□ 症 例 報 告

白血球除去療法で緩解に至った薬物療法 抵抗性の難治性潰瘍性大腸炎の 1 例

澤田 康史・大西 国夫・小 坂 正
江 頭 明盛・木下 隆弘・天野 國幹
山 村 誠・里見 匡迪・下 山 孝

Jpn. J. Clin. Immun., 20 (2) : 126~133, 1997.

Remission by leukocytapheresis for a patient with ulcerative colitis found refractory by conventional drug therapies

Koji Sawada, Kunio Ohnishi, Tadashi Kosaka,
Akimitsu Egashira, Takahiro Kinoshita, Kuniki Amano,
Makoto Yamamura, Masamichi Satomi and Takashi Shimoyama

*Fourth Department of Internal Medicine, Hyogo College
of Medicine, Nishinomiya, Hyogo*

【Summary】

A 40-year-old male was admitted to our hospital on August 30, 1994 to receive a new ulcerative colitis (UC) therapy, leukocytapheresis (LCAP). On the admission day, he had bloody stool 5 to 6 times/day, abdominal pain, slight fever, and hypoproteinemia. His UC type was moderately severe left-sided colitis with pseudopolypsis. Prior to admission to our hospital, his condition had not improved for about 9 months, despite drug therapies such as salicylazosulphapyridine, intravenous high dose prednisolone, protease inhibitor, intraarterial hydrocortisone sodium succinate, 4 series of pulse therapies with methylprednisolone, enema of corticosteroid, azathioprine (Imuran), and cyclosporine at another hospital. Thus he was introduced to our college hospital and treated by LCAP since September 1. After 10 LCAP sessions, remission was observed and the patient was discharged on December 23. Until he was later operated on for heavy bleeding after he had discontinued treatment and had drunk heavily, he had maintained remission for 13 months with LCAP only once a month even after we gradually decreased the other medical supports and stopped all of them. After LCAP, the normalization of high percentage of leukocytes presented HLADR⁺ and lymphocytes presented CD 11 a⁺ CD 8⁺ was also observed. This suggests LCAP intercepts

the excess immune reaction in UC by removing leukocytes.

Key words：白血球除去療法

細胞免疫機能

顆粒球機能

血小板粘着能

【概 要】

我々は、Pseudopolypsis type 左側大腸炎型の難治性潰瘍性大腸炎に対し、白血球除去療法（以下 LCAP と略す）が有効であった症例を経験したので報告する。患者は 40 歳男性。昭和 63 年初発後、サラゾピリン（以下 SASP と略す）、ステロイド（以下 SH と略す）の内服で症状は安定していた。平成 5 年 12 月再燃し、絶食のもと、中心静脈栄養、SASP、SH 強力静注療法、SH 注腸、SH パルス療法、SH 動注、蛋白分解酵素阻害剤、免疫抑制剤等の治療により約 9 カ月間症状が改善せず、平成 6 年 8 月 30 日当院転院。LCAP を併用後より症状の改善を認め、治療 10 回目で緩解となる。投薬を徐々に減量中止するも、1 回/月の LCAP 維持療法で、約 13 カ月間緩解を維持できた。しかし、平成 8 年 2 月、治療の中断と約 1 カ月間の大量飲酒後、多量出血を起こし緊急手術となった。LCAP は、白血球を体外に除去する事で患者の過剰な免疫の悪循環を遮断し、効果を発揮する事が示唆された。

I. はじめに

潰瘍性大腸炎（ulcerative colitis：以下 UC と略す）は、大腸に慢性的な炎症を起こす難治性の炎症性腸疾患であり、その病因に多因子¹⁾の関与が考慮されている。免疫異常では、抗体依存性細胞媒介性細胞障害や異常なサイトカイン産生²⁾、組織浸潤している多核白血球より産生される活性酸素の関与が報告³⁾されて来た。多くは、サルファ剤、ステロイドや免疫抑制剤により安定化するが、緩解と再燃を繰り返す難治例も存在する。白血球除去療法（leukocytapheresis 以下 LCAP と略す）⁴⁻⁶⁾は、上記の難治例の免疫異常に関与すると思われる白血球を、末梢血中より体外に除去し、過剰な免疫反応の悪循環を遮断し、局所炎症の鎮静化を狙ったものである。

症 例：40 歳、男性、会社員。

主 訴：大量下血、水様粘血便下痢（5～6 回/日）、発熱（37.7℃）、左下腹部痛

既往歴：30 歳より花粉アレルギー。

家族歴：特記すべきことなし。

現病歴：昭和 63 年 1 月に発症後、近医で経過観察され、サラゾピリン（salicylazosulphapyridine：以下 SASP と略す）、副腎皮質ステロイド（steroid hormone：以下 SH と略す）剤の内服治療にて、軽度の再発をみるも症状は安定していた。平成 5 年 12 月

日より、39℃台の発熱を伴った強い腹痛と、1 日 8～10 回の水様性血性下痢出現し、SASP、SH 内服治療にて改善ないため、平成 6 年 4 月 7 日某病院紹介受診、6 月 2 日入院となる。絶食のもと、高カロリー輸液栄養（IVH）、SASP 内服、SH 大量静脈内投与、SH 注腸（ステロネマ 100 ml/日）、SH パルス療法（メチルプレドニゾロン 1,000 mg/日を 3 日間×4 回）、SH 動脈内投与（ソルコーテフ 500 mg/日）、免疫抑制剤（イムラン 100 mg/日、サイクロスポリン 200 mg/日）、蛋白分解酵素阻害剤（ミラクリット 20 万単位/日）等の治療を施行されたが改善なく、8 月中旬より計 20 単位の輸血が必要となる大量下血が出現した（臨床経過：図 1）。手術前の LCAP trial 目的で 8 月 30 日当院転院となる。

入院時の便回数は、一日 5～6 回の水様粘血便で、大腸内視鏡検査（図 2 a）にて、粘膜は易出血性で浮腫状であり、血管透見は見られず、びらんと管腔の狭小化を伴う多発 pseudopolyps が、直腸より内視鏡を挿入できた S 状結腸部までび慢性・連続性に認められた。注腸 X 線検査（図 3）では、直腸から下行結腸中部にかけ、内視鏡検査で認められたのと同じ管腔の狭小化を伴う多発する pseudopolyps がび慢性・連続性に認められ、pseudopolyps を伴う UC の左側大腸炎型中等症と診断した。

入院時現症：体重 58 kg、身長 174 cm、血圧 140/

図 1 某大学病院入院時より当院退院時までの約7カ月間の臨床経過, 治療内容と白血球数 ($\times 1/100$), 白血球分類 (%) の変動を示す。

70 mmHg, 体温 37.7°C, 脈拍数: 94 回/分・整。眼結膜に軽度の貧血を認めたが, 黄染はなく, 表在リンパ節も触知しなかった。胸部は聴打診上異常なかった。また, 左下腹部に圧痛を認め, SH の副作用と思われる満月様顔貌および中心性肥満を認めた。

入院時血液検査所見 (表 1): CRP 1.0 mg/dl, 赤沈 25 mm/時間, 末梢血では, 赤血球 $374 \times 10^4/\mu\text{l}$, 白血球 $9,500/\mu\text{l}$ であった。また, 血清生化学検査で, 血清蛋白 4.8 g/dl, アルブミン 3.1 g/dl, コリンエステラーゼ 52 U と低栄養状態であり, 血小板粘着能は異常高値を示した。その他, 空腹時血糖が IVH 栄養のためやや高い以外, 肝腎機能, 免疫グロブリンは正常, 抗核抗体, 抗 DNA 抗体, リウマチ因子, 免疫複合体 (Ciq, C3d) は陰性で, 便培養検査でも, 腸管系病原菌は認めなかった。

当院転院後, 引き続き IVH 栄養と SASP (3g/日), 免疫抑制剤 (イムラン 50 mg/日) の内服, SH (プレドニン 60 mg/日) の静注, SH (ステロネマ 1 本/日) 注腸を継続したまま, その他の治療は中止し, 患者の同意を得た 9 月 1 日より, 薬物療法抵抗性の難治性 UC に対する LCAP を開始した。

1. 治療方法⁶⁾

まず, 治療前に本治療の期待できる効果と体外循環治療に伴う副作用を十分説明し, 文章で患者の同意を得, 本治療を開始した。まず, 一方の肘窩あるいは大腿静脈より, 血液ポンプで血液を体外に脱血し, 抗凝固化した後, 白血球除去器 (旭メディカル社製セルソーバ) の中を通過させ白血球を除去した。治療後の血液は, 他方の静脈に返血し, 治療は毎回, 毎分 50 ml の流速で約 1 時間, 1 治療当たり約 3,000 ml の血液を処理した。1 治療当たり約 10^{10} 個の白血球が除去され, 白血球除去器の前後で比較すると, 顆粒球・単球は 96% 以上, リンパ球は約 70% 除去された。LCAP を週に 1 回, 計 5 回施行し初期集中治療とした。また, 本治療が有効であったので, 約 4 週 (2~6 週) に 1 回の治療を続け, 維持療法とした。

2. 検討項目

1) 臨床症状, 下部消化管内視鏡検査, 2) 炎症反応 (CRP と血沈), 白血球数, 白血球分画, 3) 免疫学的検討: flow cytometry (T, B, CD3, CD4, CD8, OKT10, NKH-1, HLADR の mono-color と, HLADR と CD3, HLADR と CD4, HLADR

図2 大腸内視鏡検査所見（肛門より約20 cm 口側S状結腸部）。

a：白血球除去療法前

b：白血球除去療法10回後

10回の治療後，出血・びらん・潰瘍は消失し，内視鏡的に緩解と診断。

c：白血球除去療法22回後（平成7年12月21日）

退院から約1年後の内視鏡検査では，血管透見ははっきりしないものの，観察範囲すべてに渡り，出血・びらん・潰瘍を認めず，内視鏡的にUC緩解継続と診断。

とCD8，CD4と4B4，CD4と2H4，CD11aとCD8のtwo color：HLADRは全白血球に対する表面抗原の認識で，他はほぼすべてリンパ球に対する表面抗原である），NK assay，好中球機能（遊走能，貪食能，NBT還元能），4）肝腎機能等を検討した。

3. 効果判定⁶⁾

上記検討項目を治療前，初期集中治療後，維持療法

5回後に評価し，治療効果と副作用を検討した。注腸X線検査は，治療前とLCAP8回終了後に2回行った。

図1上段に臨床経過と治療内容を示す。LCAP1回後より，腹痛，発熱は消失し，1日5～6回の水様粘液便下痢は1日3回となった。3回の治療後より，便回数はほぼ1日2回の泥状便となり，顕血便は消失した。内視鏡では，5回の治療で緩解には至らなかった

図 3 白血球除去療法前の注腸 X 線検査所見。

が、臨床症状の改善を認めたため治療を継続した。7回の治療後、食事を開始した。SHの減量、LCAP治療頻度の低下、そして食事開始によっても臨床症状の増悪を認めず、有形便の排泄（軟便）を認め、次第に便潜血反応は陰性となった。LCAP 8 回後の注腸 X 線検査では、管腔の狭小化は改善せず、一旦起こった強い線維化による狭窄は、炎症が回復しても残存することを示した（写真示さず）。10 回目の治療後、内視鏡検査で緩解（図 2 b）を示し、12 月 23 日退院となった。入院中 11 月初旬より肝機能障害が出現し始め、徐々に悪化し、GOT 276, GPT 1,374 と上昇したため、SASP の肝障害を疑い SASP を中止した所、特に処置なく正常化した。白血球数は、図 1 下段に示すよう LCAP 前約 $1\text{万}/\mu\text{l}$ あったものが、1 回の治療で徐々に減少し、1 週間後 $6,000/\mu\text{l}$ となった。しかし、治療を継続しても、それ以上の低下はなかった。白血

球数の減少と共に、多核白血球/リンパ球比も徐々に低下正常化し、後安定化した。

その後維持療法を続け、平成 7 年 4 月 20 日の内視鏡検査で緩解が維持できていたためイムランを中止した。SH は外来通院後も引き続き減量し、7 月で SH 注腸も含め SH を完全に離脱した。12 月 21 日の内視鏡検査（図 2 c）も緩解状態であり、1 回/月の LCAP 維持療法で約 13 カ月間緩解を維持できた。しかし、残念なことに、平成 8 年元旦より約 1 カ月間大量飲酒を続け、治療に 2 カ月間来院せず、同年 2 月に急激な再発を起こし、多量出血で緊急手術となった。維持療法期間中は、肝腎機能、免疫グロブリン等の免疫・生化学的検査値に異常を認めず、また、白血球数の異常な減少や他の LCAP に伴う副作用もなく、LCAP を安全に施行できた。

炎症反応は、5 回の強化療法後で CRP が 1.0 より

表 1 入院時検査所見

ESR	25 mm/hr	(< 10)	ZTT	2.0 U	(3 - 12)
CRP	1.0 mg/dl	(< 0.3)	TTT	1.4 U	(< 5.5)
WBC	95 x 10 ² /μl	(50 - 80)	ALP	2.4 BLU	(0.8 - 2.9)
Neutrophil	83.0 %	(38 - 58)	LAP	154 GRU	(100 - 200)
Lymphocyte	10.0 %	(26 - 47)	γGTP	52 U/L	(0 - 90)
Monocyte	6.0 %	(3 - 8)	GOT	16 KU	(8 - 40)
Eosinocyte	0.0 %	(2 - 7)	GPT	21 KU	(5 - 35)
Basocyte	1.0 %	(0 - 1)	LDH	396 WU	(50 - 400)
RBC	374 x 10 ⁴ /μl	(380 - 480)	T-Bil	0.5 mg/dl	(0.2 - 1.2)
Hb	11.3 g/dl	(12 - 16.5)	D-Bil	0.2 mg/dl	(0.1 - 0.4)
Ht	34.4 %	(35 - 46)	ChE	52 U/L	(100 - 240)
Plt	17.6 x 10 ⁴ /μl	(12 - 28)	T-Chol	158 mg/dl	(120 - 250)
Biochemical findings			Blood sugar	138 mg/dl	(60 - 110)
Total protein	4.8 g/dl	(6.5 - 8.3)	BUN	10.8 mg/dl	(8.0 - 18.0)
Albumin	3.1 g/dl	(3.5 - 5.0)	Platelet adhesion function 55.5% (22.6 - 43.8)		
A/G	1.7	(1.0 - 1.8)	Autoantibodies		
Alb	64.5 %	(51.2 - 73.8)	anti-nuclear antibody	< 40	(< 40)
α1	3.7 %	(1.4 - 3.4)	anti-DNA antibody	< 20	(< 20)
α2	10.4 %	(5.1 - 11.2)	RF (rheumatoid factor)	0.0 IU/ml	(< 6)
β	11.3 %	(7.1 - 12.1)	Immune complexes		
γ	10.1 %	(8.8 - 27.6)	IC-C1q	< 1 μg/ml	(< 2.9)
Immunoglobulins			IC-C3d	< 4 μg/ml	(< 9.2)
IgG	984 mg/dl	(800 - 1800)	便培養		
IgA	258 mg/dl	(90 - 450)	一般菌	陰性	
IgM	190 mg/dl	(60 - 280)	抗酸菌	陰性	

* 括弧内に正常値を示す

0.2 mg/dl に、赤沈が 25 より 15 mm/時間まで改善し安定化した。

同時期施行した flow cytometry 検査では、以前の発表⁹⁾と同様治療前 CD 8⁺, HLADR⁺, HLADR⁺ CD 3⁺, HLADR⁺ CD 8⁺, CD 11 a⁺ CD 8⁺ 細胞 % が異常高値を示していたが、治療後臨床所見の改善と共に低下した (表 2)。これら活性化細胞は、緩解となった後も高値を示し続け、1 年後にやっと正常化した。飲酒後の増悪期に再び急上昇した (データ示さず)。

治療により臨床所見が改善し、SH を減量すると共に、治療前異常低値を示したサプレッサーインデューサー T 細胞である CD 4⁺ 2 H 4⁺ と NK assay は正常化した。治療前正常下限であった neural cell adhesion molecule を持つ NK 細胞や LAK 細胞を示す NKH-1 陽性細胞 % は、徐々に上昇した。CD 4/8 比は、観察期間中ずっと低値を示し、その他のマーカー比率も、治療により変動しなかった (表 2)。

また、顆粒球機能検査では、食食能が終始やや低めで、遊走能は、LCAP 前は低値であったが、治療により症状が改善するとともに正常化した。NBT 還元

能は、LCAP 前より低下しており、治療後症状が改善しても正常化しなかった。また、NBT 還元能は、SH、免疫抑制剤の投薬中止薬 6 カ月後 (退院 1 年後) においても低値であった。治療前、異常高値を示していた血小板粘着能は、治療後症状の改善と共に一時低値を示したが、その後正常化した (表 2)。

II. 考 察

本症例は患者自身、自己管理ができず、最終的に残念にも手術となったが、あらゆる薬物治療で約 9 カ月間緩解に至らなかった薬物療法抵抗性 UC 患者を LCAP で治療し、13 カ月間緩解を維持できた。本症例のような難治 UC では、活性化細胞の比率が高く、再発を繰り返し慢性化することによって、二次的なリンパ球系の活性化が起こり、いわゆる免疫の悪循環を引き起こすものと推測された。このように、従来の薬剤治療で免疫の悪循環を絶ち切れない場合は、UC の免疫異常の主因と思われる白血球を、末梢血中より体外に除去することで、過剰に起こっている免疫の悪循環を遮断し、局所炎症を沈静化させる必要のある事が示唆された。

表 2 白血球除去療法前, 強化療法後, 維持療法後の炎症反応 (CRP, ESR), flow cytometry, 顆粒球機能検査と単核球幼若化反応の結果

	正常範囲	治療前	強化療法後	維持療法5回後
CRP (mg/dl)	0 - 0.3	1.0	0.2	0.3
ESR (mm/ 時間)	< 10	25	15	6
T 細胞	66 - 89%	82.1	80.3	82.8
B 細胞	4 - 17%	14.5	13.9	14.1
CD3 ⁺	58 - 84%	83.4	81.5	80.3
CD4 ⁺	25 - 56%	26.4	20.3*	25.5
CD8 ⁺	17 - 44%	60.9*	62.2*	57.9*
CD4/8	0.6 - 2.9	0.43*	0.33*	0.41*
OKT10(CD38) ⁺	12 - 42%	34.5	30.0	30.1
NKH-1(CD56) ⁺	3 - 30%	5.7	8.1	10.1
HLADR ⁺	8 - 33%	57.0*	52.8*	43.2*
HLADR ⁺ CD3 ⁺	< 8%	37.1*	34.2*	20.8*
HLADR ⁺ CD4 ⁺	< 6%	4.7	5.3	5.2
HLADR ⁺ CD8 ⁺	< 10%	30.0*	25.8*	16.3*
CD4 ⁺ 4B4 ⁺	12 - 36%	19.4	18.0	19.6
CD4 ⁺ 2H4 ⁺	8 - 37%	4.8*	6.7*	8.7
CD11a ⁺ CD8 ⁺	17 - 35%	62.6*	55.8*	40.2*
NK assay	18-40%	3*	2*	18
顆粒球機能検査				
遊走能	43.6 - 63.6%	30*	44	58
貪食能	24.8 - 42.4%	26	30	29
NBT還元能	26.2 - 38.6%	16*	24*	13*
血小板機能				
粘着能	22.6 - 43.8%	55.5*	3.5	25.6

CRP: C-reactive protein, ESR: Erythrocyte sedimentation rate, *: 異常値を示す

顆粒球は活性酸素や蛋白分解酵素等を放出し, 局所炎症の最前線に居り, 活性化リンパ球はそれ自身の細胞障害作用の他, サイトカイン産生により他の細胞を動員し, 局所粘膜障害を継続・増悪させると考えられる。つまり, 局所組織障害の予備群と考えられる白血球を, 一つ一つの分画で血中より除去するより, 最前線にいる顆粒球, 偵察隊のようなマクロファージを含めた単球, そしてサイトカインという指令を流している指揮官としてのリンパ球を同時除去し, いわゆる cell-cell communication を一時的に遮断することが, 過剰に起こっている異常な免疫反応を効率良く安定化させる手段ではないかと考える。欲を言えば prime された顆粒球, 単球, リンパ球のみをもっと選択的に除去すれば, 少量の細胞除去で同等の効果を得られるかもしれない。詳細は次回に譲るが, 現在我々は, 他の

体外循環治療も UC 治療として有効であるかを検討中で, 今後は白血球除去だけではなく, 白血球が治療器具素材と直接触れ合うことで相互に作用し合い, 免疫反応を調節 (immune modulation) する可能性もある事を見出した。

また, 以前の UC における血小板機能と顆粒球機能異常の報告⁷⁾と同様, 本 UC 患者にも LCAP 前, 血小板粘着能亢進と顆粒球機能異常が認められた。しかし, 治療により症状が改善すれば血小板機能は正常化した。一方, 顆粒球機能異常は, 治療により臨床症状が改善しても, その機能異常, 特に NBT 還元能は改善しなかった。このことは, 血小板機能異常が, 慢性炎症による二次的な変化か, または増悪因子の一つであるだろう事と, 今まで薬剤による機能低下と考えられていた顆粒球機能異常が, UC の免疫異常の内の根

本的な細胞機能異常の可能性がある事を推測させた。

また、サプレッサーインデューサーT細胞比率とNK assayの異常低値や、NKH-1陽性細胞比率の低下は、多量のステロイドや免疫抑制剤の影響^{8,9)}と考えられ、LCAP治療とともに臨床所見が改善し薬剤が減量できるとともに正常化した。これは、UCの発癌との関係を含め、今後の検討課題となるだろう。

III. おわりに

本治療の今後のさらなる検討は必要であるが、LCAP治療は、薬剤抵抗性UCの活動期そして維持療法として、きわめて有効な治療法であり、薬剤治療と手術療法の間に位置する新しい治療法となる可能性がある。

文 献

- 1) Podolsky, D.K. : Inflammatory bowel disease (first of two parts). *N. Eng. J. Med.*, 325 : 928 ~ 937, 1991.
- 2) 武藤徹一郎特集主題II : 潰瘍性大腸炎 I. 病因, 病態, 治療についての最近の知見 *日本大腸肛門病会誌*, 48 : 1129 ~ 1136, 1995.
- 3) 下川 孝・里見匡迪・田村和民・他 : 潰瘍性大腸炎治療の最近の進歩—体外循環を応用する白血球除去療法—外科治療, 73 : 437 ~ 451, 1995.
- 4) Sawada, K., Malchesky, P.S., Nose, Y. : Available removal system : State of the art. "Therapeutic Hemapheresis in the 1990 s." *Curr Stud Hematol Blood Transfus*, Vol 57 : Nydegger UE ed. Basel, Karger, 1990, p. 51 ~ 113.
- 5) Amano, K., Fujimoto, K., Sawada, K., et al. : Filter leukapheresis and immune related disease. *Jpn. J. Apheresis*, 13(2) : 61 ~ 64, 1994.
- 6) Sawada, K., Ohnishi, K., Shimoyama, T. et al. : Leucocytapheresis therapy, performed with leukocyte removal filter, for inflammatory bowel disease. *J. Gastroenterol*, 30 : 322 ~ 329, 1995.
- 7) 澤田康史・大西国夫・下山 孝・他 : 潰瘍性大腸炎に対する白血球除去療法による顆粒球機能と血小板機能の変動について 第81回日本消化器病学会総会にて発表 *日消誌*, 92 : 539, 1995.
- 8) Manzano, L., Alvarez-Mon, M., Abreu, L., et al. : Functional impairment of natural killer cells in active ulcerative colitis : reversion of the defective natural killer activity by interleukin 2. *Gut*, 33 : 246 ~ 251, 1992.
- 9) Gibson, P.R., Jewell, D.P. : Local immune mechanisms in inflammatory bowel disease and colorectal carcinoma. *Gastroenterology*, 90 : 12 ~ 19, 1986.
- 10) 澤田康史・大西国夫・下山 孝・他 : IBDに対する白血球除去フィルターによるleukocytapheresisの経過報告. 東京, 厚生省特定疾患難治性炎症性腸管障害調査研究班 平成5年度研究報告書, 238 ~ 241, 1994.