

表4 院内感染症防止委員会に期待される義務

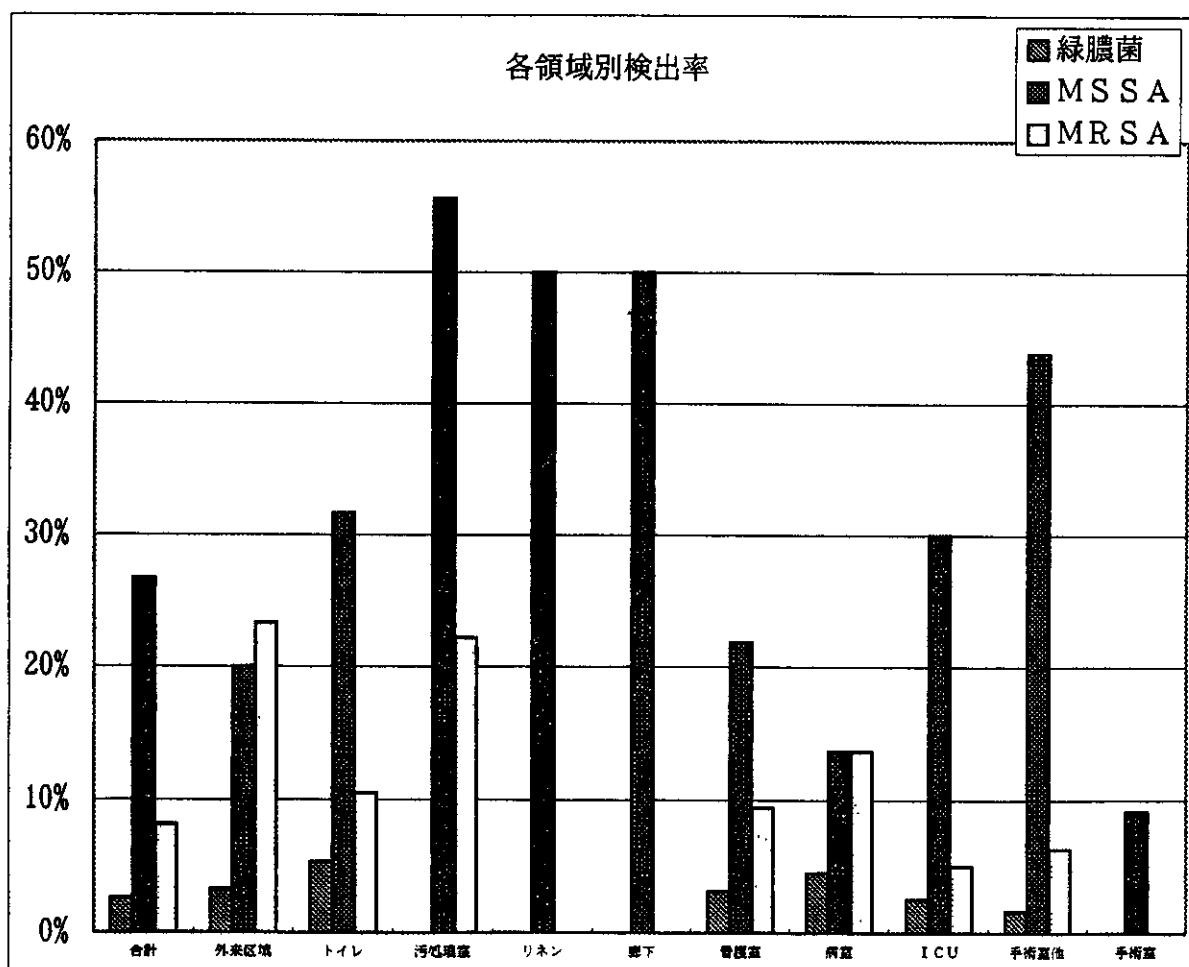
1. 病院長の直属機関として委員会に設置し、外科部門、内科部門、看護部門、検査部門、病院管理部門などの代表者で構成し、院内感染防止を施設全体の問題としてとらえる
2. 病院内にサベイランス組織網をつくり、院内感染の発生状況を把握する。必要に応じて、院内感染発生原因の疫学調査も行う
3. 院内感染防止マニュアルの作成
4. 院内環境汚染の実態把握と対策
5. 職員の教育と手洗いなどの実践
6. 抗菌剤使用状況の把握と薬剤耐性動向の監視
7. 医療廃棄物対策
8. 医療保障訴訟問題への対応

(出典：医学書院 標準微生物 川名林治監修 165)

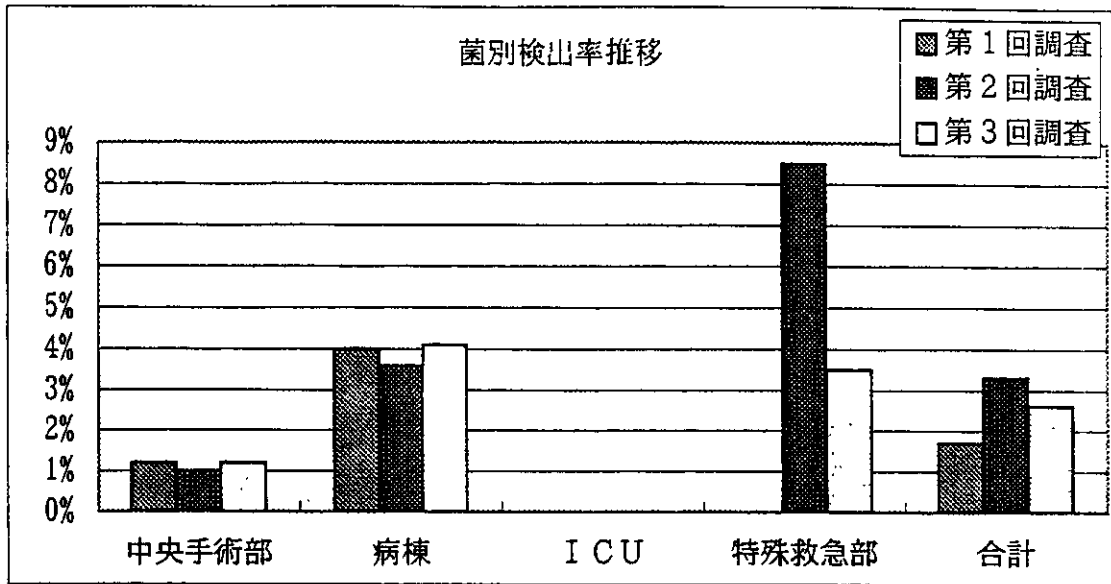
表一 5 各領域別検出率推移

	緑 膿 菌			M	S	S	A	M	F	S	A
	97	98	99	97	98	99	97	98	99		
合計	1.7%	3.7%	2.6%	14.7%	14.0%	26.7%	4.5%	15.9%	8.1%		
外来一般区域		5.6%	3.3%		11.1%	20.0%		11.1%	23.3%		
トイレ	10.0%	4.8%	5.3%	40.0%	0.0%	31.6%	20.0%	47.6%	10.5%		
汚物処理室	0.0%	11.1%	0.0%	25.0%	22.2%	55.6%	0.0%	33.3%	22.2%		
リネン	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	50.0%	50.0%	25.0%	0.0%	0.0%		
廊下	0.0%	0.0%	0.0%	75.0%	0.0%	50.0%	0.0%	25.0%	0.0%		
ナースステーション	0.0%	4.8%	3.1%	16.7%	16.7%	21.9%	4.2%	7.1%	9.4%		
病室	5.0%	3.6%	4.5%	5.0%	16.1%	13.6%	5.0%	21.4%	13.6%		
ICU	0.0%	2.1%	2.5%	21.7%	16.7%	30.0%	0.0%	4.2%	5.0%		
手術部一般区域	1.7%	1.7%	1.6%	16.7%	16.9%	43.8%	3.3%	3.4%	6.3%		
手術室	0.0%	2.8%	0.0%	0.0%	2.8%	9.1%	3.6%	5.6%	0.0%		

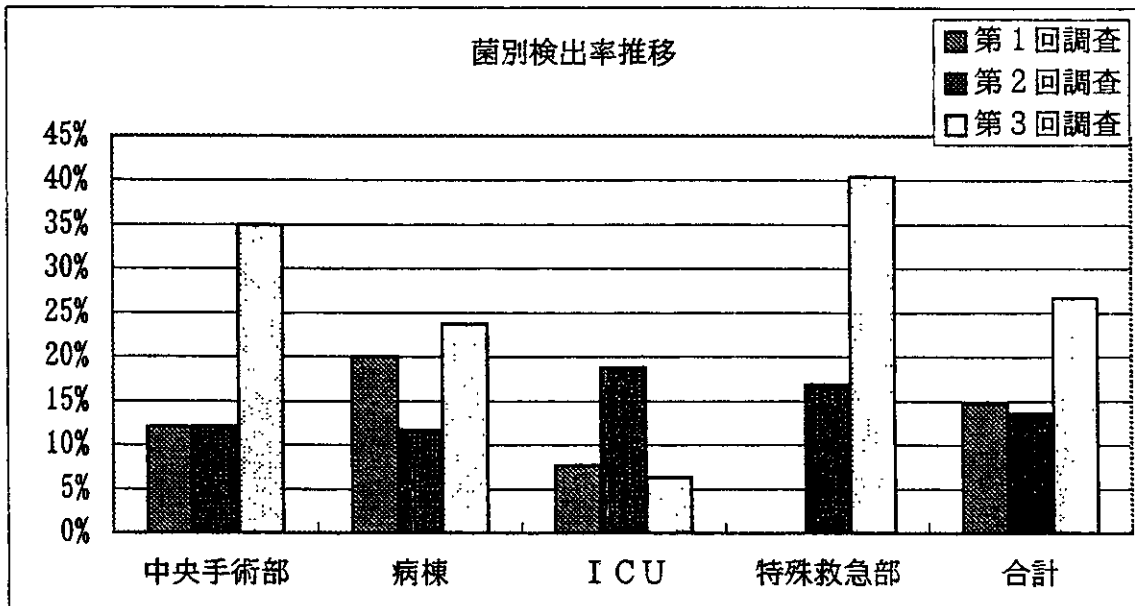
グラフ 1



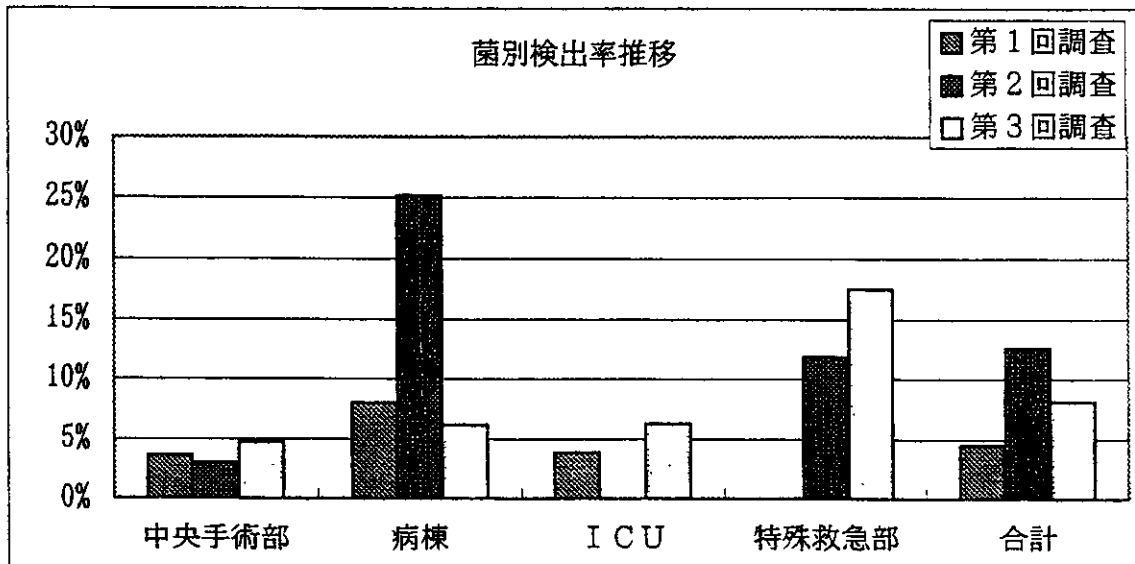
グラフ - 6 (緑膿菌)



(MSSA)



(MRSA)



臓器移植実施施設のモニタリングのための事前調査

微生物・空調モニタリング調査に先立ち、事前アンケート調査を実施いたしております。

皆様のご協力をお願い申し上げます。

<お名前、所属をご記入下さい>

貴施設名 () 病院長名 ()

ご住所 _____ TEL _____ FAX _____

記載者のお名前・部署をお書き下さい。

お名前 () 所属部署 ()

お名前 () 所属部署 ()

お名前 () 所属部署 ()



<貴病院についてお答え下さい>

建物 築年数 (約) _____ 年

1. 臓器移植実施施設のモニタリング調査対象施設は築後又は改修後
(約) _____ 年ですか

<施設運用について>

2. ハイオクリンームはどのような手術に使用されていますか

a. 移植手術 (骨髄、角膜、腎臓、肝臓、心臓、その他) b. 移植以外 ()

3. 手術室の入口に乗り換えホールはありますか

a. はい b. ないが作業上対応している c. いいえ

4. 清潔区域では陽圧が保たれる構造になっていますか

a. はい b. なってないので対応を検討している c. いいえ d. わからない

5. ICUでは他の区域と遮断される構造になっていますか

a. はい b. いいえ

6. 中央材料室は他の区域と遮断される構造になっていますか

a. はい b. いいえ

7. 既滅菌物保管室は他の区域と遮断される構造になっていますか

- a. はい b. いいえ

8. ICU・病棟では感染患者の部屋と他の部屋が遮断される構造になっていますか

- a. はい b. いいえ

<空調系について>

9. ハイクリーンルームの空気の吹き出し方式はどのような形式ですか

- a. 垂直形式 b. 水平方式 c. その他

10. ハイクリーンルームの空気クリーン度を定期的に測定していますか

- a. はい (クラス100、1000、10000、他) b. いいえ

11. 手術室の空調用フィルターはどのような種類のものですか

- a. HEPAフィルター b. 高性能 c. 中性能 d. その他 ()

12. ICU及び既滅菌保管室の空調用フィルターはどのような種類のものですか

- a. HEPAフィルター b. 高性能 c. 中性能 d. その他 ()

13. ファンコイル等室内機器のフィルタの清掃頻度をお答え下さい

- a. 1~2回/年 b. 1回/半年 c. 1回/3月 d. 1回/2月 e. 1回/月 f. その他 ()

14. 空調機、パッケージ等のプレフィルタの清掃又は交換頻度についてお答え下さい

- a. 1~2回/年 b. 1回/半年 c. 1回/3月 d. 1回/2月 e. 1回/月 f. その他 ()

15. 空調機、パッケージ等のメインフィルタの清掃又は交換頻度についてお答え下さい

- a. 1回/半年 b. 1回/年 c. 1回/2年 d. 1回/3年 e. その他 ()

16. フィルタ類の最新清掃日又は交換実施時期をお答え下さい

(別紙 空気環境モニタリング・ワークシートの対象室記入欄にご記入下さい)

17. 清潔区域では陽圧が保たれていますか

- a. はい b. いいえ (平圧または陰圧である)

<ベッド・リネン系について>

18. リネンセンター (リネンを中央管理する部署) は設置されていますか

- a. はい b. いいえ

19. 使用（汚）リネンの運び出しの動線は適切に行われていますか
 a. 動線管理により適切に分けられている b. 適切に管理されているとはいえない
20. 使用（汚）リネンの保管は適切に行われていますか
 a. 適切に行われている b. 適切に保管されているとはいえない
21. ベッドセンター(ベッド及びマットレスを中央管理する部署)は設置されていますか
 a. はい b. いいえ
22. ベッドマットの交換・消毒はどのくらいの頻度で実施されていますか
 a. 患者の退院毎 b. 毎月 c. 2~4回/年 d. 1回/年 e. 不定期 f. 交換しない

<清掃・消毒について>

23. 清掃・消毒方法と頻度

手術室：

清掃方法 a. 雑巾・モップの水拭き b. 化学雑巾 c. 吸引除塵機(HEPAフィルター付き) d. その他()

頻度 a. 2回/日 b. 1回/日 c. 1回/2日 d. 1回/3日 e. その他()

消毒方法 a. 消毒薬 b. 紫外線殺菌灯 c. ガス滅菌 (ホルミン ガソ その他) d. その他()

頻度 a. 2回/日 b. 1回/日 c. 1回/2日 d. 1回/3日 e. その他()

・消毒にはどの薬剤をお使いですか

a. 加ハキソソ b. 逆性ソソソ c. 両性活性剤 d. 塩素系 e. ヨード系 f. アルコール系 g. アルデヒド系 h. その他

ICU：

清掃方法 a. 雑巾・モップの水拭き b. 化学雑巾 c. 吸引除塵機(HEPAフィルター付き) d. その他

頻度 a. 2回/日 b. 1回/日 c. 1回/2日 d. 1回/3日 e. その他()

消毒方法 a. 消毒薬 b. 紫外線殺菌灯 c. ガス滅菌 (ホルミン ガソ その他) d. その他

頻度 a. 2回/日 b. 1回/日 c. 1回/2日 d. 1回/3日 e. その他()

・消毒にはどの薬剤をお使いですか

a. 加ハキソソ b. 逆性ソソソ c. 両性活性剤 d. 塩素系 e. ヨード系 f. アルコール系 g. アルデヒド系 h. その他

中 材：

清掃方法 a. 雑巾・モップの水拭き b. 化学雑巾 c. 吸引除塵機(HEPAフィルター付き) d. その他()

頻度 a. 2回/日 b. 1回/日 c. 1回/2日 d. 1回/3日 e. その他()

消毒方法 a. 消毒薬 b. 紫外線殺菌灯 c. ガス滅菌(ホルマリン オゾン その他) d. その他()

頻度 a. 2回/日 b. 1回/日 c. 1回/2日 d. 1回/3日 e. その他()

・消毒にはどの薬剤をお使いですか

a. 加ハキシジソ b. 逆性セッケン c. 両性活性剤 d. 塩素系 e. ヨード系 f. アルコール系 g. アルデヒド系 h. その他

病 室：

清掃方法 a. 雑巾・モップの水拭き b. 化学雑巾 c. 吸引除塵機(HEPAフィルター付き) d. その他()

頻度 a. 2回/日 b. 1回/日 c. 1回/2日 d. 1回/3日 e. その他()

消毒方法 a. 消毒薬 b. 紫外線殺菌灯 c. ガス滅菌(ホルマリン オゾン その他) d. その他()

頻度 a. 2回/日 b. 1回/日 c. 1回/2日 d. 1回/3日 e. その他()

・消毒にはどの薬剤をお使いですか

a. 加ハキシジソ b. 逆性セッケン c. 両性活性剤 d. 塩素系 e. ヨード系 f. アルコール系 g. アルデヒド系 h. その他

外来待合室：

清掃方法 a. 雑巾・モップの水拭き b. 化学雑巾 c. 吸引除塵機(HEPAフィルター付き) d. その他()

頻度 a. 2回/日 b. 1回/日 c. 1回/2日 d. 1回/3日 e. その他()

消毒方法 a. 消毒薬 b. 紫外線殺菌灯 c. ガス滅菌(ホルマリン オゾン その他) d. その他()

頻度 a. 2回/日 b. 1回/日 c. 1回/2日 d. 1回/3日 e. その他()

・消毒にはどの薬剤をお使いですか

a. 加ハキシジソ b. 逆性セッケン c. 両性活性剤 d. 塩素系 e. ヨード系 f. アルコール系 g. アルデヒド系 h. その他

24. 防カビ対策はしていますか

a. はい(方法:) b. いいえ c. 対策を検討している

25. ネズミ・衛生害虫の対策をしていますか

a. している(毎月・2回/年・4回/年・6回/年) b. していない

26. モニタリング対象室の最新消毒実施日はいつですか

(別紙微生物モニタリング・ワークシートの対象室記入欄にご記入下さい)

27. 最新消毒実施日以降の感染患者の有無についてお答え下さい
(別紙微生物モニタリング・ワークシートの対象室記入欄にご記入下さい)

<モニタリングについて>

28. 定期的に微生物モニタリングを実施していますか
a. はい (毎月・2~4回/年・1回/年) b. いいえ c. その他 ()
29. 微生物モニタリングはどのような方式を実施していますか
a. 拭き取り法 b. スタンプ法 c. その他 ()
30. 定期的に空調モニタリングを実施していますか
a. はい (毎月・2~4回/年・1回/年・その他()) b. いいえ
31. 空気モニタリングはどのような項目を実施していますか
a. 温度 b. 湿度 c. 浮遊粒子 d. 塵埃 e. 浮遊細菌 f. 落下細菌 g. 笑気ガス
h. 微差圧 i. その他 ()
32. どの部署を対象としましたか
a. 病院全体 b. 手術室 c. 中材室 d. NICU e. ICU f. CCU
g. 病棟 h. 外来 i. 問題を生じた部屋 j. その他
33. 測定はどなたが行いましたか
a. 病院職員 b. 外注 c. その他
34. データは誰が管理していますか
a. 院内感染対策委員会 b. 病院長 c. 副院長 d. 婦長 e. 中央検査室 f. その他 ()
35. データは有効に利用されていますか
a. データを基に対策を行っている b. あまり役立っていない c. 全く参考にしていない

<水系について>

37. 手洗い装置のメンテナンスは適切に行われていますか
a. はい b. いいえ

＜医療廃棄物について＞

38. 排出現場における分別は感染性廃棄物、非感染性産業廃棄物、一般廃棄物に分別して排出していますか
a. はい b. いいえ
39. 廃棄物の保管は法律に基づいた保管場所に保管されていますか
a. はい b. いいえ
40. 保管場所までの運搬は清潔な物の運搬と分けて行われていますか
a. 分けて運搬している b. 特に気にしていない

＜感染対策委員会について＞

41. 院内感染対策委員会が設置されていますか
a. はい b. いいえ
42. 開催頻度はどれくらいですか
a. 1回/月 b. 2～4回/月 c. 1回/年 d. 不定期
43. 感染対策レポートはどの位の頻度で作成されていますか
a. 1回/週 b. 1回/月 c. 2～4回/年 d. 1回/年 e. 不定期
44. 感染症に関する情報はどなたが管理されていますか
a. 院内感染対策委員会 b. 病院長 c. 副院長 d. 婦長 e. 中央検査室 f. その他 ()

ご協力有り難うございました。

研究課題 移植臓器の生着率向上に関する研究—長期移植腎の生着向上に関する研究

分担研究者 大島伸一 名古屋大学医学部教授
研究協力者 石橋道男 兵庫医科大学講師
森島恒雄 名古屋大学医学部教授
小野佳成 名古屋大学医学部助教授

研究要旨 移植腎の長期生着向上を図る目的で (1) 長期移植腎生着患者の免疫状態 (2) 慢性拒絶反応の機序 (3) 患者の生命予後を不良とする肝障害の実態を検討した。長期生着患者ではリンパ球に co-stimulatory signal の障害が生じ移植腎に対する無反応が生じている可能性があること、慢性拒絶反応が晩期急性拒絶反応に引き続いておこっていること、長期腎移植患者では免疫抑制療法により C 型肝炎ウイルスの増殖が促進され、免疫抑制剤ミゾリピンの投与によりその増殖が抑制される可能性もあることを確認した。

A. 研究目的

近年、臓器移植の分野でも強力な免疫抑制剤の開発、臨床応用により強力な導入免疫抑制剤療法が確立され、生体腎移植、死体腎移植ともに早期移植腎生着率は大幅に向上している。一方、長期移植腎生着に関しては、5 年生着率で生体腎移植で 70%、死体腎移植で 50% とまだ改善の余地があり、現在、長期移植腎生着の向上が重要な課題となっている。この問題を解決する目的で以下の検討を行った。

(1) 移植腎の長期生着の免疫学的な要件を明らかにするために、既に明らかにした長期移植腎生着患者のリンパ球の CD28 抗原発現抑制による co-stimulatory pathway の障害の機序を検討する目的で (i) 移植腎生着患者のヘルパー T 細胞における CD28 抗原発現状況 (ii) co-stimulatory pathway の障害が考えられる長期移植腎生着患者のリンパ球の allo 抗原に対する反応性の検索を行った。

(2) 慢性拒絶反応の病因を明らかにするために、(i) 慢性拒絶反応合併例での臨床経過の解析を行い、特に晩期急性拒絶反応との関係を検討した。また、(ii) ラットモデルでの慢性拒絶反応のエフェクター細胞がマクロファージであることを明らかにしたが、今回はさらにこの研究をすすめ

腎障害進行のエフェクター細胞の検索を行った。

(3) C 型肝炎ウイルス感染移植患者でのウイルス増殖に与えるミゾリピンの影響を明らかにする目的でミゾリピンを投与している C 型肝炎ウイルス感染移植患者のウイルス量を検索した。

B. 研究方法

(1) 移植腎の長期生着の免疫学的要件の解明 (i) 拒絶反応の合併のない移植腎機能が正常な HLA I パプロ適合生体腎移植患者 63 例を対象として末梢血リンパ球のうち CD4 陽性細胞の CD28 分子の発現状況を抗 CD4 抗体と抗 CD28 抗体を用いたツーカラーフローサイトメトリーにて検索した。CD4 陽性細胞数に対する CD28 分子の発現のない CD4 陽性細胞数の割合を % で算出した。

対象患者の移植腎生着期間は 1 年から 25 年、平均 11 年であった。免疫抑制療法はアザチオプリン、シクロスポリン、あるいはタクロリムスとステロイドの 2 剤、あるいはそれにミゾリピンを加えた 3 剤でなされていた。

(ii) 上記 CD28 分子の発現抑制がみられた 5 年以上移植腎生着例を対象として、ドナーと third party に対するリンパ球混合培養(MLC)を行った。MLC は患者末梢血から Ficoll-Hypaque 法

で分離した単核球を responder cell としてドナー及び third party の末梢血から同様に分離した単核球に 3000R の放射線照射を行い stimulator cell として、120 時間培養し、³H サイシジンの取り込みを計測し、stimulation index (S.I.) を算出した。

(2) 慢性拒絶反応の病因の解明

(i) シクロスポリンあるいはタクロリムスで免疫抑制を行い 1982 年から 1997 年までに私共が施行した死体腎移植のうち移植腎が 1 年以上生着した 182 例を対象として慢性拒絶反応合併例の臨床経過、特に、晩期急性拒絶反応の合併との関係を中心に慢性拒絶反応合併に至るまでの経時的な組織学的変化をバンフ分類に従って検討した。

(ii) ラット腎移植モデル (F344→Lewis) の慢性拒絶反応で ED-1 マクロファージがエフェクター細胞であることを解明したが、今回はラット尿管閉塞モデルでの腎障害進行のエフェクター細胞を免疫組織学的に検索した。

(3) C 型肝炎ウイルス感染移植患者でのウイルス量の推移とミゾリピンを用いた免疫抑制療法との関係

C 型肝炎ウイルス感染腎移植患者でミゾリピンを併用して免疫抑制を行った 11 例でウイルス量の推移を検索した。

C. 研究結果

1 移植腎の長期生着への免疫学的要件の解明
生体腎移植患者の末梢血リンパ球の CD28 陰性 CD4 陽性細胞の割合は 2% から 87% であった。CD28 陰性 CD4 陽性細胞の割合と移植腎生着期間との関係を図 1 に示したが、CD28 陰性 CD4 陽性細胞は移植腎生着期間が延長するにしたがって有意に増加し ($r=2.17$ $p<0.001$)、CD28 陰性 CD4 陽性細胞の割合は移植腎生着期間 10 年以上群は 5 年未満群に比較して有意に高く ($P<0.01$)、更に 15 年以上群は 5 年未満群に比

較し有意に高かった ($P<0.001$) (図 2)。

移植腎生着患者での CD4(+)/CD28(-) 細胞表面抗原出現と移植腎生着期間

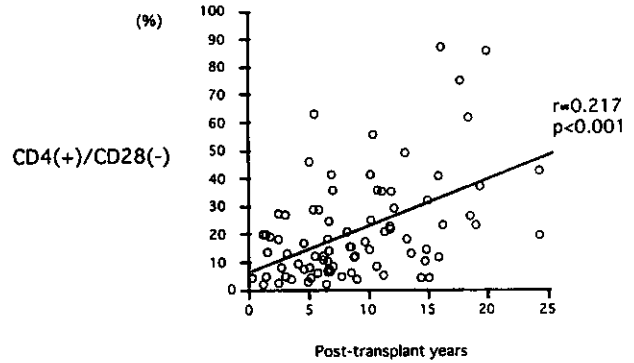


図 1

移植腎生着患者での CD4(+)/CD28(-) 細胞表面抗原出現と移植腎生着期間

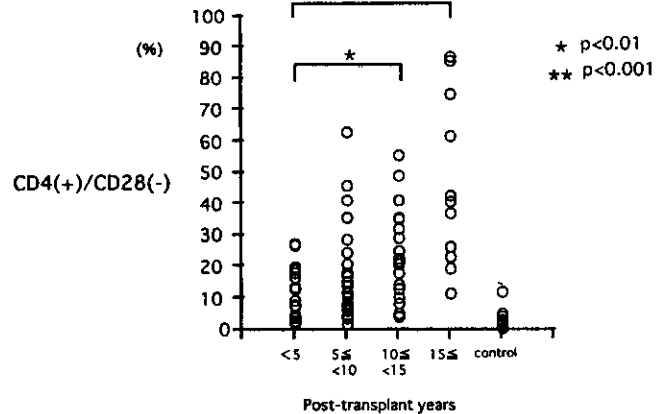


図 2

ドナー、third party に対する MLC 反応については、ドナーに対する MLC 反応では術前の同検査に比較し、32 例のうち 25 例 (78%) で低下がみられ、他の 7 例 (22%) では増加がみられた。低下群の CD28 陰性 CD4 陽性細胞の割合は 2% から 87%、平均 27%、また、増加群では 11% から 68%、平均 23% で両群に有意差はみられなかった。third party に対する MLC 反応では 10 例 (26%) が 3 人の third party に対して S.I. 値すべて ≤ 5 、他の 28 例はいずれ

かの third party に対して S.I. 値 >5 であり、前者の CD28 陰性 CD4 陽性細胞の割合は 6% から 49%、平均 30%、後者では 2% から 87%、平均 25% であった。CD28 陰性 CD4 陽性細胞 < 23% 群と ≥23% 群とに分けると有意に ≥23% 群で third party に対する MLC で S.I. 値 <5 になる傾向がみとめられた (P<0.02) (図 3)。

CD4(+)/CD28(-) cells	MLC-SI ≤ 5	MLC-SI > 5
≥23%	8	10
<23%	2	18

(p<0.02)

図 3

2 慢性拒絶反応の病因の解明

死体腎移植 182 例のうち 73 例が移植腎機能を喪失したが、最大の喪失原因は慢性拒絶反応であり 58 例 (80%) にみられた。うち、30 例は慢性拒絶反応による移植腎機能廃絶までに晩期急性拒絶反応を合併していた。晩期急性拒絶反応合併 23 例 39 回の移植腎生検の組織学的変化をバンフ分類に基づき急性拒絶反応変化、慢性拒絶反応変化に分類すると図 4、図 5 となり、晩期急性拒絶反応を重ねるたびに慢性拒絶反応でみられる糸球体病変血管病変、間質病変の進行が認められた。また、晩期急性拒絶反応合併からの推測移植腎生着率は晩期急性拒絶反応 1 回合併症群では移植腎生着率 50% が 3.8 年、2 回、3 回合併群では 1.5 年、1.6 年と晩期急性拒絶反応の合併回数が増加するに従い予後が悪くなる傾向が認められた (図 6)。

晩期急性拒絶反応合併例の組織学的急性及び慢性拒絶反応変化

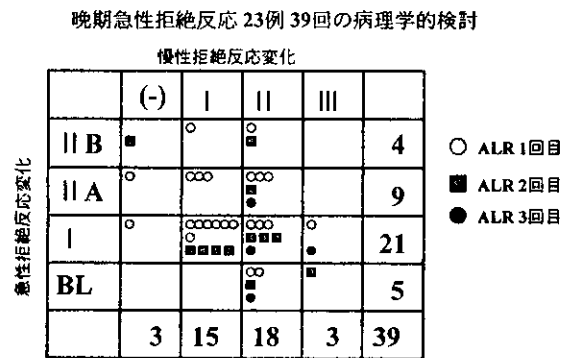


図 4

晩期急性拒絶反応症例の組織学的慢性拒絶反応変化

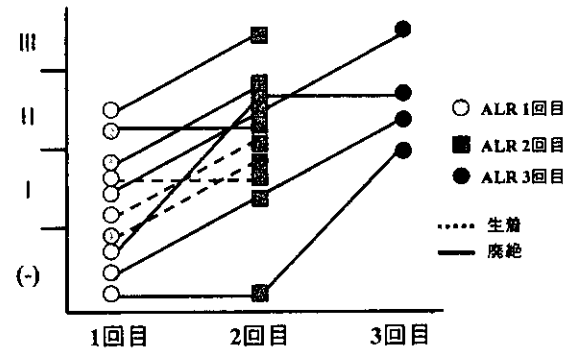


図 5

晩期急性拒絶反応合併回数と推定移植腎生着率

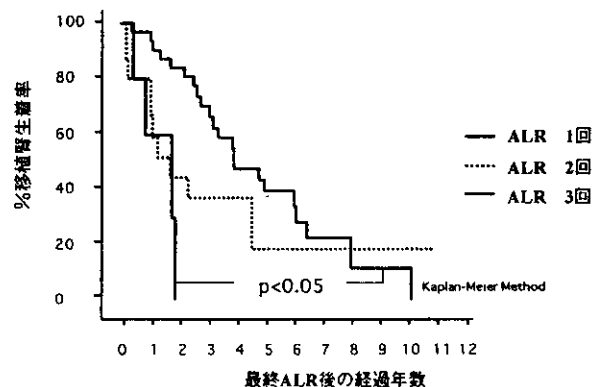


図 6

尿管閉塞ラットモデルを用いた腎実質の線維化では、前回明らかにしたラットモデルの慢性拒絶反応のエフェクター細胞、ED1 マクロファージ以外に CD11b/CD18 陽性のマクロファージやナチュラルキラー細胞がエフェクター細胞としてみとめられた。

3 ミゾリビン併用免疫抑制療法施行 11 例のうち、2 例でウイルス量の増加がみられ 6 例で不変 3 例で減少が観察された。C 型肝炎ウイルス感染腎移植患者でミゾリビンの併用投与によりウイルスの増加が抑制される症例もあることが確認された。

D. 考察

動物モデルで co-stimulatory signal に関与するリンパ球表面に存在する CD2, CD11a, CD28 分子の障害により慢性拒絶反応が抑制され末梢性免疫寛容が誘導されることが知られている。私共はヒトの長期移植腎生着例の末梢血リンパ球の co-stimulatory signal に関与する CD2, CD11a, CD28 分子の発現状況を検索し、長期移植腎生着例、特に 10 年以上移植腎生着例でリンパ球表面の CD28 分子の発現が著しく減少していることを明らかにした。

今回の検討では長期移植腎患者の末梢血リンパ球の抗 CD4、抗 CD28 抗体によるツーカラーフローサイトメトリーを用いてリンパ球のうち同種移植における免疫応答の中心的役割を果たすヘルパー T 細胞 (CD4 陽性細胞) の CD28 分子の発現が障害されていることとこの障害が移植腎生着期間に相関し生着期間が長くなるに従って CD4 陽性細胞の CD28 分子の発現が低下することを明らかにした。更に、CD28 陰性 CD4 陽性細胞が多くみられた 5 年以上生着患者の末梢血リンパ球のアロ抗原に対する MLC 反応が低下していることを確認した。以上よりヒトの移植腎の長期生着にリンパ球、特にヘルパー T 細胞の CD28 分子の発現障害が関与している可

能性が示唆され、ヒトの移植腎においても移植腎生着にマウスモデルで観察されている co-stimulatory pathway の障害による末梢性免疫寛容が関与している可能性が推察された。

慢性拒絶反応については、現在のところ正確な病因は不明であり、ドナー抗原に対する何らかの免疫反応により生ずると考えられている。病理組織学的には実質の線維化と糸球体の硝子化を伴う血管内膜の増生と中膜の肥厚がみられ、臨床的には高血圧とタンパク尿を伴う緩徐な腎機能の低下がみられ、最終的には移植腎機能の廃絶に至る。一方、晩期急性拒絶反応は腎移植後、3 カ月以降に発症する急性拒絶反応で臨床的には移植腎機能の低下とタンパク尿がみられ、組織学的にはリンパ球の浸潤を伴う間質の浮腫と血管炎がみられる。その大部分は、ステロイドの大量投与に反応し、移植腎機能の低下は停止するが、完全に回復することはない。長期的予後でみると晩期急性拒絶反応合併例の多くは 2~5 年で移植腎機能の廃絶をみるということが知られている。

今回の検討では、(1) 晩期急性拒絶反応合併例の多くは慢性拒絶反応となり移植腎機能の廃絶に至ること (2) 晩期急性拒絶反応を繰り返すことにより糸球体硬化、間質の線維化、血管内膜と中膜の増殖性変化が進行していくことが明らかになった。特に糸球体硬化、間質の線維化、血管内膜と中膜の増殖性変化は慢性拒絶反応でみられる組織学的所見と一致しており、慢性拒絶反応が時間的には異なるものの急性拒絶反応と似た免疫反応によって生じている可能性が考えられた。すなわち、慢性拒絶反応では緩徐な免疫反応により血管炎がわずかずつ生じ、その変化が緩徐なゆえに宿主の増殖性反応が主体となっているとも考えられる。

今後、晩期急性拒絶反応や慢性拒絶反応合併例の移植腎組織に生じている変化を生検組織を用いてエフェクター細胞のみならず炎症でみら

れる各種調節因子の面から解明する必要があることが示唆された。

ラットの尿管閉塞モデルは一般に腎実質の線維化の検討によく用いられており、腎実質の線維化は慢性拒絶反応に生ずる主たる変化であることから今回の検討を行った。CD11b/CD18 分子陽性細胞は、その分子のリガンドとして iC3b、フィブリノーゲン、赤血球抗原などを認識するもので、毛細血管や血管内皮上に液性因子も加えたりガンドが存在する場合に細胞障害性に作用することが考えられる。そのためヒトの腎移植の慢性拒絶反応においても CD11b/CD18 陽性細胞—マクロファージやナチュラルキラー細胞が エフェクター細胞として作用している可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Azuma,H., Nadeau,K., Ishibashi,M., and Tilney,N.L.: Prevention of functional structural and molecular changes of chronic rejection of rat renal allografts by a specific macrophage inhibitor . Transplantation, 60 :1577-1582,1995

2) Ohshima,S., Ono,Y.,et al :
Immunosuppressive Treatment of Primary Cadaveric Renal Transplant Patients Receiving Kidneys from Non-Heart Beating Donors. Artificial Organs, 20(10):221-227, 1996

3) Furukawa,T., Ono,Y., Ohshima,S.,et al:Multivariate Analysis of Factors Affecting Cadaver Kidney Allograft Survival in the Chronic Stage. Transpl.Proc.28(3):1565-1567,1996

4) Mizutani,K., Ono,Y., Ohshima,S.,et al:Cadaveric Kidneys From Older Donors and Their Effective Use in Transplantation :

A Risk Factor for Long-Term Graft Survival. Transpl.Proc. 29:113-115,1997

5)大島伸一、小野佳成：「長期移植腎の生着向上に関する研究」厚生省「平成9年度免疫アレルギー事業」報告書、1998

6) Ono,Y., Ohshima,S.,et al. : Depressed expression of CD28 antigen on lymphocyte in long term kidney transplant patients. Transpl. Proc.,30,1164-1166,1998

7) Mizutani,K., Ono,Y., Ohshima, S.,et al.:Low MLR stimulation index and depressed CD28 antigen expression in long-term renal transplant recipients. Transpl. Proc.,30,2970-2973,1998

2. 学会発表

1)水谷一夫、横井繁明、山田伸、竹田明久、加藤範夫、小野佳成、竹内宣久、大島伸一、森島恒雄：死体腎移植における HCV 感染症と免疫抑制療法の検討、第 32 回日本移植学会総会、1996.10.24

2)水谷一夫、横井繁明、山田伸、武田明久、加藤範夫、小野佳成、大島伸一：死体腎移植における機能廃絶例の検討、第 46 回日本泌尿器科学会中部総会、1996.11.15

3)近藤哲志、小野佳成、水谷一夫、絹川常郎、上平修、近藤隆夫、服部良平、古川亨、大島伸一：移植腎の免疫寛容に関する研究、第 33 回日本移植学会総会、1997.9.18

4)水谷一夫、小野佳成、松浦治、山田伸、近藤哲志、近藤厚生、絹川常郎、竹内宣久、服部良平、藤田民夫、西山直樹、大島伸一：死体腎における poor risk donor の検討、第 47 回日本泌尿器科中部総会、1997.11.10

5)Kondo,T.,Ono,Y.,Mizutani,K.,Kamihira, O. : Unresponsiveness of MLR in Long-term Renal Transplant., 5th Asian Society of Transplantation, 1997.12.5

6)Ono,Y.,Hattori,R.,Kamihira,O.,Mizutani,
K.,Ohtsuka,K.,Ohshima,S. : Depressed
Expression of CD28 Antigen on Lymphocyte
in Long-term Kidney Transplant Patients,
The International Congress on
Immunosuppression in Orlando ,1997.12.12

7)水谷一夫、小野佳成、絹川常郎、服部良平、
上平修、古川亨、近藤隆夫、大島伸一：生体腎
移植長期生着例におけるリンパ球の表面マーカ
ーの変化と免疫寛容の検討、第34回日本移植
学会総会、1998.12.2

8)近藤隆夫、小野佳成、水谷一夫、絹川常郎、
松浦治、服部良平、大島伸一：1年以上生着し
た献腎移植における移植腎機能廃絶症例の検討、
第32回日本腎移植臨床研究会、1999.3.4

研究課題 臓器搬送の立場から見た保存条件に関する研究

分担研究者 門田守人 大阪大学医学部第二外科教授
研究協力者 矢永勝彦 松山赤十字病院検査部長
古川博之 北海道大学医学部第一外科助手

研究要旨 全都道府県から脳死肝移植認定施設までの所用時間、及び登録した全レシピエント候補者につき移植施設に到達するまでの所用時間を算定した。その結果、移植施設が2施設に限定されている現況は肝保存にとって極めて過酷であり、保存条件につき更なる研究が必要であることが確認された。また、基礎的研究において、1) steroid がカルシウム依存性蛋白分解酵素カルパインの活性化を抑え虚血再灌流傷害を抑制すること、2) 好中球プロテアーゼ阻害剤が肝低温保存傷害を制御しうること、3) 抗酸化剤など9種類の薬剤により肝温阻血再灌流傷害の抑制が可能であることが示された。

はじめに

死体臓器移植においては臓器摘出と移植手術が別個の施設で行われることから、搬送等の間の虚血傷害とその後の再灌流傷害を抑制することが重要である。米国における経験から、低温保存時間の延長はいわゆる primary nonfunction の発生率及び再移植率の増加につながる事が知られている。本年度の研究では、肝臓について、現在の2つの認定移植施設までの臓器（及びレシピエント）の搬送時間を計算すると共に、viability の指標としてのカルシウム依存性蛋白分解酵素カルパインに関する研究、低温保存傷害の制御に関する研究、心停止肝移植を目標としての温阻血再灌流傷害の抑制に関する研究を行った。

1. 現在の移植施設までの所要時間の検討

A. 研究目的

臓器の保存時間は移植後の臓器機能を左右する重要な因子であり、従って、臓器提供施設に近い施設での移植が望まれる。しかるに、現在の日本では心臓、肝臓ともに移植実施施設が2つに限定されている。そ

こで、肝臓の移植実施施設までの臓器（及びレシピエント）の搬送時間を検討した。

B. 研究方法

まず、全都道府県の県庁所在地から2つの移植施設までの公共交通機関による所用時間を算出した。この際、臓器摘出と同時に最速の交通機関を利用可能とし、また、交通機関の乗り継ぎ時間はゼロと仮定し、理想的な最短時間を求めた。次に、これまでに日本臓器移植ネットワークに登録した50名のレシピエント候補者につき、移植施設までの到達時間を同様の方法で算出した。

C. 研究結果

他府県から移植施設までの平均所要時間 (mean ± S.D.) は、京都大学が 3.6 ± 1.3 時間、信州大学が 4.7 ± 1.1 時間であった。また、レシピエント候補者の移植施設までの移動所要時間は 2.8 ± 1.7 時間であり、レシピエントとして登録している患者は移植施設に近いものが多いことが示唆された。

2. ステロイドによる肝虚血・再灌流傷害の抑制—カルパインの活性化から見た検討

A. 研究目的

細胞内カルシウム濃度の上昇に伴うカルパインの活性化は、細胞骨格蛋白を分解、blebを形成し、最終的に細胞死を来すことが知られている。我々は、このカルパインの活性化が、虚血・再灌流に伴う肝細胞傷害の鋭敏な指標となりうることを報告してきた。本研究では、ステロイドによる肝虚血・再灌流傷害の抑制効果について、カルパインの活性化を指標として検討した。

B. 研究方法

ラットの70%肝虚血再灌流モデルにおいて、虚血30分前にステロイド1~10 mg/kgの静脈投与を行った。虚血解除と同時に非虚血肝葉を切除し、120分再灌流後に血清transaminaseを測定した。また、組織を採取し、HE染色でbleb形成を観察した。採取後直ちに凍結した肝組織を用いて、IL-1 β とTNF- α のmRNAをRT-PCRで検出すると共に、カルパインの活性化とカルパインの基質であるtalinの減少をimmunoblotで検討した。

C. 研究結果

10 mg/kgのprednisoloneは、blebの形成を著明に抑制し、血清transaminase値を有意に低下させた。また、肝組織のIL-1 β とTNF- α のmRNA発現を抑制すると共に、カルパインの活性化を抑制しtalinの分解を抑制した。

D. 結論

ステロイドは、IL-1 β とTNF- α の発現を抑制することにより、カルパインの活性化を抑制し、blebの形成を抑制し細胞傷害を抑えた。

3. 好中球エラスターゼ阻害剤による肝低温保存傷害の抑制

A. 研究目的

保存肝を再灌流した際、好中球が類洞内皮に接着し、活性酸素やプロテアーゼを放出することにより、肝微小循環障害、ひいては臓器障害を起こすと考えられている。本研究では、ラット肝保存・移植の系において、特異的好中球エラスターゼ阻害剤ONO-5046の効果を検討した。

B. 研究方法

ラット肝を摘出後、乳酸リンゲル液で5時間低温保存し、同系ラットに同所性移植した。投与群はONO-5046を30 mg/kg/hrで3時間持続投与し、対照群は生理食塩水のみとした。再灌流後の胆汁産生量を測定し、また、2時間後にtransaminaseと血清ヒアルロン酸値を測定した。

C. 研究結果

投与群は対照群に比し、再灌流後の胆汁産生量が有意に多かった。再灌流2時間後の血清transaminase値は両群間に差がなかったが、血清ヒアルロン酸値は投与群で有意に低値であった。

D. 結論

特異的好中球エラスターゼ阻害剤ONO-5046のレシピエントへの投与は、類洞内皮細胞の傷害を抑えることにより、肝低温保存再灌流傷害を抑制した。

4. 肝温阻血再灌流傷害の薬理的抑制

A. 研究目的

近年の肝移植症例数の増加に伴い、欧米においてもドナーの不足が叫ばれている。その対策として、所謂marginal donorの臓器の使用に加えて、かつて脳死臓器移植

が認められていない国で止むを得ず行われた心停止肝移植を見直す動きがある。本研究では、温阻血再灌流モデルにおいて、多種の薬剤を用いた傷害抑制を試みた。

B. 研究方法

ビーグル犬において、肝の完全温阻血・再灌流を行った。治療として、1) 抗酸化剤 nicaraven、2) adenosine 輸送阻害剤 dipyridamole、3) phosphodiesterase 阻害剤 アムリノン、4) thromboxane A₂ 合成阻害剤 OKY-046、5) II 型 phospholipase A₂ 合成阻害剤 LY-329722、6) 蛋白分解酵素阻害剤 nafamostat mesilate、7) 非特異的 endothelin 受容体拮抗剤 TAAK-044、8) angiotensin II 拮抗剤 CV-11974、9) P-selectin 糖鎖蛋白 ligand である SPSGL-1 の何れかを投与した。再灌流後の血清 ALT、レーザー・ドップラー血流計で測定した肝組織血流量、2週間後の生存率を無治療群と治療群と比較した。

C. 研究結果

ALT の経過中最大値は、無治療群が約 13,000IU/L であったのに対し、治療群では何れも 2,000~4,000 IU/L に抑えられていた。肝組織血流量は、無治療群では阻血前値の 30%未満であったのに対し、治療群では何れも 50%以上の値を示した。また、2週間後の生存率は、無治療群では 30%であったのに対し、治療群では全て 100%であった。

D. 結論

種々の薬剤を用いた治療により肝温阻血再灌流傷害が抑制され、今後これらを組み合わせることにより更に高度の抑制を得る可能性が示唆された。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Wang M, et al. Determination of a safe vascular clamping method for liver surgery. (Arch Surg 133: 983-987, 1998)
- 2) 梅下浩司、門田守人. 臓器保存の進歩 (日外会誌 99: 776-780, 1998)

2. 学会発表

- 1) Umeshita K, et al. Antisense oligonucleotide-induced suppression of calpain μ expression prevents oxidative stress-induced hepatocyte injury. (AASLD, 1998)
- 2) Sakon K, et al. Activation of calpain μ in the diseased liver. (AASLD, 1998)
- 3) 王 蒙ら. 肝虚血再灌流傷害に対するステロイド効果 (第 34 回日本移植学会総会、1998)
- 4) 左近賢人ら. Oxidative stress と Ca²⁺依存性中性蛋白分解酵素 (calpain- μ) の活性化 (第 40 回日本消化器病学会大会)
- 5) 梅下浩司ら. Ca²⁺依存性蛋白分解酵素 calpain μ に着目した肝虚血再灌流障害の機構解析と傷害抑制の試み (第 99 回日本外科学会総会、1999)
- 6) 横田良一ら. ハイドロキシラジカル消去体 (ニカラベン; AVS) の肝虚血再灌流障害に対する効果 (第 34 回日本移植学会総会、1998)
- 7) 堀内彦之ら. 非選択的エンドセリン受容体拮抗剤 (TAK-044) による肝虚血再灌流障害の軽減効果 (第 34 回日本移植学会総会、1998)

研究課題 レシピエント心臓の原疾患からみたドナー選択

分担研究者 松田 暉 大阪大学医学部第一外科教授

協力研究者 八田光弘 東京女子医科大学循環器外科講師

研究要旨 肺高血圧に起因した移植心不全は、心臓移植後の重要な死因の1つである。移植前の危険因子を検討することは、心臓移植の成績を向上させると考えられる。本年度は、小児心臓移植患者を retrospective に解析して、肺高血圧による移植心不全の危険因子を検討した。肺高血圧に基づく移植心不全に陥る症例は、1才以上に有意に多く、すべて先天性心疾患患児であった。移植後肺高血圧が予想される症例には、大きなサイズの、虚血時間の短いドナー心を選択することが望ましいと考えられた。

A. 研究目的

肺高血圧に起因した移植心不全は、心臓移植後の重要な死因の1つである。そのため、移植前の肺血管抵抗が6単位以上の症例は心臓移植の適応から除外されているが、6単位未満の症例でも、肺高血圧によって死亡する症例は認められる。従って肺高血圧を伴った症例に適したドナー選択基準を作成できれば、心臓移植後の成績がさらに向上するものとする。今回我々は、Loma Linda大学の小児心臓移植患者を retrospective に解析して、肺高血圧による移植心不全の危険因子を検討した。

B. 研究方法

対象はLoma Linda大学で施行された小児心臓移植患者195名で、移植時年齢により1才未満(I群;152例)と1才以上(C群;43例)に分けて検討した。

C. 研究結果

肺高血圧による死亡例は全て先天性心疾患の心臓移植で、特にC群では再手術症例であった。移植後の早期死亡率は両群間で有意差を認めなかったが、肺高血圧による死亡率はC群の方がI群より高値であった。C群において、虚血時間の長い症例の方が、短い症例より肺高血圧による死亡率が高く(4/25 vs

0/17; $p < 0.05$)、レシピエントに比較して大きなドナーから心提供を受けた場合にはそのような死亡は認めなかった。このような傾向は、I群では認められなかった。

D. 考察

肺高血圧に基づく移植心不全に陥る症例は、1歳以上の症例に有意に多く(即ち左心低形成症候群に少なく)、すべて先天性心疾患患児のしかも再手術例であり、肺血管の低形成が移植後肺高血圧一因であると考えられた。そのような症例であっても、大きなサイズのドナーを用いたり、虚血時間が短ければ、肺高血圧に基づく移植心不全に陥る症例がなかったため、移植後肺高血圧が予想される症例には、大きなサイズの、虚血時間の短いドナー心を選択することが望ましいと考えられた。

E. 結論

肺高血圧に基づく移植心不全に陥る諸例は、1歳以上の症例に有意に多く、すべて先天性心疾患患児であった。移植後肺高血圧が予想される症例には、大きなサイズの、虚血時間の短いドナー心を選択することが望ましいと考えられた。

F. 研究発表

なし

研究課題 生体部分肝移植，脳死提供肝移植におけるドナー，レシピエントの適切な組み合わせに関する研究

分担研究者 幕内雅敏 (東京大学肝胆膵外科，人工臓器移植外科教授)

研究協力者 川崎誠治 (信州大学第一外科教授)

研究協力者 針原康 (東京大学肝胆膵外科，人工臓器移植外科講師)

研究要旨 生体部分肝移植ドナーの条件では現在のところ年齢上限を 60 才としているが，この範囲内では黄疸の推移からみたグラフト肝機能には年齢による差は認められなかった．20 才代後半から 40 才代前半の肝移植希望患者の場合には，適当なドナーが得られないために，生体部分肝移植の実施に至らない症例が多く認められ，ドナーの面からみた生体部分肝移植の限界と考えられた．

A. 研究目的

脳死ドナーからの肝移植の場合，摘出されたグラフトはすでに脳死に至る過程で障害されている可能性があり，またさらに摘出や移送にかかる時間のために阻血障害が加わるので，約 5-10%程度の頻度で移植した肝臓が機能しない，いわゆる primary nonfunction が起こるとされている．一方生体部分肝移植の場合には，ドナーは基本的に健康体であり，ドナー手術時に肝臓が障害されていることはなく，保存時間も時間調整により最小限とするため，幸いに現在まで primary nonfunction の報告はない．このように脳死ドナー肝移植と生体部分肝移植とでは実際に移植されるときグラフトの条件が異なっているが，本研究では脳死ドナー肝移植でリスクファクターと考えられているドナーが高齢であることや脂肪肝が，生体部分肝移植においてもリスクファクターとなるかどうかについて検討した．

なおドナー候補の面からの生体部分肝

移植の限界を検討するため，レシピエントの年齢とドナーの関係，および適当なドナー候補がいなかったために，生体部分肝移植の実施に至らなかった症例の年齢についても合わせて検討した．

B. 研究方法

移植後のグラフト肝機能に対するドナー年齢および脂肪肝の影響については東京大学において 1996 年 1 月から 1998 年 12 月の 3 年間に施行した生体部分肝移植症例 48 例を対象とした．その内訳は成人例 (18 才以上) 14 例，小児例 34 例であり，その適応疾患は小児例では 90%近くが胆道閉鎖症であったが，一方成人例では原発性胆汁性肝硬変，HBV による肝硬変など多岐にわたっていた (表 1)．レシピエントの概要としては，中央値で見ると，小児例が年齢 12 ヶ月，体重 8.5kg であったのに対し，成人例では年齢 39 才，体重 52kg であった (表 2)．またドナーについては小児例では祖母の 1 例を除き，