

## ミニ・レビュー —中村賞受賞者—

川崎病新規バイオマーカーおよび治療標的としての  
インターロイキン33/ST2系

岡田清吾

山口大学医学部附属病院 総合周産期母子医療センター (小児科) 宇部市南小串1丁目1-1 (〒755-8505)

Key words : 冠動脈病変, 血管炎, 自然免疫, ダメージ関連分子パターン, alarmin

## 和文抄録

川崎病は主に4歳未満の乳幼児に好発する原因不明の全身性血管炎である。川崎病では冠動脈に最も強い炎症が生じ、冠動脈病変 (coronary artery lesions : CAL) を合併する。CAL合併川崎病患者は心筋梗塞や瘤破裂などの危険性があり、若年突然死の原因となる。近年、川崎病発症に自然免疫の異常が関与しているという自然免疫説が注目されている。インターロイキン (IL) -33はIL-1ファミリーに属するサイトカインで、通常は核内に局在しているが組織傷害にともない細胞外に放出される。放出されたIL-33は膜貫通型受容体ST2Lを発現する細胞を活性化するalarminとしての機能を持ち、IL-33/ST2系は自然免疫制御機構の一つとして機能している。筆者らは川崎病冠動脈炎およびCAL発症にIL-33/ST2系が関与しているのではないかという仮説を立て、川崎病患者血清および冠動脈細胞を用いた解析を行った。治療前の患者血清を用いた解析では、IL-33の可溶性受容体であるsST2濃度がCAL合併群において有意に高値であった。また、培養ヒト冠動脈内皮細胞 (HCAEC) を用いた実験では、IL-33刺激濃度依存性に上清中の炎症性サイトカイン濃度が上昇した。特筆すべきことに、従来川崎病リーディングサイトカインとされてきたtumor necrosis factor- $\alpha$ に比し、IL-33による刺激はHCAECからのより強い炎症性サイトカイン産生を惹起した。これ

らの結果から、川崎病冠動脈炎においてIL-33/ST2系は新たなバイオマーカーおよび治療標的となり得る可能性が示唆された。

## 1. はじめに

川崎病は主に4歳以下の乳幼児に好発する原因不明の全身性血管炎である<sup>1-5)</sup>。全身性血管炎を反映し、①発熱、②両側眼球結膜の充血、③口唇の紅潮・いちご舌・口腔咽頭粘膜のびまん性発赤、④発疹 (BCG接種痕の発赤を含む)、⑤四肢末端の変化 (急性期：手足の硬性浮腫、手掌足底または指趾先端の紅斑。回復期：指先からの膜様落屑)、および⑥急性期における非化膿性頸部リンパ節腫脹という6つの特徴的な臨床症状を呈する (図1a)<sup>6, 7)</sup>。川崎病の最大の問題点として、冠動脈に最も強い炎症が生じ、冠動脈病変 (coronary artery lesions : CAL) を合併することが挙げられる。CAL合併川崎病患者は心筋梗塞や瘤破裂などの危険性があり、若年突然死の原因となる。また生涯にわたり抗血小板薬・抗凝固薬の内服や生活活動制限が必要となり、クオリティ・オブ・ライフが著しく低下する。川崎病はself-limitingな疾患であるが、無治療では約半数の患者がCALを発症する。1984年にFurushoらが報告した免疫グロブリン静注 (intravenous immunoglobulin : IVIG) および経口アスピリン併用療法はCALの発症率を20%未満に減少させ、現在の標準治療となっている<sup>8)</sup>。しかしながら初回IVIGの奏効率は80%程度であり、今もなお約8%

の症例に急性期CALが認められる。2010年代からプレドニゾロン、抗ヒト腫瘍壊死因子 (tumor necrosis factor : TNF) - $\alpha$  モノクローナル抗体製剤 (インフリキシマブ : IFX)、シクロスポリン、血漿交換などの抗炎症療法が川崎病に対して新たに保険収載されたが、治療選択肢が増えたにも関わら

ず、近年のCAL合併率はほぼ横ばいである (図2)。そのため、新たな治療標的の探索および治療薬の創出が求められている。

川崎病が発見されてから55年以上が経過しているが、その原因はいまだに不明である。しかし近年、自然免疫系を介した川崎病発症メカニズムが注目さ

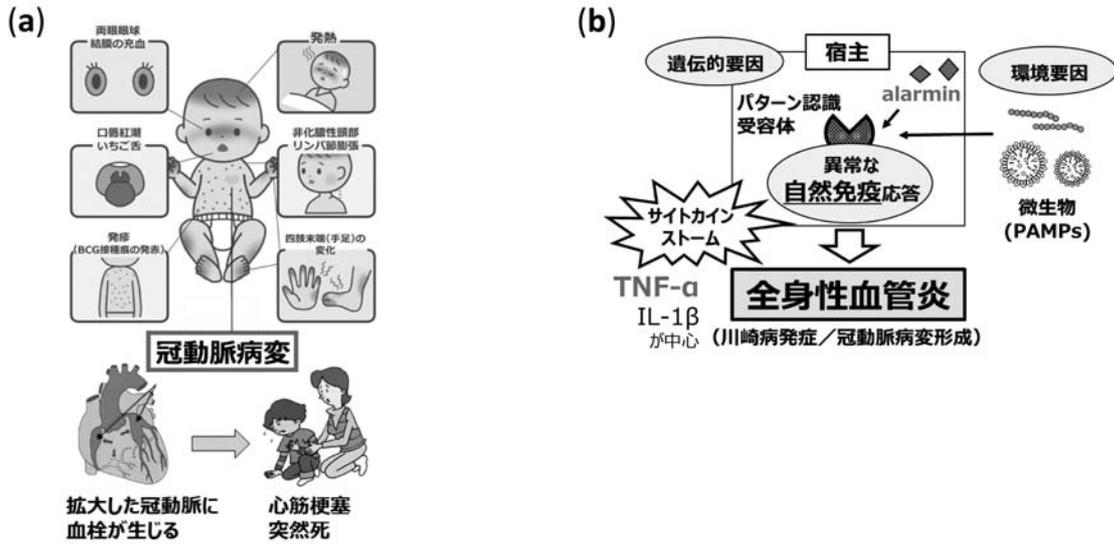


図1

(a) 川崎病の主要症状および合併症 (冠動脈病変)。全身性血管炎を反映し、①発熱、②両側眼球結膜の充血、③口唇の紅潮・いちご舌・口腔咽頭粘膜のびまん性発赤、④発疹 (BCG接種痕の発赤を含む)、⑤四肢末端の変化 (急性期：手足の硬性浮腫、手掌足底または指趾先端の紅斑、回復期：指先からの膜様落屑)、および⑥急性期における非化膿性頸部リンパ節腫脹という6つの特徴的な臨床症状を呈する。(b) 川崎病自然免疫説。微生物由来の病原体関連分子パターンや傷害細胞由来の分子がパターン認識受容体に作用し、TNF- $\alpha$ やIL-1 $\beta$ を中心としたサイトカインの過剰放出 (サイトカインストーム) が生じた結果、全身性血管炎が生じると考えられている。IL：インターロイキン、PAMPs：病原体関連分子パターン、TNF：腫瘍壊死因子。図はフリー素材 ([https://www.kango-roo.com/ki/image\\_1822/](https://www.kango-roo.com/ki/image_1822/)) および転載許可を得たもの ([http://www.jcvrf.jp/general/pdf\\_arekore/arekore\\_031.pdf](http://www.jcvrf.jp/general/pdf_arekore/arekore_031.pdf)) を使用。

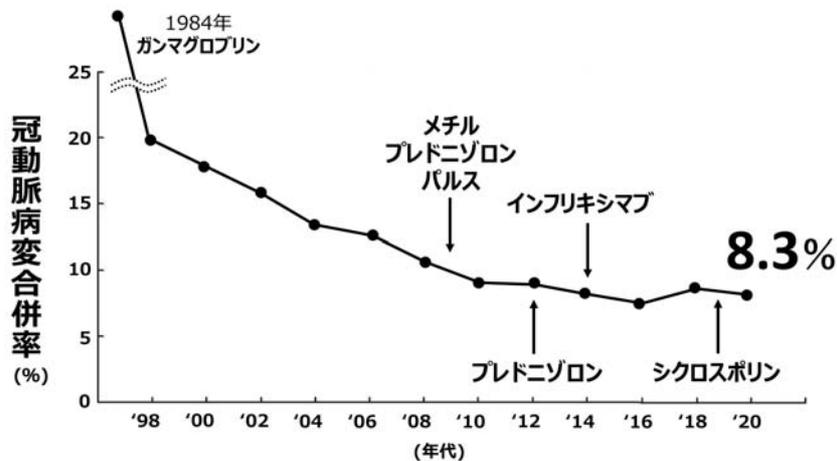


図2

冠動脈病変合併率の推移。新規治療薬が保険収載されたが、冠動脈病変の減少率はほぼ横ばいである。

れている（自然免疫説）。これは微生物由来の病原体関連分子パターン（pathogen-associated molecular patterns：PAMPs）や傷害細胞由来の分子（damage-associated molecular patterns：DAMPsまたはalarmin）がパターン認識受容体に作用し、TNF- $\alpha$ やインターロイキン（IL）-1 $\beta$ を中心としたサイトカインの過剰放出（サイトカインストーム）が生じた結果、全身性血管炎が生じるというものである（図1b）<sup>2, 5)</sup>。また、川崎病自然免疫説の裏付けとして、患者末梢血中でheat shock protein, high mobility group box 1, S100Aタンパク質、IL-33などのalarminが上昇していることが報告されている<sup>2, 9, 10)</sup>。

IL-33はIL-1ファミリーに属するサイトカインで、通常は核内に局在しているが組織傷害にともない細胞外に放出され、IL-33受容体を発現する細胞を活性化するalarminとしての機能をもつ。IL-33は川崎病急性期に病態の中心をなすマクロファージをM2マクロファージに分化させることが知られている<sup>11)</sup>。ST2LはIL-33の膜貫通型受容体であり、その分泌型である可溶性ST2（sST2）は冠動脈疾患や心筋炎における診断マーカーとして注目されている<sup>11, 12)</sup>。川崎病は全身性血管炎であると同時に汎心臓炎でもあり、約60%に心筋炎が生じ、弁逆流、刺激伝導系異常、あるいは心嚢液貯留などを合併する<sup>13)</sup>。申請者らは1) IL-33がalarminとして自然免疫機構を賦活化する機能を有すること、2) 急性期川崎病患者の末梢血ではM2マクロファージ優位の活性化がみとめられること<sup>14)</sup>、3) 川崎病は冠動脈疾患や心筋炎と類似した病態を呈すること、4) 川崎病患者末梢血においてIL-33の上昇が報告されていることから<sup>9, 10)</sup>、IL-33がTNF- $\alpha$ 以外の川崎病リーディングサイトカインとして中心的な役割を果たしているのではないかという着想を得た。本総説では、筆者らが川崎病患者血清およびヒト冠動脈細胞を用いて川崎病におけるIL-33/ST2系の関与を検討した研究内容について概説する<sup>15)</sup>。

## 2. 対象および方法

### 2. 1. 患者選択

2012年8月から2018年1月までに山口大学医学部附属病院小児科に入院した川崎病連続症例131例を

後方視的に検討した（院内倫理委員会承認番号：H28-047）（図3）。川崎病の診断は「川崎病診断の手引き」に基づき、6つの主要症状のうち5つ以上を有する完全型川崎病を対象とした<sup>7)</sup>。初回IVIG前の血清や画像データの得られなかった症例を除外し、最終的に70例の川崎病患者（男児47人、年齢中央値：25ヵ月〔範囲：1～121ヵ月〕）を対象とした。

### 2. 2. CALの定義および評価

左冠動脈主幹部、左前下行枝近位部、左回旋枝近位部、および右冠動脈近位部の内径を心エコーで測定した。冠動脈内径はZスコア化し重症度を評価した<sup>16)</sup>。心エコー検査は治療前、退院時、発症1ヵ月の時点で行った。発症1ヵ月の心エコーで冠動脈径のZスコアが+2.5以上の場合にCALと診断した<sup>3, 16)</sup>。

### 2. 3. 培養冠動脈細胞およびサイトカイン刺激

ヒト冠動脈内皮細胞（HCAEC）およびヒト冠動脈平滑筋細胞（HCASMC）はLonza社（Walkersville, MD, USA）から購入した。HCAECはEGM-2 BulletKit（Lonza）を用いて5%CO<sub>2</sub>・37℃の条件下で培養した<sup>17)</sup>。HCAECを24ウェルプレート

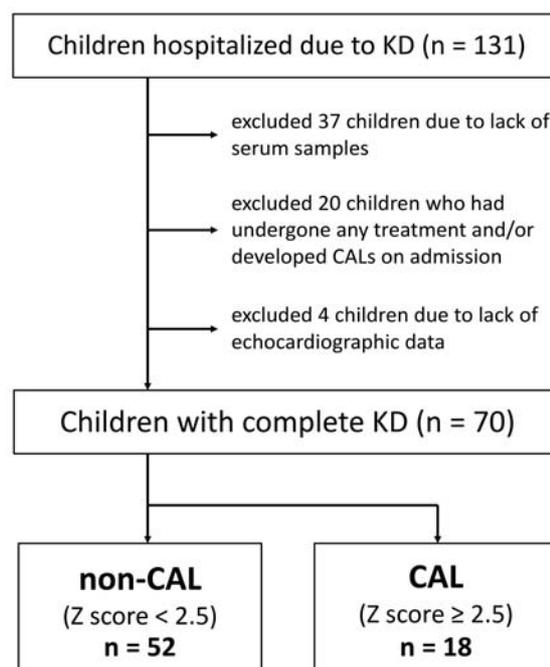


図3

患者選択のフローチャート。CAL：冠動脈病変，KD：川崎病。

( $4.0 \times 10^4$ 細胞/ウェル) に播種し24時間培養した後に、IL-33 (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) およびTNF- $\alpha$  (R&D Systems) で30分間刺激した。HCASMCはSmGM-2 BulletKit (Lonza) を用いて5% CO<sub>2</sub>・37°Cの条件下で培養した。HCASMCは24ウェルプレート ( $5.0 \times 10^4$ 細胞/ウェル) に播種し、24時間培養した後にTNF- $\alpha$  またはIL-1 $\beta$  (R&D Systems) で30分間刺激した。刺激後0, 4, 12, 24時間後の上清および細胞を回収し、-80°Cで保存した。

#### 2. 4. フローサイトメトリー解析

HCAECを6ウェルプレート ( $1 \times 10^5$ 細胞/ウェル) に播種した後IL-33およびTNF- $\alpha$ を用いて30分間刺激し、刺激後24時間後の時点で細胞を回収した。回収したHCAECをFITC標識抗ST2L抗体 (MBL, Woburn, MA, USA) で標識し、ST2Lの発現をフローサイトメトリー法で評価した。FITC標識マウスIgG1をアイソタイプコントロールとして用いた。フローサイトメーターはFACSCalibur (BD Biosciences, San Jose, CA, USA) を使用し、解析ソフトはCellQuest™ (BD Biosciences) を用いた。

#### 2. 5. サイトカインアッセイ

培養細胞上清中のsST2, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-33, および単球走化性促進因子 (MCP) -1の濃度を酵素

結合免疫吸着測定法 (enzyme-linked immunosorbent assay : ELISA) キット (R&D Systems) で測定した。sST2, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-33, およびMCP-1の検出限界は、それぞれ5.1pg/mL, <1.0pg/mL, 0.7pg/mL, 3.5pg/mL, 0.4pg/mL, および1.7pg/mLであった。

#### 2. 6. 統計解析

検定はStudent's t-test, Mann-Whitney U-test, 2×2カイ二乗検定を用いて解析した。すべての解析において、 $p$ 値<0.05の場合に統計学的有意差ありと判断した。解析ソフトはExcel Statistics for Windows, v.3.00 (BellCurve, Tokyo, Japan) を用いた。

### 3. 結果

#### 3. 1. CAL合併川崎病患者は血清中sST2高値を示す

対象患者における初回治療前の臨床的特徴を表1に示す。CAL合併例は18例 (26%) であった。両群間の比較では、血清中可溶性IL-2受容体濃度および尿中 $\beta$ 2-ミクログロブリン濃度において、CAL合併群が非合併群に比し有意に高値であった (それぞれ2,610IU/mL vs. 1,940IU/mL,  $p=0.023$ ; 6.33 mg/L vs. 0.38mg/L,  $p=0.013$ )。その他の評価項目に関して両群間に有意差は認めなかった。血清中sST2濃

表1 患者背景

	Total (n = 70)	non-CAL (n = 52)	CAL (n = 18)	P value
年齢, month	25 (1-121)	19 (1-88)	27 (3-121)	0.086
男児, n (%)	47 (67)	34 (65)	13 (72)	0.773
診断病日	5 (1-10)	5 (2-9)	4 (1-10)	0.322
最大Zスコア	2.1 (0.3-1.8-2.6-6.9)	2.1 (0.3-1.7-2.2-2.4)	2.9 (2.5-2.8-3.7-6.9)	<0.001
白血球数, $\times 10^9/L$	13.3 (5.1-25.8)	13.1 (5.1-25.8)	13.5 (9.2-21.9)	0.523
好中球数, $\times 10^9/L$	9.0 (0.2-18.8)	8.7 (0.2-18.2)	9.0 (5.6-18.8)	0.505
ヘモグロビン濃度, g/dL	11.5 (9.1-13.6)	11.5 (9.1-12.7)	11.1 (9.9-13.6)	0.526
血小板数, $\times 10^9/L$	363 (156-730)	364 (156-730)	355 (186-519)	0.537
アルブミン, mg/dL	3.5 (2.3-4.2)	3.5 (2.3-4.2)	3.6 (2.6-4.2)	0.538
総ビリルビン, mg/dL	0.6 (0.1-5.6)	0.5 (0.1-5.6)	0.8 (0.3-4.3)	0.077
AST, IU/L	35.5 (15-617)	35 (19-496)	39 (15-617)	0.546
ALT, IU/L	33 (7-518)	32 (7-394)	40 (8-518)	0.504
CRP, mg/dL	7.2 (0.9-23.0)	7.0 (0.9-17.0)	7.5 (2.1-23.0)	0.525
ナトリウム, mmol/L	134 (127-140)	134 (127-140)	133 (127-137)	0.143
IgG, mg/dL	723 (407-1,512)	733 (407-1,213)	659 (527-1,512)	0.523
可溶性IL-2受容体, IU/mL	2,069 (710-5,760)	1,940 (710-5,540)	2,610 (1,327-5,760)	0.023
脳性ナトリウム利尿ペプチド, pg/mL	26.6 (4.0-1,446.6)	24.7 (4.0-1,446.6)	42.3 (5.5-153.4)	0.500
尿中 $\beta$ 2ミクログロブリン, mg/L	1.04 (0.03-104.12)	0.38 (0.03-50.34)	6.33 (0.14-104.12)	0.013

数値は中央値 (範囲) または n (%)

CAL: 冠動脈病変

度はCAL合併群が非合併群に比し有意に高値であった (87.2ng/mL vs. 31.7ng/mL,  $p=0.017$ ) (図4)。

### 3. 2. IL-33はHCAECのST2L発現を誘導する

TNF- $\alpha$ は川崎病のリーディングサイトカインの一つであり<sup>18)</sup>、本実験ではHCAECにおけるST2L発現に関してIL-33およびTNF- $\alpha$ の影響を評価した。IL-33単独刺激による実験では、IL-33 100ng/mLの濃度でHCAECのST2L発現が増強した。IL-33濃度 0, 1, 10, 100ng/mL刺激での平均蛍光強度は、それぞれ31.3, 28.6, 29.2, および35.2であった(図5)。さらに、IL-33にTNF- $\alpha$  10ng/mLを加え共刺激を行うと、HCAECのST2L発現はIL-33単独刺激に比し増強した。TNF- $\alpha$ を加えたIL-33濃度 0, 1, 10, 100ng/mL刺激での平均蛍光強度は、それぞれ42.2, 38.7, 37.5, および39.0であった。

### 3. 3. IL-33はHCAECの炎症性サイトカイン産生を誘導する

筆者らは川崎病冠動脈炎増悪およびCAL発症にIL-33/ST2系が関与していると仮説を立て、HCAECにおけるサイトカイン産生にIL-33が及ぼす影響を評価した。図6に示すように、IL-33刺激濃

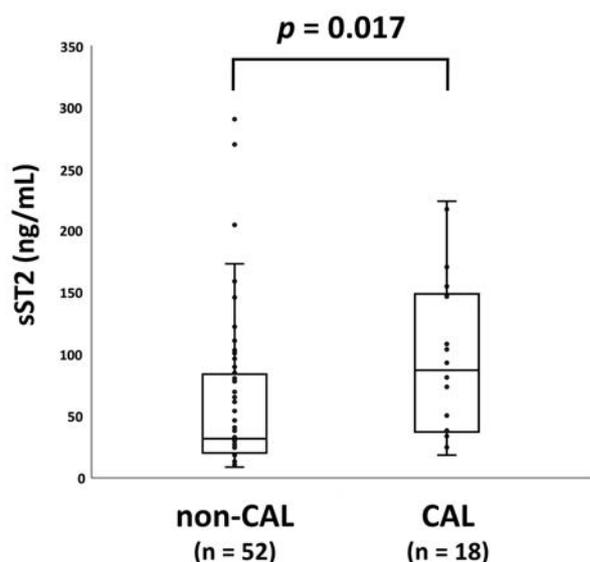


図4

初回治療前の川崎病患者における血清sST2レセプター濃度の比較。箱ひげ図は範囲、四分位範囲 (25-75パーセントイル)、および中央値を示す。ドットプロットは実測値を示す。CAL: 冠動脈病変, sST2: 可溶性ST2。

度依存性および時間依存性に培養細胞上清中のsST2, IL-6, IL-8, およびMCP-1の濃度が上昇した。さらに、IL-33およびTNF- $\alpha$ による共刺激を行うと、HCAECの炎症性サイトカイン産生がさらに増強した。注目すべき結果として、TNF- $\alpha$ 単独刺激に比し、IL-33単独刺激はHCAECからのIL-6産生を有意に増加させた (IL-33 10ng/mL [ $5.6 \times 10^{-12}$ M] は、TNF- $\alpha$  10 ng/mL [ $5.7 \times 10^{-12}$ M] による刺激に比し、刺激後12時間においてIL-6の産生を約13倍増加させた [9.1ng/mL vs. 0.7ng/mL,  $p<0.05$ ]) (図6 b)。

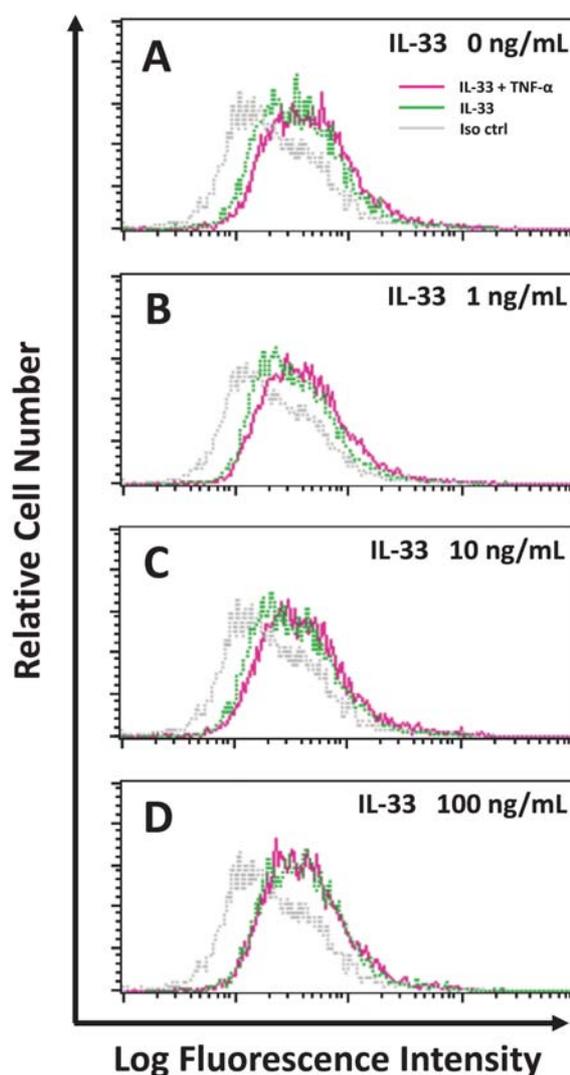


図5

HCAECをIL-33単独 (A: 0 ng/mL, B: 1 ng/mL, C: 10ng/mL, D: 100ng/mL) あるいはTNF- $\alpha$  10ng/mLと共刺激した際の膜貫通型受容体ST2Lの平均蛍光強度。HCAEC: ヒト冠動脈内皮細胞, IL: インターロイキン, TNF: 腫瘍壊死因子。

IL-8についても、IL-6の場合と同様の結果が得られた (26.4ng/mL vs. 18.1ng/mL,  $p<0.05$ ) (図6c). 培養細胞上清中IL-1 $\beta$ の濃度はいずれも検出限界未満であった (データ未掲載).

### 3. 4. IL-1 $\beta$ 刺激はHCASMCのIL-33産生を誘導する

さらに筆者らはIL-33の産生源として、川崎病第7病日前後にみられる冠動脈中膜平滑筋の水腫性疎開性変化 (壊死) に注目した<sup>19)</sup>. HCASMCを川崎病リーディングサイトカインであるTNF- $\alpha$ あるいはIL-1 $\beta$ でそれぞれ刺激し、川崎病疑似環境を作製したところ、IL-1 $\beta$ 刺激後4時間で刺激濃度依存性に上清中のIL-33濃度が上昇した (図7). TNF- $\alpha$ でHCASMCを刺激した際の上清中IL-33濃度は検出

限界未満であった (データ未掲載).

## 4. 考 察

今回の研究では、急性期川崎病患者においてCAL合併群は非合併群に比し、血清中sST2が有意に上昇していた. さらに冠動脈細胞を用いた実験では、川崎病リーディングサイトカインの1つであるTNF- $\alpha$ に比し、IL-33はHCAECにおける炎症性サイトカイン産生を有意に増加させることが明らかとなった. これらの結果はCAL形成過程において自然免疫制御機構IL-33/ST2系が関与しているという我々の仮説を支持するものであった.

川崎病は1967年に故・川崎富作博士が「指趾の特異的落屑を伴う小児の急性熱性皮膚粘膜淋腺症候

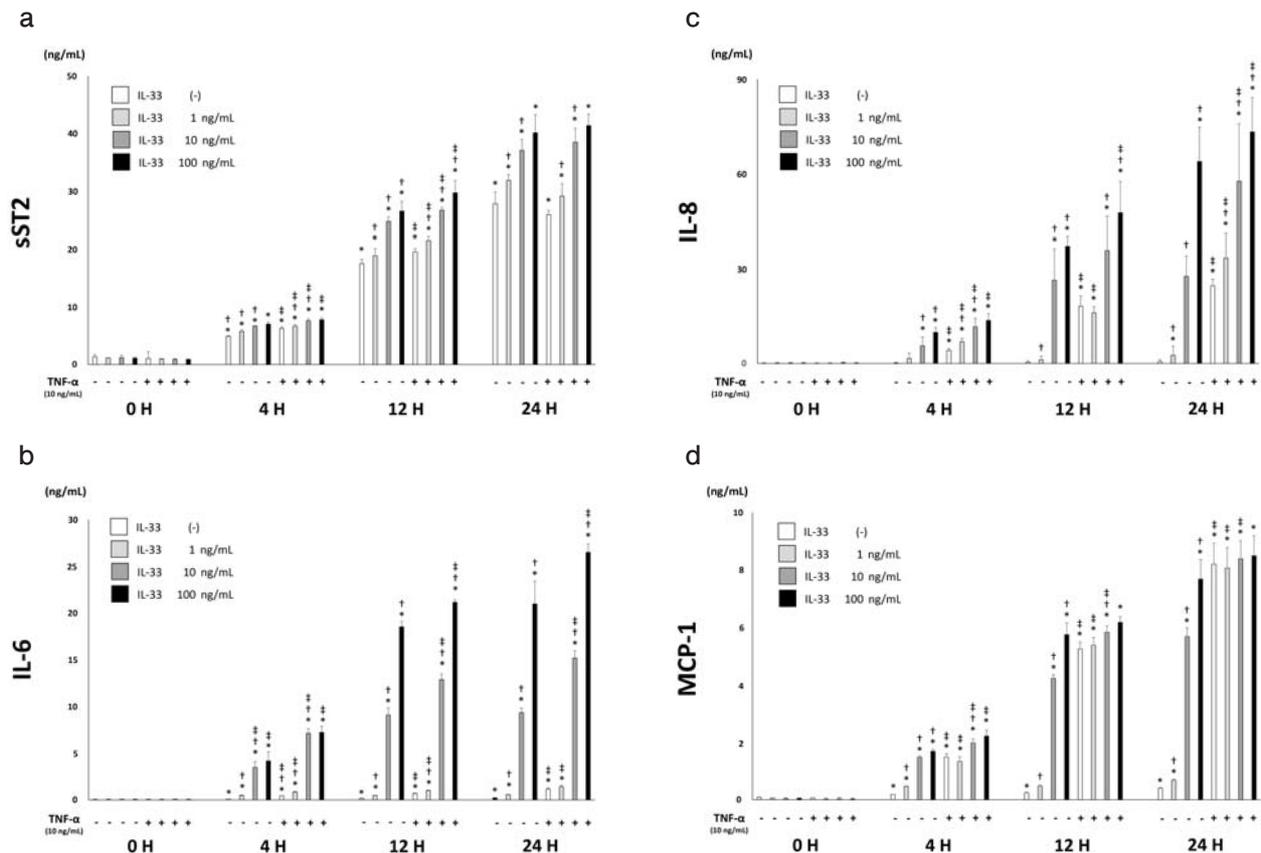


図6

HCAECをIL-33で刺激した際の上清中炎症性サイトカイン濃度. HCAECをIL-33 1, 10, 100ng/mLの濃度で刺激し、上清中のsST2, IL-6, IL-8, およびMCP-1の濃度をELISA法で測定した. さらにIL-33にTNF- $\alpha$  10ng/mLを添加し共刺激を行い、同様の解析を行った. IL-33は時間依存性および濃度依存性にHCAECによるsST2, IL-6, IL-8およびMCP-1の産生を増加させることが示された. またTNF- $\alpha$ で共刺激すると、炎症性サイトカイン産生はさらに増加した: \* $p<0.05$ : 同濃度のサイトカイン刺激条件下における一つ前のタイムポイントとの比較, † $p<0.05$ : 同じタイムポイントにおける一段階低い濃度のサイトカイン刺激条件との比較.  $p\leq 0.05$ : TNF- $\alpha$ による共刺激の有無での比較. ELISA: 酵素結合免疫吸着検定法, HCAEC: ヒト冠動脈内皮細胞, IL: インターロイキン, MCP: 単球走化性促進因子, TNF: 腫瘍壊死因子.

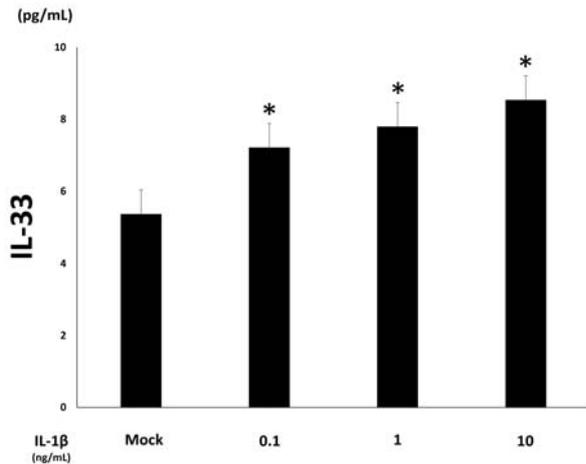


図7

HCASMCをIL-1 $\beta$ で刺激した際の上清中IL-33濃度。HCASMCをIL-1 $\beta$  0.1, 1, 10ng/mLの濃度で刺激し、上清中のIL-33濃度をELISA法で測定した。IL-1 $\beta$ 刺激後4時間の時点において、刺激濃度依存性に上清中のIL-33濃度が上昇した。\* $p < 0.05$ : Mockとの比較。ELISA: 酵素結合免疫吸着検定法, HCASMC: ヒト冠動脈平滑筋細胞, IL: インターロイキン。

群: 自験例50例の臨床的観察」と題した原著論文を「アレルギー」(日本アレルギー学会雑誌)に報告し、その存在が明らかとなった<sup>20)</sup>。以後50年以上が経過しているが未だに原因不明である。急性期の病態に関しては、当研究室のFurukawa, Matsubara, Ichiyamaらにより、単球/マクロファージの活性化およびサイトカインストームを主体とした全身性血管炎であることが明らかとなっている<sup>14, 18)</sup>。急性期川崎病患者の末梢血ではTNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , およびIL-6など複数の炎症性サイトカインの上昇が認められるが、その中でもTNF- $\alpha$ は川崎病の病態形成において最も主要な役割を果たしていると考えられている<sup>18)</sup>。抗ヒトTNF- $\alpha$ モノクローナル抗体製剤であるIFXは、IVIG抵抗性川崎病に対して2nd line治療以降で使用される<sup>4, 18, 21-23)</sup>。我が国で実施された全国調査では、IFXはIVIG抵抗性川崎病の追加治療として十分な忍容性および有効性が報告された<sup>24)</sup>。

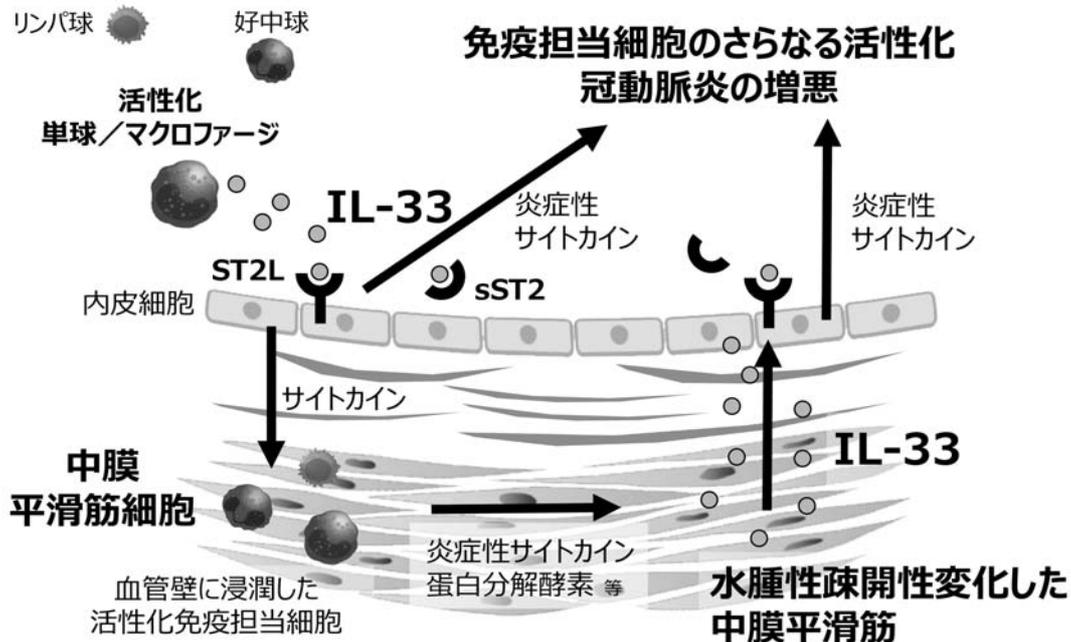


図8

グラフィカルアブストラクト。川崎病剖検例の冠動脈を用いた病理学的解析では、病初期において内膜および外膜に少数の炎症細胞浸潤がみとめられる。第7病日前後から中膜平滑筋に水腫性疎開性変化(壊死)が認められ、第10日病日以降から内弾性薄板を含む冠動脈組織の破壊が生じる。冠動脈組織が破壊されると、単球/マクロファージ、好中球、およびリンパ球が血管内外から冠動脈壁に浸潤し、冠動脈壁全層に炎症が生じる。血管構造の破壊が顕著な場合、第12病日前後から冠動脈が拡張し始めCALが形成される。筆者らは川崎病冠動脈炎において中膜平滑筋細胞から放出されたIL-33はalarminとして機能し、内皮細胞からの炎症性サイトカイン産生、接着分子発現、および更なる冠動脈炎の増悪を引き起こすのではないかと推察している。CAL: 冠動脈病変, IL: インターロイキン, KD: 川崎病, ST2L: 膜貫通型IL-33受容体, sST2: 可溶性IL-33受容体。

しかし川崎病の好発年齢である乳幼児において、IFXの使用は中枢神経の髄化遅延や免疫抑制によるワクチン関連感染症の発症が懸念される<sup>22, 25, 26)</sup>。したがって、IVIG不応例に対する追加治療として新たな治療標的および治療薬の開発が求められている。

心血管系において、IL-33は心筋細胞、線維芽細胞、および冠動脈平滑筋細胞の核内に局在する<sup>27)</sup>。IL-33はTNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、あるいはIFN- $\gamma$ などのサイトカイン刺激によって発現が増強し、組織傷害によって短時間で細胞外に放出される<sup>11, 12, 27)</sup>。川崎病剖検例の冠動脈組織では、内膜および外膜における炎症細胞浸潤から始まり、第7病日前後に中膜平滑筋に水腫性疎開性変化(壊死)が認められる<sup>19)</sup>。第10日病日以降から内弾性板を含む冠動脈組織の破壊が生じ、単球/マクロファージ、好中球、およびリンパ球が血管内外から冠動脈壁に浸潤し、冠動脈壁全層に炎症が波及する。血管構造の破壊が顕著な場合、第12病日前後から冠動脈が拡張し始めCALが形成される。筆者らは剖検例の知見に基づき、川崎病冠動脈炎において中膜平滑筋細胞から放出されたIL-33がalarminとして機能し、内皮細胞からの炎症性サイトカイン産生、接着分子発現、および更なる冠動脈炎の増悪を引き起こすのではないかと推察している(図8)。近年、ピーナッツアレルギーや子宮内膜症に対する抗ヒトIL-33モノクローナル抗体の有効性が報告されており<sup>28)</sup>、臨床試験が進行中である。今回の研究成果から、IL-33/ST2系標的治療薬は川崎病にもドラッグリポジショニングできる可能性が期待される。IL-33/ST2系標的治療薬は近い将来、川崎病研究者の悲願である「CAL発症ゼロ」を達成するブロックバスターとなり得るかもしれない。

#### 謝 辞

本研究の実施および論文投稿に際し、ご指導いただいた安戸裕貴先生・深野玲司先生・長谷川俊史先生、研究協力いただいた大西佑治先生・元永貴大先生・鰐石貴子さん、検体を提供いただいたすべての患者さんとそのご家族、および治療をサポートいただいたすべての病院スタッフに深謝いたします。

本研究はJSPS科研費JP21K15906, AMED JP22ek0109606, およびJB川崎病奨励研究費の助成を受けて行われた。

山口大学医学会の定める利益相反に関わる開示事項はありません。

#### 参考文献

- 1) Kawasaki T, Kosaki F, Okawa S, et al. A new infantile acute febrile mucocutaneous lymph node syndrome (MLNS) prevailing in Japan. *Pediatrics* 1974 ; 54 : 271-276.
- 2) Hara T, Yamamura K, Sakai Y. The up-to-date pathophysiology of Kawasaki disease. *Clin Transl Immunology* 2021 ; 10 : e1284.
- 3) Fukazawa R, Kobayashi J, Ayusawa M, et al ; Japanese Circulation Society Joint Working Group. JCS/JSCS 2020 Guideline on Diagnosis and Management of Cardiovascular Sequelae in Kawasaki Disease. *Circ J* 2020 ; 84 : 1348-1407.
- 4) McCrindle BW, Rowley AH, Newburger JW, et al ; American Heart Association Rheumatic Fever, Endocarditis, and Kawasaki Disease Committee of the Council on Cardiovascular Disease in the Young ; Council on Cardiovascular and Stroke Nursing ; Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia ; and Council on Epidemiology and Prevention. Diagnosis, Treatment, and Long-Term Management of Kawasaki Disease : A Scientific Statement for Health Professionals From the American Heart Association. *Circulation* 2017 ; 135 : e927-e999.
- 5) Hara T, Nakashima Y, Sakai Y, et al. Kawasaki disease : a matter of innate immunity. *Clin Exp Immunol* 2016 ; 186 : 134-143.
- 6) 厚生労働省川崎病研究班作成 : 川崎病 (MCLS, 小児急性熱性皮膚粘膜リンパ節症候群) 診断の手引き (改訂第6版). <https://jskd.jp/wp-content/uploads/2022/10/tebiki201906.pdf>. (参

- 照2023-07-24)
- 7) Ayusawa M, Sonobe T, Uemura S, et al ; Kawasaki Disease Research Committee. Revision of diagnostic guidelines for Kawasaki disease (the 5th revised edition). *Pediatr Int* 2005 ; 47 : 232-234.
  - 8) Furusho K, Kamiya T, Nakano H, et al. High-dose intravenous gammaglobulin for Kawasaki disease. *Lancet* 1984 ; 2 : 1055-1058.
  - 9) Sato YZ, Molkara DP, Daniels LB, et al. Cardiovascular biomarkers in acute Kawasaki disease. *Int J Cardiol* 2013 ; 164 : 58-63.
  - 10) Hoshino S, Jain S, Shimizu C, et al. Biomarkers of inflammation and fibrosis in young adults with history of Kawasaki disease. *Int J Cardiol Heart Vasc* 2021 ; 36 : 100863.
  - 11) De la Fuente M, MacDonald TT, Hermoso MA. The IL-33/ST2 axis : Role in health and disease. *Cytokine Growth Factor Rev* 2015 ; 26 : 615-623.
  - 12) Liew FY, Girard JP, Turnquist HR. Interleukin-33 in health and disease. *Nat Rev Immunol* 2016 ; 16 : 676-689.
  - 13) Okada S, Hasegawa S, Suzuki Y, et al. Acute pericardial effusion representing the TNF- $\alpha$  -mediated severe inflammation but not the coronary artery outcome of Kawasaki disease. *Scand J Rheumatol* 2015 ; 44 : 247-252.
  - 14) 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.
  - 15) Okada S, Yasudo H, Ohnishi Y, et al. Interleukin-33/ST2 Axis as Potential Biomarker and Therapeutic Target in Kawasaki Disease. *Inflammation* 2023 ; 46 : 480-490.
  - 16) Kobayashi T, Fuse S, Sakamoto N, et al ; Z Score Project Investigators. A New Z Score Curve of the Coronary Arterial Internal Diameter Using the Lambda-Mu-Sigma Method in a Pediatric Population. *J Am Soc Echocardiogr* 2016 ; 29 : 794-801.e29.
  - 17) Hasegawa S, Ichiyama T, Sonaka I, et al. Cysteine, histidine and glycine exhibit anti-inflammatory effects in human coronary arterial endothelial cells. *Clin Exp Immunol* 2012 ; 167 : 269-274.
  - 18) Matsubara T. Infliximab for the treatment of Kawasaki disease. *Pediatr Int* 2018 ; 60 : 775.
  - 19) Takahashi K, Oharaseki T, Yokouchi Y, et al. Kawasaki disease as a systemic vasculitis in childhood. *Ann Vasc Dis* 2010 ; 3 : 173-181.
  - 20) 川崎富作. 指趾の特異的落屑を伴う小児の急性熱性皮膚粘膜淋巴腺症候群 : 自験例50例の臨床的観察. *アレルギー* 1967 ; 16 : 178-222.
  - 21) Kawasaki T, Naoe S. History of Kawasaki disease. *Clin Exp Nephrol* 2014 ; 18 : 301-304.
  - 22) Tremoulet AH. Adjunctive therapies in Kawasaki disease. *Int J Rheum Dis* 2018 ; 21 : 76-79.
  - 23) Zhu F, Ang JY. 2021 Update on the Clinical Management and Diagnosis of Kawasaki Disease. *Curr Infect Dis Rep* 2021 ; 23 : 3.
  - 24) Masuda H, Kobayashi T, Hachiya A, et al ; Committee of Survey on Infliximab use for Kawasaki disease. Infliximab for the Treatment of Refractory Kawasaki Disease : A Nationwide Survey in Japan. *J Pediatr* 2018 ; 195 : 115-120.e3.
  - 25) Ohnishi Y, Okada S, Kawakami-Miyake A, et al. Safety and Feasibility of Infliximab Therapy in Children With Kawasaki Disease Who Received Live Vaccinations. *Pediatr Infect Dis J* 2022 ; 41 : e388-e392.
  - 26) Furuta T, Yasudo H, Okada S, et al. Third-line therapies in patients with Kawasaki disease refractory to first- and second-line intravenous immunoglobulin therapy. *World J Pediatr* 2022 ; 18 : 781-785.
  - 27) Demyanets S, Kaun C, Pentz R, et al. Components of the interleukin-33/ST2 system are differentially expressed and regulated in human cardiac cells and in cells of the cardiac vasculature. *J Mol Cell Cardiol* 2013 ; 60 : 16-26.

- 28) Saunders PTK, Horne AW. Endometriosis : Etiology, pathobiology, and therapeutic prospects. *Cell* 2021 ; **184** : 2807-2824.

## Interleukin-33/ST2 Axis as Potential Biomarker and Therapeutic Target in Kawasaki Disease

Seigo OKADA

Department of Pediatrics, Yamaguchi University  
Graduate School of Medicine, 1-1-1 Minami  
Kogushi, Ube, Yamaguchi 755-8505, Japan

### SUMMARY

Background : Kawasaki disease (KD) is an acute, self-limiting, febrile systemic vasculitis of unknown cause associated with the development of coronary artery lesions (CALs) during childhood. Alarmin from cell death have been shown to be involved in the development of KD vasculitis. Interleukin (IL) -33 is released from damaged endothelial

cells and acts as an alarmin.

Methods : We investigated whether IL-33 and its receptor ( ST2) might be involved in KD pathogenesis. Serum levels of soluble ST2 (sST2) in KD patients were measured before their first therapy. Furthermore, we investigated the impact of IL-33 on human coronary artery endothelial cells (HCAECs) and human coronary artery smooth muscle cells (HCASMCs).

Results : Serum levels of sST2 were significantly higher in KD patients with CALs than in those with normal coronary arteries. *In vitro*, IL-33 upregulated the expression of ST2L and increased production of proinflammatory cytokines in HCAECs in a time- and concentration-dependent manner. Notably, compared to isoconcentration of tumor necrosis factor- $\alpha$ , IL-33 significantly increased IL-6 production. Moreover, IL-1 $\beta$  increases IL-33 production by HCASMCs in a concentration-dependent manner.

Conclusions : The results of our study suggest that the IL-33/ST2 system might be involved in the development of KD vasculitis and a therapeutic target in KD.