

平成 30 年 4 月 26 日現在

機関番号：82601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26293122

研究課題名(和文)重症薬疹のゲノムマーカー探索と病態学的関連性検証に基づく発症予測診断系の開発

研究課題名(英文) Development of a diagnostic method for severe cutaneous adverse reactions by genom biomarkers and their pathophysiological relevanceic

研究代表者

斎藤 嘉朗 (Saito, Yoshiro)

国立医薬品食品衛生研究所・医薬安全科学部・部長

研究者番号：50215571

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,700,000円

研究成果の概要(和文)：抗てんかん薬・双極性障害治療薬ラモトリギンは、重症薬疹であるスティーブンス・ジョンソン症候群(SJS)および中毒性表皮壊死症(TEN)の発症患者数が多いことが問題となっている。重症薬疹発症患者のHLAおよびゲノム網羅的な遺伝子解析を行い、既取得の日本人健康成人データを対照として関連解析を行ったところ、後者で多重性補正後も有意な多型を複数見いだした。今後、別群試料を用いて結果を検証する必要がある。一方、多重性補正後も有意なHLA型は見いだされていない。

研究成果の概要(英文)：Lamotrigine, a drug for epileptics and bipolar disorder, is known to frequently cause severe cutaneous adverse reactions such as Stevens-Johnson syndrome (SJS) and toxic epidermal necrosis (TEN). We conducted HLA and genome-wide genetic polymorphism analysis of Japanese patients with SJS/TEN, and using the healthy adults' data as controls, we found plural significantly associated genetic polymorphisms even after correction of multiple comparison. The results should be validated using another set of patient/control samples. On the other hand, no significant HLA type has been found after the correction.

研究分野：医薬品安全性学

キーワード：ゲノム バイオマーカー

## 1. 研究開始当初の背景

医薬品の副作用には、目的とする薬理学的作用に基づくものと基づかないものが知られている。後者としては、重症薬疹、薬物性肝障害、間質性肺障害等があるが、多くの医薬品が原因薬となりえることも知られており、特異体質性副作用としてその発症予測は非常に困難とされてきた。重症薬疹のうち特に重篤なものとして、スティーブンス・ジョンソン症候群 (SJS) および中毒性表皮壊死症 (TEN) が知られている。これらは重篤な水疱、びらん等の皮膚障害と発熱 (特に、SJS では皮膚粘膜炎移行部の障害) を特徴とし、本邦における診断基準では表皮剥離、水疱、びらん等の面積が 10%未満の場合を SJS、10%以上の場合を TEN と診断される (2005 年厚生労働科学研究費・橋本公二研究班、2016 年に改訂され、現在は SJS の診断基準に多形紅斑重症型 (EM major) を除外できる等、TEN の診断基準に複数の除外疾患、を追加)。発生率は年間 600 人程度と少ないものの、100 種類以上の医薬品が原因となりえ、入院による集中治療が必要で、死亡率も SJS で約 5%、TEN で約 30% と高い。また回復しても失明等の後遺症が残ることが問題となっており、重篤副作用の中でも常に医薬品医療機器総合機構 (PMDA) による被害救済例の最上位にランクされる。従って、最も発症を回避すべき重篤副作用である。薬事法第 77 条 4 の 2 (2013 年の改正により、現・薬機法第 68 条の 10) に基づく PMDA 等への重篤副作用報告例の集計において、平成 24 年度では抗てんかん薬ラモトリギンが最も多く、次いで高尿酸血症薬アロプリノール、抗てんかん薬カルバマゼピンが知られ、さらに抗生物質等の報告が多い。

台湾のグループを中心にゲノムマーカーの探索が報告されているが、医薬品の種類および民族特異的であることが知られている。日本人を対象にした当所らの解析では、症例数が比較的多いカルバマゼピンおよびアロプリノールについて HLA 解析を行い、それぞれ *HLA-B\*15:01* と *HLA-A\*31:01*、および *HLA-B\*58:01* がマーカーとなることを明らかにしたが、カルバマゼピンのマーカータイプは台湾人 (*HLA-B\*15:02*) と異なるものである。日本人に関しては、試料数は少ないながら、ゾニサミド、フェノバルビタールについても、それぞれ *HLA-A\*02:07*、*HLA-B\*51:01* の有意な関連を明らかにした。

しかし、いずれも臨床感度 (当該マーカー陽性症例数/全発症症例数) は、45~75% と高くなく、臨床応用の点で大きな問題となっている。また、最も発生数が多い、抗てんかん薬ラモトリギンに関し、ゲノムマーカーを同定できていない。この解決のためには、発症

機序への関与が明らかな、HLA を含めた複数の発症関連分子の同定が必要である。さらに臨床応用のためには、簡便・迅速にゲノムマーカーを診断するタイピング系が必要である。

## 2. 研究の目的

本研究は、重症薬疹発症患者数の多いラモトリギンに関し、SJS/TEN 発症に高い関連性を示すゲノムマーカー候補を見だし、その病態学的関連性を検討し、さらに診断系を構築することを目的とした。

## 3. 研究の方法

### 1) 資試料の収集

「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に基づき、国立医薬品食品衛生研究所及び関連機関の倫理審査委員会の承認の下、研究を行った。資試料の収集は、日本製薬団体連合会等の支援のもと構築した、全国より SJS/TEN 試料・副作用を含む臨床情報を、国立衛研に収集するシステムにより行った。医師への研究説明等の後、ご協力頂ける場合は患者への説明、同意取得、採血、ケースカードへの副作用等臨床情報の記載を行った。記載されたケースカードの内容に基づき、症状や投与開始からの期間等の情報により、皮膚科専門医である研究分担者らによって確定診断された。TEN、SJS 及び SJS 可能性例を解析対象とした。解析対象医薬品はラモトリギンとした。

なお、ラモトリギンに関しては、2015 年 2 月 4 日に、「ラミクタール錠小児用 2mg、5mg、ラミクタール錠 25mg、100mg による重篤な皮膚障害について」と題する安全性速報が発出されている。これは、2014 年 9 月からの約 4 ヶ月の間に、本薬との因果関係が否定できない重篤な皮膚障害が発現し、死亡に至った症例が 4 例報告されたためである。

### 2) ゲノム解析

血液からのゲノム DNA 抽出は、LSI メディエンスに委託した。ゲノム DNA を用いた HLA 解析は、HLA 研究所に委託した。同所では、PCR で増幅させた DNA を、プローブが固定されたビーズとハイブリダイズさせ、その蛍光強度を数値化する Luminex 法により解析を行った。またゲノム網羅的遺伝子多型解析は、イルミナ社 Human Omni2.5-8 ビーズチップ (ゲノム広域に分布する一塩基多型を中心とした約 250 万遺伝子多型のタイピングチップ) を用いて、研究分担者である千葉大学関係教授と共同で行った。対照としては、連携機関である日本ファーマコゲノミクス・データサイエンスコンソーシアムが保有する約 2,800 人の日本人健康成人における HLA 及び遺伝子多型の頻度情報を用いた。発症群と対照群における HLA 型や遺伝子多型頻度を比較するケース・コントロール研究を行い、Fisher の正確確率検定等を用いて統計解析

を行った。多重性補正は、Bonferroni 法により行った。

### 3) タグ多型の同定

HLA-C\*01:02 のタグ多型に関しては、文献 (de Bakker et al., Nat Genet. 2006; 38: 1166-1172) により調査した。

## 4 . 研究成果

全国より収集した 25 名のラモトリギンによる SJS/TEN 患者に関し、HLA 解析およびゲノム網羅的遺伝子多型解析を行った。

HLA 解析の結果、HLA-C\*01:02 がオッズ比 2.75 (95% CI: 1.24-6.09) で有意となった。しかし、多重性補正の結果、有意性は消失した。従って、弱い関連が認められたが、確定的な結果は得られなかった。バルプロ酸等の併用薬要因を含めた解析も行ったが、耐性群の N 数 (N=10) が不十分であり、今後の検討課題である。

他の民族に関しては、欧州人における同薬による重症薬疹発症に関し、HLA-B\*58:01, HLA-A\*68:01, HLA-C\*07:18, HLA-DQB1\*06:09, HLA-DRB1\*13:01 が、多重性補正前に有意であったとの報告がある (Kazeem et al., Pharmacogenet Genomics 2009; 19: 661-665)。またタイ人では、同薬による薬疹発症に関し、HLA-A\*02:07, HLA-B\*15:02 が多重性補正前に有意であったとの報告がある (Koomdee et al., Front Pharmacol 2017; 8: 879)。しかし、これらは日本人の解析では有意ではなかった。

以上の結果および文献的な知見から、ラモトリギンに関しては、HLA 型の寄与は限定的である可能性がある。なお、HLA-C\*01:02 に関しては、日本人におけるタグ多型 ( $r^2=1.000$ ,  $D'=1.000$ ) として、rs1264459, rs2535294, rs2524227 が報告されている (de Bakker et al., Nat Genet. 2006; 38: 1166-1172)。

次にゲノム網羅的遺伝子多型解析に関しては、優性モデルでは多重性補正後に有意な遺伝子多型はなく、劣性モデルでも 1 多型のみであった。一方、trend 解析では、多重性補正後も有意であり、かつ連続して関連する遺伝子多型を複数見いだした。現在、他国でラモトリギン誘因性重症薬疹試料を有する研究者と、検証に関する共同研究を行っている。

## 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 6 件)

Imatoh T, Sai K, Saito Y: Pharmacogenomic information in the Warning section of drug labels: A comparison between labels in the

United States and those in five other countries/regions. J Clin Pharm Ther. in press. (査読有り)

Saito K, Ueta M, Maekawa K, Sotozono C, Kinoshita S, Saito Y: Plasma lipid profiling of patients with chronic ocular complications caused by Stevens-Johnson Syndrome/Toxic Epidermal Necrolysis. PLoS One, 11: e0167402, 2016. (査読有り) doi: 10.1371/journal.pone.0167402.

Saito Y, Stamp LK, Caudle KE, Hershfield M, McDonagh EM, Callaghan JT, Tassaneeyakul W, Mushiroda T, Kamatani N, Goldspiel BR, Phillips EJ, Klein TE, Lee MTM: Clinical pharmacogenetics implementation consortium (CPIC) guidelines for human leukocyte antigen B (HLA-B) genotype and allopurinol dosing: 2015 update. Clin. Pharmacol. Ther., 99: 36-37, 2016. (査読有り) doi: 10.1002/cpt.161.

Kaniwa N, Ueta M, Nakamura R, Okamoto-Uchida Y, Sugiyama E, Maekawa K, Takahashi Y, Furuya H, Yagami A, Matsukura S, Ikezawa Z, Matsunaga K, Sotozono C, Aihara M, Kinoshita S, Saito Y: Drugs causing severe ocular surface involvements in Japanese patients with Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis. Allergol Int. 64: 379-381, 2015. (査読有り) doi: 10.1016/j.alit.2015.05.002.

Maekawa K, Nakamura R, Kaniwa N, Mizusawa S, Kitamoto A, Kitamoto T, Ukaji M, Matsuzawa Y, Sugiyama E, Uchida Y, Kurose K, Ueta M, Chie Sotozono C, Ikeda H, Yagami A, Matsukura S, Kinoshita S, Muramatsu M, Ikezawa Z, Sekine A, Furuya H, Takahashi Y, Matsunaga K, Aihara M, Saito Y, Japan Pharmacogenomics Data Science Consortium: Development of a simple genotyping method for the HLA-A\*31:01-tagging SNP in Japanese. Pharmacogenomics, 16: 1689-1699, 2015. (査読有り) doi: 10.2217/pgs.15.115.

Chung WH, Chang WC, Lee YS, Wu YY, Yang CH, Ho HC, Chen MJ, Lin JY, Hui RC, Ho JC, Wu WM, Chen TJ, Wu T, Wu YR, Hsieh MS, Tu PH, Chang CN, Hsu CN, Wu TL, Choon SE, Hsu CK, Chen DY, Liu CS, Lin CY, Kaniwa N, Saito Y, Takahashi Y, Nakamura R, Azukizawa H, Shi Y, Wang TH, Chuang SS, Tsai SF, Chang CJ, Chang

YS, Hung SI; Taiwan Severe Cutaneous Adverse Reaction Consortium; Japan Pharmacogenomics Data Science Consortium.: Genetic variants associated with phenytoin-related severe cutaneous adverse reactions. JAMA. 312: 525-534, 2014. (査読有り) doi: 10.1001/jama.2014.7859.

〔学会発表〕(計 13 件)

齋藤嘉朗 オミックス解析による副作用バイオマーカー開発の進展 第 38 回日本臨床薬理学会学術集会 2017 年 12 月 09 日 横浜

齋藤嘉朗 副作用回避へのバイオマーカー情報の応用と課題 第 55 回日本癌治療学会学術集会 2017 年 10 月 20 日 横浜

Saito Y. Introduction to the skin as a target for immune-mediated drug hypersensitivity. Society of Toxicology, 56th Annual Meeting and ToxExpo. 2017 年 03 月 15 日 USA, Baltimore.

Saito Y, Nakamura R. Genomic biomarkers and patients' background information for onset of SJS/TEN. 2nd International Stevens-Johnson Syndrome Symposium. 2017 年 01 月 22 日 京都

齋藤嘉朗 医薬品適正使用のためのバイオマーカーおよび薬剤疫学的情報の活用 第 66 回日本薬学会近畿支部大会 2016 年 10 月 15 日 大阪

齋藤嘉朗 バイオマーカー開発の現状と課題 第 6 回レギュラトリーサイエンス学会学術大会 2016 年 09 月 10 日 東京

Saito Y. Biomarker regulation and regulatory sciences in Japan. 11th International ISSX meeting. 2016 年 06 月 14 日 韓国・釜山

Saito Y, Nakamura R. Genomic markers associated with Stevens-Johnson Syndrome/epidermal necrolysis in Japan: A JSAR research group study. 1st International Stevens-Johnson Syndrome Symposium. 2016 年 01 月 24 日 京都

齋藤嘉朗、前川京子、齋藤公亮、中村亮介、熊谷雄治 国内の動向：臨床試料を用いた安全性バイオマーカー探索と検証—セーフティートランスレーションにおける課題 第 42 回日本毒性学会学術総会 2015 年 06 月 30 日 金沢

中村亮介、鹿庭なほ子、上田真由美、岡本(内田)好海、杉山永見子、前川京子、高橋幸利、古谷博和、矢上晶子、松倉節子、池澤善郎、松永佳世子、徳永勝士、外園千恵、相原道子、木下茂、齋藤嘉朗

重症眼粘膜障害を伴う SJS/TEN の発症と関連する被疑薬および HLA 型について 第 64 回日本アレルギー学会学術大会 2015 年 5 月 26-28 日 東京

齋藤嘉朗、齋藤公亮、児玉進、熊谷雄治、前川京子 ヒト試料を用いたバイオマーカー開発のためのレギュラトリーサイエンス 第 35 回日本臨床薬理学会学術総会 2014 年 12 月 4-6 日、松山

Nakamura R, Kaniwa N, Ueta, Sotozono C, Sugiyama E, Maekawa K, Yagami A, Matsukura S, Ikezawa Z, Matsunaga K, Tokunaga K, 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. European Academy of Allergy and Clinical Immunology, Drug Hypersensitivity Meeting 2014 年 4 月 9-12 日、スイス・ベルン

Saito Y, Ueta, Nakamura R, Sugiyama E, Maekawa K, Takahashi Y, Furuya H, Yagami A, Matsukura S, Ikezawa Z, Matsunaga K, Sotozono C, Aihara M, Kinoshita S, Kaniwa N: Medication tendencies for inducing severe ocular surface symptoms in Japanese Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis patients. European Academy of Allergy and Clinical Immunology, Drug Hypersensitivity Meeting 2014 年 4 月 9-12 日、スイス・ベルン

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

[http://www.nihs.go.jp/mss/MSS%20folder/JSCAR/jscar\\_index.html](http://www.nihs.go.jp/mss/MSS%20folder/JSCAR/jscar_index.html)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

齋藤 嘉朗 (SAITO Yoshiro)

国立医薬品食品衛生研究所・医薬安全科学部・部長

研究者番号：50215571

(2) 研究分担者

関根 章博 (SEKINE Akihiro)

千葉大学・予防医学センター・教授

研究者番号：30425631

中村 亮介 (NAKAMURA Ryosuke)  
国立医薬品食品衛生研究所・医薬安全科学  
部・室長  
研究者番号：50333357

高橋 幸利 (TAKAHASHI Yukitoshi)  
静岡てんかん・神経医療センター・副院長  
研究者番号：70262764

相原 道子 (AIHARA Michiko)  
横浜市立大学・医学部・教授  
研究者番号：90231753