

機関番号：32666
 研究種目：基盤研究 (C)
 研究期間：2008～2010
 課題番号：20591289
 研究課題名 (和文) 川崎病発症時のサイトカイン動態究明による新しい抗サイトカイン療法の開発
 研究課題名 (英文) Exploring New Anti-Cytokine Therapy for Kawasaki Disease
 研究代表者
 深澤 隆治 (FUKAZAWA RYUJI)
 日本医科大学・医学部・准教授
 研究者番号：80277566

研究成果の概要 (和文)：

川崎病罹患児の入院時血小板遺伝子プロファイリングを行うことで、川崎病発症早期のサイトカイン動態を解明することを試みた。川崎病発症早期には Interleukin-1 から Interleukin-18 に連なる Innate Immunity の遺伝子発現の活性化および C1q をはじめとする補体の遺伝子発現が活性化していた。しかしながら、川崎病罹患児の入院時の血清補体活性の上昇は証明できなかった。Innate Immunity のシグナル伝達物質である MyD88 および IL-18 の Single Nucleotide Polymorphism の解析が進行中である。

研究成果の概要 (英文)：

We tried to reveal cytokines action on very early stage of Kawasaki Disease (KD) by analyzing gene profiling in thrombocyte of Kawasaki disease patients. On very early stage of KD, the genes involving innate immunity and complement activation, such as Interleukin-1, Interleukin-18 and C1q, were significantly expressed. However, we could not detect complement activation in the serum of KD patients on admission. Analysis of Single Nucleotide Polymorphism about the genes involving innate immunity is on-going.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：小児循環器学

1. 研究開始当初の背景

川崎病は乳幼児を中心に発症する原因不明の血管炎であり、現在約1万人の新規年間発症がある。特に、強い冠動脈の炎症は冠動脈瘤・狭窄をはじめとする冠動脈障害の原因となる。川崎病治療として大量免疫グロブリン療法が確立されてはいるが、冠動脈障害の発症は未だ急性期で10%にもものぼり、満足のいくものではない。川崎病の特徴的な病態は「サイトカインストーム」ともよばれる高サイトカイン血症状態であり、川崎病発症初期の高サイトカイン血症を効果的に抑制することが有効な治療となると考えられる。

2. 研究の目的

川崎病発症初期のサイトカインの動態を解析し、川崎病治療に有効な抗サイトカイン療法を探索する。

3. 研究の方法

①川崎病発症初期のサイトカイン動態を解析するために、血小板における遺伝子発現プロファイリングを試みる。血小板は脱核された細胞であるため血小板自体の遺伝子発現はないが、巨核球から分離される際に巨核球の遺伝子トランスクリプトを含蓄して放出される。血小板の寿命は10日前後であることから、血小板の遺伝子発現プロファイリングを解析すれば、その時点からその個体の10日前まで遡った遺伝子の発現の変化を捉えることが可能となる。川崎病に罹患し入院する症例の平均病日は4日であるため、川崎病入院時の採血で得られる血小板を解析すれば、川崎病発症時の遺伝子の動きが解析できることになる。川崎病症例15例、およびコントロールとして肺炎・気管支炎にて入院した症例10例を用いて入院時の血小板解析を行った。

②血小板における遺伝子発現プロファイリングの結果を受けて、実際の症例でその結果が検証されるかを検討する。

③血小板における遺伝子発現プロファイリングの結果、川崎病発症の鍵となるサイトカインのシグナル系統の遺伝子の遺伝子多型を検索し、川崎病発症に関して有意差がある意義あるSNPを検索する。

4. 研究成果

①血小板遺伝子発現プロファイリング

川崎病症例15例、コントロールとして肺炎・気管支炎10例の入院時血小板からRNAを抽出し、Agilent社製DNAマイクロアレイを用いて発現遺伝子を分析した。21,872個の遺伝子の有意な発現が確認され、川崎病症例とコントロール間で2倍以上の発現の差が認められた遺伝子について、Gene Ontology解析、パスウェイ解析を行った。この結果Interleukin-1からInterleukin-18に連なるInnate Immunityに関する遺伝子とC1qをはじめとする補体の遺伝子発現の上昇を認めた。川崎病発症においてはInnate Immunityおよび補体の活性化が発症の鍵をものと考えられた。

②遺伝子プロファイリングの結果の川崎病症例での検討

川崎病症例14例の入院時血清での補体活性を検討した。血清補体価 52.3 ± 7.8 u/ml (35.0-48.0)、C3 158.1 ± 25.3 mg/dl (86-160)、C4 32.9 ± 6.8 mg/dl (17-45)、C1q < 1.5 (< 3.5)、C1 inactivator 159 ± 18.5% (70-130)とC1 inactivatorの若干の上昇を認めた以外川崎病入院時での補体の活性化は認められなかった。

③Innate Immunityシグナル伝達物質遺伝子の遺伝子多型解析

Innate Immunityのシグナル伝達物質の鍵と

なる MyD88 と Interleukin-18 の遺伝子多型の解析を開始した。しかしながら、本研究期間内にはまだ意義ある結果は得られていない。

本研究期間中にマウス冠動脈炎を惹起し、川崎病モデルマウスを作成する実験手技を確立した。今後はこの川崎病モデルマウスを解析し、その発症機序、種々の薬剤の治療効果などを検討し、川崎病症例に応用していく予定である。

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 5 件)

- ① Nishida S, Fukazawa R, Imai T, et al. Serum KL-6 and Surfactant Protein D in Children with 2009 Pandemic H1N1 influenza infection *Pediatr Int In Press*.
- ② Fukazawa R Long-term Prognosis of Kawasaki Disease: Increased Cardiovascular Risk? *Current Opinion in Pediatrics* 査読 (有) Vol.22 2010 587-592
- ③ Fukazawa R, Tamai J, Imai T, et al. Multi-row Detector Computed Tomography Coronary Angiogram Image of an Anomalous Left Coronary Artery from the Pulmonary Artery, *J Nippon Med Sch* 査読 (有) Vol. 78 2010 2-3
- ④ 深澤隆治 小児科 小児の心不全の治療 査読 (無) Vol.51 2010 1279-1288

- ⑤ Fukazawa R, Ogawa S. Long Term Prognosis of Patients with Kawasaki Disease *J Nippon Med Sch* 査読 (有) Vol.76 2009 124-133

[学会発表] (計 3 件)

- ① Fukazawa R The 3rd Congress of Asia-Pacific Pediatric Cardiac Society 「Exploring Gene Expression for Kawasaki Disease Onset through Thrombocyte Gene Expression Profiling」 2010 年 7 月 6 日
- ② Ryuji Fukazawa 第 74 回日本循環器学会 学術集会 「Thrombocyte Gene Expression Profiling for Exploring Key Cytokines in Onset of Kawasaki Disease」 2010 年 3 月 5 日
- ③ 深澤隆治 第 29 回日本川崎病学会 「川崎病発症時の血小板遺伝子プロファイリングによる川崎病発症に関する遺伝子の探索」 2009 年 10 月 16 日

[図書] (計 1 件)

水野杏一、安武正弘、平山悦之 シュプリンガー・ジャパン 循環器内科学 2011 280-282

6. 研究組織

(1) 研究代表者

深澤 隆治 (FUKAZAWA RYUJI)
日本医科大学・医学部・准教授
研究者番号：80277566

(2) 研究分担者

小川 俊一 (OGAWA SHUNICHI)

日本医科大学・医学部・教授

研究者番号：5 0 1 9 4 4 3 6

(3) 連携研究者

()

研究者番号：