

脾臓摘出後のシクロfosファミド投与が有効であった 免疫介在性血小板減少症の猫の1例

阿野仁志^{1)†} 藤野美保²⁾ 片本 宏¹⁾

1) 宮崎大学農学部 (〒889-2192 宮崎市学園木花台西1-1)

2) 宮崎県 開業 (綾部動物病院大塚分院: 〒880-0951 宮崎市大塚町西ノ原1234)

(2013年10月17日受付・2014年1月24日受理)

要 約

1歳1カ月齢のソマリが血小板減少と体表出血を主訴として精査のため来院した。血液検査、骨髓検査及び除外診断から特発性免疫介在性血小板減少症と診断し、プレドニゾン単独及び同剤とシクロスポリンによる内科的治療を行った。しかし、治療への反応が乏しく、静注用ヒト免疫グロブリン製剤も一時的な効果しか得られなかったため、脾臓摘出を行ったところ、血小板数は回復した。しかし、その後のプレドニゾン減量で血小板減少が再発した。そこでプレドニゾンとシクロfosファミドの併用療法を行ったところ、血小板数は速やかに回復し、その後も良好な結果が得られた。本症例で、猫の免疫介在性血小板減少症に対して各種薬剤による治療効果の検討を試みた結果、薬物治療に反応が乏しい場合でも、脾摘と薬物療法の組み合わせが効果的である可能性が示唆された。

—キーワード：猫，シクロfosファミド，免疫介在性血小板減少症。

----- 日獣会誌 67, 269～273 (2014)

免疫介在性血小板減少症 (Immune-mediated thrombocytopenia : ITP) は特発性血小板減少性紫斑病とも呼ばれ、GPIIb/IIIa等の血小板膜糖蛋白を抗原とする自己抗体が血小板に結合することにより発症する。抗体が結合した血小板はおもに脾臓の網内系でFcレセプターを介してマクロファージに捕捉、貪食されることにより抗原提示され、抗血小板抗体が産生される。その結果、血小板の破壊亢進が起き、血小板減少を来す [1-4]。ITPの診断は一般的に臨床症状をはじめとして、他の血小板減少を来す疾患を鑑別により除く除外診断及びグルココルチコイドの投与などによる免疫抑制療法に対する反応を基に行われている [5-9]。

獣医領域においては、犬のITPはしばしば遭遇する疾患である。しかし、猫のITPは犬に比べて比較的まれな疾患とされ [7, 10]、症例数、報告数ともに少なく [6, 9, 11-13]、治療に関してはグルココルチコイド及び免疫抑制剤による内科的療法のみであり、脾臓摘出による治療とその後の維持療法について検討した報告は見当たらない。今回われわれは血液学的検査、骨髓検査及び除外診断によりITPと診断した1歳齢の猫に免疫抑制療法を行うも奏効せず、また脾臓摘出を行ったが寛解に至ら

なかった症例にシクロfosファミドを投与し、良好な結果を得ることができた1症例の概要を報告する。

症 例

症例は1歳1カ月齢、体重3.8kg、FeLV、FIV陰性、避妊雌のソマリである。約1週間前より続く両耳介内側の非掻痒性の発疹を主訴に近医を受診したところ、耳介内側、口腔内、四肢の皮膚の点状出血が認められ、末梢血塗抹標本上で著しく血小板数が減少していた。さらに詳しい精査を行うため宮崎大学農学部附属動物病院に来院した。

検 査 所 見

初診時一般身体検査及び一般血液検査所見：初診時の身体検査では耳介内側の点状出血及び四肢皮膚の斑状出血が認められ (図1)、血液検査、生化学検査では白血球数、赤血球数は正常範囲内であった。しかし、1%シュウ酸アンモニウム溶液で希釈、改良型ノイバウエル血球計算盤を用いた視算法で血小板数を計数したところ、25,000/ μ l (正常範囲：300,000-800,000/ μ l) と正常範囲を下回っていた。生化学検査ではアルカリfosフ

† 連絡責任者：阿野仁志 (宮崎大学農学部獣医内科学研究室)

〒889-2192 宮崎市学園木花台西1-1 ☎・FAX 0985-58-7959 E-mail : anohit@cc.miyazaki-u.ac.jp

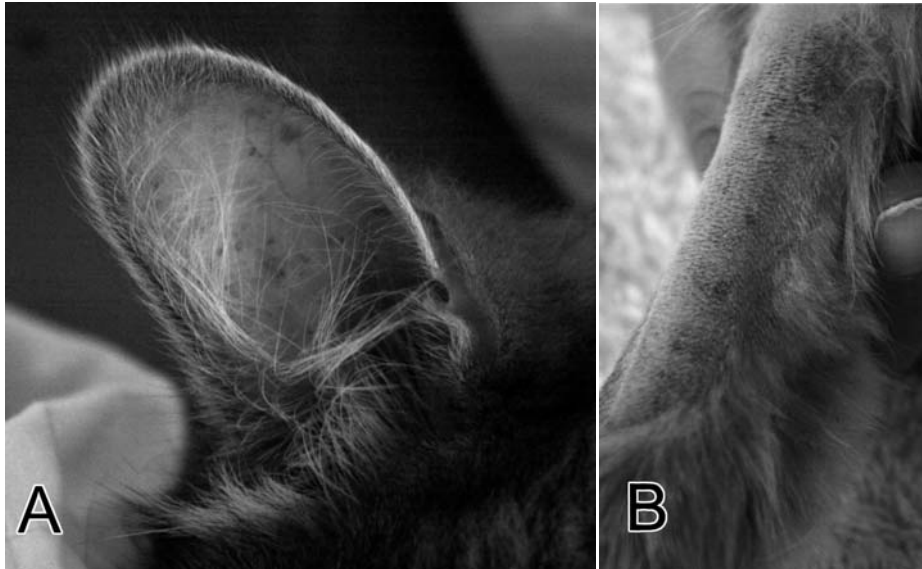


図1 第1病日の症例写真
耳介内側面(A)及び前肢体表面(B)に出血斑が見られる。

ァターゼが若干の上昇を示していたものの他に異常値は認められなかった(表)。

稟告からは元気、食欲ともに発症前と変化無く、血小板減少につながるような薬物の投与や何らかの毒物、化学物質の摂取は伺われなかったことからITPを疑い、次に示す除外診断のための血液凝固系検査、骨髓検査、抗核抗体測定及び感染性因子のPCR検査を行った。

血液凝固系検査：血液凝固系検査では、プロトロンビン時間(PT)は10.4秒(基準値：9.3-11.3秒)、活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)は36.9秒(基準値：20-42秒)、フィブリノーゲン濃度が175mg/dl(基準値：120-240mg/dl)といずれも基準値内であった(表)。

骨髓検査：初診日(第1病日)に行った骨髓検査では、骨髓は過形成でM/E比は基準範囲内にあり、巨核球系は正形成から軽度の過形成で、骨髓球系、赤芽球系いずれも十分な数が認められた。各系統とも正常な分化過程が観察され、異形成も認められず、白血病などを示唆する芽細胞の増加も認められなかった。

リアルタイムPCR検査：リアルタイムPCR検査(アイデックスラボラトリーズ株, 東京)では *Anaplasma phagocytophilum*, *A. platys*, *Bartonella* spp., *Cytauxzoon felis*, *Ehrlichia canis*, *E. ewingii*, *E. chaffeensis*, *Mycoplasma haemofelis*, *Candidatus M. haemominutum* 及び *Candidatus M. turicensis* のいずれも陰性であった。

抗核抗体検査：抗核抗体検査(アイデックスラボラトリーズ株, 東京)は陰性であった。

表 初診時血液検査所見

WBC	10,300 / μ l	BUN	23.9 mg/dl
Eos	412 / μ l	Cre	0.8 mg/dl
Band-N	206 / μ l	ALT	59 IU/l
Seg-N	7,725 / μ l	AST	21 IU/l
Lym	1,030 / μ l	ALP	210 IU/l
Mono	927 / μ l	血糖値	88 mg/dl
RBC	7.43×10^6 / μ l	Na	147 mEq/l
PCV	33 %	K	3.7 mEq/l
総蛋白	7.4	Cl	108 mEq/l
Hb	11.2 g/dl	PT	10.4 sec
MCV	46.0 fl	APTT	36.9 sec
MCHC	32.7 g/dl	Fib	175 mg/dl
PLT	25,000 / μ l		

WBC：白血球数, Eos：好酸球, Band-N：桿状核好中球, Seg-N：分葉核好中球, Lym：リンパ球, Mono：単球, RBC：赤血球数, PCV：血球容積, Hb：ヘモグロビン, MCV：平均赤血球容積, MCHC：平均赤血球ヘモグロビン濃度, PLT：血小板数, BUN：血中尿素窒素, Cre：クレアチニン, ALT：アラニンアミノトランスフェラーゼ, AST：アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ, ALP：アルカリフォスファターゼ, Na：ナトリウム, K：カリウム, Cl：クロライド, PT：プロトロンビン時間, APTT：活性化部分トロンボプラスチン時間, Fib：フィブリノーゲン濃度

治療及び経過

検査所見に示した臨床経過、一般検査結果及び除外診断結果より、本症例をITPと診断し、プレドニゾン4mg/kg/日の投与及び経過観察を開始した。第36病日の再検査では、血小板数は75,000/ μ lと増加したものの増加は著明でなく、排便時に出血が見られるとの稟告があったため、プレドニゾンに加え、シクロスポリン

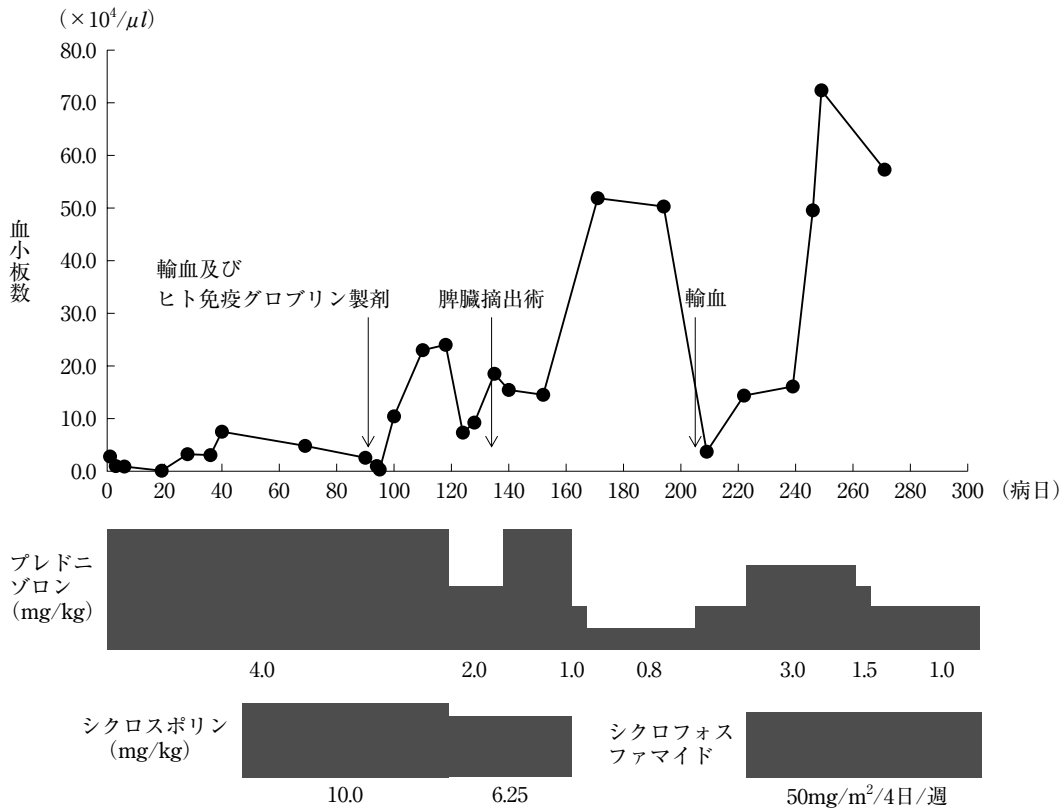


図2 本症例の治療及び血小板数の推移

第1病日よりプレドニゾロン投与を開始し、シクロスポリンを併用するが改善せず、輸血及びIVIG投与の後脾臓摘出を行った。血小板数の増加が見られたがプレドニゾロン減量に伴い再発したため、シクロフォスファミド併用を行ったところ、血小板数は増加した。

(アトピカ、ノバルティスファーマ株、東京) 5mg/kg、1日2回投与の併用を開始した。しかし、第69病日の再検査時に耳介内側面、上眼瞼及び腹部に点状出血斑が見られ、その後吐血、黒色便も認められた。第90病日には食欲も低下し、可視粘膜も蒼白であった。血液一般検査ではRBC： $1.44 \times 10^6/\mu\text{l}$ 、PCV：9%と重度の貧血で、血小板数も $10,000/\mu\text{l}$ と減少しており、血小板の減少に伴う出血が疑われたため、緊急に輸血を実施し、翌第91病日に静注用ヒト免疫グロブリン製剤(献血ベニロン-I 静注、(-財)化学及血清療法研究所、熊本、以下IVIG) 0.78g/kgを5.5時間かけて点滴静注した。その後プレドニゾロン及びシクロスポリンによる内科的治療を続けながら経過観察を行った。第110病日にRBC： $5.48 \times 10^6/\mu\text{l}$ 、血小板数 $240,000/\mu\text{l}$ と貧血、血小板減少ともに改善したため、シクロスポリンを6.25mg/kg、1日1回投与に減量し、さらに第118病日からはプレドニゾロンを2mg/kg/日に減量した。しかし、第124病日の検査では血小板数は $92,000/\mu\text{l}$ まで減少したため、プレドニゾロン及びシクロスポリンの併用による内科的治療による維持は困難と判断し、第134病日に脾臓摘出術を実施した。術後の経過は順調であり、プレドニゾロンを1mg/kg/日から0.8mg/kg/日まで減量したが、第

205病日の血液検査でRBC： $1.66 \times 10^6/\mu\text{l}$ 、PCV：11%、血小板数 $10,000/\mu\text{l}$ となったことから、再度輸血を実施した。輸血後はプレドニゾロンを3mg/kg/日に増量し、さらに免疫抑制剤シクロフォスファミド $50\text{mg}/\text{m}^2/4\text{日}/\text{週}$ の投与を追加した。第249病日には血小板数 $573,000/\mu\text{l}$ と著明に増加し、プレドニゾロンを漸減後も再度の減少は認められなかった(図2)。なお、その後の治療経過を述べると、プレドニゾロン休薬に続いてシクロフォスファミドを休薬したところ血小板減少が再発したものの、シクロフォスファミド投薬を再開後は速やかに血小板数が回復したため、慎重に経過を観察しながら同薬剤の減量、維持を行うこととなった。

考 察

ITPの内科的治療には人医領域、獣医領域いずれもステロイドによる治療を第一選択とし、緊急的には血小板輸血やIVIGを用いるのが一般的である。ステロイドへの反応が乏しい、あるいは副作用等で維持が難しい症例には脾摘が次の選択肢としてあげられる。脾摘により人のITPにおいて大半の症例で部分寛解を含む、長期的な寛解が得られているが、約20%の症例では脾摘も無効

であると報告されている [10, 14].

獣医領域では猫のITPにおける脾摘による治療報告は無く、犬のITPに対する脾摘の報告も少数例のものが多く、その効果もさまざまである。Williamsら [15], Feldmanら [16], Jacksonら [5] 及び久末ら [17] による4つの報告で、内科的治療後に脾摘を行った犬14例のうち、10例で再発し、再発しなかった症例は3例、残り1例は死亡している。一方、Jansら [18] によるプレドニゾロン単独及び他の薬剤の併用による治療でのITPの再発5例での脾摘の結果、4例は無投薬により正常な血小板数が維持されているが、1例は安楽死となっている。これらの成績からも脾摘はITPに対する有効な治療法の一つであるが、その後の再発及び維持治療に関しては個々の症例によりさまざまであると思われる。本症例では脾摘後約60日は順調に血小板数が増加したが、プレドニゾロン減量により血小板数の減少が再発したため、脾摘のみでの維持はできなかった。しかし、免疫抑制療法としてシクロフォスファミドの併用を行ったところ、血小板数は速やかに回復し、以後の維持が可能となった。シクロフォスファミドはアルキル化剤で、DNA合成を阻害することで細胞増殖を抑制する。免疫担当細胞に対して抑制的に働くが、同時に細胞毒性も併せ持ち、副作用として骨髄抑制や無菌性の出血性膀胱炎を発生することがあるため [10]、投与に際しては注意が必要である。これまで猫のITPに対してはグルココルチコイドの他シクロスポリン、ビンクリスチン、クロラムブシル及びアザチオプリンが用いられているが [6, 9, 10, 12, 13]、シクロフォスファミドでの治療報告は無く、脾摘も含め、各薬剤ともにエビデンスに乏しい。それに加え、治療効果に関わるITPの病態もまた症例により異なっていることが考えられる。ITPにおける血小板減少に寄与する主要な病態はおもに脾臓での抗血小板抗体による血小板破壊の亢進であるが、同時に、骨髄において巨核球に対し成熟障害、分化抑制を起こす結果、血小板産生の抑制もあることが示されており [3, 19, 20]、これら二つの病態の程度が免疫抑制剤及び脾臓摘出に対する反応の差に関与しているかもしれないが、これらの解明にはさらなる症例の解析が必要と考えられた。

引用文献

[1] Reiner A, Gernsheimer T, Slichter SJ : Pulse cyclophosphamide therapy for refractory autoimmune thrombocytopenic purpura, *Blood*, 85, 351-358 (1995)

[2] Putsche JC, Kohn B : Primary immune-mediated thrombocytopenia in 30 dogs (1997-2003), *J Am Anim Hosp Assoc*, 44, 250-257 (2008)

[3] Nugent D, McMillan R, Nichol JL, Slichter SJ : Pathogenesis of chronic immune thrombocytopenia: increased platelet destruction and/or decreased

platelet production, *Br J Haematol*, 146, 585-596 (2009)

- [4] O'Marra SK, Delaford AM, Shaw SP : Treatment and predictors of outcome in dogs with immune-mediated thrombocytopenia, *J Am Vet Med Assoc*, 238, 346-352 (2011)
- [5] Jackson ML, Kruth SA : Immune-mediated hemolytic anemia and thrombocytopenia in the dog: a retrospective study of 55 cases diagnosed from 1969 through 1983 at the Western college of veterinary medicine, *Can Vet J*, 26, 245-250 (1985)
- [6] Tasker S, Mackin AJ, Day MJ : Primary immune-mediated thrombocytopenia in a cat, *J Sm Anim Pract*, 40, 127-131 (1999)
- [7] Kohn B, Linden T, Leibold W : Platelet-bound antibodies detected by a flow cytometric assay in cats with thrombocytopenia, *J Feline Med Surg*, 8, 254-260 (2006)
- [8] Arnold DM, Kelton JG : Current options for the treatment of idiopathic thrombocytopenic purpura, *Semin Hematol*, 44 (suppl 5), 12-23 (2007)
- [9] Wondratschek C, Weingart C, Kohn B : Primary immune-mediated thrombocytopenia in cats, *J Am Anim Hosp Assoc*, 46, 12-19 (2010)
- [10] Nakamura RK, Tompkins E, Bianco D : Therapeutic options for immune-mediated thrombocytopenia, *J Vet Emerg Crit Care*, 22, 59-72 (2012)
- [11] Joshi BC, Raplee RG, Powell AL, Hancock F : Autoimmune thrombocytopenia in a cat, *J Am Anim Hosp Assoc*, 15, 585-588 (1979)
- [12] Garon CL, Scott MA, Selting KA, Cohn LA : Idiopathic thrombocytopenic purpura in a cat, *J Am Anim Hosp Assoc*, 35, 464-470 (1999)
- [13] Bianco D, Armstrong PJ, Washabau RJ : Presumed primary immune-mediated thrombocytopenia in four cats, *J Feline Med Surg*, 10, 495-500 (2008)
- [14] McMillan R, Durette C : Long-term outcomes in adults with chronic ITP after splenectomy failure, *Blood*, 104, 956-960 (2004)
- [15] Williams DA, Maggio-Price L : Canine idiopathic thrombocytopenia: clinical observations and long-term follow-up in 54 cases, *J Am Vet Med Assoc*, 185, 660-663 (1984)
- [16] Feldman BF, Handagama P, Lubberink AAME : Splenectomy as adjunctive therapy for immune-mediated thrombocytopenia and hemolytic anemia in the dog, *J Am Vet Med Assoc*, 187, 617-619 (1985)
- [17] 久末正晴, 福永大督, 赤池勝周, 石川武史, 齋藤弥代子, 土屋 亮, 山田隆紹 : 免疫グロブリン静脈内投与療法および脾摘が有効であった特発性血小板減少性紫斑病の犬の1例, *日獣会誌*, 61, 223-226 (2008)
- [18] Jans HE, Armstrong J, Price GS : Therapy of immune mediated thrombocytopenia, *J Vet Intern Med*, 4, 4-7 (1990)
- [19] McMillan R, Wang L, Tomer A, Nichol J, Pistillo J : Suppression of in vitro megakaryocyte production by antiplatelet autoantibodies from adult patients with chronic ITP, *Blood*, 103, 1364-1369 (2004)

- [20] Houwerziji EJ, Blom NR, van der Want JJJ, Vellenga E, de Wolf JTM : Megakaryocytic dysfunction in myelodysplastic syndromes and idiopathic thrombocytopenic purpura is in part due to different forms of cell death, *Leukemia*, 20, 1937-1942 (2006)

Case of Feline Idiopathic Immune-mediated Thrombocytopenia Effectively Treated with Cyclophosphamide after Splenectomy

Hitoshi ANO^{1)†}, Miho FUJINO²⁾ and Hiromu KATAMOTO¹⁾

1) *Faculty of Agriculture, University of Miyazaki, 1-1 Gakuenkibanadai-nishi, Miyazaki, 889-2192, Japan*

2) *Ayabe Animal Hospital, 1234 Nishinohara, Ohtsuka-cho, Miyazaki, 880-0951, Japan*

SUMMARY

A thirteen-month-old castrated female Somali cat was presented for the investigation of petechiae of the skin's surface and thrombocytopenia. Based on the hematological examination, bone marrow cytology and differential diagnosis, the cat was diagnosed with idiopathic immune-mediated thrombocytopenia and treated with prednisolone and cyclosporine. However, the response to the treatment was poor. Furthermore, intravenous human immunoglobulin administration showed only a temporary effect. We therefore performed a splenectomy. Afterwards, the platelet count recovered once, but it subsequently decreased and recurred following a reduction in the prednisolone dose. We therefore performed combination therapy of prednisolone and cyclophosphamide. The platelet count recovered promptly, and a good response was obtained thereafter. In this case, after attempts were made to investigate the therapeutic effects of various drugs on the feline immune-mediated thrombocytopenia, it was suggested that a combination of a splenectomy and drug therapy might be effective even when the reaction to the drug therapy was poor.

—Key words : Cat, Cyclophosphamide, Immune-mediated thrombocytopenia.

† *Correspondence to : Hitoshi ANO (Laboratory of Veterinary Internal Medicine, Faculty of Agriculture, University of Miyazaki) 1-1 Gakuenkibanadai-nishi, Miyazaki, 889-2192, Japan*

TEL · FAX 0985-58-7959 E-mail : anohit@cc.miyazaki-u.ac.jp

—*J. Jpn. Vet. Med. Assoc.*, 67, 269 ~ 273 (2014)