

タクロリムスによる治験を試みた犬の免疫介在性溶血性貧血 の2例

誌名	日本獣医師会雑誌 = Journal of the Japan Veterinary Medical Association
ISSN	04466454
著者	湯木, 正史 鈴木, 清美 杉本, 典子 ほか3名,
巻/号	57巻11号
掲載ページ	p. 721-724
発行年月	2004年11月

タクロリムスによる治験を試みた犬の 免疫介在性溶血性貧血の2例

湯木正史^{1)†} 鈴木清美¹⁾ 杉本典子¹⁾ 樋口貴志¹⁾
鈴木秀典¹⁾ 石川勝行²⁾

1) 名古屋市 開業 (〒455-0021 名古屋市港区木場町2-99)

2) 名古屋市 開業 (〒463-0067 名古屋市守山区守山3-4-13)

(2003年12月22日受付・2004年6月24日受理)

要 約

免疫介在性溶血性貧血 (Immune-mediated hemolytic anemia : IMHA) と診断した犬2例に対し、プレドニゾン、シクロスポリン、アザチオプリン、ヒト免疫グロブリン製剤、輸血などによる治療を行ったが、貧血の改善が得られなかった。そこでシクロスポリンの10～100倍の免疫抑制作用を持つとされるタクロリムス (FK506) を併用したところ、1例では貧血の著明な改善が、他の1例ではPCVの維持が認められた。

—キーワード：犬，免疫介在性溶血性貧血 (IMHA)，タクロリムス。

日獣会誌 57, 721～724 (2004)

犬の免疫介在性溶血性貧血 (Immune-mediated hemolytic anemia : IMHA) の治療は通常プレドニゾンによる免疫抑制療法が行われ、それに対して不応な場合、アザチオプリン、シクロスポリンなどの免疫抑制剤の併用が行われる。しかしながら、これらの治療に不応な難治性のIMHAも少なくない。今回われわれは人の臓器移植後の免疫抑制剤として用いられているタクロリムスを難治性のIMHAの症例に併用したところ、貧血のコントロールが可能となり、IMHAに対するタクロリムスの有効性が示唆されたのでその概要を報告する。

症 例 1

シーザー、5歳齢、雌、4日前からふらつきがみられ昨日から立てなくなったとのことで来院した。

初診時身体検査所見：体温38.6℃，虚脱状態で、可視粘膜蒼白，呼吸速迫であった。

初診時血液および血液化学検査所見：再生性の重度の貧血 (PCV9%)，血中尿素窒素，総コレステロールの軽度上昇が認められた (表1)。血液塗抹標本上には球状赤血球が全赤血球の50%以上認められた。また，赤血球の自己凝集が確認された。

以上の所見によりIMHAと診断した。

治療および経過：初診時に抗生剤，プレドニゾン (以後PS，4mg/kg，SC，SID)，セファランチン (以

後CR，1mg/head，PO，BID)，全血輸血 (100ml)，ヒト免疫グロブリン製剤 (以後hIVIG，500mg/kg，IV) の投与を行った。第4病日まで同量のPS，CRによる治療を継続した。第3病日，PCV値は17%となったが，第6病日にはPCV14%と低下したためタクロリムス (0.08mg/kg，PO，BID) の投与を開始した。第9病日にはPCV17%，第15病日にはPCV29%，第27病日にはPCV36%と順調に改善し，この時点でタクロリムスの投与を中止，その後すべての投薬を中止したが，現在も良好に経過している (図1)。

表1 初診時血液検査所見 (症例1)

WBC (/ μ l)	28800	ALT (U/l)	25
RBC ($\times 10^6$ / μ l)	0.88	AST (U/l)	20
HGB (g/dl)	2.2	ALP (U/l)	171
PCV (%)	9	T.Bil. (mg/dl)	0.4
MCV (fL)	102	GGT (U/l)	74
MCH (pg)	21.8	Tcho (mg/dl)	307
MCHC (g/dl)	24.4	Alb (g/dl)	2.9
PLT ($\times 10^3$ / μ l)	38.6	BUN (mg/dl)	34
		Cre (mg/dl)	0.7
		Ca (mg/dl)	9.8
		Glu (mg/dl)	117

† 連絡責任者：湯木正史 (湯木どうぶつ病院)

〒455-0021 名古屋市港区木場町2-99 ☎・FAX 052-694-1125

タクロリムスによる治験を試みた犬の免疫介在性溶血性貧血の2例

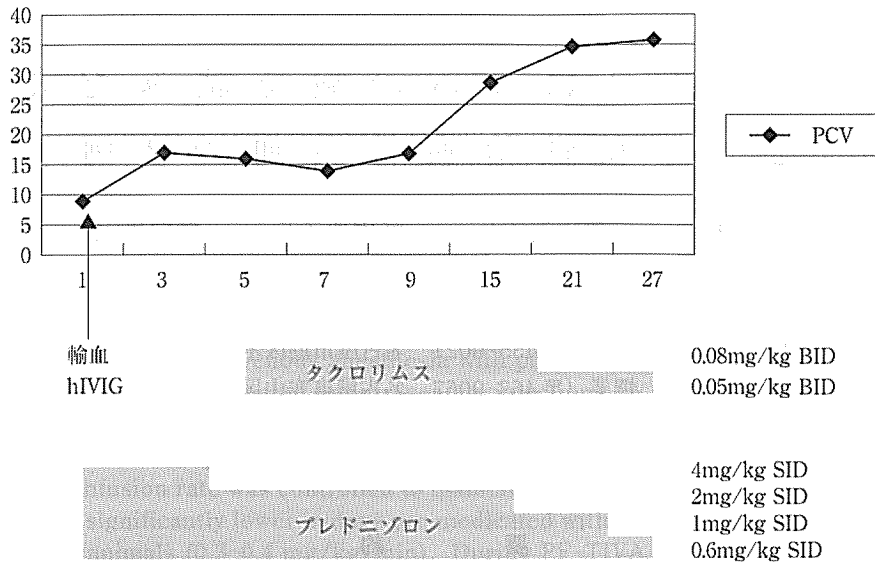


図1 治療および経過 (症例1)

表2 初診時血液検査所見 (症例2)

WBC ($/\mu l$)	7400	ALT (U/l)	23
RBC ($\times 10^6/\mu l$)	4.31	BUN (mg/dl)	12.8
HGB (g/dl)	9.4	ALP (U/l)	171
PCV (%)	28	T. Bil. (mg/dl)	0.4
MCV (fL)	65	LDH (U/l)	74
MCH (pg)	21.8		
MCHC (g/dl)	33.6		
PLT ($\times 10^4/\mu l$)	8.2	CRP (mg/dl)	20以上

症 例 2

ミニチュア・ダックス, 3歳齢, 雌, 食欲がなく, 嘔吐, 下痢もみられるとのことで来院した。

初診時身体検査所見: 体温38.6℃, 可視粘膜蒼白で呼吸速迫, 腹囲は軽度膨満していた。

初診時血液および血液化学検査所見: 再生性の中等度の貧血 (PCV28%), 重度の血小板減少が認められた。血液化学検査所見では特に異常は認められなかったが, CRPは20mg/dl以上と高値であった (表2)。血液塗抹標本上には球状赤血球が全赤血球の50%以上認められた。また, 赤血球の自己凝集は認められず, 直接クームス試験は陽性であった。

腹部単純X線検査所見: 脾臓の腫大が認められた。

超音波検査所見: 脾臓の腫大は確認されたが, 実質のエコーレベルには異常は認められなかった。

以上の所見よりIMHAと診断した。

治療および経過: 初診時に抗生剤, PS (2mg/kg, SC, BID), アザチオプリン (以後AZ, 2mg/kg, SID, PO), ダナゾール (以後DZ, 5mg/kg, BID, PO) の投与を行った。第8病日にはPCVは21%にまで低下したため, AZの投与を中止しシクロスポリン (以

後CYA, 5mg/kg, PO, BID) を追加した。しかし, 第11病日にはPCVは13%とさらに低下したため全血輸血 (100ml) に加えhIVIG (500mg/kg, IV) の投与を行った。その後PCVは26%にまで回復したためPS, CYA, DZ, に加えCRを投与し, 経過を観察した。第20病日に, PCVは21%に低下したが, 第25病日には30%にまで回復したためPSの漸減を開始した。しかしながら, 第34病日にPCVの急激な低下 (9%) を認めため, 2回目の全血輸血 (130ml) を行い, 同時にタクロリムス (0.075mg/kg, PO, BID) の投与を開始した。全血輸血後PCVは20%となり, その後, 第45病日までPCV値は20%前後を維持したが, それ以上の改善を認めないことから, タクロリムスの血中濃度を測定したところ2.30ng/mlと低値を示した。そのため, タクロリムスの投与量を0.15mg/kgまで徐々に増量したところ血中濃度は4.20ng/mlにまで上昇したが, それ以上の貧血の改善は認められなかった。第57病日, 脾臓摘出術を行った。その後の経過は良好で, 第69病日にはPCV32%に上昇したため, タクロリムスを含めすべての薬剤を順次漸減し治療を中止した (図2)。

考 察

犬におけるIMHAの治療には, おもにプレドニゾンが第一選択薬として用いられるが, PS単独では導入, 維持が困難な難治性IMHAに遭遇し, 難治することも多いのが実情である。それらの症例においてはPSとの併用でAZおよびCYA, シクロフォスファミド, hIVIG, 合成アンドロゲン製剤であるDZなどの免疫抑制療法が行なわれる [3]。通常, これらの薬剤を種々組み合わせ合わせた治療が試みられているが, 依然として治療不可能な症例にも遭遇する。

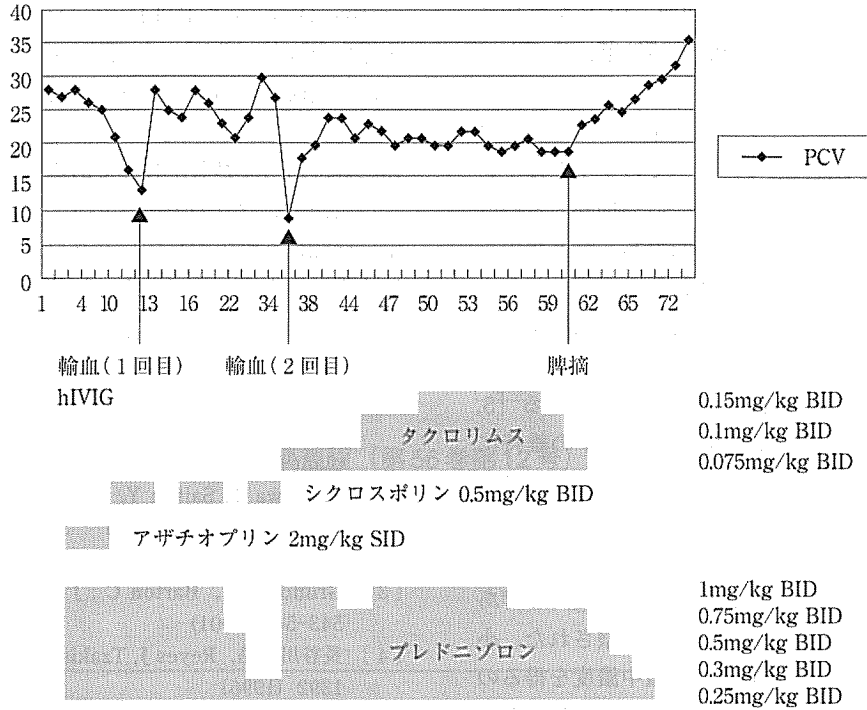


図2 治療および経過 (症例2)

そこで今回われわれは難治性と判断したIMHAに対し、近年人において臓器移植後の免疫抑制剤として汎用されているタクロリムスを併用する治療を試みた。タクロリムス (FK506) は筑波山麓の土壌より分離された放線菌 *Streptomyces tsukubaensis* の代謝産物より開発されたマクロライド骨格を有する比較的新しい免疫抑制剤である。現在までに人で承認されている適応症は肝、腎、および骨髄移植における拒絶反応の抑制、移植片対宿主病の抑制、アトピー性皮膚炎 (軟膏) である。この他にも小腸や膵臓移植後、さらに、慢性関節リウマチ、重症筋無力症、ループス腎炎などの自己免疫疾患における治療が進められている [7]。タクロリムスはCYAと構造上無関係でありながら免疫抑制の作用機序は非常に似ており、ヘルパーT細胞を選択的に抑制する。その作用機序は、T細胞活性化のシグナル伝達において重要な役割を果たしているホスファターゼであるカルシニューリンに結合してその活性化を阻害する。このため、カルシウムによるカルシニューリンの活性化およびnuclear factor of activated T cell (NFAT) の活性化が阻害され、活性T細胞のクローン増殖に必要なサイトカイン遺伝子の活性化が起こらない。タクロリムスの抑制力はCYAの10~100倍強力であると報告されている [7, 8]。

症例1では、PS単独投与ではPCVの低下がみられたが、PSにタクロリムスを併用したところ投与開始後4日目よりPCVの改善が認められた。症例2ではPSにAZを併用したがPCVの低下が見られ、AZからCYAの

併用に変更したところ、不安定ながらPCVの維持は可能となった。しかし、PSの減量はできなかった。そこで、CYAからタクロリムスの併用に変更したところ、速やかにCYAからタクロリムスへの変更が可能となった。また、PCVを上昇させることはなかったが、長期間安定したPCVを維持させることは可能となった。一般的に、AZ、CYA等の免疫抑制剤はおもに選択的にT細胞系を抑制するが、B細胞系は間接的に抑制されるため、その効果発現までに時間を要するとされている。しかし、タクロリムスは選択的なT細胞系の抑制に加え、活性B細胞のカルシニューリン依存性経路の阻害による直接的なB細胞系の抑制効果も持つ。人の腎移植後の免疫介在性溶血性貧血に対し、タクロリムスを投与したところ、14日以内に症状が改善できたと報告している [1]。また、人の微小変化ネフローゼ症候群に対し、同様にシクロスポリンからタクロリムスへの変更により、10日以内で症状が改善できたとの報告もある [10]。このようにタクロリムスは早期に免疫抑制効果が発現することが示されており、それにより症例1ではタクロリムス投与後4日目からPCVの改善が見られ、症例2ではCYAからタクロリムスへの速やかな変更が可能であったと考えられた。また、症例2に関して、2回目の輸血までの間、PS、CYA、hIVIG等の作用により不安定ながらPCVの維持は可能となったが、PSの減量によりPCVは低下した。そこで2回目の輸血以降はPSの併用薬としてタクロリムスを使用した。PSの漸減を試みていないためタクロリムス単独での効果およびCYAより優れて

いるという判定はできないが、長期間、PCVを維持させることは可能となり、本剤のPSとの併用による有用性が示唆された。

人単核球の各種サイトカイン産生抑制率を調べた基礎研究では、薬剤濃度1ng/mlで、すべてのサイトカインの産生が完全に(100%)阻止され、50%抑制する濃度(IC₅₀)値は0.02~0.11ng/mlの範囲であったと報告されており[9]、低濃度での抑制効果、および個人差が示されている。また、重症筋無力症に対しては低用量で効果があり、臓器移植では高用量が必要となり、疾患の種類により推奨投与量にも相当の差が認められている[5, 7]。症例2では貧血の改善は認められずPCVの維持に留まっており、犬における重度の難治性IMHAでは、人の臓器移植で推奨されている高血中濃度(10~20ng/ml)を必要とする可能性がある。さらに、タクロリムス0.15mg/kg投与時の血中濃度は4.20ng/mlであり、投与量に対し血中濃度が低いように推察された。小児肝移植患者において成人と同程度の血中濃度を得るのに、体重換算で2.7~4.4倍の経口投与量を要したとの報告もあり[6]、犬も小児と同様に高投与量を必要とする可能性も考えられる。

今後、犬におけるタクロリムスの薬物動態、吸収率などの基礎的研究、また症例数を増やし、IMHAに対する至適薬用量の設定を検討する必要がある。

タクロリムスの副作用に関して、今回の2症例(特に症例2においては長期連用となった)では、それを疑わせる症状は認められなかった。しかし、人臓器移植患者の副作用として、腎障害、高カリウム血症、高血糖、高尿酸血症、振戦、胸痛、悪性腫瘍などが挙げられている[7]。また、人の移植患者の免疫抑制に用いた場合、移植後リンパ増殖性疾患(Posttransplant Lymphoprolif-

erative Disease: PTLD)の発生率が成人で2~5%、小児では5~10%にのぼるとの報告もある[4]。犬では、基礎研究において、重篤な胃腸障害、体重の減少などが報告されており[2, 11]、それらの発現に際しては休薬等、適切な処置が必要である。

現段階ではタクロリムスの犬における使用に関して、十分研究はされておらず、タクロリムスを投与する症例は慎重に選択すべきである。

引用文献

- [1] Debska-Slizien A, Chamienia A, Krol E, Zdrojewski Z, Zadrozny D, Sledzinski Z, Rutkowski B: *Transplant Proc*, 35, 2233-2237 (2003)
- [2] Fujisawa T, Saitoh Y, Urabe N, Takeda T, Sekie Y, Baba M, Yamaguchi Y: *Surg Today*, 23, 338-343 (1993)
- [3] Grundy SA, Barton C: *J Am Vet Med Assoc*, 218, 543-546 (2001)
- [4] 長谷川利路, Reyes J, Tzakis AG: *小児外科* 28, 1385-1392 (1996)
- [5] Konishi T, Yoshiyama Y, Takamori M, Yagi K, Mukai E, Saida T: *Muscle Nerve*, 28, 570-574 (2003)
- [6] McDiarmid SV: *Transplantation*, 55, 1328-1332 (1993)
- [7] 三森経世: 免疫抑制薬の選び方と使い方, 57-63, 南江堂, 東京 (2000)
- [8] Misseghers BS, Binnington AG, Mathews KA: *Can Vet J*, 41, 623-627 (2000)
- [9] Sakuma S, Higashi Y, Sato N: *Int Immunopharmacol*, 1, 1219-1226 (2001)
- [10] Schweda F, Liebl R, Riegger GA, Kramer BK: *Nephrol Dial Transplant*, 12, 2433-2435 (1997)
- [11] Yu C, Storb R, Deeg HJ, Graham TC, Scheuning FG, Huss R, Seidel K, Fitzsimmons WE: *Bone Marrow Transplant*, 17, 649-653 (1996)

Clinical Study of Tacrolimus Administered to Two Dogs with Immune-mediated Hemolytic Anemia

Masashi YUKI*†, Kiyomi SUZUKI, Noriko SUGIMOTO, Takashi HIGUCHI, Hidenori SUZUKI and Katsuyuki ISHIKAWA

* *Yuki Animal Hospital, 2-99 Kibacho Minato-ku, Nagoya, 455-0021, Japan*

SUMMARY

Prednisolone, cyclosporine, azathioprine, human immunoglobulin preparations, blood transfusions, and other medications administered to two dogs with immune-mediated hemolytic anemia (IMHA) produced no improvements. Concomitant oral administration of tacrolimus (FK506), an immunosuppressive agent known to be from 10 to 100 times more potent than cyclosporine, resulted in significant improvement of anemia in one case and sufficient maintenance of packed-cell volume (PCV) in another case.

— Key words : dog, immune-mediated hemolytic anemia, tacrolimus.

† *Correspondence to : Masashi YUKI (Yuki Animal Hospital)*

2-99 Kibacho Minato-ku, Nagoya, 455-0021, Japan TEL · FAX 052-694-1125

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 57, 721 ~ 724 (2004)