

平成23年 4月12日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008 ～ 2010

課題番号：20591281

研究課題名（和文）炎症と細胞傷害の悪循環に関与する核内蛋白・HMGB1による
新しい川崎病重症度評価

研究課題名（英文）New evaluation for severity of Kawasaki disease using HMGB1 values.

研究代表者

野村 裕一（NOMURA YUICHI）

鹿児島大学・医歯学総合研究科・准教授

研究者番号：90237884

研究成果の概要（和文）：

High Mobility Group Box 1 (HMGB1) 値を用いて川崎病(KD)の重症度評価として免疫グロブリン大量療法 (IVIG) 不応例スクリーニングの検討を行った。【方法】KD 患児の IVIG 前の血清を用いて HMGB1 値を初回 IVIG で軽快した 143 例（反応例）と追加治療を必要とした 23 例（不応例）を比較検討した。【結果】不応例の HMGB1 値は有意に高値だった。ROC 解析から得られた HMGB1 値のカットオフ値(16 ng/ml)以上を予測不応例とすると、鋭敏度 43%、精度 73%だった。Gunma スコア 5 点以上あるいは HMGB1 高値を予測不応例とすると鋭敏度 74%、精度 63%と感度向上が得られた。【結論】川崎病の重症度評価としての IVIG 治療不応例スクリーニングには Gunma スコアと HMGB1 高値による評価が有用である。

研究成果の概要（英文）：

We examined the efficacy of high mobility group box 1 (HMGB1) value for evaluating the severity of KD. **Methods:** Serum HMGB1 values were compared between the responders (143 patients) to initial intravenous immunoglobulin (IVIG) and nonresponders (23 patients). **Results:** Compared with responders, non-responders showed significantly elevated HMGB1 values. ROC analysis revealed an optimal cut-off value for HMGB1 for nonresponders. The sensitivity with high HMGB1 was 43% and accuracy 73%. When predicted non-responder is defined as a patient with Gunma score of 5 or over or high HMGB1 value, the sensitivity was 74% and accuracy 63%. **Conclusion:** Combinational use of HMGB1 value and Gunma score is useful for determine the severity of KD as the prediction for nonresponder of IVIG.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合 計
2006年度			
2007年度			
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
総 計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

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、重症度、冠動脈後遺症、免疫グロブリン治療、不応例、Gunma スコア

1. 研究開始当初の背景

川崎病は主に5歳未満の小児に発症する原因不明の血管炎で、年間10,000人近くと多くの発症が報告されている。川崎病は冠動脈異常(CAA)をきたすことが問題で、リウマチ熱の発症が稀となった現代では、後天性心疾患の原因として最も重要な疾患となっている。免疫グロブリン大量療法(IVGG)等の治療法の改善でCAAをきたす症例頻度は減少しているが、一部にIVGGに反応が悪い例が存在し、その場合にはCAAをきたす可能性が高率となる。それら重症例をスクリーニングし、より強化した治療を行うことでCAA発生頻度が減少することが考えられる。そのため、これまで種々のスクリーニング法が試みられたが、まだ十分な方法の確立には至っていない。

High mobility group box 1 (HMGB1)は非ヒストン核蛋白の主要成分であり、DNAの構造と機能の維持、転写の促進などに重要な役割を果たしている。細胞死が起こると各種逸脱酵素と同様にHMGB1も循環血液中に流出するが(受動的分泌)、HMGB1自体にサイトカイン活性があることが一般的な逸脱酵素とは異なっている。HMGB1は血管平滑筋などの細胞表面にある免疫グロブリンスーパーファミリーのひとつであるRAGEを介しNF κ Bの活性化、炎症性サイトカイン産生をきたす。この機序により細胞障害が更なる炎症の悪化をきたすという悪循環が形成されるため、多臓器不全やDICの予後のマーカーとしても有用であることが報告されている。また、HMGB1はTNF α 、エンドトキシンなどで刺激されたマクロファージや単球からの分泌も行われる(能動的分泌)。HMGB-1はこれらの能動及び受動分泌が関与し、炎症・細胞障害のネットワークにおける重要なサイトカインである。

川崎病はマクロファージ/単球が関与し重症例で冠動脈瘤をきたす炎症性疾患であり、その炎症におけるHMGB1の動態を検討することは、川崎病の炎症の病態や病状評価に有用な情報となる可能性がある。

そこで、年齢、白血球数、CRP値に差のない急性期川崎病患児32例と発熱コントロール児24例において、HMGB1と炎症性サイトカイン(IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70とTumor Necrosis Factor)を測定し、臨床検査値も含めた検討を行った。

HMGB1値は川崎病と発熱コントロールの間に差を認めなかったが、各群における臨床検査値や炎症性サイトカイン等とHMGB1値の相関をみると興味深い結果が得られた。発熱コントロール児では、HMGB1値がALT, LD, IL-1 β と有意の正の相関を認めたのに対し、川崎病群では同項目との相関は認めず、白血球数、CRPと有意の正の相関を認めた。川崎

病患児で追加治療を必要とした例(不応例)は、HMGB1値が追加治療のなかった例(反応例)より有意に高値だった($p=0.0051$)。反応例のHMGB1値の平均+1sd以上を呈するHMGB1高値例の頻度が追加治療群で有意に多く($p=0.0025$)、HMGB1値が川崎病重症例スクリーニングとして有用である可能性が考えられた。また、HMGB1値は川崎病病日が早いほど高い傾向が見られ($r=-0.315$, $p=0.0809$)、川崎病発症機転に関与する細胞障害の影響である可能性も考えられた。

川崎病と発熱コントロール児のHMGB1からみた炎症のパターンが異なっていたことは、川崎病の炎症の病態を考える上で興味深いことと考えられた。ただ少数例の検討結果にすぎず、症例数を増やし、また、急性期の縦断的検討も含めた詳細な検討で、川崎病における炎症の病態解明や重症度評価の点で新たな情報をもたらすことが期待される。

2. 研究の目的

HMGB1値を用いて川崎病の重症例(IVGG不応例や心血管後遺症をきたした例)のHMGB1の動態の特徴について解析し、CAA頻度を低下させるための、重症例スクリーニング法を確立する。

3. 研究の方法

鹿児島市医師会病院で入院加療された川崎病患児で、治療前のHMGB1の測定が行えた症例を対象とした。血清中のHMGB1値はHMGB1はサンドウィッチELISA法(ELISA Kit II、シノテスト株式会社、東京)で測定した。

川崎病患児は、初回IVIGで軽快した例を反応例とし、初回IVIGで軽快せず追加治療を必要とした例を不応例とした。この両群の臨床症状、血液検査値、冠動脈後遺症の頻度等の比較検討を行った。臨床検査値による重症度評価は原田スコア(Harada K et al. *Act Paediatr Jpn* 1991;33: 805-)とGunmaスコア(Kobayashi et al. *Circulation* 2006; 113: 2606-)で行った。川崎病患児は心エコー検査を治療開始時に施行し、その後も週2-3回繰り返して施行し、左右冠動脈径の測定を行った。冠動脈の正常径をKurotobiらの方法で計算し(Kurotobi S, et al. *Pediatr Int.* 2002, 44: 1-)、それを基に患児の各冠動脈のzスコアによる評価も行った。発症1か月時点での冠動脈zスコアの最大値が3.0を超えるものをCAAと定義した。

2群間の平均値の差はStudent *t* 検定あるいはMann-Whitney U 検定で比較し、頻度の差の検定はFisherの直接確率検定法を用いて検討した。不応例スクリーニングのHMGB1によるカットオフ値はROC解析で感度と精度が

最も高い値を選択した。

患児の通常の血液検査を施行する前に、その両親へ本研究に関する説明を行い、同意が得られた症例において HMGB1 の測定および重症度に関する検討を行った。

4. 研究成果

結果

治療前の HMGB1 値が測定できたのは 188 例で、22 例は Aspirin のみで治療されており、166 例は IVIG で治療されていた。

IVIG 治療群における検討

IVIG 治療が行われた 166 例で検討すると、反応群は 143 例、不応群は 23 例だった (表 1)。両群の年齢、入院病日、初回 IVIG 開始病日、初回 IVIG 量には差がなかったが、不応群は反応群より有意に発熱期間が長く、1 か月時の冠動脈 z スコアが有意に高値であり、CAA も有意に高頻度だった。

治療前の血液検査値は多くの検査で反応群と不応群で有意差を認めた (表 1)。原田スコアや Gunma スコアは不応群で有意に高値だった。HMGB1 も不応群で有意に高値だった。

表 1. 反応例と不応例の比較

	反応例	不応例
症例 [M/F]	143 [83/60]	23 [14/9]
年齢 (y)	2.1±1.6	2.3±1.9
入院病日	3.7±1.2	3.3±1.1
IVIG 病日	4.9±1.3	4.6±1.0
IVIG 量 (g/kg)	1.9±0.3	2.0±0.1
発熱期間		
IVIG 後	1.4±2.0	6.0±2.5 †
全経過	6.0±2.2	10.7±3.4 †
CAA	12 (8.4%)	6 (26%) *
z-score	1.2±1.9	2.3±2.0 †

入院時臨床検査値

WBC ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	138±44	191±73 †
neutrophil (%)	65±15	78±10 †
Hct (%)	34.7±2.9	34.2±3.1
Plt ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	35.4±9.8	31.1±9.5
AST (IU/L)	101±225	245±310 †
ALT (IU/L)	93±147	179±239 *
LD (IU/L)	331±185	420±190 *
T Bil (mg/dL)	0.9±0.7	1.2±0.7 *
Alb (g/dl)	3.8±0.4	3.8±0.5
Na	135±3.0	133±2.7 †
CRP (mg/dl)	6.7±4.8	9.8±6.5 †
HMGB1 (ng/mL)	9.7±5.5	14.8±11.3 *
原田 score	3.6±1.3	4.5±1.3 †
Gunma score	3.0±2.3	5.1±2.7 †

(*: <0.05; †:<0.01)

1 か月の時点で z スコア 3 以上の CAA をきたした 18 例 (CAA 群) と CAA をきたさなかつ

た 148 例 (nonCAA 群) の 2 群に分けて治療前の検査値を検討すると、CAA 群は nonCAA 群と比較して、白血球数や CRP 値の有意差を認めなかった。HMGB1 値はやや高値であったが有意差は認めなかった (CAA vs. nonCAA; 13.0 ± 6.9 vs. 11.8 ± 6.9 ng/mL)。

Gunma スコアは不応群で有意に高値であり、IVIG 不応スクリーニングとして Gunma スコア 4 点以上を予測不応例とすると、その鋭敏度は 65%、特異度は 63%、精度 63%だった。Gunma スコア 5 点以上を予測不応例とすると鋭敏度は 57%、特異度は 78%、精度 75%だった。ROC 解析から最も感度および精度が高い HMGB1 値のカットオフ値は 16 ng/mL だった。この値以上の例を HMGB1 による予測不応例とすると、鋭敏度 43%、特異度 78%、精度 73%だった。Gunma スコア 5 点以上あるいは HMGB1 高値を予測不応例とすると鋭敏度 74%、特異度 62%、精度 63%と Gunma スコア単独の評価と較べて、精度の低下はなく感度が向上した。Gunma スコア 4 点以上あるいは HMGB1 高値を予測不応例とすると鋭敏度 78%、特異度 49%、精度 53%だった。

Aspirin 治療群における検討

アスピリンのみで治療された 22 例は IVIG 治療群の 166 例と較べて、年齢に差はなかったが、入院病日は 4.5 ± 2.4 病日と有意に遅かった ($P < 0.01$)。白血球数や CRP 値は有意に低値であり、血小板数や総ビリルビン値、Na 値は有意に高値だった。HMGB1 は 13.7 ± 7.3 (ng/mL) と IVIG 治療群と差を認めなかった。発熱期間は 5.4 ± 2.8 日と短期間だったが、IVIG 群と有意差は認めなかった。1 か月時の z スコアは 2.0 ± 2.0 で CAA は 4 例 (18%) と IVIG 治療群の反応例と不応例の中間程度の頻度だった。CAA 全例遠隔期には冠動脈は正常化した。CAA の 4 例における Gunma スコアは 1 例が 3 点で 3 例は 1 点だった。HMGB1 値は 1 例のみが 36.9 (ng/mL) と著明に高値であり、他の 3 例は 10.7–14.9 (ng/mL) と高値ではなかった。

考案

IVIG 不応例はこれまでの報告と同様に CAA 頻度が有意に高頻度であり、これらの不応例スクリーニングが重要であることは再確認された。HMGB1 による川崎病の重症度評価は小数例の検討では感度や精度が高かったが、今回の症例数を増やした検討ではその感度が低い結果だった。Gunma スコアも論文での結果より感度や特異度は低い結果であったが、HMGB1 高値を加えることで、精度は変わらずに感度の上昇が得られた。

CAA 頻度は IVIG 治療により減少し、また IVIG 量の増量に伴って更に減少した。しかし、

川崎病患者数の増加傾向のために、冠動脈後遺症を残す患者数は依然少なくはない。CAA 頻度の更なる改善には、今回の検討でも示されたように CAA 発生頻度が高率である IVIG に反応しない不応例（重症例）をスクリーニングし、それらの症例において新たな治療戦略を検討する必要がある。そのためにも本研究のように IVIG 不応スクリーニング法の精度を高めるための検討を行うことは意義深いものと考えられる。今後もより感度および精度の高いスクリーニング法について検討を行っていく。

Aspirin のみで治療が行われた 22 例中 4 例の CAA 例を認めたが、Gunma スコアも HMGB1 値も CAA の予測のための指標としては有用とは言えなかった。IVIG 治療群における不応例スクリーニングと同様の方法ではこれらの CAA 予防の対策を検討することは困難であり、他の対応を検討する必要があるものと考えられた。

結論

川崎病の重症度評価としての IVIG 治療不応例スクリーニングには Gunma スコアと HMGB1 高値による評価が有用である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 26 件）

1. 益田君教、野村裕一、摺木伸隆、上野健太郎、江口太助、鮫島幸二、河野嘉文．喘息性気管支炎の治療で用いたステロイドが川崎病主要症状をマスクした川崎病不全型の 1 例．児臨 (in press) (査読あり)
2. Kentaro Ueno, Yuichi Nomura, Michiko Arata, Shinsuke Maruyama, Takayuki Tanabe, Taisuke Eguchi, Yoshifumi Kawano. Patient with autoimmune neutropenia developed Kawasaki syndrome after treatment with G-CSF. *Pediatr Int* (in press) (査読あり)
3. Yuichi Nomura, Kiminori Masuda, Taisuke Eguchi, Yasuko Morita, Kentaro Ueno, Yoshifumi Kawano. Elevated value of a drug-induced lymphocyte stimulation test for immunoglobulin is one of the immunological abnormalities of Kawasaki disease. *Int Arch Allergy Immunol*. 2010;153:102-106 (査読あり)
4. Yuichi Nomura, Michiko Arata, Chihaya Koriyama, Kiminori Masuda, Yasuko Morita, Daisuke Hazeki, Kentaro Ueno, Taisuke Eguchi, Yoshifumi Kawano. A severe form of Kawasaki disease presenting with only fever and cervical lymphadenopathy at admission. *J Pediatr*. 2010; 156: 786-791 (査読あり)
5. Kentaro Ueno, Yuichi Nomura, Kiminori Masuda, Yasuko Morita, Daisuke Hazeki, Taisuke Eguchi, Teruto Hashiguchi, Ikuro Maruyama, Yoshifumi Kawano. Platelet vascular endothelial growth factor is a useful predictor for prognosis in Kawasaki syndrome. *British J Haematol*. 2010; 148(2); 285-292 (査読あり)
6. Suda K, Kudo Y, Higaki T, Nomura Y, Miura M, Matsumura M, Ayusawa M, Ogawa S, Matsuishi T. Multicenter and retrospective case study of warfarin and aspirin combination therapy in patients with giant coronary aneurysms caused by Kawasaki disease. *Circ J*. 2009;73(7):1319-1323. (査読あり)
7. Taisuke Eguchi, Yuichi Nomura, Teruto Hashiguchi, Kiminori Masuda, Michiko Arata, Daisuke Hazeki, Kentaro Ueno, Junichiro Nishi, Yoshifumi Kawano, Ikuro Maruyama. An elevated value of high mobility group box 1 is a potential marker for poor response to high-dose of intravenous immunoglobulin treatment in patients with Kawasaki syndrome. *Pediatr Infect Dis J*. 2009;28(4); 339-341 (査読あり)
8. Takuro Nishikawa, Yuichi Nomura, Yukihiro Kono, Yoshifumi Kawano. A Patient with Selective IgA Deficiency complicated by Kawasaki Syndrome. *Pediatr Int*. 2008 50; 816-818 (査読あり)
9. 西川拓朗, 熊本崇, 島子敦史, 野村裕一, 河野嘉文, 川上清. 免疫グロブリン大量療法後に著しい血小板減少を来した川崎病の 1 例. 児臨. 2008 : 61 : 985-989 (査読あり)
10. Sadamitsu Yanagi, Yuichi Nomura, Kiminori Masuda, Chihaya Koriyama, Koji Sameshima, Taisuke Eguchi, Mari Imamura, Michiko Arata, Yoshifumi Kawano. Early diagnosis of Kawasaki disease in patients with cervical lymphadenopathy. *Pediatr Int*. 2008;50; 179-183 (査読あり)
11. 宮園 明典、野村 裕一、益田 君教、鮫島幸二、河野 嘉文. 川崎病との鑑別を要した日本紅斑熱の 1 例. 児臨. 2008:61:801-803. (査読あり)

12. Daisuke Hazeki, Yuichi Nomura, Michiyo Mizota, Keiko Yotsumoto, Yukiko Nonaka, Takayuki Tanabe, Yoshifumi Kawano. A patient with Kawasaki syndrome and 21-hydroxylase deficiency. *Pediatr Int.* 2008. 50; 119-120 (査読あり)

〔学会発表〕 (計 45 件)

1. Ueno K, Nomura Y, Masamoto I, Masuda K, Morita Y, Eguchi T, Okamoto Y, Kawano Y. Novel Autoantibody-induced severe neutropenia in a patient with Kawasaki syndrome. The 3rd Congress of Asia-Pacific Pediatric Cardiac Society, Urayasu, Japan, 2010.7.6-9
2. Nomura Y, Arata M, Masuda K, Suruki N, Ueno K, Yoshikawa H, Eguchi T, Kawano Y. Kawasaki disease patients with six principal symptoms have a high risk for requiring additional IVIG. The 3rd Congress of Asia-Pacific Pediatric Cardiac Society, Urayasu, Japan, 2010.7.6-9
3. Nomura Y, Masuda K, Eguchi T, Morita Y, Arata M, Ueno K, Kawano Y. An elevated value of a drug-induced lymphocyte stimulation test for immunoglobulin is one of the immunological abnormalities of Kawasaki disease. The 44 th association of European pediatric cardiology, Innsbruck, Austria, 2010.5.25-28
4. Nomura Y, Masuda K, Hazaki D, Ueno K, Eguchi T, Nishi J, Kawano Y. A peak of M/Z 4215 is a potential new marker for poor-response of immunoglobulin treatment in patients with Kawasaki syndrome. The Second Asia-Pacific Congress of Pediatric Cardiology and Cardiac Surgery, Jeju, Korea 2008.5.27-30

5. Arata M, Nomura Y, Masuda K, Eguchi T, Kawano Y. Presenting only fever and lymphadenopathy at admission is an independent risk for an additional IVIG in Kawasaki syndrome. 9th International Kawasaki Disease Symposium. Taipei, Taiwan 2008.4.10-12
6. Eguchi T, Nomura Y, Hashiguchi T, Masuda K, Arata M, Hazeki D, Ueno K, Maruyama I, Kawano Y. An elevated value of high mobility group box 1 is a potential marker for poor responder to IVIG in patients with Kawasaki syndrome. 9th International Kawasaki Disease Symposium. Taipei, Taiwan 2008.4.10-12

〔図書〕 (計 2 件)

1. 野村裕一. ブドウ球菌説. 川崎病のすべて, 東京, 中山書店, 2009: 36-37.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

野村 裕一 (NOMURA YUICHI)
鹿児島大学・医歯学総合研究科・准教授
研究者番号：90237884

(2) 研究分担者

西 順一郎 (NISHI JUNICHIRO)
鹿児島大学・医学部・歯学部附属病院・講師
研究者番号：40295241

橋口 照人 (HASHIGUCHI TERUTO)
鹿児島大学・医歯学総合研究科・准教授
研究者番号：70250917