

II. 考案

ART 療法の導入により HIV 感染患者の生命予後が飛躍的に改善し、それに伴って HIV 関連腎症や薬剤性腎症による末期腎不全により腎代替療法を必要とする症例も増えている。HIV 感染患者の腎移植については欧米の経験が報告されており^{1),2),3)}、その短期的成績は良好なものが多い。腎移植の適応条件としては、①CD4 陽性 T 細胞数>200/ μ L、②3 ヶ月以上 HIV-RNA 陰性 (<50 コピー)、③移植前 ART 療法が安定して 16 週施行できている、④AIDS 関連合併症がないことが挙げられている。

Stock ら¹⁾の 150 例の前向き試験では 1 年および 3 年生存率はそれぞれ 94.6%、88.2%、1 年および 3 年生着率はそれぞれ 90.4%、73.7%と良好であり、HIV 感染症もよくコントロールされ、HIV 関連の合併症もほとんどなかった。しかしながらこれまでの報告で問題とされるのは、①ART 療法に使用される薬剤と免疫抑制療法との相互作用、②高い急性拒絶反応の発生率であった。ART 療法に使用される薬剤、特にプロテアーゼ阻害剤とカルシニューリン阻害剤 (CNI)との相互作用で CNI の血中濃度が高値となり、移植腎機能の障害や投与量の減量、薬剤変更が問題となる事が多い。最近相互作用の少ないインテグラーゼ阻害剤、ラルテグラビルが使用されてきており、このような薬剤の使用と頻回な血中濃度測定によって CNI 血中濃度の上昇はコントロールできると考えられる。

急性拒絶反応については報告により 15-60%と差があるが、頻度が高い原因として感染症を恐れた弱めの免疫抑制療法、アロ抗原への過剰反応などが指摘されているが、適正な免疫抑制剤の導入療法によって解決できると考えられる。

今回の我々の症例は欧米と違い、基礎疾患として血友病があり、血液製剤で HIV 感染をきたした事、血友病自体は持続して加療する必要があること、罹病期間が長いこと、生体腎移植でドナーが高齢で合併症があるが、遺伝性の疾患でありドナーが限定されること、ABO 血液型不適合であることがあげられ

る。HIV 感染症や血友病に関しては感染症内科、血液内科、透析や血漿交換については血液浄化療法部、手術に関しては麻酔科、泌尿器科と外科、CNI 血中濃度は薬剤部などと院内各方面と綿密な連携のもと周術期管理を行い、特に出血、拒絶反応、感染症もなく、ART 療法も中断することなく退院できた。退院後も拒絶反応、重症感染症もなく、HIV 感染症も問題なかったが、移植後 6 カ月に移植腎動脈瘤破裂で死亡に至ったことは大変残念であった。これが HIV 感染症と関連があるかは不明である。移植腎仮性動脈瘤は感染症、手術手技や高血圧、高脂血症、妊娠等でおこるとされる。剖検所見では特に細菌や真菌は検出できず感染症ははっきりとしなかった。手術手技 (動脈吻合) については、後壁を連続縫合、前壁を結節縫合して問題なく吻合でき、止血も十分であった。剖検の所見ではレシピエント側の内腸骨動脈をはじめ全身の動脈硬化が同年齢に比し強く、またドナーの腎動脈も高齢や合併症のためか動脈硬化が強かった。瘤形成の原因は明確ではないが脆弱化した吻合部付近が血圧の変動等で瘤が形成され、血友病の影響もあり血栓形成や器質化することなく瘤が増大して破裂したと推測される。瘤の形成時期については当院退院前、および他院受診時の移植腎超音波検査では特に問題なく、また 4 か月後に貧血進行で施行した腹部超音波所見でも特に所見はなかった。CT 等の更なる検査が本人の希望もあり施行できなかったため、結果として形成時期は不明である。これまでの報告では破裂に至るのはまれであるが、破裂前に動脈瘤を検出できれば、再吻合等で破裂を回避できる可能性はあったと思われる。

III. 結論

血友病治療に用いられた血液製剤で HIV 感染をきたし、ART 療法中に末期慢性腎不全に至った症例に ABO 血液型不適合生体腎移植を経験し、特に合併症、拒絶反応、感染症もなく 55 日目に退院した。術後 6 カ月で不幸の転帰を取ったが、HIV 感染症との関連は不明であった。厳格なレシピエント適応の判断と

術前評価、周術期の血友病、HIV 感染症および免疫抑制療法
の管理に関する各部署の綿密な連携があれば、HIV 患者の腎移植は安全に施行できると思われる。

{ 文献 }

- 1) Stock PG., Barin BMS., Murphy B, et al. Outcomes of kidney transplantation in HIV- infected recipients. N Engl J Med. 2010;363:2004.
- 2) Touzot M, Pilebout E, Matignon M. et al.: Renal transplantation in HIV-infected patients:the Paris experience. Am J Transplant. 2010;10:2263.
- 3) Mazuecos A, Fernandez A, Andes A, et al.: HIV infection and renal transplantation. Nephrol Dial Transplant. 2010;10:1093.

血液製剤による HIV/HCV 重複感染患者に対する肝移植の診療ガイドライン

発行日	2012年3月
発行者	厚生労働科学研究費補助金 エイズ対策研究事業 「血液製剤による HIV/HCV 重複感染患者に対する 肝移植のための組織構築」 兼松班
編集責任者	研究代表者 兼松 隆之

◎本書の内容に関するお問合せは下記までご連絡ください。

長崎大学大学院 移植・消化器外科 〒852-8501 長崎県長崎市坂本1-7-1

TEL : 095-819-7316 FAX : 095-819-7319

II. 分担研究報告

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

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:

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。本年度の研究でその可能性が示唆されたが、感度の点でまだ十分とは言えない。

共同研究者

小笠原 徹（同上）、杉浦 互（国立病院機構名古屋医療センター）

A. 研究の目的

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 薬治療（Antiretroviral Therapy, ART）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ている。具体的な目的は、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 ART への影響について検討することである。我々は、本分担研究を実施するために、これまで超高感度 HIV ウイルス検出法の確立を試みてきた（平成 23 年度分担研究報告書に詳細は記載）。また、それらと並行して周術期に出現する抗 HIV 薬耐性ウイルスをより高感度に検出する実験系の確立を目指してきた。

現行の薬剤耐性 HIV の検出は、患者血漿から RT-PCR にて *pol* 遺伝子領域を増幅し、これらの PCR 増幅産物を、クローニングを経ずに直接シーケンスし塩基配列を決定するダイレクトシーケンス法を用いているため、血中に優位（約 50%以上）に存在する薬剤耐性遺伝型のみが検出されていた。しかし、一般的に薬剤耐性変異をもつウイルスのフィットネス（増殖能力）は低く、抗 HIV 薬による選択圧がない環境下において、これらの薬剤耐性株は優位に存在する可能性は低い。一方、血液中に数%以下の低い頻度で存在する薬剤耐性ウイルスを検出するには、一検体につき数百本以上のクローンを作成し、そのすべてクローンに対してシーケンスをするという極めて労力と費用を要する実験が不可欠であった。

近年、エマルジョンオイルを用いた PCR (emPCR)を用いて、古典的なクローン実験を経ずに対象部位の数万単位

のクローン増殖とそのシーケンスを同時に実施可能とする次世代シーケンサーが開発された。この技術を用いると数万のオーダーでクローンレベルのシーケンスが可能となり、数%以下の頻度で存在する薬剤耐性 HIV ウイルスの検出も可能となる。そこで、本年度は、次世代シーケンサーのひとつである Roche 454 GS Junior を用いて、耐性ウイルスの出現により、治療が困難となった症例において、救済 ART 療法を施す前後で、次世代シーケンサーを用いた薬剤耐性評価を行い、その臨床的意義を検討することとした。

B. 研究方法

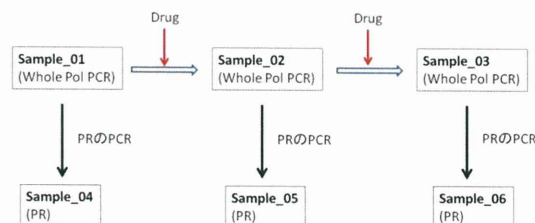
対象検体

名古屋医療センター杉浦亙博士より供与を頂いた。同センター HIV 外来へ通院する HIV 感染患者のうち、ART 治療後に多剤耐性 HIV が出現し、救済 ART が必要となった患者一名から、救済 ART を開始する前後に収集し保存されていた血漿サンプル 3 検体を用いた。

emPCR 前の処理

3 検体はそれぞれ pol 領域全体の PCR を施行されており、今回の実験では追加して各検体に対しプロテアーゼ (PR) 領域の PCR を施行し全部で 6 検体とした。前者の 3 検体(サンプル 01, 02, 03)は Deep Sequencer のリード長を超えているため、物理的切断法である shotgun 法によりランダムに約 500bp 以下に切断した。本来ショットガン法は未知のウイルスのコンティグを得る手法であるが、全体像を把握し、今後の実験の可能性を探るためシーケンスに

使用することとした。後者の 3 検体(サンプル 04, 05, 06)は対象 PR 領域の Deep Sequence を見るために使用することとした。それぞれの DNA 量を勘案し、プール比はサンプル 01,02,03 を 4 対 04,05,06 を 1 とした。



各 Sample の前処理について概略図

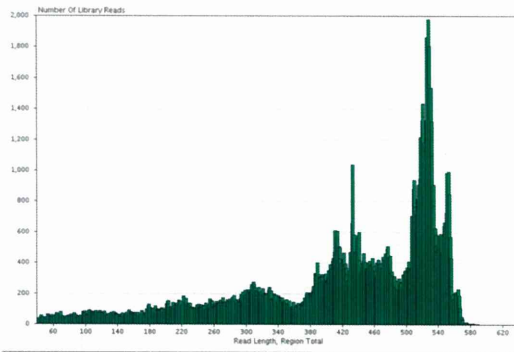
各観察点における PR 領域約 1 万本分のクローンシーケンスは、Roche 454 GS Junior の推奨プロトコールに従って実施した。

C. 研究結果

実験 1)

サンプル 01,02,03 を用いたショットガンシーケンス

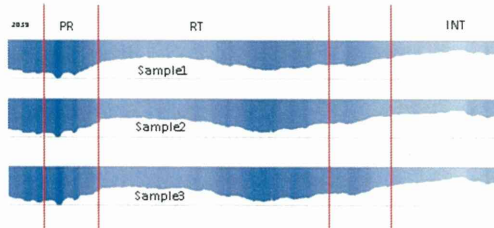
ショットガン法のアルゴリズムで解析した場合、総塩基数 57,281,751 塩基、正しいキー配列が読まれたリード数 191,118、うち解析に有効なものは 136,937 本であった。GS junior の場合、一般に 10 万本以上得られれば成功と判断される。よって今回の実験は成功したと言える。また、平均リード長は 418bp であった。下図に今回得られたリード長の頻度をヒストグラムとして示したところ、3 検体とも、似たようなパターンのヒストグラムが得られた(次頁図)。



ショットガン法アルゴリズムで解析した各リード長の頻度

次に、シーケンスされた領域毎にどの程度の depth(シーケンス可能であったクローン数)との関係を調べたところ、対象としたサンプルが本来 *pol* 遺伝子全域の PCR product であるので、均一な分布が得られるはずであるが、領域別に depth が異なる傾向が認められた。

(下図)



シーケンス領域の depth

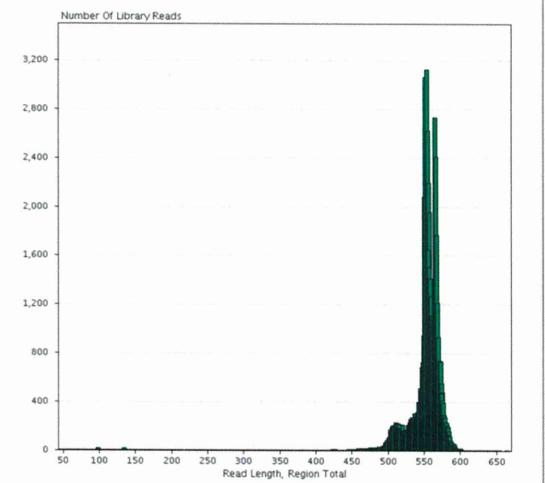
これは物理的切断による切れ方に配列による切れやすさに違いがあることや、短く切れたものがマッピングされなかったなどの理由が考えられる。このことは、ディープシーケンサーを用いて準種を解析する場合は、ショットガン法では depth にムラが出ることを示唆している。一方、今回ショットガン法を用いて、*pol* 遺伝子全長 (3009 塩基・1003 アミノ酸) を一度にシーケンスすることが可能であることが確認された。

(Appendix 1 参照)

実験 2)

サンプル 04, 05, 06 を用いたプロテアーゼ領域のディープシーケンス PCR 増幅産物(Amplicon) を認識するアルゴリズムを使用して、すべてをプールしシーケンスを行ったものの中からサンプル04,05,06を対象として解析を行った。総塩基数 32,684,761 塩基、正しいキー配列が読まれたリード数 191,118、うち解析に有効なものは 59,578 本であった。この割合は 31.17% と低かったが、これは同時にプールしたショットガン由来のものを除去するアルゴリズムを使用したからである。また、平均リード長は 549bp であった。

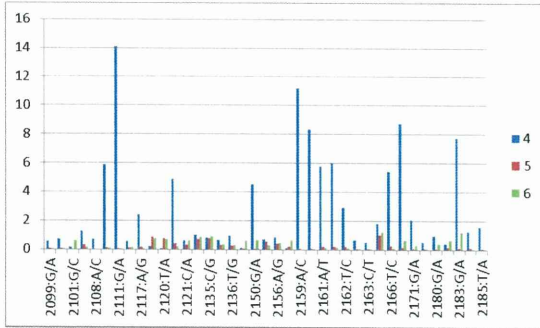
(下図)



Amplicon を認識するアルゴリズムで解析した各リード長の頻度

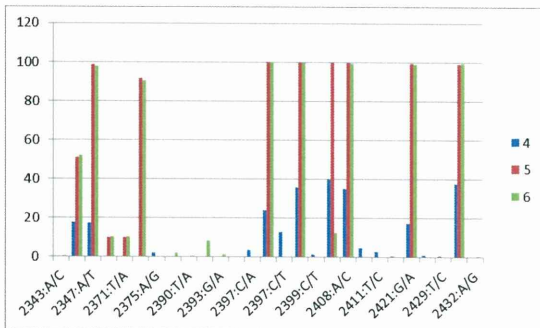
治療前(サンプル 04)にはほぼランダムに存在していた PR 領域内の Minor population として検出されていた変異は、治療開始と共に速やかになくなった。

(次頁図)



各変異を有するクローンの頻度(% X 軸);治療開始後(Sample 05, 06)速やかに消失した変異を図に示した。(詳細は Appendix 2 を参照)

一方、救済療法開始後 (サンプル 05、06) に薬剤耐性として急速に優位となった変異は、治療開始前 (サンプル 04) にすでに **minor population** として存在していたことが確認できた。(下図) これらの変異は、いずれも 50%以下の頻度で存在しており、通常のダイレクトシーケンス法では、検出が難しい変異であった。(結果の詳細は Appendix 2 参照)



各変異を有するクローンの頻度(% X 軸);治療開始後(Sample 05, 06)出現した変異を図に示した。(詳細は Appendix 2 を参照)

D. 考察

かつて 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、STI と従来の HAART 治療を比較する大規模臨床試験が実施された。この結果、STI の非劣勢が実証されたが、同時に実施された 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) 現在、肝移植では周術期に HAART を中断するのが一般的であり、STI 同様ウイルスのリバウンドが懸念される。

今回我々の実験は、次世代シーケンサーを用いて、これらのリバウンドによって出現したウイルスから、10%以下の低頻度で存在する薬剤耐性ウイルスを従来の手法に比べて、より高感度かつ簡便・迅速に検出することが可能であることを証明した。

実験 1) では、ショットガンシーケンス法により、全長 3kb の *pol* 遺伝子全域を一揆にシーケンスすることが可能であったが、同時に、特にインテグラーゼ領域の **depth** が他の領域に比べて、3 検体ともに浅いことが判明し、ショットガンシーケンス法では、各領域の **depth** を解析することに限界があることがわかった。

一方、実験 2) で行った PCR 増幅産物を用いたディープシーケンスでは、数%の低頻度で存在する **minor population** まで検出することが可能であった。本来一回の実験で 10 万本以上のクローンシーケンスが可能なところを、15 分割することにより、より多数の検体を処理する方法をとったことにより、一検体から調べ

ることのできるクローン数が1万本程度となった。このことが、一検体あたりに検出可能な minor population が数%程度にとどまった原因であるが、将来、一検体すべてを一回の実験でシーケンスした場合、感度を現在の10倍、すなわち1%以下の低頻度に存在する薬剤抵抗性変異を検出することが可能となることが予想される。

以上のことから、これらの次世代シーケンスを用いた薬剤耐性ウイルスの検出方法を、抗 HIV 薬治療中断期間中の HIV ウイルスにおける薬剤耐性ウイルスの測定には、非常に有用であることが示唆された。

E. 結論

次世代シーケンス技術を用いて、超高度に薬剤耐性 HIV を検出することが可能であることが判明し、肝移植前後の HIV ウイルス動態を把握するため有用であることが示唆された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

欧文

1) Mori M, Sriwanthana B, Wichukchinda N, Boonthimat C, Tsuchiya N, Miura T, Pathipvanich P, Ariyoshi K, Sawanpanyalert P. Unique CRF01_AE Gag CTL Epitopes Associated with Lower HIV-Viral Load and Delayed Disease Progression in a Cohort of HIV-Infected Thais. *PLoS One*. 2011;6(8):e22680.

Epub 2011 Aug 3

2) Rojanawiwat A, Tsuchiya N, Pathipvanich P, Pumpradit W, Schmidt WP, Honda S, Auwanit W, Sawanpanyalert P, Ariyoshi K. Impact of the National Access to Antiretroviral Program on the incidence of opportunistic infections in Thailand. *International Health*. 2011; 3(2): 101-107.

2. 学会発表 (国際学会もしくは国内学会口頭発表のみ)

1. N Tsuchiya, P Pathipvanich, A Rojanawiwat, K Ariyoshi, P Sawanpanyalert. Frequency and Determinants of Modifying the First Antiretroviral Drug Regimen in Northern Thailand. The 10th International Congress on AIDS in Asia and the Pacific 26-30 August, 2011. Busan, Republic of Korea (Oral presentation)

2. P Pathipvanich, N Tsuchiya, A Rojanawiwat, P Sawanpanyalert, K Ariyoshi. Fifteen years of experience in treating HIV-infected patients at a single HIV center of a government hospital in northern Thailand. The 10th International Congress on AIDS in Asia and the Pacific 26-30 August, 2011. Busan, Republic of Korea (Poster

presentation)

3. 土屋 菜歩、P Pathivanich、A Rojanawiwat, P Sanwayanwalert、有吉紅也。北タイ政府系病院 HIV 外来における、15 年間の死亡率の変化と患者数の推移。日本熱帯医学会・日本国際保健医療学会合同大会 2012 年 11 月東京（口頭発表）
4. 土屋 菜歩、P Pathivanich、N Wichukchinda, P Sanwayanwalert、有吉紅也。北タイ政府系病院 HIV 外来における多剤併用療法の薬剤変更率とその原因について。日本エイズ学会、2011 年 12 月、東京。（口頭発表）
5. 土屋 菜歩、K Ruchsawat, P Pathipvanich、田中靖人、P Sanwayanwalert、有吉紅也。北タイ政府系病院 HIV 外来通院 B 型肝炎重複感染者におけるラミブジン耐性ウイルスの出現状況について。日本エイズ学会、2011 年 12 月、東京。（口頭発表）
6. 有吉紅也 HIV 治療の進歩からエイズ流行制圧へ。第 296 回日本内科学会九州地方会 生涯教育講演会。2012 年 1 月 福岡。

H. 知的財産権の出願・登録状況

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

脳死肝移植の実態と HCV/HIV 混合感染者への肝移植適応基準

研究分担者 市田 隆文 順天堂大学医学部附属静岡病院消化器内科 教授

研究要旨：2010年7月の法改正後、2012年1月末日まで77例の脳死ドナー提供者が現れ（7.3日に1例）、分割6例を含む72例の脳死肝移植7.8日に1例）が施行されたことになる。その中でC型肝炎ウイルス陽性者は14例ですべて非代償性肝硬変であった。一方、脳死肝移植適応評価委員会に登録され、転帰が明白になっている非代償性肝硬変で死の転帰を迎えた症例101例を検討すると、Child C症例はChild A、B症例に比して優位にその予後が不良で、一年死亡率は55%であった。HIV/HCV共感染者はChild Aでも吐血などの非代償性の症状を呈することが知られているので、今後は共感染例者の予後を調査し、すべてChild C相当の肝障害度と判断し、肝移植の適応に際しても緊急度の改善が必要と考えられた。

共同研究者

玄田 拓哉（順天堂大学医学部附属静岡病院消化器内科 准教授）

A. 研究目的

日本肝移植適応評価委員会に脳死肝移植を目的に申請評価登録され、その後の予後が判定可能なC型非代償性肝硬変101名を検討し、その内科的治療による予後を検討した。脳死肝移植や生体肝移植を受けた症例は除外した。これら通常のC型肝炎ウイルス（HCV）陽性肝硬変の予後を検討し、さらに他研究者によるHIV/HCV共感染例の予後を比較検討することにより、果たしてHIV/HCV共感染例がHCV単独感染例とどのような予後の差があるかを考察することとした。すなわち2010年7月の改正臓器移植法実施後の脳死ドナー臓器提供数の増加は、肝移植希望者の増加に繋がり、さらに申請評価者が月平均30例・40例に増加する中で、その待機日数も増えることにより、共感染例の脳死肝移植実施数が減ることが懸念される。むしろ、年間平均5名前後である共感染例予後不良例を積極的に

脳死肝移植で救命する新しい脳死肝移植適応基準を作成することにより迅速に脳死肝移植を受けることが出来る手段を講じなければならない。そのための基礎的研究としてHCV陽性非代償性肝硬変患者の予後を検討することとした。

B. 研究方法

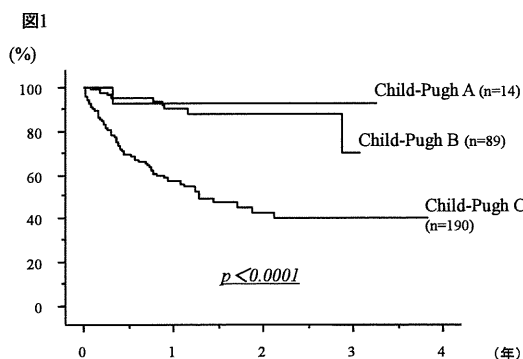
1997年10月から2011年8月末までに日本脳死肝移植適応評価委員会において評価を受け、臓器移植ネットワークに脳死肝移植レシピエント候補として登録された18歳以上のHCV陽性の非代償性肝硬変で予後調査が明確で、生体肝移植や脳死肝移植を受けた症例を除いた101例を検討対象とした。記録された適応評価時の臨床情報、検査成績と臓器移植ネットワークに登録された転帰を用いて、Kaplan-Meier法にて生存率を検討した。

これら症例は肝移植を受ける準備として内

科的治療を受け、肝移植の適応基準に逸脱した重症感染症や悪性腫瘍を併発していないことなど、純粹に内科的治療を施行し、肝不全死で死の転帰をとった症例との認識である。

C. 研究結果

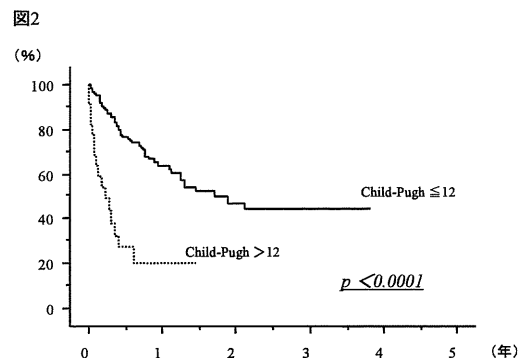
2011年12月末までに脳死肝移植待機リストに登録された18歳以上のレシピエント候補患者は1295例であり、そのうち肝硬変は900例であった。その中で転帰の明確なHCV陽性非代償性肝硬変101例の生存率を示すと、Child A 5例、Child B 36例の一年生存率はそれぞれ100%、82.5%、二年生存率は100%、82.5%、三年生存率100%、82.5%であった。一方、Child C 60例の一年生存率は55%、二年生存率は37%、3年生存率は28.5%と明らかにChild Cの予後が不良で短期間で死亡する確率が高いことが改めて判明した。(図1)



さらにHCVに限らずすべての非代償性肝硬変合計293例の検討ではChild Cの中でもChildスコア13点以上と以下ではさらに短期死亡率が異なり、13点未満では一年生存率が20%、以下の症例では60%である

ことが判明した。

脳死肝移植適応において、2011年10月20日より、従来の医学的緊急を改変し、非代償性肝硬変に限るとChild13点以上でMELDスコア25点以上の場合は医学的緊急度8点と、それ以下のスコアでChild Cの症例は医学的緊急度を6点とすることに決定した。さらにChild B症例は医学的緊急度3点として評価している。さらにChild Aは代償性肝硬変として今後は内科的治療による改善も考えられることより、現行の脳死肝移植の適応基準から除外することとした。



D. 考 察

HIV/HCV共感染例が通常のHCV陽性の非代償性肝硬変として脳死肝移植に申請登録することが妥当かどうかはHIV/HCV共感染例の予後を調査する必要がある。

欧米の報告では通常のHCV陽性肝硬変とHIV/HCV共感染肝硬変との予後が異なることが報告されている。この生存率との比較において優位な差異が認められて、はじめてHIV/HCV共感染者の肝移植評価基準の見直しが成されるべきとなり、その際に

は医学的緊急度の点数増加が必要になると考える。

E. 結 論

医学的根拠から理想的には HIV/HCV 共感染者は医学的緊急度の一律点数増加が望ましいが、これらは万人の納得する医学的根拠としての共感染者の予後が不良でかつ肝移植でないと救命できないことを示すしかないと考えられた。HIV/HCV 患者の予後を通常の HCV 陽性肝硬変と同等に取り扱わず、また内科的抗ウイルス療法が難治である事実と合わせて、迅速な肝移植による救命が望まれる。早急な肝移植への治療構築が成されることを期待する。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Sato S, Genda T, Hirano K, Tsuzura H, Kanemitsu Y, Narita Y, Kikuchi T, Iijima K, Ichida T: Differences in the factors associated with serum viral load between genotypes 1 and 2 in patients with chronic hepatitis C. *Hepatol Int.* 2011 Apr 2. [Epub ahead of print]
2. Miyagawa-Hayashino A, Egawa H, Yoshizawa A, Ueda Y, Ichida T, Ueno Y, Uemoto S,

Harada K, Nakanuma Y: Frequent overlap of active hepatitis in recurrent primary sclerosing cholangitis after living-donor liver transplantation relates to its rapidly progressive course. *Human Path* 2011; 2(9): 1329-36.

3. Egawa H, Ueda U, Ichida T, Teramukai S, Nakanuma Y, Ohnishi S, Tsubouchio H: Risk factors for recurrence of primary sclerosing cholangitis after living donor liver transplantation in Japanese registry. *Am J Transplant* 2011; 11(3): 518-527.
4. Fujita N, Yoshikawa T, Kaito, Ichida T: Identification of Treatment Efficacy Related Host Factors in Chronic Hepatitis C by ProteinChip Serum Analysis. *MoMed-2011*: 17(1-2): 70-78.

2. 学会発表 なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）
分担研究報告書

HIV/HCV 重複感染患者に対する肝移植の治療成績

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・消化器外科学 教授

研究要旨:

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適応やその有用性を明らかにする目的で、本邦における同患者群の予後を調査した。エイズ診療拠点病院4施設でフォローされている患者群(n=194)の ART 導入後の転帰を調査し、データ解析を行った。単独感染者の予後について、脳死肝移植登録患者の予後を調査した。重複感染者の予後は単独感染者に比べて有意に不良であり、特に血小板数が低下している症例では予後が不良であった。欧米からの報告では、重複感染者に対する肝移植成績は改善してきており、今後更なる改善が期待される。重複感染者に対する肝移植は、今後適応を明らかにし施行することで、有効な治療として確立される可能性がある。

共同研究者

高槻光寿（長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 移植・消化器外科 講師）

曾山明彦（長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 移植・消化器外科 助教）

A. 研究の目的

ART 導入以降の本邦の血液製剤による HIV/HCV 重複感染者の予後を調査し、治療法との一つとして、肝移植の有用性について検討する。

(倫理面への評価)

研究に当たっては倫理面に十分配慮し、長崎大学病院での倫理委員会の承認を得た。各拠点病院からのデータ収集に関しては、各施設における IRB の承諾を得た。

B. 研究方法

エイズ診療拠点病院である4施設(国際医療研究センター、大阪医療センター、九州医療センター、横浜市民病院)より、フォローアップ中の重複感染者のデータを集積した。脳死移植適応評価委員会の協力により、脳死登録中の患者のうち、Child-Pugh 分類 A、B の患者の生存率を調べ、重複感染者との比較検討を行った。

C. 研究結果

4 施設から集積された症例全例(n=194)の ART が導入された 1996 以降の 5 年生存率は 92%であった。95%以上が診断時、Child-Pugh 分類 A の症例であったが、長崎大学病院での検査プログラムの結果より、重複感染者では一般肝機能検査の結果が比較的良好でも門脈圧が亢進している症例が含

まれる事がわかっていたため、前述の全症例のなかにも門脈圧亢進症例も含まれる事が予想された。そこで、門脈圧亢進の程度を反映すると思われる血小板数を用いたグルーピングを行った。Child-Pugh 分類 A であった重複感染者の血小板数 100,000/ μ l 未満の群では、5年生存率 69% vs. 93% (P<0.01)と有意に予後が不良であり、その生存率は単独感染者の Child-Pugh 分類 B に相当した。欧米からの報告では、Child 分類 A 重複感染者の 5年生存率は 50%程度と報告されているものもあり、やはり単独感染と比較すると有意に予後不良といえる。

重複感染者に対する肝移植の成績は、重複感染者では、単独感染者に比して不良であるものの、その成績は改善してきており、3年生存率 60-70%と報告されている。

D. 考察

HIV/HCV 重複感染者における肝疾患では、HCV による肝障害のみならず、HIV による免疫不全、ART による薬剤性肝障害、血管炎、門脈圧亢進症がその病態に関与すると考えられている。また血友病などの疾患に対する過去の汚染血液製剤使用による感染者においては、先天性凝固異常が病態に影響を及ぼす可能性もある。重複感染者では HCV 単独感染者よりも、線維化の進行が早いことも報告されている。本研究の結果より、本邦における患者群において、重複感染者の予後が単独感染者より不良である事が明らかになった。血小板数は予後を

予測する因子と考えられ、特に血小板数が 100,000/ μ l 未満で Child-Pugh 分類 A の重複感染者の予後は、HCV 単独感染者の Child-Pugh 分類 B に相当した。この結果を考慮すると、重複感染者では血小板数を指標にして、単独感染者よりも早い時期から肝移植について検討する必要があるかもしれない。

重複感染者に対する肝移植の成績は、3年生存率が 60-70%と報告され、治療として有効となる可能性が高い。ただし単独感染者に比べるとその治療成績は有意に不良であり、今後の更なる改善が必要と考えられる。

E. 結論

過去の汚染血液製剤使用による HIV/HCV 重複感染者の予後は、HCV 単独感染者に比して不良である。重複感染者に対する肝移植の治療成績は改善してきており、適切な適応を設定し施行すれば、有用な治療となると考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

1. Eguchi S, Soyama A, Mergental H, van den Berg AP, Scheenstra R, Porte RJ, Slooff MJH: Honoring the contract with our patients: outcome after repeated re-transplantation of the liver. Clin Transplant. 25(2): E211-8, 2011.

2. Eguchi S, Soyama A, Hidaka M, Takatsuki M, Muraoka I, Tomonaga T, Kanematsu T: T Liver transplantation for patients with human immunodeficiency virus and hepatitis C virus coinfection with special reference to hemophiliac recipients in Japan. *Surg Today* 41(10): 1325-31, 2011.
3. Eguchi S, Takatsuki M, Nakashima M, Kanematsu T: Living-donor liver transplantation from second generation children for atomic bomb survivors. *Hepato Res.* 39(11) : 1150-2,2011.
4. Eguchi S, Takatsuki M, Soyama A, Hidaka M, Tomonaga T, Muraoka I, Kanematsu T: Elective living donor liver transplantation by hybrid hand-assisted laparoscopic surgery and short upper midline laparotomy. *Surgery.* 150:1002-5,2011.
5. Eguchi S, Takatsuki M, Hidaka M, Soyama A, Muraoka I, Tomonaga T, Shimokawa I, Kanematsu T: Lack of Grafted Liver Rejuvenation in Adult-to-Pediatric Liver Transplantation. *Dig Dis Sci* 56(8): 1542-7, 2011.
6. Eguchi S, Takatsuki M, Hidaka M, Soyama A, Ichikawa T, Kanematsu T: Perioperative synbiotic treatment to prevent infectious complications in patients after elective living donor liver transplantation: a prospective randomized study. *Am J Surg* 201(4): 498-502, 2011.
7. Eguchi S, Kanematsu T, Arii S, Omata M, Kudo M, Sakamoto M, Takayasu K, Makuuchi M, Matsuyama Y, Monden M ; for the Liver Cancer Study Group of Japan: Recurrence-free survival more than 10 years after liver resection for hepatocellular carcinoma. *Br J Surg* 98(4): 552-557,2011.
8. Eguchi S, Takatsuki M, Soyama A, Hidaka M, Muraoka I, Kanematsu T: Is Preservation of Middle Hepatic Vein Tributaries during Right Hemi-Hepatectomy Beneficial for Live Donor Liver Transplantation? *Hepatogastroenterology.* 2011 Oct 26 ; 59 (115-116).
9. Soyama A, Eguchi S, Yanaga K, Takatsuki M, Hidaka M, Kanematsu T: Living donor liver transplantation with extensive caval thrombectomy for acute-on-chronic Budd- Chiari syndrome. *Surg Today* 41 (7): 1026-1028, 2011.
10. Takatsuki M, Eguchi S, Yamanouchi K, Hidaka M, Soyama A, Kanematsu

T: Technical refinements of bile duct division in living donor liver surgery. J Hepatobiliary Pancreat Sci 18(2): 170-175, 2011.

学会発表

1. 江口 晋、曾山明彦、日高匡章、高槻光寿、朝長哲生、村岡いづみ、足立智彦、金高賢悟、黒木 保、兼松隆之: 腹腔鏡アプローチによる上腹部正中切開での生体肝移植レシピエント手術. 第66回日本消化器外科学会総会(名古屋)プログラム: 289, 2011.07.13-15.
2. 江口 晋、高槻光寿、兼松隆之: 腹腔鏡補助での新しい取り組み: 上腹部正中切開でのハイブリッド生体肝移植ドナー&レシピエント手術. 第53回日本消化器病学会大会(福岡)、日本消化器病学会雑誌 第108巻臨時増刊号: A693, 2011.10.20-23.
3. 江口 晋、高槻光寿、曾山明彦、日高匡章、木下綾華、原 貴信、村岡いづみ、足立智彦、黒木 保、兼松隆之: ハイブリッド手技を用いた生体ドナー、レシピエント肝移植手術. 第47回日本移植学会総会(仙台)、日本移植学会雑誌 移植 第46号 総会臨時号: 171, 2011,10.4-6.
4. 江口 晋、高槻光寿、日高匡章、曾山明彦、朝長哲生、村岡いづみ、足立智彦、黒木 保、金高賢悟、兼松隆之: 上腹部正中切開での肝移植レシピエント手術 —腹腔鏡補助と血管吻合の工夫—. 第111回日本外科学会定期学術集会. 日本外科学会雑誌 第112巻臨時増刊号(1.2): 484, 2011.05.23.
5. 曾山明彦、高槻光寿、日高匡章、村岡いづみ、山口 泉、田中貴之、木下綾華、原 貴信、大野慎一郎、望月響子、足立智彦、伊藤信一郎、林田直美、山之内孝彰、藤田文彦、金高賢悟、南恵樹、黒木 保、江口 晋: 血液製剤による HIV/HCV 重複感染者に対する肝移植適応に関する考察. 日本移植学会雑誌 移植 第46号 総会臨時号: 231, 2011.

H. 財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

HTLV-1 と HCV の co-infection は aberrant IL-28B 発現を誘導する

研究分担者 上平 憲

長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 病態解析・診断学 教授

研究要旨:

HTLV-1 と HCV の Co-Infection は、HCV に関連する病態に負に作用することが知られているが、その機序は不明のままである。そこで、IFN- λ 3 をコードする IL28B 遺伝子の一塩基多型による transcripts の発現量との関係を検討し、2 重感染が発現量を低くしていることがその原因の一端を担っていることが明らかになった。

A. 研究の目的

IL-28B rs8099917 SNP の genotype と Transcripts 定量が、HCV alone と double infection with HCV and HTLV-1 間で影響を受けるか否かを目的とする。

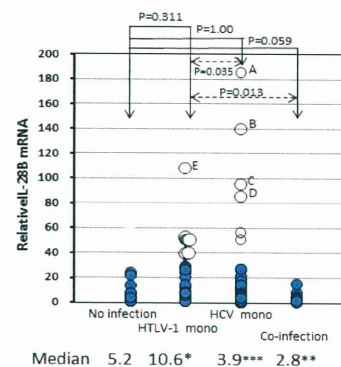
B. 研究方法

肝がんを含む慢性肝疾患および ATL 患者の末梢血の抗 HCV, 抗 HTLV-1 抗体、triple nine SNP genotype, IL-28B mRNA の real-time RT qPCR を定量して、clinical parameters と比較した。
(倫理面への評価)

SNP であるので、学内 ethics board の許可を得て、患者には説明と同意を得て行われた。

C. 研究結果

予想に反して、HTLV-1, HCV 単独感染が Double infection より高い発現量で



あった。
Triple nine SNP において単独より HTLV-1 + HCV 何故 down-regu

late するかは不明である。

D. 考察

現在まで、HTLV-1 endemic area においてなぜ HCV との co-infection がたかまるのか？そして HCV の病因性を高める機序は何か？全く不明であったが、自然免疫に関わる IL-28B が関与している可能性が示唆された。

E. 結論

HTLV-1 co-infected with HCV と HTLV-1 alone infection では IL-28B に

与える影響が異なり、その差が HCV 病態にも影響することが明らかにされた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1.上平 憲。HTLV-1 感染の特性と成人 T細胞-白血病-ウイルス母子感染対策- 宝函 32(2).13-23,201

2. Kamihira S., et al.

Heterogeneity in clonal nature in smoldering ATL. In press (IJH)

3.Kamihira S: Paradoxical Expression of IL28B mRNA in peripheral blood in HTLV-1 mono-infection and co-infection with HCV. Virology Journal. In press.

2. 学会発表

1).上平 憲。Blood-Borne Virus. 第 58 回,輸血・細胞治療学会。特別講演 2011/12/17

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）
分担研究報告書

HCV/HIV 重複感染症患者に対する生体部分肝移植

研究分担者 國土 典宏

東京大学大学院 医学系研究科 外科学専攻臓器病態外科学 肝胆膵外科 教授

研究要旨:

東京大学にて施行した HIV 感染症患者に対する生体部分肝移植の適応と成績について検討した。対象は HIV 陽性の肝硬変患者 6 例で、肝硬変の原因はいずれも C 型肝炎であった全て男性で、年齢は 28-41 歳であった。全例 Child-Pugh C に相当する肝硬変で、2 例は肝性脳症 II 度を呈しており、準緊急移植を行った。全て右肝グラフトによる移植を行い、術後 3-124 ヶ月の経過観察で 4 例を失った。早期死亡の 2 例の直接死因はサイトメガロウイルス腸炎、Anti-Retroviral Therapy (ART) 療法による肝障害であったが、いずれも拒絶反応に対する免疫抑制を追加しており、C 型肝炎再燃も否定できない状況であった。長期死亡の 2 例は C 型肝炎再燃によるグラフトロスと考えられた。生存例 2 例では、急性心不全、腎障害、肺炎などの合併症を認めたが、いずれも保存的加療にて軽快した。術前の肝不全の程度そのものより、周術期にいかによりウイルス、拒絶反応をコントロールするかが予後に影響する可能性が示唆された。

研究協力者 菅原 寧彦

東京大学大学院 医学系研究科 外科学専攻臓器病態外科学 肝胆膵外科 准教授

A. 研究の目的

HIV 感染患者は、HBV,HCV を始めとした他腫ウイルスを合併感染している事が多く、従って肝硬変に至り肝移植が必要となる症例も増えつつある。Anti-Retroviral Therapy (ART) 療法の発達により、HIV 陽性例の肝移植は決して禁忌とはならない東京大学における HIV 感染を伴う肝硬変に対する生体部分肝移植症例について、その適応と成績について検討した。

B. 研究方法

東京大学では 1996 年 1 月より 2010 年

12 月までに 466 例の生体部分肝移植を施行している。HIV 陽性患者に対しては、2001 年 2 月に国内で初症例となる HCV,HIV 合併感染の肝硬変症例の肝移植を行い、以来、2004 年 12 月までに 6 例を経験した。この 6 症例の内訳は、平均 33 歳 (28-41) のいずれも男性。血友病 A3 例、血友病 B3 例で、いずれも、非加熱製剤から HIV,HCV 感染している。HIV,HCV の病期期間は各々 5-21 年、8-19 年であった。HCV の genotype、RNA level は表 1 の通りで、non1b の症例が半数を占めた。肝細胞癌を合併している例は無かった。ART は全症例で施行