

薬剤アレルギーの発症機構とその診断検査への取り組み

宇野 勝次^{a,b}

Pathogenic Mechanism and Diagnostic Testing for Drug Allergies

Katsuji Uno^{a,b}

^aFaculty of Pharmacy, Chiba Institute of Science; 3 Shiomi-cho, Choshi, Chiba 288-0025, Japan;
and ^bKyoeido, Co. Ltd.; 2-5-38 Kamedaohsuki, Konan-ku, Niigata 950-0162, Japan.

(Received July 17, 2017)

Three stages of the pathogenic mechanism of drug allergies can be considered: antigen formation, immune reaction and inflammation/disorder reaction. Drugs are thought to form 4 types of antigens: drug only, polymers, drug-carrier conjugates, and metabolite-carrier complexes. Antigens are recognized by B cell receptors and T cell receptors. Helper T cells (Th) are differentiated into four subsets, namely, Th1, Th2, Th17 and regulatory T cells (Treg). Th1 produces interleukin (IL)-2 and interferon (IFN)- γ , and activates macrophages and cytotoxic T cells (Tc). Macrophages induce type IV allergies, and Tc lead to serious type IV allergies. On the other hand, Th2 produces IL-4, IL-5, and IL-6, etc., and activates B cells. B cells produce IgE antibodies, and the IgE antibody affects mast cells and induces type I allergies. Activated eosinophil leads to the chronic state of type I allergy. Diagnostic testing for allergenic drugs is necessary for patients with drug allergies. Because *in vivo* diagnostic tests for allergenic drugs are associated with a risk and burden to the patient, *in vitro* allergy tests are recommended to identify allergenic drugs. In allergy tests performed *in vitro*, cytological tests are more effective than serological tests, and the leukocyte migration test (LMT) presently has the highest efficacy. An LMT-chamber is better than LMT-agarose in terms of usability and sensitivity, and it can detect about 80% of allergenic drugs.

Key words—drug allergy; pathogenic mechanism; cytokine; diagnostic testing; leukocyte migration test

1. はじめに

医薬品の副作用は、臨床では「医薬品有害作用」と同義であり、薬物治療の安全性が叫ばれる今日では医療従事者にとって避けては通れない深刻な問題となっている。医薬品有害作用の発症機序は、薬理学的作用 (pharmacologic effects)、アレルギー反応 (allergic reaction)、特異体質性反応 (idiosyncratic reaction)、薬物 (剤) 不耐性 (drug intolerance) などに分類されているが、アレルギー反応、特異体質性反応及び薬物耐性の区別が曖昧である。そこで、現段階では薬物自体の薬理作用に起因する「中毒性副作用 (toxic side effects)」と患者の体質に起因する「特異体質性反応」に分け、「特異体質性反

応」はさらに遺伝的素因 (遺伝子多型) に基づく「代謝障害性副作用 (metabolic abnormality side effects)」と「受容体過敏性副作用 (receptor super-sensitivity side effects) = 薬物不耐性」、さらに免疫学的機序に基づく「アレルギー性副作用 (allergic side effects) = 薬物 (剤) アレルギー (drug allergy)」に分類するのが適切であると考えられる。

薬剤過敏症 (drug hypersensitivity) は、薬剤アレルギーと同義語として用いられている場合が少なくないが、1960年代にそれまで薬剤アレルギーで包括されていた薬物反応の中に、症状は似ているがアレルギー機序に基づかないか、あるいはその根拠が不十分な反応も含まれていたことから提唱された日本独自の医学用語である。¹⁾したがって、薬剤過敏症は薬剤アレルギーのほかに「偽薬物 (剤) アレルギー (psuedoallergy to drug)」を包含していることを忘れてはならない。偽薬剤アレルギーは薬物不耐性や代謝障害性副作用の一部が混入しており、臨床上決して無視することはできないが、本稿では

^a千葉科学大学薬学部 (〒288-0025 千葉県銚子市潮見町3), ^b共栄堂 (〒950-0162 新潟市江南区亀田大月2-5-38)

e-mail: k-uno@kyoeido.net

本総説は、日本薬学会第137年会シンポジウムS07で発表した内容を中心に記述したものである。

薬剤過敏症の発症に中心的な役割を演じている薬剤アレルギーの発現機構に限定して述べる。

次に、薬剤アレルギーは用量非依存性で特異的(特定の薬物で特定の患者)に発現し、いかなる薬物もアレルゲン(抗原)となり得るため、アレルギー症状発症の予測やその原因薬(起因为薬)の検出は難しい。そのため、薬剤アレルギーの診断検査として被疑薬に対してアレルゲン(アレルギー起因为薬)同定試験を実施することが必要不可欠となる。そこで、本稿では薬剤アレルギーの診断検査の取り組みとしてアレルギー起因为薬の検出、とりわけアレルギー起因为薬同定試験法の種類、有用性及び将来性について言及する。

2. 薬剤アレルギーの発症機構

薬剤アレルギーの発症機構は、経時的変化、すなわち抗原形成、免疫反応及び炎症・障害反応の三段階のステージに分けて考える必要がある。最初の抗原形成では、薬物抗原性のエピトープ(epitope, 抗原決定基: antigen determinant ともいう)はどのような分子構造であるか、次の免疫反応では、薬物抗原がどのようにして免疫細胞に認識され、どのような免疫細胞が関与し、どのような免疫系をたどるのか、最後の炎症・障害反応では、抗体や炎症性サイトカインが標的臓器に対してどのように炎症反応を発現するかが問題となる。そこで、薬剤アレルギーの3つの発現段階に分けて解析する。

2-1. 抗原形成 生物学的製剤(タンパク)のような高分子物質は完全抗原として単独で抗原形成するが、医薬品の大部分を占める低分子の化学物質は免疫学的にはハプテンとしての性格を持ち、生体内でタンパクなどの高分子化合物(キャリアー)と化学的に共有結合して抗原性を獲得すると考えられている。そのエピトープは、ハプテン部分あるいはハプテン・キャリアー(一部分)結合体である。そのため、薬剤アレルギーは薬物が生体の高分子物質と結合して抗原性を獲得するハプテン免疫現象と考えられてきた。そのため、薬剤アレルギーでは、Fig. 1に示す4タイプの抗原形成が想定される。しかし、動物実験で証明されたハプテン免疫現象と臨床上的薬剤アレルギーの間に矛盾する点も少なくなく、¹⁾ 抗原をハプテン・キャリアー結合体とする概念を薬剤アレルギーのすべてに当てはめることは難しくなっている。

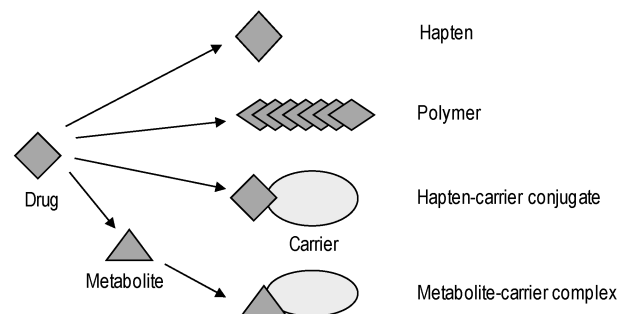


Fig. 1. Antigen Formation during Drug Allergy

薬物の単独投与で動物感作に成功し、抗原形成が明らかにされているのは、ジニトロクロロベンゼン(dinitrochlorobenzene; DNCB)に代表されるような皮膚の起炎物質であり、タンパクと極めて容易に結合する外用薬品である。DNCBは塗布すると、約85%が表皮細胞表面のタンパク質のアミノ酸残基の1つであるリジンとアゾ結合してハプテン・キャリアー結合体となり抗原性を獲得し、²⁾ 接触性皮膚炎(遅延型アレルギー)を誘発すると考えられている。

次に、経口・注射剤の中で、単独投与で動物感作に成功し、そのエピトープが解明されている薬物は、唯一ベンジルペニシリン(benzylpenicillin; PCG)である。³⁻⁸⁾ PCGのmajor determinant(主要抗原決定基)は、Fig. 2に示すようにLevine⁸⁾によりベンジルペニシロイル(benzylpenicilloyl; BPO)-タンパク結合体であることが証明され、BPO-タンパク結合体が即時型及び遅延型過敏反応に関与することが明らかにされた。しかし、ペニシリンショックは経口剤で数十分、注射剤では数分で起こる。発現時間から考えて、アナフィラキシー反応ではBPO-タンパク結合体がエピトープとは考え難い。そこで、PCG製剤に含まれる高分子物質の夾雑物の存在が想定され、ポリマー(重合体)がアナフィラキシー反応を誘発することが示され



宇野勝次

新潟県出身。1974年静岡薬科大学卒業。東芝理化学研究所研究員。1975年国保水原郷病院薬剤師。1989年薬学博士。2003年日本医療薬学会論文賞。2005年阿賀野市立水原郷病院薬剤科長。2007年福山大学薬学部教授。2009年日本医療薬学会学術貢献賞。2014年日本医薬品安全性学会理事長。2016年千葉科学大学客員教授/共栄堂顧問。

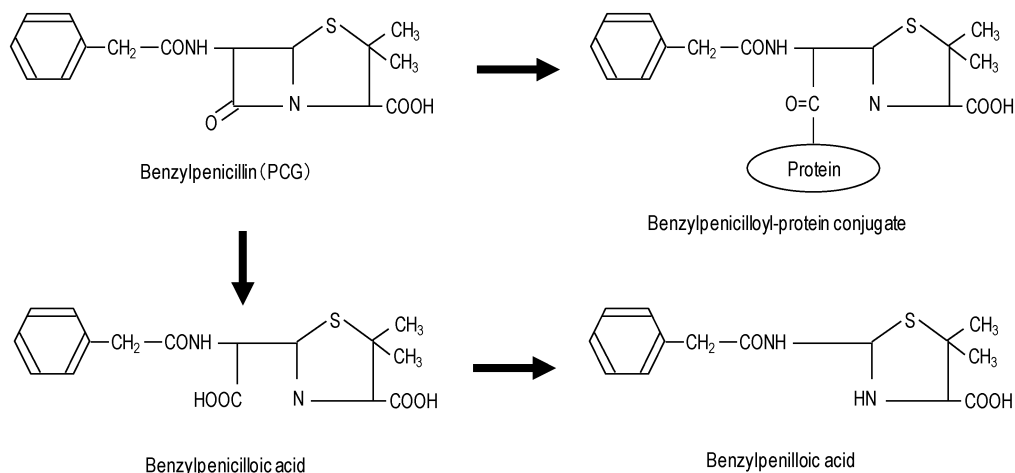


Fig. 2. Formation of Penicillin Antigen

た.^{9,10)} 一方, 村中ら^{3,4)}や上野ら⁷⁾はベンジルペニロ酸 (benzylpenilloic acid) の投与でアナフィラキシー反応を惹起する IgE 抗体の産生に成功し, 一価のハプテンでもアナフィラキシー反応を誘発する可能性を示した. なお, 近年の有機化学物質の合成と精製技術の進歩によりポリマーの関与が少なくなり, β -ラクタム系抗菌薬によるアナフィラキシーショックは減少している.

また, 代謝産物が抗原形成する代表例はハロタンによる肝障害である. ハロタンは吸入後, 一部肝代謝酵素 P-450 の CYP2E1 により酸化され, 中間代謝産物 trifluoroacetyl chloride (TFA-halide) を経て trifluoroacetic acid (TFA) になり尿中に排泄されるが, 中間代謝産物 TFA-halide が体内のタンパク部分と結合して TFA-adducts を形成する.¹¹⁾ この TFA-adducts が抗原として関与するという報告は多い.¹²⁻¹⁴⁾ さらに, このエピトープはハプテン・キャリアー系 (TFA-adducts) に新しく出現した neoantigen (新生抗原) 部分¹⁵⁾と自己抗原部分¹⁶⁾にある可能性が示唆されている. 肝代謝を受ける脂溶性薬物による肝障害の多くが中間代謝産物により誘発され, それらのアレルギー性肝障害では中間代謝産物-タンパク結合体が抗原形成に関与していると推測される.

以上をまとめると, Fig. 1 に示すように DNCB のような接触性皮膚炎を誘発する薬物は, 極めてタンパク結合能が高く, ハプテン・キャリアー結合体が抗原となる. また, PCG のような薬物は, 即時型のアナフィラキシー反応ではポリマーや一価のハ

プテン, 遅発型過敏反応ではハプテン・キャリアー結合体が抗原となり, B 細胞 (抗体) と T 細胞でエピトープが異なる. さらに, ハロタンのような肝障害を誘発する薬物は, 代謝産物・キャリアー複合体が抗原となると考えられる. 各種薬剤アレルギーの抗原形成の解明は, 薬剤アレルギーの発症や交差反応の予防に関連しており, 临床上極めて重要である.

2-2. 免疫反応 薬物が抗原性を形成後, どのように抗原認識され, どのような免疫反応を経てアレルギー反応を誘発するかが次のステージの問題となる. 1960 年代初頭に Coombs と Gell により 4 つのアレルギータイプが提唱された.¹⁷⁾ すなわち, アレルギー反応を I 型のアナフィラキシー反応 (IgE 抗体の関与), II 型の細胞傷害反応 (補体の関与), III 型のアルツス反応 (抗原抗体複合体の関与), 並びに IV 型の遅延型過敏反応 (感作リンパ球の関与) に分類するものである. その後長年に渡って, 薬剤アレルギーを 4 つのアレルギータイプで検討することが临床上試みられてきた. しかし, 免疫学の急速な進歩によりアレルギー反応における免疫細胞やサイトカイン (cytokine) の役割が解明されるにつれて, 薬剤アレルギーを従来のアレルギータイプに分類することに大きな意義を見い出せなくなっている. すなわち, 薬物による免疫反応をアレルギータイプよりさらに上流の発現機構である抗原認識と免疫応答の視点から解明することが重要になっている. そこで, 薬剤アレルギーを最近の免疫学の進歩に即応して解析する.

2-2-1. 抗原認識 抗原認識は、B細胞の細胞表面のB細胞レセプター (B cell antigen receptor; BCR) とT細胞の細胞表面のT細胞レセプター (T cell antigen receptor; TCR) で行われる。1個のリンパ球 (B細胞やT細胞) は多数のレセプター (1種類の抗原レセプターのコピー) を有するが、1種類の抗原しか認識できず、BCRとTCRの抗原認識能は 10^{10} 個以上と考えられている。¹⁸⁾

BCRは、B細胞の膜結合型の抗体 (immunoglobulin; Ig) 分子で、可溶性抗原に結合し、抗原分子の三次構造に基づく立体的構造を直接認識する。一方、T細胞のTCRは、自己の主要組織適合抗原遺伝子複合体 (major histocompatibility complex; MHC) の溝に結合した抗原ペプチドを認識することにより行われる。すなわち、cluster of differentiation (CD) 4⁺T細胞 (ヘルパーT細胞: helper T cell; Th) のTCRは樹状細胞 (dendritic cell; DC) やマクロファージ (macrophage; Mφ) などの抗原提示細胞 (antigen presenting cell; APC) 上のMHCクラスII分子の溝に結合したペプチドと反応し、CD8⁺T細胞 (細胞傷害性T細胞: cytotoxic T cell; Tc) のTCRはMHCクラスI分子の溝に結合したペプチドと反応する。一般に、薬物抗原はMHCの溝にある自己由来ペプチドに直接ハプテンとして結合する場合とハプテン・キャリアー複合体がAPCに取り込まれてMHCと結合する場合が考えられている。¹⁹⁾ BCRとTCRの抗原認識の相違は、上述のPCGのエピトープがIgE抗体由来のI型アナフィラキシー反応の場合 (一価のハプテン) と感作T細胞由来のIV型遅延型過敏反応の場合 (ハプテン・キャリアー複合体) で異なることを支持する。

金属アレルギーの場合、金製剤による薬疹患者の末梢血から採取された金特異的T細胞がMHCクラスII拘束性に金を認識し、²⁰⁾ さらに金製剤がMHCクラスII分子に直接結合する²¹⁾ 可能性が示されている。分子量の極めて小さい金属はAPCのMHCに直接結合し、MHCを変化させることで抗原性を獲得し、アレルギー反応を誘発すると考えられる。また、β-ラクタム系抗菌薬による薬疹患者の末梢血からCD8⁺T細胞クローンが検出されており、²²⁾ β-ラクタム系抗菌薬はMHCクラスI分子に結合する可能性も示唆されている。

近年、Pichlerにより pharmacological interaction with immune receptors (p-i concept) と呼ばれる新しい概念が提唱された。²³⁻²⁵⁾ ある特定の薬物はTCRと結合することでT細胞を刺激し、いくつかのペプチド抗原の反応をプライミングし、過敏反応を誘発するという考え方である。その例として薬剤性過敏症症候群 (drug-induced hypersensitivity syndrome; DIHS) の発現を挙げている。今後、多くの研究によりこのp-i conceptを検証していく必要があるが、薬物が高分子物質と共有結合で抗原形成しなくても薬剤過敏症を誘発するメカニズムを説明できる合目的な仮説として注目に値すると考える。

2-2-2. 免疫応答 APCによる抗原提示後、Thがどのような免疫反応系をとるかが次の問題となる。1986年にMosmannによって提唱された helper T 1 cell (Th1)/helper T 2 cell (Th2) theory,²⁶⁾ Th1とTh2の機能を抑制する制御性T細胞 (regulatory T cells; Treg),²⁷⁾ さらに臓器特異的な自己免疫、肺や皮膚のアレルギー疾患、腸や神経系への細菌感染などに関与する helper T 17 cell (Th17)²⁸⁾ の存在が明らかになっている。

T細胞による免疫応答では、抗原提示を受けたナイーブT細胞 (naïve T cell; Th0) は、サイトカイン産生パターンから分類される4つの亜集団、すなわち Th1,^{29,30)} Th2,^{30,31)} Th17,³²⁾ Treg³³⁾ に分化する。すなわち、Th0はインターロイキン (interleukin; IL)-4によりTh2に分化し、Th2はIL-3, IL-4, IL-5及びIL-13などのサイトカインを産生し、B細胞の分化増殖や抗体産生を誘導し、寄生虫など細胞外に存在する病原体に対する液性免疫を担うが、機能異常によりB細胞のIgE抗体産生や好酸球及びマスト細胞の活性化を促し、即時型過敏反応を惹起する。一方、Th0はIL-12によりTh1に分化し、IL-2, インターフェロン (interferon; IFN)-γ及び腫瘍壊死因子 (tumor necrosis factor; TNF)-βなどのサイトカインを産生し、細菌やウイルス感染に対する細胞性免疫を担うが、機能異常により自己免疫疾患や遅延型過敏反応を惹起する。さらに、Th0はIL-6やトランスフォーミング増殖因子 (transforming growth factor; TGF)-βによりTh17に分化し、Th17はIL-17やIL-22を産生し、好中球を活性化して自己免疫疾患やアレルギー反応を誘発する。また、Th0はTGF-βやIL-6によりTregに分化し、

Treg は TGF- β や IL-10 を産生して免疫反応を抑制する。

臨床的には、先天的に高好酸球症と高 IgE 血漿を示す Omenn's syndrome 患者では Th1 由来のサイトカイン産生は低下し、Th2 由来のサイトカイン産生は増加しており、IFN- γ の投与により症状は改善し、Th1 由来サイトカイン産生が増加するという報告³⁴⁾がある。また、ツベルクリンテストの強弱はアレルギースクラッチテストの強弱、総 IgE 値及びアレルギー疾患有症率と逆相関するという報告³⁵⁾もある。そのため、アレルギー反応は Th1/Th2 バランスによって左右される可能性が高いと推論される。しかし、一方でゼラチンアレルギーにおいて IgE 抗体陰性例よりも IgE 抗体陽性例で IL-2 や IFN- γ の発現を強く認めたという報告³⁶⁾もある。したがって、Th1/Th2 バランスの制御はアレルギー反応の制御を示すものではなく、生体が抗原に感作される初期の免疫反応に関与するもの³⁷⁾と思われる。

Gaspard らの報告³⁸⁾では、 β -ラクタム系抗菌薬過敏症患者の単核球に薬物と薬物+ヒト血清アルブミン (human serum albumin; HSA) で刺激した場合の IL-4 と IFN- γ の mRNA を逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-PCR) で測定し、IL-4 の mRNA は即時型過敏症で 11 例中 5 例に発現を認め、遅延型過敏反応で 8 例全例に発現を認めなかった。一方、IFN- γ の mRNA は即時型過敏症で 11 例全例、遅延型過敏反応で 8 例中 6 例に発現を認めた。したがって、 β -ラクタム系抗菌薬アレルギーでは、遅延型過敏反応は当然のことながら薬物感作 Th1 の存在を認めるが、即時型過敏反応は薬物感作 Th2 だけでなく、むしろ薬物感作 Th1 の存在を強く認めたことになる。すなわち、 β -ラクタム系抗菌薬アレルギーの即時型過敏反応では Th1 と Th2 が混在しており、経時的に Th2 から Th1 へ移行している可能性が示唆される。また、IL-4 mRNA は薬物単独のみに発現を認め、IFN- γ mRNA は薬物+HSA に特に高い発現を認めている。この結果も、 β -ラクタム系抗菌薬アレルギーのエピトープが IgE 抗体由来の即時型過敏反応の場合 (一価のハプテン) と感作 Th1 由来の遅延型過敏反応の場合 (ハプテン・キャリアー複合体) で異なることを支持している。

2-3. 炎症・傷害反応 薬物抗原と Th の反応から産生されたサイトカインやケモカイン

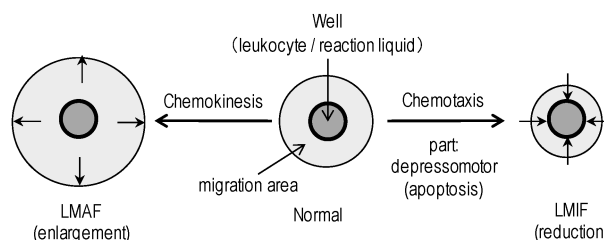


Fig. 3. Detection of LMAF or LMIF in LMT-agarose

LMAF, leukocyte migration activating factor; LMIF, leukocyte migration inhibitory factor.

(chemokine) により免疫反応が促進し、炎症反応へと進むが、サイトカインやケモカインが関与する免疫学的反応系と過敏症状 (標的臓器) は多い。筆者らは薬剤過敏症患者に白血球遊走試験 (leukocyte migration inhibition test; LMT) のアガロース平板法 (LMT-agarose) で 70% 以上に白血球遊走促進因子 (leukocyte migration activating factor; LMAF) あるいは白血球遊走阻止因子 (leukocyte migration inhibitory factor; LMIF) を検出し、薬剤アレルギーの発現に LMIF と LMAF が強く関与していることを明らかにした。³⁹⁾ はじめに、薬剤アレルギーにおける LMIF と LMAF の関与とサイトカインとの因果関係について言及する。

2-3-1. LMIF/LMAF の薬物アレルギーへの関与

筆者ら⁴⁰⁾が LMT-agarose で用いている遊走用白血球の組成は、顆粒球が 60–80%, 単球が 20–30%, リンパ球が 5–10% で、顆粒球の大部分が好中球であるため、LMT は好中球と単球、とくに好中球の遊走能を見ていることになる。好中球の機能は、活性酸素の生成と放出による食細胞内殺菌や細胞外組織の障害のほか、偽足活動に基づく遊走能と貪食能があり、抗原部位に浸潤することにより炎症を誘発する。好中球の機能は、単球や T 細胞から産生されるサイトカインにより活性化されるが、白血球に走化性を誘導するサイトカインをケモカインと呼んでいる。

白血球の遊走には、ある物質によりランダムな運動活性が亢進する化学運動性 (chemokinesis) と、ある物質 (ケモカイン) の方向に引きつけられて遊走する走化性 (chemotaxis) がある。Figure 3 に示しように、LMT-agarose 検出の LMAF は薬物感作 T 細胞由来の chemokinesis 作用を示す各種サイトカインであり、LMIF は薬物感作 T 細胞由来の

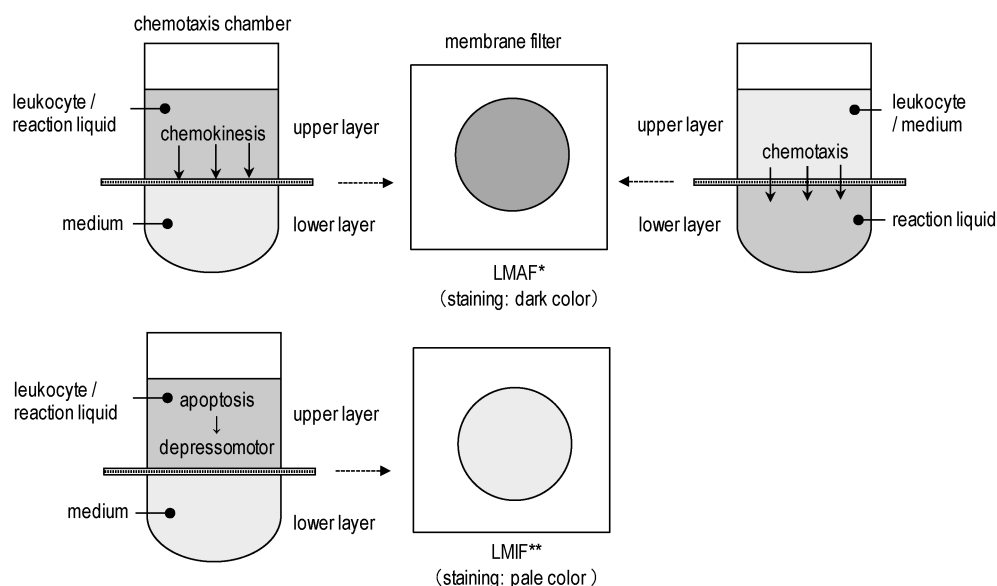


Fig. 4. Detection of LMAF or LMIF in LMT-chamber

* LMAF, leukocyte migration activating factor; ** LMIF, leukocyte migration inhibitory factor.

chemotaxis 作用を示す各種ケモカインであると考えられる。なお、LMT-agarose 検出の LMIF は chemokinesis 作用 + chemotaxis 作用の場合でも検出される。

正常人の単核球をマイトジェン (mitogen; 有糸分裂促進物質) の 1 つである植物性赤血球凝集素 (phytohemagglutinin; PHA) で刺激すると多くのサイトカインやケモカインが産生される。LMT-agarose では LMIF が検出されるが、ケモタキシス・チャンバーを用いた LMT (LMT-chamber) では LMAF が検出される。この理由は、遊走システムの相違で、LMT-agarose では chemotaxis 作用があれば chemokinesis 作用が加わっても LMIF として検出される。一方、LMT-chamber では、Fig. 4 に示すように上層の well に遊走用白血球浮遊 + 反応上清液に入れた場合は chemokinesis 作用を LMAF として検出し、上層の well に遊走用白血球浮遊液を入れて下層の well に反応上清液に入れた場合は chemotaxis 作用を LMAF として検出することになる。なお、上層の well に遊走用白血球浮遊 + 反応上清液に入れた場合に LMIF を検出するケースもある。この場合の LMIF は白血球の運動抑制や粘着抑制を示しており、細胞毒性、すなわちアポトーシス (apoptosis) 作用を有するサイトカインが関与していると考えられる。

正常人 5 名の単核球を PHA で刺激して LMT-

agarose を行うと、PHA の低濃度では LMAF、高濃度では LMIF の産生が認められ、さらに血清添加により LMAF 産生の亢進が認められる。また、 β -ラクタム系抗菌薬による皮疹患者 58 例の潜伏期間と LMAF 及び LMIF 産生の関係を解析すると、潜伏期間が 10 日未満では LMAF、10 日以上では LMIF が有意に多く検出され、この傾向は薬剤熱や薬剤性肝障害でも同様の結果が認められる。³⁹⁾ さらに、薬疹疑診患者 202 例の被疑薬刺激による LMT-agarose⁴¹⁾ では、LMAF と LMIF の両因子が同程度に検出され、LMAF は血清添加により多く検出される。ちょうど蚊に刺されるとその部位は直ちに大きく膨れ上がるが、数日経つと小さく硬くなる (限局化する) のに類似している。すなわち、LMAF と LMIF の産生はアレルギー反応の経時的変化を示し、免疫反応の初期から LMAF、免疫反応の後期で LMIF が産生されると考えられる。換言すると、LMAF はアレルギー反応初期に白血球の運動活性 (chemokinesis) のために産生され、LMIF はアレルギー反応後期に白血球の集中 (chemotaxis) のため産生されたと推論される。また、患者血清中には LMAF を産生し、好中球の再活性化を誘発するサイトカインが存在することも示唆される。

したがって、Fig. 5 に示すように薬剤アレルギーで APC から抗原提示を受けた感作 T 細胞は、アレルギー反応の初期では LMAF を産生し、chemoki-

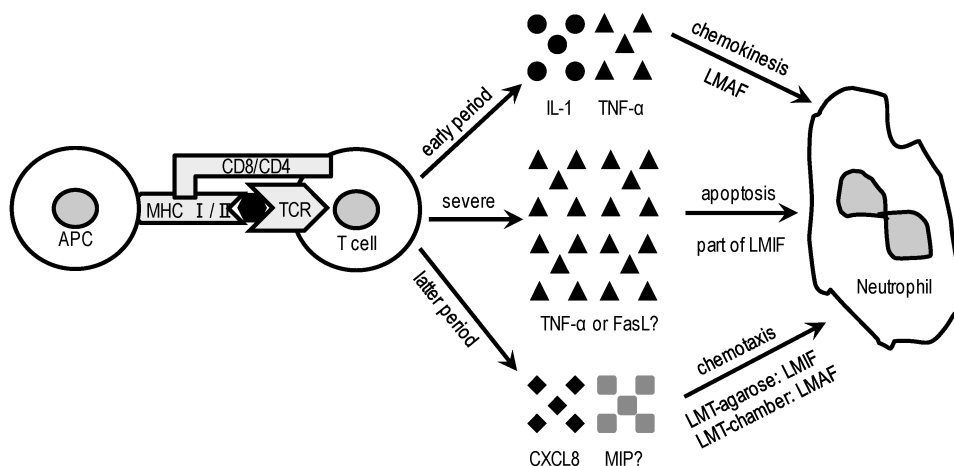


Fig. 5. Participation of Cytokines/Chemokines and LMAF/LMIF during Drug Allergy

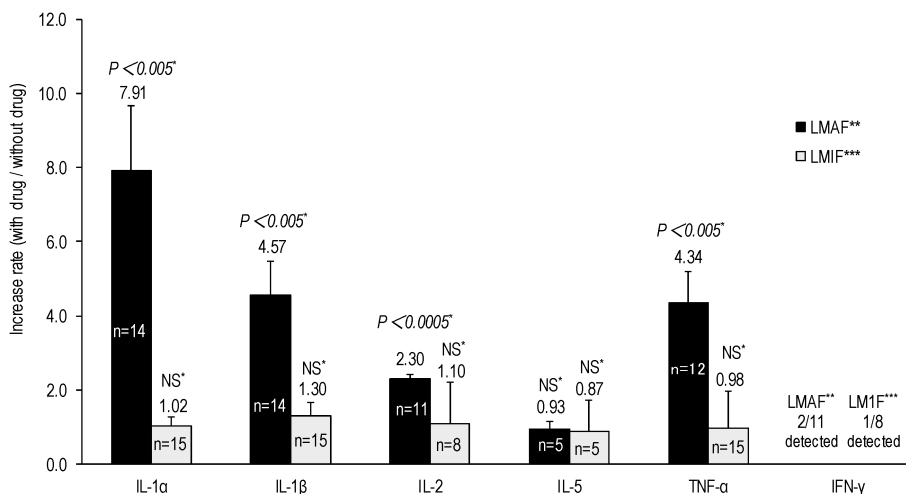


Fig. 6. Increases in Levels of Cytokines and Detection of LMAF/LMIF during Drug Allergy

* Significant difference: IL-1α, IL-1β, IL-2, and TNF-α (t-test compared with data from 8 patients without drug allergy) and IL-5 (t-test compared with data from 5 patients without drug allergy). ** LMAF, leukocyte migration activating factor in LMT-agarose; *** LMIF, leukocyte migration inhibitory factor in LMT-agarose.

nesis 作用により好中球や単球などの貪食細胞の運動性を亢進し、炎症反応を誘発する。また、薬剤アレルギー反応の後期になると、炎症反応を効率的に行うために LMIF を産生し、chemotaxis 作用により炎症部位を限局化するものと考えられる。さらに、重症化した場合には apoptosis 作用により細胞の破壊が起こると推測される。

2-3-2. LMIF/LMAF とサイトカイン・ケモカインの因果関係 では、LMAF や LMIF はいかなるサイトカインやケモカインなのかという疑問が出てくる。筆者ら⁴²⁻⁴⁵⁾は、LMAF/LMIF 検出群に対して酵素結合免疫吸着測定法 (enzyme-linked immunosorbent test; ELISA) によるサイトカイン測定

を実施して、LMT-agarose 検出の LMAF と LMIF の本体の検索を試みた。その結果、Fig. 6 に示すように LMAF 検出群と IL-1α, IL-1β, IL-2 及び TNF-α 産生の関連性を認めた。その後、LMT-chamber で IL-1α, IL-1β 及び TNF-α は chemokinesis 作用 (TNF-α は非常に強い chemokinesis 作用) を有し、IL-2 は chemokinesis 作用を有しないことが明らかになった。^{42,46,47)} したがって、LMAF は IL-1 や TNF-α の可能性が高いが、単一のサイトカインではなく、両サイトカインの混合物である可能性も否定できない。前述のように、LMAF は薬剤アレルギー反応の初期に産生されることから、IL-1 や IL-2 も薬剤アレルギー反応の初期に関与すること

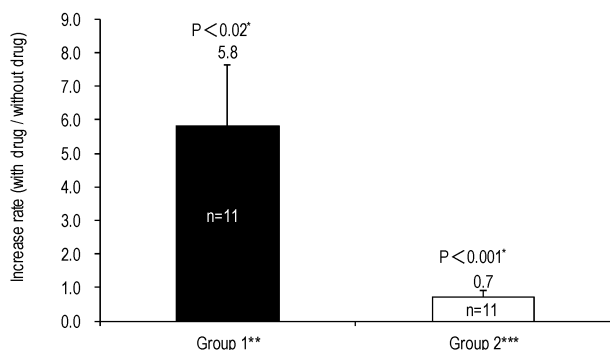


Fig. 7. Increase in Level of IL-8 (CXCL8) and Detection of Leukocyte Migration Inhibitory Factor (LMIF) on LMT-agarose

*Significant difference, *t*-test compared with data from 10 patients without drug allergy. ** Group 1: 11 patients with allergy to β -lactam antibiotics. *** Group 2: 11 patients with allergy to NSAIDs.

が示唆される。また、LMAFは血清添加により産生が亢進されると前述したが、TNF- α も血清添加により産生が亢進する。^{40,44)} TNF- α は薬剤アレルギー反応の重症化に関与するという報告も多く、⁴⁸⁻⁵⁰⁾ 薬剤アレルギー反応における炎症反応の亢進に深く関わっている。したがって、薬剤アレルギー反応の初期には、IL-1やIL-2が係わり、TNF- α の産生に伴い炎症反応が増強すると考えられる。

一方、LMIF検出とIL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-5、TNF- α 及びIFN- γ の6種類のサイトカイン産生の間には関連性がみられなかった。前述のように、LMIFはchemotaxis作用を示しているため、LMIF検出とケモカインのIL-8 (CXCL8)産生との関連性に関する検討を試みた。^{51,52)} その結果、Fig. 7に示すように β -ラクタム系抗菌薬アレルギーではLMIF検出群でCXCL8産生の有意な上昇が認められた。しかし、非ステロイド性抗炎症薬 (non-steroidal anti-inflammatory drugs; NSAIDs) アレルギーではLMIF検出群でCXCL8産生の低下を示すことが明らかとなった。したがって、 β -ラクタム系抗菌薬アレルギーの後期にはCXCL8が高く関与していると考えられるが、NSAIDsアレルギーの後期ではCXCL8以外のケモカイン、例えばマクロファージ炎症性タンパク (macrophage inflammatory protein; MIP)-1⁵³⁾ などが関与していると推測され、今後さらに検討が必要である。

今までの筆者らの成績と免疫学的見地から推論すると、LMT-agarose検出のLMAFはサイトカイン、LMIFはケモカインであり、薬剤アレルギーの抗原

となる薬物の相違により産生されるサイトカイン、ケモカイン、免疫細胞あるいは免疫反応系も異なってくると考えられる。再度、Fig. 5に戻ると、薬剤アレルギーでAPCから抗原提示を受けた感作Th (主にTh1)は、アレルギー反応の初期でIL-2を産生し、単球やNK細胞を活性化してIL-1やTNF- α を産生してLMAF活性 (chemokinesis作用)により好中球や単球などの食食細胞の運動性を亢進し、炎症反応を誘発する。薬剤アレルギー反応の後期になると、炎症反応を効率的に行うためにIL-8などのケモカインを産生してLMIF活性 (chemotaxis作用)により炎症部位を限局化する。さらに、Th1産生のIL-2によりTcが活性化され、大量のTNF- α の産生、あるいはFasリガンド (FasL)の発現によりapoptosis作用 (LMT-agaroseでは一部のLMIF, LMT-chamberではLMIF)が発現して細胞の破壊が起こる場合には重症化すると推測される。

2-3-3. サイトカイン・ケモカインから過敏反応

薬剤過敏症に関与するサイトカインやケモカインに関しては筆者らの検討以外にも多くの報告がある。例えば、スルホンアミド剤過敏症におけるTNF- α の関与、^{54,55)} バカンピシリンによる鼻炎におけるIL-5の関与とバカンピシリンによる接触性皮膚炎におけるIL-5とIFN- γ の関与、⁵⁶⁾ ペニシリン疹におけるIL-2とIFN- γ の関与、²²⁾ cianidanolによる薬剤熱におけるIL-1の関与、⁵⁷⁾ β -ラクタム系抗菌薬による即時型過敏反応におけるIL-4の関与と遅延型過敏反応におけるIFN- γ の関与、³⁸⁾ 全身性紅斑丘疹型薬疹におけるIFN- γ とIL-12の関与、⁵⁸⁾ 紅斑丘疹型薬疹におけるIFN- γ やTNF- α とケモカインのmonokine induced by IFN- γ (MIG)/CXCL9やIFN- γ -inducible protein 10 (IP-10)/CXCL10とそのレセプターのCXCR3の関与、⁵⁹⁾ 紅斑丘疹型薬疹におけるケモカインのthymus and activation-regulated chemokine (TARC)/CCL17やmonocyte-derived chemokine (MDC)/CCL22とその受容体CCR4の関与、⁶⁰⁾ 紅斑丘疹型薬疹における好酸球増多に対するIL-5の関与、⁶¹⁾ 薬剤による急性汎発性発疹性膿疱症 (acute generalized exanthematous pustulosis; AGEP)におけるIFN- γ ⁶²⁾とCXCL8⁶³⁾の関与、薬剤性アナフィラキシーショックにおけるIL-6の関与、⁶⁴⁾ 薬剤性肝障害における可溶性IL-2レセプターの関与、⁶⁵⁾ 薬剤性肝障害における好酸球増多に

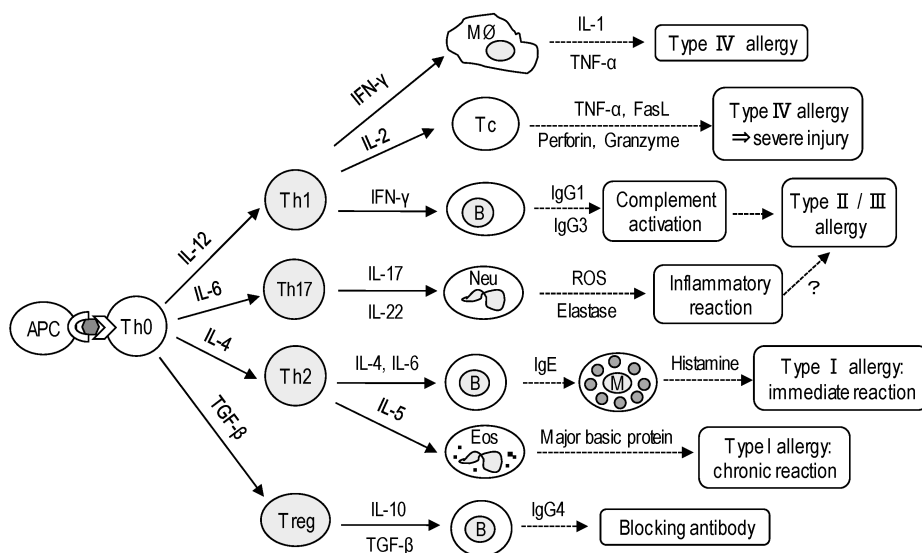


Fig. 8. Pathogenic Mechanism for Drug Allergy

APC, antigen-presenting cell; Th0, naïve T cell; Th, helper T cell; Treg, regulatory T cell; Tc, cytotoxic T cell; B, B cell; Mφ, macrophage; Neu, neutrophil; Eos, eosinophil; M, mast cell; ROS, reactive oxygen species.

対する IL-5 の関与,⁶⁶⁾ 薬剤性間質性腎炎における IL-5 や IL-12 の関与⁶⁷⁾あるいは IL-1 や TNF- α の関与⁶⁸⁾などが報告されている。以上の報告から分かるように、サイトカインやケモカインの関与について薬疹ではよく検討されているが、薬剤性臓器障害での検討はまだ少ないように思われる。今後の検討を待たざるを得ない。

2-3-4. 薬剤アレルギーの発症メカニズム アレルギー反応は、Coombs と Gell による 4 つのアレルギータイプ (I 型-IV 型) から Mosmann らによる Th1/Th2 theory に移り、Treg や Th17 の存在が証明され、発症機構の上流で解明が試みられるようになり、薬剤アレルギーの発症メカニズムはより複雑化している。そこで、免疫学の新しい知見と薬剤アレルギーの筆者らの成績を含めた今までの検討データを合致させて薬剤アレルギーの発症機構をまとめると、Fig. 8 のような発症メカニズムが推論される。

すなわち、APC の MHC クラス II に結合して薬物抗原が提示され、それを受けて Th0 は、IL-12 により Th1, IL-4 により Th2 に分化する。Th1 は IFN- γ などのサイトカインを産生して Mφ (血液では単球) を活性化し、Mφ は IL-1 や TNF- α を産生して IV 型アレルギー (遅延型過敏) 反応を誘発する。このメカニズムは紅斑丘疹型薬疹や薬剤性臓器障害 (間質性肝炎、間質性肺炎、間質性腎炎、出血

性大腸炎など) の発症に関与する。また、Th1 は IL-2 産生により Tc を活性化し、Tc は TNF- α や granzyme の産生や FasL を結合させて apoptosis を誘導し、遅延型過敏反応の重症化を招く。このメカニズムはスティーブンス・ジョンソン症候群 (Stevens-Johnson syndrome; SJS) や中毒性表皮壊死症 (toxic epidermal necrolysis; TEN) などの重症薬疹の発症や薬剤性臓器障害の重症化に関与する。

さらに、Th1 産生の IFN- γ により B 細胞からクラススイッチにより IgG のサブクラスの IgG1 や IgG3 を産生させ、補体活性を誘発する (補体結合型の IgG1 や IgG3 は Th1 由来の IFN- γ で誘導される)。このメカニズムは紫斑型薬疹や薬剤性血球障害 (顆粒減少、血小板減少、貧血) の一部の発症に関与する。

一方、Th2 は IL-4, IL-6 及び IL-13 などのサイトカインを産生して B 細胞の分化増殖や IgE 抗体産生を誘導し、IgE はマスト細胞 (血液では好塩基球) に結合し、薬物抗原の架橋形成によりマスト細胞から多量のヒスタミンを放出して I 型アレルギー (即時型過敏) 反応を誘発する。このメカニズムは蕁麻疹型薬疹や薬剤性アナフィラキシーショックの発症に関与する。また、Th2 細胞は IL-5 を産生して好酸球の分化増殖と活性化を誘導し、好酸球は一方でヒスタミンなどを分解して即時型反応を抑制するが、他方で主要塩基性タンパク (major basic pro-

Table 1. Diagnostic Testing for Allergenic Drugs (Allergens)

<i>In vivo</i> test		<i>In vitro</i> test	
1. Challenge test	2. Skin test a) Intradermal test b) Prick test c) Scratch test d) Patch test	1. Serological test a) Drug dependent Coombs test b) Sensitized hemagglutination test c) Radioallergosorbent test d) Enzyme-linked immunosorbent assay	2. Cytological test a) Histamine release test b) Cellular antigen stimulation test c) Drug-induced lymphocyte stimulation test d) Leukocyte migration test e) Cytokine/chemokine measurement f) Cytokine/chemokine expression by RT-PCR

tein; MBP)などを産生してI型アレルギーの慢性化を誘発する。このメカニズムは一部の薬剤性臓器障害(好酸球性肺炎, 好酸球性肝炎, 好酸球性胃腸炎など)の発症に関与する。

TregはTGF- β とIL-6により誘導され, 抑制性サイトカインのIL-10やTGF- β を産生して薬剤アレルギーを抑制する。また, Treg産生のIL-10はB細胞からクラススイッチによりIgGのサブクラスのIgG4を産生する。IgG4は補体活性作用がなく, 阻止抗体として薬剤アレルギーを抑制する。これは少量投与から漸次増量していき過敏反応を軽減させる脱(減)感作療法に働くメカニズムである。

Th17はIL-6により誘導され, IL-17やIL-22を産生してIL-6やCXCL8などの炎症サイトカインの産生や好中球の活性化・遊走を促し, 炎症反応を誘発して自己免疫疾患や細胞害増殖菌の感染症に深く係わるが, 薬剤アレルギーとの因果関係はまだ不明である。しかし, 筆者らは β -ラクタム系抗菌薬アレルギーのCXCL8の関与を認めており,^{53,54)} Th17は感染と関連した薬剤アレルギーの関与も高いと考えられる。また, Th17が β -ラクタム系抗菌薬アレルギーによるAGEPの発症に関与することが報告⁶⁹⁾されている。

3. 薬剤アレルギーの診断検査の取り組み(アレルギー起因薬の検出)

現在の医薬品の副作用報告は, 有害症状と薬物の因果関係が否定できない事例を示しているため, 両者の関連性が曖昧な側面を持っている。また, 医療現場では被疑薬すべてを副作用原因薬と見なしているケースが少なくなく, 医薬品有害反応発症以降の薬物治療に大きな弊害となっている。医薬品有害反応の原因薬の推定・検索には米国食品医薬品局(Food and Drug Administration; FDA)による有害

反応の原因薬検索のためのアルゴリズムがある。⁷⁰⁾『日本医薬品安全性学会』でもFDA解析を基に「被疑薬と有害事象の関連性評価基準」を作成している。⁷¹⁾ FDA解析は臨床経過から原因薬を客観的に解析する方法として優れているが, 患者のリスクから薬剤再投与(チャレンジテスト)の実施が困難な現状では, 被疑薬の検出に限界がある。さらに, 被疑薬が複数の場合は症状と薬物の関連性が一層曖昧になってしまう。そこで, 薬剤アレルギーでは臨床経過の解析により被疑薬決定後, 薬物と過敏症状の因果関係を証明する免疫学的試験, すなわちアレルギー起因薬同定試験が重要となる。

3-1. アレルギー起因薬同定試験 アレルギー起因薬同定試験の有用性は, 試験の感受性と特異性が問題となるが, 臨床現場ではそれらに加えて患者の安全性や負担及び試験手技の簡便性も重要な問題となる。

3-1-1. アレルギー起因薬同定試験の種類 アレルギー起因薬同定試験は, Table 1に示すように生体内(*in vivo*)と生体外(*in vitro*)試験に大別される。^{72,73)} *In vivo*試験では, 負荷試験(別名:再投与試験, チャレンジテスト, challenge test)と皮膚試験があり, 皮膚試験には主にアナフィラキシー反応を証明する皮内反応(intradermal test)と主に遅延型過敏反応を証明する貼付試験(パッチテスト, patch test)がある。また, 皮内反応の予備試験として搔皮法(スクラッチテスト, scratch test)と単刺法(プリックテスト, prick test)がある。

*In vitro*試験は血清中の薬物の特異抗体を検出する血清学的試験と薬物抗原刺激により免疫細胞の変化をみる細胞性試験に分けることができる。血清学的試験には, 薬物添加クームス試験(drug dependent Coombs test), 感作赤血球凝集試験(sensitized

Table 2. Positive Rates in the Various Diagnostic Tests for Allergic Drugs (Results in Suibarago Hospital)

Test method	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
Immediate intradermal test	0.0% (0.0%) **	ND*	ND	ND
Patch test	ND	7.9%	ND	ND
Sensitized hemagglutination test	6.7% (0.0%) **	ND	ND	ND
Enzyme-linked immunosorbent assay	ND	ND	7.9%	ND
Drug-induced lymphocyte stimulation test	ND	ND	ND	24.8% (6.9%) ***
Leukocyte migration test	75.6% (4.4%) **	64.3%	74.2%	60.9% (6.9%) ***

Group 1: 90 patients suspected of allergy to β -lactam antibiotics, Group 2: 14 patients suspected of drug eruptions, Group 3: 89 patients suspected of allergy to β -lactam antibiotics, Group 4: 133 patients suspected of allergy to drugs, * ND; not done, ** (): 30 patients without allergy to β -lactam antibiotics (90 tests: false positive rate), *** (): 102 patients without allergy to drugs (false positive rate).

hemagglutination test; SHAT), 放射免疫吸着試験 (radioallergosorbent test; RAST), 酵素結合免疫吸着測定法 (ELISA) などがある。また, 細胞性試験ではヒスタミン遊離試験 (histamine release test; HRT), 細胞性抗原刺激試験 (cellular antigen stimulation test; CAST), 薬物誘発リンパ球刺激試験 (drug-induced lymphocyte stimulation test; DLST), マクロファージ遊走阻止試験 (macrophage migration inhibition test; MIT), 白血球遊走試験 (LMT), サイトカイン・ケモカイン測定, サイトカイン・ケモカイン mRNA 測定などがある。

3-1-2. 生体内 (*in vivo*) 試験の有用性 *In vivo* 試験では, チャレンジテストは臨床的反映度が最も高いが, リスクも高く, 患者の安全性に問題があるため, 臨床現場では実施が難しく, 重症例では一層困難になる。また, 発症メカニズムが解明できない欠点もある。さらに, 前述のようにチャレンジテストが陰性であっても起因薬の可能性を否定できない点も認識しておく必要がある。薬剤過敏症疑診患者 290 例の LMT-chamber 陽性の 235 例 (81%) に対する患者血清添加群と無添加群の検討では, 添加及び無添加の両群に LMT 陽性を示した患者はわずか 14.9% で, 添加群のみに LMT 陽性を示した患者は 46.8%, 無添加群のみに LMT 陽性を示した患者は 38.3% であった (Table 3 の下表)。患者血清添加群のみ LMT 陽性の患者は, 患者血清中にキャリアータンパク (完全抗原の形成) や免疫活性作用を有するサイトカイン (IL-2 など) が存在して免疫反応が亢進したと考えれば理に適う。一方, 血清無添加群のみに LMT 陽性を示した 4 割近い患者は, 患者血清添加により LMT が陰性化, すなわち薬物 (抗原) 刺激による感作リンパ球のサイトカイ

ンやケモカインの産生が阻止されたことになる, 換言すれば, 患者血清中に薬物に対する阻止抗体が産生されていた可能性が示唆される。したがって, 薬剤アレルギーの 4 割近い患者は, 症状の改善に伴い脱感作状態が起きて阻止抗体が産生され, その時点で起因薬のチャレンジテストを実施しても陰性に出る可能性があると考えられる。すなわち, チャレンジテストは偽陰性 (false negative) を包含している。

皮膚試験では, 一般的に皮内反応はアナフィラキシー反応, パッチテストは遅延型過敏反応に用いられる。皮内反応は β -ラクタム系抗菌薬によるアナフィラキシーショックには有効であると考えられる。^{74,75)} しかし, 皮内反応は通常対照試験を行わないため偽陽性 (false positive) となることも少なく, 他の多くの起因薬やショック症状以外には有効性に乏しい欠点がある (Table 2 の Group 1)。また, 皮内反応はある程度の危険を伴うため, ショック発現の危険性が高い場合はブリックテストから施行することが推奨される。パッチテストは, 患者の時間的負担が大きい割に感度が低く, 接触性皮膚炎を除いて有効性が高いとは言えない。^{76,77)} 筆者らの検討⁴²⁾でも薬疹に対しては 10% 弱の陽性率であった (Table 2 の Group 2)。

3-1-3. 生体外 (*in vitro*) 試験の有用性 *In vitro* 試験は, 一般に安全性も高く, 患者の負担も少ないため, 臨床的有用性が高いが, 感受性と特異性が問題となる。*In vitro* の各種アレルギー起因薬同定試験の陽性率と偽陽性率^{72,73)}を Table 2 に示した。Table 2 の Group 1 に示すように β -ラクタム系抗菌薬過敏症疑診患者 90 例 (皮疹 64%, 肝障害 26%, 発熱単独 10%) の陽性率 (偽陽性率: 抗生剤非過敏症患者 30 例に対する抗生剤 3 剤の陽性率)

は、皮内反応が 0.0% (0.0%), SHAT が 6.7% (0.0%), LMT が 75.6% (4.4%) で、抗生剤過敏症疑診患者における LMT の陽性率が他試験及び偽陽性を有意 ($p < 0.0001$, χ^2 -test) に上回った。^{78,79)} 各試験の特異度は、皮内反応が 100%, SHAT が 100%, LMT が 95.6% で、特異度だけで見ると皮内反応や SHAT は高いが、感度が低過ぎる。したがって、感受性と特異性を示した真の陽性率=陽性率-偽陽性率で表すと、皮内反応が 0%, SHAT が 6.7%, LMT が 71.2% で、LMT が他試験を大きく上回る。また、Table 2 の Group 3 に示すように β -ラクタム系抗菌薬過敏症疑診患者 89 例でも ELISA の 7.9% に比べ、LMT が 74.2% と有意 ($p < 0.0001$, χ^2 -test) に高い陽性率を示した。⁸⁰⁾ この結果は、細胞性試験の LMT はアレルギー起因薬同定として有効性が高く、血清学的試験の SHAT や ELISA は薬剤アレルギーに対して診断的価値が低いことを示している。また、細胞性試験では HRT や CAST があるが、HRT や CAST は I 型アレルギー反応に限定され、特に CAST は被疑薬が NSAIDs の場合は試験の原理上の問題がある (NSAIDs の薬理作用を示している可能性が高い)。⁸¹⁾ LMT が高い陽性率を示す要因は、①サイトカインは抗体に比べ $1/10^9$ – $1/10^6$ の濃度で生物活性を示す、②単核球にミクロソーム (薬物代謝酵素) が存在し、反応試験中に代謝産物の抗原形成もできる、③遅延型過敏反応だけでなく、即時型過敏反応でも有効性を示す点などが挙げられる。

次に、細胞性試験で多用されている方法に DLST がある。DLST は試験管内で薬物感作リンパ球 (特に T 細胞) が抗原提示細胞から薬物抗原の提示を受けて活性化して分裂・増殖する過程を捉える試験で、LMT は抗原刺激により活性化した薬物感作リンパ球が産生する (白血球の遊走に影響を与える) サイトカインやケモカインを検出する試験である。そこで、薬剤過敏症疑診患者 133 例に対して DLST と LMT を実施して両試験の有効性を検討した。⁸²⁾ 両試験の陽性率 (偽陽性率: 薬剤非過敏症患者 102 例; 1 週間以上服用して過敏症状を発現しなかった患者の服用薬剤に対する陽性率) は、Table 2 に示すように DLST が 24.8% (6.9%), LMT が 60.9% (6.9%) の陽性率を示し、特異度は両試験とも 93.1% であった。両試験とも薬剤過敏症患者の陽性率が

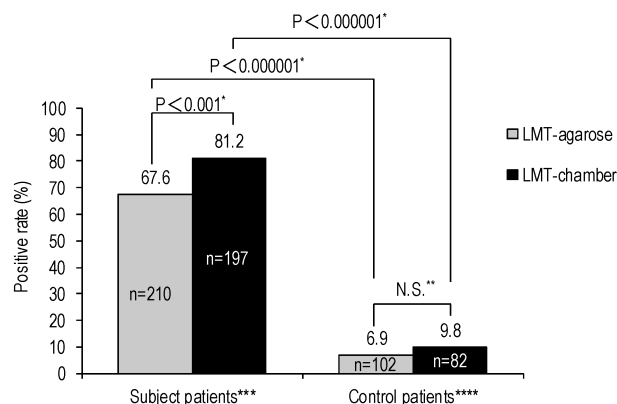


Fig. 9. Positive Proportions of LMT-agarose and LMT-chamber in Patients Suspected of Having a Drug Allergy and in Patients without a Drug Allergy

*Significant difference: χ^2 -test; **N.S., not significant; *** Subject patients, patients suspected of having a drug allergy; **** Control patients, patients without a drug allergy.

偽陽性率を有意 (DLST; $p < 0.02$, LMT; $p < 0.0001$, χ^2 -test) に上回ったが、LMT は DLST より約 2.5 倍 ($p < 0.0001$, χ^2 -test) の陽性率を示した。また、真の陽性率 (=陽性率-偽陽性率) も LMT が 54.0% で、DLST の 17.9% を大きく (3 倍) 上回った。この結果は、LMT が DLST より有効性が高く、薬物感作リンパ球は抗原刺激により分裂・増殖することより炎症性サイトカインやケモカインを容易に産生することを示唆している。

以上の結果から、LMT がアレルギー起因薬同定試験として最も有効性が高いと考えられるが、従来のアガロース平板法 (LMT-agarose) は手技が難しく、遊走用白血球に多量の血液を必要とする欠点がある。そこで、筆者らは LMT-agarose に比べて手技が容易で、遊走用白血球用の血液量が 1/5 で済む LMT-chamber を開発した。⁸³⁾ 両試験の陽性率 (両試験の対象は同一患者ではないが、同条件である) は、Fig. 9 に示すように LMT-agarose が 67.6%, LMT-chamber が 81.2% で、LMT-chamber が有意 ($p < 0.001$, χ^2 -test) に高い陽性率を示した。また、特異度は LMT-agarose が 93.1%, LMT-chamber が 90.2% で、LMT-agarose が少し高かったが、両試験に有意差を認めなかった。また、真の陽性率 (=陽性率-偽陽性率) は LMT-agarose が 60.7%, LMT-chamber が 71.4% で、LMT-chamber が 10% も高い数値を示した。同じ原理に基づく LMT-chamber と LMT-agarose の陽性率に差を生じた要因は、LMT の標的細胞である遊走細胞 (顆粒球)

Table 3. Rate of Positive LMT-chamber Results among 290 Patients Suspected of Having a Drug Allergy according to Symptomatic Hypersensitivity Categories and with or without the Use of the Corresponding Patient's Serum

Hypersensitivity symptom	No. of cases	Positive rate (%)	χ^2 -test
Skin eruption	161	81	
Liver injury	102	81	
Anaphylactic shock	19	90	
Pulmonary disorder	6	67	
Blood disorder	5	100	
Fever only	3	100	
Eosinophilia only	3	100	
Hemorrhagic colitis	2	100	
Laryngeal edema	2	50	
Strongly suspected patients*	246	89	] $p<0.0001$
Weakly suspected patients**	44	36	
Total	290	81	
Patient's serum		Incidence (%)	χ^2 -test
With	Without		
+	+	35	] $p<0.0001$] $p<0.0001$
+	—	110	
—	+	90	
All LMT-positive patients		235	

In this table, the same patients were counted in two or more categories in cases with concomitant symptoms. * Strongly suspected patients, patients categorized as “possible” in the FDA analysis; ** Weakly suspected patients, patients categorized as “probable” in the FDA analysis; +, LMT-positive; —, LMT-negative.

の濃度が LMT-chamber では 1×10^7 cells/mL で、LMT-agarose の 2.5×10^8 cells/mL の 1/25 であることに起因する。すなわち、LMT-chamber は薬物感作リンパ球産生のサイトカインやケモカインの濃度が LMT-agarose の 1/25 でも反応することになり、感度が高まったと考えられる。したがって、現時点ではアレルギー起因薬同定試験として LMT-chamber が最も有効性が高く、薬剤アレルギーの約 8 割にアレルギー起因薬を検出することが可能である。しかし、LMT-chamber にも①保険適用がない、②外注できないなどの欠点がある。

水原郷病院の過去 5 年間（2002 年 4 月–2007 年 3 月）の薬剤過敏症疑診患者 290 例における LMT-chamber の結果^{72,73)}は、Table 3 に示すように全体では 81% の陽性率を示し、臨床経過の FDA 解析から『おそらく関連性あり (possible)』に該当する患者を「薬剤過敏症強疑診患者」、『たぶん可能性あり (probable)』に該当する患者を「薬剤過敏症弱疑診患者」とした場合、LMT-chamber は「薬物過敏症弱疑診患者」の 36% に対して「薬物過敏症強疑診

患者」に 89% と有意 ($p < 0.0001$, χ^2 -test) に高い陽性率を示し、臨床経過をよく反映することが明らかになった。

また、過敏症状別の LMT-chamber の陽性率では、皮疹が 81%、肝障害が 81% で、ショック症状が 90%、肺障害が 67%、血液障害が 100%、発熱（単独）が 100%、好酸球増多（単独）が 100%、出血性大腸炎が 100%、咽頭浮腫が 50% で、各過敏症状とも高い陽性率を示した。検討症例数が 50 例未満ではアレルギー起因薬同定試験の陽性率の信頼性に疑問があり、皮疹や肝障害以外の過敏症状では追加検討を行う必要がある。

しかし、即時型過敏反応の代表的症状であるショック症状 19 例に LMT が 90% という高い陽性率を示したのは意外に思うかも知れない。なぜなら、LMT は従来から遅延型過敏反応の成立を証明する試験と考えられてきたからである。この結果を裏付ける根拠として 2 点が挙げられる。⁷²⁾ その 1 つは、DLST や LMT で用いる単核球層に好塩基球が含まれている点である。事実、薬剤性ショック疑診患者

19 例の単核球層の好塩基球の細胞濃度 (Mean $\pm$ S.D.) は $5.4 \pm 2.3 \times 10^4$ cells/mL であり, HRT で用いられる濃度 (5×10^4 cells/mL) とほぼ同程度である. 薬剤性アナフィラキシーショックは, 肥満細胞 (血中では好塩基球) の脱顆粒 (ヒスタミンなど) による即発型反応とアラキドン酸カスケードによる遅発型反応が誘発されるが, 遅発反応では TNF- α を中心としたサイトカインも産生されて炎症反応が亢進される. LMT は薬物特異的 IgE 抗体結合の好塩基球から産生された白血球遊走因子, すなわちロイコトリエン (leukotriene; LT) B₄, 血小板活性化因子 (platelet activating factor; PAF) 及び TNF- α などを検出している可能性も考えられ, 遅延型過敏反応の成立だけを証明する試験とは言えないことになる. 他の 1 つは, 前述のように即時型過敏反応患者の Th 群には即時型過敏反応に関与する感作 Th2 と遅延型過敏反応に関与する感作 Th1 が混在しているという報告^{38,84)}に起因している. すなわち, 薬剤性即時型過敏反応では, 薬物感作 Th2 だけでなく, 薬物感作 Th1 も誘導されて IFN- γ を中心とした Th1 由来サイトカインやケモカインが産生されることになる.⁸⁵⁾したがって, Th1/Th2 theory は過敏症の発現時の最初にどの反応系の細胞集団 (例えば Th2) の分化の誘導を決めるもので, その後環境条件により他の細胞集団 (例えば Th1) の分化への誘導もあり得ると言うことである. 以上 2 点の根拠から, LMT-chamber は薬剤性即時型アレルギーの起因薬検出にも有効の可能性が高いと考えられる.

3-1-4. アレルギー起因薬同定試験の将来性

アレルギー起因薬同定試験として有効性が高い LMT も感作リンパ球産生のサイトカインやケモカインを検出するバイオアッセイであり, 薬物感作リンパ球の存在を証明するだけでそれ以上の発症メカニズムを解明することはできない. そのため, 薬物感作リンパ球から産生されるサイトカインやケモカインを同定あるいは測定できれば, アレルギー起因薬のケミカルアッセイも可能になり, 産生されたサイトカインやケモカインの解析により薬剤アレルギーの詳細な発症メカニズムの解明できる. そこで, 前述のように, 筆者らは薬剤アレルギーの発現に LMT-agarose 検出の LMAF と LMIF が高く関与しており, LMAF は chemokinesis 作用を示して炎症性サイトカインの IL-1 や TNF- α などであり,

LMIF は chemotaxis 作用を示して炎症性ケモカインの CXCL8 などであることを明らかにしてきた. しかし, 数種類のサイトカイン測定では, 全薬剤アレルギーの起因薬の検出率が LMT の検出レベルには達しないのが現状である.

近年, RT-PCR を用いてサイトカインの mRNA の発現を検出する方法が薬剤アレルギーの起因薬検出に応用され始めている.^{38,86)} 筆者らも最近アモキシシリン (amoxicillin; AMPC) 薬疹男児 2 例 (1 例目: AMPC 7 日服用後多型紅斑を発現して LMT-chamber で AMPC 陽性, 2 例目: AMPC 1 日服用後紅斑丘疹を発現して LMT-chamber で AMPC 陽性) に対して RT-PCR で解析を行った.⁸⁷⁾ その結果, 1 例目は IL-1, IL-2, IFN- γ 及び TNF- α の mRNA を検出し, IL-4, IL-6 及び IL-17 の mRNA は検出しなかった. また, 2 例目は IL-1, IL-6, IFN- γ 及び TNF- α の mRNA を検出し, IL-4, IL-6 及び IL-17 の mRNA は検出しなかった. すなわち, 2 症例とも類似の発症メカニズムで示しており, 抗原提示細胞により薬物抗原が提示され, 感作 Th1 が活性化し, IL-2 (2 例目は検出されていないが, 2 例目は患者リンパ球と薬剤抗原反応後 1 年以上経ってから RT-PCR を施行したため IL-2 の mRNA は消失してしまったと推測される) や IFN- γ を産生してマクロファージ (血中では単球) を活性化し, 活性化されたマクロファージ (エフェクター細胞) から炎症性サイトカインの IL-1, IL-6 (1 例目は検出されていない) 及び TNF- α が産生されて遅延型アレルギー (薬疹) が発症したものと推測される. AMPC 薬疹のすべてがこのような発症メカニズムで薬疹を発症するのかは, さらに検討が必要であるが, 症例毎に発症メカニズムまで検討できることは確かである. このように, RT-PCR による各種サイトカインの mRNA の検出は, アレルギー起因薬同定試験のケミカルアッセイを可能にするだけでなく, 薬剤アレルギーの発現機構の解明にも大きな成果を上げることができ, 将来この分野の研究の発展が期待される.

今後, アレルギー起因薬同定試験はバイオアッセイからケミカルアッセイへ, タンパクから核酸への検出法に向かい, 薬剤アレルギーの発現メカニズムも詳細に明らかになっていくと考える. しかし, 臨床アレルギー起因薬同定試験の偽陽性と偽陰性

(false negative)の問題は将来も残ると推論される。偽陽性の要因として①試験薬物自体の免疫活性、②生体の制御性 T 細胞の誘導、③生体の過敏症誘発物質（炎症性サイトカインなど）の感受性などが挙げられ、偽陰性の要因として①試験薬自体の免疫抑制、②試験薬と抗原（添加物、代謝産物など）の相違、③生体の阻止抗体の産生、④偽薬剤アレルギーなどが挙げられる。今後、これらの問題を 1 つ 1 つ解明及び解決していくことがアレルギー起因薬の検出の前進につながると考える。特に、偽薬剤アレルギー（薬物自体の薬理学的作用により過敏症状を呈する）は、薬剤過敏症の中に少なからず混在しており、臨床上決して無視できない。⁸⁸⁾ 偽薬剤アレルギーの存在を常に留意することもアレルギー起因薬の検出にとって重要であると考えられる。

利益相反 開示すべき利益相反はない。

REFERENCES

- 1) Muranaka M., Ueno H., Hirai K., Nakajima K., Ishida F., *Jpn. J. Allergol.*, **45**, 1219–1230 (1996).
- 2) Eisen H. N., Carsten M. E., Belman S., *J. Immunol.*, **73**, 296–308 (1954).
- 3) Muranaka M., Igarashi H., Koizumi K., Okumura H., Takeda K., Suzuki S., *J. Allergy Clin. Immunol.*, **54**, 329–338 (1974).
- 4) Muranaka M., Suzuki S., Koizumi K., Igarashi H., Okumura H., Takeda K., Tadokoro K., Horiuchi Y., *J. Allergy Clin. Immunol.*, **62**, 276–282 (1978).
- 5) Magnusson B., Kligman A. M., *J. Invest. Dermatol.*, **52**, 268–276 (1969).
- 6) Ikezawa Z., Kitamura K., Murakami J., Nagai R., Iwata M., *J. Dermatol.*, **9**, 13–21 (1982).
- 7) Ueno H., Nishikawa M., Suzuki S., Muranaka M., *Mol. Immunol.*, **21**, 37–42 (1984).
- 8) Levine B. B., *J. Exp. Med.*, **6**, 1131–1154 (1960).
- 9) Batchelor F. R., Dewdney J. M., Feinberg J. G., Weston R. D., *Lancet*, **1**, 1175–1177 (1967).
- 10) Dewdney J. M., Smith H., Wheeler A. W., *Immunology*, **21**, 517–525 (1971).
- 11) Satoh H., Gillette J. R., Davies H. W., Schullick R. D., Pohl L. R., *Mol. Pharmacol.*, **28**, 468–474 (1985).
- 12) Kenna J. G., Neuberger J., Williams R., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **242**, 733–740 (1987).
- 13) Bird G. L., Williams R., *J. Hepatol.*, **9**, 366–373 (1989).
- 14) Kenna J. G., Satoh H., Christ D. D., Pohl L. R., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **245**, 1103–1109 (1988).
- 15) Kitteringham N. R., Kenna J. G., Park B. K., *Br. Clin. Pharmacol.*, **40**, 379–386 (1995).
- 16) De Groot H., Noll T., *Hepatology*, **3**, 601–606 (1983).
- 17) Coombs R. R. A., Gell P. G. H., “Clinical Aspects of Immunology,” ed. by Gell P. G. H., Coombs R. R. A., Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1963, pp. 317–337.
- 18) Kishihara K., “Yakugaku ryouikino koame-negigaku,” ed. by Imai Y., Hirokawa Publishing Company, Tokyo, 2013, pp. 97–118.
- 19) Shiobara T., *Allergol. Immunol.*, **5**, 983–989 (1998).
- 20) Romagnoli R., Spinass G. A., Sinigaglia F., *J. Clin. Invest.*, **89**, 254–258 (1992).
- 21) Sinigaglia F., *J. Invest. Dermatol.*, **102**, 398–401 (1994).
- 22) Hertl M., Geisel J., Boecker C., Merk H. F., *Br. J. Dermatol.*, **128**, 619–626 (1993).
- 23) Pichler W. J., *Curr. Allergy Asthma Rep.*, **3**, 1–3 (2003).
- 24) Pichler W. J., *Toxicology*, **209**, 95–100 (2005).
- 25) Pichler W. J., Beeler A., Keller M., Lerch M., Posadas S., Schmid D., Spanou Z., Zawodniak A., Gerber B., *Allergol. Int.*, **55**, 17–25 (2006).
- 26) Mosmann T. R., Coffman R. L., *Annu. Rev. Immunol.*, **7**, 145–173 (1989).
- 27) Shevach E. M., *Nat. Rev. Immunol.*, **2**, 389–400 (2002).
- 28) Mangan P. R., Harrington L. E., O’Quinn D. B., Helms W. S., Bullard D. C., Elson C. O., Hatton R. D., Wahl S. M., Schoeb T. R., Weaver C. T., *Nature*, **441**, 231–234 (2006).
- 29) Pfeiffer C., Murray J., Madri J., Bottomly K., *Immunol. Rev.*, **123**, 65–84 (1991).
- 30) Thompson C. B., *Cell*, **81**, 979–982 (1995).
- 31) Hamano T., *Jpn. J. Clin. Med.*, **55**, 180–182 (1997).
- 32) Bettelli E., Carrier Y., Gao W., Korn T.,

- Strom T. B., Oukka M., Weiner H. L., Kuchroo V. K., *Nature*, **441**, 235–238 (2006).
- 33) Sakaguchi S., *Annu. Rev. Immunol.*, **22**, 531–562 (2004).
- 34) Schanndén L., Ferster A., Mascart-Lemone F., Crusiaux A., Gérard C., Marchant A., Lybin M., Velu T., Sariban E., Goldman M., *Eur. J. Immunol.*, **23**, 56–60 (1993).
- 35) Hosoi S., Sirakawa T., Cheng L., Miyoshi A., *Jpn. J. Allergol.*, **47**, 984 (1998).
- 36) Tsutsumi H., Chiba T., Kumatani T., Furukawa H., Yamanaka T., Wataya Y., Sugawara Y., Kurimoto F., Kojima H., Saito A., Yano S., *Jpn. J. Allergol.*, **46**, 842 (1997).
- 37) Naruuchi H., *Jpn. J. Allergol.*, **46**, 713 (1997).
- 38) Gaspard I., Guinépain M. T., Laurent J., Bachot N., Kerdine S., Bertoglio J., Pallardy M., Lebrech H., *J. Clin. Immunol.*, **20**, 107–116 (2000).
- 39) Uno K., *Jpn. J. Allergol.*, **39**, 1605–1611 (1990).
- 40) Uno K., “Drug Hypersensitivity,” Nanzando Co., Ltd., Tokyo, 2016, pp. 45–53.
- 41) Abe M., Uno K., *Jpn. J. Allergol.*, **47**, 1264–1272 (1998).
- 42) Uno K., *Jpn. J. Allergol.*, **42**, 656–664 (1993).
- 43) Sano N., Uno K., *Jpn. J. Allergol.*, **47**, 1198–1204 (1998).
- 44) Sano N., Uno K., *Allergology & Immunology*, **5**, 991–998 (1998).
- 45) Uno K., *Japan Medical Journal*, **403**, 16–21 (2001).
- 46) Uno K., Abe M., *Jpn. J. Allergol.*, **51**, 933 (2002).
- 47) Uno K., *Jpn. J. Chemother.*, **52**, 163–168 (2004).
- 48) Paquet P., Paquet F., Al Saleh W., Reper P., Vanderkelen A., Piérard G. E., *Am. J. Dermatopathol.*, **22**, 413–417 (2000).
- 49) Leyva L., Torres M. J., Posadas S., Blanca M., Besso G., O’Valle F., del Moral R. G., Santamaria L. F., Juárez C., *J. Allergy Clin. Immunol.*, **105**, 157–165 (2000).
- 50) Pirmohamed M., Lin K., Chadwick D., Park B. K., *Neurology*, **56**, 890–896 (2001).
- 51) Uno K., Hattori H., Yamaguchi F., *Jpn. J. Allergol.*, **49**, 993 (2000).
- 52) Abe M., Yagi M., Wakasugi Y., Hattori H., Uno K., *Allergol. Int.*, **60**, 497–504 (2011).
- 53) Davatellis G., Wolpe S. D., Sherry B., Dayer J. M., Chicheportiche R., Cerami A., *Science*, **243**, 1066–1068 (1989).
- 54) Rieder M. J., Mask M., Bird I. A., *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **70**, 719–722 (1992).
- 55) Neuman M. G., Shear N. H., Malkiewicz I. M., Taeri M., Shapiro L. E., Krivoy N., Haber J., Gomez M., Fish J., Cartotto R., Cohen L., *Transl. Res.*, **149**, 243–253 (2007).
- 56) Cederbrant K., Marcusson-StÅhl M., Hultman P., *Clin. Exp. Allergy*, **30**, 1450–1459 (2000).
- 57) Daniel P. T., Holzschuh J., Berg P. A., *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **34**, 241–247 (1988).
- 58) Yawalkar N., Egli F., Hari Y., Nievergelt H., Braathen L. R., Pichler W. J., *Clin. Exp. Allergy*, **30**, 847–855 (2000).
- 59) Fernandez T. D., Mayorga C., Torres M. J., Cornejo-Garcia J. A., López S., Chaves P., Rondon C., Blanca M., *Allergy*, **63**, 712–719 (2008).
- 60) Tapia B., Morel E., Martín-Díaz M. A., Díaz R., Alves-Ferreira J., Rubio P., Padial A., Bellón T., *Clin. Exp. Allergy*, **37**, 704–713 (2007).
- 61) Yawalkar N., Shrikhande M., Hari Y., Nievergelt H., Braathen L. R., Pichler W. J., *J. Allergy Clin. Immunol.*, **106**, 1171–1176 (2000).
- 62) Halevy S., Cohen A., Livni E., *Clin. Exp. Dermatol.*, **25**, 652–654 (2000).
- 63) Yawalkar N., *Toxicology*, **209**, 131–134 (2005).
- 64) Sainte-Laudy J., Cado S., *Allerg. Immunol. (Paris)*, **30**, 209–211 (1998).
- 65) Onji M., Masumoto T., Ohta Y., *Jpn. J. Allergol.*, **41**, 621–624 (1992).
- 66) Kawada N., Kuroki T., *Allergology & Immunology*, **5**, 1001–1006 (1998).
- 67) Spanou Z., Keller M., Britschgi M., Yawalkar N., Fehr T., Neuweiler J., Gugger M., Mohaupt M., Pichler W. J., *J. Am. Soc. Nephrol.*, **17**, 2919–2927 (2006).
- 68) Okada M., Yoshioka K., Isokawa S., Takemura T., Kinoshita T., Akano N., Maki S., *Jpn. J. Nephrol.*, **34**, 1195–1199 (1992).
- 69) Tokura Y., *Jpn. J. Clin. Immunol.*, **35**, 388–392 (2012).
- 70) deShazo R. D., Kemp S. F., *JAMA*, **10**, 1895–

- 1906 (1997).
- 71) Uno K., "Drug Hypersensitivity," Nanzando Co., Ltd., Tokyo, 2016, pp. 15–17.
- 72) Uno K., *Jpn. J. Pharm. Health Care Sci.*, **36**, 613–634 (2010).
- 73) Uno K., "Drug Hypersensitivity," Nanzando Co., Ltd., Tokyo, 2016, pp. 17–31.
- 74) Weltzien H. U., Padovan E., *J. Invest. Dermatol.*, **110**, 203–206 (1998).
- 75) Romano A., Guéant-Rodriguez R. M., Viola M., Pettinato R., Guéant J. L., *Ann. Intern. Med.*, **141**, 16–22 (2004).
- 76) DeLeo V. A., Suarez S. M., Maso M. J., *Arch. Dermatol.*, **128**, 1513–1518 (1992).
- 77) Mochitomi Y., Fukumaru S., Sakamoto R., Terasaki K., Kanekura T., Kanzaki T., *Environ. Dermatol.*, **11**, 38–46 (2004).
- 78) Uno K., Yamasaku F., *Jpn. J. Chemother.*, **34**, 522–529 (1986).
- 79) Uno K., Yamasaku F., *J. Antimicrob. Chemother.*, **24**, 241–250 (1989).
- 80) Nagakura N., Shimizu T., Yanagihara Y., Uno K., *Jpn. J. Chemother.*, **38**, 910–917 (1990).
- 81) Rudolf M., Milavec-Puretić V., Lipozencić J., Malenica B., *Acta Dermatovenerol. Croat.*, **13**, 93–96 (2005).
- 82) Saito M., Yagi M., Uno K., Takanaka K., *Biol. Pharm. Bull.*, **31**, 299–304 (2008).
- 83) Saito M., Yagi M., Uno K., *Jpn. J. Pharm. Health Care Sci.*, **35**, 103–112 (2009).
- 84) Laan M. P., Baert M. R., Vredendaal A. E., Savelkoul H. F., *Eur. Cytokine Netw.*, **9**, 75–84 (1998).
- 85) Kubota Y., Koga T., Nakayama J., *Eur. J. Dermatol.*, **9**, 559–560 (1999).
- 86) Fernandez T. D., Mayorga C., Torres M. J., Cornejo-Garcia J. A., López S., Chaves P., Rondon C., Blanca M., *Allergy*, **63**, 712–719 (2008).
- 87) Tabuchi N., Uno K., Fukunaga M., Yagi M., Oishi M., *Jpn. J. Allergol.*, **59**, 282 (2010).
- 88) Uno K., "Drug Hypersensitivity," Nanzando Co., Ltd., Tokyo, 2016, pp. 57–68.