

令和元年6月21日現在

機関番号：15501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K19647

研究課題名(和文)川崎病患児におけるビタミンD欠乏；治療応用への発展

研究課題名(英文) Investigation of serum Vitamin D levels and first immunoglobulin reactivity in Kawasaki disease patients

研究代表者

鈴木 康夫 (SUZUKI, Yasuo)

山口大学・大学院医学系研究科・講師(特命)

研究者番号：00593302

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：川崎病は年々増加傾向にあり合併症に冠動脈障害がある。ビタミンDの生理機能は、腸管からのカルシウム吸収と骨へのカルシウム取り込みであるが、免疫抑制作用を有することが報告されている。川崎病患児における血清ビタミンD濃度と治療反応性について検討した。川崎病100例にガンマグロブリン療法初回奏功群と不応群における症状、血液検査結果、血清25(OH)D濃度を検討した。奏功群71例、不応群29例であった。解析では、不応群は奏功群に比し、血清25(OH)D濃度は低かった。川崎病患児において血清ビタミンD濃度は、初回ガンマグロブリン反応性へ関与している可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

川崎病発症には、地域人種差があり世界的にも日本の発症率が高い。環境因子について検討し川崎病初期治療における反応性にビタミンD濃度が関与している可能性がある。現代は子供のビタミンD濃度が低いことが多く、ビタミンD補充を行うことで川崎病の治療成績が向上し冠動脈障害発症が低下し医療費削減に貢献する可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Kawasaki disease is an acute inflammatory illness in early childhood. Coronary artery lesion is a serious complication of Kawasaki disease. Vitamin D is a hormone that maintains calcium homeostasis and participates in bone metabolism. Another effect have anti-inflammatory effect. We measured serum 25(OH)D levels at acute phase of KD patients. The number of patients with high Gunma score (≥ 5 points) was significantly higher in the initial IVIG non-responders than the responders. Serum 25(OH)D levels in initial IVIG non-responders was lower than that of initial IVIG responders. Vitamin D might decreased IVIG non-responders.

研究分野：小児科

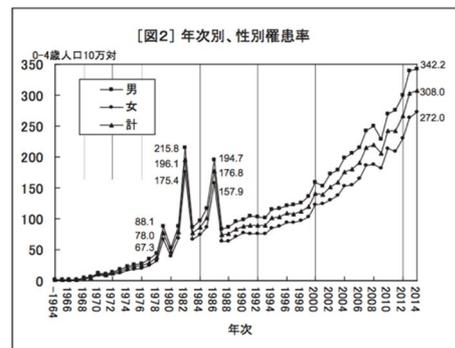
キーワード：川崎病 血清ビタミンD濃度 ガンマグロブリン治療反応性 冠動脈障害 血清ビタミンD結合蛋白濃度

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

1. 研究開始当初の背景

ビタミン D は、動物の皮膚で合成される物質で、食品からも摂取される。もっとも有名なビタミン D の生理機能は、腸管からのカルシウムの吸収と、骨へのカルシウムの取り込みである。それと同時に、免疫抑制作用を有することが分かってきた。T、B リンパ球においてもビタミン D 受容体の発現が認められ、活性化することによってその発現量は 5 倍に増加する。ビタミン D は T 細胞の増殖を抑制しサイトカインの産生も抑制する。単球マクロファージに対しても、炎症性のサイトカインやケモカインの放出を抑制する。ビタミン D 欠乏は世界的に問題となっている。日本においても、乳幼児・妊婦等を中心にビタミン D 不足が指摘されている。疾患との報告では、多発性硬化症においては、環境因子と遺伝的要因が発症や症状および治療に関係しており、環境因子ではビタミン D 欠乏が最も関連がある。炎症性腸疾患においても、日照時間の短い地方により発生頻度が高く、そのような患者では、血清ビタミン D 濃度が低い事が分かっている。炎症性腸疾患のモデルである IL-10 ノックアウトマウスは、ビタミン D 投与により症状が軽快することからその治療的有用性が示唆された。ビタミン D は副作用が少なく、サプリメントとしても広く使用されている。

川崎病は、遷延する発熱、眼球結膜の充血、口唇の発赤・イチゴ舌、手足の硬性浮腫、皮膚の不定型発疹、非化膿性のリンパ節腫脹を特徴とする 4 歳以下の乳幼児に好発する全身性血管炎である。近年、本邦の疫学調査において、患者数が年々増加傾向である(図 1)。最も重要な合併症として冠動脈病変があり、無治療では 25%に認められ、その後遺症として若年性心筋梗塞を引き起こすことがある。また、川崎病の発症機序、病態は未だ解明されていない。急性期には CD14+単球マクロファージおよび CD3+T リンパ細胞の NF- κ B が活性化していることが報告されている。川崎病急性期に対して標準的な治療として、単球系の抑制作用が示唆されている高用量ガンマグロブリン静注療法 (IVIG) (図 1)川崎病発症数年次推移があり、冠動脈障害を有意に減少させる。しかし、10-20%の症例では治療抵抗性である。近年、川崎病剖検例において、冠動脈病変部に活性化 CD8 陽性 T リンパ球を認めるという報告がある。



(図 1) 川崎病発症数年次推移

2. 研究の目的

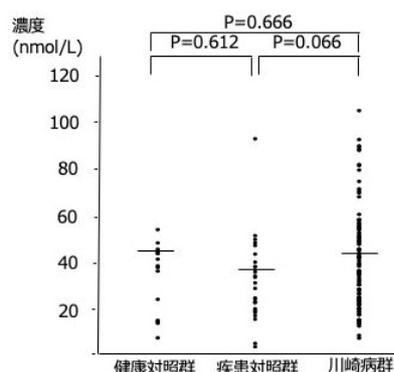
川崎病の血清ビタミン D 濃度、血清ビタミン結合蛋白について解析し、活性型ビタミン D の抗炎症作用について明らかになれば、ビタミン D 欠乏の予防への啓発や川崎病急性期初期より積極的に活性型ビタミン D を追加治療として行う根拠となりうる。

3. 研究の方法

本研究では、山口大学医学部附属病院小児科および山口県内小児病院に川崎病の診断で入院した患者における治療前、治療後、回復期において臨床所見の記録を行う。また、入院中に採取した血液を用いて血清ビタミン D 濃度 (25(OH)D)、血清ビタミン結合蛋白濃度を ELISA kit を用いて検討する。また、フローサイトメトリー法を用いて単球、リンパ球の活性化を解析する。血清サンプルを用いてサイトカインのうち IFN- α 、TNF- α 、IL-10、IL-6、IL-4、IL-2 は CBA 法で、sIL-2R、sTNFR-1 は ELISA 法を用い測定する。川崎病患者を年齢、出生月、性別、主要症状項目、IVIG 不応スコア(群馬、久留米のスコア)、冠動脈障害の有無(急性期、発症 1 か月後)、血液検査(全血;白血球数・分画、血清:CRP、アルブミン、Na、血小板、D ダイマー、AST、ALT、フェリチン、プロカルシトニン、可溶性 IL2 受容体)、心臓超音波検査所見、心電図所見を記録する(表 1)。

	治療前	治療後	退院前(回復期)
治療内容	抗菌薬投与など	ガンマグロブリン大量療法、抗血小板薬(アスピリン)内服	抗血小板薬(アスピリン)内服
臨床検査	血液検査、心臓超音波検査、心電図検査、必要に応じてCT,MRI検査など	血液検査、心臓超音波検査、心電図検査、必要に応じてCT,MRI検査など	血液検査、心臓超音波検査、心電図検査、必要に応じてCT,MRI検査など
血清 25(OH)D フローサイトメトリー サイトカイン測定	治療直前の検体(全血、血清)の残りをを用いて測定	投与24時間後の検体(全血、血清)の残りをを用いて測定	退院前の検体(全血、血清)の残りをを用いて測定

(表 1) 検査時期



(図 2) 全群における血清 25(OH)D 濃度

4. 研究成果

結果:健康対照群(15 例)、疾患対照群(27 例)、川崎病群(100 例)における血清ビタミン D 濃度は有意差を認めなかった(図 2)。川崎病群の治療反応性は、

初回ガンマグロブリン療法有効群 71 例、不応群 29 例であった。単変量解析では、不応群は有効群に比し、男児が多く、群馬スコア、大阪スコアおよび好中球分画(%)は有意に高値であった(表 2,3)。血清 25(OH)D 濃度、Na 濃度およびリンパ球分画(%)は有意に低値であった(図 3)。フローサイトメトリー法を用いて単球、リンパ球の活性化、血清ビタミン結合蛋白濃度は有意差を認めなかった。多変量解析では、男児、好中球分画(%)、血清 25(OH)D 濃度が不応群に関連した因子となった(表 4)。

	全体	初回IVIG奏功	初回IVIG不応	p値
症例数	100	71	29	
男:女	67:33	44:27	23:6	0.047*
月齢	24 (1-121)	22 (1-121)	28 (1-86)	0.18
IVIG開始病日	4 (2-8)	4 (2-8)	4 (2-6)	0.49
主要症状数	5 (2-6)	5 (2-6)	5 (3-6)	0.73
完全:不完全型	82 : 18	56 : 15	26 : 3	0.26
冠動脈病変	6 (6.0%)	2 (2.8%)	4 (13.7%)	0.057
群馬スコア	4 (0-9)	3 (0-9)	5 (0-9)	0.009**
久留米スコア	2 (0-5)	2 (0-5)	3 (0-5)	0.082
大阪スコア	1 (0-3)	1 (0-3)	1 (0-3)	0.050*

中央値(範囲)

* p<0.05 ** p<0.01

解析方法: Wilcoxon順位和検定, χ^2 検定

(表 2) 川崎病群患者特徴

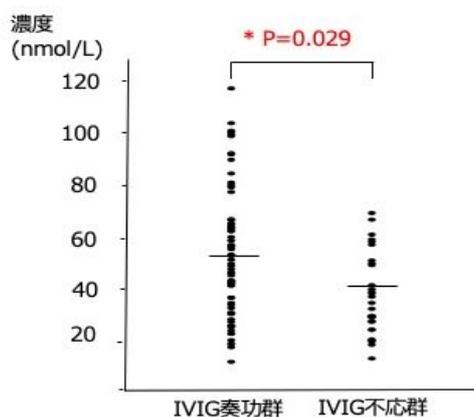
	初回IVIG奏功	初回IVIG不応	p値
白血球 (/ μ L)	14090 (4730-28710)	13850 (7620-25190)	0.846
好中球 (%)	64.3 (30.5-97.0)	78.5 (46.5-93.5)	0.001**
リンパ球 (%)	26 (1.5-57.0)	16.5 (3.5-50.5)	0.004**
Plt (/ μ L)	33.6 (16.9-62.0)	30 (20.0-51.9)	0.072
NLR	2.46 (0.54-60.67)	4.71 (1.12-26.71)	0.006**
PLR	10.04 (3.46-125.63)	14.85 (3.09-73.06)	0.005**
T-bil (mg/dL)	0.6 (0.2-3.9)	0.75 (0.3-3.7)	0.132
AST (IU/L)	43 (16-970)	41 (19-1725)	0.755
CRP (mg/dL)	6.72 (0.98-16.6)	10.5 (2.15-22.7)	0.061
Na (mmol/L)	134 (127-139)	133 (130-137)	0.007**
ALP (IU/L)	577 (203-1303)	585 (338-1400)	0.679

中央値(範囲)

* P<0.05 ** P<0.01

解析方法: Wilcoxon順位和検定, χ^2 検定

(表 3) 血液検査 (初回治療前)



* p<0.05

解析方法: Wilcoxon順位和検定

(図 3)川崎病治療反応性に対する血清 25(OH)D 濃度の比較

変数	オッズ比	信頼区間	p値
25(OH)D	2.644 [†]	1.392~5.020	0.00296**
好中球%	2.189 [‡]	1.403~3.415	0.00055**
男性	4.55	1.31~15.76	0.01680*

< 回帰の適合度指標 >
AIC = 92.42577
AUC = 0.82227

[†]オッズ比は、25(OH)Dが20 mmol/L低下したときのもの
[‡]オッズ比は、好中球%が10%上昇したときのもの

* p<0.05 ** p<0.01

(表 4) 初回 IVIG 不応因子の多変量解析

結論：川崎病患児において血清ビタミン D 濃度は、初回ガンマグロブリン治療反応性へ関与する可能性があると考えた。

5．主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 3 件)

大西佑治 鈴木康夫 川崎病における初回ガンマグロブリン反応性と血清ビタミン D 濃度の検討 日本小児循環器学会 2017

三宅晶子 鈴木康夫 血清ビタミン D 濃度と川崎病初回ガンマグロブリン療法反応性の検討 第 120 回日本小児科学会 2016

鈴木康夫 血清ビタミン D 濃度と川崎病初回ガンマグロブリン療法反応性の検討 第 36 回日本川崎病学会 2016

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6．研究組織

(1)研究分担者なし

(2)研究協力者なし

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。