

表 1 : GWAS により新たに見出された川崎病感受性遺伝子

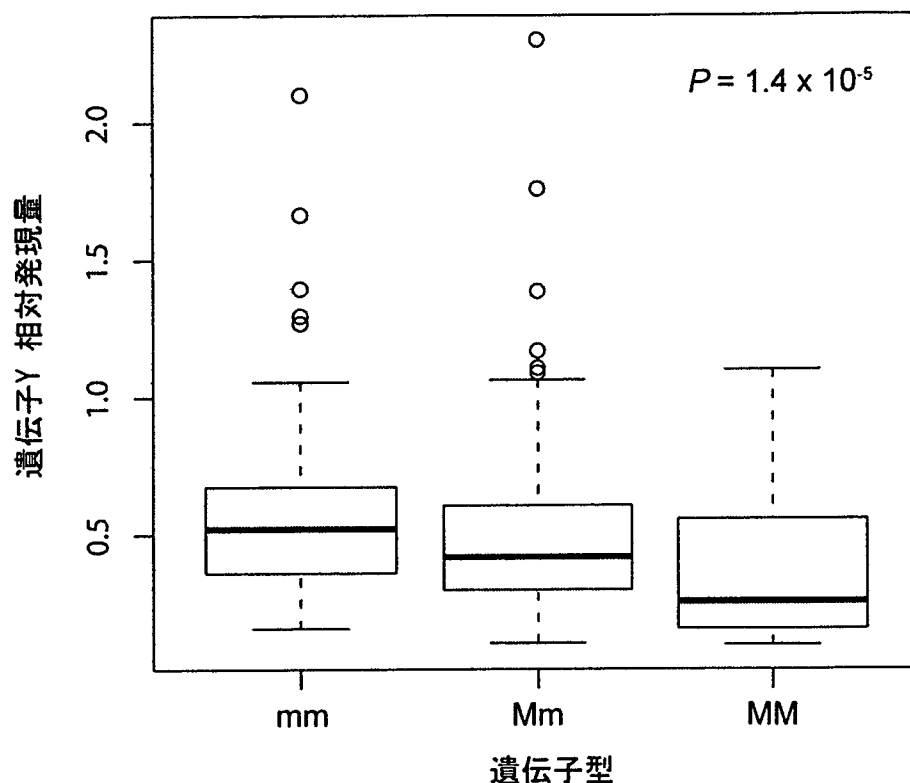
Locus	GWAS <sup>1</sup>			パネル1 <sup>2</sup>			パネル2 <sup>2</sup>		
	MAF		P <sup>4</sup>	MAF		P	MAF		P
	川崎病	対照		川崎病	対照		川崎病	対照	
遺伝子Y	0.17	0.27	2.2E-07	0.19	0.31	1.0E-07	0.20	0.29	1.6E-04
遺伝子Z	0.26	0.33	5.9E-05	0.27	0.33	0.0046	0.26	0.31	0.022

1: 川崎病 440 vs 対照 933

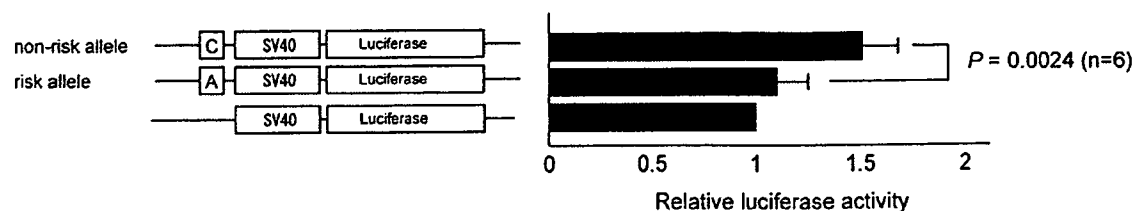
2: 川崎病 470 vs 対照 376

3: 川崎病 285 vs 対照 568

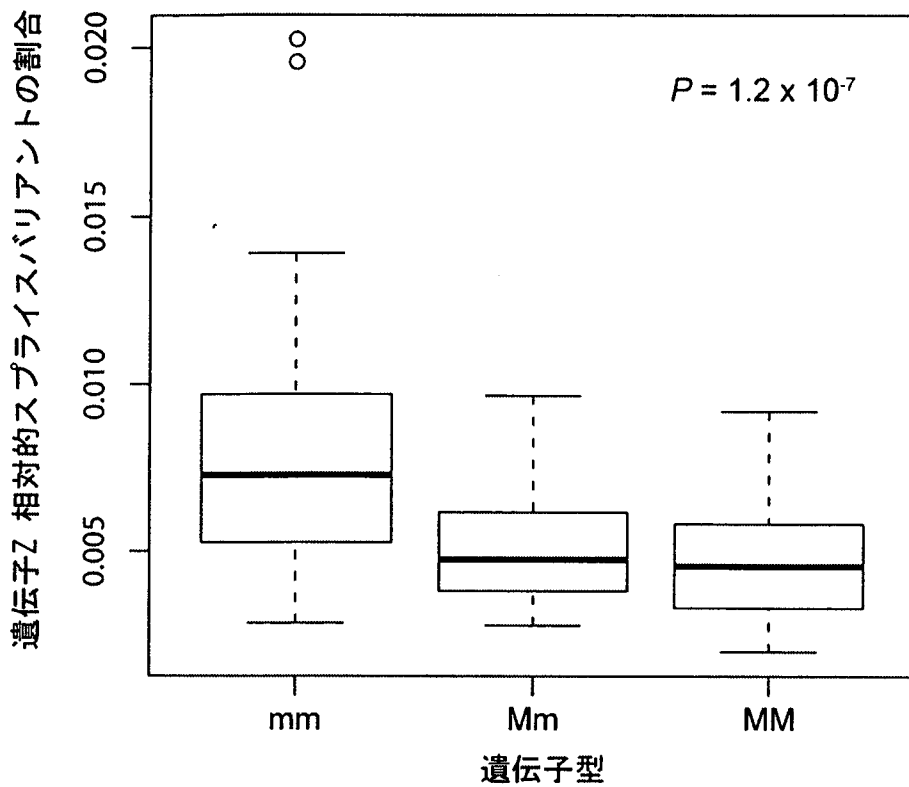
4: Cochran Armitage trend test



[ 図 3 ] 不死化 B 細胞株内における遺伝子 Y の発現量と遺伝子型との相関  
Jonckheere-Terpstra 検定



[ 図 4 ] 遺伝子 Y の SNP 機能解析 (ルシフェラーゼアッセイ)



[ 図 5 ] 遺伝子 Z の選択的スプライシングの頻度と遺伝子型との相関  
Jonckheere-Terpstra 検定

表 2 : rs28493229 と川崎病との相関

	GG	GC	CC	合計	Cアレル頻度	Cアレル保有者	$P^1$	$P^2$
川崎病	103	58	7	168	21.4%	38.7%	0.0084	0.017
対照	531	207	13	751	15.5%	29.3%		

1: アレル頻度比較  
2: 優性遺伝モデル

表 3 : rs28493229 と IVIG 抵抗性との相関

	GG	GC	CC	合計	Cアレル頻度	Cアレル保有者
IVIG 有効	68	30	4	102	18.6%	33.3%
IVIG 不応	18	13	2	33	25.8%	45.5%

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）

## 分担研究報告書

川崎病の発症、動脈瘤発生への  
マトリックスメタロプロテアーゼ（MMP）遺伝子群の関与

研究分担者 鈴木 洋一

千葉大学大学院 公衆衛生学

## 川崎病の発症、動脈瘤発生へのマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP) 遺伝子群の関与

研究分担者 鈴木洋一 千葉大学大学院公衆衛生学 准教授

### 研究要旨

川崎病の発症の感受性遺伝子として、マトリックスメタロプロテアーゼ(MMP) 遺伝子ファミリーに注目し、11番染色体に存在するMMP 遺伝子クラスターの9遺伝子の一塩基多型(SNP)について、症例対照研究を行った。MMP8、MMP10、MMP13、MMP20 遺伝子の一塩基多型、ハプロタイプと疾患との相関が示唆された。

#### A. 研究目的

本分担者の研究目的は、川崎病発症、冠動脈瘤発症のリスク因子としてのマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)遺伝子群を中心とした候補遺伝子について、疾患との関連を明らかにすることである。

#### B 研究方法

MMP 遺伝子群の一塩基多型(SNP)の遺伝子型の決定には、HapMap の情報を基に、タグとなる一塩基多型(SNP)を設定し、SNaPshot Multiplex Kit を利用して、複数の SNP を一度に同定する方法を用いた。一部のMMP 遺伝子に関しては、独自に、プロモーター部とエクソンの周りを中心にダイレクトシーケンシングを行い、新たな SNP の検出も行った。

川崎病患者については、本研究班への参加病院からの症例 188 例について、対照群としては、千葉市の小学生と大阪市の成人ボランティア合わせて 1050 名における遺伝子型の頻度を決定した。各群における、遺伝子型ないしアレルの頻度の差について、 $\chi^2$ 乗検定にて検討した。有意水準については、多重比較を考慮しな

いで、0.05 以下を有意の相関とみなした。

連鎖不平衡(LD)の状況、タグ SNP による単一 SNP、ハプロタイプの相関解析は Haploview ver. 4.2 と SNPalyze V7.0 Pro を用いて行った。

#### C 研究結果

188 例の患者の発症月例は、1 カ月から 144 カ月の範囲であり、平均 29 カ月であった。対照集団の年齢は、6 才から 75 才の範囲であり、平均 29 才であった。

11 番染色体 11q21-22.3 の MMP クラスターの 9 つの MMP 遺伝子の SNP について、一般集団サンプル 48 名のタイピングをおこなった。LD の状況より、9 遺伝子から 92 のタグ SNP を選ぶことが出来た。図1は、この領域の遺伝子の配置と、検討した 92 の多型間の LD 地図、ハプロタイプブロック(HB)を表している。遺伝子と遺伝子の周りを中心としたこれらの SNP は、17 の HB に分かれており、ほとんどの遺伝子は一つの HB に属しているが、MMP20 遺伝子は、他の MMP 遺伝子より大きく、5 つの HB と HB に属さない 1 つの SNP からなっていた。

タイピングをした SNP の情報と、アレル頻度

についての症例対象研究の結果を表1に示す。また、単一 SNP のアレル頻度の  $\chi^2$  乗検定の P 値の分布を図 2A に示した。これらの結果から、0.05 より小さい P 値を示す SNP は、MMP20、MMP8、MMP10、MMP13 に見出された。

ハプロタイプとの相関解析の P 値の分布は、図 2B に示す。0.05 以下の P 値を示したハプロタイプは、MMP20 遺伝子の存在する HB2、HB3、HB5、HB6 に見出された。また、MMP8 の存在する HB9、MMP10 の存在する MB10、MMP13 の存在する HB17 のハプロタイプが疾患との相関の P 値が 0.05 を切っていた。

MMP20 遺伝子の領域 HB5 には、川崎病と相関を示した、3 つのアミノ酸置換を伴う多型が存在していた。HB2、HB3、HB6 の多型はイントロンに存在しており、遺伝子の発現に関係するハプロタイプである可能性が考えられる。

MMP8 遺伝子には、単独で相関を示すアミノ酸置換を伴う SNP が見出された (SNP6,  $P=0.02$ )。疾患との相関の P 値が 0.05 を示す多型 (SNP3) も存在していた。

MMP13 遺伝子の SNP5 は、本遺伝子の最後のエクソンの下流に存在する SNP であり、本遺伝子のプロモーター部に存在し、発現に影響を与えていることがわかっている -77G/A (SNP6) とは別の HB に属していた。

有意な相関を示した SNP のオッズ比 (OR) は、表 2 に示した。1.5~2.4 の範囲にあり、多因子遺伝子病に多く見られる値であり、極端に大きな影響のある SNP は見出されなかった。MMP10 の SNP11 は遺伝子型としては、疾患との相関が 0.05 を切らなかったため、表には含まれていない。

#### D 考察

11 番染色体の MMP クラスター領域の MMP

遺伝子について、疾患との相関をスクリーニングし、MMP8、MM13、MMP20 遺伝子の SNP ないハプロタイプと疾患の相関が 0.05 以下の P 値を示すことが分かった。検討した、SNP の総数からみて、これらの遺伝子が真に疾患の感受性を示す多型を有すると結論づけるためには、相関の再現性をみるか、さらに症例を解析し、多重比較の補正を凌駕する P 値を得る必要がある。疾患との有意性を、アレル頻度のみで検定するという条件下で、Bonferroni 補正を行うとすると、0.00054 以下の P 値が必要である。MMP20 SNP2 について、現在観察された頻度差があったと仮定し、これを有意とするには、対照群が 1050 名で固定すると、患者群としては 1085 名必要であり、MMP8 SNP6 については、患者群 1450 名という数になり、本研究期間中に収集することは、不可能と思われる。したがって、遺伝子多型解析結果のみからは、疾患との関連の結論は出せない。

MMP8 SNP6 については、分担者が並行して行っている小児喘息での検討でも有意な相関が認められ、両疾患群ともアレル頻度が上昇している。塩基性から酸性アミノ酸への置換であり、喘息、川崎病に共通な炎症のプロセスへの本遺伝子の関与の可能性もある。現在、この多型について、酵素の活性、器質特異性への影響の検討をおこなっている。MMP8 は、IL-13 の生理活性を制御しているといわれている IL-13 受容体  $\alpha_2$  を基質としていることがマウスでは示されており、アレルギー疾患との関連は、IgE 産生を介して関与していることが推定されるが、その他のメカニズムによる疾患との関連の可能性も十分残されている。

MMP13 遺伝子についても、川崎病と相関を示した SNP5 は、小児喘息と成人喘息の両方との相関も認められており、これら疾患群で共通

してアレル頻度が高くなっている。この SNP は MMP13 遺伝子の 3'側 に位置しており、その機能としては、エンハンサー活性に影響を与えているか、影響を与えている多型と LD である可能性が想定される。

MMP20 については歯のエナメル質形成との関連が調べられているが、その他の疾患との関連についての情報はない。喘息との関連も見出されていない。本遺伝子においては、相互に弱い LD を示す複数の HB が疾患との相関を示しているため、疾患発症へ影響する機能性多型を同定するために、さらなる検討が必要である。

MMP10 については、アレル頻度の疾患との相関の P 値がぎりぎり 0.05 を切った SNP11 と一つのハプロタイプが見出されが、疾患との相関の強さと機能の面で、あまり有望な相関とは言えない。本遺伝子の機能についても、あまり情報がなく、川崎病と本遺伝子の関連を見出すのは難しいと思われる。

## E 結論

川崎病の感受性遺伝子の候補として、9 個の MMP 遺伝子を検討し、MMP8、MMP10、MMP13、MMP20 の 4 つの遺伝子が本症の発症と相関することが示唆された。

## F 健康危険情報

該当無し。

## G 研究発表

### 1. 論文発表

(1) Onouchi Y, Ozaki K, Buns JC, Shimizu C, Hamada H, Honda T, Terai M, Honda A, Takeuchi T, Shibuta S, Suenaga T,

Suzuki H, Higashi K, Yasukawa K, Suzuki Y, Sasago K, Kemmotsu Y, Takatsuki S, Saji T, Yoshikawa T, Nagai T, Hamamoto K, Kishi F, Ouchi K, Sato Y, Newburger JW, Baker AL, Shulman ST, Rowley AH, Yashiro M, Nakamura Y, Wakui K, Fukushima Y, Fujino A, Tsunoda T, Kawasaki T, Hata A, Nakamura Y, Tanaka T. Common variants in CASP3 confer susceptibility to Kawasaki disease. Hum Mol Genet. May10(e-pub ),2010

(2) Hitomi, Y., Ebisawa, M., Tomikawa, M., Imai, T., Komata, T., Hirota, T., Harada, M., Sakashita, M., Suzuki, Y., Shimojo, N., Kohno, Y., Fujita, K., Miyatake, A., Doi, S., Enomoto, T., Taniguchi, M., Higashi, N., Nakamura, Y., Tamari, M. Associations of functional NLRP3 polymorphisms with susceptibility to food-induced anaphylaxis and aspirin-induced asthma. J Allergy Clin Immunol 124: 779-785 e776, 2009.

(3) Imada, Y., Fujimoto, M., Hirata, K., Hirota, T., Suzuki, Y., Saito, H., Matsumoto, K., Akazawa, A., Katsunuma, T., Yoshihara, S., Ebisawa, M., Shibasaki, M., Arinami, T., Tamari, M., Noguchi, E. Large scale genotyping study for asthma in the Japanese population. BMC Res Notes 2: 54, 2009.

(4) Suzuki, Y., Hattori, S., Mashimo, Y., Funamizu, M., Kohno, Y., Okamoto, Y., Hata, A., Shimojo, N. CD14 and IL4R gene polymorphisms modify the effect of day care attendance on serum IgE levels. J Allergy Clin Immunol 123: 1408-1411

e1401, 2009.

- (5) Undarmaa, S., Mashimo, Y., Hattori, S., Shimojo, N., Fujita, K., Miyatake, A., Doi, S., Kohno, Y., Okamoto, Y., Hirota, T., Tamari, M., Hata, A., Suzuki, Y. Replication of genetic association studies in asthma and related phenotypes. *J Hum Genet* (e-pub) 2010.

## 2. 学会発表

- (1) 鈴木啓之、寺井 勝、浜田洋通、本田隆文、末永智浩、武内 崇、渋谷昌一、吉川徳茂、尾内善広、鈴木洋一、羽田 明:2回のIMGに不応の川崎病 17 例に対するシクロスポリン治療の検討. 第29回日本川崎病研究会 平成21年9月10日 名古屋

- (2) MMP13 遺伝子と喘息発症との相関

真下 陽一、佐藤 正子、下条直樹、広田 朝光、土居 悟、宮武 昭彦、岡本 美孝、河野 陽一、玉利 真由美、羽田 明、鈴木 洋一  
日本人類遺伝学会 平成21年9月24-26日 東京

- (3) Yoichi Suzuki, Hiroki Inoue, Yoichi Mashimo, Shuji Yonekura, Shigetoshi, Horiguchi, Naoki Shimojo, Yoichi Kohno, Yoshitaka Okamoto, Akira Hata, Association of the MMP9 gene with childhood allergic rhinitis アメリカ人類遺伝学会 平成21年10月21-24日 ワイキキ

- (4) Onouchi Y, Ozaki K, Suzuki H, Terai M, Suzuki Y, Hata A, Nakamura Y, Tanaka T. Association between a functional polymorphism of ITPKC gene and Kawasaki disease: a replication study. アメリカ人類遺伝学会 平成21年10月21-24日 ワイキキ

- (5) MMP13 遺伝子と喘息発症との相関

鈴木 洋一、真下 陽一、佐藤 正子、下条直樹、広田 朝光、土居 悟、宮武 昭彦、岡本 美孝、河野 陽一、玉利 真由美、羽田 明  
日本アレルギー学会 平成21年10月29-30日 秋田

- H 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

該当無し。





表 1 Association study of MMP SNPs with MCLS

SNP number	SNP Name	Haplo-type Block	Allele	Frequency (case, control)	Chi square	P value
01	MMP7_SNP8		C	0.361, 0.360	0.00	0.96
02	MMP7_SNP7		G	0.503, 0.458	2.60	0.11
03	MMP7_SNP6	1	T	0.194, 0.171	1.15	0.28
04	MMP7_SNP5	1	T	0.918, 0.910	0.21	0.65
05	MMP7_SNP4	1	A	0.189, 0.165	1.30	0.25
06	MMP7_SNP3	1	T	0.605, 0.582	0.67	0.41
07	MMP7_SNP2	1	A	0.277, 0.272	0.04	0.85
08	MMP7_SNP1	1	G	0.086, 0.070	1.27	0.26
09	MMP20_SNP22	2	G	0.811, 0.793	0.66	0.42
10	MMP20_SNP21	2	C	0.396, 0.385	0.15	0.70
11	MMP20_SNP20	2	C	0.910, 0.882	2.36	0.12
12	MMP20_SNP19	3	G	0.229, 0.178	5.42	0.02
13	MMP20_SNP18	3	C	0.782, 0.749	1.83	0.18
14	MMP20_SNP17	4	G	0.061, 0.042	2.74	0.10
15	MMP20_SNP16	4	T	0.633, 0.613	0.51	0.47
16	MMP20_SNP15	4	A	0.056, 0.041	1.82	0.18
17	MMP20_SNP14	4	G	0.521, 0.515	0.06	0.82
18	MMP20_SNP13	5	C	0.155, 0.122	3.05	0.08
19	MMP20_SNP12	5	G	0.976, 0.957	2.89	0.09
20	MMP20_SNP11	5	T	0.582, 0.572	0.14	0.71
21	MMP20_SNP10	5	C	0.582, 0.578	0.03	0.87
22	MMP20_SNP9	5	T	0.582, 0.571	0.18	0.67
23	MMP20_SNP8	5	G	0.484, 0.482	0.01	0.94
24	MMP20_SNP7	5	G	0.638, 0.611	1.02	0.31
25	MMP20_SNP6	5	C	0.088, 0.080	0.24	0.62
26	MMP20_SNP5	5	C	0.662, 0.636	0.94	0.33
27	MMP20_SNP4	5	A	0.069, 0.044	4.43	0.04
28	MMP20_SNP3		A	0.134, 0.126	0.18	0.68
29	MMP20_SNP2	6	G	0.117, 0.078	6.15	0.01
30	MMP20_SNP1	6	A	0.489, 0.485	0.02	0.88
31	MMP27_SNP9	7	C	0.761, 0.746	0.36	0.55
32	MMP27_SNP8	7	A	0.072, 0.062	0.54	0.46
33	MMP27_SNP7	7	T	0.231, 0.213	0.64	0.42
34	MMP27_SNP6	7	T	0.093, 0.072	2.02	0.16
35	MMP27_SNP5	7	T	0.561, 0.535	0.89	0.35
36	MMP27_SNP4		G	0.543, 0.513	1.14	0.29
37	MMP27_SNP3	8	A	0.072, 0.060	0.76	0.38
38	MMP27_SNP2	8	C	0.314, 0.302	0.22	0.64
39	MMP27_SNP1	8	T	0.226, 0.204	0.97	0.32
40	MMP8_SNP8	9	T	0.319, 0.304	0.36	0.55
41	MMP8_SNP7	9	T	0.215, 0.191	1.19	0.28
42	MMP8_SNP6	9	A	0.319, 0.263	5.16	0.02
43	MMP8_SNP5	9	A	0.072, 0.057	1.33	0.25
44	MMP8_SNP4	9	C	0.314, 0.265	3.79	0.05
45	MMP8_SNP3	9	G	0.327, 0.271	5.06	0.02
46	MMP8_SNP2	9	T	0.926, 0.923	0.04	0.84
47	MMP8_SNP1		C	0.383, 0.335	3.28	0.07
48	MMP10_SNP12		A	0.130, 0.119	0.39	0.53
49	MMP10_SNP11	10	A	0.170, 0.131	4.25	0.04
50	MMP10_SNP10	10	G	0.644, 0.627	0.37	0.54

表 1 続き Association study of MMP SNPs with MCLS

SNPN um ber	SNP Name	Haplo- type Block	Allele	Frequency (case, control)	Chi square	P value
51	MMP10_SNP9	10	C	0.856, 0.848	0.16	0.69
52	MMP10_SNP8	10	C	0.543, 0.529	0.24	0.63
53	MMP10_SNP7		T	0.886, 0.876	0.25	0.62
54	MMP10_SNP6	11	G	0.056, 0.051	0.18	0.67
55	MMP10_SNP5	11	A	0.415, 0.390	0.85	0.36
56	MMP10_SNP4	11	G	0.973, 0.965	0.72	0.40
57	MMP10_SNP3	11	T	0.774, 0.768	0.07	0.80
58	MMP10_SNP2	11	G	0.891, 0.885	0.13	0.72
59	MMP10_SNP1	11	T	0.420, 0.390	1.21	0.27
60	MMP1_SNP13	11	G	0.973, 0.965	0.65	0.42
61	MMP1_SNP12	11	T	0.774, 0.765	0.14	0.71
62	MMP1_SNP11	11	T	0.418, 0.389	1.05	0.31
63	MMP1_SNP10	11	A	0.856, 0.851	0.07	0.79
64	MMP1_SNP9	11	G	0.886, 0.878	0.19	0.66
65	MMP1_SNP8		G	0.665, 0.647	0.45	0.50
66	MMP1_SNP7		C	0.165, 0.162	0.01	0.91
67	MMP1_SNP6	12	A	0.566, 0.551	0.29	0.59
68	MMP1_SNP5	12	G	0.117, 0.106	0.39	0.53
69	MMP1_SNP4	12	T	0.479, 0.475	0.02	0.89
70	MMP1_SNP3		C	0.239, 0.206	2.16	0.14
71	MMP1_SNP2	13	1G	0.343, 0.311	1.48	0.22
72	MMP1_SNP1	13	G	0.872, 0.846	1.75	0.19
73	MMP3_SNP4	14	C	0.431, 0.410	0.59	0.44
74	MMP3_SNP3	14	A	0.904, 0.886	1.06	0.30
75	MMP3_SNP2	14	A	0.335, 0.300	1.83	0.18
76	MMP3_SNP1	14	A	0.585, 0.582	0.01	0.91
77	MMP3_m1612	15	5T	0.149, 0.135	0.48	0.49
78	MMP12_SNP7	15	G	0.068, 0.054	1.13	0.29
79	MMP12_SNP6	15	G	0.066, 0.051	1.48	0.22
80	MMP12_SNP5	15	A	0.130, 0.123	0.16	0.69
81	MMP12_SNP4	15	G	0.634, 0.631	0.01	0.93
82	MMP12_SNP3	15	C	0.285, 0.269	0.41	0.52
83	MMP12_SNP2	15	G	0.118, 0.108	0.34	0.56
84	MMP12_SNP1	15	A	0.981, 0.980	0.02	0.88
85	MMP13_SNP8	16	A	0.069, 0.047	3.29	0.07
86	MMP13_SNP7	16	A	0.762, 0.753	0.14	0.71
87	MMP13_SNP6	16	G	0.263, 0.233	1.65	0.20
88	MMP13_SNP5	17	A	0.097, 0.063	5.68	0.02
89	MMP13_SNP4	17	G	0.577, 0.543	1.52	0.22
90	MMP13_SNP3	17	T	0.841, 0.832	0.18	0.67
91	MMP13_SNP2	17	A	0.066, 0.046	2.71	0.10
92	MMP13_SNP1	17	C	0.735, 0.712	0.86	0.35



表 2

Odds ratio and 95% confidence interval

Gene	polymorphism	MCLS vs. Control
MMP8	SNP3	1.80 (1.11-2.91) (Recessive model)
	SNP6	1.83 (1.11-3.04) (Recessive model)
MMP13	SNP5	1.64 (1.08-2.49) (Dominant model)
MMP20	SNP2	1.56 (1.06-2.31) (Dominant model)
	SNP4	1.64 (1.02-2.64) (Dominant model)
	SNP19	2.33 (1.13-4.78) (Recessive model)

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）

## 分担研究報告書

難治性川崎病に対するシクロスポリン投与の有用性の検討 -1

研究分担者 寺井 勝

東京女子医科大学 八千代医療センター

## 難治性川崎病に対するシクロスポリン投与の有用性の検討

研究分担者 寺井 勝 東京女子医科大学八千代医療センター病院長

研究要旨：研究代表者を中心に協議を重ねた川崎病の統一治療プロトコールを作成した。本研究では、東京女子医科大学八千代医療センターならびに関連施設における川崎病患者に対してシクロスポリン A の治療効果ならびに安全性を検討、さらに川崎病感受性遺伝子である ITPKC のタイプとの関連を解析することを目的とした。東京女子医科大学八千代医療センターにおける 2008 年 1 月～10 年 3 月の新規川崎病入院患者のうち IVIG+アスピリン療法 of 初期投与をおこなった 141 例を対象とした。初回 IVIG に反応せず解熱が得られなかった 35 例 (24.8%) に追加 IVIG (2g/kg) を施行した。このうち、24 例は追加 IVIG に反応し、解熱が得られた。一方、追加 IVIG 投与にも解熱しなかった 11 例の患者のうち、月齢 4 ヶ月以上の 10 例の患者に対してシクロスポリン 4mg/kg を経口で 2 週間投与した。その結果、10 例中 6 例ではすみやかな解熱効果が得られたが、4 例では解熱効果が得られずシクロスポリンを増量した。このうち 1 例 (1.3%) は、シクロスポリン A 用量を 8mg/kg に上げて解熱せず、冠状動脈に中等度の動脈瘤 (4-5mm) が出現した。残りの 140 例 (99.3%) には冠動脈病変は認めなかった。シクロスポリンによる重篤な有害事象は認められなかった。関連施設においては、国保旭中央病院及び船橋医療センターにて倫理委員会の承認を得た。

A 研究目的：本研究の目的は、川崎病においていわゆる免疫グロブリン (IVIG) 不応症例に対して、新たにシクロスポリンを用いたプロトコールを当該研究班で作成し、治療投与の有効性と安全性を確かめるものである。IVIG 不応症例では冠動脈瘤の発生頻度が高く、また有効な治療法が確立していないため新たな治療法の開発が急務である。免疫抑制剤であるシクロスポリンは、尾内、羽田が発見した川崎病感受性遺伝子である ITPKC 遺伝子が関与する炎症活性化の経路を抑制することが知られていることから、川崎病の治

療にシクロスポリンが有効であることが期待される。

B 研究方法：治療プロトコールを主任研究者の統括のもとに作成した。本治療プロトコールでは、IVIG 治療の反応性、シクロスポリンの有効性と ITPKC 遺伝子型の相関を 3 年間かけて解析する。また、シクロスポリン治療そのものの問題点、安全性を 3 年間かけて検証する。投与期間は当初 3 週間であったが、解熱効果のあるものは 4 日以内に解熱しており、逆に 2 週間投与して解熱効果のない場合はそれ以上長期投与しても完全な解熱

は得られにくかったことから投与期間を短縮2週間投与に修正した。

C 研究結果： 08年1月～10年3月に川崎病と診断して初期治療で入院した患者141例を対象とした(図参照)。このうち、初回IVIGに反応せず、解熱が得られなかった35例

(21.9%)に追加IVIG(2g/kg)を施行した。このうち、24例は追加IVIGに反応し、解熱が得られた。一方、追加IVIG投与にも解熱しなかった11例の患者のうち、プロトコールに準じて、月齢4ヵ月以上の10例の患者に対してシクロスポリン4mg/kgを経口(分2、食前)で2週間投与した(研究方法参照)。その結果、10例中6例ではすみやかな解熱効果が得られ、検査所見も改善した。一方、4例では解熱効果が得られずシクロスポリンを増量した。このうち1例(0.3%)は、シクロスポリンAの用量を8mg/kgに上げて解熱せず、冠状動脈に中等度の動脈瘤(4-5mm)が出現した。また、2週間投与で解熱効果を認めない3例に再び3回目のIVIGを投与したところ速やかな解熱が得られた(表参照)。動脈瘤の残したのは1例で、残りの140例(99.3%)には冠状動脈病変を認めなかった。シクロスポリンによる重篤な有害事象は認められなかった。冠状動脈瘤を発生した1例に一過性の多毛がみられた。また、臨床症状のない高K血症を一過性に認めた。

シクロスポリン投与前、投与開始後3-6日、投与終了時の血清中の炎症性サイトカインを網羅的に定量解析した。現在まで7例(シクロスポリン有効例5例、不応例2例)の検討では、2例の不応例ではシクロスポリン投与前にIL-6、GCSF、sTNFR2といったサイトカインが高値であった。シクロスポリンが抑制す

るとされるIL-2に着目すると血清IL-2自体は治療前に上昇が認められなかったが、可溶性IL-2受容体 $\alpha$ が有効例に比して高値であった。

D 考察： シクロスポリンに反応する症例は劇的に効果があることが示された。ただし、シクロスポリンに反応しない症例も少なからず存在し、そのITPKC遺伝子型を分担研究者の尾内が解析している。2週間投与で解熱効果を認めない3例に再び3回目のIVIGを投与したところ、解熱が得られたことからシクロスポリンが体内の炎症性サイトカインを修飾していることが示唆された。この点は7例でのサイトカイン解析の結果からも示唆され、今後症例を増やし、治療における病態の解明をすすめたい。

E 結論： シクロスポリン投与は高K血症に注意が必要だが現在のプロトコールで安全に治療が行われている。冠動脈を残す症例は少なく、治療成績は良好である。シクロスポリンの投与期間について2週間が妥当であり、解熱効果がない場合、続いて3回目のIVIGも選択肢になる。シクロスポリンは生体内の炎症性サイトカインを修飾する効果があることが示唆されている。関連施設の治療成績をふまえて、多施設研究として行う場合の診療上の問題点などを明らかにしていく必要がある。

F 健康危険情報： 該当せず

G 研究発表：

1. 論文発表

1) 寺井勝：川崎病の診断と治療指針。「血管疾患を診る・治す」新 心臓病診療プラクティス 15 小室一成編。文光堂 (印刷中)

2) 寺井勝 : 川崎病. 特集 : 小児の治療指針, 小児科診療 73 巻 増刊号 : 297 - 299.

3) Onouchi Y, Ozaki K, Buns JC, Shimizu C, Hamada H, Honda T, Terai M, Honda A, Takeuchi T, Shibuta S, Suenaga T, Suzuki H, Higashi K, Yasukawa K, Suzuki Y, Sasago K, Kemmotsu Y, Takatsuki S, Saji T, Yoshikawa T, Nagai T, Hamamoto K, Kishi F, Ouchi K, Sato Y, Newburger JW, Baker AL, Shulman ST, Rowley AH, Yashiro M, Nakamura Y, Wakui K, Fukushima Y, Fujino A, Tsunoda T, Kawasaki T, Hata A, Nakamura Y, Tanaka T. Common variants in CASP3 confer susceptibility to Kawasaki disease. Hum Mol Genet. May10 (e-pub), 2010.

4) Onouchi Y, Ozaki K, Suzuki H, Terai M, Suzuki Y, Hata A, Nakamura Y, Tanaka T. Association between a functional polymorphism of ITPKC gene and Kawasaki disease: a replication study. The American Society of Human Genetics 59th annual meeting. 2009.10. 21 Hawaii

5) 尾内善広、尾崎浩一、鈴木啓之、寺井勝、鈴木洋一、羽田明、中村祐輔、田中敏博「川崎病と ITPKC 遺伝子多型との相関」日本人類遺伝学会 2009.9.26 東京

## 2. 学会発表

1) 浜田洋通、本田隆文、大村 葉、土屋 希、前田泰宏、森山陽子、市川るり、廣瀬陽介、吉田雅樹、白戸由理、佐々木香織、武藤順子、林北見、寺井 勝 : 川崎病γグロブリン不応例に対するシクロスポリン治療 第 182 回日本小児科学会千葉地方会 2009 年 2 月

2) 浜田洋通、本田隆文、寺井 勝、尾内善広、羽田明 : 川崎病に対するシクロスポリン治療 ; ITPKC 遺伝子 SNP と治療への反応 第 25 回関東川崎病研究会 2009 年 11 月

3) 鈴木啓之、寺井 勝、浜田洋通、本田隆文、末永智浩、武内 崇、洪田昌一、吉川徳茂、尾内善広、鈴木洋一、羽田 明 : 2 回の IVIG に不応の川崎病 17 例に対するシクロスポリン治療の検討. 第 29 回日本川崎病研究会 2009.10. 名古屋



図：治療成績

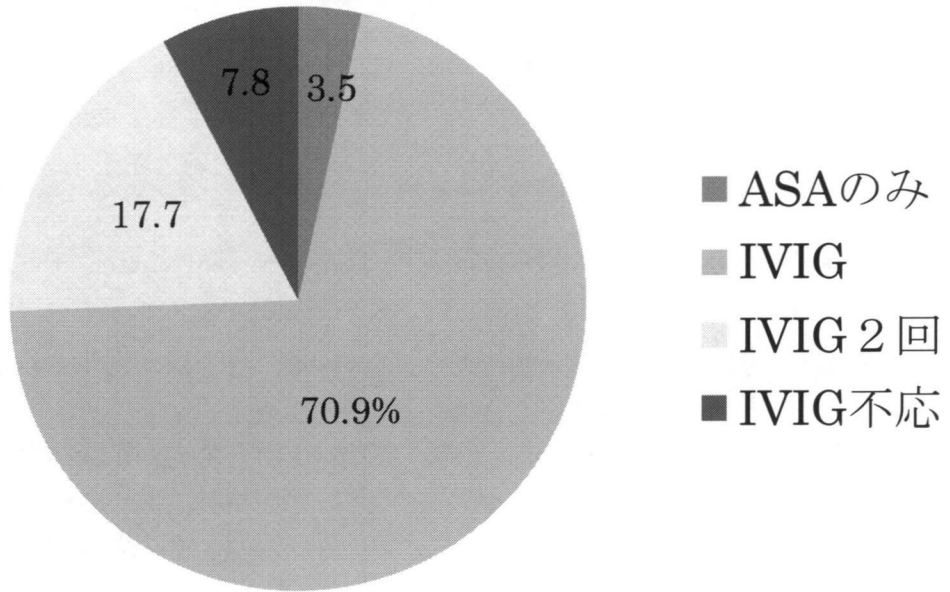


表 シクロスポリン投与症例

Case#	Age(year)	st IVIG+AS	2nd IVIG	CyA	CyA後 解熱	3rd IVIG	その効果	CAL	CyA初期量	CyA最大量
1	3	day4	day6	day9	day10	0		なし	4mg/kg	4mg/kg
2	2	day5	day8	day12	day13	0		なし	4mg/kg	4mg/kg
3	2	day6	day9	day11	効果なし	1	なし	5mm	4mg/kg	8mg/kg
4	1	day5	day7	day9	day12	0		なし	4mg/kg	7mg/kg
5	1	day5	day10	day11	day12	0		なし	4mg/kg	6mg/kg
6	1	day4	day6	day7	効果なし	1	あり	なし	4mg/kg	7mg/kg
7	2	day5	day7	day8	day12	0		なし	4mg/kg	6mg/kg
8	2	day4	day6	day7	day12	0		なし	4mg/kg	4mg/kg
9	1	day4	day6	day8	効果なし	1	あり	なし	4mg/kg	8mg/kg
10	1	day5	day7	day9	効果なし	1	あり	なし	4mg/kg	8mg/kg

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）

## 分担研究報告書

難治性川崎病に対するシクロスポリン投与の有用性の検討 -2

研究分担者 鈴木 啓之

和歌山県立医科大学 小児科

難治性川崎病に対するシクロスポリン投与の有用性の検討 ·2

研究分担者 鈴木啓之 和歌山県立医科大学小児科准教授

研究要旨：研究代表者を中心に協議を重ねて川崎病の統一治療プロトコールを作成した。本研究では、川崎病初期治療において初回 IVIG および追加 IVIG に対する反応性、さらに追加 IVIG に不応な症例に対するシクロスポリン A (CyA) の治療効果ならびに安全性を検討し、プロトコールに同意を得て参加した全症例の川崎病感受性遺伝子である ITPKC の SNP タイプとの関連を解析することを目的とした。和歌山県立医科大学小児科および関連 6 施設（橋本市民病院・公立那賀病院・和歌山ろうさい病院・国保日高病院・紀南病院・泉大津市立病院）において平成 20 年 5 月から統一プロトコールでの治療を開始した。

平成 20 年 5 月から平成 21 年 12 月 31 日までに和歌山医大小児科および関連 6 施設に入院した新規川崎病入院患児の内、統一プロトコール治療を行った 117 例を対象とした。この内、初回 IVIG のみで解熱した症例は 88 (75.2%) 例、初回 IVIG に不応であったが追加 IVIG で解熱した症例は 14 (12.0%) 例、初回・追加 IVIG とともに不応で CyA 投与を行った症例は 15 (12.8%) 例であった。15 例中 7 例は 2 日以内に、6 例は 5 日以内に解熱した。残り 2 例は 6 日以上解熱しない CyA 反応不良例で、CyA を増量し、解熱した。冠動脈病変は CyA 投与 15 例中 2 例に生じた。この 2 例中 1 例は追加 IVIG 中にすでに冠動脈拡張を生じ、CyA を開始した 8 病日に右側冠動脈に 5-6mm の瘤を認めた。CyA 投与後に速やかに解熱したが、瘤は 10-11mm 大の巨大瘤に進展した。他の 1 例も CyA 投与開始時にすでに左冠動脈主幹部に軽度の拡張を認め、CyA による解熱は 6 日を要した。左冠動脈は最終的に 5.8mm に瘤を残した。高 K 血症 ( $\geq 6.0$  または  $\geq 5.5$  mEq/L) を 9 例 (40.9%) に認めたが、無症候性で有害事象は生じなかった。

CyA は IVIG 不応の難治性川崎病に対する一つの治療オプションとして有用である可能性があり、安全性、投与時期、投与量について更なる検討を行う予定である。

A. 研究目的: 本研究の目的は、川崎病治療において統一プロトコールで治療を行い、初回 IVIG および追加 IVIG に対する反応性、さらに追加 IVIG に不応な症例に対するシクロスポリン A (CyA) の治療効果ならびに安全性を確かめ、これらの治療反応性と川崎病感受性遺伝子である ITPKC 遺伝子型との関連を解析するものである。IVIG 不応症例では冠動脈瘤の発生頻度が高いが、まだ有効な治療法が確立していないため新たな治療法の開発が急務である。免疫抑制剤である CyA は、尾内、羽田が発見した川崎病感受性遺伝子の ITPKC 遺伝子が関与する炎症活性化の経路を抑制することが知られていることから、川崎病の治療に CyA が有効であることが期待される。

B 研究方法: 治療プロトコールを主任研究者の統括のもとに作成した。本治療プロトコールでは、IVIG 治療の反応性、CyA の有効性と ITPKC 遺伝子型の相関を 3 年間かけて解析する。また、CyA 治療そのものの問題点、安全性を 3 年間かけて検証する。

C 研究結果: 08 年 5 月～09 年 12 月に新規川崎病として入院した患者のうち、IVIG+アスピリン療法の初期投与をおこなった 117 例を対象とした。この内、初回 IVIG のみで解熱した症例は 88 (75.2%) 例、初回 IVIG に不応であったが追加 IVIG で解熱した症例は 14 (12.0%) 例、初回・追加 IVIG とともに不応で CyA 投与を行った症例は 15 (12.8%) 例であった。15 例中 7 例は 2 日以内に、6 例は 5 日以内に解熱した。残り 2 例は 6 日以上解熱しない CyA 反応不良例で、CyA を増量し、解熱した。冠動脈病変は CyA 投与 15 例中 2 例に生じた。この 2 例中 1 例は追加 IVIG 中にすでに冠動脈拡張を生じ、CyA を開始した 8

病日に右側冠動脈に 5-6mm の瘤を認めた。CyA 投与開始翌日に速やかに解熱したが、瘤は 10-11mm 大の巨大瘤に進展した。他の 1 例も CyA 投与開始時にすでに左冠動脈主幹部に軽度の拡張を認めた。この例は CyA による解熱に 6 日を要した。左冠動脈は最終的に 5.8mm の瘤を残した。高 K 血症 (1 歳未満:  $K \geq 6.0$ 、1 歳以上:  $K \geq 5.5 \text{ mEq/L}$ ) を 9 例 (40.9%) に認めたが、無症候性で有害事象は生じなかった。

D 考察: 初回・追加 IVIG に不応な症例に対して CyA は、解熱効果や抗炎症効果が明瞭であることが示された。ただし、CyA に反応が充分でない症例も存在し、その ITPKC 遺伝子型など遺伝子型分析との相関を分担研究者の尾内が解析している。また、CyA は冠動脈障害が生じた後に投与してもその進展を阻止できないことが示唆され、CyA の初期投与量を増量やより早期投与を考慮する必要がある。

E 結論: 今後も症例を積み重ねて解析し、CyA の安全性、投与量、投与開始時期のさらなる検討を行う予定である。また CyA への反応性と遺伝子型との相関を検討し、プロトコールを再検討する際の参考としたい。さらに、投与前後のサイトカインプロファイルを解析して CyA の作用メカニズムの解明にも迫りたい。

F 健康危険情報: 該当せず

G 研究発表:

1. 論文発表

① 津野嘉伸、南 孝臣、比嘉明日美、津田祐子、坊岡美奈、泉 鉦吉、宮脇正和、浜田昌一、武内 崇、鈴木啓之、吉川徳茂: 頸部リンパ節腫脹のフォロー中に発熱と冠動脈変化を認め、川