

川崎病急性期におけるIgA免疫反応と合成抗体を用いた関連抗原の検出

三浦 大

東京都立清瀬小児病院循環器科

Key words :
antigen, IgA, immunohistochemistry,
Kawasaki disease, synthetic antibodyIgA Immune Response and Detection of Antigen by Use of Synthetic Antibody
in Acute Kawasaki Disease

Masaru Miura

Division of Cardiology, Tokyo Metropolitan Kiyose Children's Hospital, Tokyo, Japan

The etiology of Kawasaki disease, although unknown, is likely to be a ubiquitous microbial agent. IgA plasma cells infiltrate coronary arterial and other inflamed tissues in acute Kawasaki disease (KD), and they are significantly increased in the upper respiratory tract of patients with KD, compared with those in control subjects. Macrophages and CD8 T-lymphocytes are prominent in the inflammatory infiltrate. IgA genes in arteries from KD patients are oligoclonal, that is, they are antigen driven. Oligoclonal antibodies synthesized in vitro identify antigen in acute KD, but not in control, bronchial epithelial cells, and the antigen resides in cytoplasmic inclusion bodies that are consistent with aggregates of viral proteins and associated nucleic acid. The synthetic antibodies also detected the antigen in a subset of macrophages in inflamed acute KD tissues such as the coronary artery aneurysms as well as the gastrointestinal tract with marked inflammation. These findings suggest that KD is caused by a previously unidentified respiratory infectious agent that spreads through the bloodstream, potentially within macrophages, to the target tissues of KD, particularly the coronary arteries.

要 旨

川崎病の原因は不明であるが、遍在する病原体が関与している可能性が高い。川崎病急性期の病理検体において、IgA形質細胞が冠動脈や他の炎症組織に浸潤し、対照に比し上気道に有意に増加している所見が認められた。マクロファージとCD8陽性T細胞も、炎症組織に著明に浸潤していた。川崎病の血管から得られたIgAの遺伝子は、通常の抗原刺激に由来することを示唆するoligoclonalな塩基配列を示した。この配列を基に合成した抗体によって、川崎病の気管支上皮細胞に抗原が検出されたが、対照では検出されなかった。この抗原は、ウイルスの蛋白質と核酸が凝集して産生される細胞質封入体に存在していた。また、合成抗体によって、冠動脈瘤や炎症の強い消化管の組織において、マクロファージの一部にも抗原が検出された。以上の所見は、未知の気道感染性の病原体が、おそらくマクロファージに感染し、血行性に冠動脈などの標的臓器に伝播することにより、川崎病が発症することを示唆する。

はじめに

川崎病は、先進国において小児に後天性心疾患を起こす最大の原因であり、日本のみならず世界でも、多くの研究者が未だに明らかでない病因の解明に取り組んでいる。Northwestern大学小児科・感染免疫学教室のAnne H. Rowley教授は、米国の川崎病研究の第一人者で、急性期川崎病の患者の病理組織を対象として、血

管へのIgA形質細胞の浸潤、IgA的可変領域を利用した合成抗体の作成、合成抗体による気管支上皮内の抗原の検出といった数々の成果を上げてきた。そして、気道から侵入した病原体が、IgA免疫系の活性化と冠動脈などの標的臓器への感染を起こした結果、川崎病が発症するという独自の病因論を提唱しているが(Fig. 1)、日本では広く認知されていない。最近、これらの報告に川崎富作博士自身が注目し^{1,2)}、新たな日米共同研究も計画さ

平成19年5月7日受付

別刷請求先：〒204-8567 東京都清瀬市梅園 1-3-1

平成19年11月21日受理

東京都立清瀬小児病院循環器科 三浦 大

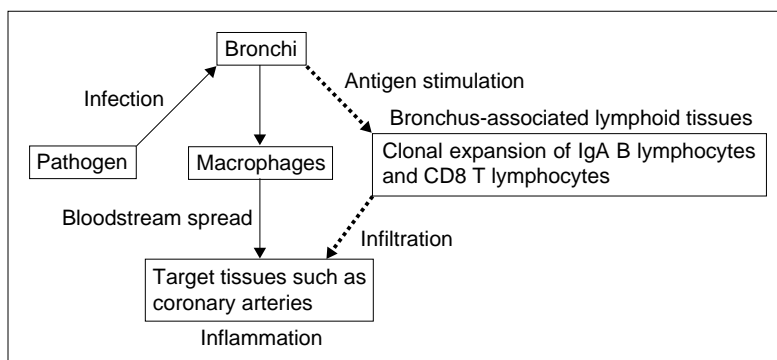


Fig. 1 Hypothesis of the etiology of Kawasaki disease.

れている。そこで、Rowleyの下で携わった筆者自身の研究も含め、今まで同研究室が行ってきた川崎病に関する業績をわが国に紹介するため本稿を執筆した。

IgA形質細胞の浸潤

Rowleyらは、1997年、通常はリンパ節や粘膜組織に存在するIgA形質細胞が、川崎病の血管組織に浸潤していることを報告した³⁾。はじめに、冠動脈瘤破裂で13病日に死亡した川崎病患儿から大動脈腸骨動脈接合部を採取し、凍結保存組織からcDNAライブラリーを作成した。cDNAを導入したファージベクターが、脾臓と同様の比率でヒト免疫グロブリンと反応するクローンを形成したことに着目し、形質細胞を目標に蛍光抗体法を行ったところ、同血管組織にIgA形質細胞の浸潤が認められた(Fig. 2)。他の川崎病6例から得たホルマリン保存冠動脈組織でも、免疫組織染色により、全例、内膜から漿膜まで全層にわたり多数のIgA形質細胞が検出された。一部の症例では、IgMやIgGの形質細胞を認めたが、いずれも少数であった。IgA形質細胞の血管組織への浸潤は、対照14例には1例もみられず、川崎病の血管炎に特徴的な所見と考えられた(陽性率：川崎病 7/7例 vs 対照 0/14例, $p < 0.001$)。

次いで、IgA形質細胞が、気道・脾臓・腎臓など血管以外の臓器にも浸潤していることが判明した⁴⁾。気道の免疫組織染色では、川崎病全14例で多数検出され、特に気管・太い気管支の粘膜下腺周囲および肺の中枢部に著明であった(Fig. 3)。RSウイルスかインフルエンザウイルスの気道感染による死亡例の気道でも、IgA形質細胞は存在していたが、その部位は肺の末梢にとどまっていた。このようなIgA形質細胞の分布の相違は、病原体の気道感染部位の相違に起因すると思われ、川崎病の呼吸器症状が顕著ではないことを説明し得る所見である。脾臓と腎臓にも、全例IgA形質細胞の浸潤が認められた。これらの所見が、川崎病の原因となる病

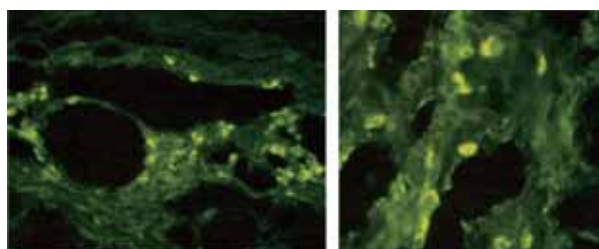


Fig. 2 Detection of IgA in the cytoplasm of infiltrating B cells in Kawasaki disease vascular tissue. A: Higher power view demonstrating many IgA-producing cells in the adventitial layer (magnification, $\times 200$). B: Higher power view demonstrating the cytoplasmic nature of the immunofluorescence ($\times 400$). Reproduced with permission from Reference ³⁾.

原体は気管支から侵入し、IgAの免疫反応を誘発するとともに、血管などの臓器に全身性に広がるという病因論の出発点となった。

IgA形質細胞以外の炎症細胞についても、いくつかの免疫組織学的検討が行われている。川崎病の冠動脈瘤では、T細胞が全層で、マクロファージがおもに漿膜で多数検出された⁵⁾。一方、形質細胞への分化が進行しているためか、B細胞はほとんど存在しなかった。T細胞の種類に関しては、CD4陽性T細胞が川崎病の血液中に優勢であるといわれているにもかかわらず、CD8陽性T細胞が冠動脈瘤組織では優勢であり、血液から組織に選択的に移行していることが示唆された。CD8陽性T細胞は、ウイルス感染細胞などの主要組織適合遺伝子複合体(MHC)クラスI上の抗原を認識し、細胞傷害性に働く。しかし、CD8陽性T細胞が分泌するパーフォリンやグランザイムBといった細胞傷害性物質は、予想に反して川崎病の冠動脈瘤組織には検出されず、その発現は病原体の干渉を受けていると推測された⁶⁾。また、マクロファージは冠動脈だけでなく脾臓の実質にも浸潤

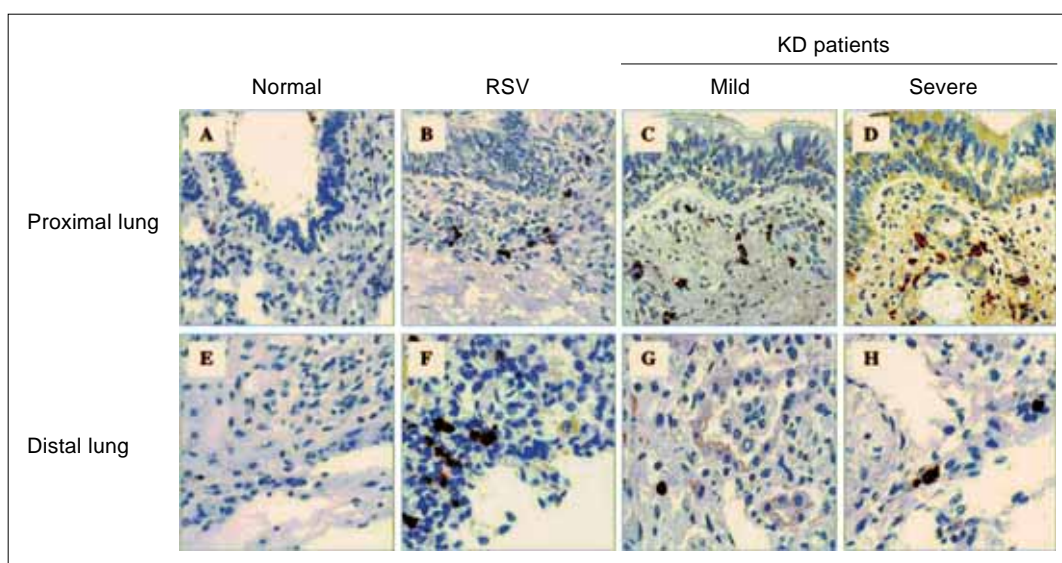


Fig. 3 Immunohistochemical stain for IgA plasma cells (PCs) in proximal and distal lung in control and Kawasaki disease (KD) patients.

A: Normal proximal lung. B: Proximal lung in a patient with respiratory syncytial virus (RSV) pneumonia; lung shows mild IgA PC infiltration. C and D: Proximal lung of 2 patients with KD, showing IgA PC infiltration. E: Normal distal lung. F: Distal lung in a patient with RSV pneumonia, showing clusters of IgA PCs. G and H: Distal lung in 2 patients with KD with mild (G) and severe (H) IgA PC infiltration of the proximal airway, showing occasional single positive cells. A-D: $\times 20$ objective. E-H: $\times 40$ objective. Reproduced with permission from Reference ⁴⁾.

していることから⁷⁾, IgA形質細胞とともに川崎病の多臓器の炎症に関与していると考えた。

IgA免疫反応を起こす抗原の種類

以上の成績から, 川崎病では全身性にIgA免疫系の反応が促進している可能性が高い。その免疫反応を惹起する抗原が通常の抗原かスーパー抗原かを解明するため, IgAの α 鎖のCDR3をコードする遺伝子の塩基配列の解析が行われた⁸⁾。免疫グロブリンのCDR3は, 抗原に結合する相補性決定領域 (CDR: complementarity determining region) のなかでも抗体の特異性を支配する部位で, 形質細胞が由来する個々のクローンごとに特有のアミノ酸配列を示す。その配列は, 通常の抗原刺激であれば, 増殖するクローンが少数なので限定したパターンを (oligoclonal), スーパー抗原による刺激であれば, 増殖するクローンが多数なので多様なパターン (polyclonal) を呈する。

解析の結果, 川崎病の血管組織における α 鎖のCDR3はoligoclonalなパターンであることが明らかにされた⁸⁾。第一に, 上述の凍結保存した大動脈組織から作成したcDNAライブラリーでは, 44クローンの α 鎖のうち, 5群, 計15個 (34%) が関連した塩基配列のCDR3を有していた。いずれの群でも体細胞変異を示す点突然変異が認められた。第二に, 川崎病2症例のホルマリン保存

冠動脈組織に対しRT-PCR法を行ったところ, CDR3の塩基数は限定しており, おおの複数のクローンの塩基配列が一致していた。したがって, 川崎病の血管組織におけるIgAの免疫反応はoligoclonalで, スーパー抗原による非特異的反応ではなく, 通常の抗原刺激による特異的反応であるという結論が得られた。

IgA形質細胞の浸潤の機序

川崎病急性期では, 種々の組織にIgA形質細胞が浸潤しているにもかかわらず, 血液中のIgA産生B細胞数は少ない⁹⁾。末梢血液中のリンパ球のフローサイトメトリーによる解析によれば, 川崎病では, 対照に比べ, B細胞の総数は有意差がなかったが, IgAおよびIgG産生B細胞は有意に少数であった。すなわち, 血液中のIgA産生B細胞は, 冠動脈などの標的組織に選択的に移行し, 形質細胞に分化しIgAを分泌すると推測された。免疫グロブリン療法を施行した川崎病において, 病初期ではなく, 治療終了後の血中IgA濃度の高値が冠動脈病変の独立した危険因子であるというMorikawaらの報告¹⁰⁾は, このようなIgA産生B細胞の分布の変化を支持する。

IgA産生B細胞が血管内から組織に浸潤する機序には, 他の炎症性細胞の浸潤と同様に, 細胞接着分子が重要な役割を担うと予想される。そこで, われわれは, 川崎病のホルマリン保存冠動脈組織を対象に, 細

胞接着分子の免疫組織学的検討を行い以下の所見を得た¹¹⁾。1) EセレクトリンとVCAM-1(vascular cell adhesion molecule 1)は、冠動脈瘤の漿膜に新生した小血管の内皮細胞に高率に発現していたが(陽性率:川崎病 4/6例 vs 対照 0/7例, $p = 0.02$) (Fig. 4), 2) いずれも川崎病の正常冠動脈の内皮には認めなかった, 3) インテグリン β_1 は、川崎病 5/6例の冠動脈瘤に浸潤していたマクロファージ様細胞に陽性であった。これらの成績から, 1) EセレクトリンとVCAM-1は炎症細胞の浸潤と微小血管の新生に寄与しているが, 2) いずれの発現も, 全身性の因子ではなく冠動脈瘤に局在する因子により惹起される可能性がある(実際, IgA形質細胞の浸潤も, 後述の合成抗体による抗原の検出も, 冠動脈瘤に認められたが, 正常冠動脈には認められなかった), 3) 炎症細胞上のインテグリン β_1 は, 血管内皮のVCAM-1に結合して浸潤を促進する, と考えた。

急性期川崎病の冠動脈瘤において微小血管が新生していることは, はじめにmatrix metalloproteinase(MMP; 細胞外マトリックス蛋白分解酵素)に関する研究で明らかにされた¹²⁾。冠動脈瘤の肥厚した内膜(myointima)と漿膜において, 微小血管内皮にMMP-2が著明に発現していた。引き続き, 血管新生について詳細に調べた結果, 川崎病の冠動脈瘤と心筋組織における微小血管の数は, 発症2~3週でピークを示した¹³⁾。浸潤した炎症細胞からは, vascular endothelial growth factor(血管内皮増殖因子), basic fibroblast growth factor(塩基性線維芽細胞増殖因子), platelet-derived growth factor-A(血小板由来増殖因子A)など複数の血管新生因子が検出された。過剰に新生した微小血管から浸潤した炎症細胞がさらに血管新生因子を放出するという悪循環は, 冠動脈瘤で炎症が持続する一因であろう。

合成抗体による抗原の検索

川崎病に特異的な抗原を同定するため, 前述したCDR3の塩基配列を基に, 以下の手法で作成した合成抗体を用い, 急性期川崎病の気道と冠動脈組織に対する免疫組織染色が行われた¹⁴⁾: 1) 川崎病の血管組織から作成したcDNAライブラリーで多数検出されたCDR3の塩基配列を, α 鎖と κ 鎖で別々にクローニングする, 2) それぞれ γ 1鎖と κ 鎖の定常領域を含む免疫グロブリンの発現ベクターに導入する, 3) 両者をCHO-S細胞にトランスフェクションする, 4) 培養の上清をプロテインAカラムクロマトグラフィに通し合成抗体を抽出する。この合成抗体により, 近位気管支纖毛上皮において, 細胞質内抗原が川崎病では13例中10例と, 対照の9例中0例に比べ, 有意に高率に検出された($p = 0.001$) (Fig. 5)。

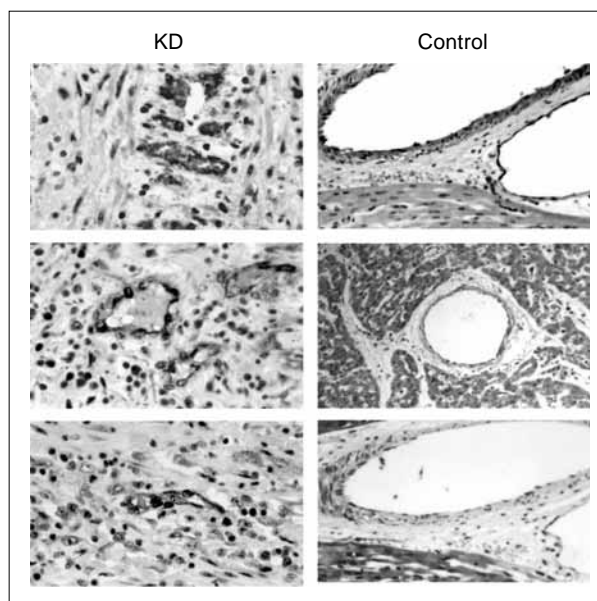


Fig. 4 Immunohistochemical stain for P-selectin, E-selectin and VCAM-1 in coronary arteries of patients with Kawasaki disease (KD) and controls. Endothelial cells of neovascularization in coronary artery aneurysms of a KD patient express P-selectin (A), E-selectin (C), and VCAM-1 (E). Endothelial cells of the coronary arteries in a control show positive P-selectin (B), but negative E-selectin (D) and VCAM-1 (F). A, C, E, $\times 40$ objective; B, D, F, $\times 20$ objective. Reproduced with permission from Reference ¹¹⁾.

A	B
C	D
E	F

浸潤したマクロファージの一部が, 川崎病冠動脈瘤では12例中9例で陽性に染色されたが, 対照冠動脈では10例とも陰性であった($p < 0.001$) (Fig. 6)。本成績により, 川崎病の病因として, 経気道性に侵入した病原体が, IgA産生B細胞のクローン性増殖とマクロファージへの感染を起こし, 血行性に冠動脈などの標的臓器に到達するという仮説が導かれた(Fig. 1)。

一般的な感染症と同様に, 川崎病の病原体も, 経気道性だけでなく経消化管性に侵入する可能性もある。実際, 下痢や腹痛などの消化器症状は川崎病に好発し, イレウスのような急性腹症を呈する場合がある。そこで, われわれは合成抗体を用いて, 川崎病の消化管組織に対し免疫組織学的検討を行った¹⁵⁾。川崎病7例中, 炎症の著明な2例では陽性に染色され, 消化管の炎症がない軽微な5例では陰性であった(Fig. 7)。抗原は, 1例では胃の粘膜固有層の細胞質内と結腸の漿膜に浸潤したマクロファージ内に, 他の1例では腸間膜リンパ節内にそれぞれ検出された。病原体の経消化管性の侵入部位である粘膜上皮とパイエル板では, 抗原は陰性であった。気管支と消化管の双方を検査し得た5例で

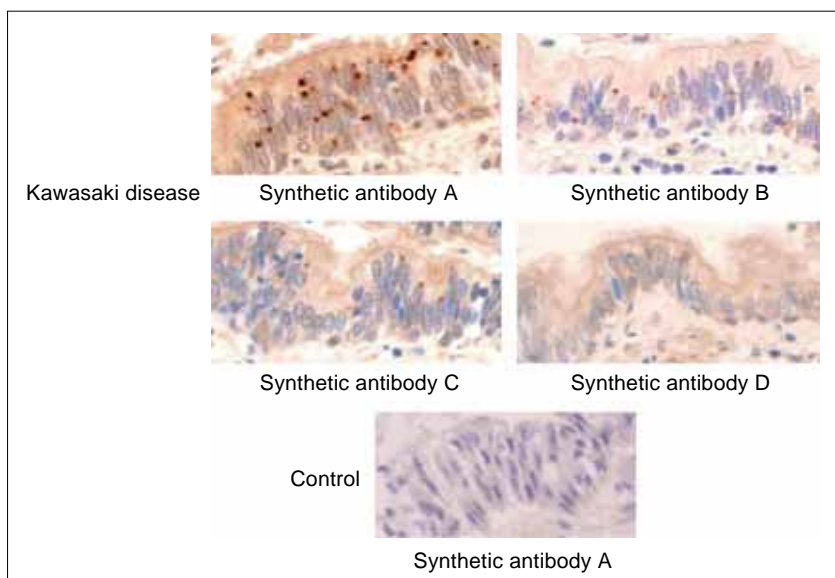


Fig. 5 Immunohistochemical stains of bronchial epithelium from a Kawasaki disease patient, showing strong staining of ciliated bronchial epithelium by synthetic antibody A. Intracytoplasmic spheroids are seen between the nucleus and the apical surface, in a somewhat perinuclear distribution. There is less intense but similar staining by synthetic antibodies B and C, and no staining by synthetic antibody D. Bronchial epithelium from a control subject is negative when stained with synthetic antibody A (original magnification, $\times 40$). Reproduced with permission from Reference ¹⁴⁾, which describes details of synthetic antibodies A-D.

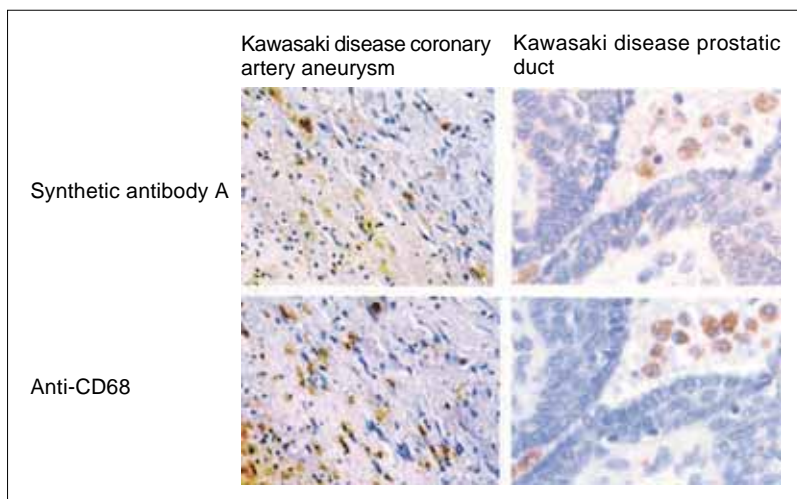


Fig. 6 Immunohistochemical stains of adjacent sequential sections of Kawasaki disease (KD) tissues. Myointimal layer of coronary artery aneurysm tissue from a KD patient shows cells staining with synthetic antibody A in the same area where CD68-positive macrophages infiltrate the tissue (original magnification, $\times 20$). There are many more CD68-positive cells than synthetic antibody A-positive cells. Prostatic duct tissue from another KD patient shows that synthetic antibody A-positive cells are also CD68 positive; the same cell is more easily identifiable in adjacent sections of prostatic tissue than coronary artery, because of preservation of normal tissue landmarks in the prostate (original magnification, $\times 40$). Reproduced with permission from Reference ¹⁴⁾, which describes details of synthetic antibodies.

は、抗原検出率は気管支に比し消化管で有意に低かった (5/5 vs 1/5, $p = 0.048$)。よって、川崎病の病原体は、経消化管性ではなく経気道性に侵入し、血行性に消化管に到達して、炎症の発生に関与すると考えた。

最近、Rowleyらは、さまざまな染色法および透過型電子顕微鏡を用いて、川崎病の気管支纖毛上皮において、合成抗体によって細胞質封入体が検出されることを報告した¹⁶⁾。川崎病9例の中等大気管支の纖毛上皮において、合成抗体による免疫組織染色では8例に、ヘマトキシリン・エオジン染色では7例に、円形から卵円形の封入体が細胞質内の核周囲に認められた (Fig. 8)。この封入体は、種々の染色所見から蛋白質と核酸を含むことが示唆された。透過型電子顕微鏡像では、気管支纖毛上皮の細胞質内核周囲に、均一な高電子密度の封入体が認められた (Fig. 9)。封入体は、川崎病の

非纖毛上皮や対照の気管支上皮には存在しなかった。細胞質封入体は、RNAウイルス、ことにパラミクソウイルス科のウイルスが気管支纖毛上皮に感染する際、蛋白質と核酸が凝集して出現することから、川崎病の病因となる病原体 (おそらくウイルス) から由来した可能性が高い。また、気管支纖毛上皮において確認された老化色素のリポフスチンも、病原体の感染により蛋白分解酵素であるプロテアゾームが抑制された結果、蓄積したものと推測された。

さらに、われわれは、合成抗体を多種類作成し川崎病の気管支に対する免疫組織染色を比較した¹⁷⁾。血管組織における α 鎖CDR3領域の検出頻度が高い塩基配列を含む抗体6種、低い塩基配列を含む抗体7種、計13種のうち、8種の合成抗体によって、気管支纖毛上皮の細胞質封入体が検出された。血管組織で検出頻度の高い α

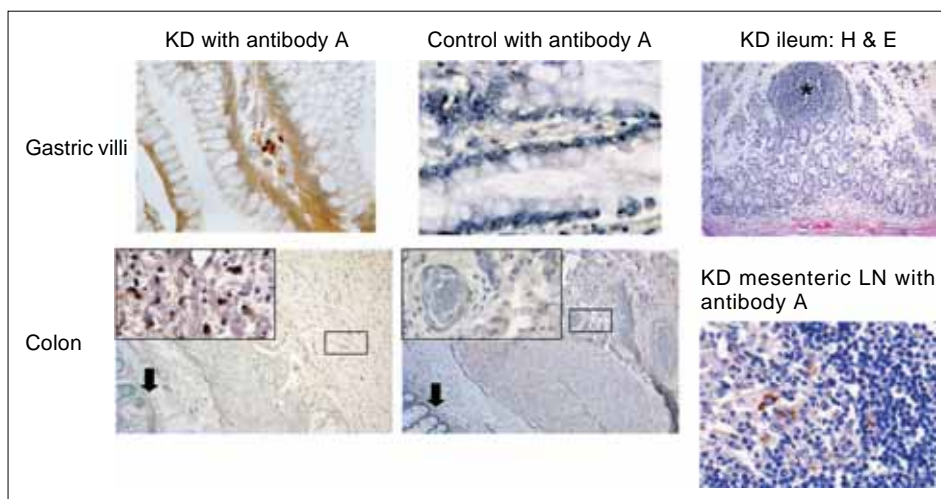


Fig. 7 Immunohistochemical stain of stomach, colon and mesenteric lymph nodes (LN) from Kawasaki disease (KD) patients using synthetic antibody A. In one KD patient, spheroid bodies were detected in lamina propria of gastric villi using synthetic antibody A.¹⁴⁾ A subset of macrophages infiltrating the serosal surface of the colon was stained with synthetic antibody A. Arrows indicate colonic mucosa, and boxes indicate areas of inset (serosal surface of colon). Antigen was not detected in gastric villi or colon of controls using synthetic antibody A. In another KD patient, lymphoid aggregates in the ileum showed severe hyperplasia involving the subepithelial region (*), hematoxylin-eosin (H&E) stain. In an adjacent mesenteric lymph node, spheroid bodies within macrophages were stained with synthetic antibody A. Gastric villi, $\times 40$ objective; colon, $\times 10$ objective; insets of serosal surface of colon, $\times 40$ objective; ileum, $\times 10$ objective; mesenteric lymph nodes, $\times 40$ objective. Reproduced with permission from Reference¹⁵⁾.

鎖の塩基配列を用いた4種の抗体は、検出頻度の低い α 鎖の塩基配列を用いた4種の抗体に比べ、いずれも濃い染色、すなわち抗原への強い結合性を示した(Fig. 10)。本成績は、川崎病の血管組織におけるIgAは抗原刺激により産生され、その抗原はおもに気管支上皮の細胞質封入体中存在するという病因論に合致する。

以上の手法を発展させ、川崎病の気管支組織における α 鎖CDR3領域の塩基配列を基に抗体を合成し、冠動脈組織の抗原を検出する研究も期待される。しかし、気管支の凍結保存組織がないので、 α 鎖CDR3の解析も合成抗体の作成も行うことができない。今後、川崎病の剖検検体(もしくは困難ではあるが生検検体^{1,2)})として入手する機会があれば、適切な臓器(気管支、肺、冠動脈を含む血管、心筋、リンパ節、脾臓など)を、ホルマリン固定以外の方法でも保存し(ブロックをOCTコンパウンドに入れた後、液体窒素で -70°C で凍結保存、 $0.5\sim 1.0\text{ g}$ の小切片をそのまま液体窒素に入れ -70°C で凍結保存、小切片をグルタルアルデヒドに入れ室温保存、の3種類が理想的)、Rowley研究室に提供すれば有意義な共同研究になるはずである。

粘膜免疫と川崎病

外分泌液の主要な免疫グロブリンとして、IgAが中心的役割を果たす粘膜免疫は、川崎病の好発年齢である乳

幼児期から発達する。IgAの濃度が成人と同レベルに達する時期は、血清(全身免疫)では青年期であるが、外分泌液(粘膜免疫)では1カ月~2歳の間といわれている¹⁸⁾。また、川崎病の主要症状である眼球結膜・口唇・口腔咽頭の充血はいずれも粘膜の炎症である。粘膜免疫では、抗原刺激により誘導されたIgA産生B細胞が、リンパ・血液循環系を経て遠隔のさまざまな粘膜に帰巢し、形質細胞に分化して特異的なIgAを分泌する。この共通粘膜免疫系(common mucosal immunity system)にも区別があり、インテグリン $\alpha_4\beta_7$ を発現するIgA産生B細胞はMAdCAM-1(mucosal addressin cell adhesion molecule 1)と結合して消化管粘膜に、インテグリン $\alpha_4\beta_1$ を発現するIgA産生B細胞はVCAM-1と結合して口腔・気管支など消化管以外の粘膜に帰巢する¹⁹⁾。後者のIgA産生B細胞は結膜や皮膚にも帰巢することから、川崎病のいくつかの主要症状は消化管以外の粘膜免疫の活性化であるという見方も成立する。

一方、粘膜免疫の活性化だけでは、川崎病の血管炎を引き起こすIgA免疫反応の異常を説明することはできない。Rowleyは、血管親和性をもつ病原体の存在が、IgA産生B細胞の血管組織への浸潤と形質細胞への分化を促すのであろうと述べている¹⁴⁾。前述したように、冠動脈瘤では微小血管の内皮細胞にVCAM-1が発現する¹¹⁾ので、そのリガンドであるインテグリン $\alpha_4\beta_1$ 陽性のIgA産

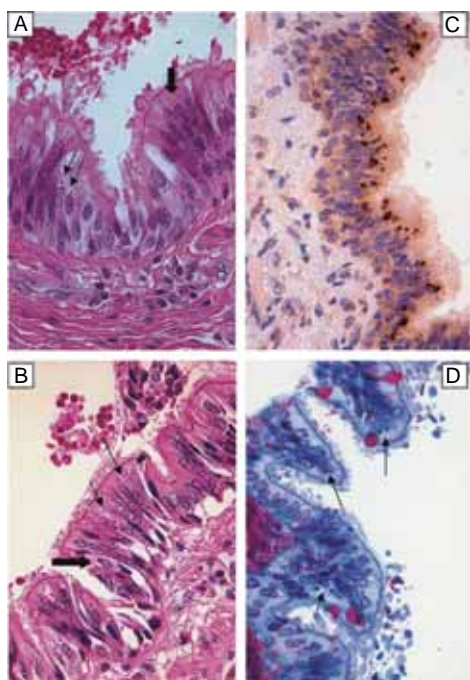


Fig. 8 Cytoplasmic inclusion bodies are visible by light microscopy in acute Kawasaki disease (KD) ciliated bronchial epithelium. A and B: Hematoxylin-eosin-stained sections showing amphophilic spheroidal cytoplasmic inclusion bodies (thin arrows) and irregular, golden yellow, granular, supranuclear pigment resembling classic lipofuscin (thick arrows). C: Immunohistochemistry-stained section demonstrating brown, spheroidal, cytoplasmic inclusion bodies identified with synthetic KD antibody J. D: Methylene blue/azure II/basic fuchsin trichrome-stained section showing dark blue cytoplasmic inclusion bodies; goblet cells stained red. Each section is obtained from different KD patients. Original magnifications, $\times 640$ for all panels. Reproduced with permission from Reference ¹⁶⁾, which describes details of synthetic antibodies.

生B細胞が浸潤する可能性がある。小児の代表的血管炎であるHenoch-Schönlein紫斑病でもIgA免疫が病因に関与することは興味深いですが、組織に沈着するIgA免疫複合体は、川崎病の組織では認められない³⁾。筆者は、3歳で川崎病、4歳で川崎病不全型とHenoch-Schönlein紫斑病の合併、5歳でHenoch-Schönlein紫斑病に罹患した症例²⁰⁾を経験し、好発年齢が異なるため両疾患のIgA免疫反応に相違が生じるのかもしれないと推測している。

おわりに

Rowleyが唱えている川崎病の発症のメカニズムは、以下のようにまとめることができる(Fig. 1): 1) 病原体が中等大の気管支繊毛上皮に感染する, 2) 気管付属リンパ節

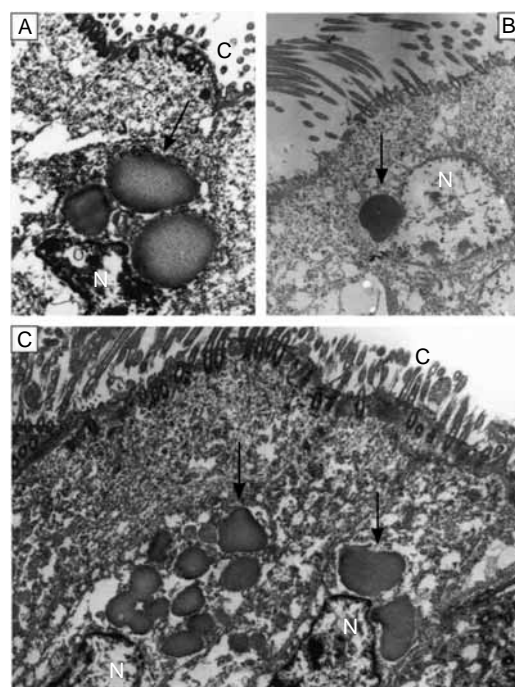


Fig 9 Homogeneous cytoplasmic perinuclear inclusion bodies observed by transmission electron microscopy in patients with acute Kawasaki disease (KD). A: Three regular, homogeneous perinuclear inclusion bodies (arrow) are observed in a ciliated bronchial epithelial cell. B: A single homogeneous spheroidal inclusion body (arrow) is observed indenting the nucleus of a ciliated bronchial epithelial cell. C: Multiple homogeneous bodies (arrows) are observed in ciliated bronchial epithelial cells. Each section is obtained from different KD patients. Original magnifications, $\times 17,000$ for panel A and $\times 14,000$ for panels B and C. C, cilia; N, nucleus. Reproduced with permission from Reference ¹⁶⁾.

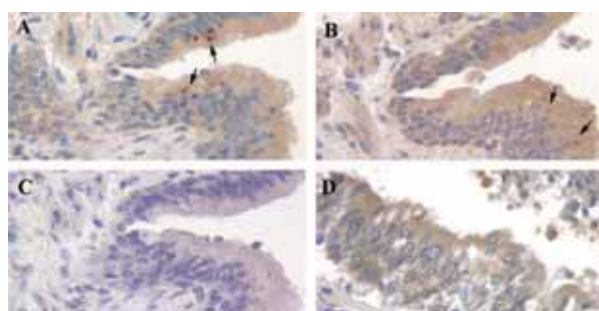


Fig. 10 Binding of Kawasaki disease (KD) synthetic antibodies to triplicate sections of the ciliated bronchial epithelium from a child with acute fatal KD. A: Synthetic antibody A shows strong staining (arrows). B: Synthetic antibody F shows weak staining (arrows). C: Synthetic antibody I does not bind. D: Synthetic antibody J does not bind to the control bronchial epithelium from a 3 mo old with pneumonia due to respiratory syncytial virus (eyepiece $\times 10$, objective $\times 40$). Reproduced with permission from Reference ¹⁷⁾, which describes details of synthetic antibodies.

でIgA産生細胞とCD8陽性T細胞のクローン性増殖が起こる, 3) 病原体がマクロファージに感染し, 血行性に冠動脈などの標的臓器に伝播する, 4) IgA産生細胞とCD8陽性T細胞が組織に浸潤し, 分化した形質細胞からIgAが分泌され, 抗原抗体反応により炎症が生じる.

IgA免疫反応が主体であるという川崎病の病因論はほかに類をみない独創的なものであり, 合成抗体による抗原の検索という画期的手法により裏付けられた. その研究対象はほとんど急性期の死亡例に限られているので, もしも川崎病の剖検組織を得る機会があれば, 前述の方法で検体を保存し, 共同研究の検討をお願いしたいと思う. 本総説が, 米国の知見の紹介にとどまらず, 日本における川崎病研究の発展に寄与すれば幸いである.

謝辞 米国での川崎病研究に親身なご指導を賜り, ご業績の引用をご快諾していただきましたNorthwestern大学Feinberg医科学学校小児科学・微生物免疫学教室・Anne H. Rowley教授に深謝申し上げます. また, 留学の機会を与えていただきました慶應義塾大学医学部小児科学・高橋孝雄教授, および慶應ノースウエスタンクリニック・生原睦夫院長, 研究を激励いただき資料のご提供も賜りました川崎富作博士, 検体のご提供を賜りました弘前大学医学部保健学科・米坂勸教授, 滞米中公私にわたりお世話いただきました井口道夫先生・真喜子様ご夫妻および南善一郎様・結花様ご夫妻に心よりお礼申し上げます. 米国生活をご援助いただいた大友禮子様, 母, 妻子にも感謝します.

本稿の一部は, 第24回日本川崎病研究会(2004年, 京都), The 8th International Kawasaki Disease Symposium(2005年, San Diego), 第108回日本小児科学会(2005年, 東京), 第41回・第42回日本小児循環器学会(2005年, 東京・2006年, 名古屋)で発表した. 第41回日本小児循環器学会では, 座長の市田啓子先生から投稿の推薦を受け, 原著を英文論文¹⁵⁾で発表したため, 編集室の許可を得て内容の一部を本総説で紹介した.

【参考文献】

- 1) 川崎富作: 日本川崎病研究センターニュースレター 2006; 11: 1
- 2) 川崎富作: 日本川崎病研究センターニュースレター 2006; 12: 1
- 3) Rowley AH, Eckerley CA, Jack HM, et al: IgA plasma cells in vascular tissue of patients with Kawasaki syndrome. *J Immunol* 1997; 159: 5946–5955
- 4) Rowley AH, Shulman ST, Mask CA, et al: IgA plasma cell infiltration of proximal respiratory tract, pancreas, kidney, and coronary artery in acute Kawasaki disease. *J Infect Dis* 2000; 182: 1183–1191
- 5) Brown TJ, Crawford SE, Cornwall ML, et al: CD8 T lymphocytes and macrophages infiltrate coronary artery aneurysms in acute Kawasaki disease. *J Infect Dis* 2001; 184: 940–943
- 6) Guzman-Cottrill JA, Garcia FL, Shulman ST, et al: CD8 T lymphocytes do not express cytotoxic proteins in coronary artery aneurysms in acute Kawasaki disease. *Pediatr Infect Dis J* 2005; 24: 382–384
- 7) Miura M, Garcia F, Crawford SE, et al: Macrophage infiltration of pancreatic acini and islets in acute Kawasaki disease. *Pediatr Infect Dis J* 2003; 22: 1106–1108
- 8) Rowley AH, Shulman ST, Spike BT, et al: Oligoclonal IgA response in the vascular wall in acute Kawasaki disease. *J Immunol* 2001; 166: 1334–1343
- 9) Shingadia D, O’Gorman M, Rowley AH, et al: Surface and cytoplasmic immunoglobulin expression in circulating B-lymphocytes in acute Kawasaki disease. *Pediatr Res* 2001; 50: 538–543
- 10) Morikawa Y, Ohashi Y, Harada K, et al: Coronary risks after high-dose gamma-globulin in children with Kawasaki disease. *Pediatr Int* 2000; 42: 464–469
- 11) Miura M, Garcia FL, Crawford SE, et al: Cell adhesion molecule expression in coronary artery aneurysms in acute Kawasaki disease. *Pediatr Infect Dis J* 2004; 23: 931–936
- 12) Gavin PJ, Crawford SE, Shulman ST, et al: Systemic arterial expression of matrix metalloproteinases 2 and 9 in acute Kawasaki disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 576–581
- 13) Freeman AF, Crawford SE, Cornwall ML, et al: Angiogenesis in fatal acute Kawasaki disease coronary artery and myocardium. *Pediatr Cardiol* 2005; 26: 578–584
- 14) Rowley AH, Baker SC, Shulman ST, et al: Detection of antigen in bronchial epithelium and macrophages in acute Kawasaki disease by use of synthetic antibody. *J Infect Dis* 2004; 190: 856–865
- 15) Miura M, Garcia FL, Crawford SE, et al: Detection of Kawasaki disease-associated antigen in inflamed gastrointestinal tract in acute Kawasaki disease. *Pediatr Infect Dis J* 2005; 24: 927–929
- 16) 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 Infect Dis* 2005; 192: 1757–1766
- 17) Rowley AH, Shulman ST, Garcia FL, et al: Cloning the arterial IgA antibody response during acute Kawasaki disease. *J Immunol* 2005; 175: 8386–8391
- 18) Boyaka PN, Marinaro M, Fujihashi K, et al: Host defenses at mucosal surfaces, in Rich RR (ed): *Clinical Immunology: Principles and Practice*. 2nd edition, London, Mosby, 2001, pp20.1–18
- 19) Kunkel EJ, Butcher EC: Chemokines and the tissue-specific migration of lymphocytes. *Immunity* 2002; 16: 1–4
- 20) Miura M, Mochizuki T, Fukushima H, et al: A case of Kawasaki disease accompanied by Henoch-Schönlein purpura. *Clin Exp Rheumatol* 2004; 22: 377–378