

用な検査方法であると考えられた。

## 5. 結 語

腎移植後の術後急性期患者125症例の移植腎に超音波検査を施行し、末梢血管抵抗値の推移を検討し以下の結果を得た。

1) 移植後合併症を認めない経過良好群の末梢血管抵抗値は、合併症を認めた合併症群より変動が少なく安定した推移であった。

2) 移植後の合併症（急性尿細管壊死，急性拒絶反応，移植腎水腎症，移植腎周囲血腫形成，移植腎周囲尿貯留，移植腎動脈硬化，静脈血栓症，動静脈血栓症，貧血）を認めた合併症群は、経過良好群に比べ有意に高値であった。

3) 移植腎周囲血腫形成や移植腎水腎症で末梢血管抵抗値は、移植腎内圧の変化に伴い推移した。

4) 急性拒絶反応で末梢血管抵抗値は、発症から治療まで病態に一致した変化を示し、移植腎機能を極めてよく反映した。

5) 静脈血栓症例では、Diastolic reversal of flowいわゆる to and fro pattern といった特徴的な血流波形が得られた。また、動静脈血栓症例での末梢血管抵抗値は、血栓形成を反映した急激な上昇を示した。

腎移植後に、非侵襲性・簡便で繰り返し施行可能な超音波PWD法を用いて末梢血管抵抗値を測定することは、移植腎障害を早期に発見し早期治療を行うために必須であると考えられた。

## 参考文献

- 1) 前島基志, 大矢良之, 山崎正明ほか: 生体腎移植後急性期における移植腎の血流動態および体積変化の検討. 超音波検査技術2004; 29: 729-737.
- 2) 岩下浄明: 腎臓・副腎の超音波検査, 超音波検査技術腹部超音波テキスト 2002; 27: 203-224.
- 3) 武山 茂, 岩下浄明, 山口秀樹ほか: 糖尿病性腎症における腎超音波検査—パルスドブラ法とパワードブラ法の評価—. 超音波検査技術2003; 28: 311-315.
- 4) 椿 哲弥: 超音波ドブラ法による正常者における腎動脈血流(区域動脈, 葉間動脈)測定の基礎的検討. 医学検査2003; 52: 1032-1037.
- 5) 両角國男, 山口 裕, 京 昌弘ほか: 腎臓移植inヒト移植臓器拒絶反応の病理組織診断基準: 鑑別診断と生検標本の取扱い(図譜)腎臓移植, 肝臓移植および心臓移植(日本移植学会, 日本病理学会), 第1版, 金原出版株式会社, 東京, 1998; 11-53.
- 6) K. Soiez, R. B. Colvin, L. C. Racusen, et al.: Banff'05 Meeting Report: Differential Diagnosis of Chronic Allograft Injury and Elimination of Chronic Allograft Nephropathy ('CAN'). American Journal of Transplantation 2007; 7: 518-526.
- 7) Maruyama M., Kenmochi T., Saigo K., et al.: Acute cellular rejection occurring on the first day after living-related renal transplantation: a case report. Clinical Transplantation 2006; 20 (suppl. 15): 38-41.
- 8) McNamara M. M., Lockhart M. E., Robbin M. L.: Emergency Doppler evaluation of the liver and kidneys. Radiologic Clinics of North America 2004; 42: 397-415.
- 9) 山田麗子, 平井都始子, 大石 元ほか: カラードブラ法による移植腎の評価. 第64回日本超音波医学会研究発表会抄録集1994; 21: 198.
- 10) 渡辺由香, 南里和秀, 白石周一ほか: 泌尿器の超音波検査—腎臓編—. 超音波検査技術1996; 21: 261-272.
- 11) 井上純雄, 石田祐一, 内田久則: 腎移植におけるDoppler検査法: 特に腎移植後早期のpulsatility/resistive indexについて. 第59回日本超音波医学会講演論文集1991; 18: 323-324.
- 12) 池上雅久, 原 靖, 西岡 伯ほか: カラードブラ法による死体腎移植後ATN期における腎血流速の検討. 第59回日本超音波医学会講演論文集1991; 18: 319-320.
- 13) 石田祐一, 井上純雄, 内田久則: 死体腎移植無尿期において超音波ドブラ法が有用であった一例. 第59回日本超音波医学会講演論文集1991; 18: 321-322.
- 14) 徳本直彦, 田邊一成: 拒絶反応 臨床診断(超音波診断など) in 腎移植ハンドブック(東間 紘, 高橋公太), 第1版, 中外医学社, 東京, 2000; 176-179.
- 15) 鬼塚史朗, 山口 裕: 拒絶反応 病理分類 in 腎移植ハンドブック(東間 紘, 高橋公太), 第1版, 中外医学社, 東京, 2000; 174-176.

## 長期透析患者の腎移植の適応とその問題点\*

剣持 敬<sup>1)</sup> 西郷健一<sup>1)</sup> 丸山通広<sup>1)</sup> 坏 尚武<sup>1)</sup> 大月和宣<sup>1)</sup>  
 岩下 力<sup>1)</sup> 伊藤泰平<sup>1)</sup> 宮崎麻里子<sup>2)</sup> 鈴木亜希子<sup>2)</sup> 首村守俊<sup>3)</sup>

### はじめに

腎移植は慢性腎不全の根治療法として確立されている医療であり、その成績も年代ごとに改善している<sup>1-3)</sup>。成績改善に伴い、その適応は拡大されており、現在では ABO 血液型不適合間や、既存抗体陽性（クロスマッチ陽性）のレシピエントへの腎移植も行われている<sup>4-10)</sup>。わが国では腎移植の 80%以上が生体腎移植であり、献腎移植が少なく<sup>1)</sup>、2007 年にわが国で献腎移植を受けたレシピエントの待機年数は、日本臓器移植ネットワークのデータでは平均 14 年 7 日と長期に及んでおり<sup>11)</sup>、長期透析患者への腎移植となる。また生体腎移植においてもレシピエントの高齢化や夫婦間移植の増加などで長期透析後の腎移植は少なくない。これらの背景には、腎移植と同様、慢性腎不全の治療法である人工透析療法の進歩がある。特にわが国では人工透析技術は世界的にも高く、15 年以上の安定した透析を行っている患者も少なくない<sup>12)</sup>。長期透析患者は、種々の身体的問題点を有している場合が多く、特に心・血管系の合併症の存在は腎移植手術のリスクの増大や術後合併症、移植された腎臓の生着などに影響する重要な因子である。しかしながら、長期透析患者の腎移植への適応基準は明確でなく、われわれ移植医は、日々

の臨床のなか、移植実施の判断に苦勞することも多い。本稿では、当施設で経験した長期透析患者への腎移植例を検討し、その適応と問題点につき考察する。

### I. 長期透析患者への腎移植の背景

長期透析患者に腎移植が施行されるのに際して最も大きい背景は、わが国の献腎ドナー不足により、移植を受けるまでの待機年数が長いことである。日本臓器移植ネットワークの報告では、2007 年にわが国で献腎移植を受けたレシピエントの平均待機期間は 14 年 7 日であり<sup>11)</sup>、当施設で最近 4 年間に施行した 28 例の献腎移植例の平均待機年数も  $16.9 \pm 4.9$  年とさらに長期に及んでいた。また生体腎移植においても、特に夫婦間移植で長期透析患者の移植希望が増加している。夫婦間移植を考える場合、働き盛りで子どもも小さいときには、日常生活と仕事に追われ、夫婦ともに移植手術を受け入院することにはなかなか踏み切れない、また考える余裕もないことが多い。しかし子どもが成人し、仕事も退職した時期には余裕ができ、透析を離脱し、海外旅行したいなどを理由に現実として移植を考えることが多いようである。この

\* Kidney transplantation for the recipients receiving long-term hemodialysis

key words : 献腎移植, 生体腎移植, 長期透析患者, 成績

<sup>1)</sup> 国立病院機構千葉東病院臨床研究センター外科 KENMOCHI Takashi, et al

<sup>2)</sup> 同 移植情報センター <sup>3)</sup> 同 血液浄化センター

[〒260-8712 千葉市中央区仁戸名町 673]

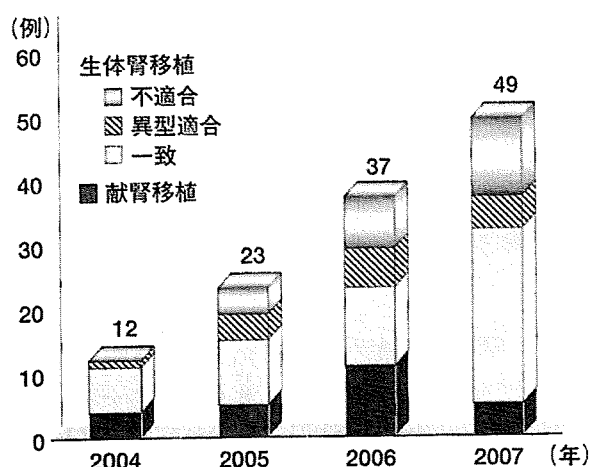


図1 年間腎移植症例数の推移 (国立病院機構千葉東病院外科 2004.4~2007.12)

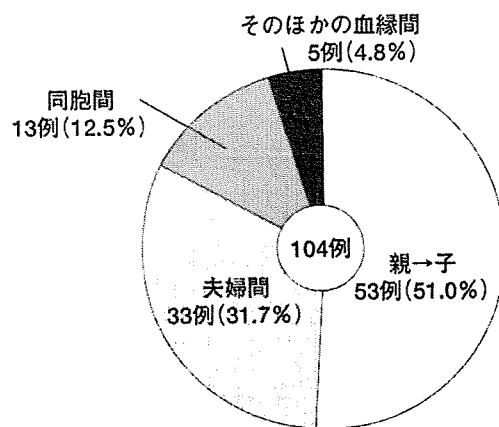


図2 生体腎移植におけるドナー・レシピエントの関係 (国立病院機構千葉東病院外科 2004.4~2007.12)

ようなわが国の献腎移植の現状や夫婦間移植を希望される患者の社会的背景より長期透析患者に対する腎移植例は増加している。このような長期透析患者が腎移植を受けられるようになった医学的背景として、移植技術や免疫抑制剤の進歩<sup>13~18)</sup>もさることながら、血液透析、腹膜透析を含むわが国の人工透析技術の進歩と高い技術水準にある。わが国では導入患者の高齢化や糖尿病性腎症による導入患者が急増しているにもかかわらず、人工透析導入後生存率は1年86.7%、5年59.7%と諸外国に比して良好である。15年以上透析を受けている患者は32,946人と全体の13.2%を占める<sup>12)</sup>。しかしながら、長期透析患者のなかには、種々の身体的合併症を有する場合も多く、実際に腎移植を行う場合、問題となることがある。次項では、当施設の腎移植例の検討より長期透析患者への腎移植の現状と成績につき記す。

## II. 当施設の腎移植症例の検討

### 1. 当施設の腎移植の現状

国立病院機構千葉東病院では、前身の国立佐倉病院を含め、腎移植を365例(生体腎234例、献腎131例)に施行した。当施設が2004年4月に開設してから腎移植症例は急増しており、2007年は年間49例であった(図1)。2004年4月~2008

年5月までの腎移植132例について解析すると、生体腎104例(78.8%)、献腎28例(21.2%)で、原疾患では慢性糸球体腎炎が37例(28.0%)、糖尿病性腎症が22例(16.7%)、IgA腎症が19例(14.4%)と多かった。生体腎104例の検討では、ドナー・レシピエントの関係は親子間53例(51.0%)につぎ、夫婦間33例(31.7%)であった(図2)。レシピエント透析年数は、生体腎では透析未導の腎移植(preemptive transplantation)が増加しており、平均透析年数は $4.5 \pm 5.9$ 年であったのに対し、献腎では小児例の2例を除くと全例10年以上であり、平均透析年数は $18.9 \pm 7.6$ 年であった。しかしながら生体腎でも7例は15年以上の透析例があり、献腎のみならず生体腎においても長期透析患者の問題は重要であると考えられた(図3)。

### 2. 長期透析腎移植患者の検討

当施設において2004年4月~2007年12月に施行した腎移植症例121例を15年未満と15年以上の透析年数で2群に分け、成績、合併症、quality of life (QOL) などにつき比較検討し、長期透析の問題点と対策につき考察した。

Preemptive 症例を含め15年未満の透析年数を短期透析群(n=96)とし、15年以上の透析年数を長期透析群(n=25)とした。両群の背景因子

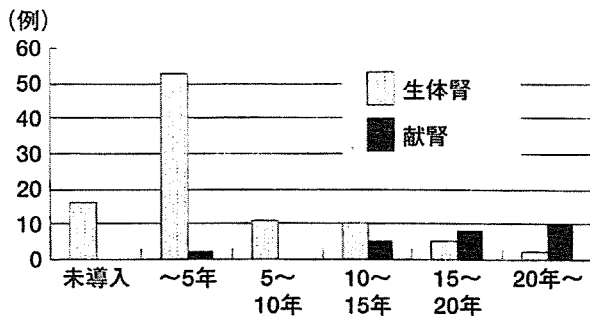


図3 腎移植におけるレシピエント透析年数 (国立病院機構千葉東病院外科 2004.4~2007.12)

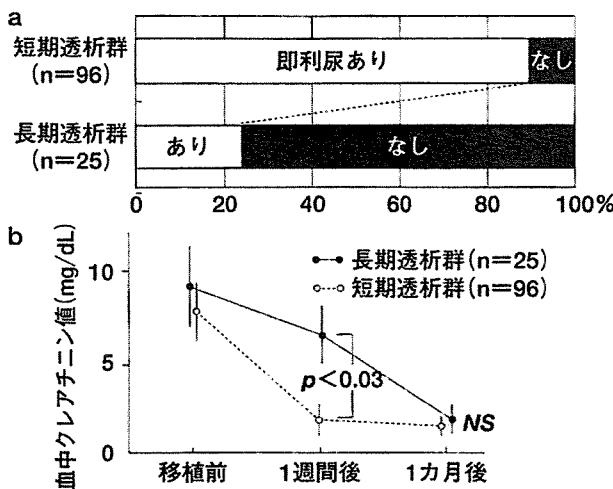


図4 腎移植におけるレシピエント透析年数 (国立病院機構千葉東病院外科 2004.4~2007.12)

を表に示す。透析年数は短期透析群で平均 3.7 年、長期透析群では平均 21.5 年と有意に長かった。年齢も短期透析群では 39.8 歳と長期透析群の 48.1 歳に比較し有意に低かった。短期透析群では生体腎が 93% を占めたのに対し、長期透析群では献腎が 78% であった。両群ともに免疫抑制法は当施設のプロトコールに従い、タクロリムスまたはシクロスポリン、ミコフェノール酸モフェチル、プレドニン、バシリキシマブの 4 剤併用で行った。

両群の移植後即利尿率は短期透析群で 89.6% であったのに対し、長期透析群で 24.0% と低かったが、これは長期透析群に献腎が多いためであると考えられた (図 4a)。即利尿率を反映し、移植後 1 週間後の血中クレアチニン値は短期透析群で有意に低値であったが 1 カ月後では両群に差を認め

2008. 9

表 短期透析群と長期透析群の背景因子

群	短期透析群	長期透析群	p value
N	96	25	
生体腎/献腎	89/7	7/18	$p < 0.001$
年齢 (歳)	39.8 ± 13.3	48.1 ± 7.88	$p < 0.01$
男女比	58/38	16/9	NS
透析期間 (年)	3.69 ± 4.21	21.5 ± 5.82	$p < 0.001$

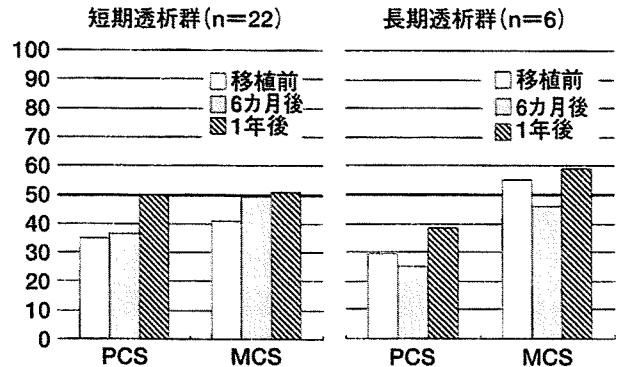


図5 SF36v2 を用いた腎移植における QOL 調査結果 (国立病院機構千葉東病院外科 2004.4~2007.12)

PCS: 身体的サマリースコア, MCS: 精神的サマリースコア

なかった (図 4b)。両群の急性拒絶反応発生率 (生検で確認) も短期透析群で 18.8%, 長期透析群で 20.0% と差はなく、移植腎生着率も同等であった。

感染症の発症頻度も同等で、うち最も頻度の高いサイトメガロウイルス感染症発症率 (抗原血症陽性例) も短期透析群で 58.8%, 長期透析群で 60.0% と差を認めなかった。しかしながら、尿管・膀胱吻合部の縫合不全や尿管狭窄にて再手術を要した例は短期透析群で 3.2% であったのに対し、長期透析群で 12.0% と有意に頻度が高かった。ほかの合併症の発症に差はなかった。

SF36v2<sup>19)</sup>にて評価した患者 QOL 調査では、図 5 に示すごとく、短期透析群では身体的、精神的ともに移植後早期から QOL が改善し、1 年で国民標準値の 50 に達するのに対し、長期透析群では身体的には移植後早期にはむしろ低下し 1 年では十分な QOL の改善が得られないという結果であっ

365

た。

### III. 考 察

近年わが国の深刻な献腎ドナー不足を背景とし、長期透析患者に対する腎移植は日常的に行われている。当施設でも献腎移植患者の平均待機期間は17年に達し、透析期間も18年以上であり、30年以上の症例も経験している。長期透析により動脈硬化を主とする種々の合併症が進行し、移植に際しての問題点が予想されたが、今回の検討では長期透析の有意なリスクの増大は示されなかった。特に動脈硬化性病変に起因する合併症の頻度も両群間で差はなかった。動脈硬化は透析年数よりも原疾患の差が大きかった。糖尿病性腎症では透析期間が短くても動脈硬化が強い例が大きく、また心・血管系合併症の頻度も高かった。献腎移植では慢性糸球体腎炎が多く、糖尿病性腎症が少ないため長期透析にもかかわらず良好な全身状態、血管の状態を示す例も多かった。しかしながら、このことは長期透析で生存し、良好な体調維持ができた患者だけが献腎移植を受けられるということであり、現在透析導入のトップである糖尿病性腎症では献腎移植のチャンスはほとんどないといえる。わが国のドナー不足の招いた結果である。長期の透析期間が腎移植に及ぼす最も大きな影響は萎縮膀胱のため尿管・膀胱吻合部の合併症が多いことであった。長い無尿期間により、膀胱は廃用性萎縮を呈し、粘膜の脆弱化、筋層の血流低下により尿管・膀胱吻合部の縫合不全や尿管狭窄などのリスクが増大する。再手術を要した尿管・膀胱吻合部の合併症は明らかに長期透析例に多かった。当施設では4例に移植腎盂・自己尿管の吻合術を行い、移植腎機能を温存し得た。

また、primary nonfunction 例は両群にみられず、拒絶反応の発症頻度も透析期間に影響されなかった。このことにより移植された腎に対する免疫学的反応や免疫抑制剤の効果は透析期間の長短で変化がないことを示唆している。

しかしながら、移植後のQOLの改善は透析期

間が短いほど早いことが示された。長期の透析患者では、尿路系の合併症が多いことも要因であるが、安定した長期透析患者は透析が生活の一部となっており、移植手術や免疫抑制剤投与に伴う不安感が強いことや、透析を離脱し社会生活のパターンが変わることへの適応に時間がかかることも大きな要因となっている。

#### おわりに

腎移植の成績は年々向上しており、われわれも長期透析患者に対する腎移植を行うことは多く、特に献腎移植では小児例以外ではほぼ全例が長期透析患者といえる。安定した透析を施行し、全身状態の良好な場合には必ずしも腎移植のリスクは高くないが、尿路系の合併症の発症には十分に気をつけるべきである。最近、透析未導入の preemptive transplantation も多くなっており、透析の辛さを知らないゆえの移植後の不満、不安、愁訴も話題となるが、QOLの点からみると腎移植は可及的に早い時期に行うことが患者の益が大であることは明らかである。解決策はわが国の腎移植の長きにわたるテーマである「献腎提供数の増加」につきる。

#### 文 献

- 1) 日本移植学会：<http://www.asas.or.jp/jst/>
- 2) Ota K, Takahashi K, Uchida S, et al : A 10-year follow up study of renal transplant recipients treated with ciclosporine. Clin Nephrol 53 : 182-187, 2000
- 3) Sonoda T, Takahara S, Takahashi K, et al : Outcome of 3 years of immunosuppression with tacrolimus in more than 1,000 renal transplant recipients in Japan. Transplantation 75 : 199-204, 2003
- 4) Alexandre GPJ, Brutere MDE, Squifflet JP, et al : Human ABO incompatible living donor renal homografts. Neth J Med 28 : 231-234, 1985
- 5) Alexandre GPJ, Squifflet JP, Brutere MDE, et al : ABO incompatible related and unrelated living donor renal allografts. Transplant Proc 18 : 452-455, 1986
- 6) Alexandre GPJ, Latinne D, Gianello P, et al : Preformed cytotoxic antibodies and ABO-incompatible grafts. Clin Transplant 5 : 583-593, 1991
- 7) Ota K, Takahashi K, Agishi T, et al : Japanese Biosorb ABO-incompatible kidney transplant group : Multi-center trial of ABO-incompatible kidney transplantation. Transplantation Int 5 : 40-43, 1992

- 8) 高橋公太：わが国の ABO 血液型不適合腎移植の統計—第 10 回アンケート報告。今日の移植 19 : 1-8, 2006
- 9) Kenmochi T, Saigo K, Maruyama M, et al : Results of kidney transplantation from ABO-incompatible living donors in a single institution. Transplant Proc (in press)
- 10) Pollinger HS, Stegall MD, Gloor JM, et al : Kidney transplantation in patients with antibodies against donor HLA class II. Am J Transplant 7 : 857-863, 2007
- 11) 日本臓器移植ネットワーク提供資料
- 12) 日本透析医学会編：図説 わが国の慢性透析療法の現況, 2006 年 12 月 31 日現在 (<http://docs.jsdt.or.jp/overview/pdf2007/2006all.pdf>)
- 13) Calne RY, White DJG, Thiru S, et al : Cyclosporin A in patients receiving renal allografts from cadaver donors. Lancet 2 : 1323-1327, 1978
- 14) Calne RY, White DJG, Rolles K, et al : Prolonged survival of pig orthotopic heart grafts treated with cyclosporin A. Lancet 1 : 1183-1185, 1978
- 15) Ochiai T, Gunji Y, Sakamoto K, et al : Optimal serum trough levels of FK506 in renal allotransplantation of the beagle dogs. Transplantation 48 : 189-193, 1989
- 16) Starzl TE, Todo S, Fung J, et al : FK506 for liver, kidney and pancreas transplantation. Lancet 2 : 1000-1004, 1989
- 17) European Mycophenolate Mofetil Cooperative Study Group : Placebo-controlled study of mycophenolate mofetil combined with cyclosporine and corticosteroids for prevention of acute rejection. Lancet 345 : 1321-1325, 1995
- 18) Amlot PL, Rawlings E, Fernando ON, et al : Prolonged action of a chimeric CD25 monoclonal antibody used in cadaveric renal transplantation. Transplantation 60 : 748-756, 1995
- 19) Chiu SF, Wong HS, Morad Z, et al : Quality of life in cadaver and living-related renal transplant recipients in Kuala Lumpur hospital. Transplant Proc 36 : 2030-2031, 2004

\* \* \*

特集「移植における臓器保存」

# 膵島凍結保存

坏 尚武, 剣持 敬, 丸山通広

国立病院機構千葉東病院外科・臨床研究センター

## はじめに

近年、1型糖尿病に対する根本治療として膵島移植が注目されている。2003年9月日本初となる膵島分離が行われ、2004年4月初めて膵島移植が行われて以来、年々その需要が高まっている。しかし、わが国においては、脳死ドナーより提供される膵臓は、膵腎同時移植あるいは膵臓単独移植に使用され、膵島移植にはほとんど使用されず、膵島移植には心停止ドナーよりの膵臓が利用されることが多い。これは、状態のよい膵臓から分離した状態のよい新鮮な膵島を十分な量を移植するという世界の流れとは明らかに異なっている。ドナー不足が深刻なわが国においては仕方ないことであるが、脳死ドナー膵より分離された膵島に比べて膵島の数や純度やバイアビリティが劣ることは否めないことである。そのため、膵島の数が足りず、新鮮膵島移植に使用されなかった膵島は凍結保存され、将来の移植のために使われることになる。過去の多くの基礎的、臨床的研究により、膵島凍結保存技術は格段に向上してきたが、いまだ凍結・解凍後の膵島の形態劣化やインスリン分泌機能の低下が認められ、まだまだ改善の余地があると考えられる。しかし、これらが改善されれば、膵島凍結保存による恩恵は計り知れないものがある。このように、膵島凍結保存の改善は膵島移植の発展に必要な課題であると考えられる。この章では、膵島凍結保存の現況とわれわれの試みについて述べてゆきたいと思う。

## 新鮮膵島移植

1型糖尿病に対する根本治療法として膵臓・膵島移植が行われている。膵臓移植に関しては、1966年にミネソタ大学において世界で初めて実施されて以来<sup>1)</sup>、2004年までの世界での症例数は23,000例を超え、1型糖尿病の治療法として確立しているといえる。それに対して、膵島移植は、1974年にNajarianらが臨床において世界最初の膵島移植を施行したが<sup>2)</sup>、レシピエントのインスリン離脱率は低く、せいぜい1年離脱率が10%程であった。しかし、2000年にカナダのアルバータ大学でエドモントンプロトコルが報告され、その高いインスリン離脱率のため注目を集めるようになった<sup>3)</sup>。

日本においては、1996年に膵・膵島移植研究会ワーキンググループが発足し、膵島移植のシステム作りや関係学会、厚生労働省や日本臓器移植ネットワークなどと移植に向けての調整を行ってきた。その努力が実り、わが国においても、2003年に膵島分離が、2004年に膵島移植が初めて行われ、現在まで65例の分離、34回・18症例に対しての移植、28例の凍結保存が行われた。膵島移植は、ワーキンググループにより作成された膵島移植実施マニュアルに従い、分離された膵島が表1の基準を満たせば、新鮮膵島移植に使用され、基準を満たさなければ、凍結保存または廃棄することが決められている。凍結保存された膵島は、原則として将来の膵島移植に使用されるが、臨床使用ができない場合には、ドナーご家族の同意の上研究に使用されることもありうる。

表1 新鮮膵島移植の基準

- |   |
|---|
| 1. 膵島量 $\geq 5,000$ IEq/kg (患者体重)<br>2. 純度 $\geq 30\%$<br>3. 組織量 $\leq 10$ ml<br>4. Viability $\geq 70\%$<br>5. Endotoxin $\leq 5$ EU/kg (患者体重) |
|---|

### 膵島凍結保存の歴史と現況

膵島凍結保存の研究は、1970年代ごろより Rajotte らを中心として始まった<sup>45)</sup>。当初は、ラットなどの動物を用いて行っていたが、1980年代ころよりヒト膵島についても凍結保存の研究が行われるようになった。さらに、実際にヒト凍結膵島の臨床への応用は、Warnock らが1990年代初頭に初めて行った。新鮮膵島に加えて凍結膵島を同時に移植すると、新鮮膵島のみ移植に比べて移植効果が上がるというものであった<sup>46)</sup>。しかし、その後凍結膵島単独移植やその他凍結膵島移植に関して画期的な報告はなされていない。わが国においては、中川原らはラットより分離した膵島を液体窒素中に凍結保存し、解凍後の膵島のインスリン分泌能を確認し、実際に糖尿病ラットの門脈に移植して血糖値を正常化させることに成功している<sup>7)</sup>。しかし、ヒトの凍結膵島を使用した臨床応用はまだ行われていない。その理由として、ひとつには、エドモンズプロトコルの発表以来、新鮮膵島移植の成績が向上し、凍結膵島を使わなくても十分な治療効果を上げることが可能となったことが挙げられる。さらに、凍結膵島の重要な問題点でもあるが、もうひとつの理由として、膵島の凍結法の研究が進んでいるとはいえ、凍結保存された膵島の形態の劣化やインスリン分泌機能の低下が著しく、臨床応用にはまだ改善の必要があると考えられていることである。

しかし、膵島凍結法において解凍後の形態やインスリン分泌機能が新鮮膵島のそれと同等レベルまで改善されれば、以下のようなアドバンテージを得ることができる。

- ①膵島凍結保存により膵島のプーリングが可能となり、複数のドナーを合わせて、レシピエントとHLAのタイプが一致した十分な数の膵島を移植することが可能となる。

- ②術前にレシピエントの管理、特に免疫抑制が十分にできる。
- ③膵島の凍結過程において不必要な外分泌組織を取り除くことができる<sup>47)</sup>。
- ④膵島を凍結することにより、MHC抗原性が低下し、移植後の膵島の生着に有利になる<sup>48)</sup>。
- ⑤移植前の膵島の十分な評価が可能となる(クロスマッチング、機能評価、バイアビリティ、感染のチェックなど)。膵島分離中の細菌や真菌などによるコンタミネーションがチェックできる。膵島内分泌機能のチェックができる。膵島移植の安全性の向上が得られる。
- ⑥世界中の地域や場所の移植施設に、十分な数の必要な膵島を輸送することが可能となり、worldwideな移植ができる。
- ⑦本来の膵島のインスリン分泌機能は、膵島分離直後のものと必ずしも一致しないため、凍結保存することにより、static incubation や perfusion study により移植前に本来の膵島インスリン分泌機能をチェックすることが可能となる。
- ⑧移植までの時間に余裕ができ、レシピエントの選定や術前検査が可能となるなど膵島移植スケジュールがフレキシブルになる。
- ⑨新鮮膵島移植に使われなかった膵島を有効に使用できるようになる。

このように、優れた膵島凍結保存法の開発は、膵島移植の適応を広げることになると考えられる。また、ドナー不足が深刻なわが国においては、新鮮膵島移植に使われなかった膵島を有効に利用することはきわめて重要なことである。そのためにも、解凍後も凍結前と同等の膵島数やインスリン分泌機能を維持できる効率のよい膵島凍結保存法を開発することは重要な課題である。

### 膵島凍結方法

この項では、上記の膵島凍結保存法の概略について、実際に当施設で行っている方法を中心として説明する<sup>10)</sup>。まず、ドナーより摘出された膵臓は、速やかに膵島分離施設に搬送され、膵島分離が行われる。分離方法は各施設によって多少違いはあるものの、liberaseにて温消化と冷消化の2段階膵消化が行われ、Euro-Ficoll液と混合され、COBE2991細胞分離装置にて膵島精製が行われ、膵島が分離される。分離膵島の



評価を行い、表1の条件を満たしていれば、新鮮膵島移植が行われ、満たしていなければ、廃棄あるいは凍結保存されることとなる。分離膵島を凍結することになった場合、以下の手順で凍結保存される。

### 1. オーバーナイト培養

分離膵島は、CMRL1066 (invitrogen™) 無血清培地で、CO<sub>2</sub> インキュベーター (37°C, 5% CO<sub>2</sub>) にて一晚培養される。

### 2. 凍結膵島懸濁液の調整

以前より細胞凍結保存に対しては凍結剤として dimethyl sulfoxide (DMSO) が使用されており、その有効性は一般に認められている。しかし、細胞障害性が少なからずあり、いかに細胞への障害を少なくし凍結保存をするかが問題となっている。膵島凍結保存においても同様に、膵島の形態的な障害や、特に、凍結解凍後のインスリン分泌機能の障害は大きな問題である。そのため sucrose, trehalose, polyethylene glycol, ethylene glycol (EG) などの DMSO に変わる凍結剤の研究も盛んに行われてきた<sup>11)</sup>。当施設では、hydroxyethyl starch (HES) の有効性を報告してきており、DMSO と HES を混合した CP-1 細胞凍害保護液 (極東製薬工業) を使用している。これにより、膵島凍結法を簡略

化でき DMSO の障害性を低下させることに成功し、ヒトの膵島を形態も機能も良好に温存しながら凍結することが可能になった<sup>10)</sup>。

実際には、PRMI1640 培地 (invitrogen™) で調整した膵島懸濁液と 25% ヒト血清アルブミンで調整した CP-1 を等量混合し、最終的に表2の組成の膵島懸濁液を作成する。この膵島懸濁液を cryogenic storage container (Charter Medical 社) 凍結バックに充填する。また、加えて、1つの凍結バックあたり、8つの凍結チューブ (500-1,000 IEq の膵島を含んだ) を用意する。これは、凍結中にそのロッドのチェックを行うためのものであり、凍結されて2週から3カ月の間にその凍結チューブは解凍されて、形態や膵島分泌機能や感染などがチェックされる。

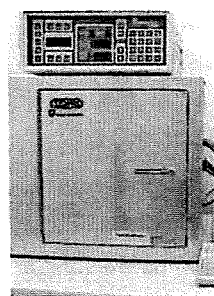
### 3. プログラミング凍結法

一般の細胞を凍結保存する場合、徐々に温度を下げて凍結させ、最終的に液体窒素中で保存する方法をとっている。しかし、物質を凍結するとき必ず潜熱が発生し、徐々に温度を下げていくと実際に物質が凍結するあたりで温度上昇が認められ、凍結に時間がかかるという現象が起こる。この現象は細胞凍結時の障害の大きな原因であり、解凍後の膵島機能低下の大きな問題となっている。解凍後の膵機能の維持のためには、凍結時に発生する潜熱の影響をいかに少なくするかが課題である。この潜熱の影響を少なくするため、われわれはプログラミング凍結装置を使用し、UCLA との共同研究により、独自の膵島凍結プログラムを開発した。これにより、膵島の潜熱発生時に急激に温度を下げることになり、最終的には潜熱発生時においても膵島の温度が徐々に下がりスムーズに膵島が凍結されることにより、潜熱による膵島の障害を少なくすることが可能となる。

表2 CP-1/RPMI1640 凍結液の組成

Hydroxyethyl starch (HES)	6%
Dimethyl sulfoxide (DMSO)	5%
ヒト血清アルブミン	4%
RPMI 1640 培養液	50%
生理食塩水	

図1 プログラミング膵島凍結装置と凍結プログラム



#### 膵島凍結プログラム

1. 2.0°C/min until sample=4.0°C
2. 1.0°C/min until sample=-3.0°C
3. 50.0°C/min until chamber=-70.0°C
4. 25.0°C/min until chamber=-10.0°C
5. 0.3°C/min until chamber=-40.0°C
6. 5.0°C/min until chamber=-80.0°C

われわれは、膵島凍結装置として Forma Med 社の Cryomed Model 1010 を使用し、図 1 のような膵島凍結のプログラムで膵島凍結を行っている。膵島懸濁液を 50 ml 充填した凍結バックと 8 本の凍結チューブと一緒にプログラミング凍結装置に装填し設定したプログラムどおりにプログラミング凍結を行う。凍結開始後 7 日後に凍結バックと凍結チューブは、液体窒素中に移され、 $-196^{\circ}\text{C}$  で保存される。また、凍結後 2 週から 3 カ月の間に凍結チューブは解凍されて膵島の形態・機能評価や感染がチェックされる。解凍は、 $37^{\circ}\text{C}$  の恒温槽にて急速融解解凍する。解凍された膵島は PRMI1640 培養液にて洗浄後、膵島移植に使用される。

#### 4. 解凍後の形態・機能評価

チューブで凍結解凍されたサンプル膵島は、無血清培地にて一晚培養された後、膵島移植に使用可能な膵島であるかどうか評価される。評価法は、dithizone や抗インスリン抗体や抗グルカゴン抗体にて染色して、顕微鏡にて形態と回収率の検討を行う。加えて、電子顕微鏡にてさらに詳しい形態学的評価を行う。また、凍結液は細菌や真菌の感染がチェックされる。膵島機能評価として、static incubation を行い、インスリン分泌能を評価する stimulation index (SI) が検討される。

a) **Static incubation** : 解凍した 10 個の膵島を低グルコース培養液 (RPMI-1640 with 3.3mM D-glucose) にて 60 分間 pre-incubation した後、高グルコース培養液 (RPMI-1640 with 16.7mM D-glucose) 内で 60 分間 incubation (glucose stimulation), その後再度低グルコース

培養液にて 60 分間 incubation する。各相培養液はすぐに凍結して後ほど ELISA にてインスリンの定量を行う。それぞれの SI は glucose stimulation 培養液と基本培養液中のインスリンの含有量比にて表される。

b) **形態評価** : 解凍後の膵島の数、形態を HE 染色, Dithizone 染色, インスリンやグルカゴンなどの免疫染色, さらには電子顕微鏡などにより検討する。

## 結 果

### 1. 凍結膵島の背景

当施設では、2003 年 9 月に本邦初となる心停止下ドナーよりの膵島分離を行い、2007 年 3 月まで 24 例の膵島分離を行い、4 例 6 回の膵島移植を行った。基準を満たさないため新鮮膵島移植に使用されなかった 18 例中凍結保存されたのは 17 例であり、そのうちの 12 例について検討を行った。表 3 にドナーの背景を示す。年齢は平均  $43.2 \pm 20.2$  歳で、50 歳以上が 6 例含まれている。男女比は 1:1 であった。心停止下のドナーの半分は 50 歳以上であった。主な死因は脳血管障害であった。前もってカニューレーションができずヘパリン投与をあらかじめできなかった 5 例は、すべて、死戦期低血圧が遷延し、無尿期間が長期になってしまった。

凍結した 12 例の膵島分離時の状況を表 4 にまとめた。収量は、 $37,840\text{--}177,800$  IEq で平均は、 $108,656 \pm 45,803$  IEq であった。膵臓摘出時の重量は平均  $75.3 \pm 23.6$  g であった。純度は  $40.0 \pm 18.1\%$  であった。

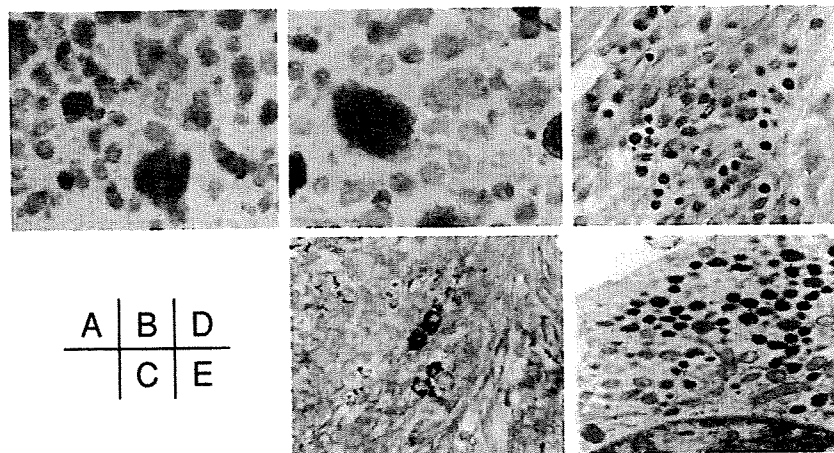
表 3 凍結膵島ドナー背景

年齢 :	$43.2 \pm 20.2$ 歳 (10-69) (50 歳以上は 6 例)
男/女 :	6/6
死因 : 脳血管障害 :	7 例 (58.3%)
低酸素血症 :	4 例 (33.3%)
脳腫瘍 :	1 例 (8.3%)
カニューレーションの有無 : あり	7 例 (58.3%), なし 5 例 (41.7%) :
WIT (分) :	$10.5 \pm 10.5$ (1-30)
TIT (分) :	$325 \pm 54.3$ (231-436)
死戦期間 (分) :	$333 \pm 332$ (0-840)
無尿期間 (分) :	$447 \pm 620$ (0-1,800)

表4 凍結膵島症例の膵島分離結果

症例数：	12例
収量 (IEq)：	108,656±45,803 (37,840-177,800)
膵重量 (g)：	75.3±23.6 (37-108)
膵重量あたりの収量 (IEq/g)：	1,546±699 (394-2,857)
純度 (%)：	40.0±18.1

図2 凍結解凍後の膵島の形態比較



A：機能不良群 (SI < 1.2) 膵島の Dithizone 染色像, B：機能良好群 (SI ≥ 1.2) 膵島の Dithizone 染色像, C：インスリン染色像, D：HE 染色像, E：電子顕微鏡像

### 2. 凍結解凍膵島の形態的検討

5例 (41.6%) において強いフラグメンテーションが観察された。その他の7例 (58.4%) においては形態学的劣化がほとんど認められなかった (図2)。形態が良好に保存された膵島はインスリン染色にてもよく染色され、電子顕微鏡下の形態もよく保存されていた。

### 3. 感染のチェック

12例すべての症例で凍結保存液の培養検査において、結核菌を含む細菌感染や真菌感染は認められなかった。

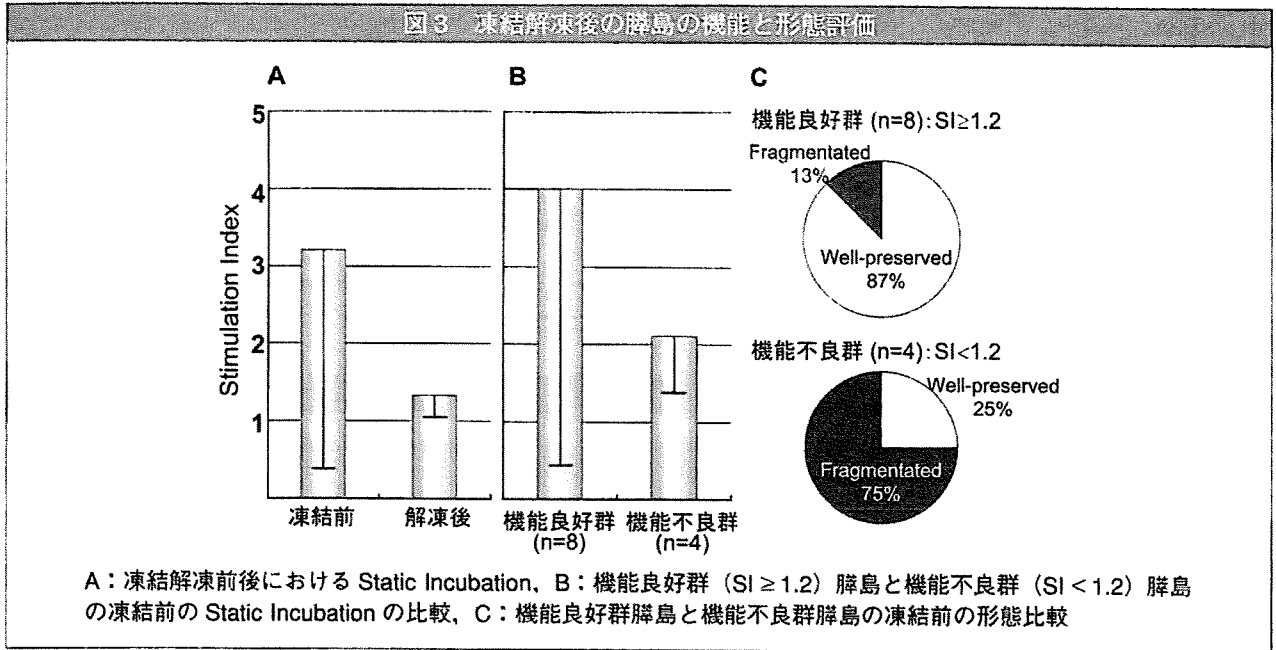
### 4. Static incubation

SIは凍結前後において  $3.37 \pm 3.02$  から  $1.34 \pm 0.28$  と低下し、凍結解凍による膵島インスリン分泌機能の劣化が認められた (図3)。これらの凍結膵島を2つ

の群に分けて検討した。1つは、SIが解凍後1.2以上の機能良好群 (n=8)。2つ目は、SIが解凍後1.2未満の機能不良群 (n=4) である。機能良好群は、8例中7例 (87%) において、凍結前の膵島の形態が良好に保たれていた。それに対して、機能不良群においては、4例中1例 (25%) しか形態が保たれていなかった。さらには、機能良好群の凍結前のSIは  $4.01 \pm 3.57$  と良好であったのに対して、機能不良群は  $2.11 \pm 0.72$  と低値であった。

### 考 察

Static incubationの結果より、凍結前の膵島機能評価をすることによって、その膵島を凍結するかしないかの判断材料にすることができると考えられた。すなわち、凍結前のSIが良好な膵島は、解凍後も形態とインスリン分泌機能とも良好に保たれていたのに対し



て、膵島分離後すぐにばらばらになり、解凍後のインスリン分泌能が不良であった膵島は、条件の悪いドナー（例えば、高齢である、温阻血時間が長い、冷阻血時間が長いなど）より摘出された条件の悪い膵臓より分離されたものであった。このように、凍結前の膵島機能評価をすることによって、膵島を選別して凍結保存することが可能となり、無駄な膵島凍結を回避することができると思われる。

当施設におけるプログラミング膵島凍結法は、解凍後の形態や膵島のインスリン分泌能において実際の臨床において十分応用可能であると考えられたが、ドナーの数が少ない日本においては、さらに効率のよい膵島凍結法の開発が望まれる。

### ■ ■ ■ 今後の展望

現在の凍結膵島移植は、あくまで新鮮膵島移植などの補助的な立場での研究が主となっている。これは、凍結解凍後の膵島の形態的障害やインスリン分泌能の低下が避けられないなどの理由によるものと思われる。凍結膵島の劣化を防ぎ、新鮮膵島と変わらないインスリン分泌機能を維持できれば、凍結膵島移植の臨床応用が進むと考えられる。このためには、凍結膵島の機能維持のためのさらなる研究が必要である。ここでは、われわれが現在行っている膵島保存の研究について、概略を紹介する。

### 1. 新たな凍結装置の開発

現在われわれが行っているプログラミング凍結法では、凍結バックに膵島懸濁液を入れ、プログラミング凍結装置により膵島を凍結している。この凍結法の問題点は、膵島が凍結される時に一様にすべての膵島が凍結されないということである。どうしてもバックの表面と内部との温度に差ができて、膵島の凍結が均等に起こらないという問題が起り、解凍後のインスリン分泌能に影響を与えるのではないかと考えられる。そこで、膵島を均一な粒子にして均等に凍結する方法を考案した。

この装置により CP-1/RPMI1640 保存液で、直径 1 mm 程度の均一な凍結粒子を形成することが可能となり、現在、実際の膵島凍結保存懸濁液での検討を進めている。

### 2. 超低温膵島保存

一般に臓器の代謝は、冷蔵保存 (4°C) において 37°C に比べ 10 分の 1 になり、-4°C では 17 分の 1 になることが報告されている。すなわち、より低い温度による臓器保存は、保存臓器の代謝を低下させ、より長期間の保存を可能にすると考えられる。最近、チャンパー内部に電圧をかけることにより凍結を回避しながら過冷却を可能にする装置が開発された。この装置を使い、氷結点を超えても物質が凝固しない「過冷却現象」を膵島保存に応用できないか検討している。

### 3. 凍結液の検討

現在、当施設では、一般的な培養液と DMSO+HES の凍結剤の混合液で凍結を行っているが、直接凍結にかかわる凍結液の改良の余地もあると考えられる。細胞内液に近い組成の凍結液が細胞障害性を低下させるという報告や、p38MAPK に対する MAPK inhibitor が凍結解凍時の膵島障害を抑制するために有効であるという報告もある<sup>12)</sup>。このように膵島凍結液の改良も今後の課題であると考えられる。

今後、さらなる凍結保存法の改良により、凍結・解凍後の膵島の機能が凍結前と同等に維持できれば、新鮮膵島移植の補助的な移植として用いることが可能となるだけでなく、凍結膵島のための移植が可能となり、わが国においても膵島移植がさらに普及してゆくと考えられる。膵島凍結保存法の改良による今後の膵島移植の発展に期待する。

### 文 献

- 1) Kelly WD, Lillehei RC, Merkel FK, *et al.* Allotransplantation of the pancreas and duodenum along with the kidney in diabetic nephropathy. *Surgery* 1967; 61: 827-837.
- 2) Najarian JS, Sutherland DE, Matas AJ, *et al.* Human islet transplantation: a preliminary report. *Transplant Proc* 1977; 9: 233-236.
- 3) Shapiro AM, Lakey JRT, Ryan EA, *et al.* Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen. *N Engl J Med* 2000; 343: 230-238.
- 4) Rajotte RV, Stewart HL, Voss WA, *et al.* Viability studies on frozen-thawed rat islets of Langerhans. *Cryobiology* 1977; 14: 116-120.
- 5) Kemp JA, Mullen Y, Weissman H, *et al.* Reversal of diabetes in rats using fetal pancreases stored at  $-196^{\circ}\text{C}$ . *Transplantation* 1978; 26: 260-264.
- 6) Warnock GL, Kneteman NM, Ryan EA *et al.* Long-term follow-up after transplantation of insulin-producing pancreatic islets into patients with type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1992; 35: 89-95.
- 7) Nakagawara G, Kojima Y, Mizukami T, *et al.* Transplantation of cryopreserved pancreatic islets into the portal vein. *Transplant Proc* 1981; 13: 1503-1507.
- 8) Evans MG, Rajotte RV, Warnock GL, *et al.* Cryopreservation purifies canine pancreatic microfragments. *Transplant Proc* 1987; 19: 3471-3474.
- 9) Cattral MS, Warnock GL, Kneteman NM, *et al.* The effect of cryopreservation on the survival and MHC antigen expression of murine islet allografts. *Transplantation* 1993; 55: 159-163.
- 10) Kenmochi T, Asano T, Maruyama M, *et al.* Cryopreservation of human pancreatic islets from non-heart-beating donors using hydroxyethyl starch and dimethyl sulfoxide as cryoprotectants. *Cell Transplant* 2008; 17: 61-67.
- 11) Lakey JR, Anderson TJ, Rajotte RV. Novel approaches to cryopreservation of human pancreatic islets. *Transplantation* 2001; 72: 1005-1011.
- 12) Omori K, Valiente L, Orr C, *et al.* Improvement of human islet cryopreservation by a p38 MAPK inhibitor. *Am J Transplant* 2007; 7: 1224-1232.

# 当施設でのABO血液型不適合腎移植 治療戦略の変遷とリツキシマブの有用性

剣持 敬・丸山通広<sup>\*1)</sup>, 鈴木亜希子<sup>\*2)</sup>

## 特集 リツキシマブによる抗体抑制—腎移植を中心に

*ABO-incompatible kidney transplantation in our institution : current protocol with rituximab*

当施設において実施した33例のABO血液型不適合腎移植症例について、そのプロトコルごとの臨床成績を検討した。すべてのプロトコルで激しい抗体関連型拒絶反応の発症は認めなかったが、シクロホスファミドは感染症などの合併症が多かった。リツキシマブの導入により、脾臓摘出術を行わない不適合生体腎移植が可能となり、今後不適合生体腎移植の標準的なプロトコルになると考えられる。

Takashi Kenmochi・Michihiro Maruyama<sup>\*1)</sup>, Akiko Suzuki<sup>\*2)</sup>

key words : ABO血液型不適合腎移植, リツキシマブ, シクロホスファミド, 脱感作療法

腎移植は末期腎不全の根治療法として確立した医療であり、移植成績も良好である。わが国の腎移植数も徐々に増加しており、2008年には1,200例以上の腎移植が行われた<sup>1)</sup>。しかしながら、増加傾向を示しているとはいえ、献腎移植数は年間200例程度であり、わが国の腎移植の80%以上は生体腎移植である。

Alexandreらは、血漿交換(PE)により移植前に抗A、抗B抗体を除去し、ABO血液型不適合生体腎移植に成功した<sup>2,3)</sup>。わが国では、Takahashiらが、二重濾過血漿分離交換(DFPP)、脾臓摘出術などを組み合わせた脱感作療法を実施し、ABO血液型不適合生体腎移植の長期生着に成功した<sup>4,5)</sup>。その後、わが国の献腎移植のドナー不足を背景に生体腎移植のニーズは年々高まっており、ABO血液型不適合生体腎移植は急速に広まり、すでに1,000例以上が実施されるに至っている<sup>6)</sup>。

当施設(国立病院機構千葉東病院。2004年4月開設)においても、ABO血液型不適合生体腎移植のニーズは年々増加しており、現在までに33例を実施した。当初、当施設の前身の国立佐倉病院で施行していた、シクロホスファミド、脾臓摘出、

DFPP、PEを組み合わせた脱感作プロトコルを使用した。その後シクロホスファミドからミコフェノール酸モフェチル(MMF)への変更、脾臓摘出に代えてリツキシマブを使用するプロトコルに変遷している。

本稿では、当施設のABO血液型不適合腎移植症例について、その時期別のプロトコルごとの臨床成績、合併症などを検討し、リツキシマブの有効性について考察する。

### 対象と方法

2004年4月～09年1月までに当施設外科で施行した161例の腎移植症例のうち、33例のABO血液型不適合症例を対象とした(表1)。現在までの当施設の腎移植のうちわけを図1に示す。ABO血液型不適合症例は年々増加しており、現在生体腎移植122例のうち33例(27%)を占めている。

表2に示すように、免疫抑制および脱感作プロトコルにより3期にわけてみると、全期でプレドニゾロンの前投与、DFPPの移植前3回の施行、手術前日のPEは共通である。ただし、脱感作療法施行前にすでに抗体価(IgM、IgGともに)が8倍以下と低い場合には、DFPPとPEは施行して

<sup>\*1)</sup>Department of Surgery, <sup>\*2)</sup>Transplant Information Center, Chiba-East Hospital, National Hospital Organization 国立病院機構千葉東病院<sup>\*1)</sup>外科, <sup>\*2)</sup>移植情報センター

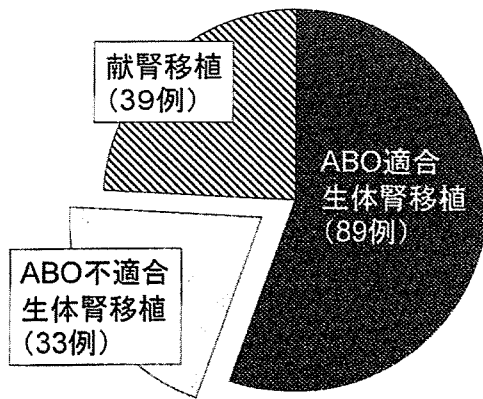


図1 当施設の腎移植症例

(2004年4月～09年1月)

腎移植実施総数 161例。生体腎移植 122例  
(ABO一致、適合 89例。ABO不適合 33例)。  
献腎移植 39例(脳死 5例。心停止 34例)  
(国立病院機構千葉東病院外科)

表1 プロトコール別の背景因子

	I期	II期	III期
症例数	10	14	9
レシピエント年齢(歳)	47.5±11.1	43.0±16.6	46.2±11.6
男/女	4/6	7/7	5/4
透析歴(年)	2.1±2.3	6.6±6.8	6.4±6.4
ドナー年齢	55.6±10.8	50.6±12.5	57.3±6.4
HLA ミスマッチ数	3.3±1.6	3.6±1.9	4.0±1.6
A/B 不適合	6/4	5/10	5/6

表2 ABO血液型不適合生体腎移植の免疫抑制・脱感作プロトコールの変遷 (33例)

時期	プロトコール	例数
I期(2004.4～06.8)	CPA・Pred+DFPP+PE+SPL	10例
II期(2006.9～07.11)	MMF・Pred+DFPP+PE+SPL	14例
III期(2007.12～)	MMF・Pred+DFPP+PE+Ritux	9例

CPA：シクロホスファミド、Pred：プレドニゾン、  
SPL：脾臓摘出術、Ritux：リツキシマブ  
(国立病院機構千葉東病院外科)

いない。I期では、シクロホスファミドの前投与と移植14日前に脾臓摘出術を施行した。II期では、シクロホスファミドに代えてMMFとした。III期では、脾臓摘出術は施行せずに、移植14日前にリツキシマブ200mgを1回投与した。

現行のプロトコールを図2に示す。

リツキシマブの重篤な副作用として、B型肝炎ウイルスキャリアにおける劇症肝炎の発症が報告され、“B型肝炎ウイルス感染のある患者またはその疑いのある患者”への投与が危険視されていることより、当施設ではHBc抗体陽性レシピエントに対しては、たとえPCR法でウイルスが検出されなくても、現時点ではリツキシマブは使用せず、脾臓摘出術を施行している。

維持免疫抑制療法は、ABO血液型適合腎移植とまったく同じプロトコールで施行しているが、不適合移植ではカルシニューリンインヒビターは原則としてタクロリムスを使用し、脳症や糖尿病などの副作用が出現した場合には、シクロスポリンへの変更も考慮する。メチルプレドニゾロンは移植後1カ月以内に1日5mgの投与とし、移植後3カ月で離脱を試みている。現在までの検討では、ステロイド離脱試行症例のうち、約2割のレシピエントが血清クレアチニン値の上昇のためス

テロイド再導入となっており、原疾患、年齢、腎機能、患者の希望などを参考に実施している。PEは移植前日1回を原則としているが、手術当日の抗体価が高い症例(16倍以上)やリバウンド症例に関しては適宜追加する。

3期の各群について、抗体価の推移、抗体関連型拒絶反応(AMR)、急性細胞性拒絶反応(ACR)の発症頻度、合併症発生頻度、移植腎生着率、移植腎機能につき比較検討した。

## 結果

### 1. 抗体価の推移

各期の移植前後の抗体価の推移を図3に示す。IgM、IgGともに3群では有意な差を認めず、いずれのプロトコールでも脱感作の効果は同等であると考えられた。

### 2. 拒絶反応の発症頻度

各期の拒絶反応についてみると、全期でともに明らかなAMRによる移植腎廃絶は認めなかったが、抗体価の上昇に伴い、血漿交換を行った症例は、I期で2例(20.0%)、II期で3例(21.0%)、

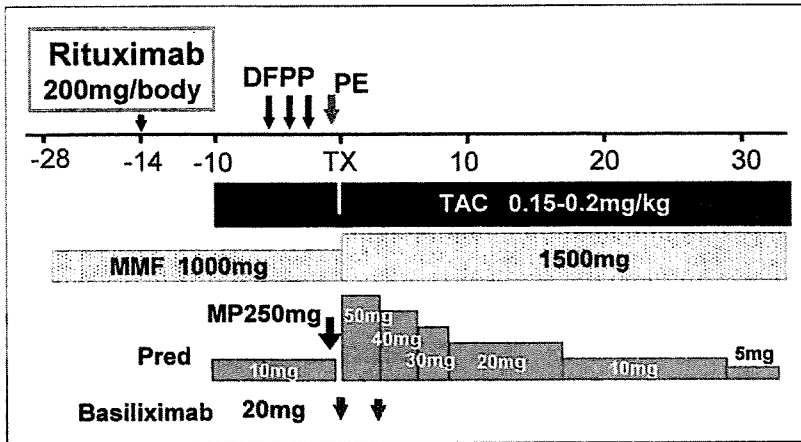


図2  
ABO 血液型不適合生体腎移植に対する免疫抑制・脱感作プロトコール  
TAC：タクロリムス、MP：メチルプレドニゾロン

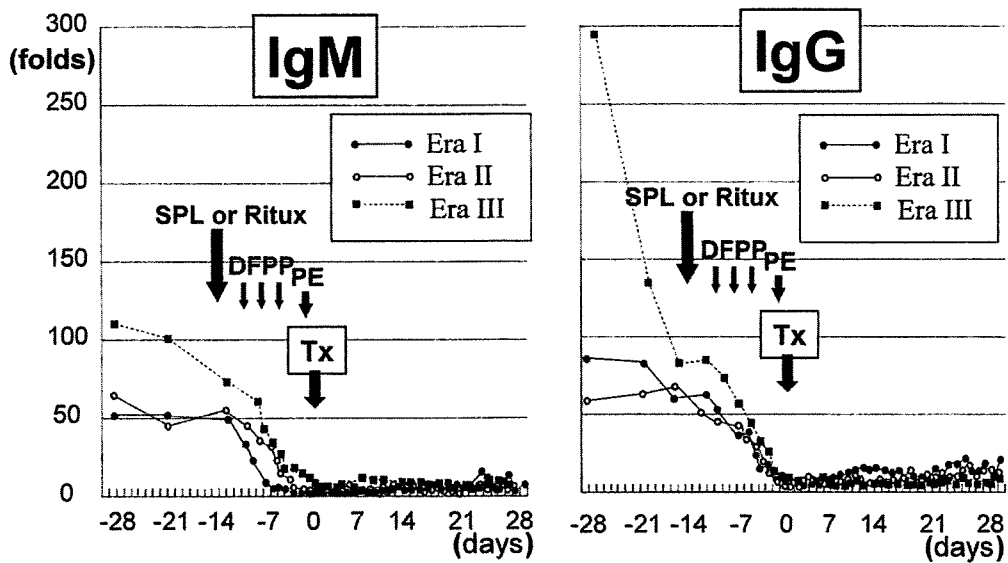


図3 移植前後の抗体価の推移

Ⅲ期では0例(0%)であった。腎生検で確認された ACR は、Ⅰ期で3例(30.0%)、Ⅱ期で3例(21.0%)、Ⅲ期では1例(11.0%)であった(表3)。

### 3. 感染症の発症頻度

サイトメガロウイルス(CMV)抗原血症陽性率は、Ⅰ期で70.0%、Ⅱ期で50.0%、Ⅲ期で22.0%と、Ⅰ期で高率であった。ニューモシスチス肺炎がⅠ期で3例(30%)に、また、帯状疱疹もⅠ期で5例(50%)に発症したが、Ⅱ期とⅢ期ではみられなかった(表3)。

### 4. 移植腎生着率(図4)

Ⅰ期では、移植後3カ月に肝不全で死亡した1例、約1年後に慢性拒絶反応のため透析再導入となった1例を除き、生存・生着中である。Ⅱ期では、移植後2週に高度動脈硬化および血栓症のため移植腎が機能廃絶し、移植後5カ月で心筋梗塞のため死亡した1例を除き、生存・生着中である。Ⅲ期ははまだ観察期間が短い、現在までに移植腎は全症例が生着している。

### 5. 移植腎機能(図5)

各期の即利尿率は、Ⅰ期で100%、Ⅱ期で93.0%、Ⅲ期で100%と良好で、ABO血液型適合



表3 プロトコール別の移植後結果  
(拒絶反応, 感染症発症率)

	I期	II期	III期
症例数	10	14	9
AMR 発症例(%)	0(0)	0(0)	0(0)
移植後 PE 施行例(%)	2(20.0)	3(21.0)	0(0)
ACR 発症例(%)	3(30.0)	3(21.0)	1(11.0)
CMV-Ag 陽性例(%)	7(70.0)	7(50.0)	2(22.0)
PCP 発症例(%)	3(30.0)	0(0)	0(0)
帯状疱疹発症例(%)	5(50.0)	0(0)	0(0)

CMV-Ag: サイトメガロウイルス抗原血症, PCP: ニューモシスチス肺炎

症例と同等であった。血清クレアチニン値の推移からみた移植腎機能も各期ともに良好であり、移植後1カ月の値はI期が $1.29 \pm 0.47$  mg/dL, II期が $1.34 \pm 0.49$  mg/dL, III期が $1.32 \pm 0.31$  mg/dLと差を認めなかった。

考察

ABO血液型不適合生体腎移植は現在、わが国で広く行われ、その成績も良好であり、慢性腎不全に対する治療法のオプションとして重要である<sup>6)</sup>。ABO血液型不適合移植の成功のためには、移植前に脱感作療法を行い、抗A、抗B抗体を可及的に除去するとともに、抗体価の再上昇(リバウンド)の抑制のため、Bリンパ球の抗体産生能を抑える必要がある。

当施設では、当初はシクロホスファミドと脾臓摘出による抗体産生抑制とDFPP, PEによる脱感作プロトコールを採用し、10例に実施した(I期)。抗体価の下降は良好であり、10例中8例が移植直前の抗体価はIgG, IgMともに8倍以下に抑制可能であった。しかしながら、感染症の発症頻度が高率であり、CMV抗原血症は70%と高率で、ニューモシスチス肺炎が3例に発症した。また、移植後2年までに5例(50%)に帯状疱疹が発症した。シクロホスファミドの骨髄抑制作用のため重篤な汎血球減少症をきたした1例では、輸血、血小板輸血、顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)の頻回投与を余儀なくされた。脱毛は全症例にみられ、可逆性であるが特に女性では大きな問題点で

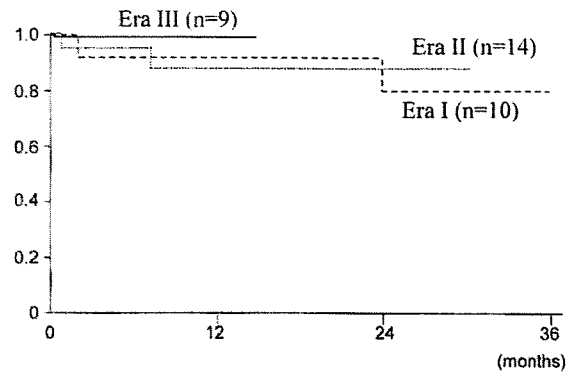


図4 各プロトコール別の移植腎生着率

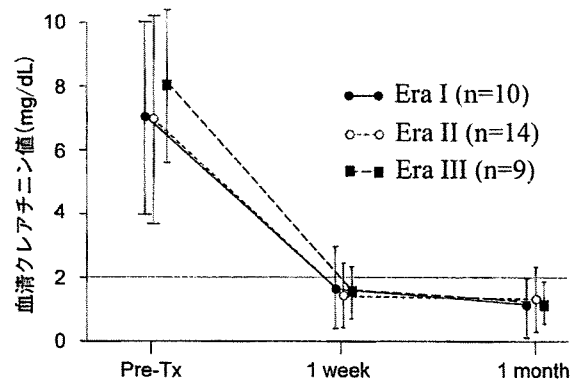


図5 各プロトコール別の移植腎機能

あった。

その後、MMF投与1カ月目に血清免疫グロブリンが有意に低下することを根拠とし、MMFを移植1カ月前から投与する、高橋ら新潟大学のプロトコールを参考として、シクロホスファミドではなく、1カ月前からのMMF投与(1,000 mg/日)とするプロトコールを作成した(II期)<sup>7)</sup>。しかし、抗体産生能の長期間の抑制には、脾臓摘出が理論的に最も有効であると考えており、移植14日前の脾臓摘出は継続した<sup>8)</sup>。II期では、明らかに合併症が減少し移植後の管理が容易となった。特に、重篤な骨髄抑制や感染症の発症はみられなかった。CMV抗原血症は7例(50%)にみられたが、有症状例はなく、ガンシクロビルの投与で治療した。

リツキシマブは、ヒトCD20抗原に対するモノクローナル抗体であり、B悪性リンパ腫に対する抗腫瘍薬として開発され臨床使用されている。リツキシマブの移植前投与により、未成熟および成

熟Bリンパ球を消失させ、抗体産生能を抑制することで、ABO血液型不適合腎移植に有効であったことが報告され<sup>9)</sup>、その後リツキシマブを使用し、脾臓摘出術を行わないプロトコールが実施された<sup>10)</sup>。リツキシマブはBリンパ球に特異的に反応するが、成熟形質細胞に対する効果がなく<sup>11)</sup>、抗体価の高い症例では脾臓摘出は必要条件であると考えられたが、種々の臨床的検討では、リツキシマブ投与のみで脾臓摘出と同等またはそれ以上の成績が得られることが報告されてきた<sup>12)</sup>。

このような先進施設の成績を背景とし、当施設においても2007年12月、脾臓摘出を施行せずにリツキシマブ投与を行うプロトコールを導入した(Ⅲ期)。リツキシマブの投与量は200mg(低用量)とし、投与は移植2週間前の1回投与とした。抗体価の下降は、脾臓摘出を行っていたⅠ期、Ⅱ期と同等であり、リバウンド症例も認めず、良好な抗体産生能の抑制効果が得られている。

いまだ症例数は少なく、観察期間も短いものの、AMRの発症はなく、ACRの発症も1例(11.0%)と拒絶反応抑制効果は高い。現在全症例(100%)生着中である。リツキシマブ投与に伴う有害事象としては、抗体製剤投与に伴う症状、すなわち熱感、嘔気、微熱、頭痛などを3例(33.3%)に認めしたが、いずれも一過性であり、治療を必要とする重篤な症状は認めていない。また2例で移植2カ月後、3カ月後に白血球減少症が出現し、1例はG-CSFの投与を必要とした。

当施設での経験から、リツキシマブの導入により脾臓摘出術を行わないABO血液型不適合生体腎移植は安全かつ有効に施行が可能であり、レシピエントの負担軽減と安全性向上にきわめて大きく寄与した。当初心配された、投与時の症状や顆粒球減少症<sup>13)</sup>、感染症は比較的少なく、重篤なものではなかった。今後、血液型不適合生体腎移植の標準的なプロトコールとなると考えられる。

一方、同様の機序で、既存抗体陽性ドナーからの生体腎移植への応用もなされており<sup>14)</sup>、期待される。当施設では、accomodationの機序が適応できないHLA抗原-抗HLA抗体の反応はいまだ成熟形質細胞の消失が必要であると考え、脾臓摘

出術を適応しているが、今後の臨床成績によって高度に感作されたレシピエントに対する標準的治療法となる可能性もある。

## 文 献

- 1) 八木澤隆：臨床腎移植統計報告。第42回日本臨床腎移植学会。2009年1月29日、浦安市。
- 2) Alexandre GPJ, Squiffet JP, Bruyere MDE et al. : ABO incompatible related and unrelated living donor renal allografts. *Transplan Proc* 18 : 452-455, 1986.
- 3) Alexandre GPJ, Latinne D, Gianello O et al. : Preformed cytotoxic antibodies and ABO-incompatible grafts. *Clin Transplant* 5 : 583-593, 1991.
- 4) Takahashi K, Agishi T, Oba S et al. : Extracorporeal plasma treatment for extending indication of kidney transplantation : ABO-incompatible and preformed antibody-positive kidney transplantation. *Therapeutic Plasmapheresis IX*. ESAO Press, Cleveland, OH, 1990, p61-63.
- 5) Takahashi K, Yagisawa T, Sonoda K et al. : ABO-incompatible kidney transplantation in a single center trial. *Transplant Proc* 25 : 271, 1993.
- 6) 齋藤和英, 高橋公太 : わが国におけるABO血液型不適合腎移植の現況報告2007. ABO血液型不適合移植の新戦略2008. (高橋公太, 田中統一・編), 日本医学館, 2008, p3-17.
- 7) 中川由紀, 齋藤和英, 諏訪道博・他 : リツキシマブを用いたABO血液型不適合腎移植. ABO血液型不適合移植の新戦略2006. (高橋公太, 田中統一・編), 日本医学館, 2006, p64-71.
- 8) Kenmochi T, Saigo K, Maruyama M et al. : Results of kidney transplantation from ABO-incompatible living donors in a single institution. *Transplant Proc* 40 : 2289-2291, 2008.
- 9) Sawada T, Fuchinoue S, Teraoka S : Successful A1-to-O ABO-incompatible kidney transplantation after a preconditioning regimen consisting of anti-CD20 monoclonal antibody infusions, splenectomy, and double-filtration plasmapheresis. *Transplantation* 74 : 1207-1210, 2002.
- 10) Tydén G, Kumlien G, Fehrman I : Successful ABO-incompatible kidney transplantations without splenectomy using antigen-specific immunoadsorption and rituximab. *Transplantation* 76 : 730-731, 2003.
- 11) Schröder C, Azimzadeh AM, Wu G et al. : Anti-CD20 treatment depletes B-cells in blood and lymphatic tissue of cynomolgus monkeys. *Transpl Immunol* 1 : 19-28, 2003.
- 12) Tanabe K, Ishida H, Shimizu T et al. : Evaluation of two different preconditioning regimens for ABO-incompatible living kidney donor transplantation. A comparison of splenectomy vs. rituximab-treated non-splenectomy preconditioning regimens. *Contrib Nephrol* 162 : 61-74, 2009.
- 13) Rose AL, Forsythe AM, Maloney DG : Agranulocytosis unresponsive to growth factors following rituximab *in vivo* purging. *Blood* 101 : 4225-4226, 2003.
- 14) Vo AA, Lukovsky M, Toyoda M et al. : Rituximab and intravenous immune globulin for desensitization during renal transplantation. *N Engl J Med* 359 : 242-251, 2008.

## マージナルドナーシリーズ：腎臓

剣持 敬<sup>1, 2)</sup>

1) 国立病院機構千葉東病院外科

2) 同臨床研究センター

### The marginal donors in kidney transplantation

Takashi Kenmochi<sup>1, 2)</sup>

1) Department of Surgery Chiba-East National Hospital, National Hospital Organization (NHO)

2) Division of Clinico-Research Center, Chiba-East National Hospital,  
National Hospital Organization (NHO).

Non-heart-beating donors (NHBDs) are most frequently used as the deceased donors for kidney transplantations in Japan. NHBDs are marginal donors and the evaluation of the kidney grafts' function is often difficult. Marginal donor for kidney transplantation was recently defined as the Expanded Criteria Donor (ECD) by the United Network for Organ Sharing (UNOS). In our institution, 39 kidney transplants were performed from five brain dead donors and 25 NHBD since April 2004. Using the UNOS ECD criteria, we divided the 39 recipients into two groups; ECD (n=12), and non-ECD (n=23). Two patients (5.1%) developed primary nonfunction and failed to achieve an immediate function in all the patients in ECD group. While, no patients developed primary nonfunction and five patients (14.3%) showed an immediate function in non-ECD group. In addition, Serum creatinine levels of the recipients at one month after transplantation were significantly higher in ECD group, as compared to those in non-ECD group. UNOS-ECD criteria is useful to predict the outcome of the kidney transplantation even for the deceased donors in our country. For the purpose of the safety and utility of the kidney transplantation from the deceased donors in Japan, the criteria, that is able to predict the prognosis of the kidney graft, including the risk of primary nonfunction, must be needed.

#### 1. はじめに

##### 【キーワード】

献腎移植, マージナルドナー, Expanded donor criteria, Primary nonfunction, 死体内強制灌流法

腎臓移植は末期腎不全の根治療法として確立した医療であり、移植成績も良好である。わが国の腎臓移植数も徐々に増加しており2008年には1200例以上の腎移植が行われている<sup>1)</sup>。しかしながら、

別刷請求先：剣持 敬 〒260-8712 千葉市中央区仁戸名町673  
国立病院機構千葉東病院 臨床研究センター  
TEL：043-261-5171 FAX：043-268-2613  
E-mail：kenmoti@cehprinet.com

その80%以上が生体腎移植であり、2008年の年間献腎移植数は210例にとどまっている<sup>2)</sup>。2008年の亡くなった方からの臓器提供ドナー数は109件と100件を超え徐々に増加を示しているが、欧米に比較し未だ極端に少なく、しかも96件(88%)が心停止ドナーからの提供である。心停止ドナーは欧米ではいわゆるマージナルドナーであり、わが国では長い死戦期、高齢、脳血管障害など、さらに厳しい条件が付加されることも多い。筆者の経験でも、心停止ドナーからの腎臓摘出に際し、移植に使用可能であるかどうかの判断が難しいケースも少なくない。

マージナルドナーとは種々の条件のため、提供された臓器が移植に使用できるか、できないかのボーダーライン上にあるドナーのことを指し、明確な定義がなかった。しかし、2001年に米国UNOSにより、Expanded donor criteria (ECD)として腎臓のマージナルドナーが定義された<sup>3)</sup>。すなわち、60歳以上のドナー、50歳以上で脳血管障害が死因、高血圧の合併、血清クレアチニン値1.5mg/dl以上を伴うドナーをECDと定義し、移植腎機能喪失(Primary nonfunction)の相対危険度が1.7倍以上に高くなるとしている。脳死ドナーが原則で心停止ドナーの場合でも人工呼吸器の中断にコンセンサスが得られている米国の基準がそのままわが国の心停止ドナーに適応可能であるかは難しいところである。またPrimary nonfunctionはドナーの摘出前条件のみならず、摘出法、保存法、搬送法、レシピエントの条件など多くの因子が関与し発生する。しかしながら摘出してから移植に適さないと判断される場合には、ドナーの提供の意思が叶えられないこと、ドナーご家族、レシピエント、提供施設の医師への精神的負担などが発生することより、わが国においても摘出前に移植可能であるかの評価基準の作成は必要であると思われる。

今回、当院で2004年4月以降に施行された献腎移植39例を米国UNOSのECD基準で分類し、移植結果との関連を解析し、有効性につき検討するとともに、わが国の献腎移植の現状と問題点、当施設

での対策等につき述べる。

## 2. 当施設の死体腎摘出法の変遷

筆者は1983年以降、千葉大学医学部附属病院、国立佐倉病院、国立病院機構千葉東病院(当施設)において千葉県の献腎摘出、献腎移植を施行してきた。それぞれの献腎移植実績は千葉大学:129例、国立佐倉病院(2004年3月閉院):103例、千葉東病院(2004年4月~現在):39例である。現在は当施設に献腎移植待機患者約350名が登録され、千葉県の献腎移植の中心施設となっている。マージナルドナーの問題はわが国の献腎移植が開始された頃からの最も大きなテーマであり、筆者らも種々の基礎的、臨床的研究を行った<sup>4,7)</sup>。詳細は2004年の本誌に掲載したが<sup>8)</sup>、心停止前の大動脈へのカニューレションやヘパリン投与が認められていない時代には、心停止後可及的速やかに腹腔内臓器の冷却灌流を行うことが重要であり、心停止ドナーからの移植腎摘出の際、ローラーポンプを用いて腹腔内臓器全体を急速冷却灌流するIn Situ Machine Wash out (ISMW法)を1979年7月導入した<sup>9)</sup>。当時の検討で点滴法に比較し移植後即利尿率は17.1%から34.2%と増加し、Primary nonfunctionは9.8%から4.2%と半減し、死戦期の長いわが国の心停止ドナーからの腎摘出に有効であった。当施設では現在も心停止前のカニューレションの有無によらず原則としてISMW法にて心停止ドナーからの腎摘出を施行している。またISMW法に用いる灌流液として1970年代は乳酸化リンゲル液を使用していたが、1980年代はmodified Collins液(浸透圧保持のためD-mannitolを使用)を用いた。1990年よりUniversity of Wisconsin (UW)液を灌流液として用いたが、ISMW法では3~6Lの灌流液が必要でありコスト面が問題であった。そこで筆者らは心臓死ドナーからの肝、脾、腎摘出を目的と、hydroxyethyl starch (HES)とD-mannitolを主成分とする初期灌流液CMH液を開発し、臨床献腎摘出に使用し、良好な結果を得た<sup>6)</sup>。しかしその後、製造側の事情で製造、供給が中止され、現在はユー