

アロプリノール誘導型薬疹診断における *HLA-B*5801* 特異的 LAMP 法の検査精度 に関する研究

研究代表者 森田栄伸 島根大学医学部皮膚科学 教授
分担研究者 新原寛之 島根大学医学部皮膚科学 講師

研究要旨

アロプリノールは、重症薬疹の原因薬剤として最も高頻度な薬剤として報告されている。本研究班では、アロプリノールによる薬疹と *HLA-B*5801* が関連していることを明らかにしてきたが、*HLA-B*5801* 検索の実臨床応用に関する検証は十分されていない。今回、アロプリノール服用後 3 か月以内に全身性発疹を生じた 8 症例（薬疹群）とアロプリノール服用するも 3 か月以上薬疹を生じていない 24 症例（対照群）について HLA-B DNA タイピング（PCR-SBT 法）と *HLA-B*5801* 検出目的に作成したプライマーを用いて行った Loop Mediated Isothermal Amplification（LAMP）法で結果を検討した。その結果、*HLA-B*5801* 特異的プライマーを用いた LAMP 法は、薬疹群で 8 例中 5 例が検出され、対象群では 24 例中全く検出されなかった。この結果から、*HLA-B*5801* 特異的 LAMP 法は、アロプリノール誘導型薬疹の除外診断には有用でないが、陽性の場合、即座に確定診断が可能であることが確認された。これまで、アロプリノール誘導型薬疹の検査法としてパッチテストや DLST（Drug Lymphocyte stimulation test）が本邦で保険適応で行われてきたが、検査精度について十分検証されていなかった。*HLA-B*5801* 特異的 LAMP 法はそれらの検査を補完し、安価で迅速な LAMP 法による薬疹発症リスクアレル検索がアロプリノールによる薬疹の確定診断に有用であると考えられた。

A. 研究目的

重症薬疹は、薬剤起因性に偶発的に発症し、数%～30%で致死的であると報告されている。その病状は数日単位で進行増悪し、1 週間以内に致死的となることもある。よって、迅速に診断をし、適切な治療介入をすることで予後を改善することが期待される。しかし、重症薬疹の発症の極早期の皮疹所見はいずれも非特異的な紅斑性皮疹である場合が多く、他の感染症含めた急性期紅斑症との鑑別が皮膚科専門医でも困難であり、客観的かつ迅速な診断法が強く求められている。本研究班では、アロプリノールによる重症薬疹の発症リスクが *HLA-B*5801* 保有個体に有意に高い（オッズ比 51）ことを報告した。われわれは、LAMP 法による *HLA-B*5801* 迅速診断法を既報告をもとに一部修正、確立した。今回、当科で

経験したアロプリノール誘導型薬疹症例と他の紅斑症症例に対して LAMP 法で *HLA-B*5801* の保有を検索し、迅速診断の検査精度について検証した。

B. 研究方法

(1) 研究対象者：島根大学医学部附属病院を受診したアロプリノール誘導型薬疹 8 例と 24 例の対象群。薬疹群は、アロプリノール服用開始 3 か月以内に薬疹様皮疹を生じて、被疑薬中止後、症状の改善を認めた症例とした。対象群は、服薬開始 3 か月以内で薬疹様の皮疹を認めなかった症例とした。

(2) *HLA-B*5801* の診断法：LAMP 法及び HLA-A DNA タイピング（PCR-SBT 法）により *HLA-B*5801* を検出した。

(3) 薬剤リンパ球刺激試験 (Drug-induced lymphocyte stimulation test : DLST) : カルバマゼピン添加による DLST を実施し、リンパ球幼若化が 180%以上を陽性と判定した。

(4) 評価方法 :

1) 主要評価項目 : LAMP 法と HLA-B DNA タイピング (PCR-SBT 法) の検査精度を評価する。

2) 副次評価項目 : アロプリノールによる DLST 陽性例と陰性例について *HLA-B*5801* 保有頻度を比較する。

(倫理面への配慮)

島根大学医学部倫理委員会にて「薬疹の遺伝子多型および発症因子の解析」の研究課題名で承認 (承認番号 1921) を得た。試料提供者からは本委員会で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

(1) 薬疹群と対象群における HLA-B DNA タイピング (PCR-SBT 法) と *HLA-B*5801* 特異的 LAMP 法の結果

	病型	LAMP	PCR-SBT		DLST
1	SJS	P	58:01	59:01	N
2	EM	P	58:01	52:01:01	N
3	EM	P	58:01:01	52:01:01	N
4	EM	P	58:01:01	48:01:01	N
5	EM	P	58:01:01	35:01	N
6	EM	N	40:06	15:18:01	N
7	EM	N	55:02:01	37:01:01	P
8	EM	N	51:01:01	40:02:01	N

	LAMP	PCR-SBT	
1	N	40:02:01	44:03:01
2	N	40:02:01	54:01
3	N	15:18:01	40:01
4	N	35:01	48:01:01
5	N	15:18:01	67:01:01
6	N	44:03:01	54:01
7	N	15:01:01	35:01:01

8	N	35:01:01	40:06:01
9	N	35:01	52:01
10	N	15:01:01	56:01:01
11	N	51:01:01	51:01:01
12	N	35:01:01	40:02:01
13	N	44:03:01	46:01:01
14	N	54:01	54:01
15	N	59:01	67:01:01
16	N	40:01	40:06:01
17	N	35:01:01	44:03:01
18	N	51:01:01	54:01
19	N	35:01:01	55:02:01
20	N	35:01:01	35:01:01
21	N	440301	520101
22	N	1	1
23	N	151101	520101
24	N	1	1

P:陽性、N:陰性

(2) HLA-B DNA タイピング法と *HLA-B*5801* 特異的 LAMP 法の一致率 :

$HLA-B*5801$ 特異的 LAMP 法陽性数 / $HLA-B*5801$ 保有数 = 5/5 = 100%

(3) 薬疹群と対象群の *HLA-B*5801* 特異的 LAMP 法の一致率

	薬疹群 (8例)	対象群 (24例)	全体 (32例)
LAMP 陽性	5	0	陽性的中率 : 1.00
LAMP 陰性	3	24	陰性的中率 : 0.11
	感度 : 0.63	特異度 : 1.00	

(4) DLST の診断率

DLST 陽性数 / 薬疹群 = 1/8 = 0.125

D. 考察

今回の検討で、LAMP 法を用いた *HLA-B*5801* 検出は、アロプリノール誘導型薬疹を感度 63%、特異度 100%、陽性的中率 : 1.00、陰性的中率 : 0.11 で予測できることが明らかになった。重症薬疹の発症初期の皮疹は紅斑のみである場合があり、リ

ケッチア症などの感染症と時に誤診され、適切な治療介入が遅れる場合がある。また、重症薬疹は、時に時間単位で症状が増悪する急性期疾患であり、適切な治療介入の遅れは生命予後にも影響する。カルバマゼピン誘導型薬疹を疑った症例で LAMP 法を用いた *HLA-B*5801* 検出検査は、陰性的中率：0.11 であり、除外診断には不向きであるが、陽性的中率が 1.00 であり、確定診断としての特異性が極めて高いことがわかった。

つまり、症例数が限られた制約はあるものの本研究から、急性発疹の発症 3 ヶ月以内からアロプリノールの服薬歴開始があり、*HLA-B*5801* 特異的プライマーを用いた LAMP 法が陽性であれば、その症例は 100% の確率でアロプリノールを誘導型薬疹であると結論づけられる。

E. 結論

*HLA-B*5801* 特異的プライマーを用いた LAMP 法は、アロプリノール誘導型薬疹の除外診断には有用でないが、確定診断として有用であることが示された。これまで DLST 検査結果判明に約 1 週間程度要していたが、わずか 2 時間程度の LAMP 法検査が陽性であることで、アロプリノール誘導型薬疹を 100% の確率で予測する事が可能であることが判明した。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Loop mediated isothermal amplification (LAMP)にて *HLA-A*3101* を迅速検出したカルバマゼピンによる DIHS の 2 例：新原寛之、河野邦江、中川優生、白築理恵、飛田礼子、森田栄伸. 皮膚病診療 41 巻 3 号 225-228 (2019. 03)

2. 書籍

なし

3. 学会発表

1) Hiroyuki Niihara: The utility of

*HLA-A*31:01:02* LAMP assay and *HLA-B*58:01:01* LAMP assay in patients with cutaneous adverse drug reaction. The 4rd Stevens-Johnson syndrome symposium, kyoto, Jan 26-27, 2019

2) Chinuki Y, Ito k, Ueda K, Morita E: Incidence of an anaphylaxis significantly decreased by avoiding cetuximab administration for the subjects sensitized against galactose-alpha-1, 3-galactose (alpha-Gal). International Investigative Dermatology 2018. Orlando, May 17, 2018

3) Niihara H, Kohno K, Morita E: Rapid detection of *HLA-A*3101* and *HLA-B*5801* by Loop mediated isothermal amplification (LAMP). The 10th International Congress on Cutaneous Adverse Drug Reactions. Shimane, November 11, 2018

4) Komatsu-Fujii T, Chinuki Y, Niihara H, Hayashida K, Ota M, Kaneko S, Morita E: The thymus and activation-regulated chemokine (TARC) level in serum at an early stage of a drug eruption is a prognostic biomarker of severity of systemic inflammation. The 10th International Congress on Cutaneous Adverse Drug Reactions. Shimane, November 11, 2018

5) 太田征孝, 永野佳那, 森田栄伸: 免疫チェックポイント阻害剤により多彩な irAE を生じた悪性黒色腫の 1 例. 第 48 回日本皮膚免疫アレルギー学会総会学術大会. 奈良市, 2018 年 11 月 17 日

6) 中村亮介, 岡本(内田)好海, 千貫祐子, 斎藤嘉朗, 森田栄伸: セツキシマブによる牛肉アレルギー患者血清中 IgE 架橋活性の解析. 第 67 回日本アレルギー学会学術大会ミニシンポジウム 20. 千葉市, 2018 年 6 月 22 日

7) 永野佳那, 白神英莉, 千貫祐子, 森田栄伸: イブプロフェンとロキソプロフェンによる固定薬疹の1例. 第70回日本皮膚科学会西部支部学術大会. 松江市, 2018年11月10日

8) 小松貴義, 千貫祐子, 新原寛之, 林田健志, 太田征孝, 金子 栄, 森田栄伸: 薬疹早期における血清 TARC 値は薬疹の重症度予測マーカーとなりうる. 第70回日本皮膚科学会西部支部学術大会. 松江市, 2018年11月10日~11日

9) 小松貴義, 千貫祐子, 新原寛之, 林田健志, 太田征孝, 金子 栄, 森田栄伸: 初診時の血清 TARC 迅速測定によって DIHS の早期診断が可能であった1例. 第70回日本皮膚科学会西部支部学術大会. 松江市, 2018年11月10日~11日

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
3. その他
なし