

(別紙1)

## 総括研究報告書

課題番号：2019B-2

課題名：川崎病による心後遺症合併ゼロを目指した研究実施基盤体制の構築

主任研究者 (所属施設) 国立成育医療研究センター研究所  
(所属・職名 氏名) 免疫アレルギー・感染研究部炎症制御研究室・室長  
松田 明生

(研究成果の要約) 本研究は、川崎病による心後遺症合併ゼロを出口とし、

- (1) 多施設共通のデータベースに基づく大規模な情報・資料収集
- (2) 川崎病遺伝コンソーシアムを活用した川崎病の疾患感受性、及び治療反応性に関する遺伝薬理学的情報
- (3) 冠動脈血管内皮細胞に対する抗炎症メカニズム及び不応メカニズム解明に基づいた分子情報

これら3つの異なるアプローチによる川崎病研究成果から得られる情報を有機的に連動させて解析し、精密医療の実現に資する制度の高い予測モデル構築、及びそのための研究実施体制の構築を目的としている。2020年度は引き続き東京都立小児総合医療センターと共同で急性期川崎病患者レジストリ (PEACOCK) および川崎病性冠動脈瘤レジストリ (KIDCAR) を実施した。また、厚生労働省より川崎病の病名が付与された患者のレセプトデータ (2011~2018年) を新たに取得し、急性期川崎病を同定するスクリプトを作成した。また、川崎病遺伝コンソーシアムを活用した川崎病の疾患感受性、及び治療反応性に関する遺伝薬理学的情報の収集を引き続き実施した。冠動脈血管内皮細胞に対する抗炎症メカニズム及び不応メカニズムに基づいた分子情報収集では、昨年度までに東北大学化合物ライブラリー (6400種) から IVIG 不応を解除する物質のスクリーニングで40種まで絞り込んでいた候補化合物について、機能評価を実施し、さらに候補化合物を15種類までに絞り込むことに成功した。

### 1. 研究目的

本研究の目的: 本研究は、川崎病による心後遺症合併ゼロを出口とし、

- (1) 多施設共通のデータベースに基づく大規模な情報・試料収集
- (2) 川崎病遺伝コンソーシアムを活用した川崎病の疾患感受性、及び治療反応性に関する遺伝薬理学的情報
- (3) 冠動脈血管内皮細胞に対する抗炎症メカニズム及び不応メカニズム解明に基づいた分子情報

これら3つの異なるアプローチによる川崎病研究成果から得られる情報を有機的に連動させて解析し、精密医療の実現に資する精度の高い予測モデル構築、及びそのための研究実施体制の基盤構築を目的とする。

### 2. 研究組織

研究者 所属施設

|        |          |
|--------|----------|
| 松田 明生  | 研究所      |
| 小林 徹   | 臨床研究センター |
| 浦山 ケビン | 研究所      |
| 益田 博司  | 病院       |

### 3. 研究成果

本年度の研究は、研究目的(1)~(3)達成のため、各研究分担者がそれぞれの研究分担課題を遂行し、以下の成果を得た。

- (1) 多施設共通のデータベースに基づく大規模な情報・試料収集
  - 1) 東京都立小児総合医療センターと共同で急性期川崎病患者レジストリ (PEACOCK) および川崎病性冠動脈瘤レジストリ (KIDCAR) を実施した。
  - 2) 厚生労働省より川崎病の病名が付与された患者のレセプトデータ (2011~2018年) を新たに取得し、急性期川崎病を同定するスクリプトを作成

した。出力された結果からは、急性期川崎病患者の疫学的情報および治療法の詳細を川崎病全国調査とほぼ同等か優れた精度まで抽出可能なことを新たに見出した。なお、本研究成果を基盤とし、蘇哲民医師が文部科学省研究費スタートアップ資金を獲得した。

(2) 川崎病遺伝コンソーシアムを活用した川崎病の疾患感受性、及び治療反応性に関する遺伝薬理学的情報

1) 47 施設の協力のもと、2400 例を超える詳細な臨床情報付き DNA を収集した。川崎病遺伝コンソーシアムをプラットフォームとした遺伝子解析研究（日本、韓国、台湾の川崎病コンソーシアムの国際共同研究）にて、免疫グロブリン重鎖可変領域（14q33.32）の遺伝子多型（r24774175, rs4774175, rs6423677）が川崎病疾患感受性に関連しており、B 細胞の免疫グロブリン取り込み機能の障害が川崎病発症に関連する可能性を見いだした。

2) 本川崎病研究基盤の成果に基づき、IVIG+PSL（プレドニゾロン）による初期治療を受けた川崎病患者における治療反応性に関連した遺伝子多型を探索するための研究費（文部科学費研究費基盤 C）を小林しのぶ研究員が新たに取得した。川崎病遺伝コンソーシアムにて臨床情報と DNA 試料の両方が収集された検体のうち、「IVIG+PSL の初期併用療法を受けた患者」を抽出し、順次ジェノタイプングを実施し、約 360 検体のジェノタイプングが終了した。また、解析に必要なサーバー構築等を行い、ハード面での環境を整えた。この結果をもとに、今後の遺伝子解析（GWAS）の方法を決定し、進めていく予定である。

(3) 冠動脈血管内皮細胞に対する抗炎症メカニズム及び不応メカニズム解明に基づいた分子情報

1) 昨年度、冠動脈血管内皮細胞（HCAEC）を IL-1 $\beta$  で刺激した際に IVIG 不応性に活性化される転写因子 C/EBP $\delta$  を抑制する化合物のスクリーニングを、東北大学化合物ライブラリー（約 6400 種の化合物）を用いて実施した。昨年度中に 5800 種類の 1 次スクリーニング（ELISA 法で検出する G-CSF 産生量低下および細胞観察による細胞ダメージの評価）まで終了した。今年度は残りの 600 種類の 1 次スクリーニングを終え、40 種類の化合物に絞り込んだ。その後、絞り込んだ 40 種類の化合物の至適濃度を決定する 2 次スクリーニング、さらに C/EBP $\delta$  活性抑制の評価による 3 次スクリーニング（機能検証）を実施し、候補化合物を 15 種類まで絞り込むことに成功した（図 1）。これらの化合物は、すべて IL-1 $\beta$  により活性化する転写因子 C/EBP $\delta$  を顕著に抑制したことから、川崎病新規治療薬候補として必要条件を満たしていた。また、本スクリーニングコンセプトに関する研究により、第 21 回「川崎賞」受賞という成果を得ることができた。



絞り込んだ化合物による転写因子C/EBP $\delta$ 活性化抑制の一例

図 1 : 3 次スクリーニングの一例

2) このライブラリーを用いたスクリーニングとは別に、文献情報等から C/EBP 機能抑制が予測される物質についていくつか検討した結果、生体内分子 X を発見した。この分子 X は、3 次スクリーニングで同定された物質と同様に IL-1 $\beta$  刺激で活性化される C/EBP $\delta$  の顕著な抑制

効果を示すとともに、他の炎症性関連転写因子である I $\kappa$ B $\zeta$  および NF- $\kappa$ B 活性抑制効果も示した (図 2)。今年度は、この分子 X の川崎病治療薬としての新規性・進歩性及び重症川崎病に対する治療薬のスクリーニング方法について、特許出願をした。

**【発明の名称】**

CCAAT/エンハンサー結合タンパク質発現抑制剤、IL-1 関与炎症性疾患の治療薬、及び、IL-1 又は IL-17 関与炎症性疾患の治療薬のスクリーニング方法

**【出願人】** 国立研究開発法人国立成育医療研究センター

**【発明者】** 松田 明生、井上 隆志、村上 将啓、阿部 淳

**【出願番号】** 特願 2021-17554

**【出願日】** 2021. 2. 5

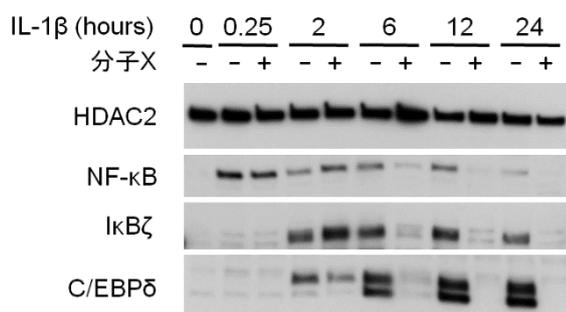


図 2 : 分子 X による分子特異的抗炎症メカニズム

3) (2)-2) で実施している「IVIG+PSL による初期治療を受けた川崎病患者における治療反応性に関連した遺伝子多型の探索」に関連し、HCAEC 培養系を用いて IVIG 製剤とステロイド薬 (デキサメタゾン

:DEX) の細胞炎症応答に対する作用の違いについて検討した。その結果、DEX は、炎症刺激により HCAEC 細胞に誘導される細胞傷害 (アポトーシス) を顕著に抑制することが分かった。しかし、IVIG にはこのような細胞傷害抑制作用は認められなかった。DEX によるアポトーシス抑制効果は、結果的に HCAEC 細胞からの HMGB1 や IL-1 $\alpha$  といった DAMPs 分子の放出を有意に抑制した。これらの DAMPs 分子は、川崎病の IVIG 不応に関与することが報告されているが、本研究においても、IL-1 $\alpha$  は IL-1 $\beta$  と同様に、HCAEC 細胞から IVIG 不応性に G-CSF や IL-6 といった川崎病の病態に重要なサイトカイン産生を誘導した。従って、特に IVIG 不応が予測される重症川崎病患者に対して治療の初期から IVIG+PSL の併用療法を施すことにより、冠動脈血管内皮細胞の炎症によるダメージを抑制し、結果的に IVIG 不応性獲得に重要な役割を果たす DAMPs 分子群の放出を予防することが、臨床的な利点の一つである可能性が示唆された。

4. 研究内容の倫理面への配慮

本研究は、ヘルシンキ宣言、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針、人を対象とする医学研究に関する倫理指針を遵守して実施した。また、本研究の実施にあたり、研究内容を詳細に説明する説明同意文書を用いて患者の代諾者 (家族)、もしくは本人に研究参加の同意を書面にて取得した。臨床情報は連結可能匿名化処理実施後に集団として解析を行い、定められた期間が経過した後には連結不可能匿名化処理を行った。