

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 24 日現在

機関番号：24701

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591581

研究課題名(和文)川崎病発症児におけるHLAクラス多型(DP, DQ, DR)の亜群存在の解明

研究課題名(英文)Elucidation of the subgroup existence of HLA class II polymorphism (DP, DQ, DR) in Kawasaki disease patients

研究代表者

末永 智浩 (Suenaga, Tomohiro)

和歌山県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：70433365

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では川崎病患児の便から検出されるスーパー抗原(SAg)遺伝子とその児のHLA class II多型を検索し、SAg毎に感受性の高いHLA class II多型の群の存在を明らかにし、KD発症に複数のSAgと対応する宿主因子としてHLA class II多型の存在の解明を目的とした。具体的には川崎病急性期患児と対照児より採取した便からDNAを抽出しSAg遺伝子を検索、同時に児のHLA class II多型を検索、それぞれの比較検討を試みた。HLA解析システムの選定に時間がかかり、この3年間の川崎病患者数も関係し検体数も不十分、現時点では研究途上である。引き続き本研究を継続していきたい。

研究成果の概要(英文)：In this study, we aimed to examine HLA class II subtype of Kawasaki disease (KD) patient and superantigen (SAg) gene detected from his stool, and to prove that there were subgroups of HLA class II subtype which were sensitive to each SAg and that HLA class II subtype was one of the host factors related to KD onset. Concretely, we detected SAg genes in all DNA extracted from KD patients' and control children's stools, and detected HLA class II subtypes in DNA extracted from their blood samples. And we studied the relation between SAg and HLA class II subtypes. But we were behind with starting an experiment because choice of appropriate analyzing system for HLA took time. Furthermore, samples did not gather enough because there was slightly little number of cases of KD for these three years. Therefore we are studying this theme at present. We want to collect samples a little more and continue this study.

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：川崎病 スーパー抗原 HLAクラス 多型

1. 研究開始当初の背景

川崎病(以下 KD)の原因は今なお不明で、疫学上、地域集積性・時間集積性を認めるため感染性因子の関与が疑われてきたが、KDは容易に水平感染しない、人種差や再発例・兄弟発症例および親子発症例の存在など、宿主側因子の関与も推測されている。

申請者らは、KD急性期患児の末梢血T細胞レセプター分析や便中DNAのスーパー抗原(SAg)遺伝子の検索から、川崎病発症の感染性因子として複数のSAgが関与する可能性を報告してきた。

近年、異なるSAgそれぞれに感受性が異なるHLA class 多型が存在するとの報告がある。SAg暴露からKD発症に至る過程に複数のSAgが関与するとの仮説では、KD患児のHLA class 多型には、それぞれのSAgに感受性の高い複数の群(クラスター)が存在することになる。KDとHLAの関係についてこれまで多くの研究がなされてきているが、特定のHLAとの関連性については明らかとなっていない。上記の仮説に立てば、KD全体とHLAの関連性が証明できないことも説明可能となる。さらに、2種のSAgに対する感受性の高いHLA class 多型を持つ個体は、別々の機会にこの2種のSAgに暴露されることによってKDを2回発症し得ると考えられ、再発の病態説明が可能となる。これまで、KDの原因として、溶連菌説、エルシニア説、ブドウ球菌説などがあり、またマイコプラズマ肺炎からKD様の症状を呈した報告もある。これらはいずれもSAgを産生し得る病原体であり、KD発症に複数のSAgが関与するとの仮説を支持する。一方、KDでの兄弟発症例や親子発症例の存在もHLA class 多型という遺伝的背景で説明可能であり、この仮説を支持する現象と考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、KDにおいて、(1)急性期(入院時)患児と対照児の便から全DNAを抽出し、(2)便中DNAのSAg遺伝子の存在とその種類を明らかにする。(3)同時にKD児と対照児のHLA class 多型(DP,DQ,DR)を検討し、(4)同種のSAg遺伝子が検出されたKD児と対照児間のHLA class 多型を比較検討し、KD発症患児には、便から検出されるSAg遺伝子とそのSAg毎に感受性の高いHLA class 多型を持つ複数の群の存在を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

川崎病急性期患児と対照児より採取した便からDNAを抽出し、PCR法を用いて口腔・腸管内のスーパー抗原(SAg)遺伝子の存在の有無・種類を明らかにする。また、血液からゲノムDNAを抽出して、それぞれの検出されたSAgごとに患児と対照児のHLA class 多型を比較検討し、川崎病発症におけるSAgとHLA class 多型の関連を明らかにする。具体的には、【1】急性期患児や対照児の便を収集し、便から全DNAを抽出する。【2】便中DNAに*S. pyogenes*等が産生するSAg遺伝子の存在の有無とその種類を明らかにする。【3】同時に、KD児と対照児の血液からゲノムDNAを抽出し、HLA class 多型(DP,DQ,DR)を検討する。【4】便中に存在したSAg遺伝子毎に、KD児と対照児間のHLA class 多型を比較検討する。

4. 研究成果

本研究では川崎病患児の便から検出されるスーパー抗原(SAg)遺伝子とその児のHLA class II 多型(DP,DQ,DR)を検索し、SAg毎に感受性の高いHLA class II 多型の群の存在を明らかにし、KD発症に複数のSAgと対応する宿主因子としてHLA class II 多型の存在の解

明を目的とした。具体的には川崎病急性期患児と対照児より採取した便から DNA を抽出し、PCR 法を用いて口腔・腸管内の SAg 遺伝子の存在の有無・種類を明らかにする。また血液からゲノム DNA を抽出して、それぞれの検出された SAg ごとに患児と対照児の HLA classII 多型を比較検討し、川崎病発症における SAg と HLA classII 多型の関連を明らかにすることを試みた。当初購入を予定していた HLA シークエンス解析システムは価格などの問題もあり購入を断念。他社のタイピングキットを購入することとしたが選定に時間がかかり、当面は検体採取のみに専念した。当院でのこの 3 年間の川崎病の入院患者数も関係し検体数が十分とはいえない状況でもあり、現時点では研究途上である。もう少し検体数を集めて、本研究を継続していきたい。

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 3 件)

末永智造、鈴木啓之、垣本信幸、武内崇、吉川徳茂、渋谷昌一、川崎病の急性期に突発性発疹を発症した 1 例、Progress in Medicine、査読無、33 巻、2013、1458-146

Suzuki H, Terai M, Hamada H, Honda T, Suenaga T, Takeuchi T, Yoshikawa N, Shibuta S, Miyawaki M, Oishi K, Yamaga H, Aoyagi N, Iwahashi S, Miyashita R, Onouchi Y, Sasago K, Suzuki Y, Hata A. Cyclosporin A treatment for Kawasaki disease refractory to initial and additional intravenous immunoglobulin. *Pediatr Infect Dis J*. 2011 Oct;30(10):871-6. 査読有

末永智造、鈴木啓之、武内崇、垣本信幸、吉川徳茂、岡村吉隆、打田俊司、渋谷昌一、当院で経過観察中の川崎病巨大冠動脈瘤合

併例の検討、Progress in Medicine、査読無、31 巻、2011、1700-1703

[学会発表](計 3 件)

末永智造、鈴木啓之、垣本信幸、佐藤匡、武内崇、吉川徳茂、渋谷昌一、大石興、飯島文憲、川崎病ガンマグロブリン不応例の地域集積性について、第 33 回日本川崎病学会、2013 年 9 月 27 日、富山

末永智造、鈴木啓之、垣本信幸、武内崇、吉川徳茂、渋谷昌一、ガンマグロブリン 2 回不応の川崎病症例に対するシクロスポリン A 治療の反応性に関する検討、第 32 回日本川崎病学会、2012 年 10 月 13 日、東京

末永智造、鈴木啓之、垣本信幸、武内崇、吉川徳茂、渋谷昌一、吉田晃、山家宏宣、川崎病ガンマグロブリン不応例の時間集積性についての検討、第 31 回日本川崎病学会、2011 年 10 月 1 日、横浜

[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：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織
(1)研究代表者

未永 智浩 (SUENAGA, Tomohiro)
和歌山県立医科大学医学部 助教
研究者番号：70433365

(2)研究分担者

鈴木 啓之 (SUZUKI, Hiroyuki)
和歌山県立医科大学医学部 准教授
研究者番号：80196865

武内 崇 (TAKEUCHI, Takashi)
和歌山県立医科大学医学部 講師
研究者番号：10246522

吉川 徳茂 (YOSHIKAWA, Norishige)
和歌山県立医科大学医学部 教授
研究者番号：10158412

(3)連携研究者 なし