 6	2.0	2.0			+
228460_at	ZNF319	Zinc finger protein 319	2.0	2.4			
226080_at	SSH2	Slingshot 2	2.0	2.2			+
234196_at	—	cDNA: FLJ21377	2.0	2.4			
222413_s_at	MLL3	Myeloid/lymphoid or mixed- lineage leukemia 3	2.0	2.2			
240862_at	RASGRP4	RAS guanyl releasing protein 4	2.0	2.8			
200986_at	SERPING1	Serine proteinase inhibitor, clade G (C1 inhibitor)	4.7	0.5	+		+
238439_at	ANKRD22	Clone IMAGE:2456964	3.7	0.5			
235139_at	GNMT2	Guanine nucleotide binding protein (G protein), $\gamma$ - transducing activity polypeptide 2	3.5	0.5			
238581_at	GBP5	Guanylate binding protein 5	2.7	0.4			+
239196_at	ANKRD22	Clone IMAGE:2456964	2.7	0.4			
231426_at	—	Chromosome 9 open reading frame 71	2.3	0.4			
208716_s_at	TMCO1	Putative membrane protein	0.5	0.3			
226682_at	LOC283666	Hypothetical protein LOC283666	0.5	0.3			
213677_s_at	PMS1	PMS1 postmeiotic segregation increased 1	0.5	0.3	+		
201398_s_at	TRAM1	Translocation associated membrane protein 1	0.5	0.3	+		
211469_s_at	CXCR6	Chemokine (C-X-C motif) receptor 6	0.5	0.1			
239835_at	KBTBD8	T-cell activation kelch repeat protein	0.5	0.3	+		
208838_at	CAND1	TATA-binding protein- interacting protein	0.5	0.3	+		
221253_s_at	TXNDC5	Thioredoxin domain containing 5	0.5	0.3	+		
202503_s_at	KIAA0101	KIAA0101 gene product	0.5	0.2	+		
218738_s_at	RNF138	Ring finger protein 138	0.5	0.3	+		
219600_s_at	TMEM50B	Chromosome 21 open reading frame 4	0.5	0.2	+		
220547_s_at	FAM35A	Hypothetical protein MGC5560	0.5	0.3			
224740_at	—	CDNA clone IMAGE:5270526	0.5	0.3			
206666_at	GZMK	Granzyme K	0.5	0.1	+		
203494_s_at	CEP57	Transloklin (KIAA0092)	0.5	0.3	+		
202558_s_at	STCH	Stress 70 protein chaperone, microsome-associated, 60kDa	0.5	0.3	+		
205692_s_at	CD38	CD38 antigen	0.5	0.2	+		
234863_x_at	FBXO5	F-box only protein 5	0.5	0.2	+		
202780_at	OXCT1	3-Oxoacid CoA transferase	0.5	0.3	+		
227418_at	KIAA1826	KIAA1826 protein	0.5	0.3	+		
222500_at	PP1L1	Peptidylprolyl isomerase-like 1	0.4	0.2	+		
202502_at	ACADM	Acyl-coenzyme A dehydrogenase	0.4	0.3	+		
208309_s_at	MALT1	Mucosa associated lymphoid tissue lymphoma translocation gene 1	0.4	0.3	+		
223167_s_at	USP25	Ubiquitin specific protease 25	0.4	0.2			
201764_at	—	Hypothetical protein MGC5576	0.4	0.3	+		
219276_x_at	C9orf82	Chromosome 9 open reading frame 82	0.4	0.3			

(Continued)

TABLE E2. (Continued)

Probe ID	Gene symbol	Gene name	Fold change (pre-IVIG/ post-IVIG)	Fold change (pre-IVIG/ febrile control)	Expression in granulocytes		
					Promyelocyte	Myelocyte	Band
217779_s_at	PNRC2	Proline-rich nuclear receptor coactivator 2	0.4	0.3	+		
223270_at	CTDSPL2	Hypothetical protein HSPC129	0.4	0.2	+		
201889_at	FAM3C	Family with sequence similarity 3, member C	0.4	0.3	+		
212721_at	SFRS12	Splicing factor, arginine/serine- rich 12	0.4	0.3	+		
222550_at	ARMC1	Armadillo repeat containing protein	0.4	0.3	+		
236280_at	—	Transcribed sequences	0.4	0.3			
210116_at	SH2D1A	SH2 domain protein 1A, Duncan disease	0.4	0.3		+	+
208079_s_at	AURKA	STK15, serine/threonine kinase 15	0.4	0.2	+		
224661_at	PIGY	Hypothetical protein MGC14156	0.4	0.2			
218889_at	NOC3L	AD24 protein	0.4	0.2			
202950_at	CRYZ	Crystallin, zeta (quinone reductase)	0.4	0.2	+		
214093_s_at	FUBP1	Far upstream element (FUSE) binding protein 1	0.4	0.3			
207165_at	HMMR	Hyaluronan-mediated motility receptor	0.4	0.1	+		
201663_s_at	SMC4	SMC4 structural maintenance of chromosomes 4-like 1	0.4	0.2	+		
221122_at	HRASLS2	HRAS-like suppressor 2	0.4	0.1			+
224628_at	C2orf30	XTP3-transactivated protein B	0.4	0.2	+		
203362_s_at	MAD2L1	MAD2 mitotic arrest deficient- like 1	0.4	0.2	+		
222572_at	PPM2C	Protein phosphatase 2C	0.4	0.2			
235170_at	ZNF92	Zinc finger protein 92 (HTF12)	0.4	0.2			
222631_at	PI4K2B	cDNA clone IMAGE:2295962	0.4	0.2			
228032_s_at	—	cDNA FLJ36663	0.4	0.2			
228323_at	CASC5	AF15q14 protein	0.4	0.1	+		
1558972_s_at	C6orf190	cDNA clone IMAGE:5764019	0.4	0.2			
226254_s_at	KIAA1430	KIAA1430 protein	0.4	0.2	+		
212592_at	IGJ	IgJ polypeptide	0.4	0.2	+		
227674_at	ZNF585A	Zinc finger protein 585A	0.4	0.1			
203593_at	CD2AP	CD2-associated protein	0.3	0.1	+		
206641_at	TNFRSF17	TNF receptor superfamily, member 17	0.3	0.1			
211211_x_at	SH2D1A	SH2 domain protein 1A	0.3	0.1		+	+
230165_at	SGOL2	Tripin	0.3	0.1			
231576_at	ETNK1	Clone IMAGE:4798349	0.3	0.1			
223262_s_at	FGFR1OP2	DKFZp564O1863 protein	0.3	0.2			
201890_at	RRM2	cDNA clone IMAGE:3905920	0.3	0.1	+		
202557_at	STCH	Stress 70 protein chaperone, microsome-associated, 60kDa	0.3	0.1	+		
222502_s_at	UFM1	Hypothetical protein BM-002	0.3	0.1			
228377_at	KLHL14	KIAA1384 protein	0.3	0.1			
213599_at	OIP5	Opa-interacting protein 5	0.3	0.1	+		
235117_at	CHAC2	Clone MGC:61554 IMAGE:6174351	0.3	0.1			
211210_x_at	SH2D1A	SH2 domain protein 1A	0.2	0.1		+	+
222805_at	MANEA	Mannosidase, endo- $\alpha$	0.2	0.1			
219918_s_at	ASPM	asp (Abnormal spindle)-like, microcephaly associated	0.2	0.1	+		

## IVIG 不応に対してシクロスポリンを使用した9例の検討

Cyclosporine therapy for nine cases of immunoglobulin-resistant Kawasaki disease

○鈴木 啓之<sup>1)</sup>、渋谷 昌一<sup>1)</sup>、武内 崇<sup>1)</sup>、末永 智浩<sup>2)</sup>、南 孝臣<sup>3)</sup>、吉川 徳茂<sup>1)</sup>

1)和歌山県立医科大学 小児科、2)日高総合病院 小児科、3)紀南病院 小児科

○Hiroyuki Suzuki<sup>1)</sup>, Shoichi Shibuta<sup>1)</sup>, Takashi Takeuchi<sup>1)</sup>, Tomohiro Suenaga<sup>2)</sup>,  
Takaomi Minami<sup>3)</sup>, Norishige Yoshikawa<sup>1)</sup>

1) Wakayama Medical University, Dept of Pediatrics

2) Hidaka General Hospital, Dept of Pediatrics

3) Kinan Hospital, Dept of Pediatrics

【背景】川崎病治療の最大の問題点は、標準治療であるγグロブリン大量療法 (IVIG) 不応例の存在である。冠動脈病変 (CAL) 発症のリスクが高い不応例への治療法は、まだ確立されていない。近年、免疫抑制剤が不応例への治療の一つとして注目されている。今回、IVIG 不応の9例に対してシクロスポリン (CyA) を使用したので報告する。

【対象】平成17年9月から平成20年5月までに和歌山県立医科大学に入院し、IVIG 不応で、CyA 使用の同意を得た9例である。年齢は11か月～9歳7か月、男女比は6:3であった。最初の3例は、IVIG2回不応でステロイドパルス後に発熱が再燃し、CyA 開始時に既にCALを発症していた。他の6例はIVIG 不応を確認直後に使用した。

【方法】CyA は経口剤 (ネオーラル) を用い、4mg/kg/日、分2食前で服用。血中トラフ値は80-120μg/ml を目標とした。9例のCyA 開始前後の発熱、炎症反応、CyA 血中濃度、CAL 発症を検討した。

【結果】CyA 開始病日は、最初の3例は26,20,17病日で、他の6例は、7、8、9病日それぞれ2例であった。発熱は、9例中7例がCyA 開始後24-36時間以内に消失した。3-4日要した2例も、36-48時間内に37℃台となった。CRP は、CyA 開始直前7-25mg/dl であり、開始後急速に低下したが、開始後10-14日の時点で陰性 (0.4mg/dl 未満) になったのは3例で、6例は1-3mg/dl であり、陰性化に時間を要した。CyA のトラフ値は、目標濃度を達成できたが、炎症の強い時期に高く、その後低下傾向を認めた。CyA による有害事象は認めなかった。最初の3例はCAL 発症後の使用であり、他の6例ではCyA 開始時に拡張を認めた1例のみCAL を発症した。

【まとめ】不応例に対する治療としてCyA は有用な治療の可能性がある。

## 川崎病と遺伝子

尾内善広 羽田 明

## Susceptibility genes for Kawasaki disease

Yoshihiro Onouchi, Akira Hata

Laboratory for Gastrointestinal Diseases, SNP Research Center, RIKEN

## Abstract

Although the etiology of Kawasaki disease (KD) still remains unknown, the epidemiologic findings have suggested the existence of genetic factors of KD. To identify susceptibility genes for KD, we conducted affected sibpair analysis using 78 Japanese KD families and found positive linkage signal in 10 chromosomal loci. We are now performing linkage disequilibrium mapping using single nucleotide polymorphisms (SNPs). In one locus we identified SNPs significantly associated with KD in the Japanese and also in the U.S. population. We hope that our ongoing investigation of the function of the SNP(s) and the gene in which these SNPs locate will lead further understanding of the disease and pave the way to a new therapeutic strategy.

**Key words:** Kawasaki disease, single nucleotide polymorphisms, affected sibpair analysis, association study

## はじめに

川崎病は何らかの外的要因と遺伝的要因によって起こる多因子疾患であると考えられる。外的要因としては感染因子のほかに生活習慣や環境の変化などが含まれるが、これまでのところ明確に特定されたものはない。川崎病の過去の流行や現在までの発生率の上昇傾向を考慮すれば、この外的要因の探索は予防や治療の観点から極めて重要であるといえる。一方、遺伝的要因に関しては疫学上の事実からその存在は指摘されてきたが、こちらについても現在までのところ複数の人種や民族で関連が確かめられたものはない。これら外的要因と遺伝的要因は互い

に相互作用することによって川崎病の病因を形成していると考えられるため、確実な要因を一つとらえることができればその他の要因を見いだす大きな足がかりになることが期待できる。

## 1. 多因子遺伝病としての川崎病

川崎病に遺伝的要因が関与すると考えられる理由の一つは川崎病の発生がアジア人、特に日本人に多いことである。Deanら<sup>1</sup>がハワイ・オアフ島で1978年の2-6月にかけて行った調査によると、期間内に発生した27例の川崎病患者のうち20人が日本人、3人が中国人であったのに対し白人は1人であった。その日系人のほとんどはアメリカ人と変わらない生活習慣を身

独立行政法人理化学研究所 横浜研究所 遺伝子多型研究センター 消化器系疾患関連遺伝子研究チーム

につけている3-4世であり、また当時のオアフ島住民に占める割合が日系人25%、白人30%であったということも考えると、民族の遺伝的背景が川崎病の罹患しやすさ(感受性)に何らかの影響を与えていることが強く示唆される。

次いで川崎病に家族内発症が比較的多いことがあげられる。川崎病の罹患率は我が国において0-4歳人口10万対およそ100-150であるが、川崎病既往者の同胞は一般の罹患率に比し約10倍高率に川崎病を発症する(同胞再発危険率:  $\lambda_s=10$ )ことがわかっている<sup>2</sup>。同胞再発危険率が高いほど遺伝的要因の影響を強く受けていることを意味するが、例えばインスリン依存性糖尿病ではこの数値が15倍、気管支喘息では3-5倍であることを見れば、現在世界中で盛んに遺伝学的解析が進められている疾患と比べて引けを取らない数値であるといえる。更に近年川崎病既往者が子をもつ親の世代が増えてきたことに伴い、川崎病の親子例も期待値より多くみられることもわかってきた<sup>3</sup>。

## 2. 病態からみた川崎病の遺伝的要因の候補

川崎病は発熱、発疹などを主徴とする炎症性疾患である。血液検査上CRPの上昇、赤沈亢進や好中球の増加といった炎症マーカーの上昇が目立つ。古川ら<sup>4</sup>、Mauryら<sup>5</sup>やLinら<sup>6</sup>による免疫学的な研究から川崎病の急性期に腫瘍壊死因子(TNF)- $\alpha$ の産生が増加していることが見いだされた。TNF- $\alpha$ はマクロファージ(単球)から分泌され好中球や血管内皮細胞に作用し活性化を促す炎症性サイトカインであるが、川崎病の急性期に高値をとり、亜急性期から回復期にかけて低下を示す点や急性期におけるTNF- $\alpha$ の高値と冠動脈合併症のリスクとが相関する点から、川崎病の病態に深く関与していると考えられている。また近年抗TNF- $\alpha$ 抗体製剤の川崎病に対する有効性も報告されている<sup>7</sup>。

TNF- $\alpha$ の産生能や機能に影響を及ぼす遺伝子多型は川崎病の感受性や冠動脈合併症の有力なリスクファクターになり得ると思われる。TNF- $\alpha$ そのもののみならずTNF- $\alpha$ の作用経

路における上流、下流の既知、および未知の遺伝子多型についても検討が待たれる。

著者らはTNFスーパーファミリーであるCD40リガンド(CD40L)に着目し、同遺伝子内の多型と川崎病との相関について検討を行った<sup>8</sup>。CD40Lは主にT細胞上に発現し、B細胞上のCD40分子と結合することによってその分化・増殖、免疫グロブリンのクラススイッチを促す作用を有するほか、活性化した血小板から分泌され、血管内皮細胞を刺激し種々のケモカインや接着分子の発現を促し、炎症細胞による内皮障害の促進に作用することが知られている。Wangら<sup>9</sup>は川崎病の急性期にCD40LのCD4<sup>+</sup>T細胞上における発現が亢進しており、冠動脈病変(CAI)の発生した患者でCD4<sup>+</sup>T細胞におけるCD40L陽性率が有意に高いことを示した。

CD40L遺伝子は次項に述べる罹患同胞対解析において連鎖を示したX染色体長腕上の領域に存在することから、極めて有力な候補遺伝子であると考えられた。著者らはCD40L遺伝子領域約12kbの多型検索を行い、合計22カ所の一塩基多型(single nucleotide polymorphisms: SNPs)を見いだした(図1)<sup>8</sup>。川崎病427人、対照476人による相関解析の結果、第4イントロンに位置するSNP04が川崎病男児においてCALの発生リスクと相関を示すことがわかった。興味深いことにこのSNPは白人集団においては非常に頻度が低く、日本人(アジア人)特異的な遺伝的背景である可能性が示唆された(表1)<sup>8</sup>。

## 3. 川崎病の遺伝的要因のゲノムワイドな検索

近年多因子遺伝病の感受性遺伝子に関する研究は飛躍的に進歩しており、関節リウマチ、Crohn病をはじめ従来遺伝研究者の悪夢とさえいわれたインスリン非依存性糖尿病など様々な疾患について、非常に再現性の高い知見が相次いで報告されている。これらの疾患の感受性に関与する遺伝子の多くは、機能が未知であるなどの理由から疾患の候補遺伝子として予想することは難しいものであった。これらの成果から、川崎病のように特に原因や病態に未知な部分か

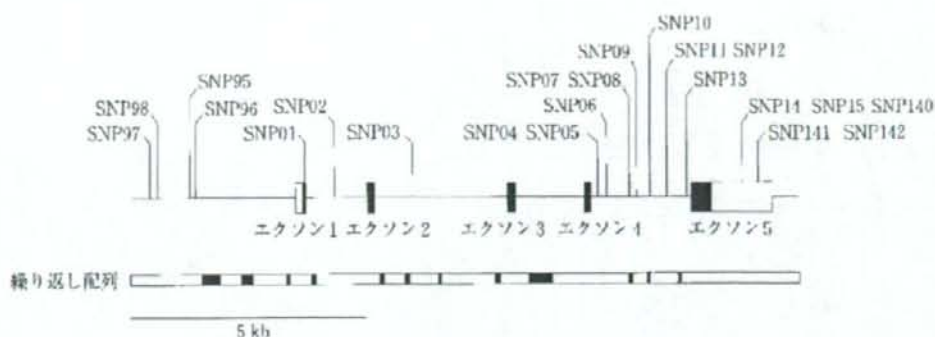


図1 CD40L遺伝子の構造とSNPの位置

表1 日本人川崎病男児，対照および白人一般集団におけるSNP04のアレル頻度比較

	A(%)	G(%)	オッズ比 (95%信頼限界)	p
川崎病男児 CAL(+)	43(74.1)	15(25.9)		
川崎病男児 CAL(-)	167(85.6)	28(14.4)	2.1(1.02-4.21)*	0.041
対照	626(84.9)	111(15.1)	2.0(1.07-3.66)*	0.030
白人	144(99.3)	1(0.7)		

\* CAL陽性の川崎病男児との比較

多く候補遺伝子の設定が難しい疾患に関しては、ゲノムワイドに感受性遺伝子を検索することが有効であり、かつ今後主流となっていくことが予想される。

著者らは現在このような考え方に立ち、川崎病の感受性遺伝子のゲノムワイドな検索を行っている。その戦略の第一歩として同胞罹患例を対象とした川崎病感受性遺伝子の染色体上へのマッピングを行い、引き続き連鎖の認められた領域内におけるSNPを用いた連鎖不平衡マッピングの手法で感受性遺伝子と責任多型の特定を試みている。

#### a. 罹患同胞対解析

連鎖解析とは染色体上にある幾つかの対立遺伝子が親から子に独立にではなく組み合わせ(ハプロタイプ)として一緒に伝わる現象(連鎖)を利用して、家系内で疾患と近似した伝わり方をするハプロタイプを見つけ出すことにより疾患の原因遺伝子を染色体上の領域に局限化(マップ)する方法である。著者らが採用した罹患同胞対解析(affected sibpair analysis)では川崎

病に罹患した同胞間で共有される対立遺伝子の多寡により連鎖の有無を調べる(図2)。大きな家系を対象にする必要がなく、罹患した同胞のみあるいはその両親を合わせた家族単位の検体収集で施行でき、多因子疾患の解析に多用されてきた。

著者らは自治医科大学公衆衛生学教室、川崎病研究センターの協力ののもと、1997年より川崎病同胞罹患例のDNA検体の収集を行い、全国64の施設より、計89組の同胞およびその家族の協力を得た(図3)。これらのうち78家系について22対の常染色体およびX染色体上を約10センチモルガン間隔でカバーする約400カ所のマイクロサテライトマーカーの遺伝子型を決定した。得られた結果をコンピュータソフト(MAPMAKER/SIBS)で解析した結果、10カ所の染色体領域において連鎖が認められた(表2)。最も強い連鎖の傾向は12番染色体の長腕上の領域で観察された(最大ロッド値2.69、図4)。

#### b. 連鎖不平衡マッピング

罹患同胞対解析では情報として利用する組み

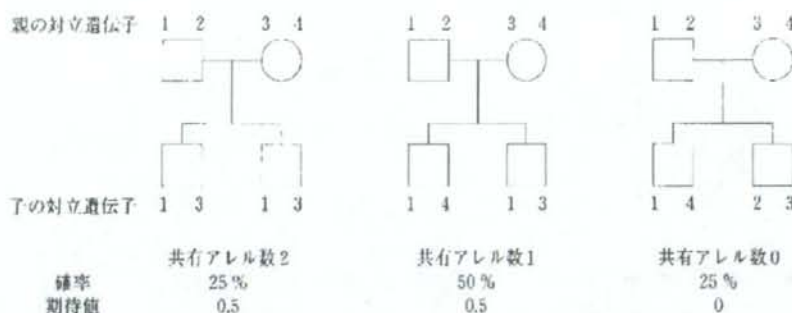


図2 親から子への対立遺伝子の伝わり方と、同胞間での対立遺伝子の共有のパターン  
3つのパターンをとる確率と共有される対立遺伝子数の期待値を示す。期待値より多い対立遺  
伝子の共有が認められる場合、疾患と連鎖しているとみなされる。



図3 収集した川崎病同胞罹患例の分布

替え現象の数が非常に制限されるため、染色体上の比較的広い領域(数-数十 Mb)にしか限局化はなされない。そのため候補領域に存在する数十-数百の遺伝子、数千-数万カ所の SNP の中から川崎病感受性遺伝子や責任多型を特定するためには、更に領域を絞り込む手段が必要になる。今日では遺伝子の位置、構造や遺伝子上の SNP に関する情報が Web 上で公開されているので、従来困難であったピンポイントの特定に道が開けている。連鎖不平衡マッピングは

こうしたゲノムリソースの恩恵を生かした SNP 相関研究の手法である。強い連鎖不平衡状態にある SNP 群の遺伝子型は群を代表する一つないし数個の SNP (タグ SNP) の型から類推することができるため、候補領域内のタグ SNP を調べることで疾患と相関する SNP を効率良くスクリーニングすることができるのである。国際ハップマップ計画のサイト (<http://www.hapmap.org/index.html>) では SNP の連鎖不平衡の状況やタグ SNP の選定が行えるようになっ



表2 罹患同胞対解析で1より大きな最大ロッド値を  
観察した染色体領域

染色体	染色体上の位置		最大ロッド値	近傍の遺伝マーカー
	(cM) <sup>a</sup>	(Mb) <sup>b</sup>		
4	195.7	184.9	1.30	D4S1535
5	152.6	149.6	1.14	D5S640
6	197.7	169.9	1.49	D6S281
7	48.8	30.1	1.80	D7S510
8	149.7	135.7	1.99	D8S272
12	140.0	120.6	2.69	D12S86
18	112.1	70.4	1.99	D18S1161
19	65.4	47.9	1.86	D19S420
X	12.1	7.0	1.49	DXS1060
X	159.1	139.3	1.94	DXS1227

a: センチモルガン

b: 10<sup>6</sup> 塩基

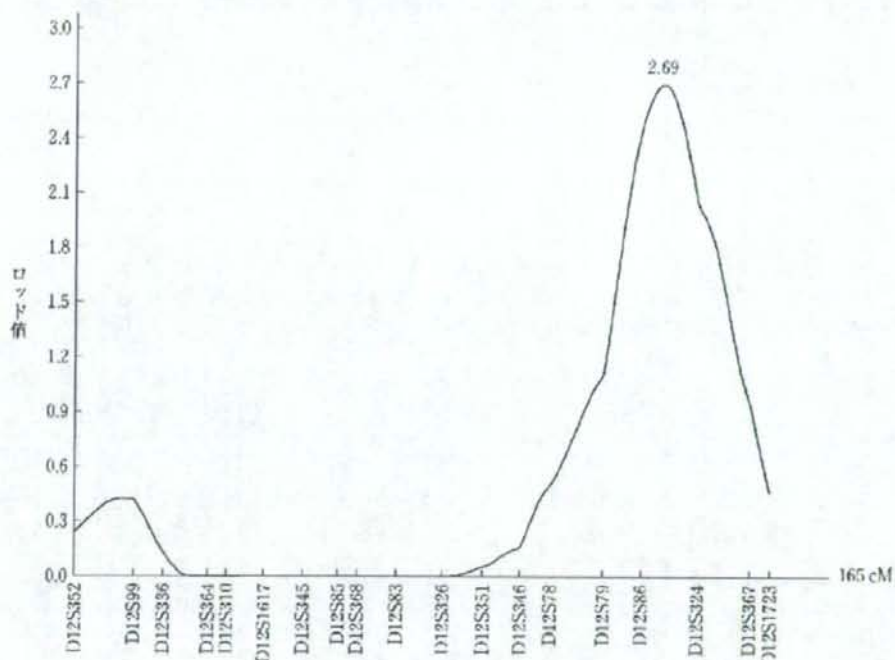


図4 第12番染色体上に観察された連鎖の傾向

縦軸はロッド値を横軸は染色体上の位置(左→右に短腕→長腕の向き)を示す。  
長腕上の領域(12q24付近)に連鎖のピーク(最大ロッド値2.69)が認められる。

ており、まさに多因子遺伝病研究の機が熟した  
といえる状況である。著者らは上記連鎖を認め  
た領域に対し連鎖不平衡マッピングを施行中  
であるが、現在ある領域内に、日本人およびア

メリカ人に共通して川崎病と強い相関を示す  
SNPを見いだしている。そのSNPが含まれる  
遺伝子の機能やSNPの及ぼす機能的影響に関  
する知見が川崎病の更なる理解や新たな治療、

予防戦略へとつながることを期待している(論文投稿中)。

### おわりに

今後様々な疾患の遺伝的要因に関する情報が蓄積し、これまで不明であった病因や病態が明らかにされていくことが期待される。川崎病の遺伝的要因がわかれば果たしてそれが川崎病に

特異的であるのか、あるいは遺伝的要因を他の炎症性疾患と共有しているのかといったこともみえてくるのではないと思われる。著者らの研究は多数の患者および家族、医療機関スタッフの協力のうえに成り立っている。今後も常に感謝の念を忘れずに取り組んでいきたいと考えている。

### ■ 文 献

- 1) Dean AG, et al: An epidemic of Kawasaki syndrome in Hawaii. *J Pediatr* 100: 552-557, 1982.
- 2) Fujita Y, et al: Kawasaki disease in families. *Pediatrics* 84: 666-669, 1989.
- 3) Uehara R, et al: Kawasaki disease in parents and children. *Acta Paediatr* 92: 694-697, 2003.
- 4) Furukawa S, et al: Peripheral blood monocyte/macrophages and serum tumor necrosis factor in Kawasaki disease. *Clin Immunol Immunopathol* 48: 247-251, 1988.
- 5) Maury CP, et al: Elevated circulating tumor necrosis factor- $\alpha$  in patients with Kawasaki disease. *J Lab Clin Med* 113: 651-654, 1989.
- 6) Lin CY, et al: The changes of interleukin-2, tumour necrotic factor and gamma-interferon production among patients with Kawasaki disease. *Eur J Pediatr* 150: 179-182, 1991.
- 7) Burns JC, et al: Infliximab treatment for refractory Kawasaki syndrome. *J Pediatr* 146: 662-667, 2005.
- 8) Onouchi Y, et al: CD40 ligand gene and Kawasaki disease. *Eur J Hum Genet* 12: 1062-1068, 2004.
- 9) Wang CL, et al: Expression of CD40 ligand on CD4+ T-cells and platelets correlated to the coronary artery lesion and disease progress in Kawasaki disease. *Pediatrics* 111: E140-147, 2003.
- 10) Onouchi Y, et al: A genomewide linkage analysis of Kawasaki disease: evidence for linkage to chromosome 12. *J Hum Genet* 52: 179-190, 2007.

## 特集

## 小児科とサイトカイン

## Ⅲ. サイトカインと小児疾患

## 川崎病

寺井 勝<sup>1)</sup> 東京女子医科大学八千代医療センター小児科

## Key Words

川崎病  
冠動脈瘤  
γ-グロブリン  
高サイトカイン血症

川崎病は乳幼児の原因不明の急性熱性疾患で、全身の血管炎と血管透過性の亢進による臓器の非心臓性浮腫を特徴とする。わが国では年間1万人の患者発症がみられる。γ-グロブリン治療が国際的に普及しているが、抵抗を示す例も15%にみられる。川崎病血管炎のキープレーヤーとして、種々の炎症性サイトカイン・ケモカインがあげられる。これら免疫反応に関する川崎病感受性遺伝子の解明が進んでいる。抗サイトカイン療法や遺伝子型に基づいた治療法の開発など、新たな展開が期待される。

## はじめに

川崎病の多くは発熱で発症する。その後数日のうちに、眼球結膜の充血、口唇の発赤、発疹、四肢末端の硬性浮腫などを認めるようになる。年長児では、頸部痛や頸部リンパ節腫脹が先行することが多い。この時点では、化膿性頸部リンパ節炎や流行性耳下腺炎などと診断されることもある。川崎病のもっとも重大な合併症は冠動脈瘤であり、巨大化すると瘤の破裂や血栓閉塞により致死的な転帰をとることも少なくない。

本稿では、川崎病の病態の中心的役割をはたしている種々のサイトカインの視点から臨床症状、治療戦略について概説する。

## 川崎病の病因と疫学

川崎病の病因はいまだに不明である。1967年

の川崎による報告<sup>1)</sup>以来、現在までに多くの研究者がさまざまな原因物質の関与を指摘してきた。生活環境因子（合成洗剤やシャンプー、水銀など）などによる非感染説、細菌やウイルスによる感染説（Epstein-Barrウイルス、レトロウイルス、ブドウ球菌・溶連菌由来のスーパー抗原、グラム陰性菌由来のエンドトキシンなど）があるが、いずれも原因の特定には至っていない。単純なひとつの因子で説明できない複合的な原因の可能性も十分に考えられる。

川崎病の患者数は診断率の向上もあって年々増加している。第19回川崎病全国調査によれば、2005年および2006年には患者数は1万人を突破している。

## 川崎病の診断と臨床症状

厚生労働省川崎病研究班作成の川崎病診断の手引きがあり、2002年2月に改訂5版が作成さ

表 川崎病診断の手引き (改訂5版) (厚生労働省川崎病研究班作成)

## A. 主要症状

1. 5日以上続く発熱 (ただし、治療により5日未満で解熱した場合も含む)
2. 両側眼球結膜の充血
3. 口唇、口腔所見: 口唇の紅潮、苺舌、口腔咽頭粘膜のびまん性発赤
4. 不定形発疹
5. 四肢末端の変化  
急性期: 手足の硬性浮腫、掌蹠ないしは指趾先端の紅斑  
回復期: 指趾の先からの粟粒落屑
6. 急性期における非化膿性頸部リンパ節腫脹

## B. 参考条項

1. 心血管: 聴診所見 (心雑音、奔馬調律、微弱心音)、心電図の変化 (PR・QTの延長、異常Q波、低電位差、ST-Tの変化、不整脈)、胸部X線所見 (心陰影拡大)、断層心エコー図所見 (心臓液貯留、冠動脈瘤)、伏心症状、末梢動脈瘤 (膝窩など)
2. 消化器: 下痢、嘔吐、腹痛、胆嚢腫大、麻痺性イレウス、軽度の黄疸、血清トランスアミナーゼ値上昇
3. 血液: 核左方移動を伴う白血球増多、血小板増多、赤沈値の促進、CRP陽性、低アルブミン血症、 $\alpha_2$ -グロブリンの増加、軽度の貧血
4. 尿: 蛋白尿、沈渣の白血球増多
5. 皮膚: BCG接種部位の発赤・痂皮形成、小膿疱、爪の横溝
6. 呼吸器: 咳嗽、鼻汁、肺野の異常陰影
7. 関節: 疼痛、腫脹
8. 神経: 髄液の単核球増多、けいれん、意識障害、顔面神経麻痺、四肢麻痺

れた (表)、症候は主要症状と参考条項に分けられている。

主要症状6症状のうち五つ以上を満たすことにより診断が確定されるが、第5病日まで待たずに治療を開始することで解熱することも多く、2002年2月の川崎病診断の手引き改訂5版では、主要症状1の5日以上続く発熱に関して、「治療により5日未満で解熱したものも含む」が追記された。また上記6主要症状のうち、四つの症状しか認められなくても、経過中に冠動脈の拡大病変を含む冠動脈瘤が確認され、他の疾患が除外された場合も川崎病として診断できることが付記されている。このような容疑例には冠動脈瘤、冠動脈拡張が確認される例がある事実が備考欄に新たに明記された。

後述するように、川崎病に特徴的な初期症状は浮腫である。川崎病で生じる浮腫は硬性浮腫が特徴で、しばしば痛みを伴う。そのため患者は発熱が続き炎症が持続している間は概して不機嫌であり、体位を変えられること、身体に触

られることを嫌がる。

口唇は紅く、乾燥・亀裂を生じて出血し開口不可能となることもあり、そのため経口摂取も低下する。皮疹の形態はさまざまで、じんま疹のように膨隆・癒合するもの、地図状紅斑、溶連菌感染様の発疹など多種多様で、経過とともに変化することも特徴である。ただし、水疱形成は認めない。年長例では痒痒感を訴えることもある。この他、補助診断として、BCG接種部の発赤や腫脹、痂皮形成を認めること、掌蹠の小膿疱、爪の横溝の存在などが診断に役立つ。

胸部の聴診では湿性ラ音・心雑音・奔馬調律を聴取することもまれではない。また腸粘膜の浮腫による腹痛や胆嚢腫大、麻痺性イレウス、黄疸を認めることもある。

## 血液・尿検査とサイトカイン

①白血球数増加: 核左方移動を伴う。また、回復期に好酸球数の増加がみられる。好中球の占める割合が高い場合、 $\gamma$ -グロブリン治療に抵

抗を示す確率が高くなることが報告されている。好中球活性化にかかわる因子として、インターロイキン-8、G-CSFの産生増加がみられる<sup>2)</sup>。

②血小板増多：病初期より血小板増殖因子であるトロンボポエチンの上昇がみられ<sup>3)</sup>、回復期にみられる血小板増多に関与していることが示唆される。一方、病初期の血小板減少はγ-グロブリン治療抵抗の予測因子としてあげられており、血小板増多は抗炎症的役割をはたしていることが示唆される。

③CRP陽性：CRPの産生にかかわるインターロイキン-6の産生は高値である。CRP値の上昇はγ-グロブリン治療抵抗の予測因子として認められている。

④低アルブミン血症：vascular endothelial growth factor (以下、VEGFと略す)などの作用により、血管透過性の亢進によるvascular leakageがみられ、血液中の血清アルブミン濃度が低下することが知られている<sup>4)</sup>。とくに、γ-グロブリン治療直後に高度の低アルブミン血症を示す例では、浮腫が強くなり、γ-グロブリン治療に抵抗を示すことが多い<sup>5)</sup>。

⑤血清トランスアミナーゼ値の上昇：胆嚢腫大例に高頻度でみられる。血清トランスアミナーゼの高度上昇例では、肝炎と診断されることもある。やはり、γ-グロブリン治療抵抗のリスク因子として報告されている。

⑥低ナトリウム血症：低ナトリウムはγ-グロブリン治療抵抗を示すリスクスコアとして注目されているが、低ナトリウムをきたすメカニズムは不明である。

⑦無菌性白血球尿：尿中インターロイキン-6、インターロイキン-8、単球遊走活性化因子濃度の増加がみられる<sup>6)</sup>。

## 血管炎の病態とサイトカイン産生

### 1. vascular leakageとVEGF

川崎病では、病初期より浮腫性病変が全身に

みられることが特徴である。病変の局在は初期には毛細血管や微小動脈に局限しているが、やがて、中型筋型動脈、中型静脈に炎症の場が拡大していく。川崎病にみられる四肢末端の硬性浮腫や皮疹、眼球結膜の毛細血管拡張、関節腫脹、腸管粘膜の浮腫はいずれもこの血管病変に起因するものと考えられる。四肢にみられる硬性浮腫は心臓性浮腫にみられるものと異なり、圧痕を残さないことが特徴である。一般に、心臓性浮腫は静水圧上昇による血管外への水分の漏出によっておこる。

これに対し、川崎病の浮腫は血管透過性の亢進によるvascular leakageによりおこると考えられ<sup>7)</sup>、アルブミンを主とする血漿蛋白の血管外への漏出により、血管外浮腫が増強する非心臓性浮腫である<sup>8)</sup>。

川崎病とVEGFの関連は多数の研究報告がある。血管炎局所においてもVEGFとその受容体の発現が増していることから、少なくともVEGFが川崎病の病態に深く関与している可能性が考えられる。また、血中VEGFやhepatocyte growth factorの高値と浮腫は冠動脈瘤のリスクファクターであると考えられている<sup>9)</sup>。VEGFはヘパリン結合部位をもつ蛋白で、その主たる生理作用は血管新生と血管透過性である。VEGFによる血管透過性の分子機構は、血管内皮細胞にあるVEGF受容体を介したnitric oxideの産生によることが判明している。作用点は、主として毛細血管や細静脈の血管内皮細胞である。血管透過性が高まると、血漿蛋白、とくにアルブミンが血管外に漏出し、その結果、毛細血管内圧が低下し血管外浮腫が増強する。VEGF陽性の微小血管周囲には血漿蛋白の漏出がみられ、急性期の低アルブミン血症の程度と血中VEGFとの間には、良好な負の相関関係がみられる<sup>10)</sup>。

瘤が形成されやすい動脈は、中型のvasa vasorumを有する筋型動脈(冠動脈・腋動脈・腸

骨動脈)であるが、細動脈や細静脈、微小血管にも浮腫と細胞浸潤は強くみられる。なぜ、中型動脈の壁構造が破綻するのか、冠動脈瘤形成メカニズムの解明が待たれるが、血管内皮細胞の障害に加え、*vasa vasorum*の炎症と関連があることが推測できる。微小血管における浮腫が長引けば、当然のことながら、*vasa vasorum*から冠動脈壁への酸素供給が不足し、冠動脈中膜の虚血へと発展し、冠動脈構造が破綻しやすい状況になる。

### 2. メタロプロテアーゼと血管障害

血管構造の破綻は嚢形成をもたらすが、この進展過程における細胞外基質や、基底膜を破壊するメタロプロテアーゼの役割が腹部の大動脈瘤で報告されている。川崎病においても、血中のメタロプロテアーゼ-1やメタロプロテアーゼ-3の上昇、組織におけるメタロプロテアーゼ-2、メタロプロテアーゼ-9の発現が亢進している<sup>6</sup>。また、メタロプロテアーゼ活性の抑制物質とのアンバランスも指摘されている。

しかしながら、これらのデータはいずれもメタロプロテアーゼの活性をみているわけではない。メタロプロテアーゼの病態生理的意義に関しては慎重に扱われるべきであるが、これらプロテアーゼが血管炎の進展過程で重要な働きをしていることは十分に示唆される。

### 3. 腫瘍壊死因子ならびに遺伝子多型

川崎病では腫瘍壊死因子の関与が多くの研究者より指摘されているが、腫瘍壊死因子の多型と予後との関連も研究されている。その腫瘍壊死因子の産生にかかわる遺伝子多型の解析で、腫瘍壊死因子の産生を高める一塩基多型(TNF- $\alpha$ -308)を白人の川崎病冠動脈瘤患者が高頻度でもっていることが報告された<sup>7</sup>。ところが、この遺伝子多型は日本人ではみられず、人種差による遺伝的背景の違いを反映している。

## 急性期の治療とサイトカイン

川崎病急性期の治療は、大量の $\gamma$ -グロブリン静注に経口アスピリンを組み合わせた治療が標準治療として定着している。

### 1. $\gamma$ -グロブリン療法とサイトカイン

川崎病の治療目標は炎症を鎮静化し、冠動脈病変などの致死的になる心合併症を防ぐことにある。現在、冠動脈病変の発症防止にもっとも効果があると考えられているのは、完全分子型免疫グロブリンの大量静注療法である。川崎病における $\gamma$ -グロブリンの作用機序は、いまだ完全には解明されていない。治療反応例では治療開始後24~48時間程度で解熱が得られ、循環血漿中のCRPや炎症性サイトカイン濃度の減少がみられる<sup>10</sup>。S100A9やS100A12などのカルシウム結合蛋白など、多くの炎症関連物質が $\gamma$ -グロブリン治療後に抑制されることが、Abeらの研究により報告されている。

### 2. アセチルサリチル酸とサイトカイン

アスピリンには冠動脈病変の発生子防効果はない。急性期には30~50 mg/kg/dayの中等用量で経口的に投与し、解熱後は3~5 mg/kg/dayの少量で抗血栓作用を期待し投与することが多い。一方、米国では80~100 mg/kg/dayの大量投与を行う施設が多い。日本では、高用量アスピリンでは肝機能障害を認めやすいことから、上記の中等量を用いる施設が多い現状にある。

## 難治性川崎病に対する治療とサイトカイン

### 1. ステロイド治療

ステロイド治療は川崎病の治療としては好ましくないという考えかたが支配的であった。ひとつには、初期の研究報告では、経口プレドニゾロンによるステロイド治療群で高率に冠動脈瘤の発生がみられたという報告に基づいている。また、川崎病の原因が感染症であるとすれば、

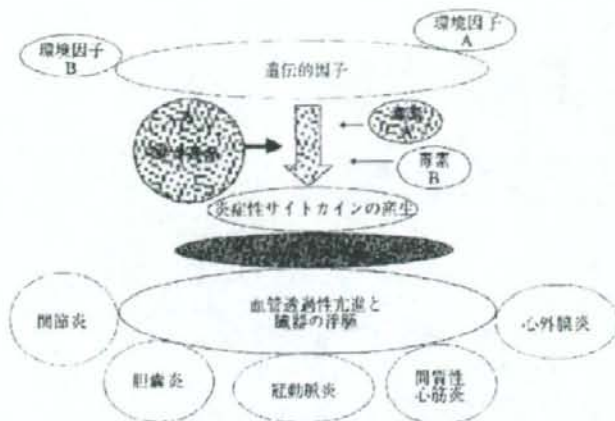


図 川崎病血管炎の病態仮説

そのこともステロイド治療を躊躇させる要因となっている。しかしながら、最近ではステロイド治療の有用性に関する報告が増え、 $\gamma$ -グロブリン治療抵抗例に対して抗炎症作用を期待し、2 mg/kg/day (経口または静脈内投与) の経口ブレドニゾロン、またはメチルブレドニゾロンパルス治療をレスキュー的に投与する施設も増えている。現在、わが国において大規模な臨床試験が予定されている。

## 2. ウリナスタチン

好中球エラスターゼ阻害薬であり、好中球活性化による血管内皮障害の抑制作用が報告されている。急性肺炎や急性循環不全治療薬として使用されている。治療戦略としては、ひとつの方向性と考えられるが、大規模な対照試験は行われていない。

## 3. 免疫抑制薬

シクロフォスミドによる治療例が散見される。いずれも $\gamma$ -グロブリンやステロイド抵抗例のレスキューとして限定的に使用されている。

## 4. 抗腫瘍壊死因子抗体による治療

抗ヒト腫瘍壊死因子 $\alpha$ -モノクローナル抗体製剤 (インフリキシマブ) の使用経験が国内外で報告されている<sup>11)</sup>。 $\gamma$ -グロブリン治療抵抗例で、 $\gamma$ -グロブリン再投与無効例あるいはメチル

ブレドニゾロン追加無効例に対して、体重あたり5 mgのインフリキシマブを1回投与したところ、臨床症状の改善がみられたとの報告が出されている。いまだに限られた症例数であり、米国では、インフリキシマブの有効性に関する多施設トライアルが行われている。

## 川崎病個体の遺伝的因子とサイトカイン産生

上述したように、川崎病の原因は不明であるが、諸家の研究成果から図のような病態が考えられる。感染症を含む外的因子と個体側の遺伝的因子である。外的因子としては、感染性微生物、毒素、ストレス、環境因子など、単一なものではなく複合的な要因も考えられる。

一方、遺伝的因子としては、Onouchiらにより画期的な研究報告が最近なされた<sup>12)</sup>。T細胞の活性化にかかわると考えられるイノシトール三リン酸酵素の遺伝子多型と川崎病発症との関連が示された。

今後、更なる個体側因子の解明により、川崎病の主要病態である炎症性サイトカイン産生のメカニズム、新たな治療法の開発につながるものが大いに期待される。

の 文 献

- 1) 川崎富作：指趾の特異的落屑を伴う小児の急性熱性皮膚粘膜淋巴结候群—自験例50例の臨床的観察—。アレルギー 16:178, 1967
- 2) Terai M et al.:Dramatic decrease of circulating levels of monocyte chemoattractant protein-1 levels in Kawasaki disease after gamma globulin treatment. *J Leukoc Biol* 65:566-572, 1999
- 3) Miura N et al.:Serum thrombopoietin levels in Kawasaki disease. *Br J Haematol* 100:387-388, 1998
- 4) Yasukawa K et al.:Systemic production of vascular endothelial growth factor and fms-like tyrosine kinase-1 receptor in acute Kawasaki disease. *Circulation* 105:766-769, 2002
- 5) Terai M et al.:Prognostic impact of vascular leakage in acute Kawasaki disease. *Circulation* 108:325-330, 2003
- 6) Jibiki T et al.:High concentrations of interleukin-8 and monocyte chemoattractant protein-1 in urine of patients with Kawasaki disease. *Eur J Pediatr* 163:749-750, 2004
- 7) Ohno T et al.:Serum hepatocyte growth factor combined with vascular endothelial growth factor as a predictive indicator for the occurrence of coronary artery lesions in Kawasaki disease. *Eur J Pediatr* 161:105-111, 2002
- 8) Senzaki H:The pathophysiology of coronary artery aneurysms in Kawasaki disease:role of matrix metalloproteinases. *Arch Dis Child* 91:847-851, 2006
- 9) Quasney MW et al.:Increased frequency of alleles associated with elevated tumor necrosis factor-alpha levels in children with Kawasaki disease. *Pediatr Res* 49:686-690, 2001
- 10) Abe J et al.:Gene expression profiling of the effect of high-dose intravenous Ig in patients with Kawasaki disease. *J Immunol* 174:5837-5845, 2005
- 11) Burns J et al.:Infliximab treatment for refractory Kawasaki syndrome. *J Pediatr* 146:662-667, 2005
- 12) Onouchi Y et al.:ITPKC functional polymorphism associated with Kawasaki disease susceptibility and formation of coronary artery aneurysms. *Nat Genet* 40:35-42, 2008

著者連絡先

〒276-8524 千葉県八千代市大和田新田477-96  
東京女子医科大学八千代医療センター  
小児科  
寺井 勝



## 新たな治療法の展望

浜田洋通 寺井 勝

## Treatment for Kawasaki disease—perspective

Hiromichi Hamada, Masaru Terai

Department of Pediatrics, Tokyo Women's Medical University Yachiyo Medical Center

## Abstract

In acute management for Kawasaki disease, recent studies are focused on treatment for patients who failed to respond to intravenous gamma globulin (IVGG) and high dose-aspirin. The addition of corticosteroids to IVGG and the use of TNF- $\alpha$  blockade are now under discussion.

In long-term management, therapeutic angiogenesis is now applied for adult patients with ischemic hind limb or heart. It could be one of the therapeutic options for children and adolescents with Kawasaki disease and coronary artery abnormalities.

**Key words:** Kawasaki disease, corticosteroid, TNF- $\alpha$ , angiogenesis

## はじめに

現在、川崎病の治療はガンマグロブリン大量療法 (IVIG) + アスピリン内服が標準的治療として広く行われている。しかし、この治療に反応しない症例があり問題となっている。冠動脈病変を合併し、遠隔期に虚血病変のある症例に対してはカテーテルインターベンションや、冠動脈バイパス手術が行われている。'冠動脈瘤に対する抗血栓療法'の稿で急性期治療の各々について詳述されているので、本稿では急性期治療の最近の話題をとりあげ、更に遠隔期の新しい治療の可能性について触れてみたい。

## 1. 急性期治療—最近の話題—

## a. ステロイド治療

1979年、ステロイドは冠動脈病変のリスク

を上昇させると報告されて以来<sup>1)</sup>、その使用については長く議論されてきた。ステロイドには血栓形成の副作用もあるため、IVIGの普及によりいったんその議論は下火になったが、約10%にIVIG不応例があることが認識され、近年再びステロイド治療についての見直しがされている。Jibikiらは、IVIG+デキサメサゾンのcombined therapyで、冠動脈病変の有病率には変化がなく、有熱期間は有意に短かったと報告した<sup>2)</sup>。更にInoueらは、IVIGのみ・IVIG+プレドニゾン2mg/kg/dayを解熱まで静脈投与するプロトコールでrandomized control studyを行い、解熱期間の短縮と罹患後1カ月までの冠動脈拡張が有意に低いことを報告した<sup>3)</sup>。一方、NewburgerらはIVIG前日にメチルプレドニゾン30mg/kg pulse療法またはプラセボを投与し、翌日IVIGを行うプロトコールでrandomized,

double-blind control studyを行った<sup>4)</sup>。メチルプレドニゾン投与群は1週後の赤沈値は有意に低く、入院期間が有意に短かったが、有熱期間・再治療の割合・冠動脈径に2群で差はなかった。Newburgerらの研究は初めてdouble-blindで行われた比較的規模の大きいステロイド投与の比較対照試験であったが、IVIG前の早期に短期間ステロイドを投与する方法であり、実際の臨床現場で用いる方法とは異なっている。今後急性期のどの時期にどの方法で投与すると効果があるのか、更に検討する必要があると思われる。

最近、初回IVIG治療に反応しない患者のリスクファクターが報告された(‘無効例の予測および層別化’の稿参照)。今後、更に検討を加えることでIVIG前に何らかの治療を加える場合も、該当症例を選べる可能性がある。

#### b. 抗サイトカイン抗体による治療

川崎病急性期では循環血中の炎症性サイトカインが上昇していることが報告されている。特に腫瘍壊死因子(TNF)- $\alpha$ は、その血中濃度と冠動脈病変合併が相関するという報告もあり、注目されてきた<sup>5)</sup>。近年、TNF- $\alpha$ 抗体が薬剤として開発され、関節リウマチや関連する炎症性疾患に用いられている。そこで、この薬剤を川崎病に用いる試みが始まっている<sup>6)</sup>。Burnsらは、IVIGまたはそれに引き続いて行われたステロイド治療に反応しない難治例17例(うち12例が既に冠動脈病変を合併していた)にTNF- $\alpha$ のモノクローナル抗体インフリキシマブを投与した経験を後方視的に検討した<sup>7)</sup>。12例で解熱を得られたが、2例は投与後4、8日後に再び発熱し、うち1例が投与後53日後に突然死したと報告している。著者らは、投与後48時間後でCRPを計測した10例全例のCRP値が低下していたことと併せて、一定の治療効果を示唆しているが、更に前方視的研究の必要があるだろう。また、この薬剤は成人では頭痛、悪心、上気道感染症、発赤、アナフィラキシーといった副作用が報告されているが、この少数の小児への投与ではこのような投与直後の副作用はなかった。しかし、遠隔期ではあるが死亡例もあり、

小児に対する安全性については更に慎重に検討されなければならない。

## 2. 遠隔期治療—血管再生治療の展望—

冠動脈狭窄病変による虚血病変に対しては、従来カテーテルインターベンションや冠動脈バイパス手術が行われてきた。現在では薬剤溶出ステントやロタプレーターといったデバイスが進化し、これらを用いたカテーテルインターベンションが標準治療となっている。しかし、閉塞部あるいはその下流の血管形態によってこれらの治療適応にあてはまらない症例もある。また、治療を行っても再狭窄やグラフトの閉塞で再治療が必要になることもある。

近年、発生学研究の進歩に伴い、幹細胞や前駆細胞といった多分化能を有した細胞が胎生期以後にも存在し、サイトカイン・成長因子刺激により更に分化増殖に向かうという新しい知見が得られ、基礎医学から発展した再生医療が注目されている。アプローチの様式としては大きく2つに大別される。遺伝子組み換え蛋白あるいはプラスミドやウイルスベクターにより血管増殖因子を投与・発現させることにより再生を促すサイトカイン療法と、幹細胞・前駆細胞の分化・増殖により組織を再形成し機能回復を目指す細胞療法である。

#### a. サイトカイン療法

血管内皮増殖因子(vascular endothelial growth factor: VEGF)およびそのファミリー蛋白、肝細胞増殖因子(hepatic growth factor: HGF)、塩基性線維芽細胞増殖因子(basic fibroblast growth factor: bFGF)、顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)、エリスロポエチン、ホルモンであるエストロゲン、薬剤であるHMG-CoA還元酵素阻害剤やケモカインレセプター阻害剤などが血管新生を促進すると報告されている。1994年、タフツ大学のIsnerらにより、VEGF165遺伝子を組み込んだプラスミドベクターを用いた閉塞性動脈硬化症(ASO)の治療が行われた。重症ASO患者にVEGFプラスミド遺伝子を筋肉内投与したところ、下肢虚血症状が改善し、膝以下の切断を勧告されていた例は、この治療に

より切断を免れたか縮小切断で免れ得たと報告した<sup>9</sup>。これ以後、上記のサイトカインを、遺伝子をプラスミドベクター・ウイルスベクターで発現させる方法あるいは、蛋白自身を徐放カプセルやシートに結合させて埋め込むといった様々な方法で投与して、血管新生を促進し臓器再生を促す治療が行われてきた。しかし、どの程度の発現量が望ましいのか、病期のどのタイミングで投与するのが望ましいのかなどの検討を今後行っていく必要がある。加えて、導入に用いるベクターの安全性についても検討が必要である。特に小児に適応するには十分な安全性が保証されなければならない。

#### b. 細胞移植療法

1997-98年にかけてAsahara, Shiら複数のグループが新しい血管形成の概念を提唱した。それは末梢血中に骨髄由来の血管内皮前駆細胞(EPC)が存在し、成体においても胎児期と同様な血管の分化形成が起こるというものである<sup>9,10</sup>。その後もEPCについての研究は広く行われ、生理的血管形成だけでなく、腫瘍形成や虚血組織の修復、創傷治癒過程などの病態においても前駆細胞による血管形成が関与していることが明らかになった。

この新しい概念を受け、多くの動物実験を経て、従来の治療で改善が得られない重症虚血下肢に対して自家骨髄細胞移植が我が国で行われた(Japan Trial for Therapeutic Angiogenesis using Cell Transplantation: TACT study)。この研究では、対照に比して細胞治療群では有意にABI、組織酸素分圧、トレッドミル歩行時間が改善した<sup>11</sup>。その後、幹細胞マーカーであるCD34陽性細胞のみを濃縮して筋肉内に注入する方法、あるいは末梢血単核球の注入でも効果があると報告された。虚血下肢に対する細胞療法は、どの方法が安全、簡便かつ効果があるかの検討が必要であるが、重症例に対する標準治療に向けて確実に前進している。

心筋梗塞(acute myocardial infarction: AMI)や狭心症への再生医療としても細胞移植療法が臨床応用されている。ST上昇型AMIのカテーテルインターベンション再灌流成功後に骨髄単

核球細胞または*in vitro*で培養した末梢血内皮前駆細胞を、梗塞責任冠動脈よりカテーテルで注入移植することにより、左室駆出率、心筋内血流が改善したと報告され、世界中で注目された(TOPCARE-AMI study)。しかしその後、randomized trial デザインで行われたREPAIR-AMI study, ASTAMI studyなどの臨床試験が2006年に相次いで発表されたが、これら結果を踏まえて現時点ではAMIへの骨髄単核球を使った血管新生治療に依然、慎重な意見もある<sup>12</sup>。しかし、REPAIR-AMI studyでは、心機能低下例に効果が大きく、加えて細胞移植をAMI後5日以降に行うと効果が大きいと報告され、興味深い。陈旧性心筋梗塞(old myocardial infarction: OMI)への細胞治療についても可能性を示唆する報告がされている<sup>13,14</sup>。また、Losordoらは重症狭心症患者を対象として、アフエレーシスによって自身の末梢血から採取したCD34陽性細胞を、NOGAマッピングによって同定した虚血心筋領域に、経カテーテル的に心筋内注入を行い、安全性の確認と一定の効果を見て現在phase 2の試験に入っている<sup>15</sup>。

このように、虚血心への細胞療法は、いまだ確立された標準治療には至っていない。薬剤溶出ステントの出現でカテーテルインターベンションによるAMIの治療成績は中長期で向上しており、AMIよりもOMIにおいて細胞移植治療の臨床的意義がより高まっていると思われる。そして、川崎病冠動脈病変による虚血心の病態はOMIの病態により近いと考えられる。対象が若年者であること、大部分が糖尿病などの基礎疾患をもたないことは、自己の細胞の活性や受け手である組織の反応が高齢者に比して良いことが考えられ、治療効果を成人に比してより期待できる。動物実験でも、若年マウスの骨髄細胞は、高年齢マウスに比べて傷害組織への集積が多く、また傷害組織で産生されるサイトカインも多いことが示されている。一方、体重が少ないために必要数の細胞採取について工夫が必要になろう。成人で問題になった合併症である移植後の心室頻拍について、小児において十分に検討されなければならない。加えて、小児

では全身麻酔下で採取する必要があり、十分な効果と安全性の確認が必要となる。採取細胞数や投与方法について小児に適した方法を検討する必要もあり、クリアしなければならない課題は多い。

### c. 川崎病に対する再生医療の展望

現時点では、川崎病に対する再生医療の試みはほとんど報告されていない。2001年、Tatenoらは、カテーテル治療・冠動脈バイパスの適応にならない完全冠動脈閉塞で、閉塞部位に相当する領域に運動時虚血を有する川崎病患者7人を対象として、内科的治療を試みた<sup>10</sup>。閉塞部位より末梢の血流は他の冠動脈の分枝から側副血行が伸びて血流が供給されていたが、供給量が不十分のため灌流領域に虚血所見がみられた。これら患児に、ヘパリンを100単位/kg静脈投与後、エルゴメーターで10-15分運動負荷を加

えるプロトコールを20セッション、2週間の入院で行った。ヘパリン十運動による治療は成人の労作性狭心症患者に対して藤田ら<sup>11</sup>がその効果を報告している<sup>12</sup>。ヘパリンは小児の一般臨床で広く使用されている薬剤であり、血管新生作用のあることがわかっている。治療後、ジビリダモール負荷心筋シンチグラムにて評価した心筋灌流は側副血行灌流領域において改善し、側副血行接続部の冠動脈径自体も増加がみられたと報告している。この治療は、エルゴメーター運動負荷に耐えられる心機能を保っている患児に対して安全かつ少ない侵襲で可能な治療選択であり、今後の治療効果の展開が期待される。

このような治療の延長線上で、本格的な血管再生治療が川崎病冠動脈病変に対する新たな治療の選択肢となることを期待したい。

## ■ 文 献

- 1) Kato H, et al: Kawasaki disease: effect of treatment on coronary artery involvement. *Pediatrics* 63: 175-179, 1979.
- 2) Jibiki T, et al: Efficacy of intravenous immune globulin therapy combined with dexamethasone for the initial treatment of acute Kawasaki disease. *Eur J Pediatr* 163: 229-233, 2004.
- 3) Inoue Y, et al: A multicenter prospective randomized trial of corticosteroids in primary therapy for Kawasaki disease: clinical course and coronary artery outcome. *J Pediatr* 149: 336-341, 2006.
- 4) Newburger JW, et al: Randomized trial of pulsed corticosteroid therapy for primary treatment of Kawasaki disease. *N Engl J Med* 356: 663-675, 2007.
- 5) Maury CP, et al: Elevated circulating tumor necrosis factor- $\alpha$  in patients with Kawasaki disease. *J Lab Clin Med* 113: 651-654, 1989.
- 6) Weiss JE, et al: Infliximab as a novel therapy for refractory Kawasaki disease. *J Rheumatol* 31: 808-810, 2004.
- 7) Burns JC, et al: Infliximab treatment for refractory Kawasaki syndrome. *J Pediatr* 146: 662-667, 2005.
- 8) 室原豊明: 新しい血管再生治療. *日本循環器学会専門医誌* 14(Suppl): 7-10, 2007.
- 9) Asahara T, et al: Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science* 275: 964-967, 1997.
- 10) Shi Q, et al: Evidence for circulating bone marrow-derived endothelial cells. *Blood* 92: 362-367, 1998.
- 11) Tateishi-Yuyama E, et al; Therapeutic Angiogenesis using Cell Transplantation (TACT) Study Investigators: Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischaemia by autologous transplantation of bone-marrow cells: a pilot study and a randomised controlled trial. *Lancet* 360: 427-435, 2002.
- 12) Rosenzweig A: Cardiac cell therapy—mixed results from mixed cells. *N Engl J Med* 355: 1274-1277, 2006.
- 13) 松原弘明: 細胞移植(末梢血/骨髄単核球)を用いた心筋梗塞への再生医療. *日本循環器学会専門医誌* 14(Suppl): 23-30, 2007.