

難治性ぶどう膜炎に対するシクロスポリン治療効果と 臨床免疫学的諸検査成績について (図8, 表3)

藤野雄次郎*・中村 昌生*・土方 清乃*・田淵 祥子* (東京大学医学部眼科学教室*)
西山 愛子*・増田寛次郎*・望月 學** (東京大学分院眼科学教室**)

Cyclosporine Therapy in Refractive Uveitis

Yhujiro Fujino*, Masao Nakamura*, Aiko Nishiyama*,
Shoko Tabuchi*, Kiyono Hijikata*, Kanjiro Masuda*
and Manabu Mochzuki**

*Department of Ophthalmology, University of Tokyo School of Medicine

**Department of Ophthalmology, Branch Hospital University of Tokyo School of Medicine.

要 約

従来の治療法で効果を認めない難治性ぶどう膜炎8例15眼に対して、シクロスポリン(CYA)治療を行ない、CYA治療前後に施行した様々な臨床免疫学的諸検査と臨床効果との関連について検討した。眼発作頻度は治療開始後、有意に減少し、視力は15眼中11眼で改善または不変であった。CYAはぶどう膜炎に対し8例中6例で有効と判断した。有効例はいずれもCYAの最低血中濃度が概ね50~120ng/mlに維持されていた。臨床免疫学的検査のうち、リンパ球分画、Tリンパ球分画、血清補体価には特に変化を認めなかったが、Tリンパ球機能を表わす検査の一つであるツベルクリン反応は、治療前に比べ全例が減少した。In vitroのTリンパ球機能(リンパ球増殖反応、IL-2産生能)も治療開始後、低下する傾向がみられた。しかしながら、CYAの、これらTリンパ球機能に対する作用とぶどう膜炎に対する臨床効果の間に相関はなかった。(日眼 91:686-693, 1987)

キーワード：シクロスポリン，難治性ぶどう膜炎，Tリンパ球機能検査，ツベルクリン反応，インターロイキン2

Abstract

Cyclosporine (CYA) treatment was carried out on 8 cases (15eyes) with refractory uveitis resistant to conventional therapy. The relationship between CYA effects on uveitis and on immune status was analyzed. The frequency of ocular inflammatory attacks was reduced in all cases and vision improved or was unchanged in 11 out of the 15eyes, therefore the treatment was considered to be beneficial in 6 out of 8 patients. The trough level of serum CYA was maintained between 50 and 120ng/ml in all wellcontrolled patients. CYA did not affect subpopulations of peripheral lymphocytes nor serum complement titer. On the other hand, cellular immune responses were suppressed in all CYA-treated patients as indicated by reduced tuberculin reaction responses, lymphocyte proliferation with ConA, and interleukin 2 production. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 91: 686-693, 1987)

Key words: Cyclosporine, Uveitis, T-lymphocyte function, Tuberculin skin test, Interleukin 2

別刷請求先：112 東京都文京区目白台3-28-6 東京大学医学部分院眼科学教室 望月 學

Reprint requests to: Manabu Mochizuki, M.D. Dept. of Ophthalmol., School of Med., Branch Hospital, Univ. of Tokyo

3-28-6, Bunkyo-ku, Tokyo 112, Japan

(昭和62年2月17日受付) (Accepted February 17, 1987)

I 緒 言

Tリンパ球機能を選択的に抑制する免疫抑制剤であるシクロスポリン (CYA) は、実験的自己免疫性ぶどう膜炎の発症を抑制するのに有効である事が報告されて以来¹⁾、臨床の難治性ぶどう膜炎にも応用され²⁾、その臨床効果が確認されつつある^{3)~9)}。しかしながら、臨床的に効果の認められない症例もあり、CYA の薬理作用と臨床効果の指標となるパラメーターは知られていない。今回、我々はCYA 治療を行なった難治性ぶどう膜炎 8 例の臨床効果と臨床免疫学的諸検査との関連につき検討を行なったので報告する。

II 対象および方法

1. 対象：東京大学眼科で CYA 治療を行ない、治療前後に臨床免疫学的検査を経時的に行なった難治性ぶどう膜炎 8 例15眼で、男性 6 例、女性 2 例、平均年齢は44.3歳である。6 例はベーチェット病で、うち完全型が 4 例、不全型が 2 例であった。他はサルコイドーシス 1 例、原因不明のぶどう膜炎 1 例である (Table 1)。全例とも、従来の治療法、すなわちコルヒチン、エンドキサン、またはステロイド治療で眼症状の改善を認めなかった症例である。CYA 開始前まで、症例 3 を除く症例 1 から症例 6 まではコルヒチンとエンドキサンの併用療法を、症例 7 はステロイド治療を、症例 8 はエンドキサンとステロイドの併用療法を行っていた。ただし、症例 3 はそれまで他院で非ステロイド系の消炎剤を投与されていたが、本人の強い希望で CYA 治療に切り替えた (Table 1)。CYA は症例に応じて6mg/kg から10mg/kg の量で単独に開始し、臨床効果または副作用に応じて増減した。CYA の投与期

間は 4 カ月から18カ月で平均投与期間は13カ月であった (Table 2)。

2. 方法：CYA 治療開始前と治療中に、CYA 最低血清中濃度および臨床免疫学的諸検査としてツベルクリン皮内反応、インターロイキン 2 (IL-2) 産生能、リンパ球増殖能 (PHA, Con A 刺激)、リンパ球分画、血清補体価、免疫複合体を測定した。

1) ツベルクリン皮内反応：一般診断用 PPD 溶液を0.5 μ g/ml の濃度で、0.1ml を皮内注射し、48時間後に硬結および発赤を検者が判定した。

2) IL-2産生能：対象症例から得たヘパリン加末梢血から Ficoll-Hypaque 比重遠心法により末梢血リンパ球を分離し、得られたリンパ球を2%Nu-Serum (Collaborative Research, Lexington, MA, USA) を含む RPMI-1640溶液 (GIBCO, Grand Island, USA) で 2 回洗浄した後に、10%Nu-Serum, 5 \times 10⁻⁶M 2-Mercapto-ethanol (2-ME), 100U/ml penicillin, 100 μ g/ml streptomycin を含む RPMI-1640溶液中で 2 \times 10⁶/ml に調整した。phytohemagglutinin (PHA, HA-16, Wellcome, Dartford, England) は10 μ g/ml の濃度で添加した。培養は5ml tube (Falcon, Oxnard, CA, USA) を用い、5%CO₂, 37 $^{\circ}$ C に保たれたインキュベーター中で行なった。培養 3 時間後に PHA を除くために洗浄を 2 回行ない、以後 PHA を含まない上記溶液で48時間培養を行なった後、上清を回収し IL-2測定まで-20 $^{\circ}$ C に凍結保存した。各上清に含まれる IL-2 活性の測定は既報¹⁰⁾に詳述したごとく行なった。

3) リンパ球増殖能：PHA と Con A 刺激による³H サイミジン取込み能を測定した。

4) リンパ球分画：T細胞百分率はEロゼット法、B細胞百分率は蛍光抗体法による表面免疫グロブリン測

Table 1 Clinical data of 8 patients

Patient (age/sex*)	Diagnosis	Previous therapy	
		Drug (per day)	Duration (months)
1 (46/F)	Behçet's disease (complete type)	Colchicine 1.0mg, Endoxan 50mg	24
2 (36/M)	Behçet's disease (complete type)	Colchicine 1.0mg, Endoxan 50mg	3
3 (45/M)	Behçet's disease (complete type)	anti-inflammatory drug	6
4 (41/M)	Behçet's disease (complete type)	Colchicine 1.0mg, Endoxan 50mg	3
5 (40/M)	Behçet's disease (incomplete type)	Colchicine 1.5mg, Endoxan 50mg	2
6 (43/M)	Behçet's disease (incomplete type)	Colchicine 1.5mg	8
7 (56/F)	Sarcoidosis	predonine 10-30mg	10
8 (48/M)	Unknown origin	Colchicine 1.0mg, Endoxan 100mg predonine 0-30mg	3

* F: female, M: male

Table 2 CYA therapy for the patients

Patient No.	CYA dose (mg/kg/day)			Duration (months) of CYA therapy
	Initial	Highest	Lowest	
1	8	8	8	15
2	10	10	4.5	18
3	8	8	6	16
4	6	6	6	4
5	10	10	5	18
6	6	8	6	14
7	7	7	6	11
8	8	8	8	6

定法で行なった。T細胞分画はモノクローナル抗体によりOKT4 (インデューサー/ヘルパーT細胞)分画, OKT8 (サプレッサー/細胞障害性T細胞)分画を調べた。

5) 血清補体価: C5, C9を免疫拡散法により測定した。

6) 免疫複合体: Clq solid-phase EIA 法により測定した。

7) CYA 血清濃度: 測定当日はCYA を内服せずに採血し, 血清に分離した後にRadioimmunoassay 法により測定した。

なお, 3)から7)の検査はSpecial Reference Laboratory (SRL) に依頼して行なった。

III 結 果

1. CYA のぶどう膜炎に対する治療効果

CYA 治療前と治療中の眼発作頻度の変化は Fig. 1 に示すように, 7例において減少しており, うち症例2と症例3では治療中に発作が一度も起こらなかった。症例6の発作頻度は増加していたが, 眼発作のそれぞれの強さは弱くなった印象を受けた。眼発作頻度の平均は, CYA 治療前は 0.71 ± 0.20 回/月であったが, CYA 治療中では 0.23 ± 0.26 回/月となり, 治療前に比べ有意に眼発作頻度が減少していた (paired T-test, $p < 0.05$)。CYA 治療開始直前と最終来院日における視力を Fig. 2 に示す。9眼で改善, 2眼で不変, 4眼で増悪していた。症例5は発作頻度がそれほど減少せず強い発作のために視力障害の強いこと, 症例6は発作頻度が減少しなかったことから治療効果なしと判断し, CYA のぶどう膜炎に対する治療効果は症例5と症例6を除く8例中6例で有効と判断した。

2. CYA 血清中濃度

Fig. 3にCYA 治療中の各症例のCYA 血清中濃度

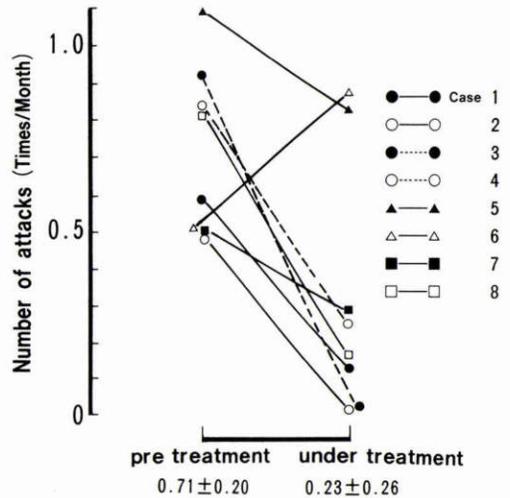


Fig. 1 The value of number of attacks under treatment was calculated as below. number of ocular attacks/months of CYA treatment

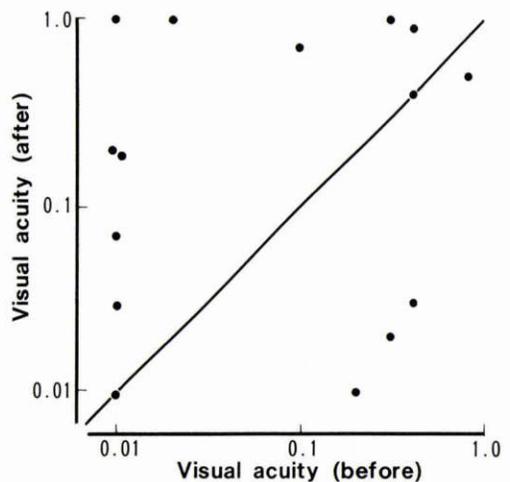


Fig. 2 Visual acuity before and after CYA treatment

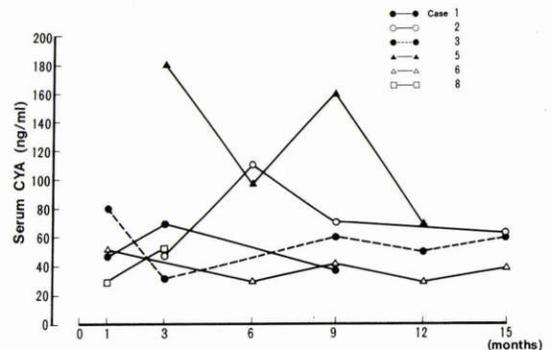


Fig. 3 Time course of serum CYA concentration

の動態を示すが、有効例ではおおむね50~120ng/mlの値に維持されていた。CYA無効例の症例6では、CYA濃度が常に50ng/ml以下と低かったが、高血圧、腎機能の低下のためにCYAの増量をできなかった。

一方、症例5では常に100ng/ml以上で有効例よりも高い値を示していた。

3. 副作用

CYA治療中の副作用の発生数をTable 3に示す。多毛、倦怠感などが多く見られた。症例4はCYA治療中、顔面神経麻痺を生じ、これがCYAの副作用かあるいはペーチェット病の神経症状の発現か不明であったがCYA投与を中止した。

4. 各種臨床免疫学的検査の結果

1) T細胞機能検査

(1) ツベルクリン皮内反応

CYA治療前と治療開始1カ月後に行なったツベルクリン皮内反応の結果をFig. 4に示す。CYA治療前後に検査を行なった7例全例で、治療後、発赤の縮小

を認めた。特に症例2は20×20/60×65(硬結/発赤)という治療前の値が治療開始1カ月後には0/0となっていた(Fig. 5)。しかしながら、無効例の症例5でも、18×15/45×41という治療前の値が治療開始1カ月後には0/9×10と著明に減少していた。また、副作用のために治療を中止した症例4は、治療前の値は0/14×12で治療中は0/8×8と縮小していたが、治療中止後に再度検査をおこなった所、その値は0/20×12と陽性値にもどっていた。

(2) リンパ球増殖能およびIL-2産生能

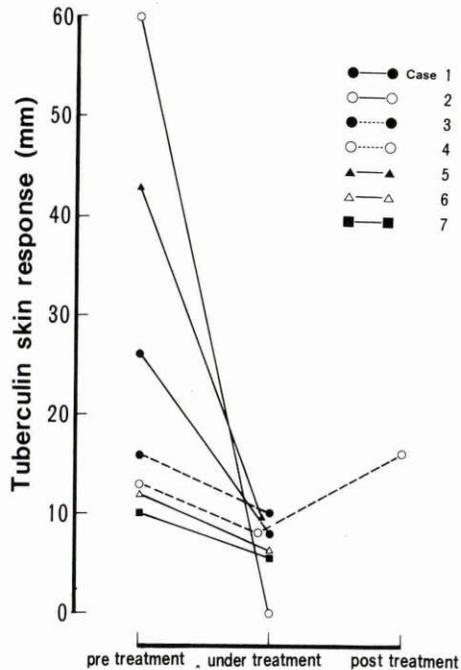


Fig. 4 Tuberculin skin responses before and under CYA treatment

Table 3 Side effects of CYA treatment

Side effect	No of cases
Hirsutism	4
Fatigue	4
Liver dysfunctions	3
Epigastric discomfort	3
Hyperplasia of gingiva	2
Tingling of extremities	2
Headache	2
Hypertension	2
Tinnitus	1
Renal dysfunction	1
Facial nerve palsy	1

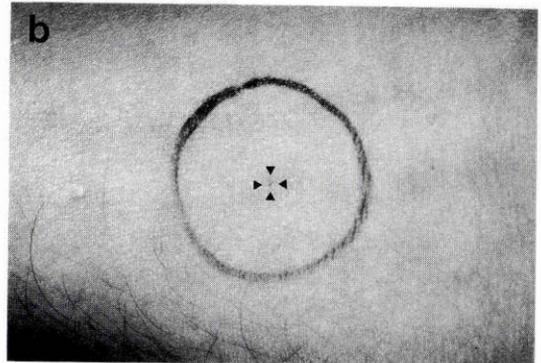
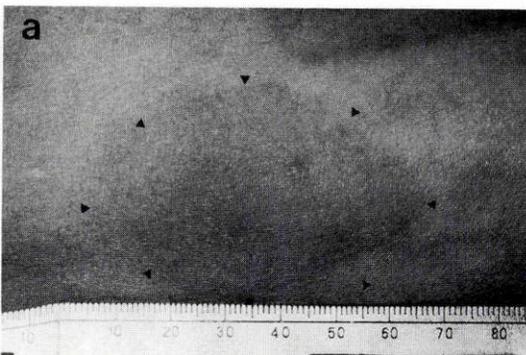


Fig. 5 Tuberculin skin responses of patient 2. left: before CYA treatment, right: 1 month after CYA treatment

CYA 治療前と CYA 治療中の末梢血リンパ球の Con A 刺激によるリンパ球増殖反応と IL-2産生能の動態を Fig. 6に示す。症例7と症例8のリンパ球増殖反応は CYA 治療前の値が低下していたが、これはステロイドの内服を行なっていたためと思われ、CYA 治療中のほうが高い値をとっていた (Fig. 6)。この2

症例を除く8例中6例では、CYA 治療開始後数回測定したリンパ球増殖反応の平均値は、治療前に比べて有意に低下していた (paired T-test $p < 0.05$)。PHA 刺激によるリンパ球増殖反応は、一定の傾向を認めなかった。

IL-2産生能は、検査した7例中、症例3と症例7を除

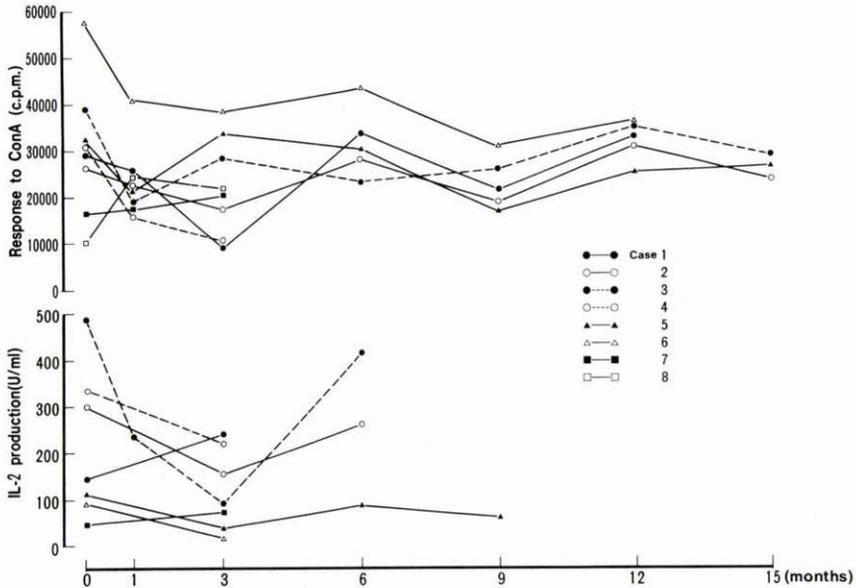


Fig. 6 Time course of T lymphocyte function. upper: Con A induced lymphocyte proliferation, lower: IL-2 production.

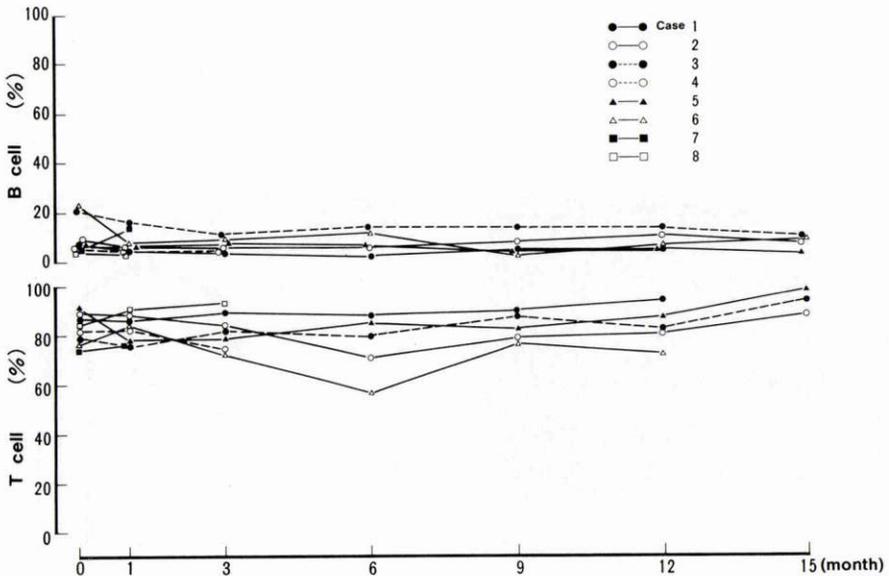


Fig. 7 Time course of lymphocyte population

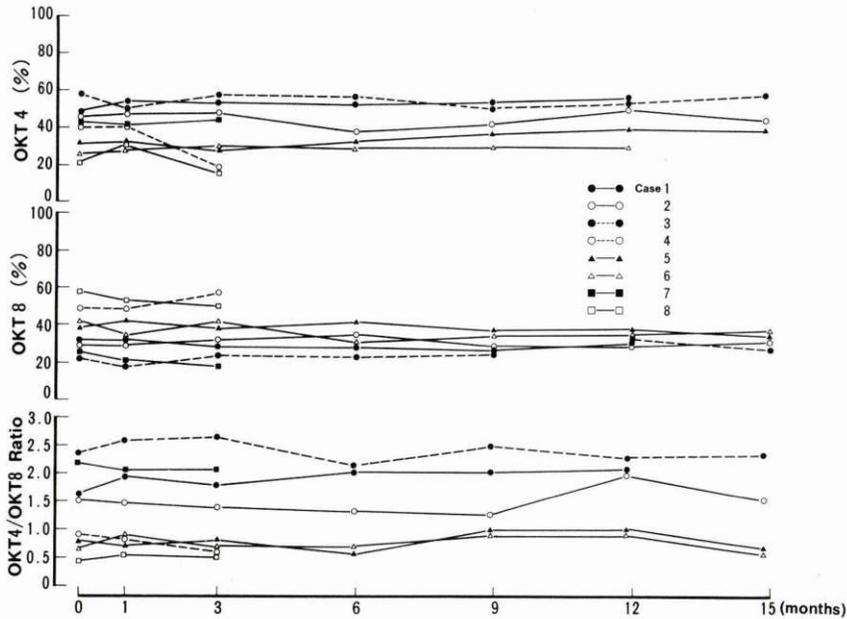


Fig. 8 Time course of T lymphocyte subpopulations

く5例でCYA治療開始後低下しており、低下傾向がみられたが、治療前後で統計的な有意差はなかった。ステロイド内服を受けていた症例7はリンパ球増殖反応と同様にCYA治療前からIL-2産生能は低値を示していた (Fig.6).

2) リンパ球分画

Bリンパ球数およびTリンパ球数は、Fig. 7に示すように、症例6でCYA投与中にBリンパ球数およびTリンパ球数とも変動を認めしたが、他の症例では著変を認めなかった。Tリンパ球サブセットではOKT4, OKT8とも個々の症例でばらつきが大きく、治療開始後も特に一定の変動傾向を認めなかった。OKT4/OKT8比は治療前後で一定の変動を認めなかったが、CYA無効例の症例5と症例6は治療前より1.0以下であり、また神経症状の発現のため治療を中止した症例4も1.0以下であった (Fig. 8).

3) その他の臨床免疫学的検査

血清補体価 (C5, C9), 免疫複合体, は治療前後で一定の傾向は認めなかった。

IV 考 按

Tリンパ球機能を選択的に抑制する作用を持つとされるCYAは、他の治療に反応しないペーチェット病あるいは他の難治性ぶどう膜炎の治療に試みられその有効性が確認されつつある。今回、従来の治療に反応

しない難治性ぶどう膜炎に対して行なったCYA治療が8例中6例の眼症状の改善に有効であり、CYAの有効性が示された。しかしながら、残る2例すなわち症例5と症例6はCYA無効例であった。一般に薬剤の治療効果がみられない場合、(1) 薬剤が十分に吸収されず、その血中濃度が有効レベルに達していない場合と、(2) 有効レベルに達していても薬効のない場合、が考えられる。無効例のうち症例6のCYA血清濃度は常に50ng/ml以下で、患者の言によれば医師の指示どおりに服用しているとのことであるから、消化器からのCYAの吸収が悪いか、あるいは血中レベルを一定以上に保てない何らかの原因があったものと考えられ、この低いCYA血清濃度が無効の原因と考えられた。一方、症例5はCYA血清濃度が120ng/mlを大きく越す値であったが無効であり、この例はCYAに対する感受性が低いものと推測された。今回の症例では、CYAの血清濃度が50~120ng/mlの間に維持されたものが、ぶどう膜炎に対する治療効果も見られ、また、副作用とくに腎障害の程度も低かった。このようにCYAの最低血清濃度を50~120ng/mlに保つことが、副作用を最小限にしかつぶどう膜炎のコントロールをする上でよいと思われた。今回の症例におけるCYAの副作用であるが、Table 2にまとめたごとく、多毛、倦怠感などが多く見られ、腎障害は結果としてわずか1例であった。しかし、これは血清クレアチニン値が

治療前の2倍または2.0mg/mlを越したものに限定したためであり、血清クレアチニン値の軽度の上昇は全例に見られている。我々は血清クレアチニン値が治療前の120~150%に近づくとCYAの量を減量するようにしているために、高度の腎障害をもつ例が少なかつただけであり、決してCYAの腎障害が低いということではない。一方、今回の症例中、1例、CYA投与中に顔面神経麻痺を生じたものがあつた。これは、(1)CYA単独の副作用、(2)ベーチェット病の神経症状がたまたま生じた、(3)ベーチェット病は衆知のごとく神経症状をおこすこともあるが、CYAがこの傾向を増強する、などの可能性が考えられる。今回の症例がこのうちいずれにあたるかは、今のところ判断できないが、今後ともCYA投与中のベーチェット病患者については神経症状の発現に充分注意する必要があると考える。

次に、我々はTリンパ球を中心とした各種臨床免疫学的検査を行ない、CYAの免疫薬理作用自体が生体内で発現されているか否か、更に、それがCYAのぶどう膜炎に対する臨床効果と相関があるかどうかについて検討した。In vivoのT細胞機能検査の一つであるツベルクリン皮内反応は検査した7例全てで、治療開始後1カ月の時点で治療前に比べ有意に低下しており、うちCYA治療を中止した1例では、中止後は治療前の値に戻っていた。In vitroによるTリンパ球機能検査はCon A刺激によるリンパ球増殖能、IL-2産生能を調べた。IL-2はT細胞増殖因子とも呼ばれる細胞性免疫反応に必要な不可欠な活性物質で、CYAはIL-2産生能を抑制することが示されている¹⁰⁾¹¹⁾。これらCon A刺激によるリンパ球増殖能、IL-2産生能はいずれも治療後に低下する傾向を認めた。ステロイドがリンパ球増殖能を抑制することは数多く報告されており^{12)~14)}、CYA治療前までステロイド治療を行なっていた2例はいずれも治療前のリンパ球増殖能が低値を示していたが、この2例を除く6例では、Con A刺激によるリンパ球増殖能は、CYA治療前に比べCYA治療中は有意に低下していた。過去のぶどう膜炎にたいするCYA治療の報告でも、Con A刺激によるリンパ球増殖能がCYA治療後、有意に減少したと言う山下らの報告⁴⁾があり、それと一致する。IL-2産生能も治療前後に検査した7例のうちCYA治療前にステロイドの内服を行なっていた症例7を除く6例中5例で低下していた。この事は、各症例ともCYAの治療により、T細胞機能の抑制が発現している事を示している。し

かしながら、治療効果の認められなかつた症例5と症例6の2症例でも、ツベルクリン皮内反応、Con A刺激によるリンパ球増殖能およびIL-2産生能が治療中は低下しており、CYAの治療効果との関連は得られなかつた。即ち、CYAの薬理作用、すなわちTリンパ球機能の抑制効果は個々の症例において発現しているが、治療効果を必ずしも反映しないと考えられる。リンパ球分画とTリンパ球分画は、個々の症例でも治療前後に特に変動を認めなかつた。OKT4/OKT8比について、Nussenblattらは治療後OKT8分画の増加によるOKT4/OKT8比の減少が見られた症例で治療効果が良好であったと報告²⁾しているが、今回の症例ではこのような変動は認めなかつた。一方、CYAはTリンパ球以外に、好中球¹⁵⁾、Bリンパ球機能¹⁶⁾に影響を及ぼすとの報告もあるので、今後、症例を増やし総合的に検討される必要があると考える。

文 献

- 1) Nussenblatt RB, Rodrigues MM, Wacker WB, et al: Cyclosporin A. Inhibition of experimental autoimmune uveitis in Lewis rats. *J Clin Invest* 67: 1228—1231, 1981.
- 2) Nussenblatt RB, Palestine AG, Rook AH, et al: Treatment of intraocular inflammatory disease with cyclosporine A. *Lancet* 235—238, 1983.
- 3) 赤沢和美, 溝淵京子, 秋谷綾子他: 難治性ベーチェット病に対するCyclosporin A療法. *臨眼* 38: 393—397, 1984.
- 4) 山下英俊, 林 清文, 中川和美他: 難治性ベーチェット病のシクロスポリンによる長期治療. *臨眼* 40: 465—468, 1986.
- 5) 高橋久志, 鈴木優子, 平野洋子他: 難治性葡萄膜炎に対するCyclosporin Aの効果. *臨眼* 39: 1009—1014, 1985.
- 6) Nussenblatt RB, Palestine AG, Chan C-C: Cyclosporine A therapy in the treatment of intraocular inflammatory diseases resistant to systemic corticosteroids and cytotoxic agents. *Am J Ophthalmol* 96: 275—282, 1983.
- 7) Nussenblatt RB, Palestine AG, Chan CC, et al: Effectiveness of cyclosporine therapy for Behcet's disease. *Arch Rheumatism* 28: 671—679, 1985.
- 8) 大野重昭, 津田久仁子, 吉田 篤他: ベーチェット病に対するCyclosporin A療法. 厚生省特定疾患ベーチェット病調査研究班, 昭和59年度研究業績, 264—270, 1984.
- 9) 増田寛次郎, 林 清文, 中川和美: ベーチェット病のCYAによる長期治療. 厚生省特定疾患ベー

- チェック病調査研究班, 昭和59年度研究業績, 271—276, 1984.
- 10) **Camisuli S**: The effect of Cyclosporin A on cell interactions within the immune system. DJG White (ed): Cyclosporin A. Elsevier Biochemical Press, Amsterdam, New York, Oxford, 243—259, 1982.
 - 11) **Borel JF, Lefferty KJ**: Cyclosporine: Speculation about its mechanism of action. Transplantation Proc 15: 1881—1885, 1983.
 - 12) **Neifeld JP, Tormy DC**: Effects of steroid hormones on phytohemagglutinin-stimulated human peripheral blood lymphocytes. Transplantation 27: 309—314, 1979.
 - 13) **Schmidtke JR, Hatfield SM, Ferguson RM**: Differential susceptibility of human peripheral blood lymphocyte subpopulations to mitogenic activation. Transplantation 27: 319—323, 1979.
 - 14) **Gillis S, Crabtree GR, Smith KA**: Glucocorticoid-induced inhibition of T cell growth factor production. I. The effect of mitogen-induced lymphocyte proliferation. J Immunol 123: 1624—1331, 1979.
 - 15) **Abb, J, Abb H**: Effect of cyclosporine on human leukocyte interferon production: Selective inhibition of IFN-gamma synthesis. BD Kahan (ed): Cyclosporine. Grune & Stratton, Inc, Orlando FL, 164—166, 1984.
 - 16) **Muraguchi A, Butler JL, Kahrl JH et al**: Selective suppression of an early step in human B cell activation by cyclosporin A. J Exp Med 158: 690—702, 1983.
-