

本角膜学会総会、角膜カンファレンス 2014.  
宜野湾市、沖縄、2014. 1. 30.

12. 上田真由美、外園千恵、徳永勝士、澤井裕美、木下茂：重篤な眼粘膜障害を伴う感冒薬関連 SJS/TEN の HLA 解析. 第 38 回日本角膜学会総会、角膜カンファレンス 2014. 宜野湾市、沖縄、2014. 1. 30.
13. 篠宮 克彦、上田真由美、古賀 彩加、木下 茂：眼窩内・外涙腺摘出マウスドライアイモデルの有用性. 第 38 回日本角膜学会総会、角膜カンファレンス 2014. 宜野湾市、沖縄、2014. 2. 1.
14. 上田真由美、外園千恵、木下茂. アセトアミノフェン関連 Stevens-Johnson 症候群の HLA class I 解析. 第 118 回日本眼科学会総会. 東京、2014.4.4.

## 2) 海外

原著論文による発表 1 3 件  
口頭発表 1 5 件

## 論文発表

1. Ueta M: Epistatic interactions associated with stevens-johnson syndrome. *Cornea*. 2012 Nov; 31 Suppl 1:S57-62.
2. Ueta M, Sotozono C, Yamada K, Yokoi N, Inatomi T, Kinoshita S: Expression of prostaglandin E receptor subtype EP4 in conjunctival epithelium of patients with ocular surface disorders: case-control study. *BMJ Open*. 2012 Oct 11; 2(5).
3. Ueta M, Tokunaga K, Sotozono C, Sawai H, Tamiya G, Inatomi T, Kinoshita S: HLA-A\*0206 with TLR3 Polymorphisms Exerts More than Additive Effects in Stevens-Johnson Syndrome with Severe Ocular Surface Complications. *PLoS One*. 2012; 7(8):e43650.
4. Ueta M, Kinoshita S: Ocular surface inflammation is regulated by innate immunity. *Prog Retin Eye Res*. 2012; 31(6): 551-575.
5. Ueta M, Matsuoka T, Sotozono C, Kinoshita S: Prostaglandin E2 Suppresses Poly I: C-Stimulated Cytokine Production Via EP2 and EP3 in Immortalized Human Corneal Epithelial Cells. *Cornea*. 2012; 31(11): 1294-1298.
6. Ueta M, Tamiya G, Tokunaga K, Sotozono C, Ueki M, Sawai H, Inatomi T, Matsuoka T, Akira S, Narumiya S, Tashiro K, Kinoshita S: Epistatic interaction between Toll-like receptor 3 (TLR3) and prostaglandin E receptor 3 (PTGER3) genes. *J Allergy Clin Immunol*. 2012; 129(5): 1413-1416.e11.
7. Ueta M, Sotozono C, Yokoi N, Kinoshita S: Downregulation of monocyte chemoattractant protein 1 expression by prostaglandin e2 in human ocular surface epithelium. *Arch Ophthalmol*. 2012; 130(2): 249-251.
8. Tohkin M, Kaniwa N, Saito Y, Sugiyama E, Kurose K, Nishikawa J, Hasegawa R, Aihara M, Matsunaga K, Abe M, Furuya H, Takahashi Y, Ikeda H, Muramatsu M, Ueta M, Sotozono C, Kinoshita S, Ikezawa Z: A whole-genome association study of major determinants for allopurinol-related Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in Japanese patients. *Pharmacogenomics J*. 2013 Feb;13(1):60-9.
9. Isogai H, Miyadera H, Ueta M, Sotozono C, Kinoshita S, Tokunaga K, Hirayama N. In Silico Risk Assessment of HLA-A\*02:06-Associated Stevens-Johnson Syndrome and Toxic Epidermal Necrolysis Caused by Cold Medicine Ingredients. *J Toxicol*. 2013;514068.
10. Kaniwa N, Sugiyama E, Saito Y, Kurose K, Maekawa K, Hasegawa R, Furuya H, Ikeda H, Takahashi Y, Muramatsu M,

- Tohkin M, Ozeki T, Mushiroda T, Kubo M, Kamatani N, Abe M, Yagami A, Ueta M, Sotozono C, Kinoshita S, Ikezawa Z, Matsunaga K, Aihara M. Specific HLA types are associated with antiepileptic drug-induced Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in Japanese subjects. *Pharmacogenomics*. 2013. 14:1821-31
11. Ueta M, Mizushima K, Naito Y, Narumiya S, Shinomiya K, Kinoshita S. Suppression of polyI:C-inducible gene expression by EP3 in murine conjunctival epithelium. *Immunol Lett*. 2013 Sep 12. pii: S0165-2478(13)00121-1.
  12. Sotozono C, Inatomi T, Nakamura T, Koizumi N, Yokoi N, Ueta M, Matsuyama K, Miyakoda K, Kaneda H, Fukushima M, Kinoshita S: Visual Improvement after Cultivated Oral Mucosal Epithelial Transplantation. *Ophthalmology*. 2013; 120(1): 193-200.
  13. Watanabe A, Sotozono C, Ueta M, Katsuhiko Shinomiya, Kinoshita S, Kakizaki H, Selva D, FRANZCO F. Folliculitis in Clinically "Quiet" Chronic Stevens-Johnson syndrome. *Ophthal Plast Reconstr Surg*. 2014, 30:80-2.
- 学会発表
1. Ueta M: Genetic Predisposition of Stevens-Johnson Syndrome with Ocular Complications. APAO/SOE Busan 2012 , Busan, Korea, 2012.4.16.
  2. Ueta M: Earlier is Better for the Treatment of Stevens-Johnson Syndrom. APAO/SOE Busan 2012, Busan, Korea, 2012.4.13.
  3. Ueta M, Narumiya S, Kinoshita S: Suppression of TLR3-Inducible Gene Expression by EP3 in Conjunctival Epithelium. 2013 Annual Meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Seattle, Washington, USA, 2013.5.6.
  4. Ueta M, Matsuoka T, Narumiya S, Akira S, Kinoshita S: Epistatic interaction between TLR3 and ptger3 genes in experimental allergic conjunctivitis. 2012 Annual Meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Fort Lauderdale, Florida, USA, 2012.5.8.
  5. Yamada K, Ueta M, Sotozono C, Yokoi N, Inatomi T, Kinoshita S: Toll-like receptor subtype Tlr5 expression in human conjunctival epithelium in various cicatricial corneal conjunctival disorders. 2012 Annual Meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Fort Lauderdale, Florida, USA, 2012.5.8.
  6. Ueta M, Tokunaga K, Sotozono C, Sawai H, Tamiya G, Inatomi T, Kinoshita S: HLA-A\*0206 and TLR3 SNPs are jointly predisposed with more than an additive effect to stevens-johnson syndrome with severe ocular complications. 16th International HLA and Immunogenetics Workshop, Liverpool, U.K. 2012.6.1.
  7. Ueta M, Matsuoka T, Narumiya S, Akira S, Kinoshita S: EP3 Negatively Regulates TLR3 dependent eosinophilic infiltration of allergic conjunctivitis. European Academy of Allergy and Clinical Immunology Congress 2012, Geneva, Switzerland, 2012.6.17.
  8. Ueta M, Sotozono C, Kinoshita S: HLA analysis of cold medicine related Stevens-Johnson syndrome with ocular complication in Japan. 2013 Annual Meeting of the Asian Association for Research in Vision and Ophthalmology (Asian ARVO), New Delhi,

- India, 2013.10.29.
9. Ueta M, Sotozono C, Tokunaga K, Kinoshita S: HLA MARKERS OF COLD MEDICINE RELATED STEVENS-JOHNSON SYNDROME. 8th International Cutaneous ADR Congress (ISCAR 2013), 桃園、台湾、2013. 11.17.
  10. Ueta M, Mizushima K, Naito Y, Narumiya S, Kinoshita S. Suppression of poly(I:C)-inducible gene expression by EP3 in murine conjunctival epithelium. ISMA International Symposium on Molecular Allergology (ISMA) 2013, Vienna, Austria, 2013.12.5.
  11. Ban Y, Tsujimoto J, Yamada K, Ueta M, Kinoshita S. The Change of the Barrier Function in hTERT Immortalized Corneal and Conjunctival Epithelia by Poly(I:C) Challenge. 2014 World Ophthalmology Congress of the International Council of Ophthalmology. Tokyo, Japan, 2 April 2014.
  12. Kaniwa N, Ueta M, Nakamura R, Sugiyama E, Maekawa K, Takahashi Y, Furuya H, Yagami A, Matsukura S, Ikezawa Z, Matsunaga K, Sotozono C, Aihara M, Kinoshita S, Saito Y. Medication tendencies for inducing severe ocular surface symptoms in Japanese Stevens-Johnson syndrome / toxic epidermal necrolysis patients. The 6th International Drug Hypersensitivity Meeting, Bern, Switzerland 10 April 2014.
  13. Nakamura R, Kaniwa N, Ueta M, Sotozono C, Sugiyama E, Maekawa K, Yagami A, Matsukura S, Ikezawa Z, Matsunaga K, Katsushi T, Aihara M, Kinoshita S, Saito Y. HLA association with antipyretic analgesics-induced Stevens-Johnson syndrome / toxic epidermal necrolysis with severe ocular surface complications in Japanese patients. The 6th International Drug Hypersensitivity Meeting, Bern, Switzerland 10 April 2014.
  14. Ueta M, Sotozono C, Sawai H, Tokunaga K, Kinoshita S. Strong association between HLA-A\*02:06 and Acetaminophen-related Stevens-Johnson syndrome with severe mucosal involvements in the Japanese. The 6th International Drug Hypersensitivity Meeting, Bern, Switzerland 10 April 2014.
  15. Ueta M: Ocular Surface Inflammation and Ocular Surface Epithelial Cells. Biology & Pathobiology of the Cornea, Gordon Conference, Ventura, CA, USA, February 19, 2014.
- G. 知的所有権の取得状況**
1. 特許取得  
なし
  2. 実用新案登録  
なし
  3. その他  
なし

## II. 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

書籍・総説

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
狩野葉子	薬疹に対する使い方, 予期せぬ結果とその対策	塩原哲夫	Visual Dermatology 11(6)	学研メディカル秀潤社	東京	2012	610-613
外園千恵	総論 眼科・皮膚科の境界領域となる疾患とともに診るべき疾患	外園千恵 加藤則人	Visual Dermatology 12(2)	学研メディカル秀潤社	東京	2013	110-112
上田真由美 外園千恵	Stevens-Johnson 症候群の眼障害	外園千恵 加藤則人	Visual Dermatology 12(2)	学研メディカル秀潤社	東京	2013	172-174
上田真由美、 外園千恵	重篤な眼合併症を伴う Stevens-Johnson 症候群ならびに中毒性表皮壊死症	中澤 満	臨床眼科 2013 年 増刊号 67(11)	医学書院	東京	2013	132
狩野葉子	見逃したくない皮膚症状～全身疾患を診断するための考え方 薬剤性過敏症症候群	宮地良樹	Modern Physician 33(8)	新興医学出版社	東京	2013	995-998
狩野葉子	薬剤性過敏症症候群の治療		臨床免疫・アレルギー科 59(4)	科学評論社	東京	2013	471-476
鹿庭なほ子	重症薬疹の関連遺伝子多型	藤枝重治	アレルギー・免疫 20(11)	医薬ジャーナル社	大阪	2013	1814-1823
Descamps V, Tohyama M, Kano Y, Shiohara T	HHV-6A and HHV-6B in drug-induced hypersensitivity syndrome/drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms. In	Flamand L, Lautenschlager I, Krueger G, Abrashi D	Human herpesviruses HHV-6A, HHV-6B, and HHV-7, Diagnosis and clinical management. 3rd Ed	Elsevier Science	New York	2014	179-200

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年	
中路進之助, 上田真由美, 外園千恵, 稲富勉, 木下茂	眼合併症を伴う日本人 Stevens-Johnson 症候群の HLA class I 解析	日本眼科学会雑誌	116(6)	581-587	2012	*
日野智之、外園千恵、稲富勉、福岡秀記、中村隆宏、永田真帆、小泉範子、森和彦、横井則彦、木下茂	羊膜移植の適応と効果	日本眼科学会雑誌	116(4)	374-378	2012	

狩野葉子、塩原哲夫	重症薬疹の治療指針	臨皮	66(5)	115-118	2012	
鹿庭なほ子	重篤副作用発現の遺伝子マーカー	月刊薬事	54	43-48	2012	
斎藤嘉朗、前川京子、鹿庭なほ子	日本人を対象にしたゲノム・メタボローム解析によるバイオマーカー探索	Pharmstage	9	1月4日	2012	
稲岡峰幸、狩野葉子、塩原哲夫	フェニトインによる薬疹後に帯状疱疹を続発した例	皮膚病診療	35	35-38	2013	
Ueta M, Tokunaga K, Sotozono C, Sawai H, Tamiya G, Inatomi T, Kinoshita S	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	2012	*
Ueta M, Sotozono C, Yamada K, Yokoi N, Inatomi T, Kinoshita S	Expression of prostaglandin E receptor subtype EP4 in conjunctival epithelium of patients with ocular surface disorders: case-control study.	BMJ Open	2(5)	e001330	2012	
Ueta M, Matsuoka T, Sotozono C, Kinoshita S	Prostaglandin E2 Suppresses Poly I: C-Stimulated Cytokine Production Via EP2 and EP3 in Immortalized Human Corneal Epithelial Cells.	Cornea	31(11)	1294-1298	2012	
Ueta M, Tamiya G, Tokunaga K, Sotozono C, Ueki M, Sawai H, Inatomi T, Matsuoka T, Akira S, Narumiya S, Tashiro K, Kinoshita S	Epistatic interaction between Toll-like receptor 3 (TLR3) and prostaglandin E receptor 3 (PTGER3) genes.	J Allergy Clin Immunol	129(5)	1413-1416	2012	*
Ueta M, Sotozono C, Yokoi N, Kinoshita S	Downregulation of monocyte chemoattractant protein 1 expression by prostaglandin e2 in human ocular surface epithelium.	Arch Ophthalmol	130(2)	249-251	2012	
Ushigome Y, Kano Y, Ishida T, Hirahara K, Shiohara T	Short- and long-term outcomes of 34 patients with drug-induced hypersensitivity syndrome in a single institution.	J Am Acad Dermatol	68(5)	721-728	2012	
Kaido M, Yamada M, Sotozono C, Kinoshita S, 他5名	The relation between visual performance and clinical ocular manifestations in stevens-johnson syndrome.	Am J Ophthalmol	154(3)	499-511	2012	*
Ushigome Y, Kano Y, Hirahara K, Shiohara T	Human herpesvirus 6 reactivation in drug-induced hypersensitivity syndrome and DRESS validation score.	Am J Med	125(7)	e9-e10	2012	
Shiohara T, Kano Y, Takahashi R, Mizukawa Y	Drug-induced hypersensitivity syndrome: recent advances in the diagnosis, pathogenesis and management.	Chem Immunol Allergy	97	122-138	2012	
Maekawa K, Nishikawa J, Kaniwa N, Sugiyama E, Koizumi K, Kurose K, Tohkin T, Saito Y	Development of a rapid and inexpensive assay for detecting a surrogate genetic polymorphism of HLA-B*5801: a partially predictive but useful biomarker for allopurinol-related Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis in Japanese.	Drug Metabol Pharmacokinet	27(4)	447-450	2012	
Ueta M	Epistatic interactions associated with stevens-johnson syndrome.	Cornea	31	57-62	2012	
Ueta M, Kinoshita S	Ocular surface inflammation is regulated by innate immunity.	Prog Retin Eye Res	31(6)	551-575	2012	

<b>Ueta M, Sotozono C, Yokoi N, Kinoshita S</b>	Downregulation of monocyte chemoattractant protein 1 expression by prostaglandin e2 in human ocular surface epithelium.	Arch Ophthalmol	130(2)	249-251	2012	
<b>Sotozono C, Fukuda M, Ohishi M, Yano K, Origasa H, Saiki Y, Shimomura Y, Kinoshita S</b>	Vancomycin Ophthalmic Ointment 1% for methicillin-resistant Staphylococcus aureus or methicillin-resistant Staphylococcus epidermidis infections: a case series.	BMJ Open	3(1)	e001206	2013	
Hirahara K, <b>Kano Y</b> , Asano Y, Shiohara T	Osteonecrosis of the femoral head in a patient with Henoch-Schönlein purpura and drug-induced hypersensitivity syndrome treated with corticosteroids.	Acta Derm Venereol	93(1)	85-86	2013	
<b>Kaniwa N</b> and Saito Y	Biomarkers associated with severe cutaneous adverse reactions.	Dermatotoxicology	8	431-439	2013	
Tohkin M, <b>Kaniwa N</b> , Saito Y, Sugiyama E, Kurose K, Nishikawa J, Hasegawa R, Aihara M, Matsunaga K, Abe M, Furuya H, Takahashi Y, Ikeda H, Muramatsu M, <b>Ueta M, Sotozono C, Kinoshita S, Ikezawa Z.</b>	A whole-genome association study of major determinants for allopurinol-related Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in Japanese patients.	Pharmacogenomics J	13(1)	Sep-60	2013	*
<b>Sotozono C</b> , Inatomi T, Nakamura T, Koizumi N, Yokoi N, <b>Ueta M</b> , Matsuyama K, Miyakoda K, Kaneda H, Fukushima M, Kinoshita S.	Visual Improvement after Cultivated Oral Mucosal Epithelial Transplantation.	Ophthalmol	120(1)	193-200	2013	*
Isogai H, Miyadera H, <b>Ueta M, Sotozono C</b> , Kinoshita S, Tokunaga K, Hirayama N.	In Silico Risk Assessment of HLA-A*02:06-Associated Stevens-Johnson Syndrome and Toxic Epidermal Necrolysis Caused by Cold Medicine Ingredients.	J Toxicol	2013(2013)	514068	2013	*
<b>Kaniwa N</b> , Sugiyama E, Saito Y, Kurose K, Maekawa K, Hasegawa R, Furuya H, Ikeda H, Takahashi Y, Muramatsu M, Tohkin M, Ozeki T, Mushiroda T, Kubo M, Kamatani N, Abe M, Yagami A, <b>Ueta M, Sotozono C</b> , Kinoshita S, Ikezawa Z, Matsunaga K, Aihara M, Japan Pharmacogenomics Data Science Consortium.	SpecificHLA types are associated with antiepileptic drug-induced Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in Japanese subjects.	Pharmacogenomics	14(15)	1821-1831	2013	*
<b>Ueta M, Sotozono C, Yokoi N, Kinoshita S.</b>	Rebamipide suppresses PolyI:C-stimulated cytokine production in human conjunctival epithelial cells.	J Ocul Pharmacol Ther	29(7)	688-693	2013	
<b>Kano Y</b> , Shiohara T.	Long-term outcome of patients with severe cutaneous adverse reactions.	Dermatologica Sinica	31	211-216	2013	*
Hirahara K, <b>Kano Y</b> , Sato Y, Horie C, Okazaki A, Ishida T, Aoyama Y, Shiohara T.	Methylprednisolone pulse therapy for Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis: Clinical evaluation and analysis of biomarkers.	J Am Acad Dermatol	69	496-498	2013	*
Ushigome Y, <b>Kano Y</b> , Ishida T, Hirahara K, Shiohara T.	Short-and long-term outcomes of 34 patients with drug-induced hypersensitivity syndrome in a single institution.	J Am Acad Dermatol	68	721-728	2013	
<b>Ueta M</b> , Mizushima K, Naito Y, Narumiya S, Shinomiya K, Kinoshita S.	Suppression of polyI:C-inducible gene expression by EP3 in murine conjunctival epithelium. Immunol Lett.	Immunol Lett	159(1-2)	May-73	2013	

Kinoshita S, Awamura S, Nakamichi N, Suzuki H, Oshiden K, Yokoi N, <b>Rebamipide Ophthalmic Suspension Long-term Study Group.</b>	A multicenter, open-label, 52-week study of 2% rebamipide (OPC-12759) ophthalmic suspension in patients with dry eye.	Am J Ophthalmol	157(3)	576-583	2014	
Watanabe A, <b>Sotozono C, Ueta M,</b> Shinomiya K, Kinoshita S, Kakizaki H, Selva D.	Folliculitis in clinically "quiet" chronic Stevens-Johnson syndrome.	Ophthal Plast Reconstr Surg	30(1)	80-82	2014	
<b>Ueta M, Kaniwa N, Sotozono C,</b> Tokunaga K, Saito Y, Sawai H, Miyadera H, Sugiyama E, Maekawa K, Nakamura R, Nagato M, Aihara M, Matsunaga K, Takahashi Y, Furuya H, Muramatsu M, Ikezawa Z, Kinoshita S.	Independent strong association of HLA-A*02:06 and HLA-B*44:03 with cold medicine-related Stevens-Johnson syndrome with severe mucosal involvement.	Sci Rep	4	4862	2014	
Shiohara T, Ushigome U, <b>Kano Y.</b>	Crucial role of viral reactivations in the development of severe drug eruptions.	Clinical Reviews in Allergy & Immunology	in press		2014	
<b>Kaniwa N, Saito Y.</b>	The risk of cutaneous adverse reactions among patients with the HLA-A* 31:01 allele who are given carbamazepine, oxcarbazepine or eslicarbazepine: a perspective review.	Therapeutic Advances in Drug Safety	in press			

\*印の論文を本報告書に添付する。



### III. 資料・研究成果の刊行物・別刷



## 不意の高熱と発疹、 もしかしたらSJS/TENの 可能性があります。



SJS/TEN  
セルフチェック

後遺症が残る可能性が高い眼の  
症状・診断・治療情報を提供し  
ています

SJSと、その重症型であるTENは、  
突然の高熱とともに、全身の皮膚と粘膜  
に発疹と水ぶくれを生じます。重い薬剤  
副作用（重症薬疹）として位置づけられ  
ておりますが、発症頻度の少ない、稀な  
疾患であることから、この病気に詳しい  
医師は多くはありません。

7-8割程度に眼の症状を合併し、急性  
期に眼障害を伴った場合には、全身状態  
が回復しても、視力障害と重症ドライ  
アイが後遺症となることがあります。  
本サイトは、これらの疾患にかかった患  
者さんご支援を目的として、特に眼の  
症状を中心として診断、治療、社会保  
険等に関する情報を提供しています。

### 眼の後遺症で悩んでいる方へ

#### 眼の後遺症

SJS/TENと診断された方は眼を中心  
とした後遺症をしっかりと理解しまし  
よう。

[詳しくはこちら](#)

#### 眼の治療

眼の治療法にはいくつかの種類があり  
ます。

[詳しくはこちら](#)

#### 新しい治療に興味ある方へ

自家培養口腔粘膜上皮シート移植の開  
発により先進医療が受けられるよう  
になりました。

[詳しくはこちら](#)

#### 過去の講演集

専門医や患者会の講演記録をまとめ  
ています。

[詳しくはこちら](#)

### 急な症状で悩んでいる方へ

#### 急な発疹・眼が赤いとき

急な症状が出た方は慌まず、まず症状  
を確認しましょう

[詳しくはこちら](#)

#### SJS/TENとは

SJS/TENは薬によって発症する病気  
です。皮膚症状だけだと思われがちで  
すが、眼の治療も大切です。

[詳しくはこちら](#)

#### 急性期の症状

誰でも起こりうるSJS/TEN。急な症  
状で判断を誤らぬよう症状を理解しま  
しょう。

[詳しくはこちら](#)



[? Q&A\(準備中\)](#)

[用語辞典\(準備中\)](#)

[患者体験談\(準備中\)](#)

[リンク集](#)

[著作権について](#)

京都府立医科大学  
附属病院

重症薬疹

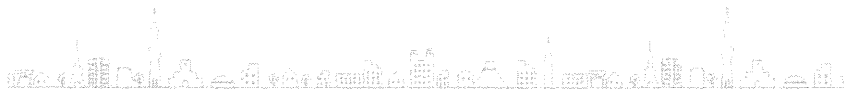
患者会

重篤副作用疾患別  
対応マニュアル

研究紹介

#### 更新履歴

2014年3月31日：SJS/TEN情報サイトを公開しました。



- ▶ 急な症状で悩んでいる方へ
  - ▶ 急な発疹・眼が赤いとき
  - ▶ SJS/TENとは
  - ▶ 急性期の症状
- ▶ 眼の後遺症で悩んでいる方へ
  - ▶ 眼の後遺症
  - ▶ 眼の治療
  - ▶ 医療費助成制度
  - ▶ 新しい治療に興味ある方へ
  - ▶ 過去の講演集
- ▶ 重症薬疹
- ▶ 患者会
- ▶ 重篤副作用疾患別対応マニュアル
- ▶ 研究紹介
- ▶ 著作権について
- ▶ Q&A(準備中)
- ▶ 用語辞典(準備中)
- ▶ 患者体験談(準備中)
- ▶ リンク集



【医療従事者専用】ステevens・ジョンソン症候群/中毒性表皮壊死症 情報サイト

患者支援に基づくSJS/TEN後遺症の発症予防と  
治療法の確立に関する研究

学術情報 | リンク | お問い合わせ

SJS/TEN眼の障害  
について

診断ポイント

治療法について

最新の研究紹介

医療費助成制度

研究室からの  
メッセージ

## はじめに

Stevens-Johnson症候群 (Stevens-Johnson syndrome, SJS) と中毒性表皮壊死融解症 (toxic epidermal necrolysis, TEN) は、高熱を伴って全身に発疹が出現し、眼や口腔などの粘膜に水疱やびらんが出現する疾患です。重篤であるほどに全身管理が主体となりますが、およそ70%程度で眼病変を伴っており、発症時に眼表面にも著しい炎症を生じています。これらの疾患を治療するにあたっては眼科的病態を理解した上で、発症初期より適切な眼科治療を行うことが重要です。



## 更新履歴

- 2013年 12月 31日 SJS/TEN眼の障害についての記事を追加しました
- 2013年 12月 22日 治療法についての記事を追加しました
- 2013年 12月 10日 最新の研究紹介を追加しました
- 2013年 12月 5日 診断ポイントを追加しました
- 2013年 12月 1日 治療法についての記事を追加しました

## SJS/TEN症例登録

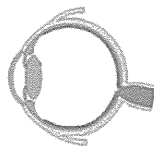
MVC ONLINE  
powered by MVC-online

2014年  
角膜再生医療に  
関する患者募集



## サイトコンセプト

サンプルテキストサンプルテキストサンプルテキスト  
サンプルテキストサンプルテキストサンプルテキスト  
サンプルテキストサンプルテキストサンプルテキスト  
サンプルテキストサンプルテキストサンプルテキスト  
サンプルテキストサンプルテキストサンプルテキスト  
サンプルテキストサンプルテキストサンプルテキスト  
サンプルテキストサンプルテキストサンプルテキスト  
サンプルテキストサンプルテキストサンプルテキスト



- サンプルテキストサンプルテキストサンプルテキストサンプルテキスト
- サンプルテキストサンプルテキストサンプルテキストサンプルテキストサンプルテキストサンプルテキストサンプルテキスト
- サンプルテキストサンプルテキストサンプルテキストサンプルテキストサンプルテキストサンプルテキスト

京都府立医科大学  
附属病院



### ▶ SJS/TEN眼の障害について

- ▶ サンプルテキストサンプルテキスト
- ▶ サンプルテキストサンプルテキスト
- ▶ サンプルテキストサンプルテキスト
- ▶ サンプルテキストサンプルテキスト

### ▶ 診断ポイント

- ▶ サンプルテキストサンプルテキスト
- ▶ サンプルテキストサンプルテキスト
- ▶ サンプルテキストサンプルテキスト

### ▶ 治療法について

- ▶ サンプルテキストサンプルテキスト
- ▶ サンプルテキストサンプルテキスト
- ▶ サンプルテキストサンプルテキスト
- ▶ 最新の研究紹介
- ▶ サンプルテキストサンプルテキスト
- ▶ サンプルテキストサンプルテキスト

### ▶ 医療費助成制度

- ▶ 研究室からのメッセージ

### ▶ 学術情報

- ▶ リンク
- ▶ お問い合わせ
- ▶ SJS/TEN症例登録
- ▶ 2014年角膜再生医療に関する患者募集

## 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<sup>1)</sup>, 上田真由美<sup>1)2)</sup>, 外園 千恵<sup>1)</sup>, 稲富 勉<sup>1)</sup>, 木下 茂<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>京都府立医科大眼科学教室, <sup>2)</sup>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 Nakaji<sup>1)</sup>, Mayumi Ueta<sup>1)2)</sup>, Chie Sotozono<sup>1)</sup>, Tsutomu Inatomi<sup>1)</sup> and Shigeru Kinoshita<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Ophthalmology, Kyoto Prefectural University of Medicine

<sup>2)</sup>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上ル梶井町 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<sup>1)2)</sup>. 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<sup>3)4)</sup>. 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<sup>5)</sup>, 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, 結膜びららを伴う<sup>6)7)</sup> (図 a). 広範囲に眼表面のびらん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<sup>8)9)</sup>. 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<sup>10)11)</sup>. 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と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<sup>10)11)</sup>. 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.

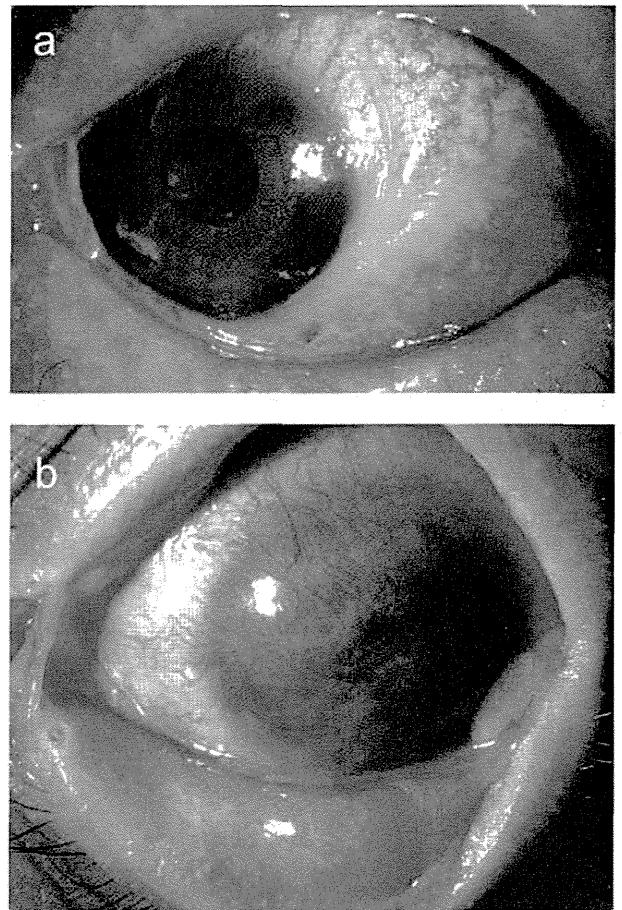


図 Stevens-Johnson 症候群 (SJS)/中毒性表皮壊死融解症 (TEN) の眼所見.

- a : 急性期 SJS/TEN の眼所見. 結膜充血, 偽膜, 角膜びらん, 結膜びらんを認める.  
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<sup>10)11)</sup>, 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) に相関を認めしたが, 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<sup>10)</sup>, 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 ( $\chi^2$ )	オッズ比	SJS/TEN (n=236)	正常対照 (n=440)	p 値 ( $\chi^2$ )	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)	$1.91 \times 10^{-10}$	5.16	23.3% (55/236)	6.8% (30/440)	$7.14 \times 10^{-9}$	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% (42/226)	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 ( $\chi^2$ )	オッズ比	SJS/TEN (n=118)	正常対照 (n=220)	p 値 ( $\chi^2$ )	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<sup>8)</sup>, また, 1986 年にフランス人の皮膚科医 Roujeau らが<sup>9)</sup>, 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 ( $\chi^2$ )	オッズ比	SJS/TEN (n=236)	正常対照 (n=440)	p 値 ( $\chi^2$ )	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<sup>12)</sup>。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<sup>13)</sup>。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<sup>14)</sup>。我々の解析でも、

HLA-B\*1502 は、対照でわずか 1 例認めただのみであった。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<sup>15)</sup>。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<sup>16)</sup>。このアロプリノールと HLA-B\*5801 との相関は、白人でも<sup>17)</sup>、日本人でも<sup>18)</sup>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<sup>19)20)</sup>。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<sup>21)</sup>。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<sup>6)7)</sup>。これらの患者の約 8 割は感冒様症状を最初に自覚し、その後薬剤投与がなされて高熱、発疹を生じている<sup>6)7)21)</sup>。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<sup>22)~24)</sup>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, Chausalet 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.
-

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

Mayumi Ueta<sup>1,2\*</sup>, Katsushi Tokunaga<sup>3</sup>, Chie Sotozono<sup>1</sup>, Hiromi Sawai<sup>3</sup>, Gen Tamiya<sup>4</sup>, Tsutomu Inatomi<sup>1</sup>, Shigeru Kinoshita<sup>1</sup>

**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

loss of vision. The reported incidence of ocular complications in SJS/TEN is 50–68% [7,8].

In the acute stage, patients manifest vesiculobullous lesions of the skin and mucosa, especially that of the eyes and mouth, and severe conjunctivitis. The loss of finger nails in the acute or subacute stage due to paronychia was observed, has been observed in almost all SJS/TEN patients with severe ocular surface complications [9,10,11,12].

In the chronic stage, despite healing of the skin lesions, ocular surface complications such as conjunctival invasion into the cornea [10,11,12,13,14,15,16,17,18]. It is also reported that lid margin keratinization and tarsal scarring, together with lipid tear deficiency, contributes to corneal complications because of blink-related microtrauma [19].

Elsewhere we reported that the frequency of carriers of the HLA-A\*0206 antigen is significantly higher among Japanese patients with severe ocular surface complications than in other populations [18,20]. Our single nucleotide polymorphism (SNP) association analysis of candidate genes documented the associated polymorphisms of several immune-related genes including *TLR3*, [12,17] *IL4R*, [14,16] *IL13*, [16] and *FasL* [15] in Japanese SJS/TEN patients with severe ocular surface complications. To elucidate the detailed pathophysiology of SJS/TEN we performed a genome-wide association study of SJS/TEN patients and found associations between 6 SNPs in the prostaglandin E receptor 3 (EP3) gene (*PTGER3*) and SJS/TEN accompanied by severe ocular surface complications [11]. Moreover, gene-gene interaction analysis in SJS/TEN patients with severe ocular surface complications revealed that the interaction between *TLR3* and *PTGER3* exerted SJS/TEN susceptibility effects, and there was

a functional interaction between *TLR3* and *EP3* in a murine experimental allergic conjunctivitis model. [12].

In the present study we examined the multiplicative interaction(s) between HLA-A\*0206 and 7 *TLR3* SNPs (rs3775296 (uSNP), rs5743312 (iSNP), rs6822014 (gSNP), rs3775290 (sSNP), rs7668666 (iSNP), rs11732384 (iSNP), and rs4861699 (gSNP)) associated with the SJS/TEN patients [12,17] as the onset of SJS/TEN was associated not only with the administration of drugs but also with putative viral syndromes [10,11,12,17]. HLA-A is a component of HLA class I, which resides on the surface of all nucleated cells and alerts the immune system that the cell may be infected by a virus, thereby targeting the cell for destruction. *TLR3* recognises viral double-stranded RNA [21].

## Results

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:  $p = 6.9 \times 10^{-10}$ , OR = 5.1; gene frequency:  $p = 2.5 \times 10^{-9}$ , OR = 4.0) (Table 1).

We also found that there was a strong association with *TLR3* rs.5743312T/T SNP (T/T vs T/C+C/C:  $p = 2.5 \times 10^{-6}$ , OR = 7.4), *TLR3* rs.3775296T/T SNP (T/T vs T/G+G/G:  $p = 8.2 \times 10^{-6}$ , OR = 5.8), *TLR3* rs.6822014G/G SNP (G/G vs G/A+A/A:  $p = 1.2 \times 10^{-4}$ , OR = 4.8), *TLR3* rs.3775290A/A SNP (A/A vs A/G+G/G:  $p = 7.1 \times 10^{-4}$ , OR = 2.9), *TLR3* rs.7668666A/A SNP (A/A vs A/G+G/G:  $p = 1.2 \times 10^{-3}$ , OR = 2.7), *TLR3* rs.4861699G/G SNP (G/G vs G/A+A/A:

**Table 1.** Association between HLA-A\*0206 and SJS/TEN with ocular complications.

HLA-A	Carrier frequency				Gene frequency			
	SJS (n = 110)	Normal (n = 206)	p-value ( $\chi^2$ )	Odds Ratio	SJS (n = 220)	Normal (n = 412)	p-value ( $\chi^2$ )	Odds Ratio
*0206	46.4% (51/110)	14.6% (30/206)	$6.9 \times 10^{-10}$	5.07	24.1% (53/220)	7.3% (30/412)	$2.5 \times 10^{-9}$	4.04
*0101	0% (0/110)	1.4% (3/206)	0.2	–	0% (0/220)	0.7% (3/412)	0.2	–
*0201	26.4% (29/110)	21.4% (44/206)	0.3	–	14.5% (32/220)	11.4% (47/412)	0.3	–
*0207	9.1% (10/110)	7.8% (16/206)	0.7	–	4.5% (10/220)	3.9% (16/412)	0.7	–
*0210	0% (0/110)	1.0% (2/206)	0.3	–	0% (0/220)	0.5% (2/412)	0.3	–
*0301	2.7% (3/110)	1.4% (3/206)	0.4	–	1.4% (3/220)	0.7% (3/412)	0.4	–
*0302	0% (0/110)	0.5% (1/206)	0.5	–	0% (0/220)	0.2% (1/412)	0.5	–
*1101	7.3% (8/110)	18.4% (38/206)	$7.3 \times 10^{-3}$	0.35	3.6% (8/220)	9.2% (38/412)	$1.0 \times 10^{-2}$	0.37
*1102	0% (0/110)	0.5% (1/206)	0.5	–	0% (0/220)	0.2% (1/412)	0.5	–
*2402	45.5% (50/110)	60.7% (125/206)	$9.5 \times 10^{-3}$	0.54	25.0% (55/220)	36.7% (151/412)	$2.9 \times 10^{-3}$	0.58
*2420	0% (0/110)	0.5% (1/206)	0.5	–	0% (0/220)	0.2% (1/412)	0.5	–
*2601	9.1% (10/110)	12.6% (26/206)	0.3	–	4.5% (10/220)	6.6% (27/412)	0.3	–
*2602	5.5% (6/110)	2.9% (6/206)	0.3	–	2.7% (6/220)	1.7% (7/412)	0.4	–
*2603	1.8% (2/110)	7.8% (16/206)	$3.0 \times 10^{-2}$	0.2	0.9% (2/220)	3.9% (16/412)	$3.2 \times 10^{-2}$	0.2
*2605	0% (0/110)	0.5% (1/206)	0.5	–	0% (0/220)	0.2% (1/412)	0.5	–
*2901	0% (0/110)	1.9% (4/206)	0.1	–	0% (0/220)	1.0% (4/412)	0.1	–
*3001	0.9% (1/110)	0% (0/206)	0.2	–	0.5% (1/220)	0% (0/412)	0.2	–
*3101	13.6% (15/110)	16.5% (34/206)	0.5	–	6.8% (15/220)	8.3% (34/412)	0.5	–
*3201	0% (0/110)	0.5% (1/206)	0.5	–	0% (0/220)	0.2% (1/412)	0.5	–
*3303	22.7% (25/110)	14.1% (29/206)	0.05	–	11.4% (25/220)	7.0% (29/412)	0.06	–

doi:10.1371/journal.pone.0043650.t001