

Biliary stricture assessed by biliary scintigraphy

stricture after pediatric DDLT or adult LDLT, but there have been few reports on pediatric LDLT (6, 7). In addition, there have been few reports about the quantitative evaluation of HBS for the diagnosis of biliary stricture. We focused on the Ex-60, as a quantitative marker, following an intravenous injection of the tracer in HBS, which indicates the rate of clearance from maximum counts in the hepatic ROI. We conducted our study to determine the cutoff value of the Ex-60 that would provide a definitive diagnosis of biliary stricture.

Patients and methods

During the period from November 2005 to July 2010, 125 primary pediatric LDLT were performed at the National Center for Child Health and Development, with an overall five yr survival of 88.5%. HBS after LDLT was carried out in 89 patients. Of these, nine patients who received duct-to-duct biliary reconstruction were excluded from this study. A total of 80 patients with Roux-en-Y hepaticojejunostomy were the final subjects included in this study.

The patients were 31 males and 49 females, with a mean age of 3.2 yr (range: 1 month–16.2 yr) and a mean weight of 13.4 kg (range: 2.8–63.8 kg). At the time of transplantation, 46 patients (57.5%) weighed < 10 kg. The living donor liver graft consisted of hyper-reduced left lateral segments (n = 17), left lateral segments (n = 55), left lobe (n = 6), and right lobe (n = 2) (8, 9). Eleven patients (13.8%) received blood-type incompatible grafts. The demographic data of the patients are shown in Table 1.

The indications for liver transplantation were biliary atresia (n = 40), fulminant hepatic failure (n = 13), metabolic liver disease (n = 16: ornithine transcarbamylase deficiency; carbamyl phosphate synthetase 1 deficiency; glycogen storage disease-type 1b; methylmalonic acidemia; propionic acidemia; neonatal intrahepatic cholestatic caused by citrine deficiency; and oxysterol 7- α -hydroxylase deficiency), vascular disease (n = 5: congenital absence of the portal vein; Budd–Chiari syndrome), Alagille syndrome (n = 2), and others (n = 4) (Table 2).

Our surgical techniques have been standardized, and both the preoperative evaluation and surgical techniques have been reported previously (10, 11). The anastomoses for the

Table 2. Original liver diseases in the 80 pediatric LDLT patients

| Original liver disease | n |
|--|----|
| Biliary atresia | 40 |
| Fulminant hepatic failure | 13 |
| Metabolic liver disease | |
| Ornithine transcarbamylase deficiency | 4 |
| Carbamyl phosphate synthetase 1 deficiency | 3 |
| Glycogen storage disease-type 1b | 3 |
| Methylmalonic acidemia | 2 |
| Propionic acidemia | 2 |
| Neonatal intrahepatic cholestatic caused by citrine deficiency | 1 |
| Oxysterol 7- α -hydroxylase deficiency | 1 |
| Vascular disease | |
| Congenital absence of portal vein | 4 |
| Budd–Chiari syndrome | 1 |
| Alagille syndrome | 2 |
| Others | |
| Hemangioendothelioma | 1 |
| Primary sclerosing cholangitis | 1 |
| Progressive familial intrahepatic cholestasis | 1 |
| Congenital hepatic fibrosis | 1 |
| Total | 80 |

hepaticojejunostomy were performed using continuous sutures for the posterior wall and interrupted sutures for the anterior wall with 6-0 polyglyconate absorbable monofilament. A 4-French polyethylene tube was inserted through the Roux-en-Y limb. The tip of the tube was placed in the anastomosis as an external stent. The stent tube was clamped a month after the transplantation and removed three months after the transplantation. Immunosuppression consisted of tacrolimus and low dose steroids. Patients were weaned off steroids during the first three months (12).

Definition of biliary stricture after LDLT

Ultrasonographic intrahepatic bile duct dilatation and abnormal graft function tests, indicated by elevated serum levels of aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, gamma-glutamyl transferase, and total bilirubin, were considered to reflect possible biliary stricture. HBS and contrast-enhanced CT were performed in patients with abnormal graft function tests. Finally, PTC was performed to confirm the diagnosis and to treat the biliary stricture.

Hepatobiliary scintigraphy

HBS is routinely performed at three months post-transplantation, unless otherwise clinically indicated. ^{99m}Tc-PMT was administered intravenously at a dose of 185 MBq, which was adjusted to body weight. Using a high-resolution collimator on the dual-head gamma camera, the camera heads are placed on the anterior and right side of the body. The dynamic data were collected from two directions as two-phase images in 128 × 128 matrixes: three s/frame for 20 frames followed by 60 s/frame for 60 frames. In addition, for follow-up scans, delayed static imaging and SPECT imaging are sometimes used.

As part of the HBS assessment, visualization of the HBS dynamic cine is performed. Dynamic information from the anterior and right lateral sides is useful to visually assess the rate of clearance from the hepatic parenchyma, bile ducts, and egress through the proximal gastrointestinal tract. In

Table 1. Demographic characteristics of the 80 pediatric LDLT patients

| Patient characteristics | n = 80 |
|------------------------------------|-------------------------|
| Age (yr) | 3.2 ± 4.0 (0.1–16.2) |
| Male/female | 31/49 |
| Body weight (kg) | 13.4 ± 10.7 (2.8–63.8) |
| Blood-type combination | |
| Identical/compatible/incompatible | 52/17/11 |
| Follow-up period (yr) | 2.2 ± 1.1 (0.4–5.0) |
| Graft type | |
| Hyper-reduced left lateral segment | 17 |
| Left lateral segment | 55 |
| Left lobe | 6 |
| Right lobe | 2 |
| GRWR (%) | 2.43 ± 0.88 (0.76–4.00) |

Data are expressed as mean ± s.d. (range).

some instances of large duct stricture, dynamic holdup can be appreciable.

Statistical analysis

Continuous data were expressed as the mean ± s.d. The differences between groups were analyzed for statistical differences by the Mann-Whitney U-test. A p-value of <0.01 was considered to be significant. A ROC curve analysis was performed.

Results

Incidence of biliary stricture

Of the 80 pediatric LDLT, 13 patients (16.3%) experienced biliary stricture. All biliary strictures were anastomotic, and not intrahepatic, because of either ischemic cholangitis or ABO-incompatibility. There were no significant differences between the patients with (n = 13) or without (n = 67) biliary stricture in terms of the donor age (39.5 ± 9.0 vs. 33.7 ± 6.9 yr); body weight (20.0 ± 17.1 vs. 12.1 ± 8.7 kg); percentage of blood-type incompatibility (7.7% vs. 11.9%); GRWR (2.28 ± 1.08% vs. 2.46 ± 0.84%); cold ischemic time (68.7 ± 40.8 vs. 60.5 ± 41.1 min); warm ischemic time (37.6 ± 11.0 vs. 32.9 ± 8.3 min); or CMV infection (38.5% vs. 26.9%) (Table 3).

We performed a total of 114 HBS studies on 80 cases of pediatric LDLT. Seventy-one studies were performed while the anastomotic biliary stent tube was still in place. Of these 71, 64 studies were in the patients without biliary stricture and seven studies were in patients with biliary stricture. The dynamic cine and the time-radioactivity curve of HBS with well functioning grafts revealed a rapid hepatic accumulation, excretion of tracer into the biliary system, and visualized Roux-en-Y limb (Fig. 1A). HBS in patients with biliary stricture showed a delay in hepatic accumulation, dilatation, and a holdup of the tracer at 60 min following an intravenous

injection of ^{99m}Tc-PMT (Fig. 1B). The dynamic image of HBS in patients with non-biliary stricture complications (rejection, vascular complications) showed a delay in hepatic accumulation, and diffuse depositions of the tracer still remained in the liver parenchyma 60 min after the initial injection (Fig. 1C). The dynamic image of HBS can distinguish the patients between with biliary stricture and with non-biliary stricture complications, even if the Ex-60 revealed low level in the time-radioactivity curve of HBS. The average rate of excretion from the hepatic accumulation at 60 min following an intravenous injection of ^{99m}Tc-PMT (Ex-60; mean ± s.d.) in the patients with biliary stricture (22 studies) and without biliary stricture subjects (92 studies) were 49.1 ± 20.2% and 78.0 ± 9.7%, respectively (Fig. 2). There were four studies that were outside of the SD in the patients without biliary stricture, including cases of biliary leakage (n = 2), chronic rejection (n = 1), and vascular complication (n = 1).

To determine a cutoff value for identifying the rate of excretion in HBS of hepatic accumulation at 60 min that could detect biliary stricture, a ROC curve analysis of the existence of a stricture and the rate of excretion of hepatic accumulation at 60 min was performed. When the Ex-60 cutoff value was set at 69.2% on the ROC curve for the cases diagnosed with biliary stricture, the sensitivity was 87.0%, the false positive rate was 18.2%, and the specificity was 81.8% (Fig. 3).

Clinical outcomes of patients with biliary stricture

The clinical outcomes of the patients with biliary stricture are described in Fig. 4. Of the 13 patients who were diagnosed with biliary stricture, five patients presented with cholangitis and eight patients were asymptomatic associated with abnormal liver function tests. Biliary stricture in seven patients with a biliary stent tube did not improve even after removal of the stent tube. The indications for HBS were ultrasonographic intrahepatic bile duct dilatation (n = 10) and a history of minor biliary leakage (n = 1). Biliary anastomotic stricture was initially managed with percutaneous transhepatic balloon dilatation and stenting catheter placement for eight wk. Of 13 patients who were diagnosed with biliary stricture, 11 patients were successfully treated with percutaneous transhepatic balloon dilatation and stenting catheter placement under general anesthesia. Two patients required repeated balloon dilatation and stenting catheter placement; twice (n = 1), three times (n = 1). One patient developed a biliportal fistula that required surgical

Table 3. Association of candidate risk factors with biliary stricture

| | Biliary stricture | | p-value |
|---------------------------------|-------------------|-------------|---------|
| | Yes (n = 13) | No (n = 67) | |
| Donor age (yr) | 39.5 ± 9.0 | 33.7 ± 6.9 | NS |
| Body weight (kg) | 20.0 ± 17.1 | 12.1 ± 8.7 | NS |
| Blood-type incompatibility (%) | 1 (7.7) | 8 (11.9) | NS |
| GRWR (%) | 2.28 ± 1.08 | 2.46 ± 0.84 | NS |
| Cold ischemic time (min) | 68.7 ± 40.8 | 60.5 ± 41.1 | NS |
| Warm ischemic time (min) | 37.6 ± 11.0 | 32.9 ± 8.3 | NS |
| Hepatic artery complication (%) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | NS |
| CMV infection (%) | 5 (38.5) | 18 (26.9) | NS |

NS, not significant.

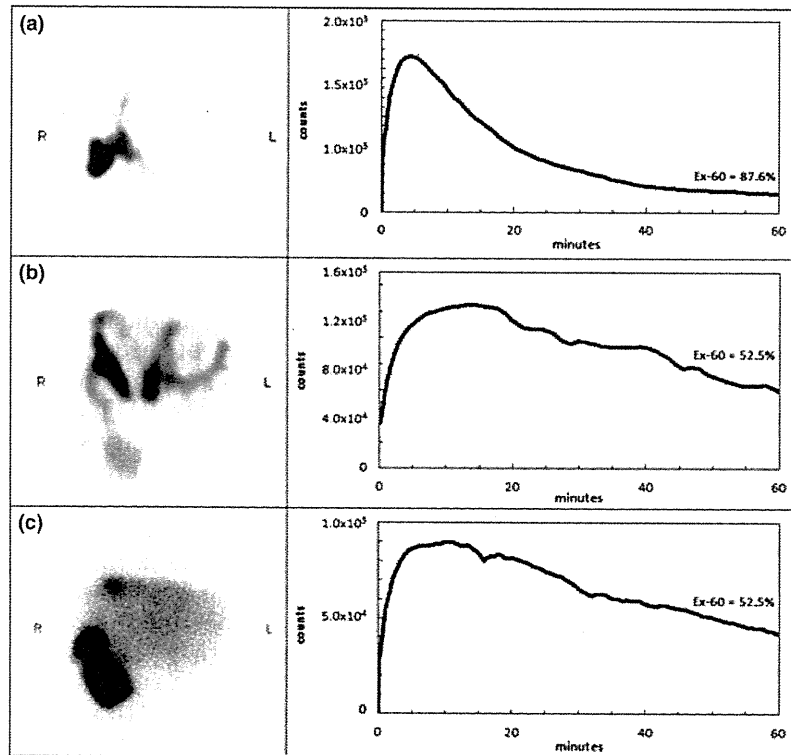


Fig. 1. Dynamic images of left lateral segment graft and time-radioactivity curves of HBS. (A) The dynamic image and time activity curve of HBS from 60 min after intravenous injection of a non-biliary stricture case. The well functioning liver transplant graft revealed 87.6% excretion until 60 min. There was good extraction from the graft liver to the Roux-en-Y limb (arrowhead). (B) The dynamic image after ^{99m}Tc-PMT injection showed biliary stricture and a dilated intrahepatic bile duct. The biliary stricture case had 52.5% excretion until 60 min. Balloon dilatation and stenting were performed. There was a narrowing seen at the anastomosis (arrow). (C) The dynamic image after ^{99m}Tc-PMT injection showed diffuse ^{99m}Tc-PMT depositions on liver parenchyma without a dilated intrahepatic bile duct. The non-biliary stricture complication case had 52.5% excretion until 60 min. The patient was treated with enhanced immunosuppression therapy because a liver biopsy revealed signs of rejection.

revision (13). Two patients showed dilatation of the intrahepatic bile duct during ultrasonography; however, no significant clinical symptoms were revealed. These two patients had been listed for PTC; however, the size of the intrahepatic bile duct could not be sufficiently expanded to proceed with PTC. These two patients underwent serial HBS, and their Ex-60 had improved (over 69.2%) over time. Their intrahepatic bile duct dilatation still remained on ultrasonography, and close follow-up was continued.

Clinical findings of patients without biliary stricture

Of the 67 patients without biliary stricture, 61 patients underwent routine HBS at three months post-transplantation and these patients had no symptoms and also shown normal liver function tests. Of these 61 patients, one patient showed an outflow block. The other six patients had been indicated for HBS because of abnormal liver function tests (n = 4) and fever (n = 2). These

six patients had complications that were different from biliary stricture, four patients had rejection and two patients had bile leakage. HBS revealed a normal hepatic uptake and a delayed parenchymal excretion in patients with rejection. ^{99m}Tc-PMT did not remain in the intrahepatic bile duct in all 67 patients. Ex-60 values of HBS were 52.5%, 58.3%, 63.8%, and 81.6% in patients with rejection and 48.2% and 84.3% in patients with biliary leakage.

Discussion

Ischemic changes and immunological mechanisms are considered to underlie the pathogenesis of biliary stricture after liver transplantation. The biliary epithelium is more susceptible to ischemic changes than hepatic parenchyma cells (14). The graft sometimes becomes ischemic because of hepatic arterial embolism, affecting the biliary epithelium and causing stricture (1). In addition, the biliary epithelium expresses a wide variety of

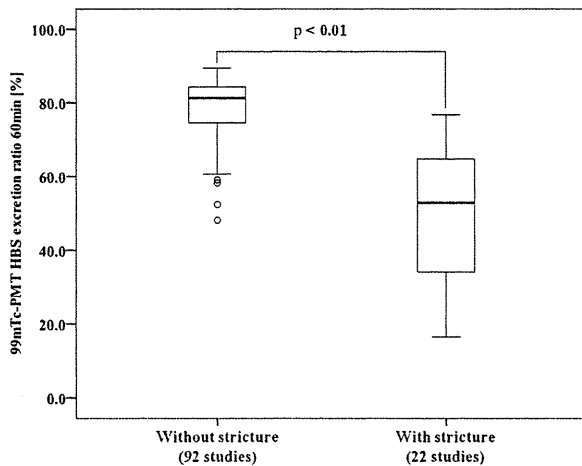


Fig. 2. Distribution of the Ex-60 in patients with vs. without biliary stricture. The average Ex-60 following an intravenous injection of ^{99m}Tc -PMT was significantly different between patients with and without biliary stricture ($49.1 \pm 20.2\%$ vs. $78.0 \pm 9.7\%$, $p < 0.01$).

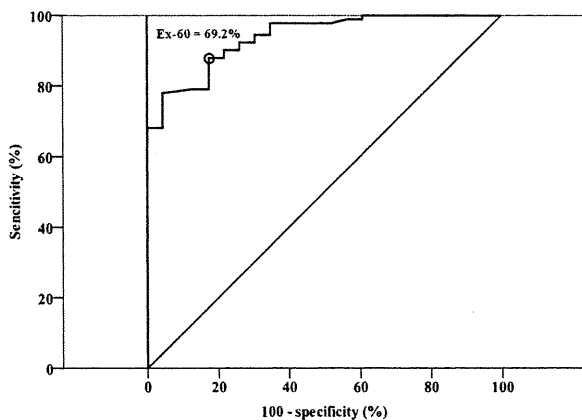


Fig. 3. The ROC curve analysis of the Ex-60 using ^{99m}Tc -PMT in HBS. When the Ex-60 cutoff value was set at 69.2% in the ROC curve analysis between the cases with and without biliary stricture, the sensitivity, false positive rate, and specificity for detecting stricture were 87.0%, 18.2%, and 81.8%, respectively (area under the curve = 0.938; 95% confidence interval 0.893–0.983).

molecules that are targets for cytotoxic T lymphocytes and inflammatory responses lead to the expression of these target molecules, causing bile duct obstruction (15). Rejection, ABO blood group incompatibility, CMV infection, and bile leakage have been reported as risk factors for biliary stricture after liver transplantation (16, 17). However, these factors were not significant risk factors in our pediatric LDLT series.

The intravenous injection of a single dose of ^{99m}Tc -PMT showed rapid blood clearance, fast hepatobiliary transit, low urinary excretion, and no intestinal reabsorption (18, 19). Unlike con-

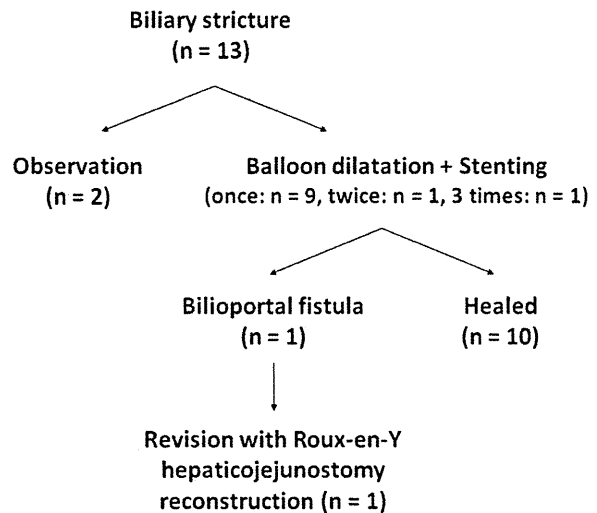


Fig. 4. Summary of the clinical outcomes after biliary stricture.

ventional radio nuclei, it is less antagonistic to serum bilirubin, and therefore, able to be administered even to patients with hyperbilirubinemia. The technetium-99m compounds for HBS are divided into two groups: ^{99m}Tc -PMT is used mainly in Japan, while technetium-99m Sn-bromo-iminodiacetic acid is used in other countries. These two radio nuclei have almost the same pharmacokinetics, including plasma clearance, hepatobiliary transit, and urinary excretion. We determined Ex-60 as the cutoff value because the normal hepatic half-clearance time was 23.6 ± 7.7 min (20), and the guidelines for HBS mention that the initial images are usually acquired dynamically, starting at injection and continuing for 60 min or until the activity is seen in the small bowel (21).

To reach a definitive diagnosis of biliary stricture after pediatric LDLT, it has been necessary to perform PTC. HBS does not require general anesthesia, and the radiation exposure from HBS is minimal compared to PTC. The costs in our institution per diagnostic examination for ultrasonography, contrast-enhanced CT, scintigraphy, and PTC interventional radiology were \$88, \$180, \$180, and \$1080, respectively. The cost is relatively low compared to PTC. It is therefore a simple and effective technique that can be implemented in every hospital with a nuclear medicine department.

Recently, there has been an increasing number of reports on the use of HBS in the assessment of liver function (rejection and hepatitis) in the early post-transplantation period (7, 22–24). To the best of our knowledge, no report has been made on the Ex-60 cutoff values after pediatric LDLT.

Biliary stricture assessed by biliary scintigraphy

The diagnostic categories of biliary stricture were divided into two groups: with and without biliary stricture, and the distributions of the Ex-60 determined by HBS in each category were examined.

To determine a cutoff value that could serve as a criterion for the diagnosis of biliary stricture based on the Ex-60 in HBS, thus establishing a cutoff value to differentiate between patients with and without biliary stricture, we performed an ROC curve analysis for each category. When the sensitivity and the specificity were set in the same proportion, the Ex-60 cutoff value was 69.2%.

In the patients with biliary stricture, there were four patients with sufficient Ex-60 values (72.9%, 73.0%, 73.0%, and 76.8%). Two patients showed dilatation of the intrahepatic bile duct on ultrasonography; however, no clinical symptoms were revealed. These two patients underwent serial HBS, their Ex-60 had gradually to normal level (over 69.2%). The other two patients underwent serial HBS, and Ex-60 values had not improved. The findings of two patients suggested initial phase of biliary stricture. Finally, these two patients underwent PTC, balloon dilatation, and stenting.

The use of transanastomotic stents in biliary reconstruction during liver transplantation remains a controversial issue. Egawa et al. (11) reported that the transanastomotic biliary stent tube could reduce the incidence of biliary complications after LDLT. According to our experience, the transanastomotic biliary stent tube did not increase the incidence of biliary and non-biliary complications (25).

The reliability of diagnosis for biliary stricture could therefore be improved by using a combination of ultrasonography and the Ex-60 using ^{99m}Tc -PMT in HBS, decreasing the use of PTC, which is invasive, expensive, and provides a relatively high dose of radiation for pediatric LDLT patients. A diagnostic and treatment algorithm is recommended as follows: when evidence of biliary stricture, including both dilatation of the intrahepatic bile duct on ultrasonography and an Ex-60 using ^{99m}Tc -PMT in HBS value $< 69.2\%$ is obtained, PTC should be performed. Based on the PTC findings, a final decision regarding whether to use balloon dilatation or to perform revision surgery for biliary stricture can be made. When Ex-60 is under 69.2% and HBS shows diffuse ^{99m}Tc -PMT depositions on the liver parenchyma and no dilated intrahepatic bile duct, the other complications should thus be detected with a CT scan or liver biopsy (Fig. 5). As this was a retrospective study, the present study needs further examina-

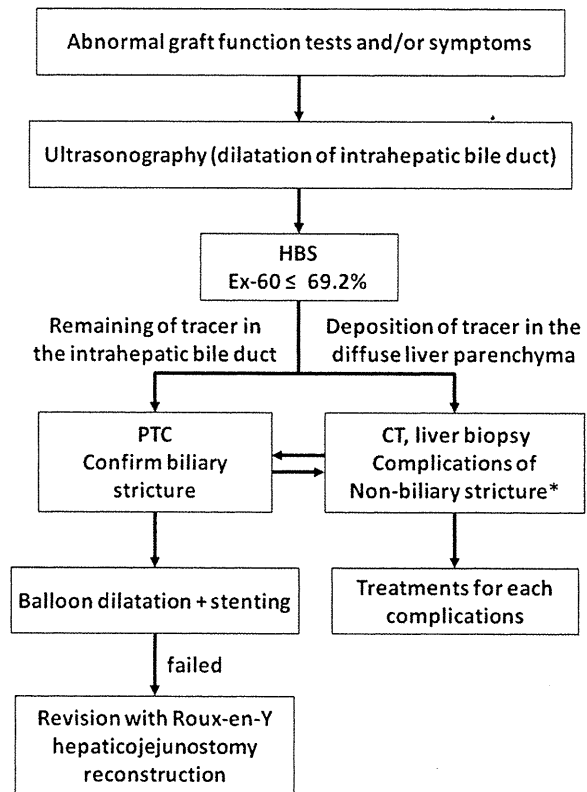


Fig. 5. The algorithm for diagnosis and treatment of the biliary stricture using HBS (Ex-60),* leakage, parenchymal disorder, rejection, infection, hepatitis, vascular complication, etc.

tions and a prospective study to validate of this algorithm. We consider that interventional radiological therapy should be the first-line therapy for biliary stricture even after pediatric LDLT, because revision surgery has a higher risk of morbidity and mortality compared with interventional radiological therapy. In addition, a transanastomotic stent was only rarely found to be a source of infection in our series.

Conclusion

Based on the Ex-60 of HBS following pediatric LDLT in Roux-en-Y hepaticojejunostomy, the cutoff value for biliary stricture can be established at 69.2%. HBS with ^{99m}Tc -PMT is a non-invasive and useful diagnostic tool for biliary stricture in pediatric LDLT.

Author contributions

M. Kasahara performed the transplantation with A. Fukuda, S. Sakamoto, H. Tanaka, N. Matsuno, and T. Shigeta. A. Fukuda wrote the report, with assistance from the other authors (Concept/design: AF, MKa; Data analysis/interpretation; Drafting article: AF; Data collection: AF, SS, TS, TK, MKi, SN, HT, NM, AN).

References

1. KASAHARA M, EGAWA H, TAKADA Y, et al. Biliary reconstruction in right lobe living-donor liver transplantation: Comparison of different techniques in 321 recipients. *Ann Surg* 2006; 243: 559–566.
2. GONDOLESI GE, VAROTTI G, FLORMAN SS, et al. Biliary complications in 96 consecutive right lobe living donor transplant recipients. *Transplantation* 2004; 77: 1842–1848.
3. TASHIRO H, ITAMOTO T, SASAKI T, et al. Biliary complications after duct-to-duct biliary reconstruction in living-donor liver transplantation: Causes and treatment. *World J Surg* 2007; 31: 2222–2229.
4. SHARMA S, GURAKAR A, JABBOUR N. Biliary strictures following liver transplantation: Past, present and preventive strategies. *Liver Transpl* 2008; 14: 759–769.
5. THIETHY S, THOMSON B, PLEASS H, et al. Management of biliary tract complications after orthotopic liver transplantation. *Clin Transplant* 2004; 18: 647–653.
6. CONCANNON RC, HOWMAN-GILES R, SHUN A, STORMON MO. Hepatobiliary scintigraphy for the assessment of biliary strictures after pediatric liver transplantation. *Pediatr Transplant* 2009; 13: 977–983.
7. KIM JS, MOON DH, LEE SG, et al. The usefulness of hepatobiliary scintigraphy in the diagnosis of complications after adult-to-adult living donor liver transplantation. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2002; 29: 473–479.
8. OGAWA K, KASAHARA M, SAKAMOTO S, et al. Living donor liver transplantation with reduced monosegments for neonates and small infants. *Transplantation* 2007; 83: 1337–1340.
9. KASAHARA M, FUKUDA A, YOKOYAMA S, et al. Living donor liver transplantation with hyperreduced left lateral segments. *J Pediatr Surg* 2008; 43: 1575–1578.
10. TANAKA K, UEMOTO S, TOKUNAGA Y, et al. Surgical techniques and innovations in living related liver transplantation. *Ann Surg* 1993; 217: 82–91.
11. EGAWA H, INOMATA Y, UEMOTO S, et al. Biliary anastomotic complications in 400 living related liver transplantations. *World J Surg* 2001; 25: 1300–1307.
12. INOMATA Y, TANAKA K, EGAWA H, et al. The evolution of immunosuppression with FK 506 in pediatric living-related liver transplantation. *Transplantation* 1996; 61: 247–252.
13. KASAHARA M, SAKAMOTO S, FUKUDA A, et al. Posttransplant biliportal fistula with portal vein thrombosis: A case report. *Transplant Proc* 2010; 42: 3862–3864.
14. NOACK K, BRONK SF, KATO A, GORES GJ. The greater vulnerability of bile duct cells to reoxygenation injury than to anoxia. Implications for the pathogenesis of biliary strictures after liver transplantation. *Transplantation* 1993; 56: 495–500.
15. REYNOSO-PAZ S, COPPEL RL, MACKAY IR, BASS NM, ANSARI AA, GERSHWIN ME. The immunobiology of bile and biliary epithelium. *Hepatology* 1999; 30: 351–357.
16. SANCHEZ-URDAZPAL L, BATTS KP, GORES GJ, et al. Increased bile duct complications in liver transplantation across the ABO barrier. *Ann Surg* 1993; 218: 152–158.
17. HALME L, HOCKERSTEDT K, LAUTENSCHLAGER I. Cytomegalovirus infection and development of biliary complications after liver transplantation. *Transplantation* 2003; 75: 1853–1858.
18. KATO-AZUMA M. Tc-99m(Sn)-N-pyridoxylamines: A new series of hepatobiliary imaging agents. *J Nucl Med* 1982; 23: 517–524.
19. MATSUOKA S, UCHIYAMA K, KUNIIYASU Y, et al. Unusual early bile excretion from the liver in patients with fulminant hepatic failure as detected by Tc-99m-PMT hepatobiliary scintigraphy: comparison with Tc-99m-GSA scintigraphy. *Ann Nucl Med* 2001; 15: 57–60.
20. HOWMAN-GILES R, MOASE A, GASKIN K, UREN R. Hepatobiliary scintigraphy in a pediatric population: Determination of hepatic extraction fraction by deconvolution analysis. *J Nucl Med* 1993; 34: 214–221.
21. TULCHINSKY M, CIAK BW, DELBEKE D, et al. SNM practice guideline for hepatobiliary scintigraphy 4.0. *J Nucl Med Technol* 2010; 38: 210–218.
22. SINGH AK, NACHIAPPAN AC, VERMA HA, et al. Postoperative imaging in liver transplantation: What radiologists should know. *Radiographics* 2010; 30: 339–351.
23. DE GRAAF W, BENNINK RJ, VETELAINEN R, VAN GULIK TM. Nuclear imaging techniques for the assessment of hepatic function in liver surgery and transplantation. *J Nucl Med* 2010; 51: 742–752.
24. KANSOUL HA, AXELSSON R, YAMAMOTO S, et al. Parameters obtained by hepatobiliary scintigraphy have significant correlation with biochemical factors early after liver transplantation. *Acta Radiol* 2007; 48: 597–604.
25. TANAKA H, FUKUDA A, SHIGETA T, et al. Biliary reconstruction in pediatric live donor liver transplantation: Duct-to-duct or Roux-en-Y hepaticojejunostomy. *J Pediatr Surg* 2010; 45: 1668–1675.

EBウイルス感染症モニタリングによる 肝移植後の至適免疫抑制療法

笠原群生^{*1)}, 今留兼一^{*2)}, 阪本靖介・金澤寛之・重田孝信・
福田晃也・垣内俊彦・唐木千晶^{*1)}, 中澤温子^{*3)}

CPCFリサーチグラント2011受賞者による研究発表

CPCF 2011

*Ideal immunosuppression monitoring with quantitative
EBV PCR method*

Mureo Kasahara^{*1)}, Kenichi Imadome^{*2)},
Keisuke Sakamoto・Hiroyuki Kanazawa・
Takanobu Shigeta・Akinari Fukuda・
Toshihiko Kakiuchi・Chiaki Karaki^{*1)},
Athuko Nakazawa^{*3)}

key words : liver transplantation, EB virus, 免疫抑制剤

EBウイルス (Epstein Barr virus : EBV) は、成人に達するまでに90%以上が感染する普遍的なウイルスで、排除されることなく生涯の潜伏感染となる。EBVはBリンパ球に感染し自律増殖能を持つリンパ芽球様細胞に変化する能力を有するが、正常の免疫能を持つ宿主ではEBV感染リンパ芽球様細胞は細胞傷害性T細胞(CTL)により除去される。臓器移植後などの免疫不全状態では、T細胞の機能不全があるため除去されず増殖をつづけ、EBV関連リンパ増殖性疾患(PTLD)の発症に至ることがある。

レシピエントがEBV未感染でドナーが既感染の場合にPTLDの発症率が高いことが知られており、これは移植片に含まれるEBV感染Bリンパ球が免疫を持たないレシピエントに移行し、感染が成立するからであると考えられている。小児の多くがEBV未感染であり、ドナーは通常EBV既感染の成人であるため、小児の移植では成人の場

合とくらべてPTLDの発症頻度が高いと報告されている。

対象と方法

2005年11月～2010年11月の間に、国立成育医療研究センターで肝移植を受けた小児末期肝不全患者140例における、移植後の末梢血EBV DNAモニタリングおよび免疫細胞表面マーカー解析の結果と臨床所見を総合的に検討し、移植後EBV管理・免疫抑制療法の標準プログラムを作成した。

EBV DNAモニタリングは入院中移植後1回/週、退院後1回/2カ月で実施し、 10^2 copies/ μ g DNA以上を陽性とした。またFlow cytometryにより末梢血単核球細胞(PBMC)をCD4, 8, 19, 23, HLA-DRでラベルし活性化型T細胞・B細胞を、Tetramer-MixでEBV特異的CTLをモニタリングした。Tetramer-Mixは日本人の7割が保有するHLA-A2402拘束性のEBV特異的CTLエピトープLMP2, BFLF1, BMLF1, EBNA3A, EBNA3Bの5種類をTetramer試薬で混合したものである。

結果

EBV感染症を50.6%に認めた。移植時年齢が若く、血清学的検討でドナー既感染からレシピエント未感染への移植で73.7%と高率に感染を認めた(表1)。感染確認後、速やかに免疫抑制剤(カルシニューリン阻害剤:CNI)を25%減量することで、140例中EBV関連PTLDを発症した症例はなかった。

^{*1)}Transplantation Center, ^{*2)}Department of Infections Disease,
^{*3)}Clinical Pathology, National Center for Child Health and
Development 国立成育医療研究センター^{*1)}臓器移植センター,
^{*2)}同 母児感染研究部, ^{*3)}同 病理診断部

表 1 EBV 感染症のリスクファクター

| | EBV | | P value |
|---------------------------------------|----------------|-----------------|---------|
| | 陽性 | 陰性 | |
| n | 50.6% | 49.4% | NS |
| Mean age ± SD (months) | 20 ± 30 | 62 ± 68 | 0.001 |
| Median follow up (postoperative days) | 618 (92~1,548) | 693 (120~1,544) | NS |
| Onset of EBV (postoperative days) | 276 ± 279 | — | |
| ABO-incompatible | 6(14.6%) | 9(22.5%) | NS |
| CMV infection | 12(29.3%) | 19(47.5%) | NS |
| Acute rejection | 13(31.7%) | 15(37.5%) | NS |
| MMF | 8(19.5%) | 5(12.5%) | NS |
| Steroid period (days ; mean ± SD) | 217 ± 267 | 186 ± 150 | NS |

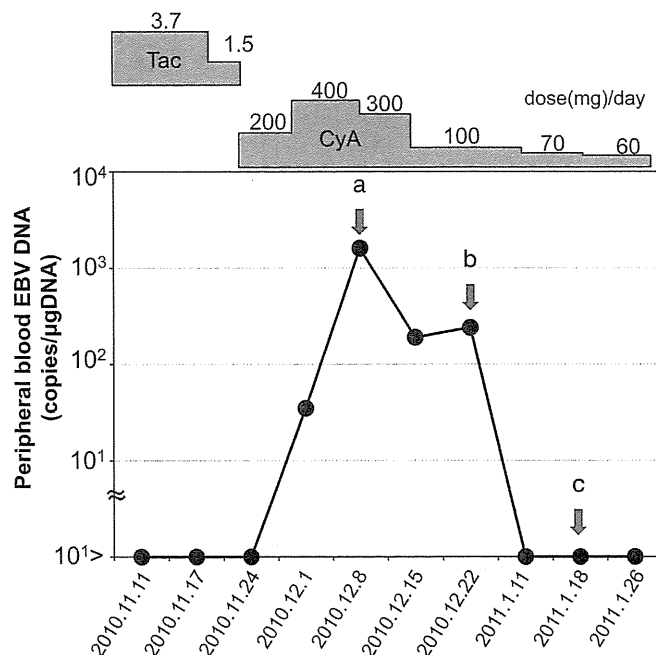


図 1 EBV DNA モニタリング

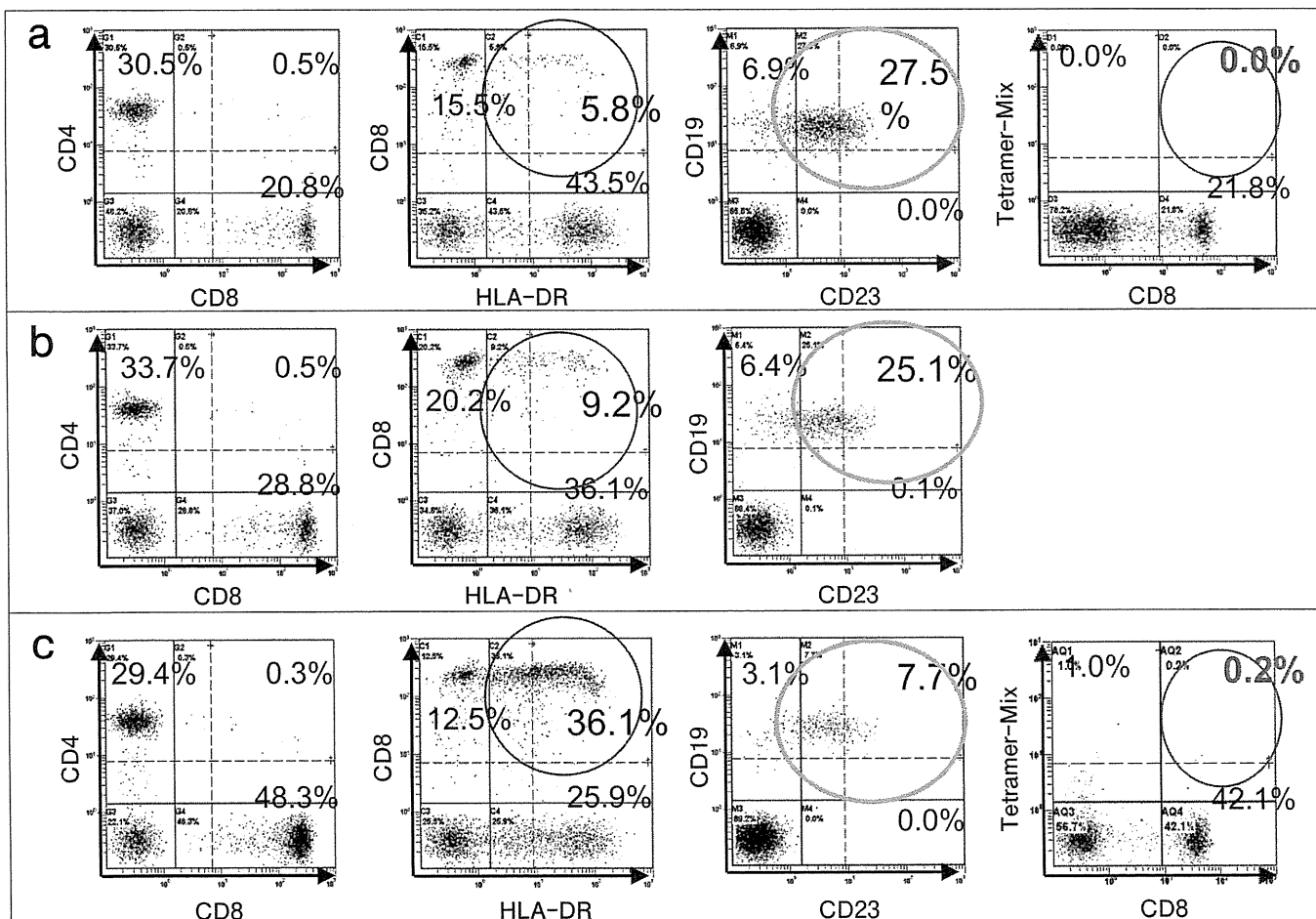


図 2 EBV 特異的 CTL の誘導 (図 1 の症例の a~c 時採取)

a~c と経時的に HLA-DR⁺ activated CD8⁺ T cell が 5.8% から 36.1% に上昇, CD8⁺ Tetra-Mix EBV 特異的 CTL も 0.2% に誘導された。

図1は、先天性肝線維症に伴う門脈圧亢進症で生体肝移植に至った9歳・女児の末梢血EBV DNA モニタリング経過である。移植後タクロリムス(FK)脳症でシクロスポリン(CyA)に変更したが、移植後1カ月でEBV PCR 陽性となった。CyAの積極的減量を行った。EBV PCR 陽性時はHLA-DR⁺CD8⁺ activated CD8⁺T cellは5.8%で、CD23⁺CD19⁺ activated B cellは27.5%、CD8⁺Tetra-Mix EBV 特異的 CTLは0%であった。さらに免疫抑制剤を減量することで、HLA-DR⁺CD8⁺は36.1%と上昇、CD23⁺CD19⁺は7.7%と減少し、

CD8⁺Tetra-Mix EBV 特異的 CTLは0.2%に誘導され、結果的にEBV PCR 陰性へ誘導可能であった(図2)。

結語

当院の小児生体肝移植140例にPTLD発症を認めなかった。末梢血EBV DNA モニタリングは、移植後EBV関連PTLDの予防や早期診断が可能となり、個別化された免疫抑制療法を実施することができ、移植治療の成績のみならずレシピエントの生命予後の改善が期待された。

討 論

大段 PTLDは小児の肝移植では深刻な合併症ですが、それに十分な対応をされている様子をうかがいました。

確認のためお聞きしますが、25%の免疫抑制剤の減量を行う場合、多剤併用ではすべての薬剤を25%減量されるのですか。

笠原 ベースはCNIですが、ミコフェノール酸モフェチル(MMF)、バシリキシマブ、ラパマイシンが加わっている場合はそちらを最初に中止しています。その後、CNIの25%の減量を行っています。

大段 それは、PTLDの発症原因としてCNI以外のものが深く関連する可能性を考慮してというより、CNIベースの免疫抑制のほうが管理しやすいという理由からですか。

笠原 そのとおりです。

田中 提示いただいた3例とも、EBVの増加とともに末梢血中のB細胞の数は上昇しており、ウイルス量が落ちついたときにB細胞の数も減少しているという印象を受けました。そこで、末梢

血中のB細胞のフェノタイプの推移がPTLDやEBV感染評価の指標となる可能性についてお教えください。

笠原 CD23⁺CD19⁺ activated B cellをみており、EBV感染の初期では上がってきますが、治療を開始するとだんだんと下がってきます。十分な指標になりえると考えます。

伊藤 私たちも血中EBV DNAをモニタリングしていますが、対象は移植前に抗体がネガティブ、すなわち感染歴がない患者さんを対象にしています。やはり既感染でIgG陽性の患者さんも、若年者の場合にはモニタリングしたほうがいいのでしょうか。

笠原 必ずしもセロポジティブからセロネガティブへの移植だけでEBのセロロジー、EBVコピー数が上がってくるわけではありません。危険因子には充分なりうると思いますが、当院で行っているのは小児移植ですので、危険率は成人よりも高いと思われます。したがって、全症例で行うようにしています。

伊藤 当施設では移植後1年ぐらいうると抗体が陽性となりますが、笠原先生の施設のようにCTLでモニタリングはしていないので、抗体が陽性となればPTLDの発症リスクが少し減るのではないかと考えています。実際は、ただEBV DNAが血中では遷延している状況ですが、どのくらいモニタリングをしていけばいいのでしょうか。

発言者

- 大段 秀樹 (広島大学大学院医歯薬学総合研究科先進医療開発科学講座外科学)(司会)
 田中 友加 (広島大学大学院医歯薬学総合研究科先進医療開発科学講座外科学)
 笠原 群生 (国立成育医療研究センター臓器移植センター)
 伊藤 泰平 (国立病院機構千葉東病院外科)
 小林 英司 (自治医科大学先端医療技術開発センター先端治療開発部門)

笠原 当院はまだ肝移植をはじめてから5年しか経過しておらず、長期経過観察症例は限られますが、移植後長期においてEBV コピー数の高い症例が最近問題になっていますし、治療をどうすべきかについて述べた小児肝移植の論文が散見されます。これから長期において肝移植を受けた患児がどうなっていくか、当院から発信していければと思います。

伊藤 やはり血中EBV DNAは遷延する可能性はあるのですか。

笠原 はい。5年間遷延している患児もいますが、免疫抑制剤をcomplete withdrawはしておらず、極量まで減らすことでPTLDの発症抑制は可能だと考えています。

伊藤 その抗体が陽性化するということは、PTLDの発症云々に関してはあまり意味がないのでしょうか。

笠原 抗体があったほうがいいとは思いますが。

小林 リサーチグラントのAwardにふさわしい、きちんとした臨床例を提示していただきました。将来の課題としてお願いしたい点があります。

PTLDが発症すると、CNIを漸減しますが、まさに肝移植後のトランス誘導のときの漸減パターンとよく似ています。実際に減らしていくと、ウィズ・ドローラル・トライアルのように拒絶反応が起こる症例がどのくらいあるかという報告はまだないと思います。

先ほど長期について触れましたが、ウィズ・ドローラルでナチュラル・トランスといわれた症例でも、何年かすると肝線維化を起こしてい

ることがあって、CNIを中止すること自体は必ずしもよくないという考え方もあります。

笠原先生は肝移植後の子どもたちを長期間フォローしていますが、将来的にその子どもたちがlymphoproliferative diseaseになった場合、CNIを減量してみた場合、「ああ、よかった、EBVもなんとか収まってきた」のほかに肝線維化の問題など、長期間にわたった経過を発表していただきたいと思います。

大段 MHC class I tetramer陽性T細胞は、存在比率の程度よりその存在が確認されることが重要であるという笠原先生の意見に私も賛成です。そこで質問ですか、セロポジティブの成人の場合、class I tetramerは検出可能ですか。

笠原 可能だと思いますが、なにぶん当院は患者年齢がずっと小さく、乳児が5割を占めるので、成人についてはコメントできかねます。

大段 いいえ、健常ドナーのclass I tetramerの結果をお聞きしたかったのです。ドナーからの持ち込み感染の可能性が確認できるかもしれないと思ったものですから。

笠原 確かにドナーから持ち込まれた可能性はあるかと思えます。

大段 ドナー側のclass I tetramer結合解析に興味を持たれます。

笠原 いままさに、それを実証しているところです。

大段 ますますの研究の発展をお祈り申し上げます。ありがとうございます。

先天性門脈欠損症に対して左腎静脈門脈吻合を施行した生体肝移植手術

笠原 群生* 阪本 靖介* 重田 孝信*
田中 秀明* 垣内 俊彦* 福田 晃也*

はじめに

門脈欠損症は高アンモニア血症，肝腫瘍，肺高血圧，肺内シャントなどを来すまれな疾患である。門脈は Vitelline 静脈系の選択的退縮過程で発生し，この異常から門脈欠損症が発生する。本邦では新生児スクリーニングの高ガラクトース血症から診断に至る症例が多いが，成人期に肺高血圧・肺内シャント・肝腫瘍で診断される症例も散見される¹⁾。また，並存する心臓奇形で発見される症例もある。

門脈欠損症は門脈本幹血流がすべて大循環に入る I 型と，門脈本幹～肝内門脈枝が開存している II 型に大別される²⁾。肝臓まで門脈血流が保持できている II 型では，シャント結紮手術・段階的シャント塞栓術で治療可能なことがある。しかし，門脈本幹がすべて大循環に流入する I 型は，外科的門脈開存することができないため，肺内シャント，肺高血圧，繰り返す高アンモニア血症，下気道感染症，低血糖，発達障害などが合併する場合，時に肝移植が適応される³⁾。当センターで 2005 年 11 月～2010 年 9 月までの 138 例の肝移植中，門脈欠損症は 5 例 (3.6%) であり，内科的治療困難な高アンモニア血症，進行する肺内シャント，繰り返す下気道感染症で肝移植適応

にしている。図 1 は経過観察中，急速に肺内シャントが進行し，肝移植に至った門脈欠損症例である。下腸間膜静脈が逆行性に右腸骨静脈に流入する I 型門脈欠損症であった。

今回 Fallot 四徴症根治術後の門脈欠損症に対して，左腎静脈門脈吻合を施行した生体肝移植手術を実施したので報告する。

I. 症 例

症例は 14 歳 2 カ月男児。身長 153.9 cm (-1.4SD)，体重 34.3 kg (-1.9SD) と若干の成長障害を認めた。4 歳時に Fallot 四徴症に対して根治手術が行われた。以後，経過良好であったが，10 歳時より低酸素血症を認め，在宅酸素療法を行われてい

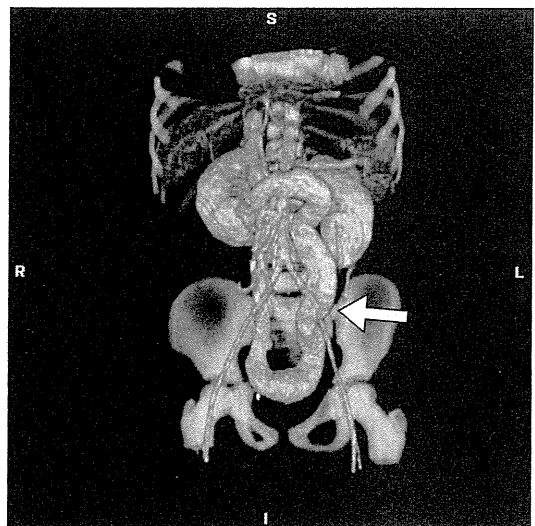


図 1 下腸間膜静脈右腸骨静脈シャント症例 (別症例)

* Mureo KASAHARA et al. 国立成育医療研究センター 移植外科 (〒157-8535 東京都世田谷区大蔵 2-10-1)

key words

先天性門脈欠損症，腎静脈門脈吻合，生体肝移植

た。14歳時に腹部CT検査で門脈欠損症を指摘され、生体肝移植目的に当センターに転院した。

入院時検査所見でpO₂ 47.2, SpO₂ 72%と著明な低酸素血症を認めた。肺内シャント率は52.2%であった。血液検査所見では高ビリルビン血症、軽度凝固能障害、高アンモニア血症、胆汁酸上昇を認めた。心臓カテーテル検査では肺高血圧症を認めなかった(表1)。

腹部CT検査で肝内に門脈構造を認めず、脾腫を認めた。また、著明な脾腎シャントを認めた(図2)。頭部MRI検査では基底核領域にマンガン沈着と思われる特徴的なHigh intensity areaを認めた(図3)。

腹部血管造影では脾動脈造影静脈相で巨大な脾

表1 入院時検査所見

| |
|---|
| 血算：WBC 2,440/mm ³ , RBC 517×10 ⁴ /mm ³ , Hb 14.1 g/dl, Ht 44.0%, Plt 6.8×10 ⁴ /mm ³ |
| 生化学：T-Bil 2.22 mg/dl, D-Bil 0.90 mg/dl, AST 30 U/l, ALT 27 U/l, LDH 172 IU/l, γ-GTP 26 IU/l, Ch-E 124 IU/L, Tp 5.7 g/dl, Alb 3.0 g/dl, BUN 8.3 mg/dl, Cr 0.32 mg/dl, AMY 32 IU/L, Na 141 mEq/l, K 3.9 mEq/l, Cl 113 mEq/l, PT-INR 2.13, CRP 0.2 mg/dl 以下, NH ₃ 100 μg/dl, TBA 131.3 μmol/l, Ccr 102.9 ml/min |
| 血液ガス分析：Ph 7.377, pCO ₂ 39.1, pO ₂ 47.2, HCO ₃ 22.3, SpO ₂ 72% |
| 主肺動脈圧 (mmHg)：13/6 mean 11 |
| 肺内シャント率：52.2% |

腎シャントを認め下大静脈に流入していた。上腸間膜静脈血流は胃静脈を通し頭側より脾腎シャントにドレナージしていた(図4a)。また、拡張した下腸間膜静脈は逆行性に、直腸静脈瘤を形成していた(図4b)。

以上から、門脈欠損症による高アンモニア血症として肝移植適応を考慮した。本来門脈に流入すべき上腸間膜静脈・脾静脈血行は、脾腎シャントを介して下大静脈に、下腸間膜静脈は逆行し直腸静脈瘤に流入していたため、肝移植時に左腎静脈門脈吻合を行い、間置グラフトに下腸間膜静脈を使用すれば、理論的に移植肝臓を本来の門脈血流で還流できると判断した。下腸間膜静脈の間置グラフトは術前の血管造影・CT検査から10 cm長径が採取可能であった。下腸管膜静脈が使用できない場合、左内頸静脈・左外腸骨静脈を採取する予定であった。

II. 生体肝移植手術

生体ドナーは血液型不適合の父親であったため、抗体除去のため術前Rituximab使用および手術前血漿交換を実施した⁴⁾。ドナーより左葉グラフトを採取し、手術時間6時間20分、出血150 mlであった。術後合併症なく13日で退院した。レシピエント手術において右側は中腋下線、左側は腹

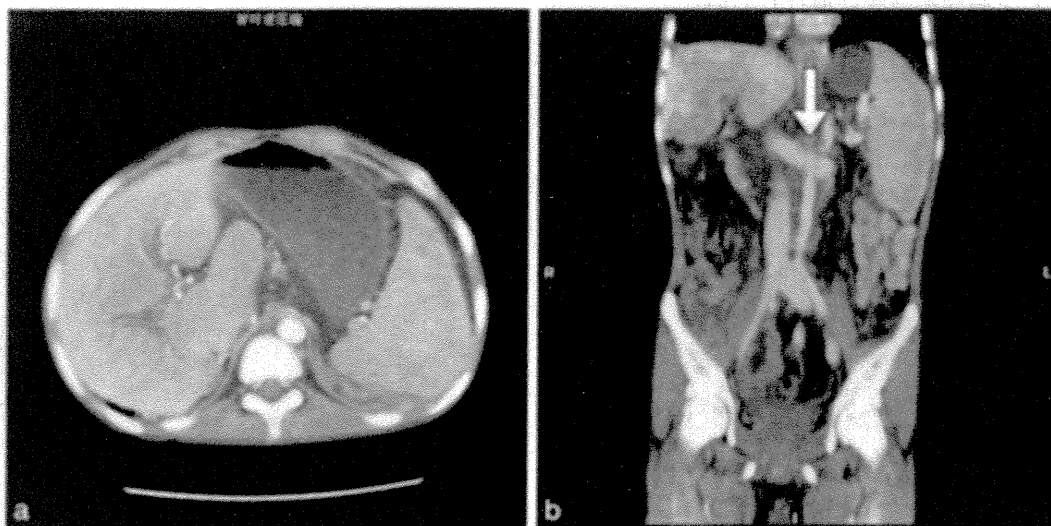


図2 腹部CT検査

- a) 肝内門脈を認めず、脾腫を認めた。
b) 脾腎シャントを認めた。

直筋外縁，上方は剣状突起に至る逆 T 字切開で開腹を行った（図 5）。門脈血流を認めない肝臓は萎縮し，肝門部動脈は逆に拡張していた。肝門部は門脈系の cavernous transformation が高度であり剝離に難渋した。Kocher 授動術を行い，右側より肝下部下大静脈を露出した。本来の門脈が存在しないため，十二指腸周囲にも側副血行路の発達が著明であった。肝下部下大静脈を下方に剝離し，左腎静脈を確保した。術前画像診断で予測していた，下腸管膜静脈を 10 cm 採取し，左腎静脈門脈吻合の間置グラフトとして使用する方針とした（図 6）。

全肝摘出後に左腎静脈を下大静脈流入部で切離

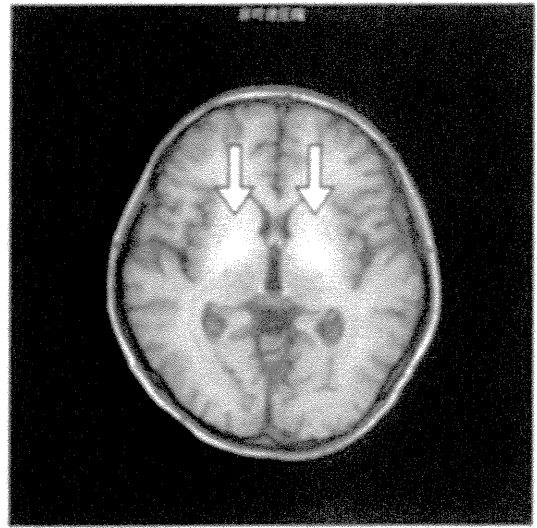


図 3 頭部 MRI

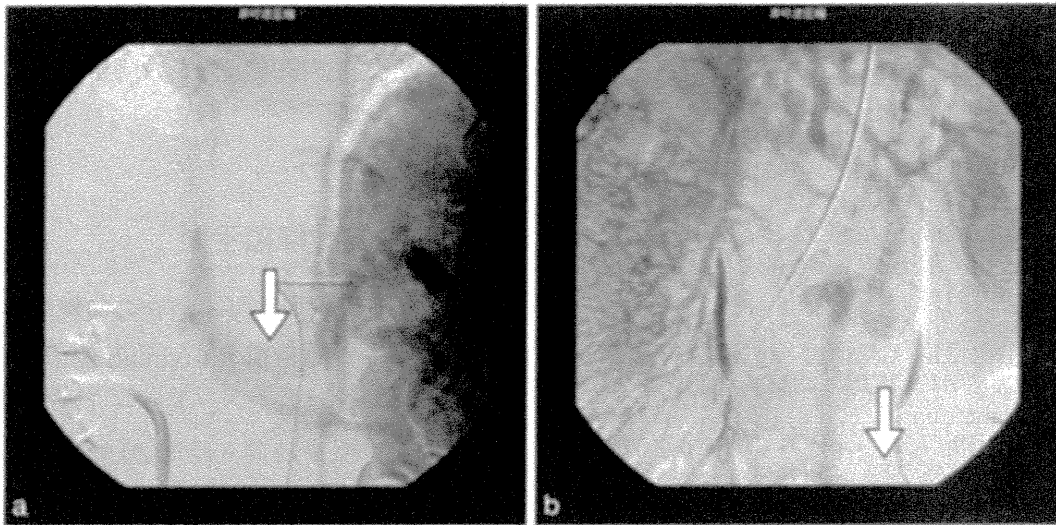


図 4 腹部血管造影

- a) 脾動脈造影で巨大な脾腎シャントを認めた。
- b) 下腸間膜静脈は逆行していた。



図 5 開腹時所見

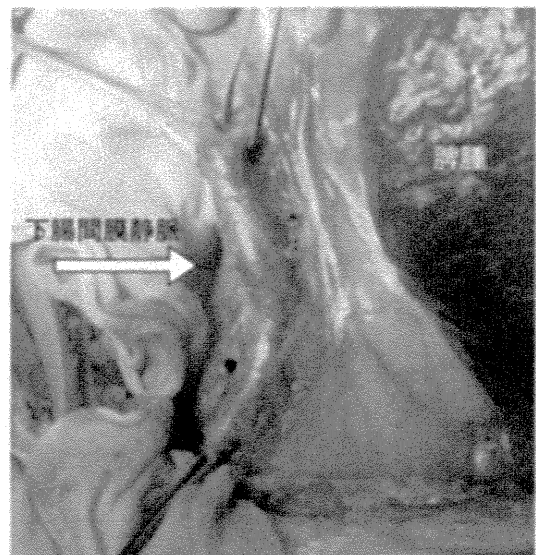


図 6 下腸間膜静脈グラフト

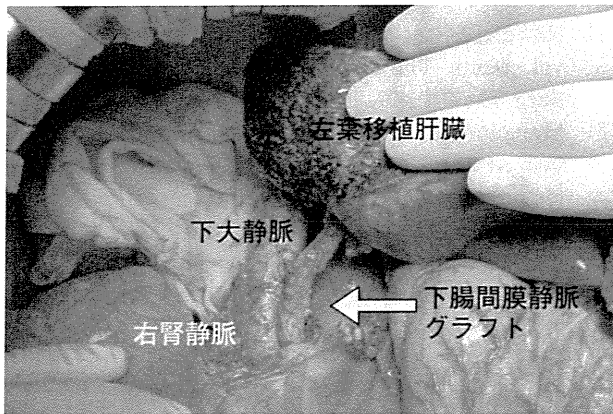


図7 移植肝臓再還流後

し、下腸管膜静脈グラフトと角度に注意しながら6-0 PDSで吻合を行った。左腎静脈切離にはPROXIMATE TX Reloadable Linear Staplers (Ethicon, USA) を使用した。巨大な脾腎シャントが存在するため、左腎静脈断端から十分なfront flowを得ることができた。移植肝臓をput inしグラフト肝静脈径を計測した。口径が小さいときは、グラフト肝静脈に切開をおき口径を広げる。レシピエント側は、グラフト肝静脈より口径が広いほうが術後肝静脈狭窄は少ない。レシピエントの右・中左肝静脈共通幹を一括クランプし、すべての肝静脈を横方向に切開して単一孔とした。下大静脈をtotal clumpし、2点支持法で後壁から連続縫合を行った。

あらかじめ左腎静脈と吻合していた下腸管膜静脈グラフトと移植グラフト門脈とを6-0 PDSで吻合し、移植肝臓を再還流を行った(図7)。矢印が下腸管膜静脈間置グラフトである。門脈吻合は間置グラフトの方向・緊張がないことを重視している。下腸管膜静脈グラフトが脆弱であった場合、左内頸静脈または左外腸骨静脈を間置グラフトとして使用する予定であった。

動脈は総肝動脈まで剝離し、胃十二指腸動脈を結紮・切離した。動脈剝離の際は牽引・電気メス使用で容易に動脈壁を損傷するので、細心の注意が必要である。9-0 ナイロン結節縫合で肝動脈吻合を行った。

門脈欠損症では、肝実質は門脈血流がなく肝動脈だけで栄養されている。このため肝動脈の発達

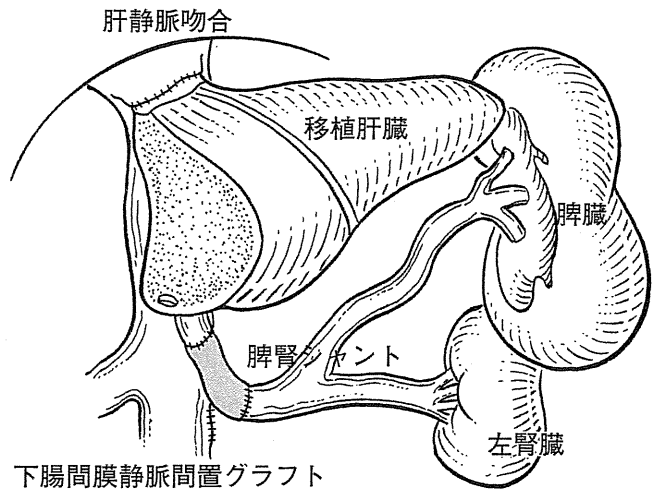


図8 左腎静脈門脈吻合シエーマ

が良好で、通常の肝動脈よりも太径のことが多いため、動脈吻合は通常の肝移植よりも比較的容易である。

肝門部の門脈系側副血行路が多く、自己胆管は再建に使用できないと判断し、胆道再建は胆管空腸吻合で行った。手術時間16時間36分、出血は46 g/kgであった。

術後胆道合併症を来しIVR治療を要した。いまだ肺内シャントは残存しているが、術後10カ月の現在元気に外来通院中である。

III. 考察

通常の肝移植手術で門脈本幹に血栓化を認めても、上腸管膜静脈・脾静脈合流部に開存性があれば、門脈血栓を除去するか、上腸管膜静脈・脾静脈合流部に間置グラフトを使用し、移植グラフト門脈と吻合が可能である。この場合、脾腎シャントの残存は、再還流後の門脈血流の低下原因になるため、脾腎シャント結紮を考慮しなければならない。

門脈血栓症の進行により上腸管膜静脈・脾静脈合流部以下まで血栓が延長しており適当な再建門脈がなく、脾腎シャントのような門脈大循環シャントを認める場合、本症例のような左腎静脈門脈吻合(renoportal anastomosis)や下大静脈門脈吻合(cavoportal hemitransposition)が行われる⁵⁾⁶⁾。本症例では左腎静脈門脈吻合を適応したが、手術でもっとも注意を要したのは再建門脈の

alignment である。左腎静脈門脈吻合後は解剖学的に、間置グラフトが十二指腸 3rd portion に圧迫される位置に置かれる。高度肺内シャント症例では潜在的多血症を有し、肝移植後の門脈血栓症・胆道合併症が多く報告されているため、術後に抗凝固療法が必須である⁷⁾。適正な再建門脈の alignment を得ることで、術後門脈合併症を避けることが可能である。本症例は門脈欠損症に対する肝移植症例で renoportal anastomosis を適応した初めての症例である。しかし、患者の肺内シャントは残存しており、移植適応時期の再考が求められる。すなわち、門脈欠損症で肺内シャント出現したら、可及的早期に肝移植を考慮すべきである。肺内シャントの長期的改善を含めて、今後も嚴重な経過観察が必要な症例である。

文献

- 1) Howard ER et al : Congenital extrahepatic portocaval shunts. The aberrant malformation. J Pediatr Surg 32 : 494-497, 1997
- 2) Morgan G et al : Congenital absence of the portal vein : two cases and proposed classification system for portasystemic vascular anomalies. J Pediatr Surg 29 : 1239-1241, 1994
- 3) Kasahara M et al : Living donor liver transplantation for congenital absence of the portal vein with situs inversus. Liver Transpl 28 : 1641-1643, 2009
- 4) Ikegami T et al : Rituximab, IVIG, and plasma exchange without graft local infusion treatment : a new protocol in ABO incompatible living donor liver transplantation. Transplantation 88 : 303-307, 2009
- 5) Sheil AGR et al : A liver transplantation technique in a patient with a thrombosed portal vein and a functioning renal-lienorenal shunt. Clin Transplant 11 : 71-73, 1997
- 6) Kato T et al : Liver transplantation with renoportal anastomosis after distal splenorenal shunt. Arch Surg 35 : 1401-1404, 2000
- 7) Egawa H et al : Long term outcome of living related liver transplantation for patient with intrapulmonary shunting and strategy for complications Transplantation 67 : 712-717, 1999

肝移植による代謝疾患の治療

かさほらむれ お
笠原群生*1ほりかわれい こ
堀川玲子*2

要旨

当院では5年間で代謝異常症34例(157例中)に肝移植を実施しており、移植成績は患者生存率97.1%と良好で、肝移植治療は代謝性肝疾患に対する安全な治療方法として認知されつつある。代謝性肝疾患は1. 酵素欠損・異常により肝硬変に至る疾患群、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群に大別される。それぞれの肝移植適応につき、自験例を踏まえて報告する。

はじめに

本邦において小児肝移植は年間約100~120症例に実施され患者生存率は5年84.9%、10年82.2%と良好で、すでに末期肝不全患者に対する安全な医療として確立された治療手段として認知されている。小児肝移植においては肝移植適応の約70%が胆道閉鎖症で、代謝性肝疾患が占める割合は約5%と比較的少ない¹⁾。非代償性肝硬変に至った場合、または肝外の重篤な症状により著しく生活の質(quality of life: QOL)が障害された場合に、代替療法として肝移植医療が考慮される。本稿では肝移植による代謝性肝疾患の治療について概説する。

I 肝移植適応になる代謝性肝疾患

代謝性肝疾患は1. 酵素欠損・異常により肝硬変に至る疾患群、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群に大別可能である(表1)。前者は肝硬変・門脈圧亢進症・黄疸などの臨床症状を有し、内科治療で改善の見込みがない非代償性肝硬変の場合、肝移植適応としている。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、精神発達遅延などによる著しいQOLの低下がみられる場合、肝移植を考慮している。

図1に1990~2009年度までの本邦における小児代謝性肝疾患に対する肝移植症例を示した²⁾。194例に生体肝移植が行われており、Wilson病59例、オルニチントランスカルバミラーゼ欠損症(ornithin transcarbamylase deficiency: OTCD)32例、カルバモイルリン酸合成酵素I欠損症(carbamyl phosphate synthetase I deficiency: CPS1D)8例、メチルマロン酸血症(methylmalonic acidemia: MMA)19例、プロピオン酸血症(propionic acidemia: PA)7例、チロシン血症(tyrosinemia)13例、グリコーゲン蓄積症(glycogen storage dis-

*1 国立成育医療研究センター移植外科
〒157-8535 東京都世田谷区大蔵2-10-1

*2 同内分泌代謝科

表1 肝移植適応になる代謝性肝疾患

| |
|---|
| <p>1. 酵素欠損・異常により肝硬変に至る疾患</p> <ul style="list-style-type: none"> α1 アンチトリプシン欠損症 Wilson 病 血色素症 チロシン血症 嚢胞性線維症 家族性肝内胆汁うっ滞 (胆汁酸代謝障害) シトルリン欠損新生児肝内胆汁うっ滞 新生児鉄蓄積症 <p>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</p> <ul style="list-style-type: none"> 高リポ蛋白血症 Criglar-Najjar 症候群 血友病 C 蛋白欠損症 糖原病 ガラクトース血症 果糖血症 プロトポルフィリン症 シトルリン血症 (2 型) 尿素サイクル障害 (オルニチントランスカルバミラーゼ欠損症, カルバモイルリン酸合成酵素 I 欠損症, アルギニノコハク酸合成酵素欠損症) 高シュウ酸尿症 1 型 有機酸血症 (メチルマロン酸血症, プロピオン酸血症) ミトコンドリア機能障害 ムコ多糖代謝異常症 ミトコンドリア肝障害 |
|---|

ease) 13 例, 高シュウ酸尿症 (hyperoxaluria) 8 例などが適応であった. その他は, Criglar-Najjar 症候群, 家族性肝内胆汁うっ滞 (familial intrahepatic cholestasis : FIC), 高リポ蛋白血症 (hyperlipoproteinemia), プロトポルフィリン症 (protoporphilia), アルギニノコハク酸合成酵素欠損症 (arginosuccinate synthetase deficinacy), Dubin-Johnson 症候群などで肝移植が適応されている¹⁾. 20 年間の症例のため年間症例数は非常に限られているが, 年度別累積症例数を勘案すると, 尿素サイクル異常症 (OTCD, CPSID など)・有機酸代謝異常症 (MMA, PA など)・糖原病は増加傾向にある (図 2). これは近年の新生児代謝性肝疾患に対する初期治療の進歩により, 出生直後の重度の高アンモニア血症・アシドーシスなどの治療が迅速・適切に行われ, 診断が比較的早期につくようになったことが挙げられる. 逆に代表的な代謝性肝疾患に対する肝移植適応であった Wilson 病の年次別症例数は減少傾向にある. こちらも弛まぬ小児科医の早期発見・内科治療の結果, 肝移植に至る非代償性肝硬変症例が減少していることにほかならない.

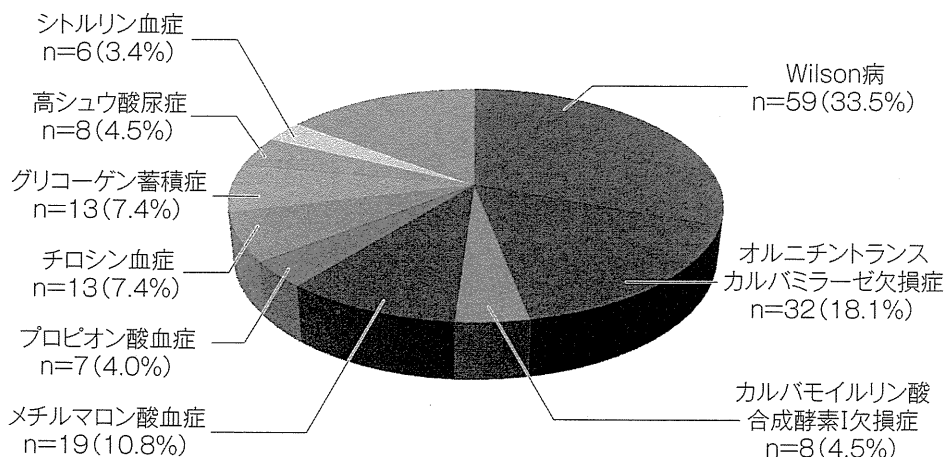


図1 本邦における小児代謝性肝疾患に対する生体肝移植 (1990~2009年, n = 194)

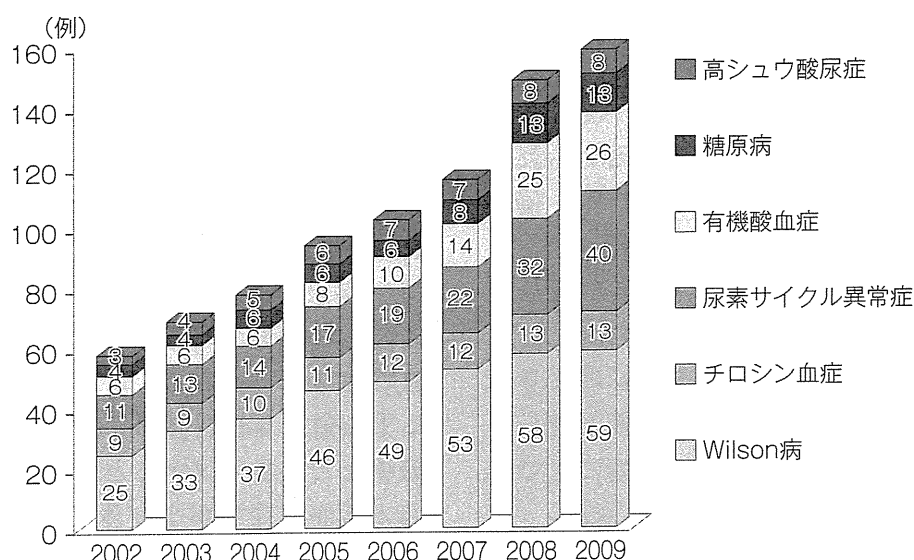


図2 代謝疾患肝移植累積症例数 (n = 194)

Ⅱ 代表的代謝性肝疾患に対する肝移植治療

1. Wilson 病

Wilson 病は 1912 年に Kinnear Wilson 博士により “progressive lenticular degeneration”, a fetal, lethal neurological disease accompanied by chronic liver disease leading to cirrhosis と記載された歴史の古い疾患である。遺伝形式は常染色体劣性遺伝で、1993 年には原因遺伝子 ATP7B が発見された。われわれも以前は臨床検査所見で確定診断をしていたが、現在は全例に遺伝子診断を行っている。ATP7B は肝細胞に多く銅輸送タンパクである金属輸送タンパク P-type ATPase を encode しており、この欠損により銅の胆汁排泄が阻害され肝臓、脳、腎臓、角膜に沈着し、さまざまな臨床症状を惹起する。多くは 5~35 歳の間で発症するが、3 歳、肝硬変で発症した症例報告も認められる。

Wilson 病の治療は D-ペニシラミン、塩酸トリエンチン、亜鉛、銅減少療法を中心とした内科治療、および甲殻類・ナッツ・チョコレート、マッシュルームを避ける食事療法である。Wilson 病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²⁾。肝移植適応は①内科治療でもコントロール不良、②完成された非代償性肝硬変、③溶血発作で発症する劇症型、である。Wilson 病では画像・組織診断上、高度の脾腫・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、移植時期判断に難渋する症例が多い。溶血発作で発症する劇症型は、背景に肝硬変を認めるため、内科治療を継続しつつも肝移植を考慮すべきである。進行する神経症状も肝移植適応になるとの報告があるが、肝移植後に神経症状が改善した自験例に乏しいため、適応は可及的早期にすべきと考えている。Wilson 病に生体肝移植を適応する場合、多くはヘテロ接合ドナーを考慮しなければならない。ヘテロ接合ドナーの場合、若干の銅代謝異常を認めるが病理学的異常は認められず、肝移植ドナーとして問題ないと考えている³⁾。

2. 尿素サイクル異常症 (OTCD, CPS1D など)

OTCD は、尿素サイクル異常症の中ではもっとも頻度が高く、8 万人に 1 人の頻度で起こると報告されている⁴⁾。尿素サイクルの酵素すべてに遺伝性酵素欠損が存在するが、OTCD のみ

がX染色体半優性遺伝で、出生直後に高アンモニア血症を呈する。診断には高アンモニア血症と尿中オロト酸高値、血中グルタミン酸高値、シトルリン低値、遺伝子変異が用いられるが、家族歴で気づかれることも多い。ヘミ接合体である男児の約1/3は新生児期に発症し重症型を呈することが多く、50%は生後1カ月以内に死亡すると報告されている。女兒のほとんどは遅発型で、X染色体不活化パターンにより重症度に差が認められる。その症状は多彩で、倦怠感・傾眠傾向から見当識障害・昏睡にまで及ぶ。治療は蛋白分解を防ぐため糖質の投与、蛋白制限、尿素サイクルと別ルートでアンモニア排泄を促すための安息香酸ナトリウムなどの投与、アルギニン・シトルリンの投与、腸内でのアンモニア産生抑制のためのラクツロース・カナマイシンなどの投与などが一般的である。薬物治療で高アンモニア血症が改善しない場合、持続血液濾過透析が用いられる。

繰り返す高アンモニア血症を発症し、その結果精神発達遅延を認めることが多い。肝移植手術後は蛋白制限、原疾患に対する投薬は必要なく、「自由に食事がしたい」との患者の強い訴えが移植適応になることもある。内科治療で管理良好な症例でも、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、 $\text{NH}_3 > 500 \mu\text{g}/\text{dL}$ または薬物治療にもかかわらず $\text{NH}_3 > 300 \mu\text{g}/\text{dL}$ が持続する場合、積極的に血液濾過透析を適応し、高アンモニア血症の治療を行っている。現在まで11例(CPS1D 6例, OTCD 5例)に肝移植を施行しているが、新生児期発症の尿素サイクル異常症では、3~10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300~3,770 $\mu\text{g}/\text{dL}$ であり、内科的薬物治療に加えて8例で積極的に血液濾過透析治療を導入したに

もかわらず、発達遅延を6例に認めた。家族歴を有する症例や発作を繰り返す症例では、今後肝細胞治療を実施する予定である。

3. グリコーゲン蓄積症(GSD1b)(糖原病1b)

GSD1b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上気道・耳鼻科領域・口腔内・臀部・皮膚感染症など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GSD1bに対して6例肝移植を実施している(表3)。移植時年齢は1歳1カ月~11歳5カ月であった。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、好中球減少も改善する症例も認められる⁵⁾。術後のQOL改善は劇的であり、積極的に肝移植を考慮すべきと考えている。

4. 有機酸代謝異常症(MMA, PA)

MMAは常染色体劣性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。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(cb1A, cb1B)である。メチルマロン酸が蓄積することにより、頻回な嘔吐、脱水、骨髄抑制、著明な代謝性アシドーシス発作をきたし、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

表2 尿素サイクル異常症に対する肝移植

| 症例 | 診断 | 性別 | 移植時年齢 | 体重 (kg) | 発症年齢 | NH3 値 (μg/dL) | 血液濾過透析 | 神経学的障害 | 結果 |
|-----|-------|----|-------|---------|------|---------------|--------|--------|--------------|
| 1 | CPS1D | 女兒 | 4カ月 | 6.1 | 日齢3 | 1,412 | 有 | 有 | 生存 2歳6カ月 |
| 2 | CPS1D | 女兒 | 6カ月 | 6.9 | 日齢2 | 1,445 | 有 | 有 | 生存 2歳11カ月 |
| 3* | CPS1D | 女兒 | 6カ月 | 7.5 | 日齢3 | 1,840 | 有 | 無 | 生存 5カ月 |
| 4* | CPS1D | 女兒 | 6カ月 | 8.0 | 日齢0 | 568 | 有 | 無 | 生存 2カ月 |
| 5* | CPS1D | 女兒 | 8カ月 | 8.0 | 日齢1 | 300 | 無 | 無 | 生存 2歳3カ月 |
| 6 | CPS1D | 女兒 | 10カ月 | 8.2 | 日齢3 | 605 | 無 | 無 | 生存 1歳7カ月 |
| 7** | OTCD | 男児 | 3カ月 | 5.6 | 日齢5 | 1,873 | 有 | 有 | 生存 1歳6カ月 |
| 8 | OTCD | 男児 | 5カ月 | 7.2 | 日齢1 | 3,770 | 有 | 有 | 生存 1歳8カ月 |
| 9 | OTCD | 男児 | 5カ月 | 7.8 | 日齢4 | 472 | 有 | 有 | 生存 2歳 |
| 10 | OTCD | 男児 | 7カ月 | 9.0 | 日齢3 | 3,210 | 有 | 有 | 生存 2歳 |
| 11 | OTCD | 女兒 | 2歳9カ月 | 13 | 2歳 | 300 | 無 | 無 | 生存 3歳 |

* : 出生前診断 ** : 出生前診断, 肝細胞移植後

表3 糖原病1bに対する肝移植

| 症例 | 性別 | 移植時年齢 | 変異 | 神経学的障害 | 好中球の減少 | 結果 |
|----|----|--------|---------------------|--------|--------|-------------|
| 1 | 男児 | 1歳1カ月 | G339D/ IVS1+1G>A | 無 | 有 | 生存 9カ月 |
| 2 | 女兒 | 1歳2カ月 | W118R/ IVS7+1G>T | 無 | 有 | 生存 2歳1カ月 |
| 3 | 女兒 | 3歳6カ月 | W118R | 有 | 有 | 生存 4歳1カ月 |
| 4 | 女兒 | 3歳10カ月 | W118R/ IVS1+1G>A | 有 | 有 | 生存 2歳5カ月 |
| 5 | 女兒 | 8歳4カ月 | W118R | 有 | 有 | 生存 4歳7カ月 |
| 6 | 男児 | 11歳5カ月 | W118R/R415X | 無 | 有 | 生存 7カ月 |

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.

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減り, 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