

厚生労働科学研究費補助金

萌芽的先端医療技術推進研究事業

重篤な皮膚有害事象の診断・治療と遺伝子マーカーに関する研究

平成 18 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 鹿庭 なほ子

平成18 (2007) 年 4月

研究報告書目次

目 次

I. 総括研究報告		
重篤な皮膚有害事象の診断・治療と遺伝子マーカーに関する研究	-----	1
鹿庭 なほ子		
II. 分担研究報告		
1. 症例集積のための基盤整備、有害事象の予測法の確立	-----	13
鹿庭 なほ子、小菅 治彦		
2. 重症薬疹患者の網羅的遺伝子多型解析に関する研究	-----	21
頭金 正博、黒瀬 光一		
3. 抗てんかん薬以外の薬剤による重症薬疹の患者のHLA型解析に関する研究	-----	29
斎藤 嘉朗		
4. 抗てんかん薬による重症薬疹の患者及び対照群に係わるHLA型に関する研究	-----	33
高橋 幸利		
5. 抗てんかん薬による重症薬疹の患者に関する研究		
——症例集積及び短いドデカマーリピート延長で発症する日本人		
Unverricht-Lundborg病(ULD)のCSTB遺伝子解析に関する研究	-----	37
古谷 博和		
6. 本邦における最近のStevens-Johnson 症候群と中毒性表皮壊死症の治療の現状	-----	43
に関する研究		
池澤 善郎		
7. 重症薬疹の早期診断臨床マーカーと症例集積に関する研究	-----	49
松永 佳世子		
8. カルマゼピンによる重症薬疹のHLA型解析及びタイピング検査法の開発に関する研究	-----	53
村松 正明		
9. 眼障害を伴うStevens-Johnson症候群のHLA解析に関する研究	-----	55
木下 茂		
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	59
IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	63

I. 総括研究報告

重篤な皮膚有害事象の診断・治療と遺伝子マーカーに関する研究

主任研究者 鹿庭 なほ子 国立医薬品食品衛生研究所医薬安全科学部室長

研究要旨 薬物による重篤な副作用のひとつであるスティーブンス・ジョンソン症候群(SJS)及び中毒性表皮壊死(TEN)の発症と関連する遺伝子マーカーを同定し、同マーカーの検出キットを開発する研究を開始した。

本年度は、研究の開始にあたり、プロトコルを作成し、症例集積システムなどの基盤整備を行うとともに、SJS/TENの発症と関連する遺伝子マーカーの探索を開始した。現在までに、37例の新規症例登録が行われ、29例の採血が行われた。

眼障害 SJS/TEN患者を対象として解析では、HLAクラスIのうちA0206ならびにC0304がSJS発症のしやすさと関連し、A1101が発症のしにくさと関連する可能性が高いことが示唆された。一方、新規症例については、これまでに日本人以外で重症薬疹の発症と関連すると報告されている遺伝子多型は、HLA-B*5801が1例検出されたのみであった。

分担研究者		所・分子疫学講座教授
頭金正博	国立医薬品食品衛生研究所 医薬安全科学部室長	小菅治彦 練馬総合病院皮膚科医長
黒瀬光一	同・医薬安全科学部主任研究 官	木下 茂 京都府立医科大学視覚機能再生 外科学教授
斎藤嘉朗	同・機能生化学部室長	協力研究者
高橋幸利	独立行政法人国立病院機・構 静岡岡てんかん・神経医療センター 臨床研究部	長谷川隆一 国立医薬品食品衛生研究 所医薬安全科学部部長
古谷博和	国立病院機構大牟田病院・神 経・筋センター、神経内科部長	相原道子 横浜市立大学大学院医学研 究科環境免疫病態皮膚科学 準教授
松永佳世子	藤田保健衛生大学医学部皮膚 科学教室教授	矢上晶子 藤田保健衛生大学医学部皮 膚科学講座講師
池澤善郎	横浜市立大学大学院医学研究科 環境免疫病態皮膚科学教室教授	安部正通 同助手
村松正明	東京医科歯科大学難治疾患研究	外園千恵 京都府立医科大学視覚機能 再生外科学講師

上田真由美 京都府立医科大学眼科学
 柏木麻理子 東京医科歯科大学難治疾患研究所・分子疫学講座
 池添浩二 国立病院機構 大牟田病院 神経・筋センター 神経内科
 藤井直樹 同上
 服巻保幸 九州大学生体防御医学研究所 遺伝情報実験センター ゲノム機能学
 重藤寛史 九州大学大学院医学研究院 附属脳神経病研究施設神経内科学
 吉良潤一 同上
 池田浩子 国立病院機構 静岡てんかん・神経医療センター
 山崎悦子 同上
 久保田裕子 同上
 大谷英之 同上
 四家達彦 同上
 西村成子 同上
 藤原建樹 同上

A. 研究目的

薬物による重篤な副作用のひとつに重症薬疹 {スティーブンス・ジョンソン症候群 (SJS)、中毒性表皮壊死 (TEN) 等を含む} がある。重症薬疹は、発症率こそ低いですが、80%以上の医薬品で発症することが指摘されており、SJS と TEN だけでも年間 300 例以上の副作用報告がある。SJS/TEN では、重篤な場合には死に至り、また、治癒して後も眼や肺に重い後遺症が残ることがあり、その後の QOL が著しく低下する。そのため、重症薬疹を発症しやすい体質を検出する方法を確立して、当該医薬品の投与を回避することにより発症を未然に防ぐことが

できれば、医薬品の安全な使用につながり臨床に非常に有益である。

近年の、漢民族を対象にしたカルバマゼピンやアロプリノールが原因で発症した重症薬疹の研究では、HLA-B*1502 及び HLA-B*5801 が、オッズ比が非常に高い遺伝子マーカーとして検出された (Chung WH et al., *Nature*, 428, 486 (2004)、Hung SI et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 102, 4134-4139 (2005))。しかし、これらのマーカーの日本人における発現頻度は非常に低く、漢民族で見いだされた遺伝子多型マーカーは日本人におけるマーカーとはならない可能性が高い。また、ヨーロッパ人では、カルバマゼピンで発症した SJS/TEN の患者からは、このマーカーは検出されなかった (Lonjou et al., *Pharmacogenomics J*, 6, 265-8, (2006))。このことは、日本人のために有用な遺伝子マーカーは、日本人を対象に、重症度別や薬物別等に検討する必要があることを示している。

本研究では、重症薬疹の回避のための薬物治療の個別化及び患者の QOL の向上を目的に、ケース・コントロール研究により、日本人の患者を対象として、重症薬疹を発症しやすい体質や視力障害と関連するマーカーとして遺伝子マーカーを探索し、また、有用なマーカーを用いた重症薬疹を発症しやすい体質等の検出方法を検討することとした。なお、本研究では、重症薬疹のうち、重篤性が高い SJS 及び TEN を解析対象とすることにした。

本年度は、主として症例集積や登録のためのシステム構築、症例の採用基準の作成などの基盤整備を行い、遺伝子多型と疾患との関連解析の予備解析を行った。また、

眼障害を伴う Stevens-Johnson 症候群の HLA 解析結果等についても報告する。

B. 研究方法

(1) HLA 解析

眼障害患者とその対照群の解析では、PCR-SSO (sequence-specific oligonucleotide) 法を、抗てんかん薬を原因被疑薬とする症例とその対照群の解析では、PCR-SSP(sequence specific primers) 法で、抗てんかん薬以外の薬物を原因被疑薬とする症例とその対照群の解析では、PCR-SBT (PCR-sequencing based typing) 法を用いて解析を行った。

(2) DNA マイクロアレイ解析

GeneChip® Human Mapping 250K Nsp Array の測定は、全て Affymetrix 社が作成したプロトコールに従った。使用した機器は、GeneChip® Fluidics Station 450、GeneChip® Hybridization Oven 640、GeneChip® Scanner 3000 7G で、測定機器の制御には GeneChip® Operating Software (GCOS) 1.4 client を、遺伝子型の決定には GeneChip® Genotyping Analysis Software (GTYPE) 4.1 を用いた。GeneChip® Human Mapping 250K Nsp Array から得られた遺伝子多型に関するデータは、統計計算ソフトウェア R を用いて解析した。

(倫理面への配慮)

本研究は、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実施している。全ての主任・分担研究者は、所属する機関の倫理委員会より承認を得て、研究を開始

した。試料及び個人情報、連結可能匿名化して研究者に提供されるので、本研究から個人情報が遺漏する恐れはなかった。

C. 研究結果

(1) 症例集積のための基盤整備

前述した漢民族を対象にしたカルバマゼピンやアロプリノール投薬により発症した重症薬疹の研究で検出された 2 つの遺伝子マーカーの母集団における頻度は、それぞれ 8%及び 15%であった。そこで、母集団における遺伝子マーカーの頻度を 10%、オッズ比を 10 と仮定し、DNA マイクロアレイ解析 (25 万 SNPs) による解析の多重性を考慮すると、検出力 80%を確保するためには、ケース、コントロール共に 85 例程度のサンプルサイズが必要であると計算された。これを基に、本研究での目標症例数を 100 例とすることにした。なお、コントロール群の目標例数は検出力を上げるために、200 例とする。本目標症例数を達成するために、以下のような整備を行った。

日本皮膚科学会への協力依頼

日本皮膚科学会および関連する学会と連携し症例の集積方法を確認した。

症例集積システムの構築

上記の目標症例数を確保するためには、分担研究者の所属する医療機関を受診する患者だけでは不十分であることが予測された。そこで、本研究では、厚生労働省医薬食品局安全対策課及び日本製薬団体連合会の協力を得て、全国で発生する SJS/TEN の患者の担当医に、本臨床研究へ協力を依頼するシステムを構築した。すなわち、重篤な副作用 (ここでは重症薬疹) が発生した事実を知った製薬企業は、15 又は 30 日

以内に当局へ届けでなければならないが、その際に、任意で「重症薬疹が発生した」という事実を国立医薬品食品衛生研究所医薬安全科学部（国立衛研と略す）に電子メールで報告していただく。国立衛研は、研究への協力依頼文と協力方法を示した文書を、患者の担当医へ渡すように製薬企業に依頼する。担当医が本研究への協力を申し出た場合には、製薬企業は国立衛研へ、担当医の連絡先を通知する。この知らせに基づき、国立衛研は担当医に連絡を行い、協力方法について協議を開始する。

本システムによって担当医に協力を得る場合には、患者から試料等の提供を受ける機関は、担当医の所属機関か、あるいは、国立衛研のいずれかとなる。前者は、担当医の所属機関の倫理委員会の承認を得ており、後者では担当医は採血・同意取得・診療情報の記入の補助履行のみを請け負う。

本システムで集積した症例の、重症薬疹のカテゴリーの診断は、分担研究者・池澤善郎先生の協力研究者である相原道子横浜市立大学大学院医学研究科環境免疫病態皮膚科学準教授に依頼した（登録基準は後述）。
ホームページの作成

重症薬疹の関係者へ、本研究への関心を高めてもらうことを目的に、研究班に関するホームページを作成し、症例集積の一助とした。このホームページより、製薬企業の担当者は協力依頼文を直接ダウンロードできる。

ホームページには、重症薬疹の発症に関連する因子の解析研究の概要とプロトコル、協力していただく際の手順、研究倫理申請に必要な記載事項の説明、担当医が所属の機関の説明文書を用いる場合に追加す

べき固有事項の説明、患者登録システム（UMIN）のID取得方法、本研究班の研究体制について記載し、関連する研究論文の紹介も行っている。また、皮膚科の医師であってもSJS/TENと他の薬疹との識別は難しいと言われているために、ホームページには、厚生労働科学研究補助金 難治性疾患克服研究事業の研究班（主任研究者 橋本公二先生）が作成した「Stevens-Johnson症候群診断基準 2005」及び「Toxic epidermal necrolysis (TEN) 診断基準 2005」から引用したSJS及びTENの診断基準を示し、本研究へSJS/TEN以外の疾病がなるべく登録されないように工夫した。また、リンク先のページとして、現在、日本接触皮膚炎学会へリンクを貼っている。

(2) UMIN-INDICE による患者登録システムの準備

症例登録をスムーズに進めるために、UMIN-INDICE を利用した患者登録システムを構築中である。このシステムではケースカードをアップロードできるので、主任研究者、分担研究、及び、協力研究者は、患者の診療情報を共有できる予定である。

(3) SJS/TEN 症例の登録基準の検討

SJS と TEN はいずれも水疱、表皮剥離、粘膜疹を伴う疾患であるが、近年、重症薬疹のひとつである薬剤性過敏症症候群 (drug-induced hypersensitivity syndrome: DIHS) の報告において、SJS または TEN へ移行したと記載された症例が散見されるようになった。そこで、ゲノム解析に先立ち、重症薬疹の臨床型分類をより確実にすべく、これらの症例報告におけ

る SJS と TEN および水疱形成を伴った DIHS 症例を詳細に検討した。その結果、臨床的に皮膚の水疱形成や粘膜疹が認められた症例のうち、皮膚粘膜生検の組織所見において多数の表皮細胞または粘膜上皮細胞の apoptosis や表皮全層にわたる壊死組織が認められたもののみを SJS または TEN と診断し、これらの所見を伴わない真皮上層の浮腫が主体の表皮下水疱を認めた症例は DIHS と診断することが適切であると考えられた。よって、後者は、患者の担当医が TEN または SJS と診断した場合においても、今回のゲノム解析対象から除くことが適切であると考えられた。

(4) 本年度の新規症例登録数 分担研究者による症例集積数

症例	14 例
抗てんかん薬対照症例	3 例

症例集積システムによる症例集積数

以下に、(1)で述べた症例集積システムの稼働開始日(2006年6月16日)より2007年3月15日までの9ヶ月間の集計を示す。

報告数	124 件
登録数	23 例
採血数	15 例
SJS/TEN 診断確定数	12 例

SJS/TEN 診断確定例には、軽度の SJS 及び SJS が疑われる症例も含まれる。

(5) SJS/TEN の原因被疑薬に関する調査

(1)で述べた症例集積システムでは、原因被疑薬に関しても情報を収集した。発生の報告を受けた症例では、単独の原因被疑薬としては、SJS ではアロプリノールが最も多く、ロキソプロフェンが続いていた。し

かし、いずれの薬物も TEN の原因被疑薬としては症例数が少なかった。その他の原因被疑薬としては、SJS、TEN の両副作用とも、抗生物質、非ステロイド系消炎鎮痛剤が多く、SJS では、ゾニサイドなどの抗てんかん薬、総合感冒薬、呼吸器系に作用する薬も多かった。なお、カルバマゼピンを原因被疑薬とする症例は、1例しか含まれなかった。また、登録された症例のケースカードを調べても、原因被疑薬は多数に上り、特に、一定の傾向は見られなかった。

一方、てんかん患者の薬疹の原因被疑薬や薬物アレルギー既往歴との関係について、独立行政法人国立病院機構 静岡てんかん・神経医療センターの、てんかんカルテ番号1番～21655番までの21655人を対象に、後方視的な調査が行われた。薬疹を来した症例は166例(0.77%)で、抗てんかん薬によると思われる重症薬疹が21例(0.10%)含まれる。抗てんかん薬-軽症薬疹では11.9%、重症薬疹では47.6%が複数の抗てんかん薬による薬疹を経験し、重症薬疹症例では軽症薬疹症例に比べて、複数の抗てんかん薬にアレルギーを有する症例が多い(χ^2 検定、 $p < 0.001$)が、抗てんかん薬以外の薬疹の既往については有意差がなかった。軽症薬疹の原因抗てんかん薬としては、CBZ(61例)、PHT(32例)、PB(14例)などが多く、重症薬疹症例の原因抗てんかん薬としては、PHT(12例)、CBZ(11例)、PB(5例)が多い。PHT薬疹症例では重症薬疹の頻度が高い(χ^2 検定、 $p = 0.006$)。てんかん診断で重症薬疹が起こり易いてんかん分類はなかった。

(6) 遺伝子多型との関連解析

眼障害と HLA 遺伝子多型との関連

SJS と TEN は 50%以上で重篤な眼合併症を生じ、生涯にわたる視力障害を後遺症とする。そこで今回、SJS を発症した日本人患者 40 人と健常人 113 名を対象に HLA 解析を行った。

HLA-A について A0206 が、control(GF: 8.4%, CF: 15.0%)と比較して SJS(GF: 26.3%, CF: 47.5%)で有意に増加していた(p ; GF: $p < 0.00005$, CF: $p < 0.00005$, オッズ比 ; GF: 3.9, CF: 5.1)。また、A1101 が control(GF: 11.5%, CF: 20.4%)と比較して SJS(GF: 1.25%, CF: 2.5%)で有意に減少していた(p ; GF: $p < 0.01$, CF: $p < 0.01$, オッズ比 ; GF: 0.1, CF: 0.1)。HLA-C については、C0304 が control(GF: 12.4%, CF: 23.0%)と比較して SJS(GF: 22.5%, CF: 42.5%)で有意に増加していた(p ; GF: $p < 0.05$, CF: $p < 0.05$, オッズ比 ; GF: 2.1, CF: 2.5)。

抗てんかん薬による新規重症薬疹患者における HLA 解析

カルバマゼピンを原因被疑薬とする SJS 症例 2 例及びその他の薬疹症例並びにカルバマゼピン服用非発症者を対象に、HLA 解析を行った結果、HLA-B*1502 は検出されず、また、現在の段階ではアレル頻度に Case 群と Control 群で一定の傾向はみられなかった。

抗てんかん薬以外の新規 SJS/TEN 患者における HLA 解析

解析検体数が少ないが、HLA-A では、A*3101 がケース群 5 検体 (アレル頻度 18%) で見いだされ、コントロール群では 1 検体 (アレル頻度 10%) のみであった。なお、本型の日本人におけるアレル頻度は、8-9%と報告されている。また

A*2603 はケース群 2 検体 (アレル頻度 7%) で見いだされたが、コントロール群では見いだされず、本型の日本人におけるアレル頻度は、12%と報告されている。HLA-B では、日本人では非常に稀な B*5801 が、ケース群 1 検体 (アレル頻度 7%) より見いだされた。HLA-Cw では、日本人ではまれな Cw*0302 がケース群 1 検体 (アレル頻度 4%) より検出された。DNA マイクロアレイによる網羅的遺伝子解析の予備検討

SJS/TEN の症例 (8 例) 及び対照群 (4 例) 合わせて 14 検体を対象に、DNA マイクロアレイにより、網羅的な遺伝子タイピングを行った。1 検体ごとの、Dynamic Model アルゴリズムによる call rate は、高品質の測定の基準である 93%に満たない例もあったが、全て 90%以上であった。また、フィッシャーの正確検定の結果、測定した SNPs についてはハーディー・ワインベルクの平衡に従っていない SNP はないと考えられた。

種々の解析を試みたが、症例数が少ないために、SJS/TEN 群と対照群とで、有意に頻度等が異なるアレルは検出していない。

(7) ケースレポート

藤田保健衛生大学病院において経験した 2 例の SJS の症例の原因薬剤は、1 例はロキソプロフェンナトリウムないしはアロプリノール、もう 1 例はカルバマゼピンと考えられた。前者は、γグロブリンとプレドニゾロンで、後者はステロイドパルス療法により後遺症を遺さず改善した。

(8) サザンプロット法による遺伝

子多型検出方法の予備的検討

重症薬疹に関する研究への応用を目的として、短いドデカマーリピート延長で発症する疾患（Unverricht-Lundborg 病（以下 ULD））をモデルに、遺伝子解析診断法を予備的に検討した。この疾患におけるドデカマーリピート延長部分は、著しくメチル化を受けており、しかも複雑な高次構造をとり、500～1500 塩基対のリピート延長であるために、遺伝子解析に PCR 法を適用することが出来ず、遺伝子診断が行いにくい。今回は、ミニゲル電気泳動装置 Mupid-2 を用いた、簡略かつ迅速化した改良サザンブロッティング法（特許出願中）と、Methylation specific PCR 法を組み合わせることで検出する方法を開発した。

D. 考察

本年度は、主として、SJS/TEN 発症に関連する遺伝子マーカーに関する研究を行うための基盤整備を行った。その一部として、SJS/TEN 患者集積のために、日本製薬団体連合会の協力を得て症例を集積するシステムを構築した。本システムでは必ずしも皮膚科医の診断がついた症例のみが報告されるとは限らず、データの質が懸念された。しかし、本システムで集積した 14 例中 12 例は、SJS/TEN 又は軽度の SJS と診断され、品質に関する懸念は払拭された。このことより、構築した症例集積システムは、データの質の確保も含めて十分機能していると考えられた。今年度は、待機例も含めて 37 例の新規症例を集積できたが、眼障害を伴った症例を合わすことにより、仮に、解析対象外症例による脱落を考慮しても、本研究の目標症例数は、今後の 2 年間の集

積で達成できると考えられる。

本システムで得た、SJS/TEN の原因被疑薬に関する集計では、アロプリノール、ロキソプロフェンに若干の集中が認められるものの、非常に多岐にわたっていることが明らかになった。また、現在までに集積した症例でも、原因被疑薬として特に多かった薬物はなかった。このことより、SJS/TEN の発症と関連する遺伝子マーカーの探索を、原因被疑薬毎に行うことは困難であると予測され、本研究においては、原因被疑薬による階層化は行わずに、症例を集積し解析することが適当と判断された。

前述したカルバマゼピン、アロプリノールの外に、現在までに、白人では、HLA-B*5701 がアバカビルによって発症した重症薬疹と関連があると報告されている（Martin AM et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101, 4180-4185 (2004)）。

本研究の遺伝子解析は端緒にすぎたばかりであるが、現在までに、HLA-B*5801 が 1 例検出されただけで、HLA-B*1502 あるいは HLA-B*5701 は検出されていない。一方、眼障害を有する SJS/TEN 患者を対象として解析では、HLA クラス I のうち A0206 ならびに C0304 が SJS 発症のしやすさと関連し、A1101 が発症のしにくさと関連する可能性が高いことが示唆された。これらの結果より、日本人における重症薬疹の発症と関連する遺伝子マーカーは、漢民族、白人とは異なる可能性が高く、今後、症例を集積して詳細に検討する必要がある。

重症薬疹の発症と関連する遺伝子マーカーとしては、HLA クラス I、II 以外にも MHC-class III 領域に存在する HSP70 遺伝子の多型なども報告されている（Alfirevic A

et al., *Pharmacogenet. Genomics*, 16, 287-296 (2006)). また、非常に稀な疾患には、遺伝子のコピー数異常などが原因になることも報告されているので、コピー数異常も含めて、遺伝子全体にわたって網羅的にマーカーを探索する必要があると考えられた。今回、研究班では、**GeneChip® Human Mapping 250K Nsp Array** を用いて予備的な検討を行い、得られたデータの品質が十分であることが確認できたので、今後は、検体数を増やして、本手法を用いて関連解析を進める予定である。

研究の基盤整備を終えたので、来年度以降は、集中的に症例を集積し、**HLA** 領域の遺伝子解析、薬物動態関連遺伝子、及び、網羅的遺伝子解析を本格的に開始する予定である。関連解析にあたっては、原因被疑薬、重症度、後遺症の有無、内臓障害の有無等との関連についても検討する必要があると考える。

E. 結論

研究班の初年度にあたり、プロトコールの作成、所属機関での倫理委員会の承認取得、関連学会への協力要請、症例集積システムの構築、登録時の **SJS/TEN** の診断基準の確認、患者登録システムの構築などの基盤整備を行った。現在までに、37 例の新規症例登録が行われ、29 例の採血が行われた。

眼障害 **SJS/TEN** 患者を対象として解析では、**HLA** クラス I のうち **A0206** ならびに **C0304** が **SJS** 発症のしやすさと関連し、**A1101** が発症のしにくさと関連する可能性が高いことが示唆された。一方、新規症例については、これまでに日本人以外で重症

薬疹の発症と関連すると報告されている遺伝子多型は、**HLA-B*5801** が 1 例検出されたのみであった。

謝辞

本研究の進め方等に貴重なご助言を賜りました昭和大学医学部皮膚科学教室教授 飯島 正文先生、及び、愛媛大学医学部皮膚科学教授 橋本 公二先生に深謝致します。また、本研究に協力頂きました患者様及び担当医の先生方に深謝いたします。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Yukitoshi Takahashi, Kazumi Matsuda, Yuko Kubota, Jiro Shimomura, Etsuko Yamasaki, Tatsuya Kudo, Katsuyuki Fukushima, Hitoshi Osaka, Noriyuki Akasaka, Atsushi Imamura, Shinji Yamada, Naomi Kondo, Tateki Fujiwara, Vaccination and infection as causative factors in Japanese patients with Rasmussen syndrome: Molecular mimicry and HLA class I, *Clinical & Developmental Immunology*, 2006; 13(2-4): 381-387.
2. Yukitoshi Takahashi, Infections as causative factors of epilepsy, *Future Neurology*, 2006; 1, No. 3, : 291-302.
3. 高橋幸利、知っておきたい頻用薬の上手な使い方、抗てんかん薬、医事新報、

- 印刷中.
4. 高橋幸利、西村成子、角替央野、大谷英之、四家達彦、二階堂弘輝、小田望、江川潔、池田浩子、自己免疫反応から見たてんかん予防・治療の可能性、臨床精神薬理、2007; 10: 印刷中.
 5. 高橋幸利、てんかんの免疫分子病態、Medical Science Digest, 2007; 33: 印刷中.
 6. Furuya H, Yamada T, Ikezoe K, et al. An improved method for Southern DNA and Northern RNA blotting using a Mupid-2 Mini-Gel electrophoresis unit. J Biochem Biophys Methods. 2006; 68 :139-143.
 7. Aihara M: Epidemiology of severe cutaneous adverse drug reactions in Japan, J Environ Dermatol 13:72-80,2006.
 8. 西 香織、山野朋子、山川有子、相原道子、池澤善郎：イソプロピルアンチピリンによるアナフィラキシーの1例、皮膚臨床科、48：590-591,2006.
 9. 山野朋子、山川有子、相原道子、池澤善郎：分子標的治療薬ゲフィチニブおよびイマチニブによる皮膚病変の検討：臨床皮膚科,60:771-775,2006.
 10. 山根裕美子、相原道子、池澤善郎：本邦における最近6年間のStevens-Johnson syndromeとToxic epidermal necrolysisの治療の現状と死亡例の検討、日皮会誌 投稿中
 11. Yumiko Yamane, Michiko Aihara, Zenro Ikezawa: Analysis of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in Japan from 2000 to 2006. 投稿中
 12. 池澤善郎：薬疹、膠原病・免疫・アレルギー、内科 増大号, 97:1242-1244, 2006.
 13. 池澤善郎：薬剤アレルギーのための負荷テスト、小児内科, 38:1436-1439,2006.
 14. 相原道子：最近の薬疹の動向を知る,Medicina,43:1680-1682,2006.
 15. 相原道子：SJS/TEN 2006-予後重症化の因子、皮膚アレルギーフロンティア,4：79-83,2006.
 16. 相原道子：薬疹：最近の進歩、重症薬疹の最近の動向、日皮会誌 116：2147-2150,2006.
 17. 山根裕美子、池澤善郎：抗菌薬の皮内テストのエビデンス。皮膚アレルギーフロンティア, 4:114-117, 2006.
 18. 山根裕美子、相原道子、池澤善郎：薬疹とアレルギー。臨牀看護, 32:1478-1483, 2006.
 19. Ueta M, Sotozono C, Tokunaga K, Yabe T, Kinoshita S: Strong association between HLA-A*0206 and Stevens-Johnson syndrome in the Japanese. Am J Ophthalmol, 143:367-8, 2007.
 20. Sotozono C, Ang LPK, Koizumi N, Higashihara H, Ueta M, Inatomi T, Yokoi N, Kaido M, Dogru M, Shimazaki J, Tsubota K, Yamada M, Kinoshita S: A new grading system for the evaluation of chronic ocular manifestations in patients with Stevens-Johnson syndrome.

Ophthalmology, in press.

著書

1. 高橋幸利：遺伝カウンセリング、小児てんかん診療マニュアル（高橋幸利編）、204-210、診断と治療社、東京、2006.
 2. 池澤善郎：6. 中毒性表皮壊死融解症（TEN）. A. これだけは知っておくべき薬疹の基礎知識 1. 薬疹の分類，皮膚科診療プラクティス 19 薬疹を極める（塩原哲夫，宮地良樹，瀧川雅浩編），49-53，文光堂，東京，2006.
 3. 池澤善郎：ディベート：抗菌薬の皮内テストの是非，皮膚科診療プラクティス 19 薬疹を極める（塩原哲夫，宮地良樹，瀧川雅浩編），115-118，文光堂，東京，2006.
 4. 池澤善郎：重症薬疹の病型・診断・治療. 第10章その他の非腫瘍性皮膚疾患，皮膚疾患の最新医療（齋田俊明，飯塚一，清水宏，竹原和彦，古江増隆，池田志孝，石川治，玉井克人編），208-212，先端医療技術研究所，東京，2006.
 5. 池澤善郎：106 中毒性表皮壊死症の診断と治療指針. 環境障害・電解質異常・皮膚障害の診断・治療・ケア，救急・集中治療ガイドラインー最新の診療指針ー（岡元和文編），799-801，総合医学社，東京，2006.
 6. 池澤善郎：1. 薬疹の頻度，2. 薬疹の臨床，3. 薬物アレルギー機序と薬疹の発疹型，4. 薬疹にみる薬物アレルギーの交差反応 コラム1：重症薬疹とその診断基準 コラム2：薬疹とウィルス感染，とくに伝染性単核球症のアンピシリン疹と drug-induced hypersensitivity syndrome (DIHS) について. 薬物アレルギー，薬物療法学（石崎高志，鎌滝哲也，望月眞弓編），77-86，南江堂，（東京），2006.
 7. 山野朋子，相原道子，池澤善郎：3 イレッサR・グリベックRによる薬疹. 薬疹，WHAT'S NEW in 皮膚科学（宮地良樹編），64-65，メディカルレビュー社，東京，2006.
 8. 相原道子：原因薬剤をどうやってみつけ、どの順にやめる？ What new in 皮膚科学，宮地良樹編，p66-67，メディカルレビュー社，東京，2006.
 9. 相原道子：薬疹の治療，1. 薬疹治療のストラテジー，皮膚科診療プラクティス 19 薬疹を極める，p137-140，編集 塩原哲夫他，文光堂，東京，2006.
 10. 相原道子：薬疹の治療，2. 重症薬疹の対応，皮膚科診療プラクティス 19 薬疹を極める，p141-145，編集 塩原哲夫他，文光堂，東京，2006.
 11. 松永佳世子：薬疹のパッチテストでの注意点，皮膚科診療プラクティス 19 薬疹を極める，p113-114，編集 塩原哲夫他，文光堂，東京，2006.
 12. 外園千恵：薬疹と眼障害，皮膚科診療プラクティス 19 薬疹を極める，p259-263，編集 塩原哲夫他，文光堂，東京，2006.
2. 学会発表
1. Yukitoshi Takahashi, Shigeko Nishimura, Hisano Nishimura,

- Tateki Fujiwara, Seizure predisposition and epileptogenesis in patients with Rasmussen syndrome. The 29th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, Symposium : Seizure predisposition and epileptogenesis, 2006 年 7 月 19-21 日, Kyoto.
2. 高橋幸利、西村成子、角替央野、ワークショップ 1:「てんかんと免疫」ラスムッセン症候群等のてんかんにおける自己免疫病態の診断、第 40 回日本てんかん学会、2006 年 9 月 28-29 日、金沢。
 3. Hiroyuki FUJITA, Michiko AIHARA, Naoko INOMATA, Takeshi KANBARA, Hiroyuki OSUNA and Zenro IKEZAWA : Effects of Aspirin on Food Allergy-A retrospective analysis of 32 cases and our latest case report.2nd International Drug Hypersensitivity Meeting, Liverpool, Apr 18-21, 2006.
 4. Yamane Y, Aihara M, Ikezawa Z : Analysis of Stevens-Johnson syndrome (SJS) and Toxic epidermal necrolysis (TEN) in Japan from 2000 to 2005. 2nd International Drug Hypersensitivity Meeting, Liverpool, Apr 18-21, 2006.
 5. Aihara.M,Yamane Y, Morita A,Watanabe C,Nakamura K,Ikwzawa Z:Epidemiology of severe cutaneous adverse drug reaction in Japan. International symposium of adverse drug reaction (ADR) in Yokohama Yokohama, Feb 9th,2006
 6. 相原道子：重症薬疹の最近の動向、第 105 回日本皮膚科学会総会,京都 2006.5.4
 7. 相原道子：重症薬疹の診断と治療、第 70 回日本皮膚科学会東部支部学術大会,弘前 2006.10.15
 8. 山根裕美子, 相原道子, 池澤善郎, : インターフェロン α 2b とリバビリン併用療法による薬疹の検討 日本アレルギー学会秋季大会,東京 2006.11
 9. 山根裕美子, 守田亜希子, 渡辺千恵子, 中村和子, 相原道子, 池澤善郎 : 本邦における最近 6 年間の Stevens-Johnson syndrome と Toxic epidermal necrolysis の臨床的検討 第 105 回日本皮膚科学会総会,京都 2006.6
 10. 渡辺千恵子, 高橋さなみ, 相原道子,池澤善郎 : インフルエンザワクチンによる薬疹が疑われた 2 症例. 第 36 回日本皮膚アレルギー学会総会・第 31 回日本接触皮膚炎学会総会, 淡路,2006,7.
 11. 井上雄介, 小岩克至, 小野田雅仁, 相原道子, 池澤善郎 : イソソルビドによる多形紅斑型の薬疹の 1 例. 第 36 回日本皮膚アレルギー学会総会・第 31 回日本接触皮膚炎学会総会, 淡路, 2006,7.
 12. 松木美和, 池田信昭, 神林靖子, 櫻井紀子, 西 香織, 山野朋子, 蒲原 毅, 山川有子, 松井矢寿恵, 池澤善郎 : フェノバルビタールによる中毒性表皮壊死症の 1 例. 第 36 回日本皮膚アレルギー学会総会・第 31 回日本接触皮膚

炎学会総会, 淡路, 2006,7.

3. その他

13. 外園千恵, 小泉範子, 上田真由美, 東原尚代, 稲富勉, 横井則彦, 山田昌和, 海道美奈子, 村戸ドール, 坪田一男, 木下茂:慢性期 **Stevens-Johnson** 症候群患者の視力と前眼部所見. 第 30 回角膜カンファランス, 東京, 2006.2.9.
14. 荒木やよい, 稲富勉, 外園千恵, 木下茂: **Stevens-Johnson** 症候群と中毒性表皮壊死症の初期治療の検討. 第 30 回角膜カンファランス, 東京, 2006.2.9.
15. 外園千恵, 木下茂, 白方裕司, 橋本公二: **Stevens-Johnson** 症候群および **TEN** の診断基準と眼所見. 第 40 回日本眼炎症学会, 米子, 2006.7.8.
16. 上田真由美, 外園千恵, 屋部登志雄, 徳永勝士, 木下茂: 日本における **Stevens-Johnson** 症候群の HLA 解析. 第 60 回日本臨床眼科学会, 京都, 2006.10.6.
17. 外園千恵, 上田真由美, 小泉範子, 日比野佐和子, 稲富勉, 木下茂: **Stevens-Johnson** 症候群の病歴と視力予後. 第 60 回日本臨床眼科学会, 京都, 2006.10.6.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

出願中

Mupid-2 ミニゲル電気泳動装置を用いたゲノムサザン・ノーザンブロットィング法の改良 (特許出願番号: 特願 2006-297806)

2. 実用新案登録

II. 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（萌芽的先端医療技術推進研究事業）
分担研究報告書

症例集積のための基盤整備、有害事象の予測法の確立

主任研究者 鹿庭 なほ子 国立医薬品食品衛生研究所医薬安全科学部室長
分担研究者 小菅 治彦 練馬総合病院皮膚科医長
協力研究者 長谷川 隆一 国立医薬品食品衛生研究所医薬安全科学部部長

研究要旨 厚生労働省医薬食品局安全対策課及び日本製薬団体連合会の協力を得て、全国で発症する **SJS/TEN** の症例を把握し、研究へ登録するためのシステムを構築した。本システムで集積した症例が、正しく **SJS/TEN** である確率は高く、本システムが研究対象を集積するために十分機能していることが確認できた。また、**SJS/TEN** の原因被疑薬が非常に多岐にわたることが判明した。

A. 研究目的

薬物による重篤な副作用のひとつに重症薬疹 {ステーブンス・ジョンソン症候群 (**SJS**)、中毒性表皮壊死(**TEN**)等を含む} があり、重篤な場合には死に至り、また、眼や肺に重い後遺症が残り、その後の **QOL** が著しく低下することがある。重症薬疹は、発症率こそ低い、80%以上の医薬品で発症することが指摘されており、**SJS** と **TEN** だけでも年間 300 例以上の副作用報告がある。そのために、重症薬疹を発症しやすい体質を検出する方法を確立して、当該医薬品の投与を回避することにより発症を未然に防ぐことができれば、医薬品の安全な使用につながり臨床上非常に有益である。本研究では、重症薬疹の回避のための薬物治療の個別化及び患者の **QOL** の向上を目的に、ケース・コントロール研究により、重症薬疹を発症しやすい体質や視力障害と関連するマーカーとして遺伝子マーカーを探

索し、また、有用なマーカーを用いた重症薬疹を発症しやすい体質等の検出方法を検討することとした。なお、本研究では、重症薬疹のうち、重篤性が高い **SJS** 及び **TEN** を解析対象とすることにした。

ケース・コントロール研究による遺伝子マーカー探索では、十分な症例を確保して、検出力の高い研究を行うことが研究の成否の重要な鍵となる。そこで、著者らは、研究の初年度として、発生頻度が非常に低い副作用を対象としていることを考慮して、主として症例集積の基盤整備を図ることとした。また、その過程において、重症薬疹の被疑薬に関して若干の知見を得たので報告することにする。

B. 研究方法

SJS/TEN の報告件数及び被疑薬について、2006年6月16日から2007年3月15日までに、国立医薬品食品衛生研究所・医

薬安全科学部（以後国立衛研と略す）に届けられた重症薬疹の報告について、有害事象の種類及び被疑薬の種類について、集計を行った。

（倫理面への配慮）

本研究は、国立衛研の倫理委員会より承認を得て、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実施された。試料、個人情報、連結可能匿名化して研究者に提供されたので、本研究から個人情報が遺漏する恐れはなかった。

C. 研究結果

(1) 症例集積のための基盤整備

症例集積システムの構築

本研究においては、十分な検出力を得るために、多数例のケースを集積する必要がある、分担研究者の所属する医療機関に受診する患者だけではその数を満たさないことが予測された。そこで、筆者らは、厚生労働省医薬食品局安全対策課及び日本製薬団体連合会の協力を得て、**Fig. 1** に示すような、全国で発生する **SJS/TEN** の患者の担当医に、本臨床研究へ協力を依頼するシステムを構築した。すなわち、重篤な副作用（ここでは重症薬疹）が発生した事実を知った製薬企業は、**15** 又は **30** 日以内に当局へ届けでなければならないが、その際に、任意で「重症薬疹が発生した」という事実を国立衛研に電子メールで報告していただく。国立衛研は、**Fig. 2** に示す研究への協力依頼文と協力方法を示した文書を、患者の担当医へ渡すように製薬企業に依頼する。担当医が本研究への協力を申し出た場合には、製薬企業は国立衛研へ、担当医の連絡先を通知する。この知らせに基づき、国立

衛研は担当医に連絡を行い、協力方法について協議を開始する。

担当医は、所属する医療機関の方針に従って、**(a)** 所属機関の倫理委員会の承認を得てから協力するか、**(b)** 採血・同意取得・診療情報の記入の補助履行のみを請け負う、のいずれかの方法を選択する。**(a)** の場合には、国立衛研の研究倫理計画書では、非特定共同研究機関となり、患者から血液等の提供を受ける機関は医療機関であり、個人情報管理者は担当医の医療機関に存在し、同意書は主治医が保管する。**(b)** の方法は、医療機関に倫理委員会が存在しないか、又は、倫理委員会は設置されているが症例集積協力のためのため、当該機関の倫理委員会の承認が必要ないと判断される場合に採用され、患者から血液等の提供を受ける機関は国立衛研であり、国立医薬品食品衛生研究所の個人情報管理者が匿名化番号を付与し、同意書は国立医薬品食品衛生研究所で保管する。

ホームページの作成

上記のシステムで、製薬企業から研究協力の依頼文を渡された担当医が研究への協力を判断する際の資料を提供する目的で、また、製薬企業の担当者が **Fig. 2** に示した協力依頼文を直接ダウンロードできるように、国立衛研のホームページに、重症薬疹に関するホームページを作成した。その内容は、以下の通りである。

「研究協力のお願ひ」のページから協力依頼文書をダウンロードできるが、このページには重症薬疹の発症に関連する因子の解析研究の概要も示した。「協力していただく際の手順」のページには、**Fig.2** の協力方法を示す文書と同一の内容を示した。「診断

基準」のページには、厚生労働科学研究補助金 難治性疾患克服研究事業の研究班（主任研究者 橋本公二先生）が作成した「Stevens-Johnson 症候群診断基準 2005」及び「Toxic epidermal necrolysis (TEN)診断基準 2005」から引用した、SJS 及び TEN の診断基準を示し、本研究へ SJS/TEN 以外の疾病がなるべく登録されないように工夫した。「研究倫理申請について」のページでは、非特定共同研究機関が倫理申請を行う際に必要な記載事項を示した。「同意説明文書について」のページでは、担当医が所属の機関の説明文書を用いる場合に、本研究に固有の追加事項を示した。「研究計画」のページには、詳細な研究方法を示した。

「UMIN について」のページでは、非特定共同研究機関の担当医が協力する際に必要となる、本研究での患者登録システムについて、説明を行った。「研究体制」のページには、本研究の主任・分担研究者及び協力研究者を示した。「Q&A」のページには、患者が研究に協力したい場合、倫理委員会の設置されていない医療機関の協力方法、患者の個人情報保護、対象となる疾病等について Q&A 方式で説明を行った。「関連する研究論文」では、重症薬疹発症と関連する HLA 型及び遺伝子多型に関する研究論文について、原因薬物毎に論文名を示すと共に、その要約を示した。「リンク先」のページでは、現在、日本接触皮膚炎学会へリンクを貼っている。

(2) 症例報告からの集計

症例報告数と医師協力申し出数

(1)で述べたシステムを通じて、システムの稼働開始日(2006年6月16日)より2007

年3月15日までの9ヶ月間で、製薬企業から国立衛研への患者の発生通知件数は、24件であった(Table 1)。この数から1年間の報告数を外挿で予測すると、約165件程度となる。SJS/TENの年間発症数は、300~400例と言われているので、製薬企業が任意で国立衛研へ報告する件数は、発症数の40~55%程度と考えられた。この中から、医師が本研究へ協力を申し出た件数は、36件で、約30%に相当する。しかし、筆者らが、協力を申し出た担当医に状況を確認したところ、申し出でを取り消す例、既にSJS/TENに関する治療を終え患者が来院していない例などがあり、実際には協力が不可能な例が6例存在し、具体的に協力方法の相談に至った例は29例であった。これは、報告数の23%に相当する。この中で、担当医と協力方法を協議中に患者が死亡したために、あるいは、最終的に患者の承諾が得られないために登録に至らなかった例が6例存在し、それらを除くと報告件数の約20%が、登録へ至ったことになる。

2月末までに、本システムを通じて国立衛研がDNAを取得した症例数は14症例である。内訳は、非特定研究機関を通じて取得した症例が4例、国立衛研が直接取得した症例が10例である。

SJS/TENの被疑薬

製薬企業から国立衛研へ重症薬疹の発症報告がされる際に、多くの場合は、原因被疑薬に関しても報告され、報告がない場合には問い合わせを行うなどして、可能な限り、報告時点で判明している原因被疑薬の情報を収集し、SJS/TENとして報告された症例の原因被疑薬の集計を行った。その結

果を Table 2 に示す。医薬品医療機器総合機構のホームページに公表されている 2004 年度の主な重篤皮膚疾患症例の原因被疑薬の集計では、カルバマゼピンを原因被疑薬とする症例が最も多く、続いてジクロフェナックやロキソプロフェンのような NSAIDs、そのほかの抗てんかん薬、セファム系、ニューキノロン系、マクロライド系の抗生物質、アロプリノールによる症例が多かった。それに対して、本研究における集計では、カルバマゼピンを原因被疑薬とする症例は 1 例しか含まれなかった。本研究における単独の原因被疑薬としては、SJS ではアロプリノールが最も多く、また、単独の被疑薬としてはロキソプロフェンが続いていた。しかし、いずれの薬物も TEN の原因被疑薬としては症例数が少なかった。その他の原因被疑薬としては、2004 年度の集計と同様、SJS、TEN の両副作用とも、抗生物質が多く、これには、同じく、セファム系、ニューキノロン系、マクロライド系の抗生物質が含まれる。これ以外では、SJS、TEN では NSAIDs を原因被疑薬とする症例が多く、SJS では、ゾニサイドなどの抗てんかん薬、総合感冒薬、カルボシステインなどの呼吸器系に作用する薬を原因被疑薬とする症例も多かった。

(3) 集積症例の診断結果

構築した症例集積システムで集積した症例については、担当医が記入した診療情報を基に、分担研究者である池澤善郎先生の協力研究者である相原道子横浜市立大学大学院医学研究科環境免疫病態皮膚科学準教授に疾病名を付けていただいた。14 例中 12 例は、本研究の解析対象である SJS 又は TEN、

あるいは、軽度の SJS と判定された。

D. 考察

厚生労働省医薬食品局安全対策課及び日本製薬団体連合会の協力を得て、副作用報告の機会を利用する SJS/TEN の症例を集積するためのシステムを構築したが、本システムを通じて、本年度待機症例を含め 20 例以上の症例を集積できた。待機症例も含めた本年度の実績から、研究期間中に本システムに登録される症例数は 70 例程度と予測される。皮膚科の医師であっても、SJS/TEN と他の薬疹との識別が難しいと言われているが、本システムにより集積した症例が、SJS 又は TEN と診断された確率は非常に高く (12/14、86%)、本システムが症例集積のために十分な機能を果たしていることが明らかになった。ここで構築したシステムは、重症薬疹に限らず、イデオシンクラティックな副作用を遺伝子多型、プロテオミクス、メタボノミクス等の手法から解明していくためにも、有効に使用していくことが可能と考える。

漢民族を対象にしたカルバマゼピンやアロプリノールが原因で発症した重症薬疹の研究では、HLA-B*1502 及び HLA-B*5801 が遺伝子マーカーとして検出された (Chung WH et al., Nature, 428, 486 (2004)、Hung SI et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 102, 4134-4139 (2005))。同民族におけるこれらのマーカーの頻度は、それぞれ 8%及び 15%と報告されている。そこで、母集団における遺伝子マーカーの頻度を 10%、オッズ比を 10 と仮定し、DNA マイクロアレイ解析 (25 万 SNPs) による解析の多重性を考慮してサンプルサイズを計