

FIG E3. At 12 days after injection of PBMCs from patients with SJS/TEN, NOG mice receiving causative drug showed no significant skin manifestation, and histologic findings indicated intact skin. At 40 days after injection of PBMCs from patients with SJS/TEN, these NOG mice showed weight loss, skin erosion, hair loss, and diarrhea. Prominent epithelial cell death was observed histologically. Samples from patients 1 and 2 with SJS/TEN were analyzed, and representative data (patient 2 with SJS/TEN) are shown.

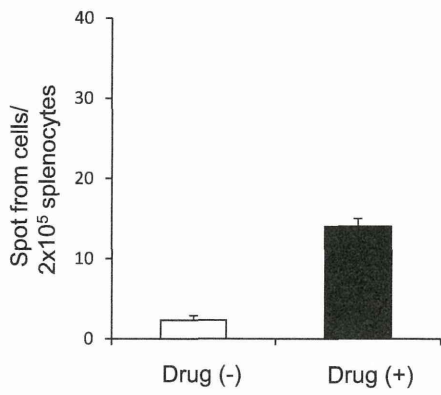


FIG E4. Increase in drug-specific T-cell numbers in the spleens of NOG mice at 12 days after transfer of PBMCs from patients with ODSRs orally given causative drug is detected by using the ELISpot assay. These results are comparable with those for patients with SJS/TEN. Samples from patient 1 with an ODSR were analyzed.

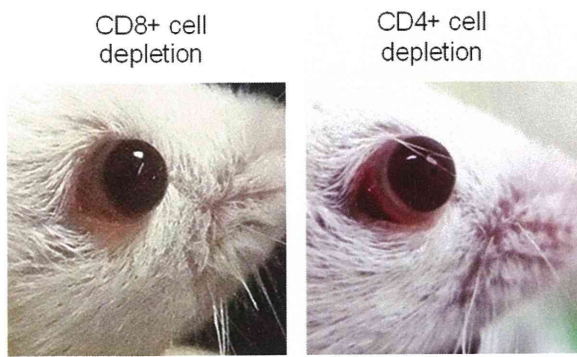


FIG E5. At 12 days after injection of CD4⁺ T lymphocyte-depleted PBMCs from patients with SJS/TEN and causative drug intake, significant conjunctival congestion and conjunctival chemosis were noticed, whereas this was not the case with CD8⁺ T lymphocyte-depleted PBMCs from patients with SJS/TEN. Samples from patient 2 with SJS/TEN were analyzed.

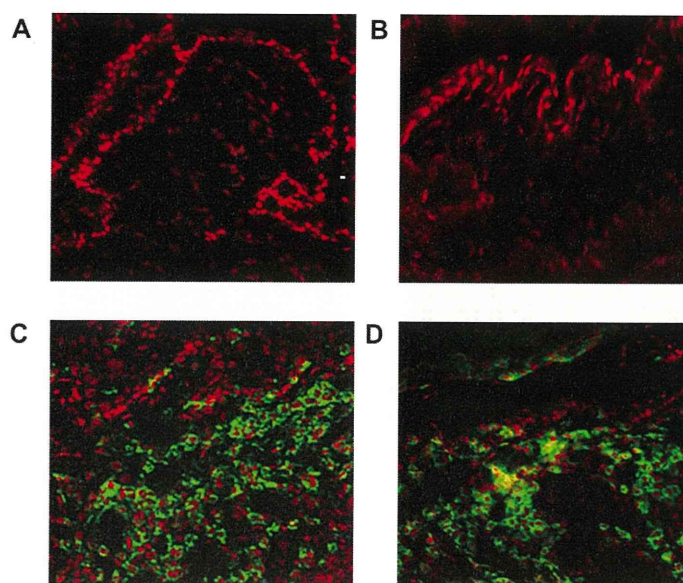


FIG E6. The conjunctiva of SJS/TEN model mice or mice with GVHRs were stained with anti-human CD45 antibodies. FITC-conjugated goat anti-mouse IgG was used as the secondary antibody. The nuclei were counterstained with propidium iodide. **A**, Day 12 for PBMCs from patients with SJS/TEN with causative drug intake. **B**, Day 12 for the GVHD model. **C**, Day 40 for PBMCs from patients with SJS/TEN with causative drug intake. **D**, Day 40 for the GVHD model. In the conjunctiva of both SJS/TEN model and GVHR model mice, there are almost no infiltrating human CD45⁺ cells at day 12 after PBMC injection, whereas numerous human cells are detected in the conjunctiva of both SJS/TEN model and GVHR model mice. Samples from patients 1 and 2 with SJS/TEN were analyzed, and representative data (patient 2 with SJS/TEN) are shown.

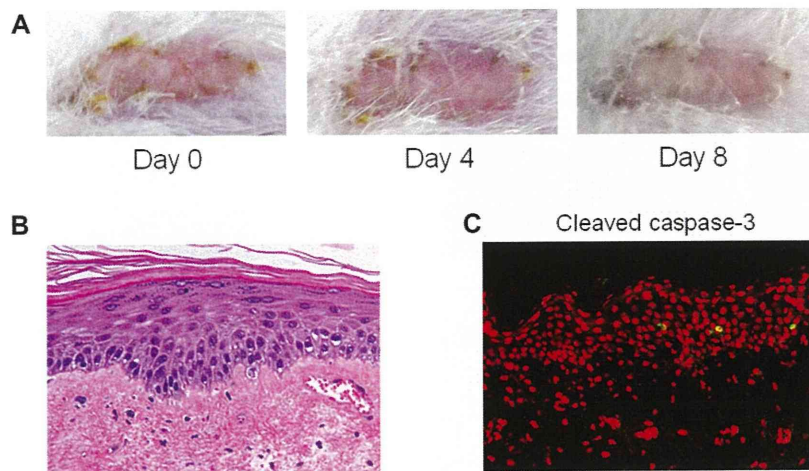


FIG E7. Skin from a patient who had recovered from SJS/TEN was grafted onto the back of NOG mice. After engraftment was confirmed, PBMCs from the same patient were administered intravenously without causative drug administration. Histopathologically, there were few apoptotic keratinocytes in the skin-grafted area. Cleaved caspase-3 staining showed almost no positive cells in the skin-grafted area. Samples from patient 6 with SJS/TEN were analyzed.

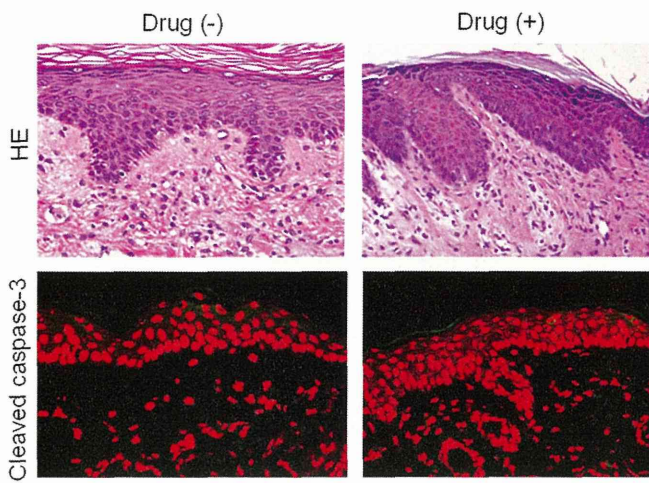


FIG E8. Skin grafts from patients with ODSRs were transplanted onto NOG mice, which were then injected with PBMCs from the same patients, followed by the causative drug or vehicle. These mice showed no changes in appearance of the skin-grafted areas. Histopathologically, there were few dead keratinocytes and few cleaved caspase-3-positive cells in the skin graft. Samples from patient 2 with ODSR were analyzed. *HE*, Hematoxylin and eosin.

TABLE E1. Patient information

| Case | Age (y)/sex | Causative drug | Type of cADR | SI |
|---------|-------------|----------------|---------------|-----|
| SJS/TEN | | | | |
| 1 | 55/M | Acetaminophen | TEN | 2.4 |
| 2 | 46/M | Acetaminophen | SJS | 2.0 |
| 3 | 49/F | Acetaminophen | SJS | 2.3 |
| 4 | 49/M | Benzbromarone | SJS | 2.9 |
| 5 | 37/F | Amoxicillin | SJS | 2.0 |
| 6 | 71/M | Phenytoin | SJS | 2.5 |
| ODSR | | | | |
| 1 | 70/M | Acetaminophen | Maculopapular | 2.0 |
| 2 | 78/M | Phenytoin | Maculopapular | 6.7 |

cADR, Cutaneous adverse drug reaction; *F*, female; *M*, male; *SI*, stimulation index.

眼合併症を伴う日本人 Stevens-Johnson 症候群の HLA class I 解析

中路進之介¹⁾, 上田真由美¹⁾²⁾, 外園 千恵¹⁾, 稲富 勉¹⁾, 木下 茂¹⁾

¹⁾京都府立医科大眼科学教室, ²⁾同志社大学生命医科学部炎症再生医療研究センター

要 約

目的: 以前, 我々は, 眼合併症を伴う日本人 Stevens-Johnson 症候群 (Stevens-Johnson syndrome : SJS) ・中毒性表皮壊死融解症 (toxic epidermal necrolysis : TEN) 患者 71 人と非発症対照 113 人を対象に, HLA class I -A, B, C の解析を行い, SJS/TEN 発症と HLA class I, 特に A*0206 との間に強い相関があることを報告した. 今回は, 日本人 SJS/TEN 患者 118 人と前回と異なる日本人対照 220 人を対象に, HLA class I -A, B, C についての再検討を行ったので報告する.

対象と方法: 京都府立医科大学附属病院眼科に通院する SJS/TEN 患者 118 例を対象とし, 新たに京都府立医科大学で血液を採取した日本人非発症者 220 人を対照として用いた. 末梢血から DNA を採取し, polymerase chain reaction-sequence specific oligonucleotide

probe (PCR-SSO) 法を用いて HLA class I -A, B, C について塩基配列レベルの解析を行い, 遺伝子頻度 (gene frequency : GF) と保持者頻度 (carrier frequency : CF) を検討した.

結果: A*0206 が有意に増加していたが, p 値は以前の報告よりさらに上昇した (p 値は GF : p=0.000000007, CF : p=0.000000002, オッズ比は GF : 4.2, CF : 5.2).

結論: 眼合併症を伴う SJS/TEN の発症には, 前回の報告よりさらに HLA class I A*0206 が強く相関することが確認された. (日眼会誌 116 : 581-587, 2012)

キーワード: HLA-A*0206, Stevens-Johnson 症候群 (SJS), 中毒性表皮壊死融解症 (TEN), 眼合併症, HLA

HLA-class I Gene Polymorphisms in Japanese Stevens-Johnson Syndrome Patients with Ocular Surface Complications

Shinnosuke Nakaji¹⁾, Mayumi Ueta¹⁾²⁾, Chie Sotozono¹⁾, Tsutomu Inatomi¹⁾ and Shigeru Kinoshita¹⁾

¹⁾Department of Ophthalmology, Kyoto Prefectural University of Medicine

²⁾Research Center for Inflammation and Regenerative Medicine, Faculty of Life and Medical Sciences, Doshisha University

Abstract

Purpose : Our previous study of polymorphisms in the HLA-class I genes of 71 Japanese SJS/TEN patients with ocular surface complications and 113 Japanese healthy controls showed that in the Japanese, HLA-A*0206 was strongly associated with SJS/TEN. In this study, we examined 118 Japanese SJS/TEN patients with ocular surface complications and a new control group consisting of 220 healthy Japanese volunteers, and investigated the association between HLA class I antigens, HLA-A, B, C, and the SJS/TEN.

Methods : For HLA genotyping we enrolled 118 Japanese patients with SJS/TEN in the chronic or sub-acute phase at Kyoto Prefectural University of Medicine ; all presented with ocular surface complications. We also enrolled 220 healthy Japanese volunteers. We performed polymerase chain reaction

amplification followed by hybridization with sequence-specific oligonucleotide probes (PCR-SSO).

Results : HLA-A*0206 was most strongly associated with Japanese SJS/TEN patients with ocular surface complications (carrier frequency : p=0.000000002, OR=5.2 ; gene frequency : p=0.000000007, OR=4.2).

Conclusion : HLA-A*0206 is strongly associated with Japanese SJS/TEN patients with ocular surface complications.

Nippon Ganka Gakkai Zasshi (J Jpn Ophthalmol Soc) 116 : 581-587, 2012.

Key words : HLA-A*0206, Stevens-Johnson syndrome (SJS), Toxic epidermal necrolysis (TEN), Ocular surface complications, HLA

別刷請求先 : 602-8566 京都市上京区河原町通広小路ル梶井町 465 京都府立医科大学眼科学教室 上田真由美

(平成 23 年 8 月 19 日受付, 平成 23 年 12 月 1 日改訂受理) E-mail : mueta@koto.kpu-m.ac.jp

Reprint requests to : Mayumi Ueta, M. D. Department of Ophthalmology, Kyoto Prefectural University of Medicine, 465 Kajii-cho, Hirokoji-agaru, Kawaramachi-dori, Kamigyo-ku, Kyoto 602-8566, Japan

(Received August 19, 2011 and accepted in revised form December 1, 2011)

I 緒 言

Stevens-Johnson 症候群 (Stevens-Johnson syndrome : SJS), ならびにその重症型とされる中毒性表皮壊死融解症 (toxic epidermal necrolysis : TEN) は, とともに突然の高熱と皮膚および粘膜の発疹, びらんで発症し, 急速に全身に拡大する疾患である¹⁾²⁾. 日本では, 皮疹の範囲が 10% 以下を SJS, それ以上の広範囲に及んだ場合は TEN と診断される³⁾⁴⁾. 両疾患は致死率が高く, 医療体制の充実した本邦にあっても SJS で数 %, TNE で約 30% が敗血症, 呼吸不全, 多臓器障害などで亡くなっている. SJS/TEN における眼障害合併率は約 60% とされ⁵⁾, 高熱や発疹の出現と同時に, あるいはその数日前より両眼性に結膜充血を生じ, 偽膜や角膜びらん, 結膜びらんと伴う⁶⁾⁷⁾ (図 a). 広範囲に眼表面のびらを生じて角膜上皮幹細胞を喪失すると, 角膜は周囲から伸展する結膜で被覆されて高度の角膜混濁, 血管侵入を伴うようになる (図 b). 救命できた場合の最大の問題は眼後遺症であり, 高度のドライアイ, 角膜混濁による視力障害が生涯に及ぶ.

SJS/TEN のほとんどは発症前に何らかの薬剤を投与されており, 両疾患は重症薬疹として分類される. 発症機序は不明であるが, 患者側の素因が関与すると考えられ, これまでに, SJS/TEN の発症には HLA 型が関与するということが報告されている⁸⁾⁹⁾. HLA 型は民族による違いが大きく, 我々は日本人の眼合併症を伴う SJS/TEN 71 例, 非発症対照 113 例を比較し, HLA-A*0206 が有意に相関していることを以前に報告した¹⁰⁾¹¹⁾. 発症に強く関与する HLA 型が明らかになれば, 発症予防や発症後の迅速な診断が可能となり, 予後改善に寄与することができる.

そこで今回, 眼合併症を伴う日本人 SJS/TEN 症例数を 100 例以上に増やし, かつ前回とは異なった日本人対照サンプルを用いて HLA class I-A, B, C の解析を行い興味ある結果を得たので報告する.

II 対象と方法

京都府立医科大学附属病院眼科に通院する SJS/TEN 患者 118 例を対象とし, 新たに京都府立医科大学で日本人非発症者 220 人より同意を得て採取した血液を対照として用いた. 対照については, 前回の解析に用いた東京都赤十字血液センターで採取したものはまったく別グループのものである. 末梢血から DNA を採取し, polymerase chain reaction-sequence specific oligonucleotide probe (PCR-SSO) 法に基づき HLA タイピング試薬 (湧永製薬) を用いて, WAKFlow system にて HLA 遺伝子のタイピングを行った¹⁰⁾¹¹⁾. HLA class I-A, B, C について塩基配列レベルの解析を行い, 遺伝子頻度 (gene frequency) と保持者頻度 (carrier frequency) を検討した.

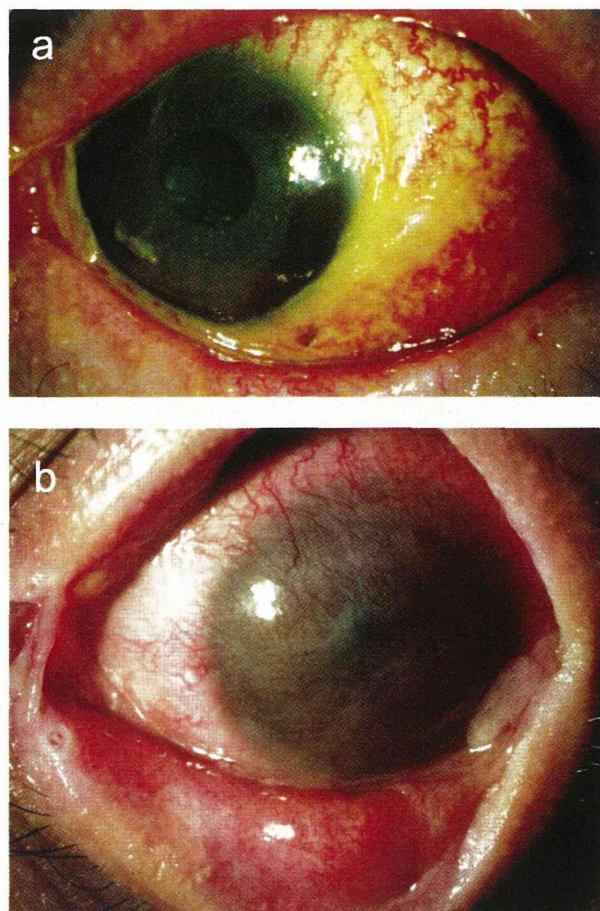


図 Stevens-Johnson 症候群 (SJS) / 中毒性表皮壊死融解症 (TEN) の眼所見.

- a : 急性期 SJS/TEN の眼所見. 結膜充血, 偽膜, 角膜びらん, 結膜びらんと認める.
b : 慢性期 SJS/TEN の眼所見. 角膜への結膜侵入, 瞼球癒着を認める. この症例ではドライアイに対して, 涙点プラグを挿入している. 眼脂を認めることも多い.

III 結 果

表 1 に HLA class I-A 型の結果を示す. 118 人の患者を対象とした今回の解析において, 前回の 71 人の患者を対象にした解析 (保持者頻度: $p=0.00004$, オッズ比 4.1. 遺伝子頻度: $p=0.0001$, オッズ比 3.2) 以上に¹⁰⁾¹¹⁾, HLA-A*0206 と強い有意な相関が確認された (保持者頻度: $p=0.000000002$, オッズ比 5.16. 遺伝子頻度: $p=0.000000007$, オッズ比 4.15).

また, HLA-A*1101 (保持者頻度: $p=0.02$, オッズ比 0.43. 遺伝子頻度: $p=0.03$, オッズ比 0.46) と HLA-A*2402 (保持者頻度: $p=0.008$, オッズ比 0.54, 遺伝子頻度: $p=0.001$, オッズ比 0.57) に相関を認めたが, HLA class I-A 型の数 18 で補正すると有意差はなくなり, 弱い相関を示唆するのみとなった. HLA-A*1101 については, 前回の解析では, 発症しにくさと相関することが推定されたが¹⁰⁾, 症例数を 71 人から 118 人に増

表 1 HLA class I-A の遺伝子頻度と保持者頻度

| HLA-A alleles | 保持者頻度 | | | | 遺伝子頻度 | | | |
|---------------|-----------------|-----------------|------------------------|------|-----------------|-----------------|-----------------------|------|
| | SJS/TEN (n=118) | 正常対照 (n=220) | p 値 (χ^2) | オッズ比 | SJS/TEN (n=236) | 正常対照 (n=440) | p 値 (χ^2) | オッズ比 |
| *0101 | 0.0% (0/118) | 1.4% (3/220) | 0.20 | — | 0.0% (0/236) | 0.7% (3/440) | 0.20 | — |
| *0201 | 26.3% (31/118) | 20.5% (45/220) | 0.22 | — | 14.4% (34/236) | 11.1% (49/440) | 0.22 | — |
| *0206 | 44.9% (53/118) | 13.6% (30/220) | 1.91×10^{-10} | 5.16 | 23.3% (55/236) | 6.8% (30/440) | 7.14×10^{-9} | 4.15 |
| *0207 | 8.5% (10/118) | 7.7% (17/220) | 0.99 | — | 4.2% (10/236) | 3.9% (17/440) | 0.81 | — |
| *0210 | 0.0% (0/118) | 0.9% (2/220) | 0.30 | — | 0.0% (0/236) | 0.5% (2/440) | 0.30 | — |
| *0301 | 2.5% (3/118) | 0.9% (2/220) | 0.24 | — | 1.3% (3/236) | 0.5% (2/440) | 0.24 | — |
| *0302 | 0.0% (0/118) | 0.5% (1/220) | 0.46 | — | 0.0% (0/236) | 0.2% (1/440) | 0.46 | — |
| *1101 | 8.5% (10/118) | 17.7% (39/220) | 0.02 | 0.43 | 4.2% (10/236) | 8.9% (39/440) | 0.03 | 0.46 |
| *2402 | 45.8% (54/118) | 60.9% (134/220) | 0.008 | 0.54 | 25.0% (59/236) | 37.0% (163/440) | 0.001 | 0.57 |
| *2601 | 11.0% (13/118) | 12.3% (27/220) | 0.73 | — | 5.5% (13/236) | 6.4% (28/440) | 0.66 | — |
| *2602 | 5.1% (6/118) | 2.7% (6/220) | 0.26 | — | 2.5% (6/236) | 1.6% (7/440) | 0.39 | — |
| *2603 | 1.7% (2/118) | 7.3% (16/220) | 0.03 | 0.22 | 0.8% (2/236) | 3.6% (16/440) | 0.03 | 0.23 |
| *2605 | 0.0% (0/118) | 0.5% (1/220) | 0.46 | — | 0.0% (0/236) | 0.2% (1/440) | 0.46 | — |
| *2901 | 0.0% (0/118) | 1.8% (4/220) | 0.14 | — | 0.0% (0/236) | 0.9% (4/440) | 0.14 | — |
| *3001 | 0.8% (1/118) | 0.5% (1/220) | 0.65 | — | 0.4% (1/236) | 0.2% (1/440) | 0.65 | — |
| *3101 | 14.4% (17/118) | 18.1% (40/220) | 0.38 | — | 7.2% (17/236) | 9.5% (42/440) | 0.30 | — |
| *3201 | 0.0% (0/118) | 0.5% (1/220) | 0.46 | — | 0.0% (0/236) | 0.2% (1/440) | 0.46 | — |
| *3303 | 22.0% (26/118) | 14.1% (31/220) | 0.06 | — | 11.0% (26/236) | 7.0% (31/440) | 0.06 | — |

やすことにより、その相関は消失した。

表 2 に HLA class I-B 型の結果を示す。HLA-B*1501 (保持者頻度：p=0.02, オッズ比 0.43. 遺伝子頻度：p=0.05, オッズ比 0.50), HLA-B*4403 (保持者頻度：p=0.004, オッズ比 2.26. 遺伝子頻度：p=0.004, オッズ比 2.14), HLA-B*5201 (保持者頻度：p=0.01, オッズ比 0.44. 遺伝子頻度：p=0.03, オッズ比 0.51) と HLA-B*5401 (保持者頻度：p=0.01, オッズ比 0.36. 遺伝子頻度：p=0.01, オッズ比 0.37) に弱い相関を認めたが、HLA class I-B 型の数 37 で補正すると有意差は消失した。結果として、HLA class I-B 型には、重篤な眼合併症を伴う SJS/TEN と有意な相関を認めるものはなかった。

表 3 に HLA class I-C 遺伝子の結果を示す。HLA-C*

0304 (保持者頻度：p=0.01, オッズ比 1.96. 遺伝子頻度：p=0.01, オッズ比 1.81), HLA-C*1403 (保持者頻度：p=0.005, オッズ比 2.25. 遺伝子頻度：p=0.007, オッズ比 2.06) に弱い相関を認めたが、HLA class I-C 型の数 18 で補正すると有意差は消失した。結果として、HLA class I-C 型には、重篤な眼合併症を伴う SJS/TEN と有意な相関を認めるものはなかった。

IV 考 按

日本人の眼合併症を伴う SJS/TEN 患者 118 人ならびに対照 220 人の解析により、眼合併症を伴う SJS/TEN の発症には、HLA class I A*0206 が強く相関することが確認された。前回の患者 71 人、対照 113 人の解析 (保持者頻度：p=0.00004, オッズ比 4.1. 遺伝子頻度：p

表 2 HLA class I-B の遺伝子頻度と保持者頻度

| HLA-B alleles | 保持者頻度 | | | | 遺伝子頻度 | | | |
|---------------|-----------------|----------------|------------------|------|-----------------|----------------|------------------|------|
| | SJS/TEN (n=118) | 正常対照 (n=220) | p 値 (χ^2) | オッズ比 | SJS/TEN (n=118) | 正常対照 (n=220) | p 値 (χ^2) | オッズ比 |
| *0702 | 8.5% (10/118) | 11.0% (24/220) | 0.48 | — | 4.2% (10/236) | 6.6% (29/440) | 0.21 | — |
| *0705 | 0.0% (0/118) | 1.8% (4/220) | 0.14 | — | 0.0% (0/236) | 0.9% (4/440) | 0.14 | — |
| *1301 | 6.8% (8/118) | 2.7% (6/220) | 0.07 | — | 3.4% (8/236) | 1.4% (6/440) | 0.08 | — |
| *1302 | 0.0% (0/118) | 1.4% (3/220) | 0.20 | — | 0.0% (0/236) | 0.7% (3/440) | 0.20 | — |
| *1501 | 8.5% (10/118) | 17.7% (39/220) | 0.02 | 0.43 | 4.7% (11/236) | 8.9% (39/440) | 0.05 | 0.50 |
| *1502 | 0.0% (0/118) | 0.5% (1/220) | 0.46 | — | 0.0% (0/236) | 0.2% (1/440) | 0.46 | — |
| *1507 | 0.8% (1/118) | 1.4% (3/220) | 0.68 | — | 0.4% (1/236) | 0.7% (3/440) | 0.68 | — |
| *1511 | 0.0% (0/118) | 0.5% (1/220) | 0.46 | — | 0.0% (0/236) | 0.2% (1/440) | 0.46 | — |
| *1518 | 3.4% (4/118) | 1.0% (2/220) | 0.10 | — | 1.7% (4/236) | 0.5% (2/440) | 0.10 | — |
| *1527 | 0.8% (1/118) | 0.0% (0/220) | 0.17 | — | 0.4% (1/236) | 0.0% (0/440) | 0.17 | — |
| *2704 | 0.8% (1/118) | 0.5% (1/220) | 0.65 | — | 0.4% (1/236) | 0.2% (1/440) | 0.65 | — |
| *2705 | 0.0% (0/118) | 0.5% (1/220) | 0.46 | — | 0.0% (0/236) | 0.2% (1/440) | 0.46 | — |
| *3501 | 18.6% (22/118) | 14.5% (32/220) | 0.33 | — | 9.3% (22/236) | 7.3% (32/440) | 0.35 | — |
| *3701 | 0.8% (1/118) | 1.8% (4/220) | 0.48 | — | 0.4% (1/236) | 0.9% (4/440) | 0.48 | — |
| *3802 | 0.0% (0/118) | 0.5% (1/220) | 0.46 | — | 0.0% (0/236) | 0.2% (1/440) | 0.46 | — |
| *3901 | 7.6% (9/118) | 5.9% (13/220) | 0.54 | — | 3.8% (9/236) | 3.0% (13/440) | 0.55 | — |
| *3902 | 0.8% (1/118) | 1.0% (2/220) | 0.95 | — | 0.4% (1/236) | 0.5% (2/440) | 0.95 | — |
| *3904 | 0.0% (0/118) | 1.0% (1/220) | 0.46 | — | 0.0% (0/236) | 0.2% (1/440) | 0.46 | — |
| *4001 | 14.4% (17/118) | 10.9% (24/220) | 0.35 | — | 7.6% (18/236) | 5.5% (24/440) | 0.26 | — |
| *4002 | 12.7% (15/118) | 9.5% (21/220) | 0.37 | — | 6.8% (16/236) | 5.2% (23/440) | 0.41 | — |
| *4003 | 1.7% (2/118) | 1.0% (2/220) | 0.52 | — | 0.8% (2/236) | 0.5% (2/440) | 0.53 | — |
| *4006 | 7.6% (9/118) | 5.9% (13/220) | 0.54 | — | 3.8% (9/236) | 3.0% (13/440) | 0.55 | — |
| *4402 | 0.8% (1/118) | 1.8% (4/220) | 0.48 | — | 0.4% (1/236) | 0.9% (4/440) | 0.48 | — |
| *4403 | 26.3% (31/118) | 13.6% (30/220) | 0.004 | 2.26 | 13.6% (32/236) | 6.8% (30/440) | 0.004 | 2.14 |
| *4601 | 12.7% (15/118) | 8.2% (18/220) | 0.18 | — | 6.4% (15/236) | 4.3% (19/440) | 0.25 | — |
| *4801 | 4.2% (5/118) | 8.2% (18/220) | 0.17 | — | 2.1% (5/236) | 4.1% (18/440) | 0.18 | — |
| *5101 | 19.5% (23/118) | 19.5% (43/220) | 0.99 | — | 10.6% (25/236) | 10.2% (45/440) | 0.88 | — |
| *5102 | 1.7% (2/118) | 0.0% (0/220) | 0.05 | — | 0.8% (2/236) | 0.0% (0/440) | 0.053 | — |
| *5201 | 11.0% (13/118) | 21.8% (48/220) | 0.01 | 0.44 | 5.9% (14/236) | 10.9% (48/440) | 0.03 | 0.51 |
| *5401 | 5.9% (7/118) | 15.0% (33/220) | 0.01 | 0.36 | 3.0% (7/236) | 7.7% (34/440) | 0.01 | 0.37 |
| *5502 | 2.5% (3/118) | 4.5% (10/220) | 0.36 | — | 1.3% (3/236) | 2.3% (10/440) | 0.37 | — |
| *5601 | 2.5% (3/118) | 1.8% (4/220) | 0.65 | — | 1.3% (3/236) | 0.9% (4/440) | 0.66 | — |
| *5603 | 0.0% (0/118) | 0.5% (1/220) | 0.46 | — | 0.0% (0/236) | 0.2% (1/440) | 0.46 | — |
| *5801 | 2.5% (3/118) | 1.8% (4/220) | 0.66 | — | 1.3% (3/236) | 0.9% (4/440) | 0.66 | — |
| *5901 | 7.6% (9/118) | 4.5% (10/220) | 0.24 | — | 3.8% (9/236) | 2.3% (10/440) | 0.25 | — |
| *5904 | 0.8% (1/118) | 0.0% (0/220) | 0.17 | — | 0.4% (1/236) | 0.0% (0/440) | 0.17 | — |
| *6701 | 1.7% (2/118) | 3.6% (8/220) | 0.31 | — | 0.8% (2/236) | 1.8% (8/440) | 0.32 | — |

=0.0001, オッズ比 3.2) からサンプルを増やすことにより, 保持者頻度での p 値が 0.0000000002, オッズ比 5.16, 遺伝子頻度での p 値が 0.000000007, オッズ比 4.15 と, さらに強い相関を確認できたことは大変に意義深い。

SJS/TEN の HLA 解析について以前の報告を振り返ってみると, 1982 年にアメリカ人の眼科医 Mondino らが⁸⁾, また, 1986 年にフランス人の皮膚科医 Roujeau らが⁹⁾, 白人の SJS 患者では HLA-B12 血清型を有意に多く保有すると報告した。HLA-B12 血清型は, 現在の遺伝子型

表 3 HLA class I-C の遺伝子頻度と保持者頻度

| HLA-C alleles | 保持者頻度 | | | | 遺伝子頻度 | | | |
|---------------|-----------------|----------------|------------------|------|-----------------|----------------|------------------|------|
| | SJS/TEN (n=118) | 正常対照 (n=220) | p 値 (χ^2) | オッズ比 | SJS/TEN (n=236) | 正常対照 (n=440) | p 値 (χ^2) | オッズ比 |
| *0102 | 30.5% (36/118) | 34.5% (76/220) | 0.45 | — | 15.7% (37/236) | 18.6% (82/440) | 0.34 | — |
| *0103 | 0.0% (0/118) | 0.5% (1/220) | 0.46 | — | 0.0% (0/236) | 0.2% (1/440) | 0.46 | — |
| *0302 | 2.5% (3/118) | 1.8% (4/220) | 0.66 | — | 1.3% (3/236) | 0.9% (4/440) | 0.66 | — |
| *0303 | 2.3% (27/118) | 21.3% (47/220) | 0.75 | — | 11.4% (27/236) | 10.9% (48/440) | 0.83 | — |
| *0304 | 32.3% (38/118) | 19.5% (43/220) | 0.01 | 1.96 | 17.8% (42/236) | 10.7% (47/440) | 0.01 | 1.81 |
| *0401 | 8.5% (10/118) | 9.5% (21/220) | 0.75 | — | 4.2% (10/236) | 4.8% (21/440) | 0.75 | — |
| *0501 | 2.5% (3/118) | 1.8% (4/220) | 0.66 | — | 1.3% (3/236) | 0.9% (4/440) | 0.66 | — |
| *0602 | 0.8% (1/118) | 3.2% (7/220) | 0.18 | — | 0.4% (1/236) | 1.6% (7/440) | 0.18 | — |
| *0701 | 0.8% (1/118) | 0.0% (0/220) | 0.17 | — | 0.4% (1/236) | 0.0% (0/440) | 0.17 | — |
| *0702 | 18.6% (22/118) | 25.0% (55/220) | 0.18 | — | 10.6% (25/236) | 14.1% (62/440) | 0.20 | — |
| *0704 | 2.5% (3/118) | 0.0% (0/220) | 0.02 | 0 | 1.3% (3/236) | 0.0% (0/440) | 0.02 | 0 |
| *0801 | 8.5% (10/118) | 13.6% (30/220) | 0.16 | — | 4.2% (10/236) | 6.8% (30/440) | 0.18 | — |
| *0803 | 2.5% (3/118) | 3.6% (8/220) | 0.59 | — | 1.3% (3/236) | 1.8% (8/440) | 0.59 | — |
| *1202 | 11.9% (14/118) | 21.4% (47/220) | 0.03 | 0.50 | 6.4% (15/236) | 10.7% (47/440) | 0.06 | — |
| *1402 | 12.7% (15/118) | 14.1% (31/220) | 0.72 | — | 6.8% (16/236) | 7.5% (33/440) | 0.73 | — |
| *1403 | 25.4% (30/118) | 13.2% (29/220) | 0.005 | 2.25 | 12.7% (30/236) | 6.6% (29/440) | 0.007 | 2.06 |
| *1502 | 8.5% (10/118) | 5.9% (13/220) | 0.37 | — | 4.2% (10/236) | 3.0% (13/440) | 0.38 | — |
| *1505 | 0.0% (0/118) | 1.8% (4/220) | 0.14 | — | 0.0% (0/236) | 0.9% (4/440) | 0.14 | — |

では HLA-B*4402 と HLA-B*4403 に当てはまる。しかしながら我々の解析では HLA-B*4402 は対照で 1.8%、患者で 0.8% と保持者頻度が少なく、また相関も認めなかった。HLA-B*4403 については、対照で 13.6%、患者で 26.3% の頻度で認めたが、SJS/TEN 発症との相関は確認されなかった。また、2004 年に Chung らが、抗てんかん薬カルバマゼピンにより発症した台湾の SJS/TEN 患者では、100% が HLA-B*1502 を保有していることを報告した¹²⁾。しかし、Lonjou らは、白人では HLA-B*1502 保有率が低く、カルバマゼピン発症 SJS/TEN 患者と HLA-B*1502 には相関を認めなかったと報告している¹³⁾。日本人でも HLA-B*1502 を保有していることはごくまれであり、SJS/TEN の発症と相関を示さないことが報告されている¹⁴⁾。我々の解析でも、

HLA-B*1502 は、対照でわずか 1 例認めただけであった。また、重篤な眼合併症を伴う SJS/TEN においては、抗てんかん薬による発症は大変少ない¹⁵⁾。2005 年に Hung らは、高尿酸血症薬であるアロプリノールにより発症した SJS/TEN 患者と HLA-B*5801 との間に有意な相関があると報告した¹⁶⁾。このアロプリノールと HLA-B*5801 との相関は、白人でも¹⁷⁾、日本人でも¹⁸⁾報告されている。しかし、今回解析している SJS/TEN 患者 118 例のなかでアロプリノールによる発症はわずか 3 例であり、どの症例も眼後遺症は軽度であった。これらのことから、我々は、アロプリノールによる発症では、重篤な眼合併症は生じにくい可能性を考えている。

皮膚科医は、SJS/TEN 症例の多くは、抗てんかん薬またはアロプリノールによる発症であると報告してい

る¹⁹⁾²⁰⁾。しかし上述したように、眼障害を合併し後遺症を生じた患者では抗てんかん薬、アロプリノールによる発症は少なく、多くが総合感冒薬あるいは非ステロイド性抗炎症薬 (non-steroidal anti-inflammatory drugs : NSAIDs) を契機に発症している²¹⁾。重篤な TEN で眼障害のない症例もあれば、全身的に軽症で眼障害の高度な SJS 症例もある。眼合併症を伴う SJS/TEN は、SJS/TEN 全体からみた単なる一部の症例群ではなく、独立した疾患カテゴリーになるのではないかと我々は考えている。

我々の調査では、重篤な眼合併症を伴う SJS/TEN 患者では、急性結膜炎が皮疹に先行することが多く、口唇・口腔内の出血性びらん、爪囲炎が必発である⁶⁾⁷⁾。これらの患者の約 8 割は感冒様症状を最初に自覚し、その後に薬剤投与がなされて高熱、発疹を生じている⁶⁾⁷⁾²¹⁾。SJS/TEN の発症機序は不明であるが、このような共通する病歴と初期症状から、最初に何らかのウイルス感染を生じ、その後に薬剤が契機となって眼表面、口唇・口腔内、爪囲を主座とする病変を生じていると考えられる。

HLA クラス II は、抗原提示細胞に発現しており、T 細胞を介した免疫応答に大きく関与している。一方、HLA クラス I は、上皮細胞を含むほぼすべての細胞に発現しており、ウイルス抗原を提示することにより、ウイルス感染に対する生体反応に大きく関与する。SJS/TEN の発症素因に、HLA クラス II ではなく、HLA クラス I である HLA-A*0206 が大きく関与していることは、その発症にウイルス感染が何らかの形でかかわっている可能性があるという我々の考え^{23)~24)}を支持する結果であると考えられる。

HLA 解析について松下正毅氏、前川尻真司氏の指導を受けた。

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)の援助を受けた。

利益相反：利益相反公表基準に該当なし

文 献

- 1) Stevens AM, Johnson FC : A new eruptive fever associated with stomatitis and ophthalmia : Report of two cases in children. *Am J Dis Child* 24 : 526-533, 1922.
- 2) 外園千恵 : SJS と TEN の眼合併症. 玉置邦彦(編) : 最新皮膚科学体系 2008-2009. 中山書店, 東京, 182-188, 2008.
- 3) Yamane Y, Aihara M, Ikezawa Z : Analysis of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in Japan from 2000 to 2006. *Allergol Int*

- 56 : 419-425, 2007.
- 4) 山根裕美子, 相沢道子, 池澤善郎 : 本邦における最近 6 年間の Stevens-Johnson syndrome と toxic epidermal necrolysis の治療の現状と死亡例の検討. *日皮会誌* 117 : 1315-1325, 2007.
- 5) Yetiv JZ, Bianchine JR, Owen JA Jr : Etiologic factors of the Stevens-Johnson syndrome. *South Med J* 73 : 599-602, 1980.
- 6) Sotozono C, Ueta M, Koizumi N, Inatomi T, Shirakata Y, Ikezawa Z, et al : Diagnosis and treatment of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis with ocular complications. *Ophthalmology* 116 : 685-690, 2009.
- 7) 上田真由美, 外園千恵 : 重症薬疹では眼病変に注意. 宮地良樹(編) : WHAT'S NEW IN 皮膚科学 2010-2011. メディカルレビュー社, 大阪, 86-87, 2010.
- 8) Mondino BJ, Brown SI, Biglan AW : HLA antigens in Stevens-Johnson syndrome with ocular involvement. *Arch Ophthalmol* 100 : 1453-1454, 1982.
- 9) Roujeau JC, Bracq C, Huyn NT, Chausselet E, Duedari N : HLA phenotypes and bullous cutaneous reactions to drugs. *Tissue Antigens* 28 : 251-254, 1986.
- 10) Ueta M, Sotozono C, Tokunaga K, Yabe T, Kinoshita S : Strong association between HLA-A*0206 and Stevens-Johnson syndrome in the Japanese. *Am J Ophthalmol* 143 : 367-368, 2007.
- 11) Ueta M, Tokunaga K, Sotozono C, Inatomi T, Yabe T, Matsushita M, et al : HLA class I and II gene polymorphisms in Stevens-Johnson syndrome with ocular complications in Japanese. *Mol Vis* 14 : 550-555, 2008.
- 12) Chung WH, Hung SI, Hong HS, Hsieh MS, Yang LC, Ho HC, et al : Medical genetics : a marker for Stevens-Johnson syndrome. *Nature* 428 : 486, 2004.
- 13) Lonjou C, Thomas L, Borot N, Ledger N, de Toma C, LeLouet H, et al : A marker for Stevens-Johnson syndrome. Ethnicity matters. *Pharmacogenomics J* 6 : 265-268, 2006.
- 14) Kaniwa N, Saito Y, Aihara M, Matsunaga K, Tohkin M, Kurose K, et al : JSAR research group. HLA-B locus in Japanese patients with anti-epileptics and allopurinol-related Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. *Pharmacogenomics* 9 : 1617-1622, 2008.
- 15) Ueta M : Stevens-Johnson Syndrome with Ocular Complication. In : Mossillo P, et al (Eds) : *Biopharmaceutics and Drug Hypersensitivity*. Nova Science Publishers, Inc. New York, 129-150, 2010.
- 16) Hung SI, Chung WH, Liou LB, Chu CC, Lin M, Huang HP, et al : HLA-B*5801 allele as a genetic marker for severe cutaneous adverse reactions caused by allopurinol. *Proc Natl Acad Sci USA* 102 : 4134-4139, 2005.
- 17) Lonjou C, Borot N, Sekula P, Ledger N, Thomas,

- Halevy S**, et al : A European study of HLA-B in Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis related to five high-risk drugs. *Pharmacogenet Genomics* 18 : 99-107, 2008.
- 18) **Dainichi T, Uchi H, Moroi Y, Furue M** : 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* 215 : 86-88, 2007.
- 19) **Halevy S, Ghislain PD, Mockenhaupt M, Fagot JP, Bouwes Bavinck JN, Sidoroff A**, et al : Allopurinol is the most common cause of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in Europe and Israel. *J Am Acad Dermatol* 58 : 25-32, 2008.
- 20) **Mockenhaupt M, Viboud C, Dunant A, Naldi L, Halevy S, Bouwes Bavinck JN**, et al : Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis : assessment of medication risks with emphasis on recently marketed drugs. The EuroSCAR-study. *J Invest Dermatol* 128 : 35-44, 2008.
- 21) **Ueta M, Sotozono C, Nakano M, Taniguchi T, Yagi T, Tokuda Y**, et al : Association between prostaglandin E receptor 3 polymorphisms and Stevens-Johnson syndrome identified by genome-wide association study. *J Allergy Clin Immunol* 126 : 1218-1225, 2010.
- 22) **Ueta M** : Innate immunity of the ocular surface and ocular surface inflammatory disorders. *Cornea* 27 : S31-40, 2008.
- 23) **Ueta M, Kinoshita S** : Innate immunity of the ocular surface. *Brain Res Bul* 81 : 219-228, 2010.
- 24) **Ueta M, Kinoshita S** : Ocular surface inflammation mediated by innate immunity. *Eye Contact Lens* 36 : 269-281, 2010.

羊膜移植の適応と効果

日野 智之¹⁾, 外園 千恵¹⁾, 稲富 勉¹⁾, 福岡 秀記¹⁾, 中村 隆宏¹⁾
永田 真帆¹⁾, 小泉 範子¹⁾²⁾, 森 和彦¹⁾, 横井 則彦¹⁾, 木下 茂¹⁾

¹⁾京都府立医科大学眼科学教室, ²⁾同志社大学生命医科学部医工学科

要 約

目 的：羊膜移植の適応と効果を明らかにする。
対象および方法：1998年4月から2008年3月までの10年間に京都府立医科大学眼科で羊膜移植を施行した304眼の疾患，術式と術後経過をレトロスペクティブに検討した。
結 果：疾患は翼状片145眼，癬痕性角結膜上皮症93眼，腫瘍性疾患22眼，遷延性上皮欠損15眼，結膜弛緩症12眼，緑内障11眼，その他が6眼であった。術後1年以上の経過観察を行った翼状片99眼の再発率は6.1%であった。癬痕性角結膜上皮症の内訳は眼類天疱瘡30

眼，化学外傷・熱傷29眼，Stevens-Johnson症候群23眼，その他11眼であり，93眼中88眼(94.6%)で癒着解除と結膜囊再建を得た。腫瘍性病変は良性腫瘍12眼，悪性腫瘍10眼であり，腫瘍切除後の再建に羊膜を用いた。全例において羊膜に起因する合併症を認めなかった。
結 論：羊膜移植は翼状片の再発抑制や眼表面再建に有用である。(日眼会誌116：374-378, 2012)

キーワード：羊膜移植，翼状片，癬痕性角結膜上皮症，眼表面再建

Indications and Surgical Outcomes of Amniotic Membrane Transplantation

Tomoyuki Hino¹⁾, Chie Sotozono¹⁾, Tsutomu Inatomi¹⁾, Hideki Fukuoka¹⁾, Takahiro Nakamura¹⁾
Maho Nagata¹⁾, Noriko Koizumi¹⁾²⁾, Kazuhiko Mori¹⁾, Norihiko Yokoi¹⁾ and Shigeru Kinoshita¹⁾

¹⁾Department of Ophthalmology, Kyoto Prefectural University of Medicine

²⁾Department of Biomedical Engineering, Faculty of Life and Medical Sciences, Doshisha University

Abstract

Purpose : To evaluate the indications and surgical outcomes of amniotic membrane transplantation (AMT) for ocular-surface disease.

Subjects and Methods : This study involved 304 AMTs performed at Kyoto Prefectural University of Medicine between April 1998 and March 2008. Preoperative diagnoses, clinical features, surgical procedures and postoperative outcomes were analyzed retrospectively.

Results : Of 304 cases, 145 cases had a pterygium (48 primary, 82 recurrent, and 15 pseudo-ptyerygium). The recurrence rate at one year was 6.1% among the 99 cases of pterygium followed for at least one year postoperatively. Ninety-three cases had severe ocular surface diseases including ocular pemphigoid (30), chemical or thermal burn (29), Stevens-Johnson syndrome (23), and others (11) : AMT and epithelial transplantation was combined in 64 cases, and successful ocular-surface reconstruc-

tion was obtained in 88 cases (94.6%). Neoplasia was observed in 22 cases (12 benign, 10 malignant). The ocular-surface was successfully reconstructed in all cases by AMT combined with complete tumor resection. Other preoperative diagnoses included persistent epithelial defects (PED) (15), conjunctival chalasis (12) and uncontrollable glaucoma (11). No cases experienced any AMT-related complication.

Conclusions : AMT proved effective for preventing the recurrence of pterygium and for ocular-surface reconstruction in patients with severe ocular-surface disease or ocular-surface neoplasia.
Nippon Ganka Gakkai Zasshi (J Jpn Ophthalmol Soc) 116 : 374-378, 2012.

Key words : Amniotic membrane transplantation, Pterygium, Severe ocular surface disease, Ocular-surface reconstruction

別刷請求先：602-0841 京都市上京区河原町通広小路上ル梶井町 465 京都府立医科大学眼科学教室 外園 千恵
(平成 23 年 5 月 10 日受付, 平成 23 年 9 月 27 日改訂受理) E-mail : csotozon@koto.kpu-m.ac.jp

Reprint requests to : Chie Sotozono, M. D. Department of Ophthalmology, Kyoto Prefectural University of Medicine, 465 Kajicho, Hirokouji-agaru, Kawaramachi-dori, Kamigyo-ku, Kyoto 602-0841, Japan

(Received May 10, 2011 and accepted in revised form September 27, 2011)

I 緒 言

羊膜は子宮と胎盤の最内層を覆う半透明の薄い膜で、羊膜上皮組織とその下の基底膜、緻密層、海綿層の4層構造をとる。免疫組織化学的にはIV型コラーゲンが羊膜の基底膜のみならず、緻密層、海綿層にも分布し、これが上皮伸展のための良好な基質になりうると考えられている¹⁾。また、羊膜には血管成分がないため拒絶反応が起こりにくいとされている。羊膜の基底膜は、生体内組織でも最も厚い基底膜とされ、皮膚熱傷後の被覆や膈ヘルニアの修復、人工腔、腹部手術の際の癒着防止などに利用されてきた^{2,3)}。

眼科領域では、1940年にハンガリーのde Rötthが人工腔形成術にヒントを得て、主に化学外傷に由来した眼瞼癒着に対し羊膜移植を行った報告がある⁴⁾。その後、1995年にKimとTsengが、家兎眼を用いて眼表面再建における羊膜移植の有用性を報告した⁵⁾。日本では、1996年に、Tsubotaらにより、眼類天疱瘡、Stevens-Johnson症候群に対する眼表面再建に羊膜が初めて用いられ、その有用性が示された⁶⁾。現在では羊膜移植は、再発翼状片などの難治性眼表面疾患に広く用いられるようになった。また、羊膜移植に起因していると思われる合併症として、羊膜移植術後のmethicillin-resistant *Staphylococcus aureus* 感染がHoriらにより報告されている⁷⁾。今回、京都府立医科大学眼科で1998年以後の10年間に羊膜移植を実施した全症例の原疾患および臨床経過を解析し、その適応と効果、合併症について検討した。

II 対象および方法

対象は1998年4月から2008年3月までの10年間に京都府立医科大学眼科にて羊膜移植を施行した304眼であり、原疾患と手術目的、また10年間の羊膜移植眼数の年次推移を調査した。京都府立医科大学眼科では大学倫理委員会(倫理委)の承認を受けて、1998年4月から羊膜移植を開始した。全身合併症のない帝王切開予定の妊婦で、3か月以内の血清検査でB型肝炎、C型肝炎、梅毒、ヒト免疫不全ウイルスが陰性である者を羊膜ドナーとした。羊膜の採取ならびに臨床使用について、帝王切開前に文書による同意を得たうえで、帝王切開時に胎盤につながる羊膜を採取した。クリーンベンチで羊膜を洗浄し、3×3cmに細切し、滅菌チューブ内に入れて-80℃で保存した。倫理委からの指示により、採取から3か月以内に限定して羊膜の臨床使用を行った。その後、採取後1年以内の期間内に凍結保存羊膜に汚染がないことを確認できたため倫理委への追加申請を行い、2007年10月からは採取後1年以内の使用としている⁸⁾。

疾患別に術前所見、術式と術後経過についてレトロスペクティブに検討し、術後1年以上経過観察した翼状片99眼については、術前の翼状片範囲、瞼球癒着、複視、

表 1 羊膜移植症例の疾患別内訳

| 疾患名 | 手術件数 | % |
|-----------|------|-----|
| 翼状片 | 145 | 48 |
| 瘢痕性角結膜上皮症 | 93 | 30 |
| 腫瘍性疾患 | 22 | 7 |
| 遷延性上皮欠損 | 15 | 5 |
| 結膜弛緩症 | 12 | 4 |
| 緑内障 | 11 | 4 |
| その他 | 6 | 2 |
| 計 | 304 | 100 |

再発について解析した。翼状片の術後に、羊膜移植を行った強膜上に再び病的結膜の侵入を認めたものを「再発」と定義した。また瞼球癒着については、術前に存在した癒着が解除できて安定した所見を得たものを「結膜囊再建」と定義した。瘢痕性角結膜上皮症については、疾患別症例数、および上皮移植の併用についても検討した。また、羊膜に起因する合併症の有無を検討した。

III 結 果

1998年4月から2008年3月までの10年間に羊膜移植を304眼に実施した。原疾患は、翼状片145眼、瘢痕性角結膜上皮症93眼、腫瘍性疾患22眼、遷延性上皮欠損15眼、結膜弛緩症12眼、緑内障11眼、その他が6眼であった(表1)。眼数はのべ手術件数であり、12眼(翼状片4眼、瘢痕性角結膜上皮症5眼、腫瘍性疾患3眼)において各1回、1眼(遷延性上皮欠損)で10回実施した再手術を含む。術式は、羊膜を基質として用いた症例が多数であったが、Stevens-Johnson症候群の涙液減少症例に対して涙点閉塞のための代用実質(stuff)として使用し、遷延性上皮欠損症例に対しては被覆を目的として使用した。1998年から2008年3月までの年次推移は表2、図1のとおりであり、全体として増加傾向にあった。特に翼状片、瘢痕性角結膜上皮症、腫瘍性疾患は、術後の安定した成績もあり、症例数が増加していった。

羊膜移植症例の約半数を占めた翼状片145眼の内訳は初発翼状片48眼、再発翼状片82眼、偽翼状片15眼であり、再発翼状片の術前再発回数は1~9回(平均2.3回)であった。手術時の併用療法として、高齢で結膜下結合組織が疎であるなどの症例を除き、ほぼ全例でマイトマイシンCを用いた。

術後1年以上経過を追えた翼状片99眼中、術前に翼状片の範囲が瞳孔縁を超える症例は15眼(15%)、術前に瞼球癒着を認めた症例は29眼(29%)、複視を認めた症例は22眼(22%)であった。99眼のうち、1年以内に6眼に再発を認め、93眼(93.9%)で再発を生じなかった(図2)。再発した6眼はすべて角膜への侵入を認めない軽度の再発であり、再手術を要したのは1眼のみであった。

表 2 年度別疾患別羊膜移植実施件数

| 年度 | 1998 | '99 | 2000 | '01 | '02 | '03 | '04 | '05 | '06 | '07 | 計 |
|-----------|------|-----|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 翼状片 | 5 | 0 | 0 | 5 | 17 | 13 | 25 | 33 | 27 | 20 | 145 |
| 瘢痕性角結膜上皮症 | 12 | 7 | 3 | 3 | 2 | 3 | 11 | 10 | 22 | 20 | 93 |
| 腫瘍性疾患 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 2 | 3 | 1 | 8 | 6 | 22 |
| 遷延性上皮欠損 | 1 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 6 | 3 | 15 |
| 結膜弛緩症 | 0 | 2 | 0 | 6 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 12 |
| 緑内障 | 0 | 0 | 3 | 1 | 5 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 11 |
| その他 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 6 |
| 計 | 18 | 12 | 10 | 16 | 26 | 21 | 42 | 45 | 63 | 51 | 304 |

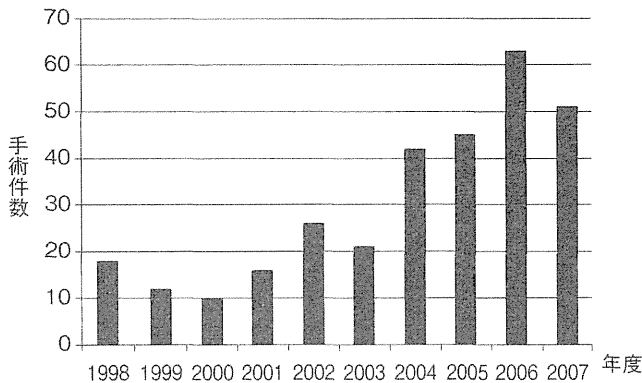


図 1 羊膜移植手術件数の年次推移。

瘢痕性角結膜上皮症 93 眼の内訳は、眼類天疱瘡 30 眼、化学外傷・熱傷 29 眼、Stevens-Johnson 症候群 23 眼、その他 11 眼であり、このうち 64 眼で上皮移植を併用した。上皮移植の術式は輪部移植・角膜上皮形成術 20 眼、培養角膜上皮シート移植 3 眼、培養口腔粘膜上皮シート移植 41 眼であった。これらの症例では、癒着解除を行った後に羊膜を移植し、瘢痕性の角膜混濁部に上皮移植を行った。93 眼中 88 眼で癒着解除と結膜囊再建を得た。

腫瘍性病変は、結膜母斑、メラノーマなどの良性腫瘍 12 眼、扁平上皮癌などの悪性腫瘍が 10 眼であった。腫瘍切除後の組織欠損部に羊膜を移植し、全例で良好な眼表面再建を得た。

一方で、緑内障、遷延性上皮欠損、結膜弛緩症については、年次推移において症例数の増加を認めなかった。

緑内障では、濾過胞形成の困難な末期緑内障 11 眼に羊膜移植併用の線維柱帯切除術を施行した。羊膜を用いることにより 7 眼で安定した濾過胞の形成を得た。

遷延性上皮欠損では 6 例 15 眼に羊膜が用いられていた。上皮修復が得られずに 10 回の羊膜移植を要した 1 例が含まれていた。

結膜弛緩症では、円蓋部挙上型 12 眼に施行した。全例で結膜囊円蓋部および、下方涙液メニスカスの良好な再建を得た。その後、結膜切開を短縮できる術式の改良

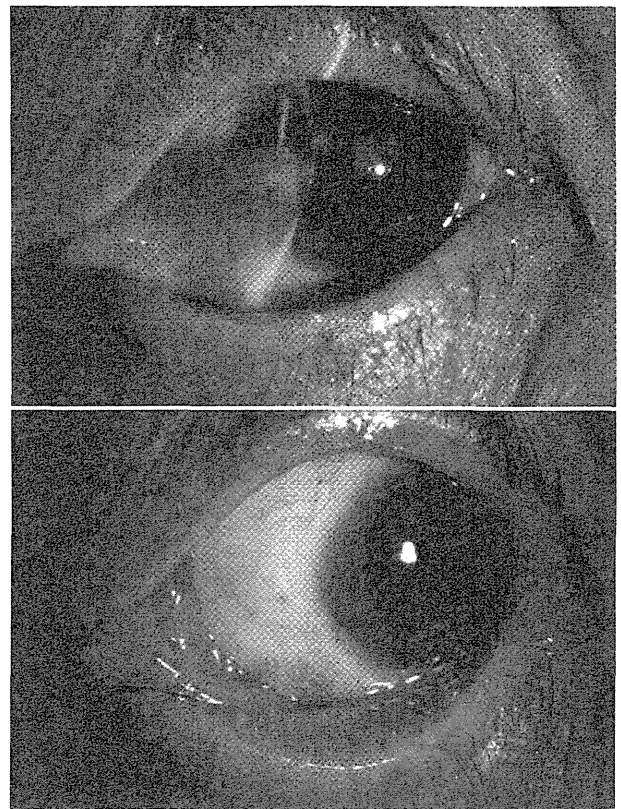


図 2 翼状片に対する羊膜移植併用翼状片切除術。
上：術前。再発翼状片であり、強い眼球癒着を伴う。
下：術後。再発を認めず、眼表面は良好である。

により羊膜を用いる必要がなくなったため、施行例は 12 眼のみとなった。

羊膜移植術を行った全症例にて、羊膜に起因する感染症、拒絶反応などの合併症を認めなかった。

IV 考 按

羊膜移植使用症例数は 10 年間で徐々に増加していった。これは、羊膜が角膜上皮の再生のみならず、結膜の再建においても有効な治療材料であり、幅広い疾患に対して用いられるようになったためと考えられる。

10 年間に羊膜移植を実施した 304 眼のうち、最も多かった疾患は翼状片であり、145 眼に用いられた。羊膜

移植は、羊膜という新しい基質を供給することにより、結膜下組織の線維化を抑制し、結膜上皮の正常な分化を促すと考えられている⁹⁾。さらに、羊膜には癒着防止作用もあり、瞼球癒着の再発を抑制する。翼状片は結膜下線維芽細胞の増殖性変化を生じて、角膜輪部のバリアーを越えて角膜上に腫瘍状に増殖したものであり、再発翼状片の場合は初発翼状片よりさらに強い結膜下組織の異常増殖と輪部バリアー機能の低下を伴う⁹⁾。瞳孔縁を越えて広範囲に及ぶ翼状片の症例や、瞼球癒着、術前複視を伴うような再発翼状片は、切除のみでは再発の可能性が高く、また自家結膜移植では組織欠損範囲を十分に被覆できない。このような症例において羊膜移植を用いると、組織欠損部を十分被覆でき、また上述したような癒着防止効果を期待できる。Shimazaki らは再発翼状片 18 例を含む 27 例の翼状片に対して、羊膜移植併用の手術を行い、良好な再建を得たと報告している¹⁰⁾。福岡らは、再発翼状片手術において、羊膜を使用することは、結膜囊再建および癒着抑制の両面から有効かつ安全であると報告した¹¹⁾。当科 10 年間の手術例においても羊膜使用の翼状片手術の成績は良好であり、再手術を要した症例は 1 例のみであった。

次いで症例数の多かった疾患は、癒着性角結膜上皮症であった。Tsubota らは 1996 年に、眼類天疱瘡、Stevens-Johnson 症候群における眼表面再建に羊膜を使用し、14 眼中 12 眼で術後の良好な再建が認められたと報告した⁶⁾。今回の著者らの検討でも眼類天疱瘡、化学外傷・熱傷、Stevens-Johnson 症候群といった癒着性角結膜上皮症 93 眼中 88 眼で術後良好な再建を得た。癒着性角結膜上皮症に対する羊膜移植の効果としては、線維化の抑制、角膜上皮の増殖分化促進、抗炎症・新生血管抑制作用、創傷治癒促進効果があるといわれている¹²⁾。

結膜腫瘍に対しては、腫瘍切除後に広範囲の結膜欠損を認めた症例に用いた。羊膜を用いることにより、広範囲の切除と良好な再建が可能となった。1997 年に Tseng らは、眼類天疱瘡など 16 眼に羊膜を使用した結膜再建術の報告をしている¹³⁾。そのなかで、悪性黒色腫など 5 眼の結膜腫瘍切除後の結膜再建に羊膜を使用し、良好な再建を得たと報告し、その後も同様の症例報告がみられる^{14)~16)}。

遷延性上皮欠損に対して当科では、治療用ソフトコンタクトレンズ(SCL)装用など他の治療で軽快を得られなかった症例のみを対象として羊膜移植を実施した。2007 年、Saw らのイギリス国内における 233 例の羊膜使用症例の検討では、遷延性上皮欠損に対する使用が最も多かった¹⁷⁾が、改善の乏しい症例が多いことが指摘されている。また、Letko らは SCL 装用や瞼板縫合術施行でも改善の認められなかった遷延性上皮欠損症例 30 眼に羊膜移植術を施行し、13 例で完治を得られず、羊膜移植は遷延性上皮欠損の治療の第一選択ではないと報告し

た¹⁸⁾。著者らも、遷延性上皮欠損への羊膜移植の効果は、SCL 装用とほぼ同等であり、SCL は脱落のリスクがある半面、装用が容易であり、どちらを選ぶかは症例ごとに主治医が判断するのでよいと考える。

緑内障に対しては、難治症例において羊膜移植が濾過胞形成に有用であることが報告されている。Fujishima らは、全層角膜移植術後などの難治性緑内障 14 眼に対する線維柱帯切除術において羊膜移植を併用し、良好な濾過胞が維持されて、術後の良好な眼圧コントロールが可能であったと報告した¹⁹⁾。久保らは、複数回の緑内障手術後の難治性緑内障眼と全層角膜移植術後の眼圧維持が困難であった症例の 2 例に対して羊膜を用いて線維柱帯切除術を行い、良好な術後成績を得ている²⁰⁾。また樋野らは、緑内障末期かつ重症の偽眼類天疱瘡に対して、羊膜移植併用線維柱帯切除術を施行し、羊膜移植併用により濾過胞の維持に成功して良好な眼圧維持が可能となったことを報告した²¹⁾。羊膜移植は、癒着や癒着を伴う難治性緑内障症例の濾過胞形成に有用と思われる。ただし、それらの多くは末期緑内障であり、実際に適応となる症例は少ない。当科でも、11 眼全例で良好な濾過胞形成を得たが、その後は適応となる症例が減少した。その理由として、重症の癒着性角結膜症を伴う緑内障症例が減少したこと、また抗緑内障治療薬の選択肢が増えて保存的に眼圧コントロールできる症例が増えたことが考えられた。

羊膜は、上皮化促進、癒着防止などのさまざまな効果があり、眼表面再建術において必要不可欠な存在となった。今回実施した 304 例において、羊膜に対する拒絶反応を生じた症例がないことは特筆すべき事実である。当教室の上田らは、羊膜そのものがアロ移植に伴う免疫反応を抑制することを報告しており²²⁾、今回の結果はそれを裏付けるものと考えられた。今回、良好な術後成績を示した翼状片、重症の癒着性角結膜上皮症、腫瘍性疾患には、今後も手術が継続して行われると予想される。また羊膜には epidermal growth factor, keratinocyte growth factor, hepatocyte growth factor といったサイトカインが多く含まれ²³⁾、今後新たな用途が開発される可能性もある。

現在、国内 13 施設において、再発翼状片、角膜上皮欠損、角膜穿孔、角膜化学腐食、角膜癒着、結膜上皮内過形成、結膜腫瘍その他の眼表面疾患に対する先進医療として羊膜移植術が行われている。羊膜移植の術後成績が安定し、有用性が明らかになったことにより、今後、羊膜移植の症例数はさらに増加することが予想される。現在、日本角膜学会が定めたガイドラインに基づいて各病院で羊膜入手と処理を行っている。しかしすべての病院がガイドラインに準拠して羊膜を入手および使用するには、費用、その他の面で困難を伴う。安全性を確保した羊膜入手のため、組織バンクなどの整備が

今後の社会的課題である。

利益相反：利益相反公表基準に該当なし

文 献

- 1) 平野耕治：【特集 眼表面の再生医学と羊膜移植】羊膜の細胞生物学的な特殊性。眼科手術 15：17-23, 2002.
- 2) 小泉範子, 木下 茂：【特集 羊膜移植】組織移植としての問題。眼科 42：245-250, 2000.
- 3) Tseng SC, Espana EM, Kawakita T, Di Pascuale MA, Li W, He H, et al：How does amniotic membrane work? Ocul Surf 2：177-187, 2004.
- 4) de Rötth A：Plastic repair of conjunctival defects with fetal membranes. Arch Ophthalmol 23：522-525, 1940.
- 5) Kim JC, Tseng SC：Transplantation of preserved human amniotic membrane for surface reconstruction in severely damaged rabbit corneas. Cornea 14：473-484, 1995.
- 6) Tsubota K, Satake Y, Ohyama M, Toda I, Takano Y, Ono M, et al：Surgical reconstruction of the ocular surface in advanced ocular cicatricial pemphigoid and Stevens-Johnson syndrome. Am J Ophthalmol 122：38-52, 1996.
- 7) Hori Y, Inoue R, Ikuno Y, Inoue T, Maeda N, Tano Y：Severe methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection after multilayer amniotic membrane transplantation. Jpn J Ophthalmol 53：61-62, 2009.
- 8) 稲富 勉, 小泉範子：【特集 羊膜移植】羊膜の採取と保存。眼科 42：251-256, 2000.
- 9) 片上千加子：【特集 羊膜移植】翼状片への応用。眼科 42：271-277, 2000.
- 10) Shimazaki J, Kosaka K, Shimmura S, Tsubota K：Amniotic membrane transplantation with conjunctival autograft for recurrent pterygium. Ophthalmology 110：119-124, 2003.
- 11) 福岡秀記, 稲富 勉, 中村隆宏, 外園千恵, 木下茂：羊膜移植による再発翼状片手術の術後成績。あたらしい眼科 24：381-385, 2007.
- 12) 島崎 潤：【特集 羊膜移植】瘢痕性角結膜症への応用。眼科 42：285-290, 2000.
- 13) Tseng SC, Prabhasawat P, Lee SH：Amniotic membrane transplantation for conjunctival surface reconstruction. Am J Ophthalmol 124：765-774, 1997.
- 14) Paridaens D, Beekhuis H, van Den Bosch W, Remeyer L, Melles G：Amniotic membrane transplantation in the management of conjunctival malignant melanoma and primary acquired melanosis with atypia. Br J Ophthalmol 85：658-661, 2001.
- 15) Kobayashi A, Takahira M, Yamada A, Segawa Y, Tanahashi T, Shirao Y, et al：Fornix and conjunctiva reconstruction by amniotic membrane in a patient with conjunctival mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. Jpn J Ophthalmol 46：346-348, 2002.
- 16) Tomita M, Goto H, Muramatsu R, Usui M：Treatment of large conjunctival nevus by resection and reconstruction using amniotic membrane. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 244：761-764, 2006.
- 17) Saw VP, Minassian D, Dart JK, Ramsay A, Henderson H, Poniowski S, et al：Amniotic membrane transplantation for ocular disease：a review of the first 233 cases from the UK user group. Br J Ophthalmol 91：1042-1047, 2007.
- 18) Letko E, Stechschulte SU, Kenyon KR, Sadeq N, Romero TR, Samson CM, et al：Amniotic membrane inlay and overlay grafting for corneal epithelial defects and stromal ulcers. Arch Ophthalmol 119：659-663, 2001.
- 19) Fujishima H, Shimazaki J, Shinozaki N, Tsubota K：Trabeculectomy with the use of amniotic membrane for uncontrollable glaucoma. Ophthalmic Surg Lasers 29：428-431, 1998.
- 20) 久保真人, 鈴木悦子, 森 秀樹, 村松隆次, 臼井正彦：難治性緑内障に対する羊膜移植併用トラバクレクトミー。あたらしい眼科 18：1201-1205, 2001.
- 21) 樋野景子, 森 和彦, 外園千恵, 池田陽子, 成瀬繁太, 石橋 健, 他：羊膜移植併用線維柱帯切除術を施行した薬剤性偽眼類天疱瘡の1例。日眼会誌 110：312-317, 2006.
- 22) Ueta M, Kweon MN, Sano Y, Sotozono C, Yamada J, Koizumi N, et al：Immunosuppressive properties of human amniotic membrane for mixed lymphocyte reaction. Clin Exp Immunol 129：464-470, 2002.
- 23) Koizumi N, Inatomi T, Sotozono C, Fullwood NJ, Quantock AJ, Kinoshita S：Growth factor mRNA and protein in preserved human amniotic membrane. Curr Eye Res 20：173-177, 2000.

HLA-A*0206 with TLR3 Polymorphisms Exerts More than Additive Effects in Stevens-Johnson Syndrome with Severe Ocular Surface Complications

Mayumi Ueta^{1,2*}, Katsushi Tokunaga³, Chie Sotozono¹, Hiromi Sawai³, Gen Tamiya⁴, Tsutomu Inatomi¹, Shigeru Kinoshita¹

1 Department of Ophthalmology, Kyoto Prefectural University of Medicine, Kyoto, Japan, **2** Research Center for Inflammation and Regenerative Medicine, Faculty of Life and Medical Sciences, Doshisha University, Kyoto, Japan, **3** Department of Human Genetics, Graduate School of Medicine, University of Tokyo, Tokyo, Japan, **4** Advanced Molecular Epidemiology Research Institute, Faculty of Medicine, Yamagata University, Yamagata, Japan

Abstract

Background: Stevens-Johnson syndrome (SJS) is an acute inflammatory vesiculobullous reaction of the skin and mucosa, often including the ocular surface, and toxic epidermal necrolysis (TEN) occurs with its progression. Although SJS/TEN is thought to be initiated by certain types of medication coupled with possible infection. In the present study we examined the multiplicative interaction(s) between HLA-A*0206 and 7 Toll-like receptor 3 (TLR3) Single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in patients with SJS/TEN.

Principal Findings: We analyzed the genotypes for HLA-A and 7 TLR3 SNPs in 110 Japanese SJS/TEN patients with severe ocular complications and 206 healthy volunteers to examine the interactions between the two loci. We found that HLA-A*0206 exhibited a high odds ratio for SJS/TEN (carrier frequency: OR = 5.1; gene frequency: OR = 4.0) and that there was a strong association with TLR3 rs.5743312T/T SNP (OR = 7.4), TLR3 rs.3775296T/T SNP (OR = 5.8), TLR3 rs.6822014G/G SNP (OR = 4.8), TLR3 rs.3775290A/A SNP (OR = 2.9), TLR3 rs.7668666A/A SNP (OR = 2.7), TLR3 rs.4861699G/G SNP (OR = 2.3), and TLR3 rs.11732384G/G SNP (OR = 1.9). There was strong linkage disequilibrium (LD) between rs.3775296 and rs.5743312 and between rs.7668666 and rs.3775290. The results of interaction analysis showed that the pair, HLA-A*0206 and TLR3 SNP rs3775296T/T, which exhibited strong LD with TLR3 rs.5743312, exerted more than additive effects (OR = 47.7). The other pairs, HLA-A*0206 and TLR3 rs.3775290A/A SNP (OR = 11.4) which was in strong LD with TLR3 rs7668666A/A SNP, and TLR3 rs4861699G/G SNP (OR = 7.6) revealed additive effects. Moreover, the combination HLA-A*0206 and TLR3 rs3775296T/T was stronger than the TLR3 rs6822014G/G and TLR3 rs3775290A/A pair, which reflected the interactions within the TLR3 gene alone.

Significance: By interaction analysis, HLA-A*0206 and TLR3 SNP rs3775296T/T, which were in strong LD with TLR3 SNP rs5743312T/T, manifested more than additive effects that were stronger than the interactions within the TLR3 gene alone. Therefore, multiplicative interactions of HLA-A and TLR3 gene might be required for the onset of SJS/TEN with ocular complications.

Citation: Ueta M, Tokunaga K, Sotozono C, Sawai H, Tamiya G, et al. (2012) HLA-A*0206 with TLR3 Polymorphisms Exerts More than Additive Effects in Stevens-Johnson Syndrome with Severe Ocular Surface Complications. PLoS ONE 7(8): e43650. doi:10.1371/journal.pone.0043650

Editor: Yoshihiko Hoshino, National Institute of Infectious Diseases, Japan

Received: April 2, 2012; **Accepted:** July 24, 2012; **Published:** August 17, 2012

Copyright: © 2012 Ueta et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Funding: This work was supported in part by grants-in-aid for scientific research from the Japanese Ministry of Health, Labour and Welfare, the Japanese Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology, a research grant from the Kyoto Foundation for the Promotion of Medical Science, and the Intramural Research Fund of Kyoto Prefectural University of Medicine. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing Interests: The authors have declared that no competing interests exist.

* E-mail: mueta@koto.kpu-m.ac.jp

Introduction

Stevens-Johnson syndrome (SJS) is an acute inflammatory vesiculobullous reaction of the skin and mucous membranes. It was first described in 1922 by Stevens and Johnson, [1] both pediatricians, who encountered 2 boys aged 8 and 7 who manifested an extraordinary, generalized skin eruption, persistent fever, inflamed buccal mucosa, and severe purulent conjunctivitis resulting in marked visual disturbance. Subsequently, other pediatricians reported that SJS was associated with infectious agents such as *Mycoplasma pneumoniae*, [2] and a viral etiology

involving herpes simplex virus, Epstein-Barr virus, cytomegalovirus, and varicella zoster virus [3]. On the other hand, dermatologists claimed that more than 100 different drugs were implicated in eliciting SJS and its severe form, toxic epidermal necrolysis (TEN) [4,5]. The annual incidence of SJS and TEN has been estimated to be 0.4–1 and 1–6 cases per million persons, respectively; [6,7] the reported mortality rate is 3% and 27%, respectively [8]. Although rare, these reactions have high morbidity and mortality rates, and often result in severe and definitive sequelae such as vision loss. SJS/TEN is one of the most devastating ocular surface diseases leading to corneal damage and