



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	特発性血小板減少性紫斑病に対するセファランチン大量療法の試み : CD29及びCD45RAの病態分類への応用
Author(s)	森本, 美恵; 田中, 英二; 松村, 悠子 他
Citation	北海道大学医療技術短期大学部紀要, 8, 121-127
Issue Date	1995-12
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/37592
Type	departmental bulletin paper
File Information	8_121-128.pdf



原 著

特発性血小板減少性紫斑病に対するセファランチン 大量療法の試み

— CD29及び CD45RA の病態分類への応用 —

森本 美恵・田中 英二・松村 悠子*・加藤 圭子*・佐藤 洋子*
武蔵 学**・城下 紀幸**・工藤 俊彦**

The Effect of High-Dose Cepharanthin® for the Treatment of Idiopathic Thrombocytopenic Purpura

Mie Morimoto, Eiji Tanaka, Yuko Matsumura*, Keiko Kato*,
Yoko Sato*, Manabu Musashi**, Noriyuki Shiroshita**
and Toshihiko Kudo**

Abstract

The effect of high-dose Cepharanthin® therapy on 7 patients with idiopathic thrombocytopenic purpura was examined. The results were as follows.

- ① No side effect requiring cessation of treatment with the Cepharanthin was encountered.
- ② The level of platelet count and QOL of the patients were improved by the Cepharanthin therapy.
- ③ The number of the CD4⁺CD45RA⁺ T cell subset measured by using monoclonal antibodies and a two-color flow cytometry decreased parallel to severity of the disease.
- ④ When the mononuclear cells from some patients cultured with Cepharanthin in vitro, the level of IL-6 of culture medium was increased.

These findings suggested that the disturbance of thrombopoiesis in ITP is not only induced by autoimmune mechanism but also induced by regulating mechanism of some cytokines.

北海道大学医療技術短期大学部衛生技術学科

* 北海道大学医療技術短期大学部看護学科

** 北海道大学医学部内科学第三講座

Department of Laboratory Technology, College of Medical Technology, Hokkaido University

* Department of Nursing, College of Medical Technology, Hokkaido University

** 3rd Department of Internal Medicine, School of Medicine, Hokkaido University

【要 旨】

慢性特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) に対するセファランチン (以下セファ) の大量療法を試み、治癒は望めないものの、長期投与にたいして副作用が極めて少なく、一定の QOL を満たしながら生活可能であることなどの臨床評価を得た。さらに CD29 及び CD45RA についての two-color flow cytometry による解析が、セファの適応基準や病態分類にも有用であることが分かった。また、未治療 ITP 患者の末梢血単核球をセファ添加培養し、その上清中に血小板産生との関係が注目されている Interleukin-6 (以下 IL-6) が増加した例が認められた。これらから、ITP における血小板減少は、自己免疫機序によるもののほか、IL-6 を介しての血小板増加機序に異常のあることが示唆された。

キーワード：特発性血小板減少性紫斑病、セファランチン、CD29、CD45RA、IL-6、two-color flow cytometry

I はじめに

厚生省特定疾患 (いわゆる難病) である特発性血小板減少性紫斑病 (Idiopathic Thrombocytopenic Purpura : ITP) は、血小板減少に基づく出血性の疾患である。その治療には現在、副腎皮質ステロイド剤 (ス剤) が第一選択で広く用いられており、ス剤無効の場合、 γ -グロブリン大量療法、Danazol 療法、Vincristine 療法などの薬物療法及び摘脾が行われている。しかしこれらの治療法は、効果が一時的であったり、肝臓障害や発癌性の心配もあり、さらに極めて高価であることなどから、どれも理想的な治療法とは言えないのが現状である。特に、ス剤の長期投与では、出現する副作用の為に治療を中断しなければならない症例がしばしば経験される。

1989年、共同研究者の田中らが ITP の治療に

初めてセファの大量療法を開発して報告した¹⁾。その後諸施設から追試報告が行われ一定の臨床評価が得られているが^{2)~5)}、セファの投与量、投与期間、適応基準等に統一性が無く、未だ確立された治療法とはなっていない。そこで今回、我々は、セファ大量療法の適応基準を探るために、重症例を除く成人慢性 ITP 症例を対象として、血小板数、CD4/CD8比、CD29、CD45RA などの種々のパラメーターに及ぼすセファ投与の影響を検討した。さらにセファの作用機序の一部を明らかにすることを目的として、未治療慢性 ITP 症例の末梢単核球の IL-6 産生に及ぼすセファの影響を調べた。

II 対象並びに方法

31歳から64歳までの男性1例、女性6例、合計7例の慢性 ITP を対象とした。IL-6の実験は未治療 ITP 患者4例、健康人2例を対象とした。ITP の診断は厚生省特発性造血障害調査研究班の改定診断基準に従った⁶⁾。

主な検査項目は、血小板数、骨髓巨核球数及びその成熟度、血小板膜に結合した IgG (Platelet associated IgG : PA-IgG)、CD4/CD8比、FITC 標識 CD4 及び PE 標識 CD29 並びに CD45RA を用いて Two-color flow cytometry により CD4⁺CD29⁺ 及び CD4⁺CD45RA⁺ の T cell subset について検討した。Subset の検査方法は、全血100 μ l に同量の PBS と 10 μ l のモノクローナル抗体を加え反応させ、白血球1万個をカウントした。Flow cytometer は Coulter 社の Profile II を、抗体は Coulter 社の T4、T8、2H4 (CD29)、4B4 (CD45RA) を使用した。なお、リンパ球 subset の基準値は30歳から59歳までの健康な女性89名についての測定値を参考基準値とした。

また未治療 ITP 患者及び健康人の単核球にセファを添加、4日間培養後、上清の IL-6 を ELISA 法にて測定した。

病態分類はセファ投与後2ヵ月から3ヵ月以

表-1 全症例のまとめ

症 例	PA-1 g	4/8	29/45	#45RA	CD45/4	投与後のP1	病 態
1 M. S. 51F	25.1	1.23	0.90	615	0.61	7~10	安定型
2 M. Y. 39M	34.2	1.21	1.58	329	0.42	7~9	安定型
3 K. H. 34F	86.4	1.31	1.24	354	0.57	6~9.9	安定型
4 M. N. 31F	61.2	1.27	1.30	321	0.52	7~9	安定型
5 Y. W. 51F	1440	1.19	4.29	172	0.13	3~11	動揺型
6 K. D. 49F	118	1.12	5.60	93	0.10	1~15	激動型
7 S. S. 64F	37.8	1.19	0.66	342	0.59	7~9	安定型
Mean	9~25	1.74	1.19	444	0.47		
±S.D.		0.6	0.5	196	0.11		

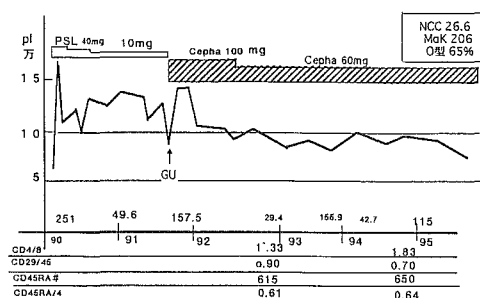
降の血小板数の変動で判定し、変動幅が5万/ μ l以内のものを安定型、5.1万/ μ lから9.9万/ μ lのものを動揺型、10万/ μ l以上の変動を示すものを激動型とした。

Ⅲ 成 績

全症例の主要検査値および病態を表1にまとめた。各症例の経過を示す。

症例 1 M. S. 51歳 女性

'90年7月、血小板数5.7万/ μ lと紫斑で発症した。PA-IgGが251ng/ 10^7 cellsと高かったため、ス剤40mgの単独投与を開始した。間もなく血小板数12万/ μ l前後を示し、紫斑も消退した。'91年7月心窩部痛で胃潰瘍と診断され、ス剤を中止しセファ100mgの単独投与とした。PA-IgGは多少の変動をみるが上昇せず、CD29/CD45RA比は0.9、CD45RA実数も615と正常、



CASE 1 M. S. 51 Yrs (F)

CD45RA/CD4比は0.61と問題なく、血小板数も7.5万/ μ lから10万/ μ lと安定している。

症例 2 M. Y. 39歳 男性

'89年8月、血小板数7.6万/ μ lで発症した。PA-IgGは34.2ng/ 10^7 cellsとやや高目だったが、無治療で経過観察しているうちに徐々に増加し、250ng/ 10^7 cellsを越えた。CD4/CD8比の変動は少ないが、CD29/CD45RA比が1.83とやや高くなったので、'92年2月よりセファ50mgの単独投与を開始した。その後PA-IgGは低下傾向を示し、更にCD45RAの実数も200以上に回復し、CD45RA/CD4比は常に0.3~0.5の正常域で変動した。血小板数も7万/ μ lから9万/ μ lで非常に安定している。

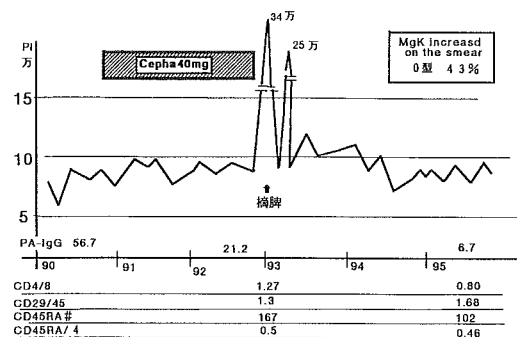
症例 3 K. H. 34歳 女性

16歳時、紫斑と性器出血で発症した。ス剤で軽快し小康を得ていたが、'80年出血傾向が再燃したため受診した。血小板数3.1万/ μ l、骨髓巨核球数は188と増加、その約74%が未熟型であった。ス剤とセファ60mgの併用を開始した。ス剤は2カ月で漸減中止したが、血小板数は10万/ μ lから15万/ μ lを維持していた。生活が不規則で、服薬もしないことが多く血小板数は3万/ μ lから9万/ μ lを変動していた。その後も服薬と中断を繰り返し現在は血小板数

は5万/ μl から9万/ μl を維持している。
PA-IgGは100ng/ 10^7cells 以下で、CD45RA 実数は250以上あるが、生活態度が問題の症例のように思われる。

症例 4 M. N. 31歳 女性

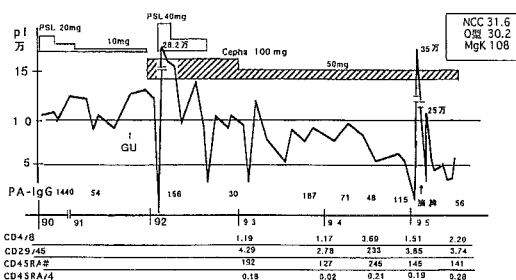
'87年、下肢の点状出血で発症した。無治療のまま経過観察していたが、血小板数が6万/ μl から8万/ μl を越えないため精査のため、'90年11月北大病院を紹介された。血小板数6万/ μl 、PA-IgG56.7ng/ 10^7cells 、骨髓巨核球数増加、塗抹標本でも約40個が認められ、43%が未熟型であった。CD4/CD8比は1.27、CD29/CD45RA 比は1.3と低値であり、CD45RA 実数は321で正常範囲であった。'90年11月から約2年間セファ40mgを投与したところPA-IgGは21.2ng/ 10^7cells と下降し、血小板数は7万/ μl から9万/ μl で出血傾向も消失したが、年齢が若く、将来長く酪農業に従事しなければならない事から本人が強く希望したので、'93年2月摘脾を施行した。その後は血小板数は一時的に34万/ μl に達したが術後5カ月頃からは7万/ μl から11万/ μl 前後を安定的に維持している。本例は摘脾前よりCD45RA 実数が167と減少しており、術後も102と低下傾向があるので、慎重な経過観察が必要な症例と思われる。



CASE 4 M. N. 31 Yrs (F)

症例 5 Y. W. 51歳 女性

'76年6月、全身の紫斑と性器出血で発症した。血小板数は2.6万/ μl であった。ス剤で軽快したが、'89年再燃したため再びス剤を使用した。しかし血小板数は10万/ μl 前後の増加に止まり、Moon face, Acne, Obesity, 高脂血症などの副作用が増強したため、'90年8月北大病院を紹介された。'91年9月吐血があり胃潰瘍と診断され、直ちにス剤を中止し、セファ100mgの単独投与に切り替えた。PA-IgGは初診時1440ng/ 10^7cells と高値を示したが経過と共に低下した。CD4/CD8比は1.19と低下しており、CD29/CD45RA 比は4.29と異常高値、その後も3~4台で推移した。血小板数は3万/ μl から11万/ μl を変動した。また'92年には両側大腿骨骨頭壊死の診断を受けている。ス剤離脱には成功した症例であるが、CD45RA 実数値が常に減少した状態であったので、'95年3月摘脾を施行した。術後一時的に血小板数が35万/ μl に達したが、急速に下降して現在3万/ μl から11万/ μl を推移している。各パラメータも改善しないのでセファ50mgを投与中の症例である。

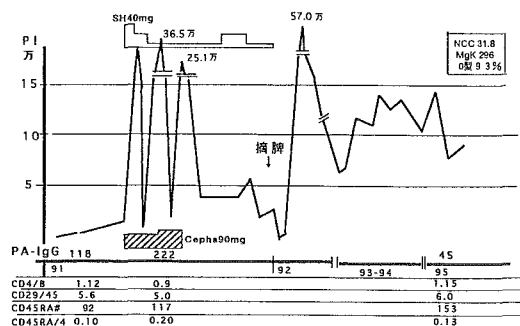


CASE 5 Y. W. 51 Yrs (F)

症例 6 K. D. 49歳 女性

'81年、全身の紫斑で発症した。1年間ス剤で加療したが、一進一退のまま自己判断で治療を中止した。'91年7月、紫斑再燃したため北大病院を紹介された。血小板数が1.2万/ μl と著減

していたため、直ちにス剤とセファの併用を開始したが、血小板数は3万/ μl から36万/ μl の間を乱高下したためセファ無効と判断し中止した。CD4/CD8比は正常値を示したが、CD29/CD45RA比が5.0から6.0と異常高値、CD45RAの実数も常に150以下と激減していたので、'92年2月摘脾を施行した。その後は血小板数は一時的に57万/ μl に達したが、現在まで7万/ μl から13万/ μl を維持している。



CASE 6 K. D. 49 Yrs (F)

症例 7 S.S. 64才 女性

'85年、紫斑で発症した。血小板数3万/ μl 、PA-IgG87.8ng/ 10^7 cells、CD4/CD8比1.29、CD29/CD45RA比0.66、CD45RA/CD4比0.59。ス剤で血小板数は15万/ μl 程度に軽快していたが、維持量の10mgでは6万/ μl から8万/ μl 程度なので、'94年7月からセファ60mgを併用しつつス剤の減量あるいは離脱を試みた。しかしス剤の減量に患者が不安を抱くため現在も併用を継続している症例である。

次に、未治療ITP患者の末梢単核球にIL-6産生に及ぼすセファの影響をみた。フィコール・コンレイ比重遠心法で単核球を採取し、 10^6 個の単核球を10%FCSとセファを含む培養液に浮遊させ、4日間培養後、遠心して上清中のIL-6濃度をELISA法で測定した。4症例のうち2例で、0.5~5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のセファはIL-6産生を1.5

~1.8倍増加させたが、他の2例ではIL-6の産生に何ら影響しなかった(表2)。2例の健常人では、0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のセファはIL-6産生を抑制する傾向にあり、5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ではほとんど影響しなかった。

表-2 Effects of Cepharanthin on IL-6 Production of Peripheral Blood Mononuclear Cells

Cases		% of IL-6 production Cepharanthin ($\mu\text{g}/\text{ml}$)			
		0	0.05	0.5	5
Healthy Control	1)	100	28.3	37.0	85.6
	2)	100	52.9	67.2	101.3
Patients with ITP	1)	100	108.0	75.2	6.0
	2)	100	71.7	101.9	1.8
	3)	100	82.7	89.7	151.0
	4)	100	153.0	160.9	187.0

$10^6/\text{ml}$ of PB mononuclear cells were incubated with cepharanthin in α -medium containing 10% FCS for 4 days. The supernatants were harvested and assayed for IL-6 concentration.

IV 考 察

我々は成人の慢性ITPに対するセファ大量療法の経験から、CD29/CD45RA比が2以下で、CD45RA/CD4比が0.8以上、CD45RA実数が200以上の症例にセファの適応があるような印象を受けた。これに対しCD29/CD45RA比が3以上の症例は、CD45RA実数も200以下のことが多く、セファの適応はなく摘脾も期待した程ではなかった。摘脾後の完全寛解率は50%であった。

セファはタマサキツツラフジの根茎から抽出された植物性アルカロイドでCepharanthineなど6種類のBiscoclaurine型アルカロイドから構成された製剤で、日常用量は6mgから10mgである。適応は、放射線治療後の白血球減少症や強力なマムシ毒中和作用からマムシ咬傷治療剤として広く使用されており、そのほか抗癌剤と併用して多彩な臨床効果が報告されている⁷⁾。

このような幅広い臨床応用は生薬特有のものであり、副作用が皆無に等しいことが最大の理由であると考えられる。また近年、細胞膜安定化作用⁸⁾、免疫機能増強作用⁹⁾、血小板活性化抑制作用¹⁰⁾などその作用機序も少しずつ解明されてきている。ITPの発症機転には自己免疫が関係するとの見解が大勢を占めており、免疫調節性T細胞(Immunoregulatory T cell: IRT)の異常が推定されている¹¹⁾。代表的な自己免疫性疾患である全身性エリテマトーデスではIRTと考えられているCD4⁺CD45RA⁺細胞(naive/suppressor inducer T cell)の減少が判明している¹²⁾。セファのITPに有効な機序は定かではなく、今回は少数例なので断言出来ないが、CD4⁺CD45RA⁺のSuppressor inducer T細胞の動態が病態及び治療効果に関係しているように思えた。

またITPの発症は、自己免疫機序のみによるものではなく、ある種のサイトカインの関与が想定されていたが、近年IL-6が骨髓巨核球の分化・成熟に必須であり、血小板産生との関係が分かってきた¹³⁾。今回は4例の未治療ITPの末梢血単核球培養にセファを添加したところ、2例の培養上清中にIL-6の増加を見たことから前述の観点を支持するような感触を得た。IL-6はB cellの抗体産生細胞への最終分化を誘導する物質として発見され、抗体産生系の活性化、マクロファージの活性化並びに血小板貪食の程度を反映している可能性が報告されている¹⁴⁾。

セファ単独投与では現在のところITPの治療は望めないが、セファ大量療法により血小板数が7万/ μ lから8万/ μ lに維持される症例も多く、また、副作用が極めて少ないことが認められたことは、セファ大量療法がITP患者のQOLを向上させるのに有用であることを示している。今後症例を集積して検討を重ねていきたい。

V 結 語

- 1 セファ大量療法の適応基準はCD29/CD45

RA比が2以下で、CD45RA実数が200以上、CD45RA/CD4比が0.8以上であった。

- 2 Tリンパ球のsubsetを測定することによりITPの病態の分類ができた。
- 3 セファ大量長期投与による副作用は経験しなかった。
- 4 ITPの血小板減少機序には免疫異常によるものの他に、サイトカインを介した機序の存在が示唆された。

VI 参 考 文 献

- 1) 田中英二他：血液疾患に対するセファランチン大量投与の経験 アルカロイド研究会報告集，15：54-56，1989
- 2) 中山志郎他：特発性血小板減少性紫斑病に対するセファランチンの臨床的効果 臨床血液，33：408-409，1992
- 3) 川野英一郎他：特発性血小板減少性紫斑病に対するセファランチン投与の試み 臨床血液，34：1423，1993
- 4) 野村昌作他：特発性血小板減少性紫斑病に対するセファランチンの治療効果と作用機序 Ther Res 15：1591-1597，1994
- 5) 小林正之他：難治性特発性血小板減少性紫斑病に対するセファランチン大量療法の検討 診断と治療，83：589-595，1995
- 6) 厚生省特定疾患特発性造血障害調査研究班昭和63年度研究業績報告集，38-60，1989
- 7) 川越裕也他：シンポジウム「癌治療とセファランチン；その基礎と臨床」アルカロイド研究会報告集，20：45-68，1994
- 8) 宮原正信他：生体膜に対するビスコクラウリン型アルカロイドの作用機序に関する研究 岡山医会誌，89：746-756，1977
- 9) 新上哲生他：Cepharanthinのimmunomodulatorとしての作用機序 臨床免疫，9：49-56，1983
- 10) Watanabe S et al.：The inhibition of platelet aggregation by biscoclaurine alkaloids. Cell Struct. Funct. 6：257-263，1981
- 11) Karpatkin S：Autoimmune Thrombocytopenic purpura. Blood 56：329，1980
- 12) Morimoto C et al.：A defect of immuno-

- regulatory T cell subsets in systemic lupus erythematosus patients demonstrated with anti-2H4 antibody. J Clin Invest 76 : 762-768, 1987
- 13) Geisler K et al. : In vivo synergism of recombinant human IL-3 and recombinant human IL-6 on thrombopoiesis in primates. Blood 79 : 1155-1160, 1992
- 14) 和田英夫他 : 特発性血小板減少性紫斑病における血中インターロイキン 6 値の増加 臨床血液, 332 : 773-775, 1991