

H 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。):  
該当なし

図 1 MMPクラスター領域の haplotype block

Figure 1 Chr. 11 11q21-22.3 ca. 435kbp

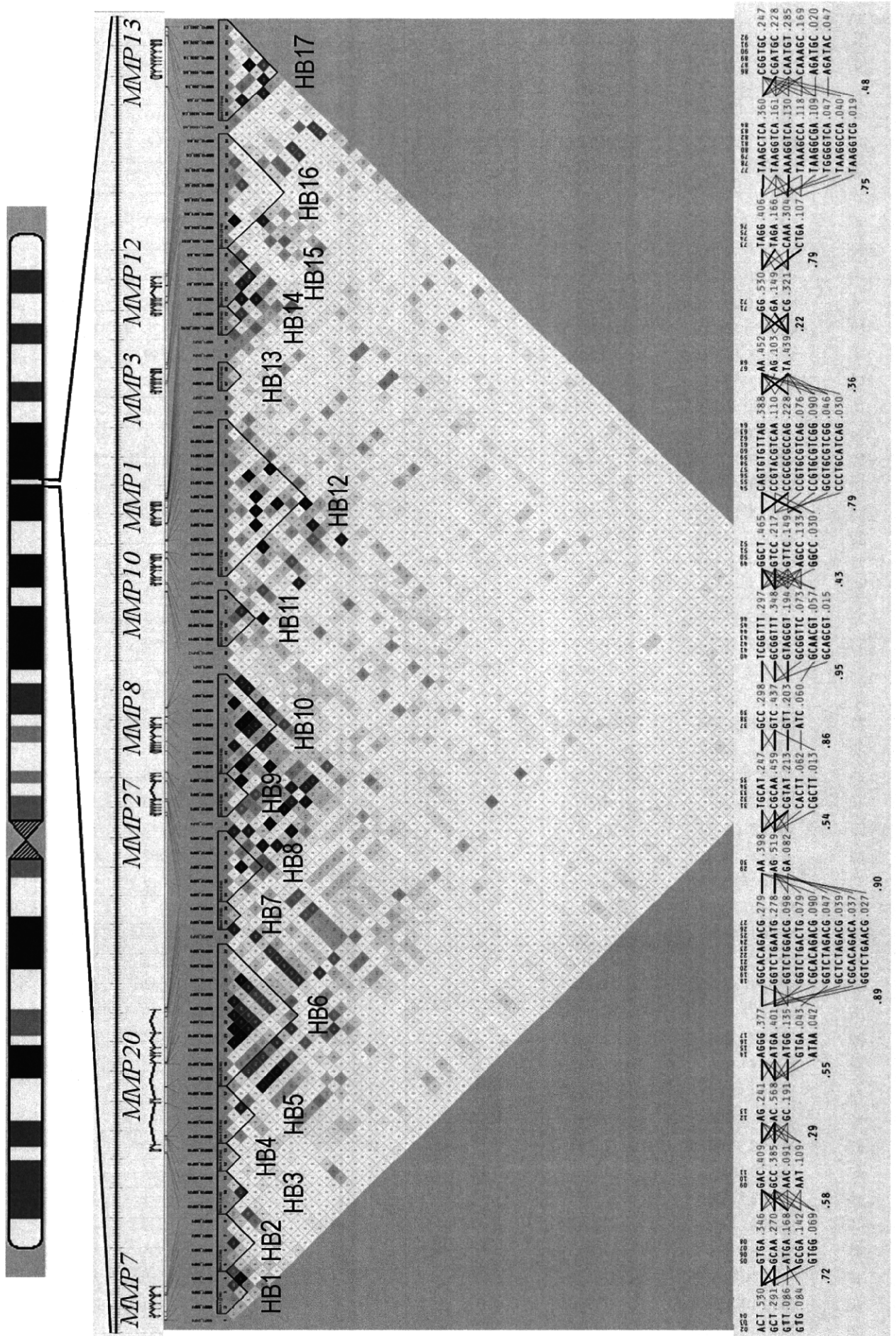


表-1. Association study of MMP SNPs with MCLS (allele frequency)

SNP number	SNP Name	rs number	description	Haplotype Block	Allele	Frequency (case,cont)	Chi square	P value
01	MMP7_SNP8	rs10895304			C	0.655: 0.640	0.44	0.509
02	MMP7_SNP7	rs495041		1	G	0.479: 0.458	0.79	0.375
03	MMP7_SNP6	rs14983		1	T	0.199: 0.171	2.37	0.124
04	MMP7_SNP5	rs17352054		1	T	0.913: 0.910	0.03	0.854
05	MMP7_SNP4	rs10502001	R27H	2	A	0.191: 0.165	2.03	0.154
06	MMP7_SNP3	rs10750646		2	T	0.591: 0.582	0.16	0.693
07	MMP7_SNP2	rs12575975		2	A	0.276: 0.272	0.03	0.855
08	MMP7_SNP1	rs11568818	-181A/G	2	G	0.072: 0.070	0.02	0.890
09	MMP20_SNP22	rs6590972		3	G	0.808: 0.793	0.62	0.432
10	MMP20_SNP21	rs12791833		3	C	0.411: 0.385	1.22	0.269
11	MMP20_SNP20	rs7117925		3	C	0.900: 0.882	1.44	0.231
12	<b>MMP20_SNP19</b>	<b>rs11225332</b>		<b>4</b>	<b>G</b>	<b>0.242: 0.178</b>	<b>11.70</b>	<b>0.001</b>
13	<b>MMP20_SNP18</b>	<b>rs9787933</b>		<b>4</b>	<b>C</b>	<b>0.790: 0.749</b>	<b>4.00</b>	<b>0.046</b>
14	MMP20_SNP17	rs1784411		5	G	0.048: 0.042	0.40	0.529
15	MMP20_SNP16	rs1784410		5	T	0.651: 0.613	2.68	0.102
16	MMP20_SNP15	rs2292732		5	A	0.052: 0.041	1.32	0.251
17	MMP20_SNP14	rs1784407		5	G	0.491: 0.485	0.06	0.807
18	MMP20_SNP13	rs1784408		6	C	0.145: 0.122	1.98	0.160
19	MMP20_SNP12	rs17098800		6	G	0.966: 0.957	0.81	0.367
20	MMP20_SNP11	rs1711427		6	T	0.603: 0.572	1.66	0.198
21	MMP20_SNP10	rs1784424	N281T	6	C	0.601: 0.578	1.00	0.317
22	MMP20_SNP9	rs1784423	A275V	6	T	0.601: 0.571	1.71	0.191
23	MMP20_SNP8	rs3781787		6	G	0.512: 0.482	1.63	0.202
24	MMP20_SNP7	rs3781788		6	G	0.395: 0.389	0.06	0.804
25	MMP20_SNP6	rs17099008	L169I	6	C	0.087: 0.080	0.29	0.591
26	MMP20_SNP5	rs11225344		6	C	0.367: 0.364	0.01	0.908
27	<b>MMP20_SNP4</b>	<b>rs1962082</b>		<b>6</b>	<b>A</b>	<b>0.064: 0.044</b>	<b>3.89</b>	<b>0.049</b>
28	MMP20_SNP3	rs2245803	T18K		A	0.127: 0.126	0.00	0.953
29	MMP20_SNP2	rs2245897		7	G	0.100: 0.078	2.63	0.105
30	MMP20_SNP1	rs1573954		7	A	0.541: 0.515	1.21	0.271
31	MMP27_SNP9	rs10895348		8	C	0.767: 0.746	1.02	0.313
32	MMP27_SNP8	rs2509010	N447D	8	A	0.071: 0.062	0.65	0.419
33	MMP27_SNP7	rs4754869		8	T	0.221: 0.213	0.15	0.695
34	MMP27_SNP6	rs10895352		8	T	0.089: 0.072	1.81	0.179
35	MMP27_SNP5	rs1276286	V266G	8	T	0.544: 0.535	0.17	0.683
36	MMP27_SNP4	rs2845675			G	0.518: 0.513	0.05	0.829
37	MMP27_SNP3	rs2846707		9	A	0.068: 0.060	0.44	0.507
38	MMP27_SNP2	rs1939015		9	C	0.705: 0.698	0.09	0.770
39	MMP27_SNP1	rs12099177		9	T	0.214: 0.204	0.26	0.609
40	MMP8_SNP8	rs12284255		10	T	0.698: 0.696	0.00	0.957
41	MMP8_SNP7	rs3740938		10	T	0.205: 0.191	0.51	0.476
42	MMP8_SNP6	rs1940475	K87E	10	A	0.302: 0.263	3.58	0.059
43	MMP8_SNP5	rs11225394		10	A	0.068: 0.057	0.97	0.324
44	MMP8_SNP4	rs3765620	T32I	10	C	0.294: 0.265	1.80	0.180
45	MMP8_SNP3	rs3758859		10	G	0.310: 0.271	3.35	0.067
46	MMP8_SNP2	rs7943404		10	T	0.931: 0.923	0.41	0.523
47	MMP8_SNP1	rs3758861			C	0.356: 0.335	0.88	0.349
48	MMP10_SNP12	rs470209			A	0.126: 0.119	0.23	0.635
49	<b>MMP10_SNP11</b>	<b>rs17099553</b>		<b>11</b>	<b>A</b>	<b>0.169: 0.131</b>	<b>5.49</b>	<b>0.019</b>
50	MMP10_SNP10	rs11225418		11	G	0.651: 0.627	1.10	0.294

表 1 ( 続き) Association study of MMP SNPs with MCLS

SNP	SNP Name	rs number	Description	Haplotype	Allele	Frequency	Chi	P value
51	MMP10_SNP9	rs470168		11	C	0.849: 0.848	0.00	0.977
52	MMP10_SNP8	rs7119084		11	C	0.534: 0.529	0.04	0.838
53	MMP10_SNP7	rs470277			T	0.884: 0.876	0.26	0.612
54	MMP10_SNP6	rs17435959	LAV	12	G	0.071: 0.051	3.59	0.058
55	MMP10_SNP5	rs3831412		12	A	0.409: 0.390	0.72	0.397
56	MMP10_SNP4	rs7112080		12	G	0.977: 0.965	2.03	0.154
57	MMP10_SNP3	rs7127735		12	T	0.237: 0.232	0.05	0.824
58	MMP10_SNP2	rs470130		12	G	0.886: 0.885	0.01	0.915
59	MMP10_SNP1	rs4754880		12	T	0.413: 0.390	0.96	0.328
60	MMP1_SNP13	rs7945189		12	G	0.977: 0.965	1.90	0.168
61	MMP1_SNP12	rs2071230		12	T	0.238: 0.235	0.03	0.866
62	MMP1_SNP11	rs2239008		12	T	0.409: 0.389	0.72	0.395
63	MMP1_SNP10	rs470215		12	A	0.151: 0.149	0.02	0.885
64	MMP1_SNP9	rs470558		12	G	0.888: 0.878	0.44	0.508
65	MMP1_SNP8	rs470358			G	0.673: 0.647	1.29	0.257
66	MMP1_SNP7	rs514921			C	0.167: 0.162	0.07	0.785
67	MMP1_SNP6	rs475007		13	A	0.566: 0.551	0.37	0.543
68	MMP1_SNP5	rs1144393		13	G	0.121: 0.106	0.99	0.319
69	MMP1_SNP4	rs498186			T	0.484: 0.475	0.15	0.701
70	MMP1_SNP3	rs2075847			C	0.242: 0.206	3.46	0.063
71	<b>MMP1_SNP2</b>	<b>rs11292517</b>	<b>-1607 2G/1G</b>	<b>14</b>	<b>1G</b>	<b>0.357: 0.311</b>	<b>4.24</b>	<b>0.040</b>
72	MMP1_SNP1	rs470206		14	G	0.870: 0.846	2.04	0.153
73	<b>MMP3_SNP4</b>	<b>rs650108</b>		<b>15</b>	<b>C</b>	<b>0.461: 0.410</b>	<b>4.75</b>	<b>0.029</b>
74	MMP3_SNP3	rs646910		15	A	0.902: 0.886	1.16	0.282
75	<b>MMP3_SNP2</b>	<b>rs679620</b>		<b>15</b>	<b>A</b>	<b>0.365: 0.300</b>	<b>8.56</b>	<b>0.003</b>
76	MMP3_SNP1	rs522616		15	A	0.612: 0.582	1.66	0.198
77	MMP3_m1612	rs35068180	-1605 6T/5T	16	5T	0.167: 0.135	3.72	0.054
78	MMP12_SNP7	rs651159		16	G	0.951: 0.946	0.24	0.627
79	MMP12_SNP6	rs652438	N357S	16	G	0.952: 0.949	0.08	0.778
80	MMP12_SNP5	rs632009		16	A	0.133: 0.123	0.45	0.505
81	MMP12_SNP4	rs28381669		16	G	0.659: 0.631	1.46	0.226
82	MMP12_SNP3	rs7123600		16	C	0.302: 0.269	2.54	0.111
83	MMP12_SNP2	rs10895367		16	G	0.137: 0.108	3.54	0.060
84	MMP12_SNP1	rs2276109	-82A/G	16	A	0.984: 0.980	0.28	0.597
85	MMP13_SNP8	rs11824755			A	0.258: 0.233	1.56	0.212
86	MMP13_SNP7	rs11826440	16385C/A	17	A	0.077: 0.063	1.42	0.233
87	MMP13_SNP6	rs2252070	-77G/A	17	G	0.543: 0.543	0.00	0.999
88	MMP13_SNP5	rs2509110		17	A	0.055: 0.047	0.65	0.420
89	MMP13_SNP4	rs17860513		17	G	0.247: 0.247	0.00	0.984
90	MMP13_SNP3	rs11225492		17	T	0.176: 0.168	0.20	0.654
91	MMP13_SNP2	rs476333	-2976G/A	17	A	0.053: 0.046	0.47	0.494
92	MMP13_SNP1	rs671188		17	C	0.718: 0.712	0.08	0.778



图 2 Haplotype association P value

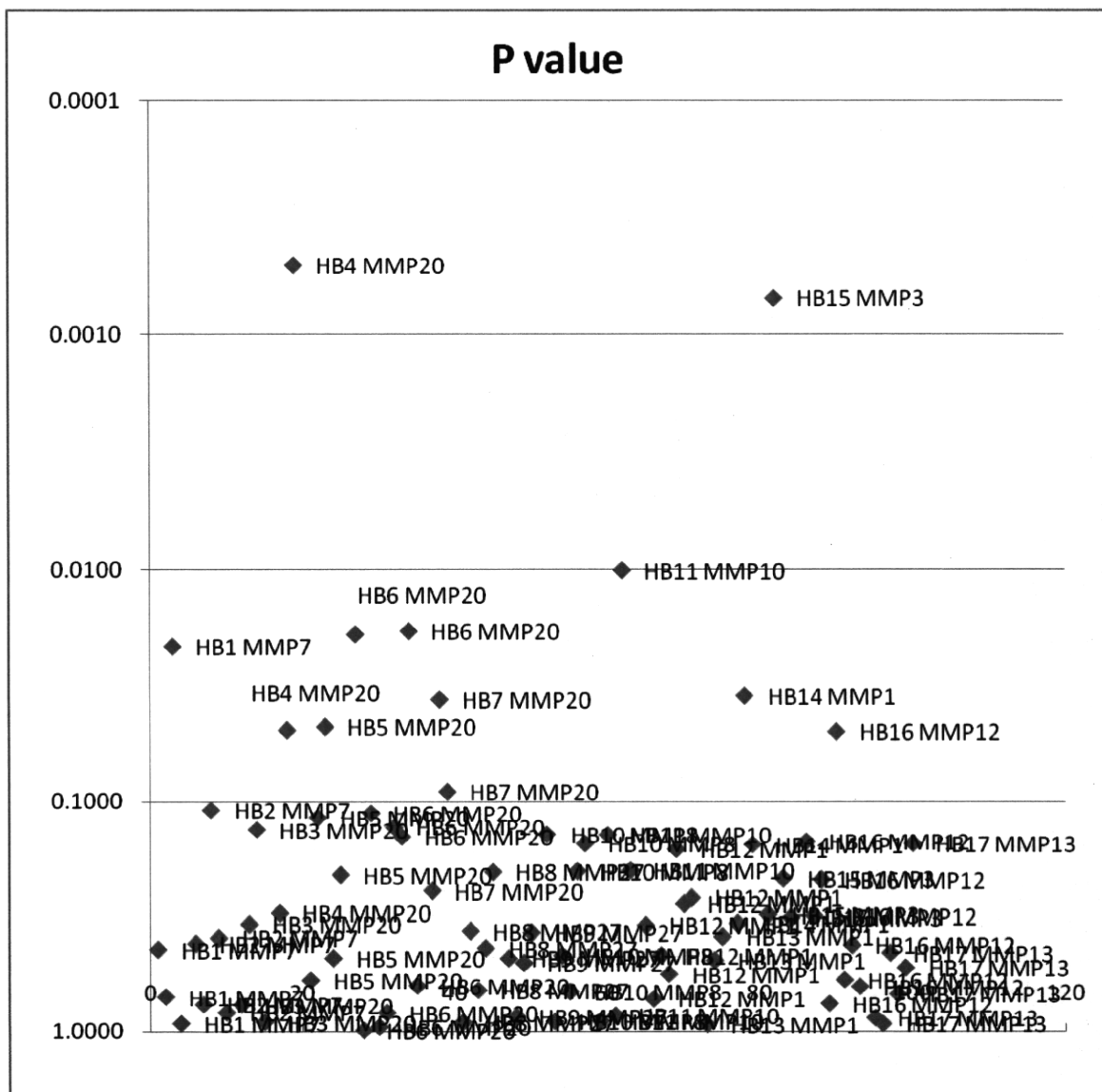


表 2 Odds ratio and 95% confidence interval

Gene	polymorphism	MCLS vs. Control
MMP12	SNP2	1.37 (1.00–1.87) (Dominant)
	SNP5	3.21 (1.07–9.63) (Recessive)
MMP3	SNP2	1.51 (1.01–2.29) (Dominant)
		1.23 (1.02–1.48) (Recessive)
MMP1	SNP2 (-1607 2G/1G)	1.22 (1.01–1.50) (Recessive)
MMP10	SNP6	7.45 (1.36–40.9) (Recessive)
	SNP11	2.06 (1.01–4.21) (Recessive)
MMP27	SNP6	4.95 (1.10–22.2) (Recessive)
MMP20	SNP4	1.52 (1.06–2.30) (Dominant)
	SNP16	0.54 (0.36–0.84) (Recessive)
	SNP19	2.86 (1.57–5.18) (Recessive)
		1.43 (1.09–1.87) (Dominant)

表3 臨床像のまとめ 男女比:M:58.5% F:41.5%

	入院時 病日	発症時月齢	IVIG投与 回数
度数 有効	383	383	383
欠損値	3	3	3
平均値	4.13	29.5	1.24
中央値	4.00	23.00	1.00
標準偏差	1.590	23.133	.522
最小値	1	1	0
最大値	13	144	3

表4 IVIG投与回数の分布

	IVIG投与回数				
	0	1	2	3	合計
例数	12	272	94	5	383
%	3.1	71.0	24.5	1.3	100

図3 MMP13 SNP6と発症月齢

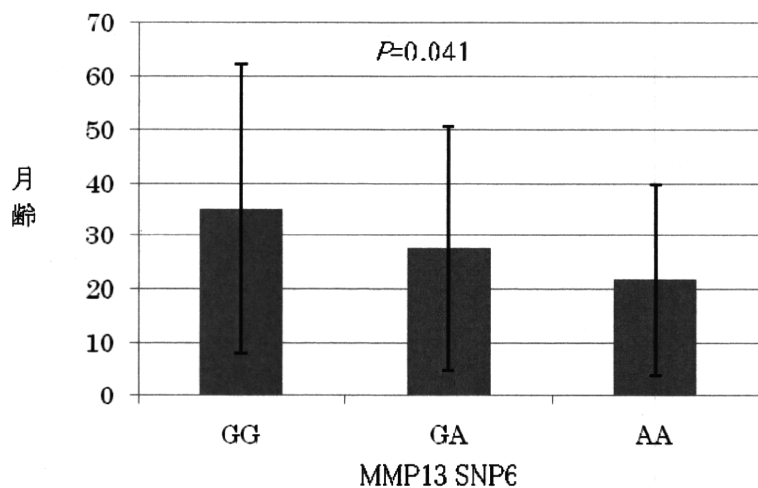


図4 MMP13 SNP6とIVIG投与回数

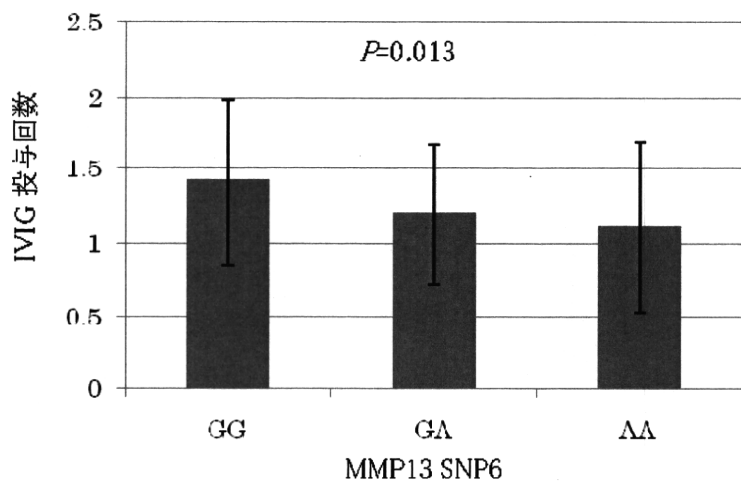


表 5 IVIG 投与回数を従属変数とする直線回帰分析結果

変数	係数	係数の標準誤差	有意確率	共線性(VIF)
定数	1.531	0.144	<0.001	
月齢	-0.001	0.002	0.413	1.081
群馬スコア	0.039	0.017	0.026	1.044
MMP13 SNP4	-0.202	0.061	0.001	1.045

難治性川崎病に対するシクロスポリン治療の検討－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病院長

研究要旨: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 12 月の新規川崎病入院患者 174 名に対して統一治療プロトコールに従って治療を行った。初回 IVIG に反応せず解熱が得られなかった 42 例 (24.1%) に追加 IVIG (2g/kg) を施行した。このうち、30 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 12 例の患者のうち、月齢 4 ヶ月以上の 11 例の患者に対してシクロスポリン 4mg/kg を経口で 2～3 週間投与した。その結果、11 例中 6 例ではすみやかな解熱効果が得られたが、5 例では解熱効果が得られなかった。このうち 4 例で 3 回目の IVIG により解熱が得られた。2 例(1.1%)に冠動脈瘤を残した。シクロスポリン投与により一過性の高カリウム血症を認めたが重篤な有害事象は認められなかった。シクロスポリン治療により、IVIG で抑制できなかった血清中の炎症性サイトカインが抑制され、IVIG とは異なる作用機序での治療効果が示唆された。

**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。要約して述べると、初回 IVIG(2g/kg)を 24 時間で行い、終了後 24 時間で 37.5°C 以上の場合に、追加 IVIG(2g/kg)を 24 時間で行った。終了以降に 37.5°C 以上の場合に追加 IVIG 不応と定義し、シクロスポリン 4mg/kg/日を経口投与した。本治療プロト

コールにおいて、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 年間かけて解析した。また、シクロスポリン治療そのものの問題点、安全性を検討した。

投与期間は当初 3 週間としていたが、解熱効果のあるものは 4 日以内に解熱しており、逆に 1 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 09 年から投与期間を 2 週間に短縮した。

さらに、シクロスポリンの作用機序を考察する目的で治療経過中の血中サイトカインの推移を検討した。国立成育医療センター研究所免疫アレルギー研究部の阿部淳博士に協力していただき、シクロスポリン投与直前、開始 3-6 日、終了時(14-21 日)の血清中の各種サイトカイン濃度を測定した。測定は Millipore 社の Milliplex kit を用い、同社の測定プロトコールに従って測定した。少量の血清サンプルから同時に以下の 21 種類のサイトカイン測定を行った。対象としたサイトカインは IL-1b, IL-2,

sIL-2R, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, IL-17a, TRAIL, IFN-g, TNF-a, G-CSF, GM-CSF, VEGF, sTNFR-I, sTNFR-II, sRAGE, MCP-1, sCD40Lである(表2)。和歌山県立医大グループを含めて19例(シクロスポリン有効例14例, 反応不良5例)について解析した。

**C 研究結果:** 08年1月~10年12月に川崎病と診断して初期治療で当院に入院した患者174例をプロトコールに従って治療した(図1)。このうち、初回IVIGに反応せず、解熱が得られなかった42例(24.1%)に追加IVIG

(2g/kg)を施行した。このうち、30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12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11例の患者に対してシクロスポリン4mg/kgを経口(ネオール®分2、食前)で投与した。その結果、11例中6例ではすみやかな解熱が得られ、検査所見も改善した。解熱効果を認めない5例に3回目のIVIGを投与したところ4例で速やかな解熱が得られた(表1参照)。2例で冠動脈瘤を残した(1例で中等度の瘤、1例で巨大瘤)。

シクロスポリン投与により、明らかな副作用を認めなかった。投与後5日から7日に一過性の高カリウム血症を認めたが臨床症状は出現しなかった。全症例で高血圧を認めず、高血圧性脳症も認めなかった。1例に一過性の多毛を生じたが治療終了後に改善した。

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。19例(シクロスポリン有効例14例, 反応不良5例)の検討では, 5例の反応不良例ではシクロスポリン投与前にIL-6(Interleikin 6), G-CSF(Granulocyte colony stimulating factor), VEGF(Vascular endothelial growth factor), sTNFR2(Soluble tumor necrosis factor receptor 2)が高値であった(表2: 赤枠で示す)。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、sIL-2R(Soluble interleukin 2 receptor、可溶性IL-2受容体)がIVIG反応不良例で上昇していた。このうち、シクロスポリン治療にも抵抗性であった患者5名は反応良好であった14名に比して、治療直前の可溶性IL-2受容体の血中濃度がより高値で、治療開始後3-6日の抑制も不十分であった。(図2)。他の16種のサイトカインは、今回の検討では病勢との関係が見いだせなかった(表2)。

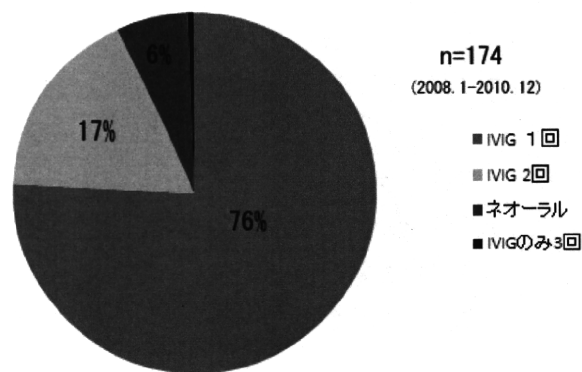


図1: 治療経過

表1: シクロスポリン使用症例

Case#	Age(year)	1st IVIG+ASA	2nd IVIG	CyA	CyA後 解 熱	3rd IVIG	3rd IVIGの 効果	CAL
1	3	day4	day6	day9	day10	0	なし	なし
2	2	day5	day8	day12	day13	0	なし	なし
3	2	day6	day9	day11	効果なし	1	なし	5mm
4	1	day5	day7	day9	day12	0	なし	なし
5	1	day5	day10	day11	day12	0	なし	なし
6	1	day4	day6	day7	効果なし	1	あり	なし
7	2	day5	day7	day8	day12	0	なし	なし
8	2	day4	day6	day7	day12	0	なし	なし
9	1	day4	day6	day8	効果なし	1	あり	なし
10	1	day5	day7	day9	効果なし	1	あり	なし
11	2	day4	day6	day8	効果なし	1	あり	9mm

表 2 : 測定したサイトカイン

IL-1b	低値	IFN-g	低値
IL-2	低値	TNF-a	変動少ない
IL-4	低値		治療とともに低下
IL-5	低値	GM-CSF	著漸増
	治療とともに低下		治療とともに低下
IL-8	低値	sTNFR-1	傾向なし
IL-10	前値が高いが著漸減		治療とともに低下
IL-13	測定感度以下	sRAGE	低値
IL-17A	低値	MCP-1	傾向なし
TRAIL	傾向なし	sCD40L	測定限界以上
		sIL-2R	治療とともに低下

**D 考察：** 2回の IVIG 不応例の 55%は、シクロスポリンに良好に反応し、翌日に解熱することが示された。ただし、シクロスポリンに反応しない症例も 45%に存在し、その ITPKC 遺伝子型を分担研究者の尾内が解析している。シクロスポリン投与で解熱効果を認めない 5 例に 3 回目の IVIG を投与したところ、4 例で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、IVIG への反応性を高めていることが示唆された。

総合すると、発熱をコントロールできなかった症例は 174 例中 1 例 (0.6%) であった。この 1 例に 5mm の動脈瘤をのこした。また、巨大瘤を 1 例に残したが、この症例はシクロスポリン投与直前に冠動脈拡大がみられていた。シクロスポリン投与は説明と同意のもと行われたが、冠動脈拡大を止めることはできなかった。シクロスポリン投与後 3 回目の IVIG により解熱を得られたが 9mm の巨大瘤を右冠動脈に残した。巨大瘤の防止が川崎病治療の重要な目標のひとつであるが、シクロスポリンによっても現時点では完全に防止できるとはいえない。

シクロスポリンの安全性については、症例数が未だ少ないが、重篤な症状が出現した副作用を認めていない。一過性の高カリウム血症は、従来ひろく治療に使われてきた小

児腎疾患では認められていない。その理由については不明である。共同研究者の鈴木らは、腎機能を解析して腎機能低下がないことを示している。カリウム濃度は投与開始後 5-7 日で最高値になるため、5 日以内の短期投与でより安全に使用できると考えられる。また、全症例で高血圧を認めず、高血圧性脳症も認めなかったが、シクロスポリンは濃度ピーク時に一過性の高血圧が生じると報告されており、さらに注意深い観察が必要であると考えている。

IVIG 不応例においては、IVIG 治療によって低下すると報告されている IL-6, G-CSF, sTNFR2 といったサイトカインが、IVIG 治療後も高値が続いていた。シクロスポリン投与により IL-6, G-CSF, sTNFR2 が低下したことは、シクロスポリンが異なる機序で川崎病の炎症抑制に関わっていることを示唆する。また、可溶性 IL-2 受容体の血中濃度の推移は、シクロスポリンの本来の薬理効果を示唆している。実際の各症例の臨床経過の検討では、多くの症例では、解熱効果が投与量あるいは血中濃度にある程度依存していた。これら炎症性サイトカインの抑制が解熱効果に強く関係していると考えている。

**E 結論：** シクロスポリン投与は高カリウム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うことができた。冠動脈を残す

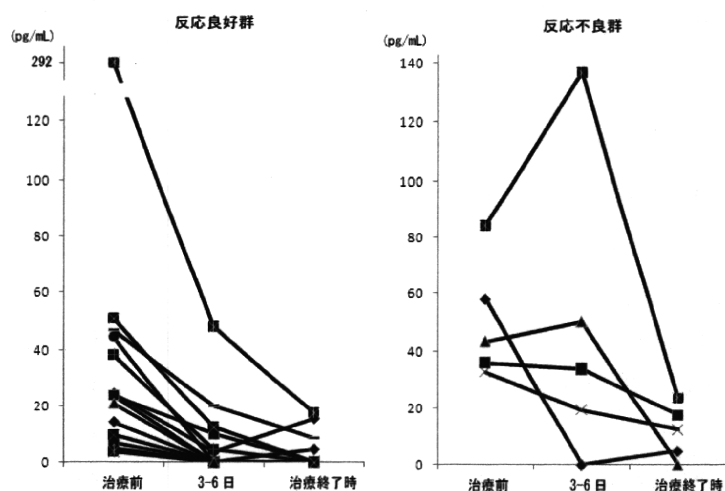


図 2 : sIL-2R の血中濃度の推移



症例は少なく、治療成績は良好であった。シクロスポリンの投与期間について、2週間よりも短期間に短縮することも可能と考えられ、解熱効果がない場合、ひき続いて3回目のIVIGも選択肢となった。シクロスポリンは生体内の炎症性サイトカインをIVIGとは異なった機序で修飾する効果があることが示唆された。今後、関連施設の治療成績をふまえて、より早期にシクロスポリンを投与する方針で治療計画を変更し、冠動脈瘤の発生をさらに抑えられないか、明らかにしてゆこうと考えている。

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 2010年 pp361-2.
- 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 2010年 pp297~9.
- 3) Onouchi Y, Ozaki K, Burns 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. 2010 19 (14): 2898-2906.
- 4) Suzuki H, Terai M, Hamada H, Honda T, Suenaga T, Takeuchi T, Yoshikawa N, Shibuta S, Miyawaki M, Oishi K, Yamaga H, Aoyagi N,

Iwahashi S, Miyashita R, Onouchi Y, Sasago K, Suzuki Y, Hata A. Cyclosporin A treatment for refractory Kawasaki disease - A pilot study of 28 patients with Kawasaki disease resistant to both initial and additional IVIG. The Pediatric Infectious Disease Journal, in press.

- 5) Onouchi Y, Suzuki Y, Suzuki H, Terai M, Yasukawa K, Hamada H, Suenaga T, Honda T, Honda A, Kobayashi H, Takeuchi T, Yoshikawa N, Sato J, Shibuta S, Miyawaki M, Oishi K, Yamaga H, Aoyagi N, Iwahashi S, Miyashita R, Murata Y, Ebata R, Higashi K, Kouichi Ozaki K, Sasago K, Tanaka T, Hata A., ITPKC and CASP3 polymorphisms and risks for IVIG unresponsiveness and coronary artery lesion formation in Kawasaki disease. The Pharmacogenomics Journal, submitted
- 6) Shiina Y, Toyoda T, Kawasoe Y, Tateno S, Shirai T, Wakisaka Y, Matsuo K, Mizuno Y, Terai M, Hamada H, Niwa K. Prevalence of adult patients with congenital heart disease in Japan, Int J, Cardiol, 146, 13-16, 2011

2. 学会発表

- 1) Onouchi Y, Ozaki K, Bruns JC, Shimizu C, Terai M, Suzuki H, Yasukawa K, Suzuki Y, Sasago K, 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 and Tanaka T, A functional polymorphism in CASP3 confers susceptibility to Kawasaki disease. The American Society of Human Genetics 60th annual meeting, 2010.11. 4, Washington DC
- 2) Hamada H, Suzuki H, Onouchi Y, Abe J, Suzuki Y, Terai M, Hata A, Personalized

treatment based on genetic polymorphism in patients with Kawasaki disease, *Periatric Cardiology and Cardiac Surgery*, 26, s157, 2010

26 回関東川崎病研究会レポート, 85, 2010

- 3) 鈴木啓之, 寺井 勝, 濱田洋通, 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. 難治性川崎病 22 例に対するシクロスポリン治療の検討, 第 46 回日本小児循環器学会 2010.7. 浦安市
- 4) 鈴木啓之, 寺井 勝, 濱田洋通, 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. IVIG に不応例に対する治療プロトコール ~シクロスポリン A 療法~シンポジウム「難治性川崎病の治療戦略」~病態, 作用機序から見た戦略~, 第 30 回日本川崎病学会 2010.10. 京都市
- 5) 尾内善広, 寺井 勝, 鈴木啓之, 佐地 勉, 安川久美, 濱本邦洋, 中村好一, 羽田 明. 川崎病罹患感受性と相関する CASP3 遺伝子多型の同定, 第 30 回日本川崎病学会 2010.10. 京都市
- 6) 濱田洋通, 寺井勝, 阿部淳, 鈴木啓之, 尾内善広, 本田隆文, 末永智浩, 武内崇, 渋谷昌一, 吉川徳重, 鈴木洋一, 羽田明. サイトカインプロファイルからみた免疫グロブリン不応の川崎病に対するシクロスポリン治療の効果, 第 30 回日本川崎病学会 2010.10. 京都市
- 7) 鈴木啓之, 寺井 勝, 尾内善広, 濱田洋通, 本田隆文, 末永智浩, 武内 崇, 吉川徳重, 鈴木洋一, 羽田 明. 川崎病重症度と ITPKC 遺伝子多型との関連性の分析, 第 30 回日本川崎病学会 2010.10. 京都市
- 8) 濱田洋通, 本田隆文, 寺井勝, 阿部淳, 尾内善広, 羽田明. サイトカインプロファイルからみた川崎病免疫グロブリン不応例に対するシクロスポリン治療の効果, 第

H 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。):

該当なし

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治療の検討－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 22 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 240 例を対象とした。この内、初回 IVIG のみで解熱した症例は 182 (75.8%) 例、初回 IVIG に不応であったが追加 IVIG で解熱した症例は 35 (14.6%) 例、初回・追加 IVIG ともに不応であった 23 症例中 CyA 投与を行った症例は 22 (9.2%) 例で、1 例は 4 か月未満であったため直ちに 3 回目 IVIG を行い解熱した。CyA 投与症例の 22 例中 10 例は 1 日以内に、4 例は 3 日以内に、2 例は 5 日以内に解熱した。残り 6 例中 3 例は解熱に 6 日以上要し、他の 3 例は 1-2 日で一旦解熱するも再発熱など CyA 反応不良で、この 3 例には 3 回目 IVIG で解熱した。冠動脈病変は CyA 投与 22 例中 3 例（全症例 240 例中 3 例 = 1.25%）に生じた。しかし、この 3 例中 2 例は追加 IVIG 中にすでに冠動脈拡張を生じていた。この 2 例中 1 例は 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（1 歳未満： $\geq 6.0$  または 1 歳以上： $\geq 5.5$  mEq/L）を 22 例中 8 例（36.3%）に認めたが、無症候性であった。

IVIG 不応の難治性川崎病に対して CyA 投与のプロトコールを作成し、その薬剤耐索性、安全性、有効性を 3 年にわたり多施設で検証した。その結果、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判明し、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 治療の安全性、投与時期、投与量などの問題点、安全性を3年間かけて検証する。

### C 研究結果:

#### ① 治療反応性:

2008年5月～2010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240例を対象とした。この内、初回 IVIG のみで解熱した症例は182(75.8%)例、初回 IVIG に不応であったが追加 IVIG で解熱した症例は35(14.6%)例、初回・追加 IVIG ともに不応であった23症例中 CyA 投与を行った症例は22(9.2%)例で、1例は4か月未満であったため直ちに3回目 IVIG を行い解熱した。CyA 投与症例の22例中10例は1日以内に、

4例は3日以内に、2例は5日以内に解熱した。残り6例中3例は解熱に6日以上要し、他の3例は1-2日で一旦解熱するも再発熱など CyA 反応不良で、この3例には3回目 IVIG で解熱した。

#### ② 冠動脈病変:

冠動脈病変は CyA 投与22例中3例(全症例240例中3例=1.25%)に生じた。しかし、この3例中2例は追加 IVIG 中にすでに冠動脈拡張を生じていた。この2例中1例は 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。

#### ③ 高K血症:

高K血症(1歳未満:  $\geq 6.0$  または1歳以上:  $\geq 5.5$  mEq/L)を22例中8例(36.3%)に認めたが、無症候性であった。しかし、このK値については血清と血漿で差を認め、血漿の方が低値であることが判明した。

**D 考察:** 初回・追加 IVIG に不応な症例に対して CyA は、22例中14例(63.6%)が3日以内に解熱することから、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 の初期投与量の増量やより早期投与の新たなプロトコールを考慮したい。また、CyA 投与中に生じる高K血症については血清と血漿で差異を認めることから、凝固時に何らかのメカニズムで赤血球からKの漏出することが示唆され、生体内においては高Kを生じ

ていない可能性もあり、この点についてもさらなる検討を行いたい。

**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) Suzuki H, Terai M, Hamada H, Honda T, Suenaga T, Takeuchi T, Yoshikawa N, Shibuta S, Miyawaki M, Oishi K, Yamaga H, Aoyagi N, Iwahashi S, Miyashita R, Onouchi Y, Sasago K, Suzuki Y, Hata A. Cyclosporin A treatment for refractory Kawasaki disease - A pilot study of 28 patients with Kawasaki disease resistant to both initial and additional IVIG, *Pediatric Infectious Disease Journal*, in press.
- 2) Onouchi Y, Ozaki K, Burns JC, Shimizu C, Hamada H, Honda T, Terai M, Honda A, Takeuchi T, Schibuta S, Suenaga T, Suzuki H, Higashi K, Yasukawa K, Suzuki Y, Sasago K, Kenmotsu 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* 19 (14): 2898-2906, 2010

- 3) Suzuki H, Suenaga T, Shibuta S, Takeuchi T, Yoshikawa N.: Marker of T-cell activation is elevated in refractory Kawasaki disease. *Pediatr Int* 52 (5): 785-789, 2010
  - 4) Kuroi A, Imanishi T, Suzuki H, Tujioka H, Yoshikawa N, Akasaka T.: Clinical characteristics of patients with Kawasaki disease and levels of peripheral endothelial progenitor cells and blood monocyte subpopulations. *Circ J* 74(12):2720-2725, 2010
  - 5) Onouchi Y, Suzuki Y, Suzuki H, Terai M, Yasukawa K, Hamada H, Suenaga T, Honda T, Honda A, Kobayashi H, Takeuchi T, Yoshikawa N, Sato J, Shibuta S, Miyawaki M, Oishi K, Yamaga H, Aoyagi N, Iwahashi S, Miyashita R, Murata Y, Ebata R, Higashi K, Kouichi Ozaki K, Sasago K, Tanaka T, Hata A., ITPKC and CASP3 polymorphisms and risks for IVIG unresponsiveness and coronary artery lesion formation in Kawasaki disease. *The Pharmacogenomics Journal*, submitted
  - 6) 鈴木啓之, 荻野廣太郎, 中村好一, 上原里程, 屋代真弓, 柳川 洋, 川崎病急性期にステロイド投与を受けた症例の冠動脈障害は発生の分析, *日本小児科学会雑誌*, 114, 853-857, 2010
- 2. 学会発表**
- 1) 鈴木啓之: 難治性川崎病に対するシクロスポリン治療. シンポジウム: <近畿地区における IVIG 不応(予測)例に対する急性期川崎病治療研究の今後> 第 34 回近畿川崎病研究会 2010. 3. 大阪市

- 2) 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：難治性川崎病に対するシクロスポリン治療の検討、第46回日本小児循環器学会 2010.7. 浦安市
- 3) 鈴木啓之、寺井 勝、尾内善広、浜田洋通、本田隆文、末永智浩、武内 崇、渋谷昌一、吉川徳茂、鈴木洋一、羽田 明：川崎病重症度とITPKC遺伝子多型との関連性の分析、第30回日本川崎病研究会 2010.10. 京都市
- 4) 北野尚美、鈴木啓之、武内 崇、末永智弘、渋谷昌一、南 孝臣、上村 茂、竹下達也：2000年以降に和歌山県で発症した川崎病の臨床疫学像と悉皆的調査に基づく罹患率、第30回日本川崎病研究会 2010.10. 京都市
- 5) 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：IVIGに不応例に対する治療プロトコール～シクロスポリンA療法～ シンポジウム「難治性川崎病の治療戦略」～病態、作用機序から見た戦略～、第30回日本川崎病研究会 2010.10. 京都市
- 6) 垣本信幸、渋谷昌一、末永智浩、武内 崇、鈴木啓之、吉川徳茂：巨大冠動脈瘤・狭窄性病変を合併し、治療に難渋している1女児例。イブニングセミナー「この症例をどうする？」、第30回日本川崎病研究会 2010.10. 京都市
- 7) 鈴木啓之：川崎病は溶連菌毒素を中心とするスーパー抗原病？ ランチョンセミナー：「川崎病の病因解明の最前線」、第30回日本川崎病研究会 2010.10. 京都市
- 8) Onouchi Y, Ozaki K, Bruns JC, Shimizu C, Terai M, Suzuki H, Yasukawa K, Suzuki Y, Sasago K, 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 and Tanaka T, A functional polymorphism in CASP3 confers susceptibility to Kawasaki disease. The American Society of Human Genetics 60th annual meeting, 1553, 2010
- 9) Hamada H, Suzuki H, Onouchi Y, Abe J, Suzuki Y, Terai M, Hata A, Personalized treatment based on genetic polymorphism in patients with Kawasaki disease, Periatric Cardiology and Cardiac Surgery, 26, s157, 2010

H 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）： 該当せず



### Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

	著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
1	寺井 勝	川崎病の診断と治療指針。「血管疾患を診る・治す」	小室一成	新心臓病診療プラクティス15	文光堂	東京	2010	361-362
2	羽田 明	高血圧	松島綱治	分子予防環境医学	本の泉社	東京	2010	465-470
3	尾内善広	川崎病のゲノム解析からみた罹患関連遺伝子	山口 徹, 小室一成, 佐地 勉, 高本眞一	Annual Review 循環器 2011	中外医学社	東京	2011	54-59
4	Onouchi Y, Hata A	Responsible genetic factors for vasculitis in Kawasaki disease		Vasculitis/ Book 1	InTech	Croatia	2011	in press

雑誌

	発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
5	Onouchi Y, Ozaki K, Burns 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	Common variants in CASP3 confer susceptibility to Kawasaki disease.	Hum Mol Genet	19	2898-2906.	2010
6	Suzuki H, Terai M, Hamada H, Honda T, Suenaga T, Takeuchi T, Yoshikawa N, Shibuta S, Miyawaki M, Oishi K, Yamaga H, Aoyagi N., Iwahashi S., Miyashita R, Onouchi Y, Sasago K, Suzuki Y, Hata A	Cyclosporin A treatment for refractory Kawasaki disease—A pilot study of 28 patients with Kawasaki disease resistant to both initial and additional IVIG	Pediat Infect Dis J		in press.	2011

	発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
7	Onouchi Y, Suzuki Y, Suzuki H, Terai M, Yasukawa K, Hamada H, Suenaga T, Honda T, Honda A, Kobayashi H, Takeuchi T, Yoshikawa N, Sato J, Shibuta S, Miyawaki M, Oishi K, Yamaga H, Aoyagi N, Iwahashi S, Miyashita R, Murata Y, Ebata R, Higashi K, Ozaki K, Sasago K, Tanaka T, Hata A	ITPKC and CASP3 polymorphisms and risks for IVIG unresponsiveness and coronary artery lesion formation in Kawasaki disease.	Pharmacogenomics J		Submitted	
8	Shimizu C, Matsubara T, Onouchi Y, Jain S, Sun S, Nievergelt CM, Shike H, Brophy VH, Takegawa T, Furukawa S, Akagi T, Newburger JW, Baker AL, Burgner D, Hibberd ML, Davila S, Levin M, Mamtani M, He W, Ahuja SK, Burns JC	Matrix metalloproteinase haplotypes associated with coronary artery aneurysm formation in patients with Kawasaki disease	J Hum Genet	55.	779-784	2010
9	Mamtani M, Matsubara T, Shimizu C, Furukawa S, Akagi T, Onouchi Y, Hata A, Fujino A, He W, Ahuja SK, Burns JC	Association of CCR2-CCR5 haplotypes and CCL3L1 copy number with Kawasaki Disease, coronary artery lesions, and IVIG responses in Japanese children	PloS One	5	e11458	2010
10	Suzuki H, Suenaga T, Shibuta S, Takeuchi T, Yoshikawa N	Marker of T-cell activation is elevated in refractory Kawasaki disease	Pediatr Int	52	785-789	2010
11	Kuroi A, Imanishi T, Suzuki H, Tujioka H, Yoshikawa N, Akasaka T	Clinical characteristics of patients with Kawasaki disease and levels of peripheral endothelial progenitor cells and blood monocyte subpopulations	Circ J	74	2720-2725	2010
12	Yasuno K, Bilguvar K, Bijlenga P, Low SK, Kirschke B, Auburger G, Simon M, Krex D, Arlier Z, Nayak N, Ruigrok YM, Niemelä M, Tajima A, vonund zu Fraunberg M, Dóczi T, Wirjatijasa F, Hata A	Genome-wide association study of intracranial aneurysm identifies three new risk loci	Nat Genet	5	420-425	2010



	発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
13	Kamada F, Aoki Y, Narisawa A, Abe Y, Komatsuzaki S, Kikuchi A, Kanno J, Niihori T, Ono M, Ishii N, Owada Y, Fujimura M, Mashimo Y, Suzuki Y, Hata A, Tsuchiya S, Tominaga T, Matsubara Y, Kure S	A genome-wide association study identifies RNF213 as the first Moyamoya disease gene	J Hum Genet	56	34-40	2011
14	Tabara Y, Kohara K, Kita Y, Hirawa N, Katsuya T, Ohkubo T, Hiura Y, Tajima A, Morisaki T, Miyata T, Nakayama T, Takashima N, Nakura J, Kawamoto R, Takahashi N, Hata A, Soma M, Imai Y, Kokubo Y, Okamura T, Tomoike H, Iwai N, Ogihara T, Inoue I, Tokunaga K, Johnson T, Caulfield M, Munroe P, Global Blood Pressure Genetics Consortium, Umemura S, Ueshima H, Miki T	Common variants in the ATP2B1 gene are associated with susceptibility to hypertension: the Japanese Millennium Genome Project.	Hypertension	56	973-980	2010
15	Akiyama K, Narita A, Nakaoka H, Cui T, Takahashi T, Yasuno K, Tajima A, Krischek B, Yamamoto K, Kasuya H, Hata A, Inoue I	Genome-wide association study to identify genetic variants present in Japanese patients harboring intracranial aneurysms	J Hum Genet	55	651-661	2010
16	Nakaoka H, Takahashi T, Akiyama K, Cui T, Tajima A, Krischek B, Kasuya H, Hata A, Inoue I	Differential effects of chromosome 9p21 variation on subphenotypes of intracranial aneurysm: site distribution	Stroke	41	1593-1598	2010
17	Shiina Y, Toyoda T, Kawasoe Y, Tateno S, Shirai T, Wakisaka Y, Matsuo K, Mizuno Y, Terai M, Hamada H, Niwa K	Prevalence of adult patients with congenital heart disease in Japan	Int J Cardiol.	146	13-16	2011
18	寺井勝	川崎病 特集：小児の治療指針	小児科 診療	73 増刊号	297～ 299	2010
19	尾内善広	川崎病の罹患感受性遺伝子の同定	日本臨床免疫学会雑誌	33	73-80	2010
20	鈴木啓之, 荻野廣太郎, 中村好一, 上原里程, 屋代真弓, 柳川 洋	川崎病急性期にステロイド投与を受けた症例の冠動脈障害は発生の分析	日本小児科学会雑誌	114	853-857	2010