

平成 27 年度オーダーメイド医療の実現プログラム 成果報告書（公開）

研究開発代表者 (所属機関・氏名)	京都府立医科大学大学院 医学研究科 感覚器未来医療学 特任准教授 上田真由美
研究開発課題名	感冒薬による重症薬疹発症に関わる遺伝素因の同定並びに病態の解明

1. 研究開発の目的

Stevens-Johnson 症候群 (SJS) とその重症型である中毒性表皮壊死症 (TEN) は、医薬品の副作用で生じる薬疹の中で最も重篤で、いずれも突然発症して全身の皮膚と粘膜にびらんと水疱を生じ、SJS は約 3%、TEN は約 20% の死亡率を有する。また、救命できても重篤な視力障害が後遺症となることが多い。男女、年齢に関係なく、誰にでも発症する可能性がある。SJS/TEN の原因薬剤は多岐にわたるが、日本では、抗てんかん薬やアロプリノールと同様に、市販の感冒薬並びに感冒時に病院で処方される非ステロイド抗炎症薬 (NSAIDs) が原因薬剤として多く報告されている。また、後遺症としては、重篤な眼合併症による視力障害が最も頻度が高い。本研究では、感冒薬による重症薬疹発症に関わる遺伝素因の同定並びに病態の解明を目指す。

2. 研究開発の概要

感冒薬による重症薬疹発症患者ゲノムを用いて全エキソーム解析・全ゲノム解析を行い、さらには、臨床・薬剤情報との関連解析、ならびに、遺伝子間相互作用解析を行い、遺伝素因の解明を行う。また、疾患関連遺伝子の機能解析によりその病態を明らかとする。これらの成果は、発症リスクを予測することによる先制医療・個別化医療の実現化につながり、病態の解明は新規治療法の開発につながり、オーダーメイド医療の実現に寄与する。

3. 研究開発の成果（平成 27 年度）

(1) 患者のゲノム及び原因薬剤情報、臨床情報の収集

今まで収集していたサンプルに加えて新たに感冒薬重症薬疹発症患者のゲノムサンプル収集を行った。

(2) ゲノム、原因薬剤、臨床情報を用いた関連解析

a) 原因薬と臨床像との関連解析

重症薬疹 SJS/TEN においてどのような原因薬が、急性期の重篤な眼粘膜障害を引き起こしやすいかを国立医薬品食品研究所と共同で検討を行った結果（日本人 SJS/TEN 197 例を調査対象）、市販感冒薬に多く含まれるアセトアミノフェンによる SJS/TEN では、急性期重篤眼症状の割合は有意に高かった。NSAIDs については、感冒様症状がありその治療のために服用した群（感冒群）では、急性期重篤眼症状の割合は有意に高かった。一方、同じように NSAIDs を服用して発症した患者でも、感冒様症状とは関係なくリウマチや関節炎等に対する抗炎症剤、鎮痛剤等として服用された場合は、急性期重篤眼症状の割合は低い傾向にあった。感冒様症状の治療のためにアセトアミノフェンや NSAIDs を服用した場合には半分から 2/3 と特に高頻度に急性期に重篤な眼合併症を発症することを明らかとした (Kaniwa, Ueta et al, Allergol Int 2015;64:379-81)。また、韓国との共同研究においてアロプリノールでは重篤な眼合併症は生じにくいことも明らかとした (Lee, Ueta M et al, Cornea. 2016;35:199-20)。

b) ゲノムと臨床像との関連解析

重篤な眼合併症を伴う日本人感冒薬関連 SJS/TEN 患者を対象にした HLA 解析において、HLA-A*02:06 ならびに HLA-B*44:03 が有意な関連を認めた。一方、これらの HLA-A*02:06 ならびに HLA-B*44:03 については、重篤な眼合併症を伴わない感冒薬発症 SJS/TEN 患者においては関連を認めなかった。このことは、同じように感冒薬で発症した SJS/TEN でも、重篤な眼合併症を伴う患者と重篤な眼合併症を伴わない患者では、遺伝素因が異なることを示している (Ueta et al, Sci Rep. 2014;4:4862)。

c) 原因薬とゲノムとの関連解析

重症薬疹の原因薬剤は、感冒薬 (NSAIDs 含む) のみならず抗てんかん薬、抗痛風薬等多岐にわたる。京都府立医科大学では、感冒薬による重症薬疹サンプルを用いて、原因薬とゲノム情報との関連解析を行い、感冒薬による重症薬疹とその他の抗てんかん薬等による重症薬疹の遺伝素因の相違について検討した。その結果、HLA-A*02:06 ならびに HLA-B*44:03 が、感冒薬による発症では有意な関連を示す

のとは対照的に、感冒薬以外の薬剤が原因で発症した重症薬疹では関連がないことを明らかとした (Ueta et al, Sci Rep. 2014;4:4862)。

d) 他民族サンプルを用いた検証

日本人の重篤な眼合併症を伴う感冒薬関連SJS/TENのHLA解析で確認されたHLA-A*02:06ならびにHLA-B*44:03との有意な関連について、韓国、インド、ブラジルサンプルを用いて検証した。その結果、HLA-A*02:06は韓国人で有意な関連を認め、HLA-B*44:03は、インド人とブラジル人（特に白人系ブラジル人）において有意な関連を認めた (Ueta et al, Sci Rep. 2014;4:5981)。

また、日本人の重篤な眼合併症を伴う感冒薬関連SJS/TEN患者を対象にしたゲノムワイド関連解析 (GWAS) で明らかとなった疾患関連遺伝子IKZF1のSNPsとの有意な関連について、韓国、インド、ブラジルサンプルを用いて検証した。その結果、サンプル数が少ないにも関わらず、韓国人では、rs4917014, rs4917129, rs10276619の3SNPsについて、有意な関連を認めた。インド人ならびにブラジル人では、有意な関連は認めなかったけれども、オッズ比は同じ傾向にあり、日本人、韓国人、インド人、ブラジル人サンプルを含めたメタ解析では、rs4917014については $P < 10^{-10}$, rs4917129とrs10276619については $P < 10^{-8}$ の有意な関連を認めた。IKZF1は、国際的に共通な疾患関連遺伝子である可能性が示唆された (Ueta et al, J Allergy Clin Immunol. 2015;135:1538-45)。

e) 疾患関連遺伝子の相互作用解析

日本人の重篤な眼合併症を伴う感冒薬関連SJS/TENを対象に、複数の遺伝子多型が相互作用を生じて発症リスクを上昇する可能性について検討した。その結果、PTGER3SNP rs1327464 GA またはAA単独では、オッズ比が約4.5であるのに対して、HLA-A*02:06とPTGER3SNPrs1327464 GA またはAAの両方を持つ患者はオッズ比が約11に上昇することが明らかとなった。(Ueta et al, Hum Genome Var. 2015;2:15023)

(3) 疾患関連遺伝子の機能解析

a) 遺伝子改変マウスを用いた機能解析

まずは、すでに明らかになっている疾患関連遺伝子TLR3に着目し、遺伝子改変マウスを用いた疾患関連遺伝子の機能解析を行った。研究グループはもうすでに、TLR3が眼表面炎症を促進していることを報告している。本研究では、接触性皮膚炎マウスモデルとTLR3遺伝子改変マウスを用いて皮膚炎におけるTLR3役割を解析した。その結果、TLR3欠損マウスでは皮膚炎が有意に抑制される一方、TLR3過剰発現マウスでは皮膚炎が有意に促進されることが明らかとなった (Nakamura, Ueta et al, J Invest Dermatol. 2015;135:411-7)。このことは、TLR3は眼表面炎症だけではなく皮膚炎症においても重要な役割を担っていることを示しており、重篤な眼合併症を伴う感冒薬関連重症薬疹の病態に一致する。皮膚炎におけるTLR3の機能解析については、さらに重症であるアトピー性皮膚炎マウスモデルを用いて解析を進めている。また、もうひとつの疾患関連遺伝子PTGER3とTLR3との機能的な相互作用も明らかとした (Ueta et al, Immunol Lett. 2014;159:73-5.)。このことは、TLR3とPTGER3の蛋白であるEP3の間の機能的なバランスの破綻が、感冒薬によるSJS/TEN発症に大きく関与している可能性を示唆している。さらに、GWASで見つかった新規疾患関連遺伝子遺伝子IKZF1の遺伝子改変マウスを作成した。このマウスについては、今後解析を進めていく予定である。

b) スプライシングバリエーション解析

GWAS解析で明らかとなった疾患関連遺伝子IKZF1に着目して遺伝子多型によるスプライシングバリエーションの発現の相違について検討した。すべてのエクソンから形成される「全長型アイソフォーム」に対する「エクソン4欠損アイソフォーム (Ik2)」の量比が、感冒薬関連重症薬疹と強い関連を示したIKZF1 rs4917014の遺伝子型と有意に関連していた (Ueta et al, J Allergy Clin Immunol. 2015;135:1538-45)。

(4) 遺伝素因の解析：全エキソーム解析

感冒薬による重症薬疹患者ゲノムの全エキソーム解析に向けた基盤整備を行った後、患者ゲノム128検体を対象に、エクソームライブラリーを作成し、次世代シーケンサーであるion Protonを用いて塩基配列決定を実施した。