

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K16020

研究課題名（和文）プロテオーム解析による重症薬疹の早期診断バイオマーカーの検索

研究課題名（英文）Research for biomarkers for early diagnosis of severe drug eruption by proteome analysis

研究代表者

濱 菜摘（Hama, Natsumi）

新潟大学・医歯学総合病院・講師

研究者番号：50529625

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：Stevens-Johnson症候群および中毒性表皮壊死症をはじめとする重症薬疹は、発症頻度は稀であるが後遺症を残しやすく、致死率も高い。これまで早期診断、重症度予測ができるようなバイオマーカーの研究は十分とはいえず、本研究ではプロテオーム解析を用いた網羅的な探索により新規バイオマーカー候補であるgalectin-7を同定した。Galectin-7は疾患特異度が高く、早期診断に有効と考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本邦の最近の統計によると中毒性表皮壊死症の致死率は未だ約30%と高い。Stevens-Johnson症候群および中毒性表皮壊死症では、いかに確実に早期診断を行い、早期治療を開始するかということが最重要であるものの、発症早期に正確な診断をすることは非常に困難である。そこで今回同定したgalectin-7のようなバイオマーカーが診断の補助として有用である可能性があり、早期診断に寄与できれば救命率が上昇する可能性がある。今後は臨床応用を目指していきたい。

研究成果の概要（英文）：Severe drug eruptions, mainly Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis, are rare but can cause sequelae and be lethal. Until now, research on biomarkers for early diagnosis and prediction of severity has not been sufficient. In this study, galectin-7, a new biomarker candidate, was identified by a comprehensive search using proteome analysis. Galectin-7 has high disease specificity and is considered to be effective for early diagnosis.

研究分野：重症薬疹、膠原病

キーワード：重症薬疹 バイオマーカー スティーブンス・ジョンソン症候群 中毒性表皮壊死症

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

Stevens-Johnson 症候群 (Stevens-Johnson syndrome; SJS) および中毒性表皮壊死症 (toxic epidermal necrolysis; TEN) は重症薬疹の一型であり、表皮細胞の広範な細胞死が起こることにより、臨床的に広範囲にびらん、表皮剥離が生じる。TEN においては発症頻度が 100 万人あたり年間 1 ~ 2 人と稀ではあるが、死亡率が最近の本邦の報告では約 30% と予後不良の疾患である。SJS を含め、回復しても失明などの重度の後遺症をきたしうするため、早期の有効な診断、治療法の確立が緊急課題である。しかしながら、発症病態は未だ十分に解明されていない。

SJS/TEN は発症初期では、通常型薬疹 (重篤な経過を辿らず治癒する薬疹) と臨床症状が非常に類似するため、現状では重症薬疹の早期診断を臨床症状から行うことは極めて困難である。

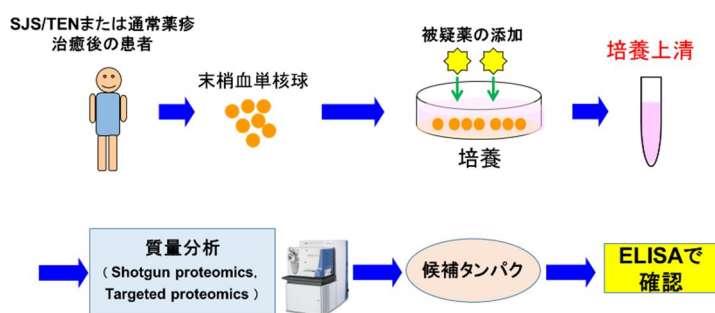
### 2. 研究の目的

原因薬剤添加で SJS/TEN 患者末梢血単核球から特異的に産生されるタンパクをプロテオーム解析し、SJS/TEN に特異的で診断に有用なバイオマーカーを探索することである。さらに特異的バイオマーカー同定後、血清での濃度評価を行い、さらに迅速測定キットの作製を行い予後改善へ貢献することである。

これまで見出されたバイオマーカーはそれらを解決するのに十分ではなく、疾患の発症機序もすべて明らかにはなっていないことから、当該分野では未施行であるプロテオーム解析を用いた網羅的な探索を取り入れることで新規バイオマーカー候補を発見することを考えた。

### 3. 研究の方法

重症薬疹患者末梢血単核球に原因薬剤を添加したのちの培養上清に含まれていた、既に同定した複数のタンパクをターゲットに、当科に現在通院中あるいはこれまで入院治療を行った重症薬疹患者を含めた通常薬疹患者、健常人コントロールの血清を対象に ELISA キットにて測定する (右図)。重症薬疹患者に対して有意に上昇していたタンパクに対して実際のタンパク発現量を測定しアトピー性皮膚炎他のアレルギー疾患などと比較し疾患特異性や重症度との相関を検討する。上記タンパクから重症薬疹の早期診断が可能なタンパクを同定し、迅速測定キットを作製する。

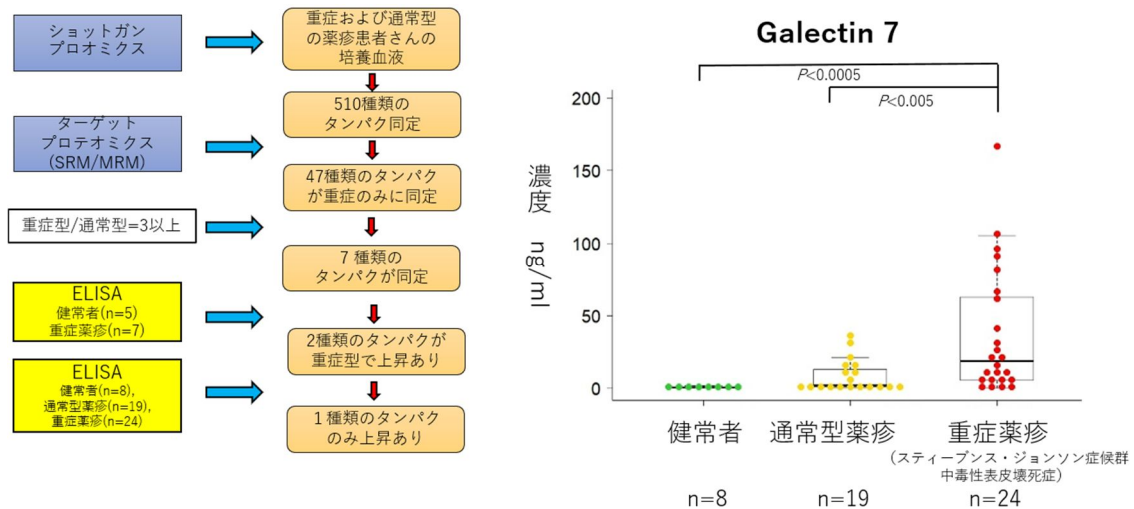


### 4. 研究成果

回復後の、重症および通常型の薬疹患者末梢血単核球の血液に原因薬剤を添加して培養した上清を質量分析 (ショットガン解析) したところ、510 種類のタンパク質を同定した。その中で重症薬疹の患者の血液のみにみられるタンパク質は 47 種類であり、それらを Selected/Multiple Reaction Monitoring (SRM/MRM) により解析したところ、通常型より明らかに上昇していたタンパク質が 7 種類絞り込まれた (annexin A3, cathelicidin antimicrobial peptide (LL37), neutrophil gelatinase-associated lipocalin, calmodulin-like protein 5 (CALML5), galectin-7, interleukin-36, S100A7)。その後、SJS/TEN 患者 7 人分の血清と、健常人 5 人分の血清を、上記 7 種類のタンパク質に対し ELISA 法で直接測定したところ、CALML5 と galectin-7 のみが重症薬疹の方のみに上昇していた。さらにその 2 種類のタンパク質に対し、サンプル数

を増やして SJS/TEN 患者 24 人分の血清と、通常型薬疹の 19 人分の血清と健常者 8 人分の血清で検査したところ、galectin-7 のみが有意差をもって重症薬疹の方で上昇していました。Galectin-7 は、他の水疱症やウイルス疾患での上昇はみられず、また病変部の水疱内液での顕著な上昇がみられました。また、ステロイド治療後には血中濃度の低下を認め、重症度との関連も考えられる。これらのことから、galectin-7 は SJS/TEN の良いマーカーとなりうるということがわかった。

この成果は The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice 誌 (IMPACT FACTOR 7.574) に 2019 年に掲載された。(Galectin-7 as a potential biomarker of Stevens-Johnson syndrome/ toxic epidermal necrolysis: Identification by targeted proteomics using causative drug-exposed peripheral blood cells; Hama et al, J Allergy Clin Immunol Pract. 2019 Nov-Dec;7(8):2894-2897.e7. doi: 10.1016/j.jaip.2019.05.002. Epub 2019 May 14.) 下記図は同文献を一部日本語に改変し引用。



Galectin-7 は様々な働きが報告されており、表皮角化細胞における分化に関わること<sup>\*1</sup>や、細胞傷害時にアラミンとしてかかわっている可能性がある<sup>\*2</sup>という報告もある。今回診断キット作成まではできなかったが、今後 SJS/TEN における Galectin-7 の定量を継続し、多施設との研究を進めつつ、その病態とのかかわりについても検討していきたい。

#### 引用文献

- \*1. Advedissian et al: Int J Mol Sci. 2017 Dec 19;18(12):2760.
- \*2. Umayahara et al: Clin Exp Allergy. 2020 Aug;50(8):922-931.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Natsumi Hama, Keiko Nishimura, Akito Hasegawa, Akihiko Yuki, Hideaki Kume, Jun Adachi, Manao Kinoshita, Youichi Ogawa, Saeko Nakajima, Takashi Nomura, Hideaki Watanabe, Yoshiko Mizukawa, Takeshi Tomonaga, Hiroshi Shimizu, Riichiro Abe	4. 巻 7
2. 論文標題 Galectin-7 as a Potential Biomarker of Stevens-Johnson syndrome/toxic Epidermal Necrolysis: Identification by Targeted Proteomics Using Causative Drug-Exposed Peripheral Blood Cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Allergy Clin Immunol Pract.	6. 最初と最後の頁 2894-2897
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jaip.2019.05.002.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 1件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Natsumi Hama, Keiko Nishimura, Akito Hasegawa, Riichiro Abe
2. 発表標題 Galectin-7 as a potential biomarker of Stevens-Johnson syndrome/ toxic epidermal necrolysis: Identification by targeted proteomics using causative drug-exposed peripheral blood cells
3. 学会等名 SJS/TEN2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 濱 菜摘、西村慶子、長谷川瑛人、結城明彦、久米 秀明、足立 淳、木下真直、小川陽一、中島沙恵子、野村尚史、渡辺秀晃、水川良子、朝長 毅、清水 宏、阿部理一郎
2. 発表標題 原因薬剤添加末梢血単核球培養上清を用いたプロテオーム解析によるスティーブンス・ジョンソン症候群/中毒性表皮壊死症のバイオマーカーの同定
3. 学会等名 第49回皮膚免疫アレルギー学会総会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 濱 菜摘
2. 発表標題 重症型薬疹の診断-早期バイオマーカーを含めて-
3. 学会等名 第119回日本皮膚科学会総会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Natsumi Hama, Keiko Nishimura, Akito Hasegawa, Riichiro Abe
2. 発表標題 Galectin-7 as a potential biomarker of Stevens-Johnson syndrome/ toxic epidermal necrolysis: Identification by targeted proteomics using causative drug-exposed peripheral blood cells
3. 学会等名 SJS/TEN 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関