

平成 10 年度厚生科学研究費補助金による子ども家庭総合研究事業  
「川崎病の治療と長期管理に関する研究」

川崎病における血管リモデリング関連因子の検討  
～特に MMP と TIMP について～

分担研究者 尾内善四郎・坂田耕一 京都府立医科大学小児内科

研究要旨 川崎病における Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9) とその阻害因子である TIMP-1 が川崎病血管障害の発生機序に関与していることやそれらの調整因子としての各種サイトカインの関与が明らかになった。

分担研究者 尾内善四郎・坂田耕一  
京都府立医科大学小児内科  
助手

A. 研究目的

細胞外基質 (ECM) の分解と産生は非常に微妙なバランスで調整されており、そのバランスの乱れが様々な病変局面で認められることは周知である。川崎病は著しい血管構造の変化を伴う疾患であり、血管障害の発生機序や程度を考える上でこの点を調べることは有意義である。本研究においては特に細胞外基質の分解に重要な働きをする酵素群のひとつである MMP family (MMP-1 -2 -9) と MMP 阻害因子である TIMP family (TIMP-1-2) の動態と血管内皮細胞 (HUVEC) と平滑筋細胞 (HVS MC) との関連について検討した。

B. 研究方法

対象：川崎病患児群 (KD 群) 30 症例 (γグロブリン療法前 (I)、療法翌日 (II)、発症

1 ヶ月 (III))、健康対照 (C 群) 6 例、有熱対照 (F 群) 7 例。方法：1) 血中 MMP・TIMP 濃度：2 step-sandwich ELISA で測定、2) HUVEC・HVS MC MMP・TIMP mRNA 発現：36 時間無血清培養後、対象血漿 5% 下 18 時間培養後 RNA 抽出し competitive RT-PCR 半定量解析にて比較検討した。

C. 研究結果

1) 血中 MMP・TIMP 濃度：MMP-1, -2, TIMP-2 は全病期、全群間で有意差は認められなかった。一方、MMP-9 (C 群  $31.8 \pm 12.1$  ng/ml、F 群  $109.9 \pm 87.1$ 、KD 群 I  $304.5 \pm 269.0$ 、II  $130.5 \pm 116.5$ 、III  $73.7 \pm 73.4$ )、TIMP-1 (各々  $167.8 \pm 40.0$  ng/ml、 $965.1 \pm 395.5$ 、 $1418.3 \pm 671.7$ 、 $1008.6 \pm 499.5$ 、 $656.9 \pm 299.8$ ) と川崎病病初期において有意な上昇が認められ、IVI G 後は減少してゆく傾向を認めた。また、MMP-9/TIMP-1 比はIVI G 後に経時的に低下することが確認された。2) HUVEC・HVS MC MMPs・TIMPs mRNA 発現：病初期患者血漿に EC に対する MMP-9・TIMP-1 mRNA 発現の有意な刺激活性を認め、経時的に低下して行くことが確認された。

SMC に対しては経時的变化に一定の傾向を確認することはできなかった。しかし、有意に mRNA 発現を亢進している症例が認められた。3) 各種サイトカイン HUVEC 刺激活性; IFN- $\gamma$ において濃度依存性に MMP-9 産生抑制効果を、IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ において促進効果を認めた。4) 抗 IFN- $\gamma$ 抗体阻害試験: 無作為 KD 対象 4 例について検討した。興味深いことに抗 IFN- $\gamma$ 抗体の前処置によって EC MMP-9 mRNA 発現が阻害される症例が認められた。一方、TIMP-1 に対しては有意な変化を示す症例は認められなかった。

#### D. 考察

1) 川崎病血管障害・病態形成に MMP-9 と TIMP-1 が共に関与している可能性が示唆された。2) MMP-9、TIMP-1 産生細胞として EC や SMC の関与が考えられた。3) ガンマグロブリンの作用機序に MMP-9、TIMP-1 の産生抑制効果が関与していると考えられた。特に、MMP-9/TIMP-1 のバランス調整が重要と考えられた。4) 患者血中に HUVEC、HVS MC に対する MMP-9、TIMP-1 産生促進因子が存在している可能性が示唆された。5) 川崎病血中の MMP-9 産生促進因子として IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ などが抑制因子として IFN- $\gamma$ などのサイトカインが関与していると考えられた。6) 抗 IFN- $\gamma$ 抗体阻害実験は、各々のサイトカインが単独で示す効果からは説明できず、サイトカインの複合的な関与が MMP や TIMP の産生調節に重要であると考えられた。

#### E. 結論

川崎病血管障害の発生に ECM の再構築 (リモデリング) は不可欠と考えられる。特

に、血管基底膜や血管外結合織を構成する 4 型コラーゲンや 3 型コラーゲンの分解調節に重要な働きをするプロテアーゼである MMP family やその阻害因子である TIMP family の果たす役割は大きい。本実験においても川崎病における MMP-9 と TIMP-1 産生が川崎病血管障害の発生に深く関与していることが確認された。またガンマグロブリンの作用として MMP-9 と TIMP-1 両者の産生調節が重要であることも示唆された。さらに、MMP-9 や TIMP-1 の産生調整因子として、川崎病で主として認められる炎症性サイトカインが関与していることも示唆された。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

現在執筆中

##### 2. 学会発表

Sixth International Kawasaki Disease Symposium. Feb11-14, 1999, Waikoloa, Hawaii, USA

#### G. 知的所有権の取得状況

特記事項なし。

↓ 検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用 ↓  
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります

研究要旨 川崎病における MatrixMetalloproteinase-9(MMP-9)とその阻害因子である TIMP-1 が川崎病血管障害の発生病序に関与していることやそれらの調整因子としての各種サイトカインの関与が明らかになった。