

Fig 5. mRNA expression levels of MDR1 and CYP3A4 and acute cellular rejection episodes in 121 recipients of living-donor liver transplantation. The mRNA expression levels of MDR1 (A) and CYP3A4 (B) in mucosa derived from living-donor liver transplant recipients were determined by a real-time polymerase chain reaction (PCR) analysis, as described in the Methods section. High and low indicate whether the expression level of MDR1 mRNA and CYP3A4 mRNA in individual mucosa was higher or lower than the median value for all intestinal samples, respectively. *P* values were determined with the log-rank test. C, The mRNA expression levels of MDR1 in mucosa were shown with (+) or without (-) acute cellular rejection during 10 days postoperatively. The *P* value was determined with the Mann-Whitney *U* test.

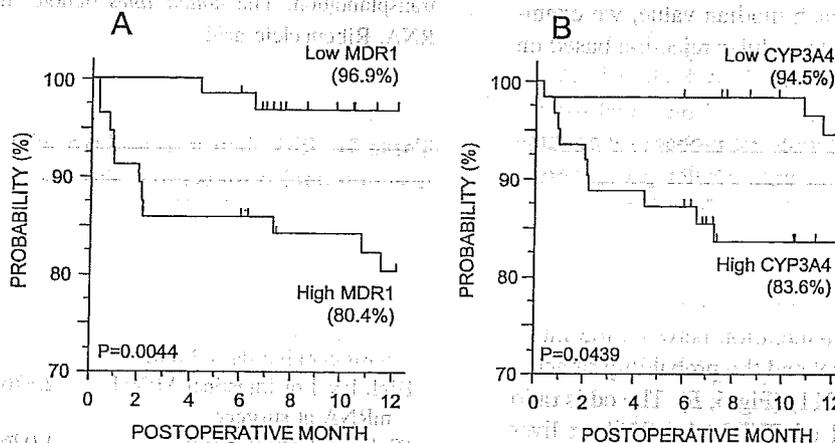


Fig 6. mRNA expression levels of MDR1 and CYP3A4 and cumulative survival rate in 121 recipients of living-donor liver transplantation. The mRNA expression levels of MDR1 (A) and CYP3A4 (B) in mucosa derived from living-donor liver transplant recipients were determined by a real-time PCR analysis, as described in the Methods section. High and low indicate whether the expression level of MDR1 mRNA and CYP3A4 mRNA in individual mucosa was higher or lower than the median value for all intestinal samples, respectively. *P* values were determined with the log-rank test. Tick marks indicate the length of follow-up of individual patients who survived.

of tacrolimus were significantly higher in patients categorized in the high-MDR1 group than those in the low-MDR1 group from postoperative day 3 (Fig 7, A). However, the daily trough levels of tacrolimus between

postoperative days 2 and 10 were comparable between the 2 groups (Fig 7, B). The odds ratio was 2.283 (95% CI, 1.058-4.926) for patients whose average trough concentration of tacrolimus between postoperative days

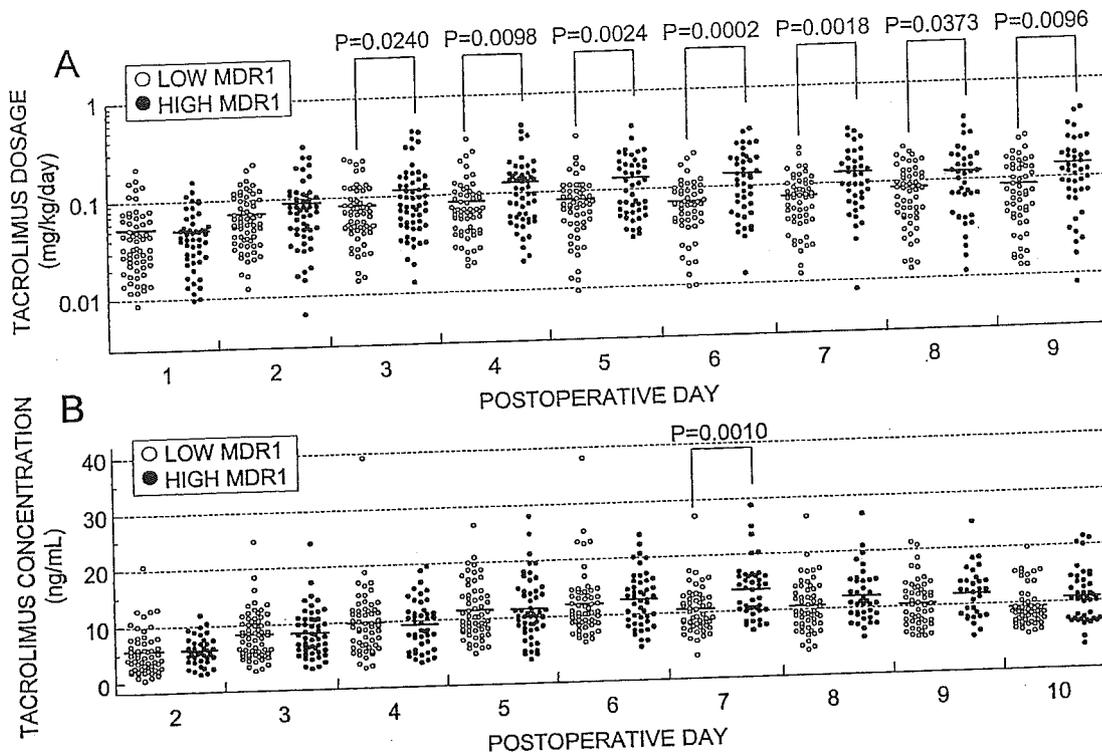


Fig 7. Postoperative oral dosage and trough concentration of tacrolimus in recipients after living-donor liver transplantation. Daily oral dosages (A) and trough concentrations (B) of tacrolimus for 121 patients receiving de novo living-donor liver transplants are illustrated. The patients are divided into 2 groups: low MDR1 (open circles) and high MDR1 (solid circles). Low MDR1 and high MDR1 indicate whether the expression level of MDR1 mRNA in individual mucosa was lower or higher than the median value for all intestinal samples. Statistical analysis was performed by use of the unpaired *t* test after Welch correction. *P* values of less than .05 were shown.

2 and 4 was under 7 ng/mL and 2.306 (95% CI, 1.058-5.028) for patients whose intestinal expression level of MDR1 at surgery was greater than 0.242 (Table II).

Correlation between mRNA level of MDR1 and tacrolimus C/D ratio. In this study the average trough concentration of tacrolimus immediately after living-donor liver transplantation and the intestinal expression level of MDR1 were identified as factors useful for predicting the risk of acute cellular rejection immediately after transplantation (Figs 3 and 5 and Table II). If the mRNA level of MDR1 at operation is a potential pharmacokinetic factor, control of the tacrolimus blood concentration will be easier, and the frequency of episodes of acute cellular rejection may be reduced. On the basis of this hypothesis, we performed a correlation analysis of the molecular data on intestinal absorptive barriers and tacrolimus pharmacokinetics to examine whether the MDR1

mRNA level at operation could be a pharmacokinetic factor for individualized initial dosage adjustment. As shown in Fig 8, the mRNA expression level of MDR1 ($r = -0.5672$, $P < .0001$), but not of CYP3A4 ($r = -0.0490$, $P = .5466$), was inversely correlated with the C/D ratio of tacrolimus between postoperative days 2 and 4. Although the mass of graft liver from the living donor was limited in the adult patients, the graft liver was relatively sufficient or large in the pediatric patients. Therefore it is also important to evaluate the engrafted liver mass as the graft-to-recipient weight ratio (Graft liver mass [in kilograms]/Recipient body weight [in kilograms] at surgery $\times 100$ [percent]).² Furthermore, when the patients were divided into 2 groups based on the graft-to-recipient weight ratio (1.5) (Fig 9, A), the coefficient of the correlation between the intestinal mRNA level of MDR1 and tacrolimus C/D ratio improved to -0.6798 ($P < .0001$) and -0.7180 (P

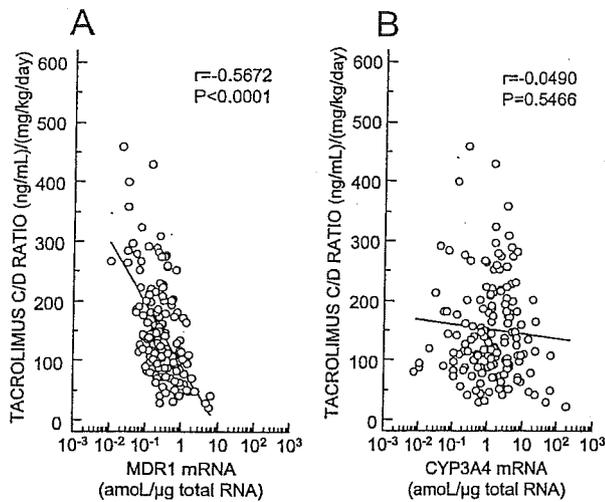


Fig 8. Concentration/dose (C/D) ratio as a function of mRNA expression levels of MDR1 and CYP3A4 in 164 recipients of living-donor liver transplantation. The average C/D ratio in the first 4 days after surgery is compared with the logarithmically transformed mRNA levels of MDR1 (A) and CYP3A4 (B).

< .0001) for the patients whose graft-to-recipient weight ratio was over 1.5 and those whose ratio was under 1.5, respectively (Fig 9, B and C). However, the coefficient of the correlation between the intestinal MDR1 mRNA level at surgery and the tacrolimus C/D ratio after postoperative day 5 gradually decreased (Table III).

DISCUSSION

Acute cellular rejection, an early complication of orthotopic liver transplantation, occurs in more than 50% of patients²⁷⁻²⁹ and can be diagnosed only by means of a liver biopsy.²⁵ Although it has minimal impact on either death or late graft function, acute cellular rejection should be avoided to reduce the adverse effects of antirejection treatment. The use of high-dose steroids is the first step in both the induction of immunosuppression and the treatment of acute cellular rejection despite side effects such as osteoporosis, recurrent viral hepatitis, and infections.³⁰⁻³² The direct association between acute cellular rejection and patient mortality rate is weak,⁷ but this episode would be a trigger for other severe complications such as infections, drug-induced renal injury and neurotoxicity, and recurrence of hepatitis with viral amplification in patients receiving the antirejection treatment. In our study, the patients categorized in the high-MDR1 group showed a higher frequency of acute cellular rejection

until postoperative day 10 and poor survival within 1 year after surgery (Figs 5 and 6). Therefore the individual patients' clinical history should be explored because "acute cellular rejection" might be hidden behind the diagnosis at death. The incidence of acute cellular rejection in our series was 25.6% (42/164 cases) until postoperative day 10 and 32.2% overall (39/121 cases, excluding 32 patients treated with high-dose steroids for other reasons and 11 cases of post-transplant graft liver failure) (Table I). Of 13 patients who died within 1 year after transplantation, 11 were categorized in the high-MDR1 group. The mortality rate of high-MDR1 patients who had acute cellular rejection early on was 25% (6/24 cases), whereas all 15 patients in the low-MDR1 group were alive despite an episode of acute cellular rejection. In addition, the mortality rate of event-free patients was 15% (5/33 cases) in the high-MDR1 group and 4% (2/49 cases) in the low-MDR1 group. Focusing on the patients with acute cellular rejection during the first 10 days after surgery, the high-level expression of intestinal MDR1 was suggested to be associated with poor survival by χ^2 statistics (6/24 cases in high-MDR1 group versus 0/15 cases in low-MDR1 group, $P = .0352$). Although our results were derived from a relatively small number of cases, the intestinal expression level of MDR1 at surgery could be a prognostic factor in patients with acute cellular rejection at an early phase. If the occurrence of acute cellular rejection can be avoided in the high-MDR1 patients, the mortality rate may be decreased to a level comparable to that in the low-MDR1 group. To reduce the frequency of acute cellular rejection early on, the average trough concentration of tacrolimus during the initial 4 days after surgery should be kept above 7 ng/mL, with an initial dosage adjustment that takes into consideration the intestinal expression level of MDR1 at surgery. In addition, extensive exposure to tacrolimus at an early phase may reduce the mortality rate of patients categorized in the high-MDR1 group.

The intestinal adenosine triphosphate-driven efflux pump MDR1 is considered to play an important role in drug pharmacokinetics.³³ This drug transporter prevents the luminal entry of orally administered drugs such as tacrolimus, cyclosporine (INN, ciclosporin), and sirolimus at apical membranes. Since the report by Hoffmeyer et al,³⁴ several single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in *MDR1* affecting expression or function (or both) have been reported. Notably, C3435T and G2677T/A are detected at a relatively high frequency and have been examined for influences on the drug pharmacokinetics and expression level of the gene product.^{34,35} We previously found that these SNPs did

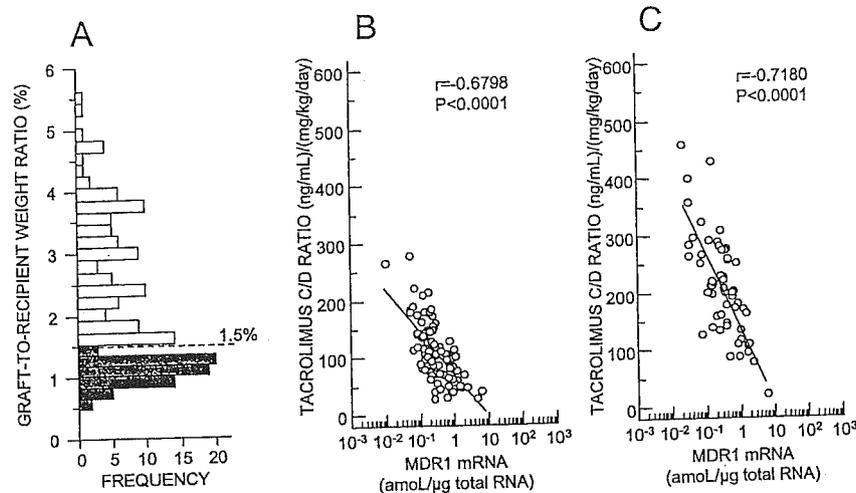


Fig 9. Histogram of graft-to-recipient weight ratio and C/D ratio as a function of mRNA expression levels of MDR1 in 164 recipients of living-donor liver transplantation. A histogram of graft-versus-recipient body weight ratio is shown (A). The dotted line denotes a graft-to-recipient weight ratio of 1.5. The average C/D ratio in the first 4 days after surgery is compared with the logarithmically transformed mRNA levels of MDR1 in the recipients of living-donor liver transplantation with a graft-to-recipient weight ratio above 1.5 (B) and below 1.5 (C).

Table III. Coefficient of correlation between intestinal mRNA expression level of MDR1 and tacrolimus concentration/dose ratio in living-donor liver transplantation patients

Postoperative days	Graft-to-recipient weight ratio >1.5		Graft-to-recipient weight ratio <1.5	
	r*	P value	r	P value
Between 2 and 4	-0.6798 and (n=99)	< .0001	-0.7180 and (n=55)	< .0001
Between 5 and 7	-0.3721 and (n=90)	.0003	-0.4188 and (n=51)	.0020
Between 8 and 14	-0.1598 and (n=98)	.1163	-0.0241 and (n=52)	.8660

*Data for patients treated with high-dose steroids including the days of administration and 3 days after withdrawal were excluded.

not affect the intestinal expression of MDR1 and the tacrolimus C/D ratio in living-donor liver transplant recipients.^{21,26} In recipients of renal transplantation, the trough concentrations of cyclosporine and tacrolimus were not influenced by the C3435T SNP.^{36,37} In addition, examinations in vitro with a vaccinia virus expression system and mammalian expression system using LLC-PK1 cells indicated that the SNPs in MDR1 do not affect the membrane expression of P-gp or transport activity of drugs such as digoxin and cyclosporine.^{38,39} However, there is little consensus concerning the effect on drug pharmacokinetics by SNPs in MDR1.⁴⁰ Recently, a meta-analysis by Chowbay et al⁴¹ revealed no significant effect of the MDR1 C3435T SNP on either the pharmacokinetics of digoxin or the intestinal expression level of P-glycoprotein. In our study preoperative complications such as cholangitis, hyperbiliru-

binemia, intestinal congestion, pulmonary hypertension, and renal dysfunction may have affected the expression levels of MDR1, and therefore the direct expression level rather than SNPs of the gene would provide more significant information on liver transplant recipients. On the other hand, CYP3A4 is also expressed in the upper intestinal epithelium and mediates the detoxification of these immunosuppressants at the intestinal wall. Therefore MDR1 and CYP3A4 are considered to provide an "absorptive barrier." We previously demonstrated that the intestinal expression level of MDR1, but not of CYP3A4, was inversely correlated with the tacrolimus C/D ratio in small bowel transplant recipients, as well as patients after living-donor liver transplantation.¹⁸⁻²¹ In addition, enhanced expression of MDR1 was associated with a reduction in the bioavailability of cyclosporine in an adult case of living-

donor liver transplantation.⁴² In our study we have refined the correlation between the intestinal expression level of MDR1 and tacrolimus C/D ratio during the first 4 days after surgery by taking into consideration the graft-to-recipient weight ratio (Figs 8 and 9). The trough concentration of tacrolimus at postoperative days 3 and 4 was significantly lower in the patients categorized in the acute cellular rejection group than in those in the event-free group (Fig 1). In addition, keeping the initial trough concentration of tacrolimus above 7 ng/mL was suggested to reduce the risk of acute cellular rejection (Fig 3). Therefore the initial adjustment of dosage based on the intestinal MDR1 mRNA level may provide sufficient immunosuppression mediated by tacrolimus with a rapid increase in the blood concentration to around the target range (>7 ng/mL) and help to reduce the frequency of acute cellular rejection.

Some risk factors for acute cellular rejection after liver transplantation such as primary disease, Child's classification, and polymorphisms of several cytokines have been postulated.^{43,44} These were considered to be congenital factors for patients receiving living-donor liver transplantation, and there is no individualized treatment to reduce the occurrence of acute cellular rejection in patients categorized in the high-risk group. In this study we have found that both the postoperative blood concentration of tacrolimus and the intestinal mRNA level of MDR1 at surgery are significant risk factors for acute cellular rejection early on (Figs 3 and 5 and Table II). However, these risk factors are relatively acquired issues and can be overcome by maintaining the trough concentration of tacrolimus above 7 ng/mL for at least the first 4 days after surgery. In addition, the intestinal expression level of MDR1 at surgery would be a simple pharmacokinetic marker with which to adjust the initial dosage of tacrolimus after living-donor liver transplantation. Therefore quantification of mucosal MDR1 expression may provide for individualization of the dosage regimen of tacrolimus, especially the initial dosage. In this study most of the tacrolimus concentrations were below 10 ng/mL, especially in the acute cellular rejection group (Figs 1 and 7, B). To avoid adverse reactions, doctors might be reluctant to raise the dose of tacrolimus in patients with acute cellular rejection. If we can obtain jejunal biopsy specimens for the quantification of mucosal MDR1, the postoperative immunosuppressant dosage regimen could be established before liver transplantation, enabling the tacrolimus trough level to be reached earlier in patients with or without a high level of intestinal MDR1. Therefore a pretherapeutic determination of the

intestinal MDR1 mRNA level was suggested to be useful to predict the initial dosage of tacrolimus required in individual patients and thus reduce the frequency of acute cellular rejection immediately after liver transplantation.

In this study we have confirmed that a high expression level of intestinal MDR1 is a prognostic factor for recipients of living-donor liver transplantation (Fig 6, A). Although that of CYP3A4 was also associated with poor survival, the odds ratio was not statistically significant. Therefore it was suggested that the intestinal expression level of CYP3A4 was a prognostic factor resulting from some secondary or unknown mechanism. The intestinal expression level of MDR1 was clearly related to the oral clearance of tacrolimus until postoperative day 4 and the occurrence of acute cellular rejection up to postoperative day 10 (Figs 5, A, 8, and 9 and Tables II and III). The significant association between the high level of intestinal MDR1 and the 1-year patient survival rate might be explained at least partly by the prognostic significance of early exposure to immunosuppressive therapy after liver transplantation. Therefore medication during ICU care may be critical to survival, as well as the occurrence of acute cellular rejection. The molecular and immunologic mechanism(s) behind these phenomena should be clarified.

The grafted liver mass gradually regenerated after surgery. Fukudo et al¹⁶ demonstrated kinetically that the clearance of orally administered tacrolimus improved or increased (or both) in the postoperative period. In our study the coefficient of the correlation between the intestinal MDR1 level and the C/D ratio of tacrolimus decreased from postoperative day 5 (Table III). This background and our results suggested that hepatic function and the interindividual variation in the rate of graft liver regeneration were associated at least in part with the reduced contribution of the intestinal MDR1 or large intraindividual variation in the pharmacokinetics of tacrolimus after surgery. Surrogate markers relating to the enzymatic activity associated with the interindividual and intraindividual variation in graft liver function after living-donor liver transplantation are needed.

In conclusion, we have advanced our previous finding that the enterocyte mRNA expression level of MDR1 was a simple and useful pharmacokinetic factor for tacrolimus, especially for adjusting the initial dosage in living-donor liver transplant patients. In addition, the average trough concentration of tacrolimus immediately after living-donor liver transplantation should be maintained above 7 ng/mL.

for at least 4 days after surgery to prevent acute cellular rejection. Therefore initial dosage adjustment with consideration of the expression level of MDR1 in the small intestine at living-donor liver transplantation may reduce the frequency of acute cellular rejection.

None of the authors has financial or personal relationships that could potentially be perceived as influencing the described research.

References

1. Trotter JF, Wachs M, Everson GT, Kam I. Adult-to-adult transplantation of the right hepatic lobe from a living donor. *N Engl J Med* 2002;346:1074-82.
2. Tanaka K, Kiuchi T, Kaihara S. Living related liver donor transplantation: techniques and caution. *Surg Clin North Am* 2004;84:481-93.
3. Renz JF, Yersiz H, Farmer DG, Hisatake GM, Ghobrial RM, Busuttill RW. Changing faces of liver transplantation: partial-liver grafts for adults. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2003;10:31-44.
4. Wiesner RH, Demetris AJ, Belle SH, Seaberg EC, Lake JR, Zetterman RK, et al. Acute hepatic allograft rejection: incidence, risk factors, and impact on outcome. *Hepatology* 1998;28:638-45.
5. Ziolkowski J, Pączek L, Niewczas M, Senatorski G, Oldakowska JU, Wyzgal J, et al. Acute liver transplant rejection: incidence and the role of high-doses steroids. *Transplant Proc* 2003;35:2289-91.
6. Tippner C, Nashan B, Hoshino K, Schmidt SE, Akimaru K, Boker KH, et al. Clinical and subclinical acute rejection early after liver transplantation: contributing factors and relevance for the long-term course. *Transplantation* 2001;72:1122-8.
7. Jain A, Reyes J, Kashyap R, Rohal S, Abu EK, Starzl T, et al. What have we learned about primary liver transplantation under tacrolimus immunosuppression? Long-term follow-up of the first 1000 patients. *Ann Surg* 1999; 230:441-8.
8. Joannidis M. Drug-induced renal failure in the ICU. *Int J Artif Organs* 2004;27:1034-42.
9. Lazerow SK, Abdi MS, Lewis JH. Drug-induced liver disease 2004. *Curr Opin Gastroenterol* 2005;21:283-92.
10. Gonzalez RA, de la Mata M, de la Torre J, Mino G, Pera C, Pena J, et al. Levels of HBV-DNA and HBsAg after acute liver allograft rejection treatment by corticoids and OKT3. *Clin Transplant* 2000;14:208-11.
11. Magy N, Cribier B, Schmitt C, Ellero B, Jaeck D, Boudjema K, et al. Effects of corticosteroids on HCV infection. *Int J Immunopharmacol* 1999;21:253-61.
12. Scott LJ, McKeage K, Keam SJ, Plosker GL. Tacrolimus: a further update of its use in the management of organ transplantation. *Drugs* 2003;63:1247-97.
13. Yasuhara M, Hashida T, Toraguchi M, Hashimoto Y, Kimura M, Inui K, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of FK 506 in pediatric patients receiving living-related donor liver transplantations. *Transplant Proc* 1995;27:1108-110.
14. Jusko WJ, Piekoszewski W, Klintmalm GB, Shaefer MS, Hebert MF, Piergies AA, et al. Pharmacokinetics of tacrolimus in liver transplant patients. *Clin Pharmacol Ther* 1995;57:281-90.
15. Venkataramanan R, Swaminathan A, Prasad T, Jain A, Zuckerman S, Warty V, et al. Clinical pharmacokinetics of tacrolimus. *Clin Pharmacokinet* 1995;29:404-30.
16. Fukudo M, Yano I, Fukatsu S, Saito H, Uemoto S, Kiuchi T, et al. Forecasting of blood tacrolimus concentrations based on the Bayesian method in adult patients receiving living-donor liver transplantation. *Clin Pharmacokinet* 2003;42:1161-78.
17. Hebert MF. Contributions of hepatic and intestinal metabolism and P-glycoprotein to cyclosporine and tacrolimus oral drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev* 1997;27: 201-14.
18. Masuda S, Uemoto S, Hashida T, Inomata Y, Tanaka K, Inui K. Effect of intestinal P-glycoprotein on daily tacrolimus trough level in a living-donor small bowel recipient. *Clin Pharmacol Ther* 2000;68:98-103.
19. Masuda S, Uemoto S, Goto M, Fujimoto Y, Tanaka K, Inui K. Tacrolimus therapy according to mucosal MDR1 levels in recipients of small bowel transplantation. *Clin Pharmacol Ther* 2004;75:352-61.
20. Hashida T, Masuda S, Uemoto S, Saito H, Tanaka K, Inui K. Pharmacokinetic and prognostic significance of intestinal MDR1 expression in recipients of living-donor liver transplantation. *Clin Pharmacol Ther* 2001;69:308-16.
21. Goto M, Masuda S, Saito H, Uemoto S, Kiuchi T, Tanaka K, Inui K. C3435T polymorphism in the MDR1 gene affects the enterocyte expression level of CYP3A4 rather than Pgp in recipients of living-donor liver transplantation. *Pharmacogenetics* 2002;12:451-7.
22. Tanaka K, Uemoto S, Tokunaga Y, Fujita S, Sano K, Nishizawa T, et al. Surgical techniques and innovations in living related liver transplantation. *Ann Surg* 1993; 217:82-91.
23. Inomata Y, Tanaka K, Egawa H, Uemoto S, Ozaki N, Okajima H, et al. The evolution of immunosuppression with FK506 in pediatric living related liver transplantation. *Transplantation* 1996;61:247-52.
24. Grenier FC, Luczkiw J, Bergmann M, Lunetta S, Morrison M, Blonski D, et al. A whole blood FK 506 assay for the IMx analyzer. *Transplant Proc* 1991;23:2748-9.
25. Banff schema for grading liver allograft rejection: an international consensus document. *Hepatology* 1997;25: 658-63.
26. Goto M, Masuda S, Kiuchi T, Ogura Y, Oike F, Okuda M, et al. CYP3A5*1-carrying graft liver reduces the concentration/oral dose ratio of tacrolimus in recipients of living-donor liver transplantation. *Pharmacogenetics* 2004;14:471-8.

27. Dousset B, Conti F, Cherruau B, Louvel A, Soubrane O, Houssin D, et al. Is acute rejection deleterious to long-term liver allograft function? *J Hepatol* 1998;29:660-8.
28. Garcia GM, Pera MC, Bernardos RA, Gomez GM, Herrero JI, Mir PJ, et al. An open, randomized, multicenter clinical trial of oral tacrolimus in liver allograft transplantation: a comparison of dual vs. triple drug therapy. *Liver Transpl* 2005;11:515-24.
29. Martin SR, Atkison P, Anand R, Lindblad AS. Studies of Pediatric Liver Transplantation 2002: patient and graft survival and rejection in pediatric recipients of a first liver transplant in the United States and Canada. *Pediatr Transplant* 2004;8:273-83.
30. Leidig BG, Hosch S, Dodidou P, Ritschel D, Conrad C, Klose C, et al. Frequency and predictors of osteoporotic fractures after cardiac or liver transplantation: a follow-up study. *Lancet* 2001;357:342-7.
31. Brown KA. Liver transplantation. *Curr Opin Gastroenterol* 2005;21:331-6.
32. Martin SR, Atkison P, Anand R, Lindblad AS. Studies of Pediatric Liver Transplantation 2002: patient and graft survival and rejection in pediatric recipients of a first liver transplant in the United States and Canada. *Pediatr Transplant* 2004;8:273-83.
33. Schinkel AH, Jonker JW. Mammalian drug efflux transporters of the ATP binding cassette (ABC) family: an overview. *Adv Drug Deliv Rev* 2003;55:3-29.
34. Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, Arnold HP, Brockmoller J, Johne A, et al. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97:3473-8.
35. Kim RB, Leake BF, Choo EF, Dresser GK, Kubba SV, Schwarz UI, et al. Identification of functionally variant MDR1 alleles among European Americans and African Americans. *Clin Pharmacol Ther* 2001;70:189-99.
36. Hesselink DA, van Schaik RH, van der Heiden IP, van der Werf M, Gregoor PJ, Lindemans J, et al. Genetic polymorphisms of the CYP3A4, CYP3A5, and MDR-1 genes and pharmacokinetics of the calcineurin inhibitors cyclosporine and tacrolimus. *Clin Pharmacol Ther* 2003;74:245-54.
37. von Ahlsen N, Richter M, Grupp C, Ringe B, Oellerich M, Armstrong VW. No influence of the MDR-1 C3435T polymorphism or a CYP3A4 promoter polymorphism (CYP3A4-V allele) on dose-adjusted cyclosporin A trough concentrations or rejection incidence in stable renal transplant recipients. *Clin Chem* 2001;47:1048-52.
38. Kimchi SC, Gripar JJ, Gottesman MM. Functional characterization of coding polymorphisms in the human MDR1 gene using a vaccinia virus expression system. *Mol Pharmacol* 2002;62:1-6.
39. Morita N, Yasumori T, Nakayama K. Human MDR1 polymorphism: G2677T/A and C3435T have no effect on MDR1 transport activities. *Biochem Pharmacol* 2003;65:1843-52.
40. Ishikawa T, Tsuji A, Inui K, Sai Y, Anzai N, Wada M, et al. The genetic polymorphism of drug transporters: functional analysis approaches. *Pharmacogenomics* 2004;5:67-99.
41. Chowbay B, Li H, David M, Bun CY, Lee EJ. Meta-analysis of the influence of MDR1 C3435T polymorphism on digoxin pharmacokinetics and MDR1 gene expression. *Br J Clin Pharmacol* 2005;60:159-71.
42. Masuda S, Goto M, Kiuchi T, Uemoto S, Kodawara T, Saito H, et al. Enhanced expression of enterocyte P-glycoprotein depresses cyclosporine bioavailability in a recipient of living donor liver transplantation. *Liver Transpl* 2003;9:1108-13.
43. McTaggart RA, Terrault NA, Vardanian AJ, Bostrom A, Feng S. Hepatitis C etiology of liver disease is strongly associated with early acute rejection following liver transplantation. *Liver Transpl* 2004;10:975-85.
44. Warle MC, Metselaar HJ, Hop WC, Tilanus HW. Cytokine gene polymorphisms and acute liver graft rejection: a meta-analysis. *Liver Transpl* 2005;11:19-26.

ミコフェノール酸モフェチルによって 著効した胆管消失症候群の1例

山本栄和, 亀井秀弥, 藤本康弘, 木内哲也

名古屋大学医学部附属病院移植外科

はじめに

胆管消失症候群 (vanishing bile duct syndrome; VBDS)¹⁾とは、先天的あるいは後天的に種々の原因によって生じる細胆管の減少・消失を伴う病態のことである。その病因として、免疫学的要因、遺伝的要因、血管性要因、感染性要因、薬物性要因および中毒性要因などがあげられる²⁾。免疫系を介するものとしては原発性胆汁性肝硬変 (PBC) や原発性硬化性胆管炎 (PSC) など、循環障害で起こるものとしては経肝動脈塞栓術後などがある。また、VBDSの起因薬剤としては、サルファ剤、抗生物質、メチルドパなどが報告されている。一方、肝移植術後のVBDSやductopeniaなどと呼ばれるbile duct loss (胆管消失)は、慢性拒絶の特徴とされる場合が多い。このような病態は進行性の胆管障害あるいは胆管消失の結果、臨床的には進行性の胆汁うっ滞をきたすものであり、同時に動脈系において閉塞性血管病変を伴うことが多い。このような確定診断に至ったときには、非可逆的障害で移植肝不全をもたらす、治療法として打つ手がなく再移植しか残されていないことが多い。今回、われわれは診断・治療方針の決定に難渋したが、ミコフェノール酸モフェチル (MMF) 開始後から肝機能が改善した症例を経験したので報告する。

症例

前医における経過：27歳女性。平成13年8月20日頃から食欲不振、褐色尿が出現し、眼球結膜の黄染を自覚したため、近医を受診し入院となった。その後9月2日には脳症が出現し、原因不明の劇症肝炎亜急性型と診断され、生体肝移植施行となった。

手術

9月7日に父をドナーとし、左葉グラフト (345 g, 体重比 0.72%) を用いて生体肝移植が行われた。胆管について

は胆管胆管吻合が施行された。

術後経過

術直後サイトメガロウイルス (CMV) 感染を3回経験し、また2回の急性拒絶反応を認めたが、ステロイドパルス療法にて軽快し12月に退院となった。

平成14年2月に肝静脈のoutflow blockを認め、経皮的に肝静脈のバルーン拡張術が行われた。また、平成15年4月には胆管胆管吻合部に狭窄を認めたため、内視鏡的に狭窄部のバルーン拡張術を行い一時は改善したが、8月に胆管吻合部の再狭窄を認め再度同処置が行われた。しかし改善はみられず、PTCDチューブ留置となり経過観察されていた。しばらくして胆管吻合部の狭窄は改善したものの、依然T-Bil 18 mg/dLと減黄不良であったため肝生検が行われた。肝生検にて自己免疫性肝炎様であるという所見を得るが確定診断には至らなかった。ステロイド (プレドニゾロン 0.5 mg/kg/日) の投与を開始して経過観察のうえ、平成16年2月外来通院に切り替えられたが、再移植の適応を求めて当院紹介受診となった。

当院来院後 (図1)：平成16年3月11日に当院を受診し、エコー上肝血流に異常はなく、胆管拡張もなかったが、血液データ上はAST 89 IU/L, ALT 120 IU/L, T-Bil 15.1 mg/dL, γ -GTP 1,728 IU/Lと依然高値であり、前医の12月の肝生検所見で小葉内胆管の消失、細胆管の減少が認められたため慢性胆管炎や慢性拒絶を考慮し、またこれ以上病状の進行があった場合の再移植の必要性も考え、MMF 1,000 mg/日を追加投与したうえでプレドニゾロンを0.3 mg/kg/日に減量した。MMFによる副作用がないことを確認し、3月18日からはMMF 1,500 mg/日に増量し、プレドニゾロンを0.25 mg/kg/日まで減量した。3月23日に肝生検を施行し、生検所見では肝小葉に散在性に壊死炎症反応がみられ、中心静脈域に線維増生が目立ち、グリソン鞘を中心に胆汁うっ滞を認めた。グリソン鞘は胆

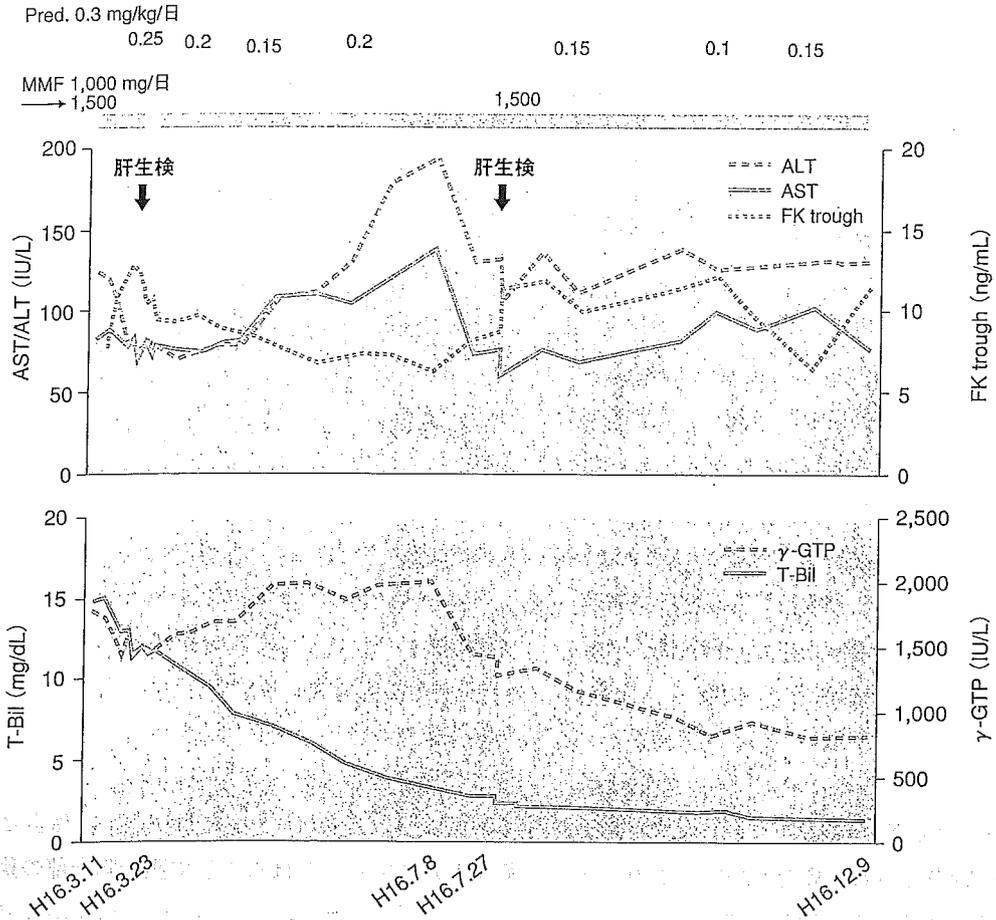


図1 術後経過(当院来院後)

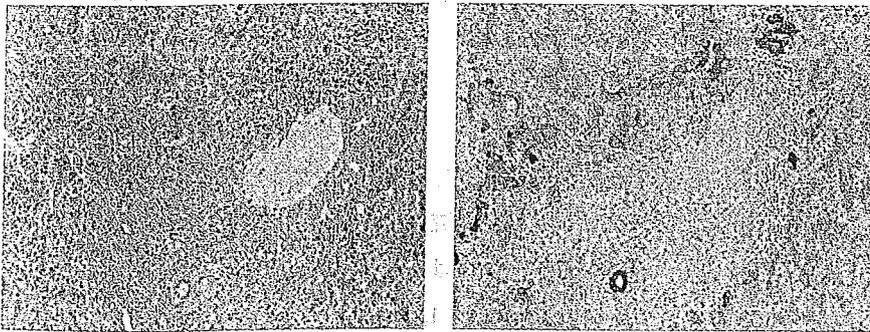


図2 平成16年3月23日の肝生検組織像
HE染色(左),サイトケラチン染色(右)とも小葉間胆管レベルでの胆管の変性と減少が目立つ。

管の減少を認め、サイトケラチン陽性となる胆管は減少も否定できず、MMF 1,500 mg/日を再投与することにし、とくに小葉間胆管レベルでの減少が強かった(図2)であった。MMF再投与後からプレドニゾロンを0.2 mg/kg/日ま一部に慢性胆管炎を疑う所見も認めため診断には苦慮したが、この時点では持続的な胆管炎により起こった胆管炎を目標として管理した。1ヵ月後にはT-Bil 7.9 mg/dLまで低下したので、プレドニゾロンは0.15 mg/kg/日まで減量を試みた。5月13日にT-Bil 7.2 mg/dLとさらに改善を認めたものの、AST 109 IU/L, ALT 107 IU/L, γ-GTP 1,980 IU/Lと胆道系酵素が再上昇したためMMF 1,500 mg/日で続行し、プレドニゾロンを再度0.2 mg/kg/日まで増量し経

特集

肝細胞癌—今日の治療戦略—

肝癌の治療戦略

肝癌に対する肝移植

Liver transplantation for hepatocellular carcinoma

藤本 康弘
FUJIMOTO Yasuhiro

須田 竜一郎
SUDA Ryuichiro

亀井 秀弥
KAMEI Hideya

山本 栄和
YAMAMOTO Hidekazu

木内 哲也*
KIUCHI Tetsuya

肝癌に対する治療手段の一つとしての肝移植は、移植の検討を始める時期、進行肝癌に対する移植適応、移植前治療、医療費負担などさまざまな問題点を抱えている。日本では生体ドナーによる肝移植が主であるため、ドナーの安全性の観点からもその適応決定には慎重にならざるを得ない。担癌レシピエントが至適時期に移植が受けられるようにするため、移植に携わる医師は肝移植のさらなる成績向上に努め、肝癌の治療に第一線で携わる医師に治療オプションの一つとして早い段階から思い浮かべていただけるようにしたい。

はじめに

肝癌に対しては、別項で詳述されているように経皮的治療、動注化学療法、動脈塞栓術、肝切除術などさまざまな治療法が単独ないしは組み合わせて行われており、一定の効果をあげてきている¹⁾。しかしながら進行癌、ないしは進行癌でなくとも肝予備能が低下した肝不全症例においてはそれらの治療法では限界があり、肝移植が治療法のオプションにあがる。肝移植は癌病変の除去と同時にその背景にある慢性肝疾患を根本的に治療できるという利点があるといえる。肝移植の適応としての肝癌は大きな位置を占めており、名古屋大学附属病院移植外科においても2003年1月から本年5月末までの成人に対する肝移植症例29例(全移植症例数43例)中、肝癌に対する移植は13例

と成人症例の45%にのぼっている。

本稿では、まず肝癌に対する肝移植にまつわる問題点に触れ、ついで、単一施設での肝癌に対する肝移植成績を示す(京都大学移植外科：高田泰次先生のご好意による)。最後に、肝癌に対する肝移植の問題点への対応案を提示することとする。

I. 肝癌に対する肝移植の問題点

1. 肝移植の検討を始める時期

周術期管理や手術関連死亡をさけるという観点からは、全身状態に余力のあるうち、つまり可及的の早期の移植が望ましい。しかしながら、移植以外の治療法の進歩がみられること、感染症、腎

名古屋大学医学部附属病院移植外科 *教授

Key words : 肝移植/肝癌/移植適応/ミラノ基準/JIS score

機能障害、癌再発の惹起²⁾といった免疫抑制剤の副作用、生体移植であればドナーにかかる負担などから、やみくもに肝移植につきすすむことは得策ではない。また個々の移植の適応を検討するにあたっては、肝臓癌の進行度のみならず肝障害の進行度を含めて検討する必要がある。

脳死移植での公平な臓器分配を目指して米国で2002年まで用いられていた Child-Pugh システムをベースとした UNOS 基準では、待機期間中に癌が進行し移植が受けられない担癌待機症例が多数生じたため、その後の MELD score (重症度に応じて6点から40点まで分布)では米国 TNM 分類で T1 症例(腫瘍は1個で径が1.9 cm まで)に20点の加点, 米国 TNM 分類で T2 症例(ミラノ基準内: 遠隔転移がないこと, 脈管浸潤が明らかでないこと, 腫瘍径, 個数が5 cm × 1 ないしは3 cm × 3 を超えないこと³⁾)の症例には24点の加点を行うこととしたが, 今度は逆に非癌肝不全症例が移植を受けずに亡くなる例が目立つようになるなど「さじ加減」がむずかしい(その後 T1 への加点は廃止され T2 への加点は22点となった⁴⁾). また, 日本では生体移植を主体に考えざるを得ないため, 医学的, 精神的, 社会的準備期間がとれるのが望ましい。

2. 進行肝臓癌に対する移植適応

「どの程度の進行度までなら肝移植が有効な手だてとなりうるか」という問題に対しては「ミラノ基準」が一つの目安となっている。つまり, ミラノ基準内であれば移植適応とし, そうでなければ適応外とするというものである。しかし, 血縁ないしは夫婦といった家族関係を背景とした生体移植においては, 「健康なドナーにメスをいれて得られたグラフト使用が正当化できるか」という点を十分検討する必要があるものの, ミラノ基準逸脱症例を必ずしも適応外とせずケースバイケースで対応していることが, 国の内外を問わず, 少なからずある^{5,6)}。当院でも13例(うち9例生存)の肝臓癌に対する移植のうち3例がいわゆる「ミラノ基準」外に施行されている。

3. 移植前治療

治療手段にもよるが, 移植前治療を重ねると一般的には移植手術自体にはマイナスに働くことがある。われわれも, 進行癌のため数施設で打つ手がなないといわれ, 最終的に名大を受診した症例を経験している。当該患者は軽快退院できたものの移植手術自体は, 複数回の肝切除により癒着剝離に時間を要し, 頻回の動脈塞栓術により肝動脈閉塞をきたしていたため, 血管グラフト間置を余儀なくされた。ただし, 脳死移植待機中は経皮的治療が移植への 'bridge' として有用との報告がある。

4. 医療費負担

日本における肝臓癌への肝移植の大きな問題は, 術前検査で「ミラノ基準」を超えていると診断がつくと, 保険適用外となってしまうことである。肝移植の保険適用拡大が行われたため, 「ミラノ基準」外の肝臓癌のみが現行の保険制度でまかなわれていない。一つのカテゴリーの疾患がその進行度により, 保険適用内外に振り分けられるというのは他の疾患ではみられず, 患者側にも医療者側にも混乱を引き起こすもととなっている。

II. 肝臓癌に対する肝移植成績

京都大学移植外科にて1999年2月以降施行された103例の患者背景について表1にまとめた。

表1 症例プロフィール

男女比	男71:女32
年齢	22~69歳(中央値54歳)
背景肝疾患	C型肝硬変(61), B型肝硬変(33), アルコール性肝硬変(3), 原発性胆汁性肝硬変(2), その他(4)
Child-Pugh 分類	A(16), B(38), C(49)
MELD score	~10(21), 11~21(53), 21~30(24), 31~(5)
癌進行度 (原発性肝臓癌取扱い規約)	I(14), II(35), III(42), IV-A(2), incidental(10)
ミラノ基準	内(50), 外(43)(incidental 10例除く)
初発:再発	初発症例(24), 再発症例(79)
前治療	TAE(65), PEIT, RFA(49), 肝切除(13)
移植後観察期間	1~68ヵ月(中央値32ヵ月)

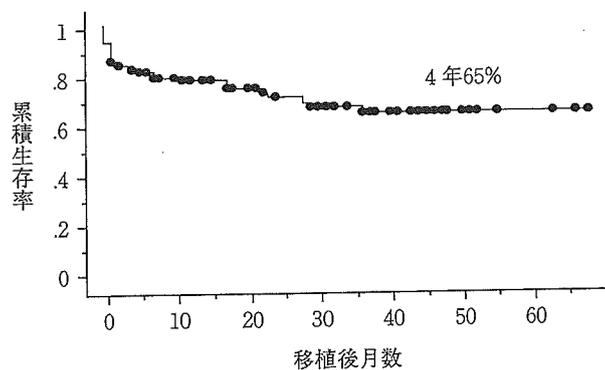


図1 移植後累積生存率

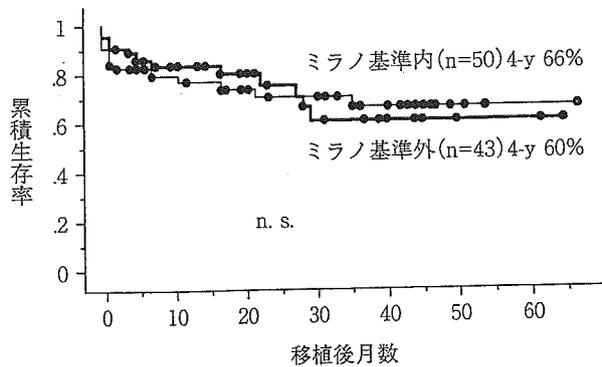


図2 術前ミラノ基準と累積生存率
(incidental tumor 除く93例)

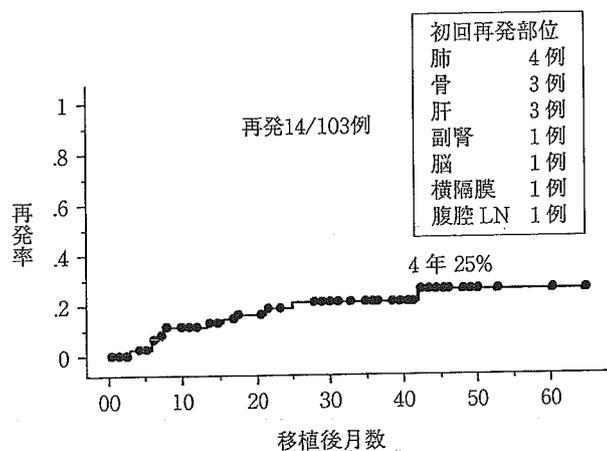


図3 移植後累積再発率

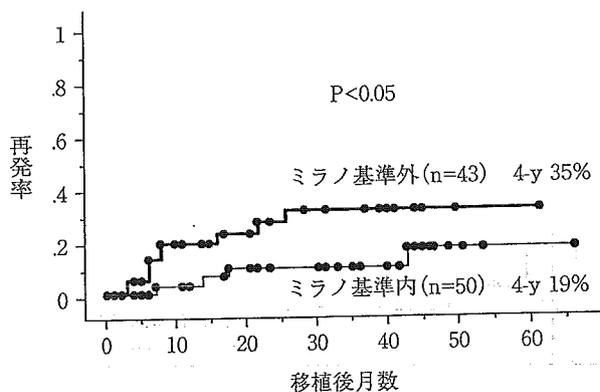


図4 術前ミラノ基準と累積再発率
(incidental tumor 除く93例)

脈管浸潤症例を除外しているため Stage IV-A (原発性肝癌取扱い規約) は適応外だが、若年患者のため例外的に移植を受けている。

全103例の4年累積生存率は65%であった(図1)。Incidental tumor を除く93例で、術前診断にてミラノ基準内の症例とミラノ基準外の症例を比較すると4年累積生存率はおのおの66%、60%となり有意差を認めなかった(図2)。

移植後の再発は14例にみられ、非癌死を打ち切りとした場合の全体の累積再発率は4年で25%であった(図3)。初回再発部位は肺が最も多く4例にみられ、骨、移植肝と続く。再発後の長期生存例はほとんどない。

累積再発率をミラノ基準内の症例とミラノ基準外の症例にわけて比較すると4年再発率はおのお

の19%、35%となり、累積生存率と異なり有意差を認めた(図4)。これは、手術関連の合併症による移植術後早期死亡が少なくないことも関連しているが、今後観察期間の延長と症例数の増加に伴い生存率にも有意差がみられるようになると予想される。しかしながら、ミラノ基準外症例43例のうち9名が3年以上無再発で生存している(無再発生存率56%)。

Incidental tumor を除く93例について移植後累積生存率を移植紹介時の JIS score 別に検討してみたところ、各群間に有意差を認めなかった(図5)。対照として、移植以外の治療を受けた症例(JIS score は肝癌の診断がいついた時点でのもの)の累積生存率と比較してみたところ、JIS score 2 の群にて肝移植をうけた患者の生存率が

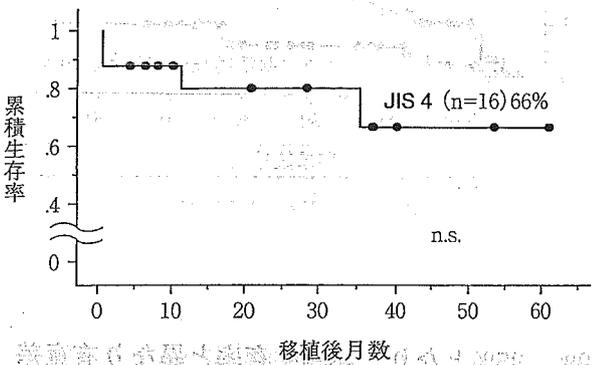
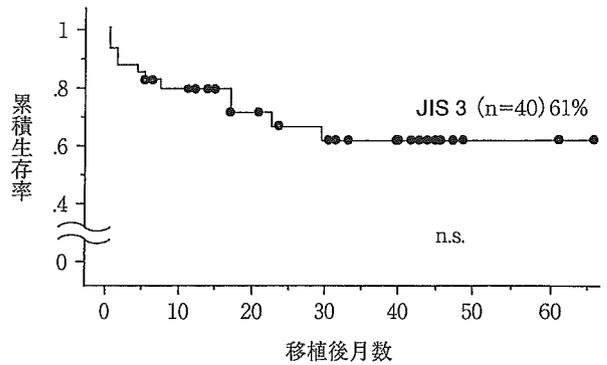
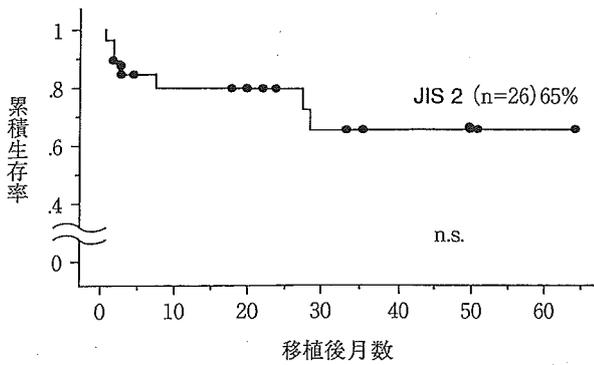
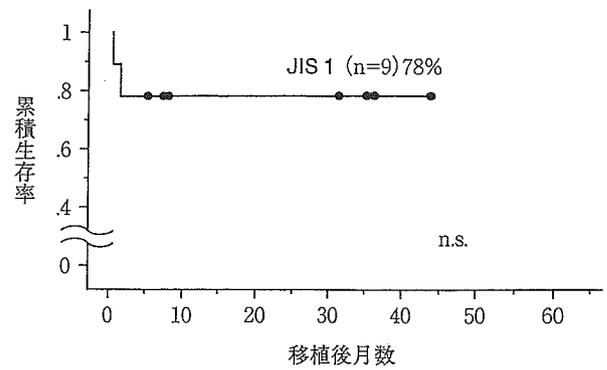
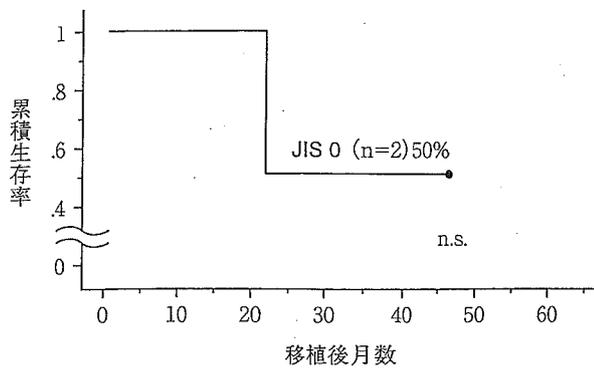


図5 JIS Score と移植後累積生存率 (incidental tumor 除く93例)

肝移植以外の治療を受けた患者の生存率を上回った(図6)。

最後に、移植後無再発生存率を肝移植をうけるまでの治療回数別に比較したところ、治療なしの群と治療を3回以上受けている群で有意に生存率が低下していた。治療なしの群は、肝癌というよりは肝不全に対して移植をうけており、術前状態がわるいことの反映と考えられた(図7)。また、治療を3回以上受けている群は、他の群にくらべてミラノ基準外の症例の割合が高い(データ表示なし)。移植以外の治療を繰り返しているうちに癌が進行し、最終手段として移植をうけたものの、再発の割合が高いものと考えられる。

III. 問題点の対応案

1. 肝移植の検討を始める時期

肝不全徴候が前面に出る症例では、Child Bでいわゆる life threatening complications (肝性脳症、食道静脈瘤破裂、特発性腹膜炎のいずれか)をきたした症例、ないしはChild Cであれば、癌の有無にかかわらず、移植施設へ紹介いただき共同診療を開始させていただけるとよいと考える。また担癌症例については、初回治療後、再発した時点で共同診療を開始させていただければ理想的である。この段階で移植施設へご連絡いただくと、

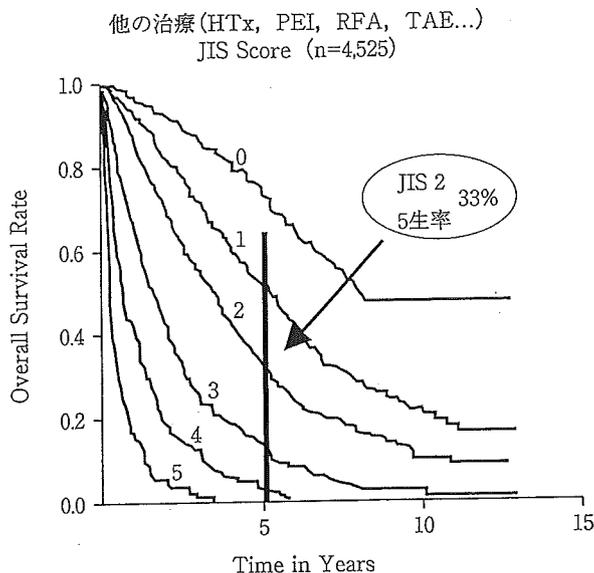


図6 JIS Score からみた肝細胞癌予後の比較

余裕を持って肝移植を最終手段ではなくオプションとして、医療側も患者側も検討できると考える。生体ドナー検討にも余裕ができ、無用なプレッシャーやなし崩しのドナー選択が避けられるであろう。腫瘍の急激な増悪を未然に察知するため、AFP 陽性症例では6ヵ月毎のCT、AFP 陰性症例では3ヵ月毎のCTにて移植待機中の経過観察を行うのがよいと考える。

2. 進行肝臓に対する移植適応

ミラノ基準内で移植すれば、術後再発の危険性が低いのは共通の認識である。ただし、ミラノ基準外でも無再発生存率が56%とゼロではないことを考えると、進行肝臓に対する移植は施設毎の方針、および当該ドナー、レシピエントの意向にて個々に決定してもよいと考える。ただし、生体ドナーのリスク、負担につき仔細に検討のうえ、十分なインフォームド・コンセントも含め、医学的、倫理的に慎重に対応する必要がある。肝外転移がないこと、画像診断上血管浸潤を認めないこと、が必須条件なのはいうまでもない。

3. 移植前治療

移植を視野に入れた場合、3回以上の移植前治療は避けた方が望ましい。また、とくに開腹術の

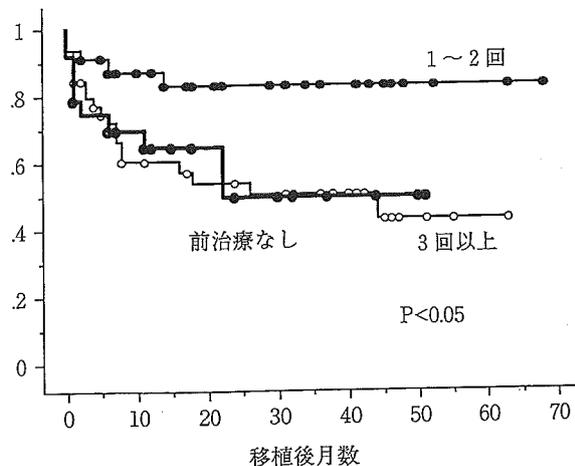


図7 過去治療回数と移植後無再発生存率

既往は移植の際にはリスクファクターとなる。具体的には、開腹アプローチで移植に望む場合S7、8領域の切除術後の横隔膜との癒着は剥離が困難となることも多い。また外側区域と胃小弯側の癒着も剥離に難渋することがある。よって食道静脈瘤に対する血行郭清術も、移植を考えた場合は極力避けたい。

4. 医療費負担

中長期的には、ミラノ基準外症例も含めて保険適用となるよう働きかけていくのがリーズナブルと考える。そのためにはミラノ基準外症例の階層化を行い、もし成績がミラノ基準内に比べて遜色ない群が同定できればそこから保険適用を広げていくことになると考える。それまでは可能な症例から、欧米の脳死肝移植でなされているがごとく経皮的治療、動注化学療法、動脈塞栓術などでdown stagingし、ミラノ基準外から内に遷移させ移植に望むのも一方であろう¹⁾。

さいごに

肝移植全体の成績は5年生存率で70~80%というレベルに達しており、待機症例でかつ術後の癒着など手術手技的に難度を上げる要因がなければ80~90%に達するまでに成熟してきている。少ないながらも起こりうる難治性拒絶反応や、C型肝炎硬変に対する移植後必発であるC型肝炎再発へ

の対策を移植に携わる者が提示することによって肝移植の成績はさらに向上するであろう。また、脳死移植を推進することで、生体ドナーにまつわるリスク、負担を回避でき、より多くの方に移植が受け入れていただけるようになるであろう。第

一線で肝癌と戦っておられる先生方には、現在よりほんの少しだけ早めに、肝癌治療のオプションとして肝移植を思い浮かべていただけることで、進行肝癌の治療に肝移植が貢献できると考える。

文 献

- 1) AS Befeler, PH Hayashi, et al: Liver Transplantation for Hepatocellular Carcinoma. Gastroenterology 128: 1752-1764, 2005.
- 2) M Vivarelli, A Cucchetti, et al: Analysis of Risk Factors for Tumor Recurrence After Liver Transplantation for Hepatocellular Carcinoma: Key Role of Immunosuppression. Liver Transplantation 11: 497-503, 2005.
- 3) V Mazzaferro, E Regalia, et al: Liver Transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. N Engl J Med 334: 693-699, 1996.
- 4) RH Wiesner, RB Freeman, et al: Liver Transplantation for Hepatocellular Cancer: The Impact of the MELD Allocation Policy. Gastroenterology 127: S261-267, 2004.
- 5) S Todo, H Furukawa: Living Donor Liver Transplantation for Adult Patients With Hepatocellular Carcinoma, Experience in Japan. Annals of Surgery 240: 451-461, 2004.
- 6) J Goodman, SC Glasgow, et al: Liver Transplantation for Hepatocellular Carcinoma, Expanding Special Priority to Include Stage III Disease. Arch Surg 140: 459-464, 2005.
- 7) M Kudo, H Chung, et al: Validation of a New Prognostic Staging System for Hepatocellular Carcinoma: the JIS Score Compared With the CLIP Score. Hepatology 40: 1396-1405, 2004.

（以下は非常に薄い文字で印刷された文章の断片）

（以下は非常に薄い文字で印刷された文章の断片）

（以下は非常に薄い文字で印刷された文章の断片）

（以下は非常に薄い文字で印刷された文章の断片）

（以下は非常に薄い文字で印刷された文章の断片）

（以下は非常に薄い文字で印刷された文章の断片）

総説

肝移植と深在性真菌症

名古屋大学医学部付属病院移植外科

亀井秀弥, 木内哲也

要旨：実質臓器移植後の重症感染症のなかで、深在性真菌症によるものは、細菌感染症やウイルス感染症によるものと比べ頻度こそ低いものの、依然として致死率が高い。なかでも肝移植は、肺移植と並んで深在性真菌症の頻度が最も高い領域のひとつである。肝移植患者では、移植前からの潜在感染あるいは内因性感染が多いことが特徴である。移植前後の監視培養陽性は必ずしも深在性真菌症の存在を意味するものではないが、移植後の経過や予後、あるいは抗真菌薬予防投与あるいは先制攻撃的治療開始の指標として重要と考えている。また、同様の血中 β -D glucanについても、臨床診断が確定する前の先取りの治療開始の指標として大変有用である。治療に関しては、抗真菌薬投与の前に、抗生剤の適正使用やカテーテルなどの抜去、さらに移植肝機能の安定化、免疫抑制剤の適正化などが重要である。

【索引用語】 肝移植, 深在性真菌症, β -D グルカン, 抗真菌薬

はじめに

実質臓器移植後の重症感染症のなかで、深在性真菌症によるものは、細菌感染症やウイルス感染症によるものと比べ、頻度こそ低いものの依然として致死率が高い。なかでも肝移植は、肺移植と並んで深在性真菌症の頻度が最も高い領域のひとつである¹⁾(表1)。臓器移植後の深在性真菌症の臨床経験は、本邦においてはいまだ欧米よりはるかに浅いが、一方では、症例の蓄積をもつ欧米においてさえ、移植後真菌症の予防と治療に関する知見はいまだ十分に体系化されていない。本邦においても、手術手技の安定、免疫抑制剤の発達などに伴い、肝移植症例は増加しつつあり、その成績も向上しているが、さらなる向上のためには、深在性真菌症の危険性と予防、

治療法についての認識を深めることが重要である。本稿では、肝移植患者における深在性真菌症の現状とその対策を概説した。

臓器移植患者における真菌症

臓器移植は、疾患末期の臓器不全状態または臓器不全に移行すると考えられる患者に対して行われる治療である。よって、全身状態が極めて悪く、易感染性の患者を対象とすることから、真菌感染症のみならず、あらゆる感染症に対策を講じなければならない。また、移植前に細菌・真菌感染の治療歴があり、これによる菌交代を起こしていることも少なくない。加えて、術後においても免疫抑制剤を投与することから易感染状態は続くので、長期にわたって真菌症への注意が必要である。感染症のリスクを考える場合、患者の“総合的免疫低下状態 (net state of immune suppression)”と治療的侵襲の大きさだけでなく、体外・体内の環境因子までも考慮しなければならない²⁾(表2)。臓器移植患者における真菌感染の多くは *Candida* と *Aspergillus* によって引き起こされ、手術における技術的な進歩と危険因子の認識に基づく予防的あるいは先制攻撃的抗真菌薬投与によってその頻度は1980～1990年代にかけて減少したものの、一度発症した場合の死亡率は依然高い³⁾。肝移植領域では、術後早期の侵襲性カンジダ症の頻度は劇的に減少したものの、侵襲性ア

表1 臓器移植患者における深在性真菌感染症の頻度

移植臓器	深在性真菌症の発症頻度 (%)	起因菌の頻度 (%)	
		<i>Aspergillus</i>	<i>Candida</i>
腎臓	14～14	0～10	90～95
心臓	5～21	77～91	8～23
肝臓	7～42	9～34	35～91
肺/心臓	15～35	25～50	43～72
小腸	40～59	0～3.6	80～100
脾臓	18～38	0～3	97～100

表2 臓器移植患者における総合的免疫能低下の因子
'Net State' of Immunosuppressi

・免疫抑制剤の種類, 量, 期間, 投与間隔
・原疾患, 合併疾患, 年齢
・皮膚・粘膜・中膜バリアにおける異物, 損傷 Ex. カテーテル, 組織壊死, 血腫・液体貯留・癒着
・白血球, リンパ球減少
・グロブリン, 補体, オプソニン減少 Ex. 大量腹水・胸水喪失
・代謝病態 Ex. 低栄養, 異化亢進, 尿毒症, 高血糖
・ウイルスによる免疫修飾の可能性 Ex. CMV, EBV, HBV, HCV, HIV

スペルギルス症の頻度は増加し始めており⁴⁾, また臓器移植全体で, 少数ながら *Aspergillus* 以外のマイセリア真菌の増加も報告されている⁵⁾。

I. 肝移植後深在性真菌症の特徴

深在性真菌症の名称は, 皮膚・粘膜などにみられる表在性真菌症との対比で用いられる。深在性真菌症は好中球減少を伴う血液疾患や臓器移植患者などに合併することが多い予後不良な病態であるが, 近年は外科領域や救急領域などでも増加傾向が示されている。

1980年代の米国の報告によれば, 肝移植後40%の症例に真菌感染が発生し, その70%が *Candida*, 20%が *Aspergillus* によるものであったとされている⁶⁾。真菌感染の多くは移植後1ヵ月以内に集中し, 真菌感染を合併した症例の死亡率は70%に及ぶ。とくに *Candida* 感染はその40%が軽快するのに対して, *Aspergillus* によるものは結果的に全例が死亡している。肝移植後真菌感染の背景としては, 術前からのステロイドや抗菌薬の使用, 長時間の移植手術, 術後抗菌薬の長期使用, ステロイドによる拒絶治療があげられる⁹⁾。危険因子として, 手術時間, 再移植, 移植時の輸血量, 胸部または腹部の再手術, サイトメガロ・ウイルス感染の先行⁷⁾, 術後の細菌感染症, 胆管空腸吻合⁸⁾などがあげられる。起因菌それぞれの危険因子としては, *Candida* は腹腔内出血, *Aspergillus* は劇症肝炎, *Cryptococcus* はサイトメガロ・ウイルス感染などがあげられている⁹⁾ (表3)。部位としては, 腹腔内感染や気道感染に始まって播種性となる場合が多く, 一臓器に限局するものは比較的少ない。肝移植後早期の深在性真菌感染症の多くが, 移植前に潜在していた感染あるいは感染源の遷延・増悪や顕在化によるものであると考えられる。手術や外科的合併症を契機として発症する場合も, その多くは内因性で, その危険因子を術

表3 肝移植における深在性真菌症の危険因子

<i>Candida</i> 属	<i>Aspergillus</i> 属	<i>Cryptococcus</i> 属
長時間の移植手術	劇症肝炎	高度な免疫抑制
再開腹	高度な免疫抑制	CMV 感染症
広域スペクトラム 抗生剤の長期使用	CMV 感染症	
ICU 滞在, 気管内挿管, 長期透析		
CMV 感染症		
腹腔内出血		

前の状態に求めることができる場合が少なくない。すなわち, 移植前のステロイド多用や多剤抗菌薬の使用, カテーテルなどの長期留置によって高度の菌交代をきたし, すでに移植前に複数の部位から真菌が検出されたり, β -D glucan の高値を認めたりする症例もまれではない。このような症例は, 移植後深在性真菌症を発症するハイリスク群といえる。また移植後の慢性期に, 強力な拒絶治療を契機に真菌感染が顕在化する場合は, 内因性に加えて外因性感染の関与の可能性も大きい。また, もう一つの重要な感染経路として移植肝を介したドナー由来あるいは臓器保存過程での汚染も報告されている¹⁰⁾ が, これは極めてまれである。

II. 肝移植周術期における深在性真菌症の診断

深在性真菌症の診断は肝移植においても非常に難しい問題の一つである。肝移植患者はハイリスクであることから術前からの監視培養により真菌の colonization を把握しておくことは重要である。しかしながら, 監視培養は真菌感染の重要な情報ではあるが colonization と infection の鑑別が難しいこともあり確定診断には, 血液培養, 組織診, 眼底所見, 気管支・肺胞洗浄などと画像診断, 臨床所見を加えた総合的な診断となることが多い。

1. 臨床症状

広域抗菌薬に反応しない発熱を呈する場合, 臨床症状や画像所見, 血清診断も含めて本症を疑ってみる。細菌・ウイルス感染発症時にも真菌症の合併を疑うことは必要である。しかしながら, 術直後より, ステロイドを含む免疫抑制剤を投与されている肝移植周術期に関しては, 真菌感染症を伴っていても, 典型的な症状を示さないことも多い。やはり常に真菌感染を念頭に置き, 次に述べる各種診断検査を定期的に施行することが, 実際の臨床の場では重要である。

2. 診断法

A) 肝移植周術期における真菌検出

上述したように、肝移植患者に限らず、体表・体内のいずれかの部位から真菌が検出された場合、単なる colonization と infection の併存とを区別することはしばしば容易ではない。深在性真菌症患者の多くに、先行する colonization がみられるものの、感染に至らない colonization も多い。報告によれば肝移植において、深在性真菌症に対する監視培養の感受性は 73%，特異性は 50%であったという¹¹⁾。真菌の検出部位としては、移植前は体表あるいは消化管・上気道などの（準）不潔部位がほとんどであるが、術後は尿・胸腹水・胆汁・カテーテル・血液などの清潔部位が半数近くを占める。移植手術直後は、これらの清潔部位の多くが体外と交通するため、真菌の検出がただちに深在性真菌症を示すことにはならないが、それを示唆する重要な所見となる。検出菌種としては、以前は *C.albicans* が 80%以上であったが、*C.tropicalis* や *C.parapsilosis* も次第に増加し、とくに azole 系抗真菌薬抵抗性の *C.glabrata* などが近年 10%程度まで増加しており、これは抗真菌薬の予防的使用と無関係ではないと思われる。真菌の検出がどの程度深在性感染の危険を示唆するかは議論のあるところではあるが、報告によれば、移植前真菌検出例の 54%が ICU 管理症例で（非検出例は 18%）、術後の真菌検出率 62%（術前非検出例で 45%）、術後死亡率 39%（術前非検出例は 14%）といずれも高くなっている¹²⁾。また移植後早期の真菌検出に関しても、その部位数が増えるほど、移植前の監視培養陽性が重要な背景になっており、重症細菌・真菌感染の合併率も死亡率も著しく高くなっている¹²⁾。

B) 肝移植周術期における血清学的真菌検査
欧米における肝移植では、現在でも真菌学的検査と臨床所見による診断が中心で、各種の抗原検査や遺伝子診断法は一部の施設で用いられている程度である¹³⁾。一方、本邦では独自の血清学的診断法として(1→3)- β -D-glucan の臨床使用が発達している¹⁴⁾。2003年2月に発表された臓器移植領域のガイドライン¹⁵⁾には、 β -D-glucan 測定が補助診断として盛り込まれているものの、確定診断となる基準にはなっていない。しかし、 β -D-glucan が高値である肝移植症例に対しては、有熱症状などがなくても抗真菌薬の投与を考慮するべきと考えている。血液製剤や透析膜などの影響で擬陽性となる可能性があるとされるが、臨床的にはこれらの前後で有意な影響はないと考えている。 β -D-glucan に関して、肝移植後は多くの症例で術後数日以内に一過性の軽度上昇を示すこと、さらに β -D-glucan はカリニ肺

炎でも陽性となるが、クリプトコッカスやムコール、さらに浸潤性になる前のアスペルギルス症では陰性を示すことは知っておく必要がある。

C) 遺伝子診断

深在性真菌症については、微生物学的検査や病理組織学的検査に基づく診断には限界がある。これを補うために血清診断が用いられること、さらにはその有用性についてもすでに述べた。しかし現行の血清診断用の検査は、とくに早期発見での感度または特異度が必ずしも満足できるレベルに達していないなどの点で、その有用性が制約されているといわざるを得ない。このような理由から、1990年代に入ると真菌の分子生物学の進歩と相まって、真菌症の遺伝子診断に関する研究が活発に行われるようになった。これは真菌に特異的な DNA 塩基配列を通常無菌的な臨床検体から検出することによって培養が陽性であった場合とほぼ同等に診断的意義を与えようとするものである。真菌症診断への分子生物学的アプローチは、次の2つに大別される。すなわち、菌種特異的 DNA プローブを用いた分離菌の確認と菌種同定、もう一つは PCR 法による臨床検体（血液その他の体液など）中の真菌 DNA の増幅・検出による起因菌の確認と同定、である。しかし DNA プローブを実際の臨床検体に適応することは困難であり、PCR 法が主流となっている。遺伝子検査法の適応範囲としては、臨床検体からの真菌 DNA の検出・同定と分離菌株の同定・型別があげられる。急性白血病や幹細胞移植患者における週1回の PCR 法による真菌症診断は感度 100%、特異性 73%であったと報告されている¹⁶⁾。肝移植領域における深在性真菌症においても今後期待される診断法である。

III. 肝移植周術期における深在性真菌症診断の現状

現時点では、剖検時を除くと、完全な無菌部位や組織内の真菌の検出によって確定診断に至る症例は極めて少なく、またこうした診断で治療を開始するのではまず救命できない。不潔部位を含めた監視培養が生存率との何らかの相関を示す一方、本来の無菌部位でも肝移植後には体外と交通するために colonization があり得るが、感染してもその徴候が明確でない場合があるとすると、監視培養の結果は preemptive (先取的) 治療の根拠として極めて重要であると考えられる。同様に、汚染による偽陽性や肝における代謝遅延の影響があり得るとしても、血清学的診断としての血中 β -D-glucan の臨床的意

表4 臓器移植領域における深在性真菌症治療

カンジダ症	
予防的治療	局所的 NYS (ナイスタチン) : 1回 500,000 単位/5ml × 3~4 回/日 全身性 FLCZ 経口投与または点滴静注: 1回 100~200mg/日分 1~2 MCZ 点滴静注: 10mg/kg/日持続点滴 (または分 2~4/日) ITCZ 経口投与: 1回 100~200mg/日 AMPH 点滴静注: 0.2~0.3mg/kg/日
経験的治療 (先制攻撃的治療を含む)	FLCZ 点滴静注: 1回 200~400mg/日分 1~2 MCZ 点滴静注: 10~15mg/kg/日持続点滴 (または分 2~4/日) AMPH 点滴静注: 0.2~0.5mg/kg/日
標的治療	FLCZ 点滴静注: 1回 200~400mg/日分 1~2 MCZ 点滴静注: 15~20mg/kg/日持続点滴 (または分 2~4/日) MCFG 点滴静注: 1回 100~150mg/日 AMPH 点滴静注: 0.5~1.0mg/kg/日
侵襲製アスペルギルス症	
予防的治療	局所的 AMPH 吸入: 1回 10~15mg × 1~2 回/日 全身性 ITCZ 経口投与: 1回 100~200mg/日 AMPH 点滴静注: 0.2~0.3mg/kg/日
経験的治療 (先制攻撃的治療を含む)	AMPH 点滴静注: 0.5~1.0mg/kg/日 ITCZ 経口投与: 200~400mg/日
標的治療	MCZ 点滴静注: 15~20mg/kg/日持続点滴 (または分 2~4/日) AMPH 点滴静注: 1.0~1.5mg/kg/日 +5-FC 経口投与 100mg/kg/日 MCFG 点滴静注: 1回 150~300mg/日 ITCZ 経口投与: 400~600mg/日 (初期治療には用いない)

義は大きいと考えている。実際、筆者らの施設でも、積極的にかつ定期的に β -D-glucan を測定し、早期診断、早期治療開始の、さらには治療中止の指標としている。

IV. 予防と治療

深在性真菌症の診療については深在性真菌症のガイドライン作成委員会による深在性真菌症の診断・治療ガイドラインが発表されている¹⁵⁾。今後は深在性真菌症の診療には本ガイドラインを用いた標準化された医療が必要となると考えられる。現在、日本国内で上市され深在性真菌症治療に使用されている抗真菌薬にはポリエンマクロライド系の Amphotericin B (AMPH-B)、フロロピリミジン系の Flucytosine (5-FC)、アゾール系の Miconazole (MCZ)、Fluconazole (FLCZ) とそのプロドラッグである Fosfluconazole (FFCZ)、Itraconazole (ITCZ)、およびキャンディン系抗真菌薬 (水溶性

リポペプチド系抗真菌薬 Micafungin (MCFG) の4系統7薬剤がある。また、アゾール系の新薬である Voriconazole (VCZ) もあり、その効果に期待したい。

移植前症例では、まず潜伏感染や colonization を検出し菌交代を極力是正するよう、抗菌薬の使用を制限することが重要である。抗菌薬の使用制限は、移植後においても大変重要な因子で、標的の確定していない抗菌薬や、病巣への到達の不確かな抗菌薬を漫然と使用することで、深在性真菌症が惹起される危険を十分に認識することが重要である。一方、肝移植後は、カテーテルなどの異物挿入によって皮膚粘膜バリアが破壊される機会が多く、こうした機会を極力減らす努力も必要である。肝移植では、腹腔内を中心とした感染防御の要である肝が交換され、初期にはその機能が不安定である。さらに生体肝移植では得られる肝の大きさが依然として最適とはいえない。したがって、提供者の安全を考慮しな

がら、常に大きさと質の点で最良の移植肝が得られるように努力が必要である。移植後も、移植肝の状態が最良に維持されるように経腸栄養を積極的に行うなどの工夫が必要である。

1. 予防投与 (Prophylaxis)

抗真菌薬の予防投与は各施設や移植臓器によって異なる。Fluconazole (FLCZ) の予防投与も行われるが、対象はハイリスク患者に限定し、すべての移植患者に行うべきでないとした意見もある^{17) 18)}。

肝移植のハイリスク症例に対するカンジダ感染予防には Fluconazole (FLCZ), Miconazole (MCZ), Itraconazole (ITCZ) が用いられ、有効であるとする報告もある¹⁹⁾。選択的腸管内除菌 (selective bowel decontamination : SBD) の一部として用いられるナイスタチンや非吸収性の Amphotericin B (AMPH-B) と比較すると、FCZ では colonozation の減少がみられるが、いずれも侵襲性カンジダ症の予防効果は疑問である^{7) 20)}。気道からの *Aspergillus* 検出は、肝移植ではほとんど常に侵襲性病変の存在を意味し、すでに気道以外への播種を持つ場合が少なくない。すなわちこの時点での抗真菌薬投与は“治療”とみなすべきである。一方、ITCZ や低用量の AMPH が肝移植患者のアスペルギルス感染予防に有効とする確証は得られていない。また、高用量の AMPH は、その腎毒性のために移植患者では使いにくい面がある。

なお、カリニ肺炎では ST 合剤が投与され、1日1錠か1日1～2錠を週に3日間の経口投与で高い予防効果がある。

2. 先制攻撃的治療

ハイリスク患者群において、真菌学的検査や血清診断の結果にしたがって感染症としての症状が現れるよりも前に、先取りして治療を行うものであり、予防と並んで重要かつ有効な手段である²¹⁾。FLCZ 200～400mg/日を投与するが、AMPH 0.2～0.3mg/kg/日を投与することもある。また最近では MCFG 50～150mg/日の投与も行われる。MCZ を用いる場合は、10mg/kg/日を24時間持続点滴または2～4回に分けて投与する。

3. 経験的治療 (Empiric therapy)

真菌感染症を疑った場合に行われる。FLCZ 200～400mg/日の点滴静注が選択されることが多い。効果が得られない場合や人工物装着時、また菌種によっては AMPH 0.2～0.5 mg/Kg/日を24時間持続点滴または2～4回に分けて投与する。

4. 標的治療 (Targeted therapy)

確定診断例や、また診断基準としては確定では

なくとも真菌感染症が強く疑われる場合には、確定診断例に準じて治療を行うこともある (表4)。

5. 薬剤間相互作用

治療にあたっては、免疫抑制剤 (tacrolims や ciclosporin) と併用薬 (抗真菌薬ではとくにアゾール系) との薬剤間相互作用 (薬剤の血中濃度上昇または低下、腎毒性の増強) に注意が必要で、血中濃度の注意深いモニタリングが必要である。

6. 治療的抗真菌薬投与の現状

臓器移植患者における深在性真菌症の治療の原則は、ほかの免疫不全患者と大きくは変わらない。移植臓器の状況が許す限り免疫抑制剤は減量すべきであり、カテーテルなどの異物の除去や感染巣自体の外科的除去もほかの領域以上に重要である。高用量のアゾール系薬剤も用いられるが、MCFG の登場までは AMPH が治療薬の中心にあった。AMPH は、多くの症例でほかの薬剤による骨髄抑制や腎障害を増強するため、これらに目をつぶって治療を継続しないかぎり奏功は期待できない。日本ではまだ使用できないリポソーム型、コロイド型、lipid complex といった脂質型 AMPH は、とくに腎障害の軽減によって高用量が使用できるため、欧米では汎用されるが、その高いコストばかりでなく治療成績にはやはり限界がある。5-FC と AMPH、アゾール系薬剤と AMPH といった併用も、ほかの領域と同様に行われる。ITCZ は胸部臓器移植のアスペルギルス感染治療に用いられるが、低酸環境での吸収の問題から腹部臓器移植では使いにくい場合がある。FLCZ は、副作用や免疫抑制剤との相互作用が少ない点、消化管吸収や髄液移行がよい点などから使いやすいが、*Aspergillus* ばかりでなく *C.krusei* や *C.glabrata* には効きにくい難点がある。MCZ は、少なくとも *in vitro* ではこの点で少し利点があり、本邦を中心に持続静注投与が行われている。最近登場した MCFG は、予防的あるいは先制攻撃的使用についてのデータはまだないものの、腎障害の少ない点と *Aspergillus* に対する効果に加え、*C.parapsilosis* を除いた *Candida* に対する効果もあり、肝移植領域での汎用が期待される。

おわりに

手術手技の向上や免疫抑制剤の発達などに伴い、生体肝移植の術後成績は安定してきた感がある。しかしその一方で、生体肝移植患者における術後感染症は、いまだに死亡率に最も大きな影響を与えている因子である。とくに、深在性真菌症はリスクが高く、予後を左右する因子の一つとなっている。近年、