

- 繰り返す高アンモニア血症で不可逆的脳障害に至った症例もあるため、いたずらに内科治療で経過をみるべきではない^{12)*12}。

胆汁酸代謝異常 (FIC, オキシステロール 7 α -ヒドロキシラーゼ欠損症)

- 胆汁酸代謝異常により、肝線維化・肝硬変をきたす病態である。著明な黄疸を呈する症例が多い。FIC1 では腸病変を有し、難治性下痢は肝移植では改善しないため、移植適応も慎重にすべきである。
- 肝不全が進行する症例、著しい搔痒感を認める症例に対しては、積極的に肝移植を適応すべきである。オキシステロール 7 α -ヒドロキシラーゼ欠損症の肝臓では、微小結節を認め、肝硬変の所見であった (8)。

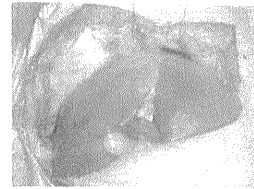
シトルリン欠損による新生児肝内胆汁うっ滞症 (NICCD)

- 原因不明の黄疸、肝機能異常、腹水で発見されることがある。シトルリン値は正常だがスレオニン・チロシン・メチオニン高値などマルチアミノ酸血症を認め、TBA・AFP 高値、黄疸、腹水、肝機能障害のためシトルリン血症が検索される。
- 国立成育医療センターで肝移植を行った症例では、搬送後に *SLC25A13* 遺伝子異常が判明し NICCD と診断された。入院後、高カロリー輸液・タンパク制限により、栄養管理を行った。腹水は減少したが脾腫は残存し、黄疸、凝固能障害 (T-bil 18.9 mg/dL, PT-INR 2.8) が進行し、不可逆性肝不全の診断で生体肝移植の適応と判断した¹³⁾。
- NICCD は内科治療でコントロール可能とされている。まれではあるが、不可逆的肝不全で肝移植適応となる症例があることを知るべきである。肝臓は胆汁うっ滞が強く、高度線維化を認めた (9)。
- 代表的な代謝疾患に対する肝移植適応につき概説した。内科的治療でコントロール不良であれば、肝移植適応を含めて移植医に相談いただきたい。

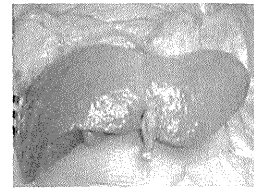
参考文献

- 1) 笠原群生ほか. 国立成育医療センターにおける肝移植の現状. 日本小児外科学会雑誌 2008 ; 44 : 679-88.
- 2) Dubois RS, et al. Orthotopic liver transplantation for Wilson's disease. Lancet 1971 ; 1 : 505-8.
- 3) 日本肝移植研究会ホームページ. 肝移植症例登録報告. <http://jlt.umin.ac.jp/>
- 4) Morioka D, et al. Living donor liver transplantation for pediatric patients with inheritable metabolic disorders. Am J Transplantation 2005 ; 5 : 2754-63.
- 5) Urata K, et al. Calculation of child and adult standard liver volume for liver transplantation. Hepatology 1995 ; 21 : 1317-21.
- 6) Kasahara M, et al. Living-related liver transplantation for Type II citrullinemia using a graft from heterozygote donor. Transplantation 2001 ; 71 : 157-9.
- 7) van't Hoff W, et al. Liver transplantation for methylmalonic acidemia. Eur J Pediatr 1999 ; 158 Suppl 2 : S70-4.
- 8) Kasahara M, et al. Current role of liver transplantation for methylmalonic acidemia : a review of the literature. Pediatr Transplant 2006 ; 10 : 943-7.
- 9) Sato S, et al. Liver transplantation in a patient with propionic acidemia requiring extra corporeal membrane oxygenation during severe metabolic decompensation. Pediatr Transplant 2009 ; 13 : 790-3.
- 10) Kasahara M, et al. Living donor liver transplantation for glycogen storage type 1b. Liver Transpl 2009 ; 15 : 1867-71.
- 11) Asonuma K, et al. Living related liver transplantation from heterozygote genetic carriers to children with Wilson's disease. Pediatr Transplant 1999 ; 3 : 201-5.
- 12) Kasahara M, et al. Treatment of ornithine transcarbamylase deficiency in girls by auxiliary liver transplantation : conceptual changes in a living-donor program. J Pediatr Surg 1998 ; 33 : 1753-6.
- 13) Shigeta T, et al. Liver transplantation for an infant with neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency using heterozygote living donor. Pediatr Transplant 2009 ; Apr 3 [Epub ahead of print].

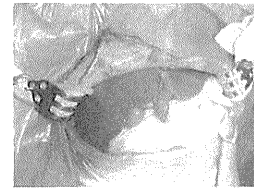
7 CPS I 欠損症の肝臓



8 オキシステロール 7 α -ヒドロキシラーゼ欠損症の肝臓



9 NICCD の肝臓



*12 不可逆的脳障害に至った場合、子どもは生涯にわたり障害をもつことを深く認識すべきである。

TBA : total bile acid

AFP : α -fetoprotein

PT-INR : prothrombin time-international normalized ratio

治療を急ごう

先天代謝異常症の遺伝学・遺伝相談

知っていなければ
いけない治療法

小須賀基通, 奥山虎之

- 先天代謝異常症の概念は、ある一つの遺伝子異常によりその遺伝子から翻訳されるタンパク質（酵素）が異常となり、さらにそのタンパク質（酵素）の関与する代謝経路の異常を引き起こすというものである。
- 近年、先天代謝異常症の病態が明らかになるにつれて、以前は診断がつかなかった先天代謝異常症が診断に至ることが可能となってきた。その結果、ある家系において第一子が原因不明の突然死とされていたのが、第二子の発症により原因が先天代謝異常症であるという診断に行きつくということも珍しくない。この場合、原因不明の突然死と受け止めていた子どもの死が、実は遺伝性疾患が原因であるということが判明したことになる。
- 遺伝性疾患と告げられて、両親に「次に生まれる子どもが同じ疾患になる可能性は?」「生まれる前に診断して治療の備えをすることは可能か?」「健康なきょうだいに将来病気が発生する可能性は?」「この子どもたちが親になったときに同じ病気の子どもの生まれるのか?」などの疑問や不安が生じるのはごく自然なことである。
- これらの疾患の遺伝に関する知識や情報を正確に的確なタイミングで提供することができなければ医療不信にもつながりかねない。
- 本項では、先天代謝異常症の遺伝カウンセリングを行うにあたって必要な知識を説明すると同時に、先天代謝異常症の病態に特有な注意点を中心に解説する。

先天代謝異常症の遺伝形式

- 一般に先天代謝異常症は一遺伝子一酵素の単一遺伝子疾患であり、いわゆる Mendel 遺伝形式をとる。ほとんどの先天代謝異常症の遺伝形式は常染色体劣性遺伝形式か X 連鎖劣性遺伝形式である。

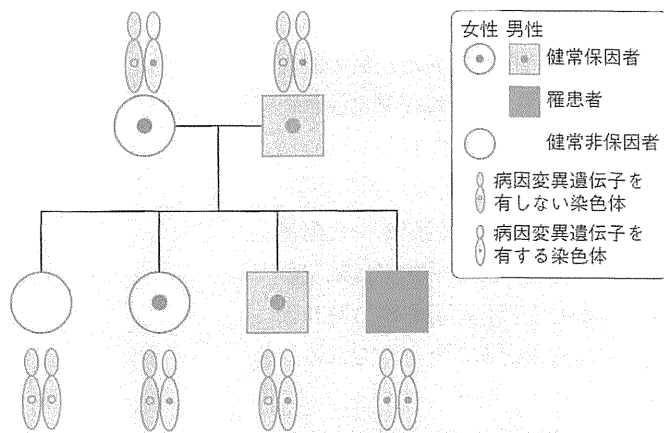
常染色体劣性遺伝形式

- 先天代謝異常症の多くは常染色体劣性遺伝形式である。常染色体劣性遺伝形式は、2本ある1対の染色体（相同染色体）上に存在する1対の対立遺伝子（アレル）の双方に変異を有する場合に発症する (1)。
- 第一子が罹患者であった場合、一般に両親は片方のアレルに変異を有しているが、一方のアレルには変異を有しない（ヘテロ接合体）保因者である。常染色体劣性遺伝形式の先天代謝異常症の保因者は、片方のアレルが正常であるため、正常な代謝経路を維持可能な残存酵素活性を有しており無症状である。
- 保因者の両親からそれぞれの変異アレルを受け継いで発症する確率は1/4である。両親と同じ保因者になる可能性は1/2である。双方の正常アレルを受け継いで非保因者となるのは1/4の確率である。

X連鎖劣性遺伝形式

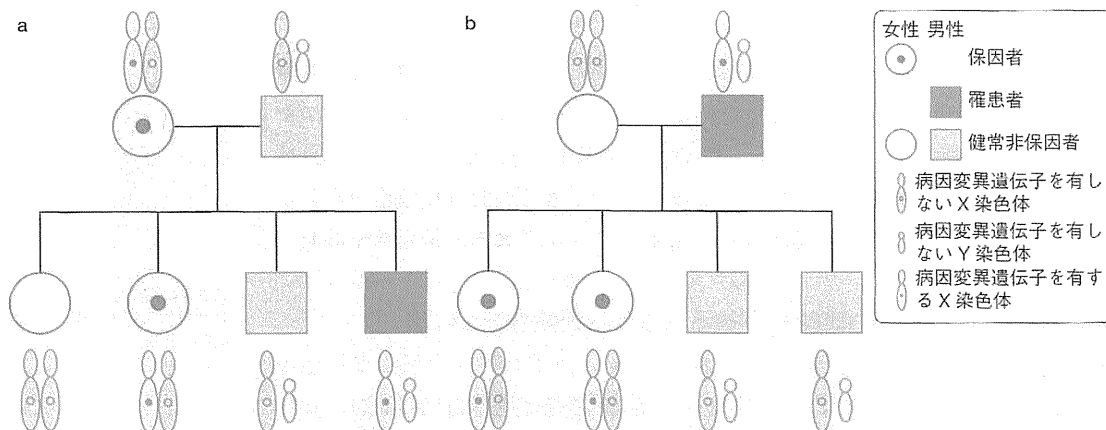
- X染色体上に存在する遺伝子に変異があり、変異遺伝子を有するX染色体を受け継いだ男性に発症する。変異遺伝子を有するX染色体を受け継いだ女性は、対のX染色体上に正常アレルを有するので保因者となり、一般的には発症はしない。保因者女性から生まれた子どもは、男性は1/2の確率で罹患者となり、1/2の確率で正常である。女性は1/2の確率で保因者となる(2a)。
- 罹患者男性と正常女性の子どもは、男性の場合は父親からはX染色体を受け継がないため正常、女性は父親由来のX染色体を受け継ぐので保因者となる(2b)。
- X連鎖劣性遺伝疾患の場合、母親が保因者である場合と新生突然変異である場合が考えられる。罹患者の遺伝子変異を有していれば母親は保因者であり、次子の再発危険率は上記で説明したとおりとなる。しかし遺伝子変異を母親が有していなければ、罹患者は新生突然変異と考えられ、次子再発危険率は低いと考えられる。

① 常染色体劣性遺伝



両親が保因者の場合、性別に関係なく25%が罹患者、50%が健常保因者、25%が健常非保因者となる。

② X連鎖劣性遺伝：母親が保因者の場合(a)と父親が罹患者の場合(b)



a：母親が保因者の場合、男児の50%が罹患者、50%が健常者、女児の50%が保因者、50%が非保因者となる。
 b：父親が罹患者の場合、男児はすべて健常者、女児はすべて保因者。

先天代謝異常症の遺伝学的診断

- 先天代謝異常症などの遺伝性疾患の診断を目的として行われる生化学的検査や遺伝子検査などは遺伝学的検査とよばれる。
- 近年、先天代謝異常症の病因解明と分子生物学の進歩により、数多くの先天代謝異常症の責任遺伝子

が同定され、遺伝子の変異を検出することにより診断を確定することが可能となった。

- 従来より先天代謝異常症の診断は、原因酵素活性値の低値または欠損、中間代謝産物あるいは最終代謝産物の蓄積や欠乏を証明することで可能である。また尿中や血清中のアミノ酸やアシルカルニチンをタンデム質量分析計で測定することにより、迅速に多くのアミノ酸代謝異常や脂肪酸代謝異常症が診断可能となり、新生児マススクリーニングに用いられている。
- しかし、これらの生化学的検査は疾患ごとに検査手技がそれぞれ異なり、検体の状態によっては結果が変動することがあり、診断に苦慮することもある。
- それに対して遺伝子検査は、DNA抽出、PCR、シーケンスなどの手技は共通であるため手技は比較的容易であり、手技者の熟練度や検体の状態に結果が左右されることは少ない。
- しかし、遺伝子検査は必ずしもすべての遺伝子領域を調べてはいないため、遺伝子そのものではなく遺伝子の発現に関する領域などに異常があった場合、検査上は異常なしという結果となる。
- また逆に遺伝子変異が見つかったとしても、この遺伝子変異が病気の原因となっているかどうかはわからないこともある。とくに新規に発見された遺伝子変異は、一般集団にも比較的高い頻度で見られる変異（多型という）である可能性も考えられる。
- したがって先天代謝異常症の診断においては、直接的に原因酵素や代謝産物を測定する生化学的検査は依然として有用であり、遺伝子検査は確定診断に必ずしも必要ではないと考えられる。しかし先天代謝異常症の特殊性を鑑みると、以下のような場合は遺伝子検査が有用であると考えられる。

X連鎖劣性遺伝疾患の保因者診断

- 家系内に遺伝性疾患の罹患者がおり、結婚や家族計画などの将来的な人生設計のために確実な情報を得ることを目的として保因者診断が考慮される。とくに第一子がX連鎖劣性遺伝疾患の罹患者である母親が次子を希望する場合、次子の再発危険率を推定するうえで母親の保因者診断が考慮される。
- X連鎖劣性遺伝疾患の女性保因者診断^{*1}に関しては、遺伝子検査により変異の有無を確認することが有用である。遺伝子検査により発端者に見つかった遺伝子変異を母親が有していれば、母親は保因者であり、次子の再発危険率は上記で説明したとおりとなる。しかし遺伝子変異を母親が有していなければ、発端者の変異は新生突然変異であり、次子再発危険率は低いと考えられる。

女性保因者でも発症の可能性があるX連鎖劣性遺伝疾患の診断

- 一般に常染色体劣性遺伝疾患の保因者やX連鎖劣性遺伝疾患の女性保因者は症状を呈することはない。しかし一部のX連鎖劣性遺伝疾患は、女性保因者でも男性罹患者と同様に早期発症して症状を呈したり、遅発性に発症する場合がある。

PCR: polymerase chain reaction (ポリメラーゼ連鎖反応)

^{*1} X連鎖劣性遺伝疾患の保因者診断を生化学診断で行うことは一般に困難である。もともと酵素活性値の正常範囲は幅広いうえに、X連鎖劣性遺伝疾患の女性保因者では2本あるX染色体の1本がランダムに不活化を受けており(ライオンゼーション)、保因者個人ごとにまたは臓器ごとに残存酵素活性値が異なるため、酵素活性値測定による保因者診断は困難である。

*2 酵素補充療法

遺伝子工学的に合成されたライソゾーム酵素を点滴静注により投与することで、欠損している酵素を補充する治療法。現在、わが国では、Pompe病、Fabry病、Gaucher病、ムコ多糖症I・II・VI型の計6疾患に対する酵素補充療法製剤が承認されている。

*3

羊水の生化学的分析および絨毛細胞・羊水細胞の酵素活性測定などの生化学的診断が可能な先天代謝異常症はごく一部であり、可能な場合でも生化学的診断の結果による正常・保因者・罹患者の鑑別は困難なことが多い。また羊水および羊水細胞を用いる場合、採取時期(妊娠15~16週)や培養期間が必要な点から、診断のための時間的猶予が限られる。

OTCD: ornithine transcarbamylase deficiency

CPS: carbonyl phosphate synthase

NAGS: N-acetylglutamate synthase

- たとえばライソゾーム病の一つであるFabry病は、糖脂質がライソゾーム内に蓄積し、進行性に皮膚症状、腎症状、心症状を呈するX連鎖劣性遺伝疾患である。罹患男性患者は学童期から皮膚症状で発症し、中年期に腎不全、心不全を呈する。保因者女性は、無症状から遅発性に発症、あるいは罹患男性患者と同様に早期に症状を呈する場合までさまざまな病態をとることが知られている。Fabry病は、早期に酵素補充療法*2を開始することで症状の進行を食い止めることが可能である。
- このような疾患では、女性保因者診断を行うことで予防や治療を早期に開始できるため、女性保因者診断が有用である。保因者診断の節で述べたようにX連鎖劣性遺伝疾患の女性保因者診断は酵素活性による診断は困難であるため、遺伝子検査による確定診断が有用である。

出生前診断

- 先天代謝異常症の女性保因者が妊娠した場合、児の予後を知るため、あるいは出生直後から治療を開始するために出生前診断が考慮される。
- 疾患の予後や家族の環境および両親の疾患の受け止め方などを考慮して、個々のケースごとに適応を検討する。
- 妊娠早期に採取可能な絨毛検体を用いること、正常・保因者・罹患者の結果が明瞭であることから、遺伝子検査は出生前診断に有用である*3。ただし母体組織の混入による結果の取り違いには細心の注意が必要である。
- 遺伝子検査により出生前診断を行う場合、発症者の病名が明らかになっているだけでなく、遺伝子変異部位が同定されているか、診断に利用できる遺伝子多型が明らかになっていることが必要である。

肝生検などの侵襲的検査を回避するため

- 先に述べたオルニチントランスカルバミラーゼ欠損症(OTCD)やカルバミルリン酸シンターゼ(CPS)I欠損症やN-アセチルグルタミン酸シンターゼ(NAGS)欠損症などの尿素サイクル異常症は、酵素が発現している臓器は主に肝臓に限られているため、確定診断目的に酵素活性を測定する場合は肝生検が必要となる。
- 末梢リンパ球や線維芽細胞を検体として利用可能な遺伝子検査は、侵襲的検査の大きい肝生検が不要となるため、これらの疾患の診断は遺伝子検査が望ましい。

先天代謝異常症の遺伝カウンセリング

- 先天代謝異常症の遺伝病的検査および遺伝カウンセリングを行うにあたっては、遺伝医学関連学会『遺伝学的検査に関するガイドライン』¹⁾および厚生労働省『医療・介護関係事業者における個人情報適切な取り扱いのためのガイドライン』²⁾に遵守して行うことが望ましい。
- 2008年度から13遺伝性疾患の遺伝病的検査および遺伝カウンセリングが保険収載された。このなかに含まれている5つのライソゾーム病については、日本先天代謝異常学会が『保険収載されたライソゾーム病5疾患の遺伝病的検査および遺伝カウンセリングの実施に関するガイドライン』

を発表している³⁾。本ガイドラインは、これらのライソゾーム病の特殊性を考慮して、先にあげられた2つのガイドラインの不適切な点・不十分な点を修正・保完している。とくに以下の点について留意するよう提言している。

- 当該する先天代謝異常症の診断や治療の経験豊富な臨床遺伝専門医がカウンセリングを行うことが望ましいこと。
- 当該疾患は治療法が確立しており、患者が小児であっても積極的に早期診断を行うメリットについて伝えるべきであること。
- 未成年者の保因者診断の実施については自由意思を尊重すること、ただし Fabry 病女性保因者は将来発症のおそれがあり、早期からの治療が有効であることから、未成年者であっても発症早期の遺伝学的検査は考慮されるべきであること。

おわりに

- 先天代謝異常症に対する治療や診断の進歩は日覚ましく、たとえばライソゾーム病に対する酵素補充療法や微量の尿や血液を用いたタンデムマスによるアミノ酸代謝異常、脂肪酸代謝異常、有機酸代謝異常症の新生児期のスクリーニングが可能となった。このことは、今後、先天代謝異常症を見逃したり、診断が遅れることは患者本人や患者家族にとって著しい不利益となることを意味する。
- 2008（平成20）年度よりライソゾーム病5疾患の遺伝病的検査（酵素活性測定と遺伝子検査）と遺伝カウンセリングが保険収載された。今後も適応疾患が増えていくことが予想され、先天代謝異常症の診断や治療に携わる医療従事者は先天代謝異常症についての十分な知識を有するだけでなく、適切な遺伝カウンセリングを行う知識と資質とスキルが求められる。

参考文献

- 1) 遺伝医学関連学会. 遺伝学的検査に関するガイドライン. 2003.
<http://jshg.jp/resources/data/10academics.pdf>
- 2) 厚生労働省. 医療・介護関係事業者における個人情報の適切な取り扱いのためのガイドライン.
- 3) 日本先天代謝異常学会. 保険収載されたライソゾーム病5疾患の遺伝病的検査および遺伝カウンセリングの実施に関するガイドライン. 日児誌 2009; 113: 789-90.
- 4) <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/GeneTests/>

6. 先天代謝異常症に対する肝移植

独立行政法人国立成育医療研究センター 移植外科

かさほらむれ お
笠原群生

内分泌代謝科

ほりかわれい こ
堀川玲子



KEY WORDS 代謝性肝疾患

肝移植

生体肝移植



Mureo Kasahara

はじめに

わが国の生体肝移植は、脳死肝移植がすすまない状況のもと、1989年11月島根大学の永末らが、胆道閉鎖症による末期肝硬変の男児に施行したのが最初であり、2008年2月現在まで4,000例以上に施行されている。日本肝移植研究会2006年度肝移植症例登録によると、年間小児肝移植症例数は100~120例であり、18歳未満の小児肝移植症例の患者生存率は1年86.2%、10年79.1%と安定している。小児生体肝移植は末期肝疾患患者に対する根治的治療として、すでに確立された医療であると言える²⁾。

先天代謝異常症に対する肝移植の歴史は古く、Duboisらにより1971年にWilson病に対して肝移植が行われたのが最初である³⁾。

本邦では京都大学で1991年6月に Porphyria に対して肝移植が実施されたのが初例である。代謝性肝疾患に対する肝移植医療は、その適応拡大も相俟って、近年その症例数が急速に増加している。今回、先天代謝異常症に対する肝移植治療を、自験例を中心に概説する。

I. 代謝性肝疾患の肝移植適応

代謝性肝疾患の肝移植適応は多岐にわたる。表1に肝移植適応される代表的な小児代謝性疾患を提示した。肝移植適応される代謝性疾患は、①酵素欠損・異常により肝硬変に至る疾患、②肝実質細胞に著明な病変はないが、酵素欠損・異常により肝外に重篤な症状

表1 肝移植適応される代表的な小児代謝性疾患

① 酵素欠損・異常により肝硬変に至る疾患
α1 antitrypsin 欠損症
Wilson 病
Hemochromatosis
Tyrosinemia
Cystic Fibrosis
Familial intrahepatic cholestasis (FIC, Disorders of bile acid metabolism)
Neonatal intrahepatic cholestasis caused by citric deficiency (NICCD)
Neonatal iron storage disease
② 肝実質細胞に著明な病変はないが、酵素欠損・異常により肝外に重篤な症状をきたす疾患
Hyperlipoproteinemia
Criglar-Najjar syndrome
Hemophilia
ProteinC 欠損症
Glycogen storage
Galactosemia
Fructosemia
Porphyria
Citrullinemia (type II)
Urea cycle defects (OTCD, CPS1D, Arginosuccinate synthetase deficiency), Criglar-Najjar syndrome
Hyperoxaluria type I
Organic acidemia (Methylmalonic acidemia, Propionic acidemia)
Defects of mitochondrial function
Mucopolysaccharidoses

を来す疾患に大別可能である。後者では高アンモニア血症、高ビリルビン血症、低血糖、アシドーシスなどによる Metabolic stroke、骨髄抑制、精神発達遅延で著しい Quality of Life (QOL) の低下が見られる場合がある。図1に2008年度までの本邦における小児代謝性疾患に対する肝移植症例を示した²⁾。全体で176例に生体肝移植が行われており、Wilson 病32.9%、Ornithin Transcarbamylase deficiency (OTCD) 15.3%、Carbamyl phosphate synthetase 1 deficiency (CPS1D) 2.8%、Methylmalonic acidemia (MMA) 10.8%、Propionic acidemia (PA) 3.4%、Tyrosinemia 7.4%、Glycogen Storage disease 7.4%、Oxalosis 4.5%などが適応であった。その他は、Criglar-

Najjar syndrome, Familial intrahepatic cholestasis (FIC), Hyperlipoproteinemia, Protoporphiria, Arginosuccinate synthetase deficiency, Dubin-Johnson syndromeなどで肝移植が適応されている。

II. 代謝性肝疾患の肝移植時期

代謝性肝疾患では内科的治療が奏功することが多いため、移植適応時期判断に苦慮することが多い。①酵素欠損・異常により肝硬変に至る疾患では、末期肝硬変により蛋白合成障害・黄疸・凝固能障害や、消化管出血・腹水などの門脈圧亢進症状、その結果体重増加不良などの成長障害が出現した場合、肝移植適応と判断している。Neonatal iron storage disease では、出生後より肝不全症状を

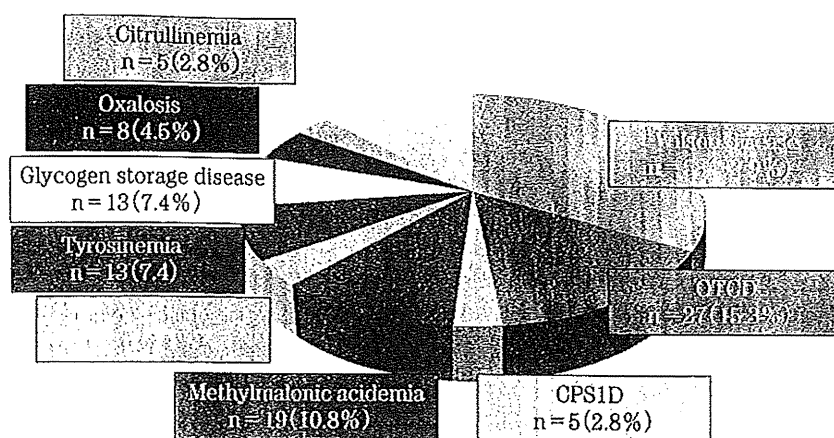


図1 本邦における小児代謝性肝疾患に対する生体肝移植 (1990~2008, n=176)

呈することがあるため、新生児期に肝移植を考慮しなければならない場合もある。②肝実質細胞に著明な病変はないが、酵素欠損・異常により肝外に重篤な症状を来す疾患では、患者の自然予後を考慮し、肝移植により長期的な QOL の低下・生命予後の改善が見込まれるならば早期の移植が好ましいと考えている⁴⁾。

1. 代謝性肝疾患で肝移植を適応する場合の注意点

脳死肝移植がすすまない本邦では、末期肝疾患児に対する肝移植適応を考慮する場合、ドナー候補は3親等以内の親族が選択される。詳細なドナー評価は移植施設で行うべきであるが、紹介施設では年齢・身長・体重・血液型・既往歴を聴取する。小児肝移植ではレシピエント体重に対して4%以下の移植肝重量が好ましいと報告されている(レシピエント体重5kgであれば移植肝重量は200g以下)。最終的にCT画像でVolumetryを行い移植肝臓の重量を計測するが、総肝重量はドナー体表面積からおおよそ計測可能であるため、移植肝臓重量がレシピエントに対してどの程度の大きさか予測する⁵⁾。肥満・基礎疾患・感染症を認める場合は、ドナー禁忌である。またレシピエントが遺伝性疾患の場合、同胞内に同様の家族歴がないか十分に注意が

必要である。遺伝性疾患の保因者であっても、疾患によっては生体肝移植ドナーになりえるが慎重な判断が必要である⁶⁾。またレシピエントが2歳以上の場合、血液型不適合に伴う液性拒絶反応により患者死亡率が増すため、可能であれば血液型は一致ないし適合しているほうが好ましい⁷⁾。生体肝移植はドナーの安全性が最重要であり、合併症が許されないドナー手術の中で、レシピエントに最大限の治療効果が求められる。

繰り返す代謝発作で発達遅延を認める症例での肝移植は議論を要する。新生児発症のOTCD/CPS1Dでは、繰り返す高アンモニア血症により発達障害を有する症例が多い。逆説的ではあるが、肝移植後は食事制限をしなくても高アンモニア発作を認めなくなり、その後の発達は比較的良好なため、施設によっては積極的に肝移植を適応している⁸⁾。

2. 代表的な代謝性肝疾患に対する肝移植

国立成育医療研究センターでは2005年11月から生体肝移植プログラムを開始し、2010年5月末までに123例の生体肝移植を適応した(図2)。患者生存率は91.8%である。このうち代謝性肝疾患は23%で生存率は98%であった。代表的肝移植適応疾患について概説する。

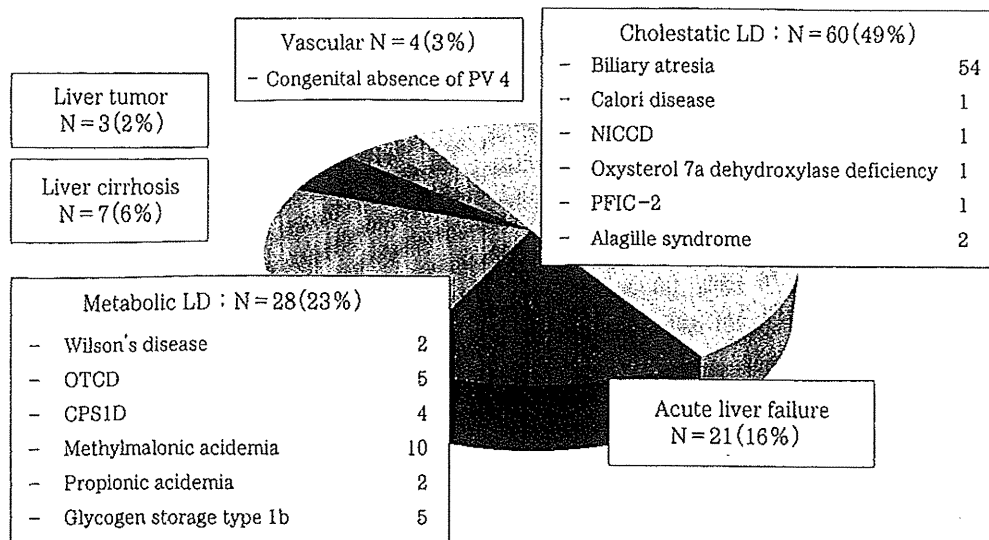


図2 国立成育医療研究センター肝移植症例 (N=123)

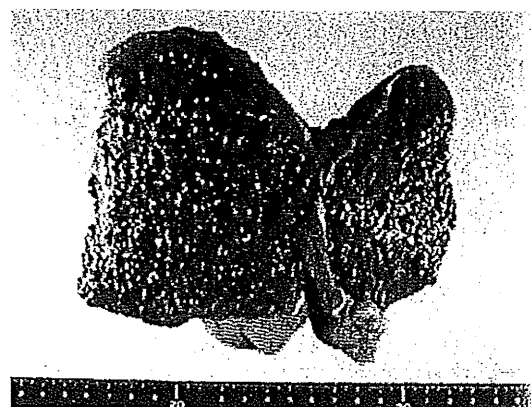


図3 Wilson 病で肝移植に至った症例

1) Wilson 病

肝細胞から胆汁へ銅排泄障害，銅結合蛋白であるセルロプラスミン合成障害により，銅沈着を起こす遺伝性銅代謝異常症である。キレート剤などによる内科的治療に抵抗性の症例，完成された肝硬変症例，溶血発作で発症するいわゆる Wilsonian fulminant hepatic failure，進行性の神経型病変が肝臓移植の適応となり得る。肝臓は暗緑色で門脈圧亢進により脾腫を伴う。Wilson 病の肝臓は，程度差はあれ線維化を認める。内科治療が奏功することが多く，近年肝移植に至る症例が減

っている。図3に Wilson 病で肝移植に至った11歳男児の術前 CT 画像，摘出肝臓肉眼所見を提示する。術前に肝不全に伴う肝萎縮・表面小結節・大量腹水を認め，摘出肝臓は小結節が多発した肝硬変であった。Wilson 病ではこのような脾腫・肝硬変を認めても，比較的日常生活に問題がないこともあり，移植時期判断に苦慮することが多い。

2) 尿素サイクル異常症 (Ornithin Transcarbamylase deficiency, Carbamyl phosphate synthetase I deficiency)

尿素サイクル異常により，繰り返す高アン

表2 尿素サイクル異常症に対する肝移植 (国立成育医療研究センター)

No.	Diag.	Sex	Age at LT	BW at LT	Age at Onset	Peak NH ₃	Hemodia-filtration	Neurological impairments	Outcome
1	CPS1D	F	4 m	6.1	3 d	1,412	Yes	Yes	Alive
2	CPS1D	F	6 m	6.9	2 d	1,445	Yes	Yes	Alive
3*	CPS1D	F	8 m	8.0	1 d	300	No	No	Alive
4	CPS1D	F	10m	8.2	3 d	605	No	No	Alive
5**	OTCD	M	3 m	5.6	5 d	1,873	Yes	Yes	Alive
6	OTCD	M	5 m	7.2	1 d	3,770	Yes	Yes	Alive
7	OTCD	M	5 m	7.8	4 d	472	Yes	Yes	Alive
8	OTCD	M	7 m	9.0	3 d	3,210	Yes	Yes	Alive
9	OTCD	F	2 y 9 m	13	2 y	300	No	No	Alive

モニア血症を原因とする精神発達遅延を認める。蛋白制限により著明な脂肪肝を呈することがある疾患である。手術後は蛋白制限、原疾患に対する投薬（安息香産ナトリウム、phenylacetate, carnitine, arginine など）は必要なくなる。新生児発症の OTCD 男児/CPS 1 D では、内科的コントロールで高アンモニア血症がコントロール不良な症例を認める。繰り返す高アンモニア血症で不可逆的脳障害に至った症例もあるため、いたずらに内科治療で経過を見るべきではないと考えている。不可逆的脳障害に至った場合、子どもは生涯にわたり障害をもつことを、深く認識すべきである。内科治療で管理良好な症例では、学童期以降の食事制限が患者の QOL 低下を招く場合、肝移植が適応されうる。

当院では新生児発症の尿素サイクル異常症に対し、比較的早期に肝移植を適応している（表2）。新生児でも高アンモニア血症を認めた場合、NH₃ > 500 μg/dL または薬物治療にもかかわらず NH₃ > 300 μg/dL が持続する場合、積極的に血液ろ過透析を適応し、高アンモニア血症の治療を行っている。現在まで9例に肝移植を施行しているが、新生児発症の尿素サイクル異常症では、3カ月～10カ月で頻回の高アンモニア血症のため肝移植

を適応した。初回アンモニア検査値は472～3,210 μg/dL であり、内科的薬物治療に加えて6例で積極的にろ過透析治療を導入したにもかかわらず、発達遅延を6例に認めた。今後、肝細胞移植治療を含めた、新たな Break Through が期待される。

3) Glycogen storage 1b (GSD1b)

GSD 1 b は Glucose-6-phosphatase translocase 欠損により低血糖を起こす、常染色体劣性遺伝疾患である。24時間持続経管栄養方法などの内科治療法の確立で、血糖コントロールは良好となっているが、併存する好中球減少による感染症を繰り返すことが多い。移植適応は頻回の低血糖発作および著しい QOL の低下である。肝移植により血糖は安定し、持続栄養は必要なくなる。肝臓は腫大しており、時に骨盤腔にまで達する。血液凝固能異常も併存するため、十分な止血を確認しながら手術を進めなければならない。当院では GSD 1 b に対して5例肝移植を実施している（表3）。移植時年齢は1歳1カ月～8歳4カ月で、年長児では頻回の低血糖発作によると思われる、発達遅延を認めた。血糖値は移植肝臓再還流直後より安定し、必要糖負荷量約15%程度で血糖を維持できる。また機序は完全に明らかになっていないが、好中

表3 糖原病1b に対する肝移植 (国立成育医療研究センター)

No.	Sex	Age at LT	Mutation	Pre TX Neurological impairments	Improved Neutropenia	Outcome
1	M	1 y 1 m	G339D/IVS1+1G>A	No	Yes	Alive
2	F	1 y 2 m	W118R/IVS7+1G>T	No	Yes	Alive
3	F	3 y 6 m	W118R	Yes	Yes	Alive
4	F	3 y 10 m	W118R/IVS1+1G>A	Yes	Yes	Alive
5	F	8 y 4 m	W118R	Yes	Yes	Alive

球減少も改善する症例も認められる⁹⁾。

4) 有機酸代謝異常症 (Methylmalonic acidemia : MMA, Propionic acidemia : PA)

MMA は常染色体劣勢遺伝形式をとる有機酸代謝異常症で、その発症頻度は1/20,000人と報告されている¹⁰⁾。代謝障害の原因は、methylmalonyl-CoA mutase の完全欠損 (mut0)・部分欠損 (mut-)、または補酵素である Adenosylcobalamin 生成障害 (cb1 A, cb1 B) である¹¹⁾。メチルマロン酸が蓄積することにより、頻回の嘔吐、脱水、骨髄抑制、著明な代謝性アシドーシス発作を来し、時に致死発作になりうる。髄液中のメチルマロン酸が高いことが報告されており、繰り返す発作により精神発達遅延を残すと報告されている。また腎尿細管へのメチルマロン酸蓄積、尿細管上皮細胞のメチルマロン酸代謝異常、高尿酸血症により、長期経過症例で進行性の腎機能不全を認めることがある。頻回の嘔吐・代謝性アシドーシス発作により、自然予後は5年生存20%程度と報告されている¹²⁾。肝移植が根治治療ではないため、原疾患に対する内科治療・蛋白制限は肝移植後も継続するが、アシドーシス発作がなくなり、患者の QOL は明らかに向上する。併存

する精神発達障害、腎機能障害については、長期経過を見ないとならない。いまだ確立された移植適応疾患ではないため、慎重な移植適応を要する。

PA も肝移植適応になり、重篤な代謝性アシドーシス発作はなくなり、経口摂取可能となる。また報告されている心筋症は、重度アシドーシス発作により惹起されるものであり、肝移植後は認められなくなる。

☺ おわりに

先天代謝異常に対する肝移植治療を、自験例を含めて概説した。代謝性疾患に対する肝移植適応・時期は非常に判断が難しく、日々苦悩しながら診療しているのが現実である。安心・安全に移植適応を小児科の先生方が判断する資料を提供するには、我々はまだまだ経験不足であると言わざるを得ない。自験例を積極的に提示することで、先生方にご意見いただければこの上ない幸せである。

まだ夢の医療とはいえませんが、肝移植で救命できる可能性のある命がある限り、今後も肝疾患患者に対して、肝移植を含めた集学的治療を提供し続けたいと考えている。

文 献

- 1) Nagasue N, Kohno H, Matsuno S et al : Segmental (partial) liver transplantation from a living donor. *Transplant Proc* 24 : 1958~1959, 1992
- 2) 日本肝移植研究会 Home page. 肝移植症例登録報告. <http://jlts.umin.ac.jp/>
- 3) Dubois RS, Giles G, Rodgerson DO et al : Orthotopic liver transplantation for Wilson's disease. *Lancet* 13 : 505~508, 1971
- 4) Morioka D, Kasahara M, Takada Y et al : Living donor liver transplantation for pediatric patients with inheritable metabolic disorders. *Am J Transplantation* 5 : 2754~2763, 2005
- 5) Urata K, Kawasaki S, Matsunami H et al : Calculation of child and adult standard liver volume for liver transplantation. *Hepatology* 21 : 1317~1321, 1995
- 6) Kasahara M, Ohwada S, Takeichi T et al : Living-related liver transplantation for Type II citrullinemia using a graft from heterozygote donor. *Transplantation* 71 : 157~159, 2001
- 7) Egawa H, Teramukai H, Haga H et al : Present status of ABO-incompatible living donor liver transplantation in Japan. *Hepatology* 47 : 143~152, 2008
- 8) Stevenson T, Millan MT, Wayman K, Berquist WE et al : Long-term outcome following pediatric liver transplantation for metabolic disorders. *Pediatr Transplantation* 14 : 268~275, 2010
- 9) Kasahara M, Horikawa R, Sakamoto S, Shigeta T, Tanaka H, Fukuda A, Abe K, Yoshii K, Naiki Y, Kosaki R, Nakagawa A : Living donor liver transplantation for glycogen storage disease type Ib. *Liver Transpl* 15(12) : 1867~1871, 2009
- 10) Illinois Department of Public Health. Newborn screening program-Organic acid disorders. <http://www.idph.state.il.us/Health-Wellness/fs/organic.htm>
- 11) Nagarajan S, Enns GM, Millan MT et al : Management of methylmalonic acidemia by combined liver-kidney transplantation. *J Inher Metab Dis* 28 : 517~524, 2005
- 12) Van't Hoff W, Mckiernan PJ, Surtees RA, Leonard JV : Liver transplantation for methyl-malouic acidemia. *Eur J Pediatr* 158 : S70~74, 1999

学会案内

第20回 日本小児リウマチ学会総会・学術集会 テーマ 「小児リウマチ医療 ～子ども達の輝く未来を信じて～」

会 長：金城 紀子

事務局：琉球大学医学部病態解析医科学講座育成分野（小児科）

事務局長：比嘉 睦

会 期：2010年10月29日（金）～31日（日）

会 場：沖縄県男女共同参画センター「ていりる」

学術プログラム（予定）：1）特別講演・教育講演

2）シンポジウム

3）一般演題（口頭発表，ポスター発表）

4）ランチョンセミナー

5）ミート・ザ・エキスパート

その他：懇親会，企業展示，ドリンクサービス

運営事務局：株式会社オフィスイクワン 担当：山田 紀子

〒461-0004 名古屋市東区葵2-5-6

TEL : 052-930-6145 / FAX : 052-930-6146 / E-mail : praj20@cs-oto.com

URL : <http://www.cs-oto.com/praj20/>

Progressive familial intrahepatic cholestasis: a single-center experience of living-donor liver transplantation during two decades in Japan

Hori T, Egawa H, Takada Y, Ueda M, Oike F, Ogura Y, Sakamoto S, Kasahara M, Ogawa K, Miyagawa-Hayashino A, Yonekawa Y, Yorifuji T, Watanabe K-Ichiro, Doi H, Nguyen JH, Chen F, Baine A-MT, Gardner LB, Uemoto S. Progressive familial intrahepatic cholestasis: a single-center experience of living-donor liver transplantation during two decades in Japan.

Clin Transplant 2011; 25: 776–785. © 2010 John Wiley & Sons A/S.

Abstract: Background: Progressive familial intrahepatic cholestasis (PFIC) results in liver cirrhosis. Therefore, some PFIC patients require liver transplantation (LT). Although three types of PFIC have been identified, their etiologies include unknown mechanisms.

Patients: A total of 717 recipients who underwent living-donor LT (LDLT) at <20 yr old were enrolled in this study. Among these recipients, 14 PFIC recipients comprising 11 PFIC type 1 (PFIC1) and three PFIC type 2 (PFIC2) were evaluated.

Results: Three of 11 PFIC1 recipients died, while all three PFIC2 recipients survived. Eight of 11 PFIC1 recipients showed steatosis after LDLT.

Among the eight steatosis-positive PFIC1 recipients, seven showed severe steatosis and seven were complicated with steatohepatitis. Nine of 11 PFIC1 recipients showed fibrosis after LDLT, and eight of the nine fibrosis-positive PFIC1 recipients showed severe fibrosis. In contrast to the PFIC1 recipients, the PFIC2 recipients did not show any steatosis or fibrosis after LDLT.

Conclusions: The clinical courses and outcomes of PFIC1 recipients after LDLT are still not sufficient owing to steatosis/fibrosis, unlike the case for PFIC2 recipients. As PFIC1 patients will require LT during the long-term progression of the disease, further strategy improvements are required for PFIC1 patients.

Tomohide Hori^{a,b}, Hiroto Egawa^a, Yasutsugu Takada^a, Mikiko Ueda^a, Fumitaka Oike^b, Yasuhiro Ogura^a, Selsuke Sakamoto^a, Mureo Kasahara^a, Kohel Ogawa^a, Aya Miyagawa-Hayashino^c, Yukihide Yonekawa^d, Tooru Yorifuji^e, Ken-ichiro Watanabe^e, Hiraku Doi^e, Justin H. Nguyen^f, Feng Chen^b, Ann-Marie T. Baine^b, Lindsay B. Gardner^b and Shinji Uemoto^a

^aDivision of Hepato-Biliary-Pancreatic and Transplant Surgery, Department of Surgery, Kyoto University Hospital, Sakyo-ku, Kyoto, Japan, ^bDepartment of Neuroscience, Mayo Clinic in Florida, Jacksonville, FL, USA,

^cDepartment of Diagnostic Pathology, Kyoto University Hospital, ^dDivision of Pediatric Surgery, Department of Surgery, Kyoto University Hospital, ^eDepartment of Pediatrics, Kyoto University Hospital, Sakyo-ku, Kyoto, Japan and ^fDivision of Transplant Surgery, Department of Transplantation, Mayo Clinic in Florida, Jacksonville, FL, USA

Key words: Byler's disease – liver transplantation – living donor – progressive familial intrahepatic cholestasis – steatosis

Corresponding author: Tomohide Hori, PhD, MD, Division of Hepato-Biliary-Pancreatic and Transplant Surgery, Department of Surgery, Kyoto University Hospital, 54 Shogoinkawara-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606-8507, Japan.

Tel.: +81 75 751 3111; fax: +81 75 751 3106; e-mail: horit@kuhp.kyoto-u.ac.jp

Conflict of interest: The authors have no financial conflict of interest.

Accepted for publication 31 August 2010

Progressive familial intrahepatic cholestasis (PFIC) refers to a heterogeneous group of autosomal recessive disorders of childhood that disrupt bile formation and present with cholestasis of hepatocellular origin. The actual prevalence remains

unknown, but the estimated incidence is one per 50 000–100 000 births. The natural course of PFIC causes portal hypertension, liver failure, cirrhosis, hepatocellular carcinoma, and extrahepatic manifestations. Three types of PFIC have been

identified as follows: (i) deficiency of familial intrahepatic cholestasis 1 (FIC1), so-called Byler's disease, as PFIC type 1 (PFIC1); (ii) deficiency of bile salt export pump (BSEP), so-called Byler's syndrome, as PFIC type 2 (PFIC2); and (iii) deficiency of multidrug resistant 3 (MDR3) as PFIC type 3 (PFIC3). Each mutation is related to hepatocellular transport system genes involved in bile formation (1). Although the etiologies of the three PFIC types have previously been demonstrated, they include unknown mechanisms. Cholestasis is a major clinical sign in all three PFIC types. PFIC should be suspected in children with a clinical history of cholestasis of unknown origin after exclusion of the other main causes of cholestasis (2). A high level of serum bile acid (BA) excludes primary disorders of BA synthesis (3). The phenotypic findings in PFIC1 and PFIC2 are similar, although some slight phenotypic differences have been identified (4–9). Extrahepatic features that have been documented in PFIC1 patients, such as persistent short stature, sensorineural deafness, watery diarrhea, pancreatitis, elevated sweat electrolyte concentration, and liver steatosis (10), have not been reported in PFIC2. Therapy with ursodeoxycholic acid (UDCA) is considered during the initial therapeutic management of children with all types of PFIC (11), although PFIC patients are theoretically associated with a risk of further development of biliary stones, drug-induced cholestasis and intrahepatic cholestasis of pregnancy (ICP) during the disease course. Female PFIC patients under UDCA therapy who reach adulthood with their native liver must not stop UDCA during pregnancy because of the risk of developing severe ICP as observed in a previously reported patient who became pregnant (1, 12). More advanced strategies such as cell transplantation, gene therapy or specific targeted pharmacotherapy may represent alternative therapies for all types of PFIC in the future (13–16). Although UDCA therapy has advantages, especially for PFIC3, the resultant liver cirrhosis in PFIC patients requires liver transplantation (LT) including living-donor LT (LDLT) as a definitive therapy.

Here, we present the data for our PFIC patients after LDLT during two decades (1999–2009) and review the current literature about PFIC.

Patients and methods

Patients

Since 1990, 735 adult and 702 pediatric recipients underwent LT at Kyoto University Hospital. A total of 717 LDLT recipients whose ages at LDLT

were <20 yr were enrolled in this study. Among these LDLT recipients, 11 PFIC1 and three PFIC2 recipients were evaluated. We had no experience of LDLT for PFIC3 patients during these two decades. One PFIC1 patient had a history of paroxysmal atrial fibrillation.

The 14 PFIC recipients comprised five males and nine females, and their age range at LDLT was 0.6–18.2 yr. The time from the diagnosis of PFIC to LDLT was 1417.9 ± 2055.4 d (range, 75–5935 d) in the PFIC1 recipients and 288.7 ± 273.3 d (range, 43–583 d) in the PFIC2 recipients. The values of standard deviation (SD) in height and body weight at LDLT were -4.5 ± 1.8 (range from -7.5 to -1.1) and 2.1 ± 1.0 (range from -3.5 to 0.3), respectively. Thus, the growth retardation was confirmed in all patients. The serum level of total BA was elevated to 439.1 ± 109.8 $\mu\text{mol/mL}$ (range, 299–600 $\mu\text{mol/mL}$), while the serum level of gamma-glutamyltransferase (γ -GT) was normal at 16.6 ± 4.0 IU/L (range, 12–26 IU/L). The mean Child-Pugh score was 7.9 ± 0.8 points (range, 7–9 points). The mean score of the Model for End-stage Liver Disease (MELD) or Pediatric End-stage Liver Disease (PELD) was 12.3 ± 4.1 points (range, 5–19 points). Pre-operative statuses were 11 cases at home and three were hospitalized cases. The United Network for Organ Sharing (UNOS) statuses were estimated to be 12 cases of status III and two cases of status IIB. The ABO blood groups were characterized as 11 identical cases, two compatible cases and one incompatible case. The donor relationships were 10 fathers, three mothers and one grandmother. The mean donor age was 36.9 ± 7.1 yr (range, 28–47 yr). One donor was HBsAb-positive donor. These data are summarized in Table 1.

The protocol of the study was approved by the Ethics Review Committee for Clinical Studies of Kyoto University Graduate School of Medicine.

Zero-hour liver biopsy in living donor

Basically, the routine checks including computed tomography (CT) number assessments for liver dysfunction, steatosis and non-alcoholic steatohepatitis (NASH) were performed in living donor beforehand.

To confirm the condition of graft, our institution employed zero-h liver biopsy during living-donor operation at the time point before starting the procedures of hepatectomy.

Operation

There were lateral-segment grafts and one case each of extended lateral-segment and left-lobe

Table 1. Profiles of the PFIC patients

Case number	PFIC	Age at LDLT (yr)	Growth retardation		MELD/PELD score (point)	UNOS status	ABO compatibility	GRWR	Histopathological findings	
			Height (SD)	Weight (SD)					Recipients ^a (F)	Living donors ^b
1	Type 1	3.7	-7.3	-3.5	18	III	Compatible	2.80	4	-
2	Type 1	4.1	-3.5	-1.2	5	III	Identical	1.68	4	-
3	Type 1	14.0	-7.5	-2.9	19	III	Identical	1.57	4	-
4	Type 1	14.2	-4.6	-2.2	18	III	Compatible	1.20	4	-
5	Type 1	5.3	-5.5	-2.5	14	IIIB	Identical	1.43	4	-
6	Type 1	6.3	-6.4	-2.8	9	III	Identical	1.54	4	-
7	Type 1	18.2	-5.0	-3.5	17	III	Identical	1.29	4	<5
8	Type 1	3.7	-3.3	-1.0	10	III	Identical	2.08	4	0
9	Type 1	4.5	-4.3	-1.8	11	III	Identical	1.57	4	0
10	Type 1	1.8	-3.3	-2.5	14	III	Identical	2.55	4	0
11	Type 1	1.2	-4.0	-2.3	14	III	Identical	4.02	4	<5
12	Type 2	1.4	-3.4	-2.4	19	III	Identical	3.77	4	0
13	Type 2	0.6	-1.1	0.3	9	IIIB	Incompatible	2.24	4	0
14	Type 2	4.6	-3.1	-1.3	12	III	Identical	1.39	4	0

GRWR, graft/recipient weight ratio; LDLT, living-donor liver transplantation; MELD, Model for End-stage Liver Disease; PELD, Pediatric End-stage Liver Disease; PFIC, progressive familial intrahepatic cholestasis; SD, standard deviation; UNOS, United Network for Organ Sharing.

^aFibrosis scores by the METAVIR system in removed native livers.

^bThe percentage of steatosis in zero-h biopsy specimens obtained during donor operations.

grafts. The mean graft/recipient weight ratio was 2.08 ± 0.91 (range, 1.20–4.02). Histopathological analyses of biopsy specimens during the donor operation were performed in seven cases, and normal findings were confirmed. The mean operative time was 525.4 ± 57.4 min (range, 402–636 min) and the mean blood loss was 949.3 ± 833.9 mL (range, 105–2610 mL). The mean cold and warm ischemic times were 51.0 ± 29.4 min (range, 15–99 min) and 35.9 ± 11.6 min (range, 24–56 min), respectively.

Basically, the left hepatic vein or common trunk of the left and middle hepatic veins was anastomosed to the inferior vena cava in an end-to-side fashion. Portal veins were reconstructed in an end-to-end fashion, after the confirmation of enough front-flows. Hepatic arteries were anastomosed in an end-to-end fashion by using microscope. Hepaticojunostomy were performed in twelve cases, and duct-to-duct reconstruction in two cases, as biliary reconstruction during initial LDLT. Essentially, the posterior wall was sutured with a continuous-suture technique and the anterior wall was sutured with an interrupted-suture technique, using absorbable monocryl threads (6-0 PDS II; Ethicon Inc., Somerville, NJ USA).

Immunosuppression

Immunosuppression after LDLT was started with tacrolimus and methylprednisolone. The trough level of tacrolimus was maintained at 8–15 ng/mL during the early post-operative period, based on the

clinical findings in each case. Methylprednisolone was given intravenously (1 mg/kg) once daily from post-operative day (POD) 1 to POD 3 followed by 0.5 mg/kg once daily for the next three d. On POD 7, 0.3 mg/kg of methylprednisolone was given intravenously. Steroid administration was switched to oral prednisolone 0.3 mg/kg once daily on POD 8. This dose was reduced to 0.1 mg/kg at one month after LDLT. Thereafter, immunosuppressants were adjusted according to clinical course. We had already overcome ABO-incompatibility in LDLT, and our regimens for these recipients, including heparin usage, were described previously (17).

Histopathological analysis

In our institution, laboratory and ultrasound examinations were routinely performed after LDLT in all recipients. A liver needle biopsy (LNB) protocol is not employed in our institution. However, ultrasound-guided LNBs were performed, if required, based on the results of conventional liver function tests, findings of Doppler ultrasound examinations and consideration of the original diseases. All the PFIC recipients underwent LNBs after LDLT, and received histopathological follow-up by LNBs.

All liver tissues were fixed in neutral buffered formalin, embedded in paraffin, and sliced into 4 μ m-thick sections. The morphological characteristics were assessed by standard hematoxylin-eosin staining, and hepatic fibrosis was evaluated by

Masson trichrome and reticulin staining. Post-transplant steatosis was calculated as the percentage of steatosis in the liver tissue (18). Macrovesicular steatosis was graded quantitatively according to the percentage of involved hepatocytes (18). Steatohepatitis was diagnosed according to the degree of steatosis, ballooning degeneration and portal/lobular inflammation. The fibrosis scores were strictly estimated based on the presence or absence of post-operative steatosis. Estimation of the hepatic venous area is important during the early phase of fibrosis progression in NASH (19), although the fibrosis in common hepatitis initially occurs in the periportal area. In the assessments of post-transplant fibrosis, we used the fibrosis scores in the NASH score for the PFIC1 recipients with steatosis, and the METAVIR score for the recipients without steatosis. The fibrosis scores in the recipients with steatosis were assigned as follows (19): 1, perivenular fibrosis; 2, perivenular and periportal fibrosis; 3, bridging fibrosis; 4, cirrhosis. The fibrosis scores in the recipients without steatosis were assigned as follows (20): 1, periportal fibrosis; 2, bridging fibrosis; 3, pre-cirrhosis; 4, cirrhosis.

Statistical analysis

The survival curves were calculated by the Kaplan-Meier method (the log-rank test). Statistical analyses were performed using SPSS software version 16.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). $p < 0.05$ was considered statistically significant.

Results

Histopathological analyses in native liver of recipients and zero-h biopsy specimens of living donor

Histopathologically, cirrhosis without steatosis (F4) was confirmed in the native livers of all recipients (Table 1).

All 14 living donors had no PFIC symptoms. All living donor showed no liver dysfunction and abnormalities in image studies. Eight of 14 living donors received zero-h biopsy during living-donor operation (Cases 7–14), and no steatosis was confirmed. All of these eight living donors showed a percentage below five, at least (Table 1).

Clinical courses and outcomes after LDLT

The mean hospital stay after LDLT was 70.7 ± 42.8 d (range, 29–189 d). Digestive symptoms after LDLT were confirmed in 10 of 11 PFIC1 recipients (Cases 1–7 and 9–11), but absent

in all the PFIC2 recipients. Cirrhotic findings including esophageal varix and splenomegaly after LDLT were confirmed in six PFIC1 recipients, and these recipients received endoscopic or surgical therapies for esophageal varix and splenomegaly (Cases 2, 3, 5, 7, 8, 10). One PFIC1 recipient suffered from *de novo* autoimmune hepatitis (AIH) (Case 2), and was closely followed. Among the PFIC2 recipients, one received steroid pulse and muromonab-CD3 therapies for refractory acute cellular rejection during the early post-operative period (Case 14).

The actual survival curves are shown in Fig. 1. Three of 11 PFIC1 recipients died, whereas all three PFIC2 recipients survived. One PFIC1 recipient died after rupture of the splenic artery at POD 5032 (Case 3). One PFIC1 recipient received a retransplantation on POD 4646 owing to graft loss, but she died of cardiac failure at 25 d after the retransplantation (Case 5). One PFIC1 recipient suffered from chronic rejection at six months after LDLT, and underwent a retransplantation on POD 1393. An arteriportal shunt occurred after the retransplantation, and another retransplantation was performed on POD 1986 after the initial LDLT. However, rupture of an esophageal varix occurred on POD 2005 after the initial LDLT (Case 10).

UDCA and pancreatic enzyme supplementation

In our institution, UDCA was routinely used after LDLT. Therefore, all PFIC recipients received this therapy. Pancreatic enzyme was supplied in two PFIC1 recipients after LDLT due to chronic pancreatitis (Cases 1 and 5), although PFIC2 recipients did not need pancreatic enzyme supplementation.

Histopathological findings after LDLT

The histopathological findings are shown in Table 2. The mean performance of LNBs after LDLT was 8.3 ± 5.1 times (range, 3–23 times).

Eight of 11 PFIC1 recipients showed steatosis after LDLT (Cases 1, 3, 5–9 and 11), whereas no steatosis was confirmed in the remaining three PFIC1 recipients (Cases 2, 4 and 10). Seven of the eight steatosis-positive PFIC1 recipients showed steatosis degrees of $\geq 80\%$ (Cases 1, 3, 5, 6, 8, 9 and 11). The mean POD when the steatosis reached its peak was 229.6 ± 253.7 d (range, 21–736 d). Seven of the eight steatosis-positive PFIC1 recipients also showed findings of steatohepatitis (Cases 1, 3, 5, 6, 7, 9 and 11).

Overall, eight of 11 PFIC1 recipients (73%) showed steatosis with fibrosis after LDLT, whereas

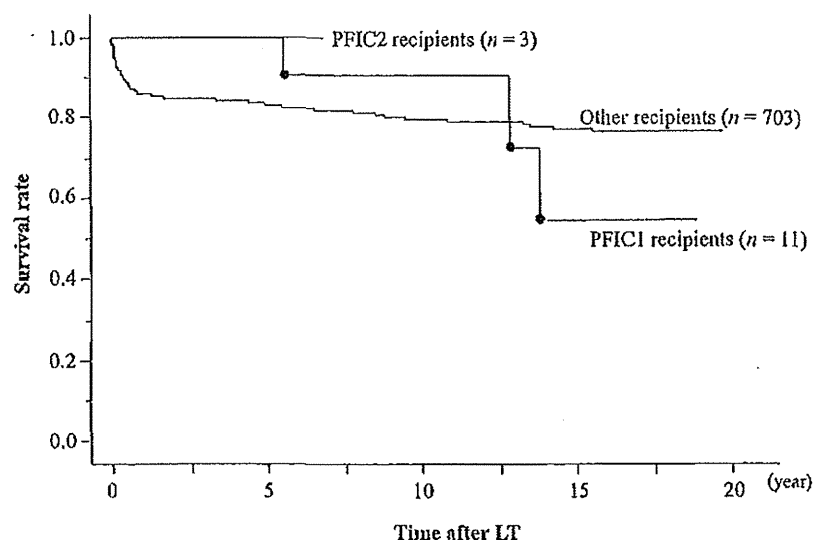


Fig. 1. Survival curves for PFIC1, PFIC2, and other recipients after living-donor liver transplantation (LDLT). The survival curves after LDLT in each of the 11 PFIC1 recipients, three PFIC2 recipients, and 703 other recipients were calculated by the Kaplan-Meier method. PFIC, progressive familial intrahepatic cholestasis.

Table 2. Histopathological findings after LDLT

Case number	PFIC	LNBS after LDLT (times)	Steatosis		Steatohepatitis	Fibrosis		Other histopathological findings after LDLT	Outcome (POD)
			LNB ^a (POD)	Percentage		LNB ^a (POD)	Score ^b (F)		
1	Type 1	10	378	90	+	2303	3	-	Alive (6884)
2	Type 1	6	-	0	-	4171	4	<i>De novo</i> AIH	Alive (6604)
3	Type 1	9	46	90	+	480	4	-	Dead (5032)
4	Type 1	4	-	0	-	-	0	-	Alive (5605)
5	Type 1	13	1305	80	+	1869	3	-	Dead (4671)
6	Type 1	8	138	80	+	468	3	-	Alive (4295)
7	Type 1	7	736	30	+	3254	4	-	Alive (4065)
8	Type 1	3	87	80	-	-	0	-	Alive (3384)
9	Type 1	11	397	90	+	991	3	-	Alive (3265)
10	Type 1	23	-	0	-	1125	4	Chronic rejection	Dead (2005)
11	Type 1	5	34	80	+	34	1	-	Alive (2028)
12	Type 2	4	-	0	-	-	0	-	Alive (2453)
13	Type 2	6	-	0	-	-	0	-	Alive (1801)
14	Type 2	7	-	0	-	-	0	Refractory ACR	Alive (500)

ACR, acute cellular rejection; AIH, autoimmune hepatitis; LDLT, living-donor liver transplantation; LNB, liver needle biopsy; NASH, nonalcoholic steatohepatitis; PFIC, progressive familial intrahepatic cholestasis; POD, postoperative day.

^aThe PODs of the peak findings are shown if the histopathological findings were positive. The earliest PODs are shown if the histopathological findings were equal.

^bFibrosis score: the NASH score was used for steatosis-positive recipients, while the METAVIR score was used for steatosis-negative recipients.

no fibrosis was confirmed in the PFIC2 recipients. Moreover, the steatosis and steatohepatitis that subsequently caused fibrosis were surprisingly confirmed even during the early post-operative period in these PFIC1 recipients.

Nine of 11 PFIC1 recipients showed fibrosis after LDLT (Cases 1-3, 5-7 and 9-11), whereas no fibrosis was confirmed in the remaining two PFIC1 recipients. Eight of the nine fibrosis-positive PFIC1 recipients showed F scores of ≥ 3 (Cases 1-3, 5-7, 9 and 10). The mean POD when the F score reached its peak was 1632.8 ± 1391.4 d (range, 34-4171 d). Among the nine F score-positive

PFIC1 recipients, seven were complicated with steatosis (Cases 1, 3, 5-7, 9 and 11), and two had fibrosis without steatosis (F4) for another reason (*de novo* AIH and chronic rejection) (Cases 2 and 10). In contrast to the PFIC1 recipients, the PFIC2 recipients did not show any steatosis or fibrosis.

Total external biliary diversion (TEBD)

In one PFIC1 recipient (Case 10), TEBD was performed at retransplantation, although we had no experience of TEBD at initial LDLTs. However, we cannot confirm the effects of LDLT

accompanied by TEBD, because this patient suffered graft loss owing to an arterioportal shunt after the retransplantation.

In our institution, TEBD is performed as a hepatico-jejuno-cutaneostomy. An isolated jejunal interposition of 15–20 cm in length is made with the proper mesentery at a point 20 cm distant from Treitz's ligament. Next, hepatico-jejunostomy was made. The jejunal interposition is placed between the hepatic hilum and the skin. An end-stoma is made in the right lower quadrant of the abdominal wall.

Discussion

The combined considerations of clinical, biochemical, radiological and histological approaches including liver immunostaining and biliary lipid analyses help diagnosis of PFIC candidates. Clinical manifestations of each type of PFIC documented in these studies are summarized in Table 3.

Phenotypic findings and extrahepatic features have been described in PFIC1 (4–10). The hepatic histopathology is characterized by canalicular cholestasis and the absence of true ductular proliferation with only periportal biliary metaplasia of hepatocytes. PFIC1 is caused by mutations in the ATP8B1 gene (designated FIC1) (7). Adenosine triphosphate (ATP) is elaborated from adenosine diphosphate and phosphoric acid via ATPase, and the FIC1 gene, which encodes a P-type ATPase, is located on human chromosome 18. Some investigators have described that impaired FIC1 function results in substantial downregulation of farnesoid X receptor (FXR), a nuclear receptor involved in the regulation of BA metabolism, with subsequent downregulation of BSEP in the liver and upregulation of BA synthesis and the apical sodium bile salt (BS) transporter in the intestine (21). The possible mechanisms of BA overload in hepatocytes are highlighted in Fig. 2A. The extrahepatic features such as diarrhea, liver steatosis, and short

Table 3. Characteristic manifestations of PFIC

	PFIC1 (FIC1 deficiency) (Byler's disease)	PFIC2 (BSEP deficiency) (Byler's syndrome)	PFIC3 (MDR3 deficiency)
Inheritance	18q21-22	Autosomal recessive	Autosomal recessive
Age of onset	Neonatal period	Neonatal period	1 month–20 yr
Cholestasis	Chronic	Chronic	Chronic
Ductular proliferation	Absent	Absent	Absent
Progression to cirrhosis	Yes	Yes	Yes
Cutaneous pruritus	Severe	Severe	Moderate
Serum γ -GT activity	Normal	Normal	High
Serum cholesterol level	Normal	Normal	Normal
Serum PBA concentration	Very high	Very high	High
Bile composition	Low PBA concentration	Very low PBA concentration	Low phospholipid concentration
Gene (encoding protein)	Autosomal recessive	ABCB11 (BSEP)	ABCB4 (MDR3)
Chromosomal locus	ATP8B1 (FIC1)	2q24	7q21
Function of hereditary defect	Aminophospholipid translocase	BA secretion	Phosphatidylcholine secretion
Hepatocyte location	Canalicular membrane	Canalicular membrane	Canalicular membrane
Other sites of mRNA expression	Cholangiocytes Intestine Pancreas	None	None
Resultant functional defect	ATP-dependent Aminophospholipid translocase	ATP-dependent BA transport in bile	ATP-dependent Phosphatidylcholine translocation in bile
Histopathological findings	Canalicular cholestasis Absence of true ductular proliferation Periportal biliary metaplasia of hepatocytes Pronounced portal/lobular fibrosis Pronounced portal/lobular inflammation	Canalicular cholestasis Absence of true ductular proliferation Severe lobular injury More pronounced lobular/portal fibrosis More pronounced lobular/portal inflammation	Rare cholestasis True ductular proliferation Normal interlobular bile ducts Rare extensive portal fibrosis Mixed inflammatory infiltrate
	Hepatocellular necrosis Giant cell transformation Perturbed liver architecture	More obvious hepatocellular necrosis More obvious giant cell transformation More perturbed liver architecture	Rare biliary cirrhosis Slight giant cell transformation No biliary epithelium injury

ATP, adenosine triphosphate; BA, bile acid; BSEP, bile salt export pump; FIC1, familial intrahepatic cholestasis 1; γ -GT, gamma-glutamyltransferase; MDR3, multidrug resistant 3; PBA, primary bile acid; PFIC, progressive familial intrahepatic cholestasis.

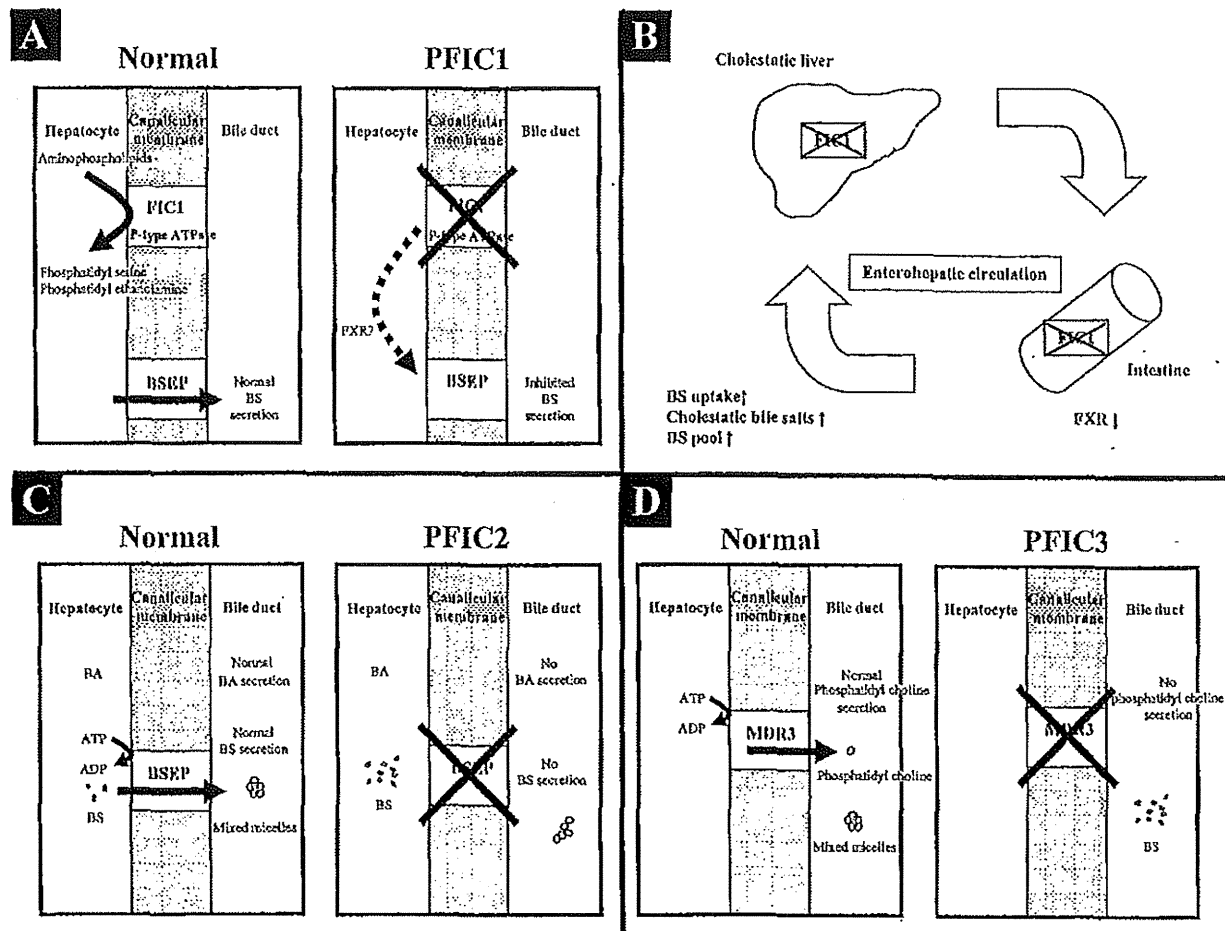


Fig. 2. Schemas of the mechanisms for the different types of progressive familial intrahepatic cholestasis (PFIC). (A) The possible mechanism of PFIC1. The FIC1 protein is located on the canalicular membrane of hepatocytes, but is mainly expressed in intrahepatic cholangiocytes. The function of the P-type ATPase is still unknown. However, it could be an aminophospholipid transporter responsible for maintaining the enrichment of phosphatidylserine and phosphatidylethanolamine on the inner leaflet of the plasma membrane. The asymmetric distribution of lipids in the membrane bilayer plays a protective role against high concentrations of bile salt (BS) in the canalicular lumen. The issue of how these mutations cause cholestasis remains unclear. It is postulated that abnormal protein function may indirectly disturb the biliary secretion of BA, thus explaining the low concentration of biliary BA. Impaired FIC1 function results in substantial downregulation of farnesoid X receptor (FXR), a nuclear receptor involved in the regulation of BA metabolism, with subsequent downregulation of bile salt export pump (BSEP) in the liver and upregulation of BA synthesis and the apical sodium BS transporter in the intestine. Eventually, these events lead to BA overload in hepatocytes. (B) Enterohepatic circulation in PFIC1. The downregulation of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in cholangiocytes has been reported in PFIC1, and this downregulation could contribute to the impairment of bile secretion and explain some of the extrahepatic features. The FIC1 gene is expressed in various organs, including the liver, pancreas, small intestine and kidney, but is more highly expressed in the small intestine than in the liver. Therefore, enterohepatic cycling of BS should be considered in PFIC1. This may also explain the digestive symptoms including chronic diarrhea in PFIC1. Other extrahepatic features such as persistent short stature, deafness, and pancreatitis suggest a general cell biological function for FIC1. The downregulation of FXR in intestines is suggested in this pathway. (C) The mechanism of PFIC2. The BSEP protein, which is expressed on the hepatocyte canalicular membrane, is the major exporter of primary bile acid against extreme gradients of concentration. Mutations in this gene are responsible for decreased biliary BS secretion, which leads to decreased bile flow and accumulation of BS inside the hepatocytes, thereby resulting in severe hepatocellular damage. (D) The mechanism of PFIC3. The mechanism of the liver damage in PFIC3 is related to the absence of biliary phospholipids. The damage to the bile canaliculi and biliary epithelium probably results from continuous exposure to hydrophobic BSs, the detergent effects of which are no longer countered by phospholipids, thus leading to cholangitis. FIC1, familial intrahepatic cholestasis 1.

stature that are sometimes associated with PFIC1 do not improve or may be aggravated after successful biliary diversion or LT (1, 10). Chronic diarrhea may become intractable when biliary BS

secretion is restored after LT (7, 10), while diarrhea may be favorably managed by bile adsorptive resin treatment (10). Similar to these previous reports, our data confirmed digestive symptoms after