

前後から年間 120~150 例程度に増加したが、2004 年にはやや減少している。全国で生体肝移植実施施設は 50 以上にのぼり、最近開始した施設は成人症例のみを対象としているところが多いが、当初から行ってきた施設はほとんどが小児成人いずれをも対象としていて、小児肝移植へのアクセスはそれほど困難ではなくなっていると考えられ、需要と供給はほぼバランスが取れた状態にあるのではないかと推測される。ただし、劇症肝不全などの緊急症例、幼若乳児、希少な代謝性疾患などではまだ普遍的とはいえない領域も残されている。

II. 生体肝移植ドナー選択

日本移植学会は、生体ドナー選択の指針の一つとして候補者は 6 親等以内の親族、または 3 親等以内の姻族という枠をつくり、もしこれ以外の範囲で候補者が出現した場合は、各施設の倫理委員会の判断を得たうえで、日本移植学会の意見を求めることとしている²⁾。しかし、小児の場合には依然として、96.2%までが両親のいずれか（父 42.4%，母 53.8%）で、これ以外には祖父母、叔父叔母などがわずかに含まれるにすぎない。再移植などでは、当然両親以外にドナー源を求める可能性が高くなる。また、後述する血液型不適合移植成績向上は、両親からのドナー選択可能性を向上させることにつながると思われる。

遺伝性疾患での両親のドナー妥当性に関しては、代謝性疾患で問題となることは実際上ないものの、Alagille 症候群ではドナー胆管低形成が問題となる実例があり、慎重な術前評価を要する^{3,4)}。

III. 適応疾患

1. 胆道閉鎖症

現在でも、最多の適応疾患は胆道閉鎖症である。生体肝移植開始当初から、肝障害をもちながら生存中であつた症例が次々と移植へ紹介されることとなり、再手術をくり返された後の症例、肝性脳症など重度の肝不全で移植せざるをえない症例も少なくなかったが、胆道閉鎖症全体の治療戦略が見直されるようになり、比較的早い段階で肝移植

を考慮実施されるようになってきており、合併症の頻度も低下して移植成績は良好になっている。一方で、遅い初診例で葛西手術を行わずに一次的肝移植を行うかどうか、肝肺症候群や門脈肺高血圧症など肝外続発症での移植適応など未解決の問題は少なくない。

2004 年までの胆道閉鎖症研究会の集計では、一次的肝移植実施症例は全国で累積 6 例となっており、2004 年度分でも 1 例の報告が寄せられている。診断が遅い症例でも葛西手術後黄疸消失が得られる症例はもちろん存在するが、その長期経過は楽観できず早晩の移植適応を考慮すべき症例が多数と考えられる。生後 120 日以降の診断例など時期的な目安とともに肝機能障害の可逆性の判断が重要である。腹水貯留、門脈血流の逆流など、明らかな肝硬変徴候を示す状態では一次的肝移植も強く考慮されるべきだが、両親との十分な相談検討が必須である。

胆道閉鎖症などの肝硬変で続発する、肺内シャントを生じて低酸素血症をきたす肝肺症候群が移植適応であり、移植後合併症率が高いが、移植後は肺内シャントが改善していくことがすでに明らかになってきている。同様に肝硬変に続発する肺高血圧症は、幼児期以降に多く、黄疸持続などの肝障害がみられない症例にもみられ、自発症状がないだけにチェックが難しい。その重症度が移植の可否に直接影響するため軽度で発見されフォローされるべきであるが、その存在が広く知られるようになった現在でも、発見時にはすでに肺動脈圧が高すぎて手術が危険であり移植適応からはずれる症例がまれでない。心エコーが診断に有用であり、とくに学童期以降は、年に 1 回程度の循環器専門医による検査が必要である。エコーで疑い、右心カテーテル検査を行い、平均肺動脈圧が 50 mmHg 以下なら移植手術を考慮する施設が多い。上回るときには、PGI₂持続静脈投与による肺動脈圧低下を試みる⁵⁾。ボセンタンも使用可能と考えられる⁶⁾。カテーテル検査中に行う、純酸素投与あるいは PGI₂による肺動脈圧の反応テストで著明な低下が得られるようなら、肺高血圧の可逆性が高いと判断され、移植実施とその効果が期待できる。このような症例では、高心拍出状態に陥っている

ことが多く、肝移植によるその是正も有効に作用する。肺生検を行って微小動脈壁の壁肥厚程度から可逆性を判断する方法もあるが、前記の反応検査でも推定できると考えている。

2. その他の胆汁うっ滞性疾患

Alagille 症候群に対する生体肝移植の報告では、京都大学病院で生体肝移植を受けた年齢中央値 5 歳の 20 例で、移植後肝機能改善のみならず、90% の症例で成長の回復がみられたとされる⁴⁾。一方、進行性肝内胆汁うっ滞症 (progressive familial intrahepatic cholestasis : PFIC) では、その移植適応には迷う点がある。いくつかの病型が遺伝子異常によって規定されていて、PFIC I 型のように、肝臓のみならず、腸管上皮でも胆汁酸の移送に問題がある病型がある。この場合、肝移植後胆汁うっ滞は改善して掻痒感が劇的に改善する一方、移植肝と、病態の残存する腸管の間で、胆汁酸吸収循環のバランス不均衡が生じると考えられ、下痢、脂肪肝などの問題が新たに出現することがある⁷⁾。変異部位が多く遺伝子検索が容易でないことも問題解決を困難にしている。腸管からの胆汁吸収を減少させることが胆汁うっ滞、掻痒感改善に有効とする報告が以前からあり、胆嚢を腸管節で外瘻化する外科手術が移植の前に試みられており、理論的には移植後にも考慮されてよい方法でもある⁸⁾。小児肝臓専門医と、小児外科、移植医が連携して解決すべき領域である。

3. 劇症肝不全

緊急肝移植が救命に大きく貢献している領域であり、移植施設としては常にそれが可能であるように体制を整備せねばならない。小児科医も、治療開始当初から移植を念頭においた対応が必要である。脳死移植適応基準でも採用されている、「治療開始後 5 日間の経過観察後の再評価」は、とくに小児においてはこれに拘泥することなく、神経症状の増悪を中心に移植時期を検討してよいと考える。一方、乳児の劇症肝不全の移植成績不良が指摘されて久しい。2006 年には小児肝臓病専門医が集中的に今までの移植症例の解析を行っており、早期にまとまった報告や指針が示されるこ

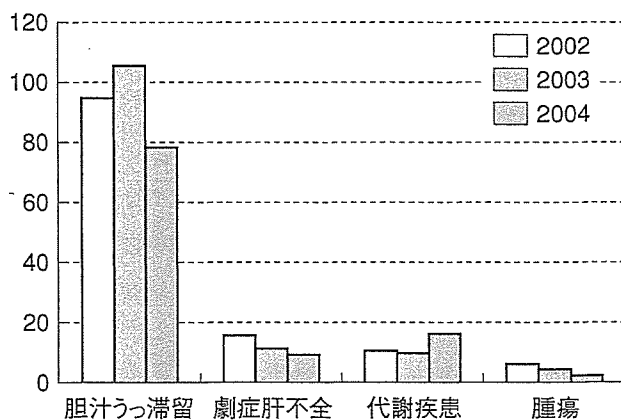


図 2 年次別小児肝移植適応疾患の推移 (日本肝移植研究会集計)

表 小児代謝性疾患に対する生体肝移植 (2004 年 12 月, 日本肝移植研究会集計)

Wilson 病	46
OTC 欠損症	16
高チロシン血症	11
高シュウ酸尿症	6
糖原病	6
プロピオン酸血症	4
シトルリン血症	3
メチルマロン酸血症	3
Crigler-Najjar 病	2
胆汁酸代謝異常	2
家族性高コレステロール血症	2
プロトポルフィリア	1
カルバミルリン酸合成酵素欠損症	1
Dubin-Johnson 症候群	1

とが期待される。今後とも移植医と小児肝臓専門医との密接な連携が重要である。

4. 代謝性肝疾患

生体肝移植の一般化とともに、対象疾患が広がっており、まれな代謝性疾患が肝移植対象となってきている。胆道閉鎖症が減少しているのと対照的である (図 2)。最も多いのが Wilson 病であり、溶血を伴う劇症型で発症し緊急移植の対象となる場合と、肝硬変から慢性肝不全で対象になる場合とがある。そのほか、表のような非常にまれな疾患を含めて移植が行われている。これらの疾患は、全身病態への代謝異常の影響など術後の外科的管理や免疫抑制をこえた知識が必要で、移植医が代謝や小児肝臓専門医と緊密な連携をとって術前後の

ケアを行うことが重要であり、そのような連携が可能である施設での移植が望ましい。

5. その他の疾患

Budd-Chiari 症候群の生体肝移植は静脈吻合などの点で技術的工夫も必要であるが移植後予後は良好とされる⁹⁾。成人では肝癌の移植が増加しているが、小児でも肝切除不能な肝芽腫など肝悪性腫瘍に対しての移植を含めた修学的治療が行われつつある¹⁰⁾。日本小児肝癌スタディグループは JPLT 3 となる肝芽腫治療プロトコルに、肝移植をより体系的に選択肢として組み入れられようと考えている。現在、ほとんどの小児肝疾患に対する生体肝移植が健康保険適用となっているなかで、肝芽腫など悪性腫瘍は適応からはずれており、この解決も実際上重要な点である。腫瘍疾患では、肝血管内皮腫も、高拍出性心不全の治療として肝移植適応がある。また最近、熱中症における多臓器不全の治療の一環として、肝移植が救命手段となる場合が報告されている¹¹⁾。

6. 新生児、幼若乳児での生体肝移植

とくに新生児肝不全を中心に、生体肝移植の技術的可能性が議論されるようになった。欧米では、新生児のヘモクロマトーシスなどを対象に幼少児脳死ドナーを得ての肝移植が可能であるが、生体肝移植中心のわが国では大きな成人肝の一部でもまだ大きすぎる（過大グラフト）として敬遠されてきた。腹腔内へのグラフトの収容、細い血管吻合など技術的には容易ではないが、単区域（左外側区域の一部）あるいはそれをさらに減寸したグラフトの使用などを考慮し、最大限小さいグラフトを準備してあたれば新生児でも生体移植実施可能性が十分あると考えられ、診断未確定の新生児肝不全などで救命に迫られる場合、あきらめずに積極的に検討してみてもよいと考える¹²⁾。

7. 血液型不適合肝移植

従来、1歳以前の乳児では、血液型不適合生体肝移植の成績は、適合例と遜色ないことが示され、現在でもその傾向は不変である。一方、成人での不適合移植成績向上のため、抗血液型抗体低下の

ための血漿交換、抗体産生細胞抑制のための術前抗 CD 20 抗体（リツキシマブ）投与、術後約 1 か月間にわたる、経門脈または経肝動脈内ステロイド + PGE₁ 持続注入、脾臓摘出などの方法が工夫されて、その術後成績は大きく向上し、1年生存率 60%以上となってきた。年長児でも、成人同様、不適合移植による早期広範肝壊死、あるいは胆管系合併症などがみられていたが、少なくとも、成人同様の対応で肝壊死は劇的に減少しており、今後、長期経過での胆道合併症の低下も証明されることが期待される¹³⁾。脾臓摘出や、術後肝血管内カテーテル留置の技術的問題などもあり、小児でも成人とまったく同じプロトコル実施ができない、あるいはその必要性に疑問が残ることもあり、症例ごとの対策が検討される。いずれにしろ、以前より、不適合ドナーしかいない家族での移植実施の判断に幅を広げる武器を得たことは事実であり、家族や紹介小児科医に正しい情報が伝えられることが必要である。

IV. 移植後成績

日本肝移植研究会のホームページ (<http://jlts.umin.ac.jp/>) には、2004 年末までの国内肝移植の集計が公表され、そのなかで、小児、成人別、各対象疾患別に、肝移植後生存曲線が示されている。詳細はそれを参照されたいが、概説すると、成人と小児を比すと、5年生存率で、83.0%対 69.8%と、10%以上小児が良く、成人での過小グラフトによる短期成績、肝癌や HCV 肝硬変など再発疾患の多さによると思われる。胆道閉鎖症は 1年 88.8%、10年で 81.5%の生存率であり、数年前に比べても若干改善がみられており、印象として術前状態の良好さが成績改善の理由ではないかと感じている。劇症肝不全では、成人小児別に成績がでていないが、原因不明全体では 1年生存率 67.3%と不良である。京都大学の集計では、生後 3 か月以内の早期乳児例で、移植後強い拒絶と思われる肝不全での死亡が高率にみられ成績を不良にしている¹⁴⁾。代謝疾患は疾患によって差がみられ、Wilson 病など肝が主な病巣である疾患での成績が良好であるのに対し、腎障害が必発の高シュウ酸

尿症では1年生存率が44.4%と不良であり、とくに全身疾患としての代謝疾患肝移植管理の難しさを示している。

全体の年齢別成績は明らかでないが、早期乳児中心の単区域移植症例34例の集計では、1年生存率が70.6%と、比較的良好であり、今後のこのような症例増加に期待がもてる。肝芽腫では、18例の集計で、3年生存率が81%と、他疾患の成績に劣らない結果が得られており、適応症例の肝切除不能という病態を考えると、その治療効果は大きい。

V. 免疫抑制に関わる長期的問題

1. 移植後自己免疫性肝炎

原因不明の慢性肝炎像、IgG高値、自己抗体陽性を臨床的特徴として、小児肝移植全体の約4%にみられる病態として報告され、病理学的にも進行性の悪化をきたす¹⁵⁾。免疫抑制を緩和しがちな小児症例であるが、プレドニンの再投与など、早期発見して早期の対応を行う必要がある。

2. 免疫抑制薬完全離脱症例の評価

生体肝移植術後に感染症などでやむをえず免疫抑制薬を減量あるいは中止しても肝機能が良好に保たれる症例の存在から、意図的に免疫抑制薬の減量中止を図り、免疫抑制の長期服用や発達への影響の懸念される小児症例に、いわゆる operational tolerance を誘導しようという試みとその成功が、京都大学での生体肝移植症例を中心に報告されてきた。減量離脱の試みは現在も継続して行われており、われわれも自験例で実施している。免疫抑制離脱の利点に関する客観的評価はまだなされていないが、一方、肝生検を行うと中等度の線維化がみられる症例が経験されるようになっている。それが臨床的に問題であるという客観的評価もまだであるが、今までの減量離脱プロトコールには、肝生検所見が開始基準に含まれていない。それが必須であるというエビデンスもないが、その検討のため、臨床検査に生検所見も含めたより慎重なフォローが今後とも必要であり、経時の変化に基づいた再評価が必要であろう。われわれも離脱症

例で1~2年に1回のプロトコール肝生検を実施することとしている。

おわりに

小児生体肝移植は15年の歴史をもち、適応疾患、年齢などの拡大をさらに続け、成績向上が図られている。しかし、親族内に妥当なドナーがいないことは決して少なくない。離婚の増加もあり、また不安定な若年層を中心とした保護者の場合が多く、保護者が物理的社会的にドナーになれないことも多々ある。やはり、脳死肝移植がわが国でも現在の数倍にでも拡充され、生体肝移植に伴う諸問題が少しでも解決されることが期待される。

文献

- 1) 梅下浩司, 門田守人: 生体ドナーの術後合併症と予後—日本肝移植研究会の取り組みを中心に. 外科 66: 1019-1023, 2004
- 2) 加藤俊一: 日本移植学会の倫理指針. 日本臨床 63: 1899-1997, 2005
- 3) Morioka D, Takada Y, Kasahara M, et al: Living donor liver transplantation for noncirrhotic inheritable metabolic liver diseases: impact of the use of heterozygous donors. Transplantation 80: 623-628, 2005
- 4) Kasahara M, Kiuchi T, Inomata Y, et al: Living-related liver transplantation for Alagille syndrome. Transplantation 75: 2147-2150, 2003
- 5) Laving A, Khanna A, Rubin L, et al: Successful liver transplantation in a child with severe portopulmonary hypertension treated with epoprostenol. J Pediatr Gastroenterol Nutr 41: 466-468, 2005
- 6) 岩田あや, 土井 拓, 岩朝 徹, 他: 生体肝移植後の門脈肺高血圧の1症例に対する bosentan の投与経験. 日本小児循環器学会誌 22: 393, 2006
- 7) 依藤 亨: 進行性家族性肝内胆汁うっ滞症の肝移植成績が悪い理由は? 小児内科 36: 1280-1281, 2004
- 8) 皆川のみみ, 佐々木文章, 岡田忠雄, 他: 進行性家族性肝内胆汁うっ滞症に対し部分的胆汁外瘻術が肝線維化の進行阻止に有効であった1例. 日本小児外会誌 42: 236-242, 2006
- 9) Yamada T, Tanaka K, Ogura Y, et al: Surgical techniques and long-term outcomes of living donor liver transplantation for Budd-Chiari syndrome. Am J Transplant 6: 2463-2469, 2006
- 10) 長谷川利路, 木村拓也, 井原欣幸, 他: 大量化学療法後の切除不能肝芽腫 (PRETEXT IV) に対する生体

肝移植の経験. 小児がん 43 : 43-49, 2006

11) 小川晃平, 上田幹子, 藤本康弘, 他 : 熱中症による劇症肝不全に対して生体肝移植を施行し救命し得た一例. 移植 39 : 709, 2004

12) 大矢 洋, 佐藤好信, 山本 智, 他. 生後 25 日で生体肝移植施行した新生児劇症肝不全の一例. 日本消化器外科学会雑誌 39 : 1120, 2006

13) 田辺 稔, 島津元秀, 星野 健, 他 : ABO 血液型不適合生体肝移植の現況. Surgery Frontier 13 : 157-

163, 2006

14) Ueda M, Oike F, Ogura Y, et al : Long-term outcomes of 600 living donor liver transplants for pediatric patients at a single center. Liver Transplant 12 : 1236-1336, 2006

15) Evans HM, Kelly DA, McKiernan PJ, et al : Progressive histological damage in liver allograft following pediatric liver transplantation. Hepatology 43 : 1109-1117, 2006

小児外科

第 38 巻第 12 号 (12 月号) (定価 2,750 円)

特集 小児外科の基本手術手技—わたしはこうしている

切開法.....	窪田正幸	虫垂切除術.....	黒田達夫
止血法.....	上野豪久	虫垂切除術 (腹腔鏡).....	大下正晃
剝離法.....	後藤隆文	幽門筋切開術.....	仁尾正記
開腹術.....	下野隆一	皮下小腫瘍切除術.....	脇坂宗親
開胸術.....	鎌形正一郎	側頸瘻摘出術.....	大塩猛人
腸管吻合法 : 一層断端吻合 (食道から肛門まで)		耳前瘻孔切除術.....	伊藤泰雄
.....	西島栄治	肛門周囲膿瘍切開術および痔瘻	
腸管吻合法 : 面对称腸管吻合法.....	橋都浩平	根治術.....	大谷俊樹
鼠径ヘルニア根治術 (男児).....	福澤正洋	気管切開術.....	畠山 理
再発のない女児鼠径ヘルニア根治術.....	横森欣司	当科における中心静脈カテーテル挿入法	
小児の鼠径ヘルニアにおける腹腔鏡を用いた		増本幸二
完全腹膜外鞘状突起閉鎖術.....	遠藤昌夫	包茎手術 : 環状切除術.....	山崎洋次
臍ヘルニア根治術.....	大沼直躬	小児包茎術.....	山崎雄一郎
精巣固定術.....	浅沼 宏		

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

生体肝移植後の C 型肝炎再発予防を目指した
ステロイド剤不使用による免疫抑制療法
に関する研究

平成 18 年度分担研究報告書

平成 19 年 3 月

分担研究者 伊佐地 秀 司

生体肝移植後のC型肝炎再発予防を目指したステロイド剤不使用による
免疫抑制療法に関する研究

分担研究者 伊佐地 秀司 三重大大学大学院肝胆膵・乳腺外科助教授

研究要旨

三重大学肝胆膵外科で生体肝移植を受けたC型肝炎患者33人の移植後肝炎の再発について検討したところ、術後早期死亡例を除く28例中血清学的にC型肝炎ウイルスの再増殖を認めたもの96.4%であった。肝生検によって19例67.8%がC型肝炎の再発と診断された。生体肝移植後肝炎再発防止を目指した新しい免疫抑制療法に関する無作為比較試験を開始し、これまでに3例参加登録が行われ、2例に肝炎再発のためインターフェロン+リバビリン療法が開始され、2例ともC型肝炎ウイルスの消失を認めており、重篤な有害事象を認めていない。今後さらなる症例数の集積が望まれる。

A. 研究目的

C型肝炎ウイルス(HCV)感染による肝硬変ならびに合併する肝細胞癌は、現在肝疾患のなかでも死亡原因となる最大の疾患であり、その治療法として肝移植に期待がかけられている。しかし、近年海外における肝移植医療において、肝移植後のHCV肝炎再発が移植肝の予後を左右する重要な問題となっており、肝炎再発に関連するグラフト機能不全のために他の疾患に比べて5年以降の長期予後が有意に不良であるとの報告が多数出されている。

肝移植後のHCV肝炎再発の特徴として、ウイルス量が肝移植後に急速に上昇しその値は移植前に比べて非常に高くなること、慢性肝炎から肝硬変への進展が早い、すなわち肝の線維化速度が速いことなどが挙げられ、その原因として移植後免疫抑制療法の影響が考えられている。特に、ステロイド剤はHCVの増殖を促進するといわれ、移植後HCV肝炎再発防止のためにはこれまでのステロイドを中心とした免疫抑制療法の見直しが必要である。

本邦でも成人生体肝移植の普及につれ、HCV関連肝硬変ならびに肝細胞癌患者に

対する肝移植の実施数が増加している。本研究は、1) 当施設で実施した C 型肝炎への生体肝移植後の肝炎再発の実態を明らかにする、2) 生体肝移植後肝炎再発防止を目指したステロイドフリーによる新しい免疫抑制療法を開発することを目的とする。

B. 研究方法

1) 平成 14 年 3 月から平成 18 年 3 月までに、三重大学肝胆膵外科で生体肝移植を受けた C 型肝炎患者 33 人を対象として、肝生検結果に基づく移植後 C 型肝炎の再発について検討した。

2) HCV 関連肝硬変患者の生体肝移植後肝炎再発防止を目指した新しい免疫抑制療法の開発として、従来のタクロリムスとステロイド剤による免疫抑制療法を行う群 (A 群) と、ステロイド剤を一切使用せずミコフェノール酸モフェチル (MMF) とタクロリムスを使う新しい免疫抑制療法を行う群 (B 群) の 2 群における前向き無作為比較試験を平成 16 年 7 月 26 日より開始した。この臨床試験に関する倫理面への配慮については、本学の倫理委員会の審議を経てその指針を受けている。

C. 研究結果

1) C 型肝炎患者に対する 33 例の移植後 1 年生存率は 75.8%、2 年生存率は 72.5%、3 年生存率は 57.8%、4 年生存率は 57.8% で、他の疾患に対して生体肝移植を受け

た成人 43 例の場合の 1 年生存率 90.9%、2 年、3 年生存率 83.7%、4 年生存率 61.3% と有意差 ($p=0.229633$) を認めなかったものの、その成績はより不良であった。死因は肝細胞癌再発 1 例、MOF または敗血症を認めたもの 7 例 (うち慢性拒絶反応に対する再移植 2 例、慢性拒絶反応に対する治療中 1 例を含む)、術後肝不全 1 例、術後肺出血、術後脳出血各 1 例で C 型肝炎再発時に治療を希望しなかったため肝不全で死亡した 1 例を除いて C 型肝炎に関連するものは認められなかった。早期死亡を除く 28 例中 27 例 (96.4%) に血清学的に HCV ウイルスの再増殖が認められた。移植手術後の肝生検にて 19 例に組織学的に肝炎再発を認めた。C 型肝炎に対しインターフェロン単独またはインターフェロン+リバビリン療法を行ったものは 20 例でこのうち 10 例に C 型肝炎ウイルスの消失を確認し、2 例は著明なウイルス量の減少を認めており、インターフェロンの継続投与を行っている。また抗ウイルス治療なしに C 型肝炎ウイルスの消失を認めたものを 1 例経験している。

2) 平成 16 年 7 月 26 日より三重大学倫理委員会の承認を受け無作為比較試験を開始した。平成 18 年 3 月までの 20 ヶ月間に 14 例の C 型肝炎患者に対する生体肝移植手術を実施しているが、ABO 不適合移植 2 例、血小板減少症 4 例、術前に感染症を合併したものが 1 例、B 型肝炎混合感染、過小グラフト症例、他の悪性腫瘍治療後のものが各 1 例認められ、これらの

10例はプロトコル除外基準を満たしていた。また試験参加の同意を得られなかったものが1例認められた。従って3例に参加登録が行われ、無作為割付に従いB群のプロトコルに基づいた治療を開始している。これらのうち2例は組織学的に肝炎再発が証明され、インターフェロン+リビリン療法を開始し、2例ともC型肝炎ウイルスの消失を認めており、このうち1例は1年以上ウイルスの再増殖を認めていないSVR症例である。他の1例はC型肝炎ウイルス量の増大を認めているが、組織学的に肝炎の証明がされておらず、無治療にて経過観察中である。肝炎再発予防における有効性の評価はまだ行われていない。試験継続が不可能となる重篤な有害事象は認められていない。

D. 考察

最近欧米での一部の施設において、脳死肝移植に比べて生体肝移植の方が移植後C型肝炎の再発の危険性が高いと報告された。しかし、我々の検討ではC型肝炎再発率が67.8%と脳死の報告と比べて同等の再発率であり、肝炎再発が生体肝移植後の予後に著明な影響を与えることはないと考えられた。

また、生体肝移植後肝炎再発防止を目指したステロイドフリーによる新しい免疫抑制療法の開発に関する臨床試験はまだ症例数の蓄積を進めている所であり、長期の成績についてはさらに経過観察を要すると思われるが、本施設ならびに京

都大学でのこれまでの15例において安全性は確認されており、今後のプロトコル継続は可能であると判断された。

E. 結論

多施設共同の無作為比較試験として立ち上げられた本研究は、本施設以外にも他の3施設で研究が進行中である。今後の登録症例数の増加と研究の推進が期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Usui M, Isaji S, Mizuno S, Sakurai H, Uemoto S. Experiences and problems pre-operative anti-CD20 monoclonal antibody infusion therapy with splenectomy and plasma exchange for ABO-incompatible living-donor liver transplantation. Clin Transplant 2007 21: 24-31.
- 2) Mizuno S, Iida T, Yagi S, Usui M, Sakurai H, Isaji S, Uemoto S. Impact of venous drainage on regeneration of the anterior segment of right living-related liver grafts. Clin Transplant 2006 20: 509-516.
- 2) Yokoi H, Isaji S, Yamagiwa K,

- Tabata M, Sakurai H, Usui M, Mizuno S, Uemoto S. Donor outcome and liver regeneration after right-lobe graft donation. *Transpl Int.* 2005 18: 915-922
- 2) Yagi S, Iida T, Taniguchi K, Hori T, Hamada T, Fujii K, Mizuno S, Uemoto S. Impact of portal venous pressure on regeneration and graft damage after living-donor liver transplantation. *Liver Transpl.* 2005 11(1):68-75
- 2) Mizuno S, Yamagiwa K, Ogawa T, Tabata M, Yokoi H, Isaji S, Uemoto S. Are the results of surgical treatment of hepatocellular carcinoma poor if the tumor has spontaneously ruptured? *Scand J Gastroenterol.* 2004 39(6):567-70
- 3) Nakanishi S, Shiraki K, Yamamoto K, Saitou Y, Ohmori S, Nakano T, Mizuno S, Tabata M, Yamagiwa K, Yokoi H, Isaji S, Uemoto S. Early graft hemodynamics in living related liver transplantation evaluated by Doppler ultrasonography. *Int J Mol Med.* 2004 14(2):265-9.
- 4) Mizuno S, Yokoi H, Yamagiwa K, Tabata M, Isaji S, Yamakado K, Takeda K, Uemoto S. Outflow block secondary to stenosis of the inferior vena cava following living-donor liver transplantation? *Clin Transplant.* 2005 19(2):215-9
- 5) Mizuno S, Yokoi H, Isaji S, Yamagiwa K, Tabata M, Shimono T, Miya F, Takada Y, Uemoto S. Using a radial artery as an interpositional vascular graft in a living-donor liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Transpl Int.* 2005 18(4):408-11.
- 6) Yamagiwa K, Yokoi H, Isaji S, Tabata M, Mizuno S, Hori T, Yamakado K, Uemoto S. Takeda K. Intrahepatic hepatic vein stenosis after living-related liver transplantation treated by insertion of an expandable metallic stent. *Am J Transplant.* 2004 4(6):1006-9.
- 7) Saitou Y, Shiraki K, Yamaguchi Y, Nakano T, Mizuno S, Uemoto S. Serum vascular endothelial growth factor-receptor 1 during liver regeneration. *J Hepatol.* 2004 41(1):170-1
- 8) Yamaguchi Y, Shiraki K, Saitou Y, Nakano T, Mizuno S, Uemoto S. Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) during liver regeneration. *J Hepatol.* 2004 40(4):718-9.
- 9) Iida T, Yagi S, Taniguchi K, Hori T, Uemoto S. Yamakado K, Shiraishi T. Significance of CT Attenuation Value in Liver Grafts Following Right Lobe

Living-Donor Liver Transplantation.

Am J Transplant. Online publication:

21-Feb-2005

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Usui M, <u>Isaji S</u> , Mizuno S, Sakurai H, <u>Uemoto S.</u>	Experiences and problems pre-operative anti-CD20 monoclonal antibody infusion therapy with splenectomy and plasma exchange for ABO-incompatible living-donor liver transplantation.	Clin Transplant	21	24-31	2007
Mizuno S, Iida T, Yagi S, Usui M, Sakurai H, <u>Isaji S</u> , <u>Uemoto S.</u>	Impact of venous drainage on regeneration of the anterior segment of right living-related liver grafts.	Clin Transplant	20	509-516	2006
Yokoi H, <u>Isaji S</u> , Yamagiwa K, Tabata M, Sakurai H, Usui M, Mizuno S, <u>Uemoto S.</u>	Donor outcome and liver regeneration after right-lobe graft donation.	Transpl Int.	18	915-922	2005
Yagi S, Iida T, Taniguchi K, Hori T, Hamada T, Fujii K, Mizuno S, <u>Uemoto S.</u>	Impact of portal venous pressure on regeneration and graft damage after living-donor liver transplantation.	Liver Transpl	11(1)	68-75	2005

Mizuno S, Yamagiwa K, Ogawa T, Tabata M, Yokoi H, <u>Isaji</u> <u>S</u> , <u>Uemoto S</u> .	Are the results of surgical treatment of hepatocellular carcinoma poor if the tumor has spontaneously ruptured?	Scand J Gastroenterol	39(6)	567-70	2004
Nakanishi S, Shiraki K, Yamamoto K, Saitou Y, Ohmori S, Nakano T, Mizuno S, Tabata M, Yamagiwa K, Yokoi H, <u>Isaji S</u> , <u>Uemoto S</u> .	Early graft hemodynamics in living related liver transplantation evaluated by Doppler ultrasonography.	Int J Mol Med	14(2)	265-9	2004
Mizuno S, Yokoi H, Yamagiwa K, Tabata M, <u>Isaji</u> <u>S</u> , Yamakado K, Takeda K, <u>Uemoto</u> <u>S</u> .	Outflow block secondary to stenosis of the inferior vena cava following living-donor liver transplantation?	Clin Transplant	19(2)	215-9	2005
Mizuno S, Yokoi H, <u>Isaji S</u> , Yamagiwa K, Tabata M, Shimono T, Miya F, Takada Y, <u>Uemoto S</u> .	Using a radial artery as an interpositional vascular graft in a living-donor liver transplantation for hepatocellular carcinoma.	Transpl Int	18(4)	408-11	2005

Yamagiwa K, Yokoi H, <u>Isaji S</u> , Tabata M, Mizuno S, Hori T, Yamakado K, <u>Uemoto S</u> , Takeda K.	Intrahepatic hepatic vein stenosis after living-related liver transplantation treated by insertion of an expandable metallic stent.	Am J Transplant	4(6)	1006-9	2004
Saitou Y, Shiraki K, Yamaguchi Y, Nakano T, Mizuno S, <u>Uemoto S</u> .	Serum vascular endothelial growth factor-receptor 1 during liver regeneration.	J Hepatol	41(1)	170-1	2004
Yamaguchi Y, Shiraki K, Saitou Y, Nakano T, Mizuno S, <u>Uemoto S</u> .	Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) during liver regeneration.	J Hepatol	40(4)	718-9	2004
Iida T, Yagi S, Taniguchi K, Hori T, <u>Uemoto S</u> , Yamakado K, Shiraishi T.	Significance of CT Attenuation Value in Liver Grafts Following Right Lobe Living-Donor Liver Transplantation.	Am J Transplant	Online publi catio n: 21-Fe b-		2005

Experiences and problems pre-operative anti-CD20 monoclonal antibody infusion therapy with splenectomy and plasma exchange for ABO-incompatible living-donor liver transplantation

Usui M, Isaji S, Mizuno S, Sakurai H, Uemoto S. Experiences and problems pre-operative anti-CD20 monoclonal antibody infusion therapy with splenectomy and plasma exchange for ABO-incompatible living-donor liver transplantation.

Clin Transplant 2007; 21: 24–31. © Blackwell Munksgaard, 2006

Abstract: Background: ABO-incompatible living-donor liver transplantation (LDLT) requires a reduction of the anti-ABO antibody titer to <16 before transplantation, which is usually achieved by pre-operative plasma exchange (PE) or double-filtration plasmapheresis. ABO-incompatible transplantations have been performed after a splenectomy with heavy drug immunosuppression plus B-cell-specific drugs. Here, we evaluated a pre-transplantation infusion protocol with an anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab) for ABO-incompatible LDLT.

Methods: Between March 2002 and December 2005, 73 adult patients underwent LDLT without retransplantation in our institution. Among these cases, 57 were ABO-identical, 11 were ABO-compatible and five were ABO-incompatible. The rituximab infusion protocol consisted of a weekly infusion of rituximab (375 mg/m^2) for three wk, which was administered to three of the five ABO-incompatible LDLT patients. All three patients underwent a pre-operative PE, as well as a splenectomy during the operation. A triple immunosuppression protocol of tacrolimus, low-dose steroids and mycophenolate mofetil (1500 mg/d) was administered post-operatively. In addition, the patients received a continuous intra-arterial infusion of prostaglandin E_1 and methylprednisolone, and a continuous intra-portal infusion of a protease inhibitor for three and two wk after transplantation, respectively.

Results: After the first rituximab infusion, the peripheral blood $CD19^+$ B cell count rapidly decreased to $<1\%$. All three patients treated with rituximab subsequently received an ABO-incompatible LDLT, with donor/recipient blood groups of B/O, A_1/B and A_1/O . In two cases, the ABO-antibody level transiently increased post-operatively, then decreased and remained low. Rituximab infusion therapy did not develop any direct side effect except for mild allergic reaction to the first infusion, but post-operatively all three patients suffered a cytomegalovirus and were successfully treated with ganciclovir, and one patient had a MRSA-positive intra-abdominal abscess. Two patients are currently alive at 20 and 18 months respectively, and show normal graft-liver function. But one patient died of sepsis because of intra-abdominal abscess.

Conclusions: Although the protocol of rituximab administration is a conventional and safe regimen with no major side effects, the development of a new protocol is needed for prevention of the infection with bone suppression.

Masanobu Usui, Shuji Isaji, Shugo Mizuno, Hiroyuki Sakurai and Shinji Uemoto

Department of Hepatobiliary Pancreatic Surgery, Mie University Hospital, Mie, Japan

Key words: ABO-incompatible living-donor liver transplantation – anti-CD20 monoclonal antibody – rituximab

Corresponding author: Masanobu Usui, Department of Hepatobiliary Pancreatic Surgery, Mie University Hospital, Mie 514-8507, Japan. Tel.: +81 59 232 1111; fax: +81 59 231 5253; e-mail: m-usui@clin.medic.mie-u.ac.jp

Accepted for publication 19 July 2006

ABO-blood-group-incompatible (ABO-incompatible) living-donor liver transplantation (LDLT) has long been considered a high-risk procedure because of humoral rejection induced by anti-blood-type antibodies. However, recent reports have demonstrated that the results of ABO-incompatible LDLT in children can be improved by administration of FK506, low-dose steroids and prophylactic OKT3 (1–2). Moreover, intra-portal or intra-arterial prostaglandin infusion therapy for ABO-incompatible LDLT was recently reported by Tanabe et al. (3), and the rates of mortality and graft loss have been reduced in Japan as a result. As cadaveric liver transplantation has not progressed in Japan, there have been no alternatives to reliance on living-donor liver transplantation. ABO-incompatible LDLT requires a reduction of the anti-ABO antibody titer to <16 , which is usually achieved by performing pre-operative plasma exchange (PE) or double-filtration plasmapheresis (DFPP) three to four times. Nevertheless, there are still cases in which the anti-ABO antibody titer fails to decrease, even immediately before surgery, in which a sudden acute increase of antibody occurs immediately post-operatively, which leads to death from graft-liver failure. Faced with this situation, expansion of the donor indications by improving the results of ABO-incompatible LDLT has become an urgent task and is considered to be of great significance. Previous reports have suggested that administration of an anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab), which was originally developed for highly selective elimination of B cells, is effective and safe for use in ABO-incompatible renal transplantation (4–5) and cardiac transplantation (6). Recently, Usuda et al. (7) reported successful use of rituximab after ABO-incompatible LDLT. However, there are hardly any reports of pre-operative rituximab administration as a protocol for preventing anti-ABO titer elevation after LDLT. Here, we performed weekly administrations of rituximab to three patients for three wk prior to surgery, and found that this protocol suppressed B lymphocytes and was capable of suppressing post-operative anti-ABO antibody titers.

Patients and methods

Patients

Between March 2002 and December 2005, 73 adult patients underwent LDLT in our institution. The patients ranged in age from 20 to 70 yr (median: 53), and the ratio of males to females was 43:30. The reasons for LDLT were: hepatitis C virus-

related cirrhosis in 32 cases (21 of which were complicated by hepatocellular carcinoma); hepatitis B virus-related cirrhosis in 11 cases (eight of which were complicated by hepatocellular carcinoma); alcoholic cirrhosis in four cases; primary biliary cirrhosis in eight cases; acute liver failure in six cases; primary sclerosing cholangitis in two cases; and cryptogenic liver cirrhosis in seven cases. Liver cirrhosis after biliary atresia in one case and secondary liver cirrhosis in one case. Among the cases, 57 were ABO-identical, 11 were ABO-compatible and five were ABO-incompatible. The rituximab protocol was administered to three of the five ABO-incompatible LDLT patients, and the backgrounds and clinical data of these three patients are provided in detail in Table 1 and the Clinical section of this article.

Pre-operative anti-CD monoclonal antibody (rituximab) protocol

In order to prevent increases in the anti-ABO antibody titer both prior to and immediately after surgery, we established a protocol for pre-operative administration of an anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab) according to the previous reports (7) (Fig. 1). Briefly, a weekly infusion of rituximab (375 mg/m^2) was administered for three wk before the LDLT. The study protocol was approved by the Medical Ethics Committee of Mie University, and the study was performed in accordance with

Table 1. ABO-incompatible recipient characteristics, numbers of plasma exchanges and changes in the anti-A or anti-B IgM and IgG antibody titers before and after transplantation

Case	1	2	3
Age/sex	60/M	25/M	58/M
Blood groups donor/recipient	B/O	A ₁ /B	A ₁ /O
Primary disease	LC (HCV)	LC (BA)	LC HCC (HBV)
Pre-operative condition			
T-Bil	0.8	1.1	0.4
Child Pugh	B	A	A
Gastrointestinal bleeding	(–)	(+)	(–)
Plasma exchange (times)			
Before operation	3	1	3
After operation	0	0	0
Antibody titer (IgM/IgG)			
Initial	64/2048	16/8	32/1024
Operation day	2/128	2/2	4/64
Post-operatively (maximum)	8/256 (day 3)	4/2 (day 14)	8/128 (day 7)
Graft type	Right with MHV	Right	Left
GRWR (%)	1.03	1.19	0.79

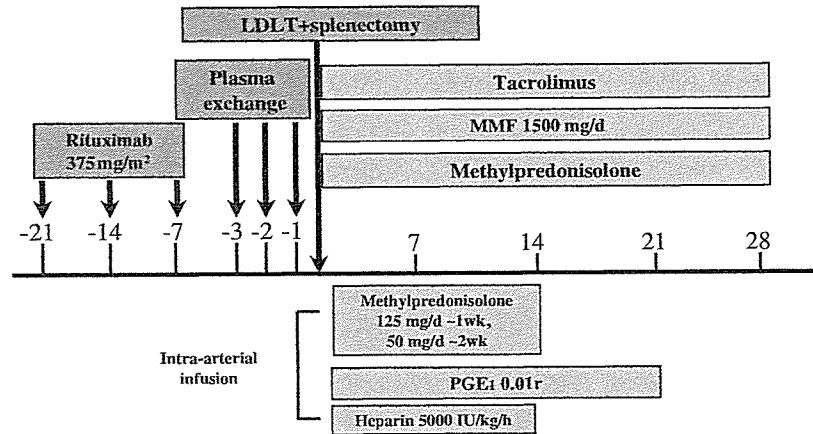


Fig. 1. Protocol for pre-operative administration of rituximab, plasma exchanges and post-operative immunosuppression.

the ethical standards established in the 1964 Declaration of Helsinki.

Removal of isohemagglutinin

A PE using fresh frozen plasma (FFP; AB blood type) was performed three d before the LDLT to decrease the anti-A or anti-B antibody titer. PE was repeated several times if necessary when the isohemagglutinin titer was above 64:1. The numbers of PEs performed and the isohemagglutinin titers are shown in Table 1.

Immunosuppression

The immunosuppression protocol consisted of tacrolimus and low-dose steroids. The target whole blood trough levels for tacrolimus were 10–15 ng/mL during the first two wk, approximately 10 ng/mL during the subsequent two wk and 5–10 ng/mL thereafter. Methylprednisolone (10 mg/kg body weight) was administered intravenously immediately before perfusion of the graft portal vein. Methylprednisolone was given intravenously at 1 mg/kg/d on post-operative days (PODs) 1–3, and then at 0.5 mg/kg/d on PODs 4–6. The steroid was then switched to oral prednisolone at 0.5 mg/kg/d on POD 7, and this dose was reduced to 0.1 mg/kg/d at one month. Mycophenolate mofetil (MMF; 1500 mg/d) administered from post-operative 0 d.

Intra-arterial infusion therapy

In addition to the systemic antirejection therapy described above, the ABO-incompatible LDLT cases received local administration of prostaglandin (PG) E₁ and a steroid according to a previously reported Keio University protocol (3). We per-

formed a splenectomy and inserted an intra-arterial catheter during the transplantation and the patients subsequently received continuous intra-arterial infusion of PGE₁ (0.01 µg/kg/min on POD 21), methylprednisolone (2 mg/kg/d on PODs 1–7, followed by 1 mg/kg/d on PODs 8–14) and heparin (5000 U/d on PODs 0–21). At three wk after the LDLT, the intra-arterial catheter was removed under laparotomy (8). We also performed a splenectomy during the transplantation.

Measurement of anti-blood-type antibody titers

The anti-A and anti-B immunoglobulin (Ig) M titers were measured using the saline agglutination technique (SAT), and the anti-A and anti-B IgG titers were measured by the indirect Coomb's test (CT). For the SAT, 0.2 mL of type A or type B erythrocytes (RBCs) were dispersed in saline (final concentrations: 5%) and mixed with 0.4 mL of the patient's serum. The patient's RBCs were used as a control. The mixtures were centrifuged at 1000 rpm for one min, and the anti-A or anti-B titers were evaluated. For the CT, 0.6 mL of 20% polyethylene glycol was added to a mixture of type A or B RBCs and the patient's serum, incubated at 37°C for 15 min and then centrifuged at 1000 rpm for one min. The pellets were washed three times with phosphate-buffered saline (PBS), and 0.4 mL of an anti-globulin serum was added. After centrifugation at 1000 rpm for one min, the anti-A or anti-B titers were evaluated. The antibody titers are reported as SAT-to-CT ratios.

Flow cytometry

Fluorescein isothiocyanate (FITC)-conjugated anti-CD19, -CD3, -CD4, -CD8, -CD14 and

-CD56 monoclonal antibodies were purchased from Becton-Dickinson (Mountain View, CA, USA), and directly added to 200 μ L of heparinized peripheral blood. After incubation for 60 min, the RBCs were lysed with ammonium chloride buffer, washed twice with PBS and analyzed using a FACscan (Becton-Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA).

Histology

Liver biopsy specimens were fixed in 10% formalin and stained with hematoxylin–eosin (H&E). Immunohistochemistry was performed using the anti-human CD20 antibody, an anti-CD138 monoclonal antibody (DAKO, Carpinteria, CA, USA) and an anti-human C4d antibody (Quidel, San Diego, CA, USA) and developed using the ABC technique.

Diagnosis of acute rejection

Rejection was diagnosed by biochemical abnormalities, histologic abnormalities and follow-up to exclude other causes of graft dysfunction.

Results

Clinical course of three patients

Case 1 was a 60-year-old man (blood type O) with refractory ascites and impaired renal function secondary to liver cirrhosis caused by HCV infection. The pre-operative anti-A antibody titer was 2048, and rituximab (375 mg/m²) was administered from pre-operative week 3. The pre-operative B-lymphocyte level decreased below 1%. Antibody titer was reduced to 32 on the day before surgery by PEs. He underwent an LDLT with the right lobe plus the middle hepatic vein from his wife (blood type A₁). However, the anti-A antibody titer increased from POD 3 to reach a peak of 256, then gradually decreased from POD 10 and reached a value of 16 by post-operative week 3 (Fig. 2A). Post-operative liver function was favorable without rejection, and was discharged. He is currently doing well with normal liver function (AST 28, ALT 31, AP 453, γ GTP 16, T-Bil 0.8) at 18 months after the transplantation.

Case 2 was a 25-year-old man (blood type B) with jaundice, fever and melena. He was born with biliary atresia and had undergone Kasai operation. The pre-operative antibody titers were IgM 4 and IgG 8, and rituximab (375 mg/m²) was administered from pre-operative week 3. The pre-operative B-lymphocyte level decreased to 0%. He under-

went a LDLT with the right lobe from his elder brother (blood type A₁). The post-operative antibody titers were <2 and remained stable (Fig. 2B). Liver function showed evidence of acute rejection once, but was successfully treated by steroid pulse therapy. An MRSA-positive intra-abdominal abscess developed as a complication, but was successfully treated by intra-abdominal drainage and the patient was discharged. He is currently doing well with almost normal liver function (AST 30, ALT 37, AP 504, γ GTP 123, T-Bil 0.4) at one yr after the transplantation.

Case 3 was a 58-year-old man (blood type O) with liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma who underwent LDLT with the left lobe from his wife (blood type A₁). The pre-operative antibody titers were IgM 64 and IgG 1024, and rituximab (375 mg/m²) was administered from pre-operative week 3. The pre-operative B-lymphocyte level decreased to 0%. The post-operative antibody titer increased to 128 at POD 6 and gradually decreased to <32 (Fig. 2C). Two episodes of ACR were successfully treated by steroid pulse therapy. At post-operative week 3, he suffered severe pneumonia caused by a cytomegalovirus (CMV) and *Pneumocystis carinii* infection and improved after ganciclovir and sulfamethoxazole–trimethoprim administration. But he suffered from bone suppression as a complication. Finally, he died of sepsis because of intra-abdominal abscess at two months after transplantation.

Hematological and immunological analysis

All three patients treated with the rituximab protocol showed a rapid decrease in the peripheral blood CD19⁺ B cell count to <1% after the first administration of rituximab. In two cases, the ABO-antibody titers transiently increased post-operatively, then decreased and remained at low levels. Rituximab infusion therapy did not develop any direct side effect except for mild allergic reaction to the first infusion. In two cases, pre-operative PEs were performed three times, while the third case only required a single PE because of low initial antibody titers. None of the three cases required a post-operative PE. In two of the three cases, acute cellular rejection was diagnosed and successfully treated with steroid pulse therapy. The biochemical analyses are shown in Table 2. At POD 1 and during rejection, transaminase and T-Bil were elevated and then decreased. No arterial or biliary problems were observed in any of three cases, post-operatively. No biliary trouble of all three recipients was checked by cholangiography two wk after LDLT. Although all three recipients

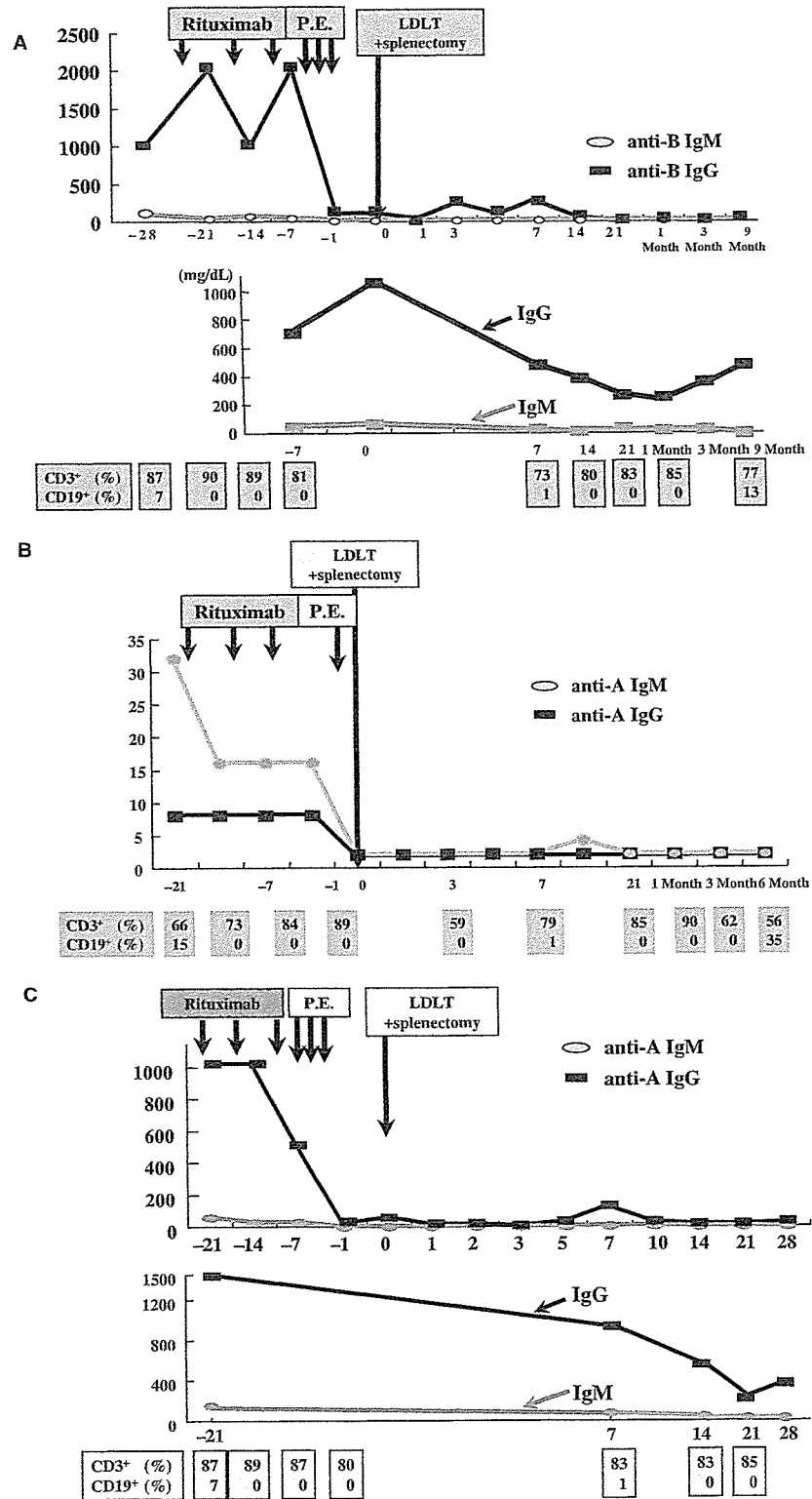


Fig. 2. Clinical courses of case 1 (A), case 2 (B) and case 3 (C). The anti-blood-type antibody titers are shown as follows: IgM (solid circles and solid lines); IgG (solid squares and dashed lines).

had CMV infections, they were all successfully treated with ganciclovir, and one patient had an MRSA-positive intra-abdominal abscess.

Although two patients are currently alive at 20 and 18 months, respectively, with normal graft-liver function, one patient died of sepsis because of

Table 2. Post-operative courses and outcomes

Case	1	2	3
Rejection HR/ACR	0/0	0/1	0/1
Maximum AST post-OP (d)	172 (1)	145 (19)	615 (1)
Maximum T-Bil post-OP (d)	5.6 (1)	3.2 (1)	3.1 (7)
Hepatic necrosis	(-)	(-)	(-)
Biliary lesion	(-)	(-)	(-)
Infectious complications	CMV	CMV MRSA abscess	CMV Pneumocystis carinii pneumonia
Outcome	Alive (20 months)	Alive (22 months)	Dead (2 months)

intra-abdominal abscess at two months after transplantation. The B lymphocyte level was also suppressed to <1% in all three cases and it took six or nine months to recovered in alive two cases. The γ -globulin levels gradually decreased below 400 mg/dL two wk after LDLT. γ -globulin was administrated when the recipients had evidence of sepsis and γ -globulin levels were documented below 400 mg/dL. It has continued for three months after LDLT.

The immunohistochemical staining analyses revealed that B-cells were not detected by the anti-CD20 monoclonal antibody (Fig. 3A) while plasma cells were detected by the anti-CD138 monoclonal antibody (Fig. 3B) in the spleen of all three cases.

Discussion

According to a report from the Japanese Liver Transplantation Society (9), approximately 2667 patients in Japan had received an LDLT up to 2003. The number of transplants with ABO-incompatible grafts was 215, and there has been a desire to improve the results of ABO-incompatible LDLT, since cadaveric transplantation has not progressed in Japan. ABO-incompatible LDLT requires a reduction in the anti-ABO antibody titer to <16 by pre-operative PE or DFPP, and 3–4 PEs or DFPPs are usually required to reach the target titer. However, there are cases in which the anti-ABO antibody titer fails to decrease, even immediately before the operation and there is no choice but to postpone the surgery. There are also cases in which graft-liver failure develops along with an acute increase in the antibody titer immediately post-operatively. These cases are the reason why we suppressed B lymphocyte antibody production by starting the administration of rituximab (375 mg/m²) at three wk prior to surgery

and made it a goal to prevent increases in the antibody titer both before and immediately after surgery.

Rituximab is a chimeric anti-CD20 monoclonal antibody preparation developed by the IDEC Pharmaceuticals Corporation in the United States. It has a complement-dependent cytotoxic effect, an antibody-dependent cytotoxic effect mediated by effector cells, such as macrophages, and an apoptosis-inducing effect via direct signal transmission, and has been approved as a revolutionary therapeutic agent for malignant lymphoma (10–11). Rituximab has recently been used for several organ transplantations in ABO-incompatible cases, and favorable results have been reported (7, 12–14). However, there are hardly any reports of its pre-operative use as a protocol for LDLT and post-operative course of hematological and immunological monitoring in the long-term.

In the current study, we used rituximab in three patients and suppressed post-operative increases in the antibody titer. The B lymphocyte levels were also suppressed to <1% in all three cases. No side effects were observed, except for fever as a reaction to the initial infusion in the early period. Because B lymphocytes have been suppressed to <1% for three months after transplantation, γ -globulin shows the levels below 400 mg/dL two wk after LDLT, which continued for three months. This phenomenon may contribute to the development of bacterial and/or viral infections. The cause of severe sepsis may be because of heavy immunosuppression by steroid and MMF administered after LDLT. In this study, we first demonstrated that immunosuppressive status occurred two wk after LDLT, which continued for a long time including low γ -globulinemia because of B lymphocyte suppression. Therefore, the following problems remain to be resolved when rituximab is used pre-operatively in the future. In terms of the dose and timing of the administration, pre-operative administration is recommended rather than immediate post-operative administration from the standpoint of prompt effect for B lymphocyte suppression as well as adverse reactions, although whether it is better to begin administration several weeks before surgery it is still a matter of trial and error. Moreover, the 375 mg/m² dose currently administered in all institutions is the therapeutic dose for malignant lymphomas, but represents a large dose intended to kill abnormal lymphocytes. Therefore, it may be better to use a smaller dose when suppressing normal lymphocytes. However, the dose has only been evaluated in a small number of cases, and no consensus has yet been reached. In case 3, severe immunosuppressive status of low