

Yamasaki K: Cre-loxP
adenovirus mediated foreign
gene expression in skin
equivalent keratinocytes.
Symposia "GENE THERAPY" 20th
World Congress of Dermatology
June 5, 2002, Paris, France

Hashimoto K, M Tohyama: HHV-6
associated drug eruption
(HADE). Symposia "CUTANEOUS
DRUG ERUPTIONS & DRUG
HYPERSENSITIVITY" 20th World
Congress of Dermatology June 1,
2002, Paris, France

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

Stevens-Johnson 症候群診断基準案

概念

発熱を伴う口唇、眼結膜、外陰部などの皮膚粘膜移行部における重症の粘膜疹および皮膚の紅斑で、しばしば水疱、表皮剥離を認める。原因の多くは、薬剤である。

主要所見（必須）

1. 皮膚粘膜移行部の重篤な粘膜病変（出血性あるいは充血性）がみられること
2. しばしば認められるびらんもしくは水疱は、体表面積の 10% 未満であること
3. 発熱。

副所見

4. 皮疹は非典型的ターゲット状多形紅斑。
5. 病理組織学的に、表皮の壊死性変化を認める。

但し、TEN への移行があり得るため、初期に評価を行った場合には、極期に再評価を行う。

主要項目の 3 項目を全てみたす場合 SJS と診断する。

Toxic epidermal necrolysis (TEN) 診断基準案

中毒性表皮壊死症

概念

広範囲な紅斑と、全身の10%以上の表皮の壊死性障害による水疱、表皮剥離・びらんを認め、高熱と粘膜疹を伴う。原因の大部分は薬剤である。

主要所見 (必須)

1. 体表面積の10%を越える水疱、表皮剥離・びらん。
2. プドウ球菌性熱傷様皮膚症候群 (SSSS) を除外できる。
3. 発熱。

副所見

4. 皮疹は広範囲のびまん性紅斑および斑状紅斑である。
5. 粘膜疹を伴う。
6. 病理組織学的に、顕著な表皮の壊死を認める。

主要3項目のすべてを満たすものをTENとする。

サブタイプの分類

- 1型：SJS進展型 (TEN with spots)
- 2型：びまん性紅斑進展型 (TEN without spots)
- 3型：特殊型

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

研究課題名：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
(課題番号：H13-ゲノム-004)

分担研究者 伊崎 誠一 埼玉医科大学総合医療センター皮膚科教授
川久保 洋 同 助教授

2002 年度の研究要旨

埼玉医科大学総合医療センター皮膚科にて 1985 年から 2002 年までに診療したスティーブンス・ジョンソン症候群 (SJS) ならびに中毒性表皮壊死融解症 (TEN、Lyell 症候群) につき、患者追跡を行い、協力可能な 6 症例について研究計画の説明を実施、書面にて承諾を得た上で DNA 抽出用の採血を行った。同時に、薬疹発症機構の文献的検討を行い、今後の研究計画遂行に際してのより効果的な方法を模索検討した。

A. 研究目的

重篤な薬剤副反応の一つとしてスティーブンス・ジョンソン症候群 (SJS) ならびに中毒性表皮壊死融解症 (TEN、Lyell 症候群) が知られているが、これらの発症素因を解明し、その発症を予防することは合理的で安全性の高い薬物療法を確立する上で喫緊の課題である。今回我々はその遺伝的背景を探る目的で症例を選択、試料を提供し、また結果解析に際しての注意点についても考察した。

B. 研究方法

1985 年から 2002 年までに当科にて経験したスティーブンス・ジョンソン症候群

(SJS) ならびに中毒性表皮壊死融解症 (TEN、Lyell 症候群) の生存例 22 症例について、研究参加への協力を要請し、またこれと並行して文献的に発症要因を研究した。

(倫理面への配慮)

当センター倫理委員会に研究計画書を提出、被検者の人権が不当に侵害されることのないよう十分注意を払った。

C. 研究結果

(サンプルの収集) 要請に応じて来院した 7 例について、文書を用いた説明を行い、同意の意思確認を書面で受領した。その後、採血を実施し、得られた献体を記号化し、検査センターに送付した。

(文献的考察) 主にサルファ剤の一種であり、しばしば重篤な薬疹を生じるスルファメトキサゾール (以下SMXと略) について検討を行い、解毒系、活性化系双方の因子についての検討が必要であることを認識した。

D. 考察

薬疹の成り立ちを考えるに際して 薬物はきわめて反応性の高い化学物質ではないことと、体内における解毒・活性化のバランスにより毒性が発現するという事を再認識する必要がある。しばしば重症型薬疹を生ずること知られているサルファ剤の一種、(Sulfamethoxazole (SMX)による薬疹を例として考える。SMX は持続性サルファ剤として、丹毒・猩紅熱・溶連菌感染症・大腸菌による腎盂腎炎に用いられている。また、ST 合剤として、ニューモシスチス・カリニ肺炎、あるいは他剤が無効あるいは使用不能な場合の肺炎、慢性尿路感染症、細菌性赤痢に用いられる。重篤な薬疹を起こす薬剤として SMX は重要である (1) が、一方に薬剤に反応を起こさない大多数の患者群があり、一方に激しい反応を起こす患者群がある。この差は薬物に対する個体の感受性の違いによるとされるが、それでは「個体の感受性」とはいったい毒性学的に何か?

SMX は代謝の過程で反応性を獲得し、近傍の蛋白に結合して細胞機能を傷害しアポトーシスに至らしめる (2-4)、あるいはその修飾された細胞が免疫系に認識されるようになる (5、6) という説が近年提唱され

ている。その際、SMXは内服後、腸管から吸収→肝臓で主にCYP2C9による酸化→ヒドロキシルアミン (SMX-HA) 生成 (7)。この SMX-HA は比較的反応性に富むものの、血中にも存在が証明される (8、9)。さらに血流に乗り末梢に到達し、末梢ではこの物質は非酵素的にさらに酸化されうる (10、11)。ヒドロキシルアミンは引き続き非酵素的に酸化され、ニトロソアミン (SMX-NO) が生じる。この物質はリンパ球をはじめとした細胞の膜に結合し (12)、蛋白を修飾、免疫原性を発揮する。SMXにより水疱を形成した患者由来のCD8陽性T細胞は、SMXではなくCYPを含んだマイクロソームとインキュベートされたSMXすなわち活性代謝産物を含む) により活性化される (13) という報告もSMXの過敏症発症には代謝的活性化が重要であることを示している。

それではこの活性化はどこで起きているのだろうか。SMXの一部は好中球、単球のミエロペルオキシダーゼ (MPO)・プロスタグランジンH合成酵素 (PHS) によって肝外組織で酸化され、SMX-HA が生成する。たとえば、SMX投与後に甲状腺機能低下症が生じ、抗ペルオキシダーゼ抗体が出現することがある (14)。甲状腺には甲状腺ペルオキシダーゼが存在するため、甲状腺組織で SMX が活性化され、ペルオキシダーゼに結合、修飾された酵素が抗原性を獲得するという経路が考えられている。さらに SMX は PHS の基質でもある。この経路

からも末梢で SMX から SMX-HA が生成する可能性が残されている。皮膚にも PHS は存在する。

一方、解毒系については N-アセチル化反応が充分速ければ、活性中間体であるヒドロキシルアミンの生成量が減ることになり、酸化反応の活性が全体として低くなる。ここで注意しなければならないのは、Sulfonamide のアセチル化と一口にいてもアセチル化反応にかかわる酵素は二種あり

(NAT1・NAT2)、それぞれに独立した遺伝的多型性があり、基質特異性、臓器分布も異なる (NAT2: 小腸・肝) ということである。サルファ剤の種類により、反応する分子種をよく考える必要がある。

さらにもう一点、酵素活性以外の因子も考慮に値する。近年 HIV 感染症患者において高率に SMX による有害反応を見ることが報告されているが、その原因を循環血中のグルタチオンの減少にもとめている報告がある (15-17)。グルタチオンは SMX-ヒドロキシルアミンの作用を減弱せしめるため、したがって、酸化反応の全体としての活性は、アセチル化反応の活性とグルタチオンの量の総和が問題となろう。

文献

1. Guillaume JC ら Arch Dermatol 1987; 123:1166-70.
2. Rieder MJ, et al. J Pharmacol Exp Ther 1988;244:724-8.
3. Rieder MJ, et al. J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol. 1995;8:134-40.
4. Hess DA, et al. FASEB J. 1999;13:1688-98.
5. Coleman JW, Blanca M. Immunol Today. 1998;19:196-8.
6. Griem P, et al. Immunol Today. 1998;19:133-41.
7. Cribb AE, Spielberg SP. Drug Metab Dispos. 1990;18:784-7.
8. Gill HJ, et al. Br J Clin Pharmacol. 1996;42:347-53.
9. Mitra AK, et al. Clin Pharmacol Ther. 1996;59:332-40.
10. Cribb AE, et al. Drug Metab Dispos. 1991;19:900-6.
11. Naisbitt DJ, et al. Bioorg Med Chem Let 1996 6: 1511-16
12. Naisbitt DJ, et al. Br J Pharmacol. 1999;126:1393-407.
13. Hertl M, Jugert F, Merk HF. Br J Dermatol. 1995;132:215-20.
14. Gupta A et al. Clin Pharmacol Ther. 1992;51:56-67.
15. Eck HP, et al. Biol Chem Hoppe Seyler. 1989;370:101-8.
16. Walmsley SL, et al. AIDS. 1997;11:1689-97.
17. Naisbitt DJ, et al. AIDS Res Hum Retroviruses. 2000;16:1929-38.

E. 結論

SMX 一剤をとってみてもこれだけ複雑多岐にわたるため、研究のアプローチとしては、全てに共通する因子を探すよりも、一定の薬剤についての反応を解析し、かつその薬剤を使用して問題となるべき所見を示すグループとそうでないグループとで、代謝系の比較をするほうが現実的であると思われた。

F. 健康危険情報 特になし

G. 研究発表 未定

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含

III 研究成果の刊行に関する 一覧表

雑誌

Shiraishi T, Hosokawa M, Kobayashi K, Tainaka H, Yamaura Y, Taguchi M, Chiba K. Effects of G169R and P34S substitutions produced by mutations of CYP2D6*14 on the functional properties of CYP2D6 expressed in V79 cells. *Drug Metab Dispos.* 30: 1201-5, 2002

Mitsunaga Y, Kubota T, Ishiguro A, Yamada Y, Sasaki H, Chiba K, Iga T. Frequent occurrence of CYP2D6*10 duplication allele in a Japanese population. *Mutat Res.* 505: 83-5, 2002

Kobayashi K, Urashima K, Shimada N, Chiba K. Substrate specificity for rat cytochrome P450 (CYP) isoforms: screening with cDNA-expressed systems of the rat. *Biochem Pharmacol.* 63: 889-96, 2002

Iwahori, T, Matsuura T, Maehashi H, Sugo K, Saito M, Hosokawa M, Chiba K, Masaki T, Aizaki H, Ohkawa K, Suzuki T. CYP3A4 inducible model for *in vitro* analysis of human drug metabolism using a bioartificial liver. *Hepatology*, 37, 665-673, 2003

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)

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.

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.

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, Shirakawa T and Izuhara K, Upregulation of IL-13 concentration in vivo by the IL13 variant associated with bronchial asthma. *J Allergy Clin Immunol* 109(6): 980-7., 2002.

Donato JL, Ko J, Kutok JL, Cheng T, Shirakawa T, Mao XQ, Beach D, Scadden DT, Sayegh MH and Adra CN, Human HTm4 is a hematopoietic cell cycle regulator. *J Clin Invest* 109(1): 51-8., 2002.

Kiyohara C, Otsu A, Shirakawa T, Fukuda S and Hopkin JM, Genetic polymorphisms and lung cancer susceptibility: a review. *Lung Cancer* 37(3): 241-56., 2002.

Ouchi K, Suzuki Y, Shirakawa T and Kishi F, Polymorphism of SLC11A1 (formerly NRAM1) gene confers susceptibility to Kawasaki disease. *J Infect Dis* 187(2): 326-9., 2003.

Hanakawa Y, Amagai M, Shirakata Y, Yahata Y, Tokumaru S, Yamasaki K, Tohyama M, Sayama K, Hashimoto K.: Different effects of desmoglein 1 and desmoglein 3 on desmosome formation *J Invest Dermatol* 119: 1231-1236, 2002

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

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

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

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

藤山幹子、橋本公二：Drug-induced hypersensitivity syndrome Visual Dermatology 1:307-313, 2002

20020414

以降は雑誌/図書に掲載された論文となりますので、
P.51-P.53の「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。