

201415116A

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患等政策研究事業（難治性疾患政策研究事業）

「重症多形滲出性紅斑に関する調査研究」

平成26年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 塩原 哲夫

平成27（2015）年3月

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）

「重症多形滲出性紅斑に関する調査研究」

平成26年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 塩原 哲夫

平成27（2015）年3月

目 次

I. 班員構成

班員構成	1
------------	---

II. 総括研究報告

塩原哲夫	3
重症多形滲出性紅斑に関する調査研究	

III. 分担研究報告

塩原哲夫（杏林大学）	11
複数バイオマーカーの組合せ評価による重症薬疹への進展の予測	
佐山浩二（愛媛大学）	15
薬剤性過敏症候群におけるステロイド薬漸減方法についての考察	
相原道子（横浜市立大学）	19
重症薬疹における難治化要因の検討	
末木博彦（昭和大学）	23
薬剤性過敏症候群の発症早期にウイルスの再活性化を予測するバイオマーカーの検討	
森田栄伸（島根大学）	27
アロプリノール誘導型薬疹の遺伝素因の解析	
浅田秀夫（奈良県立医科大学）	31
重症薬疹の診断および活動性マーカーとしての Th1/Th2 型ケモカインの有用性の検討	

椛島健治（京都大学）	35
重症薬疹モデルマウスの作成と病態機序の解析	
小豆澤宏明（大阪大学）	38
抗てんかん薬による重症薬疹患者における HLA 解析	
橋爪秀夫（市立島田市民病院）	41
当施設における重症薬疹の臨床的特徴の検討	
阿部理一郎（北海道大学）	44
重症薬疹の予後の解析	
高橋勇人（慶應義塾大学）	47
薬剤アレルギー原因薬剤同定における薬剤リンパ球刺激試験と好塩基球活性化試験の有用性の検討	
黒沢美智子（順天堂大学）	50
重症多形滲出性紅斑（急性期）の臨床疫学像 -臨床調査個人票データ(2009年～2013年)を用いて-	
薙田泰誠（理化学研究所）	58
重症多形滲出性紅斑の遺伝的背景の研究	
外園千恵（京都府立医科大学）	60
Stevens-Johnson 症候群および中毒性表皮壊死融解症の眼後遺症に関する予測因子	
井川健（東京医科歯科大学），佐藤貴博（防衛医科大学校），魚島勝美（新潟大学）	63
扁平苔癬の研究	

IV. 関連する資料

i. 倫理委員会関係資料	67
ii. 難病指定医研修テキスト	79
iii. 個人調査票案（SJS/TEN）	107

iv. SJS/TEN 診断基準改定案	113
v. 治療指針案	119
vi. ステロイドパルス療法のプロトコール.....	123
vii. 班会議招聘状及びプログラム	129
viii. 公開講演会資料.....	141
ix. 関連ホームページのご案内	151
V. 研究成果の刊行物一覧表	
研究成果の刊行物一覧表	157
VI. 研究成果の刊行物（抜粋）	
研究成果の刊行物（抜粋）	173

[I]

班員構成

班 員 構 成

研究者名		研究実施場所	職名	主な研究分担
代表	塩原哲夫	杏林大学医学部皮膚科学	教授	研究の総括 重症多形滲出性紅斑の疫学・診断・治療・予後の研究
分担	佐山浩二	愛媛大学医学部皮膚科学	教授	重症多形滲出性紅斑の疫学・発症機序・治療の研究
分担	相原道子	横浜市立大学大学院医学研究科 環境免疫病態皮膚科学	教授	重症多形滲出性紅斑の診断・治療・予後の研究
分担	末木博彦	昭和大学医学部皮膚科学	主任 教授	重症多形滲出性紅斑の診断・治療・予後の研究
分担	森田栄伸	島根大学医学部皮膚科学	教授	重症多形滲出性紅斑の遺伝的背景・治療の研究
分担	浅田秀夫	奈良県立医科大学医学部皮膚科学	教授	重症多形滲出性紅斑の診断・治療・予後の研究
分担	梶島健治	京都大学大学院医学系研究科 皮膚科学	准教授	重症多形滲出性紅斑の診断・治療・データ保存の研究
分担	小豆澤宏明	大阪大学大学院医学系研究科 皮膚科学	助教	重症多形滲出性紅斑の診断・治療の研究
分担	橋爪秀夫	市立島田市民病院 皮膚科	主任 部長	重症多形滲出性紅斑の診断・治療の研究
分担	阿部理一郎	北海道大学医学研究科皮膚科学	准教授	重症多形滲出性紅斑の診断・治療・データ保存の研究
分担	高橋勇人	慶應義塾大学医学部皮膚科学	助教	重症多形滲出性紅斑の疫学・治療・予後の研究
分担	黒沢美智子	順天堂大学医学部衛生学	准教授	重症多形滲出性紅斑の疫学調査の研究
分担	薙田泰誠	独立行政法人理化学研究所 統合生命医科学研究センター 薬理ゲノム学	グループ ディレクター	重症多形滲出性紅斑の遺伝的背景の研究

分担	外園千恵	京都府立医科大学大学院 医学研究科 視覚機能再生外科学	講師	重症多形滲出性紅斑の眼合併症・治療の研究
分担	井川健	東京医科歯科大学 大学院医歯薬総合研究科 皮膚科学	講師	重症多形滲出性紅斑の後遺症・続発症の調査研究
分担	佐藤貴浩	防衛医科大学校 医学教育部医科学進学過程 皮膚科学	教授	重症多形滲出性紅斑の後遺症・続発症の調査研究
分担	魚島勝美	新潟大学 大学院医歯学総合研究科 生体歯科補綴学	教授	重症多形滲出性紅斑の後遺症・続発症の調査研究

[Ⅱ]

総括研究報告

重症多形滲出性紅斑に関する調査研究

研究代表者 塩原哲夫 杏林大学医学部皮膚科・教授

研究要旨

重症多形滲出性紅斑は皮膚と粘膜を侵襲する疾患群で、Stevens-Johnson 症候群(SJS)、中毒性表皮壊死症(TEN)、薬剤性過敏症候群 (DIHS)などが含まれる。本疾患群は、急性期の多彩な臨床症状と複雑な臨床経過に加え、慢性期に重症の眼後遺症や多臓器障害、自己免疫疾患を生ずる点で、極めて特異な疾患群である。その病態は移植片対宿主病(GVHD)や免疫再構築症候群などの難治性疾患と共通しており、遺伝的因子に加え、ヘルペスウイルスの再活性化、基礎疾患などが重症度、後遺症、予後に大きな差をもたらす。本研究では診療ガイドライン作成を、最終目標として、1) SJS、TEN、DIHS、扁平苔癬、GVHD の診断基準の再評価、新規難病登録個人調査票案及び難病テキスト作成、2) DIHS、SJS/TEN の早期診断の確立、3) SJS/TEN、DIHS、扁平苔癬の疫学実態調査、予後追跡調査、4) 治療の確立・普及、5) 遺伝的背景の検証、6) 創薬のためのシーズの探究、7) 得られた成果の国際展開などを遂行した。

この結果、SJS、TEN 診断基準の再評価については、ワーキンググループを設置して既存の診断基準の表記、病理組織所見などに検討を加えて改定案作成まで進め、また、扁平苔癬においては疾患の定義を確立させた。SJS と TEN においては難病登録のための個人調査票案の入力項目の設定、さらに登録を容易にするための難病テキストを完成させた。DIHS においては重症度基準の作成を開始した。重症多形滲出性紅斑の早期診断を目的に多数のサイトカイン・ケモカインを検証し、これらバイオマーカーの組合せ評価が臨床病型の決定や進展の予知に役立つことを示した。加えて、発症早期の末梢血単球分画の相違が一部の薬疹臨床病型を反映することも検証した。これらの測定・評価は初期の重症多形滲出性紅斑を的確な診断に導くとともに治療の選択に極めて有用な情報になると捉えられる。SJS、TEN の疫学実態調査では、両疾患の受給者数、受給者の重症度スコアなどが明らかになったが、患者登録者数が少ないという実態も判明した。今後は、SJS と TEN の疾患登録システムを認知させるための普及活動が必要である。扁平苔癬においても実態調査を施行し、ガイドライン作成のための金属アレルギーの実状、病理組織検査の実施状況、悪性腫瘍との関連などを把握した。DIHS の予後調査を完成させ、その結果を学会誌に発表し、また、SJS/TEN の眼病変の予後追跡調査では、年齢・病型・原因薬剤において眼後遺症をもたらす有意なリスクファクターを見いだした。一方、治療面では SJS/TEN への免疫グロブリン大量療法という新規治療法の臨床研究に協力し、保険適応収載まで達成させた。また、ステロイドパルス療法の国際臨床治験を企画し、プロトコール作成まで進めた。来年度からの実施・運用が期待できる。遺伝的背景因子の研究では、カルバマゼピン誘発薬疹関連の HLA アレル以外のゲノムバイオマーカーを検索し、新たな関連を示す SNP を同定、また、アロプリノール誘発薬疹に関連した TNF- α プロモーター遺伝子多型の存在などを示した。その他、今までに確立させた疾患動物モデルを用いた治療・創薬への応用、発症機序の解明、ウイルス再活性化と治療の関係、診断に役立つ検査法などの検証において研究の進展を得ることができた。これらの成果は今後の重症多形滲出性紅斑の診療ガイドライン作成の基盤になると位置づけられ、国民の医療の向上に貢献すると考えられる。

A. 研究目的

重症多形滲出性紅斑は Stevens-Johnson 症候群 (SJS)、中毒性表皮壊死症(TEN)、薬剤性過敏症候

候群 (DIHS)、移植片対宿主病(GVHD)などを含む臨床的な多様な疾患群である。初期診断が難しいために早期に適切な治療が施されない場合が多く、皮膚以外の多臓器に傷害をもたらすため致死率は約 20-30%と高率である。また、回復後に自己免疫疾患を含む急性、慢性難治性病変を生ずる点で、難治性炎症性疾患の 1 つのモデルとなり得る疾患である。これまでの研究成果は長期予後調査の結果、急性期の治療やウイルスの活性化のパターンが予後や重症化に極めて重要であることを示しており、それらを考慮した診療ガイドラインを策定することが切望されている。

本年度の研究では診療ガイドライン作成を最終目標として、SJS、TEN、DIHS、GVHD、扁平苔癬の診断基準の再評価と作成 [改変]、SJS、TEN、DIHS の早期診断の確立、SJS/TEN、扁平苔癬の疫学実態調査、SJS/TEN、DIHS、扁平苔癬の予後追跡調査、標準治療の確立と普及、遺伝的背景の調査、発症機序の解明、得られた成果の国際展開などを目指した。

B. 研究方法

・ SJS、TEN、扁平苔癬の診断基準の再評価・作成、及び、難病登録のため臨床個人調査票案の検討

各疾患のワーキンググループを設置し、既存の診断基準の問題点の選出、追加項目の検討、表現の適切さの評価、海外の診断基準との比較検討などを今までに各施設で蓄積された症例データを用いて行った。一部の疾患 [扁平苔癬や GVHD] では疾患定義の策定を進めた。また、従来の紙媒体の難病登録の臨床個人調査票を今後インターネット使用にて入力可能にするために、SJS、TEN の難病テキスト作成を開始し、登録に必要な項目の再検討を行った。

・ 早期診断のためのバイオマーカーの検証

SJS、TEN、DIHS、その他の薬疹患者の発症早期の血清を採取し、retrospective に multiplex biometric immunoassay または ELISA assay を用いて多種類のサイトカイン及びケモカインを同時に測定した。コントロールとしてはウイルス性発疹症などの血清を採取して検索した。

バイオマーカーの検査項目として、IL-1 α 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-10、IL-13、IL-17、IFN- γ 、IP-10、TNF- α 、IL-16、sFasL、granulysin、TARC、MIG、HMGB-1 などを選択し、比較検討した。その評価では個々のバイオマーカーのレベルを検討するとともにヒトヘルペスウイルス 6 (HHV-6) の再活性群・非再活性化群、SJS 群・EEM 群などそれぞれのグループに分けて解析を行った。また、急性期・回復期など時期による評価も実施した。それぞれのサイトカインやケモカインの組合せによる評価、臨床病型・予後との関係の検索も進めた。

・ 疫学的実態調査及び予後追跡調査

SJS、TEN においては医療費受給申請時に提出される臨床調査個人票データを用いて、各疾患の性差、年齢分布、治療、重篤度などを調査した。

また、続発症の予後調査として海外の症例も含めた DIHS の予後調査を施行した。SJS/TEN の眼病変において、2005 年～2010 年発症の全国調査で得られた SJS/TEN 症例を研究対象として用い、急性期の眼重症度を重症、中等度、軽度、なしに分類して集計し解析した。

扁平苔癬では全国大学病院皮膚科と歯科口腔外科を対象施設としてアンケート調査を実施し、実態調査と疾患予後調査を行った。

・ 治療の検証と新規治療法の確立

DIHS におけるサイトメガロウイルスの再活性化とステロイド薬治療の関連を明らかにするため、診断が確定し、入院加療した症例を用いてステロイド治療開始時期、初期量、中止時期とウイルスの再活性化時期などの関連を検証した。

SJS/TEN へのステロイドパルス療法の国際的臨床評価の必要性を提言し、現在プロトコール作成に関わる研究を進めた。

また、重症多形滲出性紅斑調査研究班が主体となり、SJS/TEN の治療の 1 つとして大量免疫グロブリン製剤療法のプロジェクを完遂させ、その結果を総括した。

・ 遺伝的背景の検索

ゲノム全体の約 50 万～100 万箇所の一塩基多型 (SNP) の遺伝子型を調べる全ゲノム関連解析 (GWAS) 手法を用いて研究を進展させた。カルバマ

ゼピン誘発薬疹患者及び日本人一般集団（コントロール群）の約50万箇所のSNPの遺伝子型情報と、公共データベース 1000 Genomes に登録されている全ゲノム上のSNP情報を基に、遺伝子型予測ソフトウェア MaCH-Admix を用いて、実際に解析したSNPの近傍にあるSNPの症例毎の遺伝子型を遺伝統計学的に検証した（ジェノタイプ・インプテーション）。

さらに、すでに同定されている薬剤(カルバマゼピン)の薬疹発症に関連する HLA-A*3101 遺伝子を用いて、与薬前に遺伝子多型検査（ゲノムワイド解析）を行うプロジェクトに共同研究として参加し、カルバマゼピン投薬患者に出現した皮疹の評価を行った。

また、アロプリノールによる薬疹であると診断され、臨床病型が確定された症例とアロプリノール服用者のうち薬疹を発症していない例を対照として DNA を、全血検体の白血球層より抽出し、TNF- α 遺伝子のプロモーター領域の-238 位および-308 位の G \rightarrow A 多型を polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) 法を用いて同定を進めた。HLA-B の DNA タイピングは、polymerase chain reaction sequence-based typing (PCR-SBT) 法にて行った。ゾニサミドによる重症薬疹の HLA 解析も施行した。

・創薬のためのシーズの探究

今までの研究で樹立した疾患動物モデルや遺伝子改変マウスを用いて SJS/TEN 発症を誘導する因子の検索、臨床症状の発現に関与する制御性 T 細胞の検証などを進めた。また、B cell depletion 療法後の薬疹症例の検体を用いて薬疹重症化に関与する制御性 B 細胞の検索を施行した。

重症多形滲出性紅斑患者の ex vivo で施行可能な検査として、既に汎用されている薬剤リンパ球刺激試験（DLST）と新たに好塩基球活性化試験（BAT）を用いてその結果の比較検討を行った。

・成果の国際展開

年2回開催する研究班会議に海外からの研究者を招いた。また、分担研究者を本症関連の国際学会に派遣した。

＜倫理面への配慮＞

本研究の実施にあたっては、試料提供者に危害を加える可能性は皆無であるが、研究の目的と概要を詳細に説明し、各施設の倫理委員会にて検討、承認された説明文書に準じて試料提供者から同意を得た上で、試料を採取・収集した。病歴、治療歴、血液検査データも含めて収集するが、試料提供者の個人が特定できる情報は各部署に配置された個人情報管理者がそれらを管理し、検体は匿名化して解析した。過去に収集された検体においても該当施設の倫理委員会の指針にしたがって同様に匿名化を行い、本研究を遂行した。

遺伝子多型解析については、すでに主任研究者施設の医の倫理委員会の承認を得ている（承認番号：125、一部変更承認番号：125-07）。同様に、さらに、重症多形滲出性紅斑の病態解明のために試料採取については「アレルギー性炎症性皮膚疾患・ウイルス性発疹症の病態と重症化因子の解明」の課題名で臨床疫学研究審査委員会の承認を受け、（承認番号：H22-077-06）試料提供者からは説明文書を用いて同意を得た。

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

* 杏林大学「薬疹の遺伝子多型解析」（125-07）

* 杏林大学「アレルギー性炎症性皮膚疾患・ウイルス性発疹症の病態及び重症化因子の解析」（H22-077-08）

* 愛媛大学「薬疹・中毒疹のウイルス学的・免疫学的解析」（愛大医病倫 1303010 号）

* 昭和大学「重症型薬疹の発症機序についての検討」（870 号）

* 島根大学「薬疹の遺伝子多型解析」（第 1670 号）

* 奈良県立医科大学「薬剤性過敏症候群におけるヒトヘルペスウイルスの再活性化の役割の研究」（195-6）

* 市立島田市民病院「薬疹の遺伝子多型解析」（7）

* 浜松医科大学「炎症性皮膚疾患における皮膚等の組織浸潤リンパ球の解析」（第 E14-304 号）

* 順天堂大学「厚生労働科学研究（難治性疾患政策研究事業）重症多形性滲出性紅斑に関する調査研究班薬剤性過敏症候群（DIHS）の全国疫学調査（2013 年終了）後の予後（後遺症）調査」（順大医倫第 2014145 号）

*京都府立医科大学「Stevens-Johnson 症候群(SJS) および中毒性表皮壊死融解症(TEN)の眼合併症に関する疫学調査」(RBMR-E-393-1)

*京都府立医科大学「カルバマゼピンまたはアロプリノールによる薬疹の遺伝子多型解析」(RBMR-G-106-1)

C. 研究結果

・各疾患の診断基準再評価及び難病登録のための難病テキストの作成

ワーキンググループによる SJS と TEN の診断基準再評価として、既存の診断基準の皮膚や粘膜病変の臨床所見と病理組織所見の項目を検証した。すなわち、今まで一般臨床医が診断基準使用時に誤解が生じやすかった診断基準項目の皮膚病変の表記、追加項目(「表皮剥離」などの表現の改訂、target lesion の表記の検討、また、既存の診断基準で明確性に欠けていた表皮の病理組織所見の評価:定量的な apoptosis の算出)などについて討議し、改訂の必要性の合意を得た。現在は改訂案について海外の診断基準とのハーモナイゼーションを考慮する段階にある。

加えて、SJS と TEN 治療指針については、平成 26 年 7 月から免疫グロブリン大量療法が保険適応になったことを踏まえて、この新規治療法を治療アルゴリズムの中で位置づけることを試み、治療指針改訂案作成まで進展させた。さらに、これらを加味して難病のインターネット登録のための SJS と TEN 各疾患の臨床調査個人票案の作成、さらに、難病疾患登録する医師のために必要な情報を含んだ難病テキストの作成を行った。DIHS については重症度基準作成をめざして、症例解析を進行させた。

扁平苔癬については定義を確立し、治療についても皮膚や口腔内など、罹患タイプごとに EBM を重視し、段階的な治療が可能となるように検討した。

・早期診断・鑑別のための解析結果

重症多形滲出性紅斑患者の発症初期の血清を用いて多種類のサイトカイン及びケモカインを測定し、それらの動態と臨床病型・予後との関係を検証した結果、重症薬疹を予測する早期血清バイオマーカーの新たな組合せが明らかになった。すな

わち薬疹の中で最重症の TEN の予知に有用なマーカーは、sFasL、IP-10、IL-6 の増加と、IL-2、IL-10 の減少であった。次いで重症である SJS では、IL-10、IFN- γ の上昇が認められた。急性期のみならず回復期に様々な免疫異常を認める DIHS では、TNF- α 、IL-5、IL-10 が上昇していた。

また、血清中ケモカインの動態を検討した結果、DIHS では Th2 型ケモカインの TARC、MDC が急性期に著明に上昇し、症状の回復とともにすみやかに正常化することが明らかになった。一方、SJS/TEN では、Th1 型ケモカインの IP-10、MIG が急性期に有意に上昇し、回復期には正常化することが判明した。さらに、DIHS では TARC の動きがヒトヘルペスウイルス 6 の再活性化と強く相関していること、HHV-6 の再活性化群と非再活性化群を分けて比較すると、治療前の TNF- α 、CRP、LDH が再活性化群で有意な高値を示すことが判明した。また、DIHS と erythema multiforme(EM)群と比し DIHS において治療前の IL-6 が高値であることが明らかになった。

さらに、SJS において、一般的な薬疹として類似する EM との早期鑑別点を検討した結果、血中炎症性バイオマーカーの中でも HMGB-1 の高値が特徴的であることも示された。

一方、末梢血において DIHS では発症初期の単球分画で CD14 の myelo/monoblast や promonocyte などの幼若な細胞が多いことを見いだした。

・疫学的実態調査及び予後追跡調査結果

臨床調査個人票データ 294 例のうち、SJS は 195 例(66.3%)、TEN は 92 例(31.3%)、不明が 7 例であった。SJS と TEN の性別年齢分布では SJS の男性は 20 歳代にやや低いピークと 50 歳代にピークのある二峰性で、女性は 20~30 歳代と 50 歳代、70 歳代が多かった。TEN は男性で 50~60 歳代にピークがあり、女性では 50~60 歳代と 80 歳以上に多かった。治療内容とその効果については、副腎皮質ステロイドは SJS の 93.3%、TEN では 89.1% で選択され、そのうち治療効果有りの割合は SJS で 75.8%、TEN で 58.5%であった。副腎皮質ステロイドのプレドニゾン換算 1 日平均値は SJS で 56.1mg/日、TEN で 80.5mg/日で、ステロイドパルス療法は SJS の 51.8%、TEN の 79.3%で選択され、そのうち効果有りは SJS で 78.2%、TEN では 65.8%であった。免疫抑制剤は SJS の 2 例に選択されて

いた。血漿交換療法は SJS の 3.6%、TEN の 22.8% にて選択され、そのうち効果有りは SJS で 85.7%、TEN で 61.9%であった。大量ガンマグロブリン製剤は SJS の 16.9%、TEN の 43.5%に選択され、そのうち効果ありは SJS で 66.7%、TEN で 60.0%であった。

SJS/TEN の眼続発症の検討で、2005-2010 年発症の SJS/TEN 症例を研究対象として急性期の眼重症度を 4 段階に分類し、急性期眼重症度、年齢、被疑薬、眼科受診までの日数と後遺症との関連を検討した。226 例中 71 例が眼後遺症を有していた。さらに急性期の眼重症度が高く、年齢が若いほど、また SJS よりも TEN の方が眼後遺症を残すリスクが高いことを見いだした。被疑薬が総合感冒薬または NSAIDs である場合に注意を要するという結果が得られた。

以前より継続して行われていた海外諸国も含めた DIHS の続発症のアンケート調査を集積し、約 150 例を解析した結果、DIHS 回復後に自己免疫性甲状腺炎や 1 型糖尿病の発症が多いことが判明した。その成果をまとめて学会誌に発表することができた。

扁平苔癬の実態調査では、金属アレルギーについて検証し、金属パッチテストで、陽性となる金属は、多い順に、Ni、Cr、Zn、Co、Pd、Hg であることが明らかになり、予後に関して悪性腫瘍発症に関しては頬粘膜、歯肉、舌が同程度で、その次に口唇という順番で頻度が多いという結果を得た。

・治療に関わる成果

本研究班は SJS/TEN 治療法の 1 つである免疫グロブリン大量投与の本邦初の臨床治験に参加協力し、本治療法は副作用が少なく有用であるとの結論に至った。その結果、免疫グロブリン製剤大量療法を SJS/TEN の新規治療法として本年度に保険適応収載に進展させるという成果を得た。

DIHS 症例において、ステロイド薬の投与方法、漸減方法によって、サイトメガロウイルスの再活性化の相違の検討において、ステロイド薬を初期間十分期間投与後の速やかな減量は、サイトメガロウイルス感染のリスクを下げる可能性があるとの結果を得た。

・遺伝的背景の検索の成果

カルバマゼピン誘発に関連する HLA-A*31:01 と連鎖不平衡にある SNP (rs1633021) を調整因子としてロジスティック回帰分析を行い、GWAS 有意水準 (5.0×10^{-8}) をクリアした 17 箇所の SNP が得られた。これらの SNP を、追加症例を用いて遺伝子型データ及び関連の再現性の検証を行い rs1633021 と独立して有意な関連を示す 2 箇所の SNP、rs4488702 及び rs16899783 を同定した (ケース群 117 例、コントロール群 1,305 例において $P = 4.10 \times 10^{-9}$ 及び $P = 2.08 \times 10^{-18}$)。また、rs4488702 は、機能未知の C2orf73 遺伝子の近傍に位置するため、当該遺伝子のコード領域を探索したが、カルバマゼピン誘発薬疹と関連するアミノ酸置換を伴う SNP は認められなかった。一方、カルバマゼピンの薬疹発症に関連する HLA-A*3101 遺伝子を用いた与薬前に遺伝子多型検査を施行するプロジェクトにおいて、一部の発疹出現例について薬疹と非薬疹の調査結果が得られた。

アロプリノールによる薬疹患者今回の検討では、HLA-B*5801 保有患者全例に TNF- α プロモーター遺伝子-238A が検出された。-238A 多型は TNF- α の転写が高率にみられることから、アロプリノールによる薬疹の発症に関与している可能性が示唆された。

抗けいれん薬のゾニサミドによる重症薬疹患者について HLA の解析が行い、2 名で共通する HLA アリルは複数あったものの、3 名以上で共通するアリルの検出は得られなかった。

・創薬をめざした探究の成果

今までに見いだしてきた SJS/TEN の病変部表皮細胞死、ネクローシスに関して、ネクローシスの形態をとる細胞死は、特定の受容体 (formyl peptide receptor 1: FPR1) とそのリガンド (annexin A1) の interaction によるシグナルで誘導されることを明らかにした。すなわち、この SJS/TEN における表皮細胞死は、プログラムされた、ネクローシス形態をとる細胞死 (ネクロプトーシス) であることを示した。通常状態の表皮細胞には FPR1 は発現されず、通常の薬疹病変皮膚でも発現が見られなかったが、SJS/TEN の病変部皮膚において発現が亢進しているという結果を得た。またネクロプトーシス阻害剤はモデルマウスにおいて、発症抑制効果を示すことを明らかにした。

今まで、抗体投与により Foxp3 陽性細胞を除去

出来る Ivl-mOVA マウスを作製し、FoxP3 陽性細胞の除去により臨床症状が悪化するという結果から、重症薬疹において Foxp3 陽性制御性 T 細胞が重要な役割を果たす可能性を示してきた。今年度は、このマウスを用いて FoxP3 陽性制御性 T 細胞が皮膚での免疫寛容を誘導するメカニズムの解析を行い、OT-I CD8+ T 細胞移入後、皮膚へ浸潤する制御性 T 細胞は CCR4 シグナルを介している可能性、また、皮膚局所での免疫寛容の誘導に表皮ランゲルハンス細胞が重要な役割を果たしていることを示唆する結果が得られた。

臨床検査においては、多数の様々な薬疹臨床病型や多種類の薬剤の DLST と BAT の検査結果の比較から、DLST と BAT は異なる系統の原因薬剤を同定できるということが明らかになった。また、DLST/BAT の併用することで、多くの臨床病型で陽性薬剤の出現率の上昇がみられ、臨床の場で両者を併用することの有用性が示された。

・成果の国際化と発信

定期的開催している研究班会議においては海外からの研究発表もなされ、本研究班の結果も含めて相互討論を行い、その成果を海外に発信した。

また、SJS/TEN 治療において本研究班主導のステロイドパルス療法の国際的臨床治験のプロジェクトを企画し、プロトコールを作成した。また、重症薬疹の原因薬剤登録の国際的な機構への参加も視野に入れて、ワーキンググループの選出を進めた。

D. 考察

SJS, TEN, 扁平苔癬の診断基準の再評価・改訂について本年度は、基礎データの集積解析など遂行し、それぞれの疾患の改定案作成まで進展させた。今後はこれらの改訂診断基準案を研究者間の施設で患者に用いて、実際の使用に際しての不備などを見極め、運用可能なレベルまで前進させることが課題である。診断基準が改定は、診断精度の向上に貢献し、治療の適切な選択にも直結するため、予後の改善が期待できる。また、本年度は現行の診断基準を反映させた臨床調査個人票案も作成したが、診断基準の改訂がなされれば今後は難病テキストや臨床調査個人票のさらなる改善も視野に入れて研究調査を進める必要がある。

本年度までに集積された臨床調査個人票データを用いて SJS と TEN の臨床疫学像を確認したが、まだ患者登録数が少ないという基本的な実態も明らかになった。今後は皮膚科のみならず他科の医師にも SJS と TEN の難病疾患登録を進めるように広く普及活動を行うことが課題である。DIHS については続発症の結果を学会誌に発信することができ、今後はこれらの続発症について、他科にも発信するとともに、連携して研究を遂行することが必要である。

重症多形滲出性紅斑の発症・誘発に関しての遺伝学的背景の研究では多くの成果が得られていた。この結果を臨床へ応用したカルバマゼピンによる薬疹発症回避を目指すオーダーメイドの遺伝子多型検査のプロジェクトでは、解析が最終段階まで進行している。この結果が得られれば、世界的に発信できる薬疹回避の 1 つの成果として位置づけられる。その成果発表が期待できる。

重症多形滲出性紅斑の初期診断の困難さに起因する診断・治療の遅れを解決するために、本年度は様々なバイオマーカーの検証が試みられた。従来は個々のバイオマーカーが、どの臨床型で特異的に上昇するかのみを重視してきたが、このような追求ではその感度、特異度において、臨床上的有用性を示すことができなかつた。この点に関して、本年度の成果は増加するマーカーだけでなく減少するものも含めて、それらを組合せ、グループ化して評価することにより、SJS, TEN, DIHS など重症薬疹の診断、進展を的確に把握できるようになった。今後はこれら項目の測定を実際の臨床の場で可能にすることが望まれる。

今までに重症多形滲出性紅斑の治療手段は限られており、免疫学的に抑制効果をもたらす手段しかないという現状であった。SJS/TEN への免疫グロブリン製剤大量療法の臨床治験の成果は、感染症や糖尿病などの基礎疾患を伴った SJS/TEN 患者の治療へ大きな福音をもたらしたといえる。さらに、本研究班はステロイドパルス療法の臨床治験を国際的に試みるプロジェクトを企画・進行しており、来年度から患者への適用開始が予定されている。エビデンスを有した SJS/TEN の治療法として、ステロイドパルス療法を広く発信できる可能性を含んでいる。

また、創薬や新規治療法の開発に際して、本研究で作成した SJS/TEN の疾患動物モデルを用い

ば、さらなる治療法の開発、現行の治療法の有用性のエビデンスによる裏付けなども提供できるようになると期待できる。

E. 結論

本年度は疫学実態調査、診断基準の再検討、初期診断のためのバイオマーカー検索、遺伝的背景の検査、発症機序の追求、新規治療の提唱などにおいて極めて有用な成果を得ることができた。これらの成果は、診療ガイドライン作成のために基礎データとして役立つとともに国民の医療の向上に大いに貢献すると考えられる。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

巻末研究成果一覧参照

2. 学会発表

分担研究報告参照

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得：なし

2. 実用新案登録：なし

[Ⅲ]

分担研究報告

複数のバイオマーカーの組合せ評価による重症薬疹への進展の予測

分担研究者 塩原哲夫 杏林大学医学部皮膚科 教授

研究協力者 青山裕美 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚科学 准教授

研究要旨

薬疹においては、発症初期にその進展・予後を明らかに出来る指標はなく、初診時に適切な治療の選択に苦慮することが多い。今回、臨床診断が確定した薬疹患者の発症初期の血清を用いて retrospective に multiplex biometric immunoassay により多種類のサイトカイン及びケモカインを測定し、それらの動態と臨床病型・予後との関係を検証した。本研究の結果から、重症薬疹を予測する早期血清バイオマーカーの新たな組合せが明らかになった。薬疹の中で最重症の中毒性表皮壊死症の予知に有用なマーカーは、sFasL, IP-10, IL-6 の増加と、IL-2, IL-10 の減少であった。次いで重症である Stevens-Johnson 症候群では、IL-10, IFN- γ の上昇が認められた。急性期のみならず回復期に様々な免疫異常を認める薬剤性過敏症候群では、TNF- α , IL-5, IL-10 が上昇していた。この結果はバイオマーカーの変動を個々に捉えるのではなく、それらを組合せて評価することで、初期から重症薬疹の予知が可能になることを示した。今後、多施設を用いて本研究で得られた結果が、prospective な検討で確認されるかどうかを明らかにするとともに、治療に対する反応性を反映するバイオマーカーを明らかにする事が、治療の選択にも寄与し得ると考えられた。

A. 研究目的

現在の所、薬疹において、初期の臨床所見から皮疹や粘膜疹がさらに進展するのか、あるいはどのような臨床病型になるのかを推測するのは困難である。実際の臨床では、初診時に播種状紅斑丘疹型の薬疹と診断してもその後 Stevens-Johnson 症候群(SJS)と診断される例や、初診時 SJS を疑って経過をみていくと実は中毒性表皮壊死症(TEN)へ進展する例などがしばしば経験される。このような薬疹の初期診断の難しさは、薬疹の治療開始の遅延に直結し、特に重症薬疹においては致死的な状態を引き起こすこともある。このため、発症初期にその進展について予測できる指標の検索が切望されてきた。

本研究では臨床診断が最終的に確定した薬疹患者の発症初期の血清を用いて retrospective に多種類のサイトカイン及びケモカインを同時に測定し、発症早期のサイトカイン及びケモカインの動態と臨床病型・予後との関係を検証することを目的とした。

B. 研究方法

対象は、1998 年から 2013 年において当科にて入院加療し、最終的に薬疹の臨床病型が確定された 67 症例（男性 31 例、女性 35 例、年齢 15～89 歳）である。臨床病型内訳では SJS は 19 例、TEN は 11 例、薬剤性過敏症候群(DIHS)は 21 例、多発型固定薬疹(FDE)9 例、播種状紅斑丘疹型薬疹 6 例である。コントロールとしては、初期には重症薬疹と鑑別の難しいウイルス性発疹症及び健常人から採取したものをを用いた。対象患者検体は原則として初診時に採取されたものを供し、multiplex biometric immunoassay または ELISA assay を用いて多種類のサイトカイン及びケモカインを同時に測定した。その種類は IL-1 α , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, IL-17, IFN- γ , IP-10, TNF- α である。IL-16, sFasL, granulysin はそれぞれ、sFasL human ELISA kit, USCNK SEB517Hu 96 tests を用いて検索した。

<倫理面への配慮>

本研究の実施にあたっては、試料提供者に危害を加える可能性は皆無であるが、研究の目的と概要を詳細に説明し、杏林大学医学部臨床疫学研究審査委員会にて「アレルギー炎症性皮膚疾患・ウイルス性発疹症の病態と重症化因子の解明」という研究課題名で許可(承認番号 No.H22-077-07)を得た。試料提供者からは本委員会にて検討、承認された説明文書に準じて、同意を得た上で試料を採取・収集した。

C. 研究結果

これまで TEN と SJS は一連の病態と考えられてきたが、sFasL は発症初期の TEN において顕著に増加していたのに対して、この増加は SJS では認められなかった。

また、多種類のサイトカイン及びケモカイン測定の結果を、臨床病型を踏まえて解析したところ、その後 TEN に進展した群においては、sFasL に加えて IP-10, IL-6 が著明に増加し、IL-2, IL-10 が減少した。一方、TEN の軽症型とみなされてきた SJS に進展する群では、IL-10, IFN- γ が上昇していた。様々な後遺症を残す事と経過が遷延する事が特徴的な DIHS では、TNF- α , IL-5, IL-10 の増加がみられた。

D. 考察

従来は個々のバイオマーカーが、どの臨床型で特異的に上昇するかのみを重視してきたが、それらの研究では重症薬疹の診断に有用なバイオマーカーを明らかにする事は出来なかった。これまで重症薬疹に特異的と報告されてきたバイオマーカーは、どれもその後の研究により、その感度、特異度において、臨床上の有用性を示すことが出来なかった。

この点において、本研究では増加するマーカー

だけでなく減少するものも含めて、それらを組合せて評価することにより、重症薬疹への進展が、より適切に予知出来るようになったと考えている。とくに、SJS と TEN は同じ病態として報告されてきたが、sFasL のように明らかに TEN でのみ上昇するバイオマーカーが存在することが分かった。これを IP-10, IL-6, IL-2, IL-10 と組合せて評価することにより、かなり正確に TEN への進展を予知することが可能になったといえる。しかも SJS, DIHS においても特異的なマーカーの組合せが判明したため、典型的な症状が見られる前に重症薬疹への進展を予知する事が可能となった。これは临床上極めて有用な所見と考えられる。

IL-17 は自己免疫疾患発症において中心となるサイトカインであり、重症薬疹における関与も報告されてきたが、本研究結果ではいずれの薬疹の臨床型とも有意な相関が認められないばかりか、むしろ、ウイルス性発疹症で著明に上昇する事が分かった。薬疹(薬疹と推測される発疹)において初期に IL-17 の上昇が検出された場合には、基盤にウイルス感染があることを推測する必要があると考えられる。

E. 結論

これまで、初期症状だけから重症薬疹への進展を予測することは極めて困難とされてきたが、本研究により重症薬疹に特異的な早期血清バイオマーカーの組合せが明らかとなった。今後は、このバイオマーカーの組合せの有用性を、prospective に多数症例で確認するとともに、治療に対する反応性を予知するようなバイオマーカーの組合せも明らかにしていきたいと考えている。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

論文発表

1. Shiohara T, Aoyama Y, Mizukawa Y: Monitoring the acute response in severe hypersensitivity reactions to drugs. *Curr Opin Clin Immunol Allergy*. 2015; in press.
2. Kano Y, Tohyama M, Aihara M, Matsukura S, Watanabe H, Sueki H, Iijima M, Morita E, Niihara H, Asada H, Kabashima K, Azukizawa H, Hashizume H, Nagao K, Takahashi H, Abe R, Sotozono C, Kurosawa M, Aoyama Y, Chu CY, Chung WH, Shiohara T: Sequelae in 145 patients with drug-induced hypersensitivity syndrome/drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms: Survey conducted by the Asian Research Committee on Severe Cutaneous Adverse Reactions (ASCAR). *J Dermatol*. 2015; doi: 10.1111/1346-8138.12770. [Epub ahead of print]
3. Shiohara T, Takahashi R, Ushigome Y, Kano Y: Regulatory T cells in severe drug eruptions. *Curr Immunol Rev*. 2014; 10: 41-50.
4. Shiohara T, Ushigome U, Kano Y: Crucial role of viral reactivations in the development of severe drug eruptions. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology* 2014; PMID:24736996.[Epub ahead of print]
5. Ishida T, Kano Y, Mizukawa Y, Shiohara T: The dynamics of herpesvirus reactivations during and after severe drug eruptions: their relation to the clinical phenotype and therapeutic outcome. *Allergy* 2014; 69(6): 798-805.
6. Demoly P, Adkinson F, Brockow K, Castells M, Chiriac AM, Greenberger PA, Khan DA, Lang DM, Park HS, Pichler W, Sanchez-Borges M, Shiohara T, Thong BY: International consensus on drug allergy. *Allergy* 2014; 69(4): 420-437.
7. 佐藤洋平, 平原和久, 狩野葉子, 塩原哲夫: 肺真菌症患者に生じた急性汎発性発疹性膿疱症 (AGEP) の1例. *臨皮*. 2014; 68: 775-780.
8. 塩原哲夫: 重症薬疹の診断と治療 アップデート 序 薬疹が“重症”になるとき. *アレルギー免疫*. 2014; 21: 1185-1188.

9. 塩原哲夫: 薬剤性過敏症候群. *医学のあゆみ*. 2014; 249:479.
10. 水川良子, 塩原哲夫 : 固定薬疹の発症機序. *臨免疫・アレルギー科*. 2014; 61: 581-584.
11. 塩原哲夫: 治療 外来を訪れるアレルギー疾患の臨床の最前線と一般日常診療の実際 皮膚アレルギー 内科医のための診断・鑑別と治療の要点. 2014; *Med Pract* 31: 287-290.

著書

1. 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: *Human herpesviruses HHV-6A, HHV-6B, and HHV-7, Diagnosis and clinical management*. 3rd Ed. Flamand L, Lautenschlager I, Krueger G, Abrashi D, eds. New York, Elsevier. 2014; p.179-200.

学会発表

1. 牛込悠紀子, 高橋良 (同フローサイトメトリ一部門, 皮膚科), 塩原哲夫: 重症薬疹の発症における patrolling monocyte の相反する役割. 第 78 回日本皮膚科学会東京支部学術大会, 東京, 平成 27 年 2 月 21-22 日.
2. Takahashi R (Division of Flow Cytometry, Kyorin Univ), Ushigome Y, Shiohara T: Monocytes are crucial for a shift away from a Treg to Th17 response in mycoplasma pneumoniae infection and SJS/TEN. The 39th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology, Osaka, Dec 12-14, 2014.
3. 佐藤洋平, 三友貴代, 狩野葉子, 塩原哲夫: プレドニゾン内服自己中断後に憎悪した Stevens- Johnson 症候群 (SJS) の一例. 第 44 回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会, 仙台, 平成 26 年 11 月 21-23 日.
4. 倉田麻衣子, 堀江千穂, 早川順, 狩野葉子, 塩原哲夫: 免疫グロブリン上昇に伴い汗疱を生じたテグレトールによる薬剤性過敏性症候群 (DIHS) の 1 例. 第 44 回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会, 仙台,