

Fig. 1. Myofibroblast differentiation in type I collagen gel. Fibroblast-populated collagen gels were cultivated in DMEM supplemented with 10% FCS and ascorbic acid. At week 1 (A and B) and week 2 (C and D), the samples were harvested. Gels were also cultured with bFGF for 2 weeks (E and F). The paraffin sections were immunohistochemically stained with vimentin (A, C and E) and α -SMA (B, D and F) antibodies. Vimentin-positive cells (Fig. 1C) or α -SMA-positive cells (Fig. 1D) were counted respectively in each of 5 areas of $50\ \mu\text{m} \times 50\ \mu\text{m}$ and averaged (Fig. 1G). Bars are $50\ \mu\text{m}$.

3. Results

3.1. Modulation of myofibroblast differentiation by basic fibroblast growth factor (bFGF) in the fibroblast-populated type I collagen gel

Seven days after construction of the fibroblast-populated type I collagen gel, fibroblasts were found to be scattered sporadically in the three-dimensional structure by vimentin staining (Fig. 1A); however, no α -SMA expression was found (Fig. 1B). By day 14, the

collagen gel had thinned markedly, and fibroblasts were found to be lined up parallel to the gel surface (Fig. 1C); additionally, α -SMA staining revealed that a large number of fibroblasts had transformed into myofibroblasts (Fig. 1D). Vimentin-positive cells (Fig. 1C) or α -SMA-positive cells (Fig. 1D) were counted respectively in each of 5 areas of $50\ \mu\text{m} \times 50\ \mu\text{m}$ and averaged. The result showed that 58.62% of the fibroblasts were differentiated into α -SMA-positive cells (Fig. 1G). The fibroblast-populated collagen gel with bFGF was much thicker than the gel cultivated

without bFGF (Fig. 1E) on day 14. None of the bFGF-treated cells was positive for α -SMA (Fig. 1F).

3.2. Suppression of myofibroblast differentiation by bFGF in the collagen gel and LSEs, and the influence of bFGF on epidermal differentiation and TGF- β 1 expression

Two weeks after airlift (i.e., 3 weeks after the gel was constructed), the bFGF-treated LSEs showed a thicker dermal matrix and somewhat thinner epidermis with far fewer α -SMA-positive cells at the dermal–epidermal junction compared with the bFGF-free LSEs. No α -SMA staining was found in the dermal matrix below the dermal–epidermal junction in either group (Fig. 2A and E). Keratin 16 is a marker of hyperproliferative keratinocytes, while keratin 10 is a marker of epidermal differentiation. In the bFGF-treated LSEs, faint staining for keratin 16 was observed, while staining for keratin 10 was more intense (Fig. 2F and G) compared

with the bFGF-free LSEs (Fig. 2B and C). Thus, the epidermis in the bFGF-treated LSEs was less proliferative and better differentiated. The epidermis of the bFGF-untreated LSEs showed a much higher level of TGF- β 1 expression compared with the bFGF-treated LSEs (Fig. 2D and H).

3.3. Myofibroblast differentiation is arrested and the epidermis is better differentiated with down-regulated TGF- β 1 expression in the AMLSE model

Two weeks after airlift (3 weeks after the gel was constructed), the AMLSEs showed a thinner epidermis and thicker dermal matrix compared with the AM-free LSEs. α -SMA-positive cells lined the dermal–epidermal junction compactly in the AM-free LSEs, while no α -SMA-positive cell was seen in the AMLSEs (Fig. 3A and E). The basal cells in the AMLSEs were more cuboidal, smaller, and aligned more compactly along the dermal–epidermal junction than in the

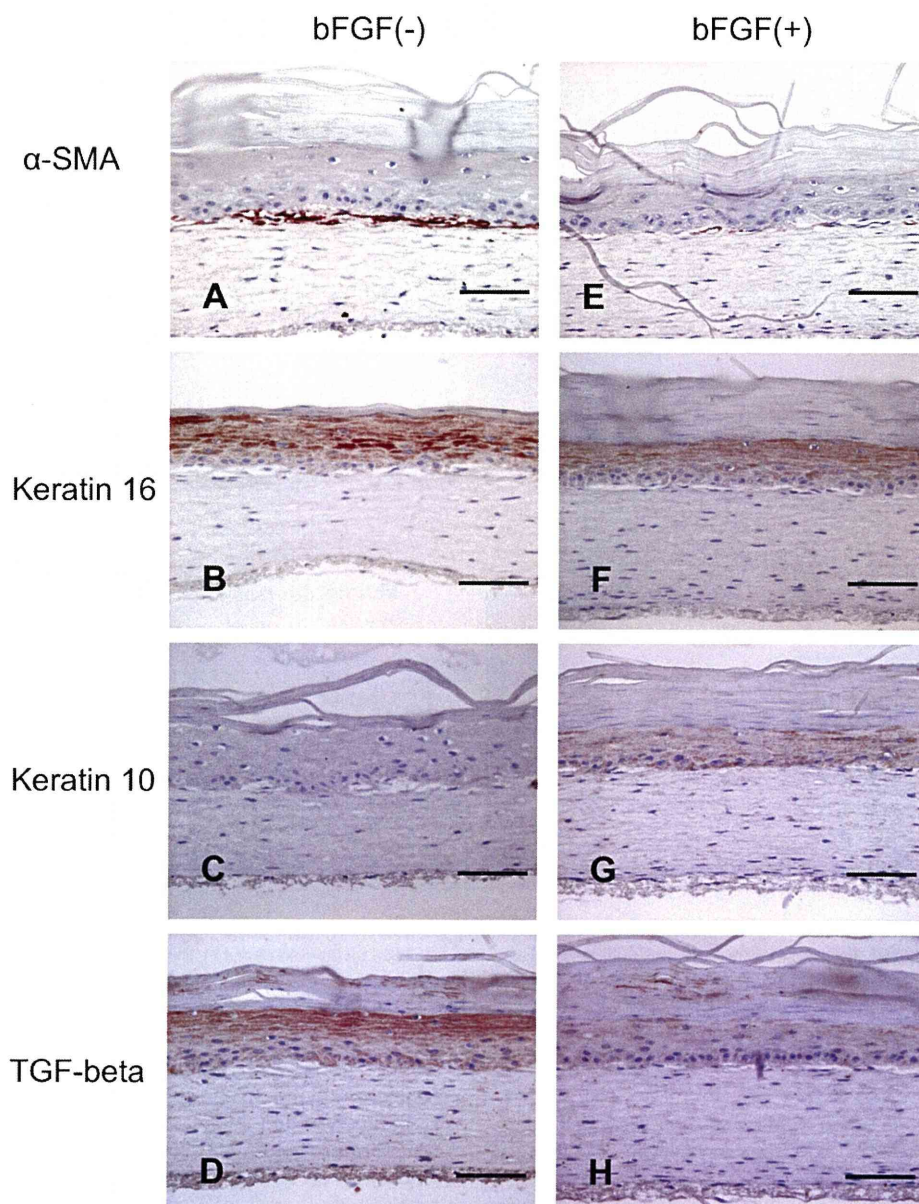


Fig. 2. bFGF influenced myofibroblast differentiation and epidermogenesis in LSEs. The LSEs were cultivated with (E, F, G and H) or without (A, B, C and D) the addition of bFGF in the culture medium after airlift. The LSEs were harvested two weeks after airlift. The paraffin sections were immunohistochemically stained with α -SMA (A and E), keratin 16 (B and F), keratin 10 (C and G) and TGF- β (D and H) antibodies. Bars are 50 μ m.

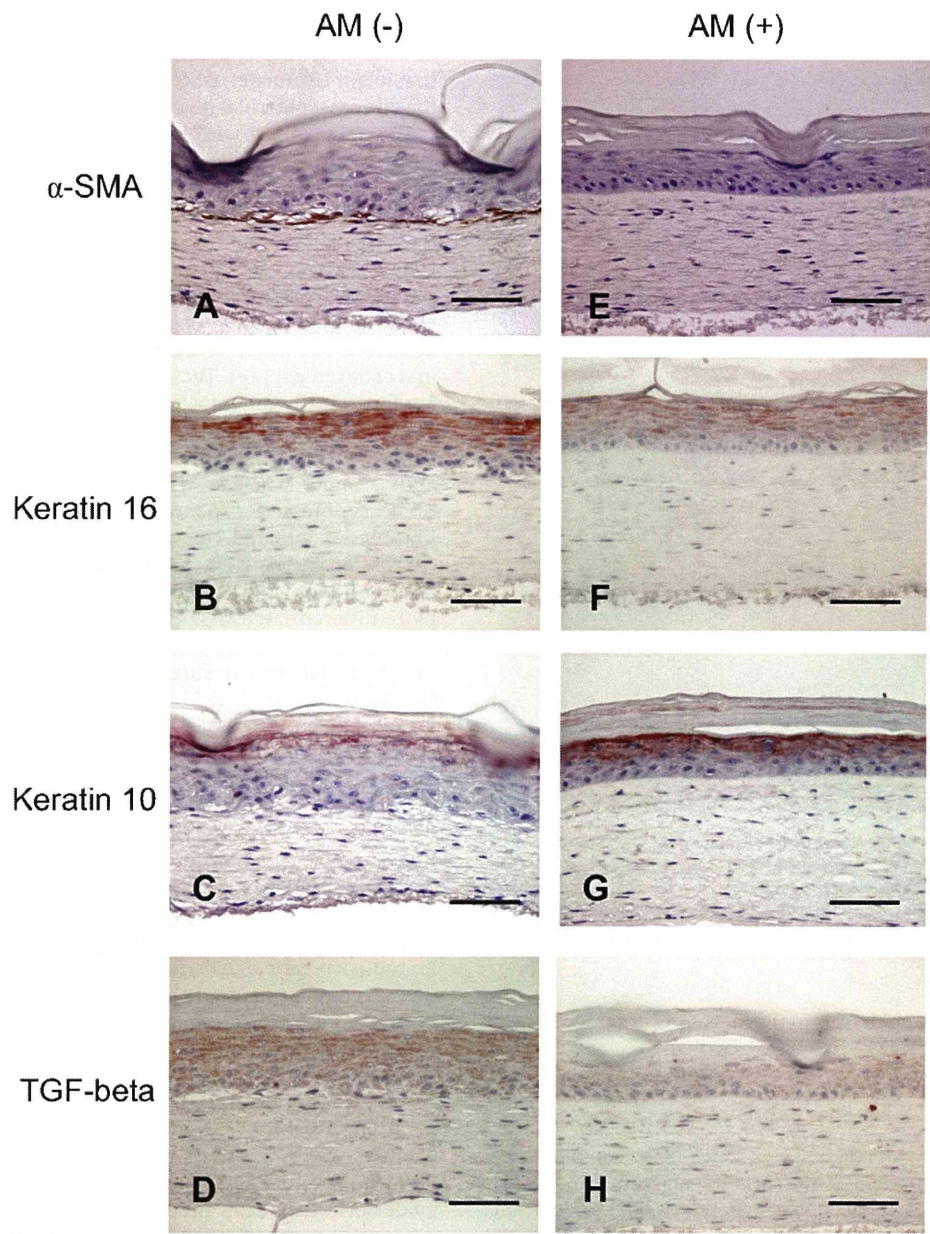


Fig. 3. In AM-LSEs, myofibroblast differentiation was inhibited and epidermis was better differentiated. The LSEs were cultivated with (E, F, G and H) or without (A, B, C and D) the adoption of amniotic membrane. The LSEs were harvested two weeks after airlift. The paraffin sections were immunohistochemically stained with α -SMA (A and E), keratin 16 (B and F), keratin 10 (C and G) and TGF- β (D and H) antibodies. Bars are 50 μ m.

control LSEs. The epidermis in the AMLSEs was less proliferative (Fig. 3B and F) and better differentiated (Fig. 3C and G), indicated by weaker keratin 16 and more intense keratin 10 staining, respectively, compared with the control LSEs. Moreover, epidermal TGF- β 1 expression in the AMLSEs was lower than in the AM-free LSEs (Fig. 3D and H).

TEM revealed the ultra-structure of the dermal–epidermal junction. In the AM-free LSEs, the basement membrane could not be distinguished; the basal cells at the dermal–epidermal junction and in close contact with the underlying fibroblasts were disorganized (Fig. 4A). In the AMLSEs, the basement membrane was well-developed and clearly demarcated the dermal and epidermal compartments. Moreover, the epidermal basal cells were polarized and well-organized at the dermal–epidermal junction. The epidermal cells were separated from the

fibroblasts by the basement membrane and matrix of the AM (Fig. 4B).

3.4. Suppression of myofibroblast differentiation and modulation of the epidermal phenotype in the LSE by the inhibition of TGF- β 1 signaling

In the SB431542-treated group, no α -SMA staining was noted either at the dermal–epidermal junction or in the underlying dermal matrix in comparison to the control LSEs (Fig. 5A and D). The epidermis in the SB431542-treated LSEs was thicker and better stratified. The epidermis in both LSE groups expressed keratin 16 strongly (Fig. 5B and E); however, the upper part of the epidermis in the SB431542-treated LSEs was intensely stained by keratin 10, in comparison to the faint staining in the control group (Fig. 5C and

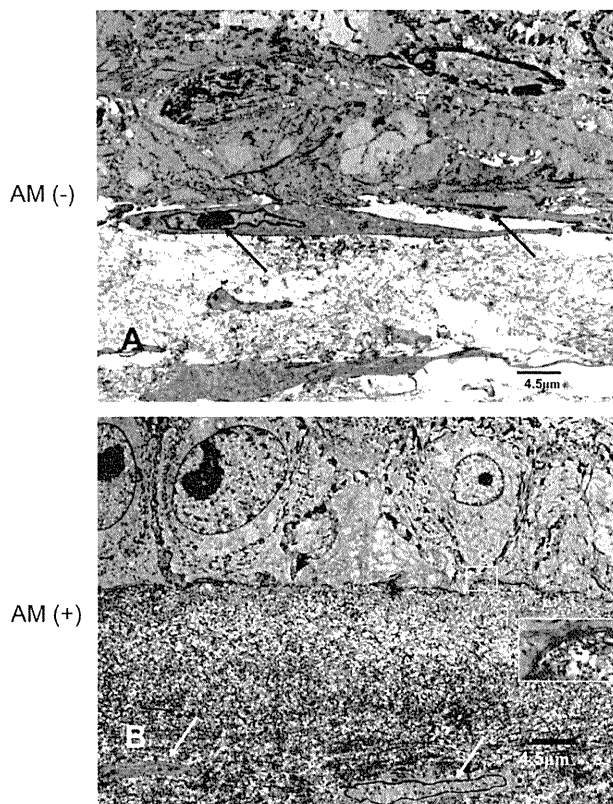


Fig. 4. AM in LSEs segregated fibroblasts from the epidermis. The LSEs constructed with (B) and without (A) AM were collected at week 2 after airlift and processed for TEM. The ultra-structural image revealed the spatial relationship of fibroblasts (arrows) and the epidermis. The inset shows a well-developed BM in AM-LSE. Bars are 4.5 μ m.

F), indicating that the epidermis in the SB431542-treated LSEs was better differentiated.

4. Discussion

In this study, we investigated epithelial–mesenchymal interactions during myofibroblast differentiation and epidermogenesis in a fibroblast-populated collagen gel and LSE model. Specifically, we investigated the influence of epithelialization and the epidermal phenotype on collagen-embedded myofibroblast differentiation, and how the presence of myofibroblasts affected epidermogenesis.

In the collagen gel model, fibroblasts kept contracting the gel, making it condensed and rigid. By day 14, over half of fibroblasts expressed α -SMA. TGF- β 1 in the FCS and the mechanical force exerted by the contracted collagen gel may have contributed to the “spontaneous” differentiation of the myofibroblasts. In the AM-free LSEs, α -SMA-positive cells were found near the dermal–epidermal junction by day 7 after airlift; the α -SMA staining increased further by day 14 after airlift. The fewer α -SMA-positive cells in LSEs, compared with the fibroblast-populated collagen gel, is consistent with the fact that re-epithelialization following sheet skin or cultured skin substitute grafting during wound healing suppresses scar formation [21]. Among the keratinocyte-derived factors known, interleukin 1 α (IL-1 α) suppresses α -SMA expression and causes degradation of the dermal matrix [12,22,23]; moreover, it can penetrate a reconstituted basement membrane to reach the underlying dermal matrix [24]. Further, endogenous TGF- β 1 production and the induction of α -SMA expression

requires close keratinocyte–fibroblast proximity [12]. These findings may help explain the seemingly paradoxical observation that in our LSE model α -SMA-positive cells were present only near the dermal–epidermal junction, where the basal cells were close to or in direct contact with fibroblasts.

In constructing LSEs, fibroblasts play crucial roles in regulating epidermal morphogenesis; moreover, through their interactions with keratinocytes, fibroblasts contribute to the development of the basement membrane [25,26]. Re-epithelialization in wounded LSEs is also facilitated in the presence of fibroblasts [27]. However, re-epithelialization is delayed in the presence of a disorganized epidermis and poorly deposited basement membrane components, such as when wound healing myofibroblasts are employed in a collagen gel [28]. These findings suggest that myofibroblasts are functionally different from dermal fibroblasts.

bFGF has been reported to stimulate fibroblast proliferation, suppress α -SMA expression, induce apoptosis in myofibroblasts, and promote scar-less wound healing [29–33]. In this study, bFGF suppressed “spontaneous” α -SMA expression in the fibroblast-populated collagen type I gel and almost all α -SMA expression in the LSEs. With the suppression of myofibroblast differentiation, the epidermis appeared less proliferative and more differentiated. TGF- β 1 expression in the epidermis of the bFGF-treated LSEs was markedly reduced, which may have further enhanced the suppression of myofibroblast differentiation by bFGF.

Subsequently, an AMLSE [17] was used to investigate the relationship between the epidermis and myofibroblasts. A well-developed basement membrane formed in the AMLSE [17], prohibiting the direct contact of keratinocytes with fibroblasts. It may have also filtered out specific cytokines or growth factors from the epidermal or dermal compartment. In our AMLSEs, the absence of α -SMA-positive cells and the well-developed basement membrane may have contributed to the better-differentiated epidermis, in which TGF- β 1 expression was reduced. Consequently, the necessary signals for myofibroblast differentiation in the dermal compartment were dampened.

TGF- β 1 is a key cytokine in the induction of α -SMA expression in fibroblasts [34] and a potent keratinocyte growth inhibitor [35]. Interestingly, proliferative keratinocytes in monolayer culture produce more TGF- β 1 than stratified differentiated keratinocytes [36]. The hyperproliferative epidermis in hypertrophic scars also exhibits a high level of TGF- β 1 expression [6,7]. From our results, we assume that strong TGF- β 1 expression in the epidermis of the LSEs induced fibroblasts in close proximity to differentiate into myofibroblasts, while the compact matrix and distance prevented TGF- β 1 from reaching fibroblasts located further from the epidermis. SB431542 is a potent and selective inhibitor of TGF- β receptor kinase. Addition of SB431542 to the culture medium of the LSEs thoroughly inhibited myofibroblast differentiation; as a consequence, the epidermis in the SB431542-treated LSEs became more stratified and better differentiated. This indicates that TGF- β 1 is responsible for myofibroblast differentiation in LSEs, and that myofibroblasts contribute to a hyperproliferative epidermis. Myofibroblasts have a different profile of secreted cytokines than fibroblasts; thus, their influence on the overlying epidermis differs. Several reports have shown that fibroblasts, but not myofibroblasts, play important roles in epidermogenesis [25,28].

In conclusion, this study revealed that epidermogenesis on fibroblast-rich collagen suppressed most α -SMA expression, except near the dermal–epidermal junction. By releasing TGF- β 1, the hyperproliferative epidermis is responsible for myofibroblast differentiation at the dermal–epidermal junction. Finally, myofibroblasts in the dermal matrix contribute to the hyperproliferative phenotype of the new epidermis.

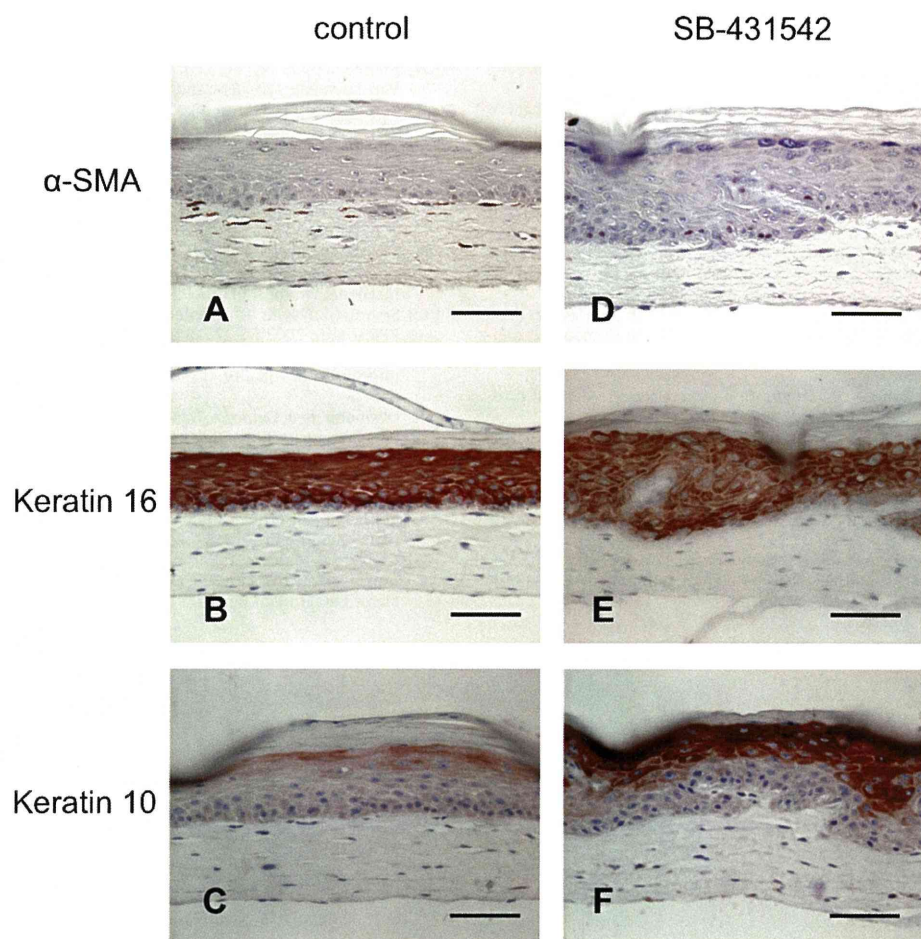


Fig. 5. SB-431542 inhibited myofibroblast differentiation in LSEs and influenced the epidermal phenotype. The LSEs were cultivated with (D, E and F) or without (A, B and C) the addition of SB-431542 in the culture medium after airlift. The LSEs were harvested two weeks after airlift. The paraffin sections were immunohistochemically stained with α -SMA (A and D), keratin 16 (B and E), and keratin 10 (C and F) antibodies. Bars are 50 μ m.

Acknowledgments

This work was supported by a Grant-in-Aid for Scientific Research from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology, Japan, and by Health and Labour Sciences Research Grants (Research on Intractable Diseases) from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan.

References

- [1] Webber J, Meran S, Steadman R, Phillips AO. Hyaluronan orchestrates TGF- β 1 dependent maintenance of myofibroblast phenotype. *J Biol Chem* 2009; 284(14):9083–92.
- [2] Junker JP, Kratz C, Tollback A, Kratz G. Mechanical tension stimulates the transdifferentiation of fibroblasts into myofibroblasts in human burn scars. *Burns* 2008;34:942–6.
- [3] Gabbiani G. The myofibroblast in wound healing and fibrocontractive diseases. *J Pathol* 2003;200:500–3.
- [4] Desmouliere A, Chaponnier C, Gabbiani G. Tissue repair, contraction, and the myofibroblast. *Wound Repair Regen* 2005;13:7–12.
- [5] Freedberg IM, Tomic-Canic M, Komine M, Blumenberg M. Keratins and the keratinocyte activation cycle. *J Invest Dermatol* 2001;116:633–40.
- [6] Andriessen MP, Niessen FB, Van de Kerkhof PC, Schalkwijk J. Hypertrophic scarring is associated with epidermal abnormalities: an immunohistochemical study. *J Pathol* 1998;186:192–200.
- [7] Machesney M, Tidman N, Waseem A, Kirby L, Leigh I. Activated keratinocytes in the epidermis of hypertrophic scars. *Am J Pathol* 1998;152:1133–41.
- [8] Moulin V, Larochelle S, Langlois C, Thibault I, Lopez-Valle CA, Roy M. Normal skin wound and hypertrophic scar myofibroblasts have differential responses to apoptotic inducers. *J Cell Physiol* 2004;198:350–8.
- [9] Niessen FB, Schalkwijk J, Vos H, Timens W. Hypertrophic scar formation is associated with an increased number of epidermal Langerhans cells. *J Pathol* 2004;202:121–9.
- [10] Van der Veer WM, Bloemen MC, Ulrich MM, Molema G, Van Zuijlen PP, Middelkoop E, Niessen FB. Potential cellular and molecular causes of hypertrophic scar formation. *Burns* 2009;35:15–29.
- [11] Bergman R, David R, Ramon Y, Ramon M, Kerner H, Kilim S, Peled I, Friedman-Birnbaum R. Delayed postburn blisters: an immunohistochemical and ultrastructural study. *J Cutan Pathol* 1997;24:429–33.
- [12] Shephard P, Martin G, Smola-Hess S, Brunner G, Krieg T, Smola H. Myofibroblast differentiation is induced in keratinocyte-fibroblast co-cultures and is antagonistically regulated by endogenous transforming growth factor- β and interleukin-1. *Am J Pathol* 2004;164:2055–66.
- [13] Harrison CA, Dalley AJ, Mac Neil S. A simple in vitro model for investigating epithelial/mesenchymal interactions: keratinocyte inhibition of fibroblast proliferation and fibronectin synthesis. *Wound Repair Regen* 2005;13: 543–50.
- [14] Harrison CA, Gossel F, Bullock AJ, Sun T, Blumsohn A, Mac Neil S. Investigation of keratinocyte regulation of collagen I synthesis by dermal fibroblasts in a simple in vitro model. *Br J Dermatol* 2006;154:401–10.
- [15] Osborne CS, Schmid P. Epidermal-dermal interactions regulate gelatinase activity in Apligraf, a tissue-engineered human skin equivalent. *Br J Dermatol* 2002;146:26–31.
- [16] Amano S, Ogura Y, Akutsu N, Matsunaga Y, Kadoya K, Adachi E, Nishiyama T. Protective effect of matrix metalloproteinase inhibitors against epidermal basement membrane damage: skin equivalents partially mimic photoageing process. *Br J Dermatol* 2005;153(Suppl. 2):37–46.
- [17] Yang L, Shirakata Y, Shudou M, Dai X, Tokumaru S, Hirakawa S, Sayama K, Hamuro J, Hashimoto K. New skin-equivalent model from de-epithelialized amnion membrane. *Cell Tissue Res* 2006;326:69–77.
- [18] Shirakata Y, Tokumaru S, Yamasaki K, Sayama K, Hashimoto K. So-called biological dressing effects of cultured epidermal sheets are mediated by the production of EGF family, TGF- β and VEGF. *J Dermatol Sci* 2003;32: 209–15.

- [19] Shirakata Y, Ueno H, Hanakawa Y, Kameda K, Yamasaki K, Tokumaru S, Yahata Y, Tohyama M, Sayama K, Hashimoto K. TGF- β is not involved in early phase growth inhibition of keratinocytes by 1 α , 25(OH) $_2$ vitamin D $_3$. *J Dermatol Sci* 2004;36:41–50.
- [20] Yang L, Shirakata Y, Tamai K, Dai X, Hanakawa Y, Tokumaru S, Yahata Y, Tohyama M, Shiraishi K, Nagai H, Wang X, Murakami S, Sayama K, Kaneda Y, Hashimoto K. Microbubble-enhanced ultrasound for gene transfer into living skin equivalents. *J Dermatol Sci* 2005;40:105–14.
- [21] Boyce ST, Goresky MJ, Greenhalgh DG, Kagan RJ, Rieman MT, Warden GD. Comparative assessment of cultured skin substitutes and native skin autograft for treatment of full-thickness burns. *Ann Surg* 1995;222:743–52.
- [22] Niessen FB, Andriessen MP, Schalkwijk J, Visser L, Timens W. Keratinocyte-derived growth factors play a role in the formation of hypertrophic scars. *J Pathol* 2001;194:207–16.
- [23] Unemori EN, Ehsani N, Wang M, Lee S, McGuire J, Amento EP. Interleukin-1 and transforming growth factor- α : synergistic stimulation of metalloproteinases, PGE $_2$, and proliferation in human fibroblasts. *Exp Cell Res* 1994;210:166–71.
- [24] Kondo S, Kooshesh F, Sauder DN. Penetration of keratinocyte-derived cytokines into basement membrane. *J Cell Physiol* 1997;171:190–5.
- [25] El Ghalbzouri A, Lamme E, Ponc M. Crucial role of fibroblasts in regulating epidermal morphogenesis. *Cell Tissue Res* 2002;310:189–99.
- [26] Marionnet C, Pierrard C, Vioux-Chagnoleau C, Sok J, Asselineau D, Bernerd F. Interactions between fibroblasts and keratinocytes in morphogenesis of dermal epidermal junction in a model of reconstructed skin. *J Invest Dermatol* 2006;126:971–9.
- [27] El Ghalbzouri A, Hensbergen P, Gibbs S, Kempenaar J, Van der Schors R, Ponc M. Fibroblasts facilitate re-epithelialization in wounded human skin equivalents. *Lab Invest* 2004;84:102–12.
- [28] Moulin V, Auger FA, Garrel D, Germain L. Role of wound healing myofibroblasts on re-epithelialization of human skin. *Burns* 2000;26:3–12.
- [29] Khouw IM, Van Wachem PB, Plantinga JA, Vujaskovic Z, Wissink MJ, de Leij LF, Van Luyn MJ. TGF- β and bFGF affect the differentiation of proliferating porcine fibroblasts into myofibroblasts in vitro. *Biomaterials* 1999;20:1815–22.
- [30] Akasaka Y, Ono I, Tominaga A, Ishikawa Y, Ito K, Suzuki T, Imaizumi R, Ishiguro S, Jimbow K, Ishii T. Basic fibroblast growth factor in an artificial dermis promotes apoptosis and inhibits expression of α -smooth muscle actin, leading to reduction of wound contraction. *Wound Repair Regen* 2007;15:378–89.
- [31] Akasaka Y, Ono I, Yamashita T, Jimbow K, Ishii T. Basic fibroblast growth factor promotes apoptosis and suppresses granulation tissue formation in acute incisional wounds. *J Pathol* 2004;203:710–20.
- [32] Spyrou GE, Naylor IL. The effect of basic fibroblast growth factor on scarring. *Br J Plast Surg* 2002;55:275–82.
- [33] Akita S, Akino K, Imaizumi T, Hirano A. A basic fibroblast growth factor improved the quality of skin grafting in burn patients. *Burns* 2005;31:855–8.
- [34] Desmouliere A, Geinoz A, Gabbiani F, Gabbiani G. Transforming growth factor- β 1 induces α -smooth muscle actin expression in granulation tissue myofibroblasts and in quiescent and growing cultured fibroblasts. *J Cell Biol* 1993;122:103–11.
- [35] Moses HL, Pietenpol JA, Munger K, Murphy CS, Yang EY. TGF β regulation of epithelial cell proliferation: role of tumor suppressor genes. *Princess Takamatsu Symp* 1991;22:183–95.
- [36] Ghahary A, Marcoux Y, Karimi-Busheri F, Tredget EE. Keratinocyte differentiation inversely regulates the expression of involucrin and transforming growth factor β 1. *J Cell Biochem* 2001;83:239–48.

頻回の再燃を繰り返す drug-induced hypersensitivity syndrome (DIHS) の 1 例

比留間梓¹ 小島知子¹ 赤坂江美子¹ 加藤正幸¹ 生駒憲広¹ 馬淵智生¹
松山 孝¹ 小澤 明¹ 藤山幹子² 橋本公二²

要 旨

34 歳男性。うつ病の既往あり。症状出現 2 週間前よりフェノバルビタール配合薬 (ベゲタミン A®) の頓服をしていた。初診 1 カ月前より 38℃ 台の熱発、2 週間前より皮疹出現。他院で麻疹として加療されるも改善なく、当院受診となる。初診時、略全身にびまん性の紅斑、顔面腫脹、頸部リンパ節腫大、肝機能障害認め、臨床経過と合わせ薬剤性過敏症候群を疑い、同日入院しステロイドの全身投与を開始。パッチテストでベゲタミン A®陽性、ペア血清で HHV-6、7IgG 抗体価の 4 倍以上の上昇あり。1 カ月半後退院となるも、PSL 減量中に皮疹、肝機能障害が再燃。退院後 2 カ月で再入院しγグロブリン大量療法、ステロイドパルス療法施行。以後、寛解、再燃を繰り返し、初診より 3 年経つ現在も外来加療中。若干の文献的考察を加え報告する。

はじめに

薬剤性過敏症候群 (drug-induced hypersensitivity syndrome, 以下 DIHS) は、多彩な全身症状とともにヒトヘルペスウイルス 6 (HHV-6) の再活性化を高頻度に認める重症薬疹である¹⁾。その原因薬剤は抗痙攣薬やアロプリノールなど比較的限られている。また、内服から発症までの期間が 2~6 週間と長く、原因薬剤中止後も経過が遷延し症状が再燃する特徴をもつ。

われわれは、フェノバルビタールが原因薬剤と考えられ、頻回に再燃を繰り返し 2 年以上にわたり遷延する DIHS の 1 例を経験したので、若干の考察を加えて報告する。

症例

患 者：35 歳、男性。

初 診：2007 年 10 月 25 日。

主 訴：全身の発疹。

家族歴：特記すべき事項なし。

既往歴：胃潰瘍、うつ病、睡眠障害。

現病歴：うつ病の診断で、1997 年頃よりエチゾラム (デパス®)、プロチゾラム (レンドルミン®)、フルニトラゼパム (ロヒプノール®) を内服、また 2007 年 9 月上旬よりフェノバルビタール配合薬 (ベゲタミン A®) を内服していた。2007 年 9 月 26 日より 38℃ 台熱発あり。近くの内科にてメフェナム酸 (ポンタール®)、レバミピド (ムコスタ®)、五苓散を処方されるも解熱せず。10 月 7 日より皮疹も出現し、前医の内科に入院。麻疹やツツガムシ病などが疑われ、塩酸セフォチアム (セファピコール®)、塩酸ミノサイクリン (ミノマイシン®) が処方されたが、改善はみられなかった。10 月 24 日、同院を退院し、10 月 25 日に当院を受診し、DIHS を疑われ、緊急入院となる。

入院時現症：略全身に米粒大の紅色丘疹が多発、癒合し紅斑局面を形成。顔面の浮腫、頸部リンパ節の腫脹、38℃ 台の熱発を認めた (図 1-a, b)。

1) 東海大学医学部専門診療学系皮膚科学 (主任：小澤 明教授)

〒259-1193 神奈川県伊勢原市下糟屋 143

2) 愛媛大学医学部皮膚科学 (主任：橋本公二教授)

〒791-0295 愛媛県東温市志津川

平成 22 年 11 月 9 日受付、平成 23 年 4 月 6 日掲載決定

【別刷請求先】比留間梓

東海大学医学部専門診療学系皮膚科学

〒259-1193 神奈川県伊勢原市下糟屋 143

電話：0463-93-1121 FAX：0463-93-9387

e-mail：hiruma-a@is.icc.u-tokai.ac.jp

図1 入院時臨床像

略全身に米粒大の紅色丘疹が多発，癒合し紅斑局面を形成。顔面の腫脹あり。

a：顔面，b：体幹

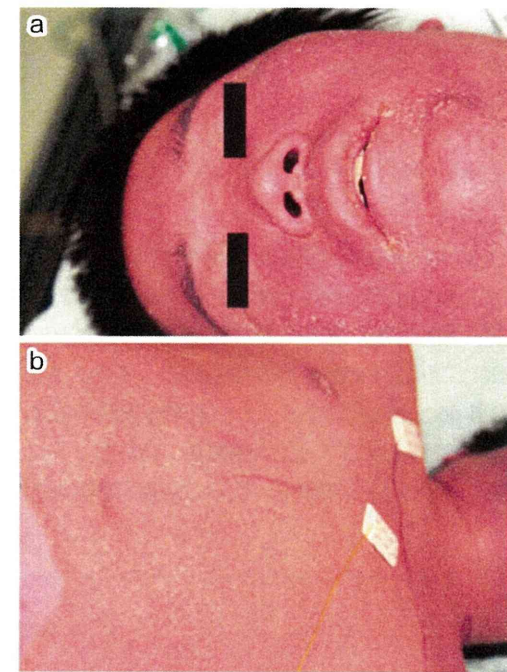
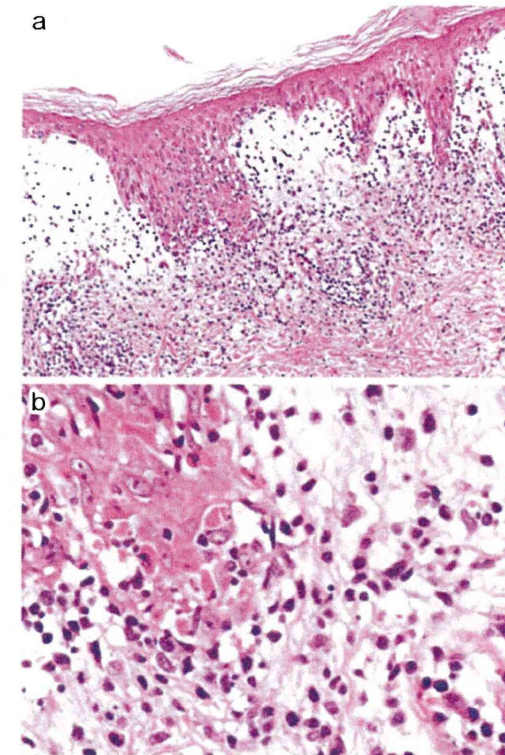


図2 病理組織像

a：弱拡大像；表皮，真皮血管周囲のリンパ球浸潤。

b：強拡大像；表皮の液状変性，個細胞角化を認める。



入院時検査所見：WBC 14,600/μl, (Seg 32.0%, Stab 1.0%, Lym 29.5%, Mono 8.0%, Eo 13.5%, Baso 0.5%, Aty 15.5%), PLT 19.0×10⁴/μl, TP 5.9 g/dl, Alb 2.8 g/dl, AST 95 U/l, ALT 122 U/l, LDH 756 U/l, ALP 3,210 U/l, γGTP 992 U/l, Cr 0.7 mg/dl, BUN 18 mg/dl, Glu 150 mg/dl, Na 127 mEq/l, K 4.5 mEq/l, Cl 91 mEq/l, T-Bil 1.9 mg/dl, D-Bil 1.4 mg/dl, CRP 2.92 mg/dl, IgG 578 mg/dl, IgA 95 mg/dl, IgM 64 mg/dl, IgE 20 IU/ml.

病理組織学的所見：左前腕の浮腫性丘疹を生検した。表皮の液状変性，表皮下水疱の形成を認めた。真皮上層には血管周囲性のリンパ球浸潤が見られた。また，表皮の個細胞角化を認めた（図2-a, b）。

治療および経過：

1) 初回入院および退院後の経過（2007年10月25日～2008年4月12日，図3）

被疑薬（デバス®，レンドルミン®，ロヒプノール®，ボンタール®，ムコスタ®，五苓散）の服用を中止。コハク酸メチルプレドニゾロンナトリウム（ソルメドロール®）120 mg/日の点滴を開始した。数日後には紅斑の改善を認め，入院4日目（10月29日）より，同点

滴を40 mg/日へ減量した。入院8日目（11月2日）よりPSL 40 mg/日の内服に変更したところ，数日後より皮疹（紅斑）の再燃と肝機能障害を認め，口唇のびらんも出現，経口摂取も低下した。この時，経過の採血でHHV-6 IgG抗体の上昇あり（11/9：320倍，11/26：5,120倍）。そこで，入院20日目（11月14日）よりPSLの同量点滴としたところ，紅斑，肝機能障害ともに改善がみられた。入院33日目（11月27日）からPSLの内服を30 mg/日へ減量し，入院39日目（12月3日）に退院した。入院時に認めたグロブリン低値は，経過中に回復がみられた（2007/11/9 IgG 1,595 mg/dl, IgA 548 mg/dl）。

退院後，外来にてPSL 15 mg/日の内服までに漸減した。しかし，退院30日目（2008年1月2日）より39度台熱発，皮膚症状，肝機能障害が再燃した。

2) 第2回目の入院および退院後経過（2008年1月25日～4月12日，図3）

2008年1月25日，2回目の入院となる。入院時の問診で，患者がベゲタミンA®を頓服で内服しているこ

図 3 治療および経過 1

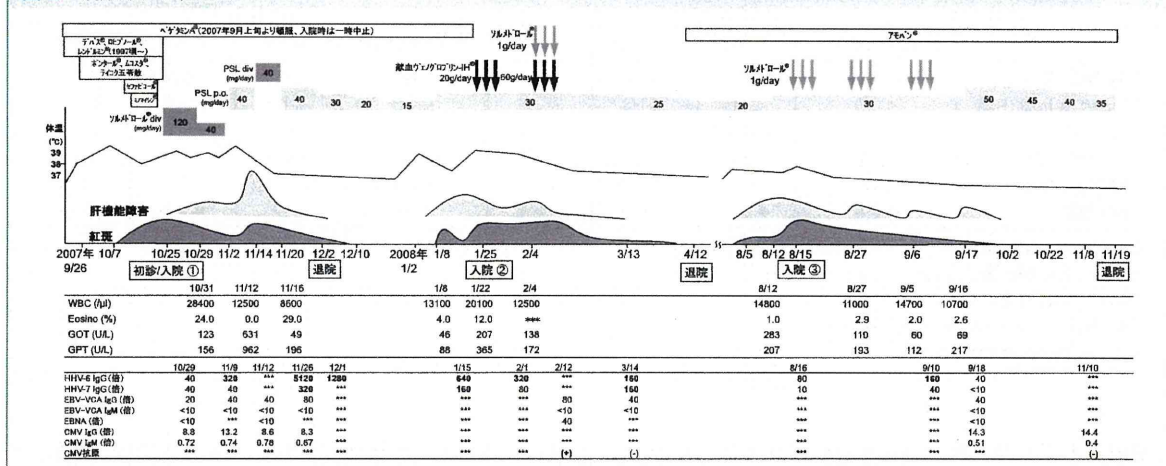
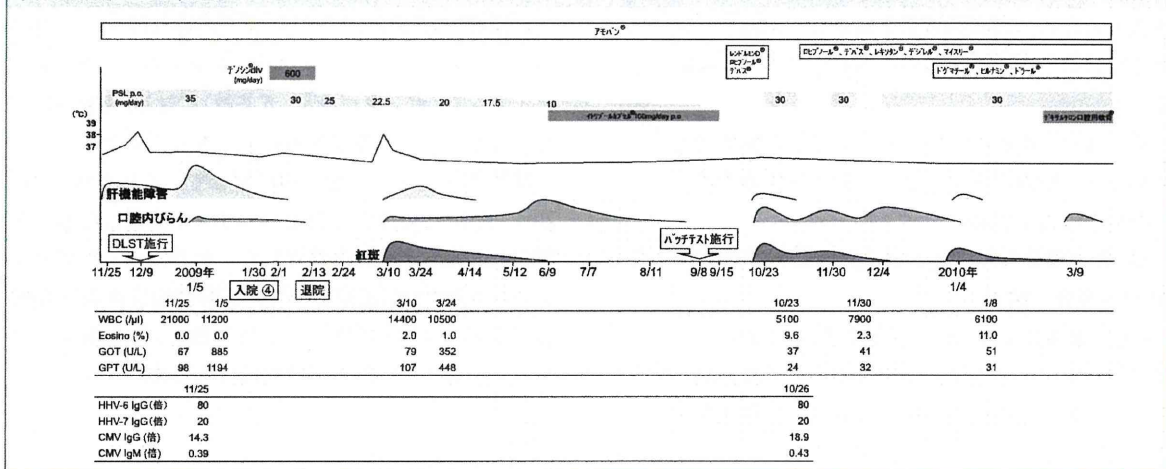


図 4 治療および経過 2



とが判明したため、直ちに同薬の内服を中止した。入院後、免疫グロブリン（ヴェノグロブリン-IH®）20 g/日を3日間点滴するが、症状は悪化した。入院10日目（2月4日）よりステロイドパルス療法（ソルメドロール®, 1 g/日, 3日間）施行し、同時に免疫グロブリン（ヴェノグロブリン-IH®）60 g/日を3日間点滴した。入院13日目（2月7日）よりPSL 30 mg/日の内服を行い、入院16日目（2月10日）には、紅斑、肝機能障害は改善した。その後、徐々にPSLの内服を減量したが、皮疹の再燃はみられなかった。入院78日目（4月12日）、PSL 20 mg/日の内服を継続し、退院となった。入院18日目（2月12日）の採血で、血液中のCMV抗原陽性であった。

退院後も皮疹の再燃はなく、外来通院にてPSL 20

mg/日の内服で経過をみていた。同年8月12日より39度台の熱発と、顔面のびまん性紅斑、下肢の紅斑と肝機能障害を認め、PSL 30 mg/日の内服へ増量した。

3) 第3回目の入院および退院後経過（2008年8月15日～11月19日、図3）

2008年8月15日、3回目の入院とし、ステロイドパルス療法（ソルメドロール®, 1 g/日, 3日間）を施行し、症状はやや改善した。しかし、入院11日目（8月26日）にも紅斑、肝機能障害の再燃を認め、再び、入院12日目（8月27日）ステロイドパルス療法（ソルメドロール®, 1 g/日, 3日間）を施行した。以後、皮疹、肝機能障害ともに改善傾向にあったが、入院22日目（9月6日）に肝機能障害の再燃を認め、再度ステロイドパルス療法（ソルメドロール®, 1 g/日, 3日間）

表 1 Serological tests for human herpesviruses								
	2007/10/26	11/9	11/12	11/26	2008/2/12	3/14	9/18	11/10
EBV-VCA IgG (FA)	20	40	40	80	80	40	40	***
EBV-VCA IgM (FA)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	***
EBNA (FA)	<10	***	<10	***	40	***	<10	***
CMV IgG (EIA)	8.8	13.2	8.6	8.3	***	***	14.3	14.4
CMV IgM (EIA)	0.72	0.74	0.78	0.67	***	***	0.51	0.4
CMV 抗原	***	***	***	***	(+)	(-)	***	(-)
EBV-VCA : Epstein-Barr virus viral capsid antigen EBNA : Epstein-Barr virus nuclear antigen CMV : cytomegalovirus FA : fluorescent antibody titres EIA : enzyme immunoassay								

を施行した。以後、PSL30 mg/日内服にて経過をみていたが、再度肝機能障害の再燃が認められた。そこで、入院33日目（9月17日）より、PSL 50 mg/日内服へ増量した。その後は、肝機能障害の再燃なく、皮疹も消失したため、PSL内服量を漸減し、入院96日目（11月19日）に、PSL 35 mg/日の内服療法として退院となる。

その後は、外来にてPSL 35 mg/日、内服で経過をみていたが、2009年1月5日に肝機能障害の再燃および口腔内びらんを認めた。

4) 第4回目の入院および退院後経過（2009年1月30日～現在、図4）

CMV感染によるDIHS遷延を考え、2009年1月30日、カンシクロビル点滴治療のため、再度入院し、ガンシクロビル（デノシン®）600 mg/日 14日間点滴を行った。

以後、外来にてPSLの内服量は緩徐に減量していった。同年3月10日に（PSL 22.5 mg/日内服中）、紅斑、軽度の肝機能障害の再燃をみるが、PSL内服量を増量することなく、軽快した。同年5月頃より、口腔内びらんの悪化あり。同年6月9日外来受診時に行った直接顕微鏡検査（KOH法）で菌糸要素を認めたため、口腔カンジダ症の診断でイトラコナゾール（イトリゾール®）カプセル 100 mg/日内服を開始した。その後、PSL内服量を漸減し、口腔粘膜症状も改善を認め、同年9月8日にはPSL内服を中止した。しかし、その終了後約1カ月後には、再度、紅斑の出現があり、PSL 30 mg/日内服を再開した。それにより症状は軽快したが、およそ4～6週間毎には、顔面の紅斑、肝機能障害、口腔粘膜症状の再燃を繰り返し、現在も外来にてPSL30 mg/日内服加療中である。

ウイルス学的検索：HHV-6の抗体価は第1回入院

時40倍であったが11日後の11月9日には320倍、11月26日には5,120倍にまで上昇を認めた。またHHV-7抗体価も320倍と上昇あり（図3）。2008年2月12日採血で、血液中CMV pp65抗原陽性であった（表1）。

原因薬剤の検索：ベゲタミンA®含む前医での内服薬（デパス®, ロヒプノール®, レンドルミン®, ミノマイシン®, ポンタール®, 五苓散）に対し、2008年12月9日リンパ球刺激試験施行するも全て陰性。

2009年9月8日上記6剤に対して、それぞれ10%, 20%, 50%になるよう白色ワセリンで希釈したものを使用し、パッチテスト施行した。その結果、ベゲタミンA®の全ての濃度において、国際接触皮膚炎研究班判定基準で48時間後+, 72時間後+, 7日後++であった。他5剤に関しては陰性であった。

考察

本症例は、DIHS診断基準²⁾の7項目を満たし、典型的DIHSと診断した。しかし、その治療に関しては、皮疹、熱発および肝機能障害を繰り返し、治療に難渋している。そこで、本症例の病態、治療経過などについて、若干の考察を試みる。

1) 原因薬剤

本症例においては、薬歴、原因薬剤の検索から、ベゲタミンA®が被疑薬として考えられた。本症例において患者は、DIHSの原因薬として知られる塩酸ミノサイクリンを内服しているが、これはDIHS発症後の内服であったため本症例の原因薬ではない。ベゲタミンA®によるDIHSは、われわれの調べた限り現在までに本邦で6例の報告がある。ベゲタミンA®は配合薬であり、フェノバルビタールが含まれている。他の配合成分にDIHS報告例はなく、本症例ではフェノ

バルビタールが原因薬剤であったと推察される。

2) 再燃について

DIHS ではしばしば症状の再燃や遷延がみられ、再燃時の HHV-6 や CMV, Epstein-Barr ウイルス (EBV) の再活性化が報告されている^{3) 4)}。DIHS の発症後 2~3 週間目に起こる症状の再燃は、HHV-6 の再活性化が関与していることが示されている³⁾。また、DIHS の経過中 CMV DNA の検出は、HHV-6 DNA の検出後 10~21 日後に生じると報告されている⁶⁾。

本症例でも、2 度目の再燃時 (2007 年 11 月 26 日) に HHV-6 IgG 抗体 5,120 倍、HHV-7 IgG 抗体が 320 倍と上昇がみられ、ヒトヘルペスウイルスの再活性化による症状の再燃とみて矛盾しない。3 度目再燃 (2 回目入院) 時の再燃は、患者自身が原因薬剤を内服したことが契機となっているが、CMV の再活性化が HHV-6 より遅れて生じることを考えると、この時期に CMV の再活性化が起きていた可能性も考えられる。この後の再燃では、HHV-6 IgG 抗体の再上昇は認めないものの、CMV 抗原陽性、EB 抗体 EBNA の陽性化を認めており、ヒトヘルペスウイルスの再活性化がみられている。しかし、4 度目以降の再燃とウイルスとの関与は明らかでない。

また、2009 年 10 月および 2010 年 1 月の再燃時には、いずれも症状再燃の 10 日~2 週間前から、他院精神科よりベンゾジアゼピン系の抗不安薬を中心とした内服薬の追加がなされている。これらの薬剤に関しては未検であるが、DIHS に伴う多剤感作として再燃が生じた可能性がある。

過去のフェノバルビタールによる DIHS の症例はわれわれの調べた限り 1983 年~2010 年で 28 例あり、再燃例は 11 例であった。うち 3 回以上の再燃を認めたものは 3 例あり、抗痙攣薬の多剤感作によるもの⁷⁾や、各種ヒトヘルペスウイルスの再活性化を認めるもの³⁾があった。

3) 初期治療について

ヒトヘルペスウイルスの再活性化は、DIHS 発症前より存在しているとする説⁸⁾と、薬剤アレルギーにより生じた T リンパ球の活性化により HHV-6 の増殖、再活性化が誘導されるとする説⁹⁾がある。DIHS 自体が免疫再構築症候群であるとする説¹⁰⁾もあり、初期の不十分なステロイド療法や急速な減量がそれを助長すると考えられる。

本症例は初期にステロイドパルス療法は施行しておらず、十分に免疫応答を抑えられなかった可能性が考えうる。DIHS はステロイドが治療の主体となるが、初期投与量やその減量方法についてのまとまったコンセンサスは未だ得られていない。実際に遷延した症例における初期投与量および減量方法の妥当性に関しては、今後の検討が必要である。

4) 再燃時の治療について

本症例では、症状再燃時の治療として、免疫グロブリン製剤およびステロイドパルス療法を用いている。2 回目入院時における再燃では、初回免疫グロブリン単体では治療効果に乏しく、ステロイドパルス療法と併用することで著明に症状の改善を認めている。また、3 回目入院時にもパルス直後に肝機能障害と皮膚症状の改善を認め、本症例に対し有効な治療であったと言える。

また本症例では、内服ステロイド減量中の症状再燃が問題となっている。本症例では経過中、血液中 CMV 抗原が陽性 (2008 年 2 月 12 日) であった。その後の採血では CMV 抗原は陰性であったが、CMV の再活性化が存在し症状が遷延している可能性を考え、ガンシクロビル[®]の点滴治療を行った。以後はステロイドの減量が可能となり、一時は内服終了となっている。再燃に CMV の関与が疑われる場合、ガンシクロビルが再燃時の治療の選択肢となりうる。DIHS で CMV の再活性化が見られた場合、再燃を繰り返しやすい致命的な臓器障害¹¹⁾を起こす可能性があり、注意深い経過観察と早期の診断・治療が求められる。

DIHS の再燃を積極的に予防する治療は現在のところないが、ステロイド減量時の免疫グロブリン製剤の併用療法が重篤な肝障害など再燃を繰り返す症例に有効である⁴⁾とする報告もあり、今後の検討課題である。

まとめ

今回、われわれは再燃を繰り返す治療に難渋する DIHS の 1 例を経験した。DIHS における症状の再燃、遷延はよく知られているが、本症例のように数年間にわたり遷延する例は調べた限り報告がなく、今後はこのような症例に対しても症例の蓄積、検討を行っていくことが望まれる。

本論文の要旨は、第 109 回日本皮膚科学会総会 (2010 年 4 月 25 日、大阪市) で報告した。

文献

- 1) 橋本公二：Drug-induced hypersensitivity syndrome (DIHS), 日皮会誌, 2006; 116: 1575-1581.
- 2) 厚生労働省科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業：難治性疾患(重症多形滲出性紅斑(急性期)を含む)の画期的治療法に関する研究, 平成 17 年度総括・分担研究報告書, 2006, 14-15.
- 3) Sekiguchi A, et al: Drug-Induced Hypersensitivity Syndrome due to Mexiletine Associated with Human Herpes Virus 6 and Cytomegalovirus Reaction, *J Dermatol*, 2005; 32: 278-281.
- 4) 前田修子ほか：頻回の再燃を繰り返した drug-induced hypersensitivity syndrome の 1 例, *J Environ Dermatol Cutan Allergol*, 2008; 2: 466-473.
- 5) Tohyama M, et al: Association of human herpesvirus 6 reaction with the flaring and severity of drug-induced hypersensitivity syndrome, *Br J Dermatol*, 2007; 157: 934-940.
- 6) Seishima M, et al: Reactivation of human herpesvirus (HHV) family members other than HHV-6 in drug-induced hypersensitivity syndrome, *Br J Dermatol*, 2006; 155: 344-349.
- 7) 佐藤直樹ほか：多剤感作により再燃を繰り返した薬剤過敏症候群 (DIHS), 西日皮膚, 2006; 69: 218-219.
- 8) 塩原哲夫：ウイルス性発疹症か？薬疹か？ *Derma*, 2010; 162: 70-76.
- 9) 藤山幹子：DIHS における HHV-6 再活性化の仮説, *Visual Dermatol*, 2005; 4: 1046-1049.
- 10) 塩原哲夫：薬疹の診療への提言, 日皮会誌, 2009; 119: 2870-2874.
- 11) 何川宇啓ほか：サイトメガロウイルスによる消化管出血をきたした薬剤性過敏症候群の 1 例, 臨床皮膚科, 2008; 62: 278-281.

A Case of Drug-Induced Hypersensitivity Syndrome with Many Recurrences

Azusa Hiruma¹, Tomoko Kojima¹, Emiko Akasaka¹, Masayuki Kato¹, Norihiro Ikoma¹,
Tomotaka Mabuchi¹, Takashi Matsuyama¹, Akira Ozawa¹, Mikiko Tohyama², Koji Hashimoto²

A 34-year-old man was treated for depression with several antidepressants. He developed a high fever and edematous erythema and papules over his entire body. Facial swelling and lymph node swelling were observed. Leukocytosis with eosinophilia, atypical lymphocytes, and liver dysfunction were also present. He was diagnosed with DIHS, and therapy was started with methylprednisolone hemisuccinate 120 mg/day. His condition improved gradually, but recurrences of symptoms such as high fever, erythema, and hepatopathy were observed many times as we decreased the steroid dose. Reactivation of herpes viruses (human herpes virus 6 and 7) was observed as well. He was administrated intravenous immunoglobulin, steroid pulse, and ganciclovil. He is still taking prednisolone 25 mg/day after two years because of recurrences. We discussed this case with reference to former studies.

(*Jpn J Dermatol* 121: 3331-3336, 2011)

Key words: drug-induced hypersensitivity syndrome, recurrence

1) Department of Dermatology, Tokai University School of Medicine

2) Department of Dermatology, Ehime University School of Medicine

Received November 9, 2010; accepted for publication April 6, 2011

手足口病後の爪変形，爪脱落の集団発生

渡部裕子¹ 難波千佳² 藤山幹子² 町野 博³ 橋本公二²

要 旨

2009年8月から12月にかけて，愛媛県松山市周辺の皮膚科で，小児32名，成人7名の患者で爪変形，爪甲脱落の発生が確認され，そのうち4名を除く35名で発症の1～2カ月前に手足口病の既往があった。そのうち10名の患者で中和抗体価を測定したところ，全例でコクサッキーウイルスA6が8～128倍の陽性所見を示した。これは爪変形，爪甲脱落を来す手足口病の本邦における最初の報告である。

はじめに

手足口病は，手足の小水疱や紅色丘疹，口腔粘膜のアフタ様粘膜疹を主徴とし，しばしば発熱や嘔吐，下痢などの消化器症状を伴い，夏期に流行する小児に多いウイルス性疾患である。原因ウイルスとしてはコクサッキーウイルスA (CVA) 16, 10, エンテロウイルス (EV) 71 が最もよく知られており，他に CVA4, 5, 6 などが報告されている¹⁾。

従来，手足口病により爪の病変が生じることは知られていなかったが，2000年以降，手足口病後に生じた爪の病変の集団発生が欧米で報告されてきている^{2)～5)}。

2009年8月から10月にかけて，9名の患者が爪の横線 (Beau's line)，爪基部から末梢へ向かっての剥離，爪甲脱落症 (onychomadesis) の症状で当院を受診した。全例がその4～8週間前に手足口病に罹患していた。いずれも後爪郭の外傷や，化膿性爪囲炎などの炎症性疾患の既往はなかった。

これらの症例を経験したのち，当院の所在する愛媛

県松山市とその近隣の皮膚科医にアンケート調査を行ったところ，類似の症例が多く経験されていた。自験例およびアンケート調査の集計結果について報告する。

症例

症例1：6歳，女児。

経 過：2009年8月1日39℃台の発熱があり，翌日には解熱したが，8月3日より上下肢，口腔粘膜に皮疹が生じたため当院を受診した。肘頭膝蓋を中心とした上下肢伸側，手掌，手背，掌蹠に紅色漿液性丘疹，水疱が多発していた。また口腔粘膜にはアフタ様の粘膜疹を認めた。手足口病と診断し，搔痒に対しケトチフェンドライシロップを処方した。皮疹は10日程度で消退した。2009年10月8日，右示指爪の変形を訴えて再診。左示指爪甲に横線と，爪甲脱落には至らないが，横線部より末梢の爪甲の剥離を認め，横線より近位では正常な爪が見られた (図1)。

血清抗体価：再診時に中和抗体価を測定したところ，コクサッキーウイルスA (CVA) 6 16倍，CVA5 1,024倍，CVA10 4倍未満，CVA16 4倍未満，EV71 4倍未満であった。

症例2：2歳女児。

経 過：2009年10月27日，1週間前からの足趾の爪の変形を訴えて受診。右第1・第2趾，左第5趾に爪の横線を認めた。問診により，2009年8月8日頃足趾に水疱，紅色丘疹を認め，近医にて手足口病と診断されていたことが判明した。手足口病の急性期に軽微な発熱があった。

1) わたなべ皮膚科形成外科

〒790-0056 愛媛県松山市土居田町 311-7

2) 愛媛大学大学院医学系研究科感覚皮膚科学

〒791-0295 愛媛県東温市志津川

3) 町野皮膚科

〒790-0933 愛媛県松山市越智町 3-8-15

平成22年5月14日受付，平成22年7月14日掲載決定

【別刷請求先】渡部裕子

わたなべ皮膚科形成外科

〒790-0056 愛媛県松山市土居田町 311-7

電話：089-965-1313 FAX：089-965-1359

e-mail：yuko@hifu-keisei.ecnet.jp

図 1

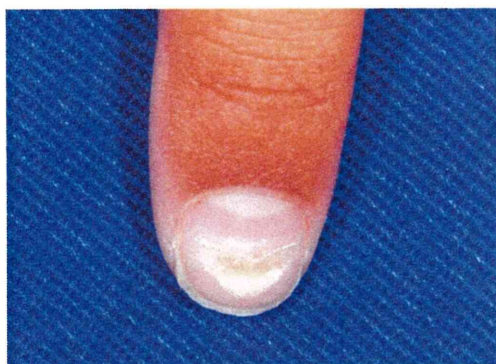


図 2



血清抗体価：中和抗体価を測定したところ、CVA6 32 倍、CVA5 4 倍未満、CVA10 16 倍、CVA16 4 倍未満であった。

症例 3：25 歳、女性。

経過：初診の 3 日前感冒様症状あり、アセトアミノフェンを内服した。1 日前より掌蹠、手背足背の紅色丘疹、水疱、口腔粘膜のアフタ様粘膜疹を生じ、2009 年 8 月 22 日初診、手足口病と診断した。2009 年 9 月末より手の爪の横線が生じ、10 月 27 日再診。右中指・環指、左拇指・中指に横線を認めた。横線より近位では正常な爪が見られた。

血清抗体価：再診時に中和抗体価を測定したところ、CVA6 8 倍、CVA5 128 倍、CVA10 4 倍、CVA16 32 倍であった。

症例 4：27 歳、女性。

経過：2009 年 10 月 27 日、手の爪の変形を訴えて受診。右示指・中指・環指、左拇指・示指・中指に爪の横線、陥凹を認めた(図 2)。問診により、2009 年 8 月 24 日頃手足の水疱、紅色丘疹、口腔粘膜のアフタ様粘膜疹を生じ、近医にて手足口病と診断されていたことが判明した。発熱の有無は不明であった。

血清抗体価：中和抗体価を測定したところ、CVA6 8 倍、CVA5 16 倍、CVA10 16 倍、CVA16 16 倍であった。

調査

【対象と方法】

当院での経験を踏まえ、松山市および近隣の皮膚科に、平成 21 年 8 月から 12 月に爪変形を主訴に受診した症例につき電話または書面によるアンケート調査を

行い、下記の医療機関・担当医師から回答を得た。

町野皮フ科	町野 博
佐伯皮ふ科・形成外科	佐伯 典道
丸山耳鼻咽喉科・皮フ科	丸山 美鈴
八木耳鼻咽喉科・皮膚科医院	八木 文子
愛媛大学附属病院皮膚科	藤山 幹子
松山日本赤十字社病院皮膚科	南 満芳
愛媛県立中央病院皮膚科	白石 研
松山市民病院皮膚科	野間 陽子
中村皮フ科クリニック	中村 浩二
宮内皮フ科クリニック	宮内 俊次

【集計結果】

当院の症例と合わせると小児(0~7 歳)32 名、成人 7 名、計 39 名の患者で爪変形、爪甲脱落の発生が確認され、そのうち 4 名を除く 35 名で手足口病の既往があった。変形の形態としては、横線、剥離、爪甲脱落のほか、穴あき状の変形の報告があった。手足口病発症から爪変形出現までの期間は 4 週までが 9 例、5~8 週が 18 例、9~12 週が 5 例であった。急性期に発熱が見られたものは 23 例、見られなかったものは 6 例、不明が 10 例であった。消化器症状が見られたものは 7 例、見られなかったものは 13 例、不明 19 例であった。症例の概略を表 1 にまとめた。

このうち 10 例で、爪変形発症時または手足口病回復期の、手足口病の原因と報告されているエンテロウイルスの中和抗体価を検討し、表 2 にまとめた。複数のウイルスの抗体価が陽性である症例が多かったが、全例で陽性であったのは CVA6 のみであった。

表1 爪変形 39 例のまとめ

性別	男:女=19:20	
年齢	0~2歳	11人
	3~4歳	13人
	5~7歳	8人
	成人	7人
手足口病の既往	あり	35人
	なし	2人
	不明	2人
手足口病から爪変形発症までの期間 (既往ありの35名中)	0~4週	9人
	5~8週	18人
	9~12週	5人
	不明	3人
発熱	あり	23人
	なし	6人
	不明	10人
消化器症状	あり	7人
	なし	13人
	不明	19人

表2 爪変形発症時の中和抗体価 まとめ

症例	1	2	3	4	5	6	7	8	9*	10**
年齢, 性別	6歳女	2歳女	27歳女	25歳女	25歳女	32歳男	4歳女	4歳女	11カ月男	4歳女
CAV5	1,024倍	<4倍	16倍	128倍	128倍	32倍	256倍	<4倍	<4倍	256倍/256倍
CAV6	16倍	32倍	8倍	8倍	16倍	16倍	32倍	8倍	64倍	<4倍/128倍
CAV10	<4倍	16倍	16倍	4倍	8倍	4倍	<4倍	32倍	<4倍	4倍/4倍
CAV16	<4倍	<4倍	16倍	32倍	128倍	128倍	128倍	<4倍	<4倍	128倍/128倍
EV71	<4倍	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	<4倍	ND

*症例9は手足口病の回復期(爪変形発症前)に測定

**症例10はベア血清にて測定(手足口病発症初期/爪変形発症時)

考按

爪の横線・爪甲脱落症は, 爪母における栄養障害性の刺激による爪甲の成長の急激な抑制により発生し, その数週後に明らかとなる. これらの変化は, 外傷, 水疱性疾患, 爪郭部に生じた接触皮膚炎などにより, 後爪郭部に強い炎症を生じたり, 爪甲下に血液, 滲出液などが貯留したあとに起きるほか, 急性熱性の感染症, 激しい下痢や大きな手術後などの全身疾患によっても生じることが知られている.

2000年 Clementz らは, それまで報告のなかった手足口病後の爪の横線, 爪甲脱落症の5例を報告した²⁾. 症例はすべてシカゴ近郊で4週間以内に集中しており, 同じウイルス株によるものではないかと述べている.

2001年 Bernier らは同様の4例を報告したが, これ

らは発症時期に年余の隔たりがあり, 爪の障害に関与するウイルスは一種類ではない可能性もあるとしている³⁾.

2008年 Salazar らは, この年の6月後半の約半月の間に, スペイン バレンシア地方で180名の小児と2名の成人に爪甲脱落が集団発生し, そのうち89名で爪甲脱落の前1カ月以内に手足口病の既往があったことを報告した⁴⁾. これらの患者の22名でコクサッキーウイルスに対するIgG抗体を検出したとしている.

2009年 Österback らは, 2008年秋にフィンランドで手足口病が大流行した際に, 手足口病発症の1~2カ月後に多くの患者で爪の脱落が見られたことを報告した⁵⁾. 手足口病の急性期の患者43名の水疱内容, 咽頭ぬぐい液, 脳脊髄液などの検体からCVA6のDNAが検出され, 手足口病の8週後に脱落した2名の患者の爪の検体からもCVA6のDNAが検出されている.

2009年7月から8月にかけて、愛媛県松山市では、定点当たりの報告数が例年の3~4倍を超える手足口病の流行があり、9~10月頃まで散発的に見られた。また、近隣では松山市よりやや遅れて同様の流行があった。これらの症例の臨床症状は、典型的な手足口病の病像をとるものもあったが、症例1のごとく、四肢伸側などに広範に水疱や漿液性丘疹が分布する非典型的な症例が多く見られた。

その後の8月から12月にかけて爪の横線・爪甲脱落患者が多く発生した。爪病変発症後に8例で手足口病の原因として報告のあるエンテロウイルスの血清抗体価を測定したところ、複数のウイルスが陽性であったが、全例で陽性であったのはCVA6のみであり、その抗体価は8~32倍であった。また手足口病回復期に測定した1例（症例9）ではCVA6のみ中和抗体価が陽性であり、この症例では採血時に爪変形は認めなかったが、その後の経過観察にて爪の変形、脱落を確認した。さらに、手足口病発症初期および爪変形出現後のペア血清にて抗体価を検討できた1例（症例10）では、CAV6のみ有意な抗体価の上昇が認められた。以上より当地において今期流行した手足口病の原因ウイルスはCVA6と推定され、今回の爪変形、爪甲脱落の集団発生は、CVA6感染症によるものと考えた。

手足口病後に爪の変形が生じる機序は不明であるが、発熱が軽微であったり、消化器症状のない手足口病患者でも爪変形が見られたこと、Österbackらの報告で脱落した爪甲からCVA6のDNAが検出された⁵⁾ことから、高熱や栄養不良によるものではなく、爪母へのCVAの直接作用により、爪の発育が障害されたことによるのではないかと推察される。

現在のところ手足口病後の爪変形がCVA6に特異的なものか他のウイルス株による手足口病でも起こりえるものかは不明である。また、CVA6による手足口病の流行期に、明らかな手足口病の既往が見られない爪変形の症例がみられることが我々の調査で明らかになったほか、Salazarらの論文⁴⁾によっても報告されている。そのため、これらを爪変形を伴う手足口病とすべきか、爪変形を伴うCVA6感染症とすべきかも議論が分かれるであろう。CVA感染ではヘルパンギーナやいわゆる非特異疹の病型を取る場合もある¹⁾。今後の症例の集積が待たれるところである。

本論文の要旨は日本皮膚科学会愛媛地方会第51回学術大会および第109回日本皮膚科学会総会学術大会にて報告した。

文 献

- 1) 日野治子：エンテロウイルス感染症/手足口病，玉置邦彦，飯塚 一，清水 宏ほか編：最新皮膚科学体系，15，東京，中山書店，2003，148-152。
- 2) Clementz GC, Mancini AJ: Nail matrix arrest following hand-foot-mouth disease: a report of five children, *Pediatr Dermatol*, 2000; 17: 7-11.
- 3) Bernier V, Labrèze C, Bury F, Taïeb A: Nail matrix arrest in the course of hand, foot and mouth disease, *Eur J Pediatr*, 2001; 160: 649-651.
- 4) Salazar A, Febrer I, Guitál S, Gobernado M, Pujol C, Roig J: Onychomadesis outbreak in Valencia, Spain, June 2008, *Euro Surveill*, 2008; 13: 1.
- 5) Österback R, Vuorinen T, Linna M, Susi P, Hyypiä T, Waris M: Coxsackievirus A6 and hand, foot, and mouth disease, Finland, *Emerg Infect Dis*, 2009; 15: 1485-1488.

Outbreak of Nail Matrix Arrest Following Hand-Foot-Mouth Disease

Yuko Watanabe¹, Chika Nanba², Mikiko Tohyama²,
Hiroshi Machino³, Koji Hashimoto²

Beau's lines and onychomadesis are known to result from the nail matrix arrest which is associated with drug exposures or systemic illnesses including infections. Between August and December of 2009, an outbreak of Beau's lines and onychomadesis following hand-foot-mouth disease was observed in children and adults in Ehime, Japan. Anti-Coxsackie virus A6 IgG neutralizing antibodies were positive in 10 of these patients. This is the first report of hand-foot-mouth disease with nail matrix arrest in Japan.

(Jpn J Dermatol 121: 863-867, 2011)

Key words: hand-foot-mouth disease, nail matrix arrest, onychomadesis, Cocksackie virus A6

1) Watanabe Skin and Plastic Surgery Clinic, Ehime, Japan

2) Department of Dermatology, Ehime University Graduate School of Medicine, Ehime, Japan

3) Machino Skin Clinic, Ehime, Japan

Received May 14, 2010; accepted for publication July 14, 2010

Toxic Epidermal Necrolysis Arising as a Sequela of Drug-induced Hypersensitivity Syndrome

Hideaki Watanabe¹, Ryohei Koide² and Masafumi Iijima¹

Departments of ¹Dermatology and ²Ophthalmology, Showa University School of Medicine, 1-5-8 Hatanodai, Shinagawa-ku, Tokyo 142-8666, Japan. E-mail: hwatanabe@med.showa-u.ac.jp

Accepted November 7, 2011.

Toxic epidermal necrolysis (TEN) is a life-threatening adverse reaction that can be induced by various drugs (1). Drug-induced hypersensitivity syndrome (DIHS) (2), also referred to as drug rash with eosinophilia and systemic symptoms (DRESS) (3), is a different drug reaction from TEN, which is caused by a limited number of specific drugs (e.g. anticonvulsants and allopurinol) (2–4). DIHS/DRESS involves multi-organ systemic reactions characterized by a rash, fever, haematopoietic dysfunction, and liver dysfunction (2–4). We describe here a fatal case of TEN arising as a sequela of DIHS due to phenytoin, which we believe represents a new type of overlap between DIHS/DRESS and TEN.

CASE REPORT

A 54-year-old Japanese man with a 10-year history of hypertension and hyperlipidaemia was admitted to our hospital's Neurosurgery Department on 27 November 2010 with a severe headache. Thalamic bleeding was detected by computed tomography. Beginning on 2 December 2010, the patient was treated for convulsions with oral phenytoin. He underwent a haematoma evacuation procedure on 3 December 2010. Erythematous lesions began to appear on the 41st day of phenytoin administration (11 January 2011), and the patient was referred to the Dermatology Department.

Physical examination revealed fever (39.4°C), bilateral cervical lymphadenopathy, facial oedema with

erythema, and small, round, erythematous and purpuric plaques on the trunk and extremities (Fig. 1a). The patient was negative for Nikolsky's sign. Laboratory investigations revealed the following: white blood cell count, $18.4 \times 10^9/l$ (normal $3.5\text{--}9 \times 10^9/l$) with 17.5% eosinophils (0–7%); aspartate aminotransferase, 64 IU/l (10–30 IU/l); alanine aminotransferase, 170 IU/l (5–25 IU/l); hypogammaglobulinaemia (IgG, 760 mg/dl; IgA, 51 mg/dl; IgM, 43 mg/dl; normal IgG: 800–1,750 mg/dl, IgA: 100–450 mg/dl, IgM: 45–300 mg/dl); and C-reactive protein, 8.69 mg/dl (<0.2 mg/dl). A skin biopsy obtained from the patient's forearm revealed hydropic and vacuolar degeneration of epidermal basal cells and modest upper dermal infiltration. No extensive epidermal necrosis was found (Fig. 1b). A lymphocyte transformation test (LTT) for phenytoin was positive (stimulation index (SI)=4.2, cut-off for LTT, SI=1.8). These findings fulfilled the criteria for DIHS/DRESS (2–4) and phenytoin therapy was discontinued. The patient was given systemic prednisolone (0.5 mg/kg daily) as recommended previously (3).

Although prednisolone ameliorated the skin rash, both renal dysfunction and haematopoietic organ dyscrasia had occurred, and dialysis and blood transfusion were required. Hyperbilirubinaemia was detected one week after the onset of DIHS/DRESS. One month after the onset of DIHS/DRESS, the patient's serum bilirubin level reached 42.4 mg/dl (0.3–1.0 mg/dl); it subsequently decreased while maintaining the same dose of systemic prednisolone (0.5 mg/kg, daily). Two months after the onset of DIHS/DRESS (on 12 March 2011), the patient had a tarry stool, and gastric bleeding was detected by gastrointestinal endoscopy. The administration of omeprazole was started. On 16 March 2011, ocular complications, including pseudomembranous formations and corneal epithelial defects, as well as an extensive haemorrhagic erosion on the lips, diffuse erythematous targetoid lesions, epidermal sheets, and skin detachment were seen (Fig. 2a). The patient was positive for Nikolsky's sign. An LTT for omeprazole was not performed. A skin biopsy of an erythematous targetoid lesion on the patient's forearm showed a large number of apoptotic cells in the epidermis

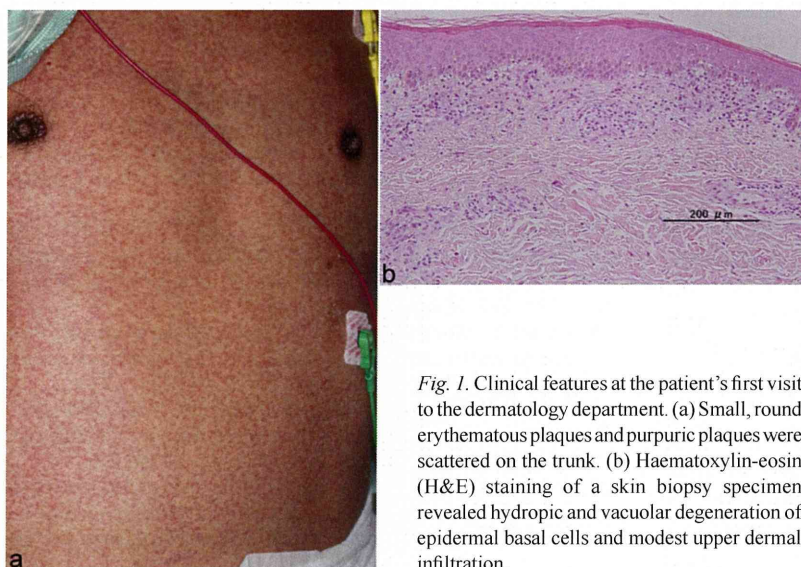


Fig. 1. Clinical features at the patient's first visit to the dermatology department. (a) Small, round erythematous plaques and purpuric plaques were scattered on the trunk. (b) Haematoxylin-eosin (H&E) staining of a skin biopsy specimen revealed hydropic and vacuolar degeneration of epidermal basal cells and modest upper dermal infiltration.

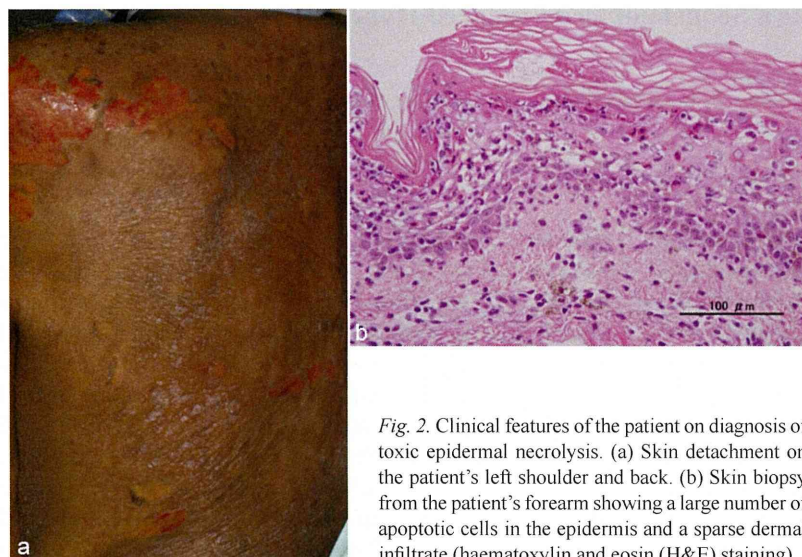


Fig. 2. Clinical features of the patient on diagnosis of toxic epidermal necrolysis. (a) Skin detachment on the patient's left shoulder and back. (b) Skin biopsy from the patient's forearm showing a large number of apoptotic cells in the epidermis and a sparse dermal infiltrate (haematoxylin and eosin (H&E) staining).

and a sparse perivascular infiltrate, composed mainly of mononuclear cells, in the dermis (Fig. 2b). These findings were compatible with TEN (5).

The patient underwent 8 rounds of conventional plasmapheresis and was treated with intravenous immunoglobulin (5 g/day for 3 days), as recommended by other groups (6, 7). Even with a maximal skin detachment of 80%, the skin lesions resolved within 2 weeks. However, high levels of amylase, trypsin, and elastase 1 were found after the detection of TEN symptoms. Despite treatment with a protease inhibitor (gabexate mesilate), the patient's levels of pancreatic enzyme did not decrease. The patient died of multiple organ failure on day 88 after the onset of DIHS/DRESS.

DISCUSSION

In this case, clinical symptoms of TEN appeared 2 months after the onset of DIHS/DRESS. Until now, only two cases of DIHS/DRESS associated with Stevens-Johnson syndrome (SJS)/TEN-like skin manifestations have been reported in the English literature (8, 9). Although both reported cases fulfilled all or most of the criteria for DIHS/DRESS, mucosal lesions and/or epidermal necrosis were seen from the onset of DIHS/DRESS. Recently, Tohyama et al. (3) demonstrated that the onset of SJS/TEN occurred within 3 weeks of the start of drug administration in 67% of cases, that DIHS/DRESS most frequently occurred at 4–5 weeks, and that overlapping cases developed symptoms at 4–5 weeks, as our patient did. DIHS/DRESS has several unique features that cannot be explained solely by drug aetiology. They include: delayed onset (as described above), a paradoxical worsening of clinical symptoms after withdrawal of the causative drug(s), and unexplained cross-reactivity to multiple drugs with different structures (10). Our patient had been treated

with omeprazole for 4 days before the onset of TEN. Therefore, although an LTT for omeprazole was not performed, we cannot exclude the possibility that the patient had cross-reactivity to omeprazole, and that this might have been the trigger for the subsequent development of TEN.

Our patient initially had DIHS/DRESS, and subsequently developed TEN. Based on these findings, we propose that overlapping DIHS/DRESS and SJS/TEN can occur as 2 subtypes: DIHS/DRESS and SJS/TEN both present from the onset, and SJS/TEN arising as a sequela of DIHS/DRESS.

ACKNOWLEDGEMENT

This work was partly supported by Health and Labour Sciences Research Grants (Research on Intractable Diseases) from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan.

The authors declare no conflicts of interest.

REFERENCES

1. Roujeau JC, Stern RS. Severe adverse cutaneous reactions to drug. *N Engl J Med* 1994; 331: 1272–1285.
2. Seishima M, Yamanaka S, Fujisawa T, Tohyama M, Hashimoto K. Reactivation of human herpesvirus (HHV) family members other than HHV-6 in drug-induced hypersensitivity syndrome. *Br J Dermatol* 2006; 155: 344–349.
3. Tohyama M, Hashimoto K. New aspects of drug-induced hypersensitivity syndrome. *J Dermatol* 2011; 38: 222–228.
4. Bocquet H, Bagot M, Roujeau JC. Drug-induced pseudolymphoma and drug hypersensitivity syndrome (drug rash with eosinophilia and systemic symptoms: DRESS). *Semin Cutan Med Surg* 1996; 15: 250–257.
5. Côté B, Wechsler J, Bastuji-Garin S, Assier H, Revuz J, Roujeau JC. Clinicopathologic correlation in erythema multiforme and Stevens-Johnson syndrome. *Arch Dermatol* 1995; 131: 1268–1272.
6. Narita YM, Hirahara K, Mizukawa Y, Kano Y, Shiohara T. Efficacy of plasmapheresis for the treatment of severe toxic epidermal necrolysis: is cytokine expression analysis useful in predicting its therapeutic efficacy? *J Dermatol* 2011; 38: 236–245.
7. Viard I, Wehrli P, Bullani R, Schneider P, Holler N, Salomon D, et al. Inhibition of toxic epidermal necrolysis by blockade of CD95 with human intravenous immunoglobulin. *Science* 1998; 282: 490–493.
8. Teraki Y, Murota H, Izaki S. Toxic epidermal necrolysis due to zonisamide associated with reactivation of human herpesvirus 6. *Arch Dermatol* 2008; 144: 232–235.
9. Viera MH, Perez OA, Patel JK, Jones I, Berman B. Phenyltoin-associated hypersensitivity syndrome with features of DRESS and TEN/SJS. *Cutis* 2010; 85: 312–317.
10. Shiohara T, Inaoka M, Kano Y. Drug-induced hypersensitivity syndrome (DIHS): A reaction induced by a complex interplay among herpesviruses and antidrug immune responses. *Allergol Int* 2006; 55: 1–8.

Stevens-Johnson 症候群ならびに中毒性表皮壊死症の 全国疫学調査

—平成 20 年度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—

重症薬疹研究班

北見 周¹ 渡辺秀晃¹ 末木博彦¹ 飯島正文¹ 相原道子² 池澤善郎²
狩野葉子³ 塩原哲夫³ 森田栄伸⁴ 木下 茂⁵ 相原雄幸⁶ 白方裕司⁷
藤山幹子⁷ 外園千恵⁵ 花島健治⁸ 小豆澤宏明⁹ 浅田秀夫¹⁰ 橋本公二⁷

要 旨

全国の皮膚科専門医研修施設を対象として、2005 年～2007 年の 3 年間に経験された Stevens-Johnson syndrome (SJS) ならびに toxic epidermal necrolysis (TEN) について調査登録票による疫学調査を行った。SJS 258 例、TEN 112 例、合計 370 例の調査登録票が回収された。人口 100 万人あたりの年間の発症頻度は SJS が 3.1 人、TEN が 1.3 人で合わせて 4.4 人と算出された。SJS : TEN の比は 2.3 : 1 であった。SJS、TEN とともに 30 歳代に小ピークが、60 歳代に最大のピークがあった。男女比は SJS で 1 : 1.14、TEN では 1 : 0.95 であった。死亡率は SJS が 3%、TEN が 19% であった。SJS、TEN とともに被疑薬は抗菌薬等と解熱鎮痛消炎薬が最も多く、次いで抗てんかん薬、循環器疾患治療薬が上位を占めた。被疑薬開始日から皮疹出現までの期間は抗てんかん薬が抗菌薬等より有意に長かった。重症度スコアの平均値は SJS で 5.0 ± 2.0 、TEN で 8.3 ± 2.7 で両群間には有意差があった。眼病変は TEN では 77% に対し、SJS では 26% と大差があった。血癍を伴う口唇びらん、口腔内の広範囲血癍を伴うびらん、陰部びらん、呼吸器障害など粘膜症状の頻度はいずれも SJS より TEN において統計学的に有意に高かった。組織学的にも SJS は TEN よりアポトーシスや表皮全層性壊死の頻度が有意に低いことを考え合わせると、本調査では SJS の中に重症多形紅斑 (erythema multiforme major : EM major) が紛れ込んでいる可能性が考えられた。死亡例解析結果から死亡例は年齢が高い、被疑薬は抗菌薬等の割合が高い、皮疹より発熱が先行する症例が多い、重症度スコアが高い、感染症合併、肝機能障害、末梢血異常、腎機能障害、呼吸器障害、循環器障害などの他臓器障害が多い、単独療法より、集学的治療がなされていたなどの傾向があった。

はじめに

薬疹のうち生命予後を脅かすもの、失明や慢性呼吸器障害など重篤な後遺症を残すものは重症薬疹として取り扱われている。重症薬疹の代表的病型である Stevens-Johnson syndrome (SJS) と中毒性表皮壊死症 (toxic epidermal necrolysis : TEN, Lyell 症候群) は長年別個の疾患概念と考えられてきた。しかし基本的な病態や病理組織所見に共通点が多く、1993 年に欧米の薬疹研究グループ¹⁾により SJS と TEN を同一疾病スペクトラムと捉え、表皮剥離面積により両者を分類することが提唱された。わが国でも 2002 年に厚生労働科学研究班 (主任研究者 : 橋本公二教授)²⁾ による両疾患の診断基準が提唱され、表皮の壊死性変化に基づく表

- 1) 昭和大学医学部皮膚科学
〒142-8666 東京都品川区旗の台 1-5-8
 - 2) 横浜市立大学医学部皮膚科学
 - 3) 杏林大学医学部皮膚科学
 - 4) 島根大学医学部皮膚科学
 - 5) 京都府立医科大学視覚機能再生外科
 - 6) 横浜市立大学附属市民総合医療センター小児科
 - 7) 愛媛大学大学院医学系研究科皮膚科学
 - 8) 京都大学大学院医学系研究科皮膚科学
 - 9) 大阪大学大学院医学系研究科皮膚科学
 - 10) 奈良県立医科大学皮膚科学
- 平成 23 年 2 月 25 日受付、平成 23 年 3 月 25 日掲載決定
【別刷請求先】北見 周
昭和大学医学部皮膚科学教室 (主任 : 飯島正文教授)
〒142-8666 東京都品川区旗の台 1-5-8
電話 : 03-3784-8556 FAX : 03-3784-8364
e-mail : derma@med.showa-u.ac.jp