

that the recurrence rate should be lower than for recipients who wait for an organ from a deceased donor.³⁷ When liver transplantation is performed as a therapy for HCC, recurrent HCC is nevertheless one of the most fatal complications. The management for the prevention of organ rejection requires the use of postoperative immunosuppressive therapy; however, immunosuppressants increase the incidence of recurrence or metastasis of cancer and induce cancer progression. The immunosuppressive regimen currently used after liver transplantation, consisting of tacrolimus/cyclosporine and methylprednisolone, reduces adaptive components of cellular immunity (predominantly T cell-mediated immune responses), while maintaining innate components of cellular immunity.^{3,38,39} Because immune surveillance against tumors is mediated by both innate and adoptive components of cellular immunity, augmentation of NK cell responses to tumors, which have been thought to play a central role in innate immunity against tumors, might be a promising immunotherapy approach. Several therapeutic cytokines including IL-2 and IFNs primarily act through NK cells, and many studies have shown that activation of NK cell differentiation and function leads to a more efficient elimination of tumor growth⁵⁻⁹; however, the systemic administration of those cytokines is likely associated with an acceleration of alloimmune responses leading to liver allograft rejection. Hence, the adoptive transfer of cytokine-modulated NK cells might be a reasonable approach in preventing recurrence of HCC after liver transplantation, while minimizing effects on alloimmune responses.

NK cells in the blood stream are ready to kill any cell.^{1,2} Healthy cells are spared by their MHC class I molecules, which bind to corresponding inhibitory receptors on NK cells so that only cells with altered or lacking MHC class I molecules, a mechanism to escape recognition by MHC-restricted CD8⁺ T lymphocytes, are killed because of missing inhibitory mechanisms.^{32,33,40,41} The cytotoxic activities of NK cells are controlled by a variety of receptors including CD94/NKG2 and KIRs (CD158a/CD158b), which bind to respective MHC class I molecules on target cells. NK cells can discriminate not only between different class I molecules but also between certain allotypes that differ in single amino acid substitutions at positions 77 and 80 in the 1 domain of the 2 HLA-C groups.^{42,43} This process can contribute to detection of transformed cells because downregulation of selected allotypes is an event often occurring in the progression of some tumor types. The group of inhibitory receptors is reported to have higher affinity of ligand binding than the activating group, and thus the inhibitory receptors may play a more dominant role in regulating the

cytotoxic activities of NK cells.⁴⁴ HCC cell lines, such as HepG2 and HuH-7, have been reported to lose or decrease the expression of HLA-B and -C alleles on the cell surface.^{23,45} The only requirement for NK cell receptor repertoire development appears to be that every NK cell express at least one inhibitory receptor specific for autologous HLA class I, thereby ensuring tolerance against healthy cells sharing 1-haplotype MHC molecules.^{46,47}

In the current study, we have determined functional properties of liver NK cells extracted from donor and recipient liver perfusates in clinical LDLT. Liver NK cells have never been used for the adoptive transfer to mount anti-tumor activity, because of the limited availability of liver NK cells in a clinical setting. In liver transplantation, *ex vivo* perfusion of the liver through the portal vein should inevitably be done for flushing blood from the liver graft before implantation to avoid intragraft coagulation. We have demonstrated that liver perfusates, which usually are thrown away, contain large amounts of NK cells. Donor liver NK cells showed the most vigorous cytotoxicity against a HCC cell line after *in vitro* IL-2 stimulation, when compared with donor and recipient PB NK cells and recipient liver NK cells. The higher anti-tumor activity of liver NK cells than PB NK cells has been well demonstrated in mice, although mechanisms underlying this fact remain unclear.^{15,16} The consistent results were observed in healthy donors, but not in recipients with cirrhosis. The cytotoxicity of PB NK cells against HepG2 per se did not differ between donors and recipients, but that of liver NK cells from livers with cirrhosis were significantly impaired, regardless of the presence or absence of IL-2 stimulation.

Previously published data redefine NK cells as potent constitutive immune effectors, which are able to use not only the perforin-mediated secretory/necrotic mechanism to kill rare leukemia cell targets, but also a powerful TNF family ligand-mediated nonsecretory apoptotic mechanism to destroy most solid tumor cell targets.³⁴ TRAIL is highly expressed on most NK cells after stimulation with IL-2, IFNs, or IL-15 in mice.^{9,19,48} Neutralization of TRAIL additively enhanced liver metastasis in perforin-deficient mice but not in IFN- γ -deficient mice.⁹ These findings clearly place perforin and TRAIL as the 2 key cytotoxic effector pathways used by NK cells. From the current study in human, we now appreciate that freshly isolated liver NK cells barely express a detectable level of TRAIL on their surface, but a remarkable level of TRAIL expression can be induced, preferentially on liver NK cells, by stimulation with IL-2. Taken together with the finding that poorly differentiated HCCs highly express the death-inducing TRAIL receptors (DR 4 and DR5), which contain cytoplasmic death domains and signal ap-

optosis, as well as HepG2, adoptive transfer of IL-2-stimulated NK cells extracted from donor liver grafts are likely to mount an anti-tumor response without causing toxicity against recipient intact tissue, at least in 1-haplotype identical combination. If this approach were to be used in clinical applications, it should be taken into account that T cells contaminants in donor LMNCs might cause graft-versus-host responses after adoptive transfer to the corresponding recipient. Hence, we confirmed that *in vitro* treatment with muromonab-CD3 (Janssen-Cilag, The Netherlands) leads to complete ligation of MAbs on CD3⁺ T and CD3⁺CD56⁺ NKT cells in IL-2-stimulated LMNCs (data not shown). Such MAbs-binding cells should be opsonized *in vivo* after adoptive transplantation. Furthermore, this treatment did not attenuate cytotoxic activity of IL-2-stimulated donor LMNCs against HepG2 (data not shown).

The mean yield of NK cells from donor liver perfusates was $0.5 \pm 0.1 \times 10^6$ cells/g liver-weight in this study. Because graft weight and graft-to-recipient body weight ratio ranged from 262 to 900 g (mean weight, 579 ± 132 g) and from 0.51% to 1.42% (mean ratio, $0.97\% \pm 0.17\%$), respectively, a maximum of 100 to 250×10^6 NK cells can be used for the adoptive transfer even without further treatment to promote their proliferation. The optimal dose of liver NK cells needs to be elucidated to bring this approach closer to clinical application.

In conclusion, liver NK cells inductively express TRAIL. IL-2-stimulated donor liver NK cells have the vigorous cytotoxicity against HCC.

Acknowledgment: The authors thank Drs. Daisuke Tokita, Takashi Onoe, Kentaro Ide, Wendy Zhou, Masayuki Shishida, Yasuhiro Fudaba, Hirotaka Tashiro, and Toshiyuki Itamoto for their advice and encouragement, and Yuka Tanaka and Yuko Ishida for their expert technical assistance.

References

- Trinchieri G. Biology of natural killer cells. *Adv Immunol* 1989;47:187-376.
- Yokoyama WM. Natural killer cells. In: Paul EW, ed. *Fundamental Immunology*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1999:575-603.
- Miller JS, Soignier Y, Panoskaltis-Mortari A, McNearney SA, Yun GH, Fautsch SK, et al. Successful adoptive transfer and *in vivo* expansion of human haploidentical NK cells in patients with cancer. *Blood* 2005;105:3051-3057.
- Klingemann HG, Martinson J. *Ex vivo* expansion of natural killer cells for clinical applications. *Cytotherapy* 2004;6:15-22.
- Rosenberg SA, Lotze MT, Muul LM, Chang AE, Avis FP, Leitman S, et al. A progress report on the treatment of 157 patients with advanced cancer using lymphokine-activated killer cells and interleukin-2 or high-dose interleukin-2 alone. *N Engl J Med* 1987;316:889-897.
- Brunda MJ, Luistro L, Warrior RR, Wright RB, Hubbard BR, Murphy M, et al. Antitumor and antimetastatic activity of interleukin 12 against murine tumors. *J Exp Med* 1993;178:1223-1230.
- Takeda K, Hayakawa Y, Smyth MJ, Kayagaki N, Yamaguchi N, Kakuta S, et al. Involvement of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in surveillance of tumor metastasis by liver natural killer cells. *Nat Med* 2001;7:94-100.
- Kennedy MK, Glaccum M, Brown SN, Butz EA, Viney JL, Embers M, et al. Reversible defects in natural killer and memory CD8 T cell lineages in interleukin 15-deficient mice. *J Exp Med* 2000;191:771-780.
- Smyth MJ, Cretney E, Takeda K, Wiltrott RH, Sedger LM, Kayagaki N, et al. Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) contributes to interferon gamma-dependent natural killer cell protection from tumor metastasis. *J Exp Med* 2001;193:661-670.
- Talmadge JE, Phillips H, Schindler J, Tribble H, Pennington R. Systematic preclinical study on the therapeutic properties of recombinant human interleukin 2 for the treatment of metastatic disease. *Cancer Res* 1987;47:5725-5732.
- Leung W, Iyengar R, Turner V, Lang P, Bader P, Conn P, et al. Determinants of antileukemia effects of allogeneic NK cells. *J Immunol* 2004;172:644-650.
- Meller B, Frohn C, Brand JM, Lauer I, Schelper LF, von Hof K, et al. Monitoring of a new approach of immunotherapy with allogeneic (111)In-labelled NK cells in patients with renal cell carcinoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2004;31:403-407.
- Takahashi M, Ogasawara K, Takeda K, Hashimoto W, Sakihara H, Kumagai K, et al. LPS induces NK1.1+ alpha beta T cells with potent cytotoxicity in the liver of mice via production of IL-12 from Kupffer cells. *J Immunol* 1996;156:2436-2442.
- Crispe IN, Mehal WZ. Strange brew: T cells in the liver. *Immunol Today* 1996;17:522-525.
- Seki S, Habu Y, Kawamura T, Takeda K, Dobashi H, Ohkawa T, et al. The liver as a crucial organ in the first line of host defense: the roles of Kupffer cells, natural killer (NK) cells and NK1.1 Ag+ T cells in T helper 1 immune responses. *Immunol Rev* 2000;174:35-46.
- Ochi M, Ohdan H, Mitsuta H, Onoe T, Tokita D, Hara H, et al. Liver NK cells expressing TRAIL are toxic against self hepatocytes in mice. *HEPATOLOGY* 2004;39:1321-1331.
- Walczak H, Miller RE, Ariail K, Gliniak B, Griffith TS, Kubin M, et al. Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand *in vivo*. *Nat Med* 1999;5:157-163.
- Wiley SR, Schooley K, Smolak PJ, Din WS, Huang CP, Nicholl JK, et al. Identification and characterization of a new member of the TNF family that induces apoptosis. *Immunity* 1995;3:673-682.
- Pitti RM, Marsters SA, Ruppert S, Donahue CJ, Moore A, Ashkenazi A. Induction of apoptosis by Apo-2 ligand, a new member of the tumor necrosis factor cytokine family. *J Biol Chem* 1996;271:12687-12690.
- Pan G, O'Rourke K, Chinnaiyan AM, Gentz R, Ebner R, Ni J, et al. The receptor for the cytotoxic ligand TRAIL. *Science* 1997;276:111-113.
- Sheridan JP, Marsters SA, Pitti RM, Gurney A, Skubatch M, Baldwin D, et al. Control of TRAIL-induced apoptosis by a family of signaling and decoy receptors. *Science* 1997;277:818-821.
- Ohdan H, Mizunuma K, Tashiro H, Tokita D, Hara H, Onoe T, et al. Intraoperative near-infrared spectroscopy for evaluating hepatic venous outflow in living-donor right lobe liver. *Transplantation* 2003;76:791-797.
- Kurokohchi K, Carrington M, Mann DL, Simonis TB, Alexander-Miller MA, Feinstein SM, et al. Expression of HLA class I molecules and the transporter associated with antigen processing in hepatocellular carcinoma. *HEPATOLOGY* 1996;23:1181-1188.
- Strater J, Hinz U, Walczak H, Mechttersheimer G, Koretz K, Herfarth C, et al. Expression of TRAIL and TRAIL receptors in colon carcinoma: TRAIL-R1 is an independent prognostic parameter. *Clin Cancer Res* 2002;8:3734-3740.
- Kawarabayashi N, Seki S, Hatsuse K, Ohkawa T, Koike Y, Aihara T, et al. Decrease of CD56(+)T cells and natural killer cells in cirrhotic livers with hepatitis C may be involved in their susceptibility to hepatocellular carcinoma. *HEPATOLOGY* 2000;32:962-969.
- Doherty DG, Norris S, Madrigal-Estebas L, McEntee G, Traynor O, Hegarty JE, et al. The human liver contains multiple populations of NK

- cells, T cells, and CD3+CD56+ natural T cells with distinct cytotoxic activities and Th1, Th2, and Th0 cytokine secretion patterns. *J Immunol* 1999;163:2314-2321.
27. Yuen MF, Norris S. Expression of inhibitory receptors in natural killer (CD3(-)CD56(+)) cells and CD3(+)CD56(+) cells in the peripheral blood lymphocytes and tumor infiltrating lymphocytes in patients with primary hepatocellular carcinoma. *Clin Immunol* 2001;101:264-269.
 28. Cooper MA, Fehniger TA, Turner SC, Chen KS, Ghaheri BA, Ghayur T, et al. Human natural killer cells: a unique innate immunoregulatory role for the CD56(bright) subset. *Blood* 2001;97:3146-3151.
 29. Jacobs R, Stoll M, Stratmann G, Leo R, Link H, Schmidt RE. CD16-CD56+ natural killer cells after bone marrow transplantation. *Blood* 1992;79:3239-3244.
 30. Braud VM, Allan DS, O'Callaghan CA, Soderstrom K, D'Andrea A, Ogg GS, et al. HLA-E binds to natural killer cell receptors CD94/NKG2A, B and C. *Nature* 1998;391:795-799.
 31. Borrego F, Ulbrecht M, Weiss EH, Coligan JE, Brooks AG. Recognition of human histocompatibility leukocyte antigen (HLA)-E complexed with HLA class I signal sequence-derived peptides by CD94/NKG2 confers protection from natural killer cell-mediated lysis. *J Exp Med* 1998;187:813-818.
 32. Moretta A, Vitale M, Sivori S, Bottino C, Morelli L, Augugliaro R, et al. Human natural killer cell receptors for HLA-class I molecules: evidence that the Kp43 (CD94) molecule functions as receptor for HLA-B alleles. *J Exp Med* 1994;180:545-555.
 33. Karre K, Ljunggren HG, Piontek G, Kiessling R. Selective rejection of H-2-deficient lymphoma variants suggests alternative immune defence strategy. *Nature* 1986;319:675-678.
 34. Vujanovic NL, Nagashima S, Herberman RB, Whiteside TL. Nonsecretory apoptotic killing by human NK cells. *J Immunol* 1996;157:1117-1126.
 35. Wiesner RH, Freeman RB, Mulligan DC. Liver transplantation for hepatocellular cancer: the impact of the MELD allocation policy. *Gastroenterology* 2004;127:S261-267.
 36. Kulik L, Abecassis M. Living donor liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2004;127:S277-282.
 37. Axelrod D, Koffron A, Kulik L, Al-Saden P, Mulcahy M, Baker T, et al. Living donor liver transplant for malignancy. *Transplantation* 2005;79:363-366.
 38. Hirata M, Kita Y, Saito S, Nishimura M, Ito M, Mizuta K, et al. Increase in natural killer cell activity following living-related liver transplantation. *Transpl Int* 1998;11(Suppl. 1):S185-S188.
 39. Harada N, Shimada M, Okano S, Suehiro T, Soejima Y, Tomita Y, et al. IL-12 gene therapy is an effective therapeutic strategy for hepatocellular carcinoma in immunosuppressed mice. *J Immunol* 2004;173:6635-6644.
 40. Alcami A, Koszinowski UH. Viral mechanisms of immune evasion. *Immunol Today* 2000;21:447-455.
 41. Falk CS, Mach M, Schendel DJ, Weiss EH, Hilgert I, Hahn G. NK cell activity during human cytomegalovirus infection is dominated by US2-11-mediated HLA class I down-regulation. *J Immunol* 2002;169:3257-3266.
 42. Colonna M, Moretta A, Vely F, Vivier E. A high-resolution view of NK-cell receptors: structure and function. *Immunol Today* 2000;21:428-431.
 43. Winter CC, Gumperz JE, Parham P, Long EO, Wagtmann N. Direct binding and functional transfer of NK cell inhibitory receptors reveal novel patterns of HLA-C allotype recognition. *J Immunol* 1998;161:571-577.
 44. Lopez-Botet M, Bellon T. Natural killer cell activation and inhibition by receptors for MHC class I. *Curr Opin Immunol* 1999;11:301-307.
 45. Matsui M, Machida S, Tomiyama H, Takiguchi M, Akatsuka T. Introduction of tapasin gene restores surface expression of HLA class I molecules, but not antigen presentation of an HIV envelope peptide in a hepatoma cell line. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;285:508-517.
 46. Shilling HG, McQueen KL, Cheng NW, Shizuru JA, Negrin RS, Parham P. Reconstitution of NK cell receptor repertoire following HLA-matched hematopoietic cell transplantation. *Blood* 2003;101:3730-3740.
 47. Valiante NM, Uhrberg M, Shilling HG, Lienert-Weidenbach K, Arnett KL, D'Andrea A, et al. Functionally and structurally distinct NK cell receptor repertoires in the peripheral blood of two human donors. *Immunity* 1997;7:739-751.
 48. Kayagaki N, Yamaguchi N, Nakayama M, Takeda K, Akiba H, Tsutsui H, et al. Expression and function of TNF-related apoptosis-inducing ligand on murine activated NK cells. *J Immunol* 1999;163:1906-1913.

生体肝移植における免疫抑制療法*

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
大段 秀樹 浅原 利正

* Development of a logical immunosuppressive regimen in living donor liver transplantation
キーワード：生体肝移植，免疫抑制，拒絶反応，免疫寛容

要旨：近年の優れた免疫抑制剤の開発は肝移植成績の向上に大きく寄与してきた。生体部分肝移植における免疫抑制プロトコールはカルシニューリンインヒビターとステロイドの併用が中心で、脳死肝移植のものと変わらない。良好な移植成績の一方で、慢性拒絶反応の問題や非特異的免疫抑制に起因する感染症や悪性腫瘍の問題が重要視されている。肝移植医療のさらなる発展には、正常な生体防御能を保ちつつ移植抗原に対する免疫応答のみを抑制し得るプロトコールの確立が重要であろう。本稿では、生体部分肝移植における免疫抑制療法の現状を概説し、一部の施設で行われている積極的な免疫抑制剤の減量・離脱の試みを取り上げた。また、われわれの免疫監視下での免疫調節の試みと、さらには免疫寛容誘導法の確立へ向けて足掛かりとなり得る肝類洞内皮細胞の免疫調節機構に関する研究成果の概要を紹介した。

■ 要約 ■

免疫抑制療法の現状

肝移植に用いられる免疫抑制剤には (1) シクロスポリン (CYA)、タクロリムス (TAC) などのカルシニューリンインヒビター、(2) アザチオプリン (AZ) やミコフェノール酸モフェチル (MMF) などの代謝拮抗剤、(3) メチルプレドニゾロン (MPLS) やプレドニゾロン (PLS) などのステロイド、(4) ムロモナブ-CD3 (OKT3) やバシリキシマブなどの抗リンパ球抗体などがある。各施設によって薬剤の選択や用法・用量、目標血中濃度に多少の違いはあるが、肝移植後の免疫抑制療法としては、(1) TAC とステロイドの 2 剤併用、(2) CYA とステロイドの併用に、必要に応じて AZ または MMF を追加する方法、が一般的である。当科のプロトコールを図 1 に示す。

C 型ウイルス性肝硬変は肝移植の最も頻度の高い適応疾患の 1 つであるが、移植後に 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ことがわかっている¹⁻³⁾。この C 型肝炎の再発には肝移植後の免疫抑制剤投与が大きく影響していると考えられているものの、その原因究明や予防法は依然確立されておらず、脳死肝移植および生体肝移植における世界的な研究課題となっている。ステロイドの投与によって C 型肝炎ウイルス (HCV) の増殖が促進される可能性が報告されていることから、当科ではステロイド投与早期中止あるいはステロイド非投与プロトコールを採用している。

拒絶反応は術後 2 週～2 か月後に好発する。免疫抑制療法のプロトコールによって異なるが、発生率は 30～50% と報告されている^{4,5)}。血液化学検査で T-bil、肝トランスアミナーゼ、胆道系酵素の上昇がみられるが、いずれも特異的ではない。ウイルス性肝炎、薬剤性肝炎などの鑑別を要するが、肝生検でも確定診断が困難であることも経

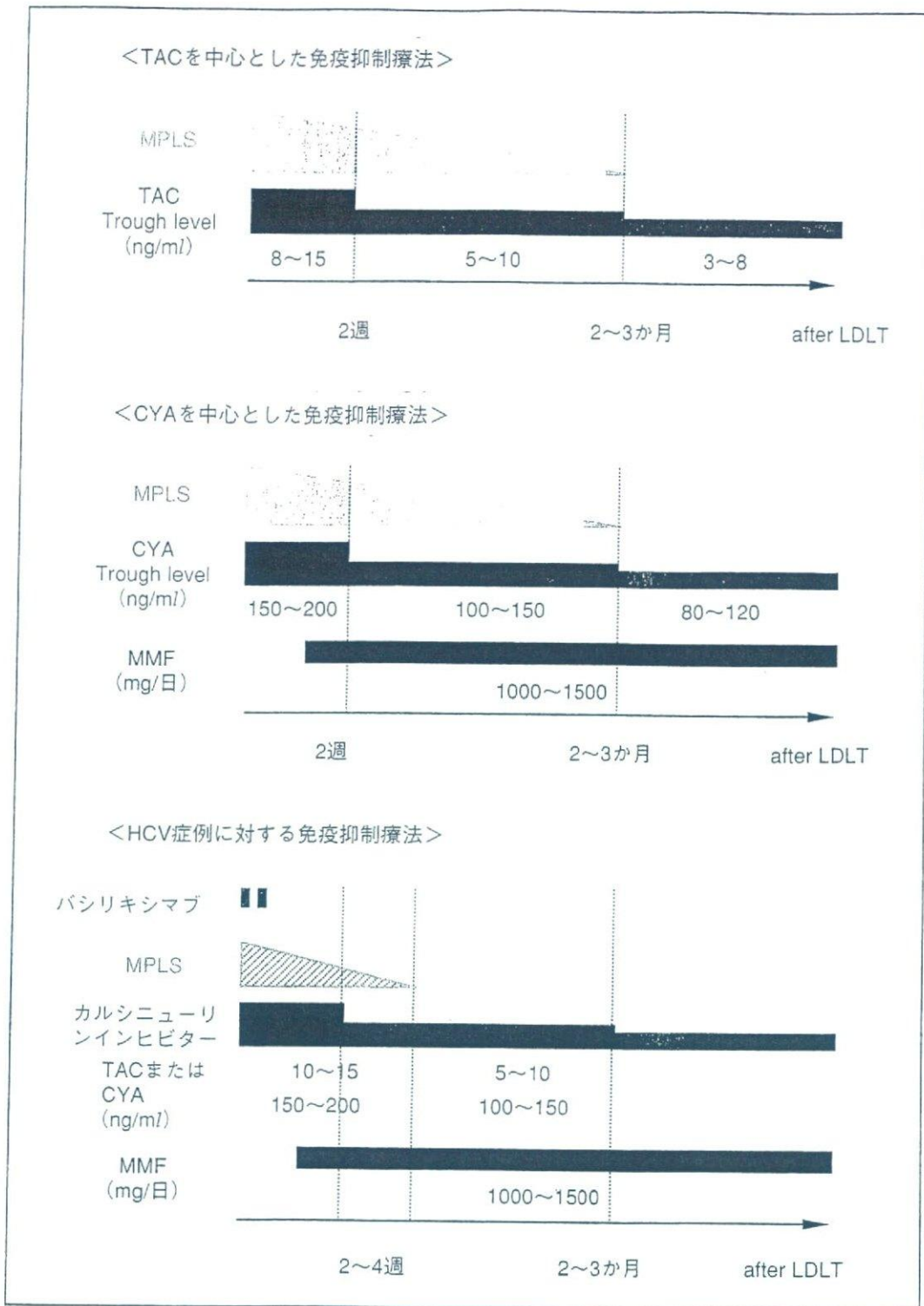


図1 広島大学病院における生体肝移植後免疫抑制プロトコール

験される。急性拒絶の治療では MPLS のパルス療法を行う。無効例では OKT3 やデオキシスパーガリンを使用することもある。

■ ■ ■ 免疫抑制剤の減量・離脱の試み

上述のように、優れた免疫抑制剤の開発とそれ

らを用いるプロトコールの確立は肝移植成績の向上に大きく寄与してきた。しかし、免疫抑制剤に依存する治療では、非特異的免疫抑制に起因する感染症や悪性腫瘍の発生が問題となる。これに対して、免疫抑制剤に伴う不利益を回避する意図のもと、一部の施設では肝移植後の積極的な免疫抑

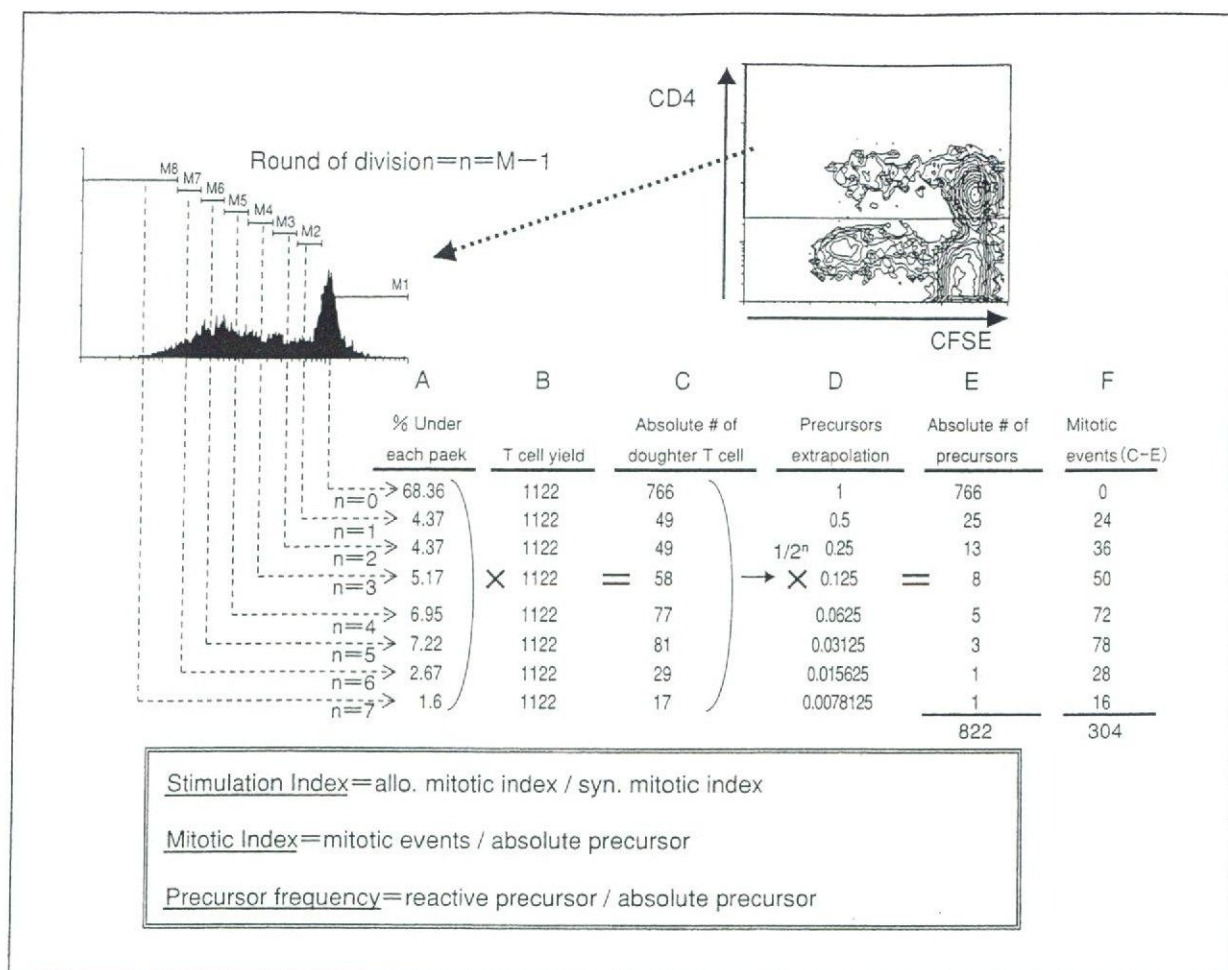


図 2a CFSE-MLR の定量的解析法と拒絶判定法

薬剤の減量・離脱が試みられている^{6,7)}。京都大学では上述のような従来の初期免疫抑制プロトコルを用いて、生体肝移植後2年以上が経過し、肝機能が良好で、1年以内に拒絶反応のエピソードがないレシピエントを対象にして、徐々に免疫抑制剤を減量し離脱が試みられた。その結果、38%が完全離脱が可能であり、25%に拒絶反応が生じたが、容易に治療が可能であったと報告されている⁶⁾。ピッツバーグ大学では、初期免疫抑制プロトコルに抗リンパ球グロブリンの単回投与とTACを用い(ほかの免疫抑制剤は拒絶治療時以外使用しない)、移植後3か月以降に積極的に離脱を目指した減量プロトコルを実践している。術後1年において約80%のレシピエントに減量の継続が可能であったと報告している⁷⁾。これらの先駆的試みは、肝移植レシピエントのQOLの改善を目指すうえで非常に重要な意義を持つものと

考えられる。

■ 免疫監視下免疫抑制療法の実践

肝移植後の免疫抑制療法プロトコルは臨床経験に基づいて確立されてきた。患者個々における免疫応答の客観的な指標に対応して調整されているわけではない。特にHCV性肝硬変患者に対する肝移植では、拒絶反応の予防および治療目的で使用される免疫抑制剤がHCVの複製を増長し、HCV肝炎の移植後再発が高率に起こるため、必要最小限の免疫抑制療法を実施することが肝要である。信頼性のある免疫監視法の確立が求められるゆえんである。われわれはcarboxyfluorescein diacetate succinimidyl 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)を臨床導入している^{8,9)}。CFSE色素

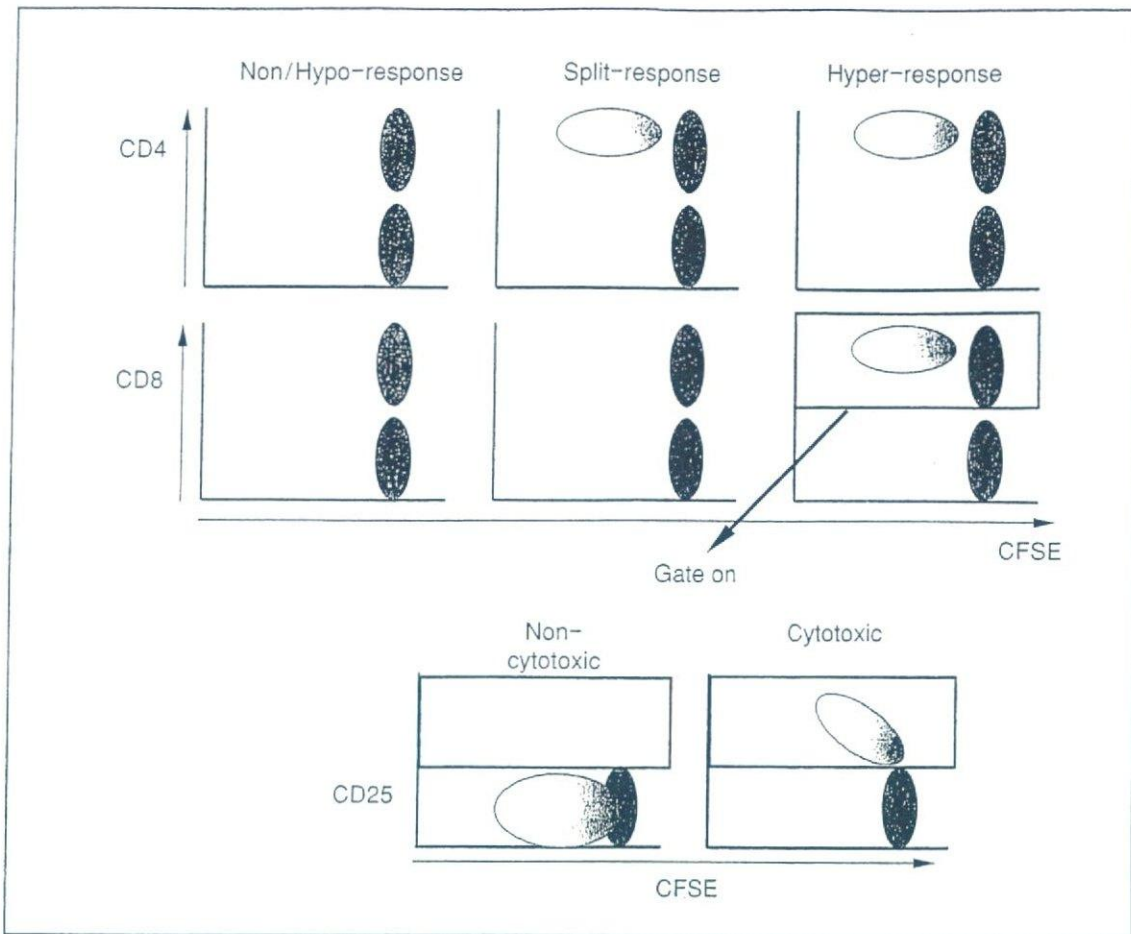


図 2b CFSE-MLR の定量的解析法と拒絶判定法

a: ドナーの末梢血リンパ球を承諾の上採取して stimulator として使用した。また、健常ボランティアの末梢血リンパ球を third party stimulator として使用した。レシピエントの末梢血生リンパ球を CFSE 染色し one-way MLR を施行した。MLR の解析には FCM を用い、FL-1 で CFSE の減衰による細胞分裂・増殖を、FL-2 と FL-4 で反応性 T 細胞のフェノタイプ (CD4, CD8, CD25) を評価し、FL-3 で PI 染色による生細胞抽出を行った。本法では、CD4 と CD8 T 細胞別に stimulation index (SI) の算出と CD25 表出の定量評価が可能である。

b: 横軸は CFSE, 縦軸は CD4, あるいは CD8 の表出強度を示す。CD4, CD8 がともに分裂増殖を示さない場合、CFSE intensity の低下は認めず、アロ反応性に乏しい状態で、免疫抑制状態は適正あるいは過剰と判断する。つぎに、CD4 は分裂増殖するが、CD8 は反応していないとき、潜在的感作状態であることが示唆される。また、CD4, CD8 ともに分裂増殖を示すとき、現在進行中あるいは今後起こり得る拒絶反応を示唆する。同時に CD8T 細胞の CD25 の表出を解析すると、ドナーに対し特異的に反応しているものは CD25 を表出し、非特異的に反応しているものは CD25 の表出を認めない。われわれは、CD25 (IL-2R) 抗体陽性 CD8T 細胞のみに細胞障害性を認めることを確認しているの、これが拒絶反応の特異的指標となり得ると考えられる。

は細胞障害性がなく細胞内蛋白を染色し、細胞分裂回数に比例して色素が半減化する性質を有し、反応性リンパ球の表面分子や活性化マーカーと同時に FCM を用いて解析できるため、反応性 T 細胞の precursor frequency, mitotic index や stimulation index の算出、定量化が可能である (図 2)^{10,11)}。

当科において CFSE-MLR で免疫監視を行った

生体肝移植症例の 34 例 (C 型肝炎 14 例) のうち、術後 1 年以内に血液化学検査で肝機能異常を認め、急性拒絶反応を疑った症例は 14 例 (C 型肝炎は 6 例) であった。肝生検において急性拒絶反応の診断が得られたのは、11 例 (C 型肝炎は 5 例) であった。これに対して CFSE-MLR において、抗ドナー応答の亢進を認めたのは、4 例 (C 型肝炎は 3 例) のみであった。これらの症例はすべて

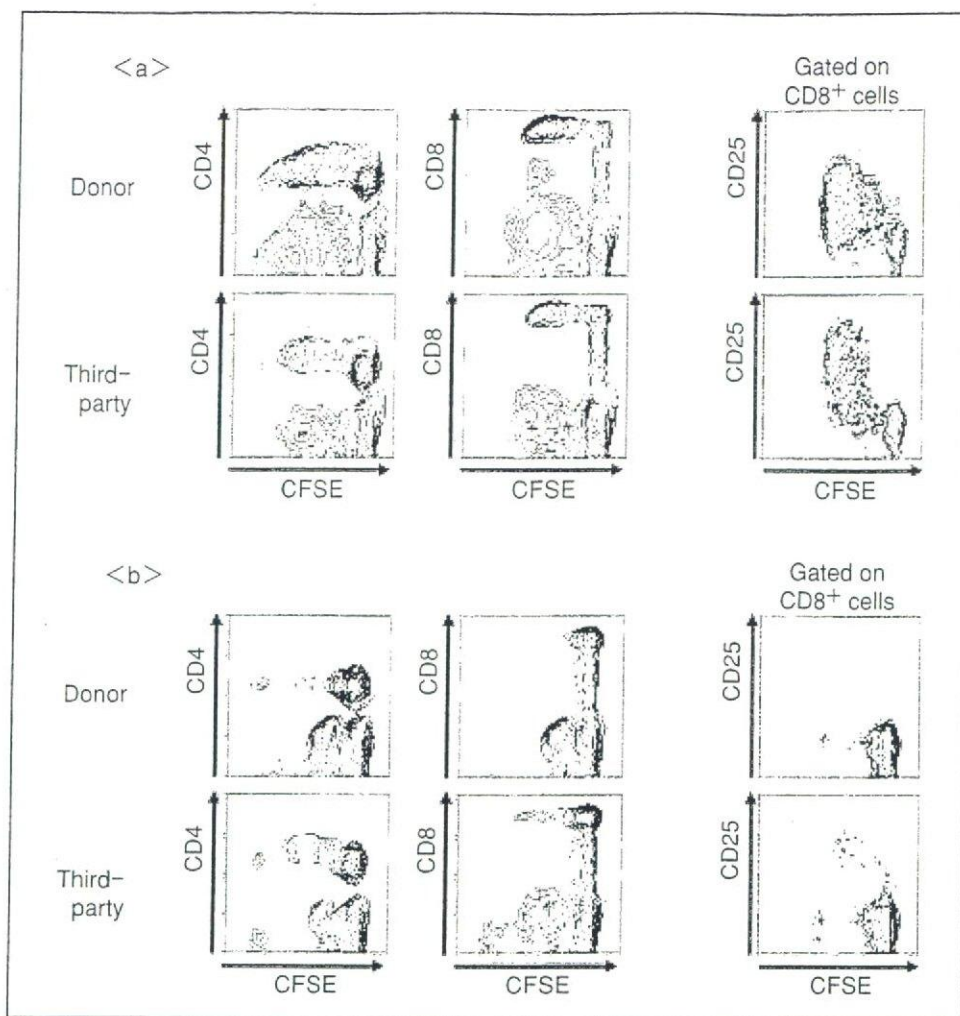


図3 CFSE-MLRによる抗ドナー免疫応答の評価

分裂 $CD8^+CD25^+$ T 細胞が細胞障害性を有する。a: 抗サードパーティ反応に比べて $CD4^+$ T 細胞と $CD8^+$ T 細胞ともに強い抗ドナー免疫応答を認め、抗ドナー反応性分裂 $CD8^+$ T 細胞に CD25 の表出を認めた、拒絶反応と判定した。b: 抗サードパーティ反応に比べて抗ドナー免疫応答は弱く、抗ドナー反応性分裂 $CD8^+$ T 細胞に CD25 の表出を欠く、拒絶は否定した。

抗ドナー反応性 CD8T 細胞の CD25 の表出率が 50%以上を示した (図3)。しかしながら、CFSE-MLR で抗ドナー応答の亢進を認めず、抗ドナー反応性 CD8T 細胞の CD25 の表出率が 50%未満の症例は、前区域枝のうっ血、薬剤性肝障害、ウイルス性肝炎の再発、自己免疫性肝炎の再発が疑われた (10例)。特に、C型肝炎再発症例においては免疫抑制療法を減量することで肝機能の改善を認める症例を経験した (2例)。

最近、肝移植後の C型肝炎の再発によって早期に肝硬変に至り、非 C型肝炎例と比較して長期予後が有意に不良であるという報告が国内外からされている。また、HCV 陰性患者では術後急性拒絶

反応は予後と関連しないのに対し、HCV 陽性の移植患者における急性拒絶反応は予後不良因子とされている。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^{1~3)}。したがって、急性拒絶反応と C型肝炎再発、あるいはそのほかの原因とを的確に鑑別し、必要最低限の免疫抑制療法を行うため、個々の患者の免疫状態を把握することが重要となる。しかし、肝生検において C型肝炎の再発と急性拒絶反応の組織学的な鑑別がしばしば困難である¹²⁾。したがって、術後肝機能異常を認めた場合には、肝生検で肝臓内の形態学的病態を確認するとともに、CFSE-MLR によってドナーに対する免疫応

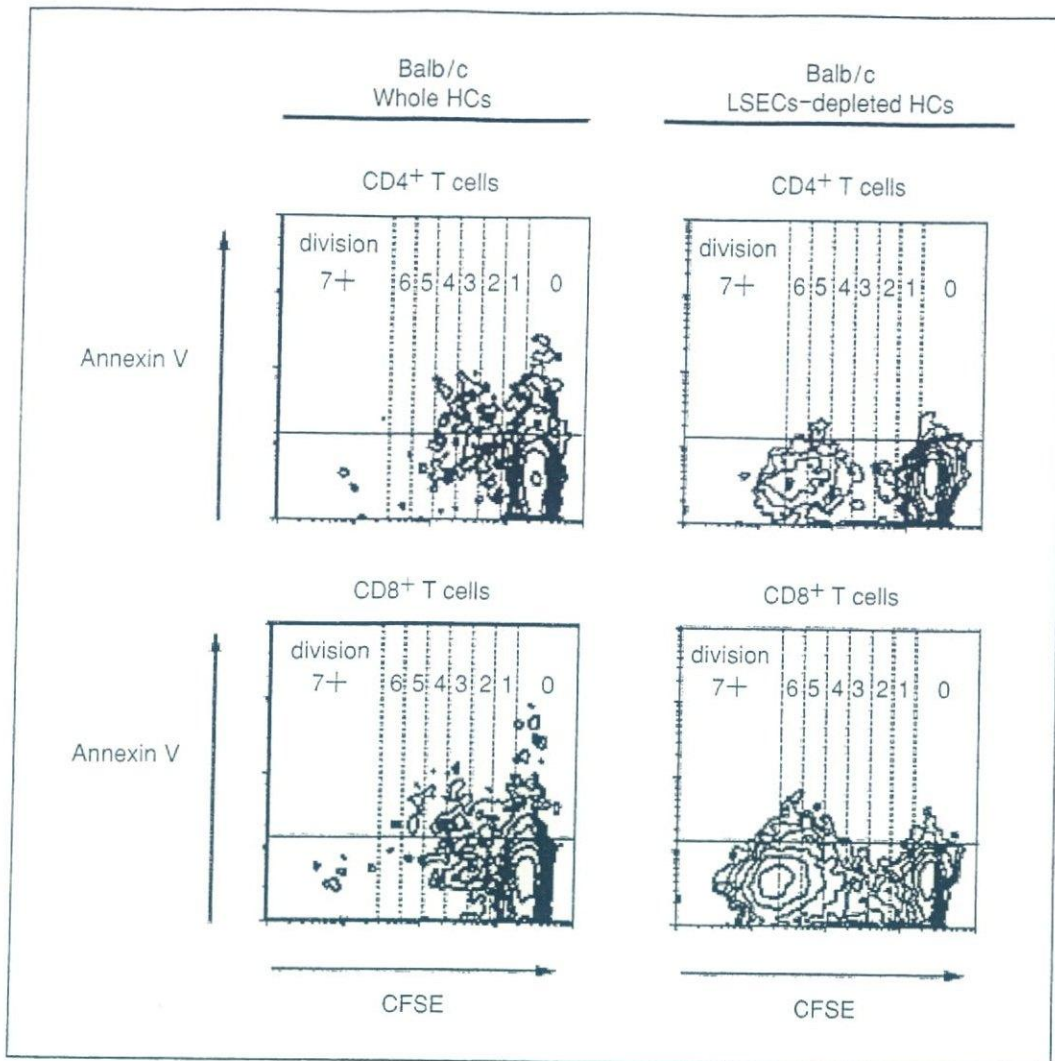


図4 肝類洞内皮細胞によるアロ反応性 T 細胞へのアポトーシスの誘導
Balb/c マウスの肝臓構築細胞 (HCs) を stimulator に, B6 の脾リンパ球を responder に用い, CFSE-MLR assay によってアロ反応性の CD4⁺および CD8⁺T 細胞の増殖指数と存在比率を解析した. 肝構築細胞のすべてを stimulator として CFSE-MLR をした場合, すなわち類洞内皮細胞 (LSEC) の存在下で混合培養した異系 T 細胞はわずかながら分裂を認めたが, その分裂 T 細胞はすべてアネキシン V 陽性で, 分裂初期にアポトーシスに陥ることがわかった. LSEC を反応系から除去すると激しい T 細胞の分裂・増殖を認めた.

答を把握することが有用であると考えている.

■ 国 ■

肝類洞内皮細胞の免疫調節機構

肝臓は免疫寛容獲得にかかわる臓器として知られるが, なぜ同種異系移植肝は拒絶されにくいのか, 説得力のある検証はいまだなされていない. この命題を解明することは, 肝臓移植後の恒久的な免疫抑制剤の使用を避け得るプロトコールの確立につながることを期待される.

われわれはマウスを用い, 肝臓の構築細胞を分離・精製してそれぞれの免疫原性を解析した結

果, 非実質細胞群から抽出した類洞内皮細胞が寛容誘導特性を有することが明らかとなった¹³⁾. CD105 分子をマーカーとして分離した類洞内皮細胞のフェノタイプを解析すると, MHC クラス II, 共刺激分子 (CB80 と CD86), 細胞死誘導分子 (FasL) を発現していた. ドナーマウス (Balb/c) の肝臓構築細胞を stimulator に, レシピエントマウス (B6) の脾リンパ球を responder に用い, CFSE-labeling 法を用いた MLR assay によってアロ反応性の CD4⁺および CD8⁺T 細胞の増殖指数と存在比率を解析した. 肝構築細胞のすべてを

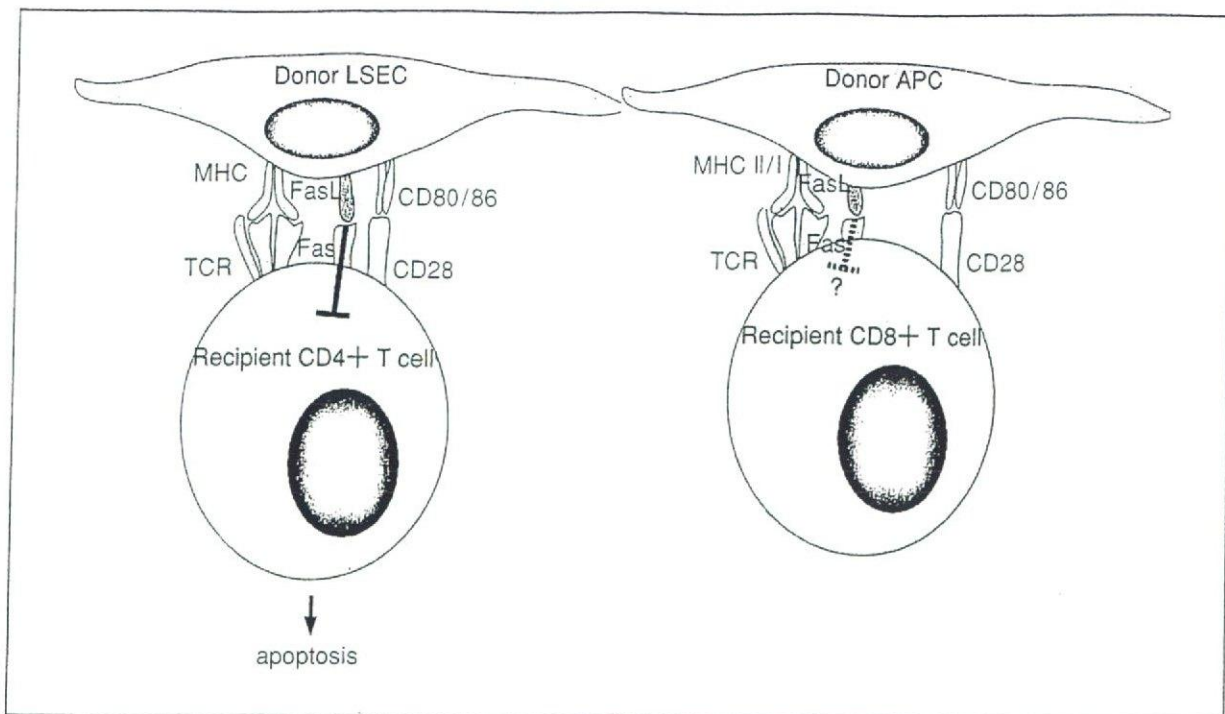


図5 肝類洞内皮細胞からアロ抗原を認識した CD4⁺T 細胞の Fas/FasL 経路を介してのアポトーシス

CD8⁺T 細胞は Fas/FasL 以外の経路も関与する可能性がある。

stimulator として MLR をした場合、同種異系の組み合わせでも T 細胞の分裂を認めなかった。ところが、類洞内皮細胞を反応系から除去すると激しい T 細胞の分裂・増殖を認め、類洞内皮細胞が T 細胞性アロ応答を抑制していることが判明した。また、類洞内皮細胞の存在下で混合培養した異系 T 細胞はわずかながら分裂を認めたが、その分裂 T 細胞はすべてアネキシン V 陽性で、分裂初期にアポトーシスに陥ることがわかった (図 4)。FasL-knockout マウスの (Balb/c) 類洞内皮細胞の存在下で混合培養した異系 T 細胞には激しい分裂・増殖を認め、類洞内皮細胞上に表出する FasL の寛容誘導への関与が証明された (図 5)¹⁴⁾。

ヒト肝類洞内皮細胞のフェノタイプを解析すると、マウスの肝類洞内皮細胞に認められたような MHC クラス II, CB80, CD86, FasL 分子は正常状態では発現しておらず、マウスで確認された上述のようなアロ T 細胞の寛容化機構はヒト肝移植では発動しにくいのではないかと推察される。マウスではアロ移植肝の永久生着に免疫抑制剤を必要としないのに対し、ヒトでは免疫抑制剤の使

用が必須であるゆえんの 1 つではないかと、われわれは考えている。ヒト肝類洞内皮細胞に人為的に MHC クラス II, CB80, CD86, FasL 分子を発現させる安全な方法が確立できれば、マウスにおいて観察されるような肝移植後のドナー特異的免疫寛容が臨床肝移植においても誘導できるのではないかと考え、研究を継続している。

文 献

- 1) Sheiner PA, Schwartz ME, Mor E, et al : Severe or multiple rejection episodes are associated with early recurrence of hepatitis C after orthotopic liver transplantation. *Hepatology* 21 : S30-S34, 1995
- 2) Rosen HR, Shackleton CR, Higa L, et al : Use of OKT3 is associated with early and severe recurrence of hepatitis C after liver transplantation. *Am J Gastroenterol* 92 : 1453-1457, 1997
- 3) Charlton M, Seaberg E : Impact of immunosuppression and acute rejection on recurrence of hepatitis C : results of the National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases Liver Transplantation Database. *Liver Transpl Surg* 5 : S107-S114, 1999
- 4) Minamiguchi S, Sakurai T, Fujita S, et al : Living related liver transplantation : histopathologic analysis of graft dysfunction in 304 patients. *Hum Pathol* 30 : 1479-1487, 1999
- 5) Sugawara Y, Makuuchi M, Kaneko J, et al : Risk factors

- for acute rejection in living donor liver transplantation. *Clin Transplant* **17** : 347-352, 2003
- 6) Takatsuki M, Uemoto S, Inomata Y, et al : Weaning of immunosuppression in living donor liver transplant recipients. *Transplantation* **72** : 449-454, 2001
 - 7) Starzl TE, Murase N, Abu-Elmagd K, et al : Tolerogenic immunosuppression for organ transplantation. *Lancet* **361** : 1502-1510, 2003
 - 8) Hara H, Ohdan H, Tashiro H, et al : Differential diagnosis between graft-versus-host disease and hemophagocytic syndrome after living-related liver transplantation by mixed lymphocyte reaction assay. *J Invest Surg* **17** : 197-202, 2004
 - 9) Tanaka Y, Ohdan H, Onoe T, et al : Low incidence of acute rejection after living-donor liver transplantation : immunologic analyses by mixed lymphocyte reaction using a carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester labeling technique. *Transplantation* **79** : 1262-1267, 2005
 - 10) Wells AD, Gudmundsdottir H, Turka LA : Following the fate of individual T cells throughout activation and clonal expansion. Signals from T cell receptor and CD28 differentially regulate the induction and duration of a proliferative response. *J Clin Invest* **100** : 3173-3183, 1997
 - 11) Tanaka Y, Ohdan H, Onoe T, et al : Multiparameter flow cytometric approach for simultaneous evaluation of proliferation and cytokine-secreting activity in T cells responding to allo-stimulation. *Immunol Invest* **33** : 309-324, 2004
 - 12) Demetris AJ, Eghtesad B, Marcos A, et al : Recurrent hepatitis C in liver allografts : prospective assessment of diagnostic accuracy, identification of pitfalls, and observations about pathogenesis. *Am J Surg Pathol* **28** : 658-669, 2004
 - 13) Onoe T, Ohdan H, Tokita D, et al : Liver sinusoidal endothelial cells have a capacity for inducing nonresponsiveness of T cells across major histocompatibility complex barriers. *Transpl Int* **18** : 206-214, 2005
 - 14) Onoe T, Ohdan H, Tokita D, et al : Liver sinusoidal endothelial cells tolerize T Cells across MHC barriers in mice. *J Immunol* **175** : 139-146, 2005
- (OHDAN Hideki, et al 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 : ☎ 734-8551 広島市南区霞 1-2-3)

特集 生体肝移植をめぐる諸問題

生体肝移植の現状をめぐる諸問題

(4) 原発性胆汁性肝硬変に対する肝移植

板本 敏行* 大段 秀樹*
田代 裕尊* 浅原 利正*

Key words : 原発性胆汁性肝硬変, 肝移植, PBC 再発

要旨

原発性胆汁性肝硬変(PBC)はわが国における成人生体肝移植の19%を占め、もっともよい適応であるが、その割合は年々減少している。繰り返す食道静脈瘤の破裂、難治性腹水、肝性昏睡や難治性癢症などのQOLを著しく損なうPBC特有の自覚症状の存在、あるいは予後予測モデルから算出された6カ月後予想死亡率50%以上、旧 Mayo モデルで7点以上、新 Mayo モデルで8点以上は肝移植の適応である。本邦における生体肝移植例の1年、5年、10年生存率はそれぞれ79、74、74%である。肝移植後少なくとも10%の症例にPBCの再発を認める。移植後1年で約80%の症例が通常のQOLに回復する。

める¹⁾。無症候性PBCの予後は良好だが長期の臨床経過ではその約20%は症候性PBCに移行しており、無症候性でも定期的な経過観察とウルソデオキシコール酸(UDCA)などによる治療が必要となる^{2),3)}。無症候性、症候性PBCの自然経過として平均生存期間はそれぞれ16年、7.5年⁴⁾、組織学的病期3、4の進行症例では生存期間の中央値は8年といわれている⁵⁾。PBC患者に対してはUDCAを用いた内科的治療が確立し、PBC患者の病態改善がみられているが⁶⁾⁻⁸⁾、進行例では、その進行を抑えることができない⁹⁾。

難治性あるいは肝不全を呈するPBCに対して唯一有効な治療法は肝移植である。日本肝移植研究会の報告によると、2003年末までに本邦で行われた死体肝移植、生体肝移植はそれぞれ25例、2,667例で、成人初回生体肝移植1,335例中255例(19.1%)がPBCであった¹⁰⁾。European Liver Transplant Registry(ELTR)の集計では、1985年には肝移植症例の60%を占めていたPBCは、2001年にはその割合は10%まで減少している¹¹⁾。その理由は明らかでないが、UDCA内服治療によるPBCの予後改善効果が一因と推測してい

はじめに

原発性胆汁性肝硬変(PBC)は中年女性に好発する慢性肝内胆汁うっ滞症で、病理組織学的には小葉間胆管ないし隔壁胆管の慢性非化膿性破壊性胆管炎を特徴とする。血清中の胆道系酵素上昇をきっかけに診断され、症状をまったく認めないいわゆる無症候性PBCが約6割を占

*広島大学大学院先進医療開発科学講座外科学
(〒734-8551 広島市南区霞1-2-3)

表1 予後予測式

1) 日本肝移植研究会予後予測式(6カ月後予想死亡率: DR)
$\lambda = -4.333 + 1.2739 \times \log_e(\text{T. Bil}) + 4.4880 \times \log_e(\text{GOT/GPT})$
$DR = 1 / (1 + e^{-\lambda})$
2) 旧 Mayo モデル
$\text{Risk score} = 0.871 \times \log_e(\text{T. Bil in mg/dl}) - 2.53 \times \log_e(\text{albumin in g/dl}) + 0.039 \times (\text{age in years}) + 2.38 \times \log_e(\text{PT in second}) + 0.859 \times (\text{edema}^*)$
3) 新 Mayo モデル
$\text{Risk score} = 1.209 \times \log_e(\text{T. Bil in mg/dl}) - 3.304 \times \log_e(\text{albumin in g/dl}) + 0.051 \times (\text{age in years}) + 2.754 \times \log_e(\text{PT in second}) + 0.675 \times (\text{edema}^*)$
4) MELD score
$\text{MELD score} = 3.8 \times \log_e(\text{T. Bil in mg/dl}) + 11.2 \times \log_e(\text{INR}) + 9.6 \times \log_e(\text{creatinine in mg/dl}) + 6.4 \times (\text{etiology: 0 if cholestatic or alcoholic, 1 otherwise})$

*: 程度により以下のように点数化する。1: 利尿薬に反応しないもの、0.5: 利尿薬にて制御可能なもの、0: 浮腫のない状態。

る¹²⁾。

PBCに対する肝移植の問題点として、移植の適応、タイミング、移植後のQOL、およびPBCの再発が挙げられる。本稿では、これらの問題点に関して最近の文献を参考に概説する。

I. 適応(移植時期)

この項のポイント

PBCに対する肝移植の適応は、

- 繰り返す食道静脈瘤の破裂、難治性腹水、肝性昏睡
- 難治性掻痒症などのQOLを著しく損なうPBC特有の自覚症状
- 6カ月後予想死亡率50%以上、旧Mayoモデルで7点以上、新Mayoモデルで8点以上

どの時点で移植のインフォームド・コンセントを行うか、あるいは移植時期の決定に関しては、PBCに限らず判断に迷うことがある。肝腎症候群に移行して移植のタイミングが遅れると移植後早期の予後は不良となる一方で、移植時期が早すぎても移植周術期のリスクや免疫抑制薬などの長期投与に伴う副作用のリスクが原

疾患のリスクを上回る可能性がある。

繰り返す食道静脈瘤の破裂、難治性腹水、肝性昏睡の存在は移植の適応となる。一方、PBC特有の適応として、薬物治療に抵抗性の掻痒感が挙げられる。これらの症状は患者のQOLを著しく損なうもので、あらゆる薬物治療に抵抗性の場合には肝移植の適応となる。この全身掻痒感はずしも肝機能、門脈圧亢進症の程度や組織学的肝硬変の進行度と相関しない。

1. 予後予測式

従来からPBCの重症度、予後リスクを数値化して移植適応の指標に、あるいは欧米では移植順位の決定に使用されてきた。その代表的なものを表1に示す。予後予測には血清総ビリルビン値が簡便な指標となり、8mg/dl以上が一つの目安となる¹³⁾。日本肝移植研究会はわが国のPBC症例を集積、解析して予後予測式を作成した¹⁴⁾。この式に総ビリルビン値とGOT/GPTを当てはめることにより6カ月後予想死亡率が算出され、50%以上が移植の適応と考えられている¹⁵⁾。

Mayoの予後予測モデルはPBCの予後を予測するものとして現在もっとも頻用されており、新旧の2種類がある。Mayo Clinicのホームページから予後予測のサイトに入り、年齢、血清ビリルビン値、アルブミン値、プロトロンビン時間、浮腫の有無、利尿薬内服の有無を入力するとそれぞれrisk scoreが算出される。旧モデル〔参考URL 1〕では今後1年から7年までの長期予後が1年ごとに、新モデル〔参考URL 2〕では今後3カ月～24カ月までの3カ月ごとの短期予後予測が自動計算される。

Mayo groupは旧モデルのrisk scoreが7.8点以上であれば移植後の予後が有意に不良となり、医療経済面、グラフトの有効利用という観点からもrisk score 7.8点以下で移植医に紹介すべきであると報告している¹⁶⁾。ちなみにrisk score 7.8点は、移植を行わなかった場合の1年、2年予測生存率がそれぞれ63%、39%に相当する。これは移植のタイミングとしてはやや早めに映るが、わが国の最近の報告では、risk scoreが旧モデルで10点以上、新モデルで12点以上では全例死亡し、生存例でもrisk scoreが高いほど重篤な術後合併症が発生していること¹⁷⁾から、旧モデルで7点以上、新モデルで8点以上であれば移植を考慮すべきである。

2. Mayo 予後予測モデルの問題点

しかし、確立されたMayo予後予測モデルにも少なからずの問題点が指摘されている¹⁸⁾。以下、その問題点を列挙すると、①これらのモデルから算出された予測予後の信頼区間は広く、この数字を使って個々の症例にインフォームド・コンセントを行う場合には注意を要する、②痒感などのQOLに影響を与える自覚症状が考慮されていない、③retrospective studyから解析、算出された予測式であるため、その後導入された治療薬の予後に与える影響が考

慮されていない、④さまざまな病期の症例から算出された予測式であるため、末期肝不全患者の予後を正確に反映しない可能性がある、などである。

3. MELD score からみた移植の適応

末期肝不全の重症度を反映し、おもに脳死ドナー肝の有効利用を目的として採用されている予測式としてMELD (The Model for End-Stage Liver Disease) scoreがある¹⁹⁾。当初、門脈圧亢進症に対するTIPS (transjugular intrahepatic portosystemic shunt)の早期予後を反映するスコアとして提唱された予測式であった²⁰⁾が、広く末期肝不全患者に適用されており、PBC特有の予測式ではない、MELD scoreを規定している因子は、血清ビリルビン値、クレアチニン値、INR、原疾患の種類で、ホームページ上で自動計算可能である〔参考URL 3〕。移植前のMELD score 25点以上では移植後早期の予後は有意に不良であるが、PBCでは必ずしも予後と相関しないという報告もある²¹⁾。一般的にMELD score 15点以上の末期肝硬変は移植の適応となる。

II. 移植成績(表2)

この項のポイント

- PBCに対する肝移植の成績は、5年生存率約80%、10年生存率約70%である。

日本肝移植研究会の報告によると、PBCに対する生体肝移植後の1年、5年、10年生存率はそれぞれ79%、74%、74%である¹⁰⁾。

United Network for Organ Sharing (UNOS)の集計によると、脳死、生体肝移植の1年、5年生存率はそれぞれ90%と96%、86%であった。ELTRの集計によると、脳死肝移植の1年、5年、10年生存率はそれぞれ

表2 原発性胆汁性肝硬変または胆汁うっ滞性肝障害に対する肝移植の成績

	対象期間	ドナーの種類	症例数	生存率(グラフト生着率)(%)		
				1年	5年	10年
UNOS	1997~2002	脳死	1,808(胆汁うっ滞性肝障害)	90(85)	80(71)	
	1997~2002	生体	1,642(胆汁うっ滞性肝障害)	96(82)	86(80)	
ELTR	~2001	脳死	2,959(PBCのみ)	83(79)	77(71)	69(64)
日本肝移植研究会	1989~2003	生体	255(PBCのみ)	79	74	74

UNOS : United Network for Organ Sharing, ELTR : European Liver Transplant Registry

83, 77, 69%¹¹⁾, UNOS, ELTRともにグラフト生着率はそれぞれ5%前後低下する。生存率は年々向上しているが、これは移植手技、周術期管理の向上のみならず、PBCの経過のなかで移植時期が早くなったことが大きな要因としている²²⁾。

III. 移植後のQOL

この項のポイント

- 移植後1年で約80%の症例が通常のQOLに回復する。

PBC患者に対する肝移植後のQOLについて調査した報告は少ない。Grossらは、移植前と移植後1年のQOLについてアンケート調査の結果を比較し、痒感、倦怠感、睡眠障害などの移植前のもっとも深刻な症状は、移植後著明な改善を認めたと報告している²³⁾。日常生活に関しても80%が正常に営むことが可能(Kar-nofsky scale 80以上)で、健康状態に対する満足度も77%が「満足~非常に満足」と答えている。しかし、移植後1年でフルタイム、パートタイムを含めて就業していたものは27%と意外に低率であった。仕事復帰の有無に関しては移植後の経過のみならずさまざまな社会的因子が関与しており、移植後のQOLを正確に反映しているとはいえない。またPBCに対する移植のタイミングは移植早期の合併症発生率、

生存率に影響を与えているが、移植後のQOLには影響なかったと報告している。

Kimらの報告によると、全身痒感、倦怠感移植後ほとんどの症例で改善し、PBCに起因する骨病変は、移植後1年以内に一時的に悪化することがあるがその後改善される。このような臨床症状の改善は移植前のMayo risk score 7.6以下の症例で顕著に認められる¹⁶⁾。

IV. 肝移植後のPBC再発

この項のポイント

- PBC再発の診断には病理組織学的診断が重要である。
- PBCの再発は10%以上に認められるが、少なくとも移植後10年までの予後に影響はない。

1982年、Neubergerらは肝移植を受けたPBC 11例中3例に黄疸、痒症が再発し、組織学的にもPBCの再発を認めたと報告した²⁴⁾。その後、世界各地の移植主要施設からまとまったPBC再発の報告がなされた。PBCの再発診断には肝生検による病理組織学的診断が重要であるが、PBC再発と急性・慢性拒絶反応あるいはウイルス性肝炎の再発との鑑別が困難な場合も多い。またSylvestreらは、再発の診断基準の設定によっては再発率が17%から35%まで変わると報告している²⁵⁾ことから、病理診断は移植肝病理に精通した病理医によってなされるべきである。

表3 原発性胆汁性肝硬変に対する移植後の再発に関する最近の報告

報告者	報告年	症例数	ドナー	観察期間 (月)	計画的 生検	再発率 (%)	再発までの期間 (月：中央値)	免疫抑制薬と再発率
Sanchez, E. Q.	2003	156	脳死	72.1 (中央値)	あり	10.9	49.6	CyA : 9.2%, Tac : 16.7% (有意差なし)
Sylvestre, P. B.	2003	100	脳死	56.4 (平均値)	あり	17	37	
Khettry, U.	2003	43	脳死		なし	18.6	48	有意差なし
Levitsky, J.	2003	46	脳死		なし	15	78	CyA : 16%, Tac : 18% (有意差なし)
Neuberger, J.	2004	485	脳死	67	あり	23	CyA : 123, Tac : 62	Tac > CyA (Hazard ratio 2.73)
市田	2004	221	生体			10		

CyA : サイクロスポリン, Tac : タクロリムス

2004年初めまでに成人生体肝移植を受けたPBC症例はわが国全体で200例を超え、市田らの221例のアンケート報告では、抗ミトコンドリア抗体(AMA)再陽性率は77%、免疫グロブリンM(IgM)再高値例は44%、組織学的に再発が示唆された症例は10%であった²⁶⁾。最近の報告例を表3に示す。定期的な肝生検の有無、観察期間などにより差はあるものの、すべて10%以上に組織学的再発が確認されている。

再発の危険因子としてタクロリムスが注目されている。Neubergerらの報告によると²⁷⁾、移植後タクロリムスを使用した場合のPBC再発の危険性はサイクロスポリンに比べて2.73倍で、再発までの期間も短い。そのほかに免疫抑制薬の減量、とくにステロイドの減量がPBC再発を顕在化する可能性も示唆されている²⁸⁾。しかし、PBC再発後も組織学的進行が緩徐であることから、再発の有無は少なくとも移植後10年までの予後には影響ない²⁹⁾。近親者をドナーとする生体肝移植では脳死肝移植に比べて再発率が高いという報告もあるが、移植後長期経過した生体肝移植例が少ないことからその結論を出すのは時期尚早である¹⁵⁾。

V. 自験例

当科で施行した成人生体肝移植64例のうちPBC症例は5例(7.8%)であった。移植直前の旧Mayoおよび新Mayoモデルにおける平均risk scoreはそれぞれ8.0, 9.6で、1例は高度全身瘙痒感で移植の適応となった。平均MELD scoreは14点であった。5例中1例は術後2週目までは順調に経過していたが、3週間目にgraft-versus-host disease(GVHD)を発症し死亡した³⁰⁾。ほかの4例は移植後それぞれ9年、5年、4年、2カ月経過して生存中である。長期生存3例中2例で組織学的にPBC再発を認めている。再発時期はいずれも移植後2年であった。免疫抑制薬は3例ともタクロリムス、ステロイドの2剤併用で開始し、現在はステロイドから離脱している。

おわりに

PBCに対する生体肝移植の成績は良好であり肝移植のもっともよい適応である。より適切な時期に移植を実施することでいっそうの予後向上が期待できる。移植後長期経過例が増加す

るにつれて、無症候性ではあるがPBCの再発例が増加する可能性があり、定期的な肝生検による組織学的検討も含めて注意深い経過観察が必要である。

参考 URL

- 1) <http://www.mayoclinic.org/gi-rst/mayomodel1.html>
- 2) <http://www.mayoclinic.org/gi-rst/mayomodel2.html>
- 3) <http://www.mayoclinic.org/gi-rst/mayomodel5.html>

文 献

- 1) Prince, M. I., Chetwynd, A., Craig, W. L., et al. : Asymptomatic primary biliary cirrhosis : clinical features, prognosis, and symptom progression in a large population based cohort. *Gut* 53 ; 865-870, 2004
- 2) Nakano, T., Inoue, K., Hirohata, J., et al. : Long-term prognosis of primary biliary cirrhosis(PBC) in Japan and analysis of the factors of stage progression in asymptomatic PBC (a-PBC). *Hepatology Res.* 22 ; 250-260, 2002
- 3) 井上恭一 : 原発性胆汁性肝硬変(PBC)全国調査結果(第20報). 厚生省特定疾患難治性の肝疾患調査研究班 平成11年度研究報告, 34-35
- 4) Mahl, T. C., Shockcor, W. and Boyer, J. L. : Primary biliary cirrhosis : survival of a large cohort of symptomatic and asymptomatic patients followed for 24 years. *J. Hepatol.* 20 ; 707-713, 1994
- 5) Christensen, E., Crowe, J., Doniach, D., et al. : Clinical pattern and course of disease in primary biliary cirrhosis based on an analysis of 236 patients. *Gastroenterology* 78 ; 236-246, 1980
- 6) Levy, C. and Lindor, K. D. : Management of primary biliary cirrhosis. *Curr. Treat. Options Gastroenterol.* 6 ; 493-498, 2003
- 7) Poupon, R. E., Lindor, K. D., Pares, A., et al. : Combined analysis of the effect of treatment with ursodeoxycholic acid on histologic progression in primary biliary cirrhosis. *J. Hepatol.* 39 ; 12-16, 2003
- 8) Paumgartner, G. : Ursodeoxycholic acid for primary biliary cirrhosis : treat early to show progression. *J. Hepatol.* 39 ; 112-114, 2003
- 9) Corpechot, C., Carrat, F., Bahr, A., et al. : The effect of ursodeoxycholic acid therapy on the natural course of primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 128 ; 297-303, 2005
- 10) 日本肝移植研究会 : 肝移植症例登録報告. 移植 39 ; 634-642, 2004
- 11) Adam, R., McMaster, P. O., Grady, J. G., et al. : Evolution of liver transplantation in Europe : report of the European Liver Transplant Registry. *Liver Transpl.* 9 ; 1231-1243, 2003
- 12) Angulo, P., Batts, K. P., Therneau, T. M., et al. : Long-term ursodeoxycholic acid delays histological progression in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 29 ; 644-647, 1999
- 13) 竹山康章, 向坂彰太郎 : 肝移植の最新の進歩と問題点. 原発性胆汁性肝硬変(内科の立場から). *肝胆膵* 50 ; 85-90, 2005
- 14) 小幡 裕, 橋本悦子 : 原発性胆汁性肝硬変における肝移植の適応. 市田文弘, 谷川久一 編 : 肝移植の適応基準. 1991, 13-25, 国際医書出版, 東京
- 15) 市田隆文, 佐藤祐一 : 原発性胆汁性肝硬変に対する肝移植の適応時期の再検討とその妥当性. 厚生省特定疾患難治性の肝疾患調査研究班 平成8年度研究報告. 62-64, 1997
- 16) Kim, W. R., Wiesner, R. H., Therneau, T. M., et al. : Optimal timing of liver transplantation for primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 28 ; 33-38, 1998
- 17) 幕内雅敏 : 原発性胆汁性肝硬変に対する生体部分肝移植の適応と成績. 厚生労働省特定疾患対策研究事業「難治性の肝疾患に関する研究」班 平成12年度研究報告書. 118-122, 2001
- 18) Neuberger, J. : Liver transplantation for primary biliary cirrhosis : indications and risk of recurrence. *J. Hepatol.* 39 ; 142-148, 2003
- 19) Kamath, P. S., Wiesner, R. H., Malinchoc, M., et al. : A model to predict survival in patients with end-stage liver disease. *Hepatology* 33 ; 464-470, 2001
- 20) Malinchoc, M., Kamath, P. S., Gordon, F. D., et al. : A model to predict poor survival in patients undergoing transjugular intrahepatic portosystemic shunts. *Hepatology* 31 ; 864-

871, 2000

- 21) Onaca, N. N., Levy, M. F., Sanchez, E. Q., et al. : A correlation between the pretransplantation MELD score and mortality in the first two years after liver transplantation. *Liver Transpl.* 9 ; 117-123, 2003
- 22) Garcia, R., Garcia, C., McMaster, P., et al. : Transplantation for primary biliary cirrhosis : retrospective analysis of 400 patients in a single center. *Hepatology* 33 ; 22-27, 2001
- 23) Gross, C. R., Malinchoc, M., Kim, W. R., et al. : Quality of life before and after liver transplantation for cholestatic liver disease. *Hepatology* 29 ; 356-364, 1999
- 24) Neuberger, J. M., Portmann, B., MacDougall, B. J., et al. : Recurrence of primary biliary cirrhosis after liver transplantation. *N. Engl. J. Med.* 306 ; 1-4, 1982
- 25) Sylvestre, P. B., Batts, K. P., Burgart, L. J., et al. : Recurrence of primary biliary cirrhosis after liver transplantation : histologic estimate of incidence and natural history. *Liver Transpl.* 9 ; 1086-1093, 2003
- 26) 市田隆文, 島田裕慈, 石川雅邦, 他 : 原発性胆汁性肝硬変, 原発性硬化性胆管炎の肝移植成績と再発問題. *肝胆膵* 49 ; 251-255, 2004
- 27) Neuberger, J., Gunson, B., Hubscher, S., et al. : Immunosuppression affects the rate of recurrent primary biliary cirrhosis after liver transplantation. *Liver Transpl.* 10 ; 488-491, 2004
- 28) Mazariegos, G. V., Reyes, J., Marino, I. R., et al. : Weaning of immunosuppression in liver transplant recipients. *Transplantation* 63 ; 243-249, 1997
- 29) Sanchez, E. Q., Levy, M. F., Goldstein, R. M., et al. : The changing clinical presentation of recurrent primary biliary cirrhosis after liver transplantation. *Transplantation* 76 ; 1583-1588, 2003
- 30) Hara, H., Ohdan, H., Tashiro, H., et al. :

Differential diagnosis between graft-versus-host disease and hemophagocytic syndrome after living-related liver transplantation by mixed lymphocyte reaction assay. *J. Invest. Surg.* 17 ; 197-202, 2004

Summary

Living-Donor Liver Transplantation for Primary Biliary Cirrhosis

Toshiyuki Itamoto*, Hideki Ohdan*,
Hirotaka Tashiro* and Toshimasa Asahara*

Cases of primary biliary cirrhosis(PBC) now account for 19% of cases in which adult to adult living donor liver transplantations(LDLT) are performed in Japan, though the ratio has been decreasing year by year. The indications for liver transplantation for PBC patients include liver failure and the presence of intractable symptoms such as pruritus or fatigue. When the estimated probability of mortality calculated using the model from the Japan Liver Transplant Registry reaches 50%, transplantation should be considered. In addition, transplantation is indicated when original and updated Mayo risk scores are higher than 7 and 8, respectively. The 1, 5 and 10- year survival rates after LDLT in Japan are 79%, 74% and 74%, respectively, these rates being almost equal to those in UNOS and ELTR. PBC can reoccur in at least 10% of patients who have undergone transplantation. Clinical symptoms present before transplantation improve within one year after transplantation in 80% of transplant patients.

Key words : primary biliary cirrhosis, liver transplantation, recurrent PBC

**Department of Surgery, Division of Frontier Medical Science, Programs for Biomedical Research, Graduate School of Biomedical Science, Hiroshima University, 1-2-3 Kasumi, Minami-ku, Hiroshima, Hiroshima 734-8551, Japan*

臓器移植と真菌感染症

田代裕尊, 大段秀樹, 板本敏行, 浅原利正
 広島大学大学院先進医療開発科学講座外科学

はじめに

臓器移植後の感染症の中で、深在性真菌症によるものは、細菌感染やウイルス感染によるものと比べて頻度が低いが、治療に抵抗性で依然として致死率は高い。さらに、臓器移植における免疫抑制療法・術後管理などの発達とともに、深在性真菌症の頻度は減少しているにもかかわらず、その診断と予防・治療に関しては十分な進歩が得られているとはいえない。臓器移植の中でも、生体肝移植症例は本邦において急速な増加を示し深在性真菌症の頻度が最も高く、しかも感染兆候が明確に現れないため診断に難渋し、その結果、重症化を避けられない症例が少なくない。

本稿では、肝移植症例を中心に深在性真菌症についてのこれまでの知見と広島大学での現状を紹介し、今後に残された問題点と対策を探る一助としたい。

臓器移植患者における感染症

臓器移植は、拒絶反応を克服するため免疫抑制療法が必要である。免疫抑制剤の使用は当然細菌感染をはじめ、真菌感染、ウイルス感染症などを助長する。特に肝移植・肺移植では、移植されて非生理的な環境に置かれる肝・肺はそれぞれ腹腔内・胸腔内の生体感染防御に極めて重要な役割を果たす臓器であり、その移植臓器の機能低下はそれ自体が易感染性を助長する。臓器移植患者における免疫抑制状態は、免疫抑制剤の量だけ

でなく、移植前の肝・肺・腎機能および全身状態(栄養状態)、移植後の肝・肺の機能、皮膚・粘膜バリアの状態などさまざまな要因により総合的に決定される。それ故、多くの移植対象となる患者は、すでに移植前に生体防御機能がある程度破綻し、潜在性の感染症を合併している可能性を念頭に置き、対処する必要がある。

疫学

移植周術期における真菌の colonization と infection。末期臓器不全の移植予定者や移植患者では、体表・体内にしばしば真菌が検出される。しかしながら、colonization, contamination, infection の鑑別は容易ではない。深在性真菌感染症の多くに、先行する colonization が見られるものの、感染に至らぬ colonization も多い。Colonization の背景因子として、長期の抗生物質の投与、カテーテルの留置、免疫抑制剤の使用などが挙げられる。これらの因子は真菌の増殖・院内感染を助長し、深在性真菌症への進展を助長する可能性がある。Colonization と infection との鑑別は困難であるが、一般的に臨床症状がなく単一の体表部のみからの真菌の検出は、colonization と考えられる。一方、血液・腹水・脳脊髄液などの深部組織から検出される時や尿・創部・痰などの数箇所から同時に検出される場合は infection を強く疑うべきである。肝移植における深在性真菌症に対する監視培養では、その感受性は79%、特異性は50%との報告がある¹⁾。また木内らの報告では、肝移植前に10～20数%に培養可能

な部位からすでに真菌が検出され、術後1カ月では40～50数%に増加している²⁾。筆者らの施設における監視培養でも2001年からの4年における肝移植症例58例の中で10例(17%)には移植前にすでに真菌が検出され、術後1カ月で36%に増加している(表1)。真菌の検出部位では、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・カテーテルなどの清潔部位にも検出される頻度が高くなる。これらが直ちに深在性真菌症発症を示すことにはならないが、infectionの可能性を念頭において対処する必要がある。これまでの報告から見ると検出菌種としては、1980年から1990年前半にかけてはCandida albicansが80%以上を占めていたが、1990年後半より、azole系抗真菌剤抵抗性のnon-albicans Candida感染が次第に増加し、特にCandida glabrataは20%以上に増加し、さらに

Candida tropicalisやCandida parapsilosisも次第に増加している^{3,5)}。これらはAzole系の抗真菌剤の予防投与と無関係ではないと思われる。

真菌感染のリスクファクターは、その病原体や臓器により違ってくるが、一般的なリスクファクターを表2に示す。特に肝移植後の真菌感染のリスクファクターでは、術前因子としては術前の重症度、劇症肝不全、腎不全、貧血、長期のステロイドや抗生剤の使用、手術因子では、長時間手術、胆管空腸吻合、大量輸血、さらに術後因子では再移植、再開腹、血管系合併症、ステロイドによる拒絶反応の治療、サイトメガロウイルスやHHV-6感染症、胆管合併症などが挙げられる^{4,6)}。ウイルス性感染では、その持続感染により宿主の免疫担当細胞が機能障害を来すことも知られている^{7,8)}。一般的にCandida症は外科的合併症に関連し、Aspergillus症は、術後の移植肝機能不全や腎障害に関連する傾向である。

真菌感染の由来と時期。一般的に、ドナー由来による感染の頻度は少ないとされている。しかしながら、長期人工呼吸管理、長期抗生物質やステロイドの投与を受けていた脳死ドナーからの肺移植においては、上気道での真菌のcolonizationがすでにあり、移植後早期からの真菌性気管支肺炎、気管吻合部の真菌症を認めることがあり監視培養が重要となる。肝移植後の早期の深在性真菌感染の多くは、内因性によるもので移植前に潜在していた感染の顕在化、また、上気道、消化管などに定着していた真菌の移植後の増殖によるものと考えられる。すなわち、その危険因子を術前に求めることができ、移植前の長期抗生剤やステロイドの投与、カテーテルの長期留置などにより菌交代現象を来したり、すでに移植前より複数部位から真菌が検出されたり、術前に β -D-glucanの高値を示したりしている症例も少なくない。臓器移植においては移植後の感染症の好発時期が知られており、真菌症においても宿主の生体防御能との関係から同様なことが当てはまる。肝移植患者において、深在性真菌症の半数以上は移植後早期(1カ月まで)に集中し、80%は3カ月以内に診断されている。またCandida属によるものが80%、次いで20%がAspergillusによるものであり、しかも、真菌症を合併した症例の死亡率は70%に及び、特にCandida感染はその半数は軽快するのに比べ、Aspergillusによるものはほとんど全例死亡している⁹⁻¹¹⁾。

表1 生体肝移植(58例)における術前・術後の真菌の検出率

	術前の真菌検出	術後(1カ月)の真菌検出
Candida	10 (17%)	21 (36%)
Candida	8 (13%)	14 (24%)
Candida glabrata	1 (2%)	4 (7%)
Candida parapsilosis	1 (2%)	2 (3%)
Candida tropicalis	0	1 (2%)
Aspergillus	0	0

表2 肝移植患者における深在性真菌症のリスクファクター

術前因子	手術因子	術後因子
術前の肝機能 劇症肝不全 腎不全 深在性真菌症の既往	手術時間 大量輸血 胆管空腸吻合	長期ICU滞在 長期の抗生剤使用 腎不全 再移植 再手術 (移植後1カ月以内) OKT3, ステロイドパルス療法 サイトメガロウイルス感染症 細菌感染 HHV-6感染症 胆道系合併症