

## 中等症、重症再生不良性貧血に対する抗胸腺細胞グロブリン (ATG)・シクロスポリン (CyA) 併用免疫抑制療法の臨床的評価

矢田健一郎, 和田 秀穂, 三上 誠, 中西 秀和, 末次 慶收,  
賀来万由美, 杉原 尚, 山田 治, 八幡 義人

【目的】中等症、重症再生不良性貧血症例に対する抗胸腺細胞グロブリン (ATG) 及びシクロスポリン (CyA) 併用免疫抑制療法の効果を臨床的に検討した。【方法】再生不良性貧血症例 6 例 (重症 4 例, 中等症 2 例) に対して, ATG (Lymphoglobulin<sup>®</sup> : 15 mg/Kg 5 日間投与) 及び CyA (Sandimmun<sup>®</sup> : 5 mg/Kg/日 3 ヶ月間投与) の併用投与を行った。【結果】中等症 1 症例 (NR) を除いて, 5 症例に good response (GR) が 9 ヶ月後の判定で得られた。この 5 症例はいずれも診断後 3 ヶ月以内であった。無効例では診断後 77 ヶ月であった。副作用は 6 例中 4 例に認められたが, methylprednisolone 投与でコントロール可能であった。【結論】ATG・CyA 併用療法は診断後 3 ヶ月未満の中等症以上の症例に対して有効である。しかし, 投与中の副作用は高頻度であり, 遅発性合併症の問題もあるため慎重な注意と経過観察が必要と思われた。

(平成12年4月11日受理)

### Clinical Evaluation of a Combined Immunosuppressive Therapy of Antithymocyte Globulin and Cyclosporin A for Patients with Aplastic Anemia

Kenichiro YATA, Hideho WADA, Makoto MIKAMI, Hidekazu NAKANISHI,  
Yoshimasa SUETSUGU, Mayumi KAKU, Takashi SUGIHARA, Osamu YAMADA,  
Yoshihito YAWATA

【Purpose】A combined immunosuppressive therapy of anti-thymocyte globulin (ATG) and cyclosporin A (CyA) for aplastic anemia (AA) was clinically evaluated. 【Methods】ATG (Lymphoglobulin<sup>®</sup>) 15 mg/kg/day for five days D.I.V and Cy A (Sandimmun<sup>®</sup>) 5 mg/kg/day for at least three months were given to four cases with a severe grade AA and to two cases with a moderate grade. 【Results】Five out of the six cases demonstrated a good response (GR) after nine months of this combined therapy. But one case with long duration (77 months of AA), remained refractory to the therapy. All the five cases who showed good response to the therapy, the duration of aplastic anemia before the therapy were less than three months. 【Conclusion】ATG and CyA is combined immunosuppressive therapy with an effective for untreated patients with AA, especially the duration of the disease is less than three months from the onset. But care must be

taken for major side effects and delayed complications. (Accepted on April 11, 2000) *Kawasaki Igakkaishi 26(2) : 95-100, 2000*

**Key Words** ① **Aplastic anemia** ② **Immunosuppressive therapy**  
③ **Anti-thymocyte globulin (ATG)** ④ **Cyclosporin A (CyA)**

**緒 言**

再生不良性貧血は汎血球減少症と骨髓低形成を特徴とする血液疾患であり、その殆どが特発性である。近年、造血幹細胞自体の異常、造血微小環境の異常に加えて、免疫学的機序による造血幹細胞の障害が病因として推定されている。その治療として、異常な幹細胞を正常な幹細胞と入れ替える同種骨髓移植と、免疫異常に対する免疫抑制療法が行われている。そして免疫抑制療法の中でも、近年抗胸腺細胞グロブリン (anti-thymocyte globulin ; ATG) とシクロスポリン (cyclosporin A ; CyA) の併用療法は特に良好な成績が報告されつつある<sup>1),2)</sup>。しかし ATG 製剤は異種蛋白であり、患者を一時的に強い免疫抑制状態におくことから、様々な副作用が高率に起こることが予想されている。

今回我々は、同種骨髓移植非適応の中等症・重症再生不良性貧血患者6例に対し、ATG・CyA 併用療法を施行したので、その有用性と問題点について述べる。

**対象及び方法**

1) 対象症例

ATG, CyA がオーファンドラッグとして保険適応となった1995年以降、当科にて診断された中等症あるいは重症の再生不良性貧血患者で、患者・家族の同意を得た後、ATG・CyA 併用療法を施行した6例について検討した。

**Table 1** に全6例の初診時の臨床所見を示す。厚生省造血障害研究班の重症度分類

(**Table 2**)<sup>3)</sup>では重症 (grade I) が4例、中等症 (grade II) が2例であった。1例は診断後77ヶ月経過していたが、他の5例は全て3ヶ月未満であった。症例2, 5, 6は蛋白同化ホルモンやステロイド剤による治療が短期間先行していたが、投与期間からして先行治療薬の影響はないと判断した。全例、染色体分析では正常核型であった。症例5は骨髓検査にて軽度の赤芽球形態異常を呈し、ferrokinetics において無効造血の存在を示唆する所見が得られたことから、骨髓異形成症候群 (MDS) との鑑別が必要な症例であったが、経過と共に汎血球減少症が増悪し、輸血依存性になってきたため、やはり低形成性骨髓が主たる病因である再生不良性貧血

**Table 1.** Laboratory data

Case	Age/Sex	Neutrophil (/μl)	Platelet (×10 <sup>3</sup> /μl)	Reticulocyte (×10 <sup>3</sup> /μl)	Grade	Duration of AA before this therapy started (months)	Previous therapy
1)	K.N 49.M	1188	1.1	4.28	Moderate	77	HDMP
2)	T.U 37.M	900	2.7	3.51	Moderate	3	Oxymetholone
3)	F.Y 28.F	405	1.9	3.75	Severe	1	None
4)	M.W 54.F	156	0.6	0.90	Severe	2	None
5)	N.I 36.F	264	1.6	2.40	Severe	3	HDMP
6)	K.I 54.F	153	1.7	1.10	Severe	2	PSL

HDMP : high-dose methyl-prednisolone, PSL : prednisolone, AA : aplastic anemia

**Table 2.** Criteria for the severity of aplastic anemia

Severe (grade I)	Moderate (grade II)	Mild (grade III)
Granulocyte < 500/mm <sup>3</sup>	Granulocyte < 1,000/mm <sup>3</sup>	other
Platelet < 20,000/mm <sup>3</sup>	Platelet < 50,000/mm <sup>3</sup>	
Reticulocyte < 20,000/mm <sup>3</sup>	Reticulocyte < 60,000/mm <sup>3</sup>	
When more than two factors listed are satisfied	When more than two factors listed are satisfied	



と判断し ATG・CyA 併用療法を開始した。

Table 3. Results after the treatment

Case	HLA-DRB1	Clinical evaluation after the treatment (months)						Side effect	Term period GR was maintained (months)
		1	2	3	6	9	12		
1) K.N	1501/0405	NR	MR	MR	NR	NR	NR	Fever, Eruption	None
2) T.U	0901/0901	NR	NR	GR	GR	GR	GR	Eruption	39
3) F.Y	0101/0405	NR	NR	NR	GR	GR	GR	Eruption	18
4) M.W	0405/0901	MR	GR	GR	GR	GR	GR	None	16
5) N.I	1501/1501	NR	NR	NR	GR	GR	GR	Chest discomfort	13
6) K.I	1502/1502	NR	NR	NR	NR	GR	GR	None	4

GR : good response, PR : partial response, MR : minor response, NR : no response

## 2) 投与方法

ATG (Lymphoglobulin<sup>R</sup> ; ローヌ・プーランローラー社製) は、15 mg/kg/day で5日間、1日量を12-24時間かけて持続点滴で投与した。ATGによる副作用防止目的のため、全例で methylprednisolone (mPSL) 125 mg~250 mg/day を併用した。また CyA (Sandimmun<sup>R</sup>) は 5 mg/Kg/day を経口投与した。なお、G-CSF (granulocyte-colony stimulating factor) 製剤は全例で使用していない。

## 3) 効果判定

厚生省造血障害研究班の効果判定基準<sup>3)</sup>に従い、効果判定は①血球数が grade I からⅢに改善したもの、または grade I からⅡ、あるいはⅡからⅢに改善し、ヘモグロビン値が輸血なしで 2 g/dl 以上の増加を認めたものを good response (GR), ②血球数が grade I から I, あるいはⅡからⅡのままであるが、ヘモグロビン値が輸血なしで 2 g/dl 以上の増加を認めたものを partial response (PR), ③血球数が grade I からⅡ、あるいは、ⅡからⅢに改善したが、ヘモグロビン値が輸血なしで 2 g/dl 以上の増加を認めなかったものを minimal response (MR), ④その他のものを no response (NR) とした。

## 結 果

### 1) 治療効果

Table 3 に治療成績をまとめて示す。ATG・CyA 投与 6 例中、3ヶ月後には 2 例 (33%), 6ヶ月後には 4 例 (66%), 9ヶ月後には 5 例 (83%) で GR が得られた。

### 2) 副作用の検討

ATG 投与に伴う副作用は 6 例中 4 例 (67%) に出現した。主なものとして掻痒感を伴う発疹は 4 例全員に認められたが、mPSL 併用や抗ヒスタミン剤などの対症療法にて治療継続が可能であった。症例 5 では、ATG 投与後、胸部圧迫感が出現したが、心電図 (ECG), Holter ECG 上でも有意な所見は認められなかった。いずれの症例も副作用防止目的にて併用した mPSL が効果的であり、ATG 投与継続が可能であった。ATG 投与後全例で 1 年以上 (最长 42 ヶ月) 経過を追跡しているが、遅発性の副作用は現在のところ認められていない。また CyA 投与に伴う副作用としては、多毛、嘔気、浮腫等が知られているが、これらを含め、その他重篤な副作用は認められなかった。

### 3) 症例呈示 (著効例)

GR と判定された症例 2 の臨床経過を Figure 1 に示した。症例は 37 歳男性。1995 年 10 月近医にて汎血球減少症を指摘された。12 月当科初診。入院時の末梢血検査では赤血球数  $195 \times 10^4 / \mu\text{l}$ , Hb 6.9 g/dl, Ht 20.6%, 網赤血球数 1.8% ( $3.51 \times 10^4 / \mu\text{l}$ ), 白血球数  $3100 / \mu\text{l}$  (好中球 30%, 好酸球 1%, 単球 3%, リンパ球 66%), 血小板数  $2.7 \times 10^4 / \mu\text{l}$  と汎血球減少症を、骨髓穿刺所見では巨核球の高度減少と相対的リンパ球増加を認めた。骨髓生検にて

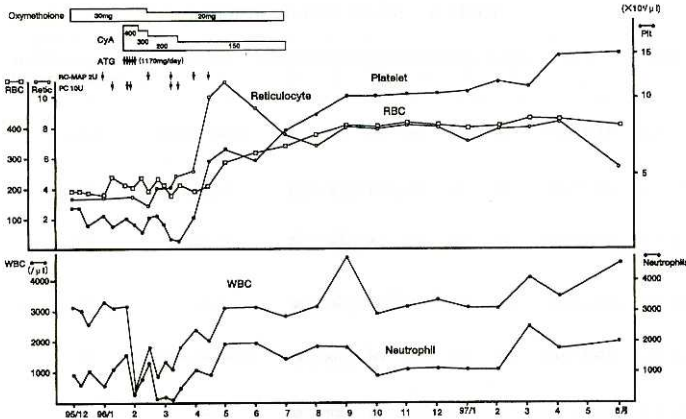


Fig. 1. Clinical course in an aplastic anemia patient (case 2 : T.U) with good response

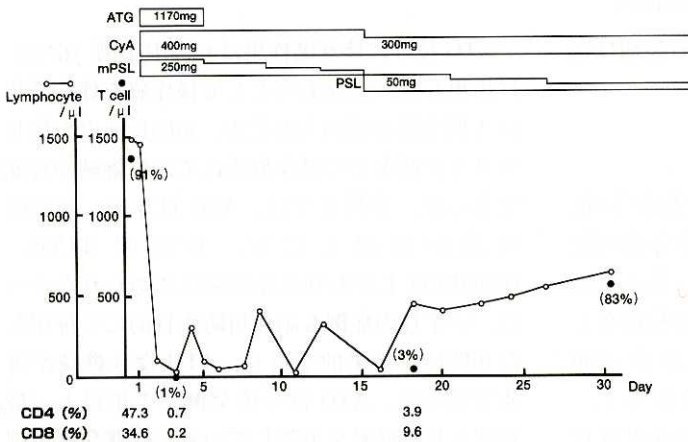


Fig. 2. Total lymphocytes and T cells in the peripheral blood in case 2 during after combined treatment of ATG and CyA

著しい低形成骨髓を呈していた。染色体分析は正常核型。以上より再生不良性貧血，厚生省重症度分類 (Table 2) では中等症と診断した。1996年1月から ATG 15 mg/kg/day を5日間，CyA 5 mg/kg/day を3ヶ月間の予定で治療を開始した。治療開始3日目に T リンパ球は1% (CD 4 陽性0.7%，CD 8 陽性0.2%) まで減少したが，1ヶ月後には回復を認めた (Fig. 2)。治療開始後2ヶ月間は輸血を必要としたが，ATG 投与後3週間ぐらいから網赤血球数の増加が出現し，その後，血小板数の上昇も認められた。さらに遅れて赤血球数が回復し，後期には輸血を全く必要としなくなった。96年3月に退院となり，1999年8月現在，好中球数1890/

$\mu\text{l}$ ，赤血球数  $434 \times 10^4 / \mu\text{l}$ ，血小板数  $16.5 \times 10^4 / \mu\text{l}$  と著明に改善している。

## 考 察

再生不良性貧血は，末梢血の汎血球減少と骨髓の低形成を特徴とする疾患である。その成因としては，従来より骨髓幹細胞の障害や質的異常及び造血微小環境の障害が考えられていたが，最近，造血幹細胞に対する Fas/Fas ligand 系によるアポトーシスや IFN- $\gamma$ ・TNF- $\alpha$  等の造血抑制因子，造血障害性 T 細胞の存在など免疫学的な機序が関与していることが示唆されている<sup>4),5)</sup>。このような観点から T 細胞を選択的に抑制する ATG 療法，CyA 療法，cyclophosphamide 大量療法<sup>6)</sup> やリンパ球除去療法 (lymphocytapheresis)<sup>7)</sup> が本症の治療として現在までに報告され，中でも ATG や CyA が特に注目されている。ATG あるいは CyA 単剤による治療では両者はほぼ同程度の治療成績を示すが<sup>8)</sup>，両剤を併用することによって治療成績がより良好になると報告されている<sup>1)</sup>。特に重症例に対して，Rosenfeld らは ATG と CyA 併用群では67%が3ヶ月以内に，78%が1年以内に反応を示し，ATG 単独群での治療反応率の約2倍であったと報告している<sup>2)</sup>。ATG の作用機序については最近 Teramura らが報告しているが，これによると本症の発症には CD 8+リンパ球による顆粒球系及び赤血球系前駆細胞の抑制が密接に関係しており，ATG は造血障害性 CD 8+リンパ球を抑制することによって治療効果 (造血回復) を示すことを明らかにしている<sup>9)</sup>。また CyA と異なり，ATG の場合には免疫抑制作用とは別に，直接

著しい低形成骨髓を呈していた。染色体分析は正常核型。以上より再生不良性貧血，厚生省重症度分類 (Table 2) では中等症と診断した。1996年1月から ATG 15 mg/kg/day を5日間，CyA 5 mg/kg/day を3ヶ月間の予定で治療を開始した。治療開始3日目に T リンパ球は1% (CD 4 陽性0.7%，CD 8 陽性0.2%) まで減少したが，1ヶ月後には回復を認めた (Fig. 2)。治療開始後2ヶ月間は輸血を必要としたが，ATG 投与後3週間ぐらいから網赤血球数の増加が出現し，その後，血小板数の上昇も認められた。さらに遅れて赤血球数が回復し，後期には輸血を全く必要としなくなった。96年3月に退院となり，1999年8月現在，好中球数1890/



あるいは間接的に造血を刺激する作用のあることが知られている<sup>10)</sup>。治療効果の予測であるが、HLA-DRB1のタイピングを施行し、DRB1\*1501を保有する場合は、CyA療法が奉効する例が多く、CyA単独療法でもgood response(著効)が得られる可能性があると報告されている<sup>11)</sup>。本報告ではこの観点から全例、HLA-DRB1のタイピングを施行したが、無効例の症例1がHLA-DRB1\*1501ヘテロ接合体で、著効例の症例5がHLA-DRB1\*1501ホモ接合体を有していた。著効を示した症例5では、CyAのみでも有効であった可能性があるが、HLA-DRB1\*1501を保有するCyA有効例では造血能の維持に対してもCyAを必要とする例が多いので、症例5では著効後もCyAの継続投与が必要と思われる。

我々が経験した6例において診断後3ヶ月未満の5症例は全例で著効が得られた。無効であった症例1は診断から約6年が経過しており、罹病期間の長期化に伴い、幹細胞の障害が不可逆性になったと考えられる。このことからATG・CyA併用療法は、診断後早期、出来れば3ヶ月以内に治療を開始することが最も重要であると思われる。また、症例5のようにMDSとの鑑別が困難でATG・CyA投与によってMDSが顕在化することを恐れ、投与が躊躇される症例がある。しかし、明らかなMDS症例においてもATGやCyAが造血回復に有効な例がまれに報告されており<sup>12),13)</sup>、染色体検査にて7番染色体欠損のような予後不良な染色体異常がなければ、再生不良性貧血として、

ATG・CyAを投与しても支障ないと思われた。

ATG製剤は異種蛋白であることから、CyAと比較して副作用が多く、十分な使用上の注意が必要である。特に発熱、発疹、掻痒感は高率に出現し、我々の報告例も6例中4例(67%)に認められた。また、時に致死的なアナフィラキシーショックを起こすこともある。予防にはステロイド(mPSL)を併用投与することが効果的である。さらにATG投与後には血小板減少症とリンパ球の急激な減少が必発する。血小板減少は製剤中に含まれる抗血小板抗体によると考えられている。リンパ球減少はTリンパ球(特にCD8陽性リンパ球)に対する高度な特異性によるものであり、T細胞の抑制は細胞性免疫能の低下をもたらすため、ATG投与後はグラム陰性桿菌、ウイルス、真菌などによる感染症に注意が必要である。また、原則的に、感染症が存在する場合はATGの投与は見合わせるべきであると思われる。

ATG, CyAを併用した免疫抑制療法により、再生不良性貧血の治療効果は著しく改善し、HLA一致同胞間の骨髄移植にも劣らない治療効果が得られている。よって血縁者間にHLA一致ドナーが得られない患者にとっては第一選択になると考えられる。しかしながら、①ATG投与後の再発例に対する2回目のATG投与の是非、②免疫抑制剤であるATG・CyA併用療法後の骨髄異形成症候群、急性骨髄性白血病発症などの二次性発癌の問題なども残されており、今後の課題と思われる。

## 参 考 文 献

- 1) Bacigalupo A, Broccia G, Corda G, Arcese W, Carotenuto M, Gallamini A, Locatelli F, Mori PG, Saracco P, Todeschini G, Coser P, Iacopino P, van Lint MT, Gluckman E: Antilymphocyte globulin, cyclosporin, and granulocyte colony stimulating factor in patients with acquired severe aplastic anemia (SAA): a pilot study of EBMT SAA working party. *Blood* 85: 1348-1353, 1995
- 2) Rosenfeld SJ, Kimball J, Vining D, Young NS: Intensive immunosuppression with antithymocyte globulin and cyclosporin as treatment for severe aplastic anemia. *Blood* 85: 3058-3065, 1995
- 3) 高久史磨, 浦部晶夫: 再生不良性貧血の治療に関するプロスペクティブ研究 (I).

厚生省特定疾患特発性造血障害調査研究班昭和58年度研究業績報告書. 1984, pp 127-133

- 4) Young NS, Maciejewski J : The pathophysiology of acquired aplastic anemia. *N Engl J Med* 336 : 1365-1372, 1997
- 5) Nakao S, Takami A, Takamatsu H, Zeng W, Sugimori N, Yamazaki H, Miura Y, Ueda M, Shiobara S, Yoshioka T, Kaneshige T, Yasukawa M, Matsuda T : Isolation of a T-cell clone showing HLA-DRB1 0405-restricted cytotoxicity for hematopoietic cells in a patient with aplastic anemia. *Blood* 89 : 3691-3699, 1997
- 6) Brodsky RA, Sensenbrenner LL, Jones RJ : Complete remission in severe aplastic anemia after high-dose cyclophosphamide without bone marrow transplantation. *Blood* 87 : 491-494, 1996
- 7) Morales-Polanco MR, Sanchez-Valle E, Guerrero-Riversa S, Gutierrez-Alamillo L, Delgado-Marquez B : Treatment results of 23 cases of severe aplastic anemia with lymphocytapheresis. *Arch Med Res* 28 : 85-90, 1997
- 8) Gluckman E, Esperou-Bourdeau H, Baruchel A, Boogaerts M, Briere J, Donadio D, Leverger G, Leporrier M, Reiffers J, Janvier M, Michallet M, Stryckmans P : Multicenter randomized study comparing cyclosporin-A alone and antithymocyte globulin with prednisolone for treatment of severe aplastic anemia. *Blood* 79 : 2540-2546, 1992
- 9) Teramura M, Kobayashi S, Iwabe K, Yoshinaga K, Mizoguchi H : Mechanism of action of antithymocyte globulin in the treatment of aplastic anaemia : in vitro evidence for the presence of immunosuppressive mechanism. *Br J Haematol* 96 : 80-84, 1997
- 10) Kawano Y, Nissen C, Gratwohl A, Speck B : Immunostimulatory effects of different antilymphocyte globulin preparations : a possible clue to their clinical effect. *Br J Haematol* 68 : 115-119, 1988
- 11) Nakao S, Takamatsu H, Chuhjo T, Ueda M, Shiobara S, Matsuda T, Kaneshige T, Mizoguchi H : Identification of a specific HLA class II haplotype strongly associated with susceptibility to cyclosporin-dependent aplastic anemia. *Blood* 84 : 4257-4261, 1994
- 12) Nakao S, Yamaguchi M, Takamatsu H, Takami A, Chuhjo T, Ueda M, Shiobara S, Matsuda T : Relative erythroid hyperplasia in the bone marrow at diagnosis of aplastic anemia : a predictive marker for a favourable response to cyclosporin therapy. *Br J Haematol* 92 : 318-323, 1996
- 13) Molldrem JJ, Caples M, Mavroudis D, Plante M, Young NS, Barrett AJ : Antithymocyte globulin for patients with myelodysplastic syndrome. *Br J Haematol* 99 : 699-705, 1997