

表 患者と父のHLAアレル

	HLA-A	HLA-B
患者	A*24:02, A*31:01	B*07:02, B*51:01
父	A*24:02, A*26:03	B*07:02, B*15:01

れる報告を除いて、症例報告例として論文にされているものは、われわれが調べえたかぎりでは自験例を含めて8例であった³⁻⁹⁾。

年齢は18歳から84歳(平均55.1歳)と広く分布し、性差は7:1で男性が多かった。薬疹型としてはTENが4例、SJS、紅皮症型、紫斑型、丘疹紅皮症がそれぞれ1例ずつであった。福田の薬疹情報第14版での報告例29例の中でもTENが6例ともっとも多かった⁹⁾。

本邦ではアスピリンはNSAIDsや抗血小板薬として処方されているだけでなく、市販薬にも含有しており、多くの人々が内服していることを踏まえると、アスピリンは薬疹をSJSやTENといった重症発症する頻度は抗癌薬と比較すると少ないと考えられる。

内服期間については1日~10年間と広く分布していた。他のTEN症例では1~2日で発症しているのに対して、自験例では3週間服用後2週間休薬し、再開してすぐに紅斑が出現している。パッチテストは6例で施行され、自験例と同様に全例で陰性であった。DLSTでは6例中3例で陽性、内服テストでは3例中3例とも陽性であった。

SJSやTENで、薬剤によって遅延型アレルギー反応がおこることで、細胞傷害性CD8⁺T細胞(cytotoxic T lymphocytes, 以下, CTL)ならびにNK細胞が活性化し、ケラチノサイトが障害されて発症すると考えられている^{10, 11)}。最近では重症薬疹とHLAの関連性が発症リスクとして注目されており¹²⁾、HLA-B*15:02とカルバマゼピンによるSJS, TEN¹³⁾、HLA-B*58:01とアロプリノールによるSJS, TEN, 薬剤過敏性症候群(drug-induced hypersensitivity syndrome, 以下, DIHS)¹⁴⁾、HLA-A*31:01とカルバマゼピンによるSJS, TEN, DIHS, 播種状紅斑丘疹¹⁵⁾などが報告されている。これらのHLAアレルは薬剤、あるいはその代謝産物¹⁶⁾をCTLのT細胞受容体(T-cell receptor; TCR)

に抗原提示しCTLを活性化することで、病態に関与すると考えられている。

自験例では家族歴として、父親が22歳時にアスピリンを含有する市販薬を内服後に口腔、陰部に粘膜疹を発症した既往歴があったため、アスピリンについてDLSTを行ったところ、自験例と同様に31%と陽性であった。また、当科で過去にアスピリンによる薬疹を疑われた3症例ではすべてDLSTが陰性であった。以上から自験例をアスピリンが被疑薬と考えられた薬疹の親子例と考え、父子のHLAを調べた(表)ところ、HLA-A*24:02およびB*07:02が共通していた。HLA-B*07:02は本邦で3.6%にみられる¹⁷⁾。一方、HLA-A*24:02は本邦で1番頻度の高いHLAアレルで36.5%にみられ¹⁷⁾、WT1ワクチンなど癌ワクチン療法に應用されている¹⁸⁾。また興味深いことに、自験例ではカルバマゼピンによる重症薬疹と関連があるとされるHLA-A*31:01が陽性であったが、カルバマゼピンの内服歴はなかった。

HLA-A*24:02およびB*07:02については、われわれの調べた限り、アスピリンおよび他剤を被疑薬とする薬疹の発症リスクとする報告はない。しかし、父子で共通するHLAアレルが、アスピリンによるTENの発症リスクとなる可能性を考えた。症例数を蓄積し、さらなる検討が必要である。

<文 献>

- 1) 塩原哲夫:薬疹診療のフロントライン. 中山書店, 東京, p.103, 2011
- 2) 福田英三:薬疹情報第9版, 福岡, 福田皮膚科クリニック薬疹情報編集室, p.92, 2010
- 3) 浜中すみ子ほか:皮膚 28:420, 1986
- 4) 益田俊樹ほか:皮膚 28:416, 1986
- 5) 豊田裕之ほか:臨皮 41:755, 1987
- 6) 森三佐子ほか:臨皮 41:873, 1987
- 7) 相川恵子ほか:皮膚病診療 25:165, 2003
- 8) Sugita, K. et al.: Arch Dermatol 142:792, 2006
- 9) 角田孝彦, 佐藤紀嗣:皮膚臨床 49:1104, 2007
- 10) Chung, W.H., Hung, S.I.: J Dermatol Sci 66:190, 2012
- 11) 池澤晋郎:薬疹診療のフロントライン. 中山書店, 東京, p.79, 2011
- 12) 延田泰誠: MB Derma 198:9, 2012
- 13) Chung, W.H. et al.: Nature 428:486, 2004
- 14) Hung, S.I. et al.: Proc Natl Acad Sci USA 102:4134, 2005
- 15) Ozeki, T. et al.: Hum Mol Genet 20:1034, 2011
- 16) Illing, P.T. et al.: Nature 486:554, 2012
- 17) 中島文明ほか:MHC(日本組織適合性学会誌) 8:1, 2001
- 18) Ohno, S. et al.: Anticancer Res 29:4779, 2009

Table 1

Result of immunohistochemical analysis for immune competent cells infiltration. Data represented as mean number of cells and SD. Statistical analysis for comparison was performed by using unpaired *t*-test.

	MelanA	CD8	Foxp3	CD4	CD4+ IL17A+	Epi. CD1a	CD11c	AHR	HLA-DR	CD123	Der. CD1a+ CD207–	CD56
LS (n=6)	1.7±3.5**	39.5±22.7*	10.2±3.4	16.5±3.8	15.6±6.3*	33.5±10.0*	3.7±3.2	15.8±11.5	31.1±21.1	11.6±5.5	14.4	4.5
LE (n=6)	8.5±3.6**	19.9±15.4	9.16±3.4	14.5±4.2	10.3±2.8	22.6±7.1*	17.3±8.3*	12.0±9.2	26.5±15.1	13.2±4.0	10.2	4.5
NL (n=6)	19.2±7.8	14.3±10.5	9.1±3.3	10.7±3.3	5.2±1.4	19.2±3.9	5.8±3.7	7.8±2.3	18.1±8.6	10.3±3.3	7.6	1.75
Psoriasis (n=1)	41.3	37.7	18.3	32.3	28.3**	46.7**	24.7**	13	28	11.3	ND	2
Normal (n=3)	17.8±2.2	7.8±2.4	7.9±3.2	12.3±2.1	8.5±1.0	5.9±0.9	5.88±1.1	7.8±3.3	16.3±9.2	7.9±2.5	0	0

ND represent not done.

* *p*-Value < 0.01.

** *p*-Value < 0.05.

TNF- α and IL-6 [8]. Since LCs are commonly activated under IL-1 α and TNF- α condition in case of contact hypersensitivity [9], it is conceivable that activated LCs may be an important factor on the occurrence of vitiligo as the interface of melanocyte-specific adoptive immunity cooperating with cytotoxic T cells and may also induce innate immunity in participation with Th17 cells. Following increased infiltration of CD11c+ myeloid dendritic cells and dermal CD1a+ dendritic cells in vitiligo skin can act as antigen trafficking to draining lymph nodes and can produce proinflammatory cytokines such as IL-6 and TNF- α leading to determine helper T cells polarization [10]. Taken together with the effect of Th17 cell-related cytokines on surrounding keratinocyte and fibroblast [6], this positive feedback lineage of local cytokines is possibly important for transient appearance of indeterminate dendritic cells and subsequent mature melanocyte disappearance. Given this idea on the underlying immunogenic mechanism, early therapeutic intervention of molecular targeting biologics is considerable for the treatment with progressive nonsegmental vitiligo.

Grant support

This work was supported in part by a grant from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan and a grant from the Ministry of Health, Labor and Welfare.

Acknowledgements

We thank Kenju Nishida and Eriko Nobuyoshi for their expert technical assistance.

References

- [1] Cunliffe WJ, Hall R, Newell DJ, Stevenson CJ. Vitiligo, thyroid disease and autoimmunity. *Br J Dermatol* 1968;80:135–9.
- [2] Passeron T, Ortonne JP. Activation of the unfolded protein response in vitiligo: the missing link? *J Invest Dermatol* 2012;132:2502–4.
- [3] Elela MA, Hegazy RA, Fawzy MM, Rashed LA, Rasheed H. Interleukin 17, Interleukin 22 and Foxp3 expression in tissue and serum of non-segmental vitiligo: a case-controlled study on eighty-four patients. *Eur J Dermatol* 2013 [Epub ahead of print].

- [4] Prignano F, Ricceri F, Bianchi B, Guasti D, Bonciolini V, Lotti T, et al. Dendritic cells: ultrastructural and immunophenotypical changes upon nb-UVB in vitiligo skin. *Arch Dermatol Res* 2011;303:231–8.
- [5] Mishima Y, Kawasaki H, Pinkus H. Dendritic cell dynamics in progressive depigmentations. Distinctive cytochemicals of dendritic cells revealed by electron microscopy. *Arch Dermatol Forsch* 1972;243:67–87.
- [6] Kotobuki Y, Tanemura A, Yang L, Itoi S, Wataya-Kaneda M, Murota H, et al. Dysregulation of melanocyte function by Th17-related cytokines: significance of Th17 cell infiltration in autoimmune vitiligo vulgaris. *Pigment Cell Melanoma Res* 2012;25:219–30.
- [7] Zhou L, Li K, Shi YL, Hamzavi I, Gao TW, Henderson M, et al. Systemic analyses of immunophenotypes of peripheral T cells in non-segmental vitiligo: implication of defective natural killer T cells. *Pigment Cell Melanoma Res* 2012;25:602–11.
- [8] Moretti S, Fabbri P, Baroni G, Berti S, Bani D, Berti E, et al. Keratinocyte dysfunction in vitiligo epidermis: cytokine microenvironment and correlation to keratinocyte apoptosis. *Histol Histopathol* 2009;24:849–57.
- [9] Kaplan DH, Jenison MC, Saeland S, Shlomchik WD, Shlomchik MJ. Epidermal Langerhans cell-deficient mice develop enhanced contact hypersensitivity. *Immunity* 2005;23:611–20.
- [10] Fransen JH, van der Vlag J, Ruben J, Adema GJ, Berden JH, Hilbrands LB. The role of dendritic cells in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther* 2010;12:207.

Saori Itoi^{a1}, Atsushi Tanemura^{a1*}, Yori-hisa Kotobuki^a, Mari Wataya-Kaneda^a, Daisuke Tsuruta^b, Masamitsu Ishii^b, Ichiro Katayama^a

^aDepartment of Dermatology Integrated Medicine, Osaka University Graduate School of Medicine, Japan;

^bDepartment of Dermatology, Osaka City University Graduate School of Medicine, Japan

*Corresponding author at: Department of Dermatology Integrated Medicine, Osaka University Graduate School of Medicine, 2-2 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871, Japan.

Tel.: +81 6 6879 3031; fax: +81 6 6879 3039

E-mail address: tanemura@derma.med.osaka-u.ac.jp

(A. Tanemura)

¹These authors equally contribute to this work.

12 July 2013

13 August 2013

Accepted 5 September 2013

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jderm.2013.09.004>

Letter to the Editor

Increased frequencies of Th17 cells in drug eruptions



T cell-mediated hypersensitivity is the most frequent type of drug eruptions [1] and includes maculopapular eruption (MPE),

erythema multiforme (EM), Stevens–Johnson syndrome (SJS), toxic epidermal necrolysis (TEN), and drug-induced hypersensitivity syndrome (DIHS). SJS and TEN, and some of EM are characterized by cytotoxic T (Tc) cell attack toward epidermal keratinocytes with granulysin and Fas–Fas ligand [2], and DIHS is associated with

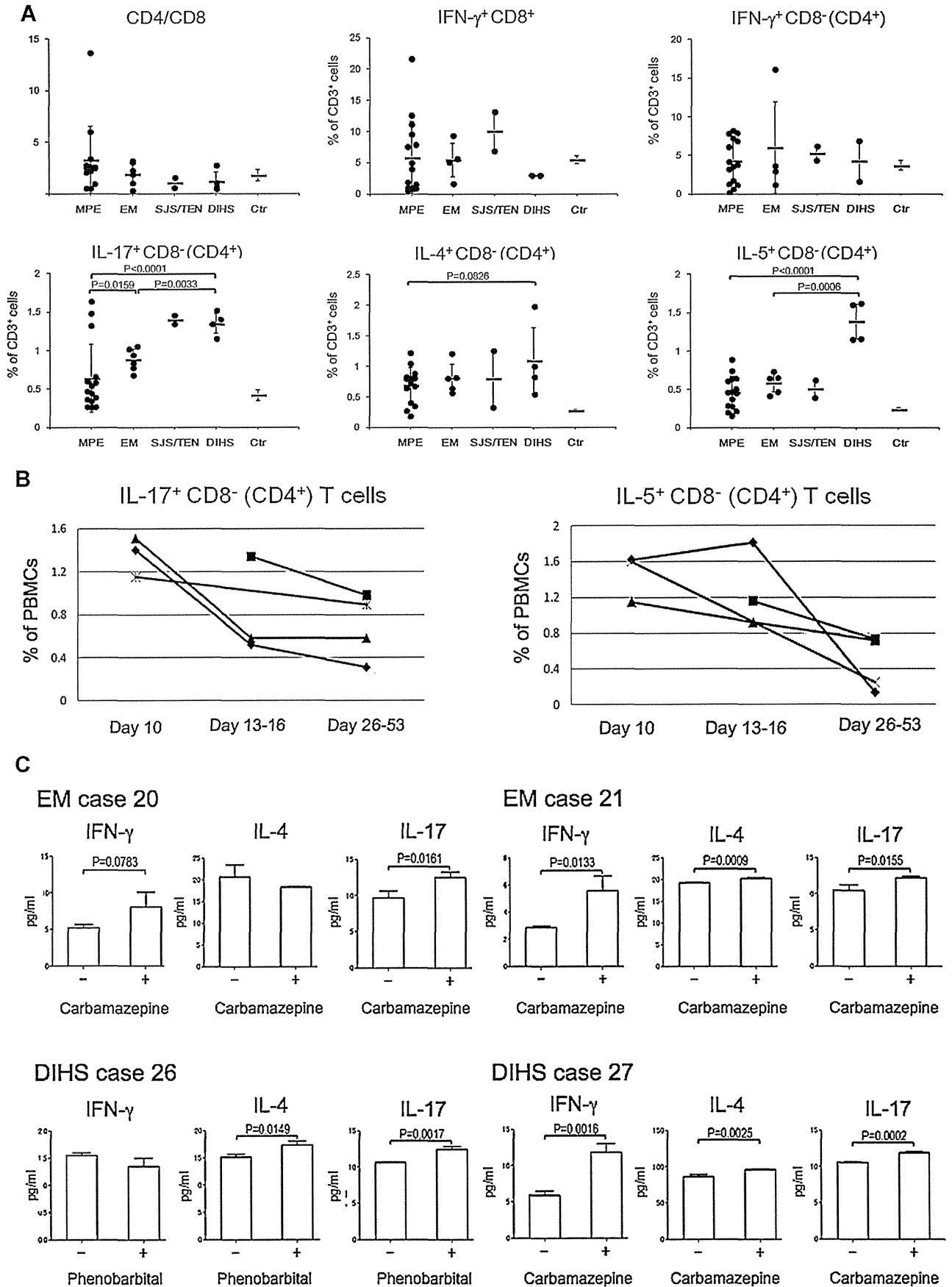


Fig. 1. (A) Percentages of IL-17, IFN- γ , IL-4, or IL-5-producing T cells in the peripheral blood. Blood samples were collected on 2–6 days after onset in EM and SJS/TEN and on 10 days after onset in DIHS and analyzed on a FACSCanto (BD Bioscience, San Diego, CA). In MPE, EM and SJS/TEN, the mean percentages of CD3⁺, CD4⁺, and CD8⁺ cells were within normal ranges (CD3⁺ cells, 58–84%; CD4⁺ cells, 25–56%; CD8⁺ cells, 17–44%). Intracellular cytokines of PBMCs were stained according to the protocol of Cytostain with a few

Table 1
Cytokine concentrations in the culture supernatants from skin-infiltrating T cells. Cytokine concentration (pg/ml).

Case	Type	Biopsy day	IL-2	IL-4	IL-6	IL-10	TNF- α	IFN- γ	IL-17A	CD4/CD8
28	EM	2	892	14,191	12	32	1495	1565	25	0.10
29	EM	2	4330	3640	9	878	4300	1145	32	0.60
30	EM	7	8	7332	25	519	395	10,115	3497	0.63
31	EM	1	242	5177	92	2988	1587	18,525	41	0.21
32	SJS	7	23	4959	1011	2	1264	5840	15	0.50
33	DIHS	21	20	8175	782	333	465	16,060	3700	6.1
34	DIHS	12	432	3452	264	545	3944	22,770	1659	0.77
35	DIHS	2	8	10,245	436	2684	637	4725	27	0.73
36	DIHS	7	63	7380	338	37	467	317	35	30
37	DIHS	12	19	11,965	89	1035	1423	4210	176	8.7
38	DIHS	24	21	11,130	636	1119	2976	3053	24	15
39	DIHS	6	19,650	19,395	118	3279	12,300	20,115	25	1.4

Biopsy day: the day of biopsy after skin eruption onset. For expansion of T cells, 4-mm skin samples were immersed in complete RPMI supplemented with 20–50 U/ml human recombinant IL-2 and anti-CD3/CD28 mAb-conjugated microbeads (T-cell Expander; Dynal, Copenhagen, Denmark) as previously reported [8]. We obtained $>10^7$ cells/specimen by this method. After phenotyped by flow cytometry, the cells (2×10^5 /well) were cultured in an immobilized anti-CD3 mAb-coated 96-well plate for 48 h. The culture supernatants were then harvested to measure the levels of IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, IFN- γ and TNF- α with CBA.

reactivation of human herpesvirus 6 (HHV6) [3]. Upon occurrence of these eruptions, the populations of circulating T cells may be polarized [4]. Interleukin (IL)-17A-producing Th17 cell is a CD4⁺ T helper subset, and dysregulated Th17 responses mediate psoriasis, allergic diseases, and others [5]. Drug eruption merits Th17 investigation to see the biased relationship between Th17 cells and the other T cell subsets [6] and the host-defensive role of Th17 cells in DIHS. We investigated circulating and skin-infiltrating Th17 cells in drug eruptions.

This study consisted of two types of experiments using different samples: peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) and biopsied skin specimens. Totally 39 cases of drug eruption were enrolled in this study (Supplemental Table 1). Cases 1–27 (MPE, 15; EM, 6; SJS, 1; TEN, 1; and DIHS, 4) were seen in University of Occupational and Environmental Health for the PBMC study, and cases 28–39 (EM, 4; SJS, 1; and DIHS, 7) were in Hamamatsu University School of Medicine for the skin-infiltrating T cell study. In 14 patients, the lymphocyte transformation test (LTT) was assessed by ³H-thymidine uptake after 3-day culture with drugs [1], and 9 patients showed positive results. The diagnoses of SJS, TEN [7], and DIHS (seroconversion of anti-HHV6 IgG) [3] were reported. All patients were informed and agreed to participate. The skin-infiltrating T cell analysis was approved by the ethical committee of Hamamatsu University.

Supplementary material related to this article can be found, in the online version, at <http://dx.doi.org/10.1016/j.jderm.2013.08.008>.

PBMCs were taken from the patients with MPE, EM, SJS or TEN 2–6 days after the onset of eruption and from those with DIHS 2–3 times (on day 10, 13–16, and 26–53), and analyzed by flow cytometry. There was no significant difference in CD4/CD8 ratio between the eruption types (Fig. 1a). However, CD8⁺ cell percentage in DIHS (43%, day 13–16) was significantly higher ($P = 0.0054$) than that in MPE (18%).

Intracellular cytokines were stained after stimulation of freshly isolated PBMCs with phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) and

ionomycin [5]. Since CD4 expression on T cells is downregulated with the stimulants, Th17 cells were expressed as IL-17A⁺CD3⁺ and IL-17A⁺CD8⁻ T cells, and the major source of IL-17A, IL-4, and IL-5 was CD8⁻(CD4⁺) cells [5]. The percentages of IL-17A⁺CD8⁻(CD4⁺) were dramatically increased in DIHS (10 days after onset) and tended to be high in SJS/TEN (2–6 days after onset) as compared to normal subjects (NS, $n = 9$) and MPE patients (2–6 days after onset) (Fig. 1a). In Tc1 (IFN- γ ⁺CD8⁺) and Th1 (IFN- γ ⁻CD8⁻) cells, no significant differences were found among the groups. IL-5⁺ cells were significantly higher and IL-4⁺ cells tended to be higher in DIHS. During the clinical course of DIHS, IL-17A⁺CD8⁻ cells (normal, 0.4%) and IL-5⁺CD8⁻ cells (normal, 0.3%) were declined in percentage (Fig. 1b).

To investigate the *in vitro* cytokine production, LTT-positive PBMCs from 2 patients with EM (cases 20 and 21) and 2 patients with DIHS (cases 26 and 27) were cultured with the causative drugs. The drug concentration was determined by the highest LTT proliferation, and the culture supernatants were measured for cytokines. In all four cases, the causative drug significantly stimulated the PBMCs taken 26–53 days after onset to produce IL-17A (Fig. 1c). The produced IL-17A amounts were not high, however, considering the relatively low percentages (0.8–1.3% of PBMCs) of Th17 cells and the inability of IL-17A to stimulate bystander T cells, the stimulation degrees seem to be significant. The productions of IFN- γ and IL-4 were also significantly increased in 2 EM and 1 DIHS cases, and 2 EM and 1 DIHS cases, respectively.

The biopsied skin specimens from 4 EM (cases 28–31), 1 SJS (case 32), and 7 DIHS patients (cases 33–39) were recruited for the production of cytokines by skin-infiltrating T cells. T cells were expanded with IL-2 and anti-CD3/CD28 mAb-conjugated microbeads [8] and further cultured in an immobilized anti-CD3 mAb-coated 96-well plate (2×10^5 /well) for 48 h. IL-17A variously produced in these cases (Table 1). In the 7 patients with DIHS, however, the IL-17A levels appeared to fluctuate in parallel with the clinical courses. The timing of skin biopsy after eruption onset and the IL-17 values are as follows: day 2, 27 pg/ml (case 35); day

modifications. Briefly, freshly isolated PBMCs (2×10^6 cells/ml) were incubated in complete RPMI in a 24-well plate with 10 ng/ml of PMA (Sigma Chemical Co.), 10^{-6} M of ionomycin (Wako, Osaka, Japan) and 0.7 μ l of Golgistop (BD Biosciences) for 8 h [5]. The cells were washed and directly stained with PerCP-conjugated anti-CD8 mAb and subsequently with APC-conjugated anti-CD3 mAb. After washing, 100 μ l of Cytofix/Cytoperm buffer was added to each well and incubated for 20 min at room temperature, and washed with Perm/Wash solution as manufacturer's protocol. They were stained with PE-labeled anti-IL-17, IL-4, or IL-5 and FITC-labeled anti-IFN- γ mAb. Fluorescence profiles were analyzed by flow cytometry in FACSCanto. The IL-17⁺, IL-4⁺, and IL-5⁺ cell population was found exclusively in CD3⁺CD8⁻ T cells. Vertical bars represent the mean \pm SD. Ctr: healthy control. (B) Changes in the percentages of IL-17- or IL-5-producing cells in patients with DIHS. PBMCs were taken from the patients at the indicated time points, stimulated with PMA and ionomycin, and intracytoplasmically stained with antibodies to IL-17 and IL-5. (C) Cytokine production by PBMCs from patients with EM or DIHS in response to causative drugs. PBMCs were taken from patients 26–53 days after onset. Patients' PBMCs were cultured in triplicate with a causative drug in complete RPMI in 24-well plates (2×10^6 cells/1 ml/well). The final concentration of drugs was determined on the basis of known C_{max} of each drug. In LTT, the drugs were added to the culture at 1/10, 1, and 10 times of C_{max} . For cytokine production, PBMCs were cultured with the causative drug at the concentration that yielded the highest proliferation, and the culture supernatants were subjected to cytokine measurement. Three-day culture supernatants were measured for IFN- γ , IL-4, and IL-17 with the Human Th1/Th2/Th17 Cytokine Beads Array kit (CBA, BD). Vertical bars represent the mean \pm SD. Wilcoxon test was employed to evaluate statistical significance between the means. $P < 0.05$ was considered significant.

6, 25 pg/ml (case 39); day 7, 35 pg/ml (case 36); day 12, 176 pg/ml (case 37) and 1.659 pg/ml (case 34); day 21, 3.700 pg/ml (case 33); day 24, 24 pg/ml (case 38). Thus, the IL-17A production by skin-infiltrating cells were increased and peaked by day 21 and declined thereafter. Considering the time lag of IL-17A production peak between the skin-infiltrating and peripheral blood T cells (see Fig. 1a), it seems that peripheral blood Th17 cells migrate into the skin on day 12–21 after the onset.

In the present study, the percentages of circulating Th17 cells were increased markedly in DIHS and SJS/TEN, and moderately in EM, which is consistent with the previous observation in SJS/TEN [9]. In the clinical course of DIHS, while the frequencies of Th17 and Th2 cells were increased at the early stage and decreased thereafter, activated CD8⁺ T cells expanded during 2 to 6 weeks after the onset [4] and thus preceded by Th17 and Th2 cells. Th2 cells can respond to causative drugs, and Tc1 cells may be reactive with the virus-infected cells. Plasmacytoid dendritic cells, which have a protective role for viruses, are also decreased at the early stage of DIHS and increased on recovery [10].

Our study demonstrated that Th17 cells are present in the lesional skin as well as the peripheral blood. Compared with the circulating Th17 cells, the appearance of skin-infiltrating Th17 cells seemed to be delayed. It is considered that Th17 cells first expand in the blood and subsequently emigrate into the skin.

Funding source

None.

Acknowledgement

This study was supported by Grants-in-Aid for Scientific Research from the Ministry of Health, Labour, and Welfare in Japan.

References

- [1] Hashizume H, Takigawa M, Tokura Y. Characterization of drug-specific T cells in phenobarbital-induced eruption. *J Immunol* 2002;168:5359–68.
- [2] Abe R. Toxic epidermal necrolysis and Stevens–Johnson syndrome: soluble Fas ligand involvement in the pathomechanisms of these diseases. *J Dermatol Sci* 2008;52:151–9.
- [3] Shiohara T, Kano Y, Takahashi R, Ishida T, Mizukawa Y. Drug-induced hypersensitivity syndrome: recent advances in the diagnosis, pathogenesis and management. *Chem Immunol Allergy* 2012;97:122–38.
- [4] 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;48:25–33.
- [5] Koga C, Kabashima K, Shiraishi N, Kobayashi M, Tokura Y. Possible pathogenic role of Th17 cells for atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 2008;128:2625–30.
- [6] Kabashima R, Sugita K, Sawada Y, Hino R, Nakamura M, Tokura Y. Increased circulating Th17 frequencies and serum IL-22 levels in patients with acute generalized exanthematous pustulosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2011;25:485–8.
- [7] Auquier-Dunant A, Mockenhaupt M, Naldi L, Correia O, Schroder W, Roujeau JC. Correlations between clinical patterns and causes of erythema multiforme majus, Stevens–Johnson syndrome, and toxic epidermal necrolysis: results of an international prospective study. *Arch Dermatol* 2002;138:1019–24.
- [8] Hashizume H, Hansen A, Poulsen LK, Thomsen AR, Takigawa M, Thestrup-Pedersen K. In vitro propagation and dynamics of T cells from skin biopsies by methods using interleukins-2 and -4 or anti-CD3/CD28 antibody-coated microbeads. *Acta Derm Venereol* 2010;90:468–73.
- [9] Tearaki Y, Kawabe M, Izaki S. Possible role of Th17 cells in the pathogenesis of Stevens–Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. *J Allergy Clin Immunol* 2013;131:907–9.
- [10] Sugita K, Tohyama M, Watanabe H, Otsuka A, Nakajima S, Iijima M, et al. Fluctuation of blood and skin plasmacytoid dendritic cells in drug-induced hypersensitivity syndrome. *J Allergy Clin Immunol* 2010;126:408–10.

Toshiharu Fujiyama^{a1}, Chika Kawakami^{b1}, Kazunari Sugita^b, Rieko Kubo-Kabashima^b, Yu Sawada^b, Ryosuke Hino^b, Motonobu Nakamura^b, Takatoshi Shimauchi^a, Taisuke Ito^a, Kenji Kabashima^c, Hideo Hashizume^d, Yoshiki Tokura^{a*}

^aDepartment of Dermatology, Hamamatsu University School of Medicine, Hamamatsu, Japan;

^bDepartment of Dermatology, University of Occupational and Environmental Health, Kitakyushu, Japan;

^cDepartment of Dermatology, Faculty of Medicine, Kyoto University Graduate School of Medicine, Kyoto, Japan;

^dSection of Dermatology, Shimada City Hospital, Shimada, Japan

*Corresponding author at: Department of Dermatology, Hamamatsu University School of Medicine, 1-20-1 Hanadayama, Higashi-ku, Hamamatsu 431-3192, Japan. Tel.: +81 53 435 2303; fax: +81 53 435 2368
E-mail address: tokura@hama-med.ac.jp
(T. Fujiyama)

¹These authors equally contributed to this study.

Received 22 April 2013

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jdermsci.2013.08.008>

光線過敏型薬疹の原因薬剤と診断

戸倉新樹

キーワード●光線過敏症, 薬剤, 紫外線, 光アレルギー

Ⅰ 薬剤は成人の光線過敏症では最も多い原因

日光に照射され、皮膚に紅斑などの皮疹を生じる疾患を光線過敏症と呼ぶ。光線過敏症は多様な原因で起こるが、薬剤によるものは成人の光線過敏症患者のなかで最も頻度が高く、光線過敏型薬疹あるいは薬剤性光線過敏症と呼ばれる。機序により光毒性、光アレルギー性の2つに分けられるが、現在は後者が多い¹⁾。

年齢分布は60歳代が最も多く、次に70歳代である。若年者ほど頻度は低い。中年～高齢者の疾患といえることができる。

Ⅱ 臨床症状

通常、薬剤内服中に戸外で日光に曝露されたというエピソードがあって発症する。高齢者ではいつ日光に曝されたかははっきりしないことも多い。皮疹の分布は露光部位である顔面、耳介、項部(図1)、口唇、特に下口唇、上胸部V領域、手背(図2, 3)などである。半袖、半ズボンで日光に曝露されたときには、前腕伸側、下肢伸側にも皮膚炎は生じ、またサンダル、下駄履きの場合には、足背にも皮疹が生じる。

光毒性反応は日焼け(サンバーン)様皮疹をとり、光アレルギー性反応の場合は、浮腫性紅斑(図2)、水疱、扁平苔癬様皮疹、白斑黒皮症



図1 ビカルタミドによる光線過敏型薬疹

(図3)などさまざまである。時には光毒性反応を思わす浮腫性紅斑で始まり、経過と共に扁平苔癬様皮疹に変化する症例もある。このことは同一患者内、同一エピソード内でも光毒性反応と光アレルギー性反応が連続的に起こりうることを推察させる。

扁平苔癬様皮疹は紅斑ではあるが紫色であり、急性反応的でないため、しばしば光線過敏症を思い浮かべることが難しい。色素沈着と色素脱失が混在する病変は、白斑黒皮症と称される(図3)。原因である薬剤の内服を中止することが遅れ、長期に皮膚炎を患った患者に多く、皮疹が完全に形成されてしまっている状態では難治である。

Ⅲ 原因薬剤

原因となる薬剤は非常に多く、新薬の登場と

Drug photosensitivity

Yoshiki Tokura : Department of Dermatology, Hamamatsu University School of Medicine

浜松医科大学教授(皮膚科学)

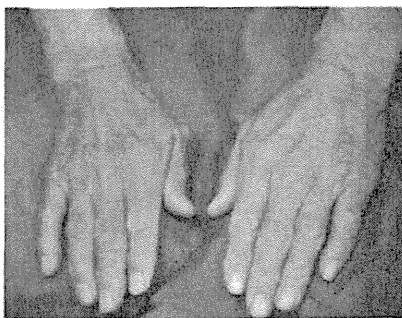


図2 ヒドロクロロチアジドとARBの合剤による光線過敏型薬疹

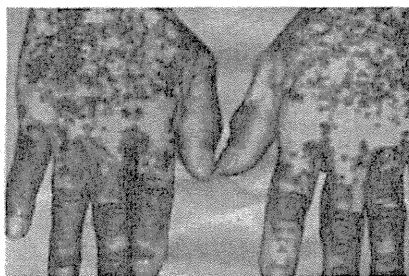


図3 白斑黒皮症

共にその種類は増加している。原因薬剤は多くが内服薬であり、表1に代表的な薬剤を示す。

薬剤の使用には流行り廃りがあり、その頻度のランキングは数年単位で大きく変化する。たとえば、1980年代後半はアフロキサロンによる光線過敏症が多くみられたが²⁾、使用頻度の低下に伴い減少した。その後、チリソロール、メチクランが話題になり、1990年代からはニューキノロン系抗菌薬によるものが多くみられていた。その頻度はおのおのニューキノロンでかなり異なり、スパルフロキサシンが他と比べ圧倒的に高く、エノキサシン、フレロキサシン、ロメフロキサシンの報告も比較的多くみられる³⁾。最近では、1970年代まで多かったサイアザイド系利尿薬による光線過敏症が再び多くなり、ヒドロクロロチアジドとARB (angiotensin II receptor blocker; アンジオテンシンII受容体拮抗薬)の合剤による症例が急激に増えている。

表1 代表的な光線過敏性薬剤

- ・抗菌薬：ニューキノロン剤 (ロメフロキサシン, ノルフロキサシン, トスフロキサシン), ドキシサイクリン, サラゾスルファピリジン, イソニアジド
- ・筋弛緩薬：アフロキサロン
- ・消炎鎮痛薬：ピロキシカム, アンピロキシカム, チアプロフェン, ザルトプロフェン
- ・抗がん薬：テガフル, テガフル・ウラシル配合剤, フルオロウラシル, フルタミド, ビカルタミド, エルロチニブ, ダカルバジン
- ・降圧利尿薬：ヒドロクロロチアジド, フロセミド, トリクロルメチアジド, クロロチアジド, クロフェナミド, メチクロチアジド, メチクラン
- ・β遮断薬：チリソロール
- ・Ca拮抗薬：ジルチアゼム, ニフェジピン, ニカルジピン
- ・脂質異常症治療薬：シンバスタチン, プラバスタチン
- ・気道潤滑薬：アンブロキシール
- ・抗ヒスタミン薬：メキタジン, プロメタジン, シプロヘプタジン
- ・抗精神病薬：クロルプロマジン
- ・抗てんかん薬：カルバマゼピン
- ・糖尿病治療薬：トルブタミド
- ・麻酔薬：ジブカイン
- ・ビタミン製剤：ピリドキシン
- ・生薬：クロレラ, ドクダミ, センノシド

Ⅳ 発生機序

薬剤による光線過敏症は、光毒性反応と光アレルギー性反応に分けられる。光毒性反応は感作期間を必要としないため、薬剤内服後、初回日光曝露でも皮疹が生じる。光アレルギー性反応は感作が必要である。

従来、光毒性機序が誇張されてきたが、これは光毒性を検知する方法が多くあるのに対し、光アレルギーを調べることが困難であったことによる。臨床的には光アレルギー機序で起きていることが多い⁴⁾。光アレルギー性物質は光毒性をも併せ持つことが一般的であり、ある薬剤による光線過敏症が光毒性機序で起きているのか、光アレルギー性であるのかは必ずしも明確には分けられないこともある。

光線過敏症を起こす波長を作用波長という。薬剤性光線過敏症を起こす作用波長は紫外線領域にあり、特に長波長紫外線 (UVA) が重要で

ある。

V 検査

以下の検査は特殊な装置と技術を要するため、総合病院の皮膚科専門医に依頼すべきであろう¹⁾。

1. 内服照射試験

薬剤を内服した後に紫外線の照射を行う。通常、朝内服して午後に照射する。照射はUVAとUVBそれぞれの人工光源を用いて行うが、前述のようにUVAが作用波長であることがほとんどであり、UVA照射で誘発されることが多い。

2. 光貼布試験（フォトパッチテスト）

薬剤を皮膚に貼布して、その部位に紫外線を照射する方法である。貼布試験と同様の要領で、皮膚に被験物質を密封塗布する。24～48時間貼った後剝がし、通常の接触皮膚炎を起こしていないことを確認するための判定を行う。判定後、貼った部分に光を当てる。作用波長はUVAであることが圧倒的に多く、照射24時間、48時間後に判定する。剝がしたときの判定が陰性で、光を照射することによって増強した場合、光貼布試験陽性となる。本方法は内服の必要がなく実施上便利であるが、陽性度は内服照射試験に比べ低く、陰性であるからといって被疑薬から除外することはできない。

VI 代表的薬剤の特徴

1. ヒドロクロロチアジド

降圧薬のなかでは、ヒドロクロロチアジドが最も高頻度で光線過敏症を起こす。そのほか、一部のβ遮断薬やカルシウム拮抗薬も光線過敏症を起こすが、サイアザイド系利尿薬ほどではない。サイアザイド系利尿薬による光線過敏症は、1970年代まではしばしばみられた。しかし降圧薬が新開発のものに取って代わり、サイアザイド系利尿薬の使用が減り、光線過敏症もみられなくなった。

しかし最近、新規のARBの効きを補完するために、かつて頻用されていたヒドロクロロチアジドあるいはカルシウム拮抗薬と一緒に配合した薬剤が頻繁に使われるようになった。つまり現在、降圧薬は、「ARB+ヒドロクロロチアジド」または「ARB+カルシウム拮抗薬」の全盛時代になった。このうち、前者の「ARB+ヒドロクロロチアジド」が、薬剤性光線過敏症のいちばんの原因になっている（図2）。

現在日本で使われている「ARB+ヒドロクロロチアジド」は4種類ある（表2）。これらはすべてヒドロクロロチアジドによって光線過敏症を他の薬剤に比べて高頻度で起こす。一方、カルシウム拮抗薬との合剤は光線過敏症をまず起こさない。また従来型の単剤は、チリソロール（β遮断薬）、フロセミド（ループ利尿薬）は光線過敏症の報告があるが、それ以外はまず光線過敏症の原因にならない。

もちろん降圧薬は血圧を下げるために内服しているため、血圧を下げるのが薬剤を選ぶ最も重要なポイントとなる。現在、高血圧を治療するガイドラインでは「ARB+ヒドロクロロチアジド」は効果の面で高く推奨されており、内服することを否定するものではない。ただし内服していて、顔面、耳介、項部、手背が赤くなってきたら、光線過敏症を起こしていると考えたい。そのまま内服を続けると、白斑黒皮症になるため、こうした場合、ヒドロクロロチアジド内服をすみやかに中止する必要がある。

2. ニューキノロン

光毒性と光アレルギー性を併せ持つ薬剤である。光毒性は8位のフッ素が貢献すると考えられ、これを有するものは光毒性が強い。光アレルギー性は光ハブテンであることによるが²⁾、7位のピペラジン環が光分解を受け、タンパクと共有結合するために生じる可能性がある。臨床的にはほとんどの場合、光アレルギー性反応である。しかし、スバルフロキサシンは光ハブテンとしての性格は他のニューキノロンほどで

表2 ヒドロクロロチアジド (HC) 配合薬 (ARB+サイアザイド系利尿薬)

1. プレミネント®配合錠 2006年12月発売
ロサルタンカリウム (ニューロタン®)+HC 12.5mg
2. エカード®配合錠 2009年3月発売
カンデサルタンシレキセチル (プロプレス®)+HC 6.25mg
3. コディオ®配合錠 2009年3月発売
バルサルタン (ディオバン®)+HC 6.25mg or 12.5mg
4. ミコンビ®配合錠 2009年6月発売
テルミサルタン (ミカルディス®)+HC 12.5mg

はないが、光毒性は非常に強い。同剤による光線過敏症の頻度が高いのはこの光毒性の強さによる。フレロキサシンは光ハプテンとプロハプテンの両方の性格をもっている⁶⁾。

光アレルギー性反応において、各ニューキノロン間では光交差反応を起こすことが臨床的にも動物実験でも知られている⁶⁾。したがって、あるニューキノロンで光線過敏症を起こした場合、他のニューキノロンの使用も避けるべきである。また、あるニューキノロンを内服して光線過敏症を生じたとき、はたして感作もその薬剤が誘導したかは分からない。感作、惹起が別々の薬剤で引き起こされた可能性もある。

3. ピロキシカム, アンピロキシカム

本剤による光線過敏症患者には、チメロサル、エチル水銀チオサリチル酸の接触皮膚炎を経験したことがある患者がおり、これら2剤あるいはどちらかの貼布試験で陽性になることが多い。ピロキシカム自体は通常の光ハプテンとしての性格をもっており、あらかじめUVA照射したピロキシカムを患者皮膚に貼布しても陽性反応を得られない。しかしそのプロドラッグであるアンピロキシカムは、UVAを照射した後に患者に貼布試験をすることにより陽性反応を導く。

4. テトラサイクリン

テトラサイクリン系薬剤のなかでは、デメルクロールテトラサイクリンとドキシサイクリンは特に強い光線過敏性物質であり、本邦ではおそらく使用頻度が高いためドキシサイクリンの

表3 光接触皮膚炎を起こす主な物質

- ・外用薬：ケトプロフェン、スプロフェン
- ・サンスクリーン剤 (一部歴史的)：ベンゾフェノン (オキシベンゾン), ジベンゾイルメタン (Parsol® 1789), オクトクリレン, PABA
- ・殺菌剤 (歴史的)：ハロゲン化サリチルアニリド (TCSA など)
- ・香料 (歴史的)：ムスクアンブレット, 6-メチルクマリン
- ・毛染め：パラフェニレンジアミン

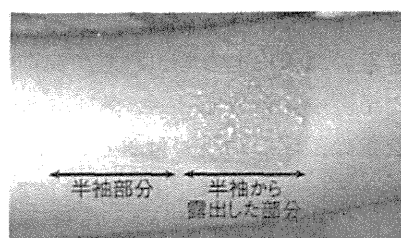


図4 ケトプロフェンテープ剤による光接触皮膚炎

報告が多い。テトラサイクリンとオキシテトラサイクリンの光毒性はこれら二者より弱い。ミノサイクリンは光線過敏性皮膚炎は起こさず、光爪甲剝離の報告しかない。

5. フルタミド, ビカルタミド

前立腺がん治療薬として用いられているフルタミドは、それ自体はUVAによる光分解を受けにくく、また光ハプテンとしての性格はない。代謝産物であり、実際血中に存在するヒドロキシフルタミドが光感受性を有し、さらには光ハプテンである可能性は残る。フルタミドの光貼布試験が陽性である観察もなされており、代謝産物が表皮中でできるか注目される。また最近、ビカルタミドの症例もみられる⁷⁾ (図1)。

Ⅶ 貼付薬による光接触皮膚炎

通常の接触皮膚炎は物質が皮膚に付着して皮膚炎が生じる。皮膚炎が起こるために、物質の付着だけでは起こらず、光を必要とする型の接触皮膚炎があり、これを光接触皮膚炎と呼ぶ⁶⁾。発生機序により、光毒性接触皮膚炎と光アレルギー性接触皮膚炎とに分かれるが、近年

はアレルギー性機序で生じる場合が圧倒的に多い。作用波長はUVAである。

表3に光接触皮膚炎の代表的な原因物質を示す。これらの物質による光接触皮膚炎のほとんどは光アレルギー性機序で発症する。現在、最も頻度が高い原因物質は、治療用の非ステロイド外用薬であり、特に貼付薬として使われるケトプロフェンや、塗布薬としてのスプロフェンによるものが多い。日光から保護する目的で使用されるサンスクリーン剤は、皮肉なことに光接触皮膚炎の原因にもなり、現在でも時としてこうした患者を見掛ける。

臨床症状は、原因物質が付着した部位にのみ症状が起こる。たとえば、上腕にケトプロフェンテープ剤を貼った場合にはその部位に四角形の皮膚炎が認められる(図4)。皮疹の性状は紅斑が主体であるが、水疱を形成することもある。ケトプロフェン貼付による光接触皮膚炎は、同薬を貼ってからたとえ数週間以上経ても、貼付部位に紫外線が当たると強い皮膚炎が生じるのが特徴である。

治療としては、まず第1に皮疹部への日光曝露を避けるように指導する。特にケトプロフェン外用薬の場合は数週間の遮光を徹底する。薬物療法としては、ステロイド外用薬が基本であり、very strong以上の強さのものを用いる。症状に応じて抗ヒスタミン薬の内服を併用する。水疱形成が顕著であったり、また散布疹がみられ、自家感作性皮膚炎に移行した場合はステロイドの内服を短期間行う。

■ おわりに

本稿のポイントを以下に示す。

- ・薬剤性光線過敏症は、薬剤内服と日光照射により露光部皮膚に発症する。
- ・本疾患は60～70歳代の高齢者に多い。
- ・原因薬剤は多種多様であるが、頻度が高い薬剤があり、被疑薬の目安になる。

- ・作用波長はほとんどの場合、UVAである。
- ・光毒性機序と光アレルギー性機序があり、頻度としては後者のほうが多い。光アレルギーは薬剤の光ハプテンとしての性格により発症する。
- ・薬剤再投与とUVA照射による内服照射試験や、薬剤塗布とUVA照射による光貼布試験で診断する。
- ・長期間、薬剤性光線過敏症を患い、原因薬剤の中止が遅れると、白斑黒皮症になることもあり、原因薬剤はすみやかに中止すべきである。

..... 文 献

- 1) 戸倉新樹：光アレルギーによる光線過敏症。戸倉新樹編。ファーストステップ皮膚免疫学。中外医学社。東京。2010；131-141。
- 2) Tokura Y, Ogai M, Yagi H, *et al* : Afloqualone photosensitivity : immunogenicity of afloqualone-photomodified epidermal cells. *Photochem Photobiol* 1994 ; 60 : 262-267.
- 3) Tokura Y : Quinolone photoallergy : photosensitivity dermatitis induced by systemic administration of photohaptenic drugs. *J Dermatol Sci* 1998 ; 18 : 1-10.
- 4) Tokura Y : Immune responses to photohaptens : implications for the mechanisms of photosensitivity to exogenous agents. *J Dermatol Sci* 2000 ; 23 (Suppl) : S6-S9.
- 5) Tokura Y, Seo N, Fujie M, *et al* : Quinolone-photoconjugated major histocompatibility complex class II-binding peptides with lysine are antigenic for T cells mediating murine quinolone photoallergy. *J Invest Dermatol* 2001 ; 117 : 1206-1211.
- 6) Tokura Y, Seo N, Yagi H, *et al* : Cross-reactivity in murine fluoroquinolone photoallergy : exclusive usage of TCR V β 13 by immune T cells that recognize fluoroquinolone-photomodified cells. *J Immunol* 1998 ; 160 : 3719-3728.
- 7) Sasada K, Sakabe J, Tamura A, *et al* : Photosensitive drug eruption induced by bicalutamide within the UVB action spectrum. *Eur J Dermatol* 2012 ; 22 : 402-403.
- 8) Tokura Y : Photoallergy. *Expert Rev Dermatol* 2009 ; 4 : 263-270.

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

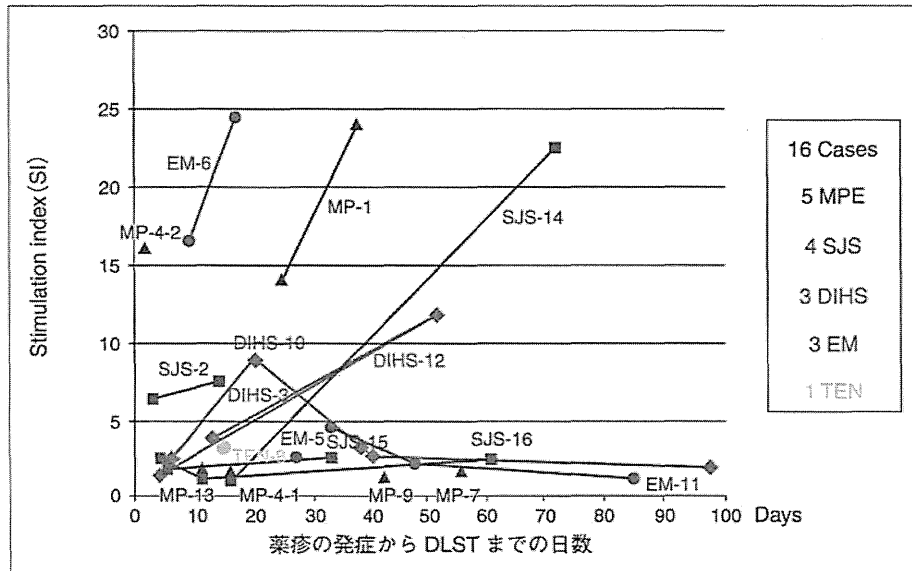


図1 薬疹発症からDLSTまでの日数とStimulation index (SI)の比較
 抗てんかん薬による播種状紅斑丘疹(MPE)型5例, 多形紅斑(EM)型3例, DIHS 3例, SJS 4例, およびTEN 1例の薬疹計16症例の, 薬疹の発症からDLSTまでの日数とSIの関係を示す。同一症例においても検査時期が異なるとSIは大きく変化する。

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量をcount per minute (cpm)として検出している。

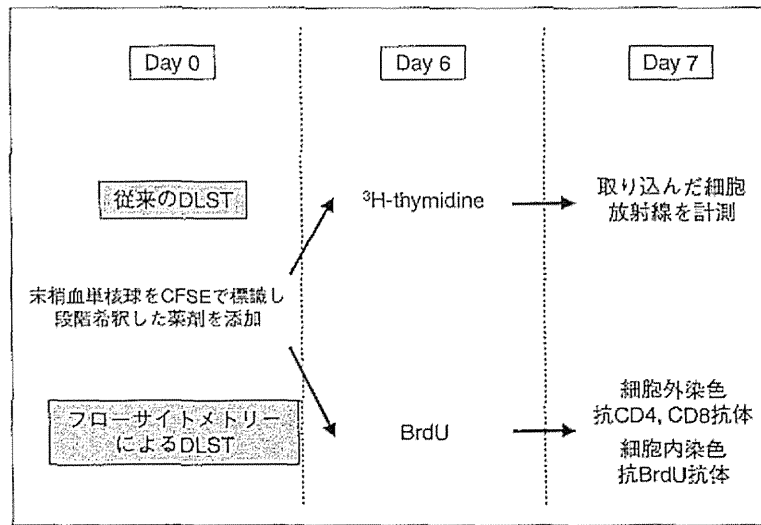


図2 従来のDLSTとフローサイトメトリーによるDLSTの比較
従来のDLSTとフローサイトメトリーによるDLSTを比較するため、比重遠心法により分離した患者末梢血単核球をCFSEで標識し、2つのプレートに分注して、段階希釈した薬剤を添加し、その後それぞれの方法を平行して行う。従来のDLSTでは、培養6日目に ^3H -thymidineを添加し、その取り込みを7日目に解析する。フローサイトメトリーによるDLSTでは、培養6日目にBrdUを加え、培養7日目に抗CD4, 抗CD8抗体, 抗BrdU抗体で染色し、フローサイトメトリーで解析する。

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、

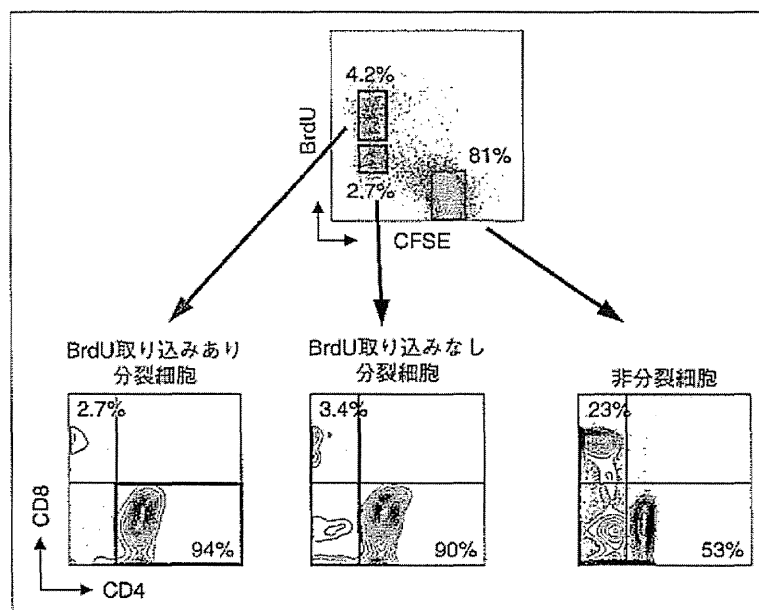


図3 フローサイトメトリーによるDLSTでとらえる薬剤特異的T細胞
 フェニトインによるMPE型薬疹での陽性症例を示す。従来のDLSTではSI 5.0と陽性であった症例で同時に行ったフローサイトメトリーを用いたDLSTを示す。フローサイトメトリーでは非分裂細胞と、分裂したがBrdUを取り込まなかった細胞、分裂し、かつBrdUを取り込んだ細胞の、3つの細胞分画を検出する。従来のDLSTはBrdU取り込みあり分裂細胞の反応をとらえていると考えられる。この症例の薬剤特異的分裂細胞は、ほとんどがCD4陽性T細胞である。

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、

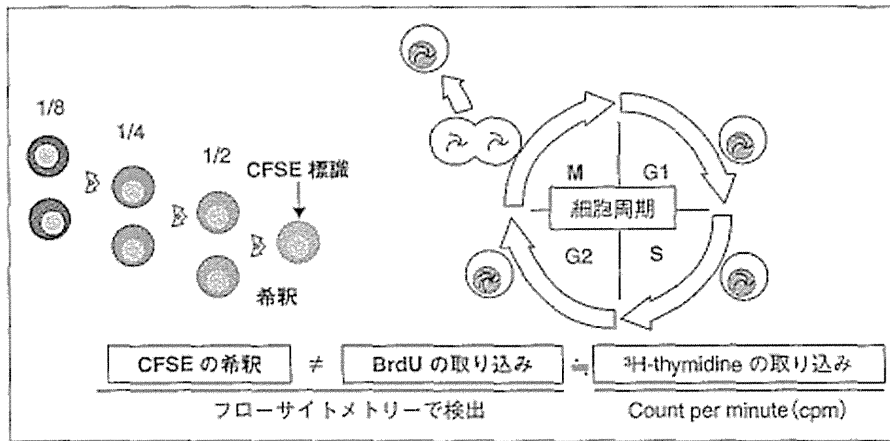


図4 細胞分裂の検出方法の比較

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る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)。

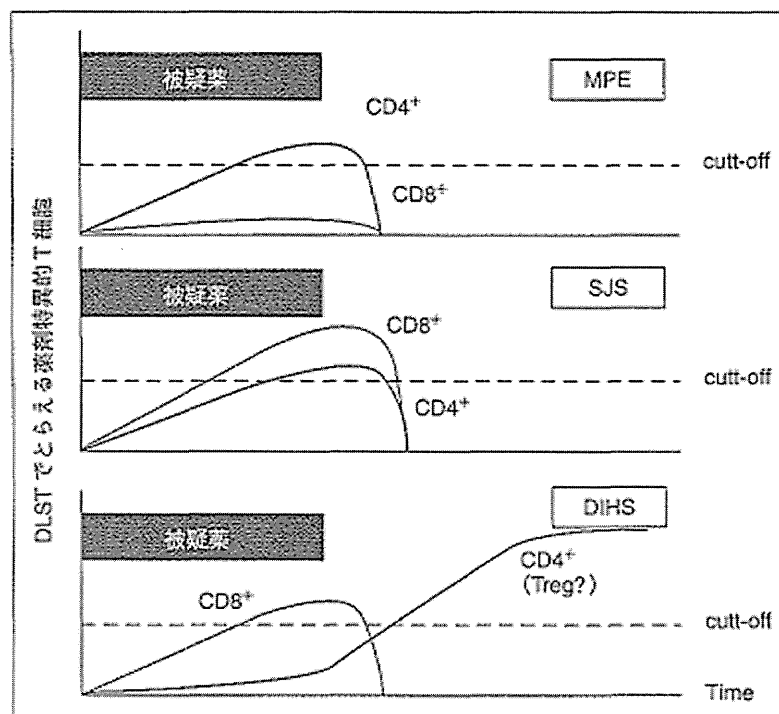


図5 DLSTでとらえる薬剤特異的T細胞
MPE型, SJS, DIHSにおける薬剤特異的T細胞のCD8陽性およびCD4陽性細胞の経時的变化を示す。DLSTのSIのcut-offを破線で示す。

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、皮疹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, 尾赜浩一, 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。

□ 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なかに、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