

20100700/B

厚生労働科学研究費補助金

創薬基盤推進研究事業

川崎病の疾患関連遺伝子の探索と
遺伝子型に基づくテーラーメイド治療法の確立

平成20～22年度 総合研究報告書

研究代表者 羽 田 明

平成 23(2011)年 5 月

厚生労働科学研究費補助金

創薬基盤推進研究事業

川崎病の疾患関連遺伝子の探索と
遺伝子型に基づくテーラーメイド治療法の確立

平成20～22年度 総合研究報告書

研究代表者 羽 田 明

平成 23(2011)年 5 月

目 次

I. 総合研究報告

川崎病の疾患関連遺伝子の探索と遺伝子型に基づくテーラーメイド治療法の確立

..... 1

羽田 明

- 添付資料 1. 本研究の目的：ベンチワークからベッドサイドへ
- 添付資料 2. ゲノムコホート研究
- 添付資料 3. 臨床研究プロトコール
- 添付資料 4. 観察および検査項目
- 添付資料 5. *CASP3* 遺伝子周辺の連鎖不平衡の構造
- 添付資料 6. *CASP3* の機能性 SNP, rs72689236 の G/A アレルによる機能解析
- 添付資料 7. 末梢単核球を使った *CASP3* の ASTQ 解析
- 添付資料 8. 川崎病のゲノムワイド解析のまとめ
- 添付資料 9. *MMP* 遺伝子クラスターのハプロタイプブロック
- 添付資料 10. 解析対象集団の入院時病日, 発症時月齢, IVIG 投与回数のまとめ
- 添付資料 11. IVIG 投与回数の分布
- 添付資料 12. *MMP13* SNP6 と発症年齢および IVIG 投与回数
- 添付資料 13. プロトコールに従った対象症例の分類
- 添付資料 14. CyA 投与した 28 症例の臨床像のまとめ
- 添付資料 15. CyA 服用前後の最高体温の推移
- 添付資料 16. sIL-2R の血中濃度の推移
- 添付資料 17. 川崎病の新しい治療プロトコール – シクロスポリン治療の可能性

参考資料： 川崎病疾患関連遺伝子の探索研究の研究説明資材, ポスター..... 35

II. 研究成果の刊行に関する一覧表 45

III. 研究成果の刊行物・別刷 51

I . 総合研究報告

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）
総合研究報告書

川崎病の疾患関連遺伝子の探索と遺伝子型に基づくテーラーメイド治療法の確立

研究代表者 羽田 明 千葉大学大学院医学研究院公衆衛生学 教授

研究要旨

川崎病の原因および発症機序は発見から 40 年以上たった現在でも不明であり、冠動脈合併症(CAL)の発症は依然として臨床的に深刻な問題である。本研究の目的は以下の 3 項目である。①新たな川崎病発症関連遺伝子を同定しその関与について明らかにする。②発症関連遺伝子に関する研究成果を実際の川崎病治療に役立てるために、新規発症例を対象とした統一プロトコールによるゲノムコホート研究をおこない、ベッドサイドでの遺伝子検査による CAL 発生リスクと免疫グロブリン大量静注療法 (IVIG) 反応性の予知を可能にする。③我々が発見した疾患感受性遺伝子 *ITPKC* が関与する NFAT 系を抑制する薬剤であるシクロスポリン(CyA)の臨床的有用性を検証する。

480 症例をこえる川崎病患者の協力を得て DNA および臨床データを収集・蓄積した。研究期間中に *CASP3* を 2 つめの疾患関連遺伝子として同定し報告した。*CASP3* も *ITPKC* と同じ NFAT 系に関与する遺伝子であることがわかった。ゲノムワイド関連解析を行なった結果、*ITPKC*, *CASP3* に加え、ゲノムワイド解析の有意水準を満たす新たな 4 関連遺伝子領域をみつけた。遺伝子多型と IVIG 抵抗性との関連を検討した結果、*ITPKC* と *CASP3* 両遺伝子のリスクアレルを 1 つ以上有すると IVIG 抵抗性リスクが有意に高まること、同様の関連の傾向が CAL のリスクについても認められ、予知に役立つ可能性があることが明らかとなった。

CyA の臨床研究では、2 度の IVIG 不応であった難治性川崎病を対象とし、安全性と臨床的有用性について検討した。入院患者 329 例中、対象は 30 例であったが、そのうち 4 か月齢以上の 28 例に CyA を経口投与した。その結果、3 日以内に 18 例 (64.3%)、4-5 日以内に 4 例(14.3%)で解熱が認められた。この間、CyA 投与により重篤な副作用は認められなかった。CyA は、難治性川崎病に対する IVIG 治療法を代替あるいは補完しうる有望な治療オプションである可能性があり、今後、安全性、早期投与の有用性、投与量について、新たなプロトコールを作成して実用化をめざした検討を行う必要があると判断した。

分担研究者

尾内善広	理化学研究所ゲノム医科学研究センター・循環器疾患研究チーム 上級研究員
寺井 勝	東京女子医科大学八千代医療センター小児科 教授
鈴木啓之	和歌山県立医科大学小児科 准教授
鈴木洋一	千葉大学大学院医学研究院公衆衛生学 准教授

研究協力者

濱田洋通	(東京女子医科大学八千代医療センター小児科)
本田隆文	(東京女子医科大学八千代医療センター小児科)
末永智浩	(和歌山県立医科大学小児科)
武内 崇	(和歌山県立医科大学小児科)
吉川徳茂	(和歌山県立医科大学小児科)
大石 興	(橋本市民病院小児科)
山家宏宣	(公立那賀病院小児科)
青柳憲幸	(和歌山ろうさい病院小児科)
岩橋誠司	(国保日高総合病院小児科)
渋谷昌一	(社会保険紀南病院小児科)
宮脇正和	(社会保険紀南病院小児科)
宮下律子	(泉大津市立病院小児科)
安川久美	(千葉大学医学部附属病院小児科)
小林宏伸	(国保旭中央病院小児科)
佐藤純一	(船橋市立医療センター小児科)
村田祐二	(仙台市立病院小児科)
笹子久美子	(千葉大学大学院医学研究院公衆衛生学)

A. 研究目的

川崎病の原因および発症機序は発見か

ら40年以上たった現在でも不明であり、冠動脈合併症(CAL)の発生は依然として臨床的に深刻な問題である。CALは免疫グロブリン大量療法 (IVIG) の導入により、その発生率が20-25%から3-5%に激減したが、それでも川崎病は小児の後天性心疾患の最大原因である。特にIVIG不応例におけるCAL発生率は、反応例の約10倍である。CALを最小限に食い止めるためには、CAL発生やIVIG抵抗性の機序を明らかにする事による、テーラーメイドの重症化予測法および治療プロトコルの開発が必須である。

我々は、世界に先駆けて全ゲノムを対象とした手法により、*inositol 1,4,5-tri-phosphate 3-kinase C* (*ITPKC*) 遺伝子が川崎病の発症関連遺伝子であることを明らかにした(Onouchi *et al.* 2008)。さらに、原因と考えられる機能性一塩基多型(SNP)とIVIG 反応性およびCAL 発生に、有意な相関を見いだした。また、*ITPKC*は、細胞内での炎症活性化に関与する calcium-Nuclear factor of activated T cells (NFAT) 経路の調節に関与することも明らかにした。

本研究の目的は、①新たな川崎病発症関連遺伝子を同定しその関与について明らかにする、②発症遺伝子に関する研究成果を実際の川崎病治療に役立てるために、新規発症例を対象とした統一プロトコールによるゲノムコホート研究をおこない、ベッドサイドでの遺伝子検査によるCAL 発生リスクと IVIG 反応性の予知を可能にする、③疾患感受性遺伝子である *ITPKC* が関与する NFAT 系を抑制する薬剤であるシクロスポリン(CyA)の川崎病治療における臨床的有用性を検証することの3項目である(添付資料 1)。

B. 研究方法

1. 川崎病の疾患関連遺伝子の探索

1.1. 川崎病のヒト試料収集

川崎病のヒト試料収集は、東京女子医大八千代医療センターと和歌山県立医大附属病院を基幹病院とし、その関連病院の協力を得ておこなった（添付資料 2）。参加研究者間でプロトコルの確認、各所属の倫理委員会への研究申請をおこない、研究計画の承認後、DNA 抽出用などのヒト試料収集を開始した。研究期間を通じて統一の症例報告書によって臨床データの収集をおこない、解析を進めた。研究協力依頼は主治医あるいは研修済みのインフォームド・コンセント履行補助者が行った。ヒト試料は収集機関で連結可能匿名化し、以後は匿名化番号で解析をおこなった。ヒト試料は業務委託をする検査会社で集配、DNA 抽出をおこない理研横浜研究所および千葉大学で遺伝子タイピングを実施し、得られたタイピングデータ、臨床情報を千葉大学で統計解析し、遺伝子多型と合併症、治療抵抗性の関連を検討した。

1.2. 新規感受性遺伝子の探索

罹患同胞対法によるゲノムワイド連鎖解析により連鎖を示した 4 番染色体長腕 (4q35) 近傍の候補遺伝子解析を行った。日本人と白人に共通して川崎病の感受性と関連を示すことを見いだしていた *caspase-3* (*CASP3*) 遺伝子上の SNP において、末梢血単核球内の *CASP3* の発現量と SNP の型との関連をアレル特異的転写物定量法 (ASTQ 法) により解析した。

1.3. ゲノムワイド関連解析 (GWAS)

川崎病 440 人、対照 933 人を対象として、55 万か所の SNP 遺伝子型を DNA チップにより決定し、GWAS を行った。有意な関連を示した上位 150 個の SNP を、独立した川

崎病 470 人、対照 378 人 (パネル 1)、さらに川崎病 285 人、対照 569 人 (パネル 2) を用いて再現性の確認を行った。

さらに、川崎病 438 人、対照 3,397 人について、GWAS の再解析とパネル 1、2 による確認を行い、有意な関連の再現性が確認された複数のローカスを用いて川崎病発症予測モデルの作成を試みた。まず川崎病 1,341 人、対照 931 人を用い各ローカスにおける最も適合度の高い遺伝モデル (相加的、優性、劣性) をロジスティック回帰分析により検討した。相加的モデルではリスクアレルの数により 0, 1, 2 の、優性もしくは劣性モデルでは 0, 1 のスコアを遺伝子型に基づき決定、個々人のスコアの合計 (遺伝的リスクスコア) を算出し、患者群および対照群におけるリスクスコア別保有者割合を比較した。続いて各リスクスコア別の川崎病罹患リスクを検討した。

1.4. *ITPKC* および *CASP3* の SNP と IVIG 抵抗性との関連

2008 年以前に千葉大学および和歌山医科大学にて IVIG 治療を受けた川崎病患者 204 人 ($1\text{g/kg} \times 2$: 134 人、 $2\text{g/kg} \times 1$: 70 人) および本研究班初年度より統一プロトコルによる治療を受けた 342 人につき IVIG 抵抗性に対する両遺伝子の機能的感受性 SNP (*ITPKC*: rs28493229 G/C, *CASP3*: rs113420705 G/A) 単独さらには SNP の遺伝子型の様々なパターンでの組み合わせの効果について検討を行った。

1.5. 川崎病発症と臨床データにおける *MMP* 遺伝子多型との相関

MMP 遺伝子群の SNP の遺伝子型の決定には、HapMap 情報を基に、タグとなる 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、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 282 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 1,055 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、 χ^2 検定にて検討した。有意水準(P)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。

臨床データが記録されている症例について、発症月齢、末梢血、炎症マーカー、IVIG 投与回数、有熱期間との相関のスクリーニングを行った。相関は、Spearman の ρ によって評価した。相関のスクリーニングで $P=0.05$ 未満を示した関連については、重回帰分析、分散分析を行い、関連についてさらに詳しく検討した。解析は IBM SPSS Statistics version 19 を用いた。

2. 難治性川崎病に対する CyA 投与の有用性の検討

2.1. 臨床研究プロトコール (添付資料 3、4)

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 に応答しない症例に対する CyA の治療効果ならびに安全性を検討した。東京女子医科大学八千代医療センターと和歌山県立医科大学小児科とその関連 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

での治療をおこなった。CyA 治療そのものの効果、問題点、安全性等の臨床的有用性を本研究期間中に検証した。また、IVIG 治療の反応性、CyA の有効性と *ITPKC* 遺伝子型の相関についても検証した。

IVIG 不応の定義は以下の基準とする。IVIG は 2g/kg の単回投与とし、初回 IVIG 不応を、①IVIG 治療開始後 48 時間の時点まで 37 度 5 分未満に一度も解熱しない例、②IVIG 治療開始後 48 時間を経過するまでに、一旦 37 度 5 分未満に解熱するも治療開始後 48 時間の時点で再度発熱しているもの、③IVIG 治療開始後 48 時間までに解熱していたが、治療開始後 3 日目以降に発熱してきた場合とし、追加 IVIG 不応を、①追加 IVIG 治療終了時まで 37 度 5 分未満に一度も解熱しない例、②追加 IVIG 治療投与中、一旦 37 度 5 分未満に解熱するも治療終了時点で発熱しているもの、③追加 IVIG 治療終了時に解熱していたが、その後発熱してきた場合、とする。対象は年齢 4 か月以上 20 歳以下の男女で急性川崎病の診断基準を満たし、研究参加の同意の得られたものとする。腎機能や肝機能に問題のある者、再発例などは除外する。CyA の投与量は、4mg/kg/day を経口投与(分 2、食前)とし、CyA トラフ値と臨床症状を考慮して適宜増減とした。アスピリン 30-50mg/kg/day を併用する。主要評価項目を治療期間中の冠動脈病変合併頻度とし、副次的評価項目として、CyA 服用後の有熱期間、発熱をはじめとする川崎病主要症状、白血球数および幼若好中球の占める割合、CRP、心エコーによる冠動脈径および形態評価、心電図、副次的評価項目として肝機能・アルブミン・血小板数を中心としたその他の血液検査(IL-2 などの血中サイトカインを含む)、血圧、体重を測定する。

2.2. CyA の作用機序について

CyA 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。CyA 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。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。和歌山県立医大グループを含めて 19 例 (CyA 有効例 14 例, 反応不良 5 例) について解析した。

(倫理面への配慮)

遺伝子研究に関しては、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針(平成 16 年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第 1 号)、各参加施設の遺伝子解析に関する倫理審査委員会の承認を受けた上で研究を行なった。また、臨床研究に関しては、臨床研究に関する倫理指針(平成 15 年 7 月 30 日、平成 16 年 12 月 28 日全部改正、平成 20 年 7 月 31 日全部改正、平成 21 年 2 施行)ならびに参加研究者が所属する研究機関で定めた倫理規定を遵守し、各倫理審査委員会の承認を受けた上で研究を開始した。

C. 研究結果

1. 川崎病の疾患関連遺伝子の探索

1.1. 試料の収集

本研究期間中(20~22 年度)に川崎病患者 482 例から DNA を収集し、症例報告書 396 例、検査データ 402 例を回収した。

1.2. 新たな感受性遺伝子 *caspase-3* (*CASP3*)の同定

まず、*CASP3* 遺伝子周辺の連鎖不平衡地図を作成した。このデータに基づきブロック内の SNP の関連解析をおこなった(添付資料 5)。rs72689236G/A の機能解析の結果(添付資料 6)、近くに NFATc2 が関与するエンハンサー活性がある事が示唆された。そこでこの SNP のヘテロである 8 人の被験者についてそれぞれのアレル由来の *CASP3*mRNA の相対的な量を比較したところ、感受性アレル A に由来する転写物が非感受性アレル G に対し約 30%程度少ないことがわかり、機能解析の結果が裏付けられた(添付資料 7)。結果をまとめて報告した(Onouchi *et al.* 2010)。

1.3. GWAS および発症リスクアレルの検討

GWAS で検定を行った SNP の数(463,883)から保守的に算出される関連解析の有意差の閾値は $P < 1 \times 10^{-7}$ となり、これを満たす SNP は 2 カ所のみであった。うち 1 カ所(rsxxxxxx)についてはパネル 1, 2 を通じ再現性が確認され、全てのサンプルについて実施したメタ解析における P 値は 2.0×10^{-21} と非常に有意性の高いものとなった(遺伝子 X)。もう一方の SNP については関連の再現が確認できなかった(データ非表示)。関連の上位 100 カ所の SNP のうち 41 は他の SNP と $r^2 > 0.8$ の連鎖不平衡にあることから多重検定の回数を 59 とみなし、パネル 1 および 2 での関連を有意と判断する閾値を $P < 8.5 \times 10^{-4}$ と設定した。全サンプルのデータをメタ解析した結果、 $P < 1 \times 10^{-7}$ の有意水準を満たす関連を示した SNP は合計 6 カ所であった。これらのうち 2 カ所はそれぞれ *ITPKC* および *CASP3* の近傍の領域にあり、機能的感受性多型と強い連鎖不平衡にあった。残りの 4 カ所は前に述べた X 遺伝子および Y, A, B 遺伝子と名

付け、解析の結果を添付資料 8 にまとめた。モデルの検討においては全 6 ローカスで相加的モデルが最も適合性が高いと判断された。また 2 ローカス間の交互作用はすべての組み合わせにおいて確認されなかった。最適モデルが全ローカスで相加的モデルであったことから 6 ローカスのリスクアレル数の合計を遺伝的リスクスコアとし、川崎病、対照における頻度を比較することとした。川崎病群と対照群におけるリスクアレル数の合計の頻度は正規分布を示し、その平均および標準偏差は川崎病群で 7.02 ± 1.62 、対照群で 6.07 ± 1.67 であり、その差は統計学的に有意であった。各リスクアレル数保有者群 (1-2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10-12) の川崎病発症リスクを、当該群以外を reference とした際のオッズ比で示すと指数関数的な増加傾向が見られ、リスクアレル数 10-12 の最も高リスク群のオッズ比は 3.55 であった。人数が少ないため信頼区間は大きい、リスクアレル数 11 の集団単独ではオッズ比 10.3 であった。予測精度を評価する為作成した ROC 曲線の AUC 面積は 0.654 であった。

4 カ所の新規川崎病感受性 SNP の他人種における関連を調べるため白人 248 組、非白人 255 組からなる合計 503 組の米国人川崎病患児・両親の検体を用いた伝達不平衡試験を実施した。遺伝子 X に関しては白人、非白人ともに日本人同様 rsxxxxxx の G アレルが川崎病と関連する傾向を示し、両者を併せた解析で統計学的有意差 (オッズ比 1.35, $P = 0.017$) を認めた。遺伝子 Y の rsyyyyyyy の C アレルはアジア人集団においてのみ日本人同様の関連を示し、白人、ヒスパニックその他の人種においては関連の傾向は確認されなかった。

1.4. *ITPKC* および *CASP3* の SNP と IVIG 抵抗性との関連

研究班開始前の川崎病症例 204 人の検討においては、IVIG 1g/kg×2 群、2g/kg×1 群のいずれにおいても *ITPKC* の rs28493229 C アレル頻度が高い傾向を示し、これら 2 群を併せた解析において統計学的に有意となった。*CASP3* の rs113420705 A アレルは統計学的に有意ではないものの 2 群を併せた解析で IVIG 抵抗性と関連する傾向が見られた。統一プロトコールにより治療を受け、前向きに収集した 342 人においては 2 回目の IVIG に対する不応のリスクに rs113420705 A アレルが $P = 0.032$ (優性遺伝モデル) の関連を示した。続いてこれら 2 SNP の遺伝子型の組み合わせ効果を各 SNP の優性・劣性遺伝モデルを含む 12 通りのモデルで検討した。研究班開始前に収集された 204 人についてそれぞれのモデルで IVIG 抵抗性との関連を調べたところ、両 SNP に少なくとも一つ感受性アレルを持つ群をハイリスク群とみなすモデルが最も有意な関連 (オッズ比 2.78, $P = 0.0021$) を示した。この組み合わせは統一プロトコール群 342 人においても 2 回目の IVIG 不応のリスクと有意な関連を示した (オッズ比 2.64, $P = 0.011$)。研究班開始前および統一プロトコール症例を併せた 546 例の解析ではこの 2 ローカスモデルと IVIG 抵抗性との関連はさらに強い有意性をもって示された (オッズ比 2.72, $P = 0.000062$)。最後に CAL 合併のリスクと rs28493229, rs113420705 との関連を検討したところ、やはり 2 ローカスを組み合わせたモデルで各 SNP の優性遺伝モデルを上回る高いオッズ比が有意性をもって示された。

1.5. 川崎病発症と *MMP* 遺伝子多型との相関と臨床データとの相関

11 番染色体 11q21-22.3 に位置する 9 種類の *MMP* 遺伝子クラスターの 92 個のタグ

SNP についてコントロールのサンプルで検討したところ、17 のハプロタイプブロック (HB)(Four gamete rule)に分かれていた(添付資料 9)。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、5 つの HB と HB に属さない 1 つの SNP からなっていた。0.05 より小さい *P* 値を示す SNP は、*MMP20*, *MMP10*, *MMP1*, *MMP3*に見出された。

ハプロタイプとの相関解析の *P* 値の分布解析では、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 HB4, HB5, HB6, HB7 に見出された。また、*MMP1*, *MMP3*, *MMP10*, *MMP7*の HB のハプロタイプの *P* 値が 0.05 を切っていた。

遺伝子型の優性または劣性モデルでの検討で、有意な相関 ($P < 0.05$) を示した SNP のオッズ比 (OR) を計算した。アレル頻度で有意差を示した、*MMP1*, *MMP3*, *MMP10*, *MMP20*に加え、*MMP12*と *MMP27*の SNP の OR が有意なものとして加わっている。

最終年度末における患者の臨床像をまとめた(添付資料 10)。発症月齢は 1 か月から 144 か月に分布し、平均約 30 か月であった。入院時病日の平均は約 4 日であった。IVIG は 97%の症例で投与されており、反応不十分で、IVIG が 2 回以上投与されたものは約 25%となっていた(添付資料 11)。1 か月以内の心合併症は 3%、1 か月を超えて残った心合併症は 2%に見られた。心合併症の症例数が少ないため、遺伝子多型との関連の解析には含めなかった。遺伝子多型データと臨床データの両方がそろった症例数は、187 例であった。解析可能な臨床データと *MMP* 遺伝子の関連をスクリーニングしたところ、*MMP13*の SNP1, 4, 6 が発症月齢と有意の相関を示した。Spearman の ρ の *P* 値はそれぞれ、 8.5×10^{-4} , 0.0065, 0.012 を示した。*MMP13*の SNP6 は、IVIG 投与回数と

の相関も示した($P = 0.0087$)。発症年齢についても、IVIG 投与回数についても A アレルのヘテロ、ホモとなるに従って、数値が直線的に小さくなっている(添付資料 12)。IVIG の投与回数を従属変数として、群馬スコア、*MMP13*の SNP6 を変数とした重回帰分析を行った。この際 *MMP13* SNP6 の遺伝型は、GG=1, GA=2, AA=3 とした尺度変数として投入した。この解析でも本遺伝子多型は、群馬スコアと同様に有意な変数となった。*MMP13* SNP6 と群馬スコア間の相関関係はほとんど無く (Spearman ρ , $R = 0.058$, $P = 0.429$)、本遺伝子多型は、群馬スコアに含まれる臨床的パラメータとは独立の IVIG 反応因子である可能性が示唆された。SNP6 は *MMP13* 遺伝子のプロモーター領域に位置し、G アレルに比較して A アレルのプロモーター活性が低いという報告がある。我々も気道上皮細胞において、この SNP の影響について同様の結果を得ている(データ未発表)。

2. 難治性川崎病に対する CyA 投与の有用性の検討 (Suzuki *et al.* 2011)

2.1. 治療反応性について (添付資料 13)

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 329 例を対象とした。この内、初回 IVIG のみで解熱した症例は 245(74.5%)例であり、初回 IVIG に不応が 84 例(25.5%)であった。追加 IVIG で解熱した症例は 54(16.4%)例であり、初回・追加 IVIG とともに不応(難治性川崎病)は、30 症例(9.1%)であった。このうち 28 例に CyA 投与を行った(添付資料 14)。2 例は 4 か月未満であったため CyA 投与は行わず、直ちに 3 回目 IVIG を行い解熱した。CyA 投与症例の 28 例中 18 例(64.3%)で 3 日以内に速やかな解熱がみられ、CRP も低下した(添付資料 15)。他の 4 例で 4-5

日以内に解熱がみとめられた。残り 6 例 (21.4%) は 5 日以内に解熱せず、一旦解熱するも再発熱などがみとめられ、CyA 反応不良であったが 3 回目の IVIG で解熱した。

2.2. 冠動脈病変について

冠動脈病変は全症例 329 例中 4 例 (1.2%) に生じた。CyA 投与した 28 例中 2 例は CyA 投与前の追加 IVIG 中にすでに冠動脈拡張を生じており、CyA 開始後も瘤に進展した。CyA 開始後に冠動脈拡張・瘤を生じたのは、2 例であった (添付資料 13)。

2.3. 安全性について

CyA 投与では重篤な副作用は観察されなかった。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。高カリウム血症 (1 歳未満: ≥ 6.0 または 1 歳以上: $\geq 5.5 \text{ mEq/L}$) を 28 例中 9 例 (32.1%) に認めたが、無症候性であった。また、血清クレアチニンおよび eGFR に有意な変化はなかった。このカリウム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から、血液凝固時に何らかのメカニズムで血球からカリウムが漏出した、*pseudohyperkalemia* の可能性が高いと考えられる。

2.4. CyA の作用機序について

CyA 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 (CyA 有効例 14 例、反応不良 5 例) を検討したが、5 例の不応例では CyA 投与前に IL-6 (Interleukin 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。CyA 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 不応症例で上昇していた (添付資料 16)。このうち、CyA 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。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。

D. 考察：成果と課題

本研究では、①川崎病の感受性遺伝子を明らかにし、そのデータを基に難治性川崎病発生予測につなげることでテーラーメイド医療の実現をめざすこと、②明らかになった感受性遺伝子の関与する経路に基づいた治療法の開発をめざすこと、の大きく二つの課題に挑戦した。この課題に関して本研究班の成果と残された課題に関して記載する。

1. 川崎病の疾患関連遺伝子探索とその臨床応用によるテーラーメイド医療

本研究班は、尾内らによるゲノム全体を対象としたアプローチにより、世界で初めて川崎病の発症感受性遺伝子である *ITPKC* 遺伝子を明らかにした事を契機にしている。川崎病は複数の遺伝要因と複数の環境要因の交互作用により発症する多因子遺伝病である。環境要因に関しては何らかの病原体感染が関与していると考えられながら、40 年以上の精力的な研究にもかかわらずいまだに不明である。一方、遺伝要因に関してはこれまで想定される免疫、炎症などの代謝経路などから、多くの候補遺伝子の検討がおこなわれ、数多くの報告がおこなわれてきた。しかし、その多くは他の研究によって再現されず、確実と評価できるものはほとんど無かった。しかし、最近のヒトゲ

ノム研究の急速な進展により、多因子疾患に関してもゲノム全体を対象とした研究手法が可能となってきた。尾内らは、GWASが利用可能になる以前、唯一のゲノム全体を対象とした研究手法であった罹患同胞のペアを対象とした連鎖解析を10数年前から始めた。*ITPKC*遺伝子は19番染色体の領域に感受性遺伝子が存在する可能性があるとのデータを基に精力的な解析により明らかにした。本研究班開始後に明らかとなった*CASP3*遺伝子も連鎖解析により4番染色体に感受性遺伝子が存在する事が示唆され、その後の解析により明らかとなった。さらにGWAS解析も実施したところ、連鎖解析で明らかになった*ITPKC*, *CASP3*遺伝子も検出することができ、信頼性が高いことが明らかになった。加えて、新たに4つの遺伝子領域のSNPと川崎病の罹患感受性との関連が見出された。まだ論文にしていないので、これらの遺伝子をA, B, X, Yとした。4遺伝子はいずれも免疫系組織での発現が高く、また特に獲得免疫との関わりが深いため、川崎病病態との関連が強く示唆される。

*ITPKC*と*CASP3*はともに川崎病発症における感受性遺伝子として同定されたが、今回の我々の検討により川崎病の重症化とも関連する可能性が高いことが示された。過去の川崎病全国調査の結果から川崎病の致死率が同胞例や再発例で約3倍高いことが報告されており、川崎病への罹患感受性と罹患した際の重症化には一部共通する遺伝的背景があるものと考えられる。川崎病罹患時のIVIGに対する応答性を予測することはCAL予防の観点から非常に重要な課題であり、これまで患者の性別、治療開始病日やALT、ビリルビンなどの検査データをスコア化しその合計を指標とするIVIG不応予測スコアリングシステムが開発されている。しかしながら重症化に関連する遺

伝子多型はこれまでのところ前向き研究を含めて再現性を確かめられたものではなく、今回の*ITPKC*および*CASP3*のSNPが初めてである。今後これら2つのSNPの現行のリスクスコアのパラメータとの関連や、追加のパラメータとしての有用性について検討していく予定である。

遺伝子A, B, X, Y近傍のSNPはその関連の再現性から日本人集団における川崎病の新規感受性遺伝子多型であることは間違いないと思われるが他人種での検討においては必ずしも有意な関連を示さなかった。理由として伝達不平衡試験特有の検出力の問題や人種間の連鎖不平衡のパターンの違いなどが考えられ、他人種における各ローカスの関与の有無についての結論はさらに多数の検体を用いた詳細な検討の後なされるべきである。

川崎病に関する遺伝的背景には罹患感受性や罹患の際の重症化に関連する複数の要因が存在すると考えられる。今回、重症化に関連する遺伝子多型が確かに存在することが示され、遺伝子型に基づくオーダーメイド医療に道が拓けたと言える。更に多数の重症化関連遺伝子を探索する努力を続ける必要がある。

本研究班での候補遺伝子アプローチとして、11q21-22.3に位置する9種類の*MMP*遺伝子クラスターの92個のタグSNPと疾患発症の関連を解析し、必要に応じてさらに詳細なSNPを検出、解析を進めた。*MMP1*, *MMP3*, *MMP10*, *MMP20*内のいくつかのSNPとの相関解析の*P*値が0.05を切っているが、現時点で最も有望な新規感受性遺伝子は、*MMP20*と思われる。

*MMP13*遺伝子のSNP6は、疾患との相関は示していないが、発症月齢とIVIG投与回数との相関が認められた。発症月齢は、プロモーター活性の低いAアレルを持つものが低いという結果であった。一方、IVIGの治

療には、A アレルを持つ者の方が、反応性が良いという傾向が見られた。プロモーター活性が低い A アレルを持つ者は、低年齢で川崎病になりやすいが、IVIG の治療には反応しやすいということになる。*MMP13* の川崎病の炎症における役割はこれまでほとんど情報がないが、我々はこれまで *MMP13* の SNP2, SNP7 と小児喘息との有意の関連をみている。また、*MMP13* 遺伝子の発現は、気道上皮への poly(I:C) 刺激で数百倍以上に上昇し、それには 1 型インターフェロンが関連していることが観察されており、ウイルス感染における、気道上皮等での免疫反応の調節因子としての機能が推定される。今後、川崎病の炎症における本遺伝子の各種臓器での発現とその機能について検討することは意義があると思われる。

2. CyA の難治性川崎病治療薬として可能性 (添付資料 17)

本研究において *ITPKC* と *CASP3* の機能的 SNP が IVIG 抵抗性リスクと関連があることを明らかにした。我々は *ITPKC* と *CASP3* はともに NFAT 経路の負の制御因子であると考えている。この経路の阻害剤である事が知られている CyA が、IVIG 不応例に対する治療法となりうる可能性を検証することも本研究班の主要な課題である。

CyA の臨床研究では、2 回の IVIG に不応な症例に対して CyA の解熱効果や抗炎症効果が明瞭に示された。しかしながら、CyA に反応が充分でない症例も存在し、その遺伝的背景との関連についても検討が必要と考えられる。IVIG 不応例では、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が、CyA 投与によりこれらのサイトカインが低下したことから、CyA が IVIG とは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、CyA の本来の薬理効果と考えられる。多くの症例では、解熱効果が CyA 投与量あるいは血中濃度に依存していた。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られる。

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ので、今後は、CyA のより早期からの投与や初期投与量の増量など新たなプロトコールによる臨床研究を行うことが必要である。

安全性について、重篤な副作用は認められなかった。CyA 投与中に血清カリウム値が高くなる現象については、従来広く用いられてきた小児腎疾患であるネフローゼ症候群の治療では認められていないこと、腎機能低下も認められなかったこと、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血球からカリウムが漏出することがその機序であること示唆され、生体内においては高 K カリウム血症を生じていない可能性が高い。CyA は濃度ピーク時に一過性の高血圧が生じることが報告されているが、本研究では、全症例で高血圧、高血圧性脳症を認めなかった。

E. 結論

- 新たな川崎病関連遺伝子として *Caspase-3 (CASP3)* 遺伝子を同定した。
- GWAS によりこれまでの *ITPKC* および *CASP3* 遺伝子領域以外に、新規川崎病感受性遺伝子多型を 4 カ所同定した。
- *ITPKC* および *CASP3* の機能性 SNP と IVIG 不応および CAL 合併リスクとの間に関連を認めた。
- 候補遺伝子として *MMP* 遺伝子クラスターを検討したが、発症に *MMP10*、発

症月例と IVIG 抵抗性に *MMP13* の多型が関与している可能性が示唆された。

- 複数遺伝子の知見を加えると、当初の *ITPKC* 遺伝子単独の場合よりもさらにベッドサイドでの遺伝子検査による冠動脈異常発生リスクと IVIG 反応性等の予測精度が上げることが期待できる。
- 今回のプロトコールに従った CyA 投与で速やかな解熱が認められ、忍容性も高いと考えられた。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、IVIG 治療法を代替あるいは補完する治療法となる可能性があると考えられる。
- CyA 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。しかし、一旦生じた冠動脈障害の進展を阻止することはできなかった。
- 今後は CyA のより早期の治療開始、投与期間の短縮等、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. Onouchi Y, Gunji T, Burns JC, Shimizu C, Newburger JW, Yashiro M, Nakamura Y, Yanagawa H, Wakui K, Fukushima Y, Kishi F, Hamamoto K, Terai M, Sato Y, Ouchi K, Saji T, Akiyoshi Nariai A, Yoichi Kaburagi Y, Yoshikawa T, Suzuki K, Tanaka T, Nagai T, Cho H, Fujino A, Sekine A, Nakamichi R, Tsunoda T,

Kawasaki T, Nakamura Y, Hata A. ITPKC functional polymorphism associated with Kawasaki disease susceptibility and formation of coronary artery aneurysms, Nat Genet, 40, 35-34, 2008

2. Abe J, Ebata R, Jibiki T, Yasukawa K, Saito H, Terai M. Elevated granulocyte colony-stimulating factor levels predict treatment failure in patients with Kawasaki disease. J Allergy Clin Immunol, 122, 1008-1013, 2008
3. Onouchi Y. Molecular Genetics of Kawasaki Disease. Pediatric Res, 65, 46R-53R, 2009
4. Hata A, Onouchi Y. Susceptibility genes for Kawasaki disease toward implementation of personalized medicine. J Hum Genet, 54, 67-73, 2009
5. Suenaga T, Suzuki H, Shibuta S, Takeuchi T, Yoshikawa N, Detection of multiple superantigen genes in stools of patients with Kawasaki disease, J Pediatr, 155, 266-270, 2009
6. 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, 19, 2898-2906, 2010
7. 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 Pediatr Infect Dis J*, in press.
8. 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 J*, submitted
 9. Onouchi Y and Hata A, Responsible genetic factors for vasculitis in Kawasaki disease. *Vasculitis/ Book 1*, InTech, 2011, Croatia, In press
 10. 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
 11. Mamtani M, Matsubara T, Shimizu C, Furukawa S, Akagi T, Onouchi Y, Hata A, Fujino A, He W, Ahuja SK, Burns, Association of CCR2-CCR5 haplotypes and CCL3L1 copy number with Kawasaki Disease, coronary artery lesions, and IVIG responses in Japanese children. *JC.PloS One*. 5, e11458, 2010
 12. 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
 13. 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
 14. 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, *Periatr Cardiol and Cardiac Surgery*, 26, s157, 2010
 15. 尾内善広, 羽田 明. 川崎病と遺伝子, *日本臨床*, 66, 272-277, 2008
 16. 寺井 勝. 川崎病, *小児科診療*, 71, 2191-2196, 2008
 17. 寺井 勝. 川崎病, *小児内科*, 40, 1145-1148, 2008
 18. 浜田 洋通, 寺井 勝. 新たな治療法の展望, *日本臨床*, 66, 360-364, 2008
 19. 羽田明, 尾内善広. 川崎病の遺伝的背景と個別化医療の可能性, *医学のあゆみ*, 225, 919-924, 2008
 20. 末永智浩, 鈴木啓之, 渋谷昌一, 武内崇, 吉川徳茂, 南孝臣, 上村茂. 高度に肝逸脱酵素の上昇を来した川崎病急性期症

- 例の臨床的検討, 日本小児科学会雑誌, 112, 1543-1547, 2008
21. 鈴木啓之. 病因・溶連菌毒素 正浩川崎病のすべて、小児科臨床 ピクシス 9, 中山書店, 東京, 34-35, 2009
 22. 羽田明, 尾内善広. 川崎病と ITPKC 遺伝子, *Annual Review 循環器* 2009, 中外医学社, 東京, 81-92, 2009
 23. 尾内善広. 川崎病の感受性遺伝子研究, *医学のあゆみ*, 230, 609-615, 2009
 24. 羽田明, 尾内善広. 川崎病の臨床遺伝学, *小児科診療*, 72, 83-86, 2009
 25. 尾内善広. 川崎病の遺伝的素因, *小児内科*, 41, 14-20, 2009
 26. 津野嘉伸, 南 孝臣, 比嘉明日美, 津田祐子, 坊岡美奈, 泉 鉉吉, 宮脇正和, 渋谷昌一, 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、川崎病不全型と考えられた1例, *Prog Med.*, 29, 1645-1649, 2009
 27. 寺井 勝. 川崎病の診断と治療指針, *新心臓病診療プラクティス* 15, 文光堂, 東京, 361-362, 2010
 28. 羽田 明. 高血圧, *分子予防環境医学*, 本の泉社, 東京, 465-470, 2010
 29. 尾内善広. ゲノム解析からみた罹患遺伝子、冠動脈関連遺伝子を考察する, *Vascular Medicine*, 6, 7-14, 2010
 30. 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
 31. 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
 32. 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
 33. 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 22 例に対するシクロスポリン治療の検討, *日本小児循環器学会雑誌*, 26, s300, 2010
 34. 尾内善広. 川崎病のゲノム解析からみた罹患関連遺伝子, *Annual Review 循環器* 2011, 中外医学社, 東京, 54-59, 2011
- ## 2. 学会発表
1. Onouchi Y. Identification of a susceptibility gene for Kawasaki disease. 4th Congress of Asian Society for Pediatric Research & Pediatric Academic Societies annual meeting. 2008.5.3. Hawaii
 2. Onouchi Y. Identification of a susceptibility gene for Kawasaki disease. 国際川崎病シンポジウム 2008.4.10 台北
 3. Onouchi Y, Gunji T, Burns JC, Shimizu C, Newburger JW, Kawasaki T, Nakamura Y, Hata A. A functional polymorphism in ITPKC is associated with Kawasaki disease and formation of coronary artery aneurysms. 8th East Asia Unit of Human Genetics annual meeting., 2008.7.19, 札幌
 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, Hawaii
5. 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, 2010.11, Washington DC
 6. Yoshihiro Onouchi. Identification of Susceptibility Genes of Kawasaki Disease, International forum of child Intractable diseases, Abstract 28, 2010
 7. 鈴木啓之, 渋谷昌一, 武内 崇, 末永智浩, 南 孝臣, 吉川徳茂: IVIG 不応に対してシクロスポリンを使用した 9 例の検討 第 28 回日本川崎病研究会 2008 年 10 月, 札幌
 8. 尾内善広, 羽田 明「川崎病の罹患感受性および重症化リスクに関与するイノシトール 3 リン酸キナーゼ C 遺伝子内 SNP の同定」第 15 回日本遺伝子診療学会大会, 2008.7.1 仙台
 9. 尾内善広「川崎病の罹患感受性遺伝子 ITPKC の同定」日本人類遺伝学会第 53 回大会, 2008.9.28 横浜
 10. 尾内善広「ゲノムワイドアプローチによる川崎病感受性遺伝子の同定」大阪小児免疫研究会, 2008. 6.21 大阪
 11. 尾内善広「ゲノムワイドアプローチによる川崎病感受性遺伝子の同定」第 22 回関東川崎病研究会, 2008.6.21 東京
 12. 尾内 善広「ゲノムワイドアプローチによる川崎病感受性遺伝子の同定」和歌山川崎病研究会, 2008.12.6 和歌山
 13. 尾内 善広「ゲノムワイドアプローチによる川崎病感受性遺伝子の同定」Asahikawa Winter Conference of Molecular Medicine, 2009.2.7 旭川
 14. 尾内 善広「ゲノムワイドアプローチによる川崎病感受性遺伝子の同定」獨協大学臨床小児研究会, 2009.2.23, 越谷
 15. 尾内 善広「ゲノムワイドアプローチによる川崎病感受性遺伝子の同定」近畿川崎病研究会, 2009.3.7, 大阪
 16. 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 Y 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 2009.2
 17. 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 2009.11
 18. 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, 東京
 19. 鈴木啓之, 渋谷昌一, 武内 崇, 吉川徳茂, 末永智浩, 尾内善広: ITPKC 遺伝子多型と川崎病の重症度の分析, 第

- 45 回日本小児循環器学会 2009.7. 神戸
20. 尾内善広「川崎病感受性遺伝子の同定」第 37 回日本臨床免疫学会総会, 2009. 11.13 東京
21. 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 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 回日本川崎病学会 2009.10. 名古屋
22. 末永智浩, 鈴木啓之, 武内 崇, 吉川徳茂, 渋谷昌一: 川崎病冠動脈病変(CAL)合併例の CAL 発症病日からの検討 第 29 回日本川崎病学会 2009.10. 名古屋
23. 尾内善広「Susceptibility genes for Kawasaki Disease」第 74 回日本循環器学会・学術集会 2010.3 京都
24. 鈴木啓之: 難治性川崎病に対するシクロスポリン治療. 第 34 回近畿川崎病研究会 2010.3. 大阪
25. 末永智浩, 鈴木啓之, 武内崇, 吉川徳茂: 発症初期に新型インフルエンザ抗原が検出された川崎病の 2 例. 第 34 回近畿川崎病研究会 2010.3. 大阪
26. 尾内善広, 川崎病感受性遺伝子の同定, 第 37 回日本小児臨床薬理学会, 2010. 11 東京
27. 尾内善広, 尾崎浩一, 角田達彦, 羽田明, 中村祐輔, 田中敏博, 川崎病罹患感受性と相関する CASP3 遺伝子多型の同定, 日本人類遺伝学会, 2010.10.28 大宮
28. 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 回日本川崎病学会, 2010.10. 東京
29. 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線, 第 30 回日本川崎病学会, 2010.10. 東京
30. 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. 東京
31. 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. 東京
32. 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. 東京
33. 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 回日本川崎病学会, 2010.10. 東京

34. 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. 東京
35. 鈴木啓之, 難治性川崎病に対するシクロスポリン治療, 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, 大阪
36. 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 26 回関東川崎病研究会レポート, 2010. 6

H 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）： 該当せず