

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 15 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011～2012

課題番号：23791243

研究課題名（和文）重症薬疹における早期診断および重症度予測マーカー検索

研究課題名（英文）Investigation of diagnostic and prognostic markers of severe cutaneous adverse drug reactions

研究代表者

村田 純子（MURATA JYUNKO）

北海道大学・大学院医学研究科・非常勤講師

研究者番号：10598387

研究成果の概要（和文）：

重症薬疹（中毒性表皮壊死症：TEN、Stevens-Johnson 症候群：SJS）は眼症状などの重篤な後遺症を残すことがあり、時に致死性疾患である。血漿交換や大量免疫グロブリン療法などが試みられているが、いまだ難治症例も多くみられる。

本研究課題においてさらなる臨床における新規の診断マーカーを検索し、加えて重症度を予測できるマーカーも検索することを目的とした。

薬疹症例において、薬疹原因薬剤は患者末梢血単核球（PBMC）を刺激、活性化させ、重症薬疹において産生が亢進される、またはより優位に亢進するものの検索を行った。本研究では sFasL や、granulysin など細胞死誘導因子が候補として同定された。

研究成果の概要（英文）：

Severe cutaneous adverse drug reactions (Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis) are life-threatening diseases.

In this project, we investigated to identify diagnostic and prognostic markers using patients' PBMCs. Patients' PBMCs were stimulated with causative drugs and mRNA and proteins were collected. These mRNA and proteins profiles were compared to those of non-severe cutaneous adverse drug reactions (maculopapular tyoe).

We identified sFasL and granulysin are the markers.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・皮膚科学

キーワード：皮膚炎症・再生学

1. 研究開始当初の背景

重症薬疹（中毒性表皮壊死症：TEN、Stevens-Johnson 症候群：SJS）は眼症状などの重篤な後遺症を残すことがあり、時に致死的疾患である。血漿交換や大量免疫グロブリン療法などが試みられているが、いまだ難治症例も多くみられる。これまで申請者は、早期診断が早期治療開始に結びつくと考え研究を行ってきた。これまでの検討で血清中 sFasL および granulysin が発症早期に著増し、早期診断に有用であることを明らかにした (Murata J et al. J Allergy Clin Immunol 2008., Abe R, Murata J et al. Ann Intern Med 2009)。

本研究課題においてさらなる臨床における新規の診断マーカーを検索し、加えて重症度を予測できるマーカーも検索することを目的とする。

2. 研究の目的

本研究課題においてさらなる臨床における新規の診断マーカーを検索し、加えて重症度を予測できるマーカーも検索することを目的とする。

3. 研究の方法

平成 23 年度

(1) 早期診断マーカー検索

①重症薬疹患者：現在北大病院には 15 名以上の重症薬疹患者が定期通院し、例数を多く

検討できる状況である。またほとんどの症例において原因薬剤を同定できている。また本研究課題は北海道大学医学研究科医の倫理委員会で承認を得ている。

②重症薬疹患者血清：申請者は 5 年前から重症薬疹の早期診断マーカー検索の研究を行っている。そのため、全国の医療機関に重症薬疹患者の血清の提供を呼びかけ、これまで 50 例以上の症例の血清を収集している。さらに発症早期から経時的に複数の時点での血清を収集した症例も多い。この血清を用いて、すでに申請者は可溶性 FasL の測定結果を報告している (Murata, et al., J Allergy Clin Immunol 2008)。現在も全国の医療機関からの血清収集を引き続き行っており、さらにサンプル数を増やしている。

③原因薬剤刺激における発現増強する mRNA およびタンパク：多くの薬疹症例において、薬疹原因薬剤は患者末梢血単核球 (PBMC) を刺激、活性化させる。この活性化を測定するのがいわゆる薬剤リンパ球刺激試験 (DLST) である。通常薬疹においても重症薬疹においても、DLST は同様に陽性となり、鑑別には用いることはできない。本研究課題の目的は、通常薬疹と早期重症薬疹との鑑別に有用なマーカー検索であるので、この原因薬剤刺激時に、重症薬疹において産生が亢進される、またはより優位に更新するものを検索する。重症薬疹および通常薬疹患者の PBMC に原因薬剤を添加刺激し、その後 PBMC の mRNA を採取する。この mRNA を用いて DNA microarray

を施行し、重症薬疹と通常薬疹のデータを比較し、重症薬疹で優位に発現増強される molecule を同定する。

候補同定後、原因薬剤刺激した PBMC の培養上清においてタンパクレベルでの発現を ELISA または Cytometric Bead Array を用いて測定する。

④原因薬剤刺激における発現増強するタンパクの患者血清における動態解析：前述の検討で同定した候補タンパクの実際の濃度を、患者血清を用いて検討する。特に重症薬疹患者において、皮膚びらん・水疱、または粘膜症状が発現する前の時点（すなわち重症薬疹と確定診断できていない時点）において、通常薬疹と比較し優位に上昇していれば早期診断マーカーになりえる。

⑤重症薬疹早期診断マーカー迅速測定キット作成：前述の検討で同定した早期診断マーカーについて、迅速測定キットの作成を行う。イムノクロマト法を用いて、最適なモノクローナル抗体の選択や、その他バッファーなどの最適条件を検討する。短時間（15分程度）で、かつ重症薬疹のみテストラインが出現し、通常薬疹では発現しない、感度、特異度とも精度の高いキット作成を目指す。

（2）重症度予測マーカー検索

①原因薬剤刺激における発現増強する mRNA およびタンパク：重症薬疹患者の PBMC に原因薬剤を添加刺激し、その後 PBMC の mRNA を採取する。この mRNA を用いて DNA microarray

を施行し、重症薬疹のなかでも、より重症なもの（皮膚びらん・潰瘍面積が広範囲（80%以上）なもの）とそうでないものを2群に分けデータを比較し、重症度が高い症例で優位に発現増強される molecule を同定する。

候補同定後、原因薬剤刺激した PBMC の培養上清においてタンパクレベルでの発現を ELISA または Cytometric Bead Array を用いて測定する。候補同定後、迅速測定キットの作成を行う。

平成24年度

早期診断マーカーおよび重症度予測マーカー検索

前年度に引き続き上記検索、および迅速測定キットの作成を行う。

作成に成功したものから、順次臨床においての有用性を評価する。臨床応用に関しては北大病院に加え、他の医療機関においても施行可能なように、倫理委員会申請などを行う予定である。

4. 研究成果

重症薬疹（中毒性表皮壊死症：TEN、Stevens-Johnson 症候群：SJS）は眼症状などの重篤な後遺症を残すことがあり、時に致死的疾患である。血漿交換や大量免疫グロブリン療法などが試みられているが、いまだ難治症例も多くみられる。これまで申請者は、早

期診断が早期治療開始に結びつくと考え研究を行ってきた。我々は血清中 granulysin が発症早期に著増し、早期診断に有用であることを明らかにした。

本研究課題においてさらなる臨床における新規の診断マーカーを検索し、加えて重症度を予測できるマーカーも検索することを目的とした。

全国の医療機関に重症薬疹患者の血清の提供を呼びかけ、これまで60例以上の症例の血清を収集した。また北大病院に定期通院中の15名以上の重症薬疹患者が、例数を多く検討できる状況である。これらの薬疹症例において、薬疹原因薬剤は患者末梢血単核球(PBMC)を刺激、活性化させた。この原因薬剤刺激時に、重症薬疹において産生が亢進される、またはより優位に亢進するものを検索を行った。PBMCのmRNAを用いてDNA microarrayを施行し、重症薬疹と通常薬疹のデータを比較し、重症薬疹で優位に発現増強されるmoleculeの同定を行った。候補同定後、原因薬剤刺激したPBMCの培養上清においてタンパクレベルでの発現をELISAを用いて測定した。具体的にはsFasLや、granulysinなど細胞死誘導因子が候補として同定された。しかし今回の研究課題では新規の因子の同定にはいたらなかった。

今後も検討を続け、さらに重症薬疹早期診断マーカー迅速測定キット作成も行う。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に

は下線)

[雑誌論文] (計1件)

Saito N、Murata J、 et al. Prolonged elevation of serum granulysin in drug-induced hypersensitivity syndrome、*Brit J Dermatol*、査読有、167 巻、2012、452-453、

DOI : 10.1111/j.1365-2133.2012.10921.x.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

村田 純子 (MURATA JYUNKO)

北海道大学・大学院医学研究科・非常勤講師

研究者番号 : 10598387

(2) 研究分担者

()

研究者番号 :

(3) 連携研究者

()

研究者番号 :

