

201324003B

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患等克服研究事業（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22～25年度 総合研究報告書

研究代表者 塩原 哲夫

平成26（2014）年3月

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患等克服研究事業（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22～25年度 総合研究報告書

研究代表者 塩原 哲夫

平成26（2014）年3月

目 次

I. 班員構成

班員構成	1
------------	---

II. 総合研究報告

塩原哲夫	3
------------	---

重症多形滲出性紅斑に関する調査研究

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表	39
----------------------	----

IV. 研究成果の刊行物（抜粋）

研究成果の刊行物（抜粋）	81
--------------------	----

[I]

班員構成

研究班員構成

研究者名		所属研究機関	職名
代表	塩原哲夫	杏林大学医学部皮膚科学	教授
分担	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
分担(H23~25)	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
分担(H22)	池澤善郎		教授
分担(H24~25)	末木博彦	昭和大学医学部皮膚科学	主任教授
分担(H22~23)	飯島正文		主任教授
分担	森田栄伸	島根大学医学部皮膚科学	教授
分担	浅田秀夫	奈良県立医科大学医学部皮膚科学	教授
分担(H23~25)	谷崎英昭	京都大学大学院医学系研究科皮膚科学	助教
分担(H22)	椛島健治		准教授
分担	小豆澤宏明	大阪大学大学院医学系研究科皮膚科学	助教
分担	橋爪秀夫	浜松医科大学医学部皮膚科	准教授
		市立島田市民病院	主任部長
分担	永尾圭介	慶應義塾大学医学部皮膚科学	専任講師
分担(H24~25)	阿部理一郎	北海道大学医学研究科皮膚科学	准教授
分担	黒沢美智子	順天堂大学医学部衛生学	准教授
分担	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

[Ⅱ]

総合研究報告

研究代表者・塩原哲夫

厚生労働科学研究費補助金
「難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）」
総合研究報告書

重症多形滲出性紅斑に関する調査研究

研究代表者 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含まれる Stevens-Johnson 症候群/中毒性表皮壊死症(SJS/TEN)、薬剤性過敏症症候群 (DIHS) は高熱と全身性の多形紅斑、粘膜傷害を引き起こす重篤な疾患である。これらの疾患では初期診断が非常に難しく、治療の開始遅延が致死的状态や後遺症の発現に直結する。また、発症機序・病態においても不明な部分が多く、一部の疾患では治療指針も未だ確立されていない。このような状況において、本研究では①重症多形滲出性紅斑の疫学実態調査、疾患登録データベースの構築、②発症機序・病態の解明、動物モデルの作成、③早期診断・治療法の確立、④眼科的后遺症の回避、予後の検証、⑤発症因子としての遺伝的背景の検索、⑥研究成果の国民への発信と国際化などを主な目的とした。DIHS の疫学調査では受療率、死亡率、原因薬剤などを明らかにし、疾患登録データベースに関しては、ワーキンググループを作成し登録疾患・項目の選出を行った。DIHS の治療に関しては、研究者施設の症例経験を基にして、全身ステロイド投与を基本とする指針を完成させて発信した。発症機序・病態研究では SJS/TEN 組織所見における発症早期に出現する単球系細胞の解明、SJS/TEN の従来の概念を変える「ネクロトーシス」という新しい知見の提供、SJS/TEN の動物モデルの作成、発症初期に変動する因子の検証、薬疹臨床病型により変動するヘルペスウイルスの相違、薬剤特異的に反応するリンパ球の経時的な解析などを行い、多くの成果を報告した。また、遺伝子多型解析の結果を用いて与薬を選択し薬疹を回避する共同臨床研究に着手した。本症回復後の後遺症や予後調査研究では、SJS/TEN 後の眼後遺症は感冒薬による場合が多いこと、また、DIHS 回復後の様々な自己抗体の出現、劇症 1 型糖尿病や自己免疫疾患の発症頻度が高いことなどの結果を得た。本調査研究の成果はホームページ、公開講演会などを介して国民へ情報提供を行った。さらに、研究班会議などに諸外国の研究者を招いて国際交流に務めるとともに、国際学会・国際誌にて成果を発信した。

A. 研究目的

重症多形滲出性紅斑は高熱をともない皮膚と粘膜を侵襲する重篤な疾患で、本症には Stevens-Johnson 症候群/中毒性表皮壊死症(SJS/TEN)、薬剤性過敏症症候群 (DIHS) が含まれる。初期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・続発症をもたらすことが多い。このような状況から、重症多形滲出性紅斑の疫学調査、疾患登録データベース、発症機序・病態の解明、動物モデルの作成、治療法の確立・普及、眼科的后遺症・予後の解明、発症への遺伝学的背景の検証、研究成果の発信、重症薬疹治療の啓蒙と研究の国際化が望まれている。

本研究では、①疫学調査として、すでに施行した皮膚科専門医施設による SJS/TEN 実態調査の結果の解析、並びにその発信、今まで全く施行されていない DIHS の全国疫学調査による実態の把握とその解析、また、SJS/TEN の臨床調査個人票データを用いた検証、死亡原因・後遺症などをとらえる。さらに、今後の疾患登録データベースに必要な疾患の選出や入力項目の選択を行う、②発症機序・病態の解明として、今までに解明してきた SJS/TEN、DIHS における制御性 T リンパ球の関与に加えて、本研究では末梢血、皮膚組織中や末梢血における単球系細胞の変動、SJS/TEN 皮膚組織の検証、ウイルス再活性化状態の臨床病型による相違、サイトカイン・ケモカインなど様々な早期診断や病態把握のためのマーカーの検証、薬剤特異的リンパ球や薬疹時の好塩基球の動態検証、薬疹の動物モデルの作成を試みる、③各疾患の診断基準はすでに確立され、SJS/TEN の治療法はすでに公表してきているので、本研究では DIHS の治療指針の確立を行う、④眼科的后遺症に関しては、基礎疾患の症例、原因薬剤との関連を追求する、加えて、DIHS 回復後に多彩な自己抗体産生、自己免疫疾患が発症する例が多いことから、この実態を検証する、⑤発症に関わる遺伝学的因子の解析、また、解明された原因遺伝子を利用した薬疹発症回避の他施設との共同研究を進める、⑥研究成果を適切に国民に提供する機会を整備し、また本研究成果を国際的にも発信する環境を促進する、重症薬疹治療については、全国各地の拠点となる病院を選択し、啓蒙することなどを目的とした。

B. 研究方法

1. 疫学的実態調査

重症薬疹である SJS/TEN の診断基準および治療指針をもとに両者の本邦における発症頻度などを知るために、皮膚科専門医施設へ調査票を送付し、得られた結果を解析した。DIHS については、まず、大規模の大学病院から小規模の病院まで、疫学調査として必要な数の調査病院を無作為に選出し、診断基準を基にして作成した調査票を郵送し、患者の発症年齢、性差、原因薬剤、臓器障害、予後、死亡などの実態疫学調査を行った。一次調査で患者数、二次調査で臨床疫学像の調査を行う方法を用いた。さらに、

すでに臨床調査個人票の入力が開始されている SJS/TEN においては、このシステムを利用した各疾患受給者の臨床疫学像の集計、分析を行い検証した。

また、疾患登録データベースのために、分担研究者、研究協力者でワーキンググループをつくり、登録する薬疹疾患を選出しデータベースとして必要な登録項目を選択し、その登録方式、登録されたデータの管理などを含むシステム構築について検討した。

2. 発症機序・病態の解明

重症多形滲出性紅斑の病態の解明として、薬疹後の続発症に関与する制御性 T 細胞の検討、様々なウイルス再活性化に寄与する樹状細胞の役割、ウイルス量とステロイド治療の関係及び臨床病型との関わり、末梢血、皮膚組織における単球系細胞の動態、続発症に関与する Th17 の解析、薬剤抗原に反応する T 細胞のサブセットの解析、薬疹における好塩基球の活性化、重症化に関与するサイトカインプロファイル、ケモカイン・バイオマーカー群の動態などを検証した。病態解析のために世界に先駆けて薬疹動物モデルの樹立をめざした。

3. 治療法の検証と確立

DIHS の治療に関しては各施設間に差があり、標準的治療を確立しにくい現状にある。このような状況下、各研究者施設の重篤な経過を呈した経験症例を検討して、治療指針を策定し、発信した。また、SJS/TEN へのステロイド大量療法血漿交換療法などの治療成績を諸外国の成績と比較し、その有用性を評価した。その後、長期予後調査の結果も絡めて、治療指針の有用性・問題点・改善点などの検討を行った。

4. 眼科的後遺症の発現・予後調査

予後調査として重症多形滲出性紅斑の回復後の転帰を知るために、重症薬疹回復した患者へ長期予後調査票を作成し、分担研究者施設で加療した患者へ調査票を郵送送付による後遺症・続発症の調査を行った。退院後の経過や自己免疫疾患・膠原病、腎疾患、悪性腫瘍などの続発症発症の情報を収集した。

自己抗体検索では、発症から回復期にかけて定期的に採血された保存血清において、抗核抗体、抗甲状腺抗体、抗プラキン抗体などの自己免疫性水疱症関連抗体を検討した。また、SJS/TEN の眼合併症は感冒薬に関連して発症することが多い事実から、現在眼科にて SJS/TEN 後の眼後遺症で診療中の患者の詳細な病歴聴取を行い、原因薬剤、発症年齢、感染症・感冒症状の有無などの集積、さらに解析を行った。糖尿病学会と共同研究を遂行している DIHS に関連して発症する劇症 1 型糖尿病の研究に関しても、全国から収集した実態調査の解析を進め発信した。

5. 遺伝学的背景の検証

すでに日本人の遺伝子と薬疹発現の有意な関連が同定されている薬剤(カルバマゼピン)の薬疹発症に

関連する HLA-A*3101 遺伝子を用いて、与薬前に遺伝子多型検査（ゲノムワイド解析）を行うプロジェクト（理化学研究所ヒトゲノム解析センター）に共同研究施設として参加し、薬疹調査票の作成、薬疹の有無の評価を行った。

6. 研究成果の発信と国際化

研究班会議に海外からの重症多形滲出性紅斑、薬疹の専門家に参加して頂き、交流する。また、国際化を目指して、本邦の SJS と TEN の英文診断基準を作成した。

（倫理面への配慮）

本研究の実施にあたっては、試料提供者に危害を加える可能性は皆無であるが、研究の目的と概要を詳細に説明し、各施設の倫理委員会にて検討、承認された説明文書に準じて試料提供者から同意を得た上で、試料を採取・収集する。病歴、治療歴、血液検査データも含めて収集するが、試料提供者の個人が特定できる情報は各部署に配置された個人情報管理者がそれらを管理し、検体は匿名化して解析する。過去に収集された検体においても該当施設の倫理委員会の指針にしたがって同様に匿名化を行い、本研究を遂行する。DIHS 疫学調査については、研究代表者施設と実行研究分担者施設において「薬剤過敏症候群(DIHS)全国疫学調査」の課題名で臨床疫学研究審査委員会での承認（杏林大 承認番号:H24-146-01）（順天堂大 医倫:第 2012123）を受けた。長期予後調査研究は個人情報の調査を含むため「重症薬疹長期予後調査票」の送付に先立ち、各分担研究者施設において、それぞれの倫理委員会にて本調査について事前に承認を得た。

遺伝子多形解析については、すでに主任研究者施設の医の倫理委員会の承認を得ている（承認番号：125、一部変更承認番号：125-04）。同様に、さらに、重症多形滲出性紅斑の病態解明のために試料採取については「アレルギー性炎症性皮膚疾患・ウイルス性発疹症の病態と重症化因子の解明」の課題名で臨床疫学研究審査委員会の承認を受け、（承認番号：H22-077-06）試料提供者からは説明文書を用いて同意を得ている。

実験への動物の使用は必要なものに限定し、可能な限り無駄な使用は避けるよう配慮する。また、動物実験は麻酔下を実施し、動物に与える苦痛を最小限にとどめるよう配慮する。

C. 研究結果

1. 全国疫学実態調査結果・疾患登録データバンク

重症薬疹である SJS/TEN の疫学的実態を知るために、全国の日本皮膚科学会認定皮膚科専門医研修施設に対して一次アンケート調査および二次調査(疫学的実態調査)を行った。この調査により SJS 258 例、

TEN 112 例、合計 370 例の調査登録票が回収され、人口 100 万人あたりの年間の発症頻度は SJS が 3.1 人、TEN が 1.3 人で合わせて 4.4 人と算出された。SJS、TEN とともに 30 歳代に小ピークが、60 歳代に最大のピークがあった。SJS、TEN とともに被疑薬は抗菌薬等と解熱鎮痛消炎薬が最も多かった。重症度スコアの平均値は SJS で 5.0 ± 2.0 、TEN で 8.3 ± 2.7 で両群間には有意差が得られた。この結果を学会誌に報告した。また、SJS と TEN の調査結果から重症度、後遺症、死亡と関連する要因を検討した。重症度に関連していたのは肥満度(Body Mass Index)で SJS では 18.5 未満の痩せている人、NSAID 投与歴有りの患者であった。後遺症と関連していたのは SJS では年齢(若年)、NSAID 投与歴有り、皮膚症状、眼症状、摂食不良、びらんなどの因子で、TEN では眼症状、びらん、呼吸器障害有りの因子であった。SJS、TEN 共に重症者は後遺症を残す割合が多かった。死亡と関連していたのは、SJS では内分泌異常、血糖値上昇(>252mg/dl)、循環器障害、消化器障害、下痢、下血、呼吸器障害、腎機能障害、透析、感染症合併、TEN では高齢、内分泌異常、循環器障害、呼吸器障害、HCO₃ 低下、腎機能障害、透析、感染症合併であった。死亡に関連する要因は重症度や後遺症に関連する要因とは異なっていることを指摘した。

DIHS の疫学調査は大規模の大学病院から小規模の病院までの疫学調査として必要な数の調査病院を無作為に選出し施行した、第一次疫学調査は回収率 64.8%で、報告患者数は典型 DIHS 220 人、非典型 DIHS 360 人と推計された。この結果から 2012 年の典型 DIHS の受療率は 1.73/100 万人、非典型 DIHS は 2.82/100 万人と推定された。第二次臨床疫学調査の回収率は 70.7%で、典型 DIHS 73 例、非典型 DIHS 141 例であり、8 例が死亡していた。原因薬剤では抗てんかん薬(カルバマゼピン、フェノバルビタール、ラモトリギン)、アロプリノールなどが上位を占めた。治療ではステロイド大量療法が 80%の患者で施行され、ステロイドパルス療法は 26.1%で施行されていた。

さらに、SJS/TEN の厚生労働科学省のデータシステムにより登録された個人調査票の調査では SJS の重症度グレード 1(スコア<6)は 44.5%、グレード 2(スコア>6)は 55.5%であり、一方、TEN ではグレード 1 は 26.7%、グレード 2 は 73.3%であった。治療では SJS/TEN の 93%以上で全身ステロイド治療がなされており、ステロイドパルス療法は SJS では 47.2%、TEN では 53.3%の患者において施行されていた。

疾患登録データベースのシステム確立するために SJS/TEN、DIHS、固定薬疹、急性汎発性発疹性膿疱症などの登録する疾患を選出し、今後の利用に際して必要な項目を選択した。また、個人情報であることを考慮して入力法、その管理などを決定、疾患登録データベース案を作成した。また、倫理学的問題などの点についても検討した。

2. 発症機序・病態の解明

A) バイオマーカーの動態解明

SJS/TEN などの重症薬疹では、発症初期では典型的な皮疹を呈することはほとんどなく、他の薬疹との鑑別が困難であることから、疾患特異的に発現し、早期診断および病勢の正確なモニタリングに有用なバイオマーカーについて検索した。生体侵襲時に壊死細胞から放出される Alarmin の代表格である high

mobility group box 1 (HMGB1)を測定して、重症薬疹のバイオマーカーとしての有用性の検討を行った。その結果、血清中の HMGB1 は播種状紅斑丘疹型薬疹・多形紅斑型薬疹や健常人コントロールでは上昇はみられなかったが、SJS/TEN ではその確定診断がなされる前に上昇するという結果を得た。しかし、HMGB1 は SJS/TEN に特異的な診断マーカーではないことも判明し、その評価は慎重に行う必要があることが明らかになった。

一方、サイトカインの変動では SJS、TEN、DIHS の重症薬疹について BioPlex suspension array system を用いてサイトカインを同時測定した。TEN では IFN- γ 、TNF- α 、IL-6 といった前炎症性および炎症性サイトカインの著しい増加がみられ、さらに加えて IL-10、IL-1ra の抗炎症性サイトカインや IL-13、GM-CSF の上昇がみられた。これらのサイトカインは治療後に顕著に減少した。一方、DIHS では IFN- γ と IL-5 の上昇が検出された。さらに、多形紅斑型薬疹と播種状紅斑丘疹型薬疹ではいずれのサイトカインも有意な上昇はみられなかったことから、前炎症性サイトカインおよび抑制性サイトカインの測定は重症薬疹の進行の予測や治療法の選択、その効果判定に役立つ可能性があることを示した。

また、SJS/TEN、DIHS において、Th2 ケモカインの1つである TARC(thymus and activation-regulated chemokine) を測定し、TARC が DIHS の急性期に上昇することを示しとともに、その値がヒトヘルペスウイルス 6 (HHV-6)の再活性化と強く関連することを明らかにした。他のケモカインの動態では Th1 ケモカインである IP-10 が、SJS/TEN の急性期に上昇していることが明らかになった。

B) ヘルペスウイルスの変動

DIHS、SJS、TEN などの重症薬疹において real-time PCR assay を用いて経時的にヘルペスウイルス DNA 量の変動を検索した。この結果、SJS において急性期から回復後にかけて、末梢白血球中の Epstein-Barr virus (EBV)DNA が DIHS や TEN に比較して有意に多く検出された。また、末梢白血球中のヘルペスウイルス DNA 量の変動と全身性ステロイド治療との関係では DIHS、SJS、TEN で cytomegalovirus(CMV)や HHV-6 はステロイド投与群で高値であったが、EBV DNA 量はステロイド非投与群で高値を呈していた。基盤にあるウイルス感染が薬疹の臨床病型や予後に関与している可能性とステロイド投与の与える影響が、ウイルスにより異なることが示唆された。

また、DIHS 原因薬 (カルバマゼピン) 内服群と非内服コントロール群について、唾液中の HHV-6、HHV-7 の定量を行った。その結果、唾液中 HHV-6 については、カルバマゼピン内服群の平均値 : 2,730 コピー/ml、非内服群の平均値 : 7,430 コピー/ml で、両群間に有意差は見られず、また、内服期間と HHV-6 量との間にも明らかな相関は見られなかった。また、HHV-7 についても、内服群の平均値 : 353,000 コピー/ml、非内服群の平均値 : 126,000 コピー/ml で、内服群の方がやや高値を示したものの両群間に有意差は見られなかった。ただし、4年以上の内服歴を有する7人のうち2人で HHV-7 が 1,000,000 コピー/ml 以上と著しく高い値を呈した。さらに、DIHS における唾液中ウイルス動態では、唾液中 HHV-6、HHV-7 の量は、発症3週間目頃から上昇が見られた。3例中1例は発症後3か月の時点でも HHV-6: 10,000 コピ

一/ml 以上、HHV-7: 1,000,000 コピー/ml 以上と高値を持続していることが明らかになった。

C) リンパ球・好塩基球を用いた薬疹検査法の検証

重症薬疹の病態に T 細胞免疫が重要であることから、薬剤リンパ球刺激試験(DLST)で検出できる免疫反応における T 細胞について検討した。従来の 3H-thymidine の取り込みを検出する DLST を、今回確立したフローサイトメトリー(FCM)を用いた DLST で、5-(and-6)-carboxy fluorescein 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した。SJS の急性期では CD8 陽性 T 細胞が優位に増殖している症例がみられたが、DIHS の急性期では CD8 陽性 T 細胞が、回復期では CD4 陽性 T 細胞が分裂している症例がみられた。従来の DLST が薬疹の臨床経過中に陽性を示しても、検出している免疫反応は、薬疹の病期によって、全く異なる場合があることが判明した。

好塩基球を対象とした検査法である basophil activation test (BAT)について検討した。その結果、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、遅延型でも多くの陽性所見が得られた。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。テラプレビルの薬疹に関しては、前向き試験として DLST と BAT を同時に施行し、後期に発疹を呈した例で BAT が陽性になる傾向が認められた。また、テラプレビル投与前にその DLST、BAT 陽性になる例では、治療中に発疹が出現する例が多い傾向が観察された。

D) 皮膚病理組織学的検証

TEN の表皮内に認められる単球は、表皮障害の結果、浸潤してきたと考えられてきた。そこで、TEN の病変を形成する前の、臨床的には紅斑のない無疹部皮膚における CD16 陽性単球の浸潤の有無を検討した。その結果、多くの検体で、真皮内あるいは表皮真皮境界部に接着する CD16 陽性細胞の存在を確認した。

また、表皮障害に CD16 陽性単球が直接的に関与する可能性を考え、表皮内および表皮真皮境界部に浸潤する CD16 陽性単球の数を検討した。播種状紅斑丘疹型、多形紅斑型を含め、表皮障害の程度を 0 から IV にグレード分類し検討した。この結果、CD45RO 陽性細胞の数は表皮障害の程度と相関しなかったが、CD16 陽性細胞は、表皮障害が強くなるにつれて増加していた。また、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 の発現と血清中における変動を検索し、加えて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、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、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。

さらに、SJS/TEN の皮膚病理組織の特徴である表皮細胞死について検証した。この結果、SJS/TEN で検出される細胞死は形態的には「ネクローシス」であり、SJS/TEN の細胞死誘導は、プログラムされた「ネクローシス」に特異的なシグナルを介して生じる「ネクロプトーシス」であることを示した。すなわち、従来、SJS/TEN で認められる細胞死について「アポトーシス」とされてきた機序とは全く異なる機序で生じている現象であることを解明した。

SJS/TEN、DIHS において浸潤しているリンパ球サブセットの解析では、SJS/TEN では IL-17 産生 CD4 陽性細胞が優位に浸潤しているのに対して、DIHS では制御性 CD4 陽性細胞が優位に浸潤していることを見いだした。

DIHS の発症メカニズムについては、DIHS でみられる HHV-6 を内在する循環単球様細胞は、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 であることを検証した。

E) 動物モデル作成の試み

動物モデルの開発研究では、薬疹の発症に関わる制御性 T 細胞の役割に注目し、全身的に Foxp3 陽性制御性 T 細胞除去可能なマウスを作製した。このマウスに CD8 陽性 T 細胞を移入して、Foxp3 陽性制御性 T 細胞の除去を試みたところ、SJS/TEN 様の皮膚炎がもたらされ、薬疹動物モデルとして有用であることを明らかにした。また、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も重症薬疹モデルマウスの作成に成功した。

3. 早期診断法・治療法の確立

SJS/TEN では CD16 陽性細胞が病態形成に重要であること、皮膚組織で表皮真皮境界部に多数の CD16 陽性細胞が特異的に検出される事実から、SJS/TEN の初期診断法を開発した。すなわち、凍結皮膚切片を用いて表皮真皮境界部に多数の CD16 陽性細胞を検出する迅速病理診断法で、この方法はスタンプ標本としても応用できる可能性を示した。

TEN の治療法の後方視的な研究では、TEN (SCORTEN: TEN-specific severity illness score, 2.9)におけるステロイドパルス療法と血漿交換療法を併用する有用性を検討した。この結果、ステロイドパルス療法単独よりステロイドパルス療法直後に血漿交換療法を施行する併用療法が、死亡率が低く、後遺症の出現も認められないことを明らかにした。この結果は SCORTEN の予測死亡率 35%に比較しても有意に低い結果であった。

DIHS の治療においては、ステロイドの投与などにおいて各施設間に治療法に格差があり、標準的治療を確立しにくい現状にあった。しかし、本研究で各研究者施設の重篤な経過を呈した多数の症例を集積して詳細に検証し、DIHS 治療指針を策定し発信した。

SJS/TEN の治療法の新たな確立をめざして、SJS/TEN への免疫グロブリン製剤大量投与の治験進行の

ために、診断に必要な資料提供や治療評価基準作成に参加し、研究分担者施設は治験参加施設として協力した。

4. 眼科的后遺症の検討・予後調査

SJS と TEN のうち眼障害を伴った症例について患者背景、原因薬剤、眼所見、治療などを多変量解析に基づく探索的解析を実施した。この結果、眼障害の程度は発症年齢と被疑薬に大きく影響を受け、発症年齢が 45 歳未満の若年齢で眼障害が重度になりやすく、若年齢症例でも被疑薬が抗てんかん薬であった場合には軽度になりやすいことが判明した。45 歳以上では、被疑薬が抗生物質であれば重度になりやすく、それ以外の被疑薬であっても NSAID でなければ重症化しにくいことが示唆された。すなわち、抗痙攣薬や高尿酸治療薬などによる眼合併症発症率に比較して感冒薬に関連して発症する眼合併症が有意に高いことが始めて判明した。

DIHS の予後について、単独施設で preliminary に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の 2 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いことを確認した。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検出された。予後調査結果では DIHS の転帰に関しては、DIHS の長期予後調査を施行し、154 例の DIHS 患者が集積された。この中で、回復後に 7 名が自己免疫性甲状腺炎（バセドー病、橋本病、無痛性甲状腺炎）を発症していた。また、アロプリノールによる DIHS では、腎障害が DIHS 回復から遅れて悪化し、透析を必要とするまで悪化した患者が 2 名認められた。自己抗体の検索、SJS(31 人)、TEN(19 人)、DIHS(9 人)では、抗 desmoplakin I (250Kda) 抗体、desmoplakin II (210Kda) 抗体、periplakin (190Kda) 抗体、periplakin(N1-324) 抗体を Immunoblotting(on Hacat cell lysate, on recombinant periplakin) を用いて測定し、92.6%の DIHS 患者がいずれかの plakin family に対する抗体を有していた。また、経時的に血清採取した症例の抗 periplakin(N1-324) 抗体価は、SJS/TEN 患者では 11 例中 5 例においてその発現が約 1 ヶ月で消失していた。一方、DIHS 患者では抗体の発現が消失したのは 11 例中 4 例であり、多くの DIHS 症例で、長期にわたりその発現が持続していた。また、DIHS 患者で発症時に抗甲状腺抗体が陰性であった症例でも回復後に陽性を示す例が高率に存在していた。DIHS においては、治療やヘルペスウイルス再活性化との関連を解析した。この結果、保存的治療群と比較して、ステロイド治療群で抗核抗体や抗甲状腺抗体などの自己抗体の発現頻度が有意に少ないという結果を得た。

また、糖尿病学会と連携して全国の症例を集積し、DIHS 後の劇症 1 型糖尿病発症患者の調査結果を解析し、その成果を発表した。

5. 遺伝学的背景の検証

本邦ではカルバマゼピンによる薬疹の発症は HLA-A*3101 を有するヒトが有意に高いというこれまでの本調査研究班での結果を基に、本研究では HLA-A*3101 の保有患者群と非保有患者群に分けて LAMP 法による HLA-A*3101 の検出を確認した。その結果、感度、特異度 100%で保有患者を検出することが判明し、この LAMP 法による HLA-A*3101 の検出が、カルバマゼピンの薬疹回避に有用な検査法であることを示した。また、HLA-A*3101 を薬疹発症マーカーとしてとらえ、与薬に先行して遺伝子多型検査を施行する他施設共同研究を遂行した。現在、登録症例が 500 例を超え、統計的解析を進めている段階である。Allopurinol による重症薬疹患者の 6 例及び allopurinol を 3 ヶ月以上内服するも薬疹を発症していない対照患者 25 例において HLA 血清タイピング、HLA-B locus の遺伝子タイピングを施行した。HLA 血清タイピングでは B58 が患者群に高頻度に、HLA-B locus 遺伝子タイピングでは、B*5801 が高頻度に検出された。本邦における allopurinol による重症薬疹報告 19 例（うち B*5801 保有は 11 例）を含めて解析すると B*5801 の頻度は $P < 9.506 \times 10^{-6}$ 、OR : 64.30、95%CI: 3.524-1173.28 でさらに頻度が高かった。アジア、ヨーロッパ系人種における重症薬疹で B*5801 が高頻度に検出されており、本邦でも同様に B*5801 が allopurinol による重症薬疹の危険因子であることを示した。

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では、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せることで、疾患発症リスクが著明に上昇することを明らかにした。

6. 研究成果の国民への発信

国民への情報発信としては、薬疹のパンフレットを作成、ホームページを開設すると共に、策定した DIHS の治療指針について公開講演会、学会などで普及活動を行った。また、皮膚科学会、集会のみならず、小児科学会、内科、うつ病学会、アレルギー学会などで本研究成果を発表し、広く啓蒙することに務めた。また、重症薬疹治療に関して、皮膚科医による治療の向上をめざして、拠点病院講習会を開催し、ステロイドの初期投与量の選択、減量の際の注意、基礎疾患のある場合のステロイドの使用法などを検討した。また、本疾患が関連する国際学会には分担研究者、研究協力者に呼びかけて多くの参加者を募り、成果の発信を行った。また、本研究で得られた多くの成果を国際的雑誌に発表した。

D. 考察

SJS/TEN の全国の皮膚科専門医施設における調査により、発症率、原因薬剤、治療の現状、死亡率などが明らかになり学会誌に報告した。この成果は、今後の治療戦略に役立つと思われる。また、DIHS の

全国疫学実態調査から、発症年齢、性差、受療率、DIHS の臨床、原因薬剤、施行されている治療法、転帰、死亡などが始めて判明した。DIHS の原因薬については、抗痙攣薬の頻度が高い傾向は予想通りであったが、この抗痙攣薬の中で近年うつ病に適応拡大されたラモトリジンが上位から 3 位であることが注目された。今後、ラモトリジンについても注意を喚起していく必要がある。DIHS の治療については、大部分の例でステロイド治療が行われていたが、本研究班では推奨していないステロイドパルス療法が初期から多数の例で施行されていた。このような臨床治療実態を確認できたことは今後の治療普及の課題となると思われ、大きな意義があった。疾患登録データベース案を完成させ、現在入力実施を分担研究者間で試行する段階まで進めたことは、将来の利用へ向けた症例集積の第一歩となると評価できる。

発症機序に関する基礎研究では、多くのことが解明され、国内のみならず海外への多くの成果を発信することができた。SJS/TEN では初期に CD16 陽性細胞の変動、皮膚への浸潤が見られることが解明し、病態形成への新しい視点をもたらした。また、SJS/TEN 病態進展が急速で初期の試料検体が非常に得にくいという現状から、世界に先駆けて動物モデルを作成し、SJS/TEN 類似の病変を発現し得たことは大きな意義がある。このマウスモデルは病態解明の基礎研究に加えて、将来的に治療研究、創薬などの臨床応用に貢献するものと期待される。また、SJS/TEN の特徴として挙げられてきた細胞死の「アポトーシス」が、実は「ネクロトーシス」であるとする結果は、画期的な知見であり、遺伝的背景を含めて、発症誘導因子を明らかにできる可能性や SJS/TEN 特異的な新規治療法開発にも寄与することが考えられる。これらの結果は世界の重症多形滲出性紅斑の分野をリードする位置にあると評価できる。

重症多形滲出性紅斑の予後調査では DIHS 回復後に自己抗体産生や自己免疫疾患が出現することが判明し発信した。また、一部の自己免疫性水疱症に関する自己抗体は SJS/TEN でも産生されるが、DIHS と比べて短期間に消失することがはじめて示された。興味あることに、自己抗体の出現は DIHS の治療と密接に関係していることも判明した。DIHS 治療と転帰の解明は、今後の治療の選択へも影響を与える大きな要因となると考えられる。さらに、どのような病態が自己免疫現象を引き起こしやすいのか、経過中の臓器傷害、基礎疾患などを合わせて詳細な検索を進めることがこれからの課題である。このような薬疹発症から自己免疫現象発現までの経過を追求することは、自己免疫疾患全般の発症機序の解明に密接に繋がり、この成果は皮膚科のみならず、多くの分野に有益な情報を提供もたらず点で重要である。

以前から多形紅斑と SJS/TEN の初期診断の困難さがステロイド治療開始や眼の診療開始の遅延を招き、ひいては眼後遺症の出現をもたらすことが大きな問題であった。本研究成果として、皮膚凍結切片中あるいは水疱蓋の CD16 陽性細胞の検出が SJS/TEN の初期診断に有用であるとの成果は、鑑別診断に苦慮した際の 1 つの有用な手段になると評価できる。今後はさらに本迅速診断法の使用症例件数を増やして有用性をさらに高め、簡便に使用できるように進展させたい。また、診断についてはテラプレビルによる薬疹の評価から、臨床現場における多形紅斑と SJS の鑑別診断の困難さが鮮明に浮き彫りになった。本邦の SJS の診断基準には、皮疹について十分に記述されていないことが一因とも推測され、今後、診断基準の改訂をする場合には、1 つの検討項目として取り上げたいと考えている。

また、薬疹発症に関与する遺伝的子の解明結果を実際に用いる臨床研究に着手することができた。将来的には与薬の時点で、薬疹発症を予知してその発症を回避するシステムを構築することが望まれる。このシステムが世界に先駆けて形成されれば、本邦の重症薬疹は、より未病に近づき、死亡率低下に大きく貢献する。ひいては医療費削減に寄与すると思われる。

重症多形滲出性紅斑の治療に関しては、SJS/TEN のステロイド大量療法、ステロイドパルス療法、血漿交換療法については普及しつつある。本年度の研究ではさらに進展させて、TEN に対して、ステロイドパルス療法に引き続いて血漿交換療法を施行する併用療法が有用であることを見いだした。さらに症例を集積し、エビデンスを加えて諸外国に発信して行く必要がある。当研究班で研究し推奨している SJS/TEN の治療法は、諸外国で施行されている保存的療法に比較して有用で死亡率が低く、医療経費的にも安価で多くの利点を有しているため、今後も海外に発信していくことが重要である。一方、皮膚科の学会等の発表では DIHS 発症初期のステロイドパルス療法施行例における病態の増悪が注目されていた。本疫学研究結果でも多くの施設で DIHS に対して初期からステロイドパルス療法を行っているという実態が示され、これらの症例で予後不良になることが多いことが判明した。実際、DIHS の治療は SJS/TEN とは異なり、皮膚病変のみを目安に治療効果を評価できないこと、再燃時の対応の難しさ、サイトメガロウイルス再活性化への対応、他科における治療遂行などいくつかの問題点がある。現在、DIHS の治療についての発信が十分に普及していないという可能性が推測され、DIHS の標準的治療をさらに積極的に発信していくことが急務である。学会、講演会などで啓蒙していくと同時に、さらに、全国の拠点病院講習会などを開催していく必要がある。

本研究班の成果は、公開講演会での情報の提供に貢献し、また、研究成果は副作用被害判定専門家協議(医薬品医療機器総合機構)や、薬事・食品衛生審議会副作用・感染等被害判定部会などでも頻用されており、社会的にも幅広く寄与していると考えられる。また、本研究代表者あるいは研究分担者(共同研究者)は、皮膚科学会などの教育講演の座長や口演者として活躍したのみならず、内科学会、神経科学会、小児科学会などの他科の学術講演にも参加し、啓蒙活動を行ってきた。今後、原因薬剤を投与する側の医師・薬剤師などを広く含めて臨床情報として提供すれば、薬疹発症をより減少に導くことが可能になる。研究成果の国際化に関しては、多数の分担研究者が世界的な薬疹専門学会へ招待されており、本研究成果を諸外国へ発信できたと評価できる。

E. 結論

疫学調査で治療の実態から、治療法についてさらなる普及活動が必要であることを示した。SJS/TEN の病態における画期的知見や動物モデル作成は今後、初期診断、創薬へ応用できる可能性を含んでおり、さらに、進展させる必要がある。また、薬疹の回復後の自己抗体産生、自己免疫疾患発現の解明は、自

己免疫疾患の解明につながる可能性があり、他科への成果の発信とともに継続する必要がある。眼後遺症出現に関わる因子の解明、遺伝子検査による与薬回避システム構築などは、将来的な患者の QOL の低下を未然に防ぐ点で大きな意義がある。これらの研究成果を臨床応用へ導けば、国民の医療の向上、医療費削減に大いに貢献すると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

研究成果の刊行に関する一覧を参照

2. 学会発表

塩原哲夫・青山裕美

<平成 25 年度>

- 1) 佐藤洋平, 平原和久, 狩野葉子, 塩原哲夫: 薬剤生過敏症症候群(DIHS)回復後に無痛性甲状腺炎を続発した 1 例. 日本皮膚科学会 第 852 回東京地方会(城西地区), 東京, 平成 25 年 12 月 21 日.
- 2) 倉田麻衣子, 平原和久, 佐藤洋平, 堀江千穂, 狩野葉子, 塩原哲夫: ラモトリギンによる薬疹—教室例の解析. 第 43 回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会, 金沢, 平成 25 年 12 月 1 日.
- 3) 平原和久, 佐藤洋平, 倉田麻衣子, 堀江千穂, 五味方樹, 狩野葉子, 塩原哲夫: 重症薬疹(DIHS/SJS/TEN)における治療経過中のサイトメガロウイルスの検討. 第 43 回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会, 金沢, 平成 25 年 11 月 30 日.
- 4) 堀江千穂, 平原和久, 狩野葉子, 塩原哲夫: 移植片対宿主病(GVHD)と同様の病態を考えた薬剤性過敏症症候群(DIHS)の 1 例. 第 43 回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会, 金沢, 平成 25 年 11 月 30 日.
- 5) 平原和久, 佐藤洋平, 堀江千穂, 五味方樹, 狩野葉子, 塩原哲夫: SJS/TEN の治療経過中のサイトメガロウイルスの検討. 第 112 回日本皮膚科学会総会, 横浜, 平成 25 年 6 月 15 日.
- 6) 青山裕美, 神谷浩二, 濱田利久林宏明², 藤本亘, 塩原哲夫, 岩月啓氏: 天疱瘡と類天疱瘡に対する二重膜濾過血漿交換療法と全血漿交換療法施行時の血清 IL-10 濃度の検討. 第 112 回日本皮膚科学会総会, 横浜, 平成 25 年 6 月 15 日.
- 7) **Shiohara T**: The role of virus in drug hypersensitivity syndrome. 8th International congress on cutaneous adverse drug reactions, Taipei, November 16, 2013.
- 8) Kano Y, **Shiohara T**: Therapeutic guidance of SCAR (SJS/TEN, DRESS/DIHS) from Japan. Pre-international congress on cutaneous adverse drug reactions meeting, Taipei, November 15, 2013.
- 9) Horie C, Hirahara K, Kano Y, **Shiohara T**: DIHS/DRESS presenting a variety of symptoms caused by cytomegalovirus reactivation. Pre-international congress on cutaneous adverse drug reactions meeting, Taipei, November 15, 2013.
- 10) Aoyama Y¹⁾, Ukida A¹⁾, Shirafuji Y¹⁾, Umemura H¹⁾, Kamiya K¹⁾, Ushigome Y, Kano Y, **Shiohara T**, Iwatsuki

K¹⁾: ¹⁾ Dermatology, Okayama University, Okayama, Tokyo. Steroid therapy during the acute stage of severe drug eruptions is associated with the generation of autoantibodies against epidermal proteins. 8th International congress on cutaneous adverse drug reactions, Taipei, November 16, 2013.

11) Mizukawa Y, **Shiohara Y**: Mechanisms insuring regulatory T cell recruitment in fixed drug eruption lesions. 8th International Congress on Cutaneous adverse drug reactions, Taipei, November 17, 2013.

12) Kurosawa M¹⁾, Kano Y, **Shiohara T**, Yokoyama K¹⁾: ¹⁾ Epidemiology and Environmental Health, Juntendo University Faculty of Medicine, Tokyo. Epidemiological and clinical characteristics of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in Japan. 8th International congress on cutaneous adverse drug reactions, Taipei, November 16-17, 2013.

13) Takahashi R, **Shiohara T**: Suppressive CD 14dimCD16+ monocytes contribute defective anti-viral immune responses in eczema herpeticum. International Investigative Dermatology 2013, Edinburgh, May 8-11, 2013.

14) Ushigome Y, Takahashi R, **Shiohara T**: CD16+patrolling monocytes(pMO)sensing HSV negatively control regulatory T cell (Treg)responses in severe drug eruptions. International Investigative Dermatology 2013. Edinburgh, May 8-11, 2013.

<平成 24 年度>

1) 狩野葉子, 牛込悠紀子, 石田正, 平原和久, **塩原哲夫**: 薬剤性過敏症症候群(DIHS)症例の予後の解析. 日本皮膚科学会第 81 回茨城地方会, つくば, 平成 25 年 3 月 9 日.

2) 倉田麻衣子, 平原和久, 五味方樹, 狩野葉子, **塩原哲夫**: 粘膜症状が強く認められたマイコプラズマ感染による Stevens-Johnson 症候群 (SJS) の 1 例. 第 847 回日本皮膚科学会東京支部地方会, 東京, 平成 25 年 1 月 19 日.

3) 平原和久, 小松由莉江, 石田正, **塩原哲夫**: 治療開始早期にサイトメガロウイルスが再活性化した DIHS の 1 例. 第 844 回日本皮膚科学会東京支部地方会, 東京, 平成 24 年 9 月 8 日.

4) 石田正, 牛込悠紀子, 平原和久, 狩野葉子, **塩原哲夫**: ラモトリギンによる薬疹の 5 例. 第 42 日本皮膚アレルギー接触皮膚炎学会総会学術大会, 長野, 平成 24 年 7 月 14 日.

5) 青山裕美, 神谷浩二, 濱田利久, 林宏明, 藤本亘, **塩原哲夫**, 岩月啓氏: IL-10 は二重膜濾過血漿交換療法と全血漿交換療法後に増加し、IL10 増加時には CMV 感染症が生じやすい. 第 42 日本皮膚アレルギー接触皮膚炎学会総会学術大会, 長野, 平成 24 年 7 月 13 日.

6) 何川宇啓, 福田知雄, 佐藤洋平, **塩原哲夫**: Coxsackie virus の関与が疑われた Stevens-Johnson syndrome(SJS) の 1 例. 第 842 回日本皮膚科学会東京支部地方会, 東京, 平成 24 年 6 月 16 日.

7) 佐藤洋平, 牛込悠紀子, 土肥孝彰, **塩原哲夫**: アトピー性皮膚炎における発汗異常. 第 111 回日本皮膚科学会総会, 京都, 平成 24 年 6 月 2 日.

8) Ukida A, Aoyama Y, Shirafuji Y, Umemura H, Kamiya K, **Shiohara T**, Iwatsuki K. Anti-periplakin antibodies in drug-induced hypersensitivity syndrome: pathogenic or clues to disease understanding? The 37th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology, Okinawa, December 7th, 2012.

9) Ushigome U, Takahaashi R,**Shiohara T**: Preferential elimination of patrolling monocyte sensing herpesvirus in drug-induced hypersensitivity syndrome. The 37th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology, Okinawa, December 8th, 2012.

10) Hirahara K, Kano Y, Sato Y, Horie C, Ishida T, **Shiohara T**: Methylprednisolone Pulse Therapy for