

## アルトマーク賞・特別講演

■日時：11月26日(木) 16:00～17:00 ■会場：第3会場（国際会議室）

特別講演 1

座長 兼松隆之（長崎大学大学院移植・消化器外科）

### SL1 HIV 陽性患者の肝移植—米国における現状と問題点

加藤友朗

米国コロンビア大学外科

#### 【特別講演】

#### SL1) HIV 陽性患者の肝移植—米国における現状と問題点

加藤 友朗  
米国コロンビア大学外科

2001年 Collaborations in HIV Outcome Research United States の報告によると、HAART 登場以降、HIV 感染例の死亡数は減少し、1997～2000年に死亡した HIV (+) 患者のうち AIDS 関連死は約50%であり、残りの半数のうち、約90%は肝疾患が死因であったとされている。その多くは HCV (C型肝炎ウイルス) 感染症による死亡であった。

このような状況の中、米国では HIV (+) 患者に対する肝移植例が始められた。2008年の United Network for Organ Sharing (UNOS) Database の解析から、HAART が登場した1997年以降、HIV (+) 患者137名に対して肝移植が実施されていることが報告されている。

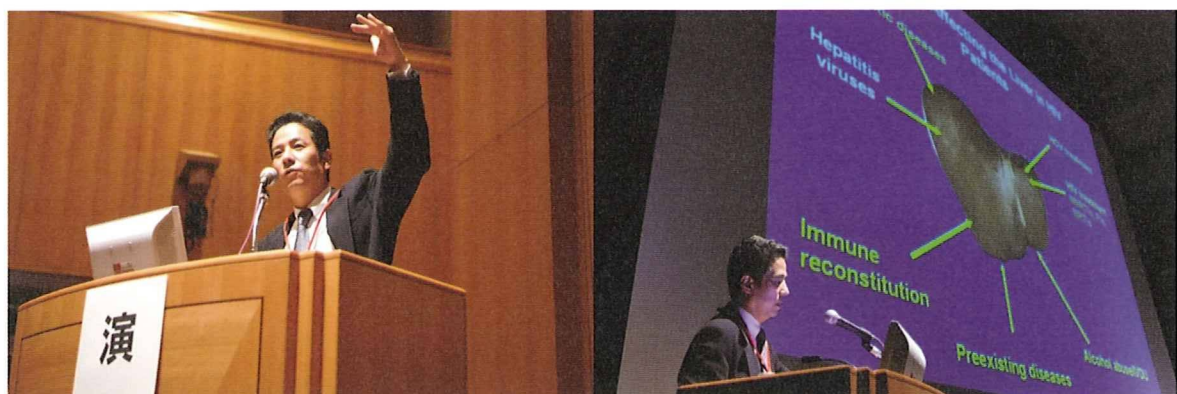
現在では複数の移植センターで HIV (+) 患者の移植が行われており、HIV のコントロールが良好な患者であれば肝移植を行うことが一般に受け入れられてきている。

その一方 HCV (+) 患者の場合、HIV (+) 患者の移植成績は不良と報告されてもおり、HCV (+)、HIV (+) 患者の移植後の成績を改善するために何が必要であるかを見極めることが急務とされている。

一方、日本でも血液製剤による HIV (+) 患者の約90%は HCV (+) 陽性であり、HIV 治療成績の向上に伴って、今後、肝移植を必要とする例が増加することが懸念されている。

本特別講演では、以上の状況をふまえ、米国において HIV (+) 患者の肝移植を主体的に実施してきたマイアミ大学ならびにコロンビア大学外科での自検例を交え、米国における HIV (+) 患者に対する肝移植の現状と問題点について概説する。

特別講演



## 看護師のためのケースカンファレンス／サテライトシンポジウム

■日時：11月26日(木) 17:10～19:10 ■会場：第3会場（国際会議室）

### サテライト シンポジウム1

HIV 合併症対策について

座長 菊池 嘉（国立国際医療センター戸山病院  
エイズ治療・研究開発センター）

- |   |  |
|---|--|
| <p>SS1-1 HIV 診療の現状と課題<br/>白阪琢磨<br/>国立病院機構大阪医療センター HIV/AIDS 先端医療開発センター</p>                         | <p>SS1-3 脂肪移植方法による移植後吸収の変化の検討<br/>大芦孝平<sup>1</sup>、秋田定伯<sup>2</sup>、古川洋志<sup>1</sup>、中島正洋<sup>3</sup>、平野明喜<sup>2</sup>、山本有平<sup>1</sup><br/><sup>1</sup>北海道大学医学部形成外科、<sup>2</sup>長崎大学医学部形成外科、<sup>3</sup>長崎大学大学院医歯薬学総合研究科附属原爆後遺障害医療研究施設放射線障害解析部門腫瘍・診断病理学研究分野</p> |
| <p>SS1-2 血液製剤による HIV/HCV 重複感染患者に対する肝移植<br/>兼松隆之、江口 晋、高槻光寿、山之内孝彰、日高匡章、曾山明彦<br/>長崎大学大学院移植・消化器外科</p> | <p>SS1-4 わが国の HIV 関連リポディストロフィーの実態と治療展望<br/>秋田定伯<br/>長崎大学病院形成外科</p>   |

### SS1-2) 血液製剤による HIV/HCV 重複感染患者に対する肝移植

兼松隆之、江口 晋、高槻光寿、山之内孝彰、日高匡章、曾山明彦  
長崎大学大学院移植・消化器外科

2008年度エイズ予防財団の調査によると、血液製剤による HIV 感染患者は血友病 A（VIII 因子の異常）602名、血友病 B（IX 因子の異常）183名と報告され、これらの患者の約90%は C 型肝炎ウイルス（HCV）にも感染している。HIV/HCV 重複感染患者の治療成績は、HAART 療法の登場で向上したが、1995年以降は HCV 感染による肝障害が主な死因となっており、その対策を急がねばならない。

末期肝障害に対する肝移植は、わが国ではすでに5千例以上を実施した実績があるが、その99%は生体肝移植である。長崎大学では脳死肝移植施設としての認定を受け、2009年10月現在、生体肝移植110例を経験している。

海外からの報告では、両ウイルスに感染している場合の治療成績はやや不良である。血液製剤による HIV/HCV 重複感染患者では肝移植周術期の出血傾向への対応が必要となる。また、HCV が再発した場合、肝炎の進行が早く、その対策も重要である。加えて、HAART 療法は免疫抑制剤タクロリムスの血中濃度を著明に上昇させることから、術後、HAART 療法の開始時期の選定については本病態において解決が必要な特殊課題である。

わが国の血液製剤による HIV/HCV 重複感染で生体肝移植を受けた患者は現時点では10名程度である。その肝移植適応基準は、肝障害に関しては他の肝疾患例と差異はない。HIV に関しては①エイズを発症していないこと、②CD4 陽性リンパ球数が250/u 以上、③ HAART により血中 HIV 量が測定感度以下であること、などが現時点での条件である。

今後は HIV/HCV 重複患者に対して肝移植が必要となる場合も増える可能性があることをふまえ、我々はその受け皿となる組織構築の準備に着手した。今後は他施設と協力し、これらの患者が安心して肝移植について相談し、受益できるためのネットワーク作りを進めていく方針である。

脳死肝移植登録患者：症例 1

50代 男性

診 断：血友病 A

HIV 感染症

C 型肝硬変 胃・食道静脈瘤 門脈血栓症

現病歴：

小児期に血友病 A と診断された。

1987 年 HIV 感染が判明し、1996 年～抗 HIV 療法を開始。

1997 年 九州医療センター通院するようになった。

2005 年 3 月 PEG-IFN  $\alpha$  2b+リバビリン療法開始。(HCV genotype 2a, ウイルス量 0.9KIU/ml)

2005 年 8 月 Sustained viral response (SVR)となった。しかし、その後腹水が増加していった。

2007 年 9 月以降 門脈圧亢進が悪化し、肝予備能の低下、肝性脳症、腹水増加認め、

2008 年 3 月 生体肝移植希望で東京大学人工臓器・移植外科を受診。しかし、ドナー不適合（実妹が血友病保因者で凝固能やや低下していた）にて断念、2008 年 6 月脳死肝移植登録目的に国立国際医療センターへ転院となった。

2008 年 8 月食道静脈瘤破裂、11 月下血認め、それぞれ食道静脈瘤に対して EVL 施行。

2009 年 4 月胃静脈瘤に対して BRTO 施行。6 月脳死登録施設を長崎大学へ変更となり、6 月 19 日九州医療センターへ転院。

2009 年 7 月-8 月当院消化器内科へ検査入院

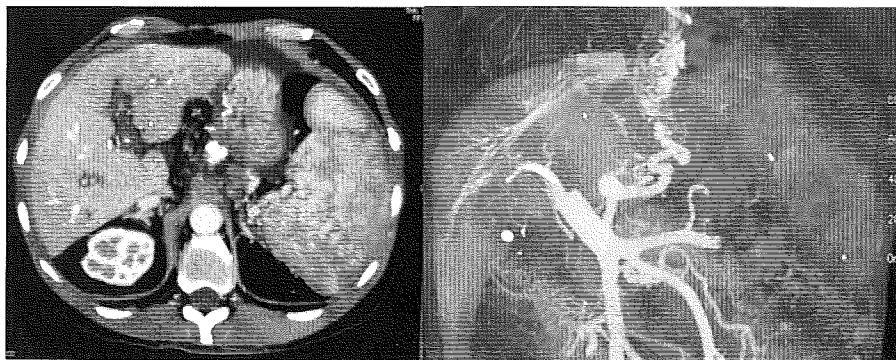
2009 年 11 月、12 月特発性細菌性腹膜炎にて抗生剤治療を施行（九州医療センター）。

2010 年 1 月肝移植前の検査入院（長崎大学 移植・消化器外科）。

2010 年 1 月 22 日術前検査を終了し、九州医療センターへ転院となった。

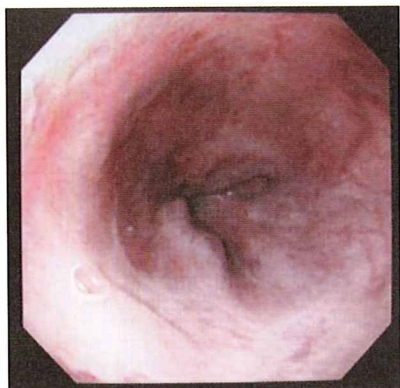
現在、九州医療センター入院中である。

腹部 CT (2010. 1 月)：肝硬変 (+)、門脈血栓 (+)、脾腫 (+)



資料 4-2

上部消化管内視鏡 (2009. 7月): 食道静脈瘤 (+) →内視鏡的結紮術施行



検査データ (2010. 1月)

WBC	2300	/ $\mu$ l	AST	19	CMV-IgG	(+)
RBC	287	$\times 10^4$	ALT	9	HSV-IgG	(+)
Hb	6.9		ALP	300	HZV-IgG	(+)
Ht	23.4		ChE	97	EBV VCA IgG	(-)
Plt	6.7	$\times 10^4$	$\gamma$ -GTP	12		
			T. Bil	0.9	CD4 (実数)	120
PT (%)	53	%	D. Bil	0.3	CD4/CD8比	1.0
PT-INR	1.45					
APTT	62.4		AFP	1.7	HCV-RNA	(-)
			PIVKaII	153	HIV-RNA	(-)
BUN	15		CEA	1.4		
Cr	0.58				ICG R15	25 (%)
			HBs抗原	(-)	アジアロシンチ	
T. P	7.5	g/dl	HBs抗体	(-)	LHL15	0.795
Alb	3.5	g/dl	HBc抗体	(+)		
			HBc抗原	(-)	Child-Pugh	B(8)
			HBc抗体	(+)	肝障害度	B
			抗HCV抗体	(+)	MELD score	11
			抗HIV抗体	(+)		
			抗HTLV-1抗体	(+)		

脳死下での臓器提供による肝移植 (脳死肝移植) 待機登録までの経緯:

2008年12月22日 適応評価委員会で審議の結果、「肝移植の適応あり」と判定された。

2009年2月18日 東京大学で脳死肝移植登録

2009年6月18日 登録施設を東京大学より長崎大学へ変更

医学的緊急度: 予測余命1カ月~6か月

## 資料 4-3

### 脳死肝移植登録患者：症例 2

20 代男性

診断： 血友病 A

HIV 感染症

C 型肝硬変 食道静脈瘤

現病歴：

現在九州医療センターにて外来通院中の患者。C 型肝炎に対し 2002 年に PEG-インターフェロン+リビリン併用療法を行うも無効。その後胃食道静脈瘤の破裂を数回起こし、EIS、EVL を施行された。6 歳時に HIV 抗体陽性が判明し、2001 年より九州医療センターで定期受診中。現在、HAART 療法にて CD4 陽性 T 細胞は  $300/\mu\text{l}$  程度、HIVPCR 検出感度未満とコントロール良好。血友病 A に対しては、第 VIII 因子製剤を定期的に投与中。今後も肝硬変の進行が考えられるため、肝移植適応評価のため当科紹介となった。

現症：身長 179.3cm, 体重 62.6kg, 高血圧(-), 意識清明。貧血・黄疸無し。

女性化乳房 (+)、心雑音(-)、呼吸音：正常肺胞音、ラ音 (-)、

腹部-軟、平坦、圧痛 (-)、腫瘤(-)、腸音：正常、肝・脾臓触知せず。

四肢-浮腫無し、チアノーゼ無し、

画像所見・生理検査：

胸部・腹部 X 線写真- 特に異常所見なし

心電図-特に異常所見なし

腹部造影 CT- 肝硬変パターン、両葉に多数の低吸収結節、CT 上は古典的 HCC を疑う所見は乏しいが、再生結節や境界病変、高文化 HCC が鑑別診断として考えられる。

腹部エコー-内部エコーは非常に不均一、両葉に 5-8mm 大の再生結節と思われる高エコー候像を複数認める。脾腫あり、副脾あり。腹水無し。

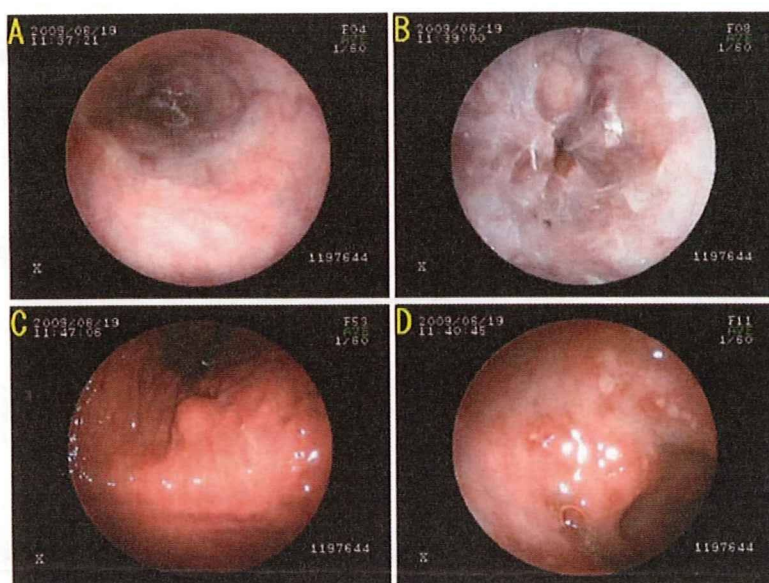
血液・生化学検査：

RBC ( $\times 10^4/\text{mm}^3$ )	447	Hb (g/dl)	13.9	Ht (%)	42
WBC (/mm <sup>3</sup> )	3600	Plt ( $\times 10^4/\text{mm}^3$ )	18.3	TP (g/dl)	8.5
Alb (g/dl)	3.7	T-Bil (mg/dl)	0.8		
AST (IU/l)	125	ALT (IU/l)	80	LDH (IU/l)	199
ALP (IU/l)	307	$\gamma$ GTP (IU/l)	123	Ch-E (IU)	150
T-Chol (mg/dl)	120				

資料 4-4

Cre (mg/dl)	0.4	BUN (mg/dl)	8		
PT (%)	71	PT(秒)	14.8	PT-INR	1.21
腹水	なし	消化管出血	なし		

上部消化管内視鏡 (2009. 6月) : 食道静脈瘤 (+)



脳死下での臓器提供による肝移植 (脳死肝移植) 待機登録までの経緯:

2009年6月23日 インフォームドコンセント実施

2009年10月2日 適応評価委員会で審議の結果、「肝移植の適応あり」と判定された。

2009年11月23日 長崎大学で 脳死肝移植登録

医学的緊急度 : 予測余命 6ヶ月~1年以内

## HIV/HCV重複感染患者 肝機能検診

対象:血液製剤によるHIV/HCV重複感染患者  
 場所:長崎大学病院(個室を専有化)  
 検診内容:一般肝機能検査、肝予備能検査(ICG15分値、アシアロシンチ)、  
 腹部超音波・CT、骨密度、上部消化管内視鏡検査 など

### 検診日程(2泊3日)

1日目 採血、胸腹レントゲン、心電図、  
胸腰椎レントゲン

2日目 アシアロシンチ  
腹部エコー 腹部造影CT

3日目 ICG 骨密度  
上部消化管内視鏡



腹部超音波検査



腹部CT検査

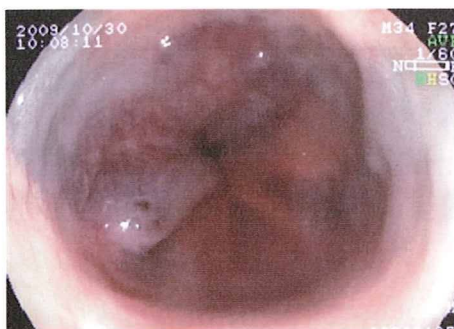
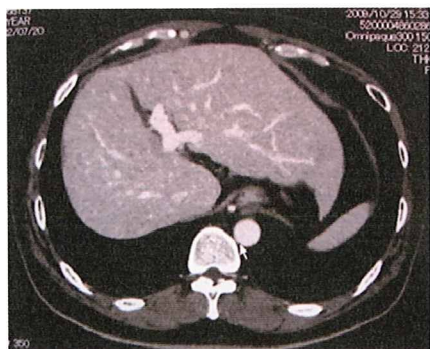


内視鏡検査

### 検診結果(2009.9月~2010.1月:10例)

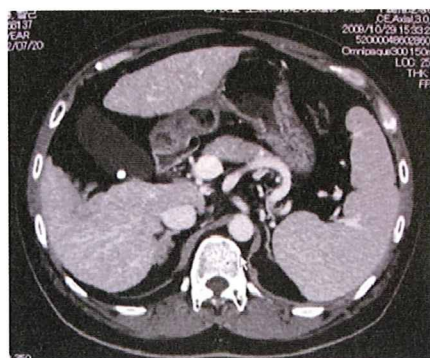
症例	年齢	性	PTX	PT-INR	T.Bil (mg/dl)	Alb (g/dl)	ICG r15	LHL15	A?P (ng/ml)	PIVKAII (mIU/ml)	Child- Pugh	MEJ	食道静脈瘤	肝(CT)	肝臓癌
1	60	M	75	1.17	1.4	3.4					8(A)	8	あり(RC-)	慢性肝障害、脾腫あり、腹水なし	なし
2	30	M	91	1.05	2	4.7	6%	0.98	2	19	5(A)	10	なし	正常肝	なし
3	49	M	54	1.46	1.1	3.2	62%	C.692	654.4	16	8(B)	11	あり(RC-)	肝硬変、脾腫あり、腹水あり	STBFA後、 $\approx$ -2cm 6個疑い、S8 24mm
4	37	M	58	1.39	1.1	4.1	19%	C.902	30.3	8	8(A)	10	あり(RC+)	肝硬変、脾腫あり、腹水なし	なし
5	33	M	94	1.03	0.8	4.8	2%	C.905	2.4	19	5(A)	7	なし	慢性肝炎、脾腫なし、腹水なし	なし
6	40	M	69	1.24	1.3	3.6	44%	C.755	2.8	128	8(A)	10	あり(RC-)	肝硬変、脾腫あり、腹水なし	なし
7	32	M	78	1.14	0.7	4.3	14%	C.902	3.3	40	5(A)	8	なし	慢性肝炎、脾腫あり、腹水なし	なし
8	46	M	89	1.06	3.4	4.5	9%	C.945	4.5	12	5(A)	12	なし	肝硬変、脾腫あり、腹水なし	なし
9	35	M	95	1.02	0.7	4.5	5%	C.937	1.6	33	5(A)	7	なし	肝硬変、脾腫あり、腹水なし	なし
10	45	M	110	0.95	0.7	4.5	14%	0.95	2.4	38	5(A)	8	なし	正常肝	なし

### 症例 4

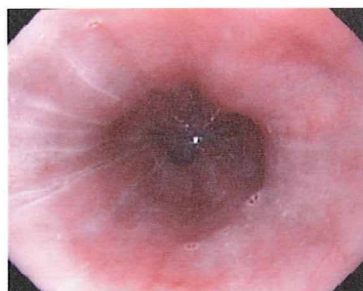
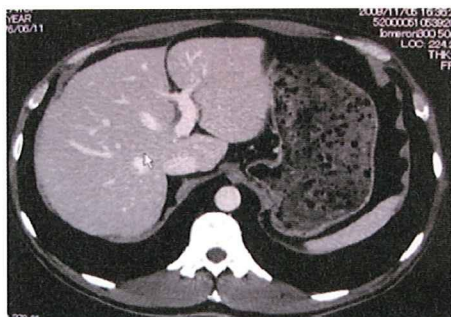


**消化管内視鏡查：  
食道靜脈瘤(+)**

**腹部CT:硬變肝、脾腫**

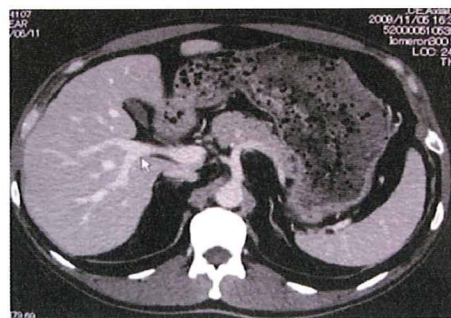


### 症例 7



**消化管内視鏡：  
正常、食道靜脈瘤(-)**

**腹部CT:辺縁鈍 慢性肝炎**





## II. 分担研究報告

周術期 HIV ウイルス動態把握に関する研究

研究分担者 有吉 紅也  
長崎大学 熱帯医学研究所 教授

研究要旨 本分担研究では、肝移植前後の抗 HIV 薬剤治療標準化に役立てるため、HIV ウイルス動態を詳細に把握できる超高感度 HIV ウイルス検出方法の確立を試みた。しかし、まだ現行のウイルス検出方法の感度を超える実験系の確立には至っていない。

共同研究者

古本 朗嗣（同上）、杉浦 互（国立名古屋医療センター）

A. 研究目的

本体研究の最終目標は、HIV/HCV 重複感染者で末期肝硬変に至った症例に対する肝移植治療の確立にある。そこで本分担研究は、肝移植手術前後の特殊な状況における抗 HIV 薬多剤併用治療(Highly Active Anti-retroviral Therapy, HAART) の標準化に役立てるために、周術期の HIV ウイルス動態をより詳細に把握することを研究目的とした。

これまで肝移植を受けた HIV/HCV 重複感染者の報告例によると、肝移植手術の術後 2 週間程度 HAART を中断するのが一般的である。しかし、このような感染者で一時的にせよ HAART を中断させた場合の HIV ウイルス動態について、特に HIV ウイルスのリバウンドについては、まだ調べられていない。また、一般的に HIV 感染者の臓器移植手術前後に、特に免疫抑制療法の開始前後で宿主内の HIV ウイルス動態がどのように変化するかについてもほとんど情報がない。

そこで、本分担研究では、より具体的な目的として、①超高感度 HIV ウイルス検出方法を確立すること、②同方法を用いて肝移植前後、特に抗 HIV 薬治療中断期間中の HIV ウイルス動態を明らかにすること、③さらに周術期に検出されたウイルスの HIV 薬剤耐性変異を明らかにし、肝移植による将来の HAART への影響についても検討す

ることとした。

B. 研究方法

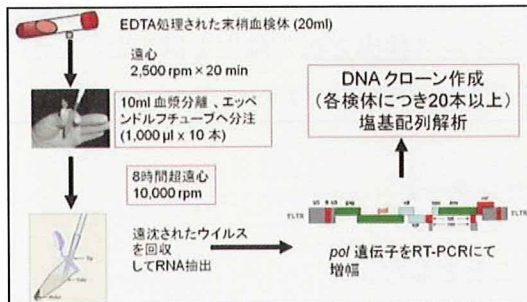
本年度は、本分担研究を実施するために、超高感度 HIV ウイルス検出方法の確立を試みた。現行の血中 HIV ウイルス量測定方法では、ウイルスの検出限界が 50 コピー/ml である。この感度をさらに 10 倍上げるために、通常の 10 倍量の感染者血漿検体（約 10ml）から HIV ウイルスを超遠心法により濃縮したうえで、ウイルスペレットを 200  $\mu$ l の蒸留水に溶解キット (High Pure Viral RNA kit® ロッシュ) を用いてウイルス RNA を抽出した。これら HIV ウイルス RNA の *pol* 遺伝子（逆転写領域・プロテアーゼ領域）また、比較対象として *env* 遺伝子を逆転写と PCR 増幅を同時に行う方法 (One-Step RT-PCR® TAKARA) を用いて 1 次増幅した後、nested-PCR (KOD®, Toyobo) により同遺伝子領域を 2 次増幅した。

本 PCR 実験では、薬剤耐性検査の権威である国立名古屋医療センターの杉浦互博士の協力を得て、博士らが用いている *pol* 遺伝子増幅用プライマーと同じ配列のものを用いた。また、ウイルス検出感度を少しでも上げるため *pol* 遺伝子薬剤耐性領域の増幅は、逆転写酵素領域とプロテアーゼ領域を別々に増幅することとした。プロテアーゼ領域、逆転写領域 PCR 産物のサイズは、それぞれ約 297bp と 720bp である。また、

比較対象として増幅した *env* 遺伝子の PCR 産物は約 250bp である。

この方法で遺伝子産物が検出された場合に、さらに、本研究ではウイルス遺伝子中に低頻度で存在する薬剤耐性ウイルスをより高感度に検出するために各臨床検体から標的遺伝子領域のクローンを 20 本以上作成し塩基配列解析を行う予定とした。(図 1)

図 1 薬剤耐性ウイルス超高感度検出実験の概要



なお、本検出方法確立のための実験にはウイルス量がわかっている患者由来の保存血漿検体を希釈したものを低ウイルス量検体として用いた。

#### (倫理面への配慮)

本研究を実施するにあたり、実際の肝移植患者由来血液の採取に関しては、本検出方法が確立された段階で、臨床研究計画を立案し長崎大学医学研究倫理委員会からの承認を得る予定である。

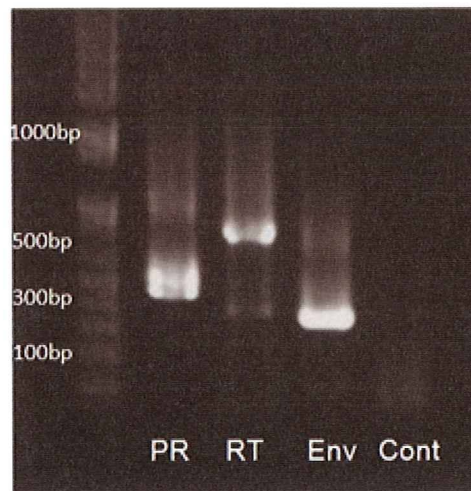
### C. 研究結果

実験の第一段階では、卓上超遠心機でウイルスの濃縮を行うために 1.5 ml エッペンドルフチューブに血漿 1000  $\mu$ l を入れ 10000 rpm  $\times$  8 時間で遠心し、ペレット回収後 200  $\mu$ l の DW に溶解し上記方法にて RNA 抽出し RT-PCR+Nested PCR 増幅した。しかし、この方法を複数回繰り返し試みたが、結果として有意な PCR 産物は得られなかった。

そこで、バイオセーフティーレベル 3 実験施設内の大型超遠心器を用いて、一本の超遠心チューブに入れることのできる最大量の血漿 5ml を入れ、23600 g  $\times$  1 時間の条件で遠心後、上記と同様の方法で RNA

抽出および RT-PCR+Nested PCR 増幅したところ、期待されるサイズの PCR 産物が得られるに至った (図 2)。しかし、血中ウイルス量が 100 コピー程度に調整した患者血漿を用いた場合は、明らかなバンドは認められなかった。

図 2 PCR 結果



図説明: 左レーンよりプロテアーゼ (PR~297bp)、逆転写酵素 (RT~720bp)、エンベロープ (Env~250bp) および陰性コントロール (Cont)

### D. 考察

かつて、HAART 治療中の HIV 感染者において抗 HIV 薬の副作用や毒性を軽減し、治療継続による疲弊感を解放し、QOL を向上させるなどの目的で、HAART 治療を一時意図的に中断する「組織的治療中断 Structured Treatment Interruption (STI)」が考案され、大規模な臨床治験 (SMART スタディ N Engl J Med, 2006) が実施されたことがある。その結果 STI は感染者の日和見感染症罹患率および死亡率を有意に悪化させることが判明した。また、STI により治療を中断された感染者の HIV ウイルス動態を詳細に検討した研究では、HIV ウイルス量のリバウンドが STI を受けた感染者全員で認められ、その約半数で 2 週間以内に血中にウイルスが検出されていた。(L Ruiz et al., AIDS 2000) これらの結果は、実際には HAART を中断したすべての感染者において、2 週間以内に何らかのリバウンドが生じており、もし現行のウイ

ルス量測定方法の感度（50 コピー/ml）をさらに上げることができれば、2 週間以内  
に出現する可能性が高い HIV ウイルス量の  
リバウンドの状況を詳細に把握することが  
可能であると考えられる。

残念ながら、本年度は現行の感度を超え  
るウイルス検出方法の確立には至らなかつ  
たが、今後杉浦博士らの協力を得て、実験  
方法の改良に努める予定である。この超高  
感度検出方法が確立されれば、肝移植後抗  
HIV 薬治療中断期間中の HIV ウイルス量  
リバウンドおよび HIV 薬剤耐性ウイルスの  
動態が明らかになり、さらには、肝移植に  
伴う抗 HIV 薬治療に関するガイドライン作  
成に有用な情報が得られることが期待され  
る。

#### E. 結論

肝移植前後の HIV ウイルス動態を把握す  
るため超高感度 HIV 検出方法の確立を試み  
たが、未だ現行の感度を超える実験系の確  
立には至っていない。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

該当なし

##### 2. 学会発表

該当なし

（発表誌名巻号・頁・発行年等も記入）

#### H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を 含む。）

##### 1. 特許取得

該当なし

##### 2. 実用新案登録

該当なし

##### 3. その他

厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）  
分担研究報告書

Systematic review による HIV/HCV 重複感染患者に対する肝移植の現状把握

研究分担者 江口 晋  
長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 移植・消化器外科

研究要旨 世界での HIV/HCV 重感染者に対する肝移植の現状、問題点を把握する目的で Systematic review を行なった。本邦では東京大学からの 6 例の報告のみであるが、世界においては 2007 年の UNOS よりの報告をはじめ、最近になり報告が増加している。HIV 感染のみの肝移植に比し、HIV/HCV 重感染例での肝移植成績は低下しており、抗ウイルス療法の工夫、免疫抑制剤使用の工夫が必要と考えられる。

共同研究者

高槻光寿、日高匡章、曾山明彦（長崎大学大学院 移植・消化器外科）

#### A. 研究目的

昨今の Highly Active Anti-Retroviral Therapy (HAART)による HIV のコントロールの改善により 1995 年以降、HIV 感染例の死亡数は減少するとともに、死因に大きな変化が見られた。AIDS 関連死(日和見感染による死亡)は約 50%。残りの約半数のうち、約 90%は肝疾患関連であり、多くは HCV 感染症による死亡であった。

本邦での肝移植適応となる可能性のある血友病など血液疾患に対する過去の汚染血液製剤使用による HIV-HCV 重複感染者に対する肝移植の組織構築のため、systematic review を行い現状を浮き彫りにすることを目的とし研究を行なった。

#### B. 研究方法

Pub Med にて liver transplantation, HIV をキーワードに検索を行い、文献を抽出し、現在までの HIV/HCV 重複感染者に対する肝移植について調査研究を行なった。また、邦文では 2008 年厚生労働省調査報告書を参照した。

#### C. 研究結果

#### HIV-HCV 重複感染症の疫学

2008 年版の厚生労働省の調査では血友病患者で HIV 感染生存例は血友病 A (第 8 因子欠損): 602 人、血友病 B (第 9 因子欠損): 183 人であった(表 1)。この中で HCV 感染があり、肝疾患の病期が報告されているものは、血友病 A: 524 人(87%)、血友病 B: 162 人(89%)であった(表 2)。血友病 A の 524 人では肝硬変 33 人(6.3%)、肝癌 5 人(0.9%)、肝不全 2 人(0.4%)で、肝臓移植を受けた患者も 2 人存在した。また血友病 B の 162 人では肝硬変 11 人(6.8%)、肝癌 6 人(3.7%)、肝不全 0 人で、肝臓移植を受けた患者も 2 人(1.2%)存在した。現在すでに肝硬変の症例約 50 人程度が今後の移植適応となってくる可能性が高い。実際、本報告では血液疾患による HIV-HCV 重複感染患者での死因の 1/3 は肝疾患であると報告されている。

これらの患者は、輸入血液製剤を介するための特徴として、HCV 遺伝子型 1b 型 25% (日本人では通常 70%) と少なく、3a 型が 23% と多い。また HIV-HCV 重複感染例では

HCV が測定感度以下となっている割合が 44.0%と HIV 非感染例 HCV 例の 55.4%よりも有意に低かった。海外でも血友病患者での HCV や HIV 感染に伴う諸問題の報告も散見される。

#### **HIV-HCV 重複感染例に対する肝移植適応**

基本的には非 HIV 感染患者と同様に C 型肝炎が進行して肝不全の状態となり、長期予後が望めない患者が適応となる。また、肝不全には至っていないが、HAART による (C 型肝炎慢性肝炎をベースとした) 肝障害が高度で、HAART の中断・中止が必要な場合も適応とされる。HAART 施行中の患者では肝予備能、HIV 感染症の状況の双方からの適応検討が必要である。また経過中に肝細胞癌を発症した場合も適応となることがある。

肝移植のための条件としては

1. エイズを発症していないこと。
2. CD4 陽性 T リンパ球数が 200-250/microl 以上であること。
3. HAART によって血中 HIV 量が測定感度以下であることが挙げられていることが多い。

しかし、門脈圧亢進症による汎血球減少も存在するため CD4 陽性 T リンパ球数は 100/microl より適応と考えている施設もあり、CD4 陽性 T リンパ球数のみで適応を決めてよいのか、今後の検討課題のひとつである。また CD4 と CD8 の比率が 14%以上であること、なども適応として挙げられるが、まだ各施設基準で施行されている状況である。最近では術前 MELD (model for end-stage liver disease) 値が HIV-HCV 重複感染者の術後生存率と有意に関連しているとの報告もあり、検討が必要である。

#### **HIV 陽性患者に対する肝移植成績**

欧米では 1980 年代から脳死ドナーの肝移植が HIV 患者に対しても行われてきた。この時代の肝移植成績は生存率約 47%と非常に悪かった。

この成績は HAART の登場以降、向上しつつある。1996 - 2004 年、世界で 51 例の HIV(+)患者に肝移植が施行され、うち 68%が HCV による肝障害を適応としたと報告され、また UNOS registry 登録された 19 患者では肝移植後 1 年生存率は 79%で、HIV 陰性患者の 88%と有意差は無かったとされている。またピッツバーグ大では 1997 年以降 HIV 患者 29 名 (26 例は血友病、HCV 陽性は 89%) に肝移植を施行された。HAART は術前 1 例、16 例は移植時に施行され、移植時には 12 例が HIV-RNA は感度以下となっており、1 年生存率は 76%であった。HAART が登場した 1997 年以降の肝移植症例の UNOS における retrospective study (HIV 陽性 138 名、HIV 陰性 30,520 名) では HIV のみ陽性患者の予後は比較的良好であった。その研究では HIV-HCV 重複感染患者の予後は HCV のみ陽性患者に比較して不良であったと報告されている。シリーズでの報告は表 3, 4 に示す。その他もレビューや肝移植への期待、適応の評価など散発的な報告が多いのが現状である。

最近のフランスよりの 14 例の報告では、インターフェロン、HAART 療法、肝線維化などの詳細な報告がなされている。全例、術前血中 HIV 量は検出感度以下で、CD4+T 細胞数は 85-1015 と幅があった。カルシウリン阻害剤はタクロリムスを 0.5 mg/週で基本的には術後 2 週間目より開始されているが、それでも 5 例(36%)で過剰投与となっていた。

また HAART も術後 2 週間目より再開されていた。結果としてステロイド投与期間が長期に渡っている。肝移植後 12 ヶ月目の肝生

検では FCH 1 例、F3 1 例、F2 2 例、F1 5 例であった。移植予後は 1 例を FCH により失ったのみであり、encouraging な成績であると考えられる。

また、肝腎同時での HIV 感染者に対する臓器移植の報告も散見されている。

#### HIV-HCV 重複感染者への肝移植の問題点

HIV-HCV 重複感染者に対する肝移植で通常の肝移植と異なる問題点は次のような事項が挙げられる。1. HAART との併用によるカルシニューリン阻害薬の著明な血中濃度上昇。2. 適正な HAART 開始のタイミングが未確立で、早期開始での薬剤性肝障害のリスク高。3. HAART 開始の遅れによる日和見感染のリスク。4. HIV 陽性患者に対して移植の考慮が遅れ、結果として移植時期が遅れる。5. HIV のみ陽性患者に比較して、HCV 再発後の進展が早い。<sup>68,69)</sup> 6. インターフェロン、リバビリンなどの抗ウイルス剤の免疫系を介しての HIV ウイルス動態、HAART 薬剤との相互作用などが挙げられている。また T 細胞数と急性拒絶反応との関係を論じている文献もある。インターフェロンの開始時期など移植後の HCV 対策、至適免疫抑制法、薬物血中濃度モニターなどの報告も検討が進んでおり、今後の報告が待たれる。肝移植後のインターフェロンの効果についてまとめたレビューによると、SVR 率は 0-50%と幅があるが、HIV 陽性患者では特に貧血、白血球減少のため、副作用が多く、Growth factor 投与により継続が可能になるという報告であった。

また本邦では血友病患者に対して行なわれた汚染血液が原因となっていることが多いため、術中、術後の移植肝が働き出すまでの凝固、出血管理が困難であることが挙げられる。また、生体肝移植を考慮する場

合、保因者のドナーしか存在しない場合の保因者ドナー肝切除のリスク評価なども問題となるであろう。

#### E. 結論

本年度は世界における HIV/HCV 重複感染者に対する肝移植の現状につき、systematic review を行い現状を把握し、日本移植学会雑誌に投稿、受諾された。来年度は本邦での CD4 T 細胞機能を中心に研究を展開する。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Inokuma T, Eguchi S, Takatsuki M, Hidaka M, Yamanouchi K, Hamasaki K, Tajima Y, Kanematsu T. Acute Deterioration of Idiopathic Portal Hypertension Requiring Living Donor Liver Transplantation: A Case Report. Dig Dis Sci 2008;54:1597-601.
2. Hidaka M, Eguchi S, Okudaira S, Takatsuki M, Soyama A, Tokai H, Hamasaki K, Nagayoshi S, Mochizuki S, Tajima Y, Kanematsu T. Multicentric occurrence and spread of hepatocellular carcinoma in whole explanted end-stage liver. Hepatol Res 2009;39:143-8.
3. Takatsuki M, Eguchi S, Takatsuki M, Hidaka M, Yamanouchi K, Hamasaki K, Tajima Y, Kanematsu T. A Secure Taping Technique for a Liver Hanging Maneuver Using a Surgical probe. Surgery Today 2008;38:1155-6.
4. Nagayoshi S, Kawashita Y, Eguchi S, Kamohara Y, Takatsuki M, Miyamoto S, Mochizuki S, Soyama A, Tokai H, Hidaka M, Tajima Y, Kanematsu T. Metabolism

- for cyclosporin A during liver regeneration after partial hepatectomy in rats. *World J Gastroenterol.* 2008;14(41):6355-9.
5. Eguchi S, Hidaka M, Tomonaga T, Miyazaki K, Inokuma T, Takatsuki M, Okudaira S, Yamanouchi K, Miyaaki H, Ichikawa T, Tajima Y, Kanematsu T. Actual therapeutic efficacy of pre-transplant treatment on hepatocellular carcinoma and its impact on survival after salvage living donor liver transplantation. *J Gastroenterol.* 2009;44:624-9.
  6. Tajima Y, Kuroki T, Tsuneoka N, Adachi T, Kosaka T, Okamoto T, Takatsuki M, Eguchi S, Kanematsu T. Anatomy-specific pancreatic stump management to reduce the risk of pancreatic fistula after pancreatic head resection. *World J Surg.* 2009;33:2166-76.
  7. Ichikawa T, Nakao K, Miyaaki H, Eguchi S, Takatsuki M, Fujimoto M, Akiyama M, Miuma S, Ozawa E, Shibata H, Takeshita S, Kanematsu T, Eguchi K. Hepatitis C virus kinetics during the first phase of pegylated interferon-alpha-2b with ribavirin therapy in patients with living donor liver transplantation. *Hepatol Res.* 2009 Jul 13.
  8. Tokai H, Kawashita Y, Ito Y, Yamanouchi K, Takatsuki M, Eguchi S, Tajima Y, Kanematsu T. Efficacy and limitation of bone marrow transplantation in the treatment of acute and subacute liver failure in rats. *Hepatol Res.* 2009 Jul 10.
  9. Eguchi S, Takatsuki M, Yamanouchi K, Kamohara Y, Tajima Y, Kanematsu T. Regeneration of graft livers and limited contribution of extrahepatic cells after partial liver transplantation in humans. *Dig Dis Sci.* 2009 Mar 19.
  10. Eguchi S, Kanematsu T. What is the real contribution of extrahepatic cells to liver regeneration? *Surg Today.* 2009;39(1):1-4. Epub 2009 Jan 8. Review.
  11. 江口 晋、日高 匡章、兼松 隆之  
肝細胞癌に対する肝移植  
2009;54(4);56-58. MINOPHAGEN  
MEDICAL REVIEW (Japanese)
  12. Hamada T, Eguchi S, Takatsuki M, Yamanouchi K, Sugiyama N, Kawashita Y, Okudaira S, Tajima Y, Ishii T, Kanematsu T. Low-dose recombinant human hepatocyte growth factor enhances effect of hepatocyte transplantation in rats treated with retrorsine. *Hepato-gastroenterology.* 2009;56:1466-1470.
  13. Moriuchi H, Kamohara Y, Eguchi S, Gu W, Fujioka H, Yamamoto T, Tajima Y, Kanematsu T, Koji T. Diverse Effects of FK506 on the Apoptosis of Hepatocytes and Infiltrating Lymphocytes in an Allografted Rat Liver. *J Surg Res.* 2009 Aug 4.
- H. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む。)  
なし



厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）  
分担研究報告書

検査医学的アプローチによる血友病合併肝移植術における出血制御戦略の構築

研究分担者 上平 憲  
長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 病態診断学

研究要旨： HIV/HCV 重感染血友病症例に対する肝移植周術期において、凝固因子活性や thromboelastometry 等凝固・線溶系モニタリングシステムを確立した。今後、症例を集積しながら、より効果的な周術期止血制御のための治療アルゴリズム構築を目指す。

共同研究者

長井一浩（長崎大学病院輸血部）、鶴田一人（長崎大学病院臨床検査部）

#### A. 研究目的

ヒト免疫不全ウイルス（human immunodeficiency virus; HIV）と C 型肝炎ウイルス（hepatitis virus C; HCV）の重複感染血友病症例に対する肝移植術に際して、血液凝固・線溶系のモニタリングシステムを確立し、術前の診断や評価に資すると共に、効果的な周術期止血制御のための治療アルゴリズムを構築する。

#### B. 研究方法

##### （1）凝固因子の活性測定

患者血漿中の第Ⅷ因子および第Ⅸ因子活性は、周術期に 3.13%クエン酸ナトリウム加患者全血を採取し、それぞれトロンボチェック FactorⅧおよびⅨ（Sysmex 社）における反応を Sysmex CS2100i を用いて測定した。

##### （2）Thromboelastmetry（TEM）

体外における凝血クロットの強度変化を経時的に測定することで、患者の凝固・線溶系および血小板系を介する止血機能の総合的機能評価を行った。周術期にクエン酸ナトリウム加患者全血を採取し、3.13%カルシウム試薬を添加後速やかに Rotation thromboelastmetry（RoTEM; Pentapharm 社、ドイツ）を用いて、内因系を反映する INTEM、外因系を反映する EXTEM、フィブリン重合を反映する FIBTEM、線溶系評

価に用いる APTEM という 4 種のモードにおいて測定を行った。代表的な測定パラメータは以下の通りである（カッコ内数値は正常範囲）。Clotting time（CT; INTEM 100～240, EXTEM 38～79）：測定時間からクロット形成開始までの時間(sec)、Clot formation time（CFT; INTEM 100～240, EXTEM 38～79）：最初のクロット形成からその堅固さが 20mm になるまでの時間(sec)、maximum clot firmness（MCF; INTEM 100～240, EXTEM 38～79）：クロットの堅固さ(mm)、 $\alpha$  アングル; INTEM 100～240, EXTEM 38～79）：クロット形成開始から堅固さが 20mm になるまでの角度(度)、maximum lysis（ML; INTEM 100～240, EXTEM 38～79）：MCF 後のクロットの堅固さの減少度(%)。

##### （3）倫理面への配慮

本研究は、長崎大学病院臨床研究倫理委員会の承認を受け、十分なインフォームド・コンセントを実施した肝移植術実施症例を対象として、その血液を臨床検体とする臨床観察研究である。本研究は「ヘルシンキ宣言」および厚生労働省発「臨床研究に関する指針」を遵守したものである。

#### C. 研究結果

（1）凝固因子活性のリアルタイム測定系の確立

凝固因子活性測定系の同時再現性を、コントロール血漿を用いて検討した結果、正常および異常血漿を用いた場合の CV 値は第Ⅷ因子においてそれぞれ 0.031%、0.05%、第Ⅸ因子においてそれぞれ 0.026%、0.015%であった。正常コントロール血漿による検量線では活性化部分トロンボプラスチン時間 (aPTT) との間での直線性を確認できた。

(2) TEM による止血機能評価系の確立

肝移植術周術期における患者止血機能を TEM を用いて評価する系を確立した。図 1 に実際の肝移植術を実施した肝硬変症例におけるデータを示す。

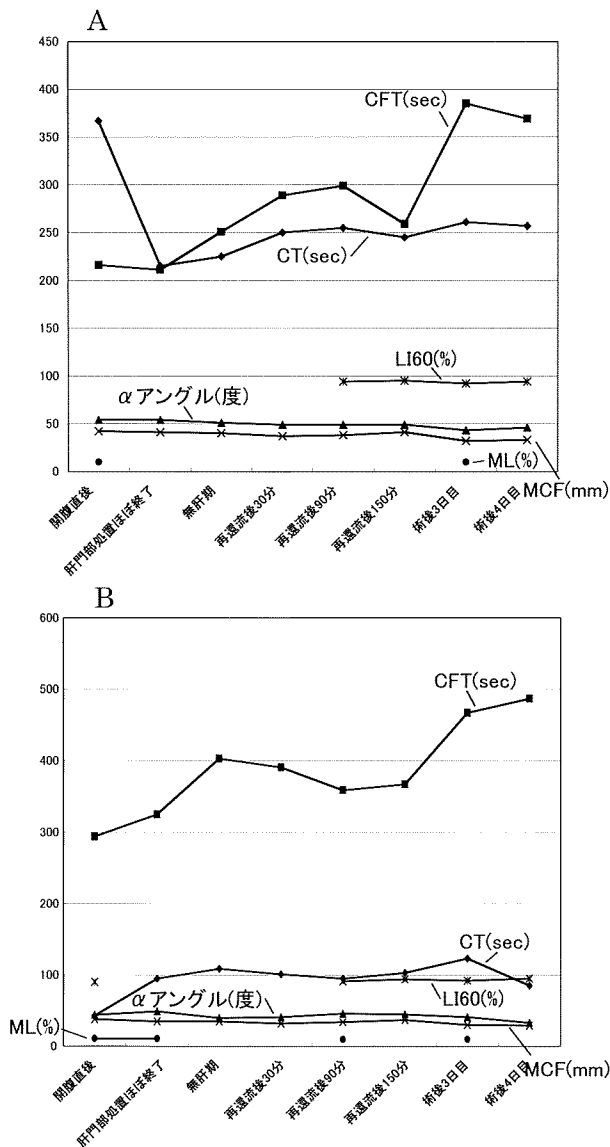


図 1 生体肝移植症例における TEM 解析所見

A ; INTEM モード B ; EXTEM モード

本症例では、術前のプロトロンビン時間 (PT)、aPTT、フィブリノゲン値はそれぞれ 82%、30.1 秒、152mg/dL と凝固障害は比較的軽度には留まっていたが、TEM のデータでは CT、CFT、α アングル、MCF が INTEM または EXTEM いずれかのモードで術前より異常値を示しており、止血能の低下が示唆された。

さらに、無肝期以降の CFT の上昇に代表される各パラメータの変化が明らかであり、また、FIBTEM モードにおける MCF は周術期を通して 6mm を下回っていたことから、術中、術後にかけて血液製剤をはじめとする各種補充療法の適応について判断を要する場合があることが示された。一方、ML の変化は乏しく、線溶系の亢進は明らかではなかった。

(3) 軽症血友病や carrier female に合併する肝硬変症例に対する凝固系検査の評価  
血友病合併の有無によって肝硬変患者を 2 群に分け、両群間の各種凝固系検査データを比較した。

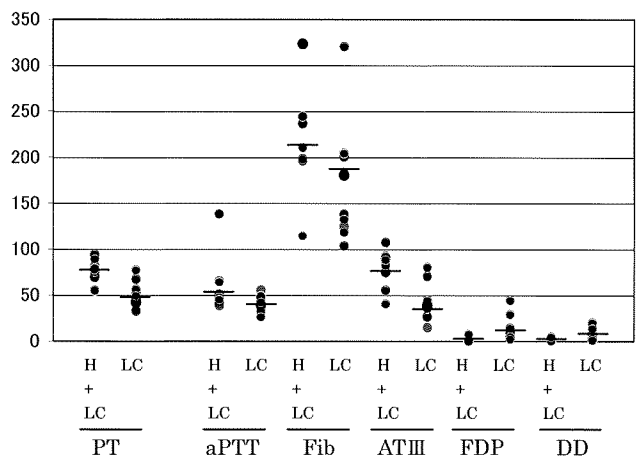


図 2 血友病合併の有無による肝硬変症例の凝固・線溶能

H+LC; 血友病合併肝硬変症例 LC; 血友病非合併肝硬変症例

PT と aPTT については、前者平均値が血友病合併例 76%、非合併例 49%、後者ではそれぞれ 51 秒、37 秒であったが、測定値の分布幅を考慮した場合、多くの症例で同程度の値を示していた。また、ATIII は血友病合併群が高値であった。

D. 考察

血友病症例に対する開腹・開胸・開心・

開頭等の全身麻酔下手術では、適切な凝固因子製剤補充療法による出血の管理が不可欠である。日本血栓止血学会が提唱する「インヒビターのない血友病患者の急性出血、処置・手術における凝固因子補充療法のガイドライン」では、第Ⅷないしは第Ⅸ因子の半減期と止血に必要な活性値を目安として、術前よりトラフ因子レベルを 80～100%に維持出来るようボラス投与および持続投与等の実施が推奨されている。

一方、わが国の血友病患者の抱える問題として、血液製剤に起因する HIV および肝炎ウイルス感染被害が存在している。このようなケースで肝疾患治療の手段として肝移植術が適応であると判断された場合、血友病および肝疾患という複合的な凝固・止血障害要因の存在が、周術期管理上重大な問題となる。

肝移植周術期における止血機構の問題点としては、1) 凝固、線溶、血小板の量的異常がダイナミックに生じる、2) 出血量の予測が困難であり、依然大量の輸血を要する場合がある、3) 術後の血栓症発症のリスクが存在する等が挙げられる。加えて血友病合併症例の場合、これに対する凝固因子補充効果が期待通り得られるか否かが問題となりうる。

われわれは、HIV/HCV 重感染血友病症例に対する肝移植術実施へ向けて、上記問題を解決するために、その周術期における血液凝固・線溶系のモニタリングシステムの確立を試みている。このシステムは、迅速な結果判明によって、それを元に周術期の治療的処置の実施判断が適時に成されることに資する、いわゆる Point of care testing (POCT) である必要がある。

そこでわれわれは本年度の研究活動のひとつとして、院内検査体制において第Ⅷおよび第Ⅸ因子活性測定系を確立した。このことは、術前において患者凝固能評価は勿論、凝固因子インヒビターの検索、試験的凝固因子補充による製剤の体内動態確認等、治療計画を立案する上で重要な情報をもたらし得る。さらに、術中や術後においては、凝固因子補充療法の効果を評価するうえで不可欠である。従来術中の止血系モニタリ

ングとして、既に PT や aPTT が用いられ有用性を認められているが、今後症例を集積していく中で、上記凝固因子活性の測定を併用することによる臨床的意義を明らかにしてゆく必要がある。

更にわれわれは、近年外科領域における急性出血管理の有用性が示唆されている TEM を、同様の対象症例に利用することを目指している。今回の基礎検討によって、本法を用いることで、患者の止血機能を即時的包括的にモニターすることが可能であると考えられた。4 種の測定モードおよび多用なパラメータを複合的に活用することで、止血障害の原因が、凝固因子欠乏、フィブリン重合形成障害、フィブリノゲン減少、血小板の量的・機能的異常、線溶亢進等のいずれの病態によるものかを適時に判断可能であり、これに続く治療的判断上有用性が高いものと考ええる。今後は、既にわれわれが POCT として確立した前述の検査項目との併用によって、TEM のデータを基盤とする新たな止血のための治療アルゴリズムを構築する必要がある。

次にわれわれは、検査医学的見地から軽症血友病あるいはキャリア女性に合併する肝硬変症例の診断・凝固学的評価について検討した。その結果から、軽症血友病に肝疾患による凝固障害が加わると、後者による PT 延長により複合的凝固障害として血友病の診断に至らない可能性が示唆された。また軽症血友病の凝固因子活性は 5～30% であるが、同様の病態より本来軽症血友病であるものが中等症以上の重症度として診断されることもあり得る。一方、女性症例で aPTT 延長を認める場合 sporadic なキャリア女性である可能性があり、この場合凝固因子活性が 50% を下回っていれば肝疾患の合併でさらに凝固能は低下しており、軽症血友病に準じた止血管理を要することになる。

本研究の取り組みによって適切な止血管理を可能にすることは、翻れば周術期の血液製剤使用量を適正化することに繋がる。従って今後、術中出血量および血液製剤や止血のための治療と各種検査データの関連性を解析し、それらの臨床的意義を明らか

にすることが症例を重ねてゆく上でわれわれの課題となる。また、移植後の移植片由来の凝固能回復プロセスを観察・分析し、肝移植術が血友病の病態にもたらす影響・意義を明らかにする必要がある。

#### E. 結論

本年度のわれわれの取り組みによって、HIV/HCV 重感染血友病症例に対する肝移植周術期の臨床評価および止血管理に必要な検査モニタリングシステムが整った。今後、その臨床的意義を解明してゆくと共に、このシステムを応用したより有用性の高い治療アルゴリズムの構築を目指す。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Yamada Y, Okada M, Kamitamari A, Moriuchi H, Yanai M, Hano O, Tsukasaki K, Tsuruda K, Hasegawa H, Yanagihara K, and Kamihira S.

Multiple immune abnormalities in a patient with idiopathic CD4+ T-lymphocytopenia. *Internal Med.* 48(22): 1967-71, 2009.

2) Sasaki D, Sugahara K, Inokuchi N, Yanagihara K, Hasegawa H, Mori S, Yamada Y, and Kamihira S.

Screening for genetic heterogeneity in the interferon sensitivity determining region of the hepatitis C virus genome by polymerase chain reaction with melting curve analysis. *Clin Chem Lab Med.* 46(7): 966-73, 2008.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

なし