

岡山大学病院において

高木章乃夫*¹⁾, 八木孝仁*²⁾, 岩崎良章・坂口孝作・白鳥康史*¹⁾

特集 ウイルス肝炎と肝移植 Ⅲ. 施設における現状と対策：内科医より

Treatment for recurrent hepatitis after living related liver transplantation in Okayama University hospital

当院では、1996年8月～2004年9月の期間に68例の成人生体部分肝移植が行われている。HBV関連肝疾患は劇症肝炎2例、肝硬変5例、肝細胞がん合併肝硬変7例、HCV関連肝疾患は肝細胞がん非合併肝硬変4例、肝細胞がん合併肝硬変6例である。HBV関連肝疾患では、ラミブジンとHBIGの併用を基本にしているが、移植時にHBs抗原陰性になっているような劇症肝炎症例ではHBIGは減量投与している。HCV関連肝疾患では、トランスアミナーゼの変動と肝生検による慢性肝炎の診断を確認した症例でインターフェロン治療を行っている。

Akinobu Takaki*¹⁾, Takahito Yagi*²⁾,
Yoshiaki Iwasaki・Kohsaku Sakaguchi・Yasushi Shiratori*¹⁾
key words : 生体肝移植, B型肝炎, C型肝炎

ウイルス性肝硬変に対する生体肝移植の保険適応を受けてB型肝炎・C型肝炎肝硬変患者に対する移植が増加している。どれも移植後の再燃があり、今後大きな問題になってくる。

B型についてはラミブジン・アデフォビルなどの抗ウイルス薬によりHBVウイルス量を低下させ、抗HBV免疫グロブリン(HBIG)を併用することで、移植1～2年後のHBV再燃を10%以下に抑えることが可能になった¹⁾。現在の問題は、高価なHBIGをいつまで打ちつづけなければならないか、HBs抗体価を永続的に高値で維持しなければならないのかといったものである。

C型はほぼ100%でウイルス血症が再燃する²⁾。再発C型肝炎に対しては通常の慢性肝炎と同様、インターフェロンを基礎にした抗ウイルス療法が行われている。しかし、移植後肝炎に対するインターフェロンの使用法はいまだ手探りの状態である。その効果も通常の慢性肝炎患者にくらべてわるい傾向にあり、今後の大きな問題である。

本稿では、当院における移植後肝炎のコントロ

ール状況を中心に最近の知見を概説する。

当院のB型肝炎症例

当院では、1996年8月～2004年9月の期間に68例の成人生体部分肝移植が行われている。HBV(B型肝炎ウイルス)関連肝疾患は劇症肝炎2例、肝硬変5例、肝細胞がん合併肝硬変7例である。

もともとHBVに対する免疫寛容のない急性肝炎による劇症肝炎では、劇症化したときには強力な免疫によりHBs抗原が陰性化していることも多い³⁾。筆者らの経験している2例も移植時にはHBs抗原陰性となっていた。ラミブジンの投与は術前より開始されており、術中HBIGを1万単位、以後1週間連日1万単位を投与している。

劇症肝炎の1例では、移植後約1年半の間HBIG投与を継続したが、以後中止し、HBs抗体も陰性となった。5.5年経過観察を行っているが、HBs抗原の陽転、DNAの増加などは認めない(図1a)。もう1例は、移植後半年程度HBs抗体価100 mIU/mL以上になるようにHBIG投与を行ったが、以後はHBIGなしで経過観察を行っている。

*¹⁾Department of Gastroenterology, *²⁾Department of Gastroenterological Surgery, Transplant and Surgical Oncology, Okayama University Graduate School of Medicine and Dentistry *¹⁾岡山大学大学院消化器・肝臓・感染症内科, *²⁾同 肝胆膵外科

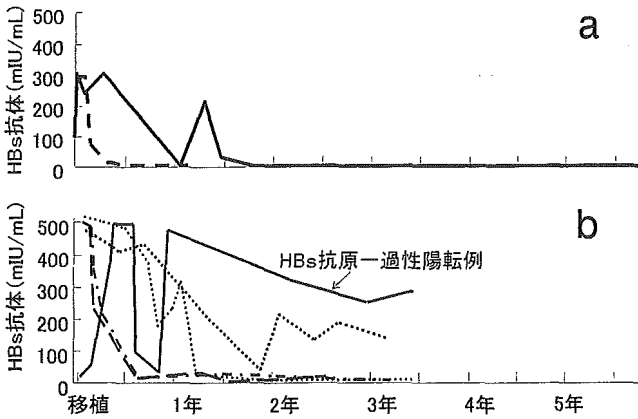


図1 HBV 関連肝疾患移植後 HBs 抗体価の推移
 a: 劇症肝炎2例
 b: 肝硬変術後1年以上経過5例

最近の報告では、術前に HBV-DNA 陰性であればラミブジン単独療法でも HBIG 併用ラミブジン療法でも HBV の再燃はないとされ⁴⁾、当院においては、劇症肝炎などで術前 HBV-DNA が低下している症例ではラミブジンに加え術中および術後早期のみの HBIG 投与で十分 HBV 再燃のコントロールが可能と考えている。

慢性 B 型肝炎においては多くの場合 HBV-DNA は陽性であり、ラミブジン単独投与では HBV 再燃予防は不十分で、ラミブジンと HBIG の併用が必要であるとされている⁵⁾。

当院においても原則的に移植1カ月以前よりラミブジンを開始し、またラミブジン耐性ウイルス出現症例に対してはアデフォビルを併用して術前 HBV-DNA の減量を図っている。HBs 抗体価は必ずしも 100 mIU/mL 以上を維持できているわけではないが、現在までに、1例で一過性に HBs 抗原陽性になった以外には、全例 HBs 抗原、HBV-DNA とともに陰性で経過している(図1b)。

一般的に健常者の HBV 感染予防という観点からは HBs 抗体価は 10 mIU/mL で十分とされており⁶⁾、当院の B 型慢性肝炎移植後患者の経過をみても、ラミブジン併用下では 100 IU/mL という基準は必ずしも必須ではないと思われる。

当院の C 型肝炎症例

当院では、1996年8月～2004年9月の期間で

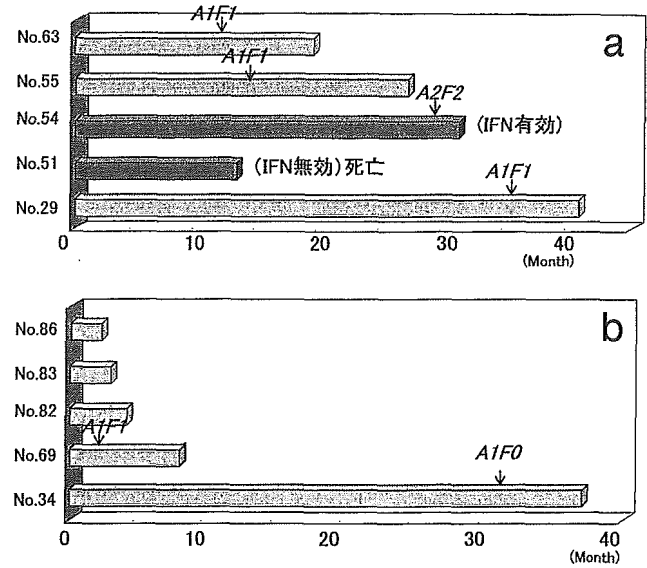


図2 再発 C 型肝炎の組織像
 a: 術前 IFN-β 投与群
 b: 術前 IFN-β 非投与群

HCV(C型肝炎ウイルス)関連肝疾患は成人生体肝移植68例中、肝細胞がん合併肝硬変6例、肝細胞がん非合併肝硬変4例である。肝細胞がん非合併例のうち2例は HBs 抗原も陽性であった。

10例のうち5例では術前にインターフェロンβの投与を行っている。詳細は本誌別項に貞森らが述べているが、術前短期投与でウイルスを駆除するのは不可能で、術1カ月後のウイルス量は減少するものの2カ月後以降は術前インターフェロン投与の有無にかかわらずウイルスは増加している。移植前の状態は多くの場合末期肝硬変で血小板減少や易出血性があり、十分量のインターフェロンが投与できないこともあり、適応症例は限られている。

当院の移植後の治療については、HCV-RNA 陽性のみでは積極的には行っていない。トランスアミナーゼの変動がつづき、プロトコールバイオプシーにて慢性肝炎であることを確認したのち、インターフェロンを中心とした治療を行っている。移植後再発 C 型肝炎については、現在までの報告では治療効果があまり高くないこと²⁾、拒絶反応と肝炎の鑑別が組織上もしばしば困難なこと⁷⁾より、インターフェロンの適応には十分慎重に望むべきであると考えている。

筆者らは現在までに、10例中2例の移植後肝炎

に対してインターフェロン治療を行っている(図2). 組織学的に慢性肝炎であることが明らかで, トランスアミナーゼの変動がつづく症例のみである.

図2aの症例51は, 術前にインターフェロン β 投与を行い, 術後は胆管狭窄に対し内視鏡的ドレナージを繰り返し, 移植8カ月後に慢性肝炎の再燃と判断し, インターフェロン投与を行ったが無効で, 最終的に肝不全で死亡した. 本症例は薬剤の副作用と考えられる血栓性血小板減少性紫斑病, 意識障害も合併し, 全身状態の悪化があり, これも肝炎の進行に悪影響を及ぼしたものと思われる.

図2aの症例54は, 術後2.5カ月で慢性肝炎と診断, トランスアミナーゼも200 IU/L以上で経過し, さらに500 IU/Lと上昇したため, インターフェロン α の投与を開始した. インターフェロン α -2b(イントロンA)3MU/回, 週3回にリバビリン600 mg/日の併用を行い, トランスアミナーゼは100 IU/L程度に落ち着いた. しかしHCV-RNA量は減少せず, トランスアミナーゼも100 IU/L以下にはならなかった.

1年2カ月経過後, インターフェロンをペグインターフェロン α -2a(ペガシス)90 μ g/回, 週1回に変更したところ, トランスアミナーゼの正常化とHCV-RNA陰転を認め, そのまま経過観察可能となっている.

当院での移植後肝炎に対するインターフェロン投与例はまだ2例である. その他の例ではトランスアミナーゼの変動, 組織進展度ともに比較的落ち着いており, 今後も肝機能検査, プロトコールバイオプシー所見をもとに経過観察を行い, いずれかの進行の確認後に治療を検討する方針である.

現在のところ再感染後早期に治療を開始すれば有効率があがるとの報告もなく, 1例ごとに治療の必要時期を十分検討するべきであろう. 症例54で示したとおり, インターフェロン製剤の変更によりvirological responseを得られる可能性もあり, 治療が必要と判断した症例に対してはさまざまな方法をトライしてウイルスのコントロールを目指すべきである.

まとめ

2004年よりウイルス性肝硬変に対しても生体肝移植が保険適応となり, 慢性肝疾患の90%を占めるウイルス性肝炎症例の適応患者が急速に増えている. B型肝炎に関しては, 筆者らのデータでもラミブジンとHBIGの併用でコントロールがかなり良好になってきている. これは若年者肝硬変や劇症肝炎などで多くの命を失ってきた肝疾患の臨床の現場では歓迎されることで, さらに長期にわたっての情報収集が待たれる.

慢性肝疾患のうち最大の患者数を数えるC型肝炎については, その治療法がインターフェロン中心であることから, 副作用の強さのため, 薬剤の最大有効量の投与ができないという問題がある. 当面その他の副作用の少ない薬剤が導入される予定はなく, ペグインターフェロン製剤などで少しでも副作用を抑えながら十分量のインターフェロンを投与することが必要である.

文献

- 1) Samuel D: Management of hepatitis B in liver transplantation patients. *Semin Liver Dis* 24 (Suppl 1): 55-62, 2004.
- 2) Gruener NH, Jung MC, Schirren CA: Recurrent hepatitis C virus infection after liver transplantation: natural course, therapeutic approach and possible mechanisms of viral control. *J Antimicrob Chemother* 54: 17-20, 2004.
- 3) Sherlock S et al.: 17 Hepatitis B virus and hepatitis delta virus. *Diseases of the liver and biliary system 11th ed.* (eds. Sherlock S and Dooley J), Blackwell publishing, UK, 2002, p285-303.
- 4) Neff GW, O'Brien CB, Nery J et al.: Outcomes in liver transplant recipients with hepatitis B virus: resistance and recurrence patterns from a large transplant center over the last decade. *Liver Transpl* 10: 1372-1378, 2004.
- 5) Roche B, Samuel D: Evolving strategies to prevent HBV recurrence. *Liver Transpl* 10(Suppl 2): S74-85, 2004.
- 6) U.S. Public Health Service: Updated U.S. Public Health Service Guidelines for the Management of Occupational Exposures to HBV, HCV, and HIV and Recommendations for Postexposure Prophylaxis. *MMWR Recomm Rep*. 2001 Jun 29; 50(RR-11):1-52.
- 7) Regev A, Molina E, Moura R et al.: Reliability of histopathologic assessment for the differentiation of recurrent hepatitis C from acute rejection after liver transplantation. *Liver Transpl* 10(10): 1233-1239, 2004.

肝移植における拒絶反応の診断と治療

日比将人*¹⁾ 橋本俊*¹⁾ 原普二夫*¹⁾
 富重博一*¹⁾ 西田純久*¹⁾ 杉岡篤*²⁾
 加藤充純*²⁾ 吉川哲史*³⁾ 鈴木達也*⁴⁾
 棚橋義直*⁴⁾ 中村司*⁴⁾

索引用語：肝移植，拒絶反応，診断，治療

1 はじめに

拒絶反応は臓器移植でしか起こり得ない合併症であるが，その発症要因はいまだ明らかではなく，反復すると過度の免疫抑制状態に陥り易く，ウイルスの再活性化や各種感染症の危険をもたらす，ウイルス性肝炎などを発症することにもなる．拒絶反応には既存抗体が関与して移植後24時間以内に起きるとされるHyper Acute Rejection (超急性拒絶反応)のほかに，液性因子が関与して移植後1週間以内に発症するAccelerated Acute Rejection (促進型急性拒絶反応)，と移植後2カ月以内に見られるもっともポピュラーなAcute Rejection (急性拒絶反応)，移植後6カ月以降に発症するChronic Rejection (慢性拒絶反応)がある．中でも急性拒絶反応は細胞性免疫による拒絶反応で，通常移植後1～2週間をピークに2カ月以内とされ，レシピ

エントの60～80%に発症することが知られている．本稿では肝移植における拒絶反応(主として急性拒絶反応)の病態的特徴，診断および治療に関し，移植後肝炎の診断も含め，自験例をもとに解説することとする．

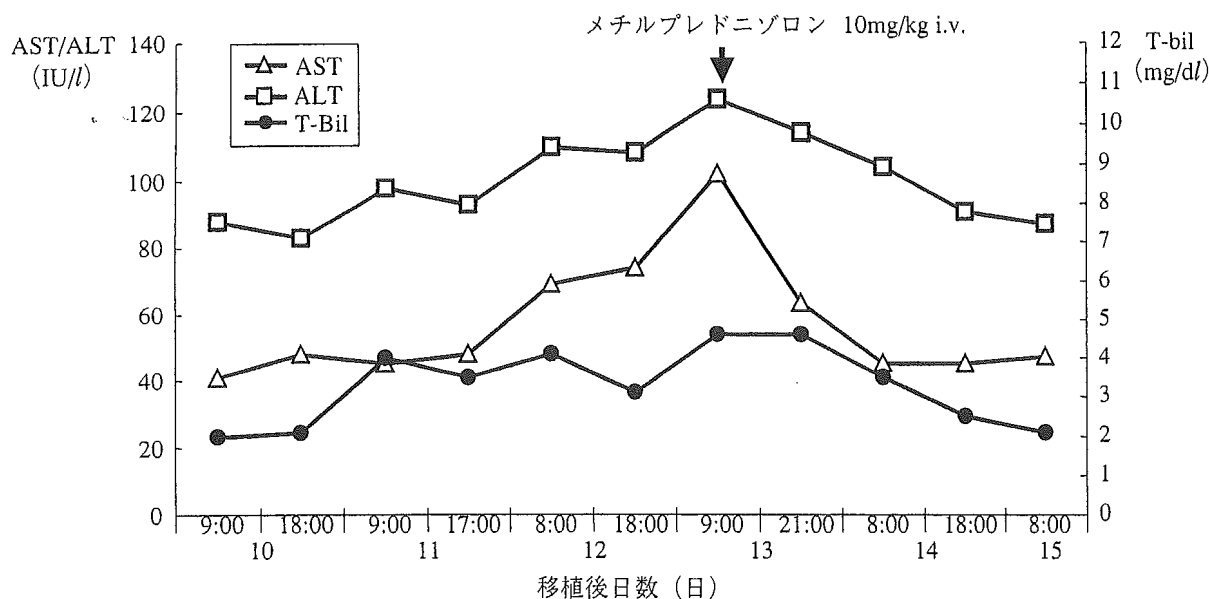
2 急性拒絶反応の診断

肝移植後の急性拒絶反応発症時には発熱，腹水量の増加などの臨床症状はあるものの単純に症状からのみ診断することは困難で血液生化学検査の変化をいかに把握し，解析するか診断の要点は集約される．一般的に確定診断は肝生検による組織診断が必要とされるが，急性拒絶反応の起きやすい移植後1週間前後は大量のステロイド使用直後であり，通常の消化器手術と比べて腹腔内の癒着が少ない．同時に抗凝固療法を行っている時期でもある．したがって，生検針による組織採取には出血などの危険を伴う．われわれも以前

Masato HIBI et al : Clinical diagnosis and treatment of the rejection on liver transplantation

*¹⁾ 藤田保健衛生大学小児外科 [〒470-1192 愛知県豊明市沓掛町田楽ヶ窪1-98]

*²⁾ 同 消化器外科，*³⁾ 同 小児科，*⁴⁾ 名古屋市立大学小児・移植外科



| | 移植後日数 (日) | | | | | | | | | | |
|--------------|-----------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 体温 (°C) | 37.4 | 37.8 | 37.6 | 37.8 | 38.0 | 37.6 | 37.2 | 37.2 | 36.1 | 36.8 | 36.2 |
| WBC (/μl) | 23,000 | 27,000 | 23,000 | 28,000 | 24,600 | 22,600 | 22,600 | 11,800 | 22,400 | 12,900 | 24,400 |
| CRP (mg/dl) | 0.3 | 0.5 | 1.0 | 1.5 | 1.9 | 2.4 | 2.1 | 2.3 | 2.0 | 15 | 0.8 |
| LDH (IU/l) | 272 | 357 | 297 | 295 | 348 | 314 | 622 | 328 | 315 | 297 | 349 |
| ALP (IU/l) | 620 | 646 | 741 | 768 | 824 | 831 | 927 | 944 | 928 | 944 | 830 |
| γ-GTP (IU/l) | 211 | 230 | 236 | 227 | 224 | 216 | 235 | 219 | 204 | 196 | 181 |

図1 ステロイドが奏功した急性拒絶反応例の経過

はプロトコール肝生検を行っていたが、退院6カ月後に生検部分の肝内動脈門脈瘻による肝鬱血から肝不全に陥り死亡した症例¹⁾を経験したため、現在ルーチンには行っていない。しかし、診断確定のための有用性は高く、可能ならば小開腹による生検が安全である。実際の臨床の場合における急性拒絶反応の診断は、わずかな症状の変化に注意し、血液生化学検査の経時的変化、超音波検査所見などを総合して迅速に行われることになる。以下にそれぞれの検査成績の特徴を示す。

1. 検体検査

もっとも簡便に移植肝の状態を客観的に評価できる方法が検体検査である。自施設では発熱、全身倦怠感などの症状が出現したときはもちろんのこと、移植後2週間は1日最低2回の定期的採血を施行している。肝移植後の臨床検査成績は通常、移植肝の容量が十分であり、外科的な問題が生じなければ少

なくとも血中ビリルビン値、トランスアミナーゼ値は右下がりに低下傾向を示す。これに対し、LDHは安定して比較的low値を示し、直後は減少していた血小板値も徐々に増加する。したがって、移植後3日以上経過後にトランスアミナーゼ値が増加傾向を示せば拒絶反応も疑うことになる。急性拒絶反応の病態は胆管周囲炎と血管内皮炎が主体であり、病像では胆汁うっ滞が先行する胆道系の炎症性病変が主体であり胆道系酵素の増加を伴わない急性拒絶反応は希と考えるも良い。しかし、総ビリルビン値に関しては術前閉塞性黄疸が強く、術中出血量が多い場合には血液の希釈により術後1~2日は術前より低値を示すことが多く、術後3日目あたりから増加してくる。したがって臨床検査値のみで急性拒絶反応と診断するためには以下のような経時的変化の確定が条件になると考えている。

すなわち、拒絶反応発症時最初に反応するのは白血球数，LDH，血小板数であり，次に胆道系酵素，そしてビリルビン値の増加，その後にトランスアミナーゼが変化する．極端に高いトランスアミナーゼ値の変化ではウイルス肝炎か門脈血流障害を疑い，ビリルビン値の高値は胆道系吻合部のトラブルか肝動脈血栓症を疑う．末梢血液像では好酸球増多を伴う白血球増多，血小板減少も特徴的と考えている．ステロイド治療が奏功した症例の経過を例に示すと（図1），移植後11日目よりLDH，ALP， γ GTP，総ビリルビン値の増加を伴うトランスアミナーゼ値の増加傾向を認め13日にステロイドを投与したところ，すべて速やかに低下している．こうした血液生化学検査の変動は拒絶反応に特徴的と考えられる．

2. 超音波検査

超音波検査は非侵襲的で，ベッドサイドで簡便に行うことができ，動脈血栓症や門脈血栓症の鑑別をはじめ，移植後の肝臓の状態をリアルタイムに把握できる大変有用な検査である．門脈血流の流速の変化が診断に有用性が高く，通常は門脈臍部にて30～60 cm/秒の流速が認められるが拒絶反応発症時には類洞内や肝静脈末梢側の炎症による抵抗性の増大により門脈血流速の低下をみることが多い．そこで鑑別すべき事項は外科的手技に起因する吻合血管の機械的な血流障害の有無である．これは流入血管である門脈の吻合に問題がある場合のみではなく，流出血管あるいは肝静脈吻合に異常があることも考慮する必要がある．特に左葉グラフトを用いた場合には中肝静脈と左肝静脈のどちらかに限定した血流障害の可能性も念頭におかなければならない．どちらか一方の流出血流障害が起きても門脈血流は通過の良い方に流れるため，臍

部では超音波検査流速の変化を認めにくく，障害がないと判断してしまう場合も存在するからである．したがって，肝静脈や門脈血流に関する検査は各区域枝まで十分に検索する必要がある．また，流速のみならず波形も有用な所見となる．強い拒絶反応やTTP（thrombotic thrombopenic purpura）などによる高度な内皮障害をきたしていると考えられる場合，門脈波形が鋸歯状変化を示し（図2A），末梢血管抵抗の増大を示していると考えられる（図2B）．

3. 感染症との鑑別

肝移植後の感染症は肝炎でなくとも肝機能に影響を及ぼすことがあり，治療方針も拒絶反応とは正反対であり注意を必要とする．感染症の発症時期はMarkinら²⁾によれば，細菌感染症は移植後2カ月以内に好発し，多くの施設で最初の1カ月間が有意に多く真菌感染症もほぼ同じ時期に多い．ウイルス感染症はそれより少し遅れ，移植後1カ月を過ぎた頃より既感染ウイルスの再活性化が起きるとされる．移植後日和見感染の原因となるウイルスは主としてヒトヘルペス族ウイルスであり，単純ヘルペスウイルス（HSV），Epstein-Barrウイルス（EBV），水痘・帯状疱疹ウイルス（VZV），ヒトヘルペスウイルス6（HHV6）などがあげられており³⁾，いずれも肝炎を発症しやすい．中でもサイトメガロウイルス（CMV）感染は移植後3～7週が多く，感染により急性拒絶反応と紛らわしい肝機能の障害をきたすこと，発症時期が同様の時期であること，治療法が全く相反することから，その鑑別は非常に重要である．発生率は，無症状感染を加えると80%にもものほり，有症状のものは20～40%といわれている⁴⁾．日本人では成人で約80%がCMV抗体陽性であり，移植後の感染はほとんどが体内ウイル

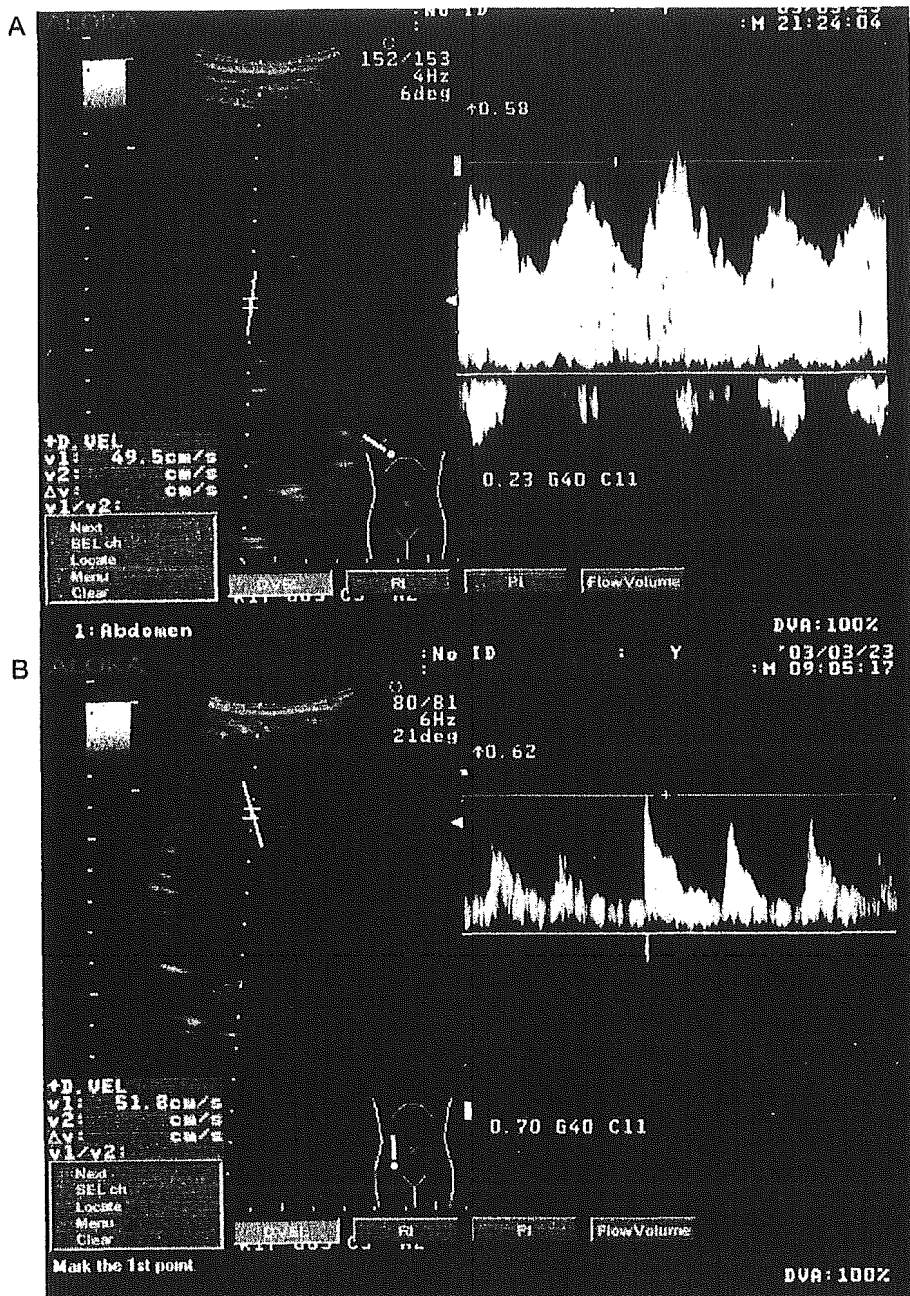
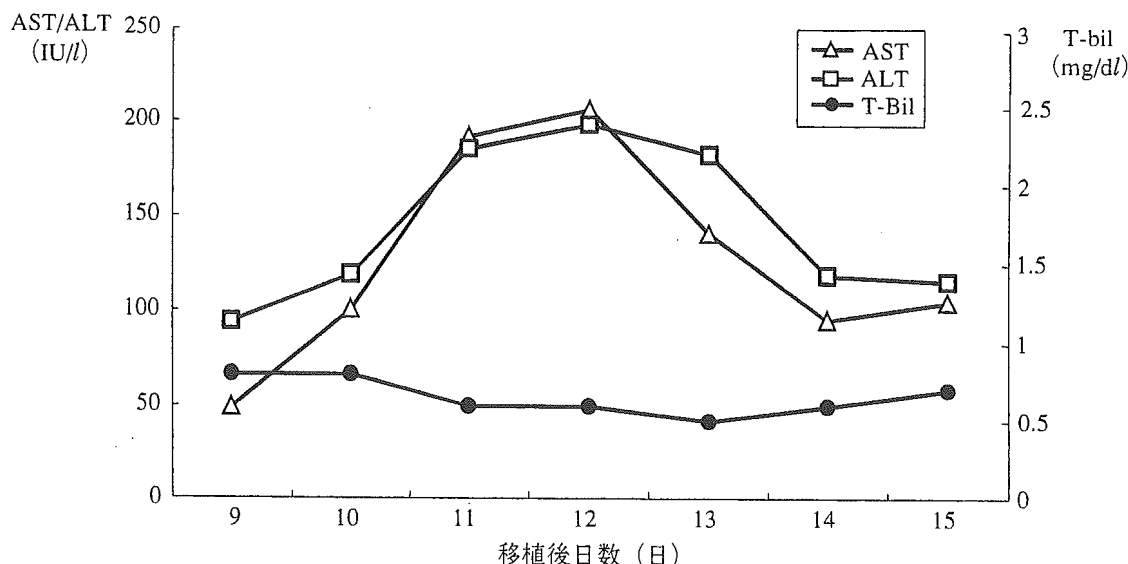


図2 異常な血流波形
A：鋸歯状の門脈波形，B：先鋭化した動脈波形

スの再活性化である。田中らは⁵⁾、以下の臨床所見を2つ以上有する時に診断としている。すなわち、①他の感染症が除外される症例で38℃以上の発熱が2日以上続く、②白血球が4,000/mm³以下、③血小板数10万/mm³以下、④異型リンパ球数3%以上、⑤AST/ALTが50 IU/l以上、⑥肝生検でCMV感染所見を認める、である。われわれは定期的にC7-HRP法によりCMV immedi-

ate early antigen (IEAg) 陽性白血球を検査している。Epstein-Barr virus (EBV) は伝染性単核球症の原因ウイルスであり、典型的な臨床症状は発熱、下痢、リンパ節腫脹と肝炎であるが、肝機能障害のみが前面に出る場合があり、拒絶反応との鑑別を要する。自施設でも行っているように定期的なDNAのモニタリングも鑑別に有用な指標となり得る。他方、希ではあるが最近、突発性発疹の原因ウイル



| | | | | | | | |
|--------------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 体温 (°C) | 37.0 | 37.2 | 39.0 | 38.8 | 38.0 | 37.2 | 36.9 |
| WBC (/μl) | 11,300 | 7,300 | 4,500 | 4,800 | 5,200 | 3,900 | 4,100 |
| CRP (mg/dl) | 0.5 | 0.3 | 0.5 | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.3 |
| LDH (IU/l) | 363 | 457 | 387 | 412 | 380 | 306 | 262 |
| ALP (IU/l) | 261 | 301 | 299 | 281 | 279 | 242 | 307 |
| γ-GTP (IU/l) | 61 | 78 | 108 | 116 | 116 | 105 | 134 |

図3 HHV-6感染例の経過

スとして知られる human herpes virus 6 (HHV-6) 感染例を経験した。症例は3歳男児で、プロピオン酸血症に対し生体肝移植を行った。移植後10日目に突然、肝機能障害を伴う39℃の発熱をきたした。急性拒絶や門脈血流障害、細菌性感染症も懸念されたがPCR法によりHHV-6のDNAを検出し、HHV-6感染と診断できた。特別に治療を変更することなく経過観察したところ、3日で自然に解熱した(図3)。先ほど提示した急性拒絶反応の経過(図1)と異なり、先行する白血球・胆道系酵素の上昇は認められなかった。

また、B型肝炎、C型肝炎の患者に対する肝移植後は、特にC型肝炎において高率に肝炎が再発する可能性があり、注意が必要である。

3 急性拒絶反応の発症頻度

1991年5月から2003年7月までに名古屋市立大学において施行され手術手技が同一の小児生体肝移植36例、2004年6月から藤田保健衛生大学において施行された5例を対象とした。そのうち36例が退院可能であった。このうち急性拒絶反応と診断されステロイド大量投与を必要とした症例は32例であった。拒絶反応の回数は1回が17例(53.1%)と最も多かったが、残りの15例が複数回の治療を必要とした。発症の時期は図4に示す如く、移植後5～14日が多かった。

4 急性拒絶反応の予防と治療

移植後の免疫抑制療法はまさにこの急性拒絶反応の予防にほかならない。基本的な免疫抑制剤はシクロスポリン(CYA)またはタクロリムス(FK)であるが、いずれもステロイ

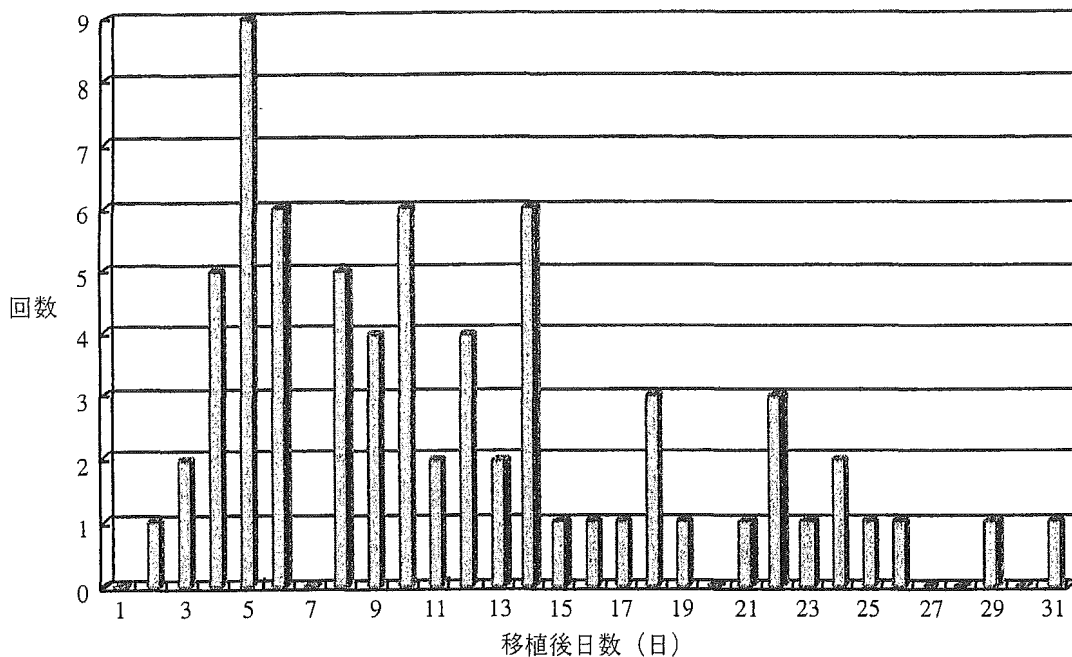


図4 急性拒絶反応発症日

ドを併用したレジメンが用いられてきた。自施設における免疫抑制療法を表1に示す。血液型不適合の移植例を除いて、基本的な組み合わせは、シクロスポリンまたはタクロリムスとステロイドの2剤で開始し症例によりMMFを追加している。小児ではタクロリムス、HCV陽性の成人ではシクロスポリンで開始することが多い。しかし、発育途上にある小児症例では成長に影響するステロイドの使用は極力控えたいところであり、最近ではbasiliximabの併用によりステロイドを使用しない免疫抑制も奏効するという報告もみられる⁶⁾。CYAとFKを比較した主なrandomized controlled studyを表2に示す。成人における大規模な検討では、FKの方が急性拒絶反応の頻度が低いという報告が多い^{7,8)}。最近では拒絶反応の発症率に有意差はないものの、FKの方が重大な拒絶反応を起こさずに生存する率が高く⁹⁾、小児例においてもステロイド抵抗性の拒絶反応を発症しにくいという¹⁰⁾。しかし、FKの方が糖尿病、下痢の副作用の頻度が高く、CYAを投与後2時間値

(C2)でモニタリングすれば両者の急性拒絶反応の頻度、重症度に差はないとされ、特にHCV陽性患者においては、死亡率やグラフト廃絶率がCYAで有意に低かったという報告もある¹¹⁾。われわれも最近術前に軽度耐糖能異常が疑われた小児の生体肝移植後に対しタクロリムスを使用したところインスリン依存性の糖尿病を発症した症例を経験した。単に拒絶反応の頻度だけでなく、それぞれの免疫抑制剤の特徴をよく理解し、個々の症例に応じた選択が重要である。

急性拒絶反応の治療の第一選択はステロイドであり、われわれは程度に応じて5～10mg/kgのメチルプレドニゾロンのボーラスまたはパルス投与を施行している。一般にはステロイド単独治療に70～80%反応するといわれる。問題はステロイド抵抗性の拒絶反応であり、basiliximabやrituximabの有効性が報告されている¹²⁾。Mycophenolate mofetile (MMF)は他の免疫抑制剤と比べ免疫抑制効果が低いが、他剤と併用して奏効する症例もあり、FKやCYAの血中濃度を十

表1 藤田保健衛生大学小児外科における免疫抑制剤プロトコール

| 投与日 | タクロリムス (FK) | シクロスポリン (CYA) | 投与時間 | | メチルプレドニゾロン | |
|-----------------|------------------------|------------------------|-----------|------------|---------------------|----------------------|
| | 投与量 4時間で 点滴静脈内注射 | 投与量 4時間で 点滴静脈内注射 | 投与時間 | 血中濃度測定 | 投与量 | 投与時間 |
| 手術当日 | 0.02 mg/kg | 1.6 mg/kg | 帰室時 | 帰室 2,4 時間後 | 20 mg/kg 1 mg/kg | reperfusion 時 帰室時 |
| 術後 1 日 | 0.008 mg/kg | 1.0 mg/kg | 帰室 12 時間後 | | 1 mg/kg × 2 | 8 時, 20 時 |
| 以後はシミュレーションに基づく | | | 20 時 | | | |
| 術後 2 日 | | | 8 時, 20 時 | 8 時投与前 | 1 mg/kg × 2 | 8 時, 20 時 |
| 術後 3 日 | | | 8 時, 20 時 | 8 時投与前 | 1 mg/kg × 2 | 8 時, 20 時 |
| 術後 4 日 | | | 8 時, 20 時 | 8 時投与前 | 1 mg/kg × 1 | 8 時, 20 時 |
| 術後 5 日 | | | 8 時, 20 時 | 8 時投与前 | 1 mg/kg × 1 | 8 時, 20 時 |
| 術後 6 日 | | | 8 時, 20 時 | 8 時投与前 | 1 mg/kg × 1 | 8 時, 20 時 |
| 術後 7 日 | | | 8 時, 20 時 | 8 時投与前 | 0.5 mg/kg × 1 | 8 時, 20 時 |

シクロスポリンは時々投与 2 時間後濃度 (C2) 測定も行う

目標濃度

| | | |
|-----|--------------|-----------|
| トラフ | 5 ~ 10 ng/ml | 200 ng/ml |
| C2 | | 600 ng/ml |

表2 FK と CYA を比較した主な Randomized Controlled Study

| 報告年 | 報告者 | 急性拒絶反応発症率 | | | 対象患者 (人) | |
|------|--|-------------|---------------|-----------|----------|-----|
| | | タクロリムス (FK) | シクロスポリン (CYA) | p 値 | 成人 | 小児 |
| 1994 | European FK506 Multicentre liver group ⁷⁾ | 40.5 % | 49.8 % | p = 0.04 | 545 | 0 |
| 1994 | The US multicentre FK506 liver study group ⁸⁾ | 58.6 % | 65.0 % | p < 0.002 | 478 | 51 |
| 2002 | O'Grady JG, et al. ⁹⁾ | 48.0 % | 59.0 % | NS | 350 | 0 |
| 2004 | Kelly D, et al. ¹⁰⁾ | 41.8 % | 54.4 % | NS | 0 | 181 |
| 2004 | Levy G, et al. ¹¹⁾ | 26.0 % | 24.0 % | NS | 495 | 0 |

分に上げて拒絶反応がコントロールしにくい場合に、われわれも積極的に用いて良好な結果を得ている。

5 慢性拒絶反応

慢性拒絶反応は比較的稀で、全体の 2 ~ 4 % の症例に発症し、通常移植後 2 カ月以降経過後の発症とされるが ¹³⁾、稀に 1 カ月以内の急性期に完成するものもある。大部分は 1 年以内に非可逆的な肝不全状態に陥るため再移植の適応となる。原因は明らかにされて

いないが、頻回の反復する急性拒絶反応に続発することが多いとされる。そのようなエピソードもなく診断がつかない場合は肝生検が必要である。組織学的には閉塞性動脈病変と小葉間胆管の高度の障害と消失が特徴とされている ¹⁴⁾。

自験例では 2 例の慢性拒絶反応を認めた。1 例は Byler 病の症例で大量の腹水喪失により免疫抑制剤の血中濃度の安定が得られず、移植後 1 年で死亡した。もう 1 例は、移植後しばらく経過良好であったが、高校のクラ

ブ活動や塾での勉強などで服薬時間が守られず、ついには自ら内服していないこともあった。しかし、これに気づくことができず、ついには慢性拒絶に陥った。確実な服薬指導の重要性を改めて痛感した症例であった。

6 おわりに

肝移植後の肝機能障害は軽度であれば安静とグリチルリチン製剤の静脈内注射による肝庇護のみで改善することが多い。しかし拒絶反応の診療の遅れはグラフト生着に関わるだけでなく、慢性拒絶に陥ると致命的となりかねない。そのためには、適切な予防から始まり迅速かつ安全な診断・治療が必要である。

文 献

- 1) Otobe Y, Hashimoto T, Shimizu Y et al : Formation of a fetal arterioportal fistula following a needle liver biopsy in a child with a living-related liver transplant: Report of a case Surg. Today 25 : 916-919, 1995
- 2) Märkin RS, Stratta RJ, Woods GL : Infection after liver transplantation. Am J Surg Patol 14 : 64-78, 1990
- 3) 田中紘一：肝移植とヘルペスウイルス感染症。移植とヘルペスウイルス感染症，ヘルペスウイルス感染症研究会 Proceeding, 16-18, トーレラザール・マッキャン，東京，2000
- 4) Megison SM, Andrews WS : Combination therapy with ganciclovir and intravenous IgG for cytomegarovirus infection in pediatric liver transplant recipients. Transplantation 52 : 151-154, 1991
- 5) 田中紘一，上本伸二，佐野 薫，他：生体肝移植とサイトメガロウイルス感染症。今日の移植 6 : 517-521, 1993
- 6) Reding R, Gras J, Stokal E et al : Steroid-free liver transplantation in children. Lancet 20 : 2068-2070, 2003
- 7) European FK506 Multicentre Liver Study Group : Randomized trial comparing tacrolimus (FK506) and cyclosporine in prevention of liver allograft rejection. Lancet 344 (13) : 423-428, 1994
- 8) The US Multicenter FK506 Liver Study Group : A comparison of tacrolimus (FK506) and cyclosporine for immunosuppression in liver transplantation. N Eng J Med 331 (17) : 1110-1115, 1994
- 9) O'Grady JG, Burroughs A, Hardy P et al : Tacrolimus versus microemulsified ciclosporin in liver transplantation: the TMC randomized controlled trial. Lancet 360 (12) : 1119-1125, 2002
- 10) Kelly D, Jara P, Rodeck B et al : Tacrolimus and steroids versus ciclosporin microemulsion, steroids, and azathioprine in children undergoing liver transplantation: randomised European multicentre trial. Lancet 364 (18) : 1054-1061, 2004
- 11) Levy G, Villamil F, Samuel D et al : Results of lis2T, a multicenter, randomized study comparing cyclosporine microemulsion with C2 monitoring and tacrolimus with C0 monitoring in de novo liver transplantation. Transplantation 15 : 1632-1638, 2004
- 12) Venzka A, Ganschow R, Grabhorn E et al : Basiliximab monotherapy following B-cell lymphoma after pediatric liver transplantation and anti-CD 20 therapy. Pediatr Transplant 7 : 404-407, 2003
- 13) Platz KP, Tullius SG, Mueller AR et al : Incidence and outcome of chronic rejection in CyA-and FK-treated patients. Transplantation Proc 28 : 3183-3184, 1996
- 14) 中嶋安彬，羽賀博典：拒絶反応の形態学。肝胆膵 45 (3) : 445-450, 2002

* . * *

Quantification of red blood cell fragmentation by the automated hematology analyzer XE-2100 in patients with living donor liver transplantation

S. BANNO*,§, Y. ITO*, C. TANAKA†, T. HORI*, K. FUJIMOTO†, T. SUZUKI‡, T. HASHIMOTO‡, R. UEDA§, M. MIZOKAMI*

*Central Clinical Laboratory, Nagoya City University Hospital, Nagoya, Japan
†Scientific Division, Sysmex Corporation, Kobe, Japan
‡Department of Organ Restoration and Transplantation, Nagoya City University Graduate School of Medical Science, Nagoya, Japan
§Department of Internal Medicine and Molecular Science, Nagoya City University Graduate School of Medical Science, Nagoya, Japan

Summary The fragmented red cell (FRC) is a useful index for diagnosing and determining the severity of thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP), thrombotic microangiopathy (TMA) and other similar conditions, as it is found in peripheral blood in patients with these diseases. The FRC expression rate has conventionally been determined by manual methods using smear samples. However, it is difficult to attain accurate quantification by such methods as they are time consuming and prone to a great margin of error. With cases of living donor liver transplantation, the current study examined the possibility of using a multi-parameter automated hematology analyzer, the XE-2100 (Sysmex Corporation) for FRC quantification. While there was a notable correlation between the manual and automated measurements, the manual measurement resulted in higher values. This suggested remarkable variations in judgment by individuals. The FRC values had a significant correlation with the reticulocyte count, red blood cell distribution width (RDW), fibrin/fibrinogen degradation products (P-FDP) and lactate dehydrogenase (LDH) among the test parameters, and this finding was consistent with the clinical progression in patients. The automated method can offer precise measurements in a short time without inter-observer differences, meeting the requirement for standardization. The determination of FRC count (%) by the XE-2100 that enables early diagnoses and monitoring of TTP or TMA will be useful in the clinical field.

Keywords Fragmented red cell, thrombotic microangiopathy, thrombotic thrombocytopenic purpura, living donor live transplantation, automated hematology analyzer XE-2100

Introduction

Fragmented red cells (FRCs) are often found in the peripheral blood of patients with diseases involving injury to vascular endothelial cells such as thrombotic thrombo-

cytopenic purpura (TTP), thrombotic microangiopathy (TMA) and microangiopathic hemolytic anemia (MAHA). The FRC count serves as an important indicator for the diagnosis of these conditions and evaluation of their severity. A number of reports have been published concerning bone marrow transplantation-associated thrombotic microangiopathy (BMT-TMA) (Zomas *et al.*, 1998; Iacopino *et al.*, 1999; Takatsuka *et al.*, 1999). Zeigler *et al.* (1995) proposed a TMA-grading system based on FRC count and increased level of LDH to provide an indicator of the severity of TMA secondary to bone marrow transplantation. The FRC count has been shown

Accepted for publication 5 April 2005

Correspondence: Shogo Banno, Department of Internal Medicine and Molecular Science, Nagoya City University Graduate School of Medical Science, Kawasumi 1, Mizuho-ku, Nagoya-city, Aichi, 467-8601, Japan. Tel.: +81 052 851 5511; Fax: +81 050 852 0849; E-mail: sbannos@med.nagoya-cu.ac.jp

to be useful in the early diagnosis of TMA, evaluation of its prognosis and planning its treatment.

At present, visual counting on peripheral blood smears is routinely performed in clinical laboratories for enumeration of FRCs. This method, however, involves great variance among individual examiners even on the same specimens. Furthermore, it is time consuming. For these reasons, it seems difficult to count FRCs by visual microscopy. There is, therefore, a need to develop a method allowing rapid calculation of FRCs using an automated analyzer.

We recently evaluated the significance and usefulness of FRC counting using a multiparameter automated blood cell analyzer, the Sysmex XE-2100 (Sysmex Corporation, Kobe, Japan) (Jiang *et al.*, 2001), on data collected from five patients who developed TMA after live donor liver transplantation at our hospital.

Subjects and methods

Five patients (four males and one female between 1 and 63 years of age; Table 1) who satisfied all of the following requirements were studied: (1) they had undergone live donor liver transplantation, (2) FRC were detected in smears, (3) diagnoses of erythrocyte fragmentation were made, (4) there were signs of hemolysis (reduced haptoglobin level, elevated LDH, etc.), (5) the serum thrombomodulin was elevated, suggesting injury of vascular endothelial cells was present, and (6) they were seemingly complicated by TMA and MAHA. Underlying diseases were biliary atresia (three cases), fulminant hepatitis (one case) and familial intrahepatic bile retention (one case). The ABO blood type was consistent between all donor-recipient pairs except for case 1.

Measurement of FRC counts using the automated blood cell analyzer XE-2100

Fragmented red cell counts (%), in peripheral blood [anticoagulated with K₂ ethylenediaminetetraacetic

(EDTA)] were performed using an FRC quantitative analysis system on the XE-2100. With this system, FRC (%) is measured on the reticulocyte scattergram obtained with a semiconductor laser using XE-2100 flow cytometry. As shown in Figure 1, the reticulocyte scattergram plots the intensity of the forward light scattering (an indicator of blood cell size; *y*-axis) against the intensity of fluorescence (reflecting RNA level; *x*-axis). GATE-T indicates the area where the total number of erythrocytes is calculated. GATE-1 is derived from microscopic observation of the location of FRC (%) on experimentally prepared specimens (Jiang *et al.*, 2001). Measurement with XE-2100 is then performed, and the area on the reticulocyte scattergram (GATE 1) showing low fluorescence intensity and low intensity of forward light scatter is deemed to be the FRC positive area. It is designed so that the FRC (%) determined from this area has a close relationship with the visually determined FRC (%).

Visual calculation of FRC (%)

On each Wright-Giemsa-stained smear specimen of peripheral blood, 1000 erythrocytes were visually counted. In accordance with the Dacie and Lewis (1984) definition, irregularly shaped or helmet-like cells and cells with sharp angles or spikes were deemed to be FRCs.

Results

FRC evaluation using the automated blood cell analyzer XE-2100

Within-day reproducibility was evaluated by conducting 10 serial measurements of the two smear specimens on which FRCs were detected at low and high frequencies. Coefficients of variation (CV) were 6.32% (mean FRC: 2.1%) and 1.42% (mean FRC: 13.0%) respectively. The stability of FRC (%) over time was followed for 24 h, starting immediately after blood sampling, by leaving the

Table 1. Five patients with living donor liver transplantation complicated by TMA

| Case | Recipient | | | Donor | | | | | |
|------|-----------|-----|--------------------------------------|------------|-----|-----|-----|------------|-----|
| | Age | Sex | Disorder | Blood type | | Age | Sex | Blood type | |
| | | | | ABO | RhD | | | ABO | RhD |
| 1 | 8 | M | Biliary atresia | B | + | 38 | M | O | + |
| 2 | 63 | M | Fulminant hepatitis | A | + | 29 | M | A | + |
| 3 | 1 | M | Familial intrahepatic bile retention | O | + | 32 | F | O | + |
| 4 | 7 | F | Biliary atresia | AB | + | 36 | F | AB | + |
| 5 | 16 | M | Biliary atresia | B | + | 45 | M | B | + |

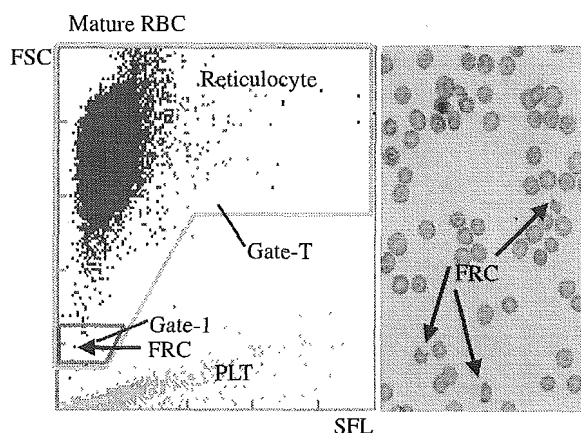


Figure 1. (Left) Reticulocyte scattergram plot, measurement of FRC (%) counts using XE-2100. The gate 1 shows the location of FRC. (Right) Representative FRCs of peripheral blood smear (arrow) (Wright-Giemsa stain).

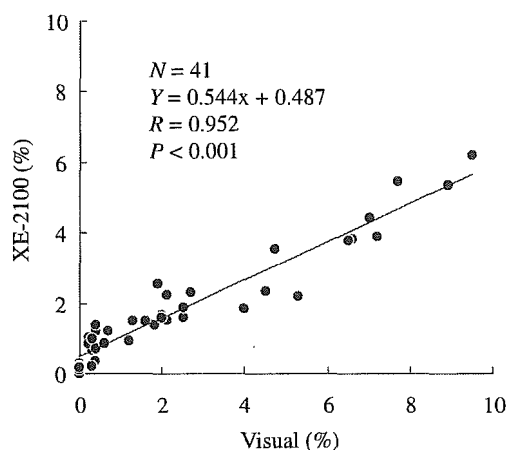


Figure 2. Relationship between the FRC (%) determined by XE-2100 and the FRC (%) determined visually.

specimens showing FRCs at room temperature. FRC (%) tended to rise with time, reaching a 14% increase at 24 h. Figure 2 shows the relationship between the FRC (%) determined by quantitative analysis using the XE-2100 and the FRC (%) determined visually; there was a high correlation between them ($r = 0.952$, $P < 0.001$). The FRC (%) determined visually was higher than that determined by XE-2100, suggesting over-estimation of FRC counts by visual microscopy. Table 2 shows the relationship between FRC (%) determined by XE-2100 and each of the other parameters tested. This relationship was analyzed using chronological data from five patients whose smears showed FRC after live donor liver transplantation. When the relationship of FRC (%) measured with XE-2100 to four other parameters [hemoglobin (Hb),

Table 2. Relationship between FRC (%) determined by XE-2100 and each of the other parameters tested

| Parameter | n | r | P-value |
|-----------|----|--------|---------|
| Hb | 56 | -0.383 | 0.003 |
| Plt | 56 | 0.065 | 0.634 |
| Reti | 54 | 0.665 | <0.001 |
| RDW | 50 | 0.438 | 0.001 |
| PT | 44 | 0.184 | 0.234 |
| APTT | 44 | 0.439 | 0.003 |
| FDP | 22 | 0.650 | 0.001 |
| D-D | 22 | 0.431 | 0.006 |
| AST | 51 | 0.324 | 0.020 |
| ALT | 51 | 0.444 | 0.001 |
| LDH | 51 | 0.444 | 0.001 |
| K | 53 | 0.194 | 0.164 |
| T.bil | 51 | 0.271 | 0.054 |

Hb, hemoglobin; Plt, platelet; Reti, reticulocyte; RDW, red blood cell distribution width; PT, prothrombin time; APTT, activated partial thromboplastin time; FDP, fibrin/fibrinogen degradation products; D-D, D-D dimer; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; LDH, lactate dehydrogenase; K, kalium; T.bil, total bilirubin.

platelet (PLT), reticulocyte (Reti) and red blood cell distribution width (RDW)] was analyzed, FRC (%) had a significant correlation with reticulocyte count ($r = 0.665$, $P < 0.001$), followed by RDW and Hb. Thus, a significant correlation was observed between FRC (%) and indicators of anemia or hematopoietic function. When FRC (%) was $\geq 6\%$, it was impossible to analyze RDW. Of the parameters of the coagulation systems, fibrin/fibrinogen degradation products (FDP), D-D dimer and activated partial thromboplastin time (APTT) correlated significantly with FRC (%). Of the biochemical parameters, lactate dehydrogenase (LDH; an indicator suggesting the influence of hemolysis) and aspartate aminotransferase (AST) had a significant correlation with FRC (%) (for $LDH_{1,2}$: $r = 0.444$, $P < 0.001$).

Clinical course (representative case report)

Figure 3 shows the clinical course of a 16-year-old male in whom TMA developed after live donor liver transplantation for biliary atresia and subsided after switching to a different immunosuppressor. The histogram shows the frequency of FRC detection. FRC (%) gradually rose on the fifth and subsequent postoperative days, reaching a peak on the 12th day and decreasing thereafter. LDH and FDP, which had a close correlation with FRC (%), followed a course similar to that of FRC (%). However, changes in FDP tended to occur slightly later than changes in FRC (%). The platelet count showed a course opposite to the

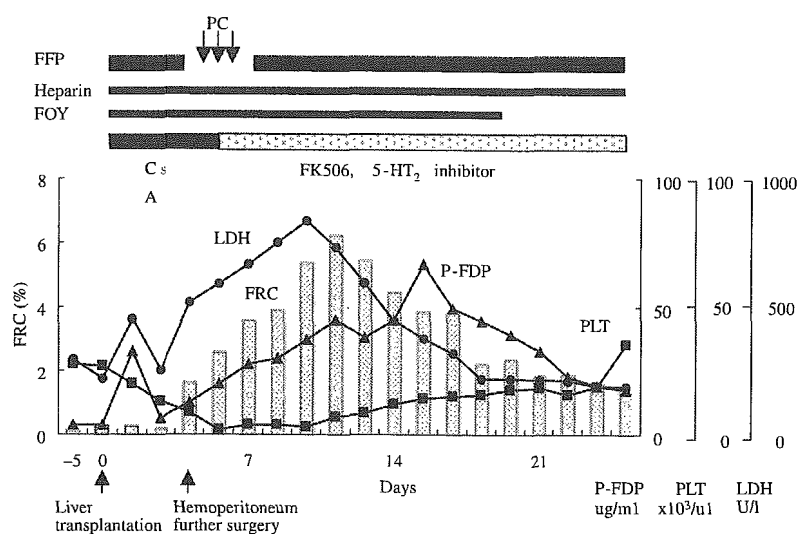


Figure 3. Clinical course of a 16-year-old male (case 5) in whom TMA developed after live donor liver transplantation for biliary atresia.

course of FRC (%); it began to decrease immediately after transplantation and began to rise on the day when FRC (%) reached a peak.

Discussion

Thrombotic microangiopathy may develop in patients after transplantation of hematopoietic stem cells, kidney (Chiurchiu *et al.*, 2002) or liver. It can also complicate connective tissue diseases such as scleroderma (Kapur *et al.*, 1997). Furthermore, TMA associated with graft-vs.-host disease (GVHD) (Daly *et al.*, 2002) has been reported. We have encountered cases of TMA secondary to live donor liver transplantation. The grading system for TMA proposed by Zeigler *et al.* (1995) requires calculation of FRC (%). FRC (%) determination using an automated blood cell analyzer such as the XE-2100 therefore seems essential. When the within-day reproducibility of FRC (%) measurement was estimated using this analyzer, the CV was excellent (1.42%) for specimens showing high FRC (%), while it tended to rise slightly (6.32%) in specimens with lower FRC (%). When the count stability over time was analyzed, FRC (%) rose by 14% during a 24-h period. This indicates the necessity of measuring FRC (%) immediately after sampling. The correlation between the FRC (%) determined by XE-2100 and the visually determined FRC (%) was high ($r = 0.952$), but the visually determined FRC (%) tended to be higher, probably because of large inter-individual variance in visual measurement of vaguely defined morphological criteria. There is currently an increasing demand for standardization of tests; the introduction of XE-2100 for determination of FRC (%) is expected to

resolve the problems involved in visual measurement of FRC (%). Bessman (1988) reported that the automated determination of the RDW was more reliable than visual counting FRC on smears. In the present study, we analyzed the relationship of FRC (%) to various parameters and found that FRC (%) correlated with indicators of hemolysis (reticulocyte count and LDH) and indicators of enhancement of the coagulation system (FDP and D-D dimer). A significant correlation between FRC (%) and RDW was also observed, endorsing the report made by Bessman (1988).

In conclusion, the automated FRC measurement using the XE-2100 was highly reproducible and allowed early diagnosis of TTP, MAHA, TMA, etc. and prediction of responses of these conditions to treatment. The FRC (%) measuring system, the XE RET master software module can be installed on the analyzer. This allows reliable real-time calculation of FRC (%) and avoids inter-observer variation. If this system is used in combination with qualitative FRC analysis on smear specimens, it will become a new clinically useful item of routine laboratory tests.

References

- Bessman J.D. (1988) Red blood cell fragmentation, improved detection and identification of causes. *American Journal of Clinical Pathology* **90**, 268–273.
- Chiurchiu C., Ruggenenti P. & Remuzzi G. (2002) Thrombotic microangiopathy in renal transplantation. *Annals of Transplantation* **7**, 28–33.
- Dacie S.J. & Lewis S.M. (1984) *Practical Haematology*, 6th edn. Churchill Livingstone Inc, New York.
- Daly A.S., Hasegawa W.S., Lipton J.H., Messner H.A. & Kiss T.L. (2002) Transplantation-associated thrombotic

- microangiopathy is associated with transplantation from unrelated donor, acute graft-versus-host disease and veno-occlusive disease of the liver. *Transfusion Apheresis Science* **27**, 3–12.
- Iacopino P., Pucci G., Arcese W., Bosi A., Falda M., Locatelli F., Marengo P., Miniero R., Morabito F., Rossetti F., Sica S., Uderzo C. & Bacigalupo A. (1999) Severe thrombotic microangiopathy: an infrequent complication of bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation* **24**, 47–51.
- Jiang M., Saigo K., Kumagai S., Imoto S., Kosaka Y., Matsumoto H. & Fujimoto K. (2001) Quantification of red blood cell fragmentation by automated haematology analyzer XE-2100. *Clinical Laboratory Haematology* **23**, 167–172.
- Kapur A., Ballou S.P., Renston J.P., Luna E. & Chug-Park M. (1997) Recurrent acute scleroderma renal crisis complicated by thrombotic thrombocytopenic purpura. *Journal of Rheumatology* **24**, 2469–2472.
- Takatsuka H., Takemoto Y., Okamoto T., Fujimoto Y., Tamura S., Wada H., Okada M., Kanamaru A. & Kakishita F. (1999) Thrombotic microangiopathy following allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation* **24**, 303–306.
- Zeigler Z.R., Shaddock R.K., Nemunaitis J., Andrews D.F. & Rosenfeld C.S. (1995) Bone marrow transplant-associated thrombotic microangiopathy: a case series. *Bone Marrow Transplantation* **15**, 247–253.
- Zomas A., Saso R., Powles R., Mackay H., Singhal S., Treleaven J. & Mehta J. (1998) Red cell fragmentation (schistocytosis) after bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation* **22**, 777–780.

M. Hibi · K. Tokiwa · R. Fukata · F. Nakajima

Obstructive jaundice in a child with pancreatic hemangioma

Accepted: 11 April 2005 / Published online: 27 July 2005
© Springer-Verlag 2005

Abstract We report the case of a 2-year-old boy who presented with obstructive jaundice by pancreatic hemangioma. In this case, a minimal operation for obstructive jaundice without resection of the tumor was performed. Three years after the operation, the pancreatic hemangioma almost disappeared. We discuss treatment of the pancreatic hemangioma in children.

Keywords Pancreatic hemangioma · Obstructive jaundice · Spontaneous regression

Introduction

Hemangioma of the pancreas is a rare benign tumor in children. The case of a large hemangioma presenting with Kasabach-Merritt syndrome is easily diagnosed using conventional radiological modalities and usually managed with conservative therapies [1–3]. However, even if a pancreatic tumor is small and not associated with Kasabach-Merritt syndrome, the patient may present with an obstructive jaundice when the tumor is located in the pancreatic head [4–6]. In such cases, preoperative diagnosis is sometimes difficult; consequently aggressive surgical therapy has been performed [4].

We report a case of spontaneous regression of the pancreatic hemangioma after a minimal operation for obstructive jaundice without resection of the tumor and discuss management of the pancreatic hemangioma.

Case report

A 2-year-old boy who had had icteric conjunctiva and acholic stools was transferred to our hospital after percutaneous transhepatic gallbladder drainage (PTGBD) for obstructive jaundice with a markedly distended gallbladder. This was his first experience with jaundice and there was no family history of hepatic or biliary disease. Laboratory studies showed liver dysfunction with total bilirubin 3.9 mg/dl, direct bilirubin 2.6 mg/dl and alkaline phosphatase 832 IU/l.

On magnetic resonance imaging, T1-weighted images revealed a tumor in the pancreatic head that was homogeneous and showed lower-intensity than hepatic intensity and was highly enhanced with Gadolinium (Fig. 1). This tumor showed slightly high intensity on T2-weighted images. A cholangiography via the PTGBD catheter showed a choledochal stenosis at the head of the pancreas with dilatation of the proximal bile duct (Fig. 2). A celiac arteriogram showed a densely stained area in the pancreatic head (Fig. 3).

Preoperative diagnosis of obstructive jaundice caused by a tumor in the pancreatic head was made and an exploratory laparotomy was performed. An elastic firm mass measuring about 2 cm in diameter occupied the head of the pancreas. Pathological examination using a frozen section of the incisional biopsy specimen revealed capillary hemangioma of the pancreas. The bleeding from a tumor was not a problem and the hemostasis was easy by a suture of biopsy lesion.

We thought that total tumor resection was not mandatory for obstructive jaundice in this case. A cholecystectomy and separation of the common bile duct proximal to the pancreas with Roux-en Y choledochojejunostomy were performed. The postoperative course was uneventful and he was discharged 3 weeks after the operation without jaundice.

Serial imaging studies with ultrasonography and magnetic resonance imaging showed that the tumor regressed in size spontaneously in a follow-up 3 years la-

M. Hibi · K. Tokiwa · R. Fukata · F. Nakajima
Department of Pediatric Surgery and Maizuru Medical Center,
National Hospital Organization, Maizuru-city, Kyoto, Japan

Present address: M. Hibi (✉)
Department of Pediatric Surgery, Fujita Health University, 1-98,
Dengakugakubo, Kutsukake-cho, Toyoake, Aichi-ken, 470-1192
Japan
E-mail: mhibi@fujita-hu.ac.jp
Fax: +81-562-931951

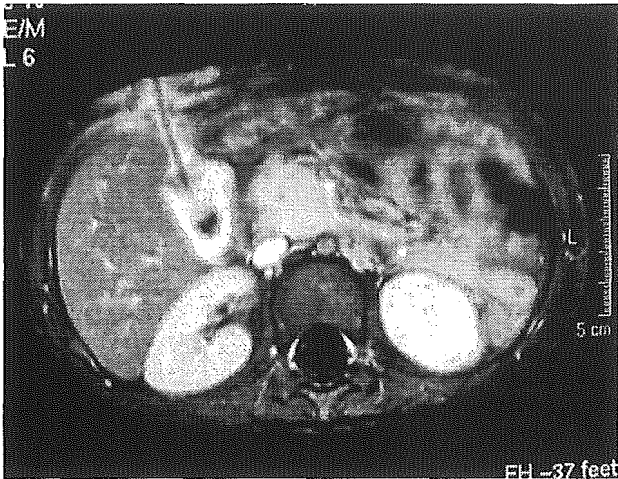


Fig. 1 Magnetic resonance imaging (T1-weighted) shows a small tumor of pancreatic head that was highly enhanced with Gadolinium

ter. Finally, he remained completely asymptomatic and the tumor in the pancreatic head almost disappeared.

Discussion

Pancreatic hemangioma is an extremely rare benign soft tissue tumor in children. The clinical picture and treatment usually depend on the location of the tumor and complications caused by the tumor.

In the case of large hemangioma complicated with Kasabach-Merritt syndrome which may be diagnosed by CT, MRI and/or angiography [7], conservative treatments including corticosteroids, α -interferon [8], radiation



Fig. 2 A cholangiography via the PTGBD catheter showed a choledochal stenosis at the head of the pancreas with dilatation of the proximal bile duct

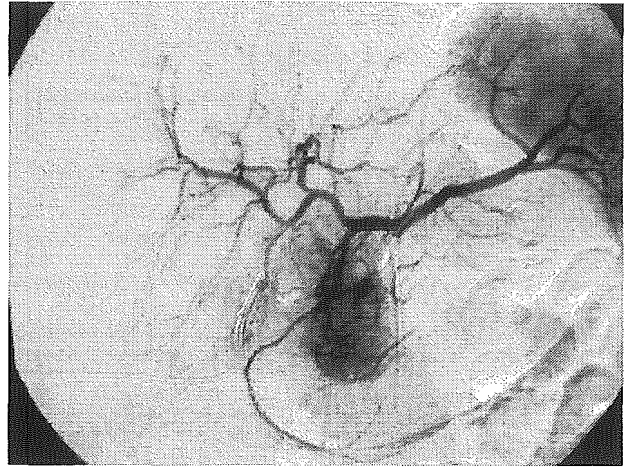


Fig. 3 Celiac arteriography showed a hypervascular tumor in the pancreatic head

therapy and combination chemotherapy with vincristine, actinomycin D and cyclophosphamide [3] are reported to be effective in involution of the tumor. Therefore, total primary excision should be abandoned. In fact, surgical treatment itself is sometimes impossible because large tumors frequently involve major vessels. In addition, spontaneous regression may also be expected in infantile hemangioma. In our case, the small pancreatic tumor located in the pancreatic head caused obstructive jaundice. Most hemangioma actually appear within a few weeks after birth and rapidly enlarge over a period of several months and get smaller at the age of 2. In our case, the period when tumors enlarge passed without causing biliary obstruction, but stenosis was present, and it was thought that cholangitis occurred accidentally.

Although the level of serum bilirubin rapidly improved to the normal range after PTGBD, preoperative diagnosis was difficult and possible malignancy could not be ruled out, and an early laparotomy was preferred to make the correct diagnosis and to plan an appropriate treatment.

Based on the intraoperative findings, ancreaticoduodenectomy was required for complete resection of the tumor. However, intraoperative frozen-section diagnosis of capillary hemangioma prompted us to perform a Roux-en-Y hepaticojejunostomy without resection of the pancreatic tumor, because spontaneous regression could be expected in this tumor [5, 6]. Recently, the metallic stent is increasingly being used for management of biliary stricture for adult patients [9]. However, in children, the influence that stent gives biliary growth of childhood is not clear and requires removal of stent following therapy, and therefore we did not choose it. Consequently, we obtained a good clinical outcome in this case.

In conclusion, we recommend careful observation of children with pancreatic hemangioma without initial aggressive intervention.

References

1. Goldszmidt D, Pariente D, Yandza T et al (1993) Kasabach-Merritt syndrome with pancreatic hemangioma in an infant. *Arch Fr Pediatr* 50:593–597
2. Stanley P, Gomperts E, Wooley MM (1986) Kasabach-Merritt syndrome treated by therapeutic embolization with polyvinyl alcohol. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 8:308–311
3. Hu B, Lachman R, Phillips J et al (1998) Kasabach-Merritt syndrome-associated kaposiform hemangioendothelioma successfully treated with cyclophosphamide, vincristine, and actinomycin D. *J Pediatr Hematol Oncol* 20:567–569
4. Chappell JS (1973) Benign hemangioendothelioma of the head of the pancreas treated by pancreaticoduodenectomy. *J Pediatr Surg* 8:431–432
5. Tunell WP (1976) Hemangioendothelioma of the pancreas obstructing the common bile duct and duodenum. *J Pediatr Surg* 11:827–830
6. Tebboune N, Lazure T, Fabre M et al (2003) Pancreatic haemangioma in infancy: the place of radiology. *Pediatr Radiol* 33:621–623
7. Kobayashi H, Itoh T, Murata R et al (1991) Pancreatic cavernous hemangioma: CT, MRI, US, and angiography characteristics. *Gastrointest Radiol* 16:307–310
8. Shih SL, Chen BF, Chen SH et al (1998) Spindle cell hemangioendothelioma of the pancreas treated with interferon- α . *Pancreas* 16:215–216
9. Berkel AM, Cahen DL, Westerloo DJ et al (2004) Self-expanding metal stents in benign biliary strictures due to chronic pancreatitis. *Endoscopy* 36:381–384

SNPs in the promoter region of the osteopontin gene as a marker predicting the efficacy of interferon-based therapies in patients with chronic hepatitis C

MASASHI NAITO¹, ATSUSHI MATSUI¹, MIE INAO¹, SUMIKO NAGOSHI¹, MAKOTO NAGANO², NOBUKO ITO², TOHRU EGASHIRA², MICHIE HASHIMOTO³, SHUNJI MISHIRO^{1,3}, SATOSHI MOCHIDA¹, and KENJI FUJIWARA¹

¹Division of Gastroenterology and Hepatology, Internal Medicine, Saitama Medical School, 38 Morohongo, Moroyama-cho, Iruma-gun, Saitama 350-0495, Japan

²Department of Gene Science, BML, Inc., Saitama, Japan

³Department of Medical Sciences, Toshiba General Hospital, Tokyo, Japan

Background. The T-helper (Th)1 immune reaction is essential for the eradication of hepatitis C virus (HCV) during interferon (IFN) therapy in patients with chronic hepatitis C. Osteopontin is a cytokine crucial for the initiation of the Th1 response. Recently, we identified four single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in the promoter region of the osteopontin gene (*OPN*), at nucleotide (nt) -155, -443, -616, and -1748, and suggested that the SNP at nt -443 was a marker reflecting hepatitis activity in patients with HCV. Therefore, we examined the possibility that SNPs in *OPN* were also markers predicting the therapeutic efficacy of IFN in patients with chronic hepatitis C. **Methods.** Blood was collected from 77 patients with chronic hepatitis C who had received either IFN monotherapy or IFN-ribavirin combination therapy (IFN-based therapies). SNPs in *OPN*, *MxA*, *MBL*, and *LMP7* were analyzed by Invader assay. **Results.** Promoter SNPs of *OPN* at nt -155, -616, and -1748 showed linkage disequilibrium at 100% to each other. Sustained virological response (SVR) was observed in 58% of all patients. The SVR rate was higher in patients with the G/G or G/A alleles in the *OPN* promoter SNP at nt -1748 than in those with A/A (85% vs 45%; $P < 0.05$). The SVR rate was also higher in patients with T/T at nt -443 than in those with C/C or C/T (86% vs 47%; $P < 0.05$). Such differences were particularly evident in patients with HCV genotype 1b who had a pretreatment viral load greater than 100 KIU/ml. All the patients who had G/G or G/A at nt -1748 and T/T at nt -443 obtained an SVR. On the other hand, there was no relationship between the efficacy of IFN-based therapies and SNPs in *MxA*, *MBL*, and *LMP7*, which had been shown to have association with the response to IFN monotherapies. **Conclusions.** SNPs

in the promoter region of *OPN* may be useful as a marker to predict the efficacy of IFN-based therapies in patients with chronic hepatitis C, and further investigation regarding their real significance is warranted in a large series of patients.

Key words: osteopontin, promoter SNPs, chronic hepatitis C, interferon

Introduction

Persistent infection with the hepatitis C virus (HCV) frequently provokes hepatocyte necrosis by cytotoxic T lymphocytes, due to the T-helper (Th)1 immune reaction,¹ and extracellular matrix deposition in the space of Disse,² leading to hepatic fibrosis by the conversion of the normal architecture into structurally abnormal nodules, and finally, to liver cirrhosis. The incidence of hepatocellular carcinoma increased with the degree of hepatic fibrosis in patients with chronic hepatitis C and the annual incidence was 7.9% in patients with liver cirrhosis.³ Therefore, antiviral therapies, with interferon (IFN) alone or in combination with ribavirin, are required to reduce the risk of carcinogenesis in patients with chronic hepatitis C.

It is well known that the efficacy of IFN monotherapy or IFN-ribavirin combination therapy (IFN-based therapies) depends on the HCV genotype and serum HCV-RNA level; genotype 1b, the predominant genotype of HCV in Japan,⁴ had poorer responsiveness to IFN-based therapies than genotypes 2a or 2b, and having a viral load of 100 KIU/ml or more, by Amplicor monitor assay (Roche Diagnostica, Tokyo, Japan) was also an indicator of poor responsiveness to IFN.⁵ On the other hand, serum HCV-RNA level was shown to decrease with a biphasic kinetic pattern within 2 weeks after the initiation of IFN-based therapies.^{6,7} Neumann