

総括研究報告書

課題番号：28-4

課題名：川崎病の病因・病態解明と新規治療戦略開発体制の構築

主任研究者名 小野 博

(所属施設) 国立成育医療研究センター病院

(所属・職名) 器官病態系内科部 循環器科 医長

(研究成果の要約) 川崎病の病因・病態解明に関する研究を基礎からレジストリ研究まで行った。研究基盤体制の整備については、臨床経過データベースを現在作成中である。川崎病遺伝コンソーシアムの事務局を成育医療研究センターに移転した。血管炎発症モデルマウスを用い血管炎発症部位に見られる免疫細胞とサイトカイン・ケモカインについて血管炎発症までの動態を経時的に解析した。川崎病発症患児で見られる炎症性サイトカイン・ケモカインの産生異常はモデルマウスで同様の産生異常が示された。血球系産生サイトカイン・ケモカインはヒト型であり、血管内皮産生サイトカインはマウス型である。ヒト型のサイトカインなのかマウス型サイトカインなのかを検討するだけでどちらがより病態発現に関与しているかがわかることになる点をとってもヒト化マウスでのモデル作製の意義は大きい。血管炎発症時に血球系産生サイトカイン・ケモカインと血管内皮系産生サイトカイン・ケモカインのどちらがより変動しているかを経時的に検討した結果、血管内皮系サイトカイン・ケモカインの変動はほとんどなく、血球系産生サイトカイン・ケモカインの異常産生が顕著であった。現在、変動のあったものの中で血管炎により関与していると思われるサイトカイン・ケモカインの阻害剤による血管炎発症阻害実験を進めている。バイオマーカーについては、当院の症例 520 例の検討を行い、PRV-1, STAT3, 各種サイトカインとの関連を証明した。遺伝子の同定は国際コンソーシアムとの協同研究によって、新たな川崎病感受性遺伝子を同定した。系統的レビューは川崎病に関する系統的レビューを3件(抗血小板薬、TNF- α 阻害薬、生物学的製剤)実施した。

1. 研究目的

研究基盤体制の整備

- ① 多施設共同研究の基礎となる臨床経過データベースの作成
- ② 川崎病遺伝コンソーシアムの運営と規模拡大

研究プロジェクト

- ① 川崎病血管炎モデルを用いた病因病態解明

- ② 診断・重症度・予後予測バイオマーカーの開発

- ③ 川崎病疾患感受性・重症化に関連する遺伝子多型の同定

診療ガイドライン作成のための系統的

レビュー並びにメタ解析

2. 研究組織

研究者

小野博：国立成育医療研究センター 循環器科 医長

今留謙一：国立成育医療研究センター研究所 高度先進医療研究室室長

小林徹：国立成育医療研究センター臨床研究企画室 室長

3. 研究成果

研究基盤体制の整備

① 多施設共同研究の基礎となる臨床経過データベースの作成

a) 急性期川崎病患者レジストリ (PEACOCK Study)

急性期川崎病患者の患者背景、診断時検査結果、治療内容、冠動脈予後を統一様式集積する多施設共同研究 (PEACOCK Study) を本年度計画立案し、東京を中心とした多施設共同前方視的観察型研究 (レジストリ) を開始した。現在順調に進行中であり、当センターからも100例予定しているが現在まで70例の登録をおこなった。

b) 遠隔期川崎病性冠動脈瘤レジストリ (Z Score Project、Z Score Project 2nd Stage、KID CAR Study)

2009年から開始した小児冠動脈内径の標準曲線を作成するための多施設共同研究 (Z Score Project) は2016年度に入って完遂した (Kobayashi T, et al. JASE 2016)。また、遠隔期川崎病患者の Registry を形成するため、

東京都立小児医療総合センター三浦大医長と協同で「Z Score Project 2nd stage」実施した。40を超える施設の協力を得て1002例の冠動脈病変合併患者に関する予後データベースを作成し、急性冠症候群の発症に関連する因子を同定した (J Am Coll Cardiol in submission)。これらの研究成果を踏まえ、現在日本川崎病学会公式研究として、円環動脈瘤合併川崎病患者の予後を追跡するための多施設共同前方視的観察型研究 (KID CAR Study)

② 川崎病遺伝コンソーシアムの運営と規模拡大

現在40施設が参加して運営されている川崎病遺伝コンソーシアムは、3年間で1400例を超える遺伝子検体を収集してきた。1883検体 (2018年1月31日現在) 年間約200検体 (全川崎病症例の約1.3%) が収集されている。研究事務局を当センターに移転した。

研究プロジェクト

① ヒト化マウスを用いた高サイトカイン血漿と血管炎発症モデルの作製と病態発現解析

ヒト化マウスを用いて川崎病の主病態である高サイトカイン血症と血管炎の発症モデルを作製し、川崎病による血管炎発症におけるサイトカイン・ケモカインの役割を免疫細胞と血管内皮別々に検討し、川崎病病態発症メカニズムの解明を目指した。

CAWS 投与して28日後に解剖すると心臓冠動脈に血管炎を発症してい

た。この血管炎発症モデルマウスを用い血管炎発症部位に見られる免疫細胞とサイトカイン・ケモカインについて血管炎発症までの動態を経時的に解析した。川崎病発症患児で見られる炎症性サイトカイン・ケモカインの産生異常はモデルマウスで同様の産生異常が示された。血球系産生サイトカイン・ケモカインはヒト型であり、血管内皮産生サイトカインはマウス型である。ヒト型のサイトカインなのかマウス型サイトカインなのかを検討するだけでどちらがより病態発現に関与しているかがわかることになる点をとってもヒト化マウスでのモデル作製の意義は大きい。血管炎発症時に血球系産生サイトカイン・ケモカインと血管内皮系産生サイトカイン・ケモカインのどちらがより変動しているかを経時的に検討した結果、血管内皮系サイトカイン・ケモカインの変動はほとんどなく、血球系産生サイトカイン・ケモカインの異常産生が顕著であった。現在、変動のあったものの中で血管炎により関与していると思われるサイトカイン・ケモカインの阻害剤による血管炎発症阻害実験を進めている。また、心冠動脈血管炎部位では顆粒球の集積が顕著であるので、顆粒球を抗体で除去することで血管炎発症の程度が軽減されるかを検討した。現在病理似寄る組織学検討を進めている。仮に、顆粒球除去による病態軽減があるのであれば、治療への応用が期待される。さらに

CAWS 投与後、末梢血中の単球系細胞が経時的に増加していることが示された。解剖時に心採血での細胞分布を検討すると末梢血中よりも単球系細胞数が多く、末梢血中の単球系細胞数の経時的変化が血管炎発症のマーカーとして利用できる可能性が示されたと言える。来年度は心冠動脈血管炎発症機序の解明と発症予測マーカーの探究をさらに進める計画である。

- ② IVIG 治療反応性および CAL 発症の予測に有効な診断バイオマーカーの開発
国立成育医療研究センターに入院した川崎病患者 520 例のバイオマーカー (PRV-1, STAT3, 各種サイトカイン) を測定し重症度との関連を見いだした。
- ③ 川崎病疾患感受性・重症化に関連する遺伝子多型の同定
遺伝コンソーシアムを通じた検体集積をすすめると共に、積極的に国際共同研究を実施した。共同研究者の尾内は国際コンソーシアムとの協同研究によって新たな川崎病感受性遺伝子を同定し (Circ Cardiovascul Genet 2016)、台湾・中国との国際共同研究では別の川崎病感受性遺伝子を同定し、現在機能解析を含めた追加実験中である。川崎病遺伝コンソーシアムの検体を用いて、新しい川崎病の感受性遺伝子として ORCA1 を同定し、報告した。また、現在台湾・韓国との国際共同研究で新たな川崎病疾患感受性遺伝子を見だし、validation を行っ

ている最中である。

④ 診療ガイドライン作成のための系統的レビュー並びにメタ解析

本年度、川崎病に関する系統的レビューを3件実施した（抗血小板薬、TNF- α 阻害薬、生物学的製剤）。抗血小板薬の効果と安全性を検証する系統的レビューは2nd line screeningを終え、現時点で信頼に足る十分なエビデンスが存在しないことを確認した。TNF- α 阻害薬に関する系統的レビューはCochrane Libraryへタイトル登録を行い現在1st line screeningを開始したところである。生物学的製剤に関する系統的レビューはPROSPEROにタイトル登録を行い、プロトコール論文が受理された（Syst Revs 2016）。また、米国心臓病学会の川崎病ガイドライン改訂チームの一員としてガイドライン改定に関わ

り、近日中に公開される予定である（Circulation in press）。今後は日本で作成予定の診療ガイドライン改訂に向けて国際的な視点から関与していく予定である。

4. 研究内容の倫理面への配慮

本研究はヘルシンキ宣言に基づく倫理的原則、ヒトゲノム・遺伝子解析研究における倫理指針及び人を対象とする医学系研究の倫理指針、動物の愛護及び管理に関する法律、動物の愛護及び管理に関する施策を総合的に推進するための基本的な指針、研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針、厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針等に従う。