

会頭講演

川崎病の新しい展開

古 川

漸 (山口大学医学部生殖・発達・感染医科学講座/小児科学)

I. はじめに

川崎病は1967年に川崎富作博士によって初めて報告された4歳以下の乳幼児に好発する原因不明の急性熱性疾患で、組織学的には全身の中小動脈の系統的血管炎である。疫学的見地から何らかの感染症が原因で、感染症を契機に起こった免疫反応により高サイトカイン血症が引き起こされるサイトカイン関連疾患と位置づけすべきである。1970年以後十数回にわたって川崎病全国調査が行われ、全国レベルでの大規模な流行が過去3回みられたが、以後大規模な流行はみられず、ときに局所的な流行がある。年間5,000~8,000人と一定の発症があり、昨年の統計では約9,000人と若干増加がみられた。

病因は何らかの微生物による感染と考えられ、細菌、トキシン、スーパーアンチゲン、ウイルス、真菌など種々の病因が提唱されたが、確証は得られず未だ病因不明の疾患である。しかし、特定の微生物に限定せず、感染を引き金とする症候群であろうとの考え方もある。

川崎病の免疫病態はかなり複雑で、組織と末梢血における免疫担当細胞の応答は異なっている。川崎病の発疹部の皮膚生検像と剖検例の冠動脈病変部にはCD14+マクロファージとHLA-DR+CD4+Tリンパ球の浸潤および血管内皮細胞上の細胞間接着分子の発現増強がみられることが報告されている。すなわち病変部ではマクロファージ、CD4+Tリンパ球および血管内皮細胞の活性化を主体とした病像である。一方、末梢血においては単球/マクロファージ、T helper(Th) 2タイプTリンパ球、Bリンパ球、

好中球および血小板の活性化が重要である。末梢血Th1タイプTリンパ球は免疫不応答状態と考えられる。これら末梢血免疫担当細胞の動態については、筆者らの総説を参照されたい¹⁾。

川崎病の治療として、ヒト免疫グロブリン療法が確立している。炎症症状の早期消退と冠動脈病変併発率を低下させる目的で、ヒト免疫グロブリン (intravenous immunoglobulin, IVIG) を投与する。一般的用法は200~400mg/kg/日を5日間点滴静注する。2g/kgを1回、1g/kg/日を2日間の点滴静注療法も行われている。この超大量療法は先の200~400mg/kg/日を5日間に比し、急性期の症状の改善および冠動脈病変併発の頻度が少なく有効との報告が多い。IVIG療法は抗炎症作用を期待して用いられているが、その作用機序は不明である。

本稿では末梢血単球/マクロファージの活性化について免疫電顕所見、転写因子 nuclear factor κ B (NF- κ B), 免疫グロブリン受容体 Fc γ RⅢの面から概説する。また、IVIGの作用機序について単球/マクロファージ、Tリンパ球および血管内皮細胞を中心にNF- κ Bおよび免疫グロブリン受容体 Fc γ Rの面から解説する。NF- κ Bの活性化と抑制はウエスタンブロットおよびフローサイトメトリーで、Fc γ Rの解析はフローサイトメトリー、ウエスタンブロットおよびRT-PCRで検討した。

II. 末梢血免疫担当細胞数の面から

表1に末梢血免疫担当細胞の数的変化を示す²⁾。白血球数は好中球の増加に伴い増加するが、単核球数に大きな変動はみられない。しか

別刷請求先: 山口大学医学部生殖・発達・感染医科学講座/小児科学 〒755-8505 山口県宇部市南小串1-1-1

Tel: 0836-22-2411 Fax: 0836-22-2333

表1 川崎病の末梢血単核球数

	Acute stage (n=106)	Convalescent stage (n=68)	Control subjects (n=22)
平均病日 (SD)	5.8 (1.6)	33.9 (19.9)	
White blood cells	15.59 (0.47)**	8.56 (0.29)	8.41 (0.39)
Mononuclear cells	4.58 (0.21)	5.27 (0.20)	4.86 (0.25)
CD14+ monocytes/macrophages	0.52 (0.04)**	0.25 (0.02)	0.18 (0.02)
Lymphocytes	4.06 (0.20)	4.89 (0.19)	4.68 (0.25)
CD4+ T cell	1.81 (0.11)*	2.27 (0.11)	2.33 (0.19)
CD8+ T cell	0.78 (0.04)*	1.14 (0.06)	0.94 (0.06)
CD19+ B cell	1.23 (0.09)*	1.00 (0.06)	0.94 (0.10)

All results for cell counts are expressed as $\times 10^9/l$ and mean (SEM).

* Significant at $p<0.05$ versus control subjects.

**Significant at $p<0.01$ versus control subjects.

しながら、単核球の中でCD14+単球/マクロファージ、CD19+Bリンパ球数は増加する。一方、CD4+、CD8+Tリンパ球数は軽度減少する。

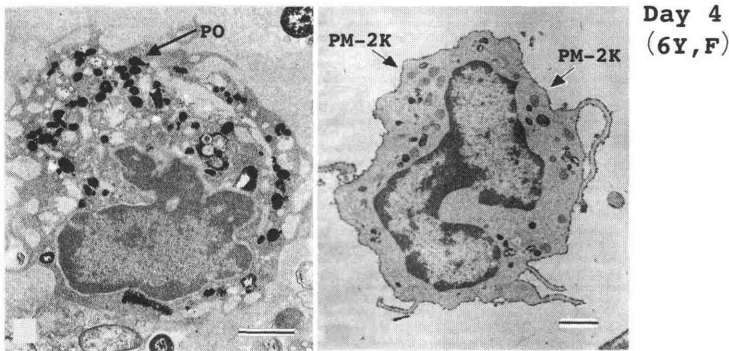
Ⅲ. 電顕所見の面から

KD急性期のCD14+単球/マクロファージの電顕所見の特徴は、核の複雑な分葉化や明瞭な核小体および細胞質内顆粒の増加である。細胞質内顆粒の約半数は酸フォスファターゼ陽性を示す。さらに、単球は認識せずマクロファージを特異的に認識するPM2K抗体と単球に存在するペルオキシダーゼ顆粒を染色するペルオキシダーゼ染色を用いた免疫電顕での検討では、急性期のCD14+単球/マクロファージはペルオキ

シダーゼ陽性顆粒が多くPM2K抗体陰性の細胞(単球)と、ペルオキシダーゼ陽性顆粒がほとんどなくPM2K抗体陽性の細胞(マクロファージ)が混在していた(図1)。健常人ではペルオキシダーゼ陽性顆粒がありPM2K抗体陰性の通常の単球であるが、KDでは末梢血中で単球からマクロファージへの変化が起きていると考えられる³⁾⁴⁾。

Ⅳ. 細胞内転写因子NF-κBの面から

tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin(IL)-1, IL-6などの炎症性サイトカイン, IL-8, monocyte-chemoattractant protein-1などのケモカインおよび多くの接着分子の発現・産



PO=peroxidase

図1 川崎病末梢血のCD14+単球/マクロファージの免疫電顕像

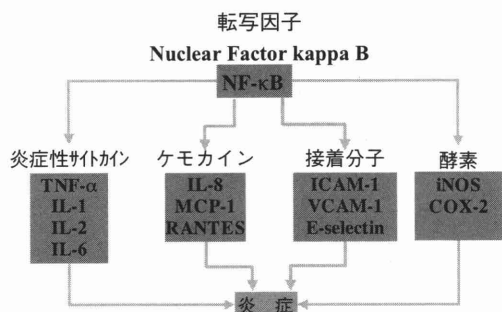


図2 転写因子NF-κBが制御する炎症性サイトカイン、ケモカインおよび接着分子など

生には、遺伝子からメッセンジャーRNAへの転写が必要である。この細胞内シグナル伝達の制御に転写因子NF-κBが関与する（図2）。NF-κBは細胞質に不活性化状態で存在し、活性化を抑制する蛋白IκBαのリン酸化による分解消滅により、速やかに核内に移行し、特異的なDNA配列（NF-κB binding site）に結合する（図3）。NF-κBの活性化によりサイトカイン遺伝子の転写が始まり、サイトカインの産生が行われる。

1) 臨床での検討

筆者らは世界に先駆けて川崎病の末梢血単核球のNF-κB活性化を明らかにした⁵⁾。川崎病の末梢血では急性期にCD14+単球/マクロファージおよびCD3+Tリンパ球のNF-κBの活性化がみられ回復期に低下した（図4）。特にCD14+単球/マクロファージでのNF-κB活性化がCD3+Tリンパ球に比し顕著で、IVIG投与後す

みやかに低下した（図5）。

2) 培養細胞での検討⁶⁾⁷⁾

ヒト単球系（U-937 cells）、T細胞系（Jurkat cells）、正常冠動脈内皮細胞（coronary artery endothelial cells, CAEC）の培養細胞を用いて、TNF-α刺激によるNF-κB活性化に対するIVIGの抑制効果を検討した。単純な概算ではあるが、IVIG 5 mg/ml、25mg/mlはそれぞれ400mg/kg、2g/kgの投与量に相当する。培養細胞での検討の詳細は、文献を参照していただきたい。図に示したものは一部の成績である。

- ① U-937, JurkatおよびCAECにおいてIVIGはNF-κB活性化を抑制した（図6）。
- ② IVIGのNF-κB活性化抑制作用は濃度依存性で、Jurkatに比しU-937でより強くみられた。
- ③ ついで、IVIGがU-937およびCAECにおいてNF-κB活性化抑制蛋白であるIκBαのdegradationを抑制することを明らかにした。すなわちIVIGの抗炎症作用はIκBαを保護することによる。しかしながらIVIGの作用点がextracellularly/intracellularlyかを明らかにすることはできなかった。
- ④ CAECにおいてIL-6産生とE-selectin発現はIVIGで有意に抑制された（図7）。

以上、IVIGは主として単球/マクロファージおよびCAECにおいてNF-κB活性化を抑制し、抗炎症作用を発揮することが示唆された。臨床でみられたIVIG投与後末梢血のCD14+単球/マクロファージにおけるNF-κB活性化が

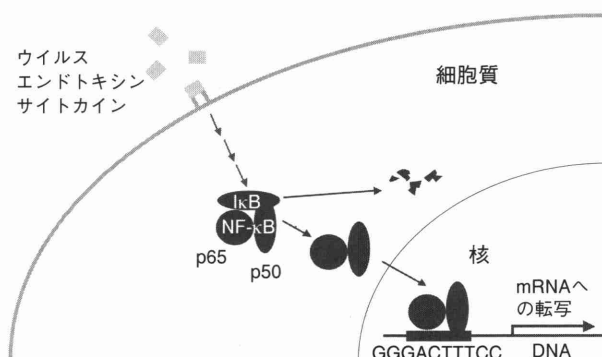


図3 NF-κBの活性化
IκBαの分解消滅によりNF-κBが核内に移行する。

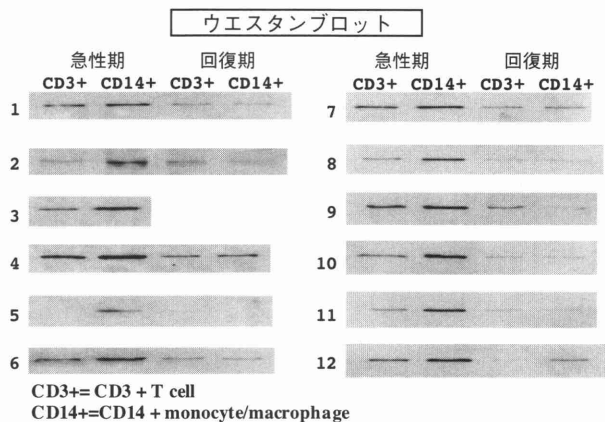


図4 川崎病におけるCD14+単球/マクロファージ, CD3+Tリンパ球のNF- κ B活性化

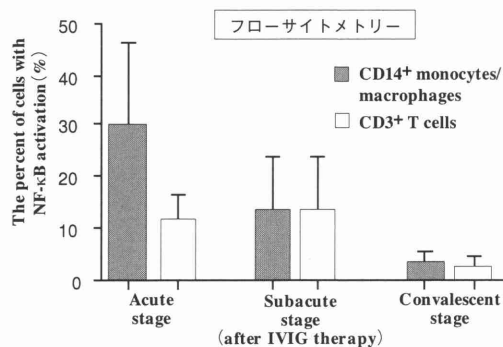


図5 川崎病におけるCD14+単球/マクロファージ, CD3+Tリンパ球のNF- κ B活性化率とIVIG療法

著明に抑制された *in vivo* の成績を反映した。

V. 免疫グロブリン受容体Fc γ Rの面から

ついで免疫グロブリンIgG受容体Fc γ Rの面から検討した。単球/マクロファージには activation receptor としてFc γ RⅢが存在し, U-937では10~15%, ヒト末梢血CD14+単球/マクロファージでは10~20%発現する。最近 inhibitory receptor としてFc γ RⅡbの存在が報告され, マウスではマクロファージの貪食能を抑制し, IVIG投与で増加することが知られている⁸⁾。U-937, ヒト末梢血CD14+単球/マクロファージにおけるFc γ RⅡb発現はいずれも数%である。

1) 臨床での検討

単球/マクロファージのサブポピュレーション

ウエスタンブロット

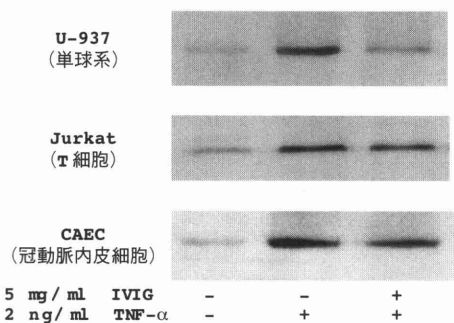


図6 TNF- α 刺激によるNF- κ B活性化に対するIVIGの効果

ンであるCD14+CD16+(Fc γ RⅢ)単球/マクロファージは炎症に強く関与するサブポピュレーションである。川崎病では急性期に末梢血CD14+CD16+(Fc γ RⅢ)単球/マクロファージの増加がみられ, その増加は重症度と相関し, IVIG投与後低下した(図8, 表2)⁹⁾。しかし, IVIG投与によるinhibitory receptor Fc γ RⅡbの増加はみられなかった¹⁰⁾。

2) 培養細胞, 正常ヒト末梢血での検討⁶⁾⁷⁾

- ① IVIGはヒト末梢血CD14+単球/マクロファージにおけるFc γ RⅢの発現を濃度依存的に抑制した。しかしFc γ RⅡbの発現増加はみられなかった(図9)。
- ② IVIGの投与によりU-937およびヒト末梢血CD14+単球/マクロファージにおけるFc γ RⅢの発現が一過性に抑制された。しか

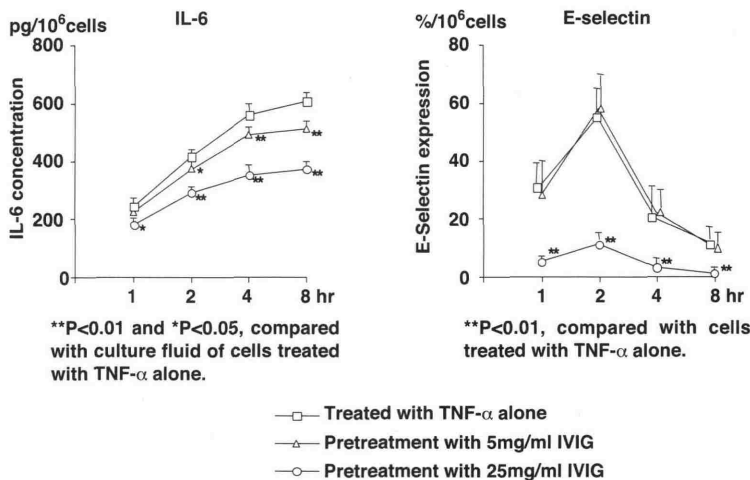


図7 TNF- α 刺激による IL-6 産生および E-selectin 発現に対する IVIG の効果 (冠動脈内皮細胞を用いて)

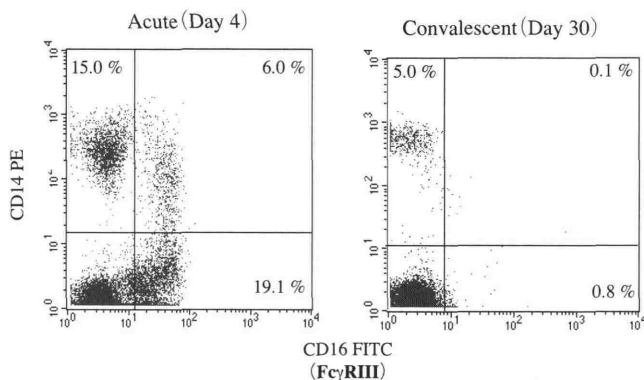


図8 川崎病 (1歳男児) における CD14+ 単球/マクロファージのサブポプレーション

表2 川崎病における CD14+CD16+ (Fc γ R III) 単球/マクロファージと IVIG 療法

CD14+ 単球/マクロファージにおける Fc γ R III (CD16) の変化		
n=28	IVIG	
	Before	After
CD14+CD16+ cells among CD14+ cells (%)	21.6 $\pm$ 12.5	6.6 $\pm$ 6.8**
CD14+CD16+ cells (/μl)	155 $\pm$ 132	35 $\pm$ 32**

**p<0.01

し Fc γ RIIb の発現増加はみられなかった。

③ ウエスタンブロットおよび RT-PCR による解析では, IVIG は Fc γ R III の発現量に影響を与えなかった。

以上のことから, IVIG は単球/マクロファ-

ージの activation receptor Fc γ R III を一過性に block することが示唆され, 臨床でみられた IVIG 投与後末梢血 CD14+CD16+ (Fc γ R III) 単球/マクロファージが低下した *in vivo* の成績を反映した。

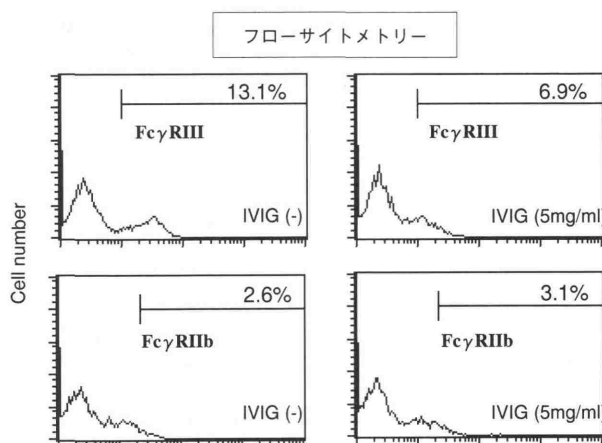


図9 FcγRIII, FcγRIIb発現に対するIVIGの効果 (U-937細胞を用いて)

Ⅵ. ま と め

川崎病の末梢血免疫担当細胞の動態は複雑である。特に末梢血Tリンパ球は一部活性化がみられるが、全体として数的には減少する。末梢血単球/マクロファージの活性化は、免疫電顕、転写因子NF- κ B, 免疫グロブリン受容体FcγRIIIの解析から明らかである。

IVIGの単球/マクロファージに対する抗炎症作用機序として、NF- κ B活性化の抑制, activation receptor FcγRIIIの発現低下を、また冠動脈内皮細胞におけるIL-6産生, E-selection発現の抑制を明らかにした。

Ⅶ. 今後の展望

教室ではIVIGの抗炎症作用についてステロイド薬との比較検討を行っており、免疫担当細胞(単球/マクロファージ, Tリンパ球, CAEC)によってIVIG, ステロイド薬のNF- κ B活性化およびactivation receptor FcγRIII発現に対する抑制効果が異なるなど、新しい知見が得られつつある。またIVIG不応例については、IgGのアロタイプの解析が重要で、現在検討中である。

最近、TNF- α 阻害剤(抗TNF- α 抗体, 可溶性TNF receptor type II)がリウマチ疾患に使われるようになり、川崎病でもIVIG不応例に試用された¹¹⁾。教室でもTNF- α 阻害剤についての基礎的検討を行い、川崎病治療薬として期待できる可能性を報告した¹²⁾。しかし、これら

の薬剤については、心不全の悪化因子と関連するとの報告もみられる¹³⁾¹⁴⁾。TNF- α 阻害剤については有効性と心不全などの副作用を考慮し、慎重に対応すべきである。

文 献

- 1) Matsubara T, Ichiyama T, Furukawa S: Immunological profile of peripheral blood lymphocytes and monocytes/macrophages in Kawasaki disease. Clin Exp Immunol 2005; 141: 381-387.
- 2) Furukawa S, Matsubara T, Yabuta K: Mononuclear cell subsets and coronary artery lesions in Kawasaki disease. Arch Dis Child 1992; 67: 706-708.
- 3) Koga M, et al: Activation of peripheral blood monocytes and macrophages in Kawasaki disease: ultrastructural and immunocytochemical investigation. Pathol Int 1998; 48: 512-517.
- 4) Ariga S, et al: Maturation of macrophages from peripheral blood monocytes in Kawasaki disease: immunocytochemical and immunoelectron microscopic study. Pathol Int 2001; 51: 257-263.
- 5) Ichiyama T, et al: NF- κ B activation in peripheral blood monocytes/macrophages and T cells during acute Kawasaki disease. Clin Immunol 2001; 99: 373-377.
- 6) Ichiyama T, et al: Intravenous immunoglobulin inhibits NF- κ B activation and affects Fcγ receptor expression in monocytes/macrophages. Naunyn

- Schmiedeberg's Arch Pharmacol 2004 ; 369 : 428-433.
- 7) Ichiyama T, et al : An Immunoglobulin agent (IVIG) inhibits NF- κ B activation in cultured endothelial cells of coronary arteries *in vitro*. Inflamm Res 2004 ; 53 : 253-256.
 - 8) Samuelsson A, Towers TL, Ravetch JV : Anti-inflammatory activity of IVIG mediated through the inhibitory Fc receptor. Science 2001 ; 291 : 484-486.
 - 9) Katayama K, et al : CD14 + CD16 + monocyte subpopulation in Kawasaki disease. Clin Exp Immunol 2000 ; 121 : 566-570.
 - 10) Ichiyama T, et al : Intravenous immunoglobulin does not increase Fc γ RIIB expression on monocytes/macrophages during acute Kawasaki disease. Rheumatology 2005 ; 44 : 314-317.
 - 11) Burns JC, et al : Infliximab treatment for refractory Kawasaki syndrome. J Pediatr 2005 ; 146 : 662-667.
 - 12) Ueno Y, et al : The effect of tumor necrosis factor modulators on nuclear factor- κ B activation in cultured endothelial cells of coronary arteries and monocytes/macrophages *in vitro*. Abstracts, Eight international Kawasaki disease symposium, San Diego, CA, Feb 2005 ; 17-20.
 - 13) Chung ES, et al : Randomized, double-blind, placebo-controlled, pilot trial of infliximab, a chimeric monoclonal antibody to tumor necrosis factor- α , in patients with moderate-to-severe heart failure : results of the anti-TNF therapy against congestive heart failure (ATTACH) trial. Circulation 2003 ; 107 : 3133-3140.
 - 14) Kwon HJ, et al : Case reports of heart failure after therapy with a tumor necrosis factor antagonist. Ann Intern Med 2003 ; 138 : 807-811.