

# 論文要旨

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.

**HMGB1 高値は川崎病の免疫グロブリン超大量療法  
に対する反応不良の予測因子になりうる。**

江口 太助

## 【序論および目的】

川崎病は、単球/マクロファージが関与する血管炎であり、重症例では冠動脈障害をきたす点が最も問題となる。HMGB1 は非ヒストン核蛋白の主要成分で、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。HMGB1 は、細胞死により各種逸脱酵素と同様に循環血液中に流出するが、免疫グロブリンスーパーファミリーの RAGE や TLR を介し NFκB を活性化させ、炎症性サイトカインの産生をきたす。この機序により細胞障害が更なる炎症の悪化を促進させる悪循環をもたらすのが特徴である。炎症が関与し、冠動脈障害という組織障害をきたす川崎病の炎症機序を考えると、川崎病における HMGB1 の動態の検討は、その炎症の病態解明や重症度評価への新たなアプローチになりうるものと考えられる。

## 【対象および方法】

2003 年 1 月から 2006 年 12 月に鹿児島市医師会病院に入院した川崎病患児で血清 HMGB1 を測定した患児を対象とした。コントロールとして同時期同院で入院加療を行った発熱性疾患患児を用いた。HMGB1 は、HMGB1 ELISA kit II (Sino-test Corporation) で測定し、炎症性サイトカイン (TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70) は、Human Inflammation kit (BD Biosciences) で測定した。

## 【結果】

36 名の川崎病急性期患児と 26 名のコントロール患児を対象とした。コントロール群は、呼吸器感染症 18 名、尿路感染症 3 名、細菌性髄膜炎 3 名、腸炎 2 名を用いた。川崎病群とコントロール群には年齢、CRP に有意差は認めなかった。また、川崎病群で白血球、AST、ALT、LD が有意に高値であったが、HMGB1 値には差を認めなかった。炎症性サイトカインは IL-1β がコントロール群で高値であったが、その他のサイトカインでは差を認めなかった。

36 名の川崎病患児の内、7 名に免疫グロブリン超大量療法の追加が必要であった。不応群の HMGB1、白血球、CRP、AST、LD 値は、反応群より有意に高値であった。両群で有意差を認めた項目の中で HMGB1 は ROC 曲線下面積が最も大きく、HMGB1 が予後予測因子として最も優れているものと考えられた。HMGB1 値 2.4ng/ml をカットオフポイントとすると、感度 86%、特異度 86%であった。

## 【考察】

川崎病の免疫グロブリン超大量療法に対する不応例の予測因子としては、群馬スコアなどが提唱されている。今回のわれわれの検討では 7 名の不応例のうち 5 名が群馬スコアで high-risk であった。残りの 2 名は low-risk と判定されたが、その 2 名の HMGB1 値は、5.9 と 18.8ng/ml と高値であった。以上の事から川崎病の不応例の予測因子の 1 つとして既存の予測スコアに HMGB1 を加えることにより、スクリーニング精度を上げることも可能と考えられた。

## 【結語】

HMGB1 高値は川崎病の免疫グロブリン超大量療法に対する反応不良の予測因子になりうる。

(The Pediatric Infectious Disease Journal Volume 28, Number 4, April 2009)

## 論 文 審 査 の 要 旨

|      |            |       |       |
|------|------------|-------|-------|
| 報告番号 | 医論第 1468 号 | 氏名    | 江口 太助 |
| 審査委員 | 主 査        | 松山 隆美 |       |
|      | 副 査        | 小田 紘  | 嶽崎 俊郎 |

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.

(HMGB1 高値は川崎病の免疫グロブリン超大量療法に対する反応不良の予測因子になりうる)

川崎病は、単球/マクロファージが関与する血管炎であり、重症例では冠動脈障害をきたす。HMGB1 は非ヒストン核蛋白の主要成分で、DNA の構造と機能の維持、転写の促進などに重要であるが、細胞死により逸脱酵素と同様に循環血液中に流出し、RAGE や TLR を介し NFκB を活性化させ、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促進させる。本研究は川崎病における HMGB1 の動態を測定し、川崎病の病態解明や重症度評価の予測因子になりうるかを検討した。

2003 年 1 月から 2006 年 12 月に鹿児島市医師会病院に入院した川崎病患児 36 名と同時期同院で入院加療を行った細菌感染症患児 26 名をコントロールとして用いた。HMGB1 は、HMGB1 ELISA kit II (Sino-test Corporation) で測定し、炎症性サイトカイン (TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70) は、Human Inflammation kit (BD Biosciences) で測定した。検体の採取は、川崎病群は診断時、コントロール群は入院時に行った。

結果は、川崎病群で白血球数、AST、ALT、LD が有意に高値であったが、HMGB1 値には差を認めなかった。炎症性サイトカインは IL-1β がコントロール群で高値であったが、その他のサイトカインでは差を認めなかった。また、HMGB1 値は、川崎病群で白血球数と正の相関を認めたが、コントロール群では相関を認めなかった。LD では、川崎病群では相関を認めなかったが、コントロール群と正の相関を認めた。

36 名の川崎病患児の内、7 名が初回免疫グロブリン超大量療法 (IVIG) に不応であった。不応群の白血球数、HMGB1、CRP、AST、LD 値は、反応群より有意に高値であった。両群で有意差を認めた項目の中で HMGB1 は ROC 曲線下面積が最も大きく、HMGB1 が予後予測因子として最も優れているものと考えられた。HMGB1 値 2.4ng/ml をカットオフポイントとすると、HMGB1 の予後予測因子としての感度 86%、特異度 86%であった。

川崎病の IVIG 不応例の予測因子としては、群馬スコアなどが提唱されている。本研究では 7 名の不応例のうち 5 名が群馬スコアで high-risk であった。残りの 2 名は low-risk と判定されたが、その 2 名の HMGB1 値は、5.9 と 18.8ng/ml と高値であった。

以上の結果から、HMGB1 高値は川崎病の初回 IVIG に対する反応不良の予測因子であり、HMGB1 値の測定は、川崎病の適切な治療に寄与すると考える。よって、本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。

## 試験（学力確認）の結果の要旨

|  |   |       |       |
|--|---|-------|-------|
| 報告番号   | 医論第 1468 号  | 氏名    | 江口 太助 |
| 審査委員   | 主査  | 松山 隆美 |       |
|  | 副査  | 小田 紘  | 嶽崎 俊郎 |
| <p>主査および副査の3名は、平成21年11月30日、学位請求者 江口太助 君に面接し、学位請求論文の内容について説明を求めると共に、関連事項について試問を行った。具体的には、以下のような質疑応答がなされ、いずれについても満足すべき回答を得ることができた。</p> |   |       |       |
| 質問1  | コントロールは、論文では細菌性感染症の患児としている。細菌感染症をコントロールとした理由は何か。  |       |       |
| 回答：  | 川崎病の原因として細菌感染症が関わっているのではないかとされている。しかし原因は未だ不明である。同じ炎症性疾患として考えると、細菌感染症はコントロールとして適切でないかと考えた。                                 |       |       |
| 質問2  | 細菌感染症群の重症度評価はどう考えるか。  |       |       |
| 回答：  | 白血球数とCRPで炎症の程度を評価した。川崎病とコントロール群で白血球数に差はあったが、CRP値に差はなく炎症の程度には差はなく適切と考えた。   |       |       |
| 質問3  | 川崎病の原因として、HMGB1の動態をみているが、病態の主体を成していると考えているか。  |       |       |
| 回答：  | 主体であるとは考えていない。各種サイトカイン、炎症細胞が複雑に関与していると考えられる。病理組織では単球・マクロファージが炎症の場の主体であり、HMGB1は一因として寄与していることが考えられる。                        |       |       |
| 質問4  | 川崎病とコントロールの間でHMGB1に差はなかったと報告しているが、responderとpoor responderでは明らかな差があったと述べている。コントロールと全川崎病群でHMGB1に差がなかったという理由は何か。            |       |       |
| 回答：  | 疾患群として考えるとコントロール群と比較して差はないが、responder群とpoor responder群に分けるとpoor responder群でHMGB1高値であることが分かり、川崎病の診断が確定すれば、予後予測因子として有用と考えた。 |       |       |
| 質問5  | HMGB1が低いにも関わらずpoor responderであった症例はないのか。  |       |       |
| 回答：  | 1例だけあった（7例中1例）。追加投与を要した。  |       |       |
| 質問6  | IVIG追加投与の場合、その後の経過はどうか。   |       |       |
| 回答：  | IVIG初回投与後2日間解熱しなければ、もう1回IVIG投与し、それでも解熱しなければ、ステロイドパルス療法、血漿交換、免疫抑制療法（レミケード）などが考慮される。今回検討した症例ではそのような症例はなかった。                 |       |       |
| 質問7  | 予測因子として活用できれば、poor responderへの対応としてどのようになるのか。   |       |       |
| 回答：  | 川崎病の治療は前述の病理所見からも10病日以内に解熱させる必要があり、前もって予測がついていれば、適切な治療を遅れることなく行うことができるため、有用な予測の開発が必要であると考えられる。                            |       |       |
| 質問8  | 今回の症例では全例でIVIG投与されているが、川崎病では全例IVIG投与を行っているか。  |       |       |
| 回答：  | 以前は原田のスコア等を用いてIVIG投与を行うか、アスピリン単独投与を行うかを検討する場合もあったが、現在は社会的事情も反映して、すべての例でIVIG投与が行われている。自験例も全例がIVIG投与を行っていた。                 |       |       |

質問9 どのタイミングでIVIGを行うか？ responderと poor responderで投与病日の差はないか。

回答： 4病日以前にIVIG投与する症例では予後が悪いとの報告もあるが、早期に診断される例はそれだけ重症度が高いとも考えられている。今回も poor responder群では入院日が早く、IVIG投与日も早かった。

質問10 それは病日が早いほどHMGB1は高値を示したことと関連すると考えるのか。

回答： 病日が早期であるほどHMGB1高値である傾向があったことは、早期診断される例は重症であると考えられていることを指示する結果であると考えている。

質問11 HMGB1測定の実現性はどうか。

回答： 再現性の確認は行っており、安定した結果を得ている。

質問12 HMGB1値に影響を与える因子は何があるのか。

回答： 600人の健常者の検討では、白血球数と相関しているとの報告がある。今回の検討でも、川崎病群では白血球数、好中球数と相関していた。

質問13 今回の検討で多くの項目で有意差があったが、互いの関連性はどうか。

回答： 今までに報告されているリスクスコアにも白血球数、入院病日、血小板数の有意差が報告されており、今回の検討も同様だった。その中でROC曲線を用いた検討ではHMGB1値がもっとも有用と考えた。

質問14 重回帰分析はどうか。

回答： 症例数が少なくノンパラメトリック解析で行っている。そのため、重回帰分析は行えず、各項目の比較にROC解析を選んだのが実情である。

質問15 HMGB1測定に血清を用いているが、凝固・破壊された細胞から流出することによる検査値への影響はないのか。VEGFなどは血漿と血清の値には解離があるが、HMGB1ではないのか。

回答： これまでの多くの文献で血清が使われているので今回も血清で検討した。血漿と血清との違いは今回は検討していない。

質問16 HMGB2との交差性はないのか。

回答： 交差性はなく、HMGB2の影響はなく測定が可能とされている。

質問17 HMGB1と各種サイトカインとの関連性をみているが、TNF- $\alpha$ など炎症初期に出てきてすぐに消え、IL-6などが出てくる。故に、HMGB1も経時的にみないとバイアスがかかるのではないか。poor responderで経時的な変化はどうか。

回答： サイトカインについてはそのとおりと考えている。経時的な変化は検討できていない。

質問18 HMGB1の半減期はどのくらいなのか。

回答： 現在まで半減期は調べられていない。

質問19 川崎病群ではアスピリンを投与し、コントロール症例ではアスピリンを使用していない。HMGB1値へのアスピリンの影響はあるのか。アスピリンを使わなければ高値になると予測されるが、いかがだろうか。

回答： アスピリンとの関連性については検討していない。ただ、今回の検討はアスピリン投与前の検体で検討している。

質問20 responder群では、IVIGが効いたらHMGB1は下がるのか。

回答： 下がるものと考えている。

質問 21 poor responder は解熱するかしないかで評価しているが、熱が下がっても HMGB1 が高い場合はあるかもしれないが、その場合はどう対応を考えるか。

回答： HMGB1 高値は川崎病では単球/マクロファージの活性化が主体であるが、細菌感染症では組織障害の結果であると考え。解熱しても高値例では炎症が継続していると考えられるため、更なる治療の強化を考える。

質問 22 7例で ROC 曲線の検討をしているが、この統計的手法に関しては問題はないのか。

回答： 今回は各項目の有用性の検討のために用いたが、症例数が少ないので、決してベストとは考えていない。

質問 23 HMGB1 と poor responder の関連性だが、病勢が高い症例で上がっているのか、IVIG に inhibitor 的な存在で働いているのか。

回答： ARDS などでは HMGB1 をブロック（中和抗体で）すると良くなるとの報告がある。IVIG の詳細な機序は分かっていないが、IVIG を行うことで、HMGB1 をブロックして良くなる機序も一部に考えられる。また、病勢を反映している部分もあるものと考えられる。

質問 24 HMGB1 の存在が IVIG 治療の効果を阻害することを意味するのか。

回答： IVIG の詳細な機序は分かっていないが、一部にはそのような効果もありうると考える。

質問 25 川崎病が後天性心疾患の原因としてもっとも多く、その冠動脈病変は内弾性板の断裂から発生すると説明したが、HMGB1 はその局所で働いていると考えるのか。血管炎が動脈特異的であるとすると HMGB1 との関連性はどうか。

回答： 川崎病では大動脈から小型筋型動脈まで侵される全身性の血管炎である。主に中型筋型動脈を主とし冠動脈瘤を形成する。冠動脈との関連に関しては、心臓は常に拍動しており、血管炎に加えてその力学的な影響もあると考えている。また、病理所見から、単球/マクロファージが炎症局所に多く認められるため、HMGB1 を介した炎症の悪循環が形成されていると考えられる。

質問 26 HMGB1 の発現は coronary 特異的に高いのか。ユピキタスに発現しているのか。

回答： 全身に発現している。

質問 27 川崎病末梢血で単球の活性化をきたすことは証明されているのか。

回答： 末梢血での NF- $\kappa$ B の活性、細胞接着因子 ICAM-1 や VCAM-1 が上昇している事も分かっている。

以上の結果から、3名の審査委員は本人が大学院博士課程修了者と同等あるいはそれ以上の学力・識見を有しているものと認め、博士（医学）の学位を与えるに足る資格を有するものと認定した。