

D. 考察

現在、当施設で HCV に対する肝移植後には、少量の Steroid 投与を含めた免疫抑制法を主体にしている。上記の Steroid 投与を伴う免疫抑制下において、HCV 群での急性拒絶反応の発現率は 23.5%であり、PBC 群の 66%と比べ有意に低率であった。Rejection activity index では2群間に差を認めなかったが、PBC 群で2回以上の急性拒絶反応をきたす症例が有意に多かった。6M以内に組織学的なHCV移植肝再発をきたした症例においては、Steroid pulse 施行率が6M以降の再発例・組織学的無再発例と比べ有意に高率であった（平成17年度報告書）。当施設の報告および他文献からも Steroid pulse 療法の施行あるいは急性拒絶反応の存在が組織学的HCV移植肝再発の危険因子であることが示唆される。HCV 群では Steroid 投与量を抑えた免疫抑制下にもかかわらず、急性拒絶反応の発現が低率であったが、急性拒絶反応に対して Steroid pulse 療法を施行した症例でHCV移植肝再発をきたしやすい傾向を認めており、今後の更なる検討を要すると思われる。

E. 結論

HCV と PBC に対する移植後における急性拒絶反応の発現率を報告した。HCV における急性拒絶反応の発現率は、PBC に比べ有意に低率であったが、Steroid pulse 療法施行が HCV 移植肝再発の危険因子となり得ることより、今後の更なる検討を要する。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし。

2. 学会発表

- 1) Sadamori H, Yagi T, Iwagaki H, Ogino T, Tanaka N : EARLY DIAGNOSIS OF RECURRENT HCV HEPATITIS USING IMMUNOHISTOCHEMICAL STAINING OF LIVER GRAFTS WITH A MONOCLONAL ANTIBODY AGAINST HCV-E2. The 2006 Joint International Congress of ILTS, ELTA & LICAGE 2006年5月 Milan, Italy
- 2) 貞森 裕、八木孝仁、松川啓義、松田浩明、篠浦 先、榎田祐三、成島道樹、田中紀章: C型肝硬変に対する生体肝移植の成績と問題点. 第24回日本肝移植研究会 2006年6月松本
- 3) 貞森 裕、八木孝仁、松川啓義、松田浩明、篠浦 先、榎田祐三、成島道樹、岩垣博巳、田中紀章: C型肝硬変に対する生体肝移植成績と組織学的再発診断. 第68回日本臨床外科学会総会 2006年11月広島

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。

厚生労働科学研究費補助金(肝炎等克服緊急対策研究事業)
分担研究報告書

臓器移植における免疫抑制剤の HCV 増殖に対する影響

分担研究者 南木 浩二 東京女子医科大学腎臓病総合医療センター外科 助手
中島 一朗 東京女子医科大学腎臓病総合医療センター外科 講師
淵之上昌平 東京女子医科大学腎臓病総合医療センター外科 助教授
寺岡 慧 東京女子医科大学腎臓病総合医療センター外科 教授

研究要旨: 現在、肝移植における最大の適応疾患となっている C 型肝硬変は、移植後 C 型肝炎ウイルス(HCV)の急速な増殖による肝炎の早期再発が最も重要な予後不良因子とされ、HCV 増殖阻止が最大の課題である。そのため、ウイルス制御を可能とする免疫抑制療法の開発が早急に望まれている。そこで、従来 HCV に対し増殖促進的に作用すると考えられてきた免疫抑制剤が、HCV 増殖に与える影響を培養系と腎移植症例で検討した。

その結果、培養系ではシクロスポリン(CsA)が強力な HCV 増殖抑制効果を示し、またミコフェノール酸モフェチル(MMF)の活性体であるミコフェノール酸(MPA)はインターフェロン(IFN)の抗 HCV 効果を増強させた。HCV 陽性腎移植 72 例の検討では、肝機能障害の発生は 31.9%と決して高くはなく、移植後急速な肝炎の増悪は肝移植特有なものと考えられた。また、肝機能障害や慢性肝炎への移行はタクロリムス投与群に比べ、CsA 群で低い傾向が見られた。さらには、CsA と MMF 投与症例において IFN 療法が奏功した。

以上の結果より、臓器移植における HCV 制御には CsA が有効であり、また IFN 療法では MMF による抗 HCV 効果の増強が期待できる。肝移植特有な C 型肝炎早期再発の機序の解明が今後の課題である。

A. 研究目的

各種免疫抑制剤が C 型肝炎ウイルス(HCV)増殖に与える影響を、培養系ならびに腎移植の臨床症例を対象に解析し、HCV 陽性臓器移植における HCV 制御を目的とした至適免疫抑制プロトコルを確立する。

B. 研究方法

(培養系)

in vitro における HCV の培養は確立され

ていないため、われわれは HCV サブゲノムを自律的に複製するレプリコン細胞の培養系を用いた。われわれの保有するレプリコン細胞(Huh7/Rep-Feo)は導入した HCV 非構造領域の上流にルシフェラーゼ遺伝子を合わせ持つため、遺伝子の定量化を簡便かつ迅速に行える。これに対し、各種免疫抑制剤シクロスポリン(CsA)、タクロリムス(Tac)、ミコフェノール酸モフェチル(MMF)の活性体であるミコフェノール酸(MPA)、メチ

ルプレドニゾロン(MP)の4剤を最終濃度0.01、0.1、1、10 μ g/mLにて投与した。さらに、インターフェロン α -2b(IFN α -2b)を0.01、0.1、1、10IU/mLで単独および上記免疫抑制剤4剤各々と併用投与した。37°C、5%CO₂インキュベーター内で3日間培養後にルシフェラーゼアッセイにて定量測定した。

(腎移植症例)

1990年から2003年に当センターにて施行した腎移植1222例のうち、術前にHCV抗体陽性の72例を対象とし、現在までの肝機能ならびにHCV量の推移を解析した。さらに、このうちIFN療法またはIFN・リバビリン併用療法を行った6例の臨床経過を検討した。

(倫理面への配慮)

臨床例のうちIFNおよびリバビリン療法を行う際には、その必要性ならびに副作用について十分に説明した上で行った。

C. 研究結果

(培養系)

4剤の免疫抑制剤のうち、CsAのみが唯一HCV増殖抑制効果を示し、最終濃度1 μ g/mLにて13.1%の増殖抑制率を認めた。その他のTac、MPA、MPは単独ではHCV増殖抑制効果を示さなかった。一方、IFN単独投与では0.01、0.1、1、10IU/mLの各濃度で59.3、53.2、51.4、34.6%という濃度依存的な増殖抑制効果が見られ、さらにMPAとの併用により、51.0、35.3、26.6、25.4%と抗HCV効果を増強させた。

(腎移植症例)

移植前よりのHCV陽性腎移植72例のうち、1ヶ月以上持続する肝機能障害(AST,ALT \geq 50)を認めたのは23例(31.9%)、うち慢性肝炎化したのは13例で、急性肝炎1例を含む3例が肝不全死したが、無治療による肝機能正常化も9例あり、うち3例はHCV RNA陰性化した。腎移植後肝機能障害を認めなかった49例のうち、11例についても経過中にHCV RNA陰性化した。

CsA投与23例とTac投与45例での比較では、肝機能障害がCsA群で4例(17.4%)、Tac群で18例(40.0%)、さらには慢性肝炎化はCsA群で2例(8.7%)、Tac群で10例(22.2%)と、いずれも有意差はないもののCsA群で低い傾向にあった。

また、IFN療法またはIFN・リバビリン併用療法を施行した6例のうち、治療完遂は4例で、serological biochemical responseは4/4(100%)、serological virological responseは2/4(50%)であった。なお、この6例全例にCsAならびにMMFが投与されていた。

D. 考察

従来、臓器移植における免疫抑制剤はHCV増殖に対して促進的に働くと考えられており、実際肝移植後のC型肝炎は通常の進展様式とは異なり、急速に再発し予後不良であるとの報告が多数なされている。しかし最近、Watashiらにより培養系でのCsAによる抗HCV効果が示され、臨床においてもC型肝炎治療目的にCsA投与がなされつつある。また、多数例での長期観察が可能な

腎移植においては、移植後C型肝炎の経過に関するまとまった報告はなく、肝移植との相違は明らかにされていない。

そこで今回われわれは、まず HCV レプリコン細胞による培養系を用い、各種免疫抑制剤と IFN の HCV 増殖抑制効果につき解析した。その結果、免疫抑制剤の中で CsA は唯一、臨床的有効血中濃度における強力な HCV 増殖抑制効果を示し、同じカルシニューリン阻害剤である Tac に比し、C型肝炎への進展阻止に関して有利であると考えた。また、MPA は単独では抗 HCV 効果を示さなかったが、IFN との併用でその HCV 増殖抑制効果を増強させ、IFN 療法における MMF の併用投与の有用性が示唆された。

さらに、HCV 陽性腎移植 72 例の長期経過観察の結果、肝機能障害の発症は約 3 割と決して多くはなく、さらには自然経過でのウイルス消失例も見られ、肝移植との差異が明確となった。投与されたカルシニューリン阻害剤別に見ると、CsA 群は Tac 群に比べ肝機能障害発生率や慢性肝炎化率で少ない傾向にあり、さらには IFN 療法が奏功し、HCV 陽性腎移植においても CsA の有用性が裏付けられた。

E. 結論

HCV 陽性臓器移植において C 型肝炎進展阻止には、HCV に対する直接的な増殖抑制効果を示す CsA 投与が有用である。さらに、IFN 療法の際には MMF の併用により、抗 HCV 効果増強が期待できる。また、肝移植における C 型肝炎の急速な進展は腎移

植では見られず、肝移植特有なものであることが明確にされた。しかし、肝移植と腎移植で C 型肝炎再発に差異を生じさせる機序はいまだ不明である。おそらく、すでに末期肝硬変となった状態で移植を受ける肝移植とそうでない腎移植における、宿主の HCV に対する何かしらの免疫学的要因の違いによるものと推察されるが、この解明は今後の研究課題である。

F. 健康危険情報

総括研究報告書に記入。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし。

2. 学会発表

- 1) 南木浩二、唐仁原全、中島一郎、瀧之上昌平、坂本直哉、渡辺守、寺岡慧(東京):HCV 陽性肝移植におけるウイルス制御を目指した治療戦略—免疫抑制剤の選択と IFN 療法—。第 106 回日本外科学会定期学術集会(ワークショップ)、2006、3、30
- 2) 南木浩二、唐仁原全、中島一郎、瀧之上昌平、桂川秀雄、山本雅一、坂本直哉、渡辺守、寺岡慧(長野県松本市):C 型肝炎ウイルス増殖に対する免疫抑制剤の及ぼす影響—肝移植後 C 型肝炎再発予防を目的とした免疫抑制プロトコールの開発—。第 24 回日本肝移植研究会(シンポジウム)、2006、6、23

- 3) 南木浩二、唐仁原全、中島一郎、瀧之上昌平、坂本直哉、渡辺守、寺岡慧(千葉県幕張市):HCV陽性肝移植ならびに腎移植におけるウイルス制御を目指した治療戦略の開発. 第42回日本移植学会総会、2006、9、9

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。

厚生労働科学研究費補助金(肝炎等克服緊急対策研究事業)
分担研究報告書

C型肝炎への肝移植後の免疫抑制法に関する研究

分担研究者 橋本俊 藤田保健衛生大学小児外科 教授

研究要旨:C型肝炎例における肝移植後の免疫抑制療法として Cyclosporin と Mycophenolate mofetil を併用し、服薬の安定により HCV-RNA の増幅抑制効果が示唆される結果を得た。

A. 研究目的

C型肝炎患者に対する肝移植後の肝炎再発、肝硬変への進行を防止するのに適した術後免疫抑制法として Cyclosporin(CsA)と Mycophenolate mofetil(MMF)を併用し、免疫抑制と HCV-RNA 増殖抑制効果の検討を目的とした。

B. 研究方法

HCV 肝硬変に対する肝移植後症例では免疫抑制剤を CsA+MMF に変更しており、初回生体肝移植症例では術前 3 日間の MMF 投与、術後 CsA+steroid にて免疫抑制を開始して、経口摂取開始とともに MMF を再開、steroid の早期減量を行う。経過中の肝機能検査の推移と共に血中 HCV-RNA の定量を行い、症例における肝炎再発状況及び HCV の増幅状況の経時的推移を検討する。

(倫理面への配慮)

当研究における研究対象者への不利益、倫理面の問題は無いと考えられる。

C. 研究結果

当施設における3例の生体肝移植症例(うち1例が初回手術症例)と1例の海外での死体全肝移植症例に対しCsA+MMFの併用免疫抑制療法を実施した。1例は遅発性急性拒絶反応と遅発性の門脈血栓症のため肝不全により術後7ヶ月目に、1例はARDS、敗血症のため術後58日目に死亡した。いずれの症例も拒絶反応や、感染、steroid pulse療法を期にHCV-RNAが増幅したものの、その後肝機能の安定とともにCsA+MMFの安定投与下ではHCV-RNAの増幅抑制効果を認めた。

D. 考察

HCV 肝硬変症に対する肝移植後の免疫抑制療法としてのCsA+MMF併用療法は報告が比較的少なく、その効果の是非は明らかになっていない。しかるに、高濃度下ではあるがCsAはHCV-RNAの増殖抑制がほうこくされ、MMFにおいてもRivavirinと同じ核酸合成阻害作用を有することから、この両

薬剤の併用効果は HCV 肝硬変症に対する肝移植後の免疫抑制療法としての有用性が推測された。事実、自験例では死亡した 2 症例を除き、HCV 肝硬変症例における肝移植後免疫抑制療法としての CsA+MMF 併用療法は、投薬量、血中濃度の安定に伴い HCV-RNA の増幅抑制効果を認めた。

3. その他
なし

E. 結論

CsA と MMF による免疫抑制療法には C 型肝炎ウイルスの増幅抑制効果が期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) 橋本俊, 杉岡篤, 加藤充純・京都府京都市・HCV 肝硬変に対する肝移植後における免疫抑制療法 (CsA, MMF 併用療法) の経験・

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

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型肝炎肝移植後ドナー血門脈内投与の肝炎再発への影響

分担研究者 畠山勝義 新潟大学医歯学総合病院 院長

研究要旨:C型肝炎硬変生体肝移植におけるドナー血門脈内投与(DST)と移植後C型肝炎再発について検討した。DST群7例中4例でウイルス消失内2例はSVRであった。その1例ではドナーNKT細胞のマクロキメリズムがグラフト内で確認され、またもう1例の自然消腿例では、NKT細胞でFasL,TRAILの発現が増強、抑制性レセプターであるNKG2Aの発現が減少していた。DSTによりNKT細胞の活性化が促され、C型肝炎再発に何らかの免疫学的関与をしている可能性が示唆された。今後さらなる検討を加え、IFN-リバビリン療法の再発予防の新たな治療法を模索する。

A. 研究目的

C型肝炎硬変に対する生体部分肝移植後の肝炎再発に対する、より良い免疫抑制療法としての門脈内ドナー血投与(DST)のウイルス肝炎再発に対する影響を免疫学的解析も含め検討する。

B. 研究方法

DSTのC型肝炎再発に対する影響と自然消腿例等の免疫学的解析を行なう。
(倫理面への配慮)
患者家族から十分な説明と同意をいただき得た後もいつでも撤回する権利があることを認める。

C. 研究結果

DST群7例中4例でウイルス消失を認めた(2例SVR)。1例でドナーNKT細胞のマクロキメリズムが認められた。さらに自然消腿例

ではNKT細胞のFasL,TRAIL,CD69の発現が増強、抑制性レセプターNKG2A発現が減少していた。

D. 考察

移植後C型肝炎再発にはドナー、およびレシピエントの免疫系が何らかの関与をしている可能性が示唆された。

E. 結論

今後門注DSTの免疫学的解析をさらに進めるとともに、IFN-リバビリン療法を加えた有効なC型肝炎再発予防法を開発する。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- | | |
|---|--|
| <p>1) Sato Y, Ichida T, Ito S, <u>Hatakeyama K.</u>:
Preoperative administration of 5-FU and
interferon beta may prevent recurrence of
hepatitis B and C virus. Am J
Gastroenterol. 2002 Jan;97(1):215-6. No
abstract available.</p> <p>2) Sato Y, Ichida T, Watanabe H, Yamamoto
S, Abo T, <u>Hatakeyama K.</u>:
Macrochimerism of donor type CD56+
CD3+ T cells in donor specific
transfusion via portal vein following
living related donor liver
transplantation. Hepatogastroenterology.
50 (54):2161-5. 2003</p> <p>3) Sato Y, Ichida T, Watanabe H, Yamamoto
S, Oya H, Nakatsuka H, Kobayashi T,
Watanabe T, Kameyama H, <u>Hatakeyama
K.</u>: Repeating intraportal donor-specific
transfusion may induce tolerance
following adult living-related donor liver
transplantation. Hepatogastroenterology.
50(51):601-606.2003</p> | <p>1. 特許取得
なし</p> <p>2. 実用新案登録
なし</p> <p>3. その他
なし</p> |
|---|--|

2.学会発表

- 1) 佐藤好信, 大矢洋, 山本智, 中塚英樹,
小林隆, 渡辺隆興, 畠山勝義. : ドナ
ー血門脈内投与は生体肝移植後 HCV
再感染に影響するか. HCV 自然消滅例
の免疫学的解析. 日本肝移植研究会
(長野県・松本市)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

厚生労働科学研究補助金(肝炎等克服緊急対策研究事業)
分担研究報告書

肝移植後に発症する C 型肝炎の活動性を予測する方法の確立
- Osteopontin Promoter SNPs の有用性 -

分担研究者 藤原研司 横浜労災病院 院長

研究要旨: C 型肝炎硬変, 肝細胞癌に対する肝移植では, 術後の HCV 再感染がほぼ必発である。その際に生じる肝炎の活動性を規定する宿主要因として, Th1 系免疫応答の開始に必須の cytokine である osteopontin の promoter SNPs に注目した。同領域にはほぼ 100% の連鎖不平衡を呈する nt -155, -616, -1,748 の 3SNPs と, これと独立した nt -443 の SNP が存在する。これらのうち, nt -443 の SNP は C 型肝炎慢性肝炎の活動性との関連性が認められている。一方, 連鎖不平衡を呈する 3SNPs は肝炎活動性との関連が見られないが, HepG2 細胞を用いた promoter assay では nt -155 も allele によって転写活性が異なり, その近傍の oligonucleotide には Y 染色体でコードされる SRY が転写因子として結合することが明らかになった。従って, 肝移植後に発症する C 型肝炎の活動性は, ドナーとレシピエントの性別とこれら SNPs の allele に依存して規定される可能性がある。そこで, 現在, 肝移植を実施している 8 施設の協力を得て, C 型肝炎硬変, 肝細胞癌の治療として肝移植を実施したドナー, レシピエントの末梢血を採取して, osteopontin promoter SNPs の遺伝子型を同定する多施設共同研究を進めている。現在までに 9 移植例の 18 検体で SNPs の解析が終了している。今後は症例数を増加させるとともに, 術後の臨床経過との関連性を解析し, 同 SNPs の意義を明確する予定である。一方, 基礎的検討としては nt -155 および nt -443 の SNPs 近傍の oligonucleotide と転写因子の結合性を解析するため, 競合 Gel-shift assay の系を確立し, osteopontin の発現調節を性差との関連で検討している。

< 研究協力者 >

菅原通子 埼玉医科大学・消肝内科・助手
濱岡和宏 埼玉医科大学・消肝内科・助手
稲生実枝 埼玉医科大学・消肝内科・講師
名越澄子 埼玉医科大学・消肝内科・助教授
持田 智 埼玉医科大学・消肝内科・教授
(消肝内科: 消化器内科・肝臓内科)

肝移植後に再発する C 型肝炎の活動性は多彩であり, 短期間に肝硬変に進展する症例が存在する一方で, 血清 ALT 値が正常を維持する症例も認められる。HCV に対する免疫反応性を規定する肝局所の要因が存在し, ドナーとレシピエントの肝におけるその差異によって, 肝移植後の肝炎活動性が規定される可能性がある。

A. 研究目的

C 型肝炎硬変, 肝細胞癌に対する肝移植では, 術後の HCV 再感染がほぼ必発である。

我々は肝移植後に発症する肝炎活動性を規定する宿主要因として Th1 系免疫応答の開始に必須の cytokine である osteopontin の promoter SNPs に注目して検

討してきた。ヒト osteopontin 遺伝子の解析では nt -155, -443, -616, -1,748 の 4 カ所に SNPs が認められ、これらのうち nt -155, -616, -1,748 の 3SNPs はほぼ 100%に近い連鎖不平衡を呈している¹⁾。一方、これと独立した nt -443 の SNP は C 型慢性肝炎における肝炎活動性を規定している可能性があり、無治療で血清 ALT 値が 2 年以上にわたって正常範囲内の患者では、その allele が C/T ないし C/C を呈する頻度が異常値を示す患者に比して有意に高率であった¹⁾。従って、同 SNP は osteopontin 発現を介して肝局所の免疫応答を調節しており、肝移植後の肝炎活動性はドナーとレシピエントの遺伝子型の差異によって規定される可能性がある。

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

B. 研究方法と成績

① 多施設共同研究の進展状況

厚生労働科学研究費補助金：肝炎等克服緊急対策研究事業「C 型肝炎への肝移植後の免疫抑制法に関する研究班」(主任研

究者：門田守人教授)に参加している肝移植実施 14 施設で生体部分肝移植を実施した HCV 陽性の肝硬変ないし肝細胞癌患者およびそのドナーを対象とする。各移植実施施設において術前後に、患者およびドナーに文書によるインフォームド・コンセントを得た上で、5 mL の末梢血を EDTA 添加試験管に採取する。末梢血検体は埼玉医科大学に輸送し、DNA を抽出して Invader 法で osteopontin 遺伝子の promoter SNPs (nt -155, -443, -616, -1,478) を同定する。各施設は肝移植 1 年後までの経過を患者経過用紙に記載して、埼玉医科大学に郵送し、術後経過と患者およびドナーの SNPs との関連を検討することとした。

上記の計画に関しては、埼玉医科大学の倫理委員会による承認が得られている。また、14 施設のうち 8 施設(東北大学、東京大学、信州大学、藤田保健衛生大学、岡山大学、広島大学、九州大学、長崎大学)において、各大学の倫理委員会へ研究計画を申請し、平成 18 年度中に承認が得られた。現在まで、これら 8 施設で 9 移植例(ドナー、レシピエント計 18 例)の末梢血が採取され、埼玉医科大学に送付されて DNA を抽出後に osteopontin 遺伝子の promoter SNPs を同定した。

今後は SNPs を同定する対象数を増加させるとともに、その allele と臨床経過、患者背景との関連を解析し、同 SNPs の意義を明確にする予定である。

② *In vitro*での検討

Osteopontin 遺伝子の promoter 領域を nt 0 から-658 まで PCR で増幅し, HepG2 細胞に導入して転写活性を測定したところ, nt -443 は allele C に比して T の活性が亢進しており, nt -155 は deletion mutation に比して allele G の活性が著しく低下していることが判明した。PC による解析では, nt -155 の近傍の oligonucleotide には deletion, G の何れの場合でもあって SRY が結合するのに対して, HFH-2 は deletion の場合にのみ結合すると推定された。SRY は Y 染色体でコードされることから, nt -155 の SNP を介する転写調節は性差が存在する可能性がある。現在, その結合性の差異を gel-shift assay で証明する基礎実験を進めているが, 1 塩基の違いを同 assay で証明するのは困難であることが判明した。そこで, ビオチン標識 oligonucleotide と異なる allele の非標識 oligonucleotide を量を変えて添加する競合 gel-shift assay 系で, 更に, 雄性, 雌性細胞由来の核抽出物を利用することで転写調節における性差をも評価できる実験系の確立することを目指して, preliminary な検討を進めている。

C. 考案と結語

現在までに 9 移植例のドナーおよびレシピエントにおいて, osteopontin 遺伝子の promoter SNPs の allele を同定した。今後, 症例数を増加させる必要があるが, これら

の allele と臨床経過との関連を解析することによって, 肝移植後に再発する C 型肝炎の活動性を規定する宿主要因としての同 SNPs の意義を明確にできるものと考えている。なお, 同 SNPs に関する基礎検討の過程で, nt -155 の SNP を介する転写調節には性差が見られる可能性が明らかになった。従って, 現在進行中の肝移植を実施患者とそのドナーにおける遺伝子解析も, 特に nt -155 の SNP の成績を評価する際には, 性差を考慮することが必要となろう。

D. 健康危険情報

特になし

E. 参考論文

- 1) Mochida S, Hashimoto M, Matsui A, *et al.* Genetic polymorphisms in promoter region of osteopontin gene may be a marker reflecting hepatitis activity in chronic hepatitis C patients. *Biochem Biophys Res Commun* 313: 1079-1085, 2004.

F. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得 出願番号:P2003332067
2003年9月24日
2. 実用新案登録 なし

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 型肝炎への肝移植後の免疫抑制法に関する研究

分担研究者 前原喜彦 九州大学大学院消化器・総合外科 教授

研究要旨:C 型肝炎に対して生体肝移植を施行した 20 例でステロイドフリー免疫抑制を行なった。ステロイドフリーにより、術後早期の HCV-RNA 量は低い傾向にあった。更なる症例の集積と他治療との比較が必要である。

A. 研究目的

C 型肝炎陽性症例に対する肝移植後の肝炎再発はほぼ必発と考えられる。ステロイドを用いない免疫抑制療法による生体肝移植後 C 型肝炎再発に関する検討を行なう。

B. 研究方法

2006 年 12 月までに九州大学病院にて施行した生体肝移植症例 244 例のうち、C 型肝炎陽性症例 89 例中 20 例にステロイドフリーの免疫抑制療法を行なった。免疫抑制法と術後 C 型肝炎再発との関係を検討した。(倫理面への配慮)

免疫抑制は各症例毎に十分な説明後に書面による同意を得て行なった。

C. 研究結果

C 型肝炎症例全体の 1 年生存率は 83.7%、5 年生存率は 72.3%、組織学的再発は 1 年で 76.3%に認めた。ステロイドフリー群はステロイド使用群とグラフト生存率、繊維化進展率

で有意差を認めなかったが、移植後 1 ヶ月後の HCV-RNA 量はステロイドフリー群(平均 923 KIU/ml)が使用群(平均 2234 KIU/ml)に比し、有意に低値であった。

D. 考察

ステロイドフリーによる免疫抑制療法は安全に施行しうるが、肝移植後の C 型肝炎再発を有意には抑制しなかった。しかしながら、移植後早期の HCV-RNA 量は、ステロイドフリーにより抑制されるため、インターフェロンの早期導入等によりウイルスの排除を有効に行なうことができる可能性が示唆された。

E. 結論

ステロイドフリー免疫抑制療法は C 型肝炎再発の早期治療に有利な傾向があることが示唆された。更なる症例の集積、早期インターフェロン導入とのカップリング治験が必要である。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Soejima Y., Taguchi T., Ogita K., Taketomi A., Yoshizumi T., Uchiyama H., Ohno T., Shimada M., Maehara Y. Auxiliary orthotopic living-donor liver transplantation for a child with congenital absence of the portal vein. Liver Transpl. 2006 ; 12 : 845-9.
- 2) Soejima Y., Taketomi A., Yoshizumi T., Uchiyama H., Harada N., Ijichi H., Yonemura Y., Shimada M., Maehara Y. Biliary strictures in living donor liver transplantation: incidence, management and technical evolution. Liver Transpl. 2006 ; 12 : 979-86.
- 3) Soejima Y., Taketomi A., Yoshizumi T., Uchiyama H., Harada N., Ijichi H., Yonemura Y., Shimada M., Maehara Y. Feasibility of left-lobe living donor liver transplantation between adults: a single center experience of 107 cases. Am J Transpl. 2006 ; 6 : 1004-11.
- 4) Soejima Y., Shimada M., Suehiro T., Yoshizumi T., Kishikawa K., Maehara Y. Reconstruction of the middle hepatic vein tributaries using the recipient's recanalized umbilical vein in right-lobe living donor liver transplantation. Surgery. 2006 ; 139 : 442-5.
- 5) Uchiyama H., Soejima Y., Taketomi A., Yoshizumi T., Harada N., Ijichi H., Yonemura Y., Maehara Y. Successful adult-to-adult living donor liver transplantation in a patient with moderate to severe portopulmonary hypertension. Liver Transpl. 2006 ; 12 : 481-4.
- 6) Nagata S., Okano S., Yonemitsu Y., Nakagawa K., Tomita Y., Yoshikai Y., Shimada M., Maehara Y., Sueishi K. Critical roles of memory T cells and antidonor immunoglobulin in rejection of allogeneic bone marrow cells in sensitized recipient mice. Transplantation. 2006 ; 82 (5) : 689-98.
- 7) Ijichi H., Taketomi A., Yoshizumi T., Uchiyama H., Yonemura Y., Soejima M., Shimada M., Maehara Y. Hyperbaric oxygen induces vascular endothelial growth factor and reduces liver injury in regenerating rat liver after partial hepatectomy. J Hepatol. 2006 ; 45 : 28-34.
- 8) 吉住朋晴、武富紹信、副島雄二、内山秀昭、池上徹、原田昇、萱島寛人、山下洋市、居村暁、森根裕二、島田光生、前原喜彦。生体肝移植後ステロイドフリー免疫抑制法によるC型肝炎再発の制御。日本移植学会雑誌。 2006 ; 41 : 427-33.

2. 学会発表

- 1) 原田昇、武富紹信、吉住朋晴、内山秀昭、山下洋市、辻田英司、播本憲史、伊

- 地知秀樹、米村祐輔、北川大、前原喜彦：C型肝炎陽性肝硬変に対する生体肝移植と術後低容量長期インターフェロン投与によるウイルスの制御，第106回日本外科学会，2006.3.29(東京)
- 2) 吉住朋晴、武富紹信、内山秀昭、川中博文、山下洋市、原田昇、播本憲史、辻田英司、萱島寛人、伊地知秀樹、米村祐輔、前原喜彦：生体肝移植における脾臓摘出の有用性，第42回日本肝臓学会総会，2006.5.25(京都)
- 3) 吉住朋晴、島田光生、前原喜彦：C型肝炎陽性肝移植症例に対する免疫抑制法，第24回日本肝移植研究会，2006.6.22(松本)
- 4) 吉住朋晴、武富紹信、中牟田誠、副島雄二、内山秀昭、吉本剛、国府島庸之、原田昇、池上徹、山下洋市、島田光生、前原喜彦：生体肝移植後ステロイドフリー免疫抑制法によるC型肝炎再発の制御，第24回日本肝移植研究会，2006.6.22(松本)
- 5) 永山稔、武富紹信、副島雄二、吉住朋晴、内山秀昭、池上徹、山下洋市、原田昇、平田公一、前原喜彦：C型肝硬変に対するステロイドフリー免疫抑制療法による成人間生体肝移植の成績，第61回日本消化器外科学会総会，2006.7.13(横浜)
- 6) 吉住朋晴、武富紹信、副島雄二、内山秀昭、山下洋市、原田昇、辻田英司、播本憲史、島田光生、前原喜彦：成人間生体肝移植の治療成績：現状と今後の課題，第61回日本消化器外科学会総会，2006.7.13(横浜)
- 7) 池上徹、武富紹信、副島雄二、吉住朋晴、山下洋市、原田昇、伊藤心二、北川大、黒田陽介、萱島寛人、實藤健作、井口友宏、前原喜彦：C型肝硬変に対する肝移植治療成績向上のための戦略，第68回日本臨床外科学会総会，2006.11.9(広島)
- 8) 池上徹、武富紹信、副島雄二、山下洋市、原田昇、目黒 誠、伊藤心二、北川大、黒田陽介、萱島寛人、實藤健作、井口友宏、前原喜彦：生体肝移植後C型肝炎再発の対策と今後の展開，第68回日本臨床外科学会，2006.11.9(広島)
- H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)
1. 特許取得
なし。
 2. 実用新案登録
なし。
- 9) 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

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

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

研究要旨: C型肝炎ウイルス陽性症例の肝移植は、陰性症例に比べ、予後不良なことが欧米の脳死肝移植の経験から明らかになっており、その背景には、肝炎ウイルスの再燃が大きく関与している。C型肝炎ウイルス陽性症例に対する肝移植の成績向上のためには、主に術後のウイルス治療の方針を工夫する必要がある。血球数が少なく、治療による汎血球減少が予想されるため、治療ができない症例には、脾動脈塞栓術・脾摘術が有用である可能性がある。

A. 研究目的

肝移植後のC型肝炎ウイルス再燃は10%の割合で胆汁鬱滞性肝炎を引き起こし、グラフトロスにつながる。また、これに対する再移植の成績も不良とされている。現在、C型肝炎ウイルスに対する治療はインターフェロン+リバビリンが代表的なものであり、東京大学においては、C型肝炎陽性の肝移植患者全例を対象として、術後、予防的抗ウイルス療法を施行している。

B. 研究方法

肝炎再発・再燃をまたず、併用療法を行う予防治療の是非については、古くから検討されている。脳死肝移植では、予防的治療は一般的ではないが、教室では、早期より、試みてきた。全身状態の改善をみて術

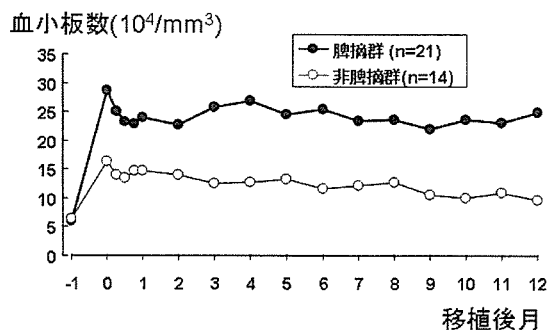
後1ヶ月をめぐりにインターフェロン alpha2b とリバビリンによる併用療法を行っている。インターフェロン alpha2b は100万単位から始め、300万単位週3回まで徐々に増量する。リバビリンは400 mg/日からスタートし、骨髄抑制、うつ傾向、溶血性貧血などの重篤な合併症の出現の有無を確認する。特に問題なければ、各々、600万単位週3回、リバビリンは600 mg/日にドーズアップしている。インターフェロン alpha2b は適時、ペグインターフェロンに変更する。併用療法はHCV陰転をみて1年継続する。

インターフェロン開始後の血球減少を抑制する目的で、2003年12月以前は術前血小板数が5万/mm³未満の症例のみ、それ以降は、C型肝炎陽性症例全例で、移植手

術中に脾摘を施行した。2003年12月前後の症例(術中脾摘を施行した症例21例と施行しなかった14例)で historical control study を行い、併用療法の compliance に与える効果を比較した。

C. 研究結果

脾摘群の29%、非脾摘群の21%が治療の中断に至り、両群間に有意差はなかったが、施行群で経過中、血小板を有意に高値に維持することができた(図)。治療終了後には脾摘群の48%、非脾摘群の29%でC型肝炎ウイルスRNAが陰転化した(いわゆる end of treatment virological response)。なお脾摘群のうち2例に脾摘に起因すると思われる膈液瘻を認め、再手術を要した。



D. 考察

慢性肝炎に対するインターフェロンに際して、あるいは肝硬変症例に対する門脈圧亢進症治療目的に、部分的脾動脈塞栓 (partial splenic embolization、PSE) は古くから施行されている。しかし移植後肝炎再発に対する併用療法の compliance 上昇を目的とした PSE は、文献上、意外にも症例が

蓄積していない。スペインのグループ²⁾は3例を対象に移植後6-130週後、PSEを施行した。PSE前の血小板数は4-5万/mm³であった。平均85%の梗塞域をつくり、PSE後には12.8-24.3万/mm³に上昇した。全例でペグインターフェロンとリバビリンとの併用療法が開始できたと報告している。PSEの合併症は軽度でいずれも一時的なものであった。

移植後の併用療法としては再発・再燃を認めてからの治療が一般的である。ところが、術後しばらくしての脾摘となると、癒着もあり、その中で大きな脾臓を摘出するのは、必ずしも容易ではない。困難な手術につきものの合併症を考慮すると、脾摘の代用としての PSE は、その効果が、脾摘に比較して、限定的な可能性があるにせよ、妥当な選択かもしれない。

E. 結論

C型肝炎ウイルス陽性患者に対する予防的抗ウイルス療法は、安全で、肝炎再燃の抑制に有効な治療といえる。主に術後のウイルス治療の方針を工夫する必要がある。血球数が少なく、治療による汎血球減少が予想されるため、治療ができない症例には、脾動脈塞栓術・脾摘術が有用である可能性がある。

F. 健康危険情報

とくになし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Sugawara Y, Makuuchi M. Living donor liver transplantation to patients with hepatitis C virus cirrhosis. World J Gastroenterol 12(28):4461-4465, 2006
- 2) Sugawara Y, Kaneko J, Makuuchi M. Cyclosporin a for treatment of hepatitis C virus after liver transplantation. Transplantation 82(4):579-580, 2006

2. 学会発表

- 1) 菅原寧彦、幕内雅敏 肝移植後に再発するC型肝炎の予防と治療 第24回日本肝移植研究会 長野県松本市 2006年6月22日-23日

H. 知的財産権の出願・登録状況

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型肝炎への肝移植後の免疫抑制法に関する研究

分担研究者 宮川眞一 信州大学移植外科 教授

中澤勇一 信州大学移植外科 講師

研究要旨:2006年9月から2007年2月までに信州大学移植外科にて生体肝移植が施行された術前 HCV-RNA 陽性の成人7症例における再発 C 型肝炎の組織診断における HCV 免疫組織染色の有用性について検討した。7例のうち6例で組織学的(HE 染色)に再発 C 型肝炎が診断された。これら症例における肝生検標本を用い HCV の NS3 に対する抗体を用い免疫組織染色を行った。5例においては、1回のみ肝生検が施行され、それら肝生検では少数の肝細胞(3-5%)に陽性であった。再発肝炎による肝機能異常は、これら5例においては、いずれも改善した。1例では4回の肝生検が施行されており、1回目の肝生検で他の症例よりもやや多くの肝細胞に陽性所見が認められた(8%)。その後の2回目肝生検では陽性肝細胞数が18%へ増加した。この症例では、抗ウイルス療法施行するも有効でなく、線維化の進行・黄疸の進行が認められた。HCV に対する肝移植後の肝生検標本に対する HCV 免疫組織染色はその陽性肝細胞数が、以後の再発肝炎の予後予測因子となりうる可能性が示唆された。

A. 研究目的

再発 C 型肝炎の典型的な組織所見として、門脈域のリンパ球浸潤、肝細胞の Apoptosis、小葉内(類洞内)リンパ球浸潤などが挙げられている。組織診断は、再発肝炎に対する抗ウイルス療法の導入決定のために必須であるが、その組織所見が拒絶反応と Overlap しており、時にその鑑別が困難な場合が存在する。また、近年肝移植後の組織所見がその後の肝硬変への進行などの再発肝炎の転帰を予測する可能性についても報告されている。

非移植患者での組織検査における HCV 免疫組織染色の有用性については未だ明らかとされていない、しかし、肝移植後の患者

においては HCV 免疫組織染色は、拒絶反応と再発 C 型肝炎の鑑別ならびに、様々な条件下の移植肝における HCV の動態の観察を可能にするものと考えられる。

B. 研究方法

2006年9月から2007年2月までに信州大学移植外科にて生体肝移植が施行された術前 HCV-RNA 陽性の成人7症例における再発 C 型肝炎の組織診断における HCV 免疫組織染色の有用性について検討した。7例のうち6例で組織学的(HE 染色)に再発 C 型肝炎が診断された。これらの肝生検標本で HCV の NS3 に対する抗体を用い免疫組織染色を行った。