

ラジオNIKKEI ■放送 毎週木曜日 21:00~21:15

マルホ皮膚科セミナー

2010年3月11日放送

第21回日本アレルギー学会春季臨床大会② シンポジウム6より

「薬剤アレルギーにおけるDLST」

産業医科大学 皮膚科 教授
戸倉 新樹

薬剤アレルギー、薬疹

薬剤アレルギーは薬剤の副作用として重要であり、時には致死的です。薬疹、肝障害をはじめとしてさまざまな薬剤アレルギーが存在しますが、薬疹はその中でも眼で見えるということから特に頻度が高い薬剤アレルギーです。薬疹は即時型反応を除いて、その多くがT細胞の媒介を必要とします。従いまして、薬疹の研究や診断はT細胞を中心に行われてきました。

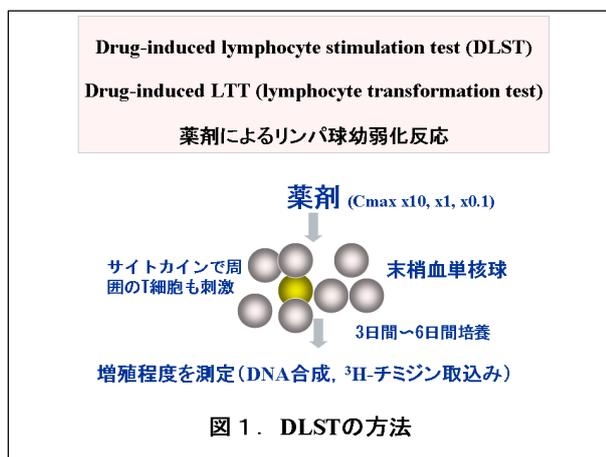
薬疹の診断には、再投与試験、DLST、パッチテストなどがありますが、DLSTは患者から採血して行いますので、患者自身の生体反応に頼る必要がなく、安全性が担保された試験です。

DLSTとは

DLSTはdrug-induced lymphocyte stimulation testの略で、「薬剤誘発性リンパ球刺激試験」と訳されます。実はDLSTという言葉は日本では汎用されますが外国では用いられず、LTT (lymphocyte transformation test)と言われます。これに対応する日本語の「リンパ球幼若化反応」も我が国ではよく用いられます。いずれにしてもin vitroで患者の末梢血単核球に薬剤を添加するとリンパ球の増殖反応がみられ、それを薬剤アレルギーの診断に用いようとするものです。実際には薬疹や薬剤性肝障害の診断に用いられています。

DLST の実際

実際に DLST を行う手順を簡単にご説明します。患者末梢血をヘパリンや EDTA 添加の採血管で採取します。調べる薬剤の数によって採血量は異なりますが、約 10～20mL 採血します。ここからフィコール比重遠心法により単核球を得て、培養液に浮遊し、96 穴プレートでいろいろな薬剤濃度で培養します。培養時間は 3 日から 6 日間で、最後の 12 時間から 18 時間トリチウムチミジンを添加し、DNA 合成に使われたチミジンの量を液体シンチレーションカウンターで計測します (図 1)。つまり薬剤をリンパ球に添加したことによって、どれくらいリンパ球の DNA 合成が高まったかを調べる訳です。結果の表し方は、薬剤無添加に比べ薬剤添加により何倍 DNA 合成



が促進されたかで示し、これを **stimulation index (SI)**と言います。薬剤の添加濃度は既知の血中最高濃度(Cmax)の 1/10、1、10 倍を我々は用いています。

DLST は我々の施設では自分自身で行っていますが、外注することもできます。従ってその手技は全て一様に行われる訳ではありません。

DLST で増殖するリンパ球は？

さて実際に DLST で薬剤に反応して増殖するリンパ球は何でしょうか。末梢血の単核球には T 細胞、B 細胞、NK 細胞、単球、樹状細胞前駆細胞が含まれます。この中で薬剤に反応するリンパ球は T 細胞です。T 細胞が薬剤に反応するためには抗原提示細胞が必要になり、それを担うのが単球です。加えて場合によっては樹状細胞前駆細胞と B 細胞も抗原提示細胞になると考えられます。

96 穴プレートに末梢血単核球を 1 ウェル当たり 3×10^5 個入れたとします。その中に薬剤反応性の T 細胞はどの位入っているのでしょうか。これは薬疹の経過のどの時期に採血したのか、あるいは薬疹の程度はどうか、さらにはもっと重要なこととして薬疹型はどうか、などによって異なります。大半は正常 T 細胞でしょうから、数個から 1000 個程度 1 ウェルに入っていると想像されます。しかし 1 個でも薬剤特異的 T 細胞が反応しますと、IL-2 や IL-4 といったサイトカインを産生しますので、その周囲の T 細胞も増殖させることとなります。こうして DNA 合成結果が増幅されます (図 1)。

DLSTで反応する T 細胞サブセット

T 細胞のサブセットは、現在、Th1 (Tc1)、Th2 (Tc2)、Treg、Th17 に分けられます (図 2)。薬剤がこれらの T 細胞サブセットのどれを刺激するのかによって DLST の結果が異なってきます (図 3)。また薬疹の診断としてしばしば用いられるパッチテストの結果も異なってきます。薬剤に対して Th1 が反応しかつ Th2 無反応であれば、妨害なしの Th1 反応となり、DLST は陽性になりやすく、パッチテストも陽性になりやすいと考えられます。一方、薬剤に対して Th2 が反応しかつ Th1 が無反応であれば妨害なしの Th2 反応となり、DLST は陽性になりやすく、パッチテストは陰性になりやすくなります。もし薬剤に対し Th1 と Th2 両方とも反応すれば相殺されたどちらかの反応となり、DLST もパッチテストも陽性になりにくくなります。

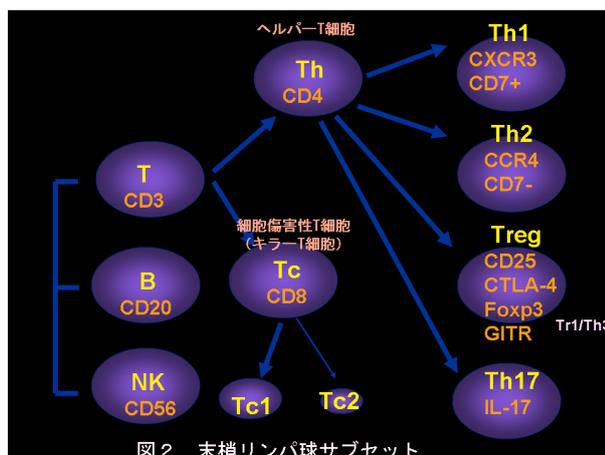
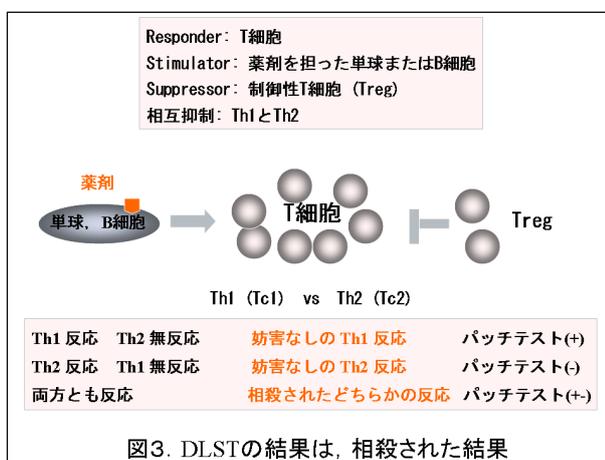


図 2. 末梢リンパ球サブセット

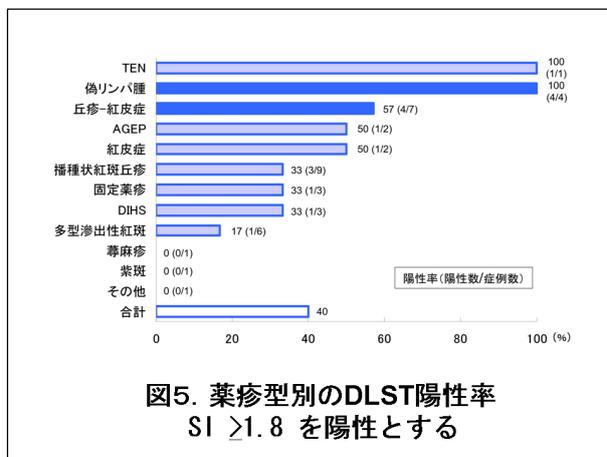
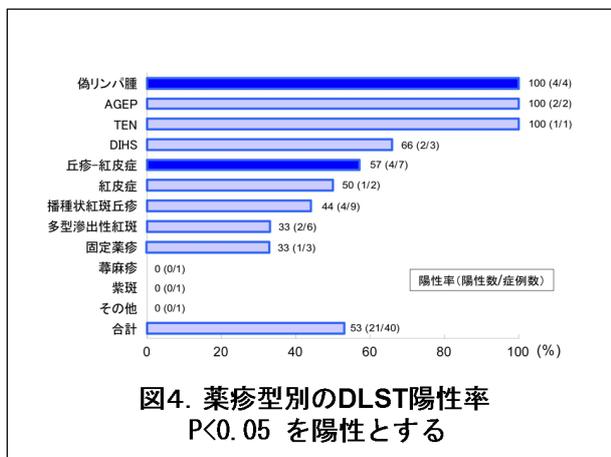


これらの T 細胞サブセットに加え、反応を抑制する制御性 T 細胞 (regulatory T cell, Treg) が存在しますので、その多寡によっても全体の反応に影響を与えます。また最近注目されている IL-17 産生性の Th17 も薬剤に反応しますので、全体の反応を修飾することになります。

各薬疹型と DLST の陽性率

さて薬疹の場合、DLST が陽性になるかはその薬疹の型に依存しています。これは各薬疹型によって、反応する T 細胞サブセットが異なり、また反応生 T 細胞数が異なることによります。薬疹型における陽性率を過去の報告から渉猟した研究が発表されています。それによりますと、中毒性表皮融解壊死症 (TEN) 61%、紅皮症 52%、Stevens-Johnson 症候群 48%、播種状紅斑丘疹型 48%、多形滲出性紅斑型 (EM) 40% となっています (武藤美香他: 日皮会誌 2000; 110: 1543-8)。我々の施設で行っている結果を、薬剤添加により有意差 ($P < 0.05$) により陽性と判断した結果 (図 4) と、stimulation index (SI) > 1.8 により陽性と判断した結果 (図 5) で算出してみました。その結果、偽リンパ腫型、acute generalized exanthematous pustulosis (AGEP)、TEN、

丘疹-紅皮症型、drug-induced hypersensitivity syndrome (DIHS)が高い陽性率を示すことがわかりました。



偽リンパ腫型と丘疹-紅皮症型

TEN や DIHS は重症薬疹として知られており、DLST も陽性になりやすく、播種状紅斑丘疹型は軽症例が多く、DLST も陽性の頻度が少ないというのは、理解しやすいことかもしれません。しかしこれは、重症例では反応性 T 細胞が数的に多いであろうという感覚からきた概念とも言えます。実際には、反応する各 T 細胞サブセット、そのバランスも DLST の陽性度を決定している大きな要素です。

その典型的な例が偽リンパ腫型と丘疹-紅皮症型です。実はこの2つの型は明確に切り離すことはできません。それはちょうど丘疹-紅皮症が、皮膚 T 細胞性リンパ腫である菌状息肉症やセザリ-症候群の症状として現れることと符号しています。つまり偽リンパ腫型も丘疹-紅皮症型も、T 細胞がリンパ腫の如く増殖した病態と言えます。

丘疹-紅皮症は元来、内蔵悪性腫瘍に随伴する、あるいは皮膚 T 細胞性リンパ腫の一症状であると考えられてきましたが、薬疹としても表れ、現在までに9例の報告がされています (表1)。反応する T 細胞は Th2 であり、末梢血にも皮膚にも多数 Th2 が認められます。DLST も陽性になりやすく、しかも高い SI を示します。しかし増殖する Th2 により Th1 が抑制されているのでパッチテストはほとんどの場合陰性になります。パッチテスト陽性は Th1 が活性化される薬疹に多いからです。

偽リンパ腫型薬疹の皮疹は多彩ですが、皮膚病変には密なリンパ球浸潤が認められることが共通しています。T

表1. 丘疹-紅皮症型薬疹の報告例

Case (ref. No.)	Age (years)	Sex	Country	Past or associated diseases	Causative drugs	Other drugs	Latency period
1(15)	80	M	Spain	Allergic rhinitis, Conjunctivitis	Nicardipine hydrochloride, Nifedipine	Tinidazole	2 weeks
2(3)	31	M	Japan	AIDS	Dideoxycytosine	N.D.	1 month
3(18)	66	M	Japan	None	Cellulose	N.D.	Obscure
4(17)	75	M	Japan	Right eye injury	Isoniazid	Rifampicin, Strepto mycin, Ethambutol	1 week
5(5)	70	M	Japan	Cerebral infarction	Aspirin	Carvedilol	10 years*
6(9)	79	M	Japan	Chronic eczema, Heart failure	Furosemide	N.D.	4 months
7(13)	80	M	Japan	Pneumonia, Diabetes mellitus	Ranitidine hydrochloride	Codeine phosphate, Trisodil	2 weeks
8(18)	78	M	Japan	Hypertention, Angina pectoris	Eperisone Hydrochloride	N.D.	2 years and 5 months*
9(14)	82	M	Japan	Hypertention, Prostate cancer	Leuporelin acetate	Diltiazem hydrochloride	5 years*

N.D.: not described, * intermittently administered for the period

細胞には異型性が認められ、加えて CD30 陽性の大型リンパ球が浸潤することさえあります (表 2)。充実性丘疹が主体の場合は、リンパ腫様丘疹症と誤診される可能性もあるくらいです。この偽リンパ腫型も Th2 が反応性 T 細胞ですので DLST が陽性になりやすくなります。

最後に

以上、薬剤アレルギーとくに薬疹における DLST の意義についてご説明してきました。DLST は単純な *in vitro* システムですので、その利用に当たっては単純さゆえの解釈の正確さが求められます。DLST 陽性とパッチテスト陽性は相関するものではありません。また DLST 陰性だからといってその薬剤が原因薬ではないとも言えません。また Treg 機能の破綻によって多剤過敏症になる場合も想定されます。しかし再投与試験を行いにくい状況では、DLST が有用な情報をもたらしてくれる試験であることは間違いのないと言っていいでしょう。

表 2. 薬剤誘発性 CD30+ 偽リンパ腫の報告例

Case	Age /sex	Sites of eruptions	Latency period	Causative drugs	DLST	Clinical course
1	22/F	trunk and extremities	5 weeks	carbamazepine	N.D.	remission
2	44/F	trunk and extremities	1 month	carbamazepine	N.D.	remission
3	84/F	lower limbs	3 days	cefuroxime	N.D.	remission
4	69/M	abdominal and inguinal areas	1 day	gemcitabine	N.D.	remission
5	37/F	abdomen	1 year	gold	N.D.	remission
6	43/M	generalized	a few weeks	chemotherapy	N.D.	remission
7	87/F	-	a few weeks	atenolol	N.D.	remission
8	84/M	upper back, chest	6 to 7 weeks	leuprolide acetate	N.D.	remission
9	74/M	trunk and extremities	1 year	amlodipine	+	remission
10	70/M	trunk and extremities	8 months	amlodipine	+	remission

N.D.: not done

Fukamachi S et al. Eur J Dermatol 2009; 19: 292-4.