

ポストゲノム時代の川崎病の病因・病態論

慶應義塾大学医学部小児科
山岸 敬幸

序

川崎病は、現代の先進国においてリウマチ熱に代わり、後天性心疾患の最大の原因となっている。γグロブリン療法 (IVIG) を中心とした治療および冠動脈後遺症の予防が確立してきたが、IVIG不応例に対する治療法や、病因・病態論についてはいまだ発展途上である。これまでの多くの研究により以下の疫学的・血清学的・病理学的特徴が明らかになり、川崎病の病因・病態には何らかの病原体の感染と遺伝的素因に基づく個人の感受性が関与すると推測されている。

人種差がある：西欧諸国においても川崎病は存在するが、その罹患率は日本人の1/10以下であり、アジア系、特に日本人に多い。

性差がある：罹患率の男女比は約1.38で男児に多く、冠動脈後遺症の発生率も男児に高い(「川崎病全国調査成績 (1971~2003)」)。

親子例の発生頻度が高い：川崎病に罹患した児をもつ親の集団内における川崎病既往者数が予想値より有意に高く、また既往者を親にもつ川崎病患児においては冠動脈障害の発生率、再発率、同胞罹患率のいずれも高値であると報告されている¹⁾。

同胞例の発生頻度が高い：同胞相対危険率が約10と比較的高値であることが報告されている²⁾。

過去に時期的、地域的な流行が認められた。

感染症類似の臨床症状を呈する：特に溶連菌感染症、エルシニア感染症等に類似する。

乳児期後期の発症頻度が高い：発症年齢のピークが母体からの移行抗体低下時期に一致する。

急性期に免疫系の過剰な活性化状態が認められる：リンパ球、単球/マクロファージ、好中球はいずれも活性化しており、IL-2、IL-6、IL-8、IL-10、TNF α 、MCP-1などのサイトカインの上昇がみられ、何らかの感染が契機になると考えられる³⁾。

剖検肺組織中にウイルス由来と思われる、蛋白と核酸からなる細胞内封入体が発見されている：川崎病の発症に直接かかわるウイルスの存在を示すものではないかと推測されている⁴⁾。

ポストゲノム時代における遺伝子多型研究の重要性

深澤論文は、ヒトゲノム全体の塩基配列が決定された現代における、遺伝子多型研究の重要性を示す一論文としての価値が高い。ポストゲノム時代に入り、一塩基多型 (single nucleotide polymorphism : SNP) や、個々の遺伝子機能についての情報が急速に蓄積され、遺伝学的研究が飛躍的なスピードで進展している。

SNPとは、DNA配列中の多型のうち最もよくみられるもので、1,000~2,000塩基に1つ程度の割合で存在するDNAの一塩基の個人差である。SNPは、疾患易罹患性や薬剤反応性に関連する遺伝子を探索する際に有用な、ポストゲノム時代の多型マーカーとして注目されている。この一塩基の個人差により、病気のかかりやすさ、薬物治療への反応性(効果・副作用等)が異なる場合があり、個人の体質に応じた病態の把握、投薬や治療を行うテーラーメイド医療のかぎとなる。

SNPは、Pharmacogenomics(ゲノム薬理学：臨床薬理試験およびその他の臨床試験において、医薬品の作用に関連するゲノム検査を利用して被験者を層別する等の手段を用い、被験薬の有効性、安全性等を検索的、検証的に解析・評価すること⁵⁾と定義される)において、今や中心的役割を担っている。米国FDA(食品医薬品局)は、SNPを中心とする遺伝子多型を解析・応用し、「薬物応答性の個人差の潜在的な原因を特定し、個々の治療の効果を最大限に、リスクを最小限にすること」の重要性を公表している⁶⁾。遺伝子多型が薬物治療に影響を与える例として、大別して以下の遺伝的メカニズムが考えられている。

薬物代謝酵素の遺伝子多型により、薬物の代謝速度が増加あるいは減少し、体内薬物濃度等が変化する場合。
薬物トランスポーター等の遺伝子多型により、薬剤応答性や副作用発現に影響を及ぼす場合。

川崎病における遺伝子多型の研究

川崎病における遺伝子多型研究の先駆けとして、1970年代後半から1990年代初めにかけてヒト白血球抗原 (HLA) が注目されたが、有意な関連は認められなかった。その後、ゲノム情報を利用しやすくなった2000年ころからポストゲノムの現代に至るまで、遺伝子多型の研究が増えてきた。深澤論文を含め、現在までに報告されたおもな関連研究をTable 1 に示す⁷⁻²³⁾。川崎病に対するかかりやすさ(疾患感受性)に関連する多型とともに、冠動脈病変の発症リスクやIVIGの効果等の臨床症状・予後に関連する多型について検討されている。

遺伝子多型研究の注意点

川崎病では疾患の発症にかかわる遺伝因子が多数あり、それぞれの因子が相互作用をもつと推定される。このようにいわゆる多因子遺伝的な側面をもつ疾患の遺伝子多型研究においては、疾患の原因となる特定の責任遺伝子を追究するような研究とは異なる注意点がある。Table 1 に示した多くの研究における戦略は、いわゆる候補遺伝子アプローチで、川崎病急性期に発現が上昇し病態形成に関与することが濃厚な遺伝子や、ほかの炎症性疾患・冠動脈疾患で相関が報告された遺伝子が、あらかじめ候補遺伝子として設定されている。設定された候補遺伝子のSNPの出現頻度を患者群と対照群の間、治療反応群と不応群の間ないし冠動脈障害発症群と非発症群の間で比較検討する症例対照研究であり、SNPの出現頻度に統計的な有意差があれば、調べた遺伝子が川崎病の発症、治療反応性ないし冠動脈障害の発症に関与した可能性があるとして結論されることが多い。しかし、その結果を異なった患者群で追試した場合に統計的な有意差に再現性が得られるか、また実際に川崎病と関連する遺伝子変異または多型は調べた遺伝子のSNPとは別にあって、得られた結果は連鎖不平衡によるものではないか等の検討が行われることは少ない。したがって、候補遺伝子の設定段階でバイアスが入る可能性や、解析された遺伝子が川崎病の病態や治療反応性に特異的に関連しているのではない可能性などを完全には否定できない。深澤論文でとられているアプローチも同様であり、この点には十分に注意する必要がある。さらにSNPによっては、その遺伝子の機能や発現量に影響することもあるし、影響が認められないこともある。次のステップとして、相関の認められた遺伝子多型がどのような機構で川崎病の病因・病態に関与するのか、機能的な解析で実証することが望まれる。

Table 1 に示した研究のなかで、米国のBurnsらは、150名以上の世界各国の川崎病患者とその両親を対照として、76遺伝子144SNPについて、両親から子供へメンデルの法則に従ってSNPが受け継がれた場合の予想値とのずれを有意差検定する伝達不平衡試験 (transmission disequilibrium test) という方法を用いた^{12, 14)}。日本ではOnouchiらが、80組以上の川崎病同胞罹患例を対象に、第1~22およびX染色体上に約10cM間隔に設定した400カ所のマイクロサテライトマーカーを用いた連鎖解析を実施した。さらに400名以上の患者についてのSNPを用いた症例対照解析を併用し、ゲノムワイドに川崎病感受性遺伝子を検索している²²⁾。これらの大規模研究は、単純な候補遺伝子アプローチに比較して、より本質的な関連遺伝子(多型)の特定につながると考えられるが、多くの労力を要し、多施設間の協力が必要である。

川崎病の病因・病態とMCP-1, CCR2の関連

深澤論文では、川崎病の病態とMCP-1およびCCR2との関連が遺伝子学的に検討されている。では、川崎病の病因・病態形成にMCP-1およびCCR2が果たす役割、生化学的な関連はどうか？

MCP-1は単球遊走活性化因子で、マクロファージ遊走活性化のほか多彩な生理機能を有し、川崎病の組織あるいは循環血中では単球/マクロファージの活性化に伴って上昇している³⁾。深澤論文で検討されているMCP-1 A-2518G遺伝子多型は、1999年にRovinらに発見されたもので、白人、黒人ではAアレルを保持する割合が70~80%である一方、日本人、韓国人ではMCP-1を産生しやすいGアレルを保持する割合が65%で (Table 2)、川崎病発症頻度の人種差との何らかの関連が示唆される²⁴⁾。日本人だけを対象にした検討では、この遺伝子多型と川崎病疾患感受性との間に有意な相関は認められていないが³⁾、深澤論文により川崎病の有熱期間に関連することが示唆された。

一方、MCP-1の受容体であるCCR2の発現について、興味深い研究成果がある。Abeらは、川崎病急性期の病態の包括的理解、IVIGの作用機序の解明を目標として、DNAマイクロアレイを用いて22,000余の遺伝子の発現プロファイル解析を行った²⁵⁾。その結果、急性期の川崎病患者ではIL-6やIL-1bなど以前に報告された炎症性サイトカインやケモカイン遺伝子のほかに、非常に多くの遺伝子、特に単球でよく使われる遺伝子の発現が亢進しており、それらがIVIG後に低下することを明らかにした。CCR2は末梢血単核球および単球の両細胞群において共通に発現が亢進

Table 1 Research on gene polymorphisms in Kawasaki disease (KD)

Subjects	Genes	Association	Reference
Febrile period of KD	MCP-1	+	Fukazawa et al. (present issue)
	Monocyte chemoattractant protein		
Susceptibility to KD	TNF α	-	Kamizono et al. ⁷⁾
	Tumor necrosis factor α	-	Ahn SY et al. ⁸⁾
	LTA	+	Quasney et al. ⁹⁾
	Lymphotoxin- α		
	SLC11A1	+	Ouchi et al. ¹⁰⁾
	Solute carrier 11A1		
	ACE	-	Wu et al. ¹¹⁾
	Angiotensin converting enzyme		
	IL-4	+	Burns et al. ¹²⁾
	Interleukin-4	-	Wu et al. ¹³⁾
	CCR5	+	Burns et al. ¹⁴⁾
	Chemokine CC motif receptor		
	CCL3L1	+	Burns et al. ¹⁴⁾
	Chemokine CC motif ligand 3L1		
	IL-6	-	Sohn et al. ¹⁵⁾
	Interleukin-6		
	IL-1R α	+	Wu et al. ¹³⁾
Interleukin-1R α			
IL-1 β	-	Wu et al. ¹³⁾	
Interleukin-1 β			
Risk for CAL	TNF α	+	Quasney et al. ⁹⁾
	Tumor necrosis factor α		
	MICA	+	Huang et al. ¹⁶⁾
	Major histocompatibility complex class I chain A		
	MTHFR	+	Tsukahara et al. ¹⁷⁾
	5,10-methylenetetrahydroforate reductase		
	MBL	+	Biezeveld et al. ¹⁸⁾
	Mannose-binding lectin		
	CD14	+	Nishimura et al. ¹⁹⁾
	Cluster of differentiation 14		
	VEGF	+	Kariyazono et al. ²⁰⁾
	Vascular endothelial growth factor		
	KDR	+	Kariyazono et al. ²⁰⁾
	Kinase insert domain receptor		
	ACE	+	Fukazawa et al. ²¹⁾
Angiotensin converting enzyme			
AGTR1	+	Fukazawa et al. ²¹⁾	
Angiotensin II receptor type I			
CD40L	+	Onouchi et al. ²²⁾	
Cluster differentiation 40L			
Effect of IVIG	PAF-AH	+	Minami et al. ²³⁾
	Platelet-activating factor acetylhydase		

Table 2 MCP-1 G-2518A polymorphism in different groups

	n	Genotype(%)			Allele frequency (%)	
		AA	AG	GG	A	G
Japanese	295	12	47	41	35	65
Caucasian	71	49	43	7	71	29
Black	36	62	33	6	78	22

し、IVIGにより約1/5に低下することが確認された。深澤論文ではCCR2 G190A遺伝子多型とIVIGの解熱効果との相関は明らかにされなかったが、CCR2自体はIVIGの効果を早期に予測するマーカーの一つとして利用できるかもしれない。

おわりに

「ポストゲノム時代の川崎病の病因・病態論」は始まったばかりである。川崎病の遺伝子多型解析において一定の精度をもった結論を得るためには、ある程度多くの症例数が必要である。今後、国内の多施設間の研究協力をさらに進めて症例数を増やすとともに、海外の研究グループとも共同していくことが重要である。川崎病の遺伝的背景がひとつひとつ明らかにされることにより、川崎病の病因・病態論、さらにPharmacogenomicsがいつそう進展し、患者の診療に生かされることを期待したい。心疾患の遺伝子研究に従事する医師の一人として、深澤論文を読んだ臨床医、研究者が一人でも多くこの分野に興味をもち、その発展に貢献することを祈念して、Editorial Commentを締めくくる。

【参考文献】

- 1) Uehara R, Yashiro M, Nakamura Y, et al: Kawasaki disease in parents and children. *Acta Paediatr* 2003; 92: 694–697
- 2) Fujita Y, Nakamura Y, Sakata K, et al: Kawasaki disease in families. *Pediatrics* 1989; 84: 666–669
- 3) Jibiki Y, Terai M, Shima M, et al: Monocyte chemoattractant protein-1 gene regulatory region polymorphism and serum levels of monocyte chemoattractant protein-1 in Japanese patients with Kawasaki disease. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 2211–2212
- 4) Rowley AH, Baker SC, Shulman ST, et al: Cytoplasmic inclusion bodies are detected by synthetic antibody in ciliated bronchial epithelium during acute Kawasaki disease. *J Inf Dis* 2005; 192: 1757–1766
- 5) 医薬品の臨床試験におけるファーマコゲノミクスの利用指針の作成に係る行政機関への情報の提供等について：平成17年3月18日付薬食審査発第0318001号 医薬食品局審査管理課長通知
- 6) U.S. FDA: Guidance for Industry Pharmacogenomic Data Submissions 2005
- 7) Kamizono S, Yamada A, Higuchi T, et al: Analysis of tumor necrosis factor-alpha production and polymorphisms of the tumor necrosis factor-alpha gene in individuals with a history of Kawasaki disease. *Pediatr Int* 1999; 41: 341–345
- 8) Ahn SY, Jang GC, Shin JS, et al: Tumor necrosis factor-alpha levels and promoter polymorphism in patients with Kawasaki disease in Korea. *Yonsei Med J* 2003; 44: 1021–1026
- 9) Quasney MW, Bronstein DE, Cantor RM, et al: Increased frequency of alleles associated with elevated tumor necrosis factor-alpha levels in children with Kawasaki disease. *Pediatr Res* 2001; 49: 686–690
- 10) Uchi K, Suzuki Y, Shirakawa T, et al: Polymorphism of SLC11A1 (formerly NRAMP1) gene confers susceptibility to Kawasaki disease. *J Infect Dis* 2003; 187: 326–329
- 11) Wu SF, Chang JS, Peng CT, et al: Polymorphism of angiotensin-1 converting enzyme gene and Kawasaki disease. *Pediatr Cardiol* 2004; 25: 529–533
- 12) Burns JC, Shimizu C, Shike H et al: Family-based association analysis implicates IL-4 in susceptibility to Kawasaki disease. *Genes Immun* 2005; 6: 438–444
- 13) Wu SF, Chang JS, Wan L, et al: Association of IL-1Ra gene polymorphism, but no association of IL-1beta and IL-4 gene polymorphisms, with Kawasaki disease. *J Clin Lab Anal* 2005; 19: 99–102
- 14) Burns JC, Shimizu C, Gonzalez E, et al: Genetic variations in the receptor-ligand pair CCR5 and CCL3L1 are important determinants of susceptibility to Kawasaki disease. *J Infect Dis* 2005; 192: 344–349
- 15) Sohn MH, Hur MW, Kim DS, et al: Interleukin 6 gene promoter polymorphism is not associated with Kawasaki disease. *Gene Immun* 2001; 2: 357–362
- 16) Huang Y, Lee YJ, Chen MR, et al: Polymorphism of transmembrane region of MICA gene and Kawasaki disease. *Exp Clin Immunogenet* 2000; 17: 130–137
- 17) Tsukahara H, Hiraoka M, Saito M, et al: Methylene tetrahydrofolate reductase polymorphism in Kawasaki disease. *Pediatr Int* 2000; 42: 236–240
- 18) Biezeveld MH, Kuipers IM, Geissler J, et al: Association of mannose-binding lectin genotype with cardiovascular abnormalities in Kawasaki disease. *Lancet* 2003; 361: 1268–1270
- 19) Nishimura S, Zaito M, Hara M, et al: A polymorphism in the promoter of the CD14 gene (CD14/-159) is associated with the development of coronary artery lesions in patients with Kawasaki disease. *J Pediatr* 2003; 143: 357–362
- 20) Kariyazono H, Ohno T, Khajoo V, et al: Association of vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF receptor gene polymorphisms with coronary artery lesions of Kawasaki disease. *Pediatr Res* 2004; 56: 953–959
- 21) Fukazawa R, Sonobe T, Hamamoto K, et al: Possible synergic effect of angiotensin-1 converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism and angiotensin-II type-I receptor 1166A/C gene polymorphism on ischemic heart disease in patients with Kawasaki disease. *Pediatr Res* 2004; 56: 597–601
- 22) Onouchi Y, Onoue S, Tamari M, et al: CD40 ligand gene and Kawasaki disease. *Eur J Hum Genet* 2004; 12: 1062–1068
- 23) Minami T, Suzuki H, Takeuchi T, et al: A polymorphism in plasma platelet-activating factor acetylhydrolase is involved in resistance to immunoglobulin treatment in Kawasaki disease. *J Pediatr* 2005; 147: 78–83
- 24) Rovin BH, Lu L, Saxena R, et al: A novel polymorphism in the MCP-1 gene regulatory region that influences MCP-1 expression. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 259: 344–348
- 25) Abe J, Jibiki T, Noma S, et al: Gene expression profiling of the effect of high-dose intravenous Ig in patients with Kawasaki disease. *J Immunol* 2005; 174: 5837–5845