

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 10 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24390275

研究課題名(和文)重症薬疹の発症病態解明に対する包括的検討

研究課題名(英文) Investigation for pathogenesis of cutaneous severe adverse drug reaction.

研究代表者

阿部 理一郎 (Abe, Riichiro)

北海道大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：60344511

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,000,000円

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)は時に致死的であるが、発症機序については未だ十分に解明されていない。本研究において発症予測マーカーおよび重症度予測マーカーの同定、および疾患特異的治療法の開発を行った。重症薬疹における表皮細胞死はannexin A1/formyl peptide receptor 1によることを明らかにした。この受容体をターゲットにした重症薬疹治療薬の検索を行った。

研究成果の概要(英文)：Stevens-Johnson syndrome (SJS) and toxic epidermal necrolysis (TEN) are life-threatening, cutaneous adverse drug reactions that are accompanied by keratinocyte cell death. Dead keratinocytes from SJS/TEN lesions exhibited necrosis, by morphological criteria. We identified annexin A1 as a key mediator of keratinocyte death via formyl peptide receptor 1 (FPR1). Our results demonstrate that a necroptosis pathway, likely mediated by annexin 1 acting through the FPR1 receptor, contributes to SJS/TEN.

研究分野：皮膚科

キーワード：薬疹 アレルギー

1. 研究開始当初の背景

薬剤による健康被害は厚生労働行政における国民医療に関して最も重要な課題の一つである。特に重症薬疹(中毒性表皮壊死症: TEN、Stevens-Johnson 症候群: SJS)において、TEN は致死率が 20%と高率であり、SJS は重度の視力障害を残すもので、早急な対策が望まれる。しかしながら重症薬疹の発症機序については未だ十分に解明されていない。本研究において発症予測マーカーおよび重症度予測マーカーの同定ができれば、重症薬疹発症を未然に防ぎ、さらに疾患特異的治療法の開発を通じて重症薬疹による死亡率を改善し、また重度の眼症状の後遺症を減らすことができる。

2. 研究の目的

重症薬疹(中毒性表皮壊死症: TEN、Stevens-Johnson 症候群: SJS)は時に致死的疾患であり、高率に眼障害などの重篤な後遺症を残す。重症薬疹の発症機序についてはいまだ不明なことが多い。特に重症薬疹のモデル動物がなく、研究のほとんどが患者サンプルを用いてしか行えず、病態解明が進んでいない。最近我々は重症薬疹患者末梢血を免疫不全マウスに静注することによって重症薬疹モデルマウスの作成に成功した。

一方、重症薬疹発症における重要な現象の表皮細胞死の発生メカニズムについて、これまでアポトーシスによる細胞死であると考えられてきた。しかしその詳細は未だ不明な点が多い。

本研究課題において、重症薬疹モデルマウス、患者サンプルあるいは TG-GATEs を用いて病態発症のメカニズムを解明し、新規の早期診断および治療法の開発に結びつけることを目的とする。

3. 研究の方法

これまでの重症薬疹発症機序に対する研究では、薬剤特異的 cytotoxic T cell が表皮細胞死を誘導することから、重症薬疹で引き起こされる表皮細胞死は apoptosis であるとされてきた。しかし、実際の患者由来表皮細胞を用いた検討はほとんどみられない。本研究課題において、重症薬疹患者からの培養表皮細胞に、同患者の末梢血単核球(PBMC)を原因薬剤で刺激した培養の上清を添加することで、表皮細胞死が生じるか観察された。一方通常薬疹患者の培養表皮細胞、PBMC においては生じなかった。原因薬剤で刺激された重症薬疹患者 PBMC の培養上清の細胞死を誘導する液性因子を同定するために、重症薬疹患者及び通常薬疹患者の培養上清中のタンパ

クを質量解析を用いて比較検討する。同定されたタンパクについて、細胞死誘導メカニズムを検討する。

その他、TG-GATEs を活用して重症薬疹の発症に関連する遺伝子変動を解析していくために、TG-GATEs に収集されている薬剤リストを整理し、SJS あるいは TEN の発症頻度の高い薬剤のリストアップを行う。

(倫理面への配慮)

本研究の実施にあたっては、試料提供者に危害を加える可能性は皆無であるが、研究の目的と概要を詳細に説明し、北海道大学医学研究科医の倫理委員会にて承認を得た。試料提供者からは本委員会にて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。

4. 研究成果

(1) 重症薬疹発症機序関与マーカー検索：
収集した重症薬疹サンプルを用い、重症薬疹に特異的に発現が亢進するタンパクを質量分析にて解析を行った。治癒後の患者から末梢血細胞を採取し、原因薬剤を添加した末梢血細胞から産生される液性因子を、重症薬疹と通常薬疹を比較した。重症薬疹のみで annexin A1 が亢進していた。Annexin A1 は通常薬疹と比較し、重症薬疹において著明に発現が亢進していた。

(2) 細胞死誘導機序解明：
重症薬疹の表皮細胞死が annexin A1/FPR1 により誘導される機序として、ネクロプトーシスに特異的な細胞内シグナルの RIP1/RIP3 および MLKL を介して起こることを明らかにした。

興味深いことに、通常状態の表皮細胞には FPR1 は発現されず、通常薬疹病変皮膚でも発現が見られなかったが、SJS/TEN の病変部皮膚において発現が亢進していた。またネクロプトーシス阻害剤はモデルマウスにおいて、発症抑制効果を示した。

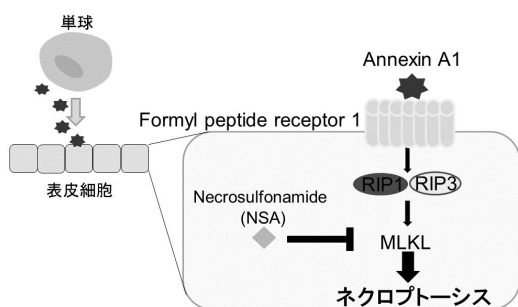
(3) モデルマウスを用いた候補マーカーの確認：
我々が作製した重症薬疹モデルマウスを用いて、ネクロプトーシス阻害剤を用いて重症薬疹モデルマウスの治療実験を行い、この阻害物質は重症薬疹発症を完全に抑制することを見出した。

(4) 重症薬疹患者サンプルの収集：
参画施設にてそれぞれ倫理委員会にて承認を得た。現在当初目標 40 症例中、40 症例のサンプルを収集した。

(5) 表皮細胞死阻害の検討：

本研究で解明した表皮細胞死メカニズムは、重症薬疹の治療ターゲットになりうる可能性がある。よって annexin A1 または FPR1 をターゲットにした表皮細胞阻害法を検討する。すでに東京大学理学系研究科と協力して、FPR1 のスクリーニング系を確立し、化合物ライブラリーの探索を開始している。

(6) SJS ならびに健常人表皮細胞を microarray にて解析し、細胞感受性を規定する因子の同定も行っている。加えて、TG-GATEs に収集されている SJS, TEN の報告が多い薬剤についても共通して変動する遺伝子の抽出を開始した。



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7件)

1. Saito N, Qiao H, Yanagi T, Shinkuma S, Suto A, Fujita Y, Suzuki S, Nomura T, Nakamura H, Nagao K, Obuse C, Shimizu H, Abe R.
A novel necroptosis pathway of annexin A1/ FPR1 interaction in severe cutaneous adverse drug reactions
Sci Transl Med 16 : 245ra95.2014. 査読有
Doi : 10.1126/scitranslmed.3008227.
2. Aihara M, Kano Y, Fujita H, Kambara T, Matsukura S, Katayama I, Azukizawa H, Miyachi Y, Endo Y, Asada H, Miyagawa F, Morita E, Kaneko S, Abe R, Ochiai T, Sueki H, Watanabe H, Nagao K, Aoyama Y, Sayama K, Hashimoto K, Shiohara T;
Efficacy of additional i.v. immunoglobulin to steroid therapy in Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis.
J Dermatol. 2015 May 18. 査読有
doi: 10.1111/1346-8138.12925.
3. Kano Y, Tohyama M, Aihara M, Matsukura S, Watanabe H, Sueki H, Iijima M, Morita E, Niihara H, Asada H, Kabashima K, Azukizawa H, Hashizume H, Nagao K, Takahashi H, Abe R, Sotozono C, Kurosawa M, Aoyama Y, Chu CY, Chung WH, Shiohara

T.

Sequelae in 145 patients with drug-induced hypersensitivity syndrome/drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms: survey conducted by the Asian Research Committee on Severe Cutaneous Adverse Reactions (ASCAR).

J Dermatol. 2015 Mar;42(3):276-82. 査読有、doi: 10.1111/1346-8138.12770.

4. Abe R.

Immunological response in Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis.

J Dermatol. 2015 Jan;42(1):42-8. 査読有 doi: 10.1111/1346-8138.12674.

5. Saito N, Yoshioka N, Abe R, Qiao H, Fujita Y, Hoshina D, Suto A, Kase S, Kitaichi N, Ozaki M, Shimizu H. Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis mouse model generated by using PBMCs and the skin of patients.

J Allergy Clin Immunol. 2013 Feb;131(2):434-41.e1-9. 査読有
doi: 10.1016/j.jaci.2012.09.014.

6. Yoshioka N, Suto A, Abe R, Saito N, Murata J, Hayashi-Ujiie I, Hoshina D, Fujita Y, Shimizu H.

Disturbed balance in three subpopulations of CD4(+)Foxp3(+) regulatory T cells in Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis patients.

Clin Immunol. 2013 Jul;148(1):89-91. 査読有、doi: 10.1016/j.clim.2013.04.002.

7. Saito N, Abe R, Yoshioka N, Murata J, Fujita Y, Shimizu H.

Prolonged elevation of serum granulysin in drug-induced hypersensitivity syndrome.

Br J Dermatol. 2012 Aug;167(2):452-3. 査読有
doi:10.1111/j.1365-2133.2012.10921.x.

[学会発表](計3件)

1. Abe R, Novel pathway of keratinocyte death in SJS/TEN. DHM6, Bern, Switzerland. 2014.4.9-12
2. Abe R. Novel mechanism of keratinocyte death in SJS/TEN. 8th International Congress on Cutaneous Adverse Drug Reactions, Taipei, Taiwan 2013.11.16-17
3. Abe R. Novel mechanism of keratinocyte death in SJS/TEN. Cold Spring Harbor Meeting (Cell Death), Cold Spring Harbor, NY, US 2013.10.8-12

6 . 研究組織

(1)研究代表者

阿部 理一郎 (ABE, Riichiro)
北海道大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号：60344511

(2)研究分担者

藤田 靖幸 (FUJITA, Yasuyuki)
北海道大学・北海道大学病院・助教
研究者番号：80374437