メシル酸ガベキサートによる骨髄移植後間質性肺炎の治療

脇田 久^{*1)}, 浅井隆善^{*2)}, 平澤 晃・森尾聡子^{*1)}, 青埴信之^{*2)}, 比留間 潔・
遠藤伸行^{*1)}, 五十嵐忠彦^{*3)}, 王 伯銘^{*1)}, 伊藤国明^{*3)}, 吉田 尚^{*1)}

Treatment with gabexate mesilate for interstitial pneumonia after bone marrow transplantation

The incidence of interstitial pneumonia (IP) after bone marrow transplantation (BMT) were decreased by; the fractionation of total body irradiation, anti-cytomegalovirus antibody negative platelet transfusion and prophylactic administration of anti-cytomegalovirus immunoglobulin. However, the establishment of much better prophylactic procedures and treatments for IP after BMT is essential when considering the mortality rate. On the other hand, it has been reported that superoxide and some protease released by neutrophils may be related to the progression of interstitial pneumonia.

Gabexate mesilate (FOY), a protease inhibitor, was used in two cases which were clinically diagnosed to be IP after BMT. Effects of FOY were remarkable with the improvement of clinical findings and recovery from IP. The inhibitory effect of FOY on superoxide production by neutrophils *in vivo* and *in vitro* was examined. FOY did not suppress the production of superoxide by the neutrophils *in vitro*, but did suppress *in vivo*. These results suggest that FOY improved the clinical findings of patients with IP after BMT by the indirect suppression of the production superoxide by the neutrophils.

Hisashi Wakita^{*1)}, Takayoshi Asai^{*2)}, Akira Hirasawa・Satoko Morio^{*1)}, Nobuyuki Aotsuka^{*2)}, Kiyoshi Hiruma・Nobuyuki Endoh^{*1)}, Tadahiko Igarashi^{*3)}, Hakumei Oh^{*1)}, Kuniaki Itoh^{*3)}, Sho Yoshida^{*1)}

^{*1)} The Second Department of Internal Medicine, Chiba University School of Medicine

^{*2)} The Department of Blood Transfusion, Chiba University Hospital

^{*3)} The Department of Internal Medicine, Kashiwa National Hospital

key words: interstitial pneumonia, bone marrow transplantation, protease inhibitor, gabexate mesilate, superoxide

骨髄移植後にみられる間質性肺炎(移植後 IP)はいまだ確立した治療法がなく、骨髄移植成績向上の大きな障害となっている。一方、間質性肺炎の発症、進展に好中球より放出される活性酸素や各種の蛋白分解酵素の関与を示唆する報告がなされている¹⁾。

筆者らは、移植後 IP と診断された症例に対し、蛋白分解酵素阻害剤であるメシル酸ガベキサート(gabexate mesilate, FOY)を使用し良好の結果を得、その好中球活性酸素産生能に対する効果について若干の検討を行ったので報告する。

対象と方法

(1) 対 象

同種骨髄移植を行った4症例に対しFOYを投与した。

症例1は34歳の女性で、AML(M₅)の第一寛解期に、症例2は22歳の女性で、ALL(L₂)の第一寛解期に、症例3はAML(M₂)の第二寛解期に、症例4はCMLの慢

性期にいずれもHLA適合の同胞より同種骨髄移植を施行した。

骨髄移植前処置は症例1, 2, および3ではThomasらの方法²⁾に準じ、サイクロホスファミド(cyclophosphamide, CY)と全身照射(total body irradiation, TBI)の併用により行い、症例4ではTutschkaら³⁾の方法に準じbusulfanとCYの併用により行った。GVHD予防は、short term methotrexateとcyclosporineの併用により行った。移植後IP予防は、TBI施行例では分割照射(3 Gy/日×4日)を用い、また、全例で高力価サイトメガロウイルス(CMV)抗体を含む免疫globulinの投与および血小板輸血の供血者をCMV抗体価陰性ドナーに限ることにより行った。

また、症例3および4では骨髄移植後、遺伝子組換え型ヒト顆粒球刺激因子(recombinant human granulocyte colony stimulating factor, rhG-CSF)を白血球回復促進の目的で使用した。

(2) 間質性肺炎の診断およびFOYの投与

間質性肺炎の診断は佐賀ら⁴⁾の基準に準じ、①乾性咳嗽、呼吸困難の出現、②肺動脈血酸素分圧較差

^{*1)} 千葉大学医学部第二内科学教室

^{*2)} 千葉大学医学部附属病院輸血部

^{*3)} 国立柏病院内科

(AaDO₂)の開大, ③ 胸部レ線写真上の 間質性陰影の出現の3項目のうち2項目以上を満足した場合を間質性肺炎と診断した。

FOY の投与は症例1の場合, 間質性肺炎と診断されたときに 1 mg/kg/day を投与し, 効果不十分のため 2 mg/kg/day に増量した。また, 症例2, 3, および4では, 移植後末梢血好中球が 500/ μ l を超えた時点より, 予防的に FOY 1 mg/kg/day(症例2)または 2 mg/kg/day(症例3, 4)の投与を開始した。FOYの投与は, 移植後90日までを原則とし, この時点で間質性肺炎の所見がみられない場合, 投与を中止した。

(3) 好中球活性酸素産生能の測定

① 好中球の分離・調整: 末梢血をクエン酸採血し, 30%容量の1%ゼラチン加3.5%デキストラン生食を混合静置後, その上清を lymphoprep に重層し遠心した。沈渣を Hanks 液にて2回洗浄し, 混入した赤血球を低浸透圧法にて除去したあと, 好中球を 10⁶ cells/ml になるように Hanks 液に浮遊し, 以下の実験に使用した。好中球は *in vitro* の検討では健常者より, *in vivo* の検討では症例3および4より, FOY 使用前後に採取したものをを用いた。

② 好中球刺激剤および FOY 添加: 好中球の刺激剤としては N-formyl-L-methionyl-L-leucyl-L-phenylalanine(FMLP) と phorbol myristate acetate(PMA) をそれぞれ終濃度 10⁻⁶M, 100 ng/ml で使用した。FOY 添加実験では, FOY 2 mg/kg/hr の点滴静注で到達する血中濃度 0.1 μ g/ml を考慮し, 終濃度が 0.1, 1.0, および 10.0 μ g/ml となるよう刺激剤と同時に FOY を添加した。

③ 好中球活性酸素産生量の測定: 好中球活性酸素産生量は, ルミノール依存化学発光 (luminol dependent chemiluminescence, CL) を測定し, その指標とした。前記の好中球浮遊液に luminol(6.7 $\times$ 10⁻⁵M) を加え5分間 preincubation したあと, 刺激剤を加え直後より発光量を経時的に lumiphotometer(TD-4000, ラボサイエンス社)で測定しその最大発光量 (relative light unit, RLU)を検討した。

FOY 添加実験では刺激剤と同時に各濃度の FOY を添加し, 発光量を測定し非添加時の発光量と比較した。

結 果

(1) 間質性肺炎に対する FOY 投与の結果

症例1(図1 a)は, 移植後26日より乾性咳嗽が出現, 胸部レ線路上, 左下肺野に間質性陰影の出現を認め, 動脈血酸素分圧(PaO₂)は 101.5 mmHg より 83.7 mmHg に低下し, 肺胞気動脈血酸素分圧較差 (AaDO₂) は 1.6 mmHg より 11.9 mmHg と開大がみられたため, 移植後 IP と診断し FOY 1 mg/kg/day の投与を開始した。

a : 臨床経過 [症例 1]

b : 臨床経過 [症例 2]

図 1

FOY 投与開始後3日目(移植後29日)には PaO₂ は 92.0 mmHg, AaDO₂ は 5.1 mmHg と改善し, 咳嗽の軽減, 胸部レ線所見の改善を認めた。

以後も, FOY の投与を継続していたが, 移植後46日より再び乾性咳嗽, 呼吸困難の出現とともに PaO₂ は 81.3 mmHg に低下し, AaDO₂ は 13.5 mmHg と開大がみられたため, 移植後 IP の再燃と考え, FOYを 2 mg/kg/day に増量した。移植後50日には PaO₂ は 103.0 mmHg, AaDO₂ は 0.1 mmHg と著明な改善がみられ, 乾性咳嗽および呼吸困難も軽快した。

症例2(図1 b)は, 移植後40日より移植後 IP の予防を目的に FOY 1 mg/kg/day を使用していたが, 移植後77日より呼吸困難が出現し, 胸部レ線路上(図2 a)左下肺野に間質性陰影の出現を認め, PaO₂ は 96.2 mmHg よ

図 2
a : 胸部レ線 [症例 2]
移植後77日
b : 胸部レ線 [症例 2]
移植85日

a : FOY による好中球 CL 抑制効果(*in vitro* FMLP 刺激)

b : FOY による好中球 CL 抑制効果(*in vitro* PMA 刺激)

図 3

り72.6mmHgに低下し、AaDO₂は6.3mmHgより37.5mmHgと開大がみられたため移植後IPと診断し、FOYを2mg/kg/dayに増量した。増量翌日よりPaO₂およ

びAaDO₂の改善傾向がみられ、増量8日目(移植後85日)にはPaO₂は91.0mmHg、AaDO₂は9.0mmHgと改善し、呼吸困難もほぼ消失し、胸部レ線所見(図2b)の著明な改善を認めた。

なお、症例1の1回目の間質性肺炎を除いてはCRPの変化も微量であったため、抗生物質は使用しなかった。

(2) 好中球活性酸素産生能に対するFOYの効果

① *in vitro*での効果(図3)：刺激剤と同時に各濃度のFOYを添加し測定した好中球CLの結果は、FOY非添加時の最大発光量を100%として各濃度のFOY添加時の最大発光量を比較するとFMLP刺激(図3a)では、FOY終濃度0.1μg/mlで100±0(mean±SD)%, 1.0μg/mlで94±5%, 10.0μg/mlで112±3%であり、PMA刺激(図3b)ではそれぞれ87±3%, 98±2%, 109±4%であった。

FOY添加による両刺激に対する好中球活性酸素産生能の明らかな抑制効果は認められなかった。

② *in vivo*での効果(図4)：FOYを予防的に使用した2症例について経時的に測定した好中球CLの結果は、症例3(図4a)では移植後末梢白血球数の回復とともにFMLP刺激による好中球CLは上昇し、移植後24日には340.9±10.3RLUと健常者好中球CLの正常範囲150.6±55.5RLU(mean±SD, n=50)を大きく上廻る著明な上昇がみられたが、PMA刺激では軽度の上昇がみられたものの、その値は健常者好中球の正常範囲334.6±91.3RLU(mean±SD, n=55)に留まっていた。FOY投与2日目よりFMLP刺激による好中球CLは、著明な低下がみられたが、PMA刺激による好中球CLは変化がみられなかった。

a : FOY による好中球 CL の抑制効果 (*in vivo* [症例 3])

b : FOY による好中球 CL の抑制効果 (*in vivo* [症例 4])

図 4

症例 4 (図 4 b) では、移植後末梢白血球数の回復とともに FMLP 刺激による好中球 CL は、症例 3 と同様に上昇がみられ、移植後 24 日には 255.8 ± 27.6 RLU と正常範囲を上廻る上昇がみられたが、PMA 刺激による好中球 CL は正常範囲にあるものの、軽度の低下傾向を示した。FOY 投与 2 日目より FMLP 刺激による好中

球 CL の著明な低下がみられるが、PMA 刺激による好中球 CL には変化がみられなかった。

FOY は、移植後亢進した FMLP 刺激に対する好中球 CL を著明に低下させたが、PMA 刺激に対する好中球 CL には影響を与えなかった。

考 按

移植後 IP は分割照射の導入⁵⁾、移植直後の血小板輸血の供血者を CMV 抗体価陰性者に限る⁶⁾、高力価 CMV 抗体を含む免疫グロブリンの予防的投与^{7,8)}などの予防法の進歩により本邦におけるその発症頻度は、当初の 90% より 20% 以下に低下してきている⁹⁾。しかし、ひとたび発症すると致死的な経過を辿るため、その確実な予防法や治療法の確立は骨髄移植成績向上のため、いまなお大きな課題の一つである。

一方、移植後 IP とその臨床像において、多くの共通点を有する成人呼吸窮迫症候群 (adult respiratory distress syndrome, ARDS) においては、その発生進展に補体賦活化、白血球より放出される蛋白融解酵素、および活性酸素が大きく関与していることが知られている¹⁰⁾。

すなわち、種々の原因により補体の賦活化が起き、これが血管内膜を損傷し、肺間質への白血球の遊走をもたらし、肺の炎症を惹起する。白血球は、炎症局所において蛋白融解酵素および活性酸素を放出する。蛋白融解酵素は、肺間質では肺の構造蛋白である collagen, elastin, および fibronectin などを破壊し、流血中では補体系に働きかけてこれをさらに賦活化する。賦活化された補体は、白血球や血小板に作用し、白血球凝集や血小板凝集を起こし、これが肺塞栓となり機械的に肺循環を閉塞する。血小板凝集は、血小板の破壊、肺血管収縮物質、血管透過性物質の遊離を引き起こし、これに白血球の破壊が加わり、肺血管系の損傷が開始される。活性酸素は直接血管内皮細胞を損傷するものと考えられ¹¹⁾、また、そのほかにも抗蛋白融解物質である α_1 -antitrypsin を分解し、蛋白融解酵素の作用をさらに増強する¹²⁾。

このように、ARDS では、炎症の悪循環がつついてくると考えられており、移植後 IP も類似の機序で発生進展している可能性がある。移植後 IP が ARDS と類似の機序で発生進展しているとするならば、治療はこの悪循環をいずれかで遮断することが必要であると考えられる。

今回、筆者らは、骨髄移植後に乾性咳嗽、呼吸困難などの自覚症状の出現とともに、 PaO_2 の低下、 AaDO_2 の開大、胸部レ線上的間質陰影の出現が認められ、移植後 IP と臨床的に診断された 2 症例に対し、蛋白分解酵素阻害剤である FOY を使用し、諸症状の著明な改善を認めた。このことは、蛋白分解酵素阻害剤である FOY が、この悪循環の遮断に効果をもたらした可能性を示唆する。

つぎに、FOY の作用機序につき好中球活性酸素産生能に及ぼす効果の点より検討した。FOY は、直接好中球の活性酸素産生を抑制するとの報告もみられる¹³⁾が、筆者らの結果は、FOY の直接添加では、FMLP および PMA の両刺激による好中球 CL の抑制は認めなかった。しかし、骨髓移植後 FOY を予防的に投与した 2 症例より分離した好中球において、FOY 投与後 FMLP 刺激による好中球 CL の著明な抑制を認めた。蛋白分解酵素阻害剤による好中球活性酸素産生能の抑制は、予め好中球と incubation しておくとも増強するとの報告¹³⁾もあり、FOY の作用は非速効性であるのか、もしくは間接的に好中球活性酸素産生を抑制しているものと考えられた。

移植後 IP は、早期においてはその診断も困難であり、治療法も現在のところステロイドの大量投与など¹⁴⁾が行われているが、その効果はいまだ十分とはいいがたい。ステロイド大量投与は、合併症の発生の危険も大きく、その投与は躊躇することも多い。これに対し、蛋白分解酵素阻害剤は安全性も高く考慮すべき治療法の一つと考えられる。

今後、症例を重ね、その機序などについてもさらに検討していくことが必要と考えられる。

結 語

骨髓移植後間質性肺炎と診断された 2 症例に対し、蛋白分解酵素阻害剤である メシル 酸ガベキサートを使用し、良好の結果を得、その好中球活性酸素産生能に対する効果について、若干の検討を行い報告した。

本論文の要旨は、第 11 回骨髓移植研究会(1988年12月9日、金沢)にて報告した。

文 献

- 1) 門田淳一, 朝長昭光, 山田耕三, 福島喜代康, 中島 学, 平谷一人, 植田保子, 広田正毅, 斉藤厚, 原 耕平: 各種呼吸器疾患, とくに間質性肺疾患における好中球スーパーオキシド産生能. 日胸疾会誌 24: 977-984, 1986.
- 2) Thomas, E.D., Storb, R., Clift, R.G., Fefer, A., Johnson, F.L., Nieman, P.E., Lerner, K.G., Gluckberg, H., Buckner, C.D.: Bone Marrow Transplantation. N. Engl. J. Med. 292: 832-845, 1975.
- 3) Tutschka, P.J., Copelan, E.A., Klein, J.P.: Bone marrow transplantation for leukemia following a new busulfan and cyclophosphamide regimen. Blood 70: 1382-1388, 1987.
- 4) 佐賀 努, 岡藤和博, 南 真司, 近藤邦夫, 大竹

- 茂樹, 尾高和亮, 手島博文, 塩原信太郎, 末永孝生, 石野千津子, 小林三郎, 吉田 喬, 船田 久, 中村 忍, 宮保 進, 服部絢一, 原田実根: 骨髓移植後間質性肺炎の検討. 臨床血液 23: 623-633, 1982.
- 5) Torres, J.L.P., Bross, D.S., Lam, W.C., Wharam, M.D., Santos, G.W., Order, S.E.: Risk factor in interstitial pneumonitis following allogeneic bone marrow transplantation. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 8: 1301-1307, 1982.
- 6) Bowden, R.A., Sayers, M., Flournoy, N., Newton, B., Banaji, M., Thomas, E.D.: Cytomegalovirus immune globulin and seronegative blood products to prevent primary cytomegalovirus infection after marrow transplantation. N. Engl. J. Med. 314: 1006-1010, 1986.
- 7) Winston, D.J., Ho, W.G., Lin, C.H., Budigner, M.D., Champlin, R.E., Gale, R.P.: Intravenous immunoglobulin for modification of cytomegalovirus infections associated with bone marrow transplantation. Preliminary results of a controlled trial. Am. J. Med. 76(3A): 128-133, 1984.
- 8) Cordie, R.M., O'Reilly, R.J.: Prevention of cytomegalovirus infection by prophylaxis with an intravenous, hyperimmune, native, unmodified cytomegalovirus globulin. Randomized trial in bone marrow transplant recipients. Am. J. Med. 76(3A): 134-141, 1984.
- 9) Teshima, H., Masaoka, T., Inoue, T., Kato, S., Naito, K., Mori, T., Kanamaru, A., Saito, Y., Ohira, M., Moriyama, Y., Kadera, Y., Harada, M., Baba, M., Nakade, Y., Tasaka, H., Yoshikawa, S.: Interstitial pneumonitis in allogeneic bone marrow transplantation: a report from the Japanese BMT study group. Bone Marrow Transplant. 1: 179-183, 1986.
- 10) 諏訪邦夫: ARDSの発生・進行の機序と体液の反応. 呼と循 31: 931-937, 1983.
- 11) Saldeen, T.: The microembolism syndrome. Microvasc. Res. 11: 227-259, 1976.
- 12) Carp, H., Janoff, A.: Potential mediator of inflammation: phagocyte-derived oxidants suppress the elastase-inhibitory capacity of alpha-1-proteinase inhibitor *in vitro*. J. Clin. Invest. 66: 987-995, 1980.
- 13) Kitagawa, S., Takaku, F., Sakamoto, S.: Evidence that protease are involved in superoxide production by human polymorphonuclear leukocytes and monocytes. J. Clin. Invest. 65: 74-81, 1980.
- 14) Funada, H., Harada, M., Yoshida, T., Hattori, K.: Kanazawa University Bone Marrow Transplant Team: Interstitial pneumonia after allogeneic and autologous bone marrow transplantation. Jpn. J. Oncol. 14: 519-530, 1984.