

increased production of TNF- $\alpha$ . Although TNF- $\alpha$  alone cannot stimulate NHEK cells to produce MIG, the combination of TNF- $\alpha$  with IFN- $\gamma$  dramatically enhances MIG production in keratinocytes and other epithelial cells.<sup>24,25</sup>

NB-UVB and BB-UVB both alter the production of cytokines and chemokines by keratinocytes, but the extents of their modulation are different from each other. On the basis of the MED and clinically used doses, NB-UVB at an 8- to 10-fold higher dose than BB-UVB is biologically comparable with BB-UVB.<sup>9</sup> When compared at these doses, NB-UVB was less stimulatory than BB-UVB for the production of proinflammatory cytokines, whereas the ability of NB-UVB to downmodulate Th2 chemokine production was rather higher than that of BB-UVB. Clinically, IL-1 $\alpha$  and TNF- $\alpha$  induce cutaneous inflammation, such as erythema and swelling.<sup>26</sup> Thus, using NB-UVB might be safer than using BB-UVB because these adverse effects could be avoided, while still retaining the suppressive effect on Th2 chemokines.

The UVB-induced suppression of Th2 chemokine production suggests that UVB exposure to the skin suppresses infiltration of Th2 cells to the epidermis. Both BB-UVB and NB-UVB are considered to be effective for the treatment of various Th2-mediated or Th2-infiltrating skin diseases, such as atopic dermatitis,<sup>26</sup> subacute prurigo<sup>27</sup> and eosinophilic pustular folliculitis.<sup>28</sup> However, the state of cultured monolayered keratinocytes is different from that of patients' multilayered keratinocytes and, thus, the *in vivo* outcome does not necessarily reflect the phenomenon observed in this study. In addition, the effects of NB-UVB on constituent cells of skin other than keratinocytes may participate in the total therapeutic action. Although psoriasis is a disorder mediated by Th1 cells,<sup>29</sup> the effectiveness of UVB is widely accepted.<sup>30</sup> In this disease, the inhibitory effects of UVB on keratinocyte proliferation, vascular proliferation and lymphocyte apoptosis may be involved in the underlying mechanisms.<sup>31,32</sup> Our study suggests that NB-UVB is more clinically beneficial than BB-UVB, even in Th2-mediated diseases.

## References

- Parrish JA, Jaenicke KF. Action spectrum for phototherapy of psoriasis. *J Invest Dermatol* 1981; 76:359-62.
- Green C, Ferguson J, Lakshmiipathi T, Johnson BE. 311 nm UVB phototherapy - an effective treatment for psoriasis. *Br J Dermatol* 1988; 119:691-6.
- Tanew A, Radakovic-Fijan S, Schemper M, Hönigsmann H. Narrowband UV-B phototherapy vs. photochemotherapy in the treatment of chronic plaque-type psoriasis. *Arch Dermatol* 1999; 135:519-24.
- Gathers RC, Scherschun L, Malick F *et al.* Narrowband UVB phototherapy for early-stage mycosis fungoides. *J Am Acad Dermatol* 2002; 47:191-7.
- Der-Petrosian M, Seeber A, Hönigsmann H, Tanew A. Half-side comparison study on the efficacy of 8-methoxypsoralen bath-PUVA versus narrow-band ultraviolet B phototherapy in patients with severe chronic atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 2000; 142:39-43.
- Scherschun L, Kim JJ, Lim HW. Narrow-band ultraviolet B is a useful and well-tolerated treatment for vitiligo. *J Am Acad Dermatol* 2001; 44:999-1003.
- Bilsland D, George SA, Gibbs NK *et al.* A comparison of narrow band phototherapy (TL-01) and photochemotherapy (PUVA) in the management of polymorphic light eruption. *Br J Dermatol* 1993; 129:708-12.
- Gibbs NK, Traynor NJ, MacKie RM *et al.* The phototumorigenic potential of broad-band (270-350 nm) and narrow-band (311-313 nm) phototherapy source cannot be predicted by their edematogenic potential in hairless mouse skin. *J Invest Dermatol* 1995; 104:359-63.
- Orimo H, Tokura Y, Hino R, Kasai H. Formation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in the DNA of cultured human keratinocytes by clinically used doses of narrowband and broadband ultraviolet B and psoralen plus ultraviolet A. *Cancer Sci* 2006; 97:99-105.
- British Photodermatology Group. An appraisal of narrowband (TL-01) UVB phototherapy. *Br J Dermatol* 1997; 137:327-30.
- Young AR. Carcinogenicity of UVB phototherapy assessed. *Lancet* 1995; 345:1431-2.
- Kupper TS, Chua AO, Flood P *et al.* Interleukin-1 gene expression in cultured human keratinocytes is augmented by ultraviolet irradiation. *J Clin Invest* 1987; 80:430-6.
- Kondo S, Sauder DN, Kono T *et al.* Differential modulation of interleukin-1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ) and interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) in human epidermal keratinocytes by UVB. *Exp Dermatol* 1994; 3:29-39.
- Schwarz A, Bhardwaj R, Aragane Y *et al.* Ultraviolet-B-induced apoptosis of keratinocytes: evidence for partial involvement of tumor necrosis factor- $\alpha$  in the formation of sunburn cells. *J Invest Dermatol* 1995; 104:922-7.
- McLoone P, Man I, Yule S *et al.* Whole-body UVB (TL-01) or UVA-1 irradiation does not alter the levels of immunomodulatory cytokines in the serum of human volunteers. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2004; 20:76-80.
- Sigmundsdottir H, Johnston A, Gudjonsson JE, Valdimarsson H. Narrowband-UVB irradiation decreases the production of pro-inflammatory cytokines by stimulated T cells. *Arch Dermatol Res* 2005; 297:39-42.
- Rossi D, Zlotnic A. The biology of chemokines and their receptors. *Annu Rev Immunol* 2000; 18:217-42.
- Kobayashi M, Shimauchi T, Hino R, Tokura Y. Roxithromycin downmodulates Th2 chemokine production by keratinocytes and chemokine receptor expression on Th2 cells: its dual inhibitory effects on the ligands and the receptors. *Cell Immunol* 2004; 228:27-33.
- Sallusto F, Lenig D, Mackay CR, Lanzavecchia A. Flexible programs of chemokine receptor expression on human polarized T helper 1 and 2 lymphocytes. *J Exp Med* 1998; 187:875-83.
- Boukamp P, Petrussevska RT, Breitkreutz D *et al.* Normal keratinization in a spontaneously immortalized aneuploid human keratinocyte cell line. *J Cell Biol* 1988; 106:761-71.
- Gordon PM, Saunders PJ, Diffey BL, Farr PM. Phototesting prior to narrowband (TL-01) ultraviolet B phototherapy. *Br J Dermatol* 1998; 139:811-14.
- Cousins DJ, Lee TH, Staynov DZ. Cytokine coexpression during human Th1/Th2 cell differentiation: direct evidence for coordinated expression of Th2 cytokines. *J Immunol* 2002; 169:2498-506.
- Tsuda T, Tohyama M, Yamasaki K *et al.* Lack of evidence for TARC/CCL17 production by normal human keratinocytes *in vitro*. *J Dermatol Sci* 2003; 31:37-42.
- Kraft M, Riedel S, Maaser C *et al.* IFN- $\gamma$  synergizes with TNF- $\alpha$  but not with viable *H. pylori* in up-regulating CXC chemokine secretion in gastric epithelial cells. *Clin Exp Immunol* 2001; 126:474-81.

8 Inhibition of Th2 chemokine production by UVB, R. Hino *et al.*

- 25 Granstein RD, Margolis R, Mizel SB, Sauder DN. In vivo inflammatory activity of epidermal cell-derived thymocyte activating factor and recombinant interleukin 1 in the mouse. *J Clin Invest* 1986; 77:1020-7.
- 26 Leung DY. Atopic dermatitis: the skin as a window into the pathogenesis of chronic allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 96:302-18.
- 27 Tokura Y, Yagi H, Hanaoka K *et al.* Subacute and chronic prurigo effectively treated with recombination interferon- $\gamma$ : implications for participation of Th2 cells in the pathogenesis of prurigo. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 1997; 77:231-4.
- 28 Fushimi M, Tokura Y, Sachi Y *et al.* Eosinophilic pustular folliculitis effectively treated with recombinant interferon- $\gamma$ : suppression of mRNA expression of interleukin 5 in peripheral blood mononuclear cells. *Br J Dermatol* 1996; 134:766-72.
- 29 Schlaak JF, Buslau M, Jochum W *et al.* T cells involved in psoriasis vulgaris belong to the Th1 subset. *J Invest Dermatol* 1994; 102:145-9.
- 30 Lebwohl M, Ali S. Treatment of psoriasis. Part 1. Topical therapy and phototherapy. *J Am Acad Dermatol* 2001; 45:487-98.
- 31 Krueger JG, Wolfe JT, Nabeya RT *et al.* Successful ultraviolet B treatment of psoriasis is accompanied by a reversal of keratinocyte pathology and by selective depletion of intraepidermal T cells. *J Exp Med* 1995; 182:2057-68.
- 32 Ozawa M, Ferenczi K, Kikuchi T *et al.* 312-nanometer ultraviolet B light (narrow-band UVB) induces apoptosis of T cells within psoriatic lesions. *J Exp Med* 1999; 189:711-18.

アレルギー 55 (11), 2006

## 光アレルギーの発症機序と対策

産業医科大学皮膚科学教室

戸倉新樹

日本アレルギー学会

[綜説]

## 光アレルギーの発症機序と対策

産業医科大学皮膚科学教室

戸倉新樹

光アレルギー機序で発症する疾患には、光接触皮膚炎、薬剤性光線過敏症、日光蕁麻疹、慢性光線性皮膚炎(CAD)がある。通常のアレルギーには、接触皮膚炎、薬疹を代表とするように抗原物質が明瞭なものと、アトピー性皮膚炎、蕁麻疹などのように必ずしもアレルゲンを決定しえないものがある。この事情は光アレルギーについても同様であり、光接触皮膚炎、薬剤性光線過敏症は抗原となる光感受性物質が明らかであり、その他は明確でない疾患となる。光接触皮膚炎は、抗原が皮膚に塗られて、紫外線が当たって発症し、薬剤性光線過敏症は抗原が薬剤という形で経口投与されて、紫外線が当たって発症する。光接触皮膚炎の原因には、ケトプロフェン、スプロフェンやサンスクリーン剤がある。診断は光貼布試験が決め手となる。薬剤性光線過敏症の原因には、ニューキノロン、ピロキシカム、降圧利尿薬、チリソロール、メチクランをはじめとして多くの薬剤がある。原因物質は光ハプテンとしての性格を持っており、内服照射試験と光貼布試験を行う。CADは、外因性光抗原を原因としない自己免疫性光線過敏症と呼ぶべき疾患で、時にHIV陽性者、ATL患者に発症する。CADの病変組織にはCD8<sup>+</sup>T細胞が浸潤している。CD4<sup>+</sup>T細胞の数的・機能的減少がCD8<sup>+</sup>T細胞を暴走させCADを誘導する可能性がある。

Key words : drug photoallergy — photoallergy — photocontact dermatitis

はじめに

外因性光アレルギー性物質の光抗原形成機序

光線過敏症は、太陽光線に当たった皮膚が赤くなるなどの異常な反応を起こす疾患の総称である。光線過敏症の原因は多種多様であり、表1のように分けられる。ここで論じようとする“光アレルギー”を起こす疾患は、外因性光感受性物質による疾患(光接触皮膚炎、薬剤性光線過敏症)、慢性光線性皮膚炎、日光蕁麻疹が中心となる。通常のアレルギーには、薬疹、接触皮膚炎を代表とするように抗原物質が明瞭なものと、アトピー性皮膚炎、蕁麻疹などのように必ずしもアレ

表1 光線過敏症の原因別分類

1. 外因性物質によるもの  
光接触皮膚炎、薬剤性光線過敏症
2. 内因性物質によるもの  
骨髄性プロトポルフィリン症、晩発性皮膚ポルフィリン症、ペラグラ、Hartnup病
3. DNA修復機構の異常  
色素性乾皮症、Cockayne症候群、など
4. EBウイルス関連(T/NK活性化)  
種痘様水疱症(種痘様水疱症様皮疹)
5. I型アレルギーまたはヒスタミン誘発性  
日光蕁麻疹
6. メラニン色素減少による閾値低下  
白皮症、フェニルケトン尿症
7. 自己免疫性  
慢性光線性皮膚炎(HIV陽性者、ATL患者)
8. 日光により増悪ないし誘発される疾患  
エリテマトーデス
9. その他  
多形日光疹(小丘疹性日光疹)

下線は少なくとも一部は光アレルギー機序で起こるもの。

### PATHOPHYSIOLOGY AND TREATMENT OF PHOTO ALLERGY

Yoshiki Tokura

Department of Dermatology, University of Occupational and Environmental Health

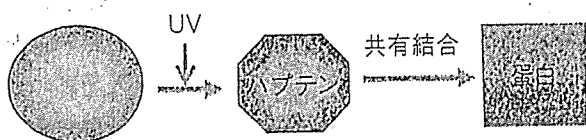
Abbreviations : CAD chronic actinic dermatitis ; LC Langerhans cell ; UV ultraviolet light

戸倉新樹 : 産業医科大学皮膚科学教室 [〒807-8555

北九州市八幡西区医生ヶ丘1-1]

E-mail : tokura@med.uoeh-u.ac.jp

## 1. Prohaptten (プロハプテン)



## 2. Photohaptten (光ハプテン)

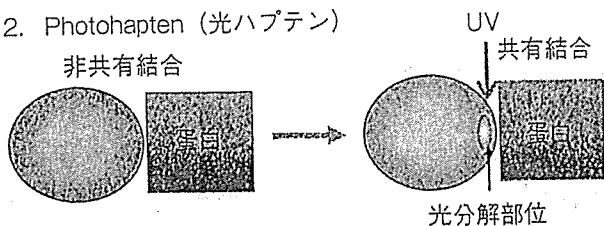


図1. 光アレルギー性に関する2つの説.

ルゲンを決定しえないものがある。この事情はまさに光アレルギーについても同様であり、薬剤性光線過敏症、光接触皮膚炎は抗原となる光感受性物質が明らかであり、その他の疾患は明確でない<sup>1)2)</sup>。

光アレルギーのひとつの特殊性として、光がアレルギー症状発現に必須であるため、光が当たる臓器すなわち皮膚だけが病変形成の場となる。すなわち、光アレルギーの症状は皮膚炎のみである。別の見方をすれば光アレルギーは皮膚アレルギー獲得のメカニズムを比較的純粋に調べることのできるシステムということもできる。

通常の抗原とは異なり、光アレルギー性物質が抗原となるには紫外線 (UV) 照射が必要となる。この紫外線的作用による抗原性の獲得については古くよりいくつかの考えが提唱されてきたが、大きく2つの説に集約される<sup>3)</sup>。ひとつはプロハプテンであり、もうひとつは光ハプテンという概念である (図1)。プロハプテン説は、光アレルギー性物質はUV照射により化学構造の変化が起き、通常のアプテンのごとくなり、蛋白との結合能力を獲得する、という単純明快な説である。一方、光ハプテン説は、紫外線照射がなされるとその化学構造の一部が光分解され、その分解と同時に近傍の蛋白と共有結合し完全抗原ができあがるという考えである。したがって予めUVAを照射した物質が蛋白と結合すればプロハプテン、一方、その物質と蛋白との共存下でUVAを照射し両者が共有結合すれば光ハプテンということになる。

多くの光抗原は光ハプテンとしての性格を持っている。従って、当該物質が光線過敏症の原因になっているかを検証する時は、まず物質を皮膚に塗って置いて、

そこに紫外線を当てる方法、すなわち光貼布試験 (光パッチテスト) を行う。予め当該物質に紫外線を当てておいて、それを普通の貼布試験 (パッチテスト) する方法、これはプロハプテンの証明方法であるが、この方法は通常とらない。

以下、光接触皮膚炎、薬剤性光線過敏症、そして慢性光線性皮膚炎の3疾患について述べたい。

## I. 光接触皮膚炎

## 1. 概念

接触皮膚炎はある物質が皮膚に接触し、それによって生ずる皮膚炎であり、俗にいう“かぶれ”である。皮膚炎が惹起されるのに、光を必要とするタイプのかぶれがあり、これを光接触皮膚炎と呼称している。すなわち、この“光かぶれ”ではある物質が接触した皮膚に太陽などの光が照射され皮膚炎が生ずる。

通常の接触皮膚炎に、一次刺激性 (毒性機序) とアレルギー性 (免疫学的機序) のものがあるように、光接触皮膚炎にも光毒性接触皮膚炎、光アレルギー性接触皮膚炎の2つの型がある。光毒性とは物質にUVが当たり、それによって活性酸素が発生し組織・細胞傷害をもたらすものである。細胞の構成成分には、DNAへの損傷あるいは結合、脂質過酸化反応、蛋白への結合あるいは変性を起こす。したがって炎症は起こるであろうが、特異的免疫反応が起こったわけではなく、感作も必要としない。一方、光アレルギー性接触皮膚炎は光抗原特異的な免疫反応機序によって起こったものであり、感作を必要とし、T細胞が媒介するものである。

## 2. 臨床症状

一般に光線過敏症は、顔面、項部、上胸部V領域、手背などの露光部位に限局して皮疹がみられる。しかし光接触皮膚炎の場合、原因物質が塗布された部位にのみ症状が起こるため、こうした露光部位全般に皮疹が見られることは少ない。むしろこれらの一部にのみ皮疹が生ずる。例えば、前腕にスプロフェン軟膏を塗布した場合は前腕のみに、肩にケトプロフェン湿布を貼った場合にはその部位に四角形に (図2) 皮膚炎が認められる。皮疹の性状は紅斑が主体であるが、水疱を形成することもある。ケトプロフェン湿布剤による光接触皮膚炎は、同薬が貼られてからたとえ数週間以上経ても、貼布部位に紫外線が当たると強い皮膚炎が生ずるのが特徴である。症状が甚だしい場合は自家感作性皮膚炎に移行することがあり、元の塗布・貼布部位

を越えて湿疹性病変が拡大，散布する。

3. 原因物質

表2に光接触皮膚炎の原因物質を掲げる。これらの物質による光接触皮膚炎のほとんどは光アレルギー性機序で発症する。殺菌剤として掲げた化学物質の大部分はサリチルアニリド，とくにハロゲン化サリチルアニリドであり，TCSAが代表的な物質である。サリチルアニリドはソープ剤，シャンプーに含まれて過去広く使用された。香料であるムスクアムブレットによる患者も，一時期，主要な原因となった。日光から保護

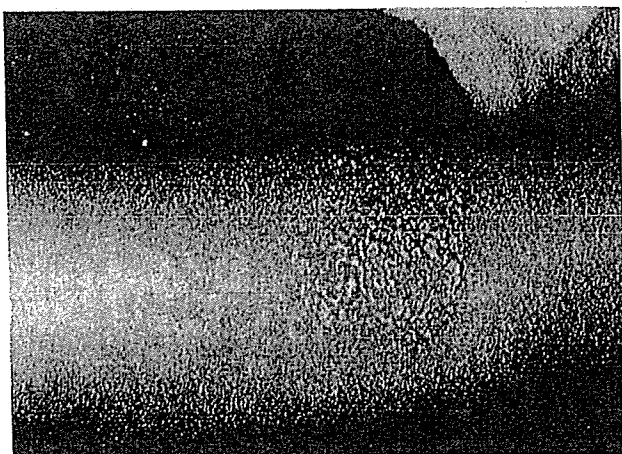


図2. ケトプロフェンによる光接触皮膚炎。

する目的で使用されるサンスクリーン剤は，皮肉なことに光接触皮膚炎の原因になり，現在でも時としてこうした患者をみかけ，歴史的にはベンゾフェノンが有名であった。現在，このサンスクリーン剤以上に問題となっているのが，治療用の非ステロイド外用剤であり，とくに湿布薬として使われるケトプロフェンや塗布薬としてのスプロフェンによるものが多い。

それぞれの光感受性物質が光毒性，光アレルギー性物質に排他的に分けられるものではない。TCSAは光アレルギー能が高いが，光毒性も強い。しかしそれぞれの物質において両性質の強さに偏重はあり，例えば光化学療法であるPUVA療法に使われるソラレンは，光毒性は強いが光アレルギー性反応は起こしにくい。光アレルギー性物質がアレルゲンすなわち抗原性を発揮するためには紫外線照射による構造の変化と蛋白との結合が必要であり，この変化に伴い多かれ少なかれ光毒性反応が起こる。したがって一般に光アレルギー性物質は光毒性も有している。しかし逆に光毒性物質が光アレルギーを惹起するとは限らない。

4. 免疫学的機序

光アレルギー性接触皮膚炎は免疫学的機序の根幹部分において普通の接触皮膚炎と同じであり，T細胞が媒介する過敏症である<sup>4)</sup>(図3)。皮膚に感作物質が接触しUVAが照射されると，表皮細胞である角化細胞も

表2 光接触皮膚炎の原因物質

<p><u>殺菌剤</u></p> <p>tetrachlorosalicylanilide (TCSA)                  dibromosalicylanilide (DBS, dibromosalan)                  tribromosalicylanilide (TBS)                  bithionol (thiobisdichlorophenol)                  trichlorocarbanilide (TCC, triclocarban)                  trifluoromethyl-dichlorocarbanilide (TFC)                  hexachlorophene                  chloro-2-phenylphenol (Dowicide 32)                  fenticlor (thiobischlorophenol)                  multifingin (bromochlorosalicylanilide)                  jadtit (buclosamide, butylchlorosalicylamide)                  triclosan                  chlorhexidine                  dichlorophene                  sulfanilamide</p>	<p><u>香料</u></p> <p>musk ambrette                  6-methylcoumarin                  sandalwood oil</p> <p><u>サンスクリーン</u></p> <p>para-amino-benzoic acid (PABA)                  octyl-dimethyl PABA (padimate O)                  amyl-dimethyl PABA (padimate A)                  glycerol PABA                  Benzophenone                  (benzophenone-3 = oxybenzone)                  butyl-methoxydibenzoylmethanes                  (Parsol 1789)                  digalloyl trioleate                  cinnamates (cinoxate)</p> <p><u>治療外用剤</u></p> <p>ketoprofen                  suprofen</p> <p><u>毛染め</u></p> <p>paraphenylenediamine (PPD)</p>
---	---

毒性物質としてはソラレンとコールタールあり。

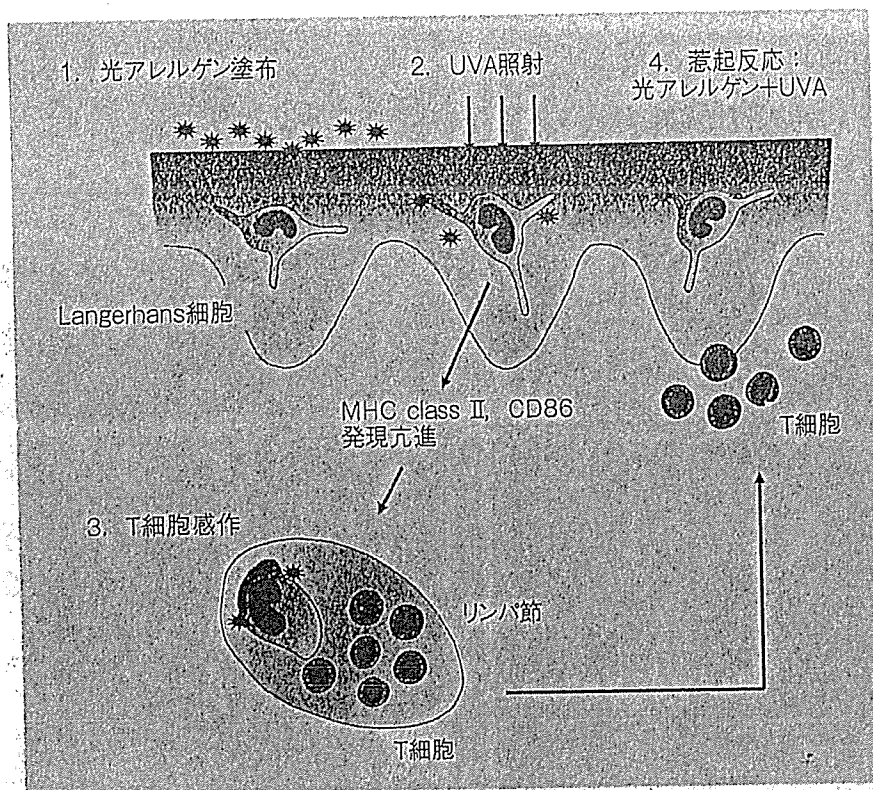


図3. アレルギー性光接触皮膚炎のメカニズム.

Langerhans細胞(LC)も、その細胞膜上の蛋白が感作物質と共有結合する。光抗原を担ったLCは、リンパ節に移動しT細胞へ抗原提示をする。このように感作成立には一般の接触皮膚炎と同様に表皮LCが必要となる。この際、光抗原がLC上のMHCクラスII分子に直接光結合するのか、クラスII分子によって表出された自己ペプチドに光結合するのかは明確にされていない。また光ハプテンはUVA照射下でLCに作用してその抗原提示能を促進させる変化、すなわちMHCクラスII分子のみならず、CD54、CD80、CD86といった共刺激分子の発現増強を引き起こす<sup>5)</sup>。最終的なT細胞の反応としては、通常の接触皮膚炎と同様にCD4陽性T細胞もCD8陽性T細胞も皮膚炎の惹起に関わっていると考えられる<sup>6)</sup>。

マウスのTCSAアレルギー性接触皮膚炎は、特定の主要組織適合抗原複合体(MHC)遺伝子ハプロタイプを持ったマウスの種類に誘導される。従って本疾患の発症には個々人のHLAが関与していると考えられる<sup>7)</sup>。

## 5. 検査

光貼布試験を行う。これは通常の貼布試験の操作に続いてUV照射を加えたものである。被検物質の密封

貼布を24時間(または48時間)行い、普通の貼布試験の判定を行ったあと、同部に紫外線を照射する。光アレルギー性接触皮膚炎の作用波長はUVAであることがほとんどであり、通常UVAを0.5~3J/cm<sup>2</sup>照射する。24時間後(または48時間後)に判定する。貼布解除時点での反応が陰性で、紫外線照射後陽性になった場合、光貼布試験陽性と判定する。対象として通常の貼布試験も併行して実施する。

## 6. 治療

第一に皮疹部への日光曝露を避けるように指導する。特にケトプロフェン外用剤の場合は数週間の遮光を徹底する。薬物療法としては、ステロイド外用薬が基本である。症状に応じて抗ヒスタミン薬、抗アレルギー薬の内服を併用する。水疱形成が顕著であったり、また散布疹がみられ自家感作性皮膚炎に移行した場合はステロイドの内服を行う。

## II. 薬剤性光線過敏症

### 1. 概念

内服薬剤とUV照射によって起こる光線過敏症である。一方では薬疹という分類の観点からもとらえることができ、光線過敏型薬疹とも呼ぶ。両者は同義語で

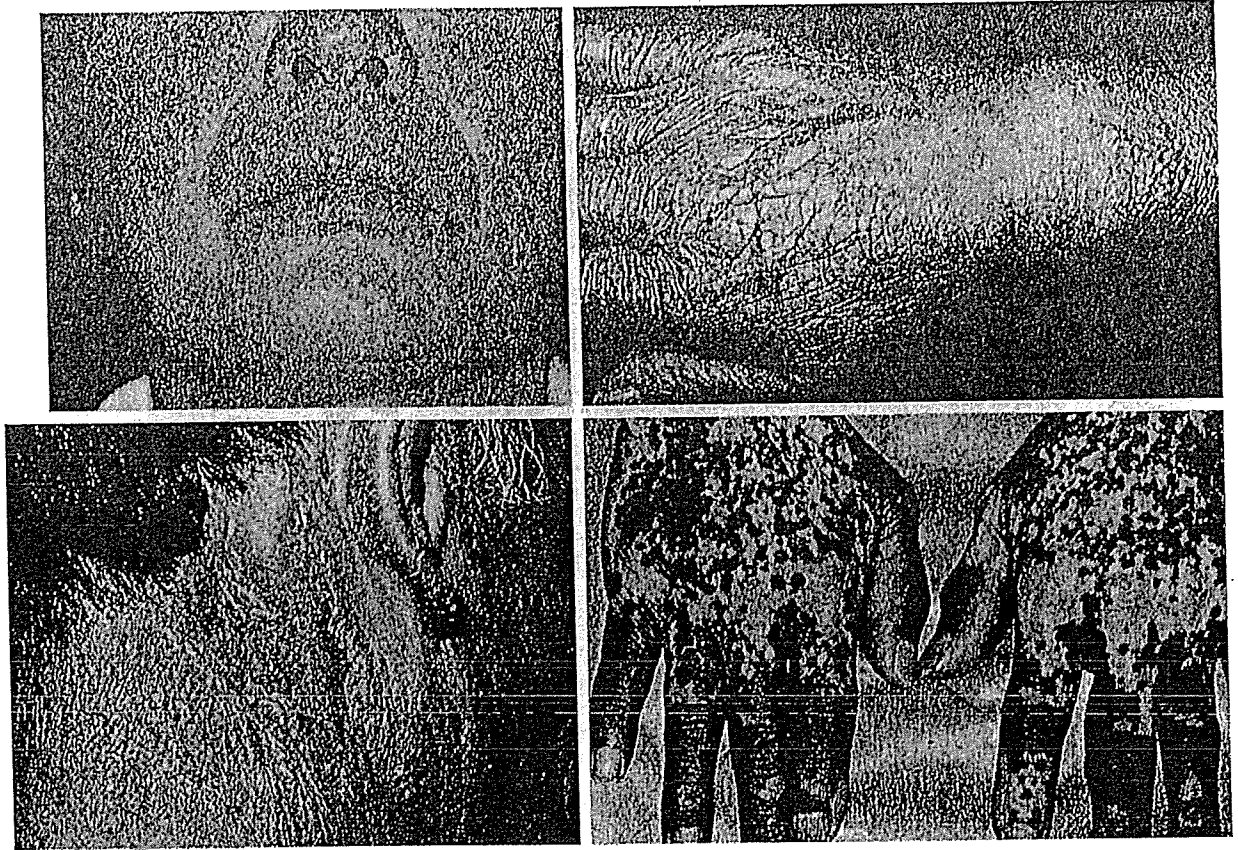


図4. 薬剤性光線過敏症の臨床像。

ある。

## 2. 臨床症状と病理所見

年齢分布では60～70歳台の高齢者に多い。通常、薬剤内服中に戸外で日光に曝露されたというエピソードがあつて発症する。老人ではいつ日光に曝されたかははっきりしないことも多く、また病室の窓際にベッドが位置していたために起こることもある。皮疹の分布に特徴があり、顔面、口唇とくに下口唇、耳介、頂部、上胸部V領域、手背（図4）などの露光部位に限局して皮疹がみられる。半袖、半ズボンで日光に曝露された時には、前腕伸側、下肢伸側にも皮膚炎は生じ、またサンダル、下駄履きの場合には、足背にも皮疹が生ずる。

光毒性反応は日焼け（サンバーン）様発疹をとり、光アレルギー性の場合には、浮腫性紅斑、水疱、扁平苔癬様皮疹などさまざまである。扁平苔癬様皮疹の性状は、紅斑ではあるが色が紫がかっていることにあり、急性反応的でないため、しばしば光線過敏症を思い浮かべることが難しい（図4、右上）。色素沈着と色素脱失が混在する病変は、白斑黒皮症と称される（図4、右

下）。原因である薬剤内服を中止することが遅れ、長期に光線過敏性皮膚炎を患った患者に多い。すでに完成してしまっている状態では難治である。

## 3. 原因薬剤（表3）

薬剤の使用に流行り廃れがあり、その頻度のランキングは数年単位で大きく変化することがある。例えば1980年代後半はアフロクェロンによる光線過敏症が多くみられたが、使用の低下に伴い頻度は減少した。古典的ではあるがピロキシカム、降圧利尿薬も頻度的に重要であり、5-FU、クロールプロマジン、トルプタミドなども併せ、現在でも原因となりうる光線過敏性薬剤である。グリセオフルビンは最近使用されなくなり、ほとんど同薬による光線過敏症をみない。チリソロール、メチ克蘭は最近10年以内に話題になった。最近ではニューキノロン系抗菌剤によるものが多くみられる。

## 4. 発生機序

薬剤による光線過敏症は一般の光感受性物質と同様に、光毒性反応と光アレルギー性反応に分けられる。光毒性反応は感作期間を必要としないため、薬剤内服



表3 光線過敏症を起こす薬剤の頻度順位

・1. スバルフロキサシン	104	・15. フロセミド	9
・2. ピロキシカム	85	・15. クロレラ	9
・3. フレロキサシン	50	・17. ドキシサイクリン	8
・4. アフロクァロン	37	・17. カルバマゼピン	8
・5. グリセオフルビン	35	・19. チアプロフェン	6
・6. エノキサシン	33	・19. ジルチアゼム	6
・7. ロメフロキサシン	31	・19. サラゾスルファピリジン	6
・7. テガフル・テガフルウラシル	31	・22. ヒドロクロロチアジド	5
・9. アンピロキシカム	25	・22. ダカルバジン	5
・10. チリソロール	22	・22. イソニアジド	5
・11. メキタジン	18	・22. ピリドキシシン	5
・12. メテ克蘭	14	・22. プロメタジン	5
・13. フルタミド	11	・22. ジブカイン	5
・14. クロルプロマジン	10		

福田英三著「薬疹情報」1980-2002 (23年間) より渉猟. 数字は例数.

後、初回日光曝露でも皮疹が生ずる。光アレルギー性反応は感作が必要である。従来、光毒性機序が誇張されてきたが、これは光毒性を検知する方法が多くあるのに対し、光アレルギーを調べることが困難であったことによる。臨床的には光アレルギー機序で起こっていることが多い。光アレルギー性物質は光毒性をも併せ持つことが一般的であり、ある薬剤による光線過敏症が光毒性機序で起こっているのか光アレルギー性であるのかは必ずしも明確には分けられないこともある。

作用波長は特にUVAが重要であるが、スルファニルアミド、ラニチジンなど極く一部の薬剤ではUVBが作用波長のことがある。ニューキノロンの作用波長も他の光線過敏性薬剤と同様にUVAであることが多く、UVBでは長波長部のみ作用波長に関わっている。しかしスバルフロキサシンの光毒性皮膚炎において、UVAとUVBの共同作用(photoaugmentation)により、顕著な紅斑を誘発することが判明している。一般に光毒性反応においては、作用波長はその薬剤の吸収波長に一致するが、光アレルギー反応では、作用波長は吸収波長より長波長域となる。

スルファニルアミドなどではプロハプテンであることが示唆されているが、光アレルギー性物質のかなりの部分は光ハプテンである。ニューキノロン<sup>8)-13)</sup>やアフロクァロンは光ハプテンであることが確認されている。光ハプテン能の検討は光アレルギー性物質の性格を検討する上で最も重要である。ニューキノロンはリジンに光結合する選択性が高く、恐らくアミノ基に結合することが示唆される。従って、リジン側鎖やN

末端のアミノ基に光結合しその抗原性を発揮すると考えられる。

マウスモデルを用いた検討によれば、全身投与された薬剤は表皮に到達し、UVAを照射すると薬剤光産物が表皮細胞上に形成される。すなわち薬剤は真皮側から表皮に拡散し、角化細胞とLCに達し、UVA照射によりこれらの細胞は光抗原を担うことになる。このうちLCがT細胞の感作・惹起を導くことが明らかにされており、薬剤性光線過敏症においても光接触皮膚炎と同様にLCは抗原提示細胞の役割を担っている。T細胞の活性化により皮膚炎が起こるが、薬剤で光修飾されたケラチノサイトも標的細胞となり、種々の組織型を呈すると考えられる。

##### 5. 代表的薬剤の特徴

ニューキノロンは6位にフッ素があるため国外ではフルオロキノロン(fluoroquinolone)と一般的に呼ばれている。光毒性と光アレルギー性を合わせ持つ薬剤である。光毒性は8位のフッ素が貢献すると考えられ、これを有するものは光毒性が強い。光アレルギー性は光ハプテンであることによるが、7位のピペラジン環が光分解を受け、蛋白と共有結合するために生じる可能性がある。臨床的にはほとんどの場合、光アレルギー反応である。しかしスバルフロキサシンは特殊性があり、光ハプテンとしての性格は他のキノロンほどではないが光毒性は非常に強い。同剤による光線過敏症の頻度が高いのはこの光毒性の強さによる。フレロキサシンは光ハプテンとプロハプテンの両方の性格を持っている。

光アレルギー性反応において、各ニューキノロン間

では光交叉反応を起こすことが臨床的にも動物実験でも知られている。したがってあるニューキノロンで光線過敏症を起こした場合、他のニューキノロンの使用も避けるべきである。またあるニューキノロンを内服して光線過敏症を生じた時、はたして感作もその薬剤が誘導したかは分からない。感作、惹起が別々の薬剤で引き起こされた可能性がある。

ピロキシカム、アンピロキシカムによる光線過敏症患者では、チメロサル、チオサリチル酸の接触皮膚炎を経験したことがある患者がおり、これら2剤あるいはどちらかに貼布試験で陽性になることが多い。ピロキシカム自体は光ハプテンとしての性格を持っており、予めUVA照射したピロキシカムを患者皮膚に貼布しても陽性反応を得られない。しかしそのプロドラッグであるアンピロキシカムは、UVAを照射した後に患者に貼布試験することにより陽性反応を導く。このことはピロキシカムは光ハプテンであるのに対しアンピロキシカムはプロハプテンであることを示している。

テトラサイクリン系薬剤のなかでは、デメチルクロルテトラサイクリンとドキシサイクリンは特に強い光線過敏性物質であり、本邦では恐らく使用頻度が高いためドキシサイクリンの報告が多い。テトラサイクリンとオキシテトラサイクリンの光毒性はこれら二者より弱い。ミノサイクリンは光毒性がさらに弱いかあるいは検知できないため、光線過敏性皮膚炎はまず起こさない。

#### 6. 検査

内服照射試験は、薬剤を内服した後に紫外線の照射を行う。薬剤内服後、皮膚での濃度が最高値に達するまでの時間についてのデータはほとんどの薬剤で無い。従って、薬剤内服後、血中濃度が最高になる時間を参考に内服から照射までのタイミングを決める。通常、朝内服して午後に照射する。照射はUVAとUVBそれぞれの人工光源を用いて行うが、前述のようにUVAが作用波長であることがほとんどであり、UVA照射で誘発されることが多い。通常UVAを0.5~2J/cm<sup>2</sup>照射する。しかし光毒性反応において、薬剤によってはUVAとUVBの両者を連続的に照射することにより紅斑が誘発されることがあるので注意を要する。

光貼布試験は、薬剤を皮膚に貼布してその部位に紫外線を照射する方法である。貼布試験と同様の要領で、皮膚に被験物質を密封塗布する。24~48時間貼ったあ

と剥がし、通常の接触皮膚炎を起こしていないことを確認するための判定を行う。判定後、貼った部分に光を当てる。作用波長はUVAであることが圧倒的に多いため、照射24時間、48時間後に判定する。剥がした時の判定が陰性で、光を照射することによって増強した場合、光貼布試験陽性となる。

#### 7. 治療

原因物質を決定し除去することにより根本的な治療となる。しかし薬剤を中止してからも2,3カ月光線過敏症が持続することがある。過敏症状が消失するまで遮光が必要となる。急性期では抗アレルギー薬または抗ヒスタミン薬を内服する。ステロイド外用薬を症状の程度にあわせて塗布する。

白斑黒皮症ですでに色素沈着と色素脱失が完成してしまっている状態では有効な治療法はなく、年余の自然回復を待つ。紅斑性病変の段階がまだ残る時はステロイド外用剤を塗布する。

#### III. 慢性光線性皮膚炎

最後に、慢性光線性皮膚炎 (chronic actinic dermatitis, CAD) についても触れておきたい。CADは外因性光抗原を原因としない自己免疫性光線過敏症と呼ぶべき疾患である。この中にはある物質に光貼布試験陽性を示す患者がおり、光線過敏症は以前その物質に対する光接触皮膚炎であったものが、光アレルギー無しにUVに感受性を持つようになってしまった状態と解される。同様に、ある薬剤による光線過敏症を示していた患者が、薬剤を中止しても光線過敏症が治癒することなく存続することもある。つまり引き金は光接触皮膚炎や薬剤性光線過敏症であったものが、光抗原が除去されても存続してしまうことがある。

こうした光抗原無くして光線過敏が起こるようになる機序は未だ明瞭ではない。古典的には光感受性物質が微量に皮膚に残っている可能性が考えられた。しかしむしろ現在ではUVが表皮細胞の表面に何らかの物質を誘導し、それを自己反応性T細胞が認識して皮膚炎を起こす可能性が考えられている。あるいはUV照射が自己蛋白の修飾を行い、それがアジュバント効果を発揮することも考えられる。しかし、そもそもの過敏症を引き起こした光抗原反応性T細胞と自己反応性T細胞にはどんな関係があるのかは不明である。

重要な臨床的観察として、CADがHIV陽性患者に多く報告されていることがある。CADの病変組織にはCD8陽性T細胞が浸潤し、苔癬型組織反応を形成して

いることが多い。一般に CD4 陽性細胞の中には, Th2 や regulatory T 細胞といった CD8 陽性細胞傷害性 T 細胞の機能を抑制する細胞がある。HIV 陽性者では CD4 陽性 T 細胞の数が減少し, これが結果的に CD8 陽性細胞傷害性 T 細胞を活性化させてしまい, CAD を誘導してしまうのかもしれない。最近我々は, 成人 T 細胞性白血病に伴った CAD を経験したが, この場合でも CD4 陽性 T 細胞の機能障害を下地として, CD8 陽性細胞傷害性 T 細胞を活性化を許し, CAD を生じたと考えられる<sup>14)</sup>。CAD の発症には, CD4 陽性細胞の制御が解かれている状態があるのかもしれない。

#### 文 献

- 1) 戸倉新樹. 光線過敏型薬疹. 最新皮膚科学体系第 5 巻. 東京, 中山書店, 2005, p75-82.
- 2) 戸倉新樹. 光アレルギーの基礎と臨床. 日皮会誌 2001 ; 111 : 1-12.
- 3) Tokura Y. Immune responses to photohaptens : implications for the mechanisms of photosensitivity to exogenous agents. *J Dermatol Sci* 2000 ; 23 Suppl : 6-9.
- 4) Tokura Y. Photocontact dermatitis : from basic photobiology to clinical relevance. *J Environ Dermatol* 2005 ; 12 : 71-7.
- 5) Nishijima T, Tokura Y, Imokawa G, Takigawa M. Photohaptens TCSA painting plus UVA irradiation of murine skin augments the expression of MHC class II molecules and CD86 on Langerhans cells. *J Dermatol Sci* 1999 ; 19 : 202-7.
- 6) Imai S, Atarashi K, Ikeshue K, Akiyama K, Tokura Y. Establishment of murine model of allergic photocontact dermatitis to ketoprofen and characterization of pathogenic T cells. *J Dermatol Sci* 2006 ; 41 : 127-36.
- 7) Tokura Y, Satoh T, Takigawa M, Yamada M. Genetic control of contact photosensitivity to tetrachlorosalicylanilide. I. Preferential activation of suppressor T cells in low responder H-2<sup>b</sup> mice. *J Invest Dermatol* 1990 ; 94 : 471-6.
- 8) Tokura Y. Quinolone photoallergy : photosensitivity dermatitis induced by systemic administration of photohaptens. *J Dermatol Sci* 1998 ; 18 : 1-10.
- 9) Tokura Y, Seo N, Fujie M, Takigawa M. Quinolone-photoconjugated MHC class II-bearing peptides with lysine are antigenic for T cells mediating murine quinolone photoallergy. *J Invest Dermatol* 2001 ; 117 : 1206-11.
- 10) Tokura Y, Seo N, Yagi H, Furukawa F, Takigawa M. Cross-reactivity in murine fluoroquinolone photoallergy : exclusive usage of TCR V $\beta$ 13 by immune T cells that recognize fluoroquinolone-photomodified cells. *J Immunol* 1998 ; 160 : 3719-28.
- 11) Ohshima A, Seo N, Takigawa M, Tokura Y. Formation of antigenic quinolone photoadducts on Langerhans cells initiates photoallergy to systemically administered quinolone in mice. *J Invest Dermatol* 2000 ; 114 : 569-75.
- 12) Tokura Y, Iwamoto Y, Mizutani K, Takigawa M. Sparfloxacin phototoxicity : potential photoaugmentation by ultraviolet A and B sources. *Arch Dermatol Res* 1996 ; 288 : 45-50.
- 13) Tokura Y, Nishijima T, Yagi H, Furukawa F, Takigawa M. Photohaptens properties of fluoroquinolones. *Photochem Photobiol* 1996 ; 64 : 838-4.
- 14) Sugita K, Shimauchi T, Tokura Y. Chronic actinic dermatitis associated with adult T-cell leukemia. *J Am Acad Dermatol* 2005 ; 52 : S38-40.

重大な副作用 — 原因薬物と病態・治療

# 薬 劑 性 光 線 過 敏 症

戸 倉 新 樹

月刊 臨 牀 と 研 究 別 冊

平 成 18 年 8 月 発 行

第 83 卷 第 8 号

重大な副作用 — 原因薬物と病態・治療

## 薬剤性光線過敏症

戸 倉 新 樹

### I. 光線過敏症とは？

日光浴をすると正常人でも皮膚が赤くなったり、ひどい場合は水疱ができたりする。しかしこれはかなり長時間しかも強い光に曝露されないとできない。ところが正常人が大丈夫な光の量で皮膚炎が起こってしまうことがあり、この病的状態を光線過敏症と呼んでいる。

光線過敏症は実にいろいろな原因で起こる。例えば光線照射によりDNAに傷ができるが、正常人はこの傷を治して元通りにする能力、すなわちDNA修復機構が備わっているが、修復酵素が無いために光線過敏になる(色素性乾皮症という)。また体内に光線過敏のもとになる物質が増えてしまうこともある(ポルフィリン症)。しかし何と言っても多い原因は、体外から光線過敏の原因となる物質が入ってくることであり、これを外因性光線過敏症と呼んでいる。

### II. 成人の光線過敏症のうち最も多い原因は内服薬である

外因性光線過敏症には二つのタイプがある。一つは皮膚に光線過敏を起こす物質が塗られて、そこに光が当たってできるもので、光接触皮膚炎(俗に「ひかりかぶれ」と呼称する。現在もっとも多い原因物質は、NSAID含有塗布剤であり、テープ剤、湿布剤、外用剤がある。NSAIDの中でケトプロフェン(図1)とスプロフェンが原因となっている。光を遮断するはずのサンスクリーンも皮肉なことに原因となる。

もう一つの原因は、内服薬である。薬を飲んで、そして日光に当たって皮膚炎ができるもので、これを薬剤性光線過敏症と呼んでいる。一般の薬疹は内服や静注で発疹が生じるが、薬剤性光線過敏

症はこの薬疹の特殊なタイプである。ふだん飲んでいる薬が過剰日焼けの原因になっているとは、通常思いつかないことなので、原因として見逃されやすい。またその薬を処方している医師でさえ気がつかないことが多い。成人の光線過敏症の中で薬剤性光線過敏症は最も多い。

### III. 薬剤性光線過敏症の症状は？

光に当たったあと、翌日から翌々日に紅斑が最も強くなる(図2)。水疱になることもある。皮膚剥脱性になることもある。こういった急性の症状ではなく、赤紫色の丘疹がたくさんできる皮疹をとることもあり(扁平苔癬)、薬剤性光線過敏症であることがなかなかわからない場合も多い。薬剤性光線過敏症を放置して原因薬を飲み続けると、白黒まだらの皮膚になり、これを白斑黒皮症と呼んでいる(図3)。こうなるとなかなか皮膚が元通りにはならない。

### IV. 薬剤性光線過敏症の原因薬は？

薬剤性光線過敏症患者の年齢をみてみよう。60歳代が最も多く、次ぎに70歳代である(図4)。逆に若年者にはみられない。薬剤性光線過敏症は中年から高齢者の病気ということが出来る。

原因となりうる薬を頻度順に表1に掲げる。表2に薬効別のリストを示す。もちろんこれ以外にもたくさん原因薬があるが、多くはこの表に含まれる薬剤である。抗菌薬とくにニューキノロン、降圧薬、血糖降下薬、精神安定薬、解熱鎮痛薬、高脂血症薬、筋弛緩薬、抗癌剤、等々がある。したがって、高血圧、尿路感染、呼吸器感染、糖尿病、高脂血症、癌などを患う患者が起こしやすく、高齢者に多い要因となっている。加えて高齢者は、圧倒的に飲む薬の種類が多いため、それだけ光線過敏症になる確率が高くなる。

### V. 薬剤性光線過敏症のメカニズムは？

薬剤性光線過敏症はどのように起こるのであるか。内服した薬剤は腸で吸収されて、血液から皮膚にまで達する。皮膚に日光が当たると薬剤にも光が当たることになる。日光の中の紫外線は薬の構造を変化させる。紫外線に照射された瞬間に近傍にある蛋白と共有結合する。薬剤が皮膚にある特殊な抗原提示樹状細胞（ランゲルハンス細胞）の表面の蛋白と結合すると、Tリンパ球を刺激し



図3 白斑黒皮症



図1 ケトプロフェンテープ剤による光接触皮膚炎

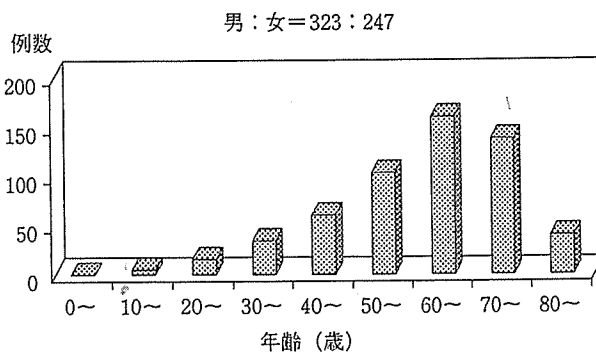


図4 薬剤性光線過敏症の年齢分布

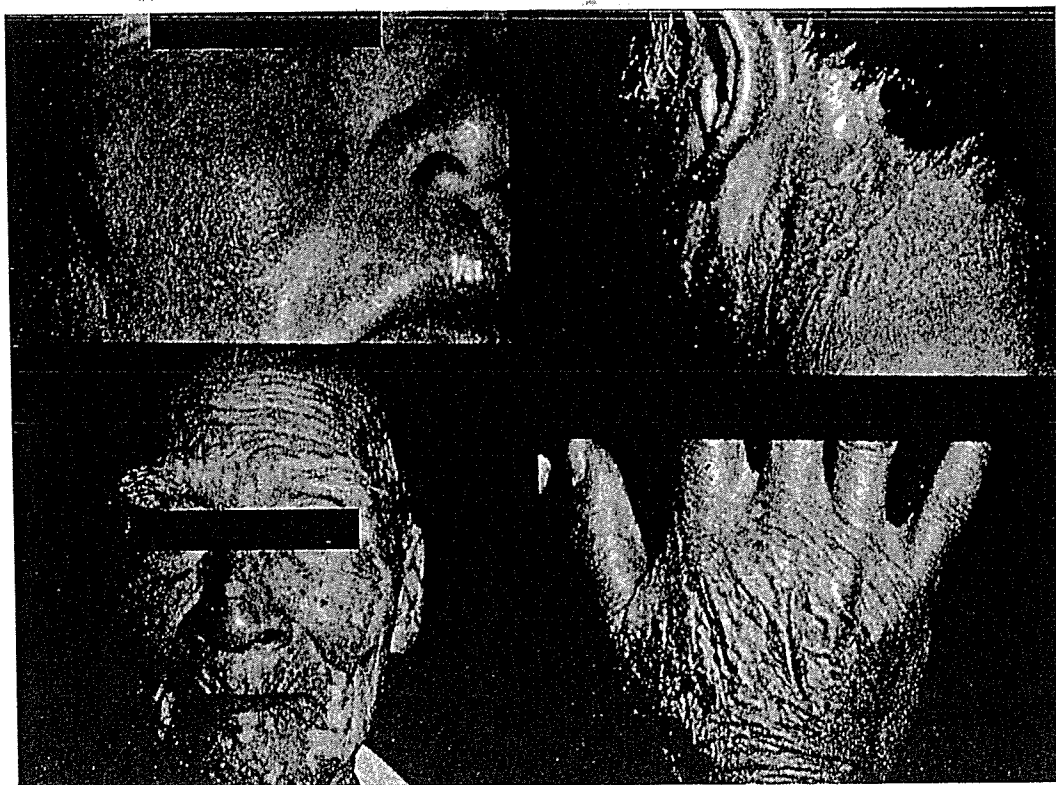


図2 薬剤性光線過敏症の臨床像

表 1 光線過敏症を起こす薬剤の頻度順位 (報告例数)

1.	スバルフロキサシン	104
2.	ピロキシカム	85
3.	フレロキサシン	50
4.	アフロクァロン	37
5.	グリセオフルビン	35
6.	エノキサシン	33
7.	ロメフロキサシン	31
7.	テガフル・テガフルウラシル	31
9.	アンピロキシカム	25
10.	チリソロール	22
11.	メクタジン	18
12.	メチ克蘭	14
13.	フルタミド	11
14.	クロルプロマジン	10
15.	フロセミド	9
15.	クロレラ	9
17.	ドキシサイクリン	8
17.	カルバマゼピン	8
19.	チアプロフェン	6
19.	ジルチアゼム	6
19.	サラゾスルファピリジン	6
22.	ヒドロクロロチアジド	5
22.	ダカルバジン	5
22.	イソニアジド	5
22.	ピリドキシン	5
22.	プロメタジン	5
22.	ジブカイン	5

て反応を起こし、皮膚炎を起こす。こうした一連の流れのような反応は免疫の基本的な反応であり、アレルギーの一種とすることができる。

したがって薬剤性光線過敏症は特殊な体質の人の起こる反応である。その人が薬剤性光線過敏症を起こすかどうかは、薬の種類によって異なる。ある薬に光線過敏症を起こした人が他の薬にも光線過敏症を起こしやすいということではなく、その人その人で光線過敏症を起こす薬は異なってくる。

薬によってはアレルギー反応としてではなく、紫外線が薬に当たった時に生じる活性酸素という毒性反応で起こることもある。この場合にはその薬剤によってどの人も光線過敏症を起こす可能性があることになり、個人差はない。現在ではこうした光毒性反応で起こる薬剤性光線過敏症は減っており、ほとんどがアレルギー性機序で起こっている。

#### VI. どうやって診断するか？ どうやって対処するか？

高齢者は時には10を越える薬剤を内服している

表 2 代表的な光線過敏性内服薬剤

抗菌薬	
ニューキノロン剤 (スバルフロキサシン, エノキサシン, フレロキサシン, ロメフロキサシン, ノルフロキサシン, トスフロキサシン), ドキシサイクリン, サラゾスルファピリジン, イソニアジド	
筋弛緩薬	
アフロクァロン	
消炎鎮痛薬	
ピロキシカム, アンピロキシカム, チアプロフェン, ザルトプロフェン	
抗真菌薬	
グリセオフルビン	
抗癌薬	
テガフル, テガフルウラシル, フルオロウラシル, フルタミド, ダカルバジン	
降圧利尿薬	
フロセミド, ヒドロクロロチアジド, トリクロルメチアジド, クロルチアジド, クロフェナミド, メチクロチアジド, メチ克蘭	
$\beta$ -遮断薬	
チリソロール	
Ca-遮断薬	
ジルチアゼム, ニフェジピン	
抗脂血症薬	
シンバスタチン, プロバスタチン	

表 2 (つづき)

循環改善薬	ニカルジピン、アンプロキシソル
抗ヒスタミン薬	メキタジン、プロメタジン、シプロヘブタジン
トランキライザー	クロールプロマジン
抗てんかん薬	カルバマゼピン
糖尿病治療薬	トルブタミド
麻酔	ジブカイン
ビタミン	ピリドキシソル
生薬	クロレラ、ドクダミ、センノシド

ので、光線過敏症の原因となっている薬を決定するのはしばしば難しい。

まず被疑薬を選定することからはじめる。過去の報告と蓄積された情報から光線過敏の頻度の高い薬を選び出す。これには表1、表2が役立つ。光線過敏症に詳しい皮膚科医であれば、ある程度「これとこれが怪しい」と簡単に選びだすことができる。しかし新薬でも起こす可能性があり、すべて今ある知識と情報で判定できる訳ではない。被疑薬が簡単にわかる場合は、まずその薬剤を中止あるいは変更してみることも実践的である。

つぎに本当に光線過敏があるかどうかをテストする。これは人工の紫外線を皮膚の少しの面積に当てて反応があるかどうか調べる光線テストである。判定は翌日か翌々日に行い、当てたところに紅斑が出現しているかみる。ふつうの人が赤くならない光の量で赤くなっていれば光線過敏があると判定する。

患者は皮膚科医が診ることが多く、原因薬を処方した医師とは異なるので、その投薬医師へ原因と思われる薬の中止や変更のお願い状を書くこと

になる。この場合、投薬医師の気持ちを配慮して、「可能性があります」という表現を用いることが多く、医師から医師へ協力を求めることになる。たくさんの薬剤を内服している患者では、全ての薬剤を中止しがたいので、1～3種ずつ中止して検討していくことになる。

こうしてある薬剤を中止したことによって光線過敏が軽快していくか経過をみる。原因薬を中止しても数日は光線過敏が続き、場合によってはさらに長引くことがあるので、すぐには日光に当たらないようにする。

最終的な診断は、被疑薬を再投与したあと、紫外線を皮膚に当てる内服照射試験を行う。内服の代わりにその薬をワセリンなどに溶かして、それを皮膚に貼ったあと紫外線を照射する光貼布試験と呼ばれる方法もある。

治療は原因薬の中止が最も大切である。対症療法としてステロイド外用を行う。速やかに原因薬が中止されない場合は白斑黒皮症にあることがあり、治癒し難い状況になるので注意すべきである。



ORIGINAL ARTICLE

# A Measure Evaluating Relevance of a Validation Study of Alternatives to Animal Testing

Takashi Omori

*Department of Biostatistics, Kyoto University, Japan*

## ORIGINAL ARTICLE

# A Measure Evaluating Relevance of a Validation Study of Alternatives to Animal Testing

Takashi Omori

*Department of Biostatistics, Kyoto University, Japan*

### Abstract

Sensitivity, specificity and accuracy are well known measures for evaluating the relevance of an inter-laboratory validation study for alternative tests. It is not generally discussed that the measures are dependent on two determining factors: a set of chemicals and the number of laboratories. Furthermore, some alternative tests such as these for the phototoxicity test have an "Equivocal" category for judging the toxicity of chemicals. These facts have made it difficult to interpret the value of the measures.

Therefore, in this paper we propose new measures to evaluate the alternatives, which depend on a set of chemicals rather than on both factors, and can treat data which have "Equivocal" category. We also propose their confidence intervals, which are measures of their precision.

*Key words: relevance, inter-laboratory validation study, sensitivity, specificity, accuracy, confidence interval*

### Introduction

Recently, due to an increasing social concern for animal welfare, a lot of alternative animal tests have been proposed, and in order to examine their feasibility and practicality various inter-laboratory validation studies have been conducted (e.g. Ray et al., 1994; Spielmann et al., 1998). Generally, the primary purpose of the validation study is to evaluate both the relevance and reliability of a proposed alternative test from the results of experiments using the alternative test (Balls et al., 1999). Sensitivity, specificity and accuracy are measures to determine the effectiveness of the alternative test when both the alternative and the animal tests have a binary classification for judging toxicity of chemicals, as "Positive" and "Negative". These are well known measures which have been widely used to evaluate the relevance of the alternative test in many validation studies (e.g. Balls et al., 1990; Roy et al., 1994; Spielmann et al., 1998).

However, two points should be taken into consideration concerning the interpretation of the summarized data from validation studies. The first point is that the values in the 2 by 2 table, which summarizes data, depend not only on a selected set of chemicals in the study but also on the number of participant laboratories. The other point is that a category for "Equivocal" produced from some alternative tests such as these for the phototoxicity test, which is neither a "Positive" nor "Negative" category, is often provided. For instance, the test guideline of the in vitro 3T3 NRU phototoxicity test states that '*a test substance with a PIF < 2 or an MPE < 0.1 predicts: "no phototoxicity". A PIF > 2 and < 5 or an MPE > 0.1 and < 0.15 predicts: "probable phototoxicity" and a PIF > 5 or an MPE > 0.15 predicts: "phototoxicity".*' where the PIF and the MPE are measurements of phototoxicity for the test (OECD, 2004). In this case, since there was a range suggesting similar performance when several cut-off points were examined, the

category “probable phototoxicity” as “Equivocal” was set (Peters and Holzhütter, 2002). Sugiyama, et al (1994) proposed a red blood cell hemolysis assay to predict phototoxicity of chemicals, and they classified photohemolysis into three categories, +, ± and -.

In this paper, we discuss the above two points for the measures, sensitivity, specificity and accuracy, and propose new measures for evaluating the relevance of an inter-laboratory validation study. We also construct an equation for their confidence intervals, which measure their precision of them (Altman, 2000a).

### Methods

#### Definition for sensitivity, specificity and concordance

Table 1 shows a 2 by 2 table. Sensitivity is defined as the proportion of chemicals judged as positive by an alternative test in which the chemicals are identified as positive by an animal test. When data is summarized as in table 1, sensitivity is calculated by  $a / (a + b)$ . Specificity is defined as the proportion of chemicals judged as negative by the alternative test in which the chemicals are identified as negative by the animal test. The measure is  $d / (c + d)$ . Accuracy is defined as the proportion of a corresponding number of chemicals by the judgment of the alternative test in

which all the chemicals are identified by the animal test. The measure is obtained as  $(a + d) / (a + b + c + d)$ .

It is rarely noted that the values of these measures depend on the selected set of chemicals. If the toxicity of the selected chemicals in a validation study has only the strongest classes and the weakest classes, the values of these measures would be expected to be higher when the assessed alternative test has a good correlation to the targeted animal test. If the researchers conducting the validation study can select test chemicals before the experiments on the alternative test, they can control the measures. On the other hand, if they choose many middle class chemicals in the study, the measures may show an inferior result compared to our expectation. Even if the chemicals are selected by an external person not directly involved in the study, the values of these are dependent on the selected chemicals. Thus, we should interpret the values of these as conditional proportions dependent on the set of selected chemicals in the study.

#### Motivated data

Table 2 shows a typical form of data from a validation study. The symbols “P”, “E” and “N” in the Table mean “Positive”, “Equivocal” and “Negative” to be judged by *In vivo* test or the al-

Table 1. The 2 by 2 table.

		Animal test	
		Positive	Negative
Alternative test	Positive	a	c
	Negative	b	d
		a+b	c+d

Table 2. A motivated example of a inter-laboratory validation study.

Chemical	In vivo	Laboratory					
		a	b	c	d	e	f
A	P	P	E	E	P		
B	P	P	N	P	E		
C	N	P	P	P	P		
D	P	P	E			E	P
E	N	P	P			P	P
F	N	N	P			N	N
G	P			P	P	P	P
H	N			N	E	E	E
I	N			N	N	N	N

Symbols: P, positive; E, equivocal; N, negative

ternative test. This data is from an actual validation study conducted in Japan which has not been published yet. In the study, nine chemicals were tested by six laboratories. In order to meet an increasing demand for assessing test chemicals, the laboratories used the alternative test for as many chemicals as possible. However, due to time and financial constraints, all the laboratories did not experiment applying the alternative test for all the chemicals. In view of animal welfare, data from animal tests is usually obtained from some published articles and/or databases including data from past experiments; animal tests are rarely conducted in validation studies. Therefore there is usually only one result for each chemical. On the other hand, some results for each chemical in an alternative test are obtained from the inter-laboratory study.

When the measures, sensitivity, specificity and accuracy, are calculated, data, as in Table 2, is summarized by a 2 by 2 table, in which a result from a chemical in a laboratory for an alternative test corresponds to a result from using the same chemical in an animal test; total for four cells in the 2 by 2 table is 36 as is the case in Table.

#### Consideration of two points

Furthermore, in addition to the fact that the measures are a conditional proportion of a set of chemicals, we also have to consider that these depend on the number of laboratories conducting inter-laboratory validation studies. However, when data is summarized by a 2 by 2 table, as in Table 2, distinguishing between the two factors, the set of selected chemicals and the number of participant laboratories is overlooked. Then the interpretation of the value is difficult. For instance, the sensitivity from a laboratory which has examined ten positive chemicals is 100% when all the chemicals are judged positive. The sensitivity from the ten laboratories which examined a positive chemical is also 100% when all laboratories judge positive for the chemical. Should we regard both sensitivities as the same? Some people often use only the values of these measures from different validation studies without taking into consideration these factors, when they compare the alternatives.

The presence of an "Equivocal" category is another difficulty involved in interpreting the measures. Since these measures are based on the assumption that the results of both tests are expressed as binary categories, often data for "Equivocal" is artificially changed: these are eliminated from the numerator; data for "Equivocal"

is relabeled as "Positive" (e.g. Sugiyama et al., 1994). The value of the measures depends on which treatment is used.

#### Proposed methods

We propose similar measures to sensitivity, specificity and accuracy, which take into consideration and deal with the previous two points.

Firstly, we consider the relationship between two factors; chemical and laboratory. Since several laboratories experiment using the alternative test for a same chemical in the inter-laboratory validation study, data from the validation study has a hierarchical structure between two factors. In the proposed methods, the factor of chemical becomes a basic unit.

Suppose  $y_{ij}$  is a variable to explain the result from an alternative test, and  $x_i$  is a variable to explain the result from an animal test, where subscript  $i$  and  $j$  mean the  $i$ th chemical ( $i = 1, 2, \dots, n$ ) and the  $j$ th laboratory ( $j = 1, 2, \dots, m_i$ ) respectively. The variable  $y_{ij}$  take 1 for the "Positive" result, 0 for the "Negative" and 0.5 for the "Equivocal"; when the alternative test is experimented for the  $i$ th chemical in the  $j$ th laboratory. The variable  $x_i$  is 1 for the "Positive" result of the targeted animal test, and 0 for the "Negative" result. We initially define  $p_i$  as a proportion for the number of positive results in the  $i$ th chemical for the alternative test, that is

$$p_i = \sum_j y_{ij} / m_i. \quad (1)$$

As shown the appendix A, we can calculate the variance,  $V(p_i)$ , based on the assumption of trinomial distribution.

Using  $p_i$ , we also define  $q_i$  as

$$q_i = x_i p_i + (1 - x_i)(1 - p_i). \quad (2)$$

Note that  $q_i$  is a measure for the reliability of the  $i$ th chemical. The alternative test shows good reliability when the value of  $q_i$  is close to 1.

Finally, we define three measures which correspond to sensitivity, specificity and accuracy, using  $p_i$ , and call these measures  $Psn$ ,  $Psp$  and  $Pac$ , respectively;

$$Psn = \sum_i x_i p_i / \sum_i x_i \quad (3)$$