

私の歩んだ研究の道とそこからの教訓③④

私の歩んだ小児疾患研究の道と
そこからの教訓

原 寿 郎*

私はもともと医学研究を志して九州大学医学部に入学した。1977年に卒業後、当時血液と免疫に興味を持っていたため、合屋長英教授の小児科学教室に入り小児科医としてのキャリアをスタートした。小児医学研究をするため、大学院では九州大学生体防御医学研究所生化学部門で学んだ。学位取得後1983年から2年間アメリカでR. A. Good教授とShu Man Fu教授のもとで、ヒト免疫学、とくにT細胞の活性化に関する研究を行い、これがその後の小児科学研究の基礎になった。

教訓1：若い時の苦労は買ってでもせよ

アメリカ留学中、研究のアイデアは自分で出し自主的に研究を進めていたため、研究結果が楽しみであり、研究が辛かった記憶はない。2年間という短い期間ではあったが、教授の指導のおかげで多くの論文を一流ジャーナルに発表することができた。若い頃に培ったさまざまな生化学的・免疫学的知識や経験が、後の研究の発案に大いに役立った。またその後、鳥取大学の竹下研三教授のもとで、発達障害や遺伝学についても学んだ。

教訓2：熱意を持ち楽しく研究すること

1996年、九州大学に教授として赴任した当時、九州大学の小児科学教室では基礎的な研究は大学院生が基礎医学の研究室で行っていた。教室内で小児疾患に関する基礎研究ができるように、大型研究費を獲得し設備を整え、免疫研究室、ゲノム研究室、脳研究室などを設置した。その後、教室の井原（現大分大学教授）、石井（前愛媛大学教



図1 Good教授との面談

授)、高田（現筑波大学教授）医師らと先天性無巨核球性血小板減少の原因遺伝子を世界で初めて同定することができた（Ihara K, et al: Proc Natl Acad Sci USA, 1999）。

教訓3：原因不明の疾患の病態・病因は、新しい疾患概念や新規解析法によって解明される

20世紀の免疫学研究はもっぱら獲得免疫に焦点が当てられていた。しかし、1990年代後半から21世紀にかけてToll様受容体（TLRs）やNod様受容体（NLRs）など自然免疫の分子機構が解明されてきた。また、1999年『Cell』誌にAutoinflammatory diseaseという新しい疾患概念が報告され、教室も2000年以降、自然免疫疾患の研究に重

* 令和健康科学大学副学長 / 九州大学名誉教授 / 福岡市立こども病院名誉院長

点をシフトした。その一環として取り組んだ川崎病研究のお話をする。

川崎病は1967年の報告以来50年以上経過したが、いまだ原因は明確ではない。川崎病の発症には個体要因（年齢、性、遺伝要因など）と環境要因（感染因子、環境汚染など）が関与している。川崎病の疫学的特徴として、季節性を有し、流行や地域集積性があること、乳児期後期が患者数のピークで5歳未満が大半を占めることなどから、環境要因では特に感染因子の関与が示唆されている。溶連菌感染による猩紅熱やトキショック症候群との類似性から、スーパー抗原が川崎病に関与している可能性についても研究された。私自身、米国でT細胞の活性化機構を研究していたこともあり、帰国後ただちに多数の川崎病患者のT細胞活性化を調べた。大部分の川崎病患者で特定のT細胞受容体を持つ $\alpha\beta$ T細胞の活性化はみられなかったため、スーパー抗原によるT細胞の活性化は川崎病の発症にとって必要条件ではないと考えられた。しかし、米国では当時から川崎病はT細胞疾患という概念であった。

川崎病患者末梢血の免疫学的・分子生物学的解析を行うと、自然免疫細胞（ $\gamma\delta$ T細胞、NK細胞など）の活性化と自然免疫関連分子の遺伝子発現の亢進が確認された（Ikeda K, et al: Clin Exp Immunol, 2010, Hara T, et al: Clin Exp Immunol, 2016）。当時、米国の研究者の中には、活性化したT細胞がただちに局所に移動するため、末梢血では減少しているとする説を唱える研究者もいたが、日本の川崎病患者の急性期剖検例では、冠動脈の浸潤細胞は主にマクロファージと好中球であることが病理学的に示されており、その説は否定的である。

教訓4：十分な実験データと文献検索に基づいて仮説を検証，“運”があれば成功する

川崎病の病因・病態には自然免疫が重要な役割を果たしていると確信し、2007年のある日曜日、自宅で文献検索を行い、次の実験計画を立てようとしていた。その際、自然免疫受容体リガンドが直接血管拡張に作用するという論文を発見し、さまざまな自然免疫受容体リガンドをマウスに投与

して、血管炎を直接誘発できるかどうかを検討することにした。すると自然免疫受容体Nod1のリガンドであるFK565（合成アシルトリペプチド、分子量502.6）をマウスに皮下注射または経口投与することにより川崎病と病理所見が同一の冠動脈炎を100%誘発することを見いだした（Nishio H, et al: ATVB, 2011）。ここから新しい小児血管免疫学研究が始まった。このときTLR, Nod1, Nod2のリガンドを使用し、かつNod1リガンドではFK565を使用したのが“幸運”であった。他のNod1リガンドのiE-DAPなどを使用していたら作用が弱く、マウスで血管炎を誘発できなかった。さらなる解析で、単球と血管組織のNod1受容体の重要性が明らかになった（Motomura Y, et al: ATVB, 2015）。

三つの主要川崎病モデルマウスでは、細菌、ウイルスなど微生物そのものでなく微生物由来の病原体関連分子パターン（pathogen associated molecular patterns; PAMPs）や自己細胞の産物からのダメージ関連分子パターン（damage-associated molecular patterns; DAMPs）という特定の分子パターンが、自然免疫パターン認識受容体などにより認識され、血管の炎症を惹起することが明らかになった（Hara T, et al: Clin Transl Immunol, 2021）。特に抗DAMP（high mobility group box 1; HMGB1）抗体により川崎病マウスモデルで血管炎の発症が抑制されることから、抗DAMPs抗体はウイルス、細菌や真菌などPAMPsの種類に関係なく川崎病発症や再発を抑制する可能性があることが示された。

また、Nod1リガンドをマウスに少量持続投与すると動脈の内膜の肥厚から閉塞が起こり死亡する（図2：Nishio H, et al: 未発表データ）。この三つの主要川崎病モデルマウスでは、それぞれのリガンドを少量投与することにより動脈硬化を誘発すること（Kanno S, et al: J Immunol, 2015）からも、川崎病と動脈硬化の病態の類似性が示唆される。

教訓5：予想と外れた結果に宝がある

2015年に福岡市立こども病院に異動し、川崎病センターと臨床研究部を設立した。これにより、

川崎病の包括的でより良い治療と研究を行う体制が整った。私が在任中、福岡市立こども病院は川崎病の入院治療患者数で日本一を誇り、これは厚生労働省のDPC公開データにも反映されている。

川崎病患者のクラスターごとの血清を収集し、液体クロマトグラフィー/質量分析 (LC-MS) を用いた網羅的リポドミクス解析で、川崎病関連の原因物質として PAMPs を探索した。とくに冠動脈炎の原因分子特定のため、治療前から冠動脈病変が認められた3つのクラスターの川崎病患者血清を対象に検討を進めた。検出された分子を LC-MS/MS 解析で分子構造を同定すると、予想外に PAMPs ではなく、酸化リン脂質である oxidized phosphatidylcholine, すなわち DAMP であることが判明した (Nakashima Y, et al: Cardiovasc Res, 2019 Epub). この論文を書いた2019年当時は、私自身まだ川崎病における DAMPs の重要性は十分理解できていなかった。

川崎病に関連する DAMPs としては、heat shock protein (HSP), high mobility group box 1 (HMGB1),

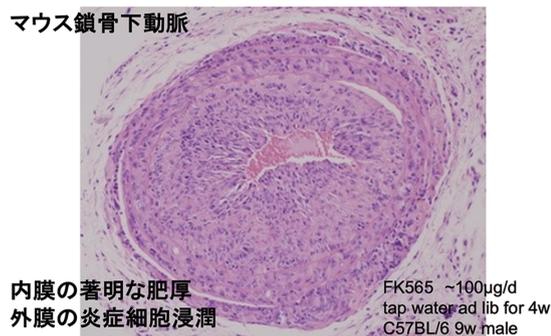


図2 Nod1 リガンドの少量経口持続投与

S100 蛋白質, 酸化リン脂質などがある。酸化リン脂質などは、単球, 血小板, 血管内皮細胞, 血管平滑筋細胞に多様な影響を及ぼし, 酸化 low density lipoprotein (LDL) とともに血管炎や動脈硬化などに関与している。酸化リン脂質/酸化 LDL は DAMPs として自然免疫細胞を活性化し, パイロトーシスなどの細胞死, 炎症, 白血球接着, 酸化ストレスの惹起などを誘発する。一方で, 獲得免疫系を抑制し, T 細胞のアネルギー, 制御性 T 細胞の減少などを引き起こし, 川崎病患者の免疫病態を説明することが可能である。

川崎病の発症に関連するとされる微生物は多岐にわたり, 細菌やウイルスが多数報告されている。川崎病の症状はクラスター依存性があり, クラスターごとに微生物/PAMPs (病原体関連分子パターン) が異なる可能性が示唆されている。患者血液のオミックス解析からも, 微生物/PAMPs の多様性が推定されている。例えば, SARS-CoV-2 感染症は, まれではあるが再現性高く川崎病症状を引き起こすことが知られている (欧米では 300~6,000 人に 1 人)。また, エルシニア (*Yersinia pseudotuberculosis*) 感染症では 12~35% の患者が川崎病様の症状を呈する。これらのことから, 感染症などが炎症誘発性細胞死 (パイロトーシス, ネクロトーシスなど) を引き起こし, それに由来する DAMPs が川崎病の発症に重要な役割を果たしていると考えられる (Hara T, et al: Clin Transl Immunol, 2021)。

ヒトは感染症から PAMPs だけを生体内で免疫細胞などが検出した場合, その病原体はそれほど危険ではないと判定し強い免疫反応を示さない。しかし, PAMPs と細胞・組織傷害から放出される

表 川崎病/動脈硬化モデルマウス

Triggers	冠動脈炎・大動脈炎	動脈硬化
NOD1 ligand Pure PAMP	Induction of coronary arteritis and aortitis Nishio H, et al. 2011	Induction of atherosclerosis Kanno S, et al. J Immunol, 2015
LCWE Crude PAMPs	Induction of coronary arteritis and aortitis Wakita D, et al. ATVB, 2016	Induction of atherosclerosis Chen S, et al. ATVB, 2012
CAWS Crude PAMPs	Induction of coronary arteritis and aortitis Hirata N, et al. Yakugaku Zasshi, 2006	Induction of atherosclerosis Motoji Y, Fukazawa R, et al. Biomedicines 2022

LCWE : *Lactobacillus casei* cell wall extract, CAWS : *Candida albicans* water-soluble fraction

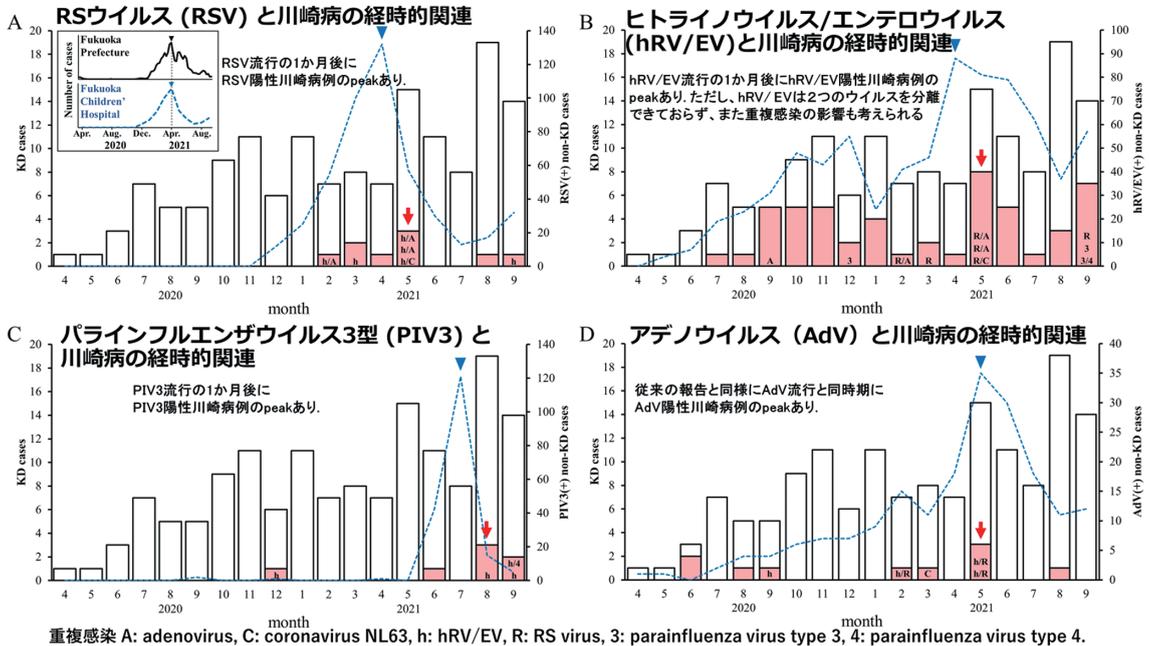


図3 各ウイルスの流行と川崎病発症との分子疫学的検討

白バー：月ごと川崎病患者数，ピンク領域：各ウイルスPCR陽性川崎病患者数，矢（赤）：そのピーク，点線（青）：各ウイルス陽性非川崎病患者数，矢頭（青）：そのピーク

(Marutani K, et al: Respiratory viral infections and Kawasaki disease: A molecular epidemiological analysis. J Microbiol Immunol Infect, 2024 Jul 14 より引用)

DAMPsを同時に検出した場合，生体にとって脅威とみなし強い免疫反応を惹起するため (Zhivaki D, et al: Nat Rev Immunol, 2022)，川崎病のような病態が起きると考えられる。実際，われわれは血中PAMPs, DAMPsによる生体反応を利用した川崎病迅速診断法を開発し (Inada Y, et al: Clin Transl Immunol, 2023)，治療方針の決定に有用であった。

2023年のフランスの疫学研究で川崎病の約35%は季節性感染症に起因する可能性が報告されている。われわれを含めた多くの研究 (Hara T, et al: JAMA Network Open, 2021)でも，COVID-19緊急事態宣言下で川崎病の発症率が半減しなかったことが確認された。減少した30~50%は季節性感染症に起因する可能性がある。

小児多系統炎症性症候群 (MIS-C) の川崎病様症状の発症は，SARS-CoV-2感染から約1か月後にみられることが知られている。また，韓国，チリ，アメリカなどでは，川崎病と季節性感染症 (RS

ウイルス，ライノウイルス，ロタウイルス，ノロウイルス，ヒトメタニューモウイルス，インフルエンザなど)との間に1~2か月の発症の遅れが疫学的に確認されている。今回のわれわれの個々の症例の分子疫学的検討により，川崎病とRSウイルス，ヒトライノウイルス/エンテロウイルス，パラインフルエンザウイルス3型との間に1か月のタイムラグがみられた (図3)。一方，アデノウイルスにおいては，従来の報告と一致して，川崎病と感染は同時発症であった (図3)。福岡地区でのRSウイルスの大流行にもかかわらず，ピーク時でもRSウイルスと関連する川崎病が当院で3例であったことから，おそらくRSウイルスに1000人罹患しても川崎病発症は1人以下の低い誘発頻度と推定される。

教訓3'：原因不明の疾患の病態・病因は新規解析方法とそのタイミングで解明される

この研究結果は，COVID-19感染予防のために

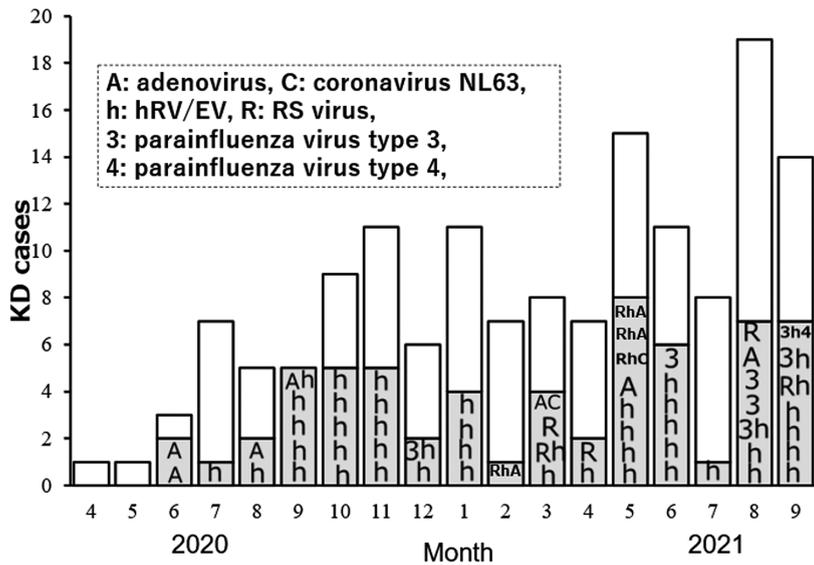


図4 各月のRSV, PIV3, hRV/EV, AdV陽性川崎病の占有状況

すべての患者にFilmArray[®]呼吸器パネル（multiplex PCR：1か月前に罹患したウイルスの核酸の遺残も検出可能）という新しい解析方法を用いて感染症の有無を調査したこと、そしてCOVID-19後にRSウイルスなどのさまざまな感染症が大流行したことによって明らかになった。従来から観察されていた川崎病の症状のクラスター依存性や、オミックス解析による微生物/PAMPsの多様性の観察とも一致するデータである。4つの図を1つにまとめたのが（図4）である。何らかのウイルスが検出されたのは、川崎病148例中62例（42%）で各月での関連微生物の多様性を示している。

川崎病に関連する細菌やウイルスが多数報告されてきたが、抗体保有率やワクチン接種率が異なる地域や国ごとに、川崎病の原因として検出される病原体が異なるのは当然のことであろう。感染症などで引き起こされる炎症誘発性細胞死（パイロトーシス、ネクロトーシスなど）、これにより発生するDAMPsは、さらなる血管内皮細胞などの炎

症誘発性細胞死を引き起こすとされている。したがって、炎症誘発性細胞死-DAMPsという“血管炎症増幅ループ（ポジティブフィードバックループ）”が川崎病の発症に重要な役割を果たしている可能性がある（Hara T, et al: Clin Transl Immunol, 2021）。また、川崎病発症における炎症誘発性細胞死-DAMPsの重要性を考えると、多くの感染症のワクチンは川崎病発症において直接的な関連がないこと（Murata K, et al: Vaccines, 2021）は理解しやすい。今後、川崎病の病因・病態のさらなる解明が期待される。

P.S. 2024年10月の日本川崎病学会で、川崎病の発生頻度が低い米国の基礎研究者は、川崎病の原因を単一の病原体であると想定していた。一方、日本、韓国、台湾など、川崎病の発生頻度が高い地域の臨床医の多くは、さまざまな感染症の流行後に川崎病患者の増加を観察しており、川崎病の原因は単一の病原体では説明できないと考えている。