

平成 21 年 5 月 28 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2006 年～2008 年

課題番号：18591200

研究課題名 (和文) 川崎病発症時における腸管内スーパー抗原遺伝子の研究

研究課題名 (英文) Investigation of superantigen genes in gastrointestinal tract of patients at the time of onset of Kawasaki disease.

研究代表者 武内 崇 和歌山県立医科大学・医学部・講師
10246522

研究成果の概要：

川崎病(KD)発症にスーパー抗原(SAg)の関与は、今なお不明である。今回、我々は KD 急性期患児 60 名、発熱コントロール 36 名、非発熱コントロール 26 名から便を収集し、全 DNA を抽出し、5 つの SAg 遺伝子断片を PCR 法を用いて検討した。KD 患児の便中には、検討した 5 つの SAg 遺伝子の内少なくとも一つ以上の SAg 遺伝子断片が、発熱患児および健常小児に比較して有意に高頻度に検出された。以上の結果から、KD 発症に SAg が関与すること、さらに複数の SAg が関与する可能性が示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
平成 18 年度	1,700,000	0	1,700,000
平成 19 年度	900,000	270,000	1,170,000
平成 20 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	510,000	3,910,000

研究分野：医歯薬学

科研ひの分科・細目：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：小児感染症学

1. 研究開始当初の背景

川崎病は全国調査によれば少子化にも関わらず、年々患児数は増加しているが、今なお原因不明である。疫学上、地域集積性、時間集積性を認め以前から感染性因子の関与が疑われてきたが、急性期患児から一定の感染性因子を分離することができず確定に至っていない。

2. 研究の目的

川崎病の病因論に関する最近の研究動向は、大きく分けて 2 つに分類される。一つは、ウイルスや細菌そのものが原因となっているとする conventional antigen 説であり、もう一方は細菌などが産生する SAg 説である。ところで、SAg は非常に強いマイトージェン活性を持ち、極微量(0.02～0.2pg/ml オーダー)で多数の T 細胞を活性化し得るとされる。従って、生体内、特に上気道や消化管内で極少量の菌集落でも SPE-C などの SAg を

産生すれば、上記のような高サイトカイン血症による炎症反応を惹起し得ると考えられる。このような極少量の菌量の場合、SAg 産生菌が培養で検出されることが困難であることが予想される。一方、本教室の坊岡らは、胃壁内に存在するが培養が容易でない *Helicobacter pylori* (以下 *H.pylori*) 菌のクラリスロマイシン耐性株の存在を、患児の便から全 DNA を抽出する方法で証明した (*Helicobacter* 10(3):205-213, 2005)。そこで、本研究では、川崎病において(1) 急性期(入院時)患児の便から全 DNA を抽出し、(2) 便中 DNA に A 群溶連菌やブドウ球菌が産生する SA g 遺伝子の存在とその種類を明らかにし、川崎病発症における SA g の果たす役割を解明することが大きな目的である。

3. 研究の方法

川崎病急性期患児と同時期、同年齢のコントロールとして、ワクチン接種時の健康小児や急性熱性疾患患児の便を収集した。この便から DNA Stool Mini Kit (QIAGEN) を用いて全 DNA を抽出した。PCR 法を用いて便中 DNA に溶連菌発熱外毒素タイプ A (SPE-A)、SPE-C、SPE-G、SPE-J およびブドウ球菌が産生する SA g である TSST-1 の 5 種の SA g 遺伝子断片を増幅して、その存在の有無を検討した。

4. 研究成果

5 種の SA g 遺伝子の内少なくとも 1 つの SA g が検出されたのは、KD 群 60 例中 42 例 (70.0%)、発熱群 36 例中 14 例 (38.9%)、健常群 26 例中 7 例 (26.9%) で、KD 群は発熱群 ($p=0.005$) ととも健常群 ($p<0.001$) ととも有意差を認めた。発熱群と健常群を合わせて非 KD 群 (62 例) とし、KD 群 (60 例) と比較するとその差はより明瞭となり、KD 群の便からは検討した 5 種の SA g 遺伝子の内少なくとも 1 つの SA g が有意に多く検出された ($p<0.001$)。個々の SA g で両群 (KD 群 : 非 KD 群) 間に有意差を認めたのは、SPE-A ($p=0.031$)、SPE-G ($p=0.001$)、SPE-J ($p=0.029$) で SPE-C も有意差を認めなかったが $P=0.07$ であり、KD 群に多く見られた。一方、ブドウ球菌由来の TSST-1 は $p=0.6$ と差を認めなかった。以上のことから、川崎病発症 SA g が関与することが示唆され、さらに複数の SA g が独立して関与する可能性が強く示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 7 件)

1. Suenaga T, Suzuki H, Shibuta S, Takeuchi T, Yoshikawa N. Detection of multiple superantigen genes in stools of patients with Kawasaki disease. J Pediatr. in press, 2009
2. 末永智浩, 鈴木啓之、渋田昌一、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 2008; 112(10):1543-1547
3. 南 孝臣、吉益 哲、濱 武継、泉 鉉吉、坊岡美奈、矢田菜穂子、宮脇正和、末永智浩、渋田昌一、武内 崇、鈴木啓之、吉川徳茂 : 川崎病様症状を呈した EB ウイルス感染症の 2 例 Prog Med 28:1656~1661, 2008
4. 鈴木啓之 : 難治性川崎病に対する新しい治療法 医学のあゆみ 222(11) : 867-870, 2007
5. 井出 岳、南 孝臣、泉 鉉吉、濱 武継、宮脇正和、吉益 哲、番 浩、末永智浩、渋田昌一、武内 崇、鈴木啓之、吉川徳茂 : 同時期に川崎病と類似症状をていした一卵性双生児 Prog Med 27:1536~1539, 2007
6. 末永智浩、鈴木啓之、武内 崇、渋田昌一、吉川徳茂、山家宏宣、野田英作、番 浩、南 孝臣 : 2003 年~2006 年の川崎病ガンマグロブリン大量療法不応症例の検討 Prog Med 27:1596~1600, 2007
7. 梶皮谷朋子、赤井美津代、渋田昌一、武内 崇、鈴木啓之、吉川徳茂 : IVIG 療法不応例

へのステロイドパルス療法後に神経症状を呈した川崎病の一例

Prog Med 26:1605~1608, 2006

[学会発表] (計 12 件)

1. 鈴木啓之、渋田昌一、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 2008.10. 札幌
2. 鈴木啓之、荻野廣太郎、中村好一、上原里程、屋代真弓、柳川 洋: 川崎病急性期治療にステロイド投与を受けた症例の冠動脈障害(CAL)発生の分析 -第19回川崎病全国調査資料および2次調査資料からの検討- 第44回日本小児循環器学会 2008.7. 福島
3. Tomohiro Suenaga, Hiroyuki Suzuki, Shoichi Shibuta, Takashi Takeuchi, Norishige Yoshikawa, Takaomi Minami : Detection of superantigen genes in stools of patients with Kawasaki disease. Ninth International Kawasaki Disease Symposium 2008.4, Taipei, Taiwan
4. Hiroyuki Suzuki, Hirotaro Ogino, Yosikazu Nakamura, Ritei Uehara, Mayumi Yashiro, Hiroshi Yanagawa : Analysis of the development of coronary arterial lesions in patients receiving steroid treatment in the acute phase of Kawasaki disease(KD), based on data from the first and second investigations in the 19th nationwide survey of KD in Japan. Ninth International Kawasaki Disease Symposium 2008.4, Taipei, Taiwan
5. Hiroyuki Suzuki, Tomohiro Suenaga, Shoichi Shibuta, Takashi Takeuchi, Norishige Yoshikawa, Takaomi Minami : Investigation of T cell activation in Kawasaki disease patients unresponsive to intravenous immunoglobulin treatment. Ninth International Kawasaki Disease Symposium 2008.4, Taipei, Taiwan
6. 南 孝臣、吉益 哲、濱 武継、泉 鉦吉、坊岡美奈、矢田菜穂子、宮脇正和、末永智浩、渋田昌一、武内 崇、鈴木啓之、吉川徳茂 : 川崎病様症状を呈した EB ウイルス感染症の 2 例 第 32 回近畿川崎病研究会 2008. 3. 大阪
7. 末永智浩、鈴木啓之、渋田昌一、武内 崇、吉川徳茂、南 孝臣 : 川崎病急性期患児の便中スーパー抗原遺伝子の検討 第 27 回日本川崎病研究会 2007. 10. 東京
8. 鈴木啓之、武内 崇、渋田昌一、末永智浩、南 孝臣、吉川徳茂 : γ グロブリン大量療法不応症例における T 細胞活性化の検討 第 43 回日本小児循環器学会総会 2007.7. 東京
9. 末永智浩、鈴木啓之、武内 崇、渋田昌一、吉川徳茂、山家宏宣、野田英作、番 浩、南 孝臣 : 2003 年~2006 年の川崎病ガンマグロブリン大量療法不応症例の検討. 第 31 回近畿川崎病研究会 2007. 3. 大阪
10. 末永智浩、鈴木啓之、渋田昌一、武内 崇、吉川徳茂、南 孝臣 : 年長児に発症した川崎病の臨床的検討. 第 26 回日本川崎病研究会 2006. 10. 大阪

11. 南 孝臣、鈴木啓之、武内 崇、洪田昌一、
末永智浩、吉川徳茂：右冠動脈低形成例
に回旋枝末梢の冠動脈瘤を生じた川崎
病の2例. 第42回日本小児循環器学会
総会 2006.7. 名古屋

12. 鈴木啓之、武内 崇、洪田昌一、末永智浩
南 孝臣、吉川徳茂：シクロスポリンが有
効であった難治性川崎病の2例
第42回日本小児循環器学会総会
2006.7. 名古屋.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

武内 崇
和歌山県立医科大学・医学部・講師
10246522

(2) 研究分担者

鈴木啓之
和歌山県立医科大学・医学部・准教授
80196865

南 弘一
和歌山県立医科大学・医学部・講師
60301438

吉川徳茂
和歌山県立医科大学・医学部・教授
10158412

(3) 連携研究者

該当なし