

## 論文の内容の要旨

論文提出者氏名	蜂谷 明
論文審査担当者	主 査 中沢 洋三 副 査 桑原 宏一郎 ・ 竹下 敏一
論文題目	<b>Analysis of biomarker serum levels in IVIG and infliximab refractory Kawasaki disease patients</b> (大量免疫グロブリン療法およびインフリキシマブ療法に不応である川崎病患者における血清バイオマーカーの解析)
(論文の内容の要旨)	<p>[背景]</p> <p>川崎病 (KD) は乳幼児期に発症する原因不明の全身性急性炎症性血管炎である。特に冠動脈の炎症が強く、冠動脈瘤を合併した場合は、心筋梗塞や狭心症、冠動脈破裂などの生命予後に関わる後天性心疾患を引き起こす。大量免疫グロブリン療法 (IVIG) は KD の炎症を抑制し、KD に対する第一選択の治療であるが、IVIG の不応例が 15-20%存在し、冠動脈瘤合併リスクが高い。近年、抗腫瘍壊死因子 (TNF) -<math>\alpha</math> 阻害薬であるインフリキシマブ (IFX) の IVIG 不応の難治性 KD 患者における有効性が報告された。しかし、IFX 療法の KD の病態に関与するサイトカインへの影響および治療反応性を予測するバイオマーカーは報告されていない。</p> <p>[目的]</p> <p>① IVIG 不応 KD 患者に対して IFX 投与を行い、IFX 治療前後の KD の炎症に関係するサイトカインを同定すること。 ② IFX 有効例と不応例について比較検討し、IFX の有効性を推定できるバイオマーカーを同定すること。</p> <p>[対象と方法]</p> <p>2007 年 7 月から 2015 年 4 月に信州大学病院において IFX 治療を行った IVIG2 回不応 KD 患者 29 名 (女児 12 名、男児 17 名、平均年齢 37 ヶ月) を対象とした。IFX 治療後 24 時間以内に解熱 (体温 37.5<math>^{\circ}</math>C 未満) した患者を IFX 有効例 (n = 13) とした。24 時間以上持続する発熱 (体温 &gt; 37.5<math>^{\circ}</math>C) または 24 時間以内に解熱後、KD 症状に伴う再発熱を示す患者を不応例 (n = 16) とした。患者の KD 発症年齢、KD 症状、IFX 投与前後の WBC 数、好中球数、血清中の CRP、AST、ALT、LDH 等の情報は診療録から収集した。血清サイトカインについては以下の項目について測定した。IL-6、IL-8、IL-10、IL-17A、IFN-<math>\gamma</math>、TNF-<math>\alpha</math>、G-CSF、IP-10、MIG、MCP-1 を BDTM Cytometric Bead Array により測定した。データは、BD Cytometric Bead Array ソフトウェアを用いて分析した。sTNFR1、sTNFR2、IL-18 を ELISA により測定した。</p> <p>[結果]</p> <p>① IVIG2 回不応 KD 患者における疾患活動期のサイトカインプロファイルを知るために血清サイトカインを測定した。IFX 投与前の IL-6、IL-18、G-CSF、IP-10、MIG、MCP-1、sTNFR1、sTNFR2 は健常群と比べて高値であった。IFN-<math>\gamma</math> および IL-1<math>\beta</math> は一部の患者でのみ上昇していた。IL-8、IL-10、IL-17A および TNF-<math>\alpha</math> は健常群と差がなかった。</p> <p>② IFX 治療のサイトカインへの作用を知るために IFX 投与前と投与後の血清サイトカインを比較した。IFX 投与前に比し、投与後には IL-6、G-CSF、IP-10、MIG、MCP-1、sTNFR1、sTNFR2 は有意に低下した (すべて p &lt; 0.0001)。IL-18 のみ有意な減少を認めなかった (p = 0.66)。一部の患者で認められた IFN-<math>\gamma</math> および IL-1<math>\beta</math> 高値も IFX 治療後に健常群と同レベルに低下した。</p>

- ③ IFX 不応例の予測マーカーを検討するため、有効例と不応例の 2 群間で比較した。KD 発症年齢、KD 症状、IFX 投与前における WBC 数、好中球数、血清中の CRP、AST、ALT、LDH について、有効群と不応例との間に明らかな差異はなかった。IFX 投与前、不応例の G-CSF と sTNFR1 は有効例と比べて有意に高値であった ( $p = 0.002$ ,  $p = 0.0129$ )。その他のサイトカインについては差を認めなかった。
- ④ IFX 不応例における IFX 投与後のサイトカインプロファイルの特徴について IFX 有効例と健常群を比較検討した。有効例と不応例の IL-6、IP-10、MIG、MCP-1、sTNFR2 は健常群の血清レベルまで低下した。不応例における G-CSF、sTNFR1 は IFX 投与後に低下したが、有効例と比べて高値 ( $p = 0.01$ ,  $p = 0.0069$ ) であり、健常群と比べても高値 ( $p = 0.0011$ ,  $p = 0.0024$ ) であった。臨床検査結果では、好中球数のみ不応例が有効例よりも有意に高かった (中央値、範囲：有効例  $3.7$ ,  $[5.1-2.3] \times 10^3 / \mu\text{l}$ 、不応例  $8.9$ ,  $[10.7-7.6] \times 10^3 / \mu\text{l}$ ;  $p = 0.0056$ )。

〔考察〕

本研究では、IVIG 治療に不応であった KD 患者において、血清 IL-6、IL-18、G-CSF、MIG、MCP-1、IP-10、sTNFR1、sTNFR2 の発現が増加することが明らかになった。IFX 投与後は IL-18 を除く全てのサイトカインが有意に減少した。IFX が炎症性サイトカインを抑制することが明らかとなった。

IFX 治療前において不応例の sTNFR1 および G-CSF は有効例より有意に高く、IFX に対する治療不応性を予測するバイオマーカーとなり得ることを示している。

sTNFR1 は、ヒト細胞上に普遍的に発現し、TNF- $\alpha$  を含む様々な刺激に応答して開口し、選択的スプライシングを介して循環系に放出される。KD 患者では TNF- $\alpha$  と sTNFR1 との間に正の相関が報告されている。血清 TNF- $\alpha$  は代謝が早く検出することが困難であるが、sTNFR1 は IFX 治療のターゲットである TNF- $\alpha$  値を反映している可能性がある。

G-CSF は、顆粒球系前駆細胞の増殖、分化および生存に関与する炎症性サイトカインである。KD の病態に好中球性炎症は重要な役割を果たしており、G-CSF は直接的に関与している。G-CSF は KD において好中球性炎症の鋭敏な指標と考えられた。

IFX 治療後では、不応例の G-CSF および sTNFR1 は IFX 治療により改善しているが健常人のレベルまでは低下しておらず、現在の投与量では、サイトカインの抑制効果不十分であることが示唆された。今回の研究から、IFX 治療前の TNF- $\alpha$  と sTNFR1 高値の症例には IFX を増量する、または、1 回目の治療不応例には再投与することにより KD の炎症を抑制できる可能性が示唆された。