

令和元年6月21日現在

機関番号：32202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K09697

研究課題名(和文)川崎病におけるバイオマーカー開発と難治例の新しい治療戦略

研究課題名(英文) Biomarker development in Kawasaki disease and new treatment strategies for refractory cases

研究代表者

南 孝臣 (MINAMI, TAKAOMI)

自治医科大学・医学部・非常勤講師

研究者番号：60423951

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：川崎病の難治例(免疫グロブリン(IVIG)不応例)に血小板活性化因子(PAF)の関与が報告されている。PAFの炎症反応経路上の転写因子NFATを阻害するシクロスポリン(CsA) 3mg/kg/dayの持続静注をIVIG不応例50例に施行した。結果、全例が7日以内(うち72%は24時間以内)に解熱した。冠動脈瘤は、中等瘤1例(2%)のみで、過去の報告10.1%(30病日以降)と比較して非常に良好であった。また、CsA投与前後でT細胞活性化マーカーである可溶性IL-2レセプターも有意に低下し、川崎病難治例にはT細胞活性化の関与が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

川崎病は、乳幼児に特に多い全身性血管炎で、現在も原因不明である。研究開始当時、約5%に冠動脈瘤を残していた。免疫グロブリン療法(IVIG)に反応しない不応例は、冠動脈瘤のリスクが約8-10倍で、その対応が課題であった。本研究は、学術的には、川崎病IVIG不応例の免疫学的機序の一端を明らかにするとともに、シクロスポリン持続静注療法という治療法の選択肢を示した点で、社会的にも意義があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The involvement of platelet activating factor (PAF) has been reported in refractory cases of Kawasaki disease (patients who are resistant to intravenous immunoglobulin [IVIG]). Continuous intravenous injection of cyclosporin (CsA), which inhibits the transcription factor NFAT in the inflammatory response pathway of PAF at a dose of 3 mg/kg/day was administered in 50 patients with IVIG resistance. Consequently, symptoms subsided within 7 days in all patients (72% of all patients within 24 hours). The proportion of patients with coronary artery aneurysm was very small (only 1 [2%] patient with middle aneurysm) compared to the previous reported 10.1% (after 30 days of disease). In addition, levels of soluble IL-2 receptor, which is a marker of T cell activation, were also significantly decreased before and after CsA administration, suggesting the involvement of T-cell activation in refractory cases of Kawasaki disease.

研究分野：小児循環器学、川崎病

キーワード：川崎病 免疫グロブリン シクロスポリン持続静注療法

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 川崎病は乳幼児に好発する原因不明の全身性血管炎で、研究開始当初、本邦において年間約1万3千人が発症し、約5%に冠動脈瘤を形成していた。標準治療である免疫グロブリン大量静注療法 (IVIG) 2g/kg を施行しても、約20%は24時間以内に解熱しない IVIG 不応例で、その冠動脈瘤発生頻度は、反応例の約8-10倍高く、その対応が課題であった。

(2) 川崎病の IVIG 不応機序に、転写因子 NFAT (Nuclear Factor of Activated T cells) などを誘導する強力な炎症性メディエーターである血小板活性化因子 (PAF) の関与が報告されている。当初、本邦では、川崎病の IVIG 不応例においてシクロスポリン (CsA) の有効性が報告されてきていたが、その投与方法は統一されておらず、免疫学的機序も十分には解明されていなかった。

(3) 研究開始当初、川崎病急性期には制御性 T 細胞 (Treg) は低値で、IVIG 後に正常値に回復すると報告されていたが、その機序は解明されておらず、IVIG 不応例や CsA 投与時の反応についても明らかになっていなかった。

2. 研究の目的

(1) 川崎病の IVIG 不応例に対して、NFAT を阻害する CsA 静注療法を統一したプロトコールで施行し、IVIG 不応例に対する CsA 静注療法の有効性を明らかにすること。

(2) 川崎病の IVIG 不応例において、CsA 静注療法を施行し、臨床所見や、炎症性のパラメーターなどの推移を明らかにすること。

(3) CsA 静注療法を施行し、その過程における免疫反応として、リンパ球、なかでも、T 細胞、B 細胞、NK 細胞、細胞障害性 T 細胞、制御性 T 細胞 (Treg) との関連を明らかにすること。

3. 研究の方法

(1) シクロスポリン (CsA) 3mg/kg/day の持続静注 (CICsA) を川崎病患者のうち、IVIG 2g/kg を2回以上投与された IVIG 不応例 50 例 (男 33 例、女 17 例、年齢 3m ~ 9y2m (中央値 2y6m)、男女比 33:17) に対して施行した。CICsA は、原則、第 9 病日以前に 3.0mg/kg/day で開始し、血中濃度 300-500ng/ml を目標にした。

(2) CsA の前後において、川崎病の臨床所見 (有熱期間など) 冠動脈病変の有無を確認した。血清中の K 最高値、CRP 最高値、T 細胞活性化のマーカーである可溶性インターロイキン 2 レセプター (sIL-2R)、白血球数、好中球数、リンパ球数を測定した。

(3) フローサイトメトリー (FACS) を用い、CsA 療法前後で T 細胞 (CD3、4/8 比)、B 細胞 (CD19)、NK 細胞 (CD56)、細胞障害性 T 細胞 (CD8⁺/HLA-DR⁺)、制御性 T 細胞 (CD4⁺/CD25⁺/Foxp3⁺) を測定した。

4. 研究成果

(1) IVIG 不応の川崎病症例 50 例全てで解熱が得られ (投与開始から解熱までの期間は 24 時間以内-7 日) うち 36 例 (72%) が 24 時間以内と短期間で解熱した。解熱時の CsA 血中濃度は 220-570ng/mL (中央値 373ng/mL) であった。川崎病の最重要後遺症である冠動脈瘤は、中等瘤 1 例 (2%) のみで、過去の報告 10.1% (30 病日以降) と比較して非常に良好であった。以上から、CsA 静注療法は、効果の発現がすみやかで、重篤な合併症もないことから、今後の川崎病難治例 (IVIG 不応例) の治療戦略として期待される。

(2) 炎症性バイオマーカーについて、CsA 投与前と静注 3-5 日後の比較では、sIL-2R が 2587 1638 U/mL, $p < 0.01$ と有意に低下し、炎症マーカーの CRP も 13.1 4.4 mg/dL と有意に低下した。白血球数に有意差はなかったが、リンパ球は 3021 4720/μL, $p < 0.01$ と有意に増加した。以上から、CsA 静注療法は、NFAT 抑制により PAF の炎症反応経路を速やかに抑制し、IVIG 不応の川崎病症例において、T 細胞活性化の抑制など、炎症反応の沈静化に作用すると可能性が考えられた。

(3) 検査結果 (CsA 投与前 投与 3-5 日後の平均値: p 値; n=17) は、CD3 陽性 1910 3444/μL: $p < 0.01$ 、CD4/8 1.93 2.04: 有意差なし (n.s.)、CD19: n.s.、CD56: n.s.、細胞障害性 T 195 327/μL: n.s.、制御性 T 細胞 (Treg) 69.7 129/μL: $p < 0.05$ 、であった。CsA 投与前後で T 細胞 (CD3 および Treg) は有意に増加した。CD4/8 比、B・NK 細胞に有意差はなかった。

以上から、IVIG 反応例の Treg が IVIG 後に低値から正常値に回復するのに対して、IVIG 不応例においては、回復しておらず、CsA の持続静注により回復したと推測される。CsA は、T 細胞の活性化など炎症反応を抑制するが、その経路の 1 つとして、抑制性の Treg を増加により効果を発揮する可能性が考えられた。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 6 件)

- 1) 南孝臣 .「血管の炎症を俯瞰する」血管炎 川崎病 .診断と治療 2018;106:182-186 .
査読無
- 2) Teraura H, Kotani K, Minami T, Takeshima T, Shimooki O, Kajii E. The serum concentration of soluble interleukin-2 receptor in patients with Kawasaki disease. Ann Clin Biochem. 2017;54(2):209-213. DOI: 10.1177/0004563216677583 査読有
- 3) Iwazu Y, Minami T, Kotani K. Pulse Wave Velocity in Kawasaki Disease. Angiology. 2017;68(3):189-195. DOI: 10.1111/ped.13334. Epub 2017 Aug 7. 査読有
- 4) Ariga S, Miyamoto K, Minami T, Kurosawa H, Arisaka O. Infantile incomplete Kawasaki disease mimicking cervical purulent lymphadenitis with coronary artery aneurysm. Pediatr Int. 2017;59(9):1020-1022 . DOI : 10.1111/ped.13334 査読有
- 5) Anzai T, Minami T, Sato T, Furui S, Yamagata T. Treatment of a patient with Kawasaki disease associated with selective IgA deficiency by continuous infusion of cyclosporine A without intravenous immunoglobulin. Turk J Pediatr. 2016;58(6):666-668. DOI:10.1177/0004563216677583 査読有
- 6) Koibuchi H, Kotani K, Minami T, Konno K, Taniguchi N. Endothelial dysfunction by flow-mediated dilation assessed ultrasonically in patients with Kawasaki disease. Minerva Pediatr. 2016; 68; 143-7. 査読有

〔学会発表〕(計9件)

- 1) 関満、南孝臣、安済達也、古井貞浩、岡健介、松原大輔、片岡功一、山形崇倫 . ガンマグロブリン不応川崎病に対するシクロスポリン A 持続静注療法 . 第 38 回日本川崎病学会・学術集会 (和歌山市). 2018 年
- 2) 安済達也、関満、古井貞浩、岡健介、松原大輔、片岡功一、南孝臣、山形崇倫 . ガンマグロブリン + ステロイド併用療法不応川崎病に対して、シクロスポリン A 持続静注療法を施行した 2 例 . 第 38 回日本川崎病学会・学術集会 (和歌山市). 2018 年 .
- 3) 渡邊知佳、関満、安済達也、古井貞浩、南孝臣、山形崇倫 . ガンマグロブリン初回投与後に赤血球連戦を認めた川崎病の 1 例 . 第 38 回日本川崎病学会・学術集会 (和歌山市). 2018 年 .
- 4) Furui S, Seki M, Matsubara D, Oka K, Anzai T, Kataoka K, Minami T, Yamagata T. Acute Disseminated Encephalitis Complicated by Incomplete Kawasaki Disease: A Case Report. The 12th International Kawasaki Disease Symposium (Tokyo) 2018 年.
- 5) Minami T, Matsubara D, Oka K, Suzuki S, Furui S, Ishii T, Anzai T, Kataoka K, Sato T, Yamagata T. Fifty cases of continuous intravenous infusion of cyclosporine A for patients with intravenous immunoglobulin-resistant Kawasaki disease. The 7th World congress of Pediatric Sardiology and Cardiac Surgery. July 16 - 21, Barcelona, Spain, 2017.
- 6) Matsubara D, Minami T, Oka K, Suzuki S, Furui S, Anzai T, Kataoka K, Sato T, Yamagata T. Kawasaki disease: Its manifestation after simultaneous immunization with measles-rubella, varicella, and pneumococcal vaccine, suggesting its possible association with measles vaccination. The 7th World congress of Pediatric Sardiology and Cardiac Surgery. July 16 - 21, Barcelona, Spain, 2017.
- 7) 松原大輔、南孝臣、横溝亜希子、片岡功一、倉根超、古井貞浩、岡健介、鈴木峻、安済達也、岸野光司、保科優、山形崇倫 . 川崎病の免疫グロブリン大量療法後に抗 M 抗体を認めた 1 例 . 第 37 回日本川崎病学会・学術集会 2017 年 10 月 東京 .
- 8) 古井貞浩、南孝臣、安済達也、鈴木峻、岡健介、松原大輔、横溝亜希子、片岡功一、森本哲、山形崇倫 . 川崎病冠動脈瘤の経過観察中に多関節型 JIA を発症した 1 例 . 第 37 回日本川崎病学会・学術集会 2017 年 10 月 東京 .
- 9) Anzai T, Minami T, Furui S, Oka K, Yokomizo A, Tomoyuki I, Tomoyuki S, Kataoka K, Takanori Y. Coronary artery aneurysms on day 4 after onset of Kawasaki disease: a case report. The 11th International Kawasaki Disease Symposium. Feb 3-6, Honolulu Hawaii, 2015.

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：佐藤 智幸
ローマ字氏名： SATO TOMOYUKI
所属研究機関名：自治医科大学
部局名：小児科学
職名：講師
研究者番号(8桁)：20567995

研究分担者氏名：森本 哲
ローマ字氏名： MORIMOTO AKIRA
所属研究機関名：自治医科大学
部局名：小児科学
職名：教授
研究者番号(8桁)：30326227

(2)研究協力者

研究協力者氏名：
ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。