

厚生省科学研究費補助金

総括研究報告書

川崎病における hHGF と MMP-9 の動態について

主任研究者 加藤裕久 久留米大学医学部小児科 教授

研究要旨 川崎病血管リモデリングに hHGF および MMP-9 が関与し、且つ hHGF が血管内皮細胞の MMP-9 産生調節の中心的役割りを担っていることが示唆された。

分担研究者 坂田耕一

京都府立医科大学小児疾患
研究施設内科部門
助手
濱岡建城
同上、教授

B. 研究方法

対象：患者 (KD 群 30 例 M19: F11、
3m-5y、病期分類 I 期-IVIG 前、 II 期-
IVIG 直後、 III 期-発症 1m)、健康対照(H
群 5 例 M3: F2 5m-3y)および感染有熱対
照(F 群 26、M13: F13,10m-4y)、1) 血中
hHGF 測定：2 step sandwich ELISA 法、
2) hHGF 局所発現：急性期死亡川崎病患
者組織検体を用いた免疫組織染色 (ABC
染色)、3) 血管内皮細胞による MMP-9 産
生：HUVEC を患者血漿または hHGF 存在
下で培養、total RNA を抽出した後、
competitive RT-PCR で MMP-9 mRNA の
発現度を検討、4) 抗 hHGF 抗体による抑制
試験：抗 hHGF 抗体と hHGF または IL-6 存
在下での HUVEC による MMP-9 mRNA の
発現度を検討。

A. 研究目的

川崎病 (KD) における血管リモデリング
に MMP-9 および TIMP-1 が重要な因子と
なっている可能性や、これらの因子の産生
に血管内皮細胞が関与していること、また
各種炎症性サイトカインによって MMP-9 の
産生が調整されていることについて報告し
てきた。しかし、MMP-9 が血管障害因子と
して関与しているのか、血管障害に対する
修復機転に関与しているものかについては
依然不明である。今回、血管新生や組織障
害の修復機転で重要な調整因子と考えられ
ている hHGF の動態と hHGF の MMP-9 産
生への影響を検討することにより、川崎病
における MMP-9 の役割について検討した。

C. 研究結果

1) 血中 hHGF (ng/mL): H 群 0.09 ± 0.06 、
F 群: 0.32 ± 0.16 、KD: I 期 0.93 ± 0.51 、II 期

0.40 ± 0.24、Ⅲ期 0.46 ± 0.71 と両対照群と比較して KD で著しく上昇していた。また、hHGF 値と MMP-9 値は有意な正相関 (R=0.736) を示していた。2) 血管内皮細胞や心筋に hHGF の発現を確認した。3) HUVEC の MMP-9 mRNA 発現は hHGF によって濃度依存的に促進された。4) IL-6 による MMP-9 産生促進効果 (報告済) は抗 hHGF 抗体によって有意に抑制された。

D. 考察

hHGF は上皮系細胞を中心に広範な標的細胞に対して増殖促進、運動性亢進、形態形成促進などの作用を示す。また、各種臓器障害に应答して mRNA が誘導され、血液中の濃度も上昇する。このことから、川崎病における hHGF の血中濃度の上昇は全身性の血管炎に应答した二次的な反応であり、血中 hHGF 値は川崎病の病勢を反映しているものと考えられた。また、hHGF には臓器の障害や線維化を抑制し、再生を促進する効果があることが知られている。従って、川崎病における血管障害に対しても hHGF は血管損傷の治癒の促進や血管内皮の増殖とそれに伴う狭窄性変化に対して抑制的に関与している可能性がある。一方、MMP-9 は血管内皮の基底膜主構成蛋白である 4 型コラーゲンを主に分解することから、血管内皮細胞の遊走や血管損傷部位の再構築に不可欠な因子と考えられている。以上の点から、川崎病における MMP-9 の産生促進を考える上で、hHGF との関連性を検討す

ることが有意義であると考えられた。そこで、hHGF を HUVEC に作用させたところ濃度依存的に MMP-9 の mRNA の誘導を促進することが確認された。また、血管内皮細胞による MMP-9 産生が種々の炎症性サイトカインによって調整されていることから、他のサイトカインと hHGF の相互作用および関連性を検討することはサイトカインによる MMP-9 産生調節機構を明確にする上で重要と考えられた。そこで、MMP-9 mRNA 誘導活性の強いサイトカインの一つである IL-6 の作用が、抗 hHGF 抗体によって影響されるかを検討した。その結果、抗 hHGF 抗体は IL-6 による MMP-9 mRNA 誘導を抑制していることが確認された。一方、IL-6 は hHGF の産生促進因子としても知られている。以上のことから IL-6 などのサイトカインは直接的に血管内皮細胞の MMP-9 産生を促進するのみならず、血管内皮細胞の hHGF 産生を調節することで、自己分泌的 hHGF による MMP-9 産生促進にも関与している可能性が考えられた。

E. 結論

hHGF は KD の病勢指標になり、血管内皮細胞による MMP-9 産生調整の中心的役割を担っていることが示唆された。

F. 研究発表

以上の研究成果については第 19 回日本川崎病研究会 (平成 11 年、広島) で報告した。