

## 博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 長谷川 瑛人  
学位 博士 (医学)  
学位記番号 新大院博 (医) 第 959 号  
学位授与の日付 令和2年9月23日  
学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当  
博士論文名 RIP3 as a diagnostic and severity marker for Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis  
(Stevens-Johnson 症候群、中毒性表皮壊死症における、血清 RIP3 の診断、重症度マーカーとしての有用性の検討)

論文審査委員 主査 教授 近藤 英作  
副査 教授 神吉 智丈  
副査 准教授 瀧澤 淳

### 博士論文の要旨

#### 背景：

スティーブンス・ジョンソン症候群 (Stevens-Johnson syndrome: SJS) / 中毒性表皮壊死症 (toxic epidermal necrolysis: TEN) は薬剤やウイルス感染などが原因で、発熱や広範囲の紅斑・びらん、粘膜疹などをきたす疾患である。これらは高い致死率を有する重篤な疾患である。病初期には、播種状紅斑丘疹型薬疹 (maculopapular exanthema: MPE) や多形紅斑 (erythema multiforme: EM) などの通常型の薬疹との鑑別が問題となる。そのため、早期に正確な診断をするための検査法が必要とされてきた。

SJS/TEN の皮疹部では、表皮細胞が細胞死を起こすことが知られている。この細胞死はアポトーシスによると考えられていたが、申請者らは以前、ネクロプトーシスという別のタイプのプログラムされた細胞死も関与していることを解明した。細胞内で receptor-interacting protein kinase 3 (RIP3) が Mixed lineage kinase domain-like (MLKL) をリン酸化することでネクロプトーシスが起る。ネクロプトーシスを起こした細胞は、RIP3 を細胞外に放出する。今回申請者らは、この RIP3 の細胞外放出に着目し、重症薬疹の診断、重症度の判定に有用であるか検討した。

#### 方法：

ヒト表皮細胞株である HaCaT 細胞に TNF- $\alpha$ +Z-VAD+Smac-mimetics (T/S/Z) によるネクロプトーシス誘導刺激を加えた。T/S/Z 刺激を加えた HaCaT 細胞の培養上清中の RIP3 濃度を enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法により解析した。

SJS、EM、MPE 患者の皮疹部でネクロプトーシスが起きていることを確認するために、紅斑部より採取した凍結切片を用いてリン酸化 MLKL、RIP3 の蛍光免疫染色を行った。

SJS/TEN (n=22)、重症型の EM である EM major (n=19)、軽症型の EM である EM minor (n=5)、MPE (n=6) 患者の急性期血清 RIP3 濃度を、ELISA 法により解析した。コントロールとして重症薬疹の別の病型である、薬剤過敏症症候群 (drug-induced hypersensitivity syndrome: DIHS) (n=4)、健常人 (n=5) を含めた。病

型やびらん面積、病理所見、検査所見など、血清 RIP3 の値の相関を解析した。

#### 結果：

まず、ネクロプトーシスを起こした表皮細胞が細胞外へ RIP3 を放出するかを in vitro において解析した。T/S/Z 刺激を 48 時間加えた HaCaT 細胞の培養上清中の RIP3 濃度は有意に上昇していた。このことは、ネクロプトーシスを起こした表皮細胞が細胞外へ RIP3 を放出することを示唆する。

次に、SJS/TEN の皮疹部で実際にネクロプトーシスが起きているかを確認した。SJS/TEN の皮疹部では RIP3 やリン酸化 MLKL が陽性となる表皮細胞が多くみられ、SJS/TEN の皮疹部でネクロプトーシスが起きていることを確認した。

薬疹の病型ごとに急性期の血清 RIP3 濃度を比較したところ、SJS/TEN 群で有意に高値 ( $799.2 \pm 732.6$  pg/mL) だった (EM major:  $178.3 \pm 135.2$  pg/mL,  $P < .001$ ; EM minor:  $91.5 \pm 57.6$  pg/mL,  $P < .001$ ; MPE:  $65.8 \pm 76.7$  pg/mL,  $P < .001$ ; DIHS/ DRESS:  $25.3 \pm 48.6$  pg/mL,  $P = .002$ ; healthy controls:  $13.9 \pm 31.1$  pg/mL,  $P < .001$ )。血清 RIP3 濃度は皮膚のびらん面積や病理組織学的な表皮細胞壊死の程度と正の相関を示した。また、血清 RIP3 濃度は発熱、粘膜症状、臓器障害の程度、CRP 値とも相関を示した。

#### 考察：

今回申請者らは、血清 RIP3 が SJS/TEN の診断、重症度マーカーとして有用かどうか解析した。ネクロプトーシスは急性障害や全身性炎症反応症候群などの疾患に関与することが知られており、実際 RIP3 濃度がこれらの疾患の予後と相関することが報告されている。SJS/TEN においても、血清 RIP3 が薬疹の他の病型よりも高値であることがわかった。臓器障害や粘膜症状の程度は SJS/TEN の予後と一致することが知られているが、血清 RIP3 はこれらのパラメータと正の相関を示した。これらの結果から、血清 RIP3 が SJS/TEN の診断、重症度マーカーとして有用である可能性があることが分かった。今後も更なる症例の蓄積が必要である。

#### 審査結果の要旨

SJS/TEN において発症・進展の分子機序の解析から発表者らは、RIP3 の血中濃度（放出）が特異的所見であることを見出し、重症化を防ぐための早期診断マーカーとしてのユーティリティを視野に研究を進めている旨のプレゼンがあった。この報告を受け、具体的な臨床応用への有用性とさらに詳細な分子機序を含めた知見に関する質疑応答を行った。発表者はどの質問に対しても論理的な受け答えができ、審査員の間では、良好な研究成果の発表と位置付けられた。