

27)日比将人、原普二夫、富重博一、西田純久、守瀬善一、藤田順子、星本相淳、加藤充純、杉岡篤、橋本俊.:  
生体肝移植後の $\beta$ -D グルカン値の変動, 2005.12.9 第14回東海肝移植研究会, 安保ホール(愛知県名古屋市)

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

C 型肝炎への肝移植後の免疫抑制法に関する研究

分担研究者 畠山勝義 新潟大学医歯学総合病院 副院長

研究要旨 : 生体肝移植後ウイルス肝炎再発と免疫抑制剤との関係を検討する。これまで当科で施行した C 型肝炎硬変移植後で、HCV 消失症例2例、また術後1年目で IFN+リバビリン開始症例で HCV 消失症例が1例である。いずれもドナー血門脈内投与(門注 DST)を施行した症例である。上記経験をもとに門注 DST+ステロイドフリーレジメを施行検討する。バシリキシマブを使用したステロイドフリーに門注 DST を検討しているが、本年度の施行症例なく今後の検討となる。

A. 研究目的

C 型肝炎硬変に対する生体部分肝移植後の肝炎再発に対する、より良い免疫抑制療法の開発を目的としてこれまでの症例を検討し、新たな免疫抑制療法を開発する。

B. 研究方法

C 型肝炎硬変に対する生体肝移植に対する当科の結果を検討し、C 型肝炎再発と免疫抑制療法の関係を検討、さらに効果的な再発予防の免疫抑制療法を検討する。

(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

当科で生体肝移植を施行した症例のうち C 型肝炎が消失した症例は 3

例であった。3 例とも門注 DST 症例であり、1例は術前 IFN 投与により血中 HCV-RNA 消失した症例、1例は術後 3 か月目に陰性化した症例、さらに1例は術後1年目に IFN 開始し、早期に著効した症例である。いずれもステロイド約1か月で離脱している。最後の症例は肝炎再発の後プレドニン5mg で肝炎抑制できたが、その後 IFN 併用し消失している。これらの結果を受け、バシリキシマブを導入したステロイドフリーレジメに、門注 DST を組み合わせた新たな免疫抑制療法における C 型肝炎再発予防の効果を検討することとしたが、登録症例がなく今後の検討となった。

D. 考察

我々は、門注 DST 症例においてグラフト内でのドナータイプ NKT 細胞のマクロキメリズムを確認しており、NKT 細

胞の抗ウイルス効果の可能性が示唆された。またステロイド少量の再投与は短期的には肝炎を抑制する効果があり、またそれは IFN の効果を阻害するものではないと考えられた。

#### E. 結論

今後これらの経験を踏まえ、門注 DST およびバシリキシマブを導入したステロイドフリーレジメを検討していく。

#### 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

- 1) 中塚英樹、佐藤好信、山本智、竹石利之、平野謙一郎、大矢洋、畠山勝義.: C 型肝炎に対する生体肝移植. 第 60 回日本消化器外科学会, 2005.7.21-21 (東京都)

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

##### 1. 特許取得

なし。

##### 2. 実用新案登録

なし。

##### 3. その他

なし。

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 横浜労災病院 院長

研究要旨:C 型肝硬変, 肝細胞癌に対する肝移植では, 術後に HCV の再感染が必発であるが, その際に生じる肝炎の活動性は症例によって多彩である。我々は Th1 系免疫応答の開始に必須の cytokine である osteopontin の塩基配列を解析し, その 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た。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たことから, 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 の遺伝子型に依存して規定される可能性がある。そこで, 現在, 肝移植を実施している 8 施設の協力を得て, C 型肝硬変, 肝細胞癌の治療として肝移植を実施したドナー及びレシピエントの末梢血を採取して, osteopontin promoter SNPs の遺伝子型を同定する多施設共同研究を進めている。一方, 同 SNPs の機能を評価するために, HepG2 細胞, THP1 細胞を用いて dual-luciferase receptor assay を実施したところ, nt -443 のみならず, nt -155 の遺伝子型によっても転写活性が異なることが判明した。特に, nt -155 の SNP には Y 染色体でコードされる SRY が転写因子として結合することから, 同 SNP を介する転写調節機構は男女で異なると推定される。従って, 肝移植後に発症する C 型肝炎の活動性を規定する宿主要因を解明するためには nt -155 の遺伝子型も同定し, 男女別に成績を解析する必要があると考えられた。

<研究協力者>

菅原通子 埼玉医科大学・消肝内科・助手  
稲生実枝 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, 術後の HCV 再感染が必発である。肝移植後に再発する C 型肝炎の活動性は多彩であり, 短期間に肝硬変に進展する症例が存在する一方で, 血清 ALT 値が正常を持続する症例も認められる。HCV に対す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よって, 肝移植後の肝炎活動性が規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 系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<sup>1, 2)</sup>。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<sup>3)</sup>。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<sup>3)</sup>, 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<sup>4)</sup>。これらのうち, nt -155, -616, -1,748 の 3SNPs はほぼ 100%に近い連鎖不平衡を呈している。一方, これと独立した 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では, その allele が C/T ないし C/C を呈する頻度が異常値を示す患者に比して有意に高率であった<sup>4)</sup>。従って, 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遺伝子型の差異によって規定される可能性がある。

そこで, 肝移植後に発症する C 型肝炎の活動性を予測する方法を確立するために, osteopontin 遺伝子の promoter SNPs に関して, 肝移植を実施した C 型肝炎, 肝細胞癌を対象にドナーとレシピエントの遺伝子型を検討する多施設共同研究を開始した。また, 同 SNPs の機能を解明するために, *in vitro* での検討を進めた。

## B. 研究方法と成績

### ① 多施設共同研究の進展状況

厚生労働科学研究費補助金: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」(主任研究者:門田守人教授)に参加している肝移植実施 14 施設(東北大学, 東京大学, 慶応義塾大学, 順天堂大学, 東京女子医科大学, 新潟大学, 信州大学, 藤田保健衛生大学, 京都大

学, 大阪大学, 岡山大学, 広島大学, 九州大学, 長崎大学)で生体部分肝移植を実施した HCV 陽性の肝硬変ないし肝細胞癌患者およびそのドナーを対象とする。各移植実施施設において術前後に, 患者およびドナーに文書によるインフォームド・コンセントを得た上で, 5 mL の末梢血を EDTA 添加試験管に採取する。末梢血検体は埼玉医科大学に輸送し, DNA を抽出して Invader 法で osteopontin 遺伝子の promoter SNPs (nt -155, -443, -616, -1,478)を同定する。各施設は肝移植 1 年後までの経過を患者経過用紙に記載して, 埼玉医科大学に郵送し, 術後経過と患者およびドナーの SNPs との関連を検討する。

上記の計画に関しては, 埼玉医科大学の倫理委員会による承認が得られている。また, 14 施設のうち 8 施設において, 各大学の倫理委員会へ研究計画を申請中であり, 平成 18 年度以降に実施する予定である。

### ② *In vitro* での検討

遺伝子解析の同意を得ている C 型肝炎患者から抽出した DNA を用いて, Invader assay により osteopontin 遺伝子 promoter SNPs を同定した。これらのうち, nt -155, -433 の遺伝子型が何れも homozygote の DNA に関して, 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 細胞ないし THP 細胞に co-transfection し, dual-luciferase receptor assay によって, 転写活性を測定した。

500 例以上を対象に遺伝子型を同定したが、日本人で homozygote の場合には 3 種類の haplotype ([nt -155, -443]: 1 型 [deletion, T], 2 型 [deletion, C], 3 型 [G, T]) が見られるものの, [G, C] を呈する症例は存在しないことが明らかになった。

HepG2 細胞を用いた検討では、転写活性は haplotype 2 型が 1 型に比して約 1.5 倍と高度であり、nt -443 の allele は C より T における活性が亢進していた。しかし、同細胞では haplotype 3 型の活性は 1 型の 1/10 以下と軽度であり、nt -155 は deletion mutation に比して allele G の活性が低下していた。一方、THP1 細胞では haplotype 1 型は 2 型よりも活性が高度であったが、3 型は HepG2 細胞の場合と同様に 1 型に比して著しく軽度であった。従って、nt -443 の SNP に関しては、細胞の種類によって allele C と T の転写活性に差異が認められるのに対して、nt -155 の SNP は何れの細胞でも deletion mutation が allele G に比して活性が高度であると考えられた。

### C. 考案と結語

Osteopontin 遺伝子の promoter SNPs のうち、C 型慢性肝炎の活動性と関連が認められなかった連鎖不平衡にある 3SNPs も、*in vitro* の検討では allele による転写活性の差異が認められた。これら 3SNPs の中で nt -155 に関しては、deletion, G の何れの場合でもあっても転写因子 SRY が結合するのに対して、転写因子 HFH-2 は deletion の場合にのみ結合すると推定される。SRY は Y 染色体でコードされることから、nt -155 の SNP を介する転写調節は男女で差異が見られる可能性がある。従って、現在進行中の肝移植を実施した C 型肝硬変、肝細胞癌患者とそのドナーに関する遺伝子

解析も、nt -443 のみならず nt -155 の SNP も対象も含めて、性との関連も考慮した検討を実施する必要があると考えられた。

### 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. 研究発表

#### 1. 論文発表

- 1) Naito M Matsui A, Inao 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* 2005; 40: 381-388.

## 2. 学会発表

- 1) Sugawara K, Inao M, Matsui A, *et al.* Hepatitis Activity may be Regulated in Patients with Chronic Hepatitis C through Osteopontin Expression in Hepatocytes Determined by SNPs in the Promoter Region of the Gene. 56<sup>th</sup> Annual Meeting of American Association for Study of Liver Diseases, San Francisco, Nov., 2005.

## 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

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13例でステロイドフリーによる免疫抑制を行った。急性拒絶反応は多い傾向にあったが、術後のHCV RNAのtiter及び術後C型肝炎の再発率は低い傾向にあった。大規模スタディーによる他療法との比較・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。ステロイドを用いない免疫抑制法による生体肝移植後のC型肝炎再発につき検討する。

B. 研究方法

2005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73例中13例でステロイドフリーによる免疫抑制療法を行い、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289日。1年生存率は92%。組織学的再発は術後6ヶ月で15%、1年で32%に認められた。急性拒絶は

27%に認められた。同時期に免疫抑制剤として、ステロイドを使用した10例では、1年生存率100%。組織学的再発は術後6ヶ月で50%、1年で63%に認められた。急性拒絶は認めなかった。

D. 考察

ステロイドフリーによる免疫抑制療法は安全に施行しうるが、生体肝移植後のC型肝炎再発を有意には抑制しなかった。術前からのインターフェロンの使用やDFPPを用いたHCV RNA titerの減量が必要と考えられた。

E. 結論

我々の検討で、ステロイドフリー免疫抑制はC型肝炎再発に対して有利な傾向があることが示された。更なる症例の集積と他療法との比較が必要である。

G. 研究発表

1. 論文発表



- 1) Yonemura Y, Taketomi A, Soejima Y, Yoshizumi T, Uchiyama H, Gion T, Harada N, Ijichi H, Yoshimitsu K, Maehara Y. Validity of preoperative volumetric analysis of congestion volume in living donor liver transplantation using three-dimensional computed tomography. Liver Transpl. 2005; 11: 1556-62.
- 2) Harada N, Shimada M, Suehiro T, Soejima Y, Ninomiya M, Shiotani S, Sugimachi K. Unusual endoscopic findings of CMV esophagitis after liver transplantation. Hepatogastroenterology. 2005 ; 52 : 1236-9.

## 2. 学会発表

- 1) 吉住朋晴、武富紹信、前原喜彦.: 肝移植後短期生存の確保と原疾患再発予防に関する研究, 第13回日本消化器関連学会週間(DDW-Japan 2005), 2005.10,5-8 (神戸)
- 2) 吉住朋晴、武富紹信、内山秀昭、原田昇、山下洋市、辻田英司、播本憲史、伊地知秀樹、米村祐輔、北川大、萱島寛人、前原喜彦.: C型肝炎陽性肝硬変に対する肝移植と移植後再発に対する治療戦略, 第86回日本消化器病学会九州支部例会, 2005.11.18~19 (熊本)

H. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む。)

1. 特許取得  
なし。
2. 実用新案登録  
なし。
3. その他  
なし。

厚生労働科学研究費補助金(肝炎等克服緊急対策研究事業)  
分担研究報告書

生体部分肝移植後 HCV に対する治療戦略に関する研究

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  
共同研究者 菅原 寧彦 東京大学肝胆膵外科, 人工臓器移植外科 助教授  
共同研究者 岸 庸二 東京大学肝胆膵外科, 人工臓器移植外科 助手

研究要旨: 東京大学では、HCV 陽性患者の生体部分肝移植(LDLT)後、予防的インターフェロン(IFN)+リバビリン(RBV)投与を施行している。1998年6月—2005年6月にLDLTを施行し、予防的IFN+RBV投与を行なった72例の治療成績を評価した。年齢は $55 \pm 9.5$ (平均±標準偏差)歳、男性46人(64%)。術前のMELD scoreは $17.9 \pm 10.5$ 、肝細胞癌(HCC)合併症例が42例、HBVとの混合感染が1例、HIVとの混合感染が5例、genotype 1bが55例(76%)であった。術後平均29病日で治療開始。副作用による中止は18例(25%)、うち2例は後に治療再開し、1例ではRNA陰性を維持できている。2006年2月現在、RNA陰性を得られているのは26例(36%)、sustained viral response (SVR)症例は12例である。免疫抑制は、ステロイド早期離脱をしない、通常のFK+メチルプレドニゾロンで行なったが、cholestatic hepatitisでの死亡症例は2例に留まった。1年以上の長期投与でRNA陰性化が得られた症例が、特にgenotype 1bで多く見られ、RNA陰性化を得た症例の死亡例はないことから、陰性化が得られない症例に対し、長期投与を持続する効果はあると考えられるが、さらなる症例の積み重ねによる検討が必要である。

A. 研究目的

肝移植後のC型肝炎再燃は10%の割合でfibrosing cholestatic hepatitisを引き起こし、Graft lossにつながる。また、これに対する歳移植の成績も不良とされている。現在、HCVに対する治療はIFN(+RBV)が唯一であり、東京大学においては、HCV陽性の肝移植患者全例を対象として、術後、予防的IFN+RBV療法を施行している。その効果と安全性について検討した。

B. 研究対象と方法

東京大学で1998年6月より2005年6月までにLDLTを施行した82例を対象。うち、9例は、IFN開始前死亡(4例)、未治療(2例)、HCV-RNA陰性(1例)、非予防投与(第1位例目)、海外患者でデータ

不足(1例)は除外し、72例を検討対象とした。4死亡例の直接死因は、拒絶反応によるグラフト不全が3例、サイトメガロウイルス腸炎が1例であった。72例の性別は男性vs女性が46vs26、年齢は平均±標準偏差で、 $55 \pm 9.5$ 歳、術前MELD scoreは $17.9 \pm 10.5$ 、HCC(+)症例が42例(58%)、HBV合併感染が1例、HIV合併感染が5例、HCVのgenotypeは、1bが55例(76%)であった。LDLTにおける出血量は $8890 \pm 6328$ ml、手術時間は $997 \pm 1384$ 分であった。グラフトは、左肝グラフトが20例、右肝グラフトが38例、拡大右肝グラフト(中肝静脈付き)が12、後区域グラフトが2例で、グラフト/レシピエント標準肝容積比は $48 \pm 10\%$ であった。IFN開始後の血球減少を抑制する目的で、'03年12月以降は、HCV陽性症例

前例で、同時脾摘を施行。

術後の免疫抑制は、HCV 陰性症例と全く同様のプロトコルで、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 0.05mg/kg まで減量し、以後この量で継続した。早期離脱は行なっていない。急性拒絶反応の治療は、①ステロイドリサイクル療法、②Mycophenolate mophetil 追加、③OKT3 の順に追加免疫抑制を行った。

IFN+RBV 療法は、全身状態の改善、血算の改善(WBC>4000mm<sup>3</sup>, Hb>10g/dl, Plt>10 万/mm<sup>3</sup>)をもって、開始基準とした。投与期間は、HCV-RNA 陰性化後 1 年間を目標とし、1 年間の陰性を得た後、投与終了し、半年間陰性維持をもって、sustained viral response (SVR)と定義した。陰性化の得られない場合は、副作用の発現が見られない限り、投与を継続した。

投与方法は、IFN  $\alpha$  2b を 1MU→2MU→3MU と隔日に増量していき、RBV は 400mg2×で開始。IFN  $\alpha$  2b 3MU×3/week+RBV400mg2×を初期投与量とし、副作用の発現を見ながら、最大用量 IFN  $\alpha$  2b6MU×3/week+RBV800mg2×まで増量、もしくは、PEG-IFN  $\alpha$  2b 1.0-1.5  $\mu$ g/kg×1/week + RBV 400-800mg/day への変更を行い、維持した。

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に加え、HCV の再燃にてグラフト不全に陥る危険が 10%程度あり、HCV(-)例と比べると、術死の危険が高いことも説明、同意を得た上で、生体肝移植を施行し、予防的 IFN+RBV 療法を施行した。

### C. 研究結果

予防投与開始は、29±24 病日。2ヶ月以上経過して開始したのは 7 例(63-130 病日)で理由は、腎障害 3 例、敗血症 1 例、腹腔内膿瘍 1 例、心不全 1 例、血栓性微小血管障害(TMA)1 例であった。

術後経過観察期間は 29±18 ヶ月。18 例で、副作用による治療中止がなされ、その内訳は、拒絶反応や HCV 再燃によるグラフト不全が 5 例(治療開始後 2 ヶ月、3 ヶ月、5 ヶ月、8 ヶ月、18 ヶ月)、腎障害 3 例(5 ヶ月、14 ヶ月、19 ヶ月)、Depression 3 例(1 ヶ月、3 ヶ月、7 ヶ月)、TMA 2 例(2 ヶ月、7 ヶ月)、HCC 再発死亡 2 例(6 ヶ月、8 ヶ月)、Virus associated hemophagocytotic syndrome(VAHS)1 例(4 ヶ月)、血小板減少 1 例(9 ヶ月)、網膜症 1 例(9 ヶ月)であった。このうち、Depression で中止の 3 例は、うち 1 例は、ウイルス陰性化後に中止し、その後 SVR。2 例は、後に治療再開し、1 例では SVR を得ている。RNA の陰性化が得られたのは、genotype1b55 例中 29 例、うち 8 例が SVR。非 1b の 17 例では、10 例で陰性化、SVR は 4 例で得られている。viral response が得られた後、再度陽性化し、治療継続、あるいは再開しているのが、1b で 10 例、非 1b で 2 例認められた。1b の 14 例、非 1b の 3 例では、一度も陰性化が得られず、治療継続中である。なお、初めて RNA が陰性化するまでの期間は、1b で 11±9 ヶ月、非 1b で 5±5 ヶ月であった。特に 1b 症例では、1 年以上の治療で初めて陰性化したものが 12 症例(13-30 ヶ月)見られた。

次に、RNA が一度でも陰性化(EVR)(n=39)、及び、SVR(n=12)が得られる予測因子を検討(Wilcoxon signed ranked test or Chi square test)したところ、Table1 のようになった。EVR は治療開始後 1 ヶ月の時点での HCV-RNA titer が低いものほど、また、SVR は出血量、手術時間が短い症例に有意に多いという

結果が得られた。また、累積生存率を比較したところ、EVR(+)症例は、経過観察期間中、全例生存。死亡例は全てEVR(-)例で、1,2,3年生存率は77%、74%、74%であった。log rank testにて、EVR(+)*vs*EVR(-)群の間には有意差を認めた( $P=0.011$ )。9例の直接死因は、Fibrosing cholestatic hepatitis (FCH)2例、急性拒絶反応2例、HCC再発2例、TMA2例、VAHS1例であった。

Table 1

factor	P value	
	EVR	SVR
Sex	0.120	0.385
Recipient Age	0.415	0.427
Donor Age	0.906	0.689
MELD	0.476	0.377
Op time	0.100	0.028
Blood loss	0.304	0.027
S/G<50%	0.865	0.220
genotype 1b	0.659	0.385
Preop HCV RNA	0.737	0.596
Pre-IFN HCV-RNA	0.474	0.854
HCV-RNA 1m after IFN Tx	0.0002	0.127
ACR	0.705	0.311
ACR after IFN Tx	0.929	0.633

拒絶反応は全15例で認められ、IFN開始前に起こった症例は6例、開始後に起こった奨励は10例で、IFN開始前後でACRの頻度に有意差は認めなかった。

特殊な症例として、HCV-RNA陰性化が早期に得られたにも関わらず、肝硬変を発症した症例が1例見られた。65歳男性、genotype 1b、46PODより予防投与開始、3ヶ月でRNA陰性化し、PEG-IFN  $\alpha$  2b1.4  $\mu$ g/kg/week + RBV400mg/dayにて陰性維持されていた。11ヶ月経過したところで、腹水貯留と認めるようになり、TBも上昇、肝生検を施行したところ、A2F4の所見であった。

#### D. 考察

HCV陽性患者に対する肝移植後の肝炎再燃対策としての、予防的IFN+RBV療法は、過去にまとまった報告も少なく、さらに肯定的なレポートは当科からの報告を含め、2報告ほどしか認めていない。本研究でも、約1/4の症例で、副作用による中止を余儀なくされたが、totalとして、FCHにて死亡した症例は2例に留まり、予防的投与は、有効な治療手段と考えられる。移植時の同時脾摘を行なうことで、血球減少からの回復が早期に得られ、術後1ヶ月前後で、投与可能になる。また、治療開始後、血球減少を理由とした治療中止を最小限に抑えることができた。本研究での血小板減少により中止した症例は、同時脾摘を行っていなかった。術後免疫抑制としてのステロイドは、通常通り使用することで、ACRの頻度は15/72(21%)と、低く抑えられ、また、IFN開始がACRの危険因子にもならないことがわかった。

また、特にgenotype 1b症例では、1年以上の長期投与にて始めてRNA陰性化が得られるものも多く見られ、さらに、これらの症例の中にFCHを発症したものはなかったこと、また、viral response (VR)が得られた症例の予後は有意に良好であったことから、たとえ早期にVRが得られなくとも、長期に投与を続けることが肝炎再燃対策として有効である可能性が示唆された。尤も、WBC2000-3000/mm<sup>3</sup>、Hb8-10g/dl程度の血球減少に対しては、IFN, RBVの減量や、G-CSF投与などで対応しており、こうした対応をしながらも、長期投与を続けることが安全かつ、有効か、さらに症例を重ねて検討する必要がある。

#### E. 結論

HCV陽性患者に対する予防的IFN+RBV療法は、安全で、肝炎再燃の抑制に有効な治療といえる。副作用によ

る中止を如何に抑えるか、陰性化が得られない症例に長期投与を続けるべきか、は今後さらに検討する必要がある。

3. その他  
なし。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Kishi Y, Sugawara Y, Akamatsu N, Kaneko J, Tamura S, Kokudo N, Makuuchi M. Splenectomy and preemptive interferon therapy for hepatitis C patients after living-donor liver transplantation. Clin Transplant. 2005;19:769-72.
- 2) Sugawara Y, Makuuchi M. Living donor liver transplantation for patients with hepatitis C virus Tokyo experience. Clin Gastroenterol Hepatol. 2005;3(10 Suppl 2):S122-4.
- 3) Kishi Y, Sugawara Y, Tamura S, Kaneko J, Akamatsu N, Togashi J, Makuuchi M. Is blood eosinophilia an effective predictor of acute rejection in living donor liver transplantation? Transpl Int. 2005;18(10):1147-51.
- 4) Sugawara Y, Makuuchi M. Should living donor liver transplantation be offered to patients with hepatitis C virus cirrhosis? J Hepatol 2005 ; 42 (4) : 472-5.

##### 2. 学会発表

なし。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

##### 1. 特許取得

なし。

##### 2. 実用新案登録

なし。

C型肝炎への肝移植後の免疫抑制法に関する研究

分担研究者 分担研究者 宮川眞一 信州大学移植外科 教授

共同研究者 中澤勇一 信州大学移植外科 助手

研究要旨:1990年6月から2006年1月までに信州大学移植外科にて生体肝移植が施行された242例中術前HCV-RNA陽性の成人29症例における肝移植後の予後ならびに再発C型肝炎の組織診断と治療に関する問題点について検討した。29例のうち20例で組織学的に再発C型肝炎が診断され、うち17例で抗ウイルス療法が導入された。インターフェロンの副作用による同剤の減量・中止例は9例であった。インターフェロンによるSVRは2例で認められ、それらはいずれもジェノタイプ2型のHCV感染症例であった。29例中2例を移植後早期の合併症、1例をHCC再発により失ったがHCV陽性症例とHCV陰性症例209例の生存率に有意な差は認められなかった。再発C型肝炎の予後・経過に対しての拒絶反応・レスキュー療法の影響についての検討では、C型肝炎症例での拒絶反応に対しては、重症再発への進行の可能性について留意しその治療法を選択する必要があることが示唆された。

A. 研究目的

C型肝炎に対する肝移植術後において抗ウイルス療法は重要な役割を有している。さらに予後悪化に関わる因子として拒絶反応+拒絶反応に対する免疫抑制の強化が報告されている。すなわち抗ウイルス療法の現状と問題点、拒絶反応の治療と再発C型肝炎の重症度の検討はC型肝炎に対する肝移植の予後の改善に重要な知見を与えてくれるものと考えられる。

B. 研究方法

1990年6月から2006年1月までに信州大学移植外科にて生体肝移植が施行

された242例中、術前にHCV-RNA陽性の成人29症例における肝移植後の予後ならびに再発C型肝炎の組織診断と治療(抗ウイルス療法)、ならびにそれら症例における拒絶反応の診断・治療に関する問題点について retrospective に検討した。

(倫理面への配慮)

なし。

C. 研究結果

29例のうち20例で組織学的に再発C型肝炎が診断され、うち17例でインターフェロンを用いた抗ウイルス療法が導入された。インターフェロンの副作用による

同剤の減量・中止例は 9 例であり、再開例を含め現在 11 例で抗ウイルス療法が施行されている。SVR 症例は 2 例で、それらはいずれもジェノタイプ 2 型の HCV 感染症例であった。29 例中 2 例を移植後早期の合併症（肝不全と感染症）、1 例を HCC 再発により失ったが HCV 陽性症例と HCV 陰性症例 209 例の生存率に有意差は認められなかった。拒絶反応に対してステロイドパルス療法を用いた強力なレスキュー療法が施行された 3 例中 2 例では、再発 C 型肝炎は改善が認められたものの難治であり肝機能異常が長期にわたった。また 1 例は Fibrosing cholestatic hepatitis へ進行し肝不全にて死亡した

#### D. 考察

移植後 5 年までの短期予後は HCV 症例では良好であることが示された。しかしながら十分な抗ウイルス療法が施行されていない症例も多く、5 年以後の予後は重症肝炎あるいは再発 C 型肝炎による肝硬変の合併などにより低下することが予想された。また C 型肝炎症例における拒絶反応では、その組織学的鑑別と、重症肝炎への進行を促進しないレスキュー療法の選択が重要である。

#### E. 結論

1. C 型肝炎ウイルス陽性例の 5 年生存率は 84% であり陰性例と比較して差は認められなかった。しかしながら

長期予後に関しては更なる経過観察が必要である。

2. ジェノタイプ 2 以外の C 型肝炎ウイルスに有効かつ副作用が少ない抗ウイルス療法の確立が必要である。
3. C 型肝炎症例の移植後の拒絶反応に対しては、重症再発への進行の可能性について留意しその治療法を選択する必要がある。

#### F. 健康危険情報

なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Ishizone S, Yamauchi K, Kawa S, Suzuki T, Shimizu F, Harada O, Sugiyama A, Miyagawa S, Fukuda M, Nakayama J. Clinical utility of quantitative RT-PCR targeted to alpha1 , 4 - N - acetylglucosaminyltransferase mRNA for detection of pancreatic cancer. Cancer Sci. 2006 Feb;97(2):119-26.
- 2) Takei Y, Ikeda S, Ikegami T, Hashikura Y, Miyagawa S, Ando Y; Japanese Liver Transplantation Society. Ten years of experience with liver transplantation for familial amyloid polyneuropathy in Japan: outcomes of living donor liver transplantations. Intern Med. 2005 Nov;44(11):1151-6.

- 3) Mita A, Hashikura Y, Tagawa Y, Nakayama J, Kawakubo M, Miyagawa S. Expression of Fas ligand by hepatic macrophages in patients with fulminant hepatic failure. *Am J Gastroenterol.* 2005 Nov;100(11):2551-9.
- 4) Miwa S, Soeda J, Miyagawa S. Interrelationship of platelet-derived patients with cholangiocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology.* 2005 Sep-Oct;52(65):1398-402.
- 5) Ogawa S, Tagawa Y, Kamiyoshi A, Suzuki A, Nakayama J, Hashikura Y, Miyagawa S. Crucial roles of mesodermal cell lineages in a murine embryonic stem cell-derived in vitro liver organogenesis system. *Stem Cells.* 2005 Aug;23(7):903-13.
- 6) Suzuki F, Hashikura Y, Ise H, Ishida A, Nakayama J, Takahashi M, Miyagawa S, Ikeda U. MCI-186 (edaravone), a free radical scavenger, attenuates hepatic warm ischemia-reperfusion injury in rats. *Transpl Int.* 2005 Jul;18(7):844-53.
- 7) Hashikura Y, Ikegami T, Nakazawa Y, Urata K, Mihara M, Mita A, Sakon M, Miyagawa S, Ikeda S. Domino liver transplantation in living donors. *Transplant Proc.* 2005 Mar;37(2):1076-8.
- 8) Saito H, Yamaoka Y, Ishizone S, Maruta F, Sugiyama A, Graham DY, Yamauchi K, Ota H, Miyagawa S. Roles of virD4 and cagG genes in the cag pathogenicity island of *Helicobacter pylori* using a Mongolian gerbil model. *Gut.* 2005 May;54(5):584-90.
- 9) 橋倉泰彦, 池上俊彦, 中澤勇一, 宮川眞一. 【臓器移植に伴う腎障害】肝移植の現状と合併症. *腎と透析* 2005.12;59(6):983-986
- 10) 池上俊彦, 橋倉泰彦, 宮川眞一. 信州大学における肝移植後シクロスポリンの使用経験. *今日の移植* 2005.11;18(6):775-777
- 11) 中澤勇一, 宮川眞一. 【これだけは知っておきたい検査のポイント】血液生化学検査/血中薬物濃度 免疫抑制薬. *Medicina* 2005.11 ; 42(12); 305-307
- 12) 橋倉泰彦, 池上俊彦, 中澤勇一, 小林聡, 三田篤義, 宮川眞一. 【生体肝移植をめぐる諸問題】生体肝移植ドナーをめぐる諸問題 生体肝移植ドナーの長期経過. *臨床消化器内科* 2005.10;20(12);1697-1702
- 13) 橋倉泰彦, 中澤勇一, 小林聡, 浦田浩一, 三田篤義, 池上俊彦, 宮川眞一. 【生体肝移植 最新の話】生体肝移植におけるドナー評価. *臨床外科* 2005.11;60(12);1353-1358



- 14) 池上俊彦, 宮川眞一. 医科(治療) 脳死肝臓移植手術. からだの科学増刊(高度先進医療) 85-90. 2005.07
2. 学会発表
- 1) 池上俊彦, 大野康成, 三田篤義, 三原基弘, 浦田浩一, 中澤勇一, 橋倉泰彦, 寺田克, 宮川眞一. 当科における肝細胞癌(HCC)に対する肝移植の検討. 第 105 回日本外科学会定期学術集会 5月11日 名古屋
- 2) 窪田晃治, 三原基弘, 山本浩二, 宮川眞一. 肝細胞癌細胞株における p53 の転写非依存性アポトーシス誘導 ミトコンドリアを標的にした p53 蛋白の細胞内導入. 第 105 回日本外科学会定期学術集会 5月11日 名古屋
- 3) 小川真一郎, 田川陽一, 神吉昭子, 本山博章, 中山淳, 橋倉泰彦, 宮川眞一. 血管新生を応用した ES 細胞由来肝細胞の分化誘導と再生医療における可能性. 第 105 回日本外科学会定期学術集会 5月11日 名古屋
- 4) 三原基弘, 池上俊彦, 中澤勇一, 浦田浩一, 三田篤義, 大野康成, 左近雅宏, 橋倉泰彦, 寺田克, 宮川眞一. 当施設における代謝性疾患に対する肝移植の成績. 第 105 回日本外科学会定期学術集会 5月11日 名古屋
- 5) 大野康成, 池上俊彦, 中澤勇一, 浦田浩一, 三原基弘, 三田篤義, 橋倉泰彦, 寺田克, 宮川眞一. 当科における小児肝移植の長期成績. 第 105 回日本外科学会定期学術集会 5月11日 名古屋
- 6) 小林聡, 宮川眞一, 三輪史郎, 野村和彦, 赤羽康彦, 中田岳成, 草間啓, 添田純平, 古沢徳彦. 肝細胞癌治療における肝切除の役割 ミラノ基準合致症例での検討. 第 105 回日本外科学会定期学術集会. 5月11日 名古屋
- 7) 橋倉泰彦, 池上俊彦, 中澤勇一, 浦田浩一, 三原基弘, 三田篤義, 大野康成, 宮川眞一. 左葉を用いた成人生体肝移植における手術手技上の工夫とその成績. 第 105 回日本外科学会定期学術集会 5月11日 名古屋
- 8) 池上 俊彦, 宮川眞一. 生体肝移植における肝動脈血栓症. 第 23 回日本肝移植研究会 6月23日 札幌
- 9) 中澤 勇一, 宮川眞一. 生体肝移植後の再発 C 型肝炎の臨床病理学的検討 第 23 回日本肝移植研究会 6月23日 札幌
- 10) 橋倉 泰彦. Pro Con Debate. 血液型不適合移植の是非(移植医の立場から) Con:すべきでない. 第 23 回日本肝移植研究会 6月24日 札幌
- 11) 中澤 勇一. Pro Con Debate. プロトコール肝生検は必要か?(特にC型

- 肝炎) (病理の立場から) Con: プロトコール肝生検は不必要. 第 23 回日本肝移植研究会. 6 月 24 日. 札幌
- 12) 添田純平, 草間啓, 中田岳成, 三原基弘, 赤羽康彦, 野村和彦, 小林聡, 三輪史郎, 宮川眞一. 術前静脈塞栓を伴った肝細胞癌と診断された肝細胞癌完全自然壊死の 1 例. 第 60 回日本消化器外科学会定期学術総会 7 月 20 日 東京
- 13) 赤羽康彦, 三輪史郎, 小林聡, 野村和彦, 三原基弘, 中田岳成, 草間啓, 添田純平, 北原弘恵, 宮川眞一. 脂肪肝を背景にした肝細胞癌切除症例 2 例の検討. 第 60 回日本消化器外科学会定期学術総会. 7 月 20 日 東京
- 14) 小林聡, 宮川眞一, 橋倉泰彦, 池上俊彦, 中澤勇一, 浦田浩一, 三輪史郎, 野村和彦, 中田岳成, 赤羽康彦. 肝細胞癌に対する治療戦略 肝切除, 生体肝移植の成績から. 第 60 回日本消化器外科学会定期学術総会. 7 月 20 日 東京
- 15) 三田篤義, 池上俊彦, 橋倉泰彦, 寺田克, 中澤勇一, 浦田浩一, 小林聡, 大野康成, 増田雄一, 宮川眞一. 肝移植術後の胆管空腸吻合部狭窄に対する治療成績の検討. 第 60 回日本消化器外科学会定期学術総会 7 月 20 日 東京
- 16) 池上俊彦, 増田雄一, 大野康成, 三田篤義, 小林聡, 浦田浩一, 中澤勇一, 橋倉泰彦, 宮川眞一. 成人生体肝移植の現状と問題点 左葉グラフトでの成人間生体肝移植の検討. 第 60 回日本消化器外科学会定期学術総会. 7 月 20 日 東京
- 17) 浦田浩一, 橋倉泰彦, 宮川眞一. 肝移植後のマネージメント-長期予後改善への課題 肝移植 6 ヶ月以後のグラフト喪失原因の検討. DDW-Japan 第 9 回日本肝臓学会大会 10 月 5 日 神戸
- 18) 三田篤義, 橋倉泰彦, 宮川眞一. 劇症肝炎に対する肝移植の適応と成績. DDW-Japan 第 9 回日本肝臓学会大会 10 月 5 日 神戸
- 19) 鈴木史恭, 橋倉泰彦, 伊勢裕彦, 高橋将文, 池田宇一, 宮川眞一. Edaravone の肝虚血再灌流障害抑制作用に関する検討. 第 41 回日本移植学会総会 10 月 28 日 新潟
- H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)
1. 特許取得  
なし。
  2. 実用新案登録  
なし。
  3. その他  
なし。

## 別紙 4

## 研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト

## 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
1) 島津元秀	ABO血液型不適合肝移植の新戦略—現在・過去・未来—	高橋公太、田中紘一	ABO血液型不適合移植の新戦略2005.	日本医学館	東京	2005	130-138
2) 島津元秀	生体肝移植、b.術後管理	戸田剛太郎ほか	消化器疾患最新の治療2005-2006.	南江堂	東京	2005	48-51

## 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
1) Marubashi S., et al.	Steroid-free living - donor liver transplantation in adults.	Transplantation	80(5)	704-706	2005
2) Marubashi S., et al.	Portal venous reconstruction in a living liver donor with an anomalous hepatic arterial and portal venous anatomy.	J Gastrointest Surg	9(3)	365-368	2005
3) Marubashi S., et al.	Living-donor liver transplantation with renoportal anastomosis for patients with large spontaneous splenorenal shunts.	Transplantation	80(12)	1671-1675	2005
4) Takahashi H., et al.	Reconstruction of the middle hepatic vein in a modified right liver graft of living-donor liver transplantation while preserving the recipient's middle hepatic vein.	Transplant Int	18(12)	1386-1387	2005
5) 丸橋繁, 他	C型肝硬変に対する肝移植	臨床外科	60(12)	1407-1413	2005
6) 丸橋繁, 他	肝移植後のウィルス肝炎対策—B型肝炎—.	今日の移植	18(2)	165-169	2005
7) 梅下浩司, 他	特集:臓器移植 肝臓移植	日本臨休	63(11)	1956-1961	2005
8) 梅下浩司, 他	生体肝移植のわが国の肝臓移植現状.	肝胆膵	50(1)	9-14	2005
9) 梅下浩司, 他,	生体肝移植ドナーを巡る諸問題.	肝臓	46(6)	10-13	2005
10) 梅下浩司, 他	診療アップデート:肝臓移植の現状 生体肝移植は増えたが脳死移植は増えず.	日経メディカル(日経BP社)		98-100	2005
11) 武田裕, 他	急性肝不全劇症肝炎と肝移植	総合臨休	54(3)	592-598	2005
12) Tanaka Y, et al.	Low incidence of acute rejection after living donor liver transplantation: Immunological analyses by MLR using a CFSE labeling technique.	Transplantation	79(9)	1262-1267	2005

13) Ishiyama K, et al.	Difference in cytotoxicity against hepatocellular carcinoma between liver and periphery natural killer cells in humans.	Hepatology	43(2)	362-372	2006
14) 大段秀樹, 他	生体肝移植における免疫抑制療法	臨床外科	60(12)	1391-1398	2005
15) 市田隆文, 他	HCV再感染は肝移植の予後を左右するか.	肝胆膵	50(1)	129-140	2005
16) 市田隆文, 他	肝炎ウイルスと臓器移植	今日の移植	18(3)	267-276	2005
17) 市田隆文, 他	肝移植後のHCV再感染—現状と対策—	肝臓	46(6)	344-351	2005
18) 市田隆文	Editorial. C型肝炎の再感染とその対策	肝臓	46(9)	529-533	2005
19) 市田隆文, 他	C型肝炎に対する肝移植医療—その再発肝炎対策	日本臨床	63(11)	2012-2021	2005
20) 森広樹, 他	C型肝炎ウイルス陽性レシピエントに対するpegインターフェロンとリバビリン併用療法の成績	肝胆膵	52(1)	85-90	2006
21) 島津元秀, 他	成人生体肝移植におけるネオオーラル投与の実際	今日の移植	18(6)	773-774	2005
22) Umemura T., et al.	Quantitative analysis of anti-hepatitis C virus antibody-secreting B cells in patients with chronic hepatitis C	Hepatology	49	91-99	2006
23) Yagi S., et al.	Identification of novel HCV subgenome replicating persistently in chronic active hepatitis C patients.	J Med Virol	77	399-413.	2005
24) Iino S., et al.	Impact of daily high-dose IFNalpha-2b plus ribavirin combination therapy on reduction of ALT levels in patients with chronic hepatitis C with genotype 1 and high HCV RNA levels.	Hep Res	31	88-94	2005
25) Higashi K., et al.	Characterization of hypervariable region in hepatitis C virus envelope protein during acute and chronic infection.	Arch Virol.	150	883-98	2005
26) 松本晶博, 他	高ウイルス量患者への治療方針と効果	消化器の臨床	8	180-183	2005
27) 梅村武司, 他	C型肝炎の自然経過と治療介入	消化器科	40	415-420	2005
28) Kawagishi N., et al.	Improvement of QOL and Absence of Worsening in the Brain as Assessed by Imaging Techniques after Living Donor Liver Transplantation for Late-Onset Ornithine Transcarbamylase Deficiency -Report of a Case-	Surgery Today	35(12)	1087-91	2005
29) Kawagishi N., et al.	New strategy for the ABO-Incompatible living donor liver transplantation with anti-CD20 antibody (rituximab) and plasma exchange	Transplantation Proceedings	37	1205-6	2005
30) 川岸直樹, 他	先天性肝疾患に対する生体肝移植	臨床消化器内科	20	1667-72	2005