□ 症 例 報 告

薬剤性溶血性貧血および無顆粒球症を同時期に発症した1例

佐藤 修司・高橋 徹・林 敏昭・岡田 至全
得能 徹也・安達 正晃・日野田 裕治
遠藤 輝夫*・今井 浩三

Jpn. J. Clin. Immun., 19 (5) : 498~504, 1996.

Drug induced hemolytic anemia associated with agranulocytosis

Shuji Satoh, Tohru Takahashi, Toshiaki Hayashi, Yoshimasa Okada,
Tetsuya Tokunoh, Masaaki Adachi, Yuji Hinoda,
Teruo Endoh* and Kohzoh Imai

*First Department of Internal Medicine and *Department of Blood Transfusion,
Sapporo Medical University School of Medicine*

【Summary】

A 27-year-old female was admitted to a hospital because of severe anemia (hemoglobin 4.9 g/dl) after taking PL® (a drug for common cold consisted of Salicylamide, Acetaminophen, Caffeine and Promethazine methylene di-salicylate) and Cefadroxil (an oral antibiotic) for ten days. History and laboratory data led to a diagnosis of drug induced hemolytic anemia. 6 units of concentrated red blood cells were transfused and the suspected drugs were discontinued immediately. Though resolution of anemia and no further hemolysis were observed, progressive leukocytopenia developed since four days after the admission. Bone marrow aspiration revealed marked decrease of granulocytic series. The patient was transferred to our hospital and was isolated under laminar air-flow to prevent her from bacterial and fungal infections. She was treated with prednisolone and granulocyte-colony stimulating factor. She recovered from leukocytopenia in two weeks without suffering from any life-threatening infection.

We extensively analyzed the suspected drugs and mechanism of hemolysis and granulocytopenia. Cefadroxil is turned out to be contributed to hemolysis by an immune complex mechanism. Cefadroxil and Salicylamide were suggested to be involved in granulocytopenia by the induction of antibodies against the leukocytes to which these drugs were bound. Thus Cefadroxil was regarded as a causative drug of both hemolysis and

granulocytopenia. This case is of interest for analyzing drug-induced blood abnormality because it is very rare that two lineage of blood were injured by one drug at the same time as far as we know.

Key words : drug induced hemolytic anemia,
drug induced agranulocytosis,
Cefadroxil,
Salicylamide

【概 要】

症例は27歳、女性。PL[®]とCefadroxilを10日間服用したところ、重篤な貧血が起きたため近医に入院した。病歴および検査所見により、薬剤起因性溶血性貧血と診断された。濃厚赤血球の輸血と被疑薬の内服中止により貧血は改善したが、入院後4日目より顆粒球減少症が進行した。骨髓穿刺にて骨髓球系細胞の著減が認められた。患者は当科に転入院となり、清潔区域に隔離され、PrednisolonおよびG-CSFの投与を行ったところ、致命的な感染症に罹患することなく2週間で顆粒球減少症から回復した。われわれは本症例の血液障害の被疑薬とその機序について解析を行った。Cefadroxilが免疫複合体型の溶血性貧血に関与していたことが判明した。CefadroxilおよびSalicylamide (PL[®]の成分)により抗顆粒球抗体が誘導され、顆粒球減少症が惹起されたことが示唆された。

I. はじめに

薬剤性血液障害の起因薬剤を推定する検査方法はいくつあるが、その同定は必ずしも容易ではない。今回、われわれは薬剤性溶血性貧血および無顆粒球症を同時期に発症した症例を経験したが、薬剤添加間接クームス試験および薬剤添加顆粒球間接蛍光抗体法により起因薬剤を推定したところ、Cefadroxilが双方の血液異常に関与したと考えられた。われわれが検索したかぎり、Sodium valproateやDiclofenac sodiumによって溶血性貧血と血小板減少症を併発した症例は報告されているが^{1,2)}、薬剤性溶血性貧血と無顆粒球症を併発した症例は報告されていない。したがって、本症例は興味ある症例と思われるので報告する。

II. 症 例

症 例：27歳、女性、主婦。

主 訴：発熱、全身倦怠感。

家族歴：特記すべきことなし。

既往歴：花粉症。

現病歴：平成7年6月10日頃より感冒様症状のためPL[®]、Cefadroxilを10日間服用したところ、38℃の発熱、全身倦怠感を自覚したため近医を受診した。赤血球160万/ μ l、Hb4.9g/dlと正球形正色素貧血

を認め、また総ビリルビン2.2mg/dl（間接ビリルビン1.8mg/dl）であり、褐色尿も認めたため薬剤性溶血性貧血を疑われ入院した。濃厚赤血球を6単位輸血したところ、貧血の改善が認められた。さらなる溶血は認められなかったが、入院4日目より顆粒球減少症が出現した。骨髓穿刺にて骨髓球系細胞の著減が認められ、6月28日薬剤起因性無顆粒球症の疑いで当科に転入院となった。

入院時現症：身長160cm、体重49kg、体温36.6℃、脈拍90/分、整。血圧114/74mmHg。眼瞼結膜貧血様、眼球結膜に黄疸なし。咽頭に発赤を認めた。表在リンパ節腫脹を認めず。胸腹部理学的所見に異常を認めず。

入院時検査所見（表1）：当院入院時、総ビリルビンおよびLDHは正常であったが、ハプトグロビン低下と網状赤血球増加が認められた。クームステストは陰性であった。白血球数500/ μ l、顆粒球2%と顆粒球の著減を認めた。骨髓所見では有核細胞数が16,000/ μ l、顆粒球系細胞は7.7%であった。各種自己抗体は全て陰性であった。

経 過（図1）：感染症予防のためクリーン管理を行い、Prednisolon (PSL) およびG-CSFを投与した。貧血は徐々に改善し、顆粒球も入院8日目頃より増加し始めた。重篤な感染症に罹患することなく入院

表 1 入院時検査所見

Peripheral blood			Blood chemistry	
RBC	$3.25 \times 10^6/\mu l$	↓	TP	6.9 g/dl
Hb	10.5 g/dl	↓	Alb	4.4 g/dl
Ht	29.4%	↓	TTT	4.2 MU ↑
Ret	51%	↑	ZTT	10.6 KU ↑
WBC	$0.5 \times 10^3/\mu l$	↓	T. Bil	0.7 mg/dl
Seg	2%		AST	13 IU/l
Lym	96%		ALT	29 IU/l
Mono	0%		LDH	223 IU/l
Eos	1%		BUN	10 mg/dl
Bas	0.5%		Cr	0.4 mg/dl
Aty-Lym	0.5%		Na	141 mEq/dl
Plt	$405 \times 10^3/\mu l$	↑	K	4.0 mEq/dl
Bone marrow			Serological test	
NCC	$1.6 \times 10^4/\mu l$	↓	CRP	1.65 mg/dl ↑
Granulocytic series	7.7%	↓	s-Fe	192 $\mu g/dl$ ↑
neutrophils	0%		Ferritin	515 ng/ml ↑
basophils	0%		TIBC	220 $\mu g/dl$
eosinophils	7.7%		Erythropoietin	25.8 mU/ml
Erythrocytic series	55.4%	↑	Haptoglobin	32 mg/dl ↓
pro-ery	1.0%		ANF	(-)
base	2.4%		CH 50	36.8 U/ml
poly	42.5%		Anti-DNA	2.5 IU/ml
ortho	9.5%		Anti-Sm	(-)
Lymphocytes	34.9%	↑	Anti-RNP	(-)
Plasma cells	1.9%		LE test	(-)
Megakaryocytes	0.04%		Coombs' test	
Karyotype	46 XX		Direct	(-)
Urinalysis			Indirect	(-)
occult blood	(-)		Ham test	(-)
Protein	(-)		Sugar water test	(-)

後 20 日目で退院となった。

原因薬剤の解析：

1) Drug lymphocyte stimulation test (以下, DLST と略す) (表 2) : 96 well microplate に患者リンパ球が, $2.0 \times 10^5/\text{well}$ になるように分注し, それに薬剤溶液を 6 段階に希釈したもの ($\times 50$, $\times 250$, $\times 1,250$, $\times 6,250$, $\times 31,250$, $\times 156,250$) を添加した。培養器で 72 時間培養し, ^3H -Thymidine ($0.25 \mu\text{Ci}/\text{well}$) を添加し, さらに 16 時間培養した。リンパ球に取り込まれた ^3H -Thymidine の β 線量を液体シンチレーションカウンターで測定したところ, PL® のみが薬剤濃度が $\times 50$ で stimulation index 252% と陽性所見を示した (181% 以上を陽性)。

2) 溶血性貧血の起因薬剤の解析 (表 3) : Technical Manual of the American Association of Blood Banks (AABB テクニカルマニュアル) に基づいて, O 型ブール赤血球に患者血清, 被疑薬, 補体, PBS を混和し, 室温および 37°C で凝集反応を観察した。Cefadroxil と患者血清の添加により, 補体の有無に関係なく室温で強い凝集反応が認められた。他の被疑薬はいずれも陰性であった。薬剤と血球を反応させ, PBS で洗浄した後では, 患者血清を添加しても凝集反応が認められなかった。したがって本症例における溶血はハプテン型ではなく免疫複合体型によるものと考えられた。なお, 凝集反応の分類は, AABB テクニカルマニュアルに基づいて, 背景透明で 1 つの大き

図 1 臨床経過

表 2 DLST

	S. I. ^a (%)
PL [®]	252
Cefadroxil	117
Ibuprofen	107
Chloramphenicol	143
Diclofenac sodium	91

^astimulation index

表 3 Cefadroxil による凝集反応

	R. T. ^a	37°C
Pt's serum + Cefadroxil	4+	1+
Pt's serum + PBS ^b	—	—
Pt's serum + Cefadroxil + complement	4+	1+
Pt's serum + PBS + complement	—	—
Cefadroxil + complement	—	—
PBS + complement	—	—

^aroom temperature^bPhosphate buffered saline

Fluorescence intensity

図 2 フローサイトメトリーによる抗顆粒球抗体の検出

点線は被疑薬を正常人血清に添加した陰性コントロールで、実線は被疑薬を患者血清に添加したもの。Salicylamide と Cefadroxil でヒストグラムが右方へシフトしており、陽性であることを示している。

な凝集塊を認めるものを4+、背景が赤く濁り非常に細かい凝集を認めるものを1+と判定した。

3) 抗顆粒球抗体の検出 (図2): O型正常人顆粒

球沈渣を1%パラホルムアルデヒドで固定し、患者血清および被疑薬を添加した。PBSで洗浄後その顆粒球沈渣に2次抗体としてFITC標識抗ヒトIgG抗体

を反応させ、フローサイトメトリーにて測定した。Cefadroxil および PL[®]の成分である Salicylamide で陽性所見が認められた。

III. 考 察

日常臨床上で薬剤による血液障害はしばしば経験するが、薬剤による血液障害の50%以上が白血球系副作用で、血小板系が約30%、3系統に障害が及ぶ場合が11%で、赤血球系のみの副作用は約8%とされている³⁾。起因薬剤は抗生物質が約50%といちばん多く、ついで消炎鎮痛剤(約20%)、抗癌剤(約10%)と続く⁴⁾。本症例では溶血性貧血にはセフェム系抗生物質である Cefadroxil が関与したと考えられた。また無顆粒球症の発症には Cefadroxil および PL[®]の成分である Salicylamide が相加・相乗効果をもって関与したと推定された。したがって、Cefadroxil は同時に2系統の血液障害に関与したと考えられる。

薬剤性溶血性貧血はその機序によりハプテン型、免疫複合体型、自己免疫型の3種類に分類される。第一世代セフェム系抗生物質はハプテン型の溶血性貧血を起こすことが多いとされている。薬剤添加による間接クームテストにより、本症例の溶血性貧血は Cefadroxil による免疫複合体型によるものと推測された。また、37℃に加温した時よりも室温で強く凝集反応が惹起された事より、IgM型抗体の関与が考えられた。これはIgM型抗体が免疫複合体型の溶血性貧血に関与することが多いという事実と一致する⁵⁾。

本症例の特徴は溶血性貧血とともに、無顆粒球症を併発した点にある。薬剤起因性無顆粒球症の致命率は10~48%とされており、腎不全や菌血症を合併した場合には予後不良とされている。また、顆粒球数の回復には15~30日を要するとされている⁶⁾。免疫性白血球減少症の際には抗好中球抗体が検出される事が多い。その検出方法としては、好中球凝集法⁷⁾、蛍光抗体法^{8,9)}、酵素抗体法¹⁰⁾、細胞障害試験¹¹⁾などがある。それぞれの検査の陽性率は、林らの報告によると、好中球凝集法では75%、酵素抗体法では約50%、細胞障害試験では50%とされており¹²⁾、また、小林らの報告によれば蛍光抗体法での陽性率は約80%とされている¹³⁾。今回、われわれは比較的高い検査方

法である蛍光抗体法によって、Cefadroxil および Salicylamide によって感作された顆粒球に対する抗体の存在を確認した。しかし、蛍光抗体法では顆粒球のFc受容体を介した非特異的な結合などによって偽陽性を生じることがあるとされ⁸⁾、Verheugtらは好中球凝集法などの他の検査と組み合わせて行うのが望ましいとしている⁹⁾。今回、われわれは蛍光抗体法だけで抗顆粒球抗体を誘導した起因薬剤を推定したが、この問題については、今後さらに検討する必要があると思われる。

Menitoveらは患者血清中の抗顆粒球抗体によってCFU-GMの抑制が認められたと報告している¹⁴⁾。本症例でも骨髓所見で幼若顆粒球の消失を認めており、抗顆粒球抗体が顆粒球前駆細胞レベルの障害を引き起こし無顆粒球症を惹起した可能性が示唆された。それに対して、骨髓の赤芽球系細胞が過形成を示していたことより溶血性貧血は末梢レベルで起きていた可能性が示唆された。顆粒球のkineticsを考慮すると、骨髓の顆粒球前駆細胞レベルで障害が起きると4~5日で循環顆粒球の数が減少しはじめることとなる。本症例では、溶血性貧血と無顆粒球症との発症時期に4日間のズレが生じている。その原因としては、このような障害される細胞の分化段階の違いに起因したのかもしれない。

今回、われわれはDLSTのstimulation indexの陽性率として、北見らが95%の信頼度で算出した181%¹⁵⁾を採用したが、本症例はPL[®]でのみ陽性を示した。DLSTの陽性率に影響を与える因子としては薬剤濃度、検査時期、患者の免疫状態や併用薬剤の影響などがあげられ¹⁶⁾、Cefadroxilで陽性を示さなかった原因としてこれらの因子の関与が疑われた。北見らの報告によればDLSTはかなり信頼性の高い検査と評価されているが¹⁷⁾、薬疹出現時でも起因薬剤が40%しか陽性を示さなかったという報告もあり¹⁸⁾、DLSTの結果には十分な検討が必要と思われる。

IV. 結 語

以上、薬剤性溶血性貧血および無顆粒球症を同時期に発症し、起因薬剤について解析しえた1症例を報告した。

文 献

- 1) 藤枝幹也・倉繁隆信：バルプロ酸投与後，溶血性貧血と血小板減少をきたした1小児例。小児科臨床，42：1043～1046，1989.
- 2) Kramer, M.R., Levene, C., Hershko, C. : Severe reversible autoimmune haemolytic anemia and thrombocytopenia associated with diclofenac therapy. *Scand. J. Haematol.*, 36 : 118～120, 1986.
- 3) 天野正道・藤岡成徳：薬剤による貧血。診断と治療，82：2139～2144，1994.
- 4) 笹田昌孝：薬剤による血液異常と免疫学的機序，日常診療と血液，5：69～75，1995.
- 5) 三輪史朗：薬剤性溶血性貧血。日本臨床，48：316～322，1990.
- 6) JULIA, A., OLONA, M. et al. : Drug induced agranulocytosis, prognostic factors in a series of 168 episodes. *British Journal of Haematology.*, 79 : 366～371, 1991.
- 7) Jiang, A.F., Lalezari, P. : A micro-technique for detection of leukocyte agglutinins. *J. Immunol. Methods.*, 7 : 103～108, 1975.
- 8) Verheugt, F.W.A., von dem Borne, A.E.G.Kr., van Noord-Bokhorst, J.C., Engelfriet, C.P. : Autoimmune granulocytopenia. The detection of granulocyte autoantibodies with the immunofluorescence test. *Br. J. haematol.*, 39 : 339～350, 1978.
- 9) Verheugt, F.W.A., von dem Borne, A.E.G.Kr., Decary, F., et al : The detection of granulocyte alloantibodies with an indirect immunofluorescence test. *Br. J. Haematol.*, 36 : 533～544, 1977.
- 10) Doughty, R., James, V., Magee, J. : An enzyme linked immunosorbent assay for leukocyte and platelet antibodies. *J. Immunol. Methods.*, 47 : 161～169, 1981.
- 11) Logue, G.L., Kurlander, R., Pepe, P. et al. : Antibody-dependent lymphocyte-mediated granulocyte cytotoxicity in man. *Blood*, 51 : 97～108, 1978.
- 12) 林 悟・清水知子・青地 寛・他4名：ELISAによる抗好中球抗体測定法の検討—白血球凝集試験，好中球細胞毒試験との比較。臨床病理，42：527～533，1994.
- 13) 小林正夫・弓場千麻子・他7名：乳児期好中球減少症における抗好中球抗体の検討。臨床血液，30：663～667，1989.
- 14) Menitove, J.E. et al. : Antigranulocyte antibody induced leukopenia associated with phenytoin hypersensitivity. *Clin. Res.*, 26 : 352, 1978.
- 15) 内田重行・北見啓之：薬剤アレルギー性肝障害におけるリンパ球刺激試験の基礎的検討。肝臓，30：439～443，1989.
- 16) 中島一格：リンパ球刺激試験。Medical Technology, 21 : 722～726, 1993.
- 17) 北見啓之・他：薬剤アレルギー性肝障害におけるリンパ球刺激試験の信頼性。SRL宝函，5：38～42，1981.
- 18) 渥美令子・南光弘子：薬疹におけるリンパ球幼若化試験（LST）の臨床応用の検討。厚生年金病院年報，16：207～210，1989.