

研究協力者

ヒューマンサイエンス振興財団リサーチレジデント 関 直人

千葉大学大学院薬学研究院医薬品情報学助教授 佐藤信範

A. 研究目的

医薬品は有効性と有害作用の有効性と有害作用相反する二面性を有しており、現代の科学技術を持ってしても、有害な面を全く持たない医薬品を創製することは困難である。このわずかに残された有害作用に一部の患者は敏感に反応し、予想できない反応を示し、死に至ることもある。これらの状況を考えると、現代医療において副作用を防止するための有効な対策を打ち立てることは、保健・医療水準向上のための緊急課題といえる。本研究の目的は薬物有害反応の原因となる遺伝子と変異を同定することにより、有害反応の発現を未

然に回避するための遺伝子診断法を確立することである。そのための具体的な目標として 薬剤誘起性横紋筋融解症を取り上げ、薬物有害反応原因遺伝子と SNP 探索を目標にした。本研究の遂行により、これまで多くの患者が苦しんできた薬物有害反応を未然に回避できるようになれば、国民の保健・医療と福祉の向上に多大に貢献をすることが期待される。

B. 研究方法

対象患者：高コレステロール血症の診断で HMG CoA 還元酵素阻害薬を内服中に薬物誘起性横紋筋融解症と診断された者 100 人、対照は高コレステロール血症の診断で HMG CoA 還元酵素阻害薬を内服中にも横紋筋融解症を認めない者 100 人とする。

試料等の種類、量：末梢静脈血 10 cc より DNA を抽出し、これを解析に

用いる。

解析する遺伝子の種類と解析方法：

薬物誘起性横紋筋融解症の候補遺伝子の遺伝子多型について解析する。

具体的には、当初は CYP3A4 遺伝子、P-

糖蛋白遺伝子、長鎖アシル

CoA デヒドロゲナーゼ遺伝子、カル

ニチンパルミトイル転移酵素遺伝子、

カルニチン輸送蛋白遺伝子、アシル

CoA 合成酵素遺伝子、解糖系酵素遺

伝子、グリコーゲン分枝酵素遺伝子、

グリコーゲン脱分枝酵素遺伝子、筋

ホスホリラーゼ遺伝子、酸性マルタ

ーゼ遺伝子、ホスホリラーゼキナー

ゼ遺伝子、乳酸脱水素酵素遺伝子、

HMG CoA 還元酵素遺伝子、HMG

CoA リラーゼ遺伝子、アコニターゼ

遺 伝 子 、 multidrug resistance

protein 2 遺伝子、organic anion

transporting polypeptide-C 遺伝子

などの遺伝子多型について、キャピ

ラリーシークエンサーまたは

denatured HPLC あるいはその組み

合わせにより SNP 解析を行う。得

られた SNP を含む遺伝子を異種細

胞に発現させ機能解析を行うことに

より、原因 SNP を同定する。その

後は他の候補遺伝子について解析を

行う予定である。

統計解析：横紋筋融解症の症状・筋

原生酵素上昇などの診療情報と遺伝

子多型との相関について解析を行う。

(倫理面への配慮)

ヒトゲノム検体の収集と解析にあた

っては「ヒトゲノム解析研究に関す

る共通指針」を遵守し、研究の遂行

にあたっては生命倫理委員会と提供

者の同意を得て行う。本研究で得ら

れた個人情報、外部にもれること

のないよう厳重に管理する。試料等

は個人識別情報管理者を設け、連結

可能匿名化することにより、研究者

に患者の同定ができないよう配慮す

る。また研究成果の発表にあたって

は患者の氏名などは一切公表されないこととする。

C. 研究結果

まず、薬物誘起性横紋筋融解症患者および対照者（千葉大学医学部附属病院およびその関連施設にて治療を受けている患者を対象）より末梢静脈血採血を行うために、本研究の意義と目的を説明し、インフォームドコンセントに基づいた同意書を頂き、血液を提供していただく必要がある。そのため、千葉大学医学部附属病院内で本研究を行うために、千葉大学大学院医学および薬学研究院の生命倫理審査委員会に本研究計画を申請し、受理された（平成 14 年 6 月 14 日）。次に対象患者の同定のために、本研究用の薬物誘起性横紋筋融解症の診断基準（案）を作成した（添付資料）。また、千葉大学医学部附属病院の関

連施設には、対象となる症例を認めた場合、本研究への協力をお願いしていただくよう協力を依頼しするために「DNA 試料収集の倫理面を含む方法論の確立と健常人及び薬剤誘起性横紋筋融解症患者検体の収集に関する平成 14 年度第 1 回会議」を開催した（平成 14 年 8 月 9 日）。

協力を依頼した関連施設は
千葉大学大学院医学研究院細胞治療学教授

齋藤 康

千葉大学大学院医学研究院先端応用医学講座臨床遺伝子応用医学教授

武城英明

東邦大学医学部佐倉病院臨床検査教授

白井厚治

千葉社会保険病院副院長

家里憲二

県立東金病院院長

平井愛山

旭中央病旭院

伊良部徳次

君津中央病院

鈴木紀彰

日本医科大学千葉北総病院

葉山修陽

成田赤十字病院内科

大橋弘文

などである。

D. 結論

現在までに、薬物誘起性横紋筋融解症患者 8 例（うち 5 例は、関連施設からの紹介）、対照者 22 例の症例を収集した。

E. 考察

薬剤誘起性横紋筋融解症はまれな疾患（約十万人に一人）であり、症例の試料収集は困難な点が多かった。

そのため、関連施設に協力を依頼し、現在までに収集が完了した症例 8 例

中 5 例は関連施設からの紹介によるものである。今後、本例のような、まれな疾患の試料収集には関連施設間のネットワークの重要性が示唆された。

一方、その際の個人情報の保護には今まで以上に十分な配慮が必要となると思われる。

F. 健康危険情報

研究の過程および結果、HMG CoA 還元酵素阻害薬による、薬剤誘起性横紋筋融解症の原因遺伝子の SNP が同定され、健康危険情報として把握した時は厚生労働省に報告する。

また、本研究では、対象者の末梢血採血を行うが、通常診療と同様の方法で行うため、対象者に対する特別な危険性はないと考えられる。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表 なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし

2. 実用新案登録 なし

3. その他 なし

添付資料

スタチン系薬剤による横紋筋融解症

の診断基準（案）

添付資料

スタチン系薬剤による横紋筋融解症の診断基準（案）

A 臨床症状および検査所見

- 1 急激に発症する筋肉の障害
四肢の脱力感、しびれ、筋肉痛、筋硬直、筋の腫脹
- 2 スタチン系薬剤の内服（種類、期間は不問）
- 3 運動負荷、激しい咳の有無など血液生化学的検査に影響をおよぼすと考えられる因子の除外
- 4 血液生化学的検査
クレアチンキナーゼ（CK）・ミオグロビン・AST（GOT）・ALT（GPT）などの著明な上昇

B 以下の症例の除外

- 1 不随意運動（ジストニア・アテトーゼ・舞踏病・羽ばたき振戦）・外傷・循環虚血・血栓や閉塞等による虚血・熱射病
- 2 筋疾患（多発筋炎・皮膚筋炎・筋ジストロフィー）
- 3 低 K 血症などの著しい代謝障害
- 4 代謝性筋疾患
（解糖系酵素障害・脂質代謝障害・五単糖代謝障害・プリン代謝障害・ミトコンドリア呼吸鎖障害）
- 5 39℃ 以上の高熱、意識障害
- 6 重篤な肝硬変（Child B, C）
- 7 フィブラート系薬剤の併用

研究成果の刊行リスト

なし

有害反応の回避を目指した副作用原因遺伝子の同定と SNP の探索：
HMG-CoA 還元酵素阻害剤による骨格筋障害機序に関する研究

分担研究者 埜中征哉 国立精神・神経センター武蔵病院 院長
研究協力者 西野一三 国立精神・神経センター神経研究所
疾病研究第一部 部長
大林久佐邦 三共株式会社安全性研究所

研究要旨：HMG-CoA 還元酵素阻害剤は、横紋筋融解症を来することが知られているが、骨格筋障害の機序は依然として不明のままである。今回我々が経験した HMG-CoA 還元酵素阻害剤により筋障害を来したと思われる患者の筋生検では、壊死・再生線維はなく、むしろ筋原線維の配列の乱れが目立ち、NADH-TR で筋線維内の局所的な濃染を伴う筋線維が散見された。また、ネマリン小体を伴う筋線維も認められた。筋ジストロフィーで頻繁に認められる過収縮線維は認めなかった。同様の組織所見は、Cerivastatin を過剰投与したラット骨格筋にも認められた。以上の結果から、HMG-CoA 還元酵素阻害剤による筋障害は、筋鞘膜の脆弱性に基づく多くの筋ジストロフィーとは異なり、筋原線維または筋小胞体系への毒性が主病態であることが示唆される。

A. 研究目的

HMG-CoA 還元酵素阻害剤は、横紋筋融解症を来することが知られているが、骨格筋障害の機序は依然として不明のままである。その理由の一つに、HMG-CoA 還元酵素阻害剤による横紋筋融解症の筋病理所見が不明であることが挙げられる。これは、恐らく服薬により CK 上昇を来した場合には、速やかに服薬を中止し、筋生検までには至らないことが多いためと考えられる。今回我々は初めて、HMG-CoA 還元酵素阻害剤により筋障害を来したと思われる患者の生検筋を組織学的に解析する経験を得た。この患者の組織像ならびに HMG-CoA 還元酵素阻害剤の一つ Cerivastatin を投与したラットの筋組織所見から、HMG-CoA 還元酵素阻害剤の骨格筋障害機序解明の手掛かりを得ることを目的とする。

B. 研究方法

患者は 54 歳女性で、狭心症様の発作があり来院。家族性高脂血症のため他院にて数年来 Clofibrate を投与されていた。Cerivastatin 0.15 mg/day の服薬を開始。300~1000 IU/l 程度の高 CK 血症が出現、数ヶ月にわたり持続するため神経内科を紹介された。診察上は、頸部屈筋群に極軽度の筋力低下を認めるのみ。上腕二頭筋より行った筋生検検体を凍結固定後、厚さ 10 μ m の連続切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色、ゴモリトリクローム変法を含む各種組織化学染色を行った。また、HMG-CoA 還元酵素阻害剤の筋障害機序を明らかにするためにラットに対しては、Cerivastatin 2 mg/kg/day を投与し、骨格筋を各種組織化学及び電顕により検討した。

C. 研究結果

患者上腕二頭筋には、組織学的に壊死・再生線維はなく、むしろ筋原線維の配列の乱れが目立ち、NADH-TR で筋線維内の局所的な濃染を伴う筋線維が散見された。また、ネマリン小体を伴う筋線維も認められた。筋ジストロフィーで頻繁に認められる過収縮線維は認めなかった。Cerivastatin 投与ラットの骨格筋でも同様に、NADH-TR で筋原線維の配列の乱れと筋線維内の局所的な濃染を伴う筋線維が散見された。電顕では、自己食空胞が多数認められ、筋線維崩壊に伴ってライソゾーム系も活性化されていることが明らかとなった。

D. 考察

HMG-CoA 還元酵素阻害剤による筋障害は、ミトコンドリア異常を含む各種の仮説が提唱されているが、その機序は確定していない。今回、ヒト、ラットともに骨格筋において、筋原線維の配列の乱れと筋線維内の局所的な NADH-TR 活性亢進を伴う筋線維が散見されたことから、HMG-CoA 還元酵素阻害剤による筋障害は、筋鞘膜の脆弱性に基づく多くの筋ジストロフィーとは異なり、筋原線維そのものあるいは筋小胞体系に対する毒性が主病態であることが示唆された。ライソゾーム系の活性化は、筋原線維や筋鞘胞体の崩壊による二次的な反応と考えられた。

E. 結論

HMG-CoA 還元酵素阻害剤による筋障害は、筋原線維そのものあるいは筋小胞体系に対する毒性が主病態であると考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Nishino I, Noguchi S, Murayama K, Driss A, Sugie K, Oya Y, Nagata T, Chida K, Takahashi T, Takusa Y, Ohi T, Nishimiya J,

Sunohara N, Ciafaloni E, Kawai M, Aoki M, Nonaka I.

Distal myopathy with rimmed vacuoles is allelic to hereditary inclusion body myopathy.

Neurology 59: 1689-1693, 2002.

(selected for the Editorial)

Ishikawa H, Sugie K, Murayama K, Ito M, Minami N, Nishino I, Nonaka I.

Ullrich disease: Collagen VI deficiency. EM suggests a new basis for muscular

weakness. *Neurology* 59: 920-923, 2002.

(selected for Highlight)

2. 学会発表

Nishino I, Noguchi S, Murayama K, Nonaka I: Distal myopathy with rimmed

vacuoles is associated with GNE gene mutations Xth International Congress on

Neuromuscular Diseases, Vancouver, Canada, 7/11/2002

西野一三, 村山久美子, 野口悟, 埜中征哉. 縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチーの遺伝子解析. 第 43 回日本神経学会総会, 札幌,

5/29/2002.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

分担研究報告書

薬剤誘起性QT延長症候群の遺伝子解析に関する研究

分担研究者 田中 敏博

理化学研究所遺伝子多型研究センター チームリーダー

研究要旨

病態が十分に明らかになっていない薬剤誘起性QT延長症候群の遺伝的背景を探るため、イオンチャネル遺伝子でアミノ酸置換を伴う12SNPについて患者サンプルを用いて解析を行った。遺伝子面からのアプローチの方法をとった本研究が本疾患の病態解明の端緒となることが期待される。

A. 研究目的

QT延長症候群は心電図上QT時間の延長を特徴とした遺伝性疾患で、心室細動、Torsade de pointesなど血行動態を悪化させる心室性不整脈の生じる危険性が高くなり、失神発作さらには突然死の原因となるものである。家族性のものに関しては、6つの原因遺伝子が単離されたが、そのうちの4つは、カリウムチャネルをコードしている遺伝子であり(KCNQ1, KCNH2, KCNE1, KCNE2)、1つはナトリウムチャネル(SCN5A)をコードしていた。一方、薬剤誘起性QT延長症候群についても、数例の報告ではあるが上記遺伝子の一塩基多型(SNP, single nucleotide polymorphism)の関与が示唆されている。また、QT時間の延長には自律神経系のバランスも関与していると言われている。上記遺伝子及び、その他の心臓イオンチャネルもしくはチャネルの機能を修飾する役割を果たしていると思われる遺伝子のSNPを網羅的に検索することにより、薬剤誘起性QT延長症候群の遺伝的背景を探る端緒とするのが目的である。

B. 研究方法

SNPタイピング

KCNQ1, KCNH2, SCN5A, KCNE1, KCNE2, KCNA10遺伝子で同定されているアミノ酸変化を伴うSNP計12ヶについて、2次性QT延長症候群と診断され、研究に同意をされた患者さんのゲノムDNAサンプルを用いてタイピングを行った。

(倫理面への配慮) 共同研究機関および理化学研究所倫理審査委員会にて、本研究計画は承認されている。

C. 研究結果および考察

タイピングの結果は別表の通り。1例において、KCNQ1遺伝子のアミノ酸バリエーションがホモ接合体となっており、健常人でのアレル頻度が0.09であることを考えると興味深い。他のSNPに関しては、症例数が少ないこともあり、統計学的に有意差は認めなかった。いずれのSNPについても、症例数を増やして検討するべきであると考えられる。

D. 結論

家族性QT延長症候群の原因遺伝子のうち6つは単離され、ある程度の病態解明も進みつつある。一方、薬剤誘起性QT延長症候群に関しては、その多くが未解明のままである。遺伝子レベルからのアプローチの方法をとっている本研究が端緒となり、多型による機能の修飾が解明されることが期待される。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

Iwasa H, Kurabayashi M, Nagai R, Nakamura Y, Tanaka T. Twenty single-nucleotide polymorphisms in four genes encoding cardiac ion channels. *Journal of Human Genetics* 47:208-212, 2002.

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表. アミノ酸変化を伴う SNP

遺伝子 アレル頻度	KCNQ1 0.09	KCNH2 0.02	unknown	SCN5A 0.08	0.04	0.005	KCNE1 0.19	0.02	KCNE2 unknown	0.07	KCNA10 unknown
sample A	S	K	R	H	P	V	G/S	D	T	V	S
sample B	G	K	R	H/R	P	V	G/S	D	T	V	S
sample C	G	K	R	H	P	V	G	D	T	V/M	S
sample D	G	K	R	H	P	V	G	D/N	T	V	S
sample E	G	K/T	R	H	P	V	G	D	T	V	S
sample F	G/S	K	R	H	P	V	G/S	D	T	V	S
sample G	G	K	R	H/R	P	V	G	D	T	V	S
sample H	G	K	R	H	P	V	G	D	T	V	S
sample I	G	K	R	H	P	V	G	D	T	V	S
sample J	G	K	R	H	P	V	G/S	D	T	V	S
sample K	G	K	R	H/R	P	V	G	D	T	V/M	S

厚生労働科学研究費補助金

分担研究報告書

有害反応の回避を目指した副作用原因遺伝子の同定と SNP の探索 薬剤性 QT 延長症候群

分担研究者 大江 透 岡山大学大学院医歯学総合研究科教授

研究要旨 薬剤による QT 延長に原因となる遺伝子があるかどうかをみるため、まず薬剤性 QT 延長症候群患者において有意な SNP が存在するかどうか検討した。複数個の候補 SNP があり今後機能解析予定である。次に KCNQ1 遺伝子の異常をもつが、QT 延長を発症していない対象者において、薬剤で QT 延長を引き起こすことができるかどうかを検討したところ、エピネフリンにより QT 延長の顕在化ができることがわかった。薬剤による QT 延長症候群の候補遺伝子がある可能性が示唆された。

岡山大学大学院医歯学総合研究科

生体制御科学専攻 機能制御学 循環器内科
教授 大江 透

A.研究目的

1)薬剤性 QT 延長症候群の原因薬剤を調査し、同意を得た患者から DNA を採取し、SNP を調べる。

2)KCNQ1 遺伝子の異常は QT 延長症候群 (LQT1)の原因遺伝子であるが、この遺伝子に異常があるにもかかわらず、発症していない人が存在する (潜在性 QT 延長症候群)。薬剤の投与により QT 延長が顕在化するかどうかをみる。

B.研究方法

1) 薬剤により著明な QT 延長又は Torsades de Pointes を示した患者の薬剤を調査し、同意を得た患者から DNA を採取した。

2) KCNQ1 遺伝子の異常をもつが、QT 延長を発症していない対象者にエピネフリンを静注し、QT 間隔を測定する。

(倫理面への配慮)

ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に基づいて、倫理委員会にて QT 延長症候群の遺伝子解析をおこなう承認をえており、それに基づいた同意を患者からえた。

C.研究結果

1) 32 人の薬剤性 QT 延長症候群患者のうち、原因薬剤はジソピラミド 14 人、プロカイナムイド 5 例、キニジン 3 例、シベンゾリン 1 人、シサプリド 1 人、スパルフロキサシン 1 人、ニフェカラン 1 人であった。

その他の患者は薬剤性 QT 延長として紹介されたが、調査したところ低カリウム血症、ジギタリス中毒などが疑われ、薬剤との因果関係がはっきりしなかった。これらの患者の内 11 人にて遺伝子解析を行った。数個の SNP が見つかり、今後この遺伝子を培養細胞に発現させ機能解析を行う予定である。

2) 潜在性 QT 延長症候群 (KCNQ1 遺伝子の異常をもつが、QT 延長を発症していな

い) 対象者においてエピネフリンにより、QT 延長が顕在化した。

D. 考察

薬剤による QT 延長に原因となる遺伝子があるかどうかをみるため 2 方向から研究を行った。まず薬剤性 QT 延長症候群患者において有意な SNP が存在するかどうか、次に KCNQ1 遺伝子の異常をもつが、QT 延長を発症していない対象者において、薬剤で QT 延長を引き起こすことができるかどうかを検討した。第一の研究においては複数個の候補 SNP があり、今後機能解析予定である。更に今後症例を増やし検討していく予定である。第二の研究においては薬剤による QT 延長の顕在化ができることがわかった。

E. 結論

薬剤による QT 延長症候群の候補遺伝子がある可能性が示唆された。

G. 研究発表

論文

Shimizu W, Noda T, Takaki H, Kurita T, Nagaya N, Satomi K, Suyama K, Aihara N, Kamakura S, Sunagawa K, Echigo S, Nakamura K, **Ohe T**, Towbin JA, Napolitano C, Priori SG. Epinephrine unmasks latent mutation carriers with LQT1 form of congenital long QT syndrome. *J Am Coll Cardiol*. 2003;41:633-42.

厚生労働科学研究費補助金（ヒト・ゲノム再生医療等研究事業） 分担研究報告書

薬剤誘起性 QT 延長症候群の遺伝子解析に関する研究 分担研究者 小川 聡 慶應義塾大学医学部内科学教室教授

研究要旨

本研究は薬剤を服用する患者の突然死の原因となる薬剤誘起性 QT 延長症候群の発症を規定する薬物有害反応原因遺伝子と SNP 探索を目標とする。本年度は主に該当症例の選出を行った。慶應義塾大学病院中央臨床検査部心機能室にて 2001 年 1 月から 2002 年 8 月までに施行された心電図検査で 500msec 以上の著明な QTc 延長を認める心電図を抽出し、病歴、投与薬剤などから薬剤誘起性 QT 延長症候群と診断される症例を選出した。また、試料採取を開始するために慶應義塾大学医学部倫理委員会で審査を受け、承認された。心電図上、QTc 延長を呈していた約 120 症例の内、多くの症例では薬剤非投与時の正常 QTc の確認ができないなど、診断の質の高い症例群を選出するのは容易ではなかったが、原因薬剤が推定可能で薬剤誘起性 QT 延長症候群と診断ができ、かつ現在慶應義塾大学病院循環器内科外来に通院中の症例が 8 例認められた。現在試料採取が進行中であるが、今後引き続き症例の選出、試料採取を続けながら SNP 解析も施行予定である。本研究の遂行により、薬剤誘起性 QT 延長症候群との関連が予想されるいくつかの候補遺伝子における未知の遺伝子多型が発見され、その臨床的意義が解明されることが期待される。

A. 研究目的

本研究は薬剤を服用する患者の突然死の原因となる薬剤誘起性 QT 延長症候群の発症を規定する薬物有害反応原因遺伝子と SNP 探索を目標とする。すなわち、薬剤誘起性 QT 延長症候群との関連が予想されるいくつかの候補遺伝子における未知の遺伝子多型を発見し、その臨床的意義を解明することを目的とする。本研究の遂行により、これまで多くの患者が苦しんできた薬物有害反応を未然に回避できるようになれば、国民の保健・医療と福祉の向上に多大に貢献をすることが期待される。

B. 研究方法

1. 症例の選出

慶應義塾大学病院中央臨床検査部心機能室にて施行された心電図検査で 500msec 以上の著明な QTc 延長を認める心電図を抽出し、病歴、投与薬剤などから薬剤誘起性 QT 延長症候群と診断される症例を選出した。

2. 試料の採取

本研究は慶應義塾大学医学部倫理委員会で審査を受け、承認された。同委員会にて承認済みの同意書による同意が得られた慶應義塾大学病院受診患者から採血された末梢血検体を用いる。

3. 来年度以降の SNP 解析方法

TaqMan、PCR-RFLP、キャピラリーシークエンサー、denatured HPLC あるいはそれらの組み合わせにより SNP 解析を行う。

（倫理面への配慮）

採取する血液検体については「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に従って扱い、研究対象の候補となる患者からは厚生科学審議会によって作成された「遺伝子解析研究に関するガイドライン」に則ったインフォームドコンセントを行い、文書による同意を得た。

具体的には、研究への協力は、患者個人の自由意志で任意に決定でき、たとえ研究対象として同意しなかった場合にも診療上の不利益を被ることがないことを説明した。患者には研究方法として身体への安全性に問題がある点は採血のみであり、健康診断などで行われる一般的な採血と同程度の危険性であることを説明した。研究対象となる患者のプライバシーを守るために、採取した血液検体はすべて番号を用いて扱い、施錠された室内にある冷蔵庫に厳重に管理した。検体やそれから得られた検査結果は、本研究以外の目的に使用せず、また、研究結果の発表を含めて患者個人が特定できないようにした。さらに、一度同意した患者が研究の途中で協力の撤回を申し出た場合には、直ぐに検体および検査結果を破棄し、同意を撤回した患者が研究に同意しなかった患者と同様に、診療上不利益を受けることのないように最善の配慮を行うことを説明した。研究者が採取した検体ならびに患者の臨床データが、定められた以外の第三者に譲渡されることを禁止した。

患者個人の検査結果については、誰からの検体であるか特定されないように最善の対策を講じたが、現時点では予想できない不利益を対象患者が被る恐れは完全には回避できないため、この点について十

分な説明の上に同意を得た。解析の結果、患者本人が疾病の有無や病態について理解しておく方が好ましいと常識的に判断される結果が偶然に本研究で見出された場合には、患者本人がその結果を知る方が有益であると判断される場合に限り、診療を担当する医師から患者本人の意思を確認した上で検査結果について開示する予定であった。開示した結果によって生じる患者や血縁者の疑問や不安を解決し、現時点で行える最良の治療手段を講じるために、診療を担当する医師に加えて、カウンセリングの専門家に協力を仰ぐ予定であったが、本年度は該当する症例は発生しなかった。

C. 研究結果

本年度は主に該当症例の選出を行った。慶應義塾大学病院中央臨床検査部心機能室にて2001年1月から2002年8月までに施行された心電図検査で500msec以上の著明なQTc延長を認める心電図を抽出し、病歴、投与薬剤などから薬剤誘起性QT延長症候群と診断される症例を選出した。心電図上、QTc延長を呈していた約120症例の内、多くの症例では薬剤非投与時の正常QTcの確認ができないなど、診断の質の高い症例群を選出するのは容易ではなかったが、原因薬剤が推定可能で薬剤誘起性QT延長症候群と診断ができ、かつ現在慶應義塾大学病院循環器内科外来に通院中の症例が8例認められた。現在試料採取が進行中である。

D. 考察

本年度は症例の検討、選出が主であったが、実際に心電図上QTc延長を呈している症例でも、薬剤誘起性QT延長症候群とほぼ確実に診断可能であった症例は少なかった。ただし、今後SNP解析を施行する上で、診断に疑問の残る症例を排除して質の高い症例群を用いて解析を行うことは必須と考えられる。本年度は質の高い診断をつけるために、薬剤非投与時にQTcが440 msec以下であること、薬剤投与時にQTcが500 msecと著明に延長していること、原因と推定される薬剤はこれまでにQT延長をきたすと報告されているものであることの3つの条件を満たすもののみ、該当症例として選出した。来年度も引き続き症例を選出するが、該当症例が少ないようであれば、例えば薬剤投与時のQTc延長を480 msec以上とする等の若干の基準値変更を行っても診断の質の高さは維持できると考えられる。本研究の主旨からも、該当症例の診断については詳細な検討が必要不可欠と考えられた。

E. 結論

薬剤誘起性QT延長症候群の発症を規定する薬物有害反応原因遺伝子とSNP探索を目標とし、本年度は主に該当症例の選出を行った。また、試料採取

を開始するために慶應義塾大学医学部倫理委員会で審査を受け、承認された。現在試料採取が進行中であるが、今後試料採取を続けながらSNP解析も施行予定である。薬剤誘起性QT延長症候群の原因遺伝子や病態についてはほとんど解明されていないが、本研究の遂行により、いくつかの候補遺伝子における未知の遺伝子多型の発見ならびにその臨床的意義が解明されることが期待される。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）
（分担）研究報告書

有害反応の回避を目指した副作用原因遺伝子の同定と SNP の探索

（分担）研究者 白川 太郎 京都大学大学院医学研究科教授

研究要旨

SJS は、不特定多数の薬剤によって引き起こされるアレルギー性の炎症疾患と考えられているが、その発症機序は明確でない、発症率が極めて低く、様々な薬剤により起こることから遺伝的素因が強く疑われるが、どの遺伝子変異が発症に関与しているかは、HLA タイプの一部の変異で報告されているが、明らかではない。本研究は、SJS 患者の DNA サンプルを用い、全ゲノム的に候補遺伝子座を決定することを目的とし、1. 多施設から患者の血液採取と臨床症状の収集を行った 2. アジア各国で頻発しているトリクロエチン由来の SJS 発症サンプルを収集した。

A. 研究目的

ステイブン・ジョンソン症候群 (SJS) は、本来、有効であるはずの薬剤により生じる皮膚・粘膜・眼を主病変部位とする原因不明の疾患である。年間 1-10 人/100 万人の頻度で発生すると言われ、汎用されている非ステロイド消炎鎮痛薬にて起こりやすいこと、また重症症例は死に至る（死亡率約 3%）こと、皮膚粘膜障害が治癒しても 69%が眼表面に障害を残すから、その予防及び治療に向けての戦略が、早急に必要である。

近年、ヒトにおいて認められる遺伝子多型が疾患関連遺伝子を同定するために有用であることが判明してきた。本疾患は、発症率が極めて低く、様々な薬剤により起こることから遺伝的素因が強く疑われるため、SNP (Single nucleotide polymorphism = 1 塩基多型マーカー) を用いたゲノムワイド解析が、発症機序は明確にするために必

須である。特に、アジア各国では、トリクロエチンによる SJS (類似) 症状が認められることから、薬剤による SJS 症例と併せ、特に薬剤応答遺伝子・トランスポーターにおける SNP を解析し、遺伝的背景を同定する。

B. 研究方法

1. 薬剤による SJS 患者

埼玉医大総合医療センター皮膚科伊崎誠一教授を中心とした①SJS 症候群患者の会、②SJS 症候群研究大学グループ（横浜市立大、杏林大学、愛媛大学等）を通じてサンプル収集中である。対象者は研究参加の意志の有無について簡易な説明文書によって確認し、本人もしくは代諾者からインフォームド・コンセントをとった上で、血液を 10ml 採取し、抽出キットを用いて DNA を抽出した。抽出した DNA は、解析を実際に行う理化学研究所に送付した。同時に

診療情報を収集した。診療情報は、個人識別情報管理者が匿名化する。

2. トリクロロエチレンによる SJS 患者

名古屋大学を中心とした、中国広東省における SJS 患者の尿及び血液サンプルを採取した。尿サンプルは、名古屋大学で、血液サンプルは広東省に保管された。

C. 研究結果

1. 薬剤による SJS 患者

2002 年 12 月 11 日現在、理化学研究所で解析可能な薬剤応答遺伝子・トランスポーターは、ゲノムサイズで 7333.5kb であり、うち多型は 6825 である。これらのうち 350SNP を 14 例の患者例で検討中である。

2. トリクロロエチレンによる SJS 患者

患者尿から得られたトリクロロエチレンの尿中代謝物濃度は、暴露濃度そのものは、日本の許容濃度の前後であったにもかかわらず、予想の数倍から 10 倍以上であった。

D. 考察

今後、全ゲノムについて SJS 関連部位及び、肝臓の代謝酵素における SNP のスクリーニングを行い、臨床情報（重症度・家族歴・検査データ・使用薬剤）を整理・解析しデータベース化を行うことで、SJS が未然に回避できるようなシステムが構築できると考えられる。トリクロロエチレンによる患者例は、原因遺伝子の早期解明に貢献できると考えられる。

E. 研究発表

1. 論文発表

(1) Kiyahara C, Otsu A, Shirakawa T,

Fukuda S, Hopkin JM. Genetic polymorphisms and lung cancer susceptibility.

Lung Cancer 37;241-256:2002.

(2) Bottono N, Mao XQ, Borgiani P, Saccucci P, Stefanini L, Greco E, Fontana L, Shirakawa T, Hopkin JM. Low molecular weight PTP-IL-4RA interaction in atopy predisposition.

Allergy 75suppl7;210-12:2002.

(3) Arima K, Umeshita-Suyama R, Sakata Y, Akaiwa M, Mao XQ, Enomoto T, Dake Y, Shimazu S, Yamashita T, Sugawara N, Brodeur S, Geha R, Puri RK, Sayegh MH, Adra CN, Hamasaki N, Hopkin JM, Shitakawa T, Izuhara K Upregulation of IL-13 concentration in vivo by the IL13 variant associated with bronchial asthma.

J Allergy Clin Immunol109;980-987:2002.

(4) Bottini N, Borgiani P, Otsu A, Saccucci P, Stefanini L, Greco E, Fontana L, Hopkin J, Mao XQ, Shirakawa T. IL-4 receptor alpha chain genetic polymorphism and total IgE levels in the English population: two-locus haplotypes are more informative than individual SNPs.

Clin Genet. 61;288-292:2002.

(5) Donato JL, Ko J, Kutok JL, Cheng T, Shirakawa T, Mao XQ, Beach D, Scadden DT, Sayegh MH, Adra CN. Human HTm4 is a hematopoietic cell cycle regulator.

J Clin Invest. 109;51-58:2002.

(6) Ouchi K, Suzuki Y, Shirakawa T, Kishi F. Polymorphism of SLC11A1 (formerly NRAMP1) gene confers susceptibility to Kawasaki disease.

J Infect Dis. 187(2): 326-9:2003.

F. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）
分担研究報告書

スティーブンスジョンソン症候群と toxic epidermal necrolysis
(TEN)の診断基準の研究

分担研究者 橋本 公二 愛媛大学医学部皮膚科 教授

研究要旨

スティーブンスジョンソン症候群、中毒性表皮壊死症 (TEN) は、致死率が高く後遺症を残すことの多い重症薬疹であるが、適切な診断が行われていない場合が多々ある。スティーブンスジョンソン症候群の関連遺伝子の探索のためには、正確な診断が必要不可欠である。今回、重症薬疹の症例を蓄積検討し、スティーブンスジョンソン症候群、TEN の診断基準案を作成した。

A. 研究目的

スティーブンスジョンソン症候群は、薬剤により生じる皮膚、粘膜、眼を主病変部位とする原因不明の疾患である。年間 1-10/1000000 人の頻度で発症するといわれ、汎用されている非ステロイド系消炎鎮痛剤にて起こりやすいこと、また重症症例は死に至ることから、その予防および治療に向けて分子レベルでの病態解明が待たれている。近年、ヒトにおいて認められる遺伝子多型が疾患関連遺伝子を同定するための指標として数万種類以上の多型マーカー（特に SNP=1 多型マーカー）を用い、スティーブンスジョンソン症候群の発症、および病態に関与する遺伝子を探索することにより、遺伝子レベルでの診断法、新しい治療薬、治療法の開発が期待される。しかし、スティーブンスジョンソン症候群の発症、および病態に関与する遺伝子の探索を施行するためにはスティーブンスジョンソン症候群を正確に診断する必要がある。スティーブンスジョンソン症候群と中毒性表皮壊死症 (TEN) はその関連性あるいは相違点につき未だ十分に理解されているとはいえず、しばしば適切な診断がなされていない。また急性汎発

性発疹性膿疱症 (AGEP)、drug induced hypersensitivity syndrome (DIHS) が、スティーブンスジョンソン症候群と過って診断されている可能性もある。そこで、スティーブンスジョンソン症候群、TEN、AGEP、DIHS について、病態と病型の独立性を検討し、スティーブンスジョンソン症候群の診断基準を作成することを目標とした。

B. 研究方法

それぞれの薬疹型の関連性と独立性を検討するため、症例の検討という方法をとった。さらに、論文報告された重症薬疹の症例、あるいは各施設で経験した薬疹の症例で、典型例、診断に問題のある症例に注目し、それぞれに共通する臨床所見、検査所見、また他の薬疹型と重なる臨床所見、検査所見を解析した。この結果から、まずスティーブンスジョンソン症候群と TEN の概念を定め、次に、この概念に相当する症例を完全に網羅できる診断項目を検討し、診断基準案を作成した。

C. 研究結果

スティーブンスジョンソン症候

群と TEN の症例を検討した結果、ステーブンスジョンソン症候群では病変の主体は粘膜皮膚移行部であり表皮剥離をきたす皮膚病変が 10%以上であること、TEN では表皮剥離が体表面積の 10%を超え、皮膚粘膜移行部の病変は軽度であっても良いとした。但し、ステーブンスジョンソン症候群から TEN へ移行する症例が明らかに存在し、ステーブンスジョンソン症候群と早期に診断した場合には、その後、TEN への移行の有無につき再評価が必要であると考へた。また、TEN については 3 型のサブタイプを設け、ステーブンスジョンソン症候群進展型 (TEN with spot)、び慢性紅斑進展型 (TEN without spot)、特殊型とした。

TEN との鑑別診断が必要となる AGEP についても、症例を集めて検討した。その結果、血液検査や皮膚生検により TEN との鑑別は可能と考えられ、その項目を設定した。

DIHS は、皮疹と臓器障害のパターンから、ステーブンスジョンソン症候群、TEN との鑑別が可能であると考えられた。しかし、稀に広範囲の表皮剥離をきたし TEN との鑑別が不可能な症例の存在が判明した。この場合には TEN に含むことが妥当と考へた。

D. 考察

今後、重症薬疹は、診断基準案に基づいた診断を行い、診断基準案の妥当性を全国レベルで検討し、さらに基準に準じた治療指針を確立する必要があると考へる。

E. 結論

ステーブンスジョンソン症候群と TEN の診断基準案をそれぞれ作成した (別紙)。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Hanakawa Y, Amagai M, Shirakata Y, Yahata Y, Tokumaru S, Yamasaki K, Tohyama M, Sayama K, Hashimoto K.: Differentiatl effects of desmoglein 1 and desmoglein 3 on desmosome formation *J Invest Dermatol* 119: 1231-1236, 2002
 2. Sayama K, Yamasaki K, Hanakawa Y, Shirakata Y, Tokumaru S, Ijuin T, Takenawa T, Hashimoto K.: Phosphatidyl inositol 3 kinase is a key regulator of early phase differentiation in keratinocytes. *J Biol Chem.* 277:40390-40396, 2002
 3. 須磨升美、櫻根純子、谷口龍生、久米昭廣、東 禹彦、藤川純子、藤山幹子、橋本公二：重症度に大きな違いのみられた Hypersensitivity syndrome の 2 例。日本皮膚アレルギー学会誌 10:51-55, 2002
 4. 飯尾健司、鈴木寛丈、末木博彦、飯島正文、藤山幹子、橋本公二：臨床的に Hypersensitivity syndrome を疑ったが、HHV-6 の再活性化の認められなかったアレピアチンによる薬疹の 1 例。日本皮膚アレルギー学会誌 10:56-60, 2002
 5. 永井寛、藤山幹子、橋本公二：塩酸ロキサチジンアセタートによる苔癬型薬疹。皮膚病診療 25:173-176, 2003
 6. 藤山幹子、橋本公二：Drug-induced hypersensitivity syndrome *Visual Dermatology* 1:307-313, 2002
- 2 学会発表
Hashimoto K, Shirakata Y,