

- 川深、池田浩子、藤原建樹、木戸 博：
小児神経領域における新しい遺伝子診断
の現状と問題点—遺伝子多型診断—、
第 110 回日本小児科学会学術集会、
2007.4、京都
- 12) 池田浩子、高橋幸利、村松正明、柏木
麻理子、山崎悦子、久保田祐子、大谷
英之、江川潔、藤原建樹：抗てんかん
薬による薬疹発症患者における日本人
の HLA 検討（第一報）、第 49 回日本
小児神経学会、2007.7、大阪
- 13) 高橋幸利、池田浩子、山崎悦子、藤原
建樹、鹿庭なほ子、斉藤嘉朗、相原道
子：個に応じた医療を目指して、カル
バマゼピンによる重症薬疹に係わる
HLA の研究、日本人類遺伝学会 第 53
回大会、2008.9、横浜。
- 14) 市山高志、庄司紘史、高橋幸利、松重
武志、梶本まどか、古川 漸：非ヘル
ペス性辺縁系脳炎の髄液サイトカイン
解析：単純ヘルペス脳炎との比較検討、
第 13 回日本神経感染症学会、2008.10、
東京
- 15) 中嶋秀人、細川隆史、杉野正一、木村
文治、花房利昭、高橋幸利：非ヘルペ
ス性辺縁系脳炎における髄液中ケモカ
インの解析、第 13 回日本神経感染症学
会、2008.10、東京
- 16) 古谷博和、池添浩二、永田倫之、藤井
直樹、服巻保之：Activin A 受容体 1
(ACVR1) に新規アミノ酸置換を認めた
進行性化骨性筋炎 (FOP) 症例。第 4 8 回
日本神経学会総会、2007.5、名古屋
- 17) Furuya H, Yamada T, Ikezoe K,
Arahata H, Fukumaki Y, Fujii N: An
improved method for Southern DNA
and Northern RNA blotting using a
Mupid-2 Mini-Gel electrophoresis
unit for diagnosis of DM1 and 2. 6th
The International Myotonic
Dystrophy Consortium Meeting,
2007.9, Milan
- 18) Furuya H, Ikezoe K, Ohyagi Y,
Motomura K, Kira J, Fukumaki Y,
Fujii N: A case of fibro-dysplasia
ossificans progressiva with a novel
mutation of the activin receptor type
1 (ACVR1) gene. The 132nd Annual
Meeting of the American
Neurological Association, USA,
2007.10, Washington DC
- 19) Furuya H, Ikezoe K, Fujii N, Kira JI,
Arahata H, Fukumaki Y: A case of
fibro-dysplasia ossificans progressiva
with a novel mutation (G356D) of the
activin receptor-like kinase 2 (ALK2)
gene. The 13th conference of World
Muscle Society (WMS13), 2008.10,
New Castle,
- 20) Furuya H, Shigeto H, Ohyagi Y, Fujii
N, Fukumaki Y, Kira JI: Unverricht-Lundborg
disease with
shorter expansion of dodecamer
repeats diagnosed by RT-PCR. The
133rd Annual Meeting of the
American Neurological Association,
2008.9, Salt Lake City
- 21) 古谷博和、藤井直樹、重藤寛史、吉良
潤一、服巻保幸：短いリピート延長を
有する Unverricht-Lundborg 病 (ULD,
EPM1) の CSTB 遺伝子発現とメチル化の
検討。第 31 回日本分子生物学会年会。

- 2008.12, 神戸ポートアイランド
- 22) 安部正通, 矢上晶子, 菅谷直樹, 中川真実子, 稲葉弥寿子, 佐野晶代, 松永佳世子: Stevens-Johnson 症候群 (SJS) の 2 例と SJS 疑い例の 5 例. 第 38 回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会, 2008.10, 大阪
- 23) 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, 2006.4, Liverpool
- 24) Aihara M, Yamane Y, Morita A, Watanabe C, Nakamura K, Ikezawa Z: Epidemiology of severe cutaneous adverse drug reaction in Japan. International symposium of adverse drug reaction (ADR), 2006.2, Yokohama
- 25) 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, 2006.6, 京都
- 26) 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, 2006.7, 淡路
- 27) Ikezawa Z, Yamane Y, Ikezawa Y, Shigehira Y, Watanabe C, Aihara M: Analysis of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in Japan. World Allergy Congress 2007, 2007.11, Bangkok,
- 28) 松倉節子, 井上雄介, 國見裕子, 松木美和, 蒲原毅, 伊藤秀一, 稲葉彩, 相原雄幸, 相原道子, 池澤善郎: マイコプラズマ肺炎およびフェノバル投与後に発症した小児 Stevens-Johnson 症候群の 1 例. 第 106 回日本皮膚科学会総会, 横浜, 2007.4.
- 29) 古井智子, 池澤善郎, 相原道子, 猪又直子, 廣門未知子, 池澤善郎, 小川英幸: 血漿交換療法にて改善した toxic epidermal necrolysis(TEN)の 1 例. 第 57 回日本アレルギー学会秋季学術大会, 2007.11, 横浜
- 30) Yamane Y, Aihara M, Tatewaki S, Matsukura S, Kambara T, Ikezawa Z: Analysis of deceased cases of severe adverse drug reactions: evaluation of the causes and treatment regimen for Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. 3rd International Drug Hypersensitivity Meeting, 2008.4, Paris
- 31) 山根裕美子, 相原道子, 立脇聡子, 松倉節子, 蒲原毅, 池澤善郎: 重症薬疹の治療と予後に関する検討・当科 2 施設における SJS および TEN46 例の検討. 第 107 回日本皮膚科学会総会, 2008.4, 京都
- 32) 池澤優子, 桐野実緒, 稲川紀章, 高橋一夫, 相原道子, 小川桃子, 田村功一, 戸谷義幸, 池澤善郎: 中毒性表皮壊死

- 症(TEN)を中心とするアフェレーシス治療.第29回日本アフェレーシス学会, 2008,11, 広島
- 33) Muramatsu M, Aihara M, Takahashi Y, Kaniwa N, Ikezawa Z. Genetic predisposition to severe cutaneous adverse drug response in Japan. 第57回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2007.11, 横浜
- 34) Muramatsu M, Aihara M, Kashiwagi M, Takahashi Y, Ikezawa Z, Kaniwa N: HLA genotypes in carbamazepine-induced severe cutaneous adverse drug response: difference between Japanese and Han-Chinese. HUGO's 13th Human Genome Meeting. 2008.9, Hyderabad
- 35) 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, 2006.7, 米子
- 36) 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, 2006.10, 京都
- 37) 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, 2006.10, 京都
- 38) Ueta M, Sotozono C, Inatomi T, Hamuro J, Kinoshita S: Gene Expression Analysis of Monocytes Derived From the Patients of Stevens-johnson Syndrome With Ocular Complications. 2007 Annual Meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), 2007.5, Fort Lauderdale
- 39) Sotozono C, Ueta M, Koizumi N, Hibino S, Inatomi T, Kinoshita S: Acute Conjunctivitis as the Initial Symptom of Stevens-Johnson Syndrome With Ocular Complications and the Consequence of Topical Steroids. 2007 Annual Meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), 2007.5, Fort Lauderdale
- 40) Ueta M, Sotozono C, Inatomi T, Kojima K, Tashiro K, Hamuro J, Kinoshita S: Toll like receptor 3 gene polymorphisms in Japanese patients with Stevens-Johnson syndrome. 13th International Congress of Mucosal Immunology, 2007. 7, Tokyo
- 41) 上田真由美、外園千恵、稲富勉、羽室淳爾、木下茂: Stevens-Johnson 症候群における自然免疫異常の関与についての検討、第31回角膜カンファレンス、2007.2, 宮崎
- 42) 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 症候群の初期症状と初期治療. 第113回京都眼科学会, 2007.5, 京都
- 43) 上田真由美、外園千恵、稲富勉、羽室淳爾、木下茂: Stevens-Johnson 症候群における IL4R 遺伝子多型の関与、

- 第 61 回日本臨床眼科学会、2007.10、京都
- 44) 外園千恵、稲富 勉、上田 由美、荒木やよい、中村 宏、小泉 子、木下 茂：遷延性上皮欠損に至った Stevens-Johnson 症候群の初期治療と予後、第 61 回日本臨床眼科学会、2007.10、京都
- 45) Ueta M, Sotozono C, Inatomi T, Hamuro J, Kinoshita S: Association of combined IL-13/IL-4R signaling pathway gene polymorphism with Stevens-Johnson syndrome. 2008 Annual Meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), 2007.4, Fort Lauderdale
- 46) Sotozono C, Araki Y, Inatomi T, Ueta M, Yokoi N, Kinoshita S: Successful Treatment of Stevens-Johnson Syndrome With High-Dose Corticosteroid Pulse Therapy at Disease Onset. 2008 Annual Meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), 2007.4, Fort Lauderdale
- 47) Ueta M, Sotozono C, Inatomi T, Hamuro J, Kinoshita S: Association of Fas Ligand gene polymorphism with Stevens-Johnson syndrome. World Ophthalmology Congress (WOC) 2008, 2008. 7, Hong Kong
- 48) Ueta M, Chie Sotozono, Sotozono C, Inatomi T, Kinoshita S: Genetic Factors of Stevens-Johnson Syndrome in Japanese. 2008 American Academy of Ophthalmology, 2008.11, Atlanta
- 49) 上田真由美、外園千恵、稲富勉、羽室淳爾、木下茂：Stevens-Johnson 症候群における IL13/IL4R シグナル遺伝子多型の関与、第 32 回角膜カンファレンス、2008. 2、千葉
- 50) 足立紘子、稲富勉、外園千恵、上田真由美、木下茂：重症 MRSA 感染と両眼性角膜穿孔をきたした急性期 Stevens-Johnson 症候群の一例、第 32 回角膜カンファレンス、2008.2、千葉、
- 51) 上田真由美、外園千恵、稲富勉、木下茂：Stevens-Johnson 症候群における FasL 型の関与、第 11 回京都免疫ワークショップ、2008.3、京都、
- 52) 上田真由美、外園千恵、稲富勉、木下茂。Stevens-Johnson 症候群の遺伝子発現解析ならびに遺伝子多型解析。第 62 回日本臨床眼科学会、眼科 DNA チップ研究会、2008.10、東京
- 53) 上田真由美、外園千恵、稲富勉、木下茂。候補遺伝子アプローチによる Stevens-Johnson 症候群の遺伝子多型解析。第 62 回日本臨床眼科学会、2008.10.、東京
- H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む)
1. 特許取得
該当なし

2. 実用新案登録

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）

3. その他

様式

健康危険情報通報

平成20年2月7日

厚生労働省健康危機管理調整官 殿

健康危険情報について、下記のとおり通報する。

1. 通報者

- (1) 主任研究者氏名 鹿庭 なほ子
- (2) 研究課題名 厚生労働科学研究費補助金
創薬基盤推進研究事業：ヒトゲノムテーラーメイド研究
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
- (3) 所属施設名 国立医薬品食品衛生研究所・医薬安全科学部
- (4) 連絡先 TEL 03-3700-9654
FAX 03-3700-9788
E-mail nkaniwa@nihs.go.jp

2. 報告内容

(1) 健康危険情報

組織適合抗原クラスIの特定のハプロタイプ、HLA-B*5801を有する人では、アロプリノールを服用するとスティーブンス・ジョンソン症候群(SJS)あるいは中毒性表皮壊死融解症(TEN)を発症する危険性が高まる。

(2) 情報源

1. Hung SI et al., HLA-B*5801 allele as a genetic marker for severe cutaneous adverse reactions caused by allopurinol. Proc Natl Acad Sci U S A. 2005;102:4134-9. (台湾の漢民族に関する結果)
2. Lonjou C et al., A European study of HLA-B in Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis related to five high-risk drugs. Pharmacogenet Genomics. 2008;18:99-107. (主として白人に関する結果)
3. Dainichi T et al., Stevens-Johnson syndrome, drug-induced hypersensitivity syndrome

and toxic epidermal necrolysis caused by allopurinol in patients with a common HLA allele: what causes the diversity? *Dermatology*. 2007;215:86-8.

4. 鹿庭 なほ子ら、厚生労働科学研究、(日本人に関する結果、投稿準備中)

(3) 情報に関する評価・コメント

グレード A 又は B に相当すると思われます(本邦においてなんらかの健康への影響がある可能性があり、科学的根拠が明確である。国外の関係機関(FDA及び台湾の厚生省)が、カルバマゼピンによって発症したSJS/TENについては重大な健康問題として警告しており*、おそらく、アロプリノールについても検討中と考えられる。)

日本人においては HLA-B*5801 の保有率は非常に低いにもかかわらず(0.6%)、Dainichiらの文献では、2名のSJS/TENの患者の2名ともがHLA-B*5801の保有者であった。また、当該研究班では、8名のSJS/TEN患者がアロプリノールを投与されており、そのうちの3名がHLA-B*5801の保有者であった(保有率37.5%)。当該研究におけるキャリアーのオッズ比は46.5($p<0.001$)であった。

なお、アロプリノール服用でSJS/TENを発症した白人におけるHLA-B*5801の保有率は約60%(Lonjouら)、また、漢民族における患者の保有率は100%(Hungら)と報告されている。

* 漢民族ではカルバマゼピンとHLA B*1502との強い関連性が示されたが、白人ではその関連性が否定され、日本人でも当該研究では関連性が見られなかった。

(4) その他

II. 分担研究報告

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

研究推進のための基盤整備と症例集積

研究代表者	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
研究分担者	小菅 治彦	練馬総合病院皮膚科医長
研究協力者	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
	古江 増隆	九州大学医学部皮膚科学教室教授
	高原 正和	九州大学医学部皮膚科学教室助教授・病棟医長
	鎌谷 直之	独立行政法人・理化学研究所・ゲノム医学センター チームリーダー

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症(TEN)を未然に防ぐことを目標として、ケース・コントロール研究により、SJS/TEN の発症と関連する遺伝子マーカーを探索・同定し、同マーカーの検出キットを開発する研究班が発足した。著者らは、研究推進のための基盤整備と症例集積を担当した。

SJS/TEN の発症頻度の低さを鑑み、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、重篤副作用報告制度を利用して、全国で散発するSJS/TEN の症例を把握し、登録するためのシステム（NIHS 症例集積システム）を構築し、国立医薬品食品衛生研究所・医薬安全科学部で運営した。本研究では、NIHS 症例集積システム、研究分担者が所属する医療機関、及び、研究代表・分担者が個別に依頼した研究協力者又は医療機関を通じて症例を集積した。2006年6月15日より症例集積を開始し、2009年1月末までに、156例の症例を集積した。集積された症例の内、133症例について皮膚科の専門医がケースカードに基づき診断を行い、93例がSJS/TENであるとされ、14例が疑いありとされた。症例集積は順調に推移し、ケース・コントロール研究のために研究当初に設定した目標症例数100例をほぼ達成できた。

なお、NIHS 症例集積システムでは、全集積症例数の50%強を集積することができた。特異体質が原因であるとされる重篤な副作用は、発生頻度が非常に低いために少数の医療機関で、多数の症例を集積することは困難である。本システムで集積した症例がSJS/TENであった確率は約75%であり、SJS/TENの判定が難しいことを考慮すれば、かなり高い値と考えられる。本システムは、発生頻度が少ない疾病や重篤副

作用の症例の診療情報と生体試料の集積に有用なシステムであると考えられる。

A. 研究目的

薬物による重篤な副作用のひとつに、皮膚粘膜の障害を主症状とするスティーブンス・ジョンソン症候群(SJS)及び中毒性表皮壊死症(TEN)があり、重篤な場合には死に至り、回復後も眼や気道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、100以上の医薬品で発症することが指摘されており、日本では、SJSとTENで年間400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、リスクの高い患者には原因となる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。

近年の漢民族等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、オッズ比が非常に高い遺伝子マーカーが検出された (Chung WH et al., *Nature*, 428, 486 (2004), Hung SI et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 102, 4134-4139 (2005), Lonjou et al., *Pharmacogenomics J*, 6, 265-8, (2006))。しかし、重症薬疹発症と関連する遺伝子マーカーには、薬物依存性とともに入種や民族依存性があることも明らかになってきた。このため、日本人に有用な遺伝子マーカーの探索には、日本人を対象とした研究が必要となる。

平成18年度より、日本人の患者を対象としたケース・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、日本人にとって有用な遺伝子マーカーを探索・同定し、重症薬疹を発症しやすい体質の検出方法を開発することを目的に、研究班が発足した。著者らは、本研究班において、研究推進のための基盤整備と症例集積を担当した。

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15日から2009年1月31日までに、本研究班へ登録され、SJS/TENと診断された又は疑いがあると診断された症例について、服用している薬物の集計を行った。

(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。研究代表・分担者は、それぞれが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 症例集積システムの構築

SJS/TENの発症頻度が非常に低いために、本研究において十分な検出力を得るのに必要なケースを確保するためには、研究分担者が所属する医療機関からの症例の登録だけでは足りないことが予測された。そ

ここで、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、国立医薬品食品衛生研究所（国立衛研）・医薬安全科学部で運営する、Fig. 1に示すシステムを構築し、全国で発生するSJS/TENの患者の担当医に本臨床研究への協力を依頼した。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、「重症薬疹が発生した」という事実を任意で国立衛研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、国立衛研は担当医と連絡をとり、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、同意書は担当医が保管する。(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、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、国立衛研の個人情報管

理者が匿名化番号を付与し、同意書は国立衛研で保管する。なお、以後、本システムをNIHS症例集積システムと呼ぶ。

登録された症例の確定診断

SJS/TENの診断は臨床検査値から判定することができず、又、患者の担当医が必ずしも皮膚科の医師とは限らないため、登録された症例がまさしく本研究班のターゲットであるSJS/TENであるか否かの診断が必要であり、SJS/TEN以外の症例が紛れ込まないようにすることが研究の質の確保に重要である。研究班では、SJS/TENに特に詳しい研究分担者の横浜市立大学大学院医学研究科池澤教授及びその協力研究者である横浜市立大学大学院医学研究科相原教授に、当研究班で使用するケースカードの作成を依頼した。ケースカードには、年齢、性別、原疾患などの基本情報とともに、発症前の服用薬物名と服用日、発症日、SJS/TENの皮膚・粘膜における症状、目の障害の程度を含む合併症、治療方法、転帰などの記入欄があり、また、SJS/TENに関する退院サマリーを添付する欄がある。担当医及び研究分担者が所属する医療機関より回収されたケースカードは、研究代表者より研究班の皮膚科の専門医、相原教授と藤田保健衛生大学医学部松永教授へ送付し、症例の確定診断をお願いした。

検体の回収

本研究に協力していただく担当医及び医療機関に所属する研究分担者の負担を軽くするために、血液検体の回収を専門の業者に委託した。業者は、連結可能匿名化番号が付された採血キットを担当医又は研究分

担者に配付し、採血日に訪問して回収するか、あるいは、ドライアイスを詰めた冷凍輸送が可能なパックを用いた宅配による回収を行った。

(2) NIHS 症例集積システムの評価

システムの稼働開始日（2006年6月15日）より2009年1月31日までの31ヶ月あまりの間に、担当医がSJSまたはTENと判定した症例が、NIHS症例集積システムのルートを通じて製薬企業から国立衛研へ報告された件数は413であり、内訳はSJS 292件、TEN 121件であった。これは、1年間の報告数として約160件に相当する。SJS/TENの年間発症数は、400～500例であるので、製薬会社が任意で国立衛研へ報告する件数は、発症数の30～40%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、報告数の約32%、131件であった。筆者らが、協力を申し出た担当医に状況を確認した段階で、申し出を取り消す例、既にSJS/TENに関する治療を終え患者が来院していない、協力方法を検討中に患者がお亡くなりになる、非同意を表明されるなどで、登録に至らなかった例が37例存在し、登録に至った件数、及び、倫理申請を開始した件数は合わせて95件であった。これは、報告数の約23%に相当する。この中で、医療機関の倫理委員会の承認が必要な機関は27機関あった。2009年1月31日までに、本システムを通じて採血が終了した症例数は81症例である。採血が終了した症例81例の内、78例については副作用名の診断が確定しており、SJS/TENと診断された症例は59例で、これは76%に相当する。また、後に述べるよ

うに、研究班全体では、2009年1月31日までに、156例の症例を集積したので、本システムの全症例集積数に占める割合は、50%強である。

(3) 研究班全体での症例集積状況

Case 群の集積

NIHS 症例集積システム以外の症例集積ルートにより、2009年1月31日までに、研究分担者の医療機関の症例が63例登録され、また、症例集積協力者による症例が12例登録された。後者には、研究分担者による紹介、主任及び研究分担者が個別に依頼した医師、医師からの直接の通報などが含まれる。同日現在、研究班全体としては、156症例集積され、93例が本研究の解析対象であるSJS又はTENと診断され、一方、SJS/TEN以外と確定診断された症例及びケースカードへの記載が不十分なために判定不能とされた症例が合わせて26例あり、23例は診断待ちの状況である。研究班全体としては、確定診断を受けた症例中、SJS/TENと確定された症例の割合は、70%であった。

コントロール群の集積

コントロール群のデータとして、以下の3つを使用することとした。

- カルバマゼピンを含む抗てんかん薬を長期に服用しても、重症薬疹を発症しなかった患者の多型データ
- 研究協力者、独立行政法人・理化学研究所・ゲノム医学センターチームリーダー 鎌谷 直之先生よりご提供頂いた200名の健常成人の多型データ。
- 日本組織適合性学会のホームページ (<http://square.umin.ac.jp/JSJI/frame>)

e.html)に掲載されている、日本人の HLA タイプの頻度。

a)は、カルバマゼピンその他の芳香族抗てんかん薬によって発症した SJS/TEN のケース群に対応するコントロール群として使用する。SJS/TEN のように発症頻度が稀な疾患では、健常人のサンプルをコントロールとしても差し支えない。しかし、抗てんかん薬のように、投与される疾患が比較的限定される薬剤誘因性の SJS/TEN の解析では、健常人をコントロールとすると、SJS/TEN のバイオマーカーではなく原疾患易罹患性のバイオマーカーを検出する恐れがある。それを防ぐために、抗てんかん薬誘因性の SJS/TEN の関連解析においては、カルバマゼピンその他の芳香族抗てんかん薬を長期に服用しても SJS/TEN を発症しない症例をコントロールとして用いる。2009 年 1 月末現在、22 例のコントロールを収集した。b)は、DNA マイクロアレイを用いた解析において、健常人コントロール群として使用する。既に、200 例の検体の収集は終了した。c)は、HLA アレルの比較検討において、健常人コントロール群のデータとして使用する。

D. 考察

SJS/TEN の発症は年間 500 例足らずと少なく、拠点病院においてすら、年間に数例の発生程度であり、研究のための症例を集積することが難しい。本研究班では、初めに、全国で散発する症例を集積するためのシステム、NIHS 症例集積システムを構築した。NIHS 症例集積システムの発足にあたっては、厚生労働省医薬食品局安全対

策課より日本製薬団体連合会に宛てて協力依頼の通知を發出して戴いた。本システムを通じては、北海道から九州まで満遍なく、また、時期的な変動もそれほどなく症例が登録されている。2年半という短期間に 60 例もの症例が集積されたのは、協力依頼の通知によるところが大きいと考えられる。研究班全体の症例登録数に対する本システムによる症例登録の寄与は 50%強であり、また、本システムによって特に SUS/TEN 以外の症例が混入する割合が大きくなるという傾向も見られなかった。このことより、NIHS 症例集積システムは、本研究において、症例集積システムとして、非常によく機能していると言える。本システムは、SJS/TEN のみに限らず、非常に発生頻度が低く回復に時間を要する、あるいは、後遺症が残る副作用の研究にあつては、症例集積に非常に有用と考えられた。

疾病と遺伝子マーカーとの関連解析にあつては、集積した症例の中に研究の対象外の疾病が含まれることは、ノイズを大きくすることに繋がる。本研究では、登録した症例について、研究班の専門医が直接診察することはできなかつた。研究班では、担当医の診断をそのままは採用せず、標準化したケースカードを基に、研究班の専門医に症例の確定診断を依頼し、解析対象に SJS/TEN 以外の薬疹が紛れることを可能な限り小さくした。また、添付された退院サマリーは、確定診断や、眼合併症の程度を診断する上で、非常に有用であつた。

E. 結論

全国で散発する SJS/TEN の症例を集積

するために、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、国立医薬品食品衛生研究所・医薬安全科学部で運営する症例集積システムを構築することにより、また、登録された症例の確定診断を行うための標準化されたケースカードの作成を研究班の皮膚科の専門家に依頼することにより、SJS/TENの発症と関連する遺伝子マーカーの探索研究のための基盤整備を行った。本症例集積システム、及び、研究分担者が所属する医療機関等を通じて、2009年1月末までに、SJS/TENと確定診断された症例を93例、SJS/TENの疑いがある症例を14例集積した。

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。さらに、NIHS 症例集積システムを通じて症例集積にご協力戴きました、日本製薬団体連合会及び厚生労働省医薬食品局安全対策課に、心より感謝申し上げます。

F. 健康危険情報

2008年2月7日に、添付の健康危機管理対策室に提出した。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 鹿庭 なほ子:「スティーブンス・ジョ

ンソン症候群/中毒性表皮壊死融解症と遺伝子多型」ファルマシア, 43:1075-1079, 2007.

- 2) Nahoko Kaniwa, Yoshiro Saito, Michiko Aihara, Kayoko Matsunaga, Masahiro Tohkin, Kouichi Kurose, Jun-ichi Sawada, Hirokazu Furuya, Yukitoshi Takahashi, Masaaki Muramatsu, Shigeru Kinoshita, Masamichi Abe, Hiroko Ikeda, Mariko Kashiwagi, Yixuan Song, Mayumi Ueta, Chie Sotozono, Zenro Ikezawa and Ryuichi Hasegawa: HLA-B locus in Japanese patients with anti-epileptics and allopurinol-associated Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. *Pharmacogenomics* 9(11), 1617-1622 (2008).
- 3) 鹿庭 なほ子、重篤副作用のバイオマーカー探索の最新の動向、*Pharm Stage*, 8(7), 1-3 (2008).
- 4) 鹿庭 なほ子、重症薬疹の発症に関連する遺伝子マーカーの探索研究、*月刊薬事*, 50 (13), 147-151, 2008.

2. 学会発表

- 1) 鹿庭なほ子:薬理作用から類推できない場合-重症皮膚有害事象の例. 第4回医薬品レギュラトリーサイエンスフォーラム, 2007.10, 大阪
- 2) Muramatsu M, Aihara M, Takahashi Y, Kaniwa N, Ikezawa Z. 第57回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2007.11, 横浜

- 3) 鹿庭なほ子、頭金正博、黒瀬光一、斎藤嘉朗、長谷川隆一、高橋幸利、古谷博和、松永佳世子、村松正明、小菅治彦、木下茂、池田浩子、安部正通、柏木麻理子、宋イシューアン、外園千恵、上田真由美、相原道子、池澤善郎：日本人における重症薬疹発症に関連するバイオマーカーの探索。日本薬学会第128年会，2008.3，横浜
- 4) 鹿庭なほ子：ゲノム情報を利用した安全性評価への取組 - SJS/TEN の例。第11回日本医薬品情報学会，2008.7，東京
- 5) Muramatsu M, Aihara M, Takahashi Y, Kashiwagi M, Takahashi Y, Ikezawa Z and Kaniwa N. HLA genotypes in carbamazepine-induced severe cutaneous adverse drug response: difference between Japanese and Han-Chinese. 第13回国際ヒトゲノム学会，2008.9，ハイダラバード
- 6) 鹿庭なほ子：重篤副作用関連のバイオマーカー探索-Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis を例として，第三回医薬品評価フォーラム，2008.9，東京
- 7) 斎藤嘉朗、頭金正博、黒瀬光一、澤田純一、長谷川隆一、外園千恵、木下茂、高橋幸利、古谷博和、村松正明、松永佳世子、相原道子、池澤善郎、鹿庭なほ子：日本人におけるスティーブンス・ジョンソン症候群及び中毒性表皮壊死症と相関する HLA タイプの探索（第一報）。日本免疫毒性学会第15回学術大会，2008.9，東京
- 8) Nahoko Kaniwa, Yoshiro Saito, Michiko Aihara, Kayoko Matsunaga, Masahiro Tohkin, Kouichi Kurose, Hirokazu Furuya, Yukitoshi Takahashi, Masaaki Muramatsu, Shigeru Kinoshita, Zenro Ikezawa and Ryuichi Hasegawa, and for the JSAR research group: An exploratory study of genetic biomarkers associated with Japanese SJS/TEN patients: a nation-wide multi-center study in Japan. 15th Annual ISSX (International Society for the Study of Xenobiotics) North American Regional Meeting, 2008.10, San Diego
- 9) Kouichi Kurose, Yoshiro Saito, Masahiro Tohkin, Nahoko Kaniwa, Michiko Aihara, Kayoko Matsunaga, Yukitoshi Takahashi, Hirokazu Furuya, Masaaki Muramatsu, Shigeru Kinoshita, Jun-ichi Sawada, Zenro Ikezawa, Ryuichi Hasegawa, and for the JSAR research group: Association between HLA alleles and carbamazepine and allopurinol-induced Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in Japanese patients. 15th Annual ISSX (International Society for the Study of Xenobiotics) North American Regional Meeting, 2008.10, San Diego
- 10) 斎藤嘉朗、鹿庭なほ子、頭金正博、黒瀬光一、長谷川隆一、SJS/TEN 遺伝子多型研究班：重症薬疹（スティーブンス・ジョンソン症候群及び中毒性表皮

壊死症)の薬理ゲノム学, 第29回日本
臨床薬理学会年会, 2008.12, 東京

- 11) 鹿庭なほ子、斎藤嘉朗、頭金正博、黒瀬光一、長谷川隆一、高橋幸利、古谷博和、松永佳世子、村松正明、小菅治彦、木下茂、池田浩子、安部正通、柏木麻理子、宋イシューアン、外園千恵、上田真由美、相原道子、池澤善郎：日本人における重症薬疹発症に関連するバイオマーカーの探索。日本薬学会第129年会, 2009.3, 京都
- 12) 頭金正博、鹿庭なほ子、黒瀬光一、斎藤嘉朗、長谷川隆一、高橋幸利、古谷博和、松永佳世子、村松正明、小菅治彦、木下茂、池田浩子、安部正通、柏木麻理子、宋イシューアン、外園千恵、上田真由美、相原道子、池澤善郎：ステイブンス・ジョンソン症候群/中毒性表皮壊死症の発症と関連する遺伝子多型の網羅的探索。日本薬学会第129年会, 2009.3, 京都

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
3. その他

重症薬疹患者の網羅的遺伝子多型解析

研究分担者 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
研究分担者 黒瀬 光一 国立医薬品食品衛生研究所医薬安全科学部主任研究官

研究要旨 スティーブンス・ジョンソン症候群・中毒性表皮壊死融解症 (SJS/TEN) 患者と対照群被験者のゲノム DNA を用いて約 26 万種類の一塩基多型 (SNP) のタイピングを行った。初年度は発症群 8 例、対照群 4 例、次年度は発症群 35 例、対照群 25 例、最終年度は合計で 82 例の発症群、183 例の対照群の網羅的遺伝子多型データを得た。データを測定 of 正確性および遺伝継承法則への適合性からデータクリーニングした後、SJS/TEN 発症との関連解析を行った。その結果、コ克蘭・アーミテージ検定では、多重性の補正後も有意に関連性のある SNP が、カルバマゼピンが起因薬と思われる発症群で 4 個、ロキソプロフェンが起因薬と思われる発症群で 3 個見いだされた。また、遺伝子型を基にした検定 (フィッシャーの正確検定) では、ロキソプロフェンが起因薬と思われる発症群で多重性の補正後も有意に関連性のある SNP が 1 個見いだ

A. 研究目的

医薬品による重篤な有害事象の一つであるスティーブンス・ジョンソン症候群 (SJS) および中毒性表皮壊死融解症 (TEN) の発症に関連した遺伝子多型マーカーの探索研究が、台湾の漢民族を対象に行われ、カルバマゼピンによる SJS/TEN の発症と HLA-B*1502 が、アロプリノールによる発症が HLA-B*5801 と強く相関していることが示唆された。一方、ヨーロッパ系人種では漢民族で見いだされたこれらの遺伝子多型がカルバマゼピンによる SJS/TEN の発症と関連していないと報告されている。日本人における SJS/TEN の発症頻度については、HLA-B*1502 のアレル頻度は漢民族と異なることが報告され

ており、漢民族で見いだされた遺伝子多型マーカーが日本人におけるマーカーと異なっている可能性が高い。従って、日本人に適用可能な遺伝子多型マーカーを新たに検出することが必要である。また、現状では遺伝子多型マーカーの遺伝子座位は特定されていない。従って、領域を限定せずに全ゲノムに渡って網羅的に遺伝子多型解析を行い、日本人における SJS/TEN の発症に関連したマーカーを明らかにすることは、医薬品による有害事象を低減するためには極めて重要になる。

GeneChip® Human Mapping 500K Array Set (Nsp および Sty array) は、約 50 万個の一塩基遺伝子多型 (SNP) を網羅的にタイピングすることが可能な DNA マ

マイクロアレイである。公共データベースおよび Perlegen Sciences 社のデータベースに登録されている 220 万にのぼる SNPs データをもとに、正確性や Call rate、再現性が最適化された SNPs が選択されている。また、遺伝的情報量を最大化するために、3 種類の人種集団における連鎖不平衡と HapMap 情報を基に SNP の優先的選択が行われ、遺伝子領域内にある SNPs については全体の 37%、遺伝子の上流域または下流 10kb の領域内 SNPs については全体の 8% を占める。このアレイによる SNP カバー率はヒトゲノムの 85% 以上の領域において 10kb に少なくとも 1 つの SNP を検出することが可能であり、当研究を開始した平成 18 年時点では、最も詳細なゲノムワイドな遺伝子マッピングが可能なツールの一つであった。

そこで、本研究では SJS/TEN の発症患者および対照群被験者からゲノム DNA を収集し、GeneChip® Human Mapping 250K Nsp Array を用いた網羅的遺伝子多型から得た SNPs データを用いて SJS/TEN のケース・コントロール関連解析を行い、SJS/TEN の発症機構の解明とバイオマーカーの確立を目指した。

B. 研究方法

SJS/TEN 発症患者および対照群被験者の DNA の調製と診断情報の収集: 国立医薬品食品衛生研究所・研究倫理審査委員会より実施を許可された研究プロトコールに従って、被験者より文書にて研究への参加を確認した後、EDTA 添加末梢血を 10 mL を各医療機関にて採取した。血液検体は各医療

機関で匿名化された後、三菱化学メディエンス (株) で DNA を調製し国立医薬品食品衛生研究所・医薬安全科学部に搬入された。対照群被験者のゲノム DNA については、国立病院機構大牟田病院および国立静岡てんかん・神経医療センターにてカルバマゼピンあるいは抗けいれん剤を服用しているが SJS/TEN を発症していない患者および東京女子医大にて健常人より調製したゲノム DNA を用いた。被験者の診断情報については各医療機関で匿名化された後、国立医薬品食品衛生研究所・医薬安全科学部に送付された。DNA については国立医薬品食品衛生研究所・医薬安全科学部にて GeneChip® Human Mapping 250K Nsp Array の測定に用いた。匿名化された診断情報については分担研究者である横浜市立大学医学部環境免疫病態皮膚科学教室あるいは藤田保健衛生大学医学部皮膚科教室にて、SJS/TEN の確定診断に用いた。

DNA マイクロアレイ実験: 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。

DNA マイクロアレイデータ解析:

GeneChip® Human Mapping 250K Nsp Array から得た遺伝子多型に関するデータ

を用いた SJS/TEN 発症との関連解析は、統計計算ソフトウェア R および関連解析ソフト GQuest ((株) スタージェン) を用いて行った。

(倫理面への配慮)

当研究計画は、国立医薬品食品衛生研究所あるいは共同研究医療機関の研究倫理委員会で研究実施の承認を得た。被験者からは研究への参加意志を文書にて確認した。また、被験者の DNA および診療情報はすべて連結可能匿名化されたのち、国立医薬品食品衛生研究所に搬入され研究に用いた。

C. 研究結果

SJS/TEN 発症患者および対照群被験者の DNA の収集

医療機関に所属する研究分担者および国立医薬品食品衛生研究所で確立した検体集積システム(鹿庭の報告書を参照)から収集した SJS/TEN の発症患者および対照群被験者のゲノム DNA を集積した。平成 18 年度は軽度を含む発症患者 8 例と対照群 4 例について網羅的遺伝子多型測定を行った。平成 19 年度は SJS/TEN と確定診断された発症患者 35 例と対照群 25 例について試行的に関連解析を行った。なお、SJS/TEN の発症率は極めて稀であることから対照群として健常者ゲノム DNA を用いることとし、平成 19 年度の対照群検体は健常人 20 名とカルパマゼピンを服用しているが SJS/TEN を発症しなかった患者(5 名)が含まれている。平成 20 年度は最終的に SJS/TEN と確定された被験者 82 例と対照群 183 名(健常人および非発症者を含む)の測定データを用いて関連解析を行った。

網羅的 SNPs データの品質評価とデータクリーニング

SJS/TEN と確定された被験者(ケース群) 82 名と SJS/TEN を発症していない対照群(コントロール群) 183 名のゲノム DNA を測定に供した。GeneChip® Human Mapping 250K Nsp Array を用いて測定したデータには、各検体について 262,217 種類の SNPs についてのデータが含まれるが、実験で測定されたデータについて関連解析を実施することができる品質を保持しているか、あらかじめ検討する必要がある。そこで、合計 265 検体のデータについて、測定の正確性および遺伝継承法則への適合性の点からデータ品質を評価した。

まず、測定の正確性については、測定した 262,217 種類の SNPs の 1 チップ当たり Call rate (実際にタイピングが可能であった SNPs の割合) が 94% 以上で、男性の検体においては X 染色体におけるヘテロ接合体の頻度が 0.1 以下の検体を関連解析に用いることにした。その結果、ケース群およびコントロール群ともに全ての検体が上記の条件に適合した。また、1 SNP 当たりの評価については、SNP 毎の Call rate が 95% 以上、またマイナーアレル頻度(MAF) は 0.01 以上の SNP を関連解析の対象とした。遺伝継承法則への適合性についてはハーディー・ワインベルクの法則への適合性について Fisher の正確検定を行い、p 値が 0.001 以下の SNPs は解析対象から除外した。このようなデータクリーニングを被疑薬毎に検体を分類して行ったところ、測定した 262,217 種類の SNPs のうち、関連解析の対象となる SNPs は 70.9%・74.6%

(185,956 – 195,589 SNPs)が残った。

集団の構造化については、被疑薬毎に検体を分類して λ 値を計算したところ、全ての場合で1.1以下となり、集団は均質化されていると判断した。

SJS/TENの発症と関連するSNPの探索

SJS/TENと確定された被験者82名(ケース群)とSJS/TENを発症していない対照群(コントロール群)183名のSNPsデータを用いて、ケース・コントロール研究を行いSJS/TEN発症とSNPsとの関連性を解析した(解析①)。また、ケース群については、被疑薬がカルバマゼンピン(解析②)、芳香族系抗てんかん薬(解析③)、ロキソプロフェン(解析④)、非ステロイド系抗炎症薬(解析⑤)と考えられる被験者を対象にした関連解析も行った。発症とSNPsの関連解析は、遺伝子型による分割表を作成し、カイ2乗検定法およびフィッシャーの正確検定法で検討を行った(遺伝子型モード)。また、リスクアレルの増減と発症割合との間での線形傾向の有無をコクラン・アーミテージ検定法で検討した(傾向検定)。各検定法でのタイプIの誤りの多重性については、ボン・フェローニの不等式による有意水準の補正やFalse Discovery Rate(FDR)のコントロールによる有意水準の設定を行った。まず、SJS/TENと確定された被験者(ケース群)82名と対照群(コントロール群)183名を用いた関連解析では(解析①)、遺伝子型モード検定(カイ2乗検定法およびフィッシャーの正確検定法)および傾向検定を行い、得られた各SNPについてのp値の分布を染色体毎に示した(図1-1、図1-2、図1-3)。このとき、有意水準を

FDRで設定すると、有意に関連があると判断されるSNPsが複数あった。しかし、有意水準をボン・フェローニの不等式で設定した場合は、有意な関連性のあるSNPは検出されなかった。また、被疑薬がカルバマゼンピンと考えられる被験者をケース群(10名)とし、コントロール群(157名)を用いた関連解析では(解析②)、傾向検定および遺伝子型モード(カイ2乗検定法)では、有意水準をボン・フェローニの不等式で設定した場合でも有意なSNPsが複数見いだされた(図2-1、図2-2、図2-3)。被疑薬が芳香族系抗てんかん薬と考えられる被験者をケース群(24名)とした解析では、服用患者がてんかん患者であるため、健常者をコントロール群とした場合、てんかんに関連する遺伝子多型を検出する可能性があることから、抗てんかん薬を服用しているがSJS/TENを発症していない被験者をコントロール群(17名)とした(解析③)。その結果、有意水準をFDRで設定したとき、遺伝子型モード検定(カイ2乗検定法およびフィッシャーの正確検定法)および傾向検定のいずれの検定方法でも有意に関連があると判断されるSNPsが複数あったが(図3-1、図3-2、図3-3)、有意水準をボン・フェローニの不等式で設定した場合は、有意な関連性のあるSNPは検出されなかった。解析④では被疑薬がロキソプロフェンと考えられる被験者をケース群(13名)とし、コントロール群(157名)を用いて関連解析を行った。その結果、有意水準をボン・フェローニの不等式で設定したとき、遺伝子型モード検定(カイ2乗検定法およびフィッシャーの正確検定法)および傾向検定のいずれの検定方法でも有