

学位論文題名

Increased soluble Fas ligand levels in patients with Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis preceding skin detachment

(可溶性 Fas リガンドの上昇は Stevens-Johnson 症候群と
中毒性表皮壊死症の発症を予測する)

学位論文内容の要旨

【背景と目的】

Stevens-Johnson 症候群/(SJS)、中毒性表皮壊死症/Toxic epidermal necrolysis(TEN)は同一スペクトラム上にある重症型薬疹である。SJS は失明などの眼部の後遺症を残すことが多く、さらに重症型の TEN は広範囲の皮膚剥離をきたし致死率が 20~25%にも上ると言われる非常に重篤な疾患である。早期の診断と治療の開始が求められるが、SJS/TEN のごく早期の皮疹は他の通常の薬疹と非常に類似している。そのため臨床像からの早期診断は極めて困難であり、適切な治療の開始が遅れることが多い。加えて SJS/TEN 患者数は近年増加傾向にあり、早期診断と治療に有用な病態解明が待たれているが、多くは未だ明らかになっていない。

SJS/TEN では、病理組織において表皮細胞のアポトーシスが多くみられ、この結果、水疱や表皮剥離などの皮膚症状を呈すると考えられる。SJS/TEN において表皮細胞のアポトーシスが起る機序は長年不明であったが、近年、細胞のアポトーシスを誘導する Fas-Fas リガンドシステムの関連が示された (Viard I, 1998)。また、原因薬剤により刺激された末梢血単核球が可溶性 Fas リガンド (soluble Fas ligand; sFasL) を分泌することや、高濃度の sFasL を含む患者血清は培養表皮細胞のアポトーシスを誘導することが明らかにされた (Abe R, 2003)。これらの報告から、患者血清中の上昇した sFasL が表皮細胞のアポトーシスを誘導するメディエーターの一つであると予想した。

そこで SJS/TEN 患者の各病期における血清中 sFasL 濃度の変化を明らかにし、sFasL が有用な SJS/TEN の早期診断マーカーとなり得るかについて検討した。

【対象と方法】

SJS 患者 19 名、TEN 患者 16 名それぞれの各病期の血清を全国の大学病院および研修指定病院から収集した。対照として正常人 33 名、通常薬疹患者 32 名について検討した。

本研究では SJS/TEN の病期を以下のように定義した。粘膜疹または水疱、表皮剥離を生じた日を day1 (発症日) とし、day-1 を粘膜疹、水疱、表皮剥離を生じる 1 日前で、紅斑や丘疹のみを呈している状態とした。その上で day-4~-2、day-1~2、day3~5、day6~10、day11 以降の各病期に分け、それぞれにおける血清 sFasL 濃度を ELISA 法にて経時的に測定した。sFasL 測定のカットオフレベルは 38pg/ml (ND; not detectable<38pg/ml) とした。

sFasL に加えて、過去に薬疹との関連を報告されている可溶性因子の TNF- α 、IFN- γ 、IL-6、sCD40L 濃度についても ELISA 法または Cytometric beads array を用いて測定した。

それぞれの結果の平均値については Student-T 検定にて解析を行った。

【結果】

血清 sFasL 濃度の正常値を設定するため、まず正常人 33 名について測定した。sFasL 濃度は ND から 67pg/ml の範囲であり、平均値 42.8 ± 8.2 pg/ml であった。この結果から正常値を 100pg/ml 以下と設定した。通常薬疹患者 32 名の血清 sFasL 濃度は ND から 81pg/ml でいずれも正常範囲内であり、平均値は 45.0 ± 11.1 pg/ml であった。正常人と通常薬疹患者の間で sFasL 濃度に有意差は認められなかった。

次に SJS/TEN 患者の各病期における血清 sFasL 濃度の推移について検討した。発症前である day-4~-2 で測定した 7 検体中 5 検体 (71.4%) で上昇を認めた (濃度範囲 ND-336pg/ml、平均 147.76 ± 104.4 pg/ml)。通常薬疹患者と SJS/TEN の day-4~-2、正常人と SJS/TEN の day-4~-2 の間で sFasL 濃度の平均値を比較すると、それぞれ $p=0.02$ 、 $p=0.019$ であり、有意差を認めた。day-1~-2 では 20 検体中 5 検体 (25.0%) で上昇を認めた (濃度範囲 ND-136pg/ml、平均 68.8 ± 33.4 pg/ml)。day3~5 では 19 検体全て正常範囲内であり、また、day6~10 でも 20 検体すべて正常範囲内であった。day11 以降では 17 検体中 16 検体が正常範囲内であった。これらの測定結果から、SJS/TEN 患者の血清 sFasL の上昇は粘膜疹、または水疱、表皮剥離を生じて発症する数日前にピークが現れ、粘膜疹や水疱、表皮剥離を生じてからは速やかに低下する傾向があることが明らかとなった。

その他の可溶性因子 TNF- α 、IFN- γ 、IL-6、sCD40L 濃度については、SJS/TEN の発症前と通常薬疹、正常人の間でいずれも有意差を認めなかった。

【考察】

SJS/TEN 患者における sFasL 濃度の検討をした過去の報告 (Viard I, 1998, Abe R, 2003, Stur K, 2007) と比較し、本研究は SJS19 名、TEN16 名と最も多い検体数であった。また初めてその濃度変化を経時的に測定した。今回の測定結果により、sFasL 濃度が粘膜疹、水疱、表皮剥離を生じる直前に上昇し、これらの皮疹を生じてからは速やかに低下することが明らかになった。過去に SJS/TEN 患者血清中の TNF- α 、IL-6、sCD40L 濃度の上昇が報告されていたが、今回の測定では SJS/TEN 発症前の早期と通常薬疹患者、正常人でいずれも有意差は認めず、これらが早期診断に有用とは考えられなかった。

過去にカルバマゼピンによる SJS/TEN と特定の HLA の関連性が報告されており (Chung, 2004)、SJS/TEN の発症には sFasL 以外にも遺伝的背景やその他の複数の因子が関係していると想定される。一方で、血清 sFasL の上昇は慢性 B 型肝炎や慢性移植片対宿主病などでも報告されており、これらの疾患では、それぞれの標的器官において細胞のアポトーシスが誘導されている。なぜ血清 sFasL の上昇により、SJS/TEN 患者では表皮細胞のアポトーシスが誘導されるのかについては未だ明らかになっていないが、今回の測定結果より、血清 sFasL の上昇は SJS/TEN 発症の重要なメディエーターであると考えられた。加えて薬疹患者の sFasL 濃度をモニタリングすることで、重症型薬疹である SJS/TEN への進展が予測できる症例があると考えられた。

【結論】

薬疹患者における血清 sFasL の上昇は、粘膜疹、水疱、表皮剥離を生じる可能性を示唆し、SJS/TEN の早期診断に有用なマーカーになり得ると考えられた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 西 村 正 治
副 査 教 授 石 田 晋
副 査 教 授 清 水 宏

学位論文題名

Increased soluble Fas ligand levels in patients with Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis preceding skin detachment

(可溶性 Fas リガンドの上昇は Stevens-Johnson 症候群と
中毒性表皮壊死症の発症を予測する)

Stevens-Johnson 症候群/ (SJS)、中毒性表皮壊死症/Toxic epidermal necrolysis(TEN)は同一スペクトラム上にある重症型薬疹である。SJS/TEN の早期の皮疹は他の通常型薬疹と非常に類似しており、そのため臨床像からの早期診断は極めて困難である。SJS/TEN では、病理組織において表皮細胞のアポトーシスが多くみられ、この結果、水疱や表皮剥離などの皮膚症状が出現する。SJS/TEN において表皮細胞のアポトーシスが起る機序は長年不明であったが、近年、細胞のアポトーシスを誘導する Fas-Fas リガンドシステムの関連が示された (Viard I, 1998)。

そこで SJS/TEN 患者の各病期における血清中可溶性 Fas リガンド (sFasL) 濃度の変化を明らかにし、sFasL が有用な SJS/TEN の早期診断マーカーとなり得るかについて検討した。

SJS 患者 19 名、TEN 患者 16 名それぞれの各病期の血清と、対照として正常人 33 名、通常型薬疹患者 32 名について検討した。本研究では SJS/TEN の病期について、粘膜疹または水疱、表皮剥離を生じた日を day1 (発症日) とし、その上で day-4~-2、day-1~2、day3~5、day6~10、day11 以降の各病期に分け、それぞれにおける血清 sFasL 濃度と TNF- α 、IFN- γ 、IL-6、sCD40L 濃度について経時的に測定した。

正常人 33 名では sFasL 濃度は ND(not detectable)から 67pg/ml の範囲であり、平均値 42.8 \pm 8.2pg/ml であった。この結果から正常値を 100pg/ml 以下とした。通常薬疹患者 32 名の血清 sFasL 濃度も全て正常範囲内であり、平均値は 45.0 \pm 11.1pg/ml であった。正常人と通常型薬疹患者の間で sFasL 濃度に有意差は無かった。

次に SJS/TEN 患者の各病期における血清 sFasL 濃度を測定した。発症前である day-4~-2 で測定した 7 検体中 5 検体 (71.4%) で上昇を認めた (濃度範囲 ND-336pg/ml、平均 147.76 \pm 104.4pg/ml)。通常型薬疹患者、正常人と SJS/TEN の day-4~-2 の間で sFasL 濃度の平均値を比較すると、それぞれ p=0.02、p=0.019 であり、有意差を認めた。day-1~2 では 20 検体中 5 検体 (25.0%) で上昇を認めた (濃度範囲 ND-136pg/ml、平均 68.8 \pm 33.4pg/ml)。day3~5、day6~10 ではそれぞれ 19 検体 20 検体すべて正常範囲内であった。day11 以降では 17 検体中 16 検体が正常範囲内であった。これらの測定結果から、SJS/TEN 患者の血清 sFasL は、発症する数日前にピークが現れ、粘膜疹や水疱、表皮剥離を生じてからは速やかに低下する傾向があることが明らかとなった。その他の可溶性因子 TNF- α 、IFN- γ 、IL-6、sCD40L 濃度については、SJS/TEN の day-4~-2 と通常型薬疹、正常人の間でいずれも有意差を認めなかった。

以上より、血清 sFasL の上昇は SJS/TEN 発症の重要なメディエーターの一つであると考えられた。また、薬疹患者における血清 sFasL の上昇は、粘膜疹、水疱、表皮剥離を生じる可能性を示唆し、SJS/TEN の早期診断に有用なマーカーになり得ると考えられた。

石田教授より 1.sFasL 以外に発症機序に関与する分子、2.sFasL を分泌する細胞、3.細胞障害性 T 細胞の直接的な関与の可能性、4.sFasL 濃度と重症度の相関、5.sFasL が早期に上昇する理由、6.血清 sFasL が表皮の Fas に結合する機序についての質問があった。ついで西村教授より 1. 検体の保存・処理方法、2. sFasL が上昇しない症例についてその理由、3.発症後速やかに sFasL が低下する理由、4.SJS/TEN におけるリンパ球の機能についての質問があった。最後に清水教授より、この研究を今後どのように発展させるかについて質問があった。いずれの質問に対しても、申請者は実験の契機となった SJS/TEN における sFasL について報告した論文や、過去に SJS/TEN の発症機序について報告した論文を引用し、概ね適切に回答した。

この論文はこれまで診断に有用な血清マーカーが無かった SJS/TEN において、発症前の早期に sFasL の上昇があることを明らかにし、sFasL が有用な診断マーカーとなり得ることを報告した点で高く評価され、今後臨床応用されることが期待される。

審査員一同はこれらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。