

Red (Invitrogen). The Fluo-8 image and the transmission image were recorded every 10 s using a back-thinned electron multiplier charge-coupled device (CCD) camera (ImagEM, Hamamatsu Photonics, Japan) and a microscope (Eclipse Ti, Nikon, Japan). The fluorescence intensity was expressed as a ratio to the initial value after subtracting background fluorescence.

Processing of OVA and Th2 differentiation. For measuring internalization and processing of OVA, 1×10^6 cells of BMDCs or BMBs were incubated with DQ-OVA ($5 \mu\text{g ml}^{-1}$, Invitrogen) for 1 h and analysed with FACS Fortessa. For Th2 differentiation *in vitro*, naive CD4^+ T cells were sorted by microbeads (Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Germany) and were plated at a density of 5×10^5 cells per ml in the presence of various ratios of OVA protein (2, 10, $50 \mu\text{g ml}^{-1}$), OVA peptide (0.4, 2, $10 \mu\text{g ml}^{-1}$) and/or BMDCs (1×10^4 , 2×10^4 , 1×10^5 cells) in RPMI medium with 10% FCS for 3 days, standard supplements and IL-3 (30 ng ml^{-1}) for basophil survival. BMBs were sorted with anti-PE-ckit and anti-PE-CD11c by anti-PE microbeads and plated at a ratio of 1:5 with CD4^+ T cells.

Statistical analysis. Unless otherwise indicated, data are presented as the means \pm s.d. and are representative of three independent experiments. *P*-values were calculated with the Wilcoxon signed-rank test. *P*-values < 0.05 are considered to be significantly different between basophil-depleted mice and corresponding B6 mice and are marked by an asterisk in the figures.

References

- Christensen, A. D. & Haase, C. Immunological mechanisms of contact hypersensitivity in mice. *APMIS* **120**, 1–27 (2012).
- Honda, T., Egawa, G., Grabbe, S. & Kabashima, K. Update of immune events in the murine contact hypersensitivity model: toward the understanding of allergic contact dermatitis. *J. Invest. Dermatol.* **133**, 303–315 (2013).
- Egawa, G. & Kabashima, K. Skin as a peripheral lymphoid organ: revisiting the concept of skin-associated lymphoid tissues. *J. Invest. Dermatol.* **131**, 2178–2185 (2011).
- Zhu, J. & Paul, W. E. CD4^+ T cells: fates, functions, and faults. *Blood* **112**, 1557–1569 (2008).
- Min, B. *et al.* Basophils produce IL-4 and accumulate in tissues after infection with a Th2-inducing parasite. *J. Exp. Med.* **200**, 507–517 (2004).
- Lambrecht, B. N. Dendritic cells and the regulation of the allergic immune response. *Allergy* **60**, 271–282 (2005).
- Yoshimoto, T. *et al.* Basophils contribute to T(H)2-IgE responses *in vivo* via IL-4 production and presentation of peptide-MHC class II complexes to CD4^+ T cells. *Nat. Immunol.* **10**, 706–712 (2009).
- Sokol, C. L., Barton, G. M., Farr, A. G. & Medzhitov, R. A mechanism for the initiation of allergen-induced T helper type 2 responses. *Nat. Immunol.* **9**, 310–318 (2008).
- Sokol, C. L. *et al.* Basophils function as antigen-presenting cells for an allergen-induced T helper type 2 response. *Nat. Immunol.* **10**, 713–720 (2009).
- Perrigoue, J. G. *et al.* MHC class II-dependent basophil- CD4^+ T cell interactions promote T(H)2 cytokine-dependent immunity. *Nat. Immunol.* **10**, 697–705 (2009).
- Hammad, H. *et al.* Inflammatory dendritic cells—not basophils—are necessary and sufficient for induction of Th2 immunity to inhaled house dust mite allergen. *J. Exp. Med.* **207**, 2097–2111 (2010).
- Phythian-Adams, A. T. *et al.* CD11c depletion severely disrupts Th2 induction and development *in vivo*. *J. Exp. Med.* **207**, 2089–2096 (2010).
- Yagi, R., Tanaka, S., Motomura, Y. & Kubo, M. Regulation of the *Il4* gene is independently controlled by proximal and distal 3' enhancers in mast cells and basophils. *Mol. Cell. Biol.* **27**, 8087–8097 (2007).
- Otsuka, A. *et al.* Requirement of interaction between mast cells and skin dendritic cells to establish contact hypersensitivity. *PLoS ONE* **6**, e25538 (2011).
- Siracusa, M. C. *et al.* TSLP promotes interleukin-3-independent basophil haematopoiesis and type 2 inflammation. *Nature* **477**, 229–233 (2011).
- Sawaguchi, M. *et al.* Role of mast cells and basophils in IgE responses and in allergic airway hyperresponsiveness. *J. Immunol.* **188**, 1809–1818 (2012).
- Oyoshi, M. K. *et al.* Epicutaneous challenge of orally immunized mice redirects antigen-specific gut-homing T cells to the skin. *J. Clin. Invest.* **121**, 2210–2220 (2011).
- He, R. *et al.* The prostaglandin D receptor CRTH2 is important for allergic skin inflammation after epicutaneous antigen challenge. *J. Allergy Clin. Immunol.* **126**, 784–790 (2010).
- Brewer, J. M. *et al.* Aluminium hydroxide adjuvant initiates strong antigen-specific Th2 responses in the absence of IL-4- or IL-13-mediated signaling. *J. Immunol.* **163**, 6448–6454 (1999).
- Ouchi, T. *et al.* Langerhans cell antigen capture through tight junctions confers preemptive immunity in experimental staphylococcal scalded skin syndrome. *J. Exp. Med.* **208**, 2607–2613 (2011).
- Kitagaki, H. *et al.* Repeated elicitation of contact hypersensitivity induces a shift in cutaneous cytokine milieu from a T helper cell type 1 to a T helper cell type 2 profile. *J. Immunol.* **159**, 2484–2491 (1997).
- Tang, H. *et al.* The T helper type 2 response to cysteine proteases requires dendritic cell-basophil cooperation via ROS-mediated signaling. *Nat. Immunol.* **11**, 608–617 (2010).
- Nakajima, S. *et al.* Langerhans cells are critical in epicutaneous sensitization with protein antigen via thymic stromal lymphopoietin receptor signaling. *J. Allergy Clin. Immunol.* **129**, 1048–1055 e1046 (2012).
- Sullivan, B. M. *et al.* Genetic analysis of basophil function *in vivo*. *Nat. Immunol.* **12**, 527–535 (2011).
- Hill, D. A. *et al.* Commensal bacteria-derived signals regulate basophil hematopoiesis and allergic inflammation. *Nat. Med.* **18**, 538–546 (2012).
- Soumelis, V. *et al.* Human epithelial cells trigger dendritic cell mediated allergic inflammation by producing TSLP. *Nat. Immunol.* **3**, 673–680 (2002).
- Oyoshi, M. K., Larson, R. P., Ziegler, S. F. & Geha, R. S. Mechanical injury polarizes skin dendritic cells to elicit a T(H)2 response by inducing cutaneous thymic stromal lymphopoietin expression. *J. Allergy Clin. Immunol.* **126**, 976–984 (2010).
- Moniaga, C. S. *et al.* Protease activity enhances production of thymic stromal lymphopoietin and basophil accumulation in flaky tail mice. *Am. J. Pathol.* **182**, 841–851 (2013).
- Matsumura, T. *et al.* Interferon-gamma-producing immature myeloid cells confer protection against severe invasive group A *Streptococcus* infections. *Nat. Commun.* **3**, 678 (2012).
- Nakajima, S. *et al.* Prostaglandin I2-IP signaling promotes Th1 differentiation in a mouse model of contact hypersensitivity. *J. Immunol.* **184**, 5595–5603 (2010).
- Fujita, T. *et al.* A GPR40 agonist GW9508 suppresses CCL5, CCL17, and CXCL10 induction in keratinocytes and attenuates cutaneous immune inflammation. *J. Invest. Dermatol.* **131**, 1660–1667 (2011).

Acknowledgements

This work was supported in part by Grants-in-Aid for Scientific Research from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology and the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan, and the clinical research grant from AK project, Kyoto University. We thank Kaori Tomari, Kiiko Kumagai, and Hiroimi Doi for technical assistance. We also thank Dr Susumu Nakae (Frontier Research Initiative, Institute of Medical Science, University of Tokyo, Tokyo, Japan) for providing valuable materials. No additional external funding was received for this study.

Author contributions

A.O. performed the research and wrote the paper; M.K. Analysed and discussed the data; S.N., B.K., G.E., T.H., A.K., T.N., S.H., C.M. and S.T. performed the experiments and analysed data; T.W. and Y.M. provided helpful discussions; K. K. directed experiments, analysed data and wrote the paper.

Additional information

Supplementary Information accompanies this paper at <http://www.nature.com/naturecommunications>

Competing financial interests: The authors declare no competing financial interests.

Reprints and permission information is available online at <http://npg.nature.com/reprintsandpermissions/>

How to cite this article: Otsuka, A. *et al.* Basophils are required for the induction of Th2 immunity to haptens and peptide antigens. *Nat. Commun.* **4**:1739 doi: 10.1038/ncomms2740 (2013).



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs 3.0 Unported License. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/>

Case report

Drug-induced hypersensitivity syndrome complicated with concurrent fulminant type 1 diabetes mellitus and Hashimoto's thyroiditis

Yusuke Minegaki^{1,2}, MD, Yuka Higashida¹, MD, Makiko Ogawa¹, MD, Yoshiki Miyachi², PhD, Hidetaka Fujii¹, MD, and Kenji Kabashima², PhD

¹Department of Dermatology, Kobe City Medical Center General Hospital, Kobe, Japan, and ²Department of Dermatology, Kyoto University Graduate School of Medicine, Kyoto, Japan

Correspondence

Yusuke Minegaki, MD
Department of Dermatology
Kyoto University Graduate School of Medicine
54 Shogoin Kawaharacho
Sakyo-ku, Kyoto 606-8507
Japan
E-mail: minegaki@kuhp.kyoto-u.ac.jp

Funding sources: None.

Conflicts of interest: None declared.

Drug-induced hypersensitivity syndrome (DIHS), or drug rash with eosinophilia and systemic symptoms, is a severe adverse drug reaction.¹ Diagnostic criteria for DIHS include rash, fever, lymphadenopathy, hematological abnormality, history of causative drug administration, internal organ involvement, and activation of human herpes virus 6 (HHV-6).^{2,3}

A 71-year-old female had been treated with mexiletine for arrhythmia 24 days prior to the occurrence of skin rash. She was referred to our hospital with a generalized maculopapular rash and periorbital/facial edema studded with pinhead-sized pustules (Fig. 1a) for 17 days, and intermittent fever, edema, and general fatigue for 10 days.

Physical examinations revealed erosion on oral mucosa and axillary lymphadenopathy. Laboratory findings showed hyperglycemia (466 mg/dl), normal glycosylated hemoglobin A_{1c} (6.0%), low serum C-peptide levels (<0.05 ng/ml), and negative diabetes-related antibody titers for islet cell, insulinoma-associated protein-2, and glutamic acid decarboxylase. Both antinuclear antibody (47.1; normal, <9.9) and anti-Sjögren's syndrome A antibody (104.4; normal, <19.9) indexes were elevated. The

titer of anti-cytomegalovirus (CMV) IgM index was elevated (1.79; normal, <0.8; Table 1). Skin biopsy on the trunk demonstrated infiltrations of lymphocytic cells in the epidermis with dyskeratotic cells, liquefaction, and perivascular infiltrations of lymphocytic cells in the dermis (Fig. 1b).

Accordingly, we diagnosed the patient with DIHS in conjunction with fulminant type 1 diabetes mellitus. We discontinued medication and initiated systemic corticosteroid administration (prednisolone, 60 mg daily) and subcutaneous insulin injection therapy, which controlled DIHS and diabetes. Twenty-eight days after the onset of skin eruption, the patient exhibited elevated levels of anti-thyroglobulin (5.1 U/ml; normal, <0.299) and anti-microsomal antibodies (44.3 U/ml; normal, <0.299), and decreased levels of free triiodothyronine (1.23 pg/ml; normal, 2.97–4.51) and free thyroxine (0.72 ng/dl; normal, 0.81–1.58). These findings suggested a diagnosis of Hashimoto's thyroiditis; accordingly, daily administration of 25 mg sodium levothyroxine was initiated. On the 72nd day after onset of skin rash, an elevated titer of anti-HHV-6-IgG (1 : 160) compared with that measured

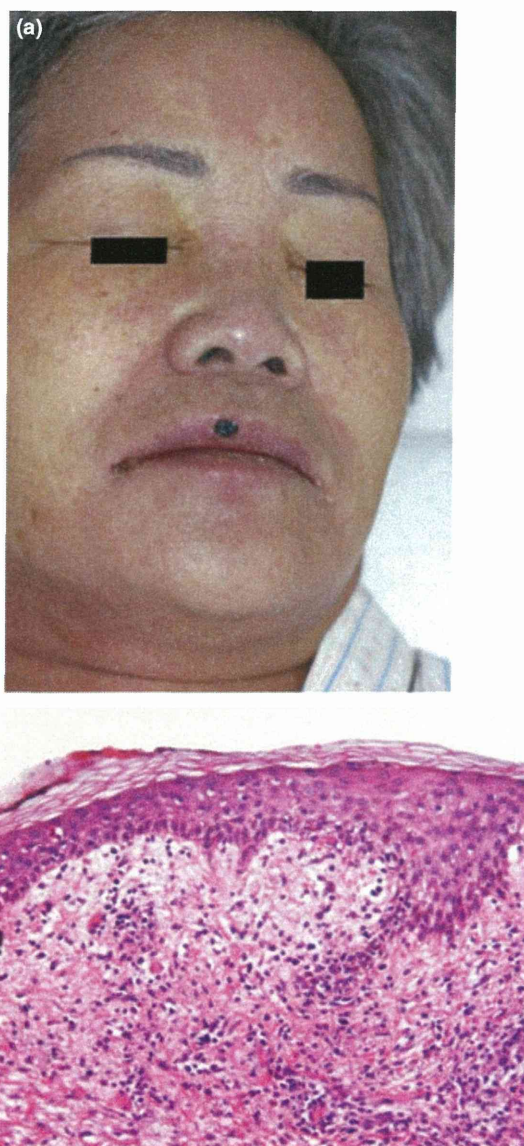


Figure 1 Clinical pictures and histology. (a) Clinical manifestations include maculopapular rash with mild edema and upper lip crust. (b) Histological findings. Hematoxylin-eosin staining, original magnification, $\times 100$

on the 28th day (1 : 10), indicated an activation of HHV-6. In addition, a closed patch test was positive for 10% mexiletine in petrolatum. These findings suggested that this case of DIHS was induced by mexiletine.

The mechanism of DIHS has not been fully elucidated, though immune responses by drug-reactive T-cells, plasmacytoid dendritic cells, and activation of herpes viruses have been discussed.^{3,4} Sequential activation of herpes viruses seems to be responsible for the development of multiorgan failure and autoimmune complications, such

Table 1 Laboratory findings

White blood cell	7000/ μ l, eosinophil 25%
Glutamic oxaloacetic transaminase	14 IU/l
Glutamic pyruvate transaminase	19 IU/l
Lactate dehydrogenase	313 IU/l (normal, 120–250 IU/l)
Total bilirubin	0.5 mg/dl
Blood urea nitrogen	11 mg/dl
Serum creatinine level	0.94 mg/dl (normal, 0.4–0.8 mg/dl)
C-reactive protein	0.5 mg/dl (normal, 0–0.5 mg/dl)
Glycosylated hemoglobin A1c	6.0% (normal, 4.3–5.8%)
Blood sugar	466 mg/dl (normal, 80–140 mg/dl)
Antinuclear antibody	47.1 (normal index, <9.9)
Anti-Sjögren's syndrome A antibody	104.4 (normal index, <19.9)
Anti-CMV-IgM index	1.79 (normal index, <0.8)
Urinalysis	Sugar (4+) protein (–) blood (–)

CMV, cytomegalovirus.

as encephalitis, liver dysfunction, acute renal failure, Hashimoto's thyroiditis, fulminant type 1 diabetes mellitus, and systemic sclerosis-like manifestations.⁵ Notably, this is the first case of concurrent manifestation of fulminant type 1 diabetes mellitus and Hashimoto's thyroiditis with sequential activation of CMV and HHV-6 in DIHS. Although it remains unclear what was the cause and what was just coincidence, our case supports the controversial concept that DIHS tends to induce autoimmune diseases. Kano *et al.*⁶ have reported a case of sclerodermoid graft-vs-host disease-like lesion that occurred three years after the clinical resolution of DIHS. In spite of the absence of collagen disease-like skin manifestations at present, positive anti-nuclear and anti-Sjögren's syndrome A antibodies may indicate immunological abnormality; therefore, long-term observation should be required in such cases.

References

- Descamps V, Valance A, Edlinger C, *et al.* Association of human herpesvirus 6 infection with drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms. *Arch Dermatol* 2001; 137: 301–304.
- Hashimoto K, Yasukawa M, Tohyama M. Human herpesvirus 6 and drug allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2003; 3: 255–260.
- Shiohara T, Kano Y. A complex interaction between drug allergy and viral infection. *Clin Rev Allergy Immunol* 2007; 33: 124–133.
- Sugita K, Tohyama M, Watanabe H, *et al.* Fluctuation of blood and skin plasmacytoid dendritic cells in drug-induced hypersensitivity syndrome. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 126: 408–410 (in press).
- Kano Y, Hiraharas K, Sakuma K, *et al.* Several herpesviruses can reactivate in a severe drug-induced multiorgan reaction in the same sequential order as in

- graft-versus-host disease. *Br J Dermatol* 2006; **155**: 301–306.
- 6 Kano Y, Sakuma K, Shiohara T. Sclerodermoid graft-versus-host disease-like lesions occurring after drug-

induced hypersensitivity syndrome. *Br J Dermatol* 2007; **156**: 1061–1063.

特集II 重症薬疹の診断と治療

薬疹における リンパ球刺激試験でとらえる 薬剤特異的 T 細胞*

小豆澤 宏明**

Key Words : CFSE, BrdU, regulatory T cell, Stevens-Johnson syndrome (SJS), drug-induced hypersensitivity syndrome (DIHS)

はじめに

薬疹は、薬剤投与により皮膚に生じる有害副反応であり、原因となった薬剤を中止することで、皮膚症状が改善することが多いため、検査をしなくても、ある程度は、原因薬剤を絞り込むことができる。一方で、薬疹の原因と思われる薬剤を再投与して、薬疹が再燃するかを確認することは、現実的には困難なことも多く、薬疹の原因薬剤を断定することは、意外に難しい。原因薬剤を限定しなければ、投与されていた薬剤をすべて使用できなくなり、その患者の治療の選択肢が減ることになる。

薬疹、特にStevens-Johnson症候群(SJS)、中毒性表皮壊死症(TEN)、薬剤性過敏症候群(DIHS)といった重症薬疹では、薬剤に感作されたT細胞による遅延型過敏反応、CoombsとGellによる分類でいうIV型アレルギー反応が重要である。薬疹の病態形成に関与するT細胞は、IFN- γ を産生するT helper(Th)1細胞、好酸球を誘導するTh2細胞、あるいは細胞傷害性T細胞(CTL)などがある。これらのアレルギー反応にかかわるT細胞が単独あるいはいくつか組み合わせり、

薬疹でみられる皮膚の炎症や表皮障害をひき起こすと考えられる。特にSJSやTENでは、CTLから放出される細胞傷害性顆粒、特に近年はGranulysinが、表皮障害のメカニズムとして注目されているが、その病態解明は十分とはいえない¹⁾。

重症薬疹では内服誘発試験は原則禁忌とされ、原因薬剤の特定には薬剤によるリンパ球刺激試験(DLST)とパッチテストが主に行われる。パッチテストは比較的信頼性が高い検査であるが、必ずしも陽性率が高いわけではない上に、原因薬剤を最も知りたい薬疹の急性期に行うことができない。さらに、再投与する可能性のある薬剤については、経皮感作の危険性も否定できず、外来では、貼付と判定のため患者の来院回数が多くなるなど不便な点もある。一方、DLSTは一般的に陽性率が低い印象があり、感度や特異度が不十分な検査と考えられていたが、採血のみで、薬疹の急性期であっても施行ができる利点がある。ここでは従来のDLSTを、より有用な検査として、活用するためにも、DLSTがどのような免疫反応をとらえているかについて解説する。

従来のDLST

DLSTは、欧米ではlymphocyte transformation test (LTT)と呼ばれ、末梢血単核球に薬剤を添加

* Drug-specific T cells detected by flow cytometric drug-induced lymphocyte stimulation test.

** Hiroaki AZUKIZAWA, M.D., Ph.D.: 大阪大学大学院医学系研究科内科系臨床医学専攻情報統合医学講座皮膚科学教室(〒565-0871 大阪府吹田市山田丘2-2); Department of Dermatology, Course of Integrated Medicine, Graduate School of Medicine, Osaka University, Suita, Osaka 565-0871, JAPAN

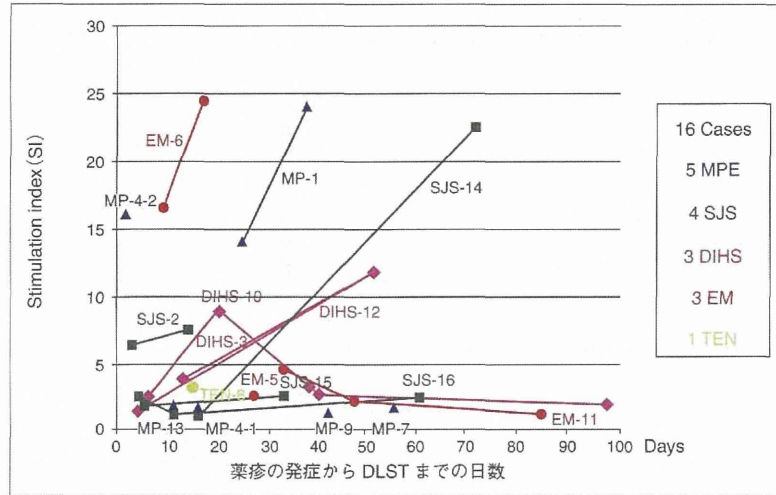


図1 薬疹発症からDLSTまでの日数とStimulation index(SI)の比較
 抗てんかん薬による播種状紅斑丘疹(MPE)型5例, 多形紅斑(EM)型3例, DIHS 3例, SJS 4例, およびTEN 1例の薬疹計16症例の, 薬疹の発症からDLSTまでの日数とSIの関係を示す. 同一症例においても検査時期が異なるとSIは大きく変化する.

し, 培養後5~7日で³H-thymidine(チミジン)を添加する。³H-thymidineは, 細胞分裂のDNA合成の際に核に取り込まれるため, 添加後24時間で, 培養液から細胞へ取り込まれたところで, 細胞のみグラスファイバーフィルターに吸着させ, その放射線量を計測する. 薬剤を添加しなかった細胞の取り込みと比較してStimulation index(SI)を算出し, 1.8あるいは2.0倍を超える取り込みがあれば陽性とする. 本邦ではSIを%で表示することが多く180%あるいは200%とすることも多い. しかし, 薬剤を添加しなかった細胞の³H-thymidineの取り込みは, かなりのばらつきがあり, SIのcut-offが現行のままで良いかは疑問である.

末梢血単核球にはT細胞, B細胞, 単球などが含まれるが, DLSTで薬剤に反応して分裂するのはT細胞と考えられている. Nishioらは, 薬疹患者のT細胞を解析し, 播種状紅斑丘疹(MPE)型, 多形紅斑(EM)型, SJSではTh2細胞の割合が多く, また, CD8陽性細胞がEM型やSJSの患者では多くなっていると報告している²⁾. DLSTではこれらのT細胞の薬剤反応性の分裂を検出している.

当科で経験したMPE型, EM型, DIHS, SJS, およびTENの薬疹症例について, 薬疹の発症日を基準としてDLSTを検査するまでの日数とSIを比較したところ, 急性期に陰性であっても回復後に陽性になる症例や急性期からSI 5.0以上の強陽性の症例などがあり, SJSやDIHSといった重症薬疹に限らず, EM型やMPE型でもSI 20前後の強い反応を認めた(図1). このようにDLSTの結果は薬疹の経過中にSIは大きく変化する. KanoらはMPE型, SJS/TEN, DIHSの異なる時期に行ったDLSTを比較し, MPE型とSJS/TENでは急性期に陽性となり回復期に陰性となる一方で, DIHSでは急性期では陰性であるが, 回復期に陽性になる症例が多いことを報告している³⁾. 従来のDLSTでとらえている薬剤特異的な免疫反応は薬疹の病型・病期によって変化していると考えられる.

フローサイトメトリーによるDLST

従来のDLSTでは, 細胞分裂の際, 増殖細胞が放射性同位体(RI)標識した核酸(チミジン)である³H-thymidineを取り込み, それが発する放射線をcount per minute (cpm)として検出している.

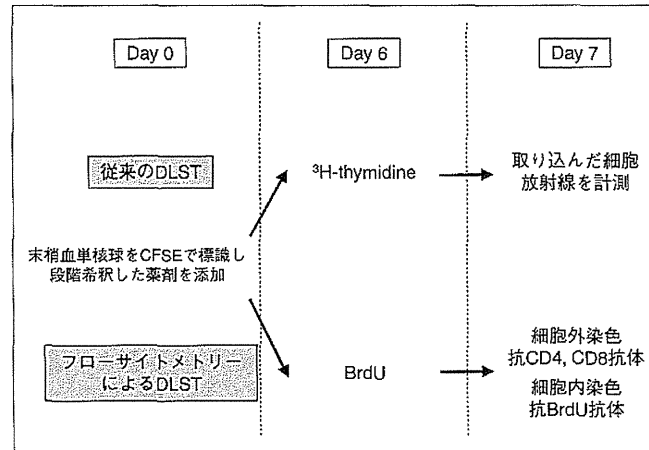


図2 従来のDLSTとフローサイトメトリーによるDLSTの比較
従来のDLSTとフローサイトメトリーによるDLSTを比較するため、比重遠心法により分離した患者末梢血単核球をCFSEで標識し、2つのプレートに分注して、段階希釈した薬剤を添加し、その後それぞれの方法を並行して行う。従来のDLSTでは、培養6日目に ^3H -thymidineを添加し、その取り込みを7日目に解析する。フローサイトメトリーによるDLSTでは、培養6日目にBrdUを加え、培養7日目に抗CD4、抗CD8抗体、抗BrdU抗体で染色し、フローサイトメトリーで解析する。

この方法では培養細胞中でなんらかの細胞が分裂しているであろうとは考えられるが、どのような細胞が分裂しているかはわからない。フローサイトメトリーは細胞表面あるいは細胞内の分子を蛍光標識抗体で染色し、1秒あたり数千個の細胞を解析できる。フローサイトメトリーでは ^3H -thymidineと同様に増殖細胞にとりこまれる5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU)を抗体で染色する方法で、細胞周期のDNA合成期を検出できる。また、蛍光色素である5,6-Carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester (CFSE)は、細胞が分裂するたびに蛍光強度が1/2に希釈されることを利用して細胞分裂を検出できる。これらの方法は、通常どちらか単独で、細胞分裂を検出するために用いられる。Tsugeらはフェニトインの薬疹患者でCFSEを用いたDLSTを行い、CD4陽性分裂細胞にIFN- γ 産生細胞が含まれることを報告している⁴⁾。また、藍田らはBrdUとpropidium iodide (PI)を組み合わせてDLSTを報告している⁵⁾。

従来のDLSTで検出している細胞分裂のcpmは、数百から数千と弱いため、分裂細胞がきわめて

少ないと考えられる。そこで、われわれはフローサイトメトリーでDLSTを行う上で、CFSEの希釈とBrdUの取り込みの2つを組み合わせることで、わずかな分裂細胞を、より正確にとらえる方法を確立した⁶⁾(図2)。

従来のDLSTでは、末梢血単核球に薬剤を加えて6日間培養後、 ^3H -thymidineを加え24時間後に細胞に取り込まれた放射線を計測する。われわれは従来のDLSTとフローサイトメトリーによるDLSTを比較するために、CFSEの蛍光色素で標識した末梢血単核球を2つにわけ、薬剤を加えて培養し、従来のDLSTと同じ6日目にBrdUを添加し24時間後に細胞外の染色でCD4とCD8を、細胞内染色でBrdUを染色してフローサイトメトリーで解析した。

たとえば、フェニトインによるMPE型薬疹の患者の発症25日後に施行した従来のDLSTでは、SI 5.0と強陽性で、健常人では陰性であったが、並行して行ったフローサイトメトリーによるDLSTでは、従来のDLSTに一致して、細胞分裂によりCFSEが希釈された細胞がみられ、これは健常人では検出されなかった。さらにこれらの細胞は、

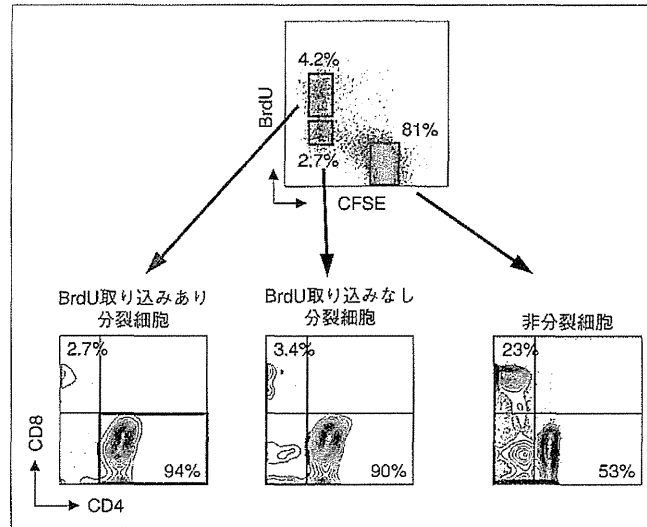


図3 フローサイトメトリーによるDLSTでとらえる薬剤特異的T細胞フェニトインによるMPE型薬疹での陽性症例を示す。従来のDLSTではSI 5.0と陽性であった症例で同時に行ったフローサイトメトリーを用いたDLSTを示す。フローサイトメトリーでは非分裂細胞と、分裂したがBrdUを取り込まなかった細胞、かつBrdUを取り込んだ細胞の、3つの細胞分画を検出する。従来のDLSTはBrdU取り込みあり分裂細胞の反応をとらえていると考えられる。この症例の薬剤特異的分裂細胞は、ほとんどがCD4陽性T細胞である。

BrdUの取り込み「あり」と「なし」に分かれ、細胞薬剤特異的に増殖しているCD4およびCD8陽性細胞を特定することができる(図3)。

従来のDLSTで検出しているのは7日間培養するうちの最後の24時間の分裂細胞を検出しており、これはフローサイトメトリーではBrdUの取り込みに一致する。一方、CFSEは培養開始前に標識しているため培養7日間の細胞分裂すべてを反映する(図4)。

CFSEの希釈のみでも細胞分裂をとらえられるかという点であるが、DLSTのようなわずかな細胞分裂をとらえる場合には、CFSE標識にBrdUの取り込みを組み合わせたDLSTの方がCFSE単独よりも優れていることが明らかであった。BrdUを取り込んだ細胞と、BrdUを取り込まなかった細胞のCD4、CD8陽性細胞を比較すると、かなりの差がみられる、特にCD4、CD8ともに陰性の細胞の割合が増える。これは、薬剤特異的に分裂する細胞が、ごくわずかで、CFSEの希釈をとらえる際に、死細胞などCFSEが減弱し、非特

異的な染色性の細胞の混入が無視できないためと考えられ、それらを除外する上で、BrdUの染色を組み合わせることが役立っていると考えられる。

われわれの施設で抗てんかん薬による薬疹の症例で、従来のDLSTがSI>2.0の陽性であった症例は16症例あったが、並行して行ったフローサイトメトリーを用いたDLSTで薬剤特異的分裂細胞を同定することができたのは6症例のみであった。症例数が決して十分であるとはいえないことと、フローサイトメトリーによるDLSTは従来の方法に比べ、細胞染色の過程で細胞が徐々に失われることなどの要因も考えられるが、分裂細胞が可視化できない症例については、従来のDLSTが、なんらかの原因で偽陽性となっていると考えざるをえない。

重症薬疹における薬剤特異的T細胞

フローサイトメトリーによるDLSTで、各症例におけるDLST施行までの日数、薬疹型、被疑薬、

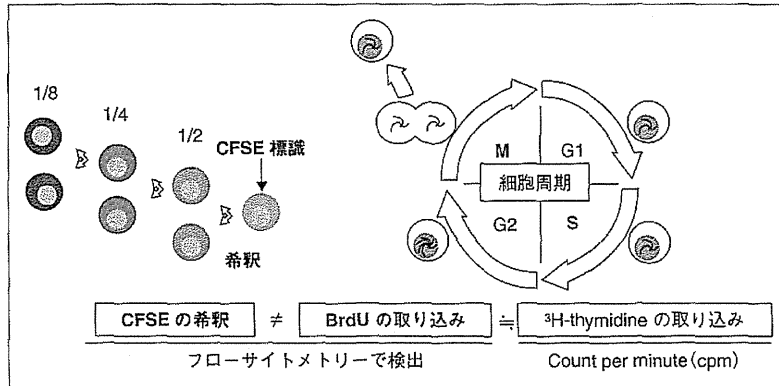


図4 細胞分裂の検出方法の比較

従来のDLSTでは増殖細胞が取り込んだ³H-thymidineによる放射線をcount per minute (cpm)として検出する。BrdUの取り込みでは、増殖細胞に取り込まれるBrdUを抗体で染色することで細胞周期のDNA合成期をフローサイトメトリーで検出する。蛍光色素であるCFSEは細胞が分裂するたびに蛍光強度が1/2に希釈されることで細胞分裂を検出する。³H-thymidineとBrdUは培養の最後の24時間の取り込みを反映し、CFSEの希釈は7日間の細胞分裂すべての結果である。

SIや薬剤特異的増殖細胞のCD4、CD8陽性細胞の割合を比較すると、ほとんどがCD4あるいはCD8陽性のT細胞の分裂であり、逆にそれ以外の細胞の分裂は検出できなかった。6症例中、4症例で、薬剤特異的T細胞はCD4陽性T細胞であった。一方、興味深いことにSJSやDIHSといった重症薬疹の症例の急性期で薬剤中止からの日数が短い症例においてCD8陽性細胞の分裂が優位であった。また、同じフェニトインが原因の薬疹症例を比較しても、CD4陽性T細胞が分裂している症例、CD8陽性T細胞が分裂している症例がみられ、一つの薬剤が引き起こす薬疹でも異なった免疫細胞が誘導されている。

抗てんかん薬であるカルバマゼピンやHIV治療薬であるアバカビルで、それぞれMHC class IであるHLA-B*15:02、HLA-B*57:01との関連が報告され、CD8陽性T細胞が認識する自己ペプチドが、HLAに結合した薬剤により、異なるペプチドに変わっていることが注目されている⁷⁾。

DIHSでは、急性期にCD8陽性T細胞が、回復期にCD4陽性T細胞が分裂していた。同一患者においてCD8とCD4というまったく異なる薬剤特異的T細胞が誘導されており、それらの割合が薬疹の経過とともに、大きく入れ替わるという現象が、フローサイトメトリーを用いたDLSTに

よってはじめて明らかとなり興味深い(図5)。

DLSTは制御性T細胞の分裂もとらえている

DLSTは、薬剤特異的なT細胞の分裂を検出しているが、単純に考えれば、薬疹をひき起こすエフェクター細胞の分裂をとらえているといえる。実際に重症薬疹の急性期のDLSTでは、DLSTではCD8陽性のCTLの分裂がみられることから、表皮障害を誘導しているエフェクター細胞が薬剤特異的に分裂していると考えられる。

しかし、同時にCD4陽性細胞の分裂も誘導されており、サイトカイン産生により炎症を誘導していると思われる。薬剤特異的に分裂するCD4陽性T細胞は重症薬疹の回復期にも検出される。われわれにとって驚きであったのは、DIHSの回復期の薬剤特異的に分裂するCD4陽性細胞のうち、25%近くがFoxp3陽性の制御性T細胞であった。これは、同時に行ったPHA刺激によるCD4陽性T細胞の分裂細胞に含まれる制御性T細胞と比べても明らかに多い割合である。この結果は薬疹の病態形成において皮膚障害を起こす薬剤特異的なエフェクター細胞のみならず、炎症を抑える働きを持つ、制御性T細胞が薬剤特異的に誘導されていることを示している(図5)。

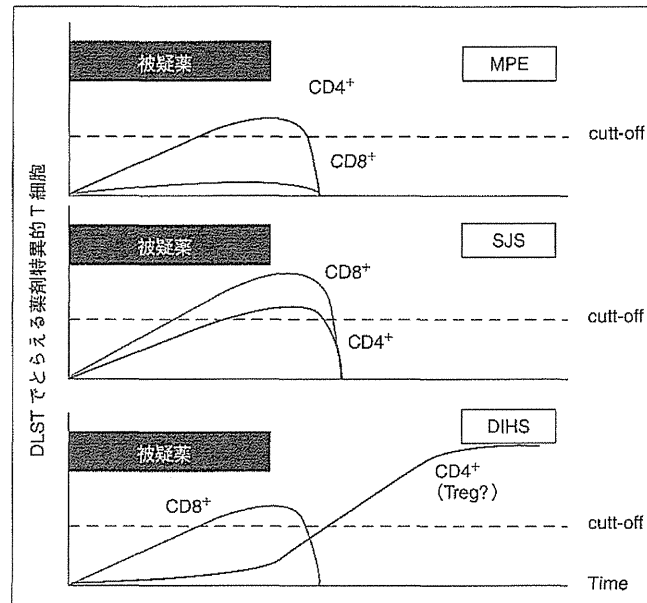


図5 DLSTでとらえる薬剤特異的T細胞
MPE型, SJS, DIHSにおける薬剤特異的T細胞のCD8陽性およびCD4陽性細胞の経時的变化を示す。DLSTのSIのcut-offを破線で示す。

薬剤特異的な制御性T細胞については、薬剤の中止のみで薬疹が軽快する際に、生体が炎症を終息させるために誘導しているとも考えられるが、これらの制御性T細胞が、その後の薬疹の発症を抑制するかは不明であり、薬剤の再投与試験において、皮膚が再現できない症例などでの解析が重要と思われる。

おわりに

DLSTはこれまで原因薬剤の特定のため活用されてきたが、決して満足いく結果を提供できていないわけではない。しかし、DLSTは、薬剤特異的なT細胞の分裂を検出していること、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って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反映していることから、フローサイトメトリーを用いることで、原因薬剤の特定のみならず、薬疹の病態把握にも有用である。DLSTは偽陽性や偽陰性、薬剤を添加しない場合のcpmやSIの定

義など、解決しなければならない問題も多いが、これらの研究成果を活用して、今後さらに有用な検査に進化させていくことができる可能性を持っている。

文 献

- 1) Chung WH, Hung SI, Yang JY, et al. Granulysin is a key mediator for disseminated keratinocyte death in Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. *Nat Med* 2008 ; 14 : 1343.
- 2) Nishio D, Izu K, Kabashima K, Tokura Y. T cell populations propagating in the peripheral blood of patients with drug eruptions. *J Dermatol Sci* 2007 ; 48 : 25.
- 3) Kano Y, Hirahara K, Mitsuyama Y, et al. Utility of the lymphocyte transformation test in the diagnosis of drug sensitivity : dependence on its timing and the type of drug eruption. *Allergy* 2007 ; 62 : 1439.
- 4) Tsuge I, Okumura A, Kondo Y, et al. Allergen-spe-

- cific T-cell response in patients with phenytoin hypersensitivity ; simultaneous analysis of proliferation and cytokine production by carboxyfluorescein succinimidyl ester (CFSE) dilution assay. *Allergol Int* 2007 ; 56 : 149.
- 5) 藍田仁史, 尾渕浩一, 中山正子, 番地正博. フローサイトメトリーを用いたDLST検査法の確立. *医学検査* 2007 ; 56 : 5.
- 6) Hanafusa T, Azukizawa H, Matsumura S, Katayama I. The predominant drug-specific T-cell population may switch from cytotoxic T cells to regulatory T cells during the course of anticonvulsant-induced hypersensitivity. *J Dermatol Sci* 2012 ; 65 : 213.
- 7) Illing PT, Vivian JP, Dudek NL, et al. Immune self-reactivity triggered by drug-modified HLA-peptide repertoire. *Nature* 2012 ; 486 : 554.

* * *

最近の薬疹—注意すべき薬剤とその臨床症状

小豆澤宏明

キーワード●薬剤性過敏症候群, スティーブンス・ジョンソン症候群, 中毒性表皮壊死症

はじめに

医学研究の進歩と共に新規薬剤が開発され、治験や臨床の現場で使用されているが、その数は年々増えており、これまでなかった作用機序の薬剤が次々に承認されている。それと共に、これまで知られていなかった副作用・有害事象も次々と報告されている。薬剤はその主作用で起こる有害事象と、そうでない、いわゆる副作用があるが、主作用による有害事象であっても、治験中に初めて分かる場合もあり、開発時点ですべてを予測することは困難である。たとえば、生物学的製剤であるインフリキシマブは乾癬治療薬でありながら、乾癬に似た症状を誘発するなど、いわば逆説的な副作用がみられることがある。

薬疹とは、全身投与（経皮投与を除く）された薬剤またはその代謝産物の直接的・間接的作用により誘導される皮膚粘膜病変を指す。薬疹の代表である、薬剤に対するアレルギー機序による病態は、薬剤の用量に非依存性であり、限られた患者のみにしかみられない反応であるため、発症を予測することがきわめて困難な有害副反応である。アレルギー機序による薬疹は、発症すると多くの場合、原疾患の治療が中断され、皮膚障害による直接的な弊害のみならず、

他の治療法への変更のため、治療期間が延長するなど患者への影響は大きい。

本稿では最近注目されている薬疹の病型と、特に注意すべき新規薬剤について解説する。

I 薬剤性過敏症候群 (drug-induced hypersensitivity syndrome; DIHS)

薬疹といっても、薬剤に対するアレルギー反応の機序はさまざまであるが、大きく分けると、蕁麻疹やアナフィラキシーといった即時型アレルギーと、数日から数週間の投与期間を経て発症する遅延型アレルギーがある。遅延型アレルギーとしては、播種状紅斑丘疹型薬疹のように、比較的軽症で頻度が高く、麻疹や風疹といったウイルス性発疹症との鑑別が必要となるものから、中等症で、多形紅斑型薬疹といった重症薬疹への移行が疑われるもの、そしてスティーブンス・ジョンソン症候群 (SJS)、中毒性表皮壊死症 (TEN) などの重症薬疹がある。

SJS や TEN は、視力障害などの後遺症を残す、あるいは致死率が高いことから、恐ろしい薬剤有害副反応として古くから知られていた。以前は、ブドウ球菌性熱傷様皮膚症候群 (SSSS) と TEN が混同されていたり、また SJS と TEN は粘膜症状の強さが異なることから、別の疾患概念と考えられていたが、近年は、SJS と TEN

Cutaneous adverse reaction caused by new drugs

Hiroaki Azukizawa : Department of Dermatology, Course of Integrated Medicine, Graduate School of Medicine, Osaka University

大阪大学大学院医学系研究科助教 (皮膚科学)

を同一の疾患概念として取り扱うことが多くなった。

2005年に厚生労働省研究班から、SJSとTENの診断基準が示され、2009年にはSJSとTENの治療指針も示され、ステロイド全身投与を初期から積極的に行うことが推奨されている¹⁾。また、保険適用がある血漿交換療法のみならず、保険適用がないヒト免疫グロブリン製剤静注（IVIG）療法についても考慮すべき治療法として指針に含められている。2009年には、重症多形滲出性紅斑（急性期）として、公費負担の対象疾患に認定され6か月間助成が受けられるようになった。

最近の薬疹としては、DIHSが代表的である。DIHSは重症薬疹に含まれるが、SJSやTENとは異なり、粘膜症状はないか、あっても軽度で、これまで発熱、肝機能障害、リンパ節腫脹などの全身症状を伴う多形紅斑型薬疹、紅皮症型薬疹あるいは膿疱型薬疹と診断されていたものの中に、ヒトヘルペスウイルス（HHV）の再活性化を伴う病態があることが分かり、独立した薬疹の概念として確立され、注目されている²⁾（本誌500ページ表3参照）。

DIHSの病態は、薬剤アレルギーによる病態と再活性化したHHV〔HHV-6、HHV-7、サイトメガロウイルス（CMV）〕による病態が複合したものであることが特徴である。通常の薬剤アレルギーでは、原因薬剤の中止後、比較的すみやかに病態が終息することが多いが、DIHSでは皮疹や肝機能障害などの症状が二峰性あるいは三峰性にみられ、発症から2～6週間程度遷延した状態となる。それだけでなく、1型糖尿病や自己免疫性甲状腺疾患、さらには発症後1年以上経過してから全身性エリテマトーデスや全身性強皮症などの自己免疫疾患を発症する症例があり、薬剤投与がきっかけでウイルスの再活性化や自己免疫反応という免疫の変調が起こる病態と考えられている。

DIHSの病態で興味深いのは、比較的限られ



図1 ラモトリギンによるDIHS

た薬剤（カルバマゼピン、フェニトイン、ゾニサミド、ジアフェニルスルホン、サラゾスルファピリジン、アロプリノール、メキシレチンなど）で発症することである。

ヨーロッパではdrug reaction with eosinophilia and systemic symptoms（DRESS）という病名で報告される症例も多く、DIHSとDRESSは国内外でほぼ同義として扱われることが多いが、厳密には本邦のDIHSのほうがHHV-6の再活性化という概念を診断項目に含んでいる点で、DRESSよりも狭義の病態であるといえる。

II ラモトリギンによる重症薬疹

重症薬疹の原因薬剤としては、非ステロイド系抗炎症薬（NSAIDs）、抗生剤、抗てんかん薬、痛風治療薬などが代表的であるが、薬疹病型によって原因薬剤は異なる。抗てんかん薬であるカルバマゼピン、フェニトイン、ゾニサミドなどはSJSやTENあるいはDIHSなど重症薬疹を引き起こすことがよく知られている。最近注意すべき抗てんかん薬としては、ラモトリギンがある。

ラモトリギン（ラミクタール[®]）は、他の抗てんかん薬で十分な効果が得られないてんかん患者に対する併用療法として2008年に承認された。また、2011年には双極性障害における気分エピソードの再発・再燃抑制の適応が認められている。国内臨床試験では215例中、重篤な

表1 ラモトリギンの双極性障害における気分エピソードの再発・再燃抑制に用いる場合（成人）の用法・用量

	単剤療法の場合	バルプロ酸ナトリウムを併用する場合	バルプロ酸ナトリウムを併用しない場合 ^{注2)}	
			(1) 本剤のグルクロン酸抱合を誘導する薬剤 ^{注1)} を併用する場合	(2) (1) 以外の薬剤 ^{注3)} を併用する場合
1・2週目	25mg/日 (1日1回投与)	12.5mg/日 (25mgを隔日投与)	50mg/日 (1日1回投与)	単剤療法の場合に従う。
3・4週目	50mg/日 (1日1回または2回に分割して投与)	25mg/日 (1日1回投与)	100mg/日 (1日2回に分割して投与)	
5週目	100mg/日 (1日1回または2回に分割して投与)	50mg/日 (1日1回または2回に分割して投与)	200mg/日 (1日2回に分割して投与)	
6週目以降	200mg/日 (最大400mg/日) (1日1回または2回に分割して投与) (増量は1週間以上の間隔をあけて最大100mgずつ)	100mg/日 (最大200mg/日) (1日1回または2回に分割して投与) (増量は1週間以上の間隔をあけて最大50mgずつ)	6週目300mg/日 7週目以降300～400mg/日 (最大400mg/日) (1日2回に分割して投与) (増量は1週間以上の間隔をあけて最大100mgずつ)	

注1) フェニトイン、カルバマゼピン、フェノバルビタール、プリミドン、その他本剤のグルクロン酸抱合を誘導する薬剤。

注2) 本剤のグルクロン酸抱合に対する影響が明らかでない薬剤を投与されている患者は、バルプロ酸ナトリウムを併用する場合の用法・用量に従うこと。

注3) リチウム、オランザピン、その他本剤のグルクロン酸抱合に対し影響を及ぼさない薬剤。

(ラミクタール[®]添付文書より)

皮疹の報告は1例のみであったが、承認後はSJS、TEN、DIHSといった重症薬疹の報告が相次いでいる（図1）。

重症薬疹の原因薬剤という観点からラモトリギンを考えると、投与開始から8週間以内は重篤な皮膚障害がみられることのみならず、定められた用量を超えて投与すると、発疹発現の危険性が高くなることは注目すべきである。

重症薬疹の患者は医薬品を適正な目的のために適正な用法・用量で使用したにもかかわらず、副作用によって一定以上の健康異常を生じた場合に医療費などの給付により被害者を救済する医薬品副作用被害救済制度によって救済される可能性がある。しかし、不適正使用によって重症薬疹が起こった場合は、この制度により救済されないので注意が必要である。ラモトリギンは、投与量が用法・用量に記載されている増量後の最大投与量を超えていなかったとして

も、初回用量や漸増方法が厳格に守られていなければ、不適正使用となることを強調したい。

ラモトリギンは、併用薬と適応疾患によって初回用量と漸増量が異なる。ラモトリギンは双極性障害では単剤療法が認められるが、てんかん患者では認められていない。また、バルプロ酸ナトリウムを併用する場合としない場合、さらにカルバマゼピンなどの薬剤を併用する場合で投与量がそれぞれ異なる（表1）。

ラモトリギンはグルクロン酸転移酵素（主にUGT1A4）により代謝されるため、バルプロ酸ナトリウムを併用すると、肝におけるグルクロン酸抱合が競合してラモトリギンの半減期が延長し、血中濃度が上がりやすくなるため、初回用量が少なく設定されている。逆にカルバマゼピン、フェニトイン、フェノバルビタール、プリミドンといった薬剤を併用すると肝におけるラモトリギンのグルクロン酸抱合による代謝が



図2 テラプレビルによる多形紅斑型薬疹 (DIHS) が疑われた症例

促進され、半減期が短縮されることによりラモトリギンの血中濃度が上がりにくいいため用量を多くする必要がある。さらにこれらの併用薬ごとに1・2週目、3・4週目と5週目以降の漸増方法が規定されている。

ラモトリギンによるSJS、TEN、DIHSといった重症薬疹でさらに注意が必要な点は、併用薬としてバルプロ酸ナトリウム、カルバマゼピン、フェニトイン、フェノバルビタールといった、重症薬疹が起ることが知られている薬剤が多い点である。ラモトリギンのみならず、併用薬も原因薬剤あるいは被疑薬となる症例があり、薬疹の治療のために中止をする薬剤には十分な注意が必要である。

特にてんかん患者ではラモトリギンによる重症薬疹が起きたときに、その後の痙攣コントロールをどうするかが問題となる。ラモトリギンのみを中止し、皮疹がすみやかに改善する症例であればよいが、DIHSのように皮疹の遷延や再燃がみられる症例では、併用薬の中止や変更を検討せざるをえない状況が起こりうる。

ラモトリギンによる重症薬疹の診断では、薬剤によるリンパ球刺激試験 (DLST) が陽性になることが比較的多いため診断に有用である。一方で、DLSTは結果が出るのに1週間を要するため原因薬剤の中止の判定には使えず、またDLSTそのものは偽陰性が多い検査法であることを熟知したうえでの活用が必要である。

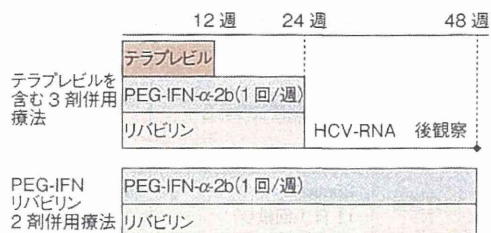


図3 テラプレビル3剤併用療法と2剤併用療法の比較

III テラプレビルによる重症薬疹 (図2)

テラプレビル (テラビック®) は、C型肝炎ウイルス (HCV) の複製に必須の酵素であるNS3-4Aセリンプロテアーゼを選択的に阻害する新規C型肝炎治療薬であり、2011年9月に承認され、C型肝炎治療に用いられている。

これまでC型肝炎はペグインターフェロン (PEG-IFN)、リバビリンの48週間投与による2剤併用療法が標準的治療として行われてきたが、テラプレビルを加えた3剤併用療法はテラプレビルを12週間内服、PEG-IFNとリバビリンを24週間投与することで、2剤併用療法よりも短い治療期間で高い有効性が得られる治療法である (図3)。市販後の全例調査により、重篤な腎機能障害、肝機能障害に加えて、TENの重篤な皮膚障害に対しても注意喚起が行われている。

Roujeauらは2011年までに行われた、日本も含め3つの国際的な第III相臨床試験における、テラプレビルを含めた3剤併用療法の1,797例と2剤併用療法の493例を比較し、テラプレビルに関連した皮膚炎症状を報告している³⁾。それによるとリバビリン、PEG-IFNの2剤併用療法では34%で何らかの皮膚反応がみられたのに比べ、テラプレビルを含む3剤併用療法では56%でみられた。さらに、Grade3とされる体表面積の50%を超えるか、あるいは水疱、紫斑、表皮剝離、粘膜病変のいずれかを伴う頻度は2剤併用療法では0.4%、テラプ

レビルを含む3剤併用療法では3.7%であり、重症薬疹の危険性が高まっていることを報告している。この報告では3剤併用療法を行った1,797例中、専門家による検討で、少なくともSJSが2例、DRESS (DIHS) 3例がみられたと報告している。

このようにSJSとTENを含む重症薬疹の報告がみられることは注目すべきであり、特にDIHSは、限られた薬剤のみで発症することが知られており、このような新規薬剤でみられることは興味深い。

テラプレビルを含む3剤併用療法では、実際に軽症から重症までさまざまな重症度の皮膚障害があり、播種状紅斑丘疹型薬疹や湿疹型薬疹、間擦部型薬疹などといった薬疹がみられる。播種状紅斑丘疹型薬疹では体表面積の50%を超える広範囲の紅斑がみられることがあるものの、一過性でテラプレビルを含め3剤を中止することなく、継続できる症例もある。

テラプレビルは投与早期から高尿酸血症がみられることが知られ、それに対してアロプリノールが処方される症例がある。国内第III相臨床試験における血中尿酸値増加の発現率は2剤併用療法で7.9%であったのに対し、3剤併用療法では60.7%に認められた。血中尿酸値は投与開始後早期に増加し、テラプレビル投与期間中は高値で推移し、一部の症例では薬剤による治療が行われる。

アロプリノールはDIHSの代表的原因薬剤の

1つであり、前述のようにテラプレビルもまた、DIHSの新規原因薬剤であることから、その併用はDIHSのリスクを高めるだけでなく、アロプリノール、テラプレビルのいずれが原因薬剤であるかの特定を困難にする。C型肝炎治療における重症薬疹のリスクを避ける意味でもアロプリノールを含む重症薬疹の原因薬剤の併用は極力避ける必要がある。

■ おわりに

新規薬剤は患者に新たな治療の機会をもたらす希望の光であり、今後ますますの臨床応用が期待される。一方で、新規薬剤は患者を未知の有害副反応の危険にさらす可能性もある。新規薬剤の投与中は、患者を注意深く観察するとともに、皮膚科を含め各診療科の連携を迅速に行うことで、有害副反応を最小限にとどめることが重要であると考えられる。

…………… 文 献 ……………

- 1) 相原道子, 狩野葉子, 飯島正文他: Stevens-Johnson症候群および中毒性表皮壊死症(TEN)の治療指針—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班による治療指針2009の解説. 日皮会誌 2009; 119: 2157-2163.
- 2) 橋本公二: 薬疹 Drug-induced hypersensitivity syndrome (DIHS). 日皮会誌 2006; 116: 1575-1581.
- 3) Roujeau JC, Mockenhaupt M, Tahan SR, et al: Telaprevir-Related Dermatitis. *Arch Dermatol* 2013; 149: 152-158.

特集II 重症薬疹の診断と治療

重症薬疹の発症機序*

橋爪秀夫**

Key Words: drug-induced hypersensitivity syndrome (DIHS), immunology, mechanism, Stevens-Johnson syndrome (SJS), toxic epidermal necrolysis (TEN)

はじめに

薬疹の多くは、薬剤の中止によって速やかに回復する。しかし、なかには薬剤中止後も病勢が進行し、炎症の鎮静が必要な、致命率および後遺症の合併率も高い重症薬疹が存在する。ステーブンス・ジョンソン症候群 (Stevens-Johnson syndrome; SJS)、中毒性表皮壊死症 (toxic epidermal necrolysis; TEN) および薬剤性過敏症候群 (drug-induced hypersensitivity syndrome; DIHS) の3疾患は、この重症薬疹に分類されている。SJSとTENは類似した臨床像および皮膚病理組織像を呈し、病因的に同じスペクトラムの疾患ととらえられており、SJS/TENとして一括して論じられることが多い。この組織学的特徴は、表皮細胞の壊死であり、熱傷のように体表から多くの水分を奪い、循環不全を生じさせる。さらに、皮膚からの細菌の侵入によって重症感染症をひき起こす。また、眼球結膜や口腔粘膜に生じた病変は、重篤な後遺症をもたらす。一方、DIHSは、欧米ではdrug rash with eosinophilia and systemic symptoms (DRESS)と呼ばれる疾患と同一であると考えら

れている。1998年にShioharaら¹⁾とHashimotoら²⁾のグループから同時にヒトヘルペスウイルス (human herpesvirus; HHV)-6再活性化との関連が見出され、その独立性が検証されて、DIHSという疾患概念が確立された。原因薬剤がかなり限定されていること、皮疹以外に肝障害、腎障害をはじめ種々の臓器障害を合併することとともに、薬疹が治癒した後に種々の自己免疫疾患を合併するという奇妙な特徴を持つ。また、臓器障害はときに重篤で死亡率はおよそ10%とされている。これらの重症薬疹に関する最近の知見をさみながら、その謎について考えてみる。

薬剤は抗原として どのように認識されているか

ゲノムワイド関連解析によって、ある種の薬剤では、特有のHLA保有者に高頻度に薬疹が起こることが明らかになった。たとえば、カルバマゼピン薬疹は、漢民族ではHLA-B15:02³⁾、わが国ではHLA-B31:01保有者⁴⁾に高率に起こる。また、アロプリノール薬疹は、洋の東西を問わずHLA-B58:01保有者に高率に起こることが明らかになった⁵⁾。HIV治療薬のアバカビルでは、HLA-B57:01保有者が高率に起こるだけでなく、このハプロタイプを持った患者に同薬剤を投与しないことで、同薬剤の薬疹の発症を有意に抑えることが可能であることが検証された⁶⁾。わが国でも、カルバマゼピン投与に際し、HLA-B31:01

* Pathomechanisms of severe adverse drug reactions.

** Hideo HASHIZUME, M.D., Ph.D.: 市立島田市民病院皮膚科 [〒427-8502 静岡県島田市野田1200-5] ; Department of Dermatology, Shimada Municipal Hospital, Shimada, Shizuoka 427-8502, JAPAN

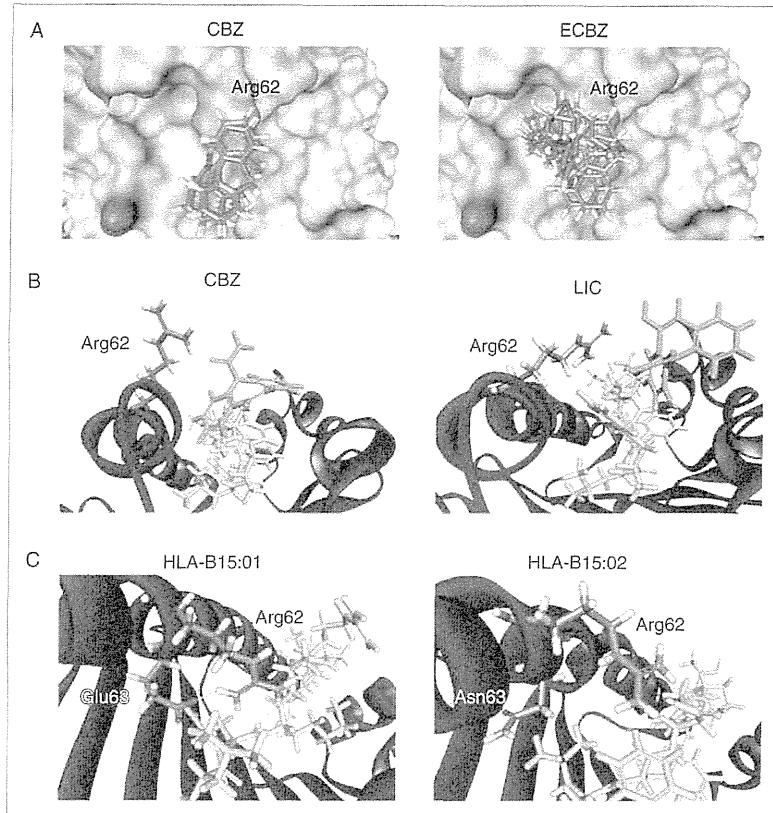


図1 HLA-B*15:02分子とカルバマゼピン(CBZ)またはその類薬(ECBZとLIC)との相互作用のコンピュータ解析
 CBZおよびECBZはArg62に接するが(A)、三環部分が置換したLICでは構造的にArg62に接することはないので、反応は起きない。HLA-B*15:01ではArg62とGlu63とペプチドに安定した結合が生じるため、薬剤がArg62に結合することができない(C)。(文献⁷より引用)

保有者はこれを使用しないということで、薬疹発症が抑えられるかを検討する臨床治験が開始されはじめた。薬疹発症を回避するテラーメイド薬物療法の幕開けである。一方、*in silico*解析の進歩によって分子間構造から、どのような部位に薬剤が結合するかという研究が進んでいる。特にカルバマゼピンに関してはこの薬剤が共有結合などの強固な結合ではなく、弱い分子間の電子的結合による可能性が確認されている(図1)⁷。また、近年ではアバカビルとHLA-B*57:01との結合における分子構造解析が行われ、薬剤がHLAと結合することによって、自己ペプチド

が新しい抗原決定基を提示して免疫反応を誘導する可能性も示された(図2)⁸。すなわち、薬剤がHLAに結合することによって、多種類の自己抗原が非自己の抗原と認識されてしまうのである。アバカビル薬疹が重症であることの一つの根拠なのかもしれない。今後も薬疹発症に関する薬剤とHLAとの結合の詳細が明らかになることが期待される。

一部の報告とは異なるが、日本においてはカルバマゼピン薬疹の重症度とHLAとの関連性は明らかになっていない。すなわち、HLAは薬疹の発症しやすさを規定するだけで、その重症度

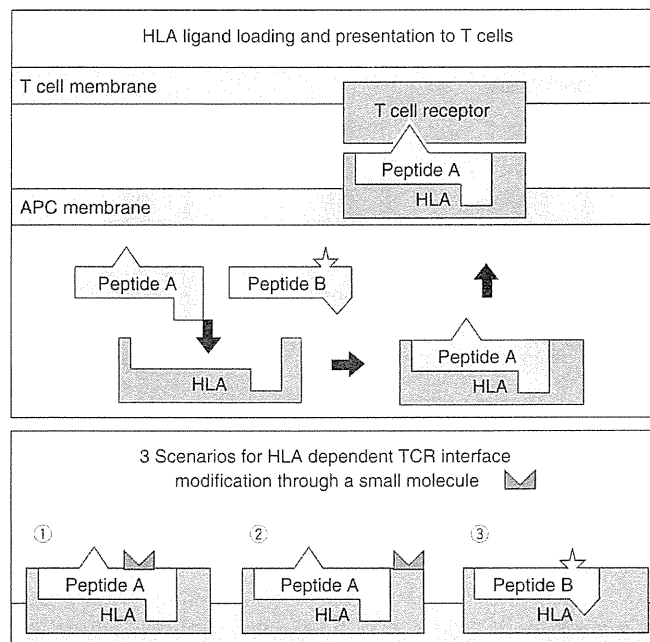


図2 薬剤抗原が提示される仕組み

薬剤が自己ペプチドを修飾して提示される場合(①)、MHCが薬剤によって修飾され抗原として提示される場合(②)があるが、アバカビルの場合、MHCに薬剤が結合することによって、自己ペプチドが新しい抗原決定基を提示してしまう場合(③)があることが判明した。

とは関連がなかったのである。この事実、HLA以外の他の因子が、薬疹の重症度を規定することを示唆している。薬疹の多くはT細胞を介したアレルギー反応と理解され、皮膚の重症度を決定するのは、活性化するT細胞の量と質と考えられている。T細胞は産生するサイトカインやフェノタイプによって機能的に分類されている。一般的にCD8⁺細胞は、細胞傷害性であり、表皮細胞障害が強い程、末梢血および組織に浸潤する本細胞は多い傾向にある。また、膿疱を臨床的特徴とする急性汎発性発疹性膿疱症では、好中球遊走因子であるCXCL8を産生するTh17細胞の浸潤を認める。皮膚に浸潤するT細胞の特性は、発症する皮膚の形成に密接に関連しているはずである。

それでは、活性化するT細胞の質(種類)や量を規定するものは何なのだろうか。薬剤代謝の違い患者では、SJS/TENなどの重症薬疹が起こ

りやすいことは、古くから知られている⁹⁾。代謝されない薬剤の血中濃度の上昇に比例してT細胞の活性化が増強することに起因すると考えられる。また、抗原提示細胞の活性化状況によって、T細胞の活性化の強弱は修飾される。すなわち、免疫応答における強弱は、抗原の量や免疫担当細胞の状態によって規定されていると考えられる。しかし、活性化するT細胞の質は何が規定するのかはよくわかっていない。その答えの一つのヒントとして、Pichlarが提唱するpharmacological-interaction concept (*p-i* concept)がある(図3)¹⁰⁾。そして、最近実際にこの機構の存在が分子レベルで確認された。これは、T細胞と薬剤、抗原提示細胞との反応の間には、通常のハプテン抗原のような共有結合を介した強固な結合は必ずしも存在せず、電気的または分子間の弱い結合によっても成立するという考えである。この説の重要な点は、この反応系が存在す

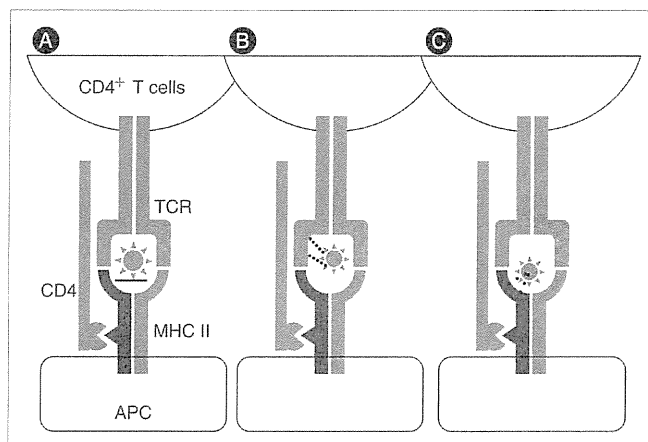


図3 p-i concept

CD4⁺細胞が薬剤抗原を認識する場合、薬剤が自己ペプチドやMHCに共有結合してハプテン抗原となる場合(A)以外にも、薬剤が電氣的にT細胞受容体(B)またはMHC(C)と緩く結合した場合にも反応が起こることがあり、Pichlerらはこれを*p-i* conceptと名づけた。

る場合、既存の感作T細胞が、ある条件で薬剤や抗原提示細胞と接触する機会を持つならば、薬剤感作なしに薬剤によって刺激されることである。ヒトは種々の病原体に接し、その抗原がT細胞を感作させて、記憶T細胞のプールができる。したがって、個々で異なる既往感染やワクチン接種による感作がすでにいる記憶T細胞の質の違いが、薬剤刺激によって活性化するT細胞の質を決定づけ、皮疹にバリエーションを与えている可能性がある。

SJS/TENの謎

SJS/TENの末梢血中および皮膚または水疱内容液には、多数の活性化CD8⁺細胞およびNK細胞を認める。しかし、特に皮膚組織において、その重症度と浸潤細胞数は必ずしも相関しないことは、表皮細胞の壊死が、必ずしもCD8⁺細胞やNK細胞の直接攻撃によってもたらされたものではない可能性を示している。かかる疑問に答えるべく、数十年前から本疾患における液性表皮攻撃因子の探索が行われてきた。SJS/TENにおける表皮細胞壊死の原因分子はCD8⁺細胞が産生する液性細胞傷害性分子が想定され、パーフォリン¹¹⁾、Fasリガンド¹²⁾、グランニューライシン¹³⁾¹⁴⁾など、その主役の

座は次々と移り変わっている(図4)。そして、最近話題のグランニューライシンでさえ、DIHSなどの表皮壊死を伴わない薬疹でも高値を示すことが明らかになり¹⁵⁾、その意義は薄れてしまった。これまでCD8⁺細胞が産生する液性因子のみ注目されてきたが、本症の重症度とCD11c⁺CD16⁺樹状細胞の皮膚病変浸潤との相関が明らかとなったことから¹⁶⁾、樹状細胞が産生する分子に関する探索も必要であろう。SJS/TENの発症にかかわる新規の液性細胞性障害性因子の探索は、ただちに治療に結びつく可能性が期待されるため、今後も精力的な研究が望まれる。

DIHSの謎

DIHSに関する奇妙な現象は多い。DIHSの診断基準は、この奇妙な現象を言い表しており、本疾患の独立性を明確にしている(表1)。すなわち、①薬剤投与後の発症は、他の薬疹に比べて明らかに長い(3週間以上)、②薬剤中止後も進行する、③経過中にHHV-6、HHV-7、EBV、サイトメガロウイルスなどのヘルペスウイルス再活性化がみられる¹⁷⁾、④限定した薬剤によって発症するなどである。本症は、ダイナミックな症状変化が特徴的である。典型的には、発熱と播種状