

201231003A

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 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 塩原 哲夫

平成 25 (2013) 年 3 月

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 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 塩原 哲夫

平成 25 (2013) 年 3 月

目 次

I.	班員構成	1
II.	総括研究報告	
	塩原 哲夫	3
	資料 1) 薬剤性過敏症症候群(DIHS)治療指針 (2012)	
III.	分担研究報告	
	薬剤性過敏症症候群患者の予後の解析	
	塩原 哲夫	19
	資料 1) 重症薬疹予後調査依頼状	
	Stevens-Johnson 症候群/TEN の CD16 陽性単球浸潤のメカニズムの解析 -表皮角化細胞における fractalkine 産生について	
	橋本 公二	28
	重症型薬疹の免疫組織学的鑑別診断法の研究・テラプレビルによる重 症薬疹の解析・薬剤過敏症症候群における human herpesvirus 6 再活 性化予測因子についての検討	
	末木 博彦	31
	薬疹の臨床型の違いによる血清サイトカインプロファイルの比較検討	
	相原 道子	35
	本邦 2008 年～2012 年 DIHS 報告症例における予後因子調査	
	森田 栄伸	43
	薬剤性過敏症症候群におけるケモカインの血中動態の研究 -早期診断ならびに疾患活動性マーカーとしての意義-	
	浅田 秀夫	46
	重症薬疹モデルマウスの作成と病態機序の解析	
	谷崎 英昭	50

フローサイトメトリーによるDLSTを用いた薬剤性過敏症症候群患者の薬剤特異的Tリンパ球の検討 小豆澤 宏明	53
薬剤アレルギーにおける薬剤反応性T細胞の活性化機序の特殊性に関する研究 橋爪 秀夫	57
薬疹の原因薬同定におけるDLSTと好塩基球刺激試験の比較検討 永尾 圭介	60
重症薬疹の予後の解析 阿部 理一郎	62
薬剤性過敏症症候群(DIHS)の全国疫学調査-途中経過 黒沢 美智子	65
資料1) 薬剤性過敏症症候群診断基準	
資料2) 一次調査依頼状	
資料3) DIHS 一次調査票	
資料4) 二次調査依頼状	
資料5) DIHS 二次調査票	
重症多型滲出性紅斑に伴う眼障害の実態調査ならびに発症に関与する遺伝子素因についての解析 外園 千恵	77
IV. 班会議プログラム・資料	84
班会議プログラム	
資料1) 公開講演会	
資料2) 重症多形滲出性紅斑ホームページ	
資料3) SJS患者会ホームページとの連携	

V. 研究成果の刊行に関する一覧表	96
VI. 研究成果の刊行物・印刷	121

[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
代表研究者	塩原哲夫	杏林大学医学部皮膚科学	教授	研究の総括、 重症多形滲出性紅斑の疫 学・発症機序・治療
研究分担者	橋本公二	愛媛大学先端研究 学術推進機構学術企画室	特命 教授	重症多形滲出性紅斑の疫 学・発症機序・治療
	末木博彦	昭和大学医学部皮膚科学	主任 教授	重症多形滲出性紅斑の疫 学・発症機序・治療
	相原道子	横浜市立大学大学院医学研究科 環境免疫病態皮膚科学	教授	重症多形滲出性紅斑の疫 学・発症機序・治療
	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・発症機序・治療の研究
	浅田秀夫	奈良県立医科大学医学部皮膚科 学	教授	重症多形滲出性紅斑の疫 学・発症機序・治療の研究
	谷崎英昭	京都大学大学院医学系研究科 皮膚科学	助教	重症多形滲出性紅斑の発症 機序・病態に関する研究
	小豆澤宏明	大阪大学大学院医学系研究科 皮膚科学	助教	重症多形滲出性紅斑の発症 機序・病態に関する研究
	橋爪秀夫	浜松医科大学医学部皮膚科学 市立島田市民病院	准教授 主任 部長	重症多形滲出性紅斑の発症 機序・病態に関する研究
	永尾圭介	慶應義塾大学医学部皮膚科学	専任 講師	重症多形滲出性紅斑の発症 機序・病態に関する研究
	阿部理一郎	北海道大学医学研究科皮膚科学	准教授	重症多形滲出性紅斑の発症 機序・病態に関する研究
	黒沢美智子	順天堂大学医学部衛生学	准教授	重症多形滲出性紅斑の疫学 の調査研究
	外園千恵	京都府立医科大学大学院医学研究 科 視覚機能再生外科学	講師	重症多形滲出性紅斑の眼合 併症・治療指針に関する研究

[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

代表研究者 塩原哲夫

杏林大学医学部皮膚科 教授

研究要旨

重症多形滲出性紅斑には Stevens-Johnson 症候群(SJS)、中毒性表皮壊死症(TEN)、薬剤性過敏症症候群(DIHS) などが含まれ、これらは高熱をとめない皮膚と粘膜を侵襲する重篤な疾患である。発症初期の診断が難しいために早期に適切な治療がなされず、経過中に多彩な臓器障害や合併症をもたらす症例が多い。このような疾患の特徴から、実態の把握、治療指針の整備、病態の解明、治療法の確立が必須である。本研究では、①DIHS の疫学実態調査の開始、後遺症・続発症検証のための調査票郵送による予後調査、②DIHS の治療指針の作成・発信、③病態解明として T 細胞・単球系細胞の研究、バイオマーカーの評価、薬疹とウイルスの関係の探究、④SJS/TEN の眼合併症の発症・重症化因子と疾患関連遺伝子間の相互作用の探究、動物モデル、⑤研究成果のグローバル化を主な研究目的とした。疫学的調査に関して、DIHS ではすでに二次詳細調査まで進展させ、また、劇症 1 型糖尿病の併発については糖尿病学会と横断的に研究を進め、成果を発信することができた。また、今まで検討してきた DIHS の治療指針を完成させた。病態解明においては臨床的所見を反映する動物モデルを作成することに成功し、画期的な進歩が得られた。また、重症多形滲出性紅斑において、新しいバイオマーカーを用いた幅広い研究が進展し、病勢評価への臨床応用の可能性を示した。さらに、薬疹に関わる T 細胞と再活性化するヘルペスウイルスの関係の実験的証明や SJS/TEN の病変形成を担う単球系細胞の検索を、研究成果として世界に公表することができた。一方、SJS/TEN の眼後遺症の解析で眼合併症の発症・重症化因子や疾患関連遺伝子相互作用が明らかになった。加えて、海外の研究者との交流において、本研究班の成果をグローバルに発信し得た。今後、これらの研究成果は重症多形滲出性紅斑の治療、治療薬開発に寄与し、国民の健康維持、本疾患の発症回避に大いに貢献することが期待できる。

研究分担者

橋本公二

愛媛大学先端研究学術推進機構学術企画室・特命教授

末木博彦

昭和大学医学部皮膚科学・主任教授

相原道子

横浜市立大学大学院医学研究科環境免疫病態皮膚科学・教授

森田栄伸

島根大学医学部皮膚科学・教授

浅田秀夫

奈良県立医科大学医学部皮膚科学・教授

谷崎英昭

京都大学大学院医学系研究科皮膚科学・助教

小豆澤宏明

大阪大学大学院医学系研究科皮膚科学・助教

橋爪秀夫

浜松医科大学医学部皮膚科学・准教授

市立島田市民病院・主任部長

永尾圭介

慶應義塾大学医学部皮膚科学・専任講師

阿部理一郎

北海道大学医学研究科皮膚科学・准教授

黒沢美智子

順天堂大学医学部衛生学・准教授

外園千恵

京都府立医科大学大学院医学研究科視覚機能再生外科学・講師

A. 研究目的

重症多形滲出性紅斑は高熱をとめない皮膚と粘膜を侵襲する重篤で死亡率が高い皮膚疾患である。初期の診断が難しいことから早期に適切な治療がなされないために、経過中に臓器障害や回復後に後遺症をもたらす症例が多い。このような実態から、本疾患の疫学的調査・予後調査、病態の把握や動物モデルの作成、診断基準の整備、治療法の確立、把握などが必須である。本研究では、①重症多形滲出性紅斑の1つの疾患である薬剤性過敏症候群 (Drug-induced hypersensitivity syndrome; DIHS) の疫学実態調査の開始、後遺症・続発症検索のための調査票郵送による予大規模な後調査、②DIHS の治療指針の作成・発信、③病態解明として動物モデルの作成の試み、各種バイオマーカーの評価、薬疹とウイルスの関係の実験的検証、④Stevens-Johnson 症候群(SJS)/中毒性表皮壊死症(TEN)の眼合併症の発症・重症化因子と疾患関連遺伝子間の相互作用の探究、⑤薬疹研究成果のグローバルな成果発信などを主な研究目的とした。

B. 研究方法

・重症多形滲出性紅斑の疫学的実態調査・予後調査

本研究では重症多形滲出性紅斑の疫学的な実態調査は継続して施行してきている。本年度はわが国におけるDIHS の患者数と臨床疫学像を明らかにするために全国疫学調査を開始し

た。この全国疫学調査は患者数を推計する一次調査と臨床疫学像を調査する二次調査からなり、全国疫学調査一次調査の対象施設は全国の病院から病床数別に無作為抽出された病院と全大学病院の皮膚科、特別階層を加えた1,033科を対象として進めている方法を用いた。すでに2013年1月に一次調査票を送付し、一次調査で患者ありと回答のあった施設を対象に二次調査も開始している。

また、重症薬疹の予後に関して preliminary に単施設で検索した予後調査では予後疾患の発現に薬疹治療による差異が認められたため、分担研究各施設において倫理委員会にて承認を受けて、郵送票を送付する全国レベルの調査法を用いた。

糖尿病学会と本研究班が共同で集積したDIHS患者における劇症1型糖尿病症例の全国調査を発信する。

・重症多形滲出性紅斑の治療指針の作成・整備

SJS/TEN においては治療指針が学会誌に公表され、実際に利用され、後遺症軽減の効果をもたらしている。DIHS では診断基準は世界的に活用されているが、その治療においては、今だ、各施設間の統一された見解が出されていない。今年度は本研究班会議で分担研究者施設から多数の典型的なDIHS 症例から難治なDIHS 症例を検討してDIHS の治療指針を検討した。DIHS にはSJS/TEN とオーバーラップするような非典型的な経過をとるも

の、予期せぬ臓器障害を呈する症例などがあり、このような症例が致死的な状況になりえるため、本邦での過去の DIHS 症例報告を詳細に検討し予後に関与する要因を検証しながら実用的な治療指針の作成をめざした。

・重症多形滲出性紅斑の病態の解明

SJS/TEN などの発症機序を解明するため、表皮障害に関与している可能性がある CD16 陽性単球の集積について表皮角化細胞の産生する fractalkine の発現、血清中における変動、培養表皮角化細胞における fractalkine の産生機序について検討を行った。

また、SJS/TEN の初期診断に際しては EM major が鑑別疾患としてあがるため両疾患の鑑別のために SJS/TEN と EM major において CD8 陽性細胞における granulysin, perforin などの細胞障害性因子の発現、CD4 陽性細胞数・FoxP3 陽性細胞数の検索、CD68 陽性細胞数の検索を進めた。さらに、昨年度に引き続いて HMGB1 (High Mobility Group Box1) が SJS/TEN の早期診断マーカーになり得るかどうか、すなわち、臨床における有用性を確認するために SJS/TEN のみならず、EM major や DIHS の早期血清においても評価検証した。DIHS におけるバイオマーカーとしては血清 TARC 値を測定しそれが DIHS の疾患活動性の指標の一つとなり得るかどうか、他のバイオマーカーとの関連性、他の重症薬疹臨床病型における値について比較した。

各臨床病型において薬疹に関わる T 細胞に関して、薬疹の病期により薬剤に対して反応する細胞が異なっていることを照明するために、フローサイトメトリー(FCM)を用いたリンパ球添加幼弱化試験 (DLST) で、carboxyfluorescein diacetate, succinimidyl ester (CFSE) が減弱し 5-bromo-2'-deoxy- uridine (BrdU) を取り込んだ増殖細胞を検出する研究をさらに進める。加えて、DIHS における HHV-6 の局在を検証するために誌皮膚に浸潤している CD4 陽性細胞、さらに制御性 T 細胞の解析を進めた。

SJS/TEN などの重症薬疹は、その疾患進行の急速性や少ない患者数から、患者検体の採取が限られ、それらを用いて病態発症機序に関する十分な検討を行うことが困難であった。薬疹の動物モデルについては Involucrin プロモーター下にモデル自己抗原を発現する遺伝子改変マウスを作成の試みと自己抗原特異的な T 細胞受容体のみ発現する CD8+T 細胞を移入する方法を進める。また、一方、重症薬疹患者の末梢血を免疫不全マウスに静注することによって重症薬疹モデルマウスの作成とモデルマウスを用いて細胞死のメカニズムの解明を行う方法で行った。また、従来の原因薬剤検索法である DLST とは異なる検査法として、好塩基球活性化試験 (basophil activation test: BAT)を用いて薬疹患者もしくは薬疹既往歴のある患者での薬剤アレルギーを解析した。BAT の結果を DLST のそれと比較検証した。

・重症多形滲出性紅斑の眼合併症に関する解析

眼合併症を伴う SJS/TEN の眼障害の有無と重症化に関わる因子を明らかにするため、2008–2010 に国内で発症した SJS/TEN の発症背景と急性期の眼障害について調査し、探索的解析を実施する。また、眼合併症型 SJS/TEN の発症にかかわる複数の疾患関連遺伝子について、遺伝子間の相互作用に関する解析を行う。

・研究成果の発信とグローバル化

重症多形滲出性紅斑の予後調査においては諸外国の薬疹研究専門家を招いて合同会議 (Asian Severe Cutaneous Adverse Reaction Meeting : 2012 年 7 月 28 日、同年 12 月 22 日) を 2 回開催し、重症薬疹の予後に研究結果の交流を行い、本研究をより進展させてグローバルな視点から成果を発信する。

C. 研究結果

研究代表者の塩原は DIHS 症例において、薬疹が回復した後に、自己免疫疾患などが続発することが知られていることから、杏林大学皮膚科に DIHS で入院加療した DIHS 患者の短期的、長期的予後について検討した。DIHS 回復後の患者へ調査票郵送により得られた情報と回復後に通院している患者の情報を合わせて 34 名を対象とした。解析方法として少なくとも 1 年以上経過をフォローされている

DIHS 症例をステロイド治療群とステロイド非投与の保存的治療群に分けて検証した。この 2 群は年齢、基礎疾患、入院時の発熱、肝障害、白血球数、免疫グロブリン値などに有意な差異は認められなかった。この結果、ステロイド治療群では、多彩な感染症 (帯状疱疹、単純疱疹、サイトメガロウイルス感染症、ニューモシスチス肺炎など) が治療開始 3 ヶ月までに発症していた。一方、保存的治療群では感染症の発症はほとんど認められず、回復後に、自己抗体の検出を含む自己免疫疾患 (自己免疫性甲状腺炎、エリテマトーデス) がステロイド治療群に比べて高頻度に発現していた。また、これらの感染症の発現はステロイド薬を現象した後にみられる傾向があった。現進めている分担研究者施設の大きな規模での長期予後調査結果と比較検討する必要がある。また、本年度は糖尿病学会と共同で進めてきた DIHS 関連の劇症 1 型糖尿病について学会誌に発表することができた。

分担研究者の橋本は、SJS、TEN では、病変部表皮に CD16 陽性単球が浸潤しており、表皮障害に関与する可能性が考えられることを基に研究を進めた。CD16 陽性単球が皮膚に浸潤してくるメカニズムとして表皮角化細胞の産生する fractalkine が関与する可能性を推測し、SJS、TEN の病変部皮膚における fractalkine の発現、血清中における変動、培養表皮角化細胞における fractalkine の産生機序について検

討を行った。すなわち、SJS、TEN 病変部における fractalkine の発現、S 血清中の fractalkine の変動、培養表皮角化細胞における fractalkine の産生などを測定した。その結果、fractalkine は、SJS、TEN の病変部においては、表皮全層に強く染色された。fractalkine は、SJS、TEN 発症後の血清中で高値となり、皮膚症状の軽快とともに低下した。IFN- γ 、TNF- α の刺激による fractalkine の産生を mRNA、蛋白レベルの検討では、培養表皮角化細胞を IFN- γ で刺激したときに、時間依存性、用量依存性に fractalkine の mRNA 発現は増強し、mRNA の発現増強は、刺激後 12 時間目以降に認められた。TNF- α では mRNA の発現に変動はみられなかったが、IFN- γ と TNF- α のコンビネーションは、fractalkine の mRNA 発現を著明に増強した。以上の結果から、fractalkine が強く発現している SJS と TEN の病変部皮膚への CD16 陽性単球の浸潤には、表皮角化細胞の産生する fractalkine が関与している可能性が判明し、今後の治療戦略として、CD16 陽性単球の病変部への浸潤を抑制するサイトカインの機能制御による fractalkine の産生抑制、fractalkine の膜表面からの切断の抑制、fractalkine の機能抑制などがあげられることを指摘した。

分担研究者の末木は、重症型薬疹の免疫組織学的鑑別診断法の研究、テラプレビルによる重症薬疹の解析、そして DIHS における human herpesvirus 6

(HHV-6) 再活性化予測因子についての研究を行った。第一の研究では SJS/TEN と重症多形紅斑 (EM major) の発症早期における鑑別診断は治療法を決定する上で重要である。SJS/TEN では EM major に比し、CD8 陽性細胞における granulysin, perforin などの細胞障害性因子の発現が多く CD4 陽性細胞数・FoxP3 陽性細胞数は少なく、CD68 陽性細胞数は多いことが判明し、これらが両疾患の鑑別の一助となりうることを示した。次の研究であるテラプレビルによる重症薬疹の解析においては、市販後全例調査中間集計において重症薬疹と判定されたのは TEN の 2 例と DIHS の 1 例であった。このうちの TEN の 1 例は死亡例であった。重症薬疹の 3 例はいずれもテラプレビル投与開始数日後にグレード 1 もしくは 2 の皮疹を生じ、一旦軽快したものの 7 週目から 9 週目に皮疹が増悪し重症薬疹を発症した。第三の研究課題の DIHS における HHV-6 再活性化予測因子についての検討では、DIHS において HHV-6 再活性化を来た群は非再活性化群に比し、入院時の血清 TNF- α 値が統計学的に有意差をもって高値であった。

分担研究者の相原は、横浜市立大学附属 2 病院で経験した薬疹患者の血清サイトカインプロファイルを比較検討した。SJS、TEN、DIHS といった重症薬疹だけでなく播種状紅斑丘疹型 (MP) や多形紅斑型 (EM) においても様々なサイトカインの高値を認め

たことから、薬疹の病態にはサイトカインが深く関与していること、および重症薬疹の発症にはサイトカインだけでなく他の因子が必要であることが示した。DIHS では他疾患群と比較して全般的にサイトカインが高値であり、なかでも IL-5、IL-9、IL-13、Eotaxin などの Th2 関連のサイトカイン/ケモカインが上昇しており、好酸球増多を来す臨床像と矛盾しない結果であった。HMGB1 は活性化された樹状細胞、マクロファージあるいは壊死細胞から細胞外に放出されるタンパク質で、近年、血清 HMGB1 が SJS/TEN の早期診断マーカーになり得ることが示唆されている。しかし、本研究においては SJS/TEN で有意な上昇を認めたものの DIHS 群においてより高値であり、HMGB1 が DIHS の発症に関与していることなどが示唆された。

分担研究者の森田は、DIHS は、被疑薬中止のみで自然軽快する症例からステロイドパルス療法、免疫グロブリン製剤投与にもかかわらず不幸にも死亡の転機をたどる症例まであり、その重症度は個々の症例により大きく異なっている。これらの事実から今回、DIHS の予後に関与する要因を明らかにする目的で、医中誌検索で入手し得た 2008～2012 年の報告例 81 症例からデータ抽出して、死亡症例と生存例とで予後因子解析を行った。数値データは t 検定を行い、数値化できないデータ（カテゴリーデータ）は Fischer の正確確率検定を行った。死亡症例に

て有意に多かった項目は、①年齢（ ≥ 60 歳）②Crea >2.0 ③ステロイドパルス施行有り、④DIHS 治療中の肺炎または播種状血管内凝固症候群（DIC）合併有り、⑤原因薬剤がアロプリノールである、⑥DIHS 治療中の合併症の数であった。DIHS の治療指針作成に際しては、これらの要因を加味する必要があると考えた。

分担研究者の浅田は、DIHS は、発熱、臓器障害、ヒトヘルペスウイルス再活性化を伴う重症薬疹の一つであり、紅皮症、好酸球増多、制御性 T 細胞増多がしばしばみられることに着目し、TARC が病態形成に関わっている可能性を考え、その検証を試みた。その結果、SJS/TEN、紅斑丘疹型薬疹と比べ、DIHS では急性期の血清 TARC 値が著明な高値を示し、血清 TARC 値が DIHS の有力な診断マーカーとなり得る可能性を示唆した。さらに血清 TARC 値の動きは、DIHS における皮疹、好酸球数、可溶性 IL-2 受容体、IL-5 とも比較的良く関連することを明らかにし、血清 TARC 値は疾患活動性の指標の一つとなり得るものと考えた。また、TARC は DIHS 皮疹部に浸潤している CD11c 陽性真皮樹状細胞から産生されることが明らかとなった。加えて、 β ヘルペスウイルス再活性化群で有意に TARC は高値を示したことから、この上昇は DIHS における β ヘルペスウイルスの再活性化に何らかの役割を果たしている可能性も示唆された。

分担研究者の谷崎は、SJS/TEN などの重症薬疹は、その進行の急速さや患者数の少なさから病態発症機序に関する検討を患者検体を用いて行うことは困難であり、動物モデルの開発と解析が非常に重要であると考えた。このような状況下、Involucrin プロモーター下にモデル自己抗原を発現する遺伝子改変マウス (Inv-mOVA マウス) を作成した。このモデルマウスを用いて、自己抗原特異的な T 細胞受容体のみ発現する CD8+T 細胞を移入することにより眼瞼皮膚の落屑や体幹皮膚の潮紅などの SJS/TEN 様の皮膚炎症状を発症することを認めた。さらに、sFasL や新たなバイオマーカーである HMGB1 など血清中のマーカーの上昇を認め、また、組織学的に HE 染色では、表皮ケラチノサイトの好酸性壊死、その後表皮の全層性壊死を確認した。TUNEL 染色では、皮疹出現前の 5 日目より TUNEL 陽性細胞を表皮内に認め、その数に増加を認めた。フローサイトメーターによる浸潤細胞の表面マーカー解析では、CD8+T 細胞の浸潤を認めた。このモデルマウスの皮膚炎症状は、臨床的・組織学的に SJS/TEN に酷似し、また血清中のバイオマーカーの推移も SJS/TEN に酷似したものであり、今後、重症薬疹発症機序の解明の一助となると期待できる。

分担研究者の小豆澤は、従来 3H-thymidine の取り込みを検出するよ

る薬剤リンパ球刺激試験(DLST)について、結果は同じ「陽性」でも全く異なる免疫反応を捉えている可能性があることから、フローサイトメトリー (FCM) を用いた DLST で、carboxyfluorescein diacetate, succinimidyl ester (CFSE) が減弱し 5-bromo-2'-deoxy- uridine (BrdU) を取り込んだ増殖細胞を検出する研究を行った。この結果、同じ陽性所見を示していても DIHS の回復期で検出される DLST においては薬剤特異的 FOXP3 陽性 CD4T 細胞 (制御性 T 細胞) の割合が増加しており、薬疹患者において薬剤特異的な T 細胞が誘導される現象には細胞傷害性のみならず、抑制性の免疫反応も誘導されることが判明した。このことから、SJS や DIHS などの重症薬疹における DLST は、重症薬疹の病態における T 細胞免疫の重要性を明らかにする上で有用であることが明らかになった。すなわち、DLST の陽性反応は、薬疹の急性期や回復期といった病期により CD8 陽性 T 細胞、CD4 陽性 T 細胞、制御性 T 細胞など、役割の異なる細胞の分裂をとらえている事実を示した。

分担研究者の橋爪は、薬剤アレルギーにおける薬剤反応性 T 細胞の活性化機序の特殊性に関する研究を行い、DIHS の発症メカニズムの解明につき、昨年度の研究を発展させた。DIHS でみられる HHV-6 を内在する循環単球様細胞は、発現分子の解析による類似性から、骨髄で成熟せずに末梢循環に

流入される mono/myeloid precursor であると考えられた。本細胞は、DIHS 皮膚内で高発現する HMGB-1 によって皮膚内に集積し、浸潤する CD4 陽性細胞に HHV-6 感染をもたらす可能性を実験的に示した。また、DIHS の皮膚浸潤 CD4 陽性細胞の発現分子の解析から、これらには制御性 T 細胞が多く含まれることを明らかにした。さらに、この結果を SJS/ TEN と比較したところ、SJS/ TEN では皮膚浸潤 CD4 陽性細胞には Th17 細胞が多く含まれていることが判明した。この浸潤細胞の相違が臨床像の相違を反映して可能性を考えた。

分担研究者の永尾は、薬剤アレルギー同定の新しい検査として、BAT を用いて従来の薬疹患者の DLST と BAT の結果を比較検討した。検査された全薬剤に対し、DLST は 30.1%の陽性率を示した。一方、BAT は 1 時間暴露群が 3.27%、24 時間暴露群が 14.8%であった。DLST と BAT の両方で陽性を呈する薬剤は少なく、単独陽性となる傾向を示した。好塩基球を対象とした検査法である BAT が陽性を呈するのは必ずしも即時型アレルギーではなかった。むしろ、遅延型にも多くの陽性所見を示した。さらに BAT はニューキノロン、マクロライド系の陽性率が高いのに対して、DLST ではペニシリン系の陽性率が高く、異なる系統の原因薬剤を検出しうる可能性が示された。

分担研究者の阿部は、TEN や SJS は致死性疾患であるが、モデル動物がなく、研究のほとんどが患者検体を用いてしか行えず、病態解明が進んでいない現状から、重症薬疹患者の末梢血を免疫不全マウスに静注することによって重症薬疹モデルマウスの作成を試み、成功した。一方、重症薬疹発症における重要な現象の表皮細胞死の発生メカニズムについて、これまでアポトーシスによる細胞死であると考えられてきた。しかし、本症発症における表皮細胞死はアポトーシス以外のメカニズムによって生じることを明らかにした。すなわち、SJS 表皮細胞は SJS-PBMC 培養上清添加にて細胞死が誘導された。しかし予想に反して健常人表皮細胞は SJS-PBMC 培養上清添加にて細胞死は誘導されなかった。さらに SJS 表皮細胞は通常薬疹 PBMC 培養上清添加では細胞死は誘導されなかった。以上の結果から重症薬疹の表皮細胞死には、PBMC から産生される液性因子と、表皮細胞の細胞死感受性がいずれも不可欠であると考えた。SJS/TEN における細胞死のメカニズムを解明できれば、発症誘導する遺伝的背景の存在が予想されることから発症予見因子を明らかにすることも期待できる。さらに細胞死の機序の一部を阻害することで新規治療法の開発が可能になると思われる。

分担研究者の黒沢は、わが国における DIHS の患者数と臨床疫学像を明らかにするために平成 23 年 1 月に全国

疫学調査を開始した。全国疫学調査は患者数を推計する一次調査と臨床疫学像を調査する二次調査からなる。全国疫学調査一次調査の対象施設は全国の病院から病床数別に無作為抽出された病院と全大学病院の皮膚科、特別階層を加えた 1,033 科である。対象は 2012 年 1 月 1 日～2012 年 12 月 31 日の 1 年間に当該疾患で受療した患者とし、2013 年 1 月に一次調査票を送付した。一次調査で患者ありと回答のあった施設を対象に二次調査も開始している。現在一次調査二次調査ともに実施中であるため、途中経過の報告であるが、2013 年 3 月 4 日現在 647 科から一次調査の回答が得られている。今後、一次調査、二次調査の結果を基に 1 年間に当該疾患で受療した推計患者数を算出し、二次調査より臨床疫学像を明らかにする予定である。

分担研究者の外園は、眼合併症を伴う SJS/TEN の眼障害の有無と重症化に関わる因子を検索し、眼障害の程度に発症年齢と被疑薬が有意に関与し、発症年齢が若く被疑薬が NSAID の場合は眼障害が重度になり、一方で被疑薬が抗てんかん薬や痛風治療薬の場合には重症化しにくいことを示した。また、眼合併症型 SJS/TEN の発症にかかわる複数の疾患関連遺伝子の解析として、Toll-like receptor 3 (TLR3) 遺伝子多型間、ならびに HLA-A0206 と TLR3 遺伝子多型間の相互作用を検討し、HLA-A*0206 と TLR3 rs3775296 T/T (rs5743312 T/T) との間で相加効果

を超える強い相互作用を確認した。すなわち複数の疾患関連遺伝子多型が組み合わさることで、疾患発症リスクが著明に上昇することを明らかにした。

D. 考察

本年度は SJS/TEN に引き続いて、重症多形滲出性紅斑の 1 つであるの DIHS の全国調査を開始した。すでに一次調査は終了し、二次調査を進めている。この結果がだされれば、本邦における DIHS の発症頻度、性差、原因薬などが判明するため、今後の治療戦略に役立ち、国民へ新たな情報提供が可能になる。今まで本研究班と糖尿病学会と共同して研究した DIHS に合併する劇症 1 型糖尿病については、発症頻度や HLA との関連を本邦から世界に報告することができた。この結果の発信は、糖尿病学会と共同してなした横断的な研究成果として位置づけられ、皮膚疾患に続発する特異な糖尿病の存在を証明し得た点で大きな意義がある。加えて、DIHS においては長期にわたり議論を重ねて分担研究者間のコンセンサスが得られ、治療指針を集約することができた。この指針は、皮膚科医のみならず、重症薬疹を診療する他科の医師にとっても有用であり、薬疹の遷延・重症化を回避する礎になると思われる。

また、薬疹の病態と関連して、従来のサイトカインに加えて HMGB-1 や TARC、ケモカインなどの様々なバイオマーカーの検索が多くの分担研究

者施設で行われ、その値が解析・評価された。これら結果から、今後は、実際にどのマーカーを用いて早期診断が可能なのか、どのマーカーが薬疹の臨床病型に密接関連するのか、あるいは薬疹病勢や皮疹を反映するのはどのマーカーかなどの検証が進むと考えられる。各バイオマーカーのこのような位置づけが確立すれば、重症多形滲出性紅斑の診療に非常に有用な検査項目となることが期待できる。

以前から、重症薬疹は急速に進展し、早急な治療を要することから皮膚や血液の患者検体が少ないことが指摘され、臨床を反映する動物モデルの作成が切望されてきていた。本年度は実際の疾患に類似した皮膚病変を発現する SJS/TEN の薬疹の動物モデル作成がなされた。さらに、これらのモデルマウスを用いて、前述した薬疹のバイオマーカーの検証も進められ、病態解明への成果が得られている。このような薬疹のモデルマウスは、今まで世界的にも作成されておらず、今後の薬疹研究に画期的な道を切り開いたといえる。これらのモデルマウスを使用した研究は、病態のさらなる解明に直結するとともに新規治療薬開発へも大いに寄与すると思われる。研究を本研究班で進展させて、得られた成果を本邦からは是非発信したいと考えている。

薬疹とウイルスの関係については、DIHS でみられる HHV-6 を内在する循環単球様細胞は、mono/myeloid precursor であると考えられているが、

この細胞は、DIHS 病変で高発現する HMGB-1 によって皮膚内に集積し、浸潤する CD4 陽性細胞に HHV-6 感染をもたらす可能性が実験的に示された。また、DIHS の皮膚浸潤 CD4 陽性細胞の発現分子の解析から、これらには制御性 T 細胞が多く含まれることが明らかにされた。この結果は DIHS における薬疹に関与する細胞とウイルスの密接な関係を細胞レベルで解明したと位置づけられる。

また、薬疹の原因薬剤の新たな同定法の検証、薬剤抗原特異的に反応する T 細胞の経時的変化の解析は、従来の DLST の結果を新たな視点から評価・解釈する研究として意義がある。

SJS/TEN の眼障害の解析の結果から、眼障害を伴う SJS/TEN 症例の約 8 割は発症前に感冒様症状を自覚し、それに対して薬剤を服薬した後に発症していたことから、何らかのウイルス等の感染が発症の契機になっている可能性が高い。本研究にて、被疑薬としての総合感冒剤、患者素因として TLR3 遺伝子多型と HLA-A0206 が強く関与していることが判明し、SJS/TEN の発症機序にも関係している可能性が示唆された。これらの結果は眼合併症予測にも貢献すると考えられる。

本研究班では成果のグローバル化をめざして、Asian Severe Cutaneous Adverse Reaction(A-SCAR) Meeting を開催してきている。本年度も研究班が主導的立場となり、2 回にわたり開催することができた。A-SCAR への参加

者も年々増えて、最尖端の多くの研究が報告されている。今後は重症薬疹予後調査の共同研究の成果も得られると考えられ、国際的な評価が得られる日も近いと思われる。

3. その他：なし

E. 結論

本研究により、重症多形滲出性紅斑の疫学実態調査・予後調査に関して得られた結果、治療指針などは皮膚科のみならず、横断的な情報発信と位置づけられ、本症診療医師及び患者へ大きな福音をもたらすと考えられる。また、動物モデルの開発は、今後、新しい治療戦略の一端を担うことが期待され、国民の健康維持と医療費の削減に大いに貢献すると思われる。さらに、海外の研究者との定期的な交流・共同研究は、重症多形滲出性紅斑の研究成果をより確実にグローバル化することに貢献すると思われる。

F.健康危険情報

なし

G.研究発表

論文発表

巻末研究成果一覧表参照

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得：なし

2. 実用新案登録：なし