

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 14 日現在

機関番号：24601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591650

研究課題名(和文)GVHDを病態モデルとして利用したDIHSにおけるHHV-6再活性化機序の解明

研究課題名(英文)Study on HHV-6 reactivation mechanism in DIHS, by using GVHD as a disease model

研究代表者

浅田 秀夫 (ASADA, HIDEO)

奈良県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：60252681

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：重症薬疹の1つである薬剤性過敏症候群(DIHS)の病態形成にはHHV-6再活性化が重要な役割を担っている。本研究ではDIHSにおけるHHV-6再活性化機序の解明を目指した。その結果、DIHSでは、発症からHHV-6再活性化に至るまでの期間に制御性T細胞(Treg)の皮疹部への浸潤の増加がみられること、Tregの遊走に関わるケモカインTARCが急性期に著明に上昇すること、血清TARC値とHHV-6再活性化との間に密接な相関が見られることが判明した。以上のことから、血清TARCの上昇、あるいはそれに続く免疫変調が、DIHSにおけるHHV-6再活性化に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：HHV-6 reactivation plays an important role in the pathogenesis of drug induced hypersensitivity syndrome(DIHS). In this study, we aimed to elucidate the mechanism of HHV-6 reactivation in DIHS. As a result, we observed infiltration of regulatory T cells (Treg) into the skin lesion in the period leading up to the HHV-6 reactivation from the onset of DIHS, and a marked increase of TARC, a chemokine involved in the migration of Treg, during the acute phase, and a close correlation between serum TARC levels and HHV-6 reactivation. These results suggest the possibility that TARC itself, or the immune modulation following the increase of TARC plays an important role in HHV-6 reactivation in DIHS.

研究分野：内科系臨床医学

科研費の分科・細目：7214

キーワード：薬剤性過敏症候群 DIHS GVHD HHV-6 ヒトヘルペスウイルス 再活性化 制御性T細胞 TARC

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 薬剤性過敏症症候群(DIHS)は、発熱、白血球増多、多臓器障害を伴う重症薬疹の1つである。その病態形成にはHHV-6の再活性化が重要な役割を担っているものと考えられている。しかし、DIHSにおけるHHV-6の再活性化機序については現在のところほとんど解明されていない。

(2) 我々は同種造血幹細胞移植後の急性GVHDの発症にHHV-6の再活性化が密接に関わっていること、同時にIL-10産生T細胞の活性化を伴うことを報告し(J Am Acad Dermatol 58: 802-9, 2008)、急性GVHDとDIHSとの病態の類似性を明らかにしてきた。

## 2. 研究の目的

DIHSと類似した病態である急性GVHDの研究を手掛かりとして、DIHSにおけるHHV-6の再活性化機序の解明を目指す。

## 3. 研究の方法

(1) DIHS12例、GVHD12例、紅斑丘疹型薬疹(MPE)18例を対象として、生検にて採取した皮疹部検体を用いて、免疫染色により浸潤細胞を検討した。免疫染色には、FoxP3、CD3、CD4、CD8、Granzyme Bに対する抗体を用い、各浸潤細胞の割合と皮疹出現後の日数との関係を検討した。

(2) DIHS 8例、GVHD 8例、MPE 18例を対象として、末梢血中のTreg (CD4<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>, FoxP3<sup>+</sup>)の経時的な動きを、FACS解析により調べた。

(3) DIHS 32症例、スティーブンス・ジョンソン症候群/中毒性表皮壊死症(SJS/TEN) 16症例、MPE 17症例の3群について、急性期、回復期の患者血清中のTARC値を、ELISA法にて測定し、3群間で比較した。

(4) DIHSにおいて、血清TARC値の推移と、臨床症状や臨床検査データとの相関を経時的に調べた。

(5) DIHSおよびMPEの皮疹部の生検検体を用いて、皮膚におけるTARCの発現を免疫組織化学的に検討した。

(6) 臨床的にDIHSを疑った患者について、HHV-6再活性化群(n=32)と非再活性化群(n=13)に分けて、急性期のTARC値を比較した。

(7) DIHS、SJS/TEN、MPEの急性期および回復期における、血清中のTh2型ケモカイン(TARC、MDC)、Th1型ケモカイン(IP-10、MIG)の動きを調べた。

## 4. 研究成果

(1) 皮疹部におけるTregの動態：急性期における浸潤リンパ球のサブセットをDIHSとGVHDで比較すると、CD3陽性Tリンパ球当たりのTregの割合が、DIHSでは約15%と高値

を示したのに対し、GVHDでは5%以下であった。特にDIHSでは、皮疹出現からHHV-6再活性化に至るまでの期間にTregが著しく増加する傾向がみられた。

(2) 末梢血中でのTregの動態：DIHS患者末梢血中のTregの動き(Treg細胞数/CD4<sup>+</sup>細胞数)は、急性期:10.4 ± 2.0%、HHV-6再活性化期:11.6 ± 4.5%、回復期:5.2 ± 0.9%と、急性期とHHV-6再活性化期では増加し、回復期には減少していたが、この動きはGVHDにおけるTregの動きと類似していた。

(3) DIHS、SJS/TEN、MPEの急性期における血清TARC値の比較：急性期の血清TARC値は、DIHS患者群において平均21,023 pg/mlと著しく上昇しており、SJS/TEN患者群(1,543 pg/ml)およびMPE患者群(2,142 pg/ml)と比較して有意に高値を示した。

(4) DIHSにおける血清TARC値の動態：DIHS患者では、血清TARC値が皮疹の活動性と良く相関することが明らかとなった。また、血清可溶性IL-2受容体値(r=0.91, P<3×10<sup>-19</sup>)、血清IL-5値、末梢血好酸球数(r=0.73, P<5×10<sup>-10</sup>)の推移とも比較的良く相関していた。

(5) TARC発現の免疫組織化学的検討：DIHS皮疹部に浸潤しているCD11c陽性の真皮樹状細胞にTARCの著明な発現を認めた。

(6) HHV-6再活性化群および非再活性化群における血清TARC値の比較：HHV-6再活性化群では平均21,023 pg/ml、非再活性化群では平均7,449 pg/mlと、血清TARC値は再活性化群で有意に高値を示した。

(7) DIHS、SJS/TEN、MPEにおけるTh1/Th2ケモカインの動態：DIHSの急性期には、TARCに加え、TARCとレセプターを共有するTh2型ケモカインのMDC値も著明に上昇することが判明した。一方、Th1型ケモカインのIP-10やMIGはSJS/TENの急性期において、DIHS、MPEよりも有意に高値を示した。

以上の結果から、DIHSの急性期における血清TARCの上昇、あるいはそれに続く免疫変動が、DIHSにおけるHHV-6再活性化に重要な役割を果たしている可能性が推測された。さらに、血清中のTh1/Th2ケモカインの動きが、DIHSとSJS/TENの各々で特異的なパターンを示すことから、これらのケモカインが重症薬疹の早期診断の有力なマーカーとなり得ることも明らかとなった。

## 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12件)

1. 小川浩平、長島千佳、北村華奈、福本隆也、浅田秀夫、中川智代、笠原敬、古西満、三笠桂一:AIDSに合併した中毒性表皮壊死症に血漿交換療法が奏効した1例。皮膚科の臨床53(4): 609-614, 2011

2. 北見 周、渡辺秀晃、末木博彦、飯島正

文、相原道子、池澤善郎、狩野葉子、塩原哲夫、森田栄伸、木下 茂、相原雄幸、白方裕司、藤山幹子、外園千恵、椛島健二、小豆澤宏明、浅田秀夫、橋本公二:Stevens-Johnson症候群ならびに中毒性表皮壊死症(TEN)の全国疫学調査 - 平成20年度厚生労働科学研究費補助金(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 - .日皮会誌 121(12): 2467-2482, 2011

3. Morito H, Ogawa K, Fukumoto T, Kobayashi N, Asada H: Drug-induced hypersensitivity syndrome followed by persistent arthritis. J Dermatol 39(2):178-9: 2012

4. Morito H, Kitamura K, Fukumoto T, Kobayashi N, Kuwahara M, Asada H: Drug eruption with eosinophilia and systemic syndrome associated with reactivation of human herpesvirus 7, not human herpesvirus 6. J Dermatol 39(7): 669-70:2012

5. Ogawa K, Morito H, Kobayashi N, Fukumoto T, Asada H: Case of drug-induced hypersensitivity syndrome involving multiple-drug hypersensitivity. J Dermatol 39(11): 945-6: 2012

6. Hagiwara M, Inoue T, Furuno T, Iino T, Itami S, Nakanishi M, Asada H, Hosokawa Y, Ito A: Increased expression of cell adhesion molecule 1 by mast cells as a cause of enhanced nerve-mast cell interaction in a hapten-induced mouse model of atopic dermatitis. Br J Dermatol 168(4): 771-8. 2013

7. Ogawa K, Morito H, Hasegawa A, Daikoku N, Miyagawa F, Okazaki A, Fukumoto T, Kobayashi N, Kasai T, Watanabe H, Sueki H, Iijima M, Tohyama M, Hashimoto K, Asada H: Identification of thymus and activation-regulated chemokine (TARC/CCL17) as a potential marker for early indication of disease and prediction of disease activity in drug-induced hypersensitivity syndrome (DIHS)/ drug rash with eosinophilia and systemic symptoms (DRESS). J Dermatol Sci 69(1): 38-43, 2013

8. Asada H, Nagayama K, Okazaki A, Mori Y, Okuno Y, Takao Y, Miyazaki Y, Onishi F, Okeda M, Yano S, Kumihashi H, Gomi Y, Maeda K, Ishikawa T, Iso H, Yamanishi K: An inverse correlation of VZV skin-test reaction, but not antibody, with severity of herpes zoster skin symptoms and zoster-associated pain. J Dermatol Sci 69(3): 243-9, 2013

9. Ommori R, Ouji N, Mizuno F, Kita E, Ikada Y, Asada H: Selective induction of antimicrobial peptides from keratinocytes by staphylococcal bacteria. Microbial Pathogenesis 56: 35-9, 2013

10. 浅田秀夫: ウイルス感染と重症薬疹. 日皮会誌 123: 2752-2754, 2013

11. 平野 亜由子、福本隆也、藤井秀孝、藤澤章弘、浅田秀夫: アセトアミノフェンによる紫斑型薬疹の1例. 西日皮 75, 444-447, 2013

12. Morito H, Ogawa K, Fukumoto T, Kobayashi N, Morii T, Kasai T, Nonomura A, Kishimoto T, Asada H: Increased ratio of FoxP3+ regulatory T cells/CD3+ T cells in skin lesions in drug-induced hypersensitivity syndrome/drug rash with eosinophilia and systemic symptoms. Clin Exp Dermatol 39(3): 284-91, 2014

[学会発表](計15件)

1. 小川浩平、長山功佑、森戸啓統、福本隆也、小林信彦、浅田秀夫、玉置伸二: DIHSを契機に多剤に対してDLST陽性反応を呈した1症例. 第41回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会(山梨) 2011.7.16-17

2. Morito H, Ogawa K, Fukumoto T, Kobayashi N, Asada H: Characterization of drug specific T cells in patients with drug-induced hypersensitivity syndrome(DIHS). 第36回日本研究皮膚科学会(京都) 2011.12.9-11

3. Miyagawa F, Zhang H, Tagaya Y, Ozato K, Asada H, Katz S: IRF8 integrates TCR and cytokine signaling pathways and drives effector differentiation of CD8 T cells. 第36回日本研究皮膚科学会(京都) 2011.12.9-11

4. 長谷川文子、福本隆也、小林信彦、浅田秀夫: メシル酸イマチニブ(グリベック®)による扁平苔癬型薬疹の一例. 第62回日本皮膚科学会中部支部学術大会(四日市) 2011.11.19-20

5. 氷室佑季子、飯岡弘至、大黒奈津子、長谷川文子、宮川 史、福本隆也、小林信彦、浅田秀夫: カロナール(アセトアミノフェン)によると考えられたTENの1例. 第433回日本皮膚科学会大阪地方会(大阪)2012.9.15

6. Ogawa K, Hasegawa A, Daikoku N, Miyagawa F, Okazaki A, Fukumoto T, Kobayashi N, Kasai T, Asada H: Identification of thymus and activation-regulated chemokine (TARC/CCL17) in drug-induced hypersensitivity syndrome (DIHS): Identification of TARC as potential marker for early indication of the disease and prediction of the disease activity. 5th Drug Hypersensitivity Meeting(Munich, Germany) 2012.4.11-14

7. Asada H: Drug-induced hypersensitivity syndrome involving multiple-drug hypersensitivity. 5th Drug Hypersensitivity Meeting (Munich,

Germany) 2012.4.11-14

8. 浅田秀夫：皮膚アレルギー疾患とヘルペスウイルス感染症との関わり．第 28 回 日本臨床皮膚科学会近畿ブロック総会・学術大会（奈良）2012.11.18

9. 伊東由美子、余語章子、福本隆也、小林信彦、浅田秀夫、矢追博章：アデノウイルス咽頭炎後に発症した Stevens-Johnson 症候群の小児例．第 112 回 日本皮膚科学会（京都）2012.6.1

10. 浅田秀夫：薬疹の予防-重症薬疹、分子標的薬による薬疹を中心に-．第 62 回日本アレルギー学会秋季学術大会（大阪）2012.11.29

11. 小川浩平、森戸啓統、長谷川文子、宮川史、岡崎愛子、福本隆也、小林信彦、渡辺秀晃、末木博彦、飯島正文、藤山幹子、橋本公二、浅田秀夫：薬剤性過敏症症候群(DIHS)における血清 TARC 値の臨床的意義．第 62 回日本アレルギー学会秋季学術大会（大阪）2012.11.29

12. Miyagawa, H Zhang, SI Katz , H Asada: IRF8 and IRF4 work cooperatively in CD8 T cell effector differentiation. IID 2013 (Edinburgh) 2013. 5.8-11

13. 浅田秀夫：ウイルス感染と重症薬疹．第 112 回 日本皮膚科学会総会（横浜）2013. 6.14-16

14. 小川浩平、森戸啓統、長谷川文子、宮川史、小林信彦、渡辺秀晃、末木博彦、橋本公二、狩野葉子、塩原哲夫、伊藤香世子、藤田浩之、相原道子、浅田秀夫：薬剤性過敏症症候群(DIHS)における血清 TARC 値の上昇とヒトヘルペスウイルス6との関連．第 43 回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会（金沢）2013.11.30

15. 光井康博、廣瀬千治、宮川史、余語章子、飯岡弘至、福本隆也、小林信彦、浅田秀夫、浅井英樹、岡田定規、中村ふくみ、宇野健司：アセトアミノフェンが原因と考えられた TEN の 1 例．第 43 回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会（金沢）2013.12.1

〔図書〕(計 5 件)

1. 浅田秀夫 編集：ウイルス性皮膚疾患ハンドブック、皮膚科臨床アセット 3、中山書店、2011

2. 浅田秀夫：DIHS と GVHD におけるウイルス再活性化の類似点、薬疹診療のフロントライン、皮膚科臨床アセット 2、中山書店、p167-9, 2011

3. 浅田秀夫：分子標的薬による薬疹の特徴、薬疹診療のフロントライン、皮膚科臨床アセット 2、中山書店、p255-9、2011

4. 浅田秀夫：ウイルス感染とアレルギー、1 冊でわかる皮膚アレルギー、皮膚科サブスペシャリティーシリーズ、文光堂、p239-45、2012

5. 浅田秀夫：ウイルス抗体価の読み方、今日の皮膚疾患治療指針、医学書院、p147-50、

2012

〔産業財産権〕  
出願状況（計 0 件）  
取得状況（計 0 件）

〔その他〕なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

浅田 秀夫 (ASADA HIDEO)  
奈良県立医科大学・医学部・教授  
研究者番号：60252681

(2) 研究分担者

森井 武志 (MORII TAKESHI)  
奈良県立医科大学・医学部・講師  
研究者番号：70264851