

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

「重症多形滲出性紅斑に関する調査研究」

平成19年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 橋本 公二

平成20（2008）年3月

目 次

| | |
|---|----|
| I. 班員構成 | 1 |
| II. 総括研究報告 | |
| 重症多形滲出性紅斑に関する調査研究 橋本公二 | 3 |
| III. 分担研究報告 | |
| 重要薬疹と可溶性 Fas リガンド 橋本公二 | 13 |
| Drug-induced hypersensitivity syndrome における cytomegalovirus 再活性化の検討 塩原哲夫 | 18 |
| 1998 年－2006 年の Drug-induced hypersensitivity syndrome (DIHS) 報告例の再燃に関する検討 池澤善郎 | 23 |
| 重症型薬疹のアンケート作成の試み -Stevens-Johnson 症候群 (SJS) / Toxic Epidermal Necrolysis (TEN) 登録表- 飯島正文・中村好一 | 31 |
| 重症多形滲出性紅斑の疫学・治療指針に関する研究 木下 茂 | 35 |

| | |
|---|----|
| カルバマゼピンによる薬剤性過敏症症候群における HLA の解析 森田栄伸 | 38 |
| Mycoplasma pneumoniae による小児 Stevens-Johnson Syndrome 症例における 血清サイトカインと水疱液中 Mycoplasma の検討 相原雄幸 | 43 |
| 損傷皮膚への骨髄由来表皮前駆細胞動員機構の検討 玉井克人 | 47 |
| 皮膚付属器を有する培養皮膚の作製 岸本治郎 | 51 |
| 低血清線維芽細胞培養に関する研究 白方裕司 | 56 |
| IV. 研究成果の刊行に関する一覧表 | 63 |
| V. 平成 19 年度班会議プログラム | 81 |
| VI. 研究成果印刷物 | 83 |

[I]

班員構成

班 員 構 成

| 研究者名 | | 研究実施場所 | 職名 | 主な研究分担 |
|-------|-------|-------------------------------|--------|------------------------------|
| 主任研究者 | 橋本 公二 | 愛媛大学大学院医学系研究科 ・感覚皮膚医学 | 教授 | 重症多形滲出性紅斑の疫学・治療指針に関する研究 |
| 分担研究者 | 塩原 哲夫 | 杏林大学医学部・皮膚科 | 教授 | 重症多形滲出性紅斑の疫学・治療指針に関する研究 |
| | 飯島 正文 | 昭和大学医学部・皮膚科 | 教授 | 重症多形滲出性紅斑の疫学・治療指針に関する研究 |
| | 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 | 教授 | 重症多形滲出性紅斑の疫学・治療指針に関する研究 |
| | 木下 茂 | 京都府立医科大学・視覚機能再生外科学 | 教授 | 重症多形滲出性紅斑の疫学・治療指針に関する研究 |
| | 森田 栄伸 | 島根大学医学部・皮膚科学 | 教授 | 重症多形滲出性紅斑の疫学・治療指針に関する研究 |
| | 中村 好一 | 自治医科大学・公衆衛生学 | 教授 | 重症多形滲出性紅斑の疫学に関する研究 |
| | 相原 雄幸 | 横浜市立大学附属市民総合医療センター・小児総合医療センター | 准教授 | 重症多形滲出性紅斑の疫学・治療指針に関する研究 |
| | 玉井 克人 | 大阪大学大学院医学系研究科・遺伝子治療学 | 准教授 | 骨髄細胞を用いた皮膚再生医療法の開発、遺伝子治療法の開発 |
| | 岸本 治郎 | 資生堂ライフサイエンス研究センター・毛髪研究所 | 毛髪研究所長 | 毛包の再生 |
| | 白方 裕司 | 愛媛大学大学院医学系研究科・再生医療研究センター | 講師 | 培養法の改善、新規培養皮膚作製法の開発 |

[II]

総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
総括研究報告書

重症多形滲出性紅斑に関する調査研究

主任研究者 橋本公二 愛媛大学大学院医学系研究科 感覚皮膚医学 教授

研究要旨 重症多形滲出性紅斑は全身の皮膚多形紅斑、口唇・口腔、眼、鼻、外陰などの皮膚粘膜移行部のびらんを主症状とする粘膜傷害と発熱を伴う疾患であり、表皮の壊死性変化、表皮剥離をきたし、しばしば重篤な視力障害を残す。従って、早期診断と迅速な治療が必要であり、そのための診断基準整備と治療法の確立が急務である。本研究は①重症多形滲出性紅斑の疫学調査、②診断基準の制定、③重症度の分類と治療ガイドラインの作成、④重症多形滲出性紅斑の発症に関与する遺伝子多型の解析、⑤後遺症である角膜欠損、皮膚欠損に対する皮膚・角膜再生医療の開発、を主な研究目的とした。重症多形滲出性紅斑の疫学調査を行うことにより有病率、死亡率、後遺障害などを明らかにし、発症予防、早期治療を行うために、一次アンケート調査を行った。平成 16-18 年度の「難治性皮膚疾患（重症多形滲出性紅斑（急性期）を含む）の画期的治療法の開発」の研究事業において制定した診断基準 2005 を基に疫学調査と照らし合わせ、また新規症例を詳細に検討し診断基準の特異性、感受性について検討した。重症度の分類を整備し、治療ガイドラインを作成した。重症多形滲出性紅斑の発症に関与する遺伝子多型の解析については患者群 50 例以上、対照群 50 例以上のサンプル収集に努め、おおむね 80 例以上のサンプルを収集できた。培養角膜、培養皮膚の簡易迅速作製法の開発、毛包を有する培養皮膚の開発、骨髄由来幹細胞を用いた表皮、角膜の再生法の開発に関する基礎的データを収集した。

分担研究者

飯島正文

塩原哲夫

昭和大学医学部皮膚科学教授

杏林大学医学部皮膚科学教授

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授

中村好一
自治医科大学公衆衛生学教授

森田栄信
島根大学医学部皮膚科学教授

木下 茂
京都府立医科大学眼科学教授

玉井克人
大阪大学大学院医学系研究科遺伝子
治療学准教授

相原雄幸
横浜市立大学附属市民総合医療セン
ター 小児総合医療センター准教授

岸本治郎
資生堂ライフサイエンスセンター毛
髪研究所長

白方裕司
愛媛大学大学院医学系研究科附属再
生医療研究センター講師

A. 研究目的

重症多形滲出性紅斑は全身の皮膚多
形紅斑、口唇・口腔、眼、鼻、外陰など

の皮膚粘膜移行部のびらんを主症状と
する粘膜傷害と発熱を伴う疾患であり、
30%は死に至る重篤な疾患である。表
皮の壊死性変化、表皮剥離をきたし、さ
らに 30-30%は角膜上皮幹細胞が消失
するため、瘢痕性角膜混濁をきたし、重
篤な視力障害を残す。従って、早期診
断と迅速な治療が必要であり、そのた
めの診断基準整備と治療法の確立が急務
である。本研究の目的は①重症多形滲
出性紅斑の疫学調査、②診断基準の制
定、③重症度の分類と治療ガイドライ
ンの作成、④重症多形滲出性紅斑の発
症に関与する遺伝子多型の解析、⑤後
遺症である角膜欠損、皮膚欠損に対す
る皮膚・角膜再生医療の開発、を主な
研究目的とする。

① 重症多形滲出性紅斑の疫学

重症多形滲出性紅斑については学会報
告、副作用報告を基に有病率、発症率、
死亡率などが推定されている。また、後
遺障害の発生率、重篤度についてはほ
とんど明らかになっていないのが現状で
ある。従って、重症多形滲出性紅斑の疫
学調査を行うことにより有病率、死亡率、
後遺障害などを明らかにし、発症予防、
早期治療を行うことにより国民の保健、
医療、福祉の向上が期待できる。

② 診断基準の制定

重症多形滲出性紅斑の治療法を確立す
るためにはまず診断基準の整備が必要
である。平成16～18年度の「難治性皮

膚疾患(重症多形滲出性紅斑(急性期)を含む)の画期的治療法の開発」の研究事業において、重症多形滲出性紅斑診断基準 2005 を作成した。この診断基準を基に疫学調査と照らし合わせ、また新規症例を詳細に検討することにより、よりよい診断基準を作成する。この診断基準が普及し、多くの医療機関で有効に用いられれば早期治療が可能となり、国民の保健、医療、福祉の向上が期待できる。

③ 重症度の分類と治療ガイドラインの作成

治療法の確立には治療ガイドラインの制定が必要不可欠と考える。治療法は一定しているものではなく、その重症度により治療法の選択が望まれる。そこで、重症度をスコア化し、それを基に治療ガイドラインを制定すれば、最適の治療が期待できる。

④ 重症多形滲出性紅斑の発症に関与する遺伝子多型の解析

重症多形滲出性紅斑の発症に関与する遺伝子が同定されれば薬剤の投与を控えることにより発症が予防できることが期待される。

⑤ 後遺症である角膜欠損、皮膚欠損に対する皮膚・角膜再生医療の開発

角膜上皮欠損、皮膚欠損は患者の QOL, ADL を著しく低下させるため、それに対する新たな治療法が望まれる。最先端の再生医療技術を用いることにより患者の負担が最も低く、かつ最大の効

果が得られる治療法を開発することにより患者の QOL の向上が期待され、ひいては医療費の削減も期待できる。

平成 19 年度においては重症多形滲出性紅斑の一次アンケート調査、診断基準の改正、重症度分類と治療ガイドラインの制定は達成できると予想される。

長期的には重症多形滲出性紅斑の遺伝子多型解析、表皮・角膜欠損に対する新たな再生医療の開発を目標とする。

B. 研究方法

重症多形滲出性紅斑の疫学的検討

重症多形滲出性紅斑の疫学はほとんど明らかになっていない。この原因の一つは学会報告、副作用報告を基に数十症例をまとめた論文しか報告されていないためである。もう一つの大きな原因としては診断基準が整備されていないため、相当数の間違った症例が疫学調査に組み込まれる恐れがあったため疫学調査に踏み込めなかったためである。我々は過去6年の厚生労働科学研究費補助金の研究成果により、重症多形滲出性紅斑診断基準 2005 を整備した。この成果により、疫学調査が初めて可能となったといっても過言ではない。従って、本研究班の目的の一つの大きな柱として重症多形滲出性紅斑の疫学調査をとりあげた。今後3年間で重症多形滲出性紅斑の疫学を明らかにする。方法として

は、一次調査票を作成し、全国の主要施設（大学附属病院など、具体的には皮膚科専門医研修施設：全国592施設）へ送付する。一次調査票にて症例がありとの回答があった施設へ二次調査票を送付する。二次調査票の作成には疫学の専門家に意見を伺い、適切な調査票を作成する。二次調査票を回収し、重症多形滲出性紅斑の有病率、後遺障害の有無などの頻度を解析する。次年度以降には患者個人調査票を作成し、QOL, ADLを中心に調査を進める。調査に関しては紙ベース以外の方法での調査が可能かについて検討する。具体的にはウェブサイトにて登録できるシステムについて検討する。

重症多形滲出性紅斑の診断基準の改訂

重症多形滲出性紅斑診断基準 2005 について、症例を追加検討することにより診断基準 2007 を改訂する。診断基準 2007 を基に疫学調査と照らし合わせ、また新規症例を詳細に検討することにより、その特異性と感受性を検討する。

重症多形滲出性紅斑治療ガイドラインの制定

分担研究者施設での症例を具体的に検討することにより治療ガイドラインを作成する。このために重症度スコアを制定し、それに基づいた治療ガイドラインを作成する。治療ガイドラインとしては、重症度に応じた副腎皮質ステロイドの内服、ス

テロイドパルス療法、血漿交換療法、高濃度免疫グロブリン静注療法について分担研究施設での経験症例を詳細に検討することによりガイドライン案を平成19年度中に完成する。分担研究施設ではこのガイドライン案に沿って治療を行い、問題点について協議する。

重症多形滲出性紅斑の病態に関する研究

重症多形滲出性紅斑の病態を解明するために、薬剤、ウイルスと皮膚浸潤リンパ球との相互関係、サイトカインプロフィールなどについて患者由来細胞を用いて検討する。

HLA遺伝子タイピング解析

2004 年に台湾のグループから、カルバマゼピンによる SJS, TEN の患者で、HLA-B1501 の相関があるとの報告が Nature に掲載された。日本においても SJS, TEN の患者で HLA の相関があるかについて検討する。地域間での HLA の偏り、SJS, TEN での HLA, 薬剤毎での HLA の相関を検討する。HLA タイピングは特定非営利活動法人 HLA 研究所にて解析する。

遺伝子多型解析

重症多形滲出性紅斑の類縁疾患である drug-induced hypersensitivity syndrome (DIHS) の遺伝子多型解析を行う。同意の得られた患者と対照者から血液 10ml を採取し、ゲノムDNAを抽出する。SNP 解析とともにゲノムワイドスキャンも行い

候補遺伝子を解析する。解析のためには最低 50 名の患者、対照者から試料の提供を受ける。

培養角膜を用いた角膜上皮欠損の治療
角膜上皮欠損に対して培養角膜による治療法を確立する。すでに分担研究者の木下はこの方法を開発し、臨床応用を行っているが、培養角膜の簡便かつ迅速な作製法を新たに開発する。培養皮膚作製の技術と培養角膜作製の技術を融合させ新たな培養法を開発する。

毛包を備えた培養皮膚の作製法の開発
重症多形滲出性紅斑の合併症として脱毛がみられることが明らかとなり、患者の QOL が損なわれていることが明らかとなってきている。そこで、毛包を備えた培養皮膚の作製法を開発する。そのためにまず毛包の再生が可能かについて検討する。すでに分担研究者の岸本は毛乳頭細胞と上皮細胞をミックスし、マウスへの移植実験を行い毛包の再構成が可能であることを示している。しかし、継代を繰り返して増殖させた細胞では、毛包誘導能が消失していることが予備実験にて確認されている。培養法を見直すことにより毛包誘導能を維持した細胞を増殖させることが可能になれば毛包再生が飛躍的に発展することが期待できる。

骨髄幹細胞による表皮および角膜上皮再生の開発

重症多形滲出性紅斑に伴う皮膚欠損や角膜上皮欠損に対する全く新しい治療

法として、骨髄幹細胞を患部に遊走させることにより表皮および角膜上皮再生を試みる治療法を開発する。分担研究者の玉井により、骨髄幹細胞が表皮欠損部に遊走し、表皮を再生することが可能であることを予備実験にて知見を得ている。これをさらに発展させ、遊走させる因子、その因子を誘導する刺激や因子、さらに表皮および角膜上皮を再生させる因子について検討する。

C. 研究結果

主任研究者および分担研究者で、薬剤性過敏症症候群 (DIHS) の診断基準 2005 に合致しない症例、まれな症例、典型例、非典型例、中等症、重症例、治療成功例の臨床経過を詳細に検討することにより DIHS 治療指針案を作成した。

分担研究者の橋本は Stevens-Johnson 症候群、中毒性表皮壊死症、薬剤性過敏症症候群 (DIHS) における患者血清中の可溶性 Fas リガンド (sFasL) について解析した。患者では上昇しているとの報告や、一方反論意見も出てきており、未だはっきりとした結論はでない。紅斑丘疹型薬疹、薬剤性過敏症症候群 (DIHS)、Stevens-Johnson 症候群 / 中毒性表皮壊死症における血清中の経時的な sFasL の変動を測定したところ、血清中の sFasL の高値は、Stevens-Johnson 症候群 / 中毒性表皮

壊死症に必ずしも特異的ではないことを明らかにした。

分担研究者の塩原は、Drug-induced hypersensitivity syndrome(DIHS)の経過中に認められる cytomegalovirus (CMV)の再活性化について検討を行った。CMVの再活性化時には scratch dermatitis・皮膚潰瘍、肝障害などの症状がみられ、再活性化はステロイド投与の有無に関わらずに認められた。また、CMV再活性化が認められた群は認められなかった群に比べて、高齢発症で、白血球中の human herpesvirus 6(HHV-6) DNA 量が多く検出され、さらに、発症時に血清 IgG 量が低下傾向を示すことを明らかにした。

分担研究者の池澤は、1998年～2006年の9年間に報告された本邦における Drug-induced hypersensitivity syndrome (DIHS) 症例 137 例のうち、再燃の回数が特定できた典型 DIHS45 例につき、再燃回数と臨床症状との相関を検討した。再燃を認めた症例の特徴として、1. 発症年齢の上昇、2. 皮疹出現までの投薬日数の短縮、3. 高熱、4. 末梢血白血球がより上昇し、高値であること、5. 肝障害がより重篤であること、6. HHV-6 以外のヘルペスウイルスの再活性化がみられること、7. 合併症が多いこと、などの特徴を明らかにした。

分担研究者の飯島と中村は、SJS と

TEN の診断基準および治療指針(厚生科学特別研究事業 診断基準と治療指針の研究 橋本研究班 2005 作成)をもとに両者の本邦における頻度、病型、診断、治療、予後の現況を把握するため、調査登録表の作成を完成させた。さらに SJS と TEN の本邦における発症頻度を全国の皮膚科専門医研修施設に対して 1 次アンケートを行った。次年度には調査登録票を送付し、疫学の解析について着手する予定である。

分担研究者の木下は、眼合併症を伴う Stevens-Johnson 症候群(SJS)および中毒性表皮壊死融解症(Toxic Epidermal Necrolysis; TEN)について、レトロスペクティブな調査を行い、眼科的な特徴を明らかにするとともに治療について考察した。また発症の素因を解明するため、患者血液を用いて遺伝子多型解析を行った。SJS/TEN は結膜充血が発疹の出現に先行することが多く、また初期のステロイド眼局所投与が視力予後に影響した。TLR3 遺伝子多型に患者群と非患者群の間で有意な差を認めたことより、SJS の発症に自然免疫の異常が関与している可能性が示唆された。

分担研究者の森田は、重症型薬疹の頻度の高い薬剤のひとつカルバマゼピンによる副作用が HLA タイプと関連する場合があります。カルバマゼピンによる Stevens-Johnson 症候群が HLA-B 遺伝子と関連するとの報告に着目し、カ

ルバマゼピンによる薬疹と HLA の関連を検討した。カルバマゼピンによる drug-induced hypersensitivity syndrome (DIHS) の 8 例及びカルバマゼピンの 2 ヶ月以上の内服歴があり薬疹を発症していない 10 例において HLA 血清タイピング、HLA-B locus の遺伝子タイピングを行った。HLA 血清タイピングでは A31、B51、B61 が、HLA-B locus 遺伝子タイピングでは B*400201 がコントロール群、一般頻度と比較して高かった。一方、海外で報告のあるカルバマゼピンによる Stevens-Johnson 症候群 (SJS) に特異的とされる B*1502 は検出されず、DIHS と SJS は異なる病態であるため関連する HLA も異なる可能性が示唆された。

分担研究者の相原は、*Mycoplasma pneumoniae* の関与した SJS 小児例 3 例について血中サイトカインを検討した。さらに、水疱液中の *Mycoplasma pneumoniae* の存在の有無について PCR 法にて検討を行った。その結果、病初期には IL-6 などの炎症性サイトカインの上昇を認めステロイド剤などの治療による皮疹の改善とともにサイトカインは低下した。また、水疱液中の *Mycoplasma pneumoniae* は陰性であった。

分担研究者の玉井は骨髄由来間葉系幹細胞 (mesenchymal stem cell, MSC) や骨髄由来表皮前駆細胞 (bone marrow-derived epithelial progenitor cell,

BMEPC) が損傷皮膚に動員され、表皮再生に寄与していることを明らかにした。さらに、損傷皮膚より放出される MSC 動員因子の探索を進めた結果、損傷皮膚に骨髄由来 MSC を動員する因子 KOI² を探索し、その候補物質の単離に成功した。

分担研究者の岸本は、上皮と真皮の相互作用に着眼点をおいた、細胞移植による毛包を始めとする皮膚付属器官の再生を目指した基盤研究を進め、低血清の線維芽細胞培養用培地の MHDFIII 培地で培養したヒト毛乳頭細胞について、毛包誘導能の有無を移植実験で確認する検討を実施した。

MHDFIII 培地に Wnt 経路の擬似活性化剤である BIO(GSK-3beta inhibitor 9) を添加して培養したヒト毛乳頭細胞に、マウスの上皮細胞を組み合わせるヌードマウスに細胞移植した結果、毛包の原基や完全な毛包の形成が観察された。BIO を添加しない場合には、毛包誘導は観察されなかった。これらの結果から、毛包誘導能を維持したヒト毛乳頭細胞の培養に、MHDFIII 培地に BIO を添加した培養方法が有効であることが示唆された。

三次元培養皮膚作製には角化細胞と線維芽細胞の培養が必要である。安全な三次元培養皮膚移植のためには血清を極力使用しない培養法の開発が必要である。角化細胞の培養ではす

に無血清培養法を確立しているが、線維芽細胞培養には牛胎仔血清の使用が避けられない。自己血清を用いた線維芽細胞培養のためには血清が少なくて済む低血清培養液の開発が必須である。分担研究者の白方は、線維芽細胞培養のための低血清培養液を開発した。

D. 考察

診断基準 2005 を基に、分担研究者の施設で経験した重症多形滲出性紅斑の症例を詳細に検討することにより、DIHS 治療指針案を作成した。基本的には副腎皮質ステロイド剤の使用が必要であると考え、さらに大量のステロイド剤を使用する必要があると考える。今後はこの治療指針案に基づいた治療を行い、治療成功例、治療難渋例等の症例を蓄積する必要があると考える。病態に関しては sFAS-L の診断的意義に関して様々な意見があったが、今回の我々の研究班における検討では sFAS-L は SJS/TEN で特異的に上昇しているわけではなく、DIHS においても上昇しており、むしろ皮疹の範囲や重症度と相関していることが明らかとなった。このことは診断的意義よりむしろ病勢の示標となりうることを示唆され次年度以降での調査研究対象として推進すべき研究課題であるとおもわれる。DIHS に関し

ては過去の文献の詳細な解析により再燃の特徴として発症年齢の上昇、皮疹出現までの投薬日数の短縮、高熱、末梢血白血球がより上昇し高値であること、肝障害がより重篤であること、HHV-6 以外のヘルペスウィルスの再活性化がみられること、合併症が多いことが明かとなった。HHV-6 以外のウィルスでは CMV の再活性化がみられた群でより重症であり、HHV-6 の DNA 量が多く検出されていた。これらの研究成果より、HHV-6 以外のウィルス再活性化についてより詳細な検討が必要であると思われた。

HLA 型に関する検討ではカルバマゼピンによる DIHS には SJS で多くみられる B1502 は検出されなかった。すなわち DIHS と SJS は関連する HLA は異なることが示唆され、各々に関連する HLA を特定する必要があると思われる。眼病変を発症する SJS/TEN 患者において Toll-Like Receptor 3 の遺伝子多型に有意差がみられたことから、自然免疫の異常が発症に関与している可能性が示され、この点からもゲノムワイドな遺伝子多型解析が必要と思われる。症例数も増加してきており解析が進むことが期待される。

幹細胞研究に関しては、創傷刺激により骨髄細胞が表皮へ遊走し、表皮細胞になりうることが明かとしてきた。さらに詳細な検討を加えた結果、骨髄由来間葉系

幹細胞や骨髄由来表皮前駆細胞が損傷皮膚に動員され表皮再生に寄与していることが明らかとなった。また、損傷皮膚より放出される動員因子を同定単離することに成功した。この因子を用いることにより損傷皮膚の効率よい再生が期待される。さらには同様の因子が損傷角膜の再生に寄与している可能性があり、今後の検討課題であると思われる。毛包の再生については毛乳頭細胞が重要であることはすでに明らかとしているが、培養系に持ち込んだ場合、性質が変化することを見いだしている。毛包誘導能を有する毛乳頭細胞の培養系の開発が必要であり、そのための最適な培養法を開発した。この培養法をさらに改良し、毛包誘導能を維持した毛乳頭細胞培養法を確立することができた。この培養法の開発は今後の毛包再生研究発展に大いに役立つと思われる。自己血清を用いた培養皮膚作製のための低血清線維芽細胞培養法を確立できたことにより、より安全な培養皮膚移植が開発されると考える。さらなる検討を重ねることにより、安全な培養皮膚移植システムを構築することが可能であると思われる。

E. 結論

本研究により重症多形滲出性紅斑の疫学調査がスタートした。DIHS に関しては治療指針案を作成し、重症多形

滲出性紅斑 (SJS/TEN/DIHS) の診断基準、治療指針がほぼ確立できた。重症多形滲出性紅斑におけるウィルスの再活性化、関与する遺伝子多型、血中サイトカイン、候補となりうるマーカーなど、病態が徐々に明らかとなりつつある。皮膚角膜再生については、骨髄間葉系幹細胞を用いた表皮の再生医療法の可能性を明らかにし、損傷皮膚への間葉系幹細胞動員因子を同定した。表皮細胞への分化誘導法の確立とそれに係わる分子機構の解明、さらには骨髄由来表皮幹細胞への安全かつ安定的遺伝子導入法の確立が望まれる。培養皮膚を用いた再生医療においてはより実践的な課題である安全性について検討し、システム構築の基礎を築いた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表 (平成 19 年度)

論文発表

巻末研究成果一覧表参照

H. 知的所有権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得：1 件
2. 実用新案登録：なし

3. その他：なし

[III]

分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

重症薬疹と可溶性 Fas リガンド

分担研究者 橋本公二 愛媛大学大学院医学系研究科 感覚皮膚医学 教授

研究要旨 Stevens-Johnson 症候群と中毒性表皮壊死症における可溶性 Fas リガンド(sFasL)の関与が注目されており、患者では上昇しているとの報告や、一方反論意見も出てきており、未だはっきりとした結論はでていない。そこで我々は、紅斑丘疹型薬疹、薬剤性過敏症症候群（DIHS）、Stevens-Johnson 症候群／中毒性表皮壊死症における血清中の経時的な sFasL の変動を測定したところ、血清中の sFasL の高値は、Stevens-Johnson 症候群／中毒性表皮壊死症に必ずしも特異的ではないことが明らかとなった。

共同研究者 藤山幹子（愛媛大学大学院医学系研究科 感覚皮膚医学）

A. 研究目的

近年、Stevens-Johnson 症候群と中毒性表皮壊死症における可溶性 Fas リガンド (sFasL) の関与が注目されている。Stevens-Johnson 症候群や中毒性表皮壊死症の表皮のアポトーシスにおいて、細胞障害性 T 細胞が関与することは考えられていたが^{1,2)}、その浸潤細胞数は少なく、広範囲に生じる表皮壊死を十分に説明できなかつた^{3,4)}。ヒトの表皮角化細胞はデスレセプターである Fas を発現しており、FasL との結合によりアポトーシスが誘導される⁵⁾。Viard

らにより、中毒性表皮壊死症に対する免疫グロブリンの大量投与が有効性は、免疫グロブリンの Fas-FasL の結合の抑制によるという報告がなされた⁶⁾。また、Abe らは、Stevens-Johnson 症候群と中毒性表皮壊死症において、血清中の sFasL が上昇していること、紅斑丘疹型薬疹の患者血清では上昇していないこと、中毒性表皮壊死症患者の血清により培養表皮角化細胞をアポトーシスに陥らせることができることを報告した⁷⁾。こうして、本邦では Stevens-Johnson 症候群や中毒性表皮壊死症の診断根拠として注目されてきた。

しかし、ごく最近になって、それを支持しない研究結果も報告されている。Stur らの検討結果では、Stevens-Johnson 症候群では

血清中 sFasL が高いが、中毒性表皮壊死症では低く、紅斑丘疹型薬疹では原因薬剤の種類により sFasL の値が異なっていた⁸⁾。中毒性表皮壊死症患者において sFasL の値が低かった理由に、血清の採取時期の問題も考えられる⁴⁾が、紅斑丘疹型薬疹の患者での結果は明らかに相反する。そこでわれわれは、紅斑丘疹型薬疹、薬剤性過敏症症候群 (DIHS)、Stevens-Johnson 症候群/中毒性表皮壊死症における血清中の経時的な sFasL の変動を測定した。

B. 研究方法

2000 年から 2006 年の間に、当科に入院治療を行った 12 例の薬疹患者の血清を用いた。12 例は、発症早期に当科に入院したか、当院に入院中に薬疹を発症した患者で、紅斑丘疹型薬疹 4 例、DIHS 4 例、Stevens-Johnson 症候群/中毒性表皮壊死症 4 例である。ELISA を用いて、発症後 4 週間目までの血清中 sFasL を測定した。

C. 研究結果

Stevens-Johnson 症候群/中毒性表皮壊死症では、発症の 5 日以内にピークを形成する sFasL の増加が認められた。しかし、この傾向は紅斑丘疹型薬疹、DIHS でも同様であり、Stevens-Johnson 症候群/中毒性表皮壊死症に特異的な変化ではなかった。また、興味深いことに、その最高値の平均は DIHS で最も高い 268 ± 90 pg/ml を示し、Stevens-Johnson 症候群/中毒性表皮壊死症

の 181 ± 41 pg/ml や紅斑丘疹型薬疹の 159 ± 58 pg/ml より明らかに高値であった。さらに、sFasL の最高値は、DIHS と紅斑丘疹型薬疹ではその重症度を反映していると考えられた。DIHS でもより重症であるほど、紅斑丘疹型薬疹でも発熱や肝障害を伴って重症となるほど、sFasL の最高値は高かった。

D. 考察

上記の結果より、血清中の sFasL の高値は、Stevens-Johnson 症候群/中毒性表皮壊死症に特異的ではないことが明らかとなった。また、少数例での検討にすぎないが、薬疹の重症度を反映する可能性があり、今後、症例数を増やしての検討が必要と考えられた。

参考文献

- 1) Friedmann PS, Strickland I, Pirmohamed M, *et al.* Investigation of mechanisms in toxic epidermal necrolysis induced by carbamazepine. *Arch Dermatol* 1994; 130:598-604.
- 2) Le Cleach L, Delaire S, Boumsell L, *et al.* Blister fluid T lymphocytes during toxic epidermal necrolysis are functional cytotoxic cells which express human natural killer (NK) inhibitory receptors. *Clin Exp Immunol* 2000; 119:225-230.
- 3) Miyauchi H, Hosokawa H, Akaeda T, *et al.* T-cell subsets in drug-induced toxic epidermal necrolysis. *Arch Dermatol* 1991; 127:851-855.
- 4) Murata J, Abe R. Soluble Fas Ligand: Is it a

critical mediator of toxic epidermal necrolysis and Stevens-Johnson syndrome? *J Invest Dermatol* 2007; 127: 744-745.

5) Viard-Leveugle I, Bullani RR, Meda P, *et al.* Intercellular localization of keratinocyte Fas ligand explains lack of cytolytic activity under physiological conditions. *J Biol Chem* 2003; 278:16183-8.5)

E. 結論

血清中の sFasL の高値は、Stevens-Johnson 症候群／中毒性表皮壊死症に特異的ではないことが明らかとなった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表 (平成 19 年度)

論文発表

Dai X, Sayama K, Shirakata Y, Hanakawa Y, Yamasaki K, Tokumaru S, Yang L, Wang X, Hirakawa S, Tohyama M, Yamauchi T, Takashi K, Kagechika H, Hashimoto K: STAT5a/PPAR gamma pathway regulates involucrin expression in keratinocyte differentiation. *J Invest Dermatol* 127:1728-1735, 2007.

Nagai H, Tokumaru S, Sayama K, Shirakata Y, Hanakawa Y, Hirakawa S, Dai X, Tohyama M, Yang L, Hashimoto K: Suppressor of cytokine signaling 3 negative regulation of signal transducer and activator of transcription 3 in

platelet-derived growth factor-induced fibroblast migration. *J Dermatol* 34:523-530, 2007.

Nanba D, Inoue H, Shigemi Y, Shirakata Y, Hashimoto K, Higashiyama S: An intermediary role of proHB-EGF shedding in growth factor-induced c-Myc gene expression. *J Cell Physiol* 214:465-73, 2008

Tohyama M, Hashimoto K, Yasukawa M, Kimura H, Horikawa T, Nakajima K, Urano Y, Matsumoto K, Iijima M, Shear NH: Association of human herpesvirus 6 reactivation with the flaring and severity of drug-induced hypersensitivity syndrome. *Br J Dermatol* 157:934-40, 2007

Tohyama M, Sayama K, Komatsuzawa H, Hanakawa Y, Shirakata Y, Dai X, Yang L, Tokumaru S, Nagai H, Hirakawa S, Sugai M, Hashimoto K: CXCL 16 is a novel mediator of the innate immunity of epidermal keratinocytes. *Int Immunol* 19:1095-1102, 2007.

Shiraishi K, Yamasaki K, Nanba D, Inoue H, Hanakawa Y, Shirakata Y, Hashimoto K, Higashiyama S: Pre-B-cell leukemia transcription factor 1 is a major target of promyelocytic leukemia zinc-finger-mediated melanoma cell growth suppression. *Oncogene* 26:339-48, 2007