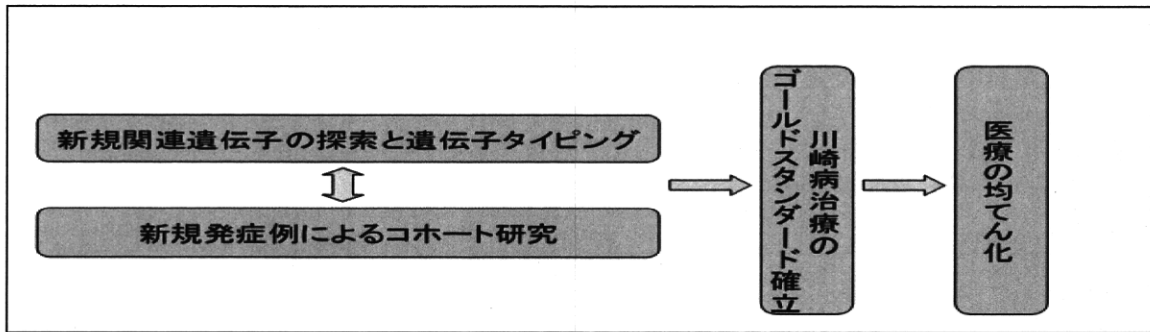
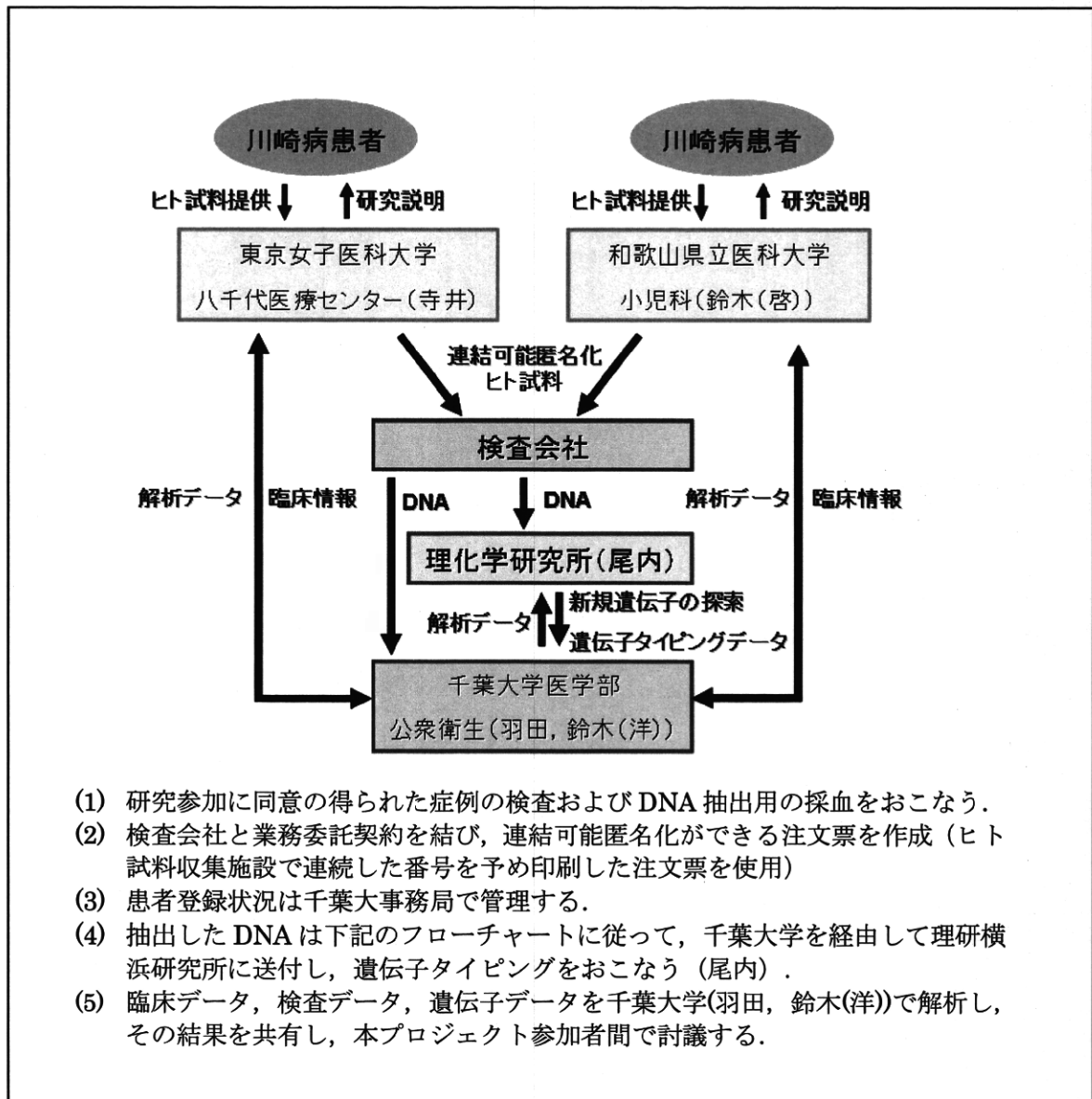


添付資料 1. 本研究の目的：ベンチワークからベッドサイドへ



添付資料 2. ゲノムコホート研究 1) ヒト試料の収集体制と研究分担



- (1) 研究参加に同意の得られた症例の検査および DNA 抽出用の採血をおこなう。
- (2) 検査会社と業務委託契約を結び、連結可能匿名化ができる注文票を作成（ヒト試料収集施設で連続した番号を予め印刷した注文票を使用）
- (3) 患者登録状況は千葉大事務局で管理する。
- (4) 抽出した DNA は下記のフローチャートに従って、千葉大学を経由して理研横浜研究所に送付し、遺伝子タイピングをおこなう（尾内）。
- (5) 臨床データ、検査データ、遺伝子データを千葉大学(羽田、鈴木(洋))で解析し、その結果を共有し、本プロジェクト参加者間で討議する。

添付資料 2. ゲノムコホート研究

2) 研究実施の手順

研究実施の手順	医療機関で実施していただくこと	事務局
1. 倫理委員会に申請し承認を得る	・ <u>倫理委員会に申請する</u>	申請資料の原案を提供 ・申請書 ・同意説明文書 ・同意撤回書
2. 同意取得	・患者さんに研究説明を行い、 <u>同意を取得する。</u> ・同意取得の時期は、退院後でもかまわない。	・ <u>患者さん向け説明資料</u> を医療機関に送付
3. 試料の採取	<u>採血(3mL)する</u> ・その際、匿名化専用依頼書・採血管のセットを使用してください。	・匿名化専用依頼書・採血管のセットを作成し、医療機関に配布(SRL担当者から)
4. 試料の回収	・試料の回収はSRLが行ないます。	・試料回収に関して、SRL担当者が医療機関検査部と打合せを行なう
5. 医療機関から提供していただくもの	治療終了後に事務局に、 <u>FAX</u> または郵送で送付してください。 1) <u>登録票</u> 2) <u>症例のまとめ</u> 3) <u>検査値のまとめ</u>	・事務局でデータベースを作成。 ・臨床情報、タイピングデータによる、統計解析を千葉大学でおこない、遺伝子多型と合併症、治療抵抗性の関連を明らかにする。

3) 研究参加施設

研究参加施設

- ・ 東京女子医科大学八千代医療センター
- ・ 千葉大学医学部附属病院小児科
- ・ 国保旭中央病院小児科
- ・ 船橋市立医療センター小児科
- ・ 和歌山県立医科大学小児科
- ・ 橋本市民病院小児科
- ・ 公立那賀病院小児科
- ・ 和歌山ろうさい病院小児科
- ・ 国保日高総合病院小児科
- ・ 社会保険紀南病院小児科
- ・ 泉大津市立病院小児科
- ・ 仙台市立病院小児科
- ・ 千葉大学大学院医学研究院公衆衛生学

試料・臨床データの 収集状況 (2011/03/22現在)


収集検体数	482
登録票	449
症例報告書	396
検査データ	401

4) 研究説明資料

安心して研究に参加していただくために

研究内容についての 詳しいご説明

「川崎病の遺伝子型に基づくテーラーメイド医療の開発」



この文書は、川崎病の重症や治療薬の反応性に対する、遺伝子の影響を調べる研究について詳しく説明したものです。
この文書を読み、よく理解したうえで、この研究に参加してもよいと思われる場合には、担当者にご署名を依頼いたします。わかりにくいことや不安な点がありましたら、担当医にご連絡ください。

6) 匿名化伝票

匿名化専用伝票簿 (川崎病発症に関するゲノムコホート研究) 匿名化専用伝票簿カバー

患者ID	性別	年齢	病期	検査日時	検査項目
070001	男	12	急性	2014.05.10	全ゲノム

匿名化専用伝票簿 (川崎病発症に関するゲノムコホート研究) 匿名化専用伝票簿カバー

匿名化専用伝票簿 (川崎病発症に関するゲノムコホート研究) 匿名化専用伝票簿カバー

5) ポスター

小児科を受診の患者様へ

研究へのご協力 のお願い

当院では、川崎病に関する研究へのご協力をお願いしています。

- ご協力いただきたい方
川崎病にかかったことのある患者様と、その血縁者の方、
- ご協力いただきたい内容
① 血液、または だ液を採取させていただく、
② 診療記録を使用させていただく、
- 研究の目的
この研究は、川崎病の発症や病気の重症、薬の効き方が、生まれるがらの体質 (遺伝的素因) と関連するかどうか、調べるものです。
- 研究成果が、将来多くの患者様に役立ちます
① 患者様ごとの最適な治療法の選択
② 新しい治療法の開発
③ 川崎病の予防
が期待されます。

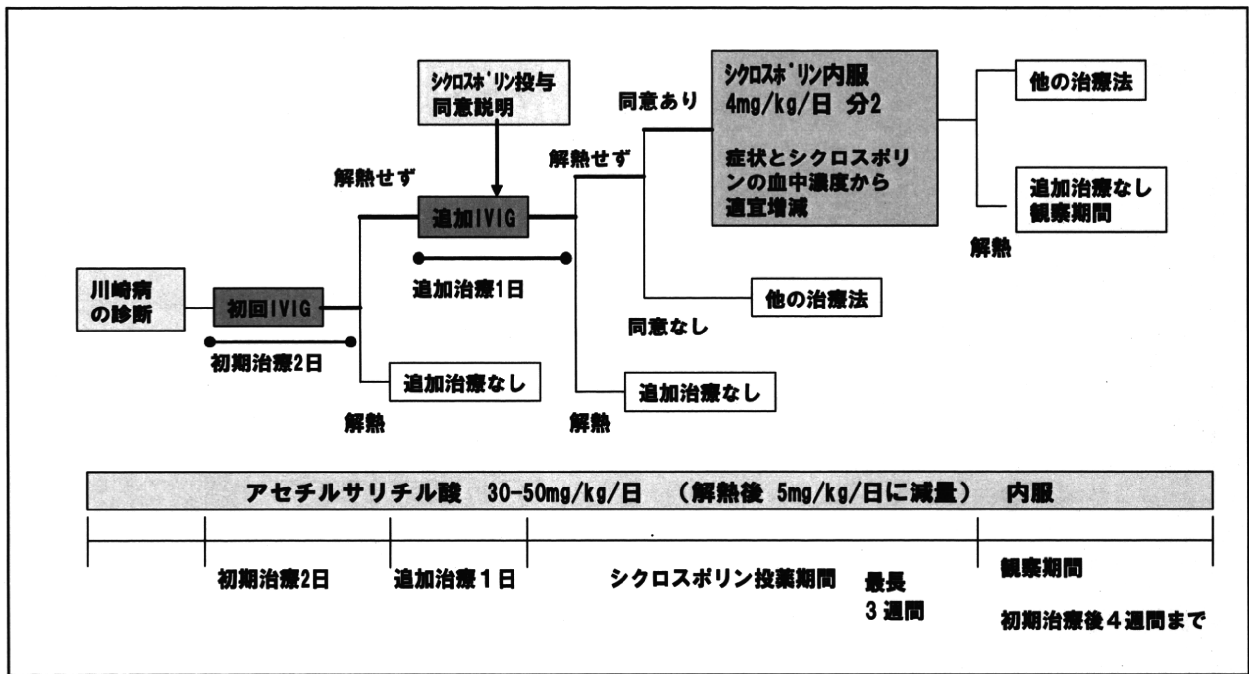
※本日に診療の費用がかかることはありません。
※ご協力いただくだけでも、他のことと並行して参加いただけることは一切ありません。
※匿名化の個人情報は、匿名化 (姓や年齢に置き換えて、個人が特定できないようにすること) により、病状の病気に適する情報が、他の人に知られることはありません。

ご協力いただける方は、当院小児科の担当医師までお気軽におたずねください。



研究員名: 厚生労働省科学研究費
「川崎病の発症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」

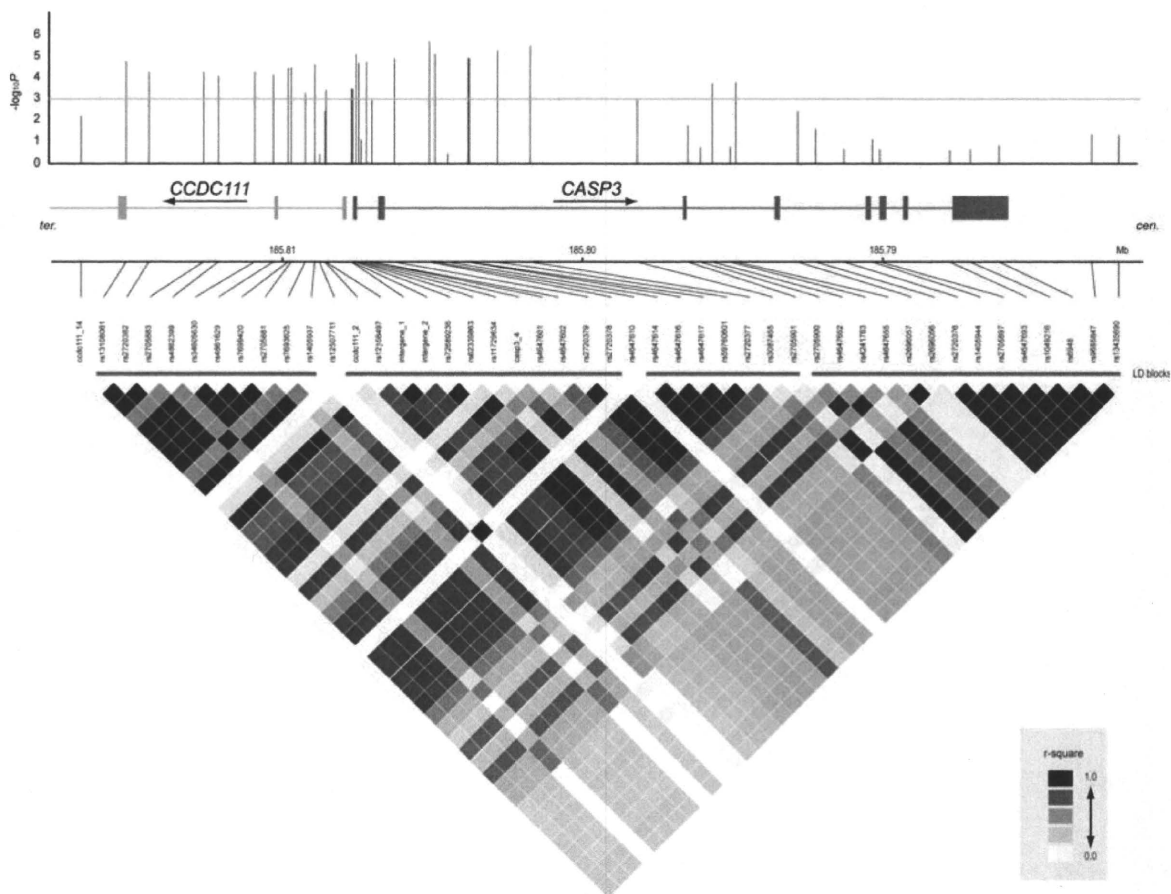
添付資料 3. 臨床研究プロトコール



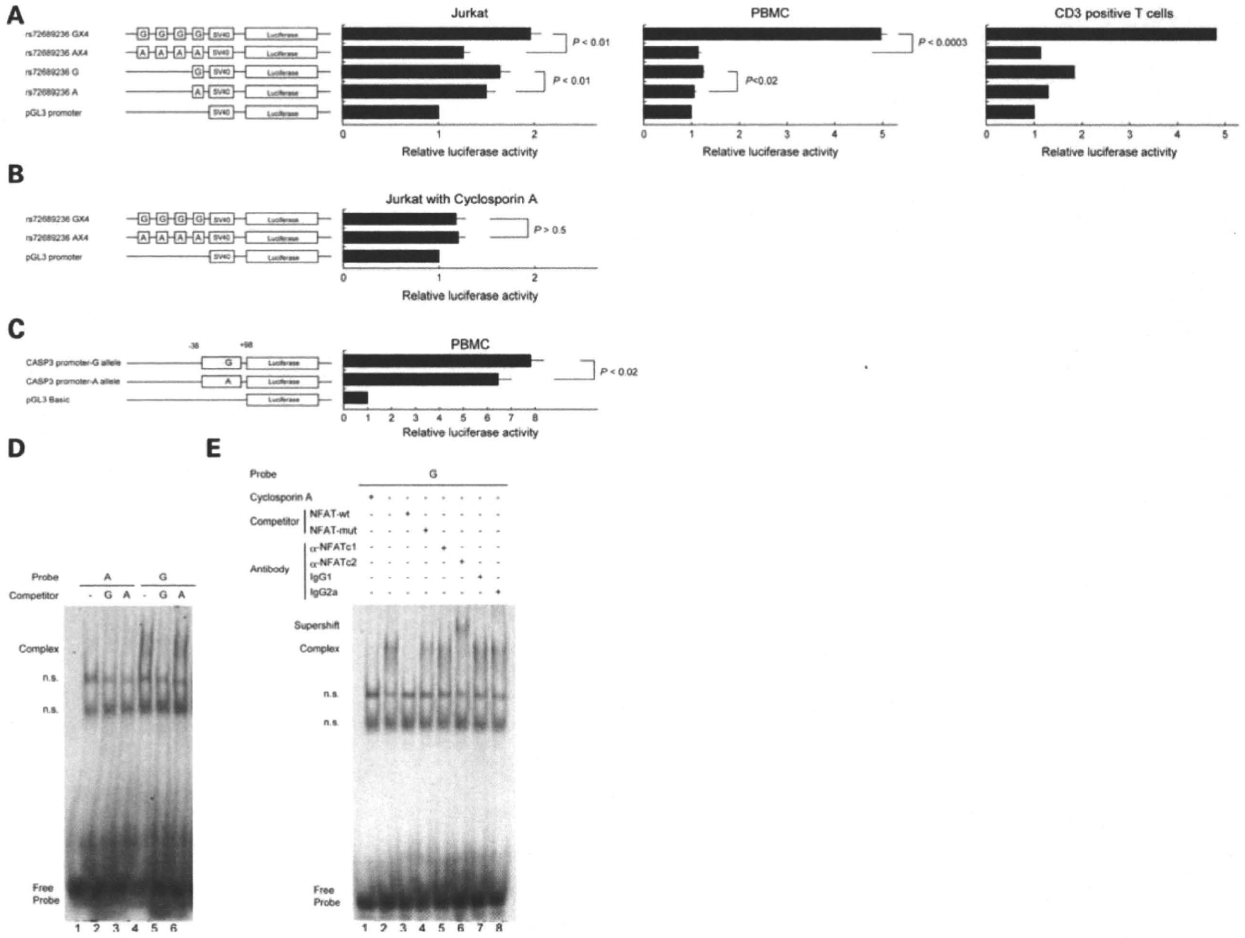
添付資料 4. 観察および検査項目

項目	初期治療		シクロスポリン投与				後観察期間
	IVIG治療前	初回 IVIG 治療開始後 48 時間	CyA 投与前 追加 IVIG 治療開始後 24 時間	投与 2-3 日	投与 6-7 日後	投与 14 日後 または退院時	初期治療開始後 4 週間
有害事象 a	●	●	●	●	●	●	●
胸部レントゲン	●			●		●	
心電図	●		●	●		●	
心エコー検査	●		●		(●)	●	●
血液学的検査 b	●	●	●	●	●	●	●
血液生化学・血清検査 c	●	●	●	●	●	●	●
BNP	●	●	●		(●)	(●)	
IgG	●	●	●				
血沈 d	●						
尿検査 d	●			●		●	
血清保存 e	●	●	●		●	●	
シクロスポリン血中濃度 (投与前の濃度)				●	●	●	
シクロスポリン血中濃度 C2 モニタリング				(●)	(●)	(●)	

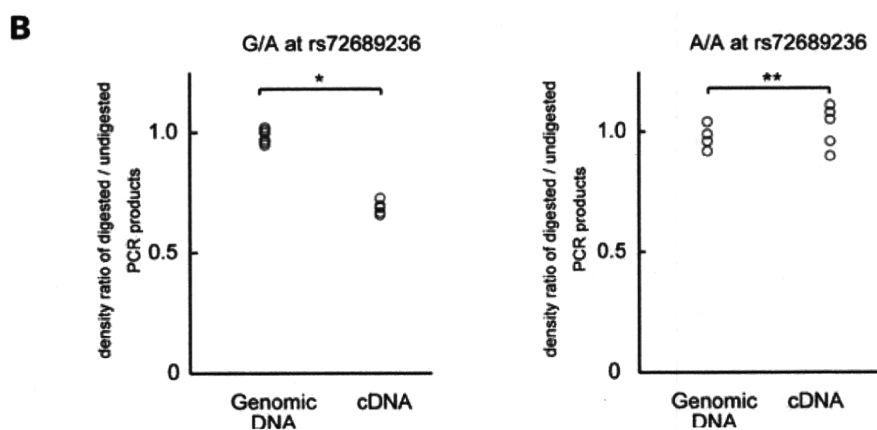
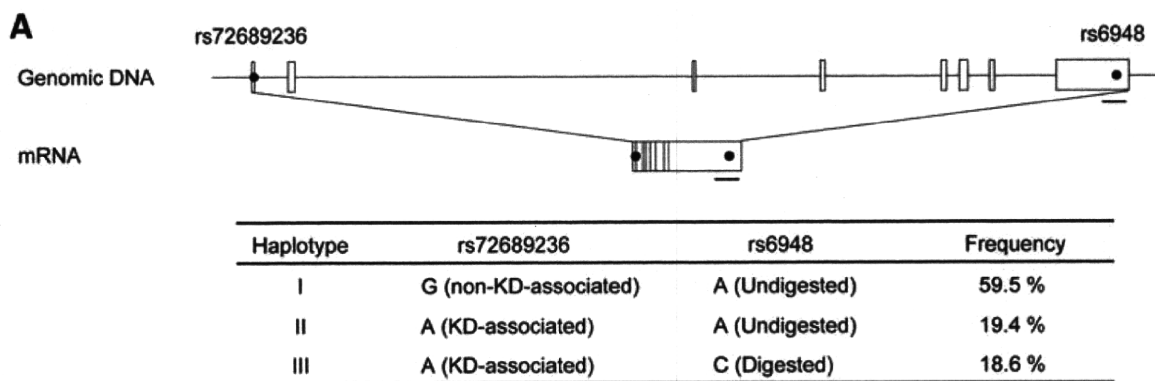
添付資料 5. *CASP3* 遺伝子周辺の連鎖不平衡の構造



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

表 1. 川崎病のゲノムワイド関連解析のサマリー

SNP	Chr	Position ^a	Locus	risk allele	RAF		P	
					KD	controls		
rs755535	4	185905369	<i>MLF1IP - ACSL1</i> (<i>CASP3</i>)	GWAS ^b	A	0.45	0.38	5.4E-05
				Replication 1 ^c		0.43	0.36	2.6E-03
				Replication 2 ^d		0.43	0.37	0.031
				Replication 1 + 2 ^e		-	-	3.0E-04
				GWAS + Replication 1 + 2 ^e		-	-	5.4E-08
rsxxxxxx	-	-	X	GWAS ^b	G	0.83	0.72	8.0E-12
				Replication 1 ^c		0.81	0.69	6.7E-08
				Replication 2 ^d		0.80	0.71	1.8E-04
				Replication 1 + 2 ^e		-	-	4.8E-11
				GWAS + Replication 1 + 2 ^e		-	-	2.0E-21
rsaaaaaaa	-	-	A	GWAS ^b	C	0.52	0.44	1.5E-05
				Replication 1 ^c		0.51	0.45	0.015
				Replication 2 ^d		0.53	0.41	3.7E-06
				Replication 1 + 2 ^e		-	-	2.7E-07
				GWAS + Replication 1 + 2 ^e		-	-	1.9E-11
rsbbbbbb	-	-	B	GWAS ^b	T	0.81	0.75	9.5E-06
				Replication 1 ^c		0.80	0.72	9.5E-05
				Replication 2 ^d		0.77	0.71	0.012
				Replication 1 + 2 ^e		-	-	4.5E-06
				GWAS + Replication 1 + 2 ^e		-	-	1.7E-10
rs2233152	19	45972856	<i>SNRPA - MIA</i> (<i>ITPKC</i>)	GWAS ^b	A	0.22	0.16	8.0E-07
				Replication 1 ^c		0.21	0.14	3.5E-04
				Replication 2 ^d		0.19	0.15	2.8E-02
				Replication 1 + 2 ^e		-	-	4.2E-05
				GWAS + Replication 1 + 2 ^e		-	-	1.5E-10
rsyyyyyy	-	-	Y	GWAS ^b	C	0.74	0.67	6.2E-05
				Replication 1 ^c		0.73	0.67	5.9E-03
				Replication 2 ^d		0.74	0.69	2.8E-02
				Replication 1 + 2 ^e		-	-	4.6E-04
				GWAS + Replication 1 + 2 ^e		-	-	9.5E-08

a: SNP positions are derived from NCBI human genome reference sequence Build 36.3.

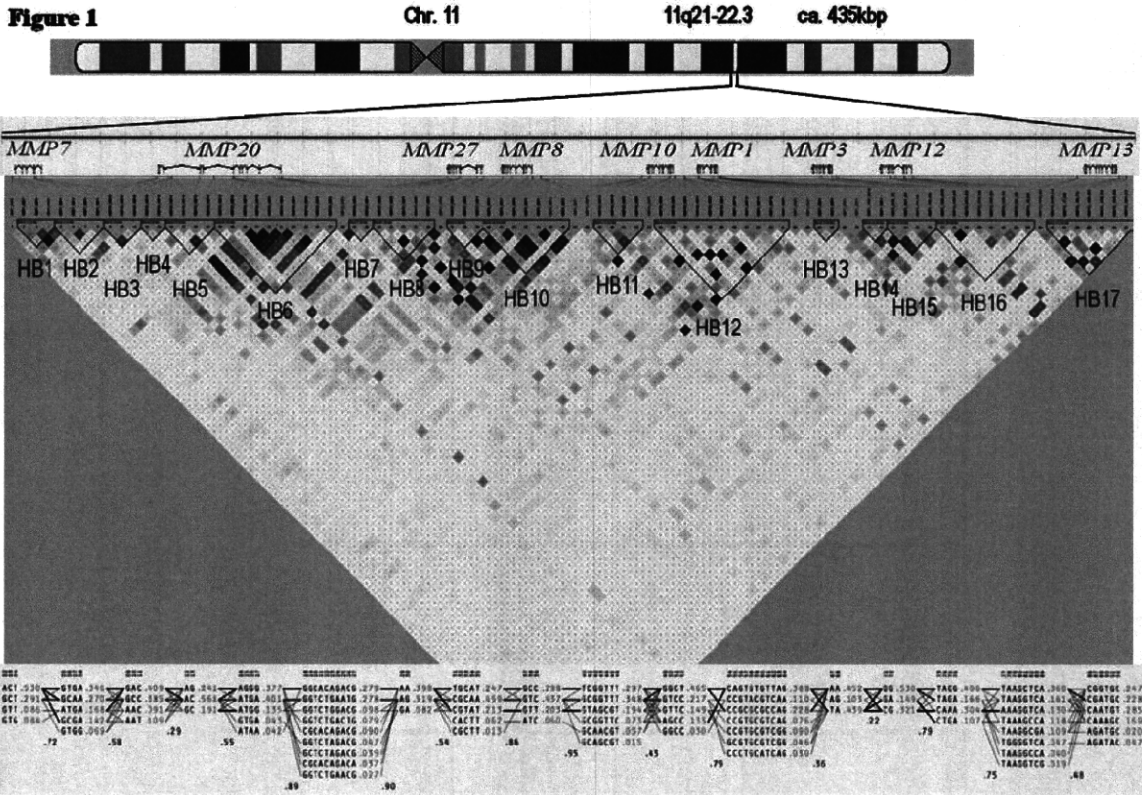
b: 438 KD and 3397 controls

c: 470 KD and 378 controls

d: 285 KD and 569 controls

e: Meta analyses with Cochrane Mantel Haenszel method

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



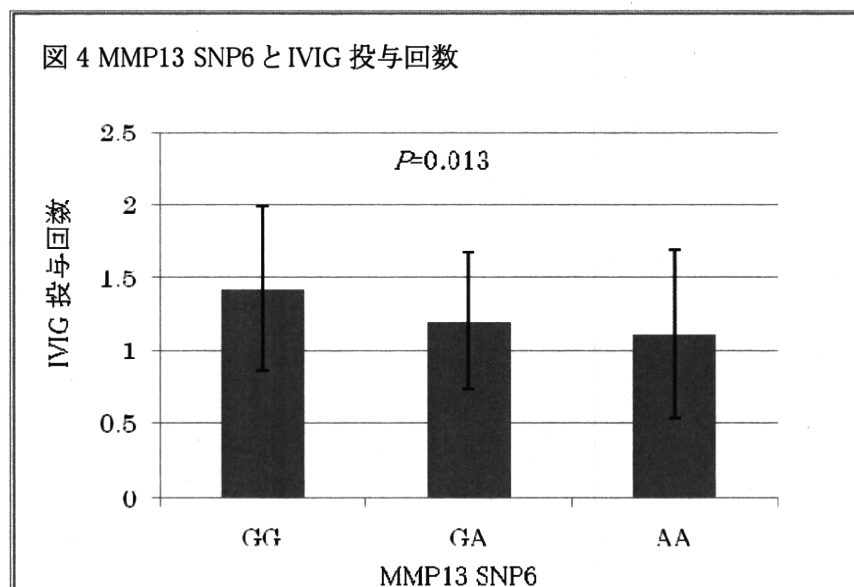
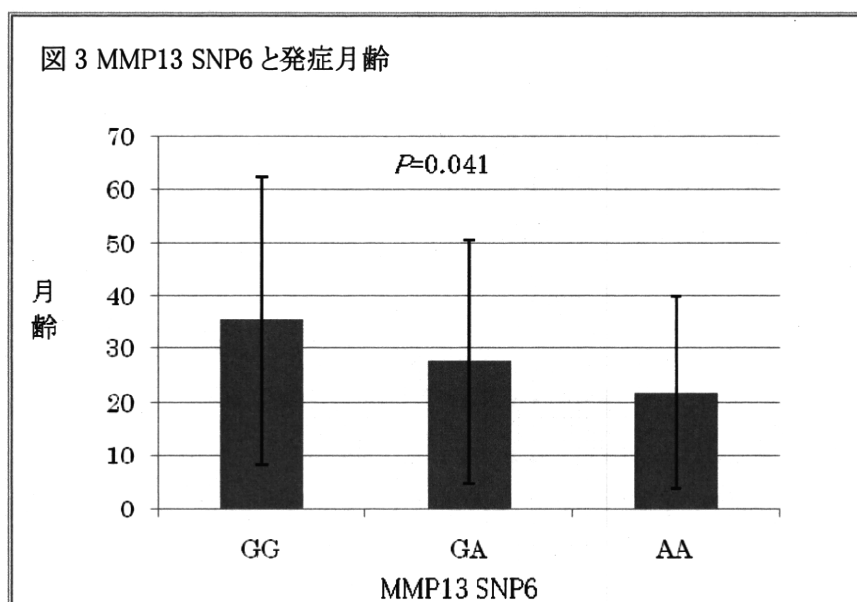
添付資料 10. 解析対象集団の入院時病日, 発症時月齢, IVIG投与回数のおとめ

		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

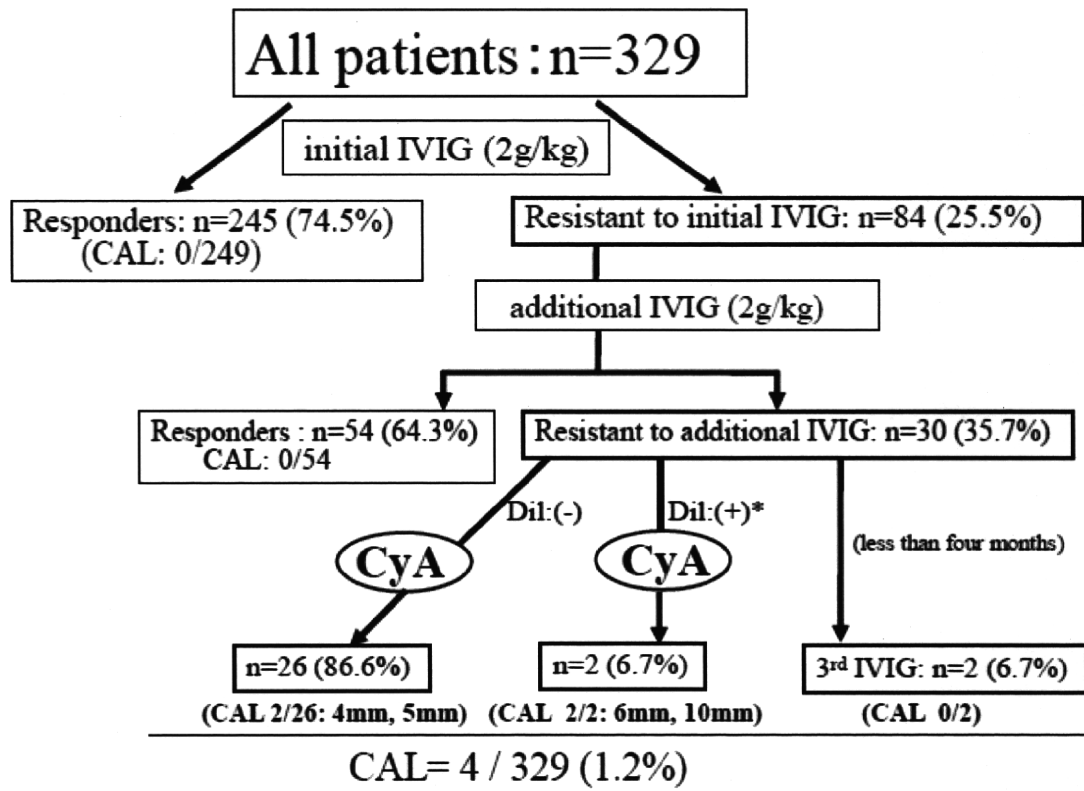
添付資料 11. IVIG投与回数の分布

		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

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

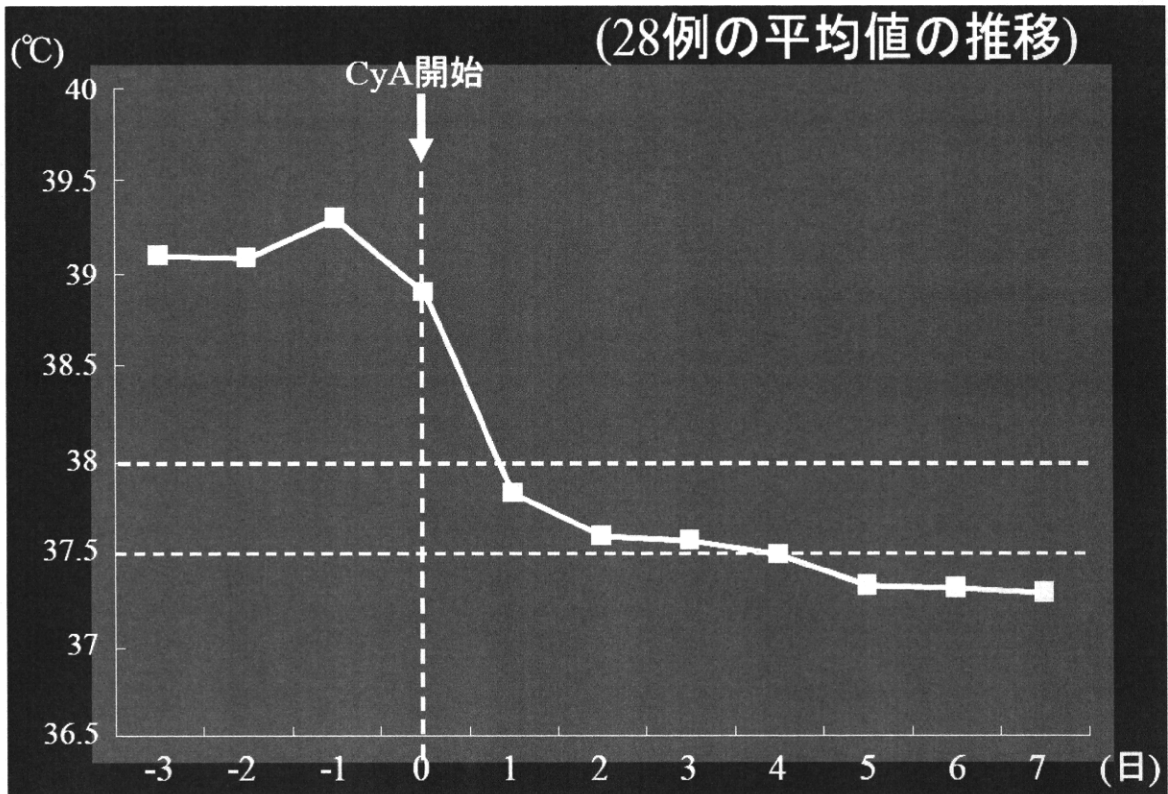
Table 3. Summary of clinical parameters in 28 KD patients treated with CyA.

1) age (months)	4-93 (23)	
2) male:female	20 : 8	
3) illness day of initial IVIG	3 - 6 (4.5)	
4) illness day of additional IVIG	5 -10 (7)	
5) illness day of the start of CyA treatment	7 -12 (8)	
6) duration (days) of CyA treatment	5 -50 (14)	
7) duration (days) until afebrile after CyA treatment	1 -13 (2)	
8) axillary temperature (centigrade)		
on the day of the start of CyA treatment	38.0-40.3 (38.9)	} p<0.01*
2 days after the start of CyA treatment	36.1-40.4 (37.6)	
9) CRP (mg/dL)		
on the day of the start of CyA treatment	1.2-16.8 (9.3)	} p<0.01*
2 days after the start of CyA treatment	0.4-16.1 (5.2)	
10) serum potassium levels		
on the day of the start of CyA treatment	2.9-5.1 (4.1)	} p<0.01*
maximum potassium levels	4.9-6.1 (5.4)	
duration (days) until maximum potassium levels	3 -13 (6.5)	
11) serum creatinine levels		
on the day of the start of CyA treatment	0.1-0.33 (0.23)	} p=0.156*
on the day of maximum potassium levels	0.12-0.33 (0.24)	
12) estimated GFR:		
on the day of the start of CyA treatment	85.5-152.3 (109.9)	} p=0.123*
on the day of maximum potassium levels	83.4-135 (103.9)	

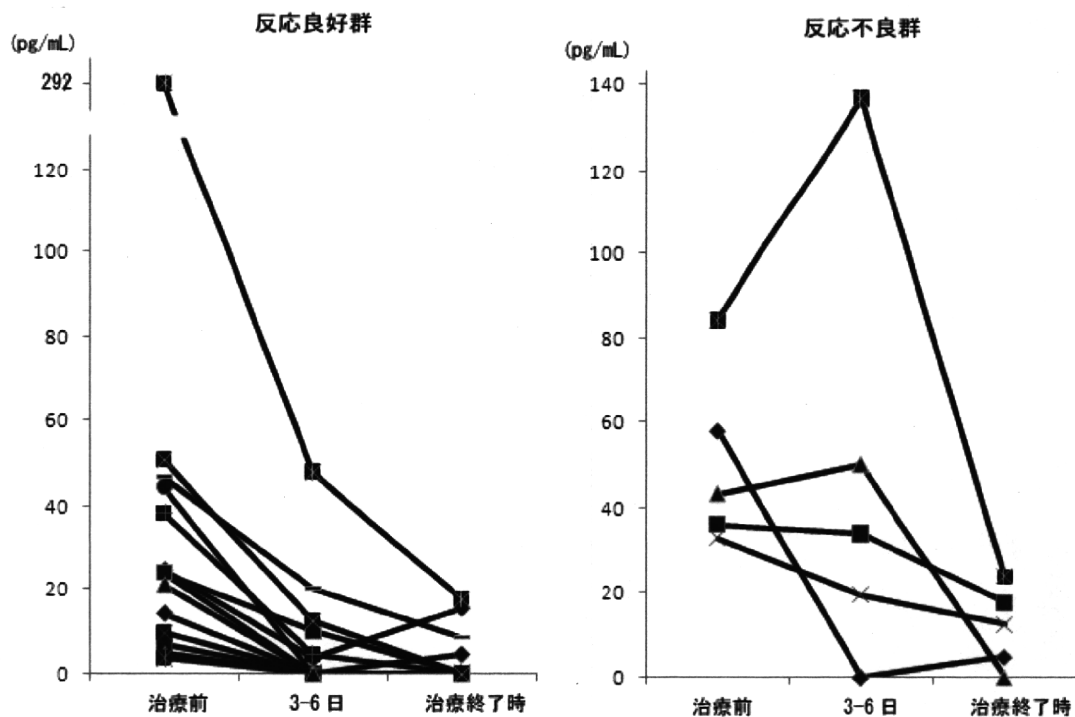
ranges (median)

*: Wilcoxon's signed rank test

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



川崎病の新しい治療プロトコール —シクロスポリンAの可能性—

千葉大学大学院医学研究院
公衆衛生学
羽田 明(Akira HATA)

川崎病(OMIM #611775)

- 1967年, 川崎富作博士が報告
- 乳幼児が主に罹患(1歳以下が26%, 5歳以下が約90%)
- 全身の中小血管に炎症がおこる
- 大量Immunoglobulin静注(IVIg)が冠動脈病変を抑える(治療が効きにくい症例もある:10-20%)
- 大部分は自然治癒するが, 治療しなければ, 20-25%, 治療しても5%弱に冠動脈瘤が発生する.
- 近年の増加により, 毎年1万人以上が罹患する(原因不明)
- 小児における冠動脈疾患の最大の原因(日米とも)
- 感染症の関与が強く疑われるが, その病原体は不明
- 遺伝要因の関与は明らか

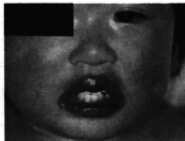
頸部リンパ節腫脹



不定形発疹



眼球結膜の充血
口唇の紅潮、亀裂



手足の硬性浮腫
手掌、足底の紅斑

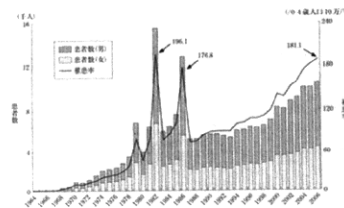


指先からの膜様落屑

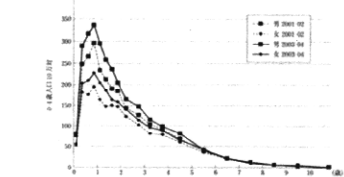
萼舌



川崎病の疫学



- 1979, 1982, 1986年の3回に渡って大流行
- 1990年代半ばより徐々に罹患数が増加
- 2005年から年間1万人を超えた(181.1/10万)



- 男女比は1.3-1.4
- 生後まもなくは罹患率低く, その後急上昇9-11ヶ月がピーク

川崎病は多因子疾患

- 川崎病の発症には, 感染(原因となる病原体は未だに不明)などの複数の環境要因と, 複数の遺伝子(川崎病になりやすさを決めている)が関与している
- 最近のゲノム医学研究の進歩により, ようやく, 多因子疾患発症に関与する遺伝子を明らかにできる様になった→遺伝子が明らかになれば, 治療薬の開発にもつながる可能性あり

川崎病に遺伝的背景が存在すると考える根拠

- 川崎病はアジア人, 特に日本人に多い
 - 日本における罹患率は欧米の10-20倍
 - 韓国, 台湾は日本人に次ぐ罹患率
 - ハワイ在住日系人の高率罹患
- 川崎病には同胞発症例が多い($\lambda_s=10$)
- 川崎病は親子例が多い(親が既往者である率が2倍)
- 川崎病は男児に多い(男女比1.3-1.4)

多因子疾患の家族集積性(λs)

• 統合失調症	12
• 自閉症	150
• 双極性障害	7
• 1型糖尿病	15
• 2型糖尿病	4-6
• クローン病	25
• 多発性硬化症	24
• 本態性高血圧	2-4
• アルツハイマー病	4
• 乳がん	2

川崎病の病態仮説

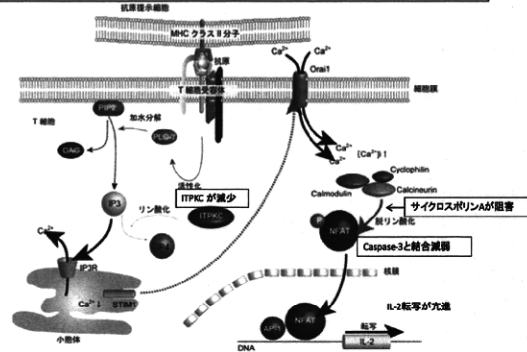
- 何らかの病原体(複数?)感染がきっかけとなって全身の免疫反応による血管炎が発症する。
- 遺伝的にある種の病原体感染に対して過剰に反応し血管炎をおこしやすい、川崎病易罹患者が存在する。

川崎病の感受性遺伝子

- *ITPKC*遺伝子(*ITPKC*):19q13.2
- *Caspase-3*遺伝子(*CASP3*):4q35

→両遺伝子とも、「免疫effector細胞におけるシグナル伝達に関与し、川崎病関連遺伝子多型はシグナル増強をひきおこしている」との仮説で説明できそう。

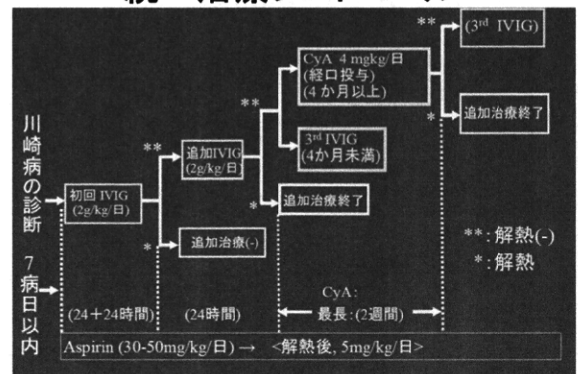
*ITPKC*と*CASP3*のSNPがT細胞活性化に及ぼす影響

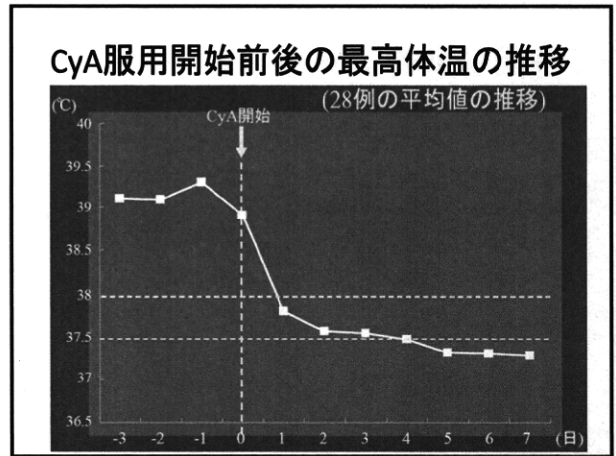
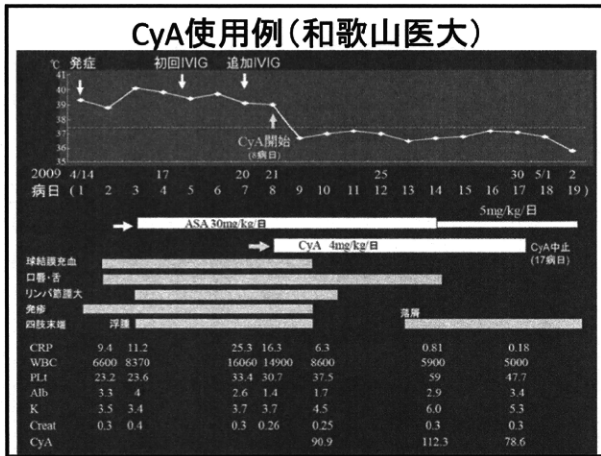


これまでわかったこと

- 川崎病へのかかりやすさを決めている遺伝子が2つわかった
- IVIG不応と冠動脈瘤合併症にも関与している可能性がある→統一治療プロトコルによる研究で確認する必要がある→確認できた
- 遺伝子が関与している経路からシクロスポリンA(CyA)が効く可能性がある→臨床研究で確認する必要がある(小児に使いやすいネオラルを使いたい)

統一治療プロトコル





- ### CyA使用経験のまとめ
1. 統一プロトコールで治療した329例中、2回のIVIG不応例は30例(9.1%)であった。
 2. 4か月齢以上の28例にシクロスポリン(CyA)を投与した結果、3日以内に19例(67.9%), 5日以内に22例(78.6%)が解熱した。
 3. 6日以上解熱しないCyA不応の6例中4例は3回目IVIGで解熱した。
 4. 一過性高K血症(≥ 6.0 または ≥ 5.5 mEq/L)を9例(32.1%)に認めたが、無症候性で有害事象は生じなかった→アーチファクトの可能性が高い
 5. CALは、CyA投与前に瘤を生じた2例を含めて4例(4/329=1.2%)に発症した→病初期から投与していれば発生が防げたかもしれない

- ### CyA使用に関して
- これまでの研究で示唆されたこと
- CyAは川崎病でも安全に使える。
 - IVIG不応例でも効果的な症例がある。
 - CyAを病初期から使うと効果的ではないか？
- 今後、確認したいこと
- 安全性と有効性をIVIG不応例だけでなく川崎病全症例を対象に評価したい。

- ### 川崎病の標準治療としてネオオーラルの有用性が確認できれば
- 「治療抵抗性→冠動脈合併症」という症例を減らせる。
 - 小児に使いやすい経口薬で治療でき、患者の負担が少ない
 - IVIGに代わりうる治療法である可能性もでてくる→医療経済上のメリット、生物学的製剤を避けうるメリットは多大

安心して研究に参加していただくために

研究内容についての 詳しいご説明

「川崎病の遺伝子型に基づくテーラーメイド医療の開発」



この文書は、川崎病の重さや治療薬の効きめに対する、遺伝子の影響を調べる研究について説明したものです。

この文書を読み、良く理解したうえで、この研究に協力してもよいと思われる場合には、同意書にご署名をお願いいたします。わかりにくいことや不安な点がありましたら、担当医にご遠慮なくおたずねください。

私たちの取組みと、ご参加いただきたい研究について

私たちは、川崎病の病態を理解し、より質の高い医療を提供するために、遺伝子解析を取り入れた研究を行っています。この研究は、川崎病の発症や病気の重さ、薬の効き方、と遺伝子との関連性について調べようとするものです。

研究題名：厚生労働省科学研究費 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」

研究実施責任者：

千葉大学大学院医学研究院 公衆衛生学 教授 羽田 明

研究実施担当者：

千葉大学大学院医学研究院 公衆衛生学 准教授 鈴木洋一
理研横浜研究所ゲノム医科学研究センター 上級研究員 尾内善広
東京女子医科大学八千代医療センター小児科 教授 寺井 勝
和歌山県立医科大学附属病院小児科 准教授 鈴木啓之

事務局：千葉大学大学院医学研究院 公衆衛生学

住所：〒260-8670 千葉市中央区亥鼻1-8-1

電話：043-226-2069、FAX：043-226-2070

この文書は、この研究の内容、同意に関する事柄などについて説明したものです。

この研究の内容は、遺伝子解析研究に関する倫理指針に従っており、当院の遺伝子研究に関する審査委員会
で、人権擁護の面も含め、その倫理性につき検討を受け承認されています。

この文書をよく理解した上で、あなた（以下、あなたがお子さんの代わりに説明を受けている場合には、
お子さんのことですが）が研究に協力していただける場合には、「同意書」に署名をお願いいたします。
もちろん、同意いただけないからといって、そのことであなたが不利益を受けることは一切ありません。

この研究の責任者・問い合わせ先・相談と苦情の受付窓口

この研究の当院の責任者は下記のとおりです。この研究のことで、よくわからないことがありましたら、
担当医にお気軽にご相談ください。

