

ネコの骨髄移植に関する検討

誌名	日本獣医畜産大学研究報告 = The bulletin of the Nippon Veterinary and Zootechnical College
ISSN	03738361
著者	増永, 朗 梶原, 正 谷口, 明子
巻/号	35号
掲載ページ	p. 92-96
発行年月	1986年12月

ネコの骨髄移植に関する検討：

コンディショニングとしての Cyclophosphamide の大量投与の影響

増永 朗・梶原 正・谷口 明子
原 康・江島博康・黒川和雄

日本獣医畜産大学 第1外科学教室

要約 ネコの骨髄移植前のコンディショニング法としての Cyclophosphamide 大量投与方法と、それにとまなり全身状態、とくに骨髄に与える影響について検討した。

Cyclophosphamide 40 mg/kg 1回および2回投与方法では、末梢白血球数の減少はみられるが、骨髄の抑制は弱く、また、100 mg/kg 1回投与方法では、痙攣等の副作用が強く、いずれの投与方法も移植前のコンディショニングとしては不適当と思われた。60 mg/kg 2回投与方法は、副作用はみられるが、骨髄抑制は十分認められ、コンディショニングとしては、この方法が適当であった。

キーワード：ネコ、骨髄移植、Cyclophosphamide.

日獣畜大研報, 35, 92~96, 1986.

血液細胞の主体は、骨髄にその源を発生成熟したのち、末梢血液循環に出てくる。しかし、その骨髄に何らかの異常を来すと、正常な成熟過程を営めなくなり、貧血や白血球減少を来す。その代表的な病態として再生不良性貧血がある。また、異常を来す要因が骨髄内に入り込むと、白血病や、免疫不全症を発症することになる。このような疾患は、輸血や薬物療法などによって一時的に寛解状態に持ち込むことは可能である。しかし、再発、病態悪化に伴ない、死の帰転を取ることが多い。骨髄移植 (BMT) は、このようなケースにおける根治療法として、人医領域では定着しており、その成効率は高い¹⁾。その治療原理は実験動物の領域では古くから知られていたが、当時臨床的には認められてはいなかった。1958年のユーゴスラビアでの原子炉事故により、致死量以上の被爆者に対して骨髄移植が行われ、6名のうち5名を回復させたとする MATHE²⁾ の報告以来、BMT は再認識された。動物においては、マウス、ラット、イスにおいて検討されている。ネコでは、HASKINS³⁾ らを始めとする 2, 3 の報告がある。現在、ネコの Feline leukemia Virus (FeLV) 感染に伴う免疫不全に対する根治療法はなく⁴⁾、残された可能性は骨髄移植のみであろう。また、FeLV は Human acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) のモデルともなりネコの BMT の開発は、AIDS の治療に対しても有効な情報を提供するであろう。

今回著者らは、骨髄移植前のコンディショニング法として Cyclophosphamide の投与方法と、それに伴う全身状態、とくに骨髄に与える影響を検討したので報告する。

実験材料および方法

1. ネコ

ネコはワクチン (FVR-CP, 共立) 接種し、FeLV および Feline infectious peritonitis の抗体陰性であった成猫 18 例を用いた。実験経過中、全例とも個別ケージにて飼育し、水平感染の防御に努めた。

実験群は、Cyclophosphamide (エンドキサン錠, 塩野義, 以下 CY) の投与方法により次の 4 群に分けた。すなわち、I 群は、CY 40 mg/kg 1回投与 (6 例)、II 群は、CY 40 mg/kg 2日連投 (6 例)、III 群は、CY 60 mg/kg 2日連投 (3 例)、IV 群は、CY 100 mg/kg 1回投与 (3 例) である。なお、投薬は全群、経口投与で行なった。

2. 検査項目および検査日

A. 一般臨床見の観察

CY の投与前日から、実験終了まで連日、一般状態 (食欲、元気、異常の有無等)、体温、脈拍数、呼吸数を観察した。

B. 血液学的検査

CY 投与前日を Pre として以後 1, 4, 7, 10, 14,

18, 21日目に頸静脈より1回5ml宛採血し、以下の11項目、すなわち、RBC, Ht, Hb, WBC, Platelet, Tp, 血漿 Na および K 量, GOT, GPT, BUN, について検査した。

C. 骨髄検査

CY 投与前日を Pre として以後 5 および 18 日目に行なった。骨髄採取は 18 ゲージのローゼンタール針を用いて、吸引採取した骨髄は塗法標本を作成し、ギムザ染色を行い検鏡し、細胞濃度および細胞の出現状況を検査した。

3. 補助療法

CY 投与に伴ない、末梢白血球数の減少による感染症の発症、食欲の廃絶に伴う脱水の補正のために抗生物質、輸液および強制給餌等の補助療法を I, III および IV 群に対して行なった。

4. 尿検査

実験経過中 1 日 1 回、尿検査を マルチスティック III (マイルス・三共) にて行い、あわせて尿沈査の細胞診を行なった。

結 果

1. 一般臨床所見は、元気、食欲の低下は I 群では軽度であったが、II 群では、完全に食欲廃絶するものもみられた。III 群および IV 群では全例が元気消失、食欲廃絶をみた。体温、脈拍数、呼吸数の観察では、脈拍数、呼吸数には大きな変化はみられなかったが、Fig. 1 に示すとおり体温の変化は、I 群では変化がみられなかったものの、II 群では 3 日目より 10 日目まで軽度の上昇をみた。III 群および IV 群においては、食欲廃絶と同時に低下 (35°C 以下) し、観察期間中低値を推移した。

2. 血液学的所見において各群著変がみられたのは WBC の推移である (Fig. 2)。I 群では、投与後 1 日目より低下し始め、10 日目に平均 $2,000/\text{mm}^3$ と最低値を示した。以後漸時上昇し、18 日目には正常値に復した。II 群は I 群と同様の傾向を示し、その最低値は $930/\text{mm}^3$ であった。III 群は、その低下傾向は早く、4 日目に $0/\text{mm}^3$ となった。IV 群は、7 日目に $200/\text{mm}^3$ と最低値を示した。なお、III 群と IV 群は、6~17 日目に全例が

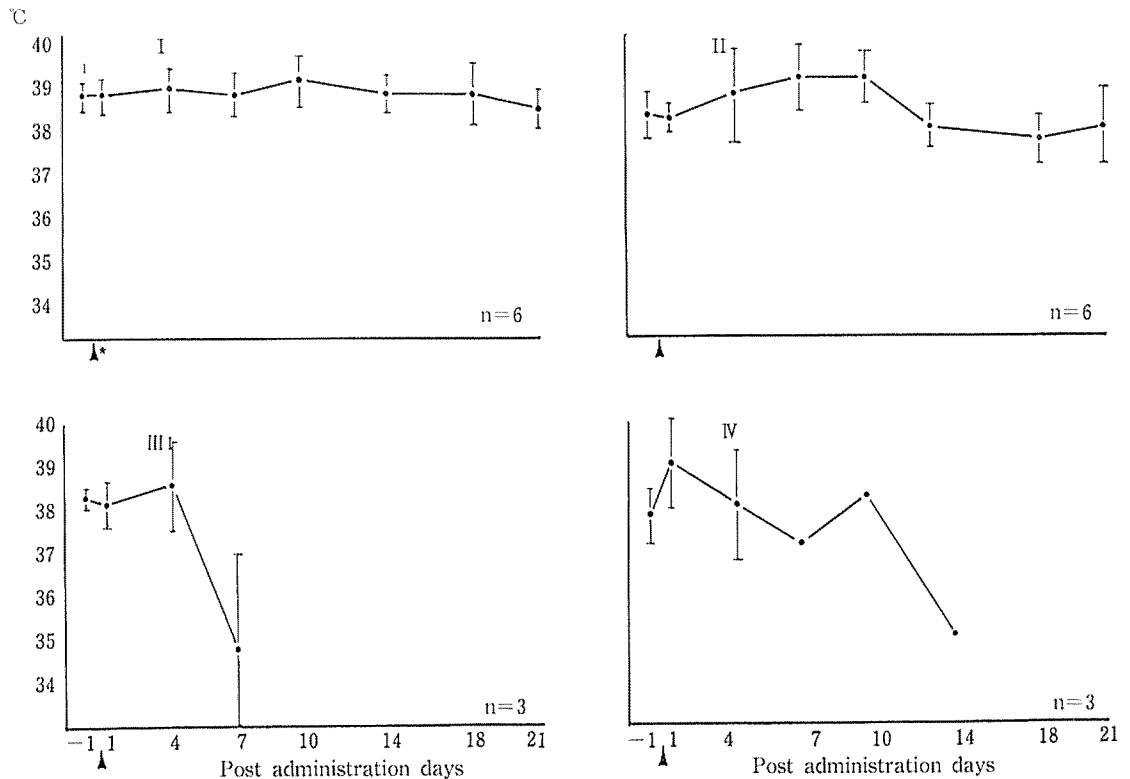


Fig. 1. Change of Bodytemperature in four groups.

*: Administration point. ¹: S. D.

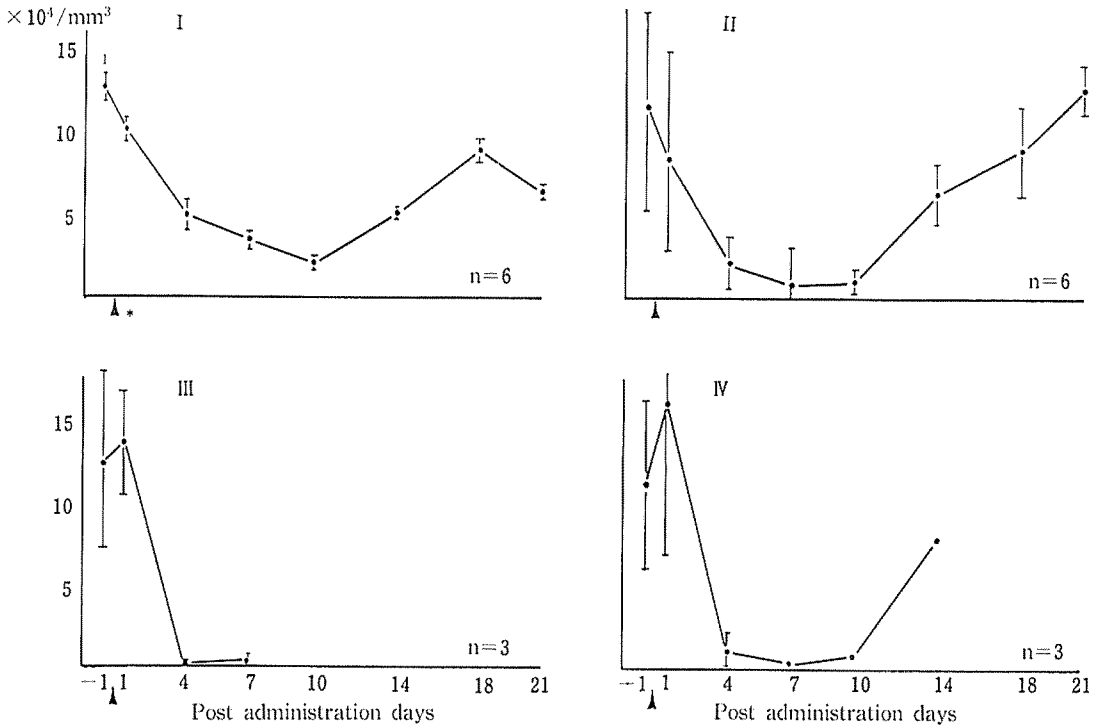


Fig. 2. Change of WBC in four groups.

*: Administration point. \bar{x} : S. D.

死亡した。WBC の推移に伴ない、Platelet にも変化がみられた (Fig. 3)。全群とも投与後低下し 7~10 日目に最低値を示し、その後上昇するという傾向を示した。その最低値は IV 群の 7 日目で $65,000/\text{mm}^3$ とかなり低い値を示した。その他の検査においては、食欲廃絶にともなう脱水、全身状態の悪化にともなう Tp, BUN, Na の上昇等がみられた。GOT, GPT には経過中著変はみられなかった。

3. 骨髄像は、全群とも 5 日目の検査で著変がみられた。I 群においては、Pre と比較して数量的に軽度の減少がみられた。質的には、骨髓球系では骨髓球以前の若い細胞が、赤芽球系では赤芽球以前の若い細胞が減少していた。抑制と同時に起こるといわれている細胞の変型は特に認められなかった。II 群は、I 群よりも抑制状態はかなり進行しているが、骨髓芽球や前赤芽球も若干認められた。III 群は、数の減少も著しいが、骨髓球よりも幼若な細胞は認められなくなった。IV 群は、III 群と同様の傾向であった。骨髄の回復は、I 群と II 群では、18 日目にはほぼ Pre の状態に回復していた。III 群と IV 群においては全例死亡したため、18 日目の観察は出来な

Table 1. Bone Marrow findings induced by Cyclophosphamide in four groups.

Group	Pre	5 day	18 day
I	-*	+	-
II	-	++	-
III	-	+++	N. D.*
IV	-	+++	N. D.

*N. D.: Not done.

- : Normal.

+ : Mild suppression.

++ : Moderate suppression.

+++ : Extremely suppression.

った (Table 1)。

4. 尿所見は、CY 投与にともなう副作用と思われるものは、III 群において 3 日目に一過性の血尿をみとめたが、抗生物質の投与にともない消失した。他の群においては、尿所見に異常はみとめられなかった。

実験経過中死亡したものは、II 群は、7~14 日目に 6 例中 3 例 (50%)、III 群は、6~9 日目に、IV 群は 6~

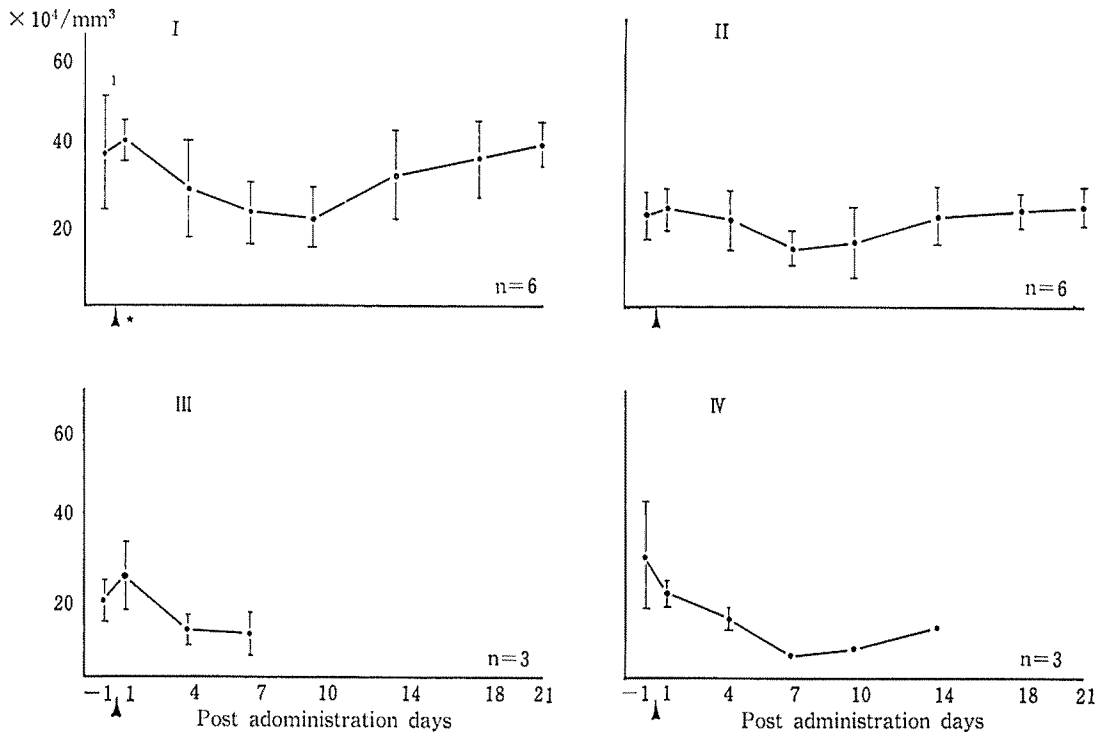


Fig. 3. Change of Platelets in four groups.

*: Administration point. †: S. D.

17日目に全例(100%)であった。死亡したものの剖検を行なったところ、全例に腎皮質の点状出血、膀胱粘膜への軽度の出血を共通所見として認めた。II群では、呼吸器系の感染と思われる炎症が肺に認められた。IV群の中で痙攣をみた例において、脳表面に軽度の出血を認めた。

考 察

骨髄移植を行う際は、宿主側の骨髄を枯渇させた状態で行わなければならない。そのために移植前コンディショニングとして、放射線の大量全身照射や免疫抑制剤の大量投与等が行われている⁶⁾。その方法には種々あるが、人医領域では、どちらか一方だけでは不完全であり、組み合わせることにより、より良い効果があるといわれている。しかしイスは、両者を組合わせたことによる毒性には耐えられないという報告もあり、その場合、放射線全身照射だけで充分であると報告している¹⁾。しかしながら、イスにおいてCYの大量投与のみで移植に成功している例もある⁸⁾。ネコは、主に放射線の全身照射を用いて行なわれている⁹⁾。

今回我々は、全身照射は行わずに薬物のみでコンディショニングを行う場合、どのような投与方法で行えばよいか検討した。用いた薬物はCYであり、強い骨髄抑制のある薬物である。このような薬物を用いる場合、目的とする作用と共に出てくる副作用をどのように乗り越えるかが問題である。今回の実験では、人医領域で問題になっている重篤な膀胱炎¹⁰⁾はみられなかった。これは、CYに対する感受性の動物種差を示しているものと考えられ、CYのネコに対する使用は、ヒトやイスに比較して容易である可能性を示唆している。

今回検討した4種類の投与方法の中では60 mg/kg 2回連日経口投与方法が移植前コンディショニングとして最も適していた。40 mg/kg 2回連日投与では、投与後の維持は比較的容易であるが、骨髄抑制が充分とはいえず、コンディショニングとしては不十分であった。

再生不良性貧血では、既に骨髄は荒廃しており高度の免疫抑制を分ける必要はないと思われる⁹⁾。このように免疫抑制の量や質は疾患、病期、病態によって異なるものである¹¹⁾。従って今回決定した60 mg/kg 2回投与方法は、全てのケースに該当するものではないが、BMTの

コンディショニングとしては最も適した方法と考えられた。

今後は、放射線の大量照射との併用についても検討を加える予定である。

文 献

- 1) HARRIS, C.K. and GASPER, P.W. (1986). Bone marrow transplantation in the dog. *Continuing Education*, 8 (5), 337-346.
- 2) HASKINS, M.E., WORTMAN, J.A., WILSON, S., and WOLFE, J.H. (1984). Bone marrow transplantation in the cat. *Transplantation*, 37 (6), 634-636.
- 3) 服部 絢一 (1981). 骨髄移植の現況. *日本臨床*, 39, (8), 150-155.
- 4) MATHE, G., JAMMET, H., and PENDIC, B. (1959). Transfusion et greffes de modelle osseuse homologue chez des humains irradiés a hautes dose accidentellement. *Rev. Fr. Etudes Clin. Biol.*, 4, 226.
- 5) 森島泰雄・加藤幸男他 (1978). 骨髄移植の臨床的研究—Cyclophosphamide (CY) + 全身放射線照射 (TBI) 法の検討. *移植*, 13, 202~205.
- 6) 大野竜三 (1985). 骨髄移植療法の同題点と研究動向. *日本臨床*, 43 (1), 92~96.
- 7) SCHALM, O.W. (1980). *Feline and Canine Hematology*. Veterinary Practice Publishing Company. Santa Barbara, California.
- 8) 鈴木盛一 (1981). 成犬を用いた同種骨髄細胞移植の検討. *移植*, 16 (2), 87-95.
- 9) WOLFE, J.H., HASKINS, M.E., and ZMIEWSKI, C.M. (1984). Mixed lymphocyte reactivity in cats. *Transplantation*, 37 (5), 509-513.
- 10) 吉田 喬・大竹茂樹他 (1981). 同種および自家骨髄移植による造血器腫瘍の治療. *移植*, 16(3), 220~227.
- 11) 吉川 敏 (1981). 自己骨髄移植. *日本臨床*, 39 (8), 156~161.
- 12) 幸道秀樹・浅野茂隆 (1983). 骨髄移植の適応と同題点. *臨床免疫*, 15 (9), 687~699.

Studies of Bone Marrow Transplantation in Cats:

Effect of High dose Cyclophosphamide for Pretransplantation Conditioning

Akira MASUNAGA, Tadashi KAJIWARA, Akiko TANIGUCHI,
Yasushi HARA, Hiroyasu EJIMA and KAZUO KUROKAWA

First Department of Surgery,
Nippon Veterinary and Zootechnical College

ABSTRACT

Success of bone marrow transplantation required complete Pretransplantation conditioning. Conditioning methods with Cyclophosphamide (CY) were examined in cats in order to suppression of bone marrow. Cats were observed among postadministration twenty-one days by general conditions, blood and bone marrow examination.

CY 40 mg/kg once or twice administration induced decrease of WBC in peripheral blood, however bone marrow suppression was incomplete. Side effects were slight. CY 100 mg/kg once administration provided complete suppression of bone marrow, however the combined toxicity was not acceptable in cats. Administration of CY 60 mg/kg twice was effective for pretransplantation conditioning because bone marrow suppression was complete and side effects were relatively slight.

Key words: Bone Marrow Transplantation, Cyclophosphamide, Cat.

Bull. Nippon Vet. Zootech. Coll., No. 35, 92~96, 1986.