

し、同意が得られ、PEG・IFN α -2a 180 μ g 投与を開始し、1 ヶ月後に 5KIU/ml 未満（ハイレンジ法）、さらに 2 ヶ月後に 0.5KIU/ml 未満となり（オリジナル法）、ALT も 27IU/L と低下した。

症例 2 は C 型肝硬変のため、2003 年生体部分肝移植を受け Tac 6mg/日（C 0.4.0-10.8ng/ml）で維持され、血中 HCV・RNA 量は移植 1 ヶ月後いったん 6.9KIU/ml と減少したが、2 ヶ月後 850KIU/ml 以上と上昇し、その後 580 \sim \geq 850KIU/ml で、ALT は 18-80IU/L で推移した。2004 年 11 月、血中 HCV・RNA 量 2800KIU/ml、2005 年 2 月 4900KIU/ml と上昇し、移植肝生検を行ったところ CAH（AC）、A1、F0-1 と診断され、Tac を CsA に変更した上で、IFN α -2b 300 万単位の筋肉内注射とリバビリン 800mg/日経口投与を開始した。開始後 1 ヶ月で血中 HCV・RNA 量は 5KIU/ml 未満（ハイレンジ法）、ALT も 31IU/L となった。

3. 肝移植後の血清 2-5AS は Tac 投与群で 87.9 ± 19.9 pmol/dl、CsA 投与群で 308.3 ± 62.2 pmol/dl であり、CsA 投与群で有意に高値を示した。また HCV・RNA 陽性腎移植患者においては、血清 2-5AS は Tac 投与群で 96.2 ± 22.3 pmol/dl、CsA 投与群で 278.8 ± 232.6 pmol/dl であり、CsA 投与群で高い傾向を示した（表 4）。

D. 考察

肝移植後の C 型肝炎の再発率は移植後 5 年で 10 数% - 40 数% に達するとされ、わが国の全国調査による統計でも、その再発率は 47% とされている。また C 型肝炎に対する肝移植後 2 年間における C 型肝炎/肝硬変（F3-4）への進展に関するリスクファクターとして、MMF の使用（odds ratio 8.89）、Az の使用（odds ratio 3.24）、PS の使用（odds ratio 5.00）が重要であり、CsA 使用例では再発率が低い（odds ratio 0.38）とされている。これらの事実は C 型肝炎に対する肝移植においては、移植後の C 型肝炎/肝硬変の再発率が非常に高く、使用される免疫抑制薬が強く関与していることを示している。したがって C 型肝炎に対する肝移植における成績のいっそうの向上には、(目)移植後の C 型肝炎の再発予防法の開発、(月)移植後再発した C 型肝炎の治療法の開発が不可欠である。また肝移植後の C 型肝炎再発と肝硬変への進展に強く影響する免疫抑制法の検討が重要である。本研究においては、肝移植後発生した C 型肝炎に対する治療法、さらに免疫抑制法について、とくに CNI の影響について検討を加えた。

肝移植後 C 型肝炎再発例における血中 HCV・RNA 量に対する CNI の影響については、Tac 継続例（いずれも genotype 1b）においては血中 HCV・RNA 量は上昇傾向を示すか、あるいは持続的に高値を示し（図 2）、CsA への変更例（genotype 1b および 2b）

においてはCsAへの変更後、血中HCV・RNA量の低下が認められた(図2)。またTacからCsAに変更の上、IFN α -2bおよびリバビリンを投与した症例(genotype 2b)では、血中HCV・RNAは速やかに測定感度以下に低下した(図2)。肝移植後CsAで維持された症例1(genotype 1a)においては、移植後長期間にわたり血中HCV・RNA量は低値で推移したが(60~160KIU/ml)、移植後16年を経過した時点で上昇し(2300~3300KIU/ml)、移植肝生検でF2-3が確認されたためIFN α -2aを投与し、投与開始後速やかに血中HCV・RNAは測定感度以下に低下した(表2)。

Teraokaは非A非B肝炎患者血清を接種したチンパンジーにCsAを投与し、電顕で肝細胞内ウイルス病変のhistometric scoreの減少を報告している(Teraoka S, et al: Transplant Proc 20:868, 1988)。その後Stegallは肝移植後生検で確認されたC型肝炎の再発率は、Tac投与例に比してCsA投与例で低かったことを報告している(Stegall et al: Hepatology 24: 174A, 1996)。ついでAlikhan、Rabkin、TchervenkovさらにBerenguerも同様の報告を行っている(表5、Alikhan MM, et al: Hepatology 26: 156A, 1997, Rabkin JM, et al: Transplant Proc 33, 1532, 2001, Tchervenkov JJ, et al: Hepatology 34:641A, 2001, Berenguer M, et al: 38: 34, 2003)。

WatashiらはHCVレプリコン細胞を用い

た検討で、CsAにHCV増殖抑制効果が認められたがTacには認められなかったことを報告し、cyclophilin (CyP)結合能を有するがcalcineurin (CN)阻害活性を示さないNIM811ではHCV増殖抑制効果は認められたが、CyPおよびCNへの結合能を有さないPSC833では認められなかったことから、CsAのHCV増殖抑制効果の機序はCN阻害によるものではなく、CyPを介するものと推定している(Watashi K, et al: Hepatology 38: 1282, 2003)。NakagawaもHCVレプリコン細胞を用いた検討で同様の報告を行っている(Nakagawa M, et al: BBRC 313: 42, 2004)。さらに小原はIMY-N9細胞においてCsAはHCVの増殖を抑制したが、Tacでは増殖抑制効果は認められなかったと報告している(小原道法、他: 第51回日本ウイルス学会総会、2003年)。

上記のin vitroおよびin vivoの動物実験、さらに肝移植における臨床的検討から、CsAがHCV増殖抑制効果を有することが示唆されている。しかしHCVレプリコン細胞はヒト肝細胞癌細胞株Huh-7にHCVレプリコンRNAを導入して樹立されたものでIFN高感受性であるのに対し、多くのHCV感染患者肝細胞はIFN抵抗性を示すことから(沖一仁、他:蛋白質核酸酵素 49: 526, 2004)、HCV感染患者肝細胞内でCsAが同じ効果を発揮しうるか否かについては、今後さらに検討が必要であろう。また肝移植例における報告については、肝

移植後のC型肝炎再発の頻度はCsA投与例と Tac 投与例で差が認められないとする報告もあり (表 5、Zervos XA, et al: Transplant Proc 30: 1405, 1998, Edo A, et al: J Cell Organ Transpl 10: 21, 1999, Palik SW, et al: Digest Dis Sciences 47: 450, 2002, Martin P, et al: Liver Transplant 10: 1258, 2004)、この点についても今後の検討が必要であろう。

肝移植後 C 型肝炎再発例に対する IFN 治療については、今回の検討では 1 例 (genotype 1a) は CsA 投与下で PEG・IFN α -2a の投与、他の 1 例 (genotype 2b) は Tac から CsA に変更の上で IFN α -2b およびリバビリンの併用療法を行い、いずれも血中 HCV・RNA 量は測定感度以下に低下している (表 2、3)。

Inoue は高ウイルス量の C 型慢性肝炎患者に対して、IFN α -2b と CsA の併用療法と IFN α -2b 単独療法との比較試験を行い、virological response の頻度は CsA 併用群で有意に高く、とくに genotype 1、しかも 100K copies/ml 以上の高ウイルス量群で sustained virological response (SVR) の頻度が高かったと報告している (Inoue K, et al: J Gastroenterol 38: 567, 2003)。Casanovas は肝移植後、C 型肝炎再発例に対して IFN α とリバピリンとの併用療法を行い、CsA 投与群では Tac 投与群に比して治療開始後速やかに血中 HCV・RNA が減少したと報告している (Casanovas T, et al: Gastroenterol

Hepatol 25: 280, 2002)。さらに Casanovas は肝移植後 C 型肝炎再発例において Tac を CsA に変更した上で、IFN α とリバピリンの併用療法を行い、血中 HCV・RNA 陰性化と ALT 正常化が得られたと報告している (Casanovas T, et al: Single Conference of American Association for the Study of Liver Disease, 2004)。

これらの報告は、CsA が HCV に対する IFN の増殖抑制効果を増強することを示唆するものと考えられ、その機序として IFN の HCV 増殖抑制と CsA の増殖抑制との相乗効果、CsA の HCV 感染細胞における IFN 感受性あるいは IFN 増殖抑制作用の増強効果などが推定される。

我々の今回の検討では肝移植患者の血清 2-5AS 濃度は、Tac 投与例と比較して CsA 投与例で高値を示した (表 4)。さらに HCV・RNA 陽性腎移植患者における検討においても血清 2-5AS 濃度は、Tac 投与例と比較して CsA 投与例で高値を示す傾向にあった (表 4)。これらは CsA が何らかの機序により、内因性 IFN による HCV 感染肝細胞における 2-5AS の発現を増強する可能性を示唆している。

IFN は細胞膜上の IFN 受容体と結合し、Jak-STAT 系を介して IRF9 を含む ISGF3 複合体を形成し、この ISGF3 複合体は核内に移行してゲノム上の IFN-stimulated response element (ISRE) に結合し、多数の標的遺伝子の発現誘導が起こるとされている。この中で抗ウイルス活性を示すも

のとして 2-5AS と二本鎖 (ds) RNA 依存性
プロテインキナーゼ (PKR) があげられる。

2-5AS は dsRNA 存在下で ATP により 2-5AS
を生成し、不活性型 RnaseL を活性化し、
HCV の mRNA を分解してその増殖を抑制す
る。PKR は ATP により eIF-2a をリン酸化
して失活させ、そのため HCV の mRNA から
の翻訳が障害され蛋白合成が阻害される
(図 3)。

以上より、CsA の HCV 増殖抑制効果、お
よび IFN との併用による HCV 増殖抑制の相
乗効果の機序のひとつとして、CsA による
2-5AS 発現の増強が示唆される。Watashi
らの報告では、CsA の HCV 増殖抑制効果に
は、IFN の下流蛋白は関与しないとされて
いる。確かに Watashi らの報告では CsA
によっても PKR 蛋白は発現していないが、
2-5AS 蛋白は発現しており (Watashi K, et
al: Hepatology 38: 1282, 2003)、かなら
ずしも 2-5AS の関与を否定するものでは
ないと考えられる。しかし従来の肝細胞内
での 2-5AS の発現増強と血清 2-5AS が相関
するという見解については、今後さらに検
討が必要であり、またレプリコン細胞と患
者肝細胞の相違についてもさらに詳細な
検討が必要であろう。また血中 HCV・RNA
量測定の定量性、血中 HCV・RNA 量と肝障害
の相関などについても今後の検討が必要
である。さらに今回の我々の検討は少数例
に限られており、今後より多くの症例での
検討が必要であり、その際には HCV・RNA
の genotype を考慮に入れて検討を行う必

要があると考えられる。

E. 結論

1. 肝移植後 C 型肝炎再発例における血
中 HCV・RNA 量は Tac 投与例では高く維
持され、CsA への変更により低下した。
2. CsA 投与下で IFN α 単独、あるいは
リバビリンとの併用により、速やか
に血中 HCV・RNA 量は減少し、測定
感度以下となった。
3. 肝移植後 C 型肝炎再発例における血
清 2-5AS は、Tac 投与例に比して CsA
投与例で高値を示した。また HCV・RNA
陽性腎移植患者においても同様の傾
向が示された。
4. 以上より、CsA は肝移植後 C 型肝炎再
発例において HCV 増殖抑制効果を示
すこと、CsA 投与下で IFN 単独、およ
び IFN/リバビリン併用療法は有効で
あること、CsA のこれらの効果は、
2-5AS の発現増強を介するものであ
る可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表1 患者背景と結果

Case	Age	Gender	LTx	CNI/Ind	CH	genotype	Maint/IFN	HCV-RNA	ALT
1	21	♀	DDLTx	CsA	+	1a	CsA+IFN	<0.5	27
2	47	♀	LRPLTx	Tac	+	2b	CsA	520	40
3	49	♂	LRPLTx	Tac	+	2b	CsA+IFN+Rib	<0.5	36
4	50	♂	LRPLTx	Tac	+	1b	CsA	160	32
5	47	♀	DDLTx	Tac	+	1b	Tac	3100	56
6	54	♂	DDLTx	Tac	+	1b	Tac	7500	24
7	69	♂	DDLTx	Tac	+	1b	Tac	18000	47

表2 症例1 DDLTx 21歳、女性

1984	CBAで葛西手術実施したが胆汁排泄認められず		
1985	食道静脈瘤のため食道静脈断術		
1988	肝移植(CsA+PS)		
		HCV-RNA 1a	
		CsA 75mg/2x, Co <30~51	
		65~160KIU, ALT 95~191, 2-5AS 263~438	
2004.1	620KIU, ALT 329	移植肝生検 CAH(AC), A1, F2-3	
2004.3	450KIU, ALT 450		
2004.5	160KIU, ALT 211		
2004.7	190KIU, ALT 107		
2004.10	2300KIU, ALT 250		
2004.12	3300KIU, ALT 259		
2005.2	110KIU, ALT 100	PEG-IFN α -2a	180 μ g sc開始
2005.3	<5KIU, ALT 27		x1/W
2005.4	<0.5KIU, ALT 26		

表3 症例3 LRPLTx 49歳、男性

2003.5	Lc(C)で生体部分肝移植(Tac+PS)		
		HCV-RNA 2B	
		Tac 6mg/2x, Co 4.0~10.8	
		6.9~ \geq 850KIU, ALT 18~80	
2003.7	\geq 850KIU, ALT 67		
2003.11	700KIU, ALT 36		
2004.1	580KIU, ALT 26		
2004.4	\geq 500KIU, ALT 31		
2004.6	\geq 500KIU, ALT 33		
2004.11	2800KIU, ALT 58		
2005.2	4900KIU, ALT 31	移植肝生検 CAH(AC), A1, F0-1	
		CsA 150mg/2x, Co 41~98	
		IFN α -2b 300MIU im 開始	
		Rib 800mg po	
2005.3	<5KIU, ALT 31		

表4 CNIと血清2-5AS濃度

	LTx Patients	KTx Patients
Tac	87.9 \pm 19.9	96.2 \pm 22.3
CsA	308.3 \pm 62.2	278.8 \pm 232.6

(pmol/dl)

表5 CyclosporineとHCV増殖に関する論文

Teraoka S, et al: Transplant Proc,	1988	chimpanzee
Stegall MD, et al: Hapatology,	1996	HC recurrence in LTx
Alikhan MM, et al: Hapatology,	1997	HC recurrence in LTx
井上和明 他: 第47回日本ウイルス学会,	1999	in vito
Rabkin JM, et al: Transplant Proc,	2001	HC recurrence in LTx
Tchervenkov J, et al: Hapatology,	2001	HC recurrence in LTx
Berenguer M, et al: Hapatology,	2002	Lc recurrence in LTx
Casanovas T et al: Hepatology,	2002	HCV-RNA in LTx
Berenguer M, et al: Hapatology,	2003	Lc recurrence in LTx
小原道法 他: 第51回日本ウイルス学会,	2003	in vito
Inoue K, et al: J Gastroenterology,	2003	HCV-RNA in CH[C]
Watahshih K, et al: Hepatology,	2003	in vito
Nakagawa M, et al: BBRC,	2003	in vito
Maniere et al: Canadian congr of DD,	2004	in vito
Zervos XA, et al: Transplant Proc,	1998	HC recurrence in LTx
Edo A, et al: J Cell Organ Transpl,	1999	HC recurrence in LTx
Palik SW, et al: Dig Dis Science,	2002	HC recurrence in LTx
Martin P, et al: Liver Transplant,	2004	HC recurrence in LTx

図1 肝移植後再発性C型肝炎に対する治療方針 (東京女子医科大学)

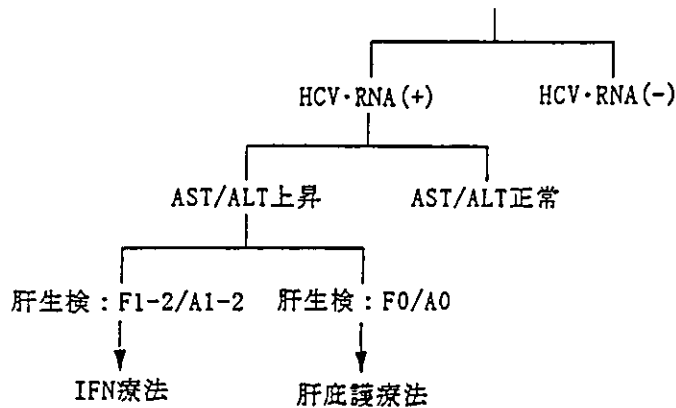


図2 肝移植後Tac/CsA投与と血中HCV-RNA量
 (* : TacからCsAへの変更、# : CsAへ変更後IFN投与)

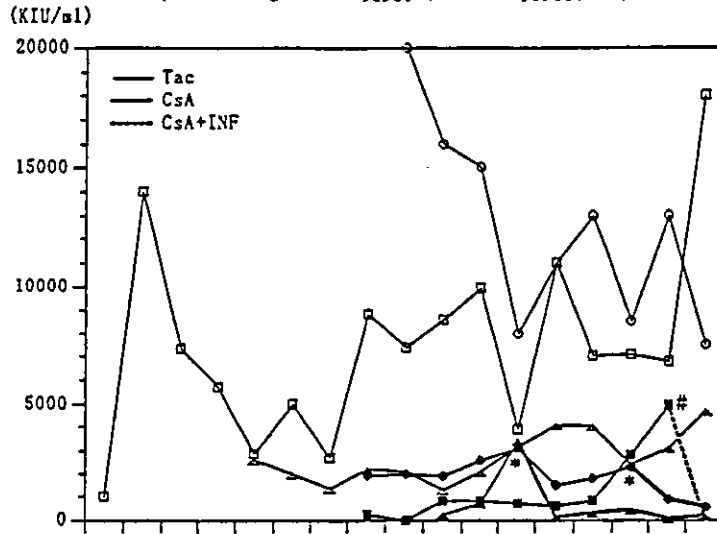
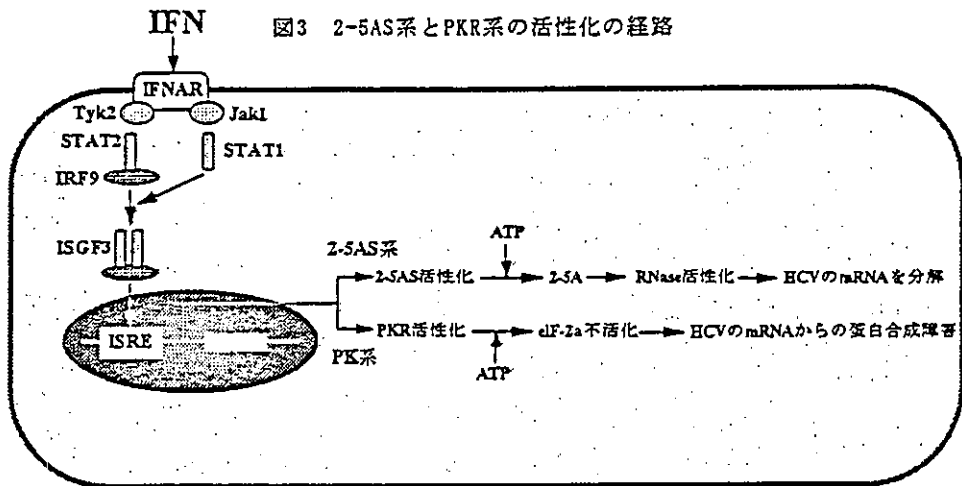


図3 2-5AS系とPKR系の活性化の経路



厚生科学研究費補助金(肝炎等克服緊急対策研究事業)
C型肝炎への肝移植後の免疫抑制法に関する研究
分担研究報告書

C 型肝硬変生体肝移植、ステロイドフリーレジメにおける肝炎再発の
検討に関する研究

分担研究者 畠山勝義 新潟大学医歯学総合病院 副院長

研究要旨:ウイルス肝炎再発予防には術前のウイルス駆除が最適であるが、IFN の副作用もあり術前状態の良い肝癌症例に限られる。胆管炎を合併した症例への IFN 投与は胆管炎を増悪させる可能性がある。ステロイドが肝炎を改善させる可能性がある。上記経験をもとにステロイドフリーレジメを施行検討する。

A. 研究目的

C 型肝硬変に対する生体部分肝移植後の肝炎再発に対する治療とステロイドフリーレジメを検討するため、これまでの症例を検討した。

B. 研究方法

C 型肝硬変に対する生体肝移植に対するこれまでの術前 IFN 投与等の肝炎治療経験と免疫抑制療法を検討し、ステロイドの功罪等について考察する。

(倫理面への配慮)

患者家族から十分な説明と同意をいただき得た後もいつでも撤回する権利があることを認める。

C. 研究結果

術前状態良好な肝癌症例において、術前 IFN+5FU 療法を施行したが、この症例で術後5年間肝癌および C 型肝炎

ウイルス消失している。また術前状態不良な症例においては、合併症を生じ続行不能であった。術前免疫不全状態の患者は、移植後早期の肝炎を来し、IFN によって改善した。術後ステロイドの再使用によって肝炎改善した症例を経験した。

D. 考察

ステロイドは、基本的に1か月で終了したが、術後ウイルス量は1例を除いて全例検出された。術前ウイルスの駆除が最適と思われるが、術前状態が良好な患者以外は適応とはならないと思われた。ステロイドが術後肝炎を抑制したと考えられる症例を認めた。ステロイドの功罪をもう一度検討すべきである。生体肝移植では胆管狭窄による胆管炎を合併している症例では、IFN が状態を悪化させる場合があり注意を要する。

E. 結論

今後これまでの生体肝移植における経験を踏まえ、ステロイド完全フリーレジメを施行検討する必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Sato Y, Ichida T, et al.
Preoperative administration of 5FU and IFN- β may prevent recurrence of hepatitis B and C virus. *Am J Gastroenterol* 2002;97(1):215-216
- 2) Takeishi T, Sato Y, et al. Rapid progressive hepatitis C after liver transplantation: A case report. *Transpl Proc* 2004;36:2304

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究補助金 (肝炎等克服緊急対策研究事業)

C型肝炎への肝移植後の免疫抑制法に関する研究

分担研究報告書

肝移植後に発症する C 型肝炎の活動性を予測する方法の確立

- Osteopontin Promoter SNPs の有用性 -

分担研究者 藤原研司 埼玉医科大学・消化器・肝臓内科・主任教授

研究要旨：C 型慢性肝疾患に対する肝移植では，術後の HCV 再感染が不可避であるが，その際に生じる肝炎の活動性を規定する要因は不明である。Osteopontin は Th1 系免疫応答の開始に必須の cytokine であり，本因子を肝細胞に過剰発現する transgenic mice は肝炎を自然発症する。そのため，肝移植後の肝炎活動性は，ドナー肝における osteopontin 発現によって規定される可能性がある。また，Osteopontin 遺伝子の promoter 領域には 4 ヶ所に単塩基変異 (SNPs) が存在することを見出している。このうち nt -443 の SNP は C 型慢性肝炎の活動性と関連が認められ，血清 ALT が正常値を持続する患者はその allele が 88% は C/T ないし C/C であり，異常値を示す患者に比して有意に高率であった。Promoter アッセイでは，allele T の promoter は allele C に比して転写活性が高いが，dexamethasone 添加時には allele C の活性がより高値になることが判明した。従って，肝移植後に発症する C 型肝炎の活動性は，ドナーとレシピエントの SNP の allele 及び術後の副腎皮質ステロイド投与期間に依存して規定される可能性がある。今後，肝移植実施例を対象に同 SNP を解析し，治療後の臨床経過との関連を検討する予定である。

<研究協力者>

菅原 通子 埼玉医科大学・消肝内科・大学院生
稲生 実枝 埼玉医科大学・消肝内科・講師
松井 淳 埼玉医科大学・消肝内科・講師
名越 澄子 埼玉医科大学・消肝内科・助教授
持田 智 埼玉医科大学・消肝内科・教授

A. 研究目的

C 型肝硬変，肝細胞癌に対する肝移植では，術後に HCV の再感染が高率に生じ，短期間に肝硬変にまで進展する症例も稀ではない。しかし，一方では，再感染が生じても血清 ALT 値が正常を持続する症例も認められ，これらでは肝移植後に HCV に対する免疫反応性が低下したと推定される。免疫

反応性を規定する肝局所の要因が存在し，ドナーとレシピエントの肝におけるその差異に基づいて，肝移植後の肝炎活動性が決定される可能性がある。

Osteopontin は RGD 配列を有する細胞外 matrix であるが，Th1 免疫応答の開始に必須の cytokine としても作用する。障害肝では活性化 macrophage や星細胞とともに，肝細胞における osteopontin 発現が高度になり，免疫応答を調節している可能性がある^{1,2)}。我々は，human serum amyloid P component promoter を利用することで，肝細胞のみに osteopontin を過剰発現する transgenic マウスを作成した³⁾。本マウスでは 12 週齢以降でリンパ球の肝浸潤，小葉内壊死巣が観察さ

れることから³⁾、肝炎の活動性は肝における osteopontin 発現を介して調節されている可能性がある。一方、ヒト osteopontin 遺伝子の promoter 領域の解析では、nt -155, -443, -616, -1,748 の 4 カ所に単塩基変異 (SNPs) を発見した⁴⁾。これらのうち nt -443 の SNP は C 型慢性肝炎における肝炎活動性を規定している可能性があり、無治療で血清 ALT 値が 2 年以上にわたって正常範囲内の患者は、その allele が 88% は C/T ないし C/C であり、異常値を示す患者に比して有意に高率であった⁴⁾。同 SNP は osteopontin 発現を介して肝局所の免疫応答を調節しており、肝移植後の肝炎活動性はドナーとレシピエントの allele の差異によって規定される可能性がある。

そこで、本研究で、肝移植後に発症する C 型慢性肝炎の活動性を予測する方法を確立するための基礎的検討として、nt -433 の osteopontin 遺伝子 promoter SNP に関して、allele による転写活性の差異を *in vitro* で検討した。

B. 研究方法と成績

遺伝子解析の同意を得ている C 型慢性肝炎症例のうち、Invader assay によって Osteopontin 遺伝子 promoter 領域の nt -443 における allele が C/C 及び T/T の患者を対象に、末梢血単核球から DNA を抽出し、nt 0 から -658 までの領域を PCR で増幅した。この fragment を pCR 2.1 にサブクローニングし、plasmid DNA の塩基配列を解析して、PCR 産物が挿入されていることを確認した。次いで、plasmid の挿入配列部位を切り出し、pGL3 Vector のホタルルシフェラーゼ遺伝子上流のマルチクローニングサイトにサブクローニングした。作成した Vector とウミイシタケルシフェラーゼ遺伝子を含む pTK Vector を HepG2 細胞に co-transfection し、dual-luciferase receptor assay によって、転写

活性を測定した。

HepG2 細胞の転写活性は、allele T の promoter fragment を挿入した vector を transfection すると、allele C の fragment 含有 vector を挿入した場合に比して、1.3 倍高値であった。しかし、HepG2 細胞に dexamethasone を添加した際の転写活性は、allele C が allele T の fragment に比して、1.9 倍高値であった。

C. 考案と結語

Nt -443 の osteopontin 遺伝子 promoter SNP は allele によって転写活性に差異が認められ、非刺激状態では allele T の活性が高値であったが、dexamethasone 添加時には allele C の活性がより高度になった。血清 ALT 値が正常を持続する C 型慢性肝炎患者では、同 SNP が C/T ないし C/C の allele を呈する頻度が高いが、これは非刺激状態における転写活性の成績を反映している可能性がある。しかし、肝移植など侵襲が生体に加わった場合や、副腎皮質ステロイド薬が投与されている場合には、C/T ないし C/C の allele の患者で osteopontin 発現が高度になる可能性があると考えられた。

以上より、肝移植後に発症する C 型肝炎の活動性を予測するためには、ドナー及びレシピエントにおける同 SNP の allele と、術後の副腎皮質ステロイド薬の投与期間などの臨床経過を、比較検討することが重要であると考えられた。

D. 健康危険情報

特になし

E. 参考論文

- 1) Kawashima R, Mochida S, Matsui A, *et al.* Expression of osteopontin in Kupffer cells

and hepatic macrophages and Stellate cells in rat liver after carbon tetrachloride intoxication: A possible factor for macrophage migration into hepatic necrotic areas. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 256: 527-531.

- 2) Wang Y, Mochida S, Kawashima R, *et al.* Increased expression of osteopontin in activated Kupffer cells and hepatic macrophages during macrophage migration in *Propionibacterium acnes*-treated rat liver. *J Gastroenterol* 2000; 35: 696-701.
- 3) Mochida S, Yamamoto T, Mimura S, Inao M, Matsui A, Ohno A, *et al.* Transgenic Mice Expressing Osteopontin in Hepatocytes as a Model of Autoimmune Hepatitis. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 317: 114-120.
- 4) Mochida S, Hashimoto M, Matsui A, *et al.* Genetic polymorphisms in promoter region of osteopontin gene may be a marker reflecting hepatitis activity in chronic hepatitis C patients. *Biochem Biophys Res Commun* 313: 1079-1085, 2004.

F. 論文発表

1. 論文発表

- 1) Mochida S. *et al.* Genetic Polymorphisms in Promoter Region of Osteopontin Gene May be a Marker Reflecting Hepatitis Activity in Chronic Hepatitis C Patients. *Biochem Biophys Res Commun* 313: 1079-1085, 2004.
- 2) Naito M, *et al.* SNPs in the Promoter Region of Osteopontin Gene as a Marker Predicting the Efficacy of Interferon-Based Therapies in Chronic Hepatitis C Patients. *J Gastroenterol (in press)*

2. 学会発表

- 1) Matsui A, *et al.* SNPs in the Promoter Region of Osteopontin Gene can be a Predictive Marker for Therapeutic Efficacy of Interferon in Chronic Hepatitis C Patients. *55th Annual Meeting of*

American Association of Study of Liver Diseases, Boston, Nov., 2004.

- 2) Nakao N, *et al.* SNPs in the Promoter Region of Osteopontin Gene as Host Factors to Determine Development of Autoimmune Hepatitis. *55th Annual Meeting of American Association of Study of Liver Diseases, Boston, Nov., 2004.*

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

出願番号：P2003332067

2003年9月24日

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生科学研究費補助金(肝炎等克服緊急対策研究事業)

C型肝炎への肝移植後の免疫抑制法に関する研究

分担研究報告書

肝移植後、C型肝炎再発に関与する因子に関する研究

分担研究者 前原喜彦 九州大学大学院消化器・総合外科 教授

研究要旨:C型肝炎硬変に対して生体肝移植を施行した57症例中、30%に術後組織学的C型肝炎再発を認めた。背景因子と再発には関連はなく、大規模スタディーによる免疫抑制法の更なる検討が必要である。

A. 研究目的

肝移植後のC型肝炎再発は最も憂慮すべき問題だが、これに対する解決法は未だ得られていない。現在の免疫抑制法による移植後のC型肝炎再発につき検討する。

B. 研究方法

2004年12月までに九州大学病院でC型肝炎硬変にて生体肝移植を施行した57例で、背景因子・手術因子と術後の組織学的再発の関係について検討した。

(倫理面への配慮)

免疫抑制は各症例毎に十分な説明後に書面による同意を得た方法で行った。

C. 研究結果

平均観察期間は529日。生存率(%)は1年79、2年72。組織学的再発は術後平均281日で30%に認め、肝硬変に伸展した症

例も存在した。術前のHCVRNA量、Genotype、グラフトのサイズ、免疫抑制、拒絶の有無などと再発の関連はなかった。

D. 考察

現状では、C型肝炎の再発を予測する因子はなく、protocol biopsyなどによる早期診断を目標とすべきである。

術前インターフェロンによるHCVRNAの陰性化、免疫抑制剤の再検討などが再発を抑制する可能性がある。

E. 結論

今回の検討では、肝移植後のC型肝炎再発に有効な対策は見出せなかった。本邦における肝移植に対する研究では、症例数に限りがあることから、各施設間での、さらに大規模な検討が必要である。

F. 健康危険情報

なし

3. その他

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 武富紹信, 他: 移植医療の現状.
福岡医学雑誌 95(10) 269-273,
2004.
- 2) 米村祐輔, 他: C 型肝硬変に対する
生体肝移植後に急速な経過を
たどり死亡した fibrosing
cholestatic hepatitis の 1 例. 日
本臨床外科学会雑誌 65(12),
3257-3262, 2004.

2. 学会発表

- 1) 内山秀昭, 副島雄二, 吉住朋晴,
原田昇, 伊地知秀樹, 米村祐輔,
武富紹信, 前原喜彦: C 型肝硬変
肝移植症例における再発予防とし
てのステロイド短期減量プロトコ
ルの検討 2004. 9. (大阪市)
- 2) 副島雄二, 島田光生, 吉住朋晴,
武富紹信, 内山秀昭, 前原喜彦:
生体肝移植における C 型肝炎再発
に対する戦略 2004. 9(大阪市)
- 3) 吉住朋晴, 島田光生, 前原喜彦:
ウイルス性肝炎及び肝硬変に対す
る生体肝移植 2004. 11. (福岡市)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

厚生省科学研究費補助金 (肝炎等克服緊急対策研究事業)
C型肝炎への肝移植後の免疫抑制法に関する研究班
分担研究報告書

C型肝炎への生体肝移植における抗ウイルス療法に関する研究

分担研究者 幕内 雅敏 東京大学人工臓器移植外科教授
共同研究者 菅原 寧彦 東京大学人工臓器移植外科助教授

研究要旨: 2004年1月より生体肝移植の保険適応疾患が拡大され、特に成人症例での肝移植の需要はますます高まってきている。なかでもウイルス性肝硬変症例の増加が著しい。これらの症例では、術後のウイルス制御が大きな課題となっている。2004年末までに生体肝移植を施行した67例のC型肝炎陽性症例に対し、教室ではインターフェロンとリバビリンとの併用療法を予防的に行った。術後の免疫抑制は、タクロリムス+メチルプレドニゾロンの二剤を基本とし、他疾患と区別しなかった。併用療法中止後6ヶ月間血清レベルでRNRNA<1 kcopies/mlであった症例は48例中16例で、sustained viral responseは33%と考えられた。生体肝移植におけるC型肝炎陽性症例のデータは不足している。移植後のウイルス増殖動態が脳死肝移植後と異なる可能性があるため、さらなるデータの蓄積が望まれる。

A. 研究目的

近年生体肝移植の成人症例数の増加が著しい。本邦では原発性胆汁性肝硬変、胆道閉鎖術後などの胆汁鬱滞性肝疾患が多かったが、近年では、保険適応の改正をうけて、ウイルス性肝硬変に対する症例が次第に増加している。非ウイルス性の疾患と同様な成績を期待するためには、並存する肝炎ウイルスに対する治療方針を工夫していく必要がある。本稿では、最近の主な論点となっている、B型肝炎(HBV)、C型肝炎(HCV)陽性症例の移植前後の管理方法及びその成績について、自験例と文献的な考察を中心に解説する。

B. 研究対象と方法

2004年末までに施行した67例を対象とした。脳死肝移植では、ウイルス再発をみて初めて、治療を行うのが一般的であるが、教室では、早期より予防療法につとめてきた。全例で術後1-2ヶ月をめどにIFNalpha2bとリバビリン

による併用療法を行っている。IFN alpha2bは300万単位週3回、リバビリンは400mg/日からスタートし、骨髄抑制、うつ傾向、溶血性貧血などの重篤な合併症の出現の有無を確認し、問題なければ、各々、600万単位週3回、リバビリンは600mg/日にドーズアップしている。

術後の免疫抑制は、タクロリムス+メチルプレドニゾロンの二剤を基本とし、後者は、3.0mg/kgから、半年間で0.6mg/kgまで減量し、以後この量で継続した。

レシピエント、ドナー、及び家族には、通常のHCV陽性の移植手術のリスク(大量出血、後出血、胆汁漏、胆管狭窄、拒絶反応、血栓症、感染症、免疫抑制剤の副作用、術後C型肝炎の再燃)など十分に説明し、同意を得た上で、生体肝移植を施行した。

C. 研究結果

67例のうち観察期間が1年に満たないものは19例であった。併用療法中止後6ヶ月間血清

レベルで RNRNA < 1 kcopies/ml であった症例は 48 例中 16 例で sustained viral response は 33% と考えられた。このように併用療法が継続できた症例の成績は概ね満足すべきものであった。

D. 考察

再発の診断基準は欧米では、トランスアミナーゼの正常上限の 2-3 倍で、肝生検にて肝炎の所見があるものと定義されている。HCV 陽性症例では、HCV 再感染対策を十分に行わないと、良好な予後は見込めないのは明らかである。Ghobrial らは HCV の再発時期が HCV 陽性症例の予後因子になっていると報告した。特に移植後 1 年以内に再発した症例では、5 年累積患者生存率、グラフト生着率は各々約 60%、52% と、それ以降に再発した症例に比べ有意に予後不良である。高ウイルス価が長期間継続すると、急速に黄疸が進行し、そのまま肝不全に移行することがある。一般的には cholestatic hepatitis といわれており、組織学的には、細胆管の破壊像、門脈領域の著明な繊維化、胆汁鬱滞などが特徴であるが、もちろんいづれも特異的なものではない。抗ウイルス療法に反応するものもあるが一般的には、きわめて予後不良である。

血清レベルでのウイルス陰転化はインターフェロン (IFN) とリバビリンとの併用療法で 28-53% の症例で期待できる。Bizollon らは再発症例に対し、併用療法を 6 ヶ月、さらにリバビリンのみを 12 ヶ月行ったところ、18 ヶ月の治療終了後 6 ヶ月後、血液中 HCV が陰性であった症例は 26% (14/54) であったと報告している。さらに 14 症例中 13 例では血中やグラフト中の HCV 陰性が 3 年間持続した。

Menon らは、再発が確認された 26 例を対象に、IFN alpha2b とリバビリンによる併用療法を行った。IFN alpha2b は 300 万単位週 3 回、リバビリンは 800-1000 mg/日 を投与した。26 例のうち、1 年間治療を継続可能であった症例は半数の 13 例にとどまった。治療開始から 1 年後血液中の HCV RNA を調べたところ、

治療を 1 年以上継続できた群で 38%、それ以外の症例では 31% の症例で、ウイルスの陰転が確認され、両群間に差を認めなかった。このように併用療法は、その副作用のため、長期間の継続は容易ではない。

生体肝移植における C 型肝炎陽性症例のデータは不足している。移植後のウイルス増殖動態が脳死肝移植後と異なる可能性があるため、さらなるデータの蓄積が望まれる。

E. 結論

C 型肝炎陽性症例で生体部分肝移植後に IFN alpha2b とリバビリンによる併用療法を予防的に行い、おおむね満足すべき結果を得た。予防的併用療法の是非の判定にはなお症例の蓄積と長期間の観察が必要である。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kishi Y, Sugawara Y, Kaneko J, Akamatsu N, Imamura H, Asato H, Kokudo N, Makuuchi M. Hepatic arterial anatomy for right liver procurement from living donors. *Liver Transpl.* 2004 Jan;10(1):129-33.
- 2) Hata S, Sugawara Y, Kishi Y, Niiya T, Kaneko J, Sano K, Imamura H, Kokudo N, Makuuchi M. Volume regeneration after right liver donation. *Liver Transpl.* 2004 Jan;10(1):65-70.
- 3) Sugawara Y, Makuuchi M, Akamatsu N, Kishi Y, Niiya T, Kaneko J, Imamura H, Kokudo N. Refinement of venous reconstruction using cryopreserved veins in right liver grafts. *Liver Transpl.* 2004 Apr;10(4):541-7.
- 4) Sugawara Y, Makuuchi M. Advances in adult living donor liver transplantation: a

review based on reports from the 10th anniversary of the adult-to-adult living donor liver transplantation meeting in Tokyo. Liver Transpl. 2004 Jun;10(6):715-20.

- 5) kamatsu N, Sugawara Y, Kaneko J, Kishi Y, Niiya T, Kokudo N, Makuuchi M. Surgical repair for late-onset hepatic venous outflow block after living-donor liver transplantation. Transplantation. 2004 Jun 15;77(11):1768-70.
- 6) Dulundu E, Sugawara Y, Sano K, Kishi Y, Akamatsu N, Kaneko J, Imamura H, Kokudo N, Makuuchi M. Duct-to-duct biliary reconstruction in adult living-donor liver transplantation. Transplantation. 2004 Aug 27;78(4):574-9.
- 7) Kaneko J, Sugawara Y, Akamatsu N, Kishi Y, Niiya T, Kokudo N, Makuuchi M, Mizuta K. Prediction of hepatic artery thrombosis by protocol Doppler ultrasonography in pediatric living donor liver transplantation. Abdom Imaging. 2004 Sep-Oct;29(5):603-5.
- 8) Kishi Y, Sugawara Y, Akamatsu N, Kaneko J, Matsui Y, Kokudo N, Makuuchi M. Sharing the middle hepatic vein between donor and recipient: left liver graft procurement preserving a large segment VIII branch in donor. Liver Transpl. 2004 Sep;10(9):1208-12.
- 9) Kishi Y, Sugawara Y, Matsui Y, Akamatsu N, Motomura N, Takamoto S, Makuuchi M. Alternatives to the double venia cava method in partial liver transplantation. Liver Transpl. 2004 Dec 22;11(1):101-103
- 10) Dulundu E, Sugawara Y, Makuuchi M. Revolution and refinement of surgical

techniques for living donor partial liver transplantation. Yonsei Med J. 2004 Dec 31;45(6):1076-88.

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）

C型肝炎への肝移植後の免疫抑制法に関する研究

分担研究報告書

C型肝炎ウイルス陽性例における肝移植後のウイルス量の変化に関する研究

分担研究者 真辺 忠夫 名古屋市立大学大学院消化器・総合外科

研究要旨：C型肝炎ウイルス陽性例に対する肝移植術後のステロイド剤投与がウイルス量の変化に影響を与えた可能性が示唆された。

A. 研究目的

C型肝炎ウイルスによる肝硬変等に対する肝移植後のC型肝炎の再発を予防し肝移植の長期成績を向上させるために、日本人に最適の免疫抑制療法を構築すること。

B. 研究方法

当施設にて実施したC型肝炎ウイルス陽性症例に対する生体肝移植について、術前状態、移植後の免疫抑制療法、および成績について後方視的に調査する。

（倫理面への配慮）

データの後方視的調査であり、個人の特が可能な情報を含まないの
で倫理的な問題はないと判断した。

C. 研究結果

C型肝炎ウイルス陽性症例に対する生体肝移植は2例であった。

症例1：63歳男性、激症肝不全。全身倦怠感、褐色尿にて発症。移植5日前の当院での検査ではHCV抗体検査陽性で、2日前のHCV核酸定性検査は陽性であった。息子の尾状葉つき左様グラフトを移植した。免疫抑制療法はタクロリムスとステロイドの2剤で開始した。移植術後5日から肝機能障害増悪し、急性拒絶反応と判断しステロイドパルス療法を施行。8日後からミコフェノール酸モフェチルを追加し、13日後からタクロリムスからサイクロスポリンに変更、ステロイドボラス投与を4回施行した。移植術後18日から再生不良性貧血を合併し、肝機能障害が進行し移植術後31日死亡した。HCV core-Agは移植術後5日から上昇を認め、13日でピークとなり、一旦減少傾向となったが、移植後28日に再度上昇した。

症例 2 : 50 歳男性、C 型肝硬変、肝癌合併。7 年前より HCV 抗体陽性、5 年前から肝硬変のため腹水貯留あり、次第に増悪。娘の左葉を移植。免疫抑制療法はサイクロスポリン、ステロイドの 2 剤で開始した。Small for size graft syndrome のため移植術後 3 4 日に死亡した。

D. 考察

症例 1 において、ステロイドパルス後に HCV core-Ag の急激な増加を認め、その後のステロイドボラス投与後にも再度上昇を認めたと考えられた。

症例 2 では HCV に関係すると考えられる臨床的、血液検査状の変化は認められなかった。

E. 結論

C 型肝炎ウイルスによると考えられる激症肝炎という特殊な状況下の肝移植ではあるが、移植術後のステロイド投与がウイルス量の変化に影響を与えた可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし