厚生労働科学研究費補助金

肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野）
C型肝炎への肝移植後の免疫抑制法に関する研究
平成18年度　総括･分担研究報告書

主任研究者　門田　守人

平成19（2007）年4月

目次

Ⅰ. 総括研究報告書

C型肝炎への肝移植後の免疫抑制法に関する研究 ―― 1
門田守人(大阪大学大学院医学系研究科　消化器外科学)

Ⅱ. 分担研究報告

1. C型肝炎に対する肝移植後の免疫応答の解析 ―― 6
浅原利正(広島大学大学院医歯薬学総合研究科　先進医療開発科学講座外科学)

2. 肝移植後のC型肝炎の再発に関する肝生検病理診断 ―― 10
ーステロイド群と非ステロイド群の比較ー
市田隆文(順天堂大学静岡病院　消化器内科)

3. 長崎大学におけるC型肝炎に対する肝移植 ―― 13
兼松隆之(長崎大学大学院　移植・消化器外科)

4. C型肝炎に対する肝移植後の免疫抑制療法に関する研究 ―― 20
北島政樹(慶應義塾大学医学部　外科)

5. 肝移植後再発C型肝炎に対するSteroid治療(Steroid群)と非Steroid治療(Free群)における肝組織所見 ―― 22
清澤研道(信州大学　消化器内科)

6. C型肝炎への肝移植後の免疫抑制法に関する研究 ―― 25
里見進(東北大学大学院医学系研究科　外科学病態学講座先進外科学分野)

7. 生体肝移植後のC型肝炎再発予防を目指した免疫抑制療法に関する研究 ―― 29
高田泰次(京都大学医学部附属病院　肝胆膵移植外科)

8. C型肝炎への肝移植後の免疫抑制法に関する研究 ―― 37
田中紀章(岡山大学大学院医歯学総合研究科　消化器・腫瘍外科学)

9. 臓器移植における免疫抑制剤のHCV増殖に対する影響 ―― 40
寺岡慧(東京女子医科大学腎臓病総合医療センター　外科)

10. C型肝炎への肝移植後の免疫抑制法に関する研究 ―― 44
橋本俊(藤田保健衛生大学　小児外科)

11. C型肝炎肝移植後ドナー血門脈内投与の肝炎再発への影響 ―――― 46
畠山勝義(新潟大学医歯薬学総合病院)

12. 肝移植後に発症するC型肝炎の活動性を予測する方法の確立 ―――― 48
～Osteopontin Promoter SNPsの有用性～
藤原研司(横浜労災病院)

13. C型肝炎への肝移植後の免疫抑制法に関する研究 ―――― 51
前原喜彦(九州大学大学院　消化器・総合外科)

14. 移植後のインターフェロンとリバビリン併用療法施行のための脾摘術 ―――― 54
幕内雅敏(東京大学　人工臓器移植外科)

15. C型肝炎への肝移植後の免疫抑制法に関する研究 ―――― 57
宮川眞一(信州大学　移植外科)

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

Ⅳ. 研究成果の刊行物・別刷

厚生労働科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）
総括研究報告書

C 型肝炎への肝移植後の免疫抑制法に関する研究

主任研究者　門田守人　大阪大学大学院医学系研究科消化器外科　教授

研究要旨：本研究は，臨床比較試験により，本邦のC型肝硬変患者に最も適した肝移植後免疫抑制法を明らかにすることを目的とした。研究は1）本邦の主要移植施設のC型肝硬変に対する肝移植時の免疫抑制法の詳細を調査し，分担研究施設をステロイド「有」と「無」の 2 群に分け肝炎再発を比較するパイロット・スタディ，2）本邦多施設の過去のC型肝炎移植例の集計・解析によりタクロリムスとシクロスポリンを比較する研究，の 2 つの研究を行なった。平成 18 年度は前年に引き続き、1）ステロイド投与の比較研究を行った。現在までに 65 例の症例登録があり、中間解析の結果では、ステロイド非投与免疫抑制療法が安全に行われ、C 型肝炎の再発を抑制する傾向があることが示された。これらのエビデンスに基づき移植肝への C 型肝炎の再発率，及び拒絶反応の発生率を主なエンドポイントとしたランダマイズド・オープンラベル多施設共同比較試験の内容を決定し施行する。

A. 研究目的

C型ウイルス性肝硬変は肝移植の適応のうち多くを占めるが，肝移植後に高率に肝炎の再発が起こること，長期の観察では有意に生存率が低下することが報告されている。移植後の肝炎再発には免疫抑制状態が関与すると考えられ，世界の多くの施設において標準的な免疫抑制法からの工夫が試みられている。なかでも，ステロイド使用の有無やカルシニューリン・インヒビターの種類によって肝炎再発を抑制する方法が研究されているが，まだ一定の結論が得られていない。本研究の目的は日本人のC型肝硬変に最適の免疫抑制法を構築することであり，その成果は，本邦のC型肝硬変患者の移植後の長期予後を改善すると予測され，極めて有意義である。

B. 研究方法

1．他施設共同研究として以下の研究を遂行する。

①分担研究施設をステロイド「有」と「無」の 2 群に分け移植後肝炎再発を比較する前向きのパイロット・スタディを行い，肝炎再発率を比較する（内科系の研究者によるウイルス学的検討も行う）。対象はＣ型肝炎ウイルスに起因する肝硬変に対して生体肝移植を施行する18歳以上の成人患者で，本研究を理解し同意を文書で得られた患者とする。除外基準は（1）ABO 不適合ドナーからの肝移植症例（2）再肝移植症例，（3）HIV 抗体陽性症例，とする。主なエンドポイントは移植肝への C 型肝炎の再発率，及び拒絶反応の発生率とする。

②本邦多施設の過去のC型肝炎移植例に

対する調査を続行し，長期予後の観点から，タクロリムスとシクロスポリンとの間で肝炎再発に差があるかの結論を得る。これらの結果から，日本人のC型ウイルス性肝硬変の術後免疫抑制に関して，現時点で最も必要性が高く，かつ実現可能であり期間内に結論を導きうる臨床比較試験を策定する。

2．策定したランダマイズド・オープンラベル多施設共同比較試験を行う（予定）。

（倫理面への配慮）

研究に当たって倫理面に十分配慮し，各分担研究施設の倫理委員会（IRB）の認可を必要とする。

C. 研究結果

平成 18 年度は研究方法1．ー①「ステロイド「有」と「無」の 2 群に分け移植後肝炎再発を比較する前向きのパイロット・スタディ」を更に進めてきた。これまでに 65 例（ステロイド投与群 35 例、ステロイド非投与群 30 例）の症例登録があった。中間解析の結果、C 型肝炎再発率ではステロイド投与群 52%、ステロイド非投与群 24%と、ステロイド非投与免疫抑制療法の C 型肝炎再発抑制効果が示された。また、ステロイド非投与免疫抑制療法が安全に行われ、感染症や移植後新規発症糖尿病の発生率が低いことが示された。

D. 考察

本研究の目的はC型肝硬変に最適の免疫抑制法にある。中でも，ステロイドを使用しない免疫抑制療法，あるいはカルシニューリン・インヒビターの工夫による免疫抑制療法が有力な候補である。平成 18 年度の研究は、多施設共同パイロット研究が進められた。本研究において分担研究施設からは，ステロイドを使用しない免疫抑制療法をすでに試み，安全に施行できたとの報告がなされ、また本研究ではステロイドを使用しない免疫抑制療法において，その安全性が示され C 型肝炎再発率が低下することが示された。この結果から，ランダマイズド・オープンラベル多施設共同比較試験を策定し，ステロイドを使用しない免疫抑制療法の有効性を研究することが可能となった。

E. 結論

多施設共同研究・ステロイド非使用免疫抑制療法の前向きのパイロット・スタディ中間解析ではステロイド非投与免疫抑制療法の安全性、C型肝炎再発抑制効果が示された。今後、最終解析を行ない、結果を基にランダマイズド・オープンラベル多施設共同比較試験を策定し，ステロイド非投与免疫抑制療法の有効性を研究する。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1．論文発表

1) 梅下浩司、門田守人: 肝移植.消化器外科レビュー2006 ,炭山嘉伸　門田守人　跡見裕　編集、総合医学社　東京

84-89, 2006.

2. 学会発表

1) Asaoka T.,Marubashi S., Hama N., Dono K., Gotoh K., Miyamoto A., Takeda Y., Nagano H., Umeshita K., Monden M.: Risk factors for postoperative prolonged hyperbilirubinemia after living-donor liver transplantation. American Hepato-Pancreato-Biliary Association 2006 Annual Meeting,2006.3.9-.3.12 (Florida, USA.)

2) Marubashi S.,Dono k., Hama N., Gotoh K., Hashimoto K., Takahashi H., Miymoto A., Takeda Y., Nagano H., Umeshita K., Monden M.: AFP mRNA-EXPRESSING CELLS IN PERIPHERAL BLOOD FOR PREDICTION OF HCC RECURRENCE AFTER LIVER TRANSPLANTATION. World Tramsplant Congress 2006,2006.7.22-.7.27(USA)

3) Marubashi S.,Dono K., Asaoka T., Hama N., Gotoh K., Miyamoto A., Takeda Y., Nagano H., Umeshita K., Monden M.: Postoperative hyperbilirubinemia and graft outcome in living donor liver transplantation. World Transplant Congress 2006,2006.7.22-.7.27(USA)

4) Marubashi S.,Dono K., Asaoka T., Hama N., Gotoh K., Miyamoto A., Takeda Y., Nagano H., Umeshita K., Monden M.: Impact of graft size on post-transplant thrombocytopenia in living donor liver transplantation. World Transplant Congress,2006.7.22-.7.27(USA)

5) 丸橋繁, 堂野恵三, 浅岡忠史, 天野晃滋, 濱直樹, 後藤邦仁, 宮本敦史, 武田裕, 永野浩昭, 梅下浩司, 門田守人. : Living donor liver transplantation for Hepatocellular carcinoma; AFP mRNA-expressing cells in peripheral blood for prediction of HCC recurrence. 第 106 回日本外科学会定期学術集会, 2006.3.29-.3.31(東京都)

6) 永野浩昭, 丸橋繁, 宮本敦史, 武田裕, 梅下浩司, 堂野恵三, 門田守人. :肝移植提供者に対する肝切除術ー術前・術中画像の有用性ー. 第 106 回日本外科学会定期学術集会, 2006.3.29-.3.31(東京都)

7) 浅岡忠史, 丸橋繁, 堂野恵三, 濱直樹, 天野晃滋, 後藤邦仁, 宮本敦史, 武田裕, 永野浩昭, 梅下浩司, 門田守人. : 当院における成人 ABO 血液型不適合肝移植症例の経験. 第 106 回日本外科学会定期学術集会, 2006.3.29-.3.31(東京都)

8) 丸橋繁, 堂野恵三, 浅岡忠史, 濱直樹, 後藤邦仁, 宮本敦史, 武田裕, 永野浩昭, 梅下浩司, 門田守人. :成人生体肝移植における肝移植術前評価と術式の選択. 第 18 回日本肝胆膵外科関連会議・東京, 2006.5.10-.5.12(東京都)

9) 濱直樹, 丸橋繁, 堂野恵三, 浅岡忠史, 後藤邦仁, 下田雅史, 宮本敦史, 武田

裕，永野浩昭，梅下浩司，門田守人．：内頚静脈および外腸骨静脈グラフトを用いて下大静脈再建を行った，Budd-Chiari 症候群に対する生体部分肝移植の一例．第 18 回日本肝胆膵外科関連会議・東京，2006.5.10-.5.12（東京都）

10) 浅岡忠史，丸橋繁，堂野恵三，濱直樹，天野晃滋，後藤邦仁，宮本敦史，武田裕，永野浩昭，梅下浩司，門田守人．：術後早期に門脈血栓を認めた生体肝移植提供者の1例．第18回日本肝胆膵外科関連会議・東京，2006.5.10-.5.12（東京都）

11) 門田守人．：C型肝炎陽性肝移植症例の予後を改善するには？．Liver Transplant Expert meeting，2006.6.19（大阪府）

12) 門田守人．：シンポジウム　ウイルス肝炎と肝移植．第24回日本肝移植研究会，2006.6.22-.6.23（長野県・松本市）

13) 丸橋繁，堂野恵三，浅岡忠史，濱直樹，後藤邦仁，宮本敦史，武田裕，永野浩昭，梅下浩司，門田守人．：成人生体肝移植における成績向上の工夫．第61回日本消化器外科学会定期学術総会，2006.7.13-.7.15（神奈川県・横浜市）

14) 浅岡忠史，堂野恵三，永野浩昭，濱直樹，後藤邦仁，丸橋繁，宮本敦史，武田裕，梅下浩司，門田守人．：当院での成人生体部分肝移植におけるドナー肝切除の手術手技とその工夫

15) 第 61 回日本消化器外科学会定期学術総会，2006.7.13-.7.15（神奈川県・横浜市）

16) 丸橋繁，堂野恵三，浅岡忠史，濱直樹，後藤邦仁，宮本敦史，武田裕，永野浩昭，梅下浩司，門田守人．：成人間生体部分肝移植における術後血小板減少の危険因子．第24回日本肝移植研究会，2006.6.22-.6.23（長野県・松本市）

17) 濱直樹，丸橋繁，堂野恵三，浅岡忠史，宮本敦史，武田裕，永野浩昭，梅下浩司，門田守人．：血栓性微小血管障害（thrombotic microangiopathy,TMA）を呈した生体部分肝移植の1例．第24回日本肝移植研究会，2006.6.22-.6.23（長野県・松本市）

18) 丸橋繁，堂野恵三，浅岡忠史，濱直樹，後藤邦仁，宮本敦史，武田裕，永野浩昭，梅下浩司，門田守人．：生体部分肝移植における血管・胆管再建の工夫．第 42 回日本肝癌研究会，2006.7.6-.7.7（東京都）

19) 永野浩昭，丸橋繁，宮本敦史，武田裕，梅下浩司，堂野恵三，門田守人．：術前・術中画像診断に基づく肝移植提供者に対する肝切除術．第42回日本移植学会総会，2006.9.7-.9.9（千葉県）

20) 丸橋繁，堂野恵三，浅岡忠史，濱直樹，後藤邦仁，宮本敦史，武田裕，永野浩昭，梅下浩志，門田守人．：成人間生体部分肝移植における術後血小板減少の危険因子．第42回日本移植学会総会，2006.9.7-.9.9（千葉県）

21) 堂野恵三，丸橋繁，永野浩昭，梅下浩

司，武田裕，宮本敦史，濱直樹，浅岡忠史，門田守人．：C 型肝炎移植後再発に対する対策．第 68 回日本臨床外科学会総会，2006.11.9-.11.11（広島県）

22) 野田剛広，永野浩昭，和田浩志，丸山繁，宮本敦史，武田裕，梅下浩司，堂野恵三，門田守人．：生体肝移植ドナーの肝切除ー術前・術中画像の有用性ー．第 68 回日本臨床外科学会総会，2006.11.9-.11.11（広島県）

23) 丸橋繁，宮本敦史，武田裕，小林省吾，堂野恵三，梅下浩司，門田守人．：肝移植における免疫抑制剤の工夫．近畿肝移植検討会，2006.12.2（大阪府）

24) 濱直樹，丸橋繁，堂野恵三，浅岡忠史，宮本敦史，武田裕，永野浩昭，梅下浩司，門田守人．：肝移植後早期にC型肝炎再発を来した2例．第7回大阪肝移植検討会，2006.8.11（大阪府）

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金(肝炎等克服緊急対策研究事業)
分担研究報告書

C型肝炎に対する肝移植後の免疫応答の解析

分担研究者　浅原利正
広島大学大学院医歯薬学総合研究科先進医療開発科学講座外科学　教授

研究要旨:C型肝炎(HCV)罹患肝移植患者のアロ免疫応答と抗HCVウイルス応答の関係を検討した。肝移植患者では、非特異的な免疫抑制がHCVの複製を増長する可能性を考慮すると、拒絶を回避し得る必要最小限の免疫抑制療法を実践することが重要である。当施設では、リンパ球混合試験の結果による免疫監視下に免疫抑制剤の使用量を調整している。リンパ球混合試験で定量化したドナー応答性 $CD4^+$T 細胞と $CD8^+$T 細胞の増殖指数とその時点でのHCVウイルス量を比較したところ、有意な逆相関が確認された。この現象は、アロ免疫応答と抗HCV免疫応答との間にクロストークが存在する可能性を示唆する。ゲノミックHCVレプリコン細胞の培養上層トランスウエル内でヒトリンパ球を異系混合培養した結果、アロ反応性T細胞分裂の程度に依存して、下層のHCVレプリコン細胞のHCV複製が抑制された。以上より、アロ免疫応答により産生される液性因子が近傍のHCV感染肝細胞内でのHCV複製を抑制するものと考えられた。

A. 研究目的

肝移植後の非特異的な免疫抑制療法がC型肝炎ウイルス(HCV)の複製を増長する可能性を考慮し、HCV罹患肝移植患者のアロ免疫応答と抗HCVウイルス応答の関係を検討した。

B. 研究方法

<u>対象</u>

2006年12月までに広島大学病院で生体部分肝移植術を施行した症例のうち91例を対象とした。そのうち、HCV 例は 30 例であった。

<u>リンパ球混合試験</u>

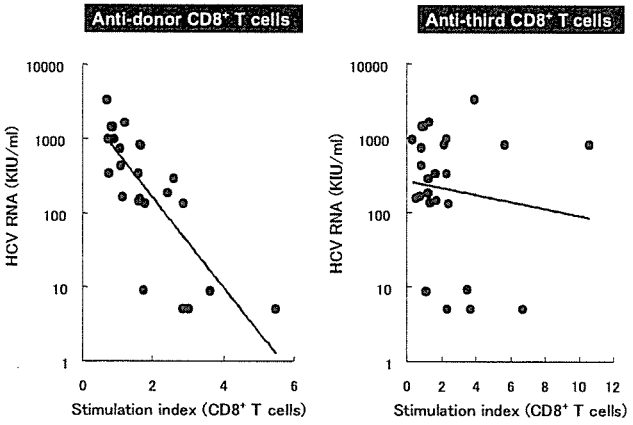
Carboxyfluorescein diacetate succimidyl ester(CFSE)細胞質染色とマルチパラメーターフローサイトメトリーを応用した mixed lymphocyte reaction assay(以後、CFSE-MLRと略す)を肝移植直前、移植後1ヶ月および拒絶反応が疑われた時に施行した。レシピエント、ドナーとサードパーティ(健常人ボランティア)から末梢血を採取し、単核球を分離後放射線照射して stimulator とした。レシピエントの単核球は CFSE 色素でラベリングし、responder とし5日間共培養したのちフローサイトメトリーで解析後、CD4、CD8T細胞各々のstimulation indexを算出した。同時に、反応性 CD8T 細胞の CD25 の表出率を測定した。同時に、レシピエントの末梢血中HCVウイルスRNA量をアンプリコア法で測定した。

（倫理面への配慮）

C 型肝炎への肝移植後の免疫抑制法に関する研究に対しては、広島大学医学部倫理委員会において承認（通知番号第 379 号）済みである。CFSE-MLR に関しては、インフォームドコンセントを得て実施した。

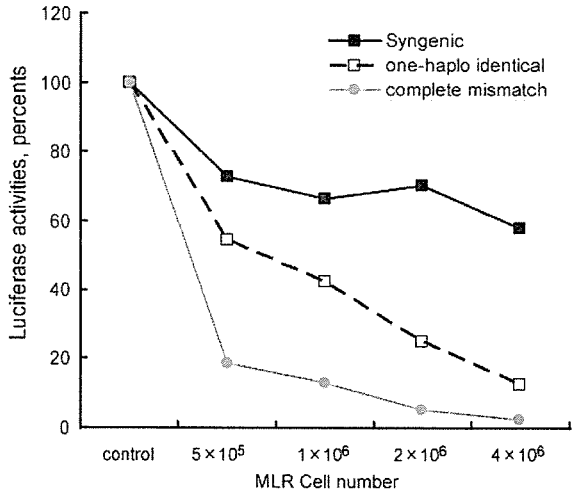
C. 研究結果

HCV 患者の肝移植後アロ応答をリンパ球混合試験で定量化し（抗ドナーおよび抗サードパーティ stimulation index）、HCV ウイルス量と比較した（下図）。



その結果、ドナー応答性 $CD8^+$T 細胞の増殖指数とその時点での HCV ウイルス量の間には、有意な逆相関が確認された(R^2=0.60)。しかし、サードパーティ応答性 $CD8^+$T 細胞の増殖指数とHCVウイルス量との間には相関を認めなかった(R^2=0.02)。この興味深い現象は、アロ免疫応答と抗 HCV 免疫応答との間にクロストークが存在する可能性を示唆する。

この可能性を検証するべく、ゲノミック HCV レプリコン細胞の培養上層トランスウエル内で主要組織適合性抗原(MHC)フルミスマッチあるいは1ハプロミスマッチの組み合わせでヒトリンパ球を異系混合培養した。HCV の複製はルシフェラーゼ活性で測定した。その結果、リンパ球混合培養における T 細胞分裂の程度に依存して、下層の HCV レプリコン細胞の HCV 複製が抑制された。また、このアロ免疫応答による HCV 複製抑制効果は、抗 IFN-γ抗体の添加により減弱した（下図）。



D. 考察

HCV 性肝硬変は肝移植の最も頻度の高い適応疾患の一つであるが、移植後C型肝炎の再発が高率に起こり、また肝炎の進行も移植患者以外と比較すると急速である事が分かっている。HCV 肝炎合併例では免疫抑制療法がウイルスの増勢を助長するためと理解されている。免疫応答の客観的な指標に基づき、必要最小限の免疫抑制療法が実践できれば、肝移植後におけるHCV肝

炎の再発予防につながる可能性がある。我々は、CFSE-MLR を臨床導入し、免疫応答監視法としての有用性を報告して来た。本年度の研究では、CFSE-MLR を用い、HCV 罹患肝移植患者のT細胞のアロ免疫応答と抗 HCV 応答の関係を解析した。その結果、HCV 患者の肝移植後アロ応答とHCV ウイル量とは有意な逆相関関係が確認された。また、in vitro の解析では、アロ免疫応答によって産生される IFN-γなどの液性因子が近傍の HCV 感染肝細胞内での HCV 複製を抑制する現象が確認された。拒絶反応を引き起こすことなく、IFN-γ産生細胞を肝臓に誘導することが可能であれば、移植後 HCV 肝炎の再発・進行を抑制することが期待される。

E.結論

HCV 肝移植患者では、アロ免疫応答と HCV ウイルス量とは密接な関係がある。必要最低限の免疫抑制を実践することが、HCV 増幅抑制し、その後の IFN 治療の効果を助長する可能性がある。

F.健康危険情報

なし

G. 研究発表

1.論文発表

1) Tokita D, Shishida M, Ohdan H, Onoe T, Hara H, Tanaka Y, Ishiyama K, Mitsuta H, Ide K, Arihiro K, Asahara T. Liver sinusoidal endothelial cells that endocytose allogeneic cells suppress T cells with indirect allospecificity. J Immunol 177(6):3615-24. 2006.

2) Ishiyama K, Ohdan H, Tokita D, Shishida M, Tanaka T, Irei T, Asahara T. Induction of endotoxin tolerance inhibits alloimmune responses. Transpl Immunol 16(3-4):158-165. 2006.

3) 大段秀樹、田中友加、石山宏平、井手健太郎、志々田将幸、伊禮俊充、大平真裕、田原裕之、田代裕尊、板本敏行、浅原利正、C 型肝炎肝移植患者の T 細胞性免疫応答の特性、日本移植学会雑誌、第 41 巻 5 号、411-415、2007.

2.学会発表

1) Ohdan H, Tashiro T, Tokita D, Onoe T, Ishiyama K, Asahara T, (Boston, USA), Possible cross-talk between anti-donor and anti-HCV immunocytes in HCV-infected liver transplant recipients. The First Joint International Transplant Meeting ／ The Transplantation Society(TTS)／WTC 2006.7.22-27

2) Tanaka Y, Ohdan H, Asahara T, (Boston, USA), The frequency of circulating CD4+CD25+ regulatory T cells reflects anti-donor immune status but that of CD8+CD28- suppressor T cells does not at the early phase after clinical liver transplantation. The First Joint

International Transplant Meeting／The Transplantation Society(TTS) ／ WTC 2006.7.22-27.

3)大段秀樹、田中友加、石山宏平、井手健太郎、志々田将幸、伊禮俊充、大平真裕、田原裕之、田代裕尊、板本敏行、茶山一彰、浅原利正(長野県、信州市)、C型肝炎肝移植患者の T 細胞性免疫応答の特性、第 24 回日本肝移植研究会、2006.6.22-23

4)大段秀樹、田中友加、田代裕尊、札場保宏、石山宏平、井手健太郎、板本敏行、浅原利正、(神奈川県、横浜市)、C型ウィルス肝硬変に対する肝移植後免疫抑制療法における免疫監視の意義、第 61 回日本消化器外科学会学術総会、2006.7.13-15

5) 大段秀樹、(千葉県、幕張市)、C 型肝炎肝移植患者のアロ免疫応答とC 型肝炎ウィルス量の関係、第 42 回日本移植学会総会、2006.9.7-9

6) 田代裕尊、板本敏行、大段秀樹、小橋俊彦、天野尋暢、石山宏平、浅原利正、(千葉県、幕張市)、生体肝移植後の C 型肝炎再発に対する抗ウィルス療法、第 42 回日本移植学会総会、2006.9.7-9

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）
分担研究報告書

肝移植後のC型肝炎の再発に関する肝生検病理診断
-ステロイド群と非ステロイド群の比較

分担研究者　市田隆文　順天堂大学静岡病院消化器内科　教授

研究要旨：C 型肝炎ウイルスの再感染は、肝移植後の肝炎発症から、慢性肝炎へ移行し、その一部が早期に肝硬変へ進展するとされている。したがって、肝移植後、どの時期に抗ウイルス療法を施行するか、肝生検組織を用いた肝炎と拒絶の的確な鑑別が必要である。今回、ステロイド使用群と非使用群での肝生検組織を比較検討し、慢性肝炎、拒絶反応をそれぞれの診断基準に合致させ、C 型肝炎と拒絶の鑑別とともに、ステロイド群、非ステロイド群における、肝炎と拒絶の頻度を検討した。
一年後の肝生検施行 9 例中、6 例のステロイド群は F1、4 例、F2、1 例、F3、1 例であった。一方、非ステロイド群は 3 例に肝生検が施行され、F0、1 例、F1、2 例であった。
活動性、炎症性の activity ではステロイド群 6 例中 2 例に A2、非ステロイド 3 例中 1 例に A2 であった。ステロイド群一例に F3/A2 を認めた。
急性、慢性拒絶の診断はステロイド群 16 症例中 2 例、非ステロイド群 7 例中 0 例であり、拒絶反応の組織学的診断は極めて少数であった。少数例であるが、ステロイド群で肝臓の線維化進展例が認められた。しかしながら、この一年後の線維化進展を予測する因子は今回の検討では見いだされなかった。今後、HCVRNA、genotype などのウイルス側要因と肝臓組織を合わせて検討し、本研究が非ステロイド群の肝移植後の有用性と、それに伴う抗ウイルス療法の環境整備に役立つものと思われた。

共同研究者：
信州大学医学部第二内科　　清澤研道

A. 研究目的

肝移植後の C 型肝炎の「組織診断基準」の作成、すなわち、普遍的なスコアー化による staging と grading を得るために、肝生検組織を検討した。

方法

この方面に関心の深い、病理診断医と内科医とで、実際の症例を鏡顕して、バンフ分類、新犬山分類を合わせた診断基準（スコアー化）作成を試みるものとし、実務担当として清澤研道（信州大学）、羽賀博典（京都大学病院病理診断部）、井藤久雄（鳥取大学器官病理学）、実務担当市田隆文（順天堂大学静岡病院消化器内科）が一堂に会した。その際の留意点は1. 拒絶反応との鑑別（バンフ分類を基盤とする）、2. 薬剤性肝障害との鑑別（薬剤性肝障害の診断基準を参考）、3. 慢性肝炎の組織基準、新犬山分類、国際分類（F 因子、A 因子）との整合性を図る、そして4. 肝炎、肝障害の重症度基準の作成の可能性を図ることとした。

さらに、実際の症例（班会議各施設からの組織標本）を今後、どのように診断し、この研究を病理組織の見地から研究の進め方に関してその方向性を検討した。

B. 研究方法

1. 対象

本研究班で構築したステロイド群と非ステロイド群の肝移植後の肝生検を集積し、主に拒絶、肝炎の見地から病理診断をおこない、それぞれの頻度を検討した。さらに、これらの結果から、抗ウイルス療法に先立つ、preempty 肝生検と protocol 肝生検の利便

性を追求することとした。

2. 方法

十分なインフォームドコンセントにより文書による同意を得た後、肝生検組織を HE 染色、線維染色の両組織標本を前述の病理医と一緒に顕鏡し、診断した。

C. 研究結果

一年後の肝生検施行 9 例中、6 例のステロイド群は F1、4 例、F2、1 例、F3、1 例であった。一方、非ステロイド群は 3 例に肝生検が施行され、F0、1 例、F1、2 例であった。

活動性、炎症性の activity ではステロイド群 6 例中 2 例に A2、非ステロイド 3 例中 1 例に A2 であった。ステロイド群一例に F3/A2 を認めた。

少数例であるために、ステロイド群、非ステロイド群間の病理学的差異は認めなかったが、HCV 再感染例で一年後の肝生検組織ではすべて肝炎の所見を呈し、一例のみ線維化が無く、逆に一例に F3 までの進行例を見たことは、HCV 再感染例の線維化の進展の早さが確認された。

これら一年後に慢性肝炎を呈した症例の、retrospective な肝生検を検討したが、一年後の線維化の進展を予測する因子の解析は困難であった。むしろ、これら肝生検材料を検討しても拒絶反応は少なく、23 例、31 組織中、2 例のみ拒絶反応の診断を得た。このことはイベントごとの肝生検としてもその頻度は少ないと判断される。

D. 考察

一年後の肝生検例を的確に診断し、Retrospective に event ごとの肝生検材料を用いた慢性肝炎進展予測を組織学的に検索するほうが、肝移植後の肝生検材料一つで拒絶/肝炎/循環障害/Small for size/薬剤性肝炎/敗血症/胆管炎の複雑な診断を付けるより、抗ウイルス治療に繋がると考える。

しかしながら、現時点では班研究の実施数が少なく、また肝生検材料も少数のために結論を出すことは困難であったが、少なくとも 1 年目の肝生検で 9 例中 8 例は線維化の進展を認め、一例に F3 症例を見たことは、その線維化進展速度の速さが認識された。さらに全般に拒絶反応に乏しいことがステロイド、非ステロイド群両者に認められたことは、ステロイドの使用しないことが必ずしも拒絶反応を誘発していることにならないことが判明した。このことは、HCV 陽性レシピエントに対する免疫抑制剤の使用として、必ずしもステロイドを使用する必要のないことを示唆している。

E. 結論

非ステロイド群とステロイド群で線維化の程度、壊死、炎症の程度、拒絶反応の頻度に差は認めなかった。ステロイド群に一年目に F3 までの組織進展を認めたことは重要なことである。更なる症例の集積で、HCV による線維化進展にステロイドの有無が関与する可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 市田隆文：内科医からみた肝移植の適応と評価．日本内科学会雑誌 2006; 95(3): 468-474.

2) 富山智香子、佐藤好信、渡部久実、山際 訓、市田隆文. 自然免疫制御による移植肝に対する免疫寛容誘導. 肝胆膵 2006: 52(4); 607-615.

3) 市田隆文、森広樹、菊池哲、阿部哲史、石川雅邦、村上ロミ、成田諭隆、小川薫. 肝移植後の C 型肝炎ウイルス再感染にともなう問題点 -世界の動向とわが国の立場-. 日本消化器病学会誌 2006; 103(6): 615-625.

4) 市田隆文、森広樹、菊池哲、阿部哲史、石川雅邦、村上ロミ、成田諭隆、小川薫: 肝移植後の C 型肝炎ウイルス再感染の現状と課題. 移植 2007; 41

404-410.

2. 学会発表

特になし

H. 知的財産権の出願・登録状況
（予定を含む。）

特に予定なし。

厚生労働科学研究費補助金(肝炎等克服緊急対策研究事業)
分担研究報告書

長崎大学におけるC型肝炎に対する肝移植

分担研究者　兼松隆之　長崎大学大学院移植消化器外科　教授

研究要旨:長崎大学における C 型肝炎に対する生体肝移植後の免疫抑制療法について検討した。63 例中 C 型肝炎症例は 19 例(30%)で、全例にステロイドを用いた免疫抑制導入を行った。生存 16 例全例に術前もしくは術後インターフェロンによる抗ウイルス療法を行い、術前治療を行なった 3 例(19%)で移植後 sustained virological response(SVR)が持続している。術後治療の症例では現在 6/13(46%)に VR を得た(観察期間中央値 15 ヶ月)。本年度は移植後と通常の慢性肝炎での抗ウイルス療法の効果の相違と、移植前抗ウイルス療法の効果を中心に検討した。

共同研究者
長崎大学大学院　移植・消化器外科
助手　江口　晋
助手　高槻　光寿
医員　濱崎　幸司

A. 研究目的

肝移植後の C 型肝炎再発を抑制するためにC型肝炎ウイルスの周術期動態、免疫抑制剤の影響、移植前後の抗ウイルス療法の効果を検討する。

B. 研究方法

長崎大学における C 型肝炎に対する生体肝移植患者 63 例について検討した。使用した免疫抑制剤(ステロイド、カルシニュリンインヒビター)、術後の C 型肝炎ウイルス動態、今回は特に術前の抗ウイルス療法との関連を検討した。

(倫理面への配慮)

当研究開始後の症例では倫理委員会にて承認を受け、患者からの同意を得て、大阪大学へデータの報告を行っている。それ以前の症例に関しては、治療上に必要な採血、肝生検のみを施行しており、倫理的に問題はないものと考えられる。

C. 研究結果

63 例中 C 型肝炎症例は 19 例(30%)で、全例にステロイドを用いた免疫抑制導入を行った。そのうち 3 例でインターフェロン+リバビリンによる移植前抗ウイルス療法を行った。移植前治療には Peg-INF α2a を単独で 90 μg 用いることで tolerability を増加させた。周術期での C 型肝炎ウイルス動態研究より、移植後血中ウイルスRNA量は 2 週間ほどまでが最低であり、その後グラフト機能改善と共に増加することが明らかとなったの

で、移植直前に筋注することにより、移植後のウイルス量が最低の時期にウイルスをeradicate する計画である。本療法にて 1 例は術前 RNA 陽性であったにもかかわらず、術後に定性陰性化し、その後も 2 年間陰性が持続している。他の2例も、SVRの状態が持続している。術後の Peg インターフェロン＋リバビリン療法では生存13例中6例(46%)で Virological response を得ている。

また、免疫抑制剤を投与している生体肝移植患者(n=10)と、通常の慢性C型肝炎患者(n=25)のインターフェロン＋リバビリン療法に対する反応性を検討すると、生体肝移植レシピエントにてその反応性(ウイルス量低下)が抑制されていることが明らかとなった。

D. 考察

当科ではステロイドを投与しているが、ウイルス量が増加してくるのは移植後 2 週目以降であり、その時点でインターフェロン＋リバビリン療法を開始することにより十分 C 型肝炎ウイルスの増殖に対応できると考えている。移植前インターフェロン療法の効果については4文献しか検索することができず、すべてにおいて移植前にウイルス陰性を確保できた症例では術後もSVR症例が持続していた。そこで、肝硬変では保険適応はないものの、移植前治療としてインターフェロンα2a単独療法を可能な症例には施行している。術後のインターフェロン＋リバビリン療法は preemptive に施行し、現在までのところ 6/13(46%)に VR を得ている(観察期間中央値 15ヶ月)。その際には昨年の報告の如く、インターフェロンの細胞内シグナル伝達に有利な CyA への FK506 からの conversion を行なった。これらの種々の試みにて、長期的なグラフト生存に寄与することができると考える。

E. 結論

当科ではステロイド群に登録し、さらなる症例の集積を行い、また独自の肝移植後 C 型肝炎再発に対する効果的な抑制療法のに努める。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Eguchi S, IJtsma AJCI, Slooff MJH, de Jong KP, Peeters PMJG, Porte RJ, Gouw ASH, Kamohara Y, Kanematsu T s with a Diseased Liver Hepatogastroenterology 2006: 53(70); 592-96.

2) Takatsuki M, Eguchi S, Kawashita Y, Kanematsu T. Biliary complications in recipients of living-donor liver transplantation. J Hepatobiliary Pancreat Surg. 2006; 13(6): 497-501.

3) Takatsuki M, Chen CL, Kanematsu T. Anatomical and technical aspects of hepatic artery reconstruction in living

donor liver transplantation. Surgery. 2006;140(5):824-8.

4) Takatsuki M, Eguchi S, Tokai H, Hidaka M, Soyama A, Tajima Y, Kanematsu T. A secured technique for bile duct division during living donor right hepatectomy. Liver Transpl. 2006;12(9):1435-6.

5) Takatsuki M, Miyamoto S, Kanematsu T. Simplified technique for middle hepatic vein tributary reconstruction of a right hepatic graft in adult living donor liver transplantation. Am J Surg. 2006;192(3):393-5.

6) Tokai H, Y Kawashita, Y Kamohara, Eguchi S, Takatsuki M, Tajima Y, Kanematsu T., A case of mucin producing liver metastases with intrabiliary extension.World J Gastroenterol. 2006;12(30):4918-21.

7) Kawashita Y, Takatsuki M, Kamohara Y, Tokai H, Hidaka M, Soyama A, Tajima Y, Kanematsu T. Destructive granuloma derived from a liver cyst: a case report. World J Gastroenterol. 2006; 12 (11): 1798-801.

8) Hidaka M, Kanematsu T, Ushio K, Sunamoto J. Selective and Effective Cytotoxicity of Folic Acid-Conjugated Cholesteryl Pullulan Hydrogel Nanoparticles Complexed with Doxorubicin in *In Vitro* and *In vivo* Studies. Journal of Bioactive and Compatible Polymers 2006 21: 591-602.

9) Kawazoe Y, Eguchi S, Sugiyama N, Kamohara Y, Fujioka H, Kanematsu T. Comparison between bioartificial and artificial liver for the treatment of acute liver failure in pigs. World J Gastroenterol. 2006;12:7503-7.

10) 江口 晋、兼松 隆之 特集 癌に対する低浸襲ならびに機能温存・再建術式 - what's proven, what's not -肝臓癌部分切除 2006;68(1):39-42. 手術

11) 江口 晋、兼松隆之 多発性進行肝細胞癌に対する手術戦略 手術 2006

12) 江口 晋, 兼松 隆之.ここ 30 年の変化 肝原発悪性腫瘍の手術 手術 2006

2. 学会発表

国際学会

1) Eguchi S., Kanematsu T. Living donor liver transplantation in Japan. American College of Surgeons 92nd Annual Clinical Congress Oct 8-12. Chicago.

2) Eguchi S., Takatsuki M, Hidaka M, Soyama A, Tokai H, Tajima Y, Kanematsu T, Nakanuma Y. Autoimmune-related disease after living donor liver transplantation - From a point of view of IgG4 association- 4th Annual single topic conference of JHS. Nagaskai Sept 29-30, 2006,Nagasaki.

3) Eguchi S, Kanematsu T. Living donor liver transplantation for HCV positive patients. Personal views and experience. Neoral-Avisary Board Meeting. Vienna,

Sept 23, 2006.

4) Takatsuki M, Eguchi S, Tokai H, Hidaka M, Soyama A, Kuroki T, Tajima Y, Kanematsu TTECHNICAL INVENTIONS IN LIVING DONOR LIVER SURGERY.: 14th Postgraduate Course of the IASGO, Dec 7-9, Athens, Greece.

5) 江口 晋、川下雄丈、高槻光寿、濱崎幸司、渡海大隆、日高匡章、曽山明彦、望月聡之、永吉茂樹、兼松隆之. 生体肝移植術前後の門脈合併症の検討. 日本肝臓学会総会、京都、5/24-26. (パネルディスカッション)

6) 江口 晋、川下雄丈、高槻光寿、日高匡章、曽山明彦、田島義証、兼松隆之.脂肪肝と肝移植, 消化器病学会九州支部例会 2006, 6/3-4. (シンポジウム)

7) 江口 晋、川下雄丈、高槻光寿、曽山明彦、兼松隆之、市川辰樹 C型肝炎患者に対する肝移植後抗ウイルス療法開始時の FK to CyA conversion は安全に施行できる、日本肝移植研究会、長野 2006 6/22-23 (シンポジウム)

8) 江口 晋、高槻光寿、曽山明彦、日高匡章、田島義証、兼松隆之、市川辰樹 C型肝炎患者に対する肝移植後抗ウイルス戦略 The 68th 日本臨床外科学会. 広島 11/9-11, 2006. (シンポジウム)

9) 市川 辰樹、中尾一彦、江口 晋、高槻光寿、兼松隆之、江口一美 生体肝移植後の抗ウイルス療法 2006.11 日本消化器病学会 九州支部例会 2006 11/15,16 (シンポジウム)

10) 高槻光寿、江口 晋、渡海大隆、日高匡章、曽山明彦、田島義証、兼松隆之. 生体肝移植ドナー手術の工夫 (シンポジウム) 第 42 回日本移植学会総会、9 月 7-9、千葉

11) 山之内 孝彰、蒲原行雄、江口 晋、兼松隆之 「肝放射線照射と低侵襲な増殖刺激による移植肝細胞増殖の試み」(ワークショップ) 第31回日本外科系連合学会学術集会

12) 日高匡章 奥平定之 江口 晋 高槻光寿 渡海大隆 曽山明彦 永吉茂樹 望月聡之 松元成弘 浜崎幸司 川下雄丈 田島義証 兼松隆之 長崎大学 病理部 林 徳真吉 第 61 回日本消化器外科学会 定期学術総会 横浜 2006/7/14 (シンポジウム)

13) 日高匡章 江口 晋 高槻光寿 曽山明彦 渡海大隆 濱崎幸司 宮崎健介 黒木 保 田島義証 兼松隆之第 68 回日本臨床外科学会総会 広島切除後再発、再々発肝細胞癌に対する肝移植適応についての検討 (シンポジウム) 2006/11/9

14) 川下雄丈, 江口晋, 高槻光寿, 松元成弘, 渡海大隆, 日高匡章, 曽山明彦, 望月聡之, 永吉茂樹, 田島義証, 兼松隆之局所療法後の再発肝癌に対する肝切除は移植までの bridge use となりうるか?(会議録) 外科学会 2006

15) 江口 晋、 高槻 光寿、川下雄丈、兼松隆之 Are there any differences in indication for HCC between deceased

and living donor liver transplantation. Surgical Forum, 106th 日本外科学会, 東京, 3/31, 2006.

16) 江口　晋[1]、兼松隆之[1]、MJH Slooff[2]:成人肝移植長期成績向上のための再々肝移植手術成績　-小児肝移植との比較- 2006,6/13-15, 横浜

17) 江口　晋、高槻光寿、日高匡章、渡海大隆、曽山明彦、濱崎幸司、田島義証、兼松隆之、生体右葉肝移植における香港式三角吻合変法による中肝静脈分枝再建、The 42nd 日本移植学会, 幕張, 2006, 9/7-9.

18) 長井一浩、江口　晋、兼松隆之、上平憲　長崎大学における生体肝移植時の輸血療法の現状　第 52 回日本輸血学会九州支部例会

19) 川原大輔、市川辰樹、中尾一彦、江口一美、江口　晋、高槻光寿、兼松隆之　腹腔内播種を認めた悪性中皮腫の一例　2006.11 日本消化器病学会　九州支部例会　2006 11/15,16

20) 高槻光寿、江口晋、川下雄丈、濱田貴幸、渡海大隆、日高匡章、曽山明彦、永吉茂樹、望月聡之、兼松隆之　右葉グラフトを用いた生体肝移植ドナー手術における安全かつ効果的な胆管切離法　ビデオセッション　第24回日本肝移植研究会、6 月 22,23、松本

21) 高槻光寿、川下雄丈、江口　晋、浜田貴幸、渡海大隆、日高匡章、曽山明彦、永吉茂樹、望月聡之、兼松隆之　生体肝移植における種々の左肝グラフト採取に対する liver hanging maneuver の応用　ビデオセッション　第 61 回日本消化器外科学会定期学術総会、7 月 13-15、横浜

22) 高槻光寿、江口　晋、渡海大隆、日高匡章、曽山明彦、濱崎幸司、宮崎健介、田島義証、兼松隆之　生体肝移植ドナーにおける liver hanging maneuver を応用した尾状葉付拡大左葉グラフト採取の手術手技　長崎肝胆膵外科学会、長崎 2006 11/15

23) 高槻光寿、江口　晋、渡海大隆、日高匡章、曽山明彦、田中克己、田島義証、兼松隆之生体肝移植における肝動脈再建：当科の成績と工夫　ビデオサージカルフォーラム. 第 68 回日本臨床外科学会総会、11 月 9-11、広島

24) 高槻光寿、江口晋、川下雄丈、渡海大隆、日高匡章、曽山明彦、永吉茂樹、望月聡之、兼松隆之 ABO 血液型不適合症例に対する生体肝移植：当科の成績. 第 87 回日本消化器病学会九州支部例会、佐賀 2006 6.3-4

25) 高槻光寿、川下雄丈、江口　晋、渡海大隆、日高匡章、曽山明彦、永吉茂樹、望月聡之、濱崎幸司、松元成弘、田島義証、平潟洋一、上平　憲、兼松隆之 MRSA 陽性例に対する生体肝移植の適応と対策　一般演題　第 18 回日本肝胆膵外科学会・学術集会

26) 山之内　孝彰、第106回に本外科学会定期学術集会「虚血再灌流障害におけるグリシンの肝保護効果」 ポスター

27) 曽山明彦　川下雄丈　江口晋　高槻光