

培養細胞を 0.0625×10^5 /well 加えた群 (4550 ± 1334)、培養細胞を 0.125×10^5 /well 加えた群 (2599 ± 505)、培養細胞を 0.25×10^5 /well 加えた群 (1720 ± 124)であった。更に、ドナー細胞を 3rd party に変更して同様の MLR を行った。3rd party の MLR の結果は、培養細胞を加えない (control) 群 (12179 ± 1939)、培養細胞を 0.03125×10^5 /well 加えた群 (14809 ± 2476)、培養細胞を 0.0625×10^5 /well 加えた群 (12414 ± 1490)、培養細胞を 0.125×10^5 /well 加えた群 (10248 ± 3052)、培養細胞を 0.25×10^5 /well 加えた群 (5092 ± 557)であった。

臨床試験 #10

総リンパ球数は培養前の末梢血単核球 5.24×10^9 、脾細胞 1.0×10^9 から 2 週間培養後に 1.2×10^9 となった。

表面抗原の解析により、これらのリンパ球の表現型解析を行うと、 $CD3^+CD4^+$ 細胞は 2 週間培養により、末梢血 33.2%、脾細胞 27.4%から総計 48.3%へと上昇を認めた。一方、制御性 T 細胞である $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ 細胞は、末梢血中 2.6%、脾細胞中 1.8%か

ら 24.1%へと上昇した。更に $CD4^+$ 細胞中の比率を見ると、 $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ 細胞は末梢血 7.9%、脾細胞 6.58%から培養後 49.9%、 $CD4^+CD25^+CTLA4^+$ 細胞は末梢血 7.8%、脾細胞 7.53%から培養後 52.6%、 $CD4^+CD127^{low}Foxp3^+$ 細胞は末梢血 12.4%、脾細胞 8.79%から培養後 44.9%へとそれぞれ上昇した (表 19)。表面抗原を解析の結果、 $CD4^+$ T 細胞が 48.3%、 $CD8^+$ T 細胞が 19.9%と T 細胞が 68%以上を占めた。これに対し、B 細胞、NK 細胞はそれぞれ 3.19%、4.33%であった。また、単球は 2.55%であった。さらに、樹状細胞が 0.05%、顆粒球が 0.01%程度認められた (表 20)。

誘導された制御性 T 細胞を含む細胞が免疫抑制効果を示すか、MLR 法を用いて検討した (図 10)。 1×10^5 /well のレシピエント細胞、照射したドナー細胞に、培養細胞 (0.03125×10^5 /well, 0.0625×10^5 /well, 0.125×10^5 /well, 0.25×10^5 /well)を加え共培養を行いチミジンの取り込みで評価した。MLR の結果 (mean \pm SD)は、培養細胞を加えない (control)群 (25665 ± 2998)、培養細胞を

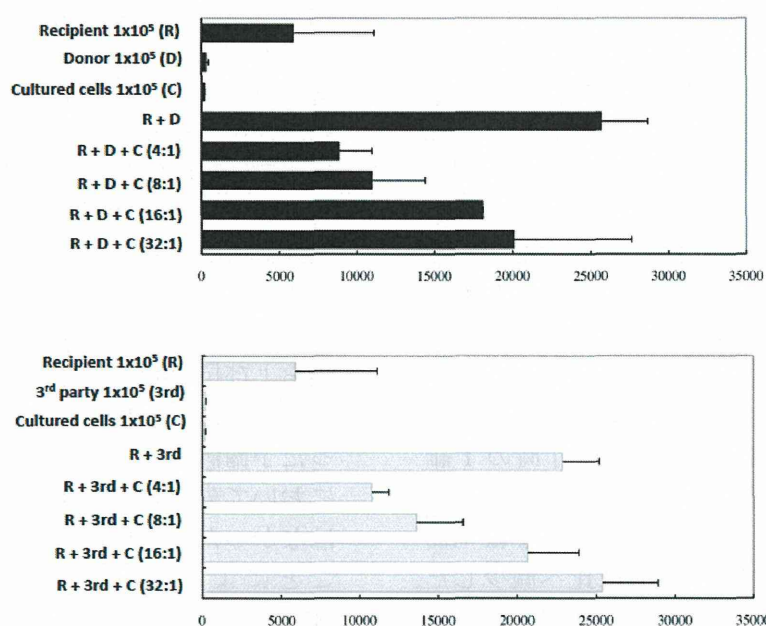
表 19. 臨床試験 10 例目の培養細胞のデータ (細胞数・Treg phenotype)

	培養開始時	1週間培養後	2週間培養後
	PBMCs Splenocytes		
リンパ球数 ($\times 10^9$) (生細胞率%)	5.24, 1.0 (98.3), (99.1)	4.25 (94.6)	1.2 (85.0)
Donorリンパ球数 ($\times 10^9$)	2.97	2.97	-
$CD3^+CD4^+$ (%)	33.2, 27.4	-	48.3
$CD4^+CD25^+Foxp3^+$ (%)	2.60, 1.80	-	24.1
$CD4^+CD25^+Foxp3^+/CD4^+$ (%)	7.90, 6.58	-	49.9
$CD4^+CD25^+CTLA4^+/CD4^+$ (%)	7.80, 7.53	-	52.6
$CD4^+CD127^{low}Foxp3^+/CD4^+$ (%)	12.4, 8.79	-	44.9

表20. 臨床試験10例目の培養細胞のデータ(細胞phenotypeのTable)

Phenotype	細胞種	培養前 (%)		2週間培養後 (%)
		PBMCs	Splenocytes	
CD3 ⁺ CD4 ⁺	CD4 ⁺ T cell	33.2,	27.4	48.3
CD3 ⁺ CD8 ⁺	CD8 ⁺ T cell	13.4,	20.7	19.9
CD3 ⁻ CD19 ⁺	B cell	6.5,	11.3	3.19
CD3 ⁻ CD16 ⁺ 56 ⁺ CD45 ⁺	NK cell	10.2,	3.68	4.33
CD14 ⁺ SCC ^{mid}	Monocyte	29.4,	1.64	2.55
Lin1 ⁻ CD11c ⁺ HLA-DR ⁺	Myeloid DC	1.9,	0.697	0.021
Lin1 ⁻ CD123 ⁺ HLA-DR ⁺	Plasmacytoid DC	0.5,	1.88	0.0338
Lin1 ⁻ CD123 ⁺ HLA-DR ⁻	Granulocyte	2.3,	0.383	0.005556

図10. 臨床試験10例目の培養細胞による免疫抑制効果 (MLR)



0.03125x10⁵/well 加えた群(20098±7525)、培養細胞を 0.0625x10⁵/well 加えた群(18100±35)、培養細胞を 0.125x10⁵/well 加えた群(10983±3436)、培養細胞を 0.25x10⁵/well 加えた群(8845±2148)であった。更に、ドナー細胞を 3rd party に変更して同様の MLR を行った。3rd party の MLR の結果は、培養細胞を加えない(control)群(22877±2315)、培養細胞を

0.03125x10⁵/well 加えた群(25402±3517)、培養細胞を 0.0625x10⁵/well 加えた群(20639±3253)、培養細胞を 0.125x10⁵/well 加えた群(13634±2934)、培養細胞を 0.25x10⁵/well 加えた群(10808±1088)であった。

D. 考察

臨床試験最終年度である本年度末までに計 10 例において、成分採血法にて採取した末梢単核球細胞を抗 CD80 抗体および抗 CD86 抗体存在下に 2 週間共培養することで、制御性 T 細胞の *ex vivo* 誘導を行った。症例 4 以降の症例では、レシピエント脾細胞も加え、制御性 T 細胞の増量を図った。

培養開始時のレシピエントリンパ球数は平均 $5.4 \pm 2.3 \times 10^9$ 個から 2 週間後には $1.4 \pm 0.8 \times 10^9$ 個へ減少した。特に初期に実施した 3 例中 2 例、症例 1 および症例 3 では、2 週間培養後のリンパ球数が 0.6×10^9 個および 0.8×10^9 個と目標である 1×10^9 個へ到達しなかった。肝移植術の際に脾摘を行い、脾臓をレシピエントリンパ球の cell source にできること、Bashuda らの original report (JCI 2005) では脾細胞を用いていること等も考慮し、症例 4 以降ではレシピエント脾細胞も培養細胞に加えた。これにより、症例 4 以降の計 7 例中 5 例で培養終了時のリンパ球数は目標とする 1×10^9 個へ到達した。また、本プロトコールによる 2 週間のリンパ球培養により、 $CD3^+CD4^+$ T 細胞および $CD3^+CD8^+$ T 細胞は各々 $30.3 \pm 9.6\%$ から $59.5 \pm 13.5\%$ へ、 $11.7 \pm 8.2\%$ から $17.8 \pm 10.8\%$ へと増加し、培養終了時の T 細胞の割合は約 77% と純化された。他方、特に B 細胞、NK 細胞、単球は *ex vivo* 培養により培養開始時に比べ減少した。

脾臓から回収し添加した細胞の細胞数は平均 $7.6 \pm 2.8 \times 10^8$ 個、生存率は平均 $93.2 \pm 10.1\%$ と問題を認めなかった。また、細胞種の割合は $CD4^+$ T 細胞が平均 $21.7 \pm 9.3\%$ と末梢血由来単核球の 30.3% に対して少なく、B 細胞は $14.2 \pm 9.4\%$ と末梢血由来単核球の 5.9% に対して高い傾向であった。また、 $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ 制御性 T 細胞につい

ては平均で $6.5 \pm 1.8\%$ と末梢血単核球の 6.8% とほぼ変わらない割合であった。

制御性 T 細胞の誘導率については、 $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ T 細胞は 6.7% から 28.1%、 $CD4^+CD25^+CTLA4^+$ T 細胞は 5.6% から 29.3%、 $CD4^+CD127^{lo}Foxp3^+$ T 細胞は 8.2% から 26.2% といずれの制御性 T 細胞 phenotype も培養後に増加した。これは培養開始時に比べ 2.4~8.8 倍増加の増加率であった。症例 1、症例 5、症例 9 の 3 症例では、培養後の $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ 制御性 T 細胞の割合が各々 5.1%、6.5%、5.6% と制御性 T 細胞の誘導率が他の症例の 10.1~43.8% に比較して低値であった。症例 1 および症例 5 は兄弟間で行われた HLA full match の肝移植症例であり、共培養の際にドナー抗原による $CD4^+$ T 細胞への刺激が十分ではなく、この事が制御性 T 細胞の誘導を妨げた可能性がある。また、症例 5 と症例 9 は原疾患が PBC である。自己免疫疾患 PBC 症例では制御性 T 細胞が少ないといわれており、PBC 症例のリンパ球は制御性 T 細胞が誘導されにくい素因がある可能性も考えられる。

誘導された制御性 T 細胞の免疫抑制能および抗原特異性を MLR において検討したが、これらの結果は教室で行った予備試験結果および東京女子医大において先行する臨床試験結果と遜色はなかった。この培養細胞を添加することにより、ドナー抗原に対する MLR は細胞数依存性的に抑制された。他方、第三者抗原に対する抑制は、ドナー抗原に比べ弱かったものの、細胞数依存性に MLR を抑制していたことから、誘導された制御性 T 細胞の多くは抗原非特異的なものであることが示唆された。なお、症例 1 および症例 5 では、ドナー抗原に対する control MLR の CPM 値も各々 481 と 2721 と非常に低値で反応不良であり、培養細胞

添加後も他の症例とは異なり明らかな MLR 抑制作用は認められず、CPM 値もまちまちであった。これについては、制御性 T 細胞の誘導効率と同様、HLA full match 間での MLR であったことが影響している可能性が考えられた。症例 2、症例 8、症例 10 は、2 週間の *ex vivo* 培養後に培養細胞に含まれる CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ 制御性 T 細胞の割合が各々 19.5%、43.8%、24.1% と高かったが、ドナー抗原刺激に対する MLR は、responder および stimulator の 1/16 の培養細胞を添加することで対 control CPM 値比は各々 87.7%、26.7%、70.5% であり、症例 3、症例 6 や症例 9 では CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ 制御性 T 細胞の割合が 5.6~13.7% であったものの、同数の細胞添加で MLR 対 control CPM 値比は各々 35.0%、18.5%、51.1% と良好な MLR 抑制効果が得られたことから、CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ 制御性 T 細胞数とドナー抗原に対する MLR 抑制は必ずしも相関していなかった。この理由には CD25 や Foxp3 を発現する細胞全てが必ずしも制御性に働くわけではない可能性、他の phenotype を発現する制御性 T 細胞や制御性 T 細胞以外の抑制性細胞が関与している可能性が考えられ、これについては T 細胞以外のリンパ球も含めた抑制性細胞の phenotype 同定を行う基礎実験が今後必要である。

E. 結論

肝移植症例計 10 例において、レシピエントおよびドナーより成分採血法にて採取した末梢単核球細胞を、4 例目以降にはレシピエント由来脾細胞を加え、抗 CD80 抗体および抗 CD86 抗体存在下に 2 週間共培養することで、CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺、CD4⁺CD127^{lo} Foxp3⁺ 制御性 T 細胞が高率に誘導された。これら誘導された制御性 T 細胞

は *in vitro* において比較的抗原特異的に MLR を抑制した。培養細胞輸注による明らかな副作用は認められず、本制御性 T 細胞を用いる細胞治療の安全性も確認された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1) 国内

口頭発表 0件

原著論文による発表 0件

それ以外（レビュー等）の発表 0件

2) 海外

口頭発表 1件

原著論文による発表 0件

それ以外（レビュー等）の発表 0件

学会発表

Nagatsu A, Yamashita K, Zaito M, Emoto S, Asahi Y, Ogura M, Ono H, Tsunetoshi Y, Goto R, Bashuda H, Taketomi A, Okumura K and Todo S. Ex-vivo Generation of Immunosuppressive Human Cells by Co-culture of Recipient and Irradiated Donor PBMCs under CD80/CD86 Costimulation Blockade. The 13th Joint Annual Congress of the American Society of Transplant Surgeons and The American Society of Transplantation, May 18-22, 2013. Seattle, U.S.A

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

1. 実用新案登録

なし

2. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業）
総括研究報告書

「制御性T細胞治療による臨床肝移植後の免疫寛容誘導の試み」

研究代表者：藤堂 省
北海道大学 大学院医学研究科 移植外科・教授
研究分担者：山下 健一郎
北海道大学 大学院医学研究科 移植外科・准教授
研究分担者：寺岡 慧
国際医療福祉大学 熱海病院・教授
研究分担者：上本 伸二
京都大学 大学院医学研究科 移植外科・教授

研究要旨：生体肝移植において、抗CD80抗体および抗CD86抗体を用い*ex vivo*で誘導した制御性T細胞を用いた新しい免疫抑制療法の臨床試験を10症例に対し施行した。輸注培養細胞量を増やすべく、4例目以降はレシピエント由来の脾細胞も併用し投与した。細胞輸注に伴う副作用は認められず、全例で安全に臨床試験を施行し得た。昨年度からの検討結果を踏まえ、本細胞治療に使用するエンドキサンは40 mg/kg, 1回投与を標準とした。本細胞治療プロトコールではCMV感染を来す可能性が高く、術後3ヶ月間はCMV予防薬の投与を行ったところ、CMV感染が問題となる症例は認めなかった。肝移植後はタクロリムス（FK）・ミコフェーノルモフェチル（MMF）・ステロイドの3剤で免疫抑制を開始し、基本的には術後1ヶ月以内にMMFおよびステロイドは中止した。経過中、FK副作用と考えられる症状が10症例中3例において認められ、シクロスポリン（CsA）へスイッチした。CsAスイッチ症例の内、2例ではラパマイシンも使用した。周術期において10症例中3例で拒絶反応が認められたものの、2症例は免疫抑制剤中止もしくは減量の最中であり、その程度も軽微で、全例で治療に速やかに反応し肝機能は安定した。結局、10症例中そのほとんどがカルシニューリン阻害剤（CNI）単独での免疫抑制となり、術後6ヶ月以降よりCNI減量に入った。CNI減量中、2症例において弱い拒絶反応が認められ減量を中止せざるを得なかったが、現時点において4症例は免疫抑制剤から完全に離脱しており、他の4症例もCNIを順調に減量中である。今後更なる経過観察が必要であるが、制御性T細胞を用いた本免疫抑制療法は安全かつ免疫抑制剤を有効に減量し得る方法であり、免疫寛容の誘導効果も期待されるものである。

A. 目的

本研究では、生体肝移植においてドナー抗原特異的な制御性T細胞を体外（*ex-vivo*）で誘導してこれを肝移植後

に輸注し、免疫抑制剤の減少に対する効果と本治療法の安全性を評価する。

B. 方法

(1) ドナーの検査
ドナーとしての適格性を判定するため、移植前に以下の諸検査を行う。

(a) 1次スクリーニング

①CT・超音波（肝胆膵）CTは multi-detector 3phase CTにて3次元での血管分岐形態を確認。

②採血（CBC、肝機能、HBV、HCV、腫瘍マーカー）

(b) 2次スクリーニング

①精神科受診

②第3内科受診

③胸腹部XP

④ECG・呼吸機能検査

⑤採血（ウイルス検査、腫瘍マーカー、凝固系、血液型、不規則抗体等）

⑥麻酔科受診

⑦自己血輸血(必要ならば行う)

(2) 患者（レシピエント）の検査

レシピエントとしての適格性を判定するため、移植前に以下の諸検査を行う。

(a) 血液検査、尿・便検査

①一般：CBC、血液像、血液型、不規則抗体スクリーニング

②肝機能：TP、Alb、T-Bil、D-Bil、ZTT、TTT、GOT、GPT、LDH、ALP、 γ -GTP、LAP、ChE、T-Cho、TG、CPK、NH₃、胆汁酸

③内分泌：FT₃、FT₄、TSH、TgAb、TPOAb、TSH receptor Ab、S-Amy、U-Amy、FBS、HBA1c

④腎機能：BUN、Cr、UA、Na、K、Cl、Ca、Mg、P、Na、Ccr

⑤凝固系：PT、PT-s、INH、aPTT、Fbg、AT-III、FDP、D-dimer

⑥感染症：HBsAg、HBcAb(←+ならHBsAb、HBcAg、HbeAb、HB-DNA(PCR法))*¹、HCV-Ab(HCV-RNA(定量,定性)、HCV-genotype)*²、

HTLV-1、HIV、梅毒 RPR 法定性、梅毒 TPLA 定性

⑦ウイルス：CMV-IgG、CMV-IgM*³、HSV-IgG、HSV-IgM、VZV-IgG、VZV-IgM、EBV-IgG、EBV-IgM*⁴

⑧真菌、原虫：カンジダ抗原、 β -Dグルカン*⁵、トキソ IgG、トキソ IgM

⑨腫瘍マーカー：CEA、AFP、AFP-L3、CA19-9、PIVKA-II、DUPAN-II

⑩免疫系：PPD（ツ反）、ツ IgG、IgM、IgA、IgE、CH-50、C3、C4

⑪自己抗体系：抗核抗体、RF、ASO、CRP、AMA(AMA-M2)*⁶

⑫その他：血清鉄、フェリチン、S-Cu、U-Cu、セルロプラスミン(一日尿中Cu)*⁸、)中ラズミン1アンチトリプシン(1アンチキモトリプシン)*⁷、prealbumin、RBP、transferrin、レニン、アルドステロン、VitD、PTH-i、オステオカルシン、血中 β 2-MG

⑬尿検査：尿糖、尿蛋白、尿沈渣、尿中NTx、尿中 β 2-MG、25(OH)-VitD

⑭便潜血：オルトトリジン、グアヤック、ラテックス

*1 HBsAg(+),もしくはHBcAb(+))の場合にHBs Ab, Hbe Ag, Hbe Ab, HB-DNA(PCR法)を測定する。

*2 HCVAb(+))の場合にはHCV-RNA定量、定性、HCV-genotype(検査科にgenotype測定を依頼)を測定する。

*3 CMV-IgM(+))の時にはCMV antigenemia C10, C11を測定する。

*4 EBV-IgM(+))の時にはEBV PCRを測定する。(SRLに校費負担で提出)

*5 真菌感染が疑われる場合、PCR(三菱)による抗原検査を実施する。

*6 PBC の場合抗ミトコンドリア抗体分画 (AMA-M2) を追加.

*7 α 1-AT 欠損症の場合は α 1-アンチキモトリプシンを測定する. (校費負担)

*8 Wilson 病の場合, 1 日尿中 Cu 排出量を測定. (治療前と治療後)

その他

1) シトルリン血症の場合は血中シトルリン濃度と肝組織中アルギニノコハク酸合成酵素を測定する.

2) HCV の genotype

(b) 画像診断

①胸部 X-ray、腹部 X-ray

②腹部 US : 放射線科依頼—門脈の開存性, 径, 血流方向. 腫瘍の有無など.

③胸部~腹部 CT : 胸部~骨盤腔を含める.

* 上腹部は血管走行を見るため下記の Multidetector row CT による 3 phase 画像

胸部、下腹部、骨盤腔は delay phase のみで良い.

④腹部 dynamic MRI

⑤頭部 MRI (精神科受診)

⑥脳波 (精神科受診)

⑦上部消化管内視鏡

< 画像診断の追加検査 >

・ 40 才以上の女性の場合 : マンモグラフィ

・ 40 才以上の場合 : 大腸内視鏡

・ 肝細胞癌の場合

各種検査、他科受診の前に脈管侵襲の有無をまずチェックする.

次いで遠隔転移の有無 (骨シンチ、胸部 CT、頭部 MRI) を検査する.

Micrometastasis の概念から末梢血、骨髓血の AFP-mRNA について 3 回検索する.

Multidetector row CT による 3 phase 画像を行う。

CT-AP に関しては、患者によりその施行を決定する。

脈管の閉塞, 異常が疑われた場合 : MRI-Angio、血管造影、超音波血管内エコー

(c) 呼吸循環器系検査

①呼吸機能検査(DLCO 検査を同時に実施する)

②肺内シャント率測定 : A-aDO₂ ならびに PaO₂ (FiO₂ 1.0)も評価する

③心電図

④心エコー : 30 才以上は必須. 小児の場合は小児科心臓班に依頼する.

⑤血液ガス分析 : room air で検査する.

< 肺高血圧症が疑われた場合 >

収縮期肺動脈圧(SPAP)が 30mmHg 以上の場合 : 術前に Prostacycline の持続投与が必要になるため、右心カテでの測定が必要となる.

(d) 他科受診による評価

①循環器内科 : 成人の心エコー検査

②耳鼻科 : 中耳炎, 副鼻腔炎などの耳鼻科的感染症, 疾患の有無.

③歯科 : 齲歯の有無及び治療. (保存補綴科)

④整形外科 : 胆汁うっ滞性肝疾患の場合に骨塩定量、体脂肪率による栄養評価

⑤婦人科 : 婦人科的感染症, 子宮癌の有無.

⑥第 3 内科 : 上下の消化管内視鏡検査依頼、内科的適応評価

⑦精神科 : 小児例では両親がそろって受診. 小児患者自身は脳波・MRI のみの受診.

⑧小児科 : 小児例では小児神経科、小児循環器 (心エコー依頼) を受診

⑨麻酔科 : 全身麻酔実施可否の判断

(3) 生体肝移植の実施方法

生体ドナーの肝グラフト採取術および対象患者の肝移植術、ならびに生体ドナーと肝レシピエントの術後管理法は現在、北海道大学病院第一外科にて行っている標準的肝移植術および術後管理法に準じる。

(4) 肝移植後の検査

肝移植術後は、定期的な血液生化学検査および必要に応じて肝生検を行い、グラフトの機能や拒絶反応の有無を評価する。なお、臨床データは下記診療情報を利用する。

(a) 患者基本情報：年齢、性別、ID番号

(b) 疾患情報：臨床診断名、病理診断名、血液生化学検査所見、病理組織学的所見など

(c) 定期的血液生化学検査は下記の通り(移植直後で入院中は基本的に毎日行う)

①一般：CBC、血液像

②肝機能：TP、Alb、T-Bil、D-Bil、ZTT、TTT、GOT、GPT、LDH、ALP、 γ -GTP、LAP、ChE、T-Cho、TG、CPK、NH₃、胆汁酸

③腎機能：BUN、Cr、UA、Na、K、Cl、Ca、Mg、P、Na

④凝固系：PT、PT-s、INH、aPTT、Fbg、AT-III、FDP、D-dimer

⑤尿検査：尿糖、尿蛋白、尿沈渣

・原疾患によっては下記検査を追加する(1-2/週もしくは1-2/月)

⑥感染症：HBsAg、HBsAb、HCV-RNA(定量)

⑦ウイルス：CMV antigenemia (C10, C11)、EBV PCR

⑧真菌、原虫：カンジダ抗原、 β -D グルカン

⑨腫瘍マーカー：CEA、AFP、AFP-L3、CA19-9、PIVKA-II

(5) 免疫抑制療法

(a) 本研究での免疫抑制療法(制御性T細胞を用いた免疫抑制療法)

①プログラフ：移植術後3日目から投与(1日2回)開始し、血中トラフ濃度8-12 ng/mlを維持する。全身状態や肝機能検査、拒絶反応の有無などにより血中トラフ濃度を5-7 ng/mlまで漸減した後は、これを維持する。

①セルセプト：移植手術翌日から500 mg/dayを内服開始し、1週間後に1000 mg/dayへ増量する。必要に応じて2000 mg/dayまで増量する場合がある。

②ステロイド：再灌流時-1000 mg, 術翌日からは20 mg/dayを1週間投与する。基本的には1週間毎に5 mg/dayずつ減量する。

上記の標準的免疫抑制療法に加え、以下の治療を行う。

①サイクロフォスマイド：術後4日目から25 mg/kg/dayを2日間

②培養リンパ球(制御性T細胞)：術後13日目に誘導細胞を輸注

(6) 免疫抑制剤からの離脱

定期的に血液生化学検査や免疫学的検査および必要に応じて肝生検を行い、グラフト機能、拒絶反応の有無や免疫状態を注意深くモニタリングし、免疫抑制剤(コルチコステロイド>ミコフェーノール・モフェチール>タクロリムス)を段階的に減量する。

免疫抑制剤の減量は以下の通りとする。

(a) ステロイド

現行の標準的免疫抑制プロトコールに従い、20 mg/dayの初期量から1週間ごとに5 mg/dayを減量し、術後5週目に中止する。

(b) セルセプト

現行の標準的免疫抑制プロトコールに従い、500 mg/dayの初期量から1週

間に 1000 mg/day、2 週間目に 1500 mg/day まで増量する。術後 5 週目から 500 mg/day を 1 ヶ月ごとに減量し、術後 4 ヶ月目に中止する。

(c) タクロリムス

術後 6 ヶ月間は、2 分割/日投与による血中トラフ濃度を 8-12 ng/ml で維持し、その後は半量に漸減する。その後は、ピッツバーグ大学の漸減スケジュールを遵守して行う。

- ①1 日一回 (2-3 ヶ月間)
- ②1 日おき (2-3 ヶ月間)
- ③週 3 回 (2-3 ヶ月間)
- ④週 2 回 (2-3 ヶ月間)
- ⑤週 1 回 (2-3 ヶ月間)
- ⑥投与中止

(7) 拒絶反応の診断と治療

(a) 拒絶反応の診断

①身体所見

発熱・全身倦怠などの出現に注意をはらう。

②血液/生化学的検査

T-Bil/AST/ALT/ γ -GTP などのいずれかが基準値の 2 倍以上に上昇した場合、拒絶反応を疑い、直ちに肝生検を行い、迅速診断で確認する。その後永久標本で確認する。免疫組織染色、浸潤細胞の解析用に凍結切片を保存しておく。

③生検肝の病理学的診断

Glisson 鞘の細胞浸潤、胆管上皮細胞異形、細胆管壁内リンパ球浸潤、中心静脈炎などの所見により拒絶反応の組織診断を行う。特に免疫抑制療法中止後は、肝機能検査が正常でも肝繊維化や慢性拒絶の存在があり得るので、免疫抑制剤中止直前、中止後 1 年以内は 3 ヶ月毎、2 年目は 6 ヶ月毎、その後は 1 年毎に肝生検を定期的に行う。

(b) 拒絶反応の治療

①細胞性拒絶反応

ステロイドパルス療法を行い、これに不応性の場合は OKT3 モノクローナル抗体を静脈内投与する。ステロイドパルス療法は、ソルメドロール 200 mg の静脈内投与し、その後 40 mg/day で漸減・減量する。

②液性拒絶反応

ステロイドパルス療法を行い、その後直ちに血漿交換を行う。必要に応じてリツキシマブ 375 mg/m²、OKT3 モノクローナル抗体を静脈内投与する。

③拒絶反応後の治療

上記の方法により拒絶反応と診断・治療された場合には、本プロトコールからによる免疫寛容導入療法は中止となり、従来免疫抑制療法へと移行する。すなわち、カルシニューリンインヒビター、代謝拮抗薬、ステロイドによる免疫抑制療法が再開とする。

C. 結果

症例 1

39 歳、男性

疾患名：C 型肝硬変

血液型：A 型(+)

術前状態：UNOS 2B

肝障害度：Child-Turcotte-Pugh：12 = Child C、MELD：16

HLA typing: A-24/-, B-52/54, Cw-01/12, DRB1- 04/15, DQB1-03/06

(DONOR: A-24/-, B-52/54, Cw-01/12, DRB1-04/15, DQB1-03/06)

入院時現症：身長 176.2cm、体重 65.1 kg、意識レベル 清明、肝性脳症認めない。眼球結膜に軽度黄染認め、眼瞼結膜貧血なし。Vascular spider (+), Pulmar erythema (-), Gynecomastia (-)

胸部：呼吸音清 心雑音なし。

腹部：軽度膨満。圧痛なし。脾臓を左肋弓下に 2 横指触知します。手術痕無し。

四肢：下肢に軽度の浮腫を認める。

表1

WBC	2400 ↓	3000 ↓	HBs Ag	0.00	AFP	7.2
RBC	272 ↓	238 ↓	HBs Ab	2.34	AFP-L3	5.9
Hb	10.6 ↓	9.1 ↓	HBc Ag	0.4	CEA	5.9
HCT	29.2 ↓	25.9 ↓	HBc Ab	18.6	CA19-9	133.3 ↑
PLT	4.4万 ↓	5.1万 ↓	HBc Ab	0.17	PIVKA-II	23
不規則抗体	(-)		HBc Ab 200倍希釈	未検査	DUPAN-II	62
PMN /Lymph	2628/432		HB-DNA	(-)	Fe	175
PT	19.6 ↑	19.3 ↑	HCV Ab	9.47 ↑	フェリチン	692 ↑
PT-INR	1.74 ↑	1.73 ↑	HCV-RNA(定量)	6.4 ↑	S-Cu	107
APIT	58.5 ↑	56.5 ↑	HCV genotype	1	U-Cu	2
HPT	28 ↓		HIV-1	(-)	セルロプラスミン	26.9
AT-III	26 ↓	25 ↓	HIV	0.14	Zn	39 ↓
Fibrinogen	111 ↓	99 ↓	TPHA	(-)	α -1アンチトリプシン	136
FDP	11.8 ↑	7.7	ガラス板	(-)	抗核抗体	40 ↑
TP	6.6 ↓	6.8	CMV IgG	63.9 ↑	AMA	(-)
ALB	2.2 ↓	3.0 ↓	CMV IgM	<1.0	RF	9.7
T-Bil	4.7 ↑	5.3 ↑	EBV IgG	7.8 ↑	ASO	938 ↑
D-Bil	2.1 ↑	2.7 ↑	EBV IgM	1.8 ↑	CRP	0.17
TTT	27.6 ↑	8.9 ↑	VZV IgG	52.8 ↑	IgG	3277 ↑
ZTT	10.9 ↑	21.7 ↑	VZV IgM	1.8 ↑	IgM	203 ↑
GOT	93 ↑	72 ↑	HSV IgG	(-)	IgA	502 ↑
GPT	82 ↑	58 ↑	HSV IgM	(-)	IgE	7.7
LDH	370 ↑	330 ↑	トキソIgG	(-)	CH-50	14 ↓
g-GTP	23	18	トキソIgM	(-)	C3	30 ↓
ALP	534 ↑	511 ↑	カンジダ抗原	(-)	C4	6 ↓
LAP	102 ↑	83 ↑	β -D-グルカン	7.7	尿糖	(-)
Ch-E	71 ↓	53 ↓	FT3	2.7	尿蛋白	(-)
T-Cho	138	102 ↓	FT4	1.2	尿沈査	(-)
TG	58	52	TSH	4.6 ↑	尿比重	1.012
HDL-Cho	17 ↓	20 ↓	TgAb	<0.12	尿中WBC/視野	1~4
CPK	312 ↑	319 ↑	TPOAb	<0.05	尿中RBC/視野	1~4
NH ₄	66	108 ↑	TRAb	(-)		
BUN	15	13	FBS	109	便潜血	(-)
Cr	0.84	0.68	HbA1c	5.0	グアヤック	(-)
24-Ccr	84.4 ↓		HbA1c	4.3	ラテックス	(-)
UA	4.9	3.9	prealbumin	3.3 ↓	骨塩定量(BMD)	0.747
Na	133 ↓	127 ↓	RBP	0.4 ↓	T-score(対若年成人)	-2.5
K	3.8	3.8	transferrin	140 ↓	Z-score	-1.9
Cl	100	98 ↓	renin	16.0 ↑	オステオカルシ	3.1
Ca	8.6 ↓	8.6 ↓	aldosterone	325 ↑	s-PTH	12
Mg	2.1	2.0	B2mg	0.173	尿中NTx	
P	3.0	2.3 ↓	NAG/Cr	48.1 ↑		
T-Amy	79	121	ICG15%	未検査		
U-Amy	72					
胆汁酸	444.8 ↑	665.4 ↑				

術前検査：

血液生化学検査：（表1）

ECG：

NSR、HR80、ST変化なし

呼吸機能検査：

%VC 120.7%：FEV1/FVC 84.5% シヤント4.5%

心エコー(循内)：肺高血圧なし。

FS:40%と心機能良好

血液ガス：

PO₂-99.4, PCO₂-35.9, pH-7.51, BE-5.2, SpO₂-98.7, HCO₃・28.1 (Room air)

PO₂-599, PCO₂-33.3, pH-7.52, BE-4.3, SpO₂-100, HCO₃・26.9 (FiO₂ 1.0)

胸部XP：骨軟部陰影に異常なし。両側 CPA sharp。肺野に異常影なし、CTR：47.0%。

腹部XP：

骨軟部陰影に異常なし。異常ガス像認めない。

腹部エコー：

肝表面は凹凸不正、肝辺縁は鈍。右葉は萎縮。門脈血流は求肝性。脾臓は114×42.7 mm。spleen 下極寄りに副脾あり(10.6×6.8 mm)。pancreas body に境界明瞭な嚢胞性病変(7.2×3.2 mm)一ヶ認め、MPD との連続性みられ IPMN 分枝型を疑う。

胸部CT：

肺野に腫瘍性病変認めない。縦隔、肺門リンパ節に腫大を認めない。胸水なし。

腹部CT：

肝臓は全体に萎縮し、表面凹凸不整・辺縁鈍で肝硬変の所見。肝臓周囲に腹水を認めます。肝内に明らかな腫瘍影なし。

動脈：腹腔動脈から脾動脈、左胃動脈が分岐しその後総肝動脈、固有肝動脈となる。肝門部で左右の肝動脈に分岐し、中肝動脈は左肝動脈から分岐する。PHAの長さ10 mm、径5.3 mm、左右肝動脈は分岐部でそれぞれ径3 mm。門脈：IMVは脾静脈に合流。SMVと脾静脈とが合流し、門脈本幹を形成します。門脈本幹は、太い coronary を合流後、肝門部で左右に分岐します。本幹径は11 mm、Coronary合流部から左右分岐部までの長さは45 mm、左枝は長さ20 mm、径10 mm、右枝は長さ15 mm、径10 mm。静脈：右肝静脈は独立して、中肝静脈と左肝静脈が共通幹を形成し、それぞれ下大静脈に還流する。右肝静脈は径7 mm、左中共通管は径6 mm。食道静脈瘤、脾腎短絡路、傍臍静脈拡張を認める。その他、腹腔内、骨盤内臓器に明らかな異常認めない。左肝動脈径：3.1 mm 右肝動脈径：3.9 mm 門脈本幹：14.8 mm 右枝：7.7 mm 距離10.1 mm 左枝：9.4 mm 距離15

mm

左肝静脈：5.1 mm 中肝静脈：5.7 mm

右肝静脈：4.1 mm

MRI (EOB) :

肝全体の萎縮と肝辺縁に凹凸不整あり。肝内に明らかな腫瘍の形成なし。門脈系の側副路の描出がある。

上部消化管内視鏡 :

食道静脈瘤は2条あり F2LsCwRC(-)、F1LmCwRC(-)を認める。胃静脈瘤なく、体上部全体に浮腫状、発赤あり portal hypertension gastropathy の所見。

下部消化管内視鏡 :

特記すべき所見なし。

頭部MRI :

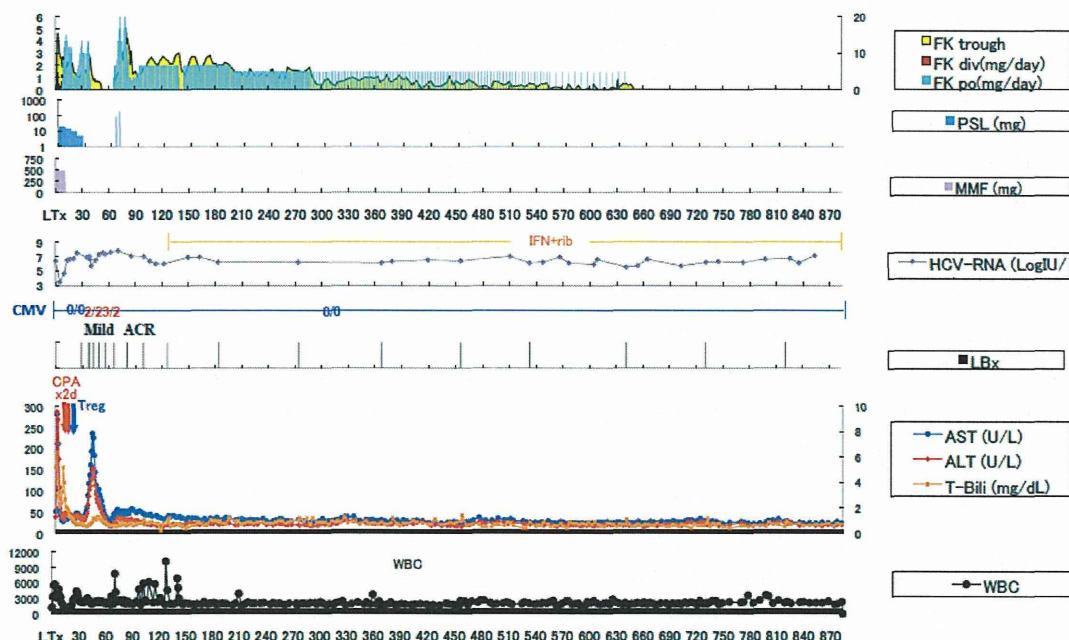
T1で両側淡蒼球から大脳脚内側頭側にかけて、高信号を認める。慢性肝機能障害などの所見。

移植手術：弟の肝左葉グラフトを用いた生体肝移植術

術後経過 : (図1)

術後はICUにて人工呼吸器下に全身管理を施行。呼吸・循環動態は安定しており、グラフト機能は順調に回復。プロトコール通りにプログラフ、ステロ

図1. 臨床経過(症例1)



イド、セルセプトの3剤で免疫抑制を開始し、術後4および5日目に、エンドキサン 25 mg/kgを投与した。血清肝逸脱酵素値は順調に低下し、術後7日目にはほぼ正常値まで復した。9日目より経口摂取を開始した。エンドキサンによりWBCは900 mm³まで低下し、11日目にセルセプトを中止し、13日目に予定通り、培養リンパ球を輸注した。細胞輸注に伴う明らかな副作用は認められなかった。この間、ステロイドは漸減し、28日目にはプログラフ単剤での免疫抑制となった。術後34日目にCMV antigenemia陽性となり、AST/ALT再上昇認められ、肝生検を施行。CMV hepatitisと診断され、免疫抑制を完全に中止し、デノシン投与を開始し、CMV感染は軽快した。また、術後は一過性に低値となっていた血中HCV-RNA値が6台まで上昇し、C型肝炎再発疑われ、DFPPを計3回施行した。その後、AST/ALT値は漸減し正常化した。免疫抑制は中止したままで経過観察を行った。術後65日目にAST/ALT値が軽度上昇し、肝生検を施行。Mild ACRと診断され、ソルコーテフ投与後、プログラフによる免疫抑制を再開した。その後は肝機能も安定したまま順調に経過し、プログラフ1 mg/day (troughlevel: 7 ng/ml)単独での免疫抑制で退院となった。退院後は外来通院にて経過観察を施行。術後98日目の肝生検でC型肝炎再発が疑われ、インターフェロン・リバビリン治療を開始した。外来フォローにて、随時血液検査や肝生検など施行しているが、拒絶反応を認めず、肝機能良好にて術後6ヶ月目よりプログラフ減量開始。減量中も拒絶反応を認めず、術後21ヶ月目より免疫抑制フリーとなった。免疫抑制剤中止後3ヶ月および6ヶ月経過した時点で肝生検を実施しているが、拒絶反応を示唆する所見はなく、HCVについても

A1, F0/1でグラフトの炎症・繊維化は進んでいない。現在、免疫抑制中止から8ヶ月経過しているが、肝機能は安定しており (T-Bil/AST/ALT/γ-GTP: 0.7/25/20/16)、拒絶反応の兆候を認めない。

症例 2

63歳、男性

疾患名：アルコール性肝硬変

血液型：B(+)

術前状態：UNOS 2B

Liver damage: C、Child-Turcotte-Pugh : 10点=C、MELD : 14

HLA typing: A-24/-, B-40/52, Cw-08/12, DR -09/15, DRw-09/15, DQ-03/06

身体所見：意識：清明、肝性脳症無し。
眼球結膜軽度黄染(+), 眼瞼結膜軽度貧血(+)

体表面：Vascular spider (+), Pulmar erythema (-)

胸部：心音・呼吸音異常無し。

腹部：膨満・軟、圧痛なし。腹水少量。
肝/脾：触知せず。

四肢：上肢および下肢浮腫なし。

術前検査：

血液生化学検査：(表2)

ECG:

HR : 75、NSR+PVC

呼吸機能検査：

%VC 167.6、1秒率 58.5% Shunt率 : 9.9%, %DLCO : 67.4%

血液ガス：

PO₂:65.5, PCO₂: 30.8, pH:7.485, BE: 0.3, SpO₂:93.1%, HCO₂:23.0 (Room air)

PO₂:495, PCO₂ : 26.1, pH : 7.515, BE : -1.2, SpO₂ : 100, H₂CO₃-20.9, シャント率 : 9.9 (FiO₂=1.0)

胸部 XP:

骨軟部陰影に異常なし、両側CPAsharp、肺野クリア。CTR : 36.4%

腹部 XP:

骨軟部陰影に異常なし、異常腸管ガスなし。右下腹部に腹腔内カテーテルを認める。

心エコー(循内):

左室内腔の拡大及び軽度の左房拡大を認めるが、EF 66%であり手術に支障なし。

腹部エコー:

肝表面-肝実質は萎縮し、軽度凹凸不整、辺縁は鈍化しており肝硬変の所見。肝内変化-左葉肝内胆管拡張を認めるが、内腔は開存しており、壁肥厚や tumor、stone の閉塞性病変は指摘できず。Ascites: 肝表面、脾周囲、ダグラス窩に少量、Spleen-13.8x4.6 cm、脾腫あり。

Main Portal Trunk-15.2 mm、血流は求肝性、Flow:1.54 L/min。

腹部 CT:

肝表面は凹凸不整、辺縁は鈍、肝は萎縮しており肝硬変の所見。

脾臓は 13.8x4.6 cm と腫大し脾腫の所見。肝外側区に肝内胆管の拡張を認めるが、明らかな腫瘍性病変認めない。腹腔内に腫瘍性病変認めない。

動脈: Celiac から脾動脈、左胃動脈、総肝動脈が分岐。総肝動脈から先に左肝動脈が分岐した後 GDA 及び右肝動脈が分岐。中肝動脈は左肝動脈からの分岐。LHA:2.2 mm, MHA:2.7 mm, RHA:4.6 mm。

門脈: SMV と脾静脈が合流し本幹を形成。肝門部で左右に分岐し、右枝から前後区域枝が分岐している。左枝は UP を形成している

門脈径は 13.5 mm、本幹の長さは 5.0

表2

WBC	4000	HBs Ag	0.00	AFP	4.3
RBC	320	HBs Ab	0.22	AFP-L3	0
Hb	10.6	HBc Ab	0.15	CEA	7.9↑
HCT	31.4			CA 19-9	114.2↑
PLI	9.6			PIVKA-II	20
不規則抗体	(-)	HCV Ab	(-)	DUPAN-2	182
PMN/Lymph				Zn	53
PI(PT%)	15.6	HTLV-1	(-)	Fe	284
PI-INR	1.39	HIV	(-)	フェリチン	72
APTT	54.3	TPLA	(-)	S-Cu	107
D-dimer	12.59			U-Cu	4
AT-III	45	CMV IgG	133.1	セルロプラスミン	28.8
Fibrinogen	133	CMV IgM	<1.0	α1-アンチトリプシン	181
FDP	20.8	EBV IgG	14.7		
TP	6.5	EBV IgM	<1.0	抗核抗体	80
ALB	2.7↓	VZV IgG	509	AM2A	(-)
T-Bil	4.3↑	VZV IgM	<1.0		
D-Bil	1.9↑	HSV IgG	7.7	RF	2.8
TTI	7.3	HSV IgM	<0.8	ASO	53
ZIT	19.2	トキソIgG	(-)	CRP	0.37
GOT	35	トキソIgM	(-)	QIF	(-)
GPT	14	カンジダ抗原	2	IgG	1707
LDH	333	β-D グルカン	<6.0	IgM	312
g-GTP	23	FT3	1.97	IgA	717
ALP	473↑	FT4	1.71	IgE	53.3
LAP	76	TSH	4.00	CH-50	22.4
Ch-E	75↓	FBS	161	C3	44
T-Cho	95	HbA1c	5.0	C4	8
TG	44	prealbumin	5.5	尿糖	(-)
HDL-Cho	50	RBP	0.4	尿蛋白	(±)
CPK	226	transferrin	222	尿沈査	
NH ₄	34			尿比重	1.02
BUN	13	B2mg	2.58	尿中WBC/視野	<1
Cr	0.79	B2mg/U	0.045	尿中RBC/視野	1~4
Ccr	69.9↓			尿中NTx	1306.5
UA	5.1	NAG/U	27.7	レニン	31.2↑
Na	132			アルドステロン	457↑
K	3.5	s-PTH	38	25(OH)-VitD	21
Cl	98	オステオカルシン	2.5	抗TPO抗体	<0.05
Ca	8.5			抗サイログロブリン抗体	<0.12
Mg	2.2			TSHRAb	(-)
P	3.3			便潜血	(-)
T-Amy	94				
U-Amy	284				
胆汁酸	312.1				

cm。左枝径は 10.5 mm、右枝径は 12.5 mm。

静脈：左・中肝静脈が共通幹を形成し、右肝静脈が独立して IVC に流入する通常分岐。共通幹径 8.8 mm、右肝静脈径 8.3 mm。

上部消化管内視鏡：

胃十二指腸潰瘍癒痕、食道静脈瘤 EVL 後癒痕のみ。

大腸ファイバー(前医)：

S 状結腸～直腸に 3-4mm 大の Is polyp 多数。

胸部 CT：

両肺野気腫性変化を認める。腫瘍性病変無し。縦隔リンパ節腫大無し。

頭部 MRI：

脳室・脳溝は軽度拡大。両側淡蒼球に左右対称性の高信号を認め慢性肝障害の所見。両側大脳白質に左右対称性の高信号を複数認め加齢性変化。その他、明らかな異常なし。

EOB-MRI：

肝外側区肝内胆管拡張を認めるが、肝内に腫瘍性病変なし。

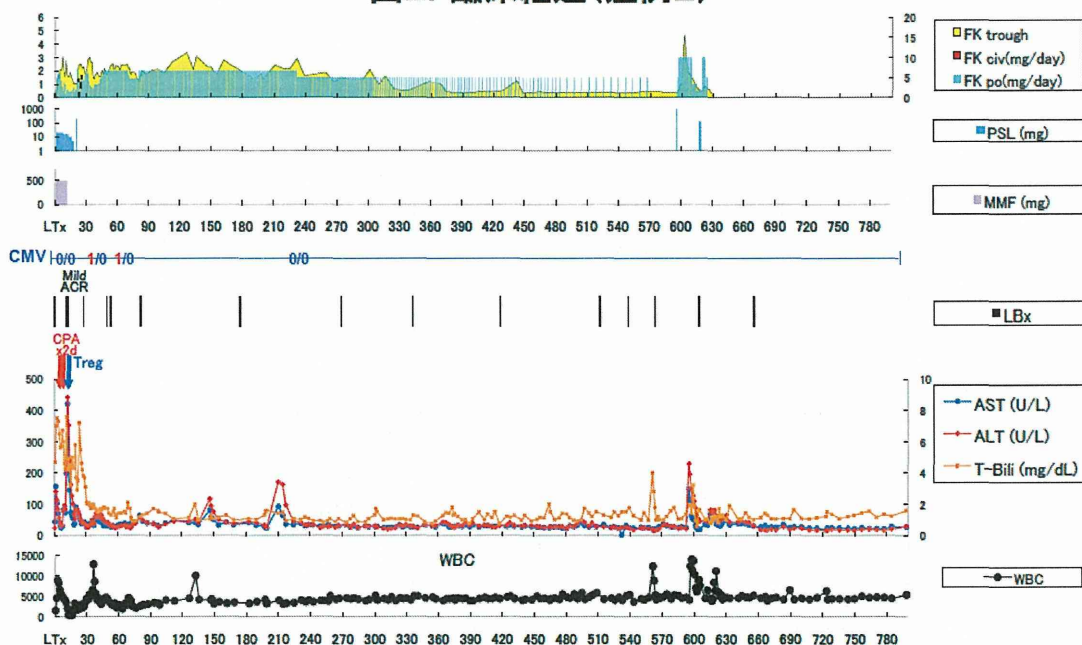
移植手術：息子の肝左葉グラフトを用

いた生体肝移植術 (GV 344g、GV/SV 28.6%)。過小グラフトのため、門脈一下大静脈シャントを増設した。

術後経過：(図 2)

術後はICUにて人工呼吸器下に全身管理を施行。呼吸・循環動態は安定しており、グラフト機能は順調に回復。プロトコール通りにプログラフ、ステロイド、セルセプトの 3 剤で免疫抑制を開始し、術後 4 および 5 日目に、エンドキサン 25 mg/kg を投与した。血清肝逸脱酵素値は順調に低下していたが、体位変換を契機にグラフト裂傷をきたし、AST/ALT は再上昇した。エンドキサン投与により WBC は 400 mm³ まで低下し、G-CSF 投与が必要であった。11 日目にセルセプトを中止し、13 日目に予定通り、培養リンパ球を輸注した。細胞輸注に伴う明らかな副作用は認められなかった。ステロイドも漸減し、17 日目にはプログラフ単剤での免疫抑制となった。術後 20 日目に AST/ALT 値が軽度上昇し、肝生検を施行。Mild ACR と診断され、ソルコーテフ投与後、プログラフを trough 値 7-8 ng/ml まで増

図 2. 臨床経過(症例 2)



量した。術後22日目に門脈—下大静脈シャント閉鎖術を施行。一過性に再上昇していたAST/ALTはその後漸減、全身状態も安定し、退院。外来通院にて経過観察を行い、術後6ヶ月目よりプログラム減量を開始。外来通院にて定期的に肝機能チェックしているが、拒絶反応を認めず経過。術後約1年6ヶ月目から免疫抑制剤を中止した。その後、1年8ヶ月目にグラフト中肝静脈血栓症に起因する血清AST/ALT値の上昇を一過性に認めたが、肝生検にて拒絶反応を疑う所見無く、免疫抑制剤フリーの状態です。約8ヶ月経過し、肝機能は安定している(T-Bil/AST/ALT/γ-GTP: 1.8/24/22/12)。

症例 3

56 歳、男性

疾患名：NASH 肝硬変

血液型：AB(+)

術前状態：UNOS2B

Liver damage: Child-Turcotte-Pugh : 13 点=C、MELD : 18

Lymphocyte Cross Match: TW(5%), BW(5%), BC(5%), FACS:24.0%

HLA typing: A-02/-, B-40/40, Cw-03/-, DRB1- 04/04, DQB1-04/04

(DONOR: A-02/24, B-40/40, Cw-03/15, DRB1-04/11, DQB1-03/04)

身体所見：

意識：清明、肝性脳症無し

眼球結膜黄染(+), 眼瞼結膜貧血軽度

体表面：Vascular spider (-), Pulmar erythema (-)

胸部：呼吸音異常無し

腹部：膨満。腹水大量に貯留する肝/脾：触知せず。

四肢：軽度下腿浮腫あり。

術前検査：

血液生化学検査：(表 3)

ECG:

HR : 90、NSR

呼吸機能検査：

%VC 82.2%、1 秒率 87.4%、シャント率 9.3%、DLCO 74.4%

血液ガス：

PO₂:500, PCO₂ : 27.1, pH : 7.445, BE : -4.5, SpO₂ : 100, H₂CO₃-18.3, シャント率 : 9.9 (FiO₂=1.0)

胸部 XP：

骨軟部陰影に異常なし、両側 CPAsharp、肺野クリア CTR : 41.2%。

左鎖骨下に IVH を認める。

腹部 XP：骨軟部陰影に異常なし、右横隔膜下に大腸ガスを認める。異常腸管ガス (-)

心エコー：

TR mild、EF : 72%、FS : 42% PH(-)

腹部エコー：

肝表面—肝実質は萎縮し、凹凸不整、辺縁は鈍化しており肝硬変の所見。肝内変化—高エコーの結節性病変を数箇所認め、再生結節疑い。最大径は 10.2 × 7.7 mm。肝内胆管拡張無し。

Ascites : 多量, Spleen—15.0x4.8 cm, 脾腫あり。

Main Portal Trunk—12.5 mm, 血流は求肝性, Flow: 0.76 L/min。

腹部 CT：

肝表面は凹凸不整、辺縁は鈍、肝は萎縮しており肝硬変の所見。腹水著明。

肝全体に斑状に低吸収を認め、肝脾比 0.97 と脂肪肝の所見。脾臓は 15.0x4.8 cm と腫大し脾腫の所見。脾臓内部に低吸収域を認め PSE 後の所見。肝内に腫瘍性病変認めない。腹腔内に腫瘍性病変認めない。食道静脈瘤および臍傍静脈の拡張を認める。

動脈：Celiac から脾動脈、左胃動脈、総肝動脈が分岐。総肝動脈が左右の肝動脈に分岐。中肝動脈は左肝動脈からの分岐。LHA:1.8 mm, MHA: 2.2 mm, RHA: 3.9 mm。

門脈：SMV と脾静脈が合流し本幹を形成。肝門部で左右に分岐し、右枝が

表3

WBC	9500↑	HBs Ag	0.00	AFP	9.8
RBC	292↓	HBs Ab	0.31	AFP-L3	4.6
Hb	10.7↓	HBc Ab	0.14	CEA	6
HCT	29.7↓			CA 19-9	49.6
PLT	5.6↓			PIVKA-II	15
不規則抗体	(-)	HCV Ab	(-)	DUPAN-2	25>
PMN/Lymph				Zn	66
PT(sec)	16.1↑	HITAI-I	(-)	Fe	80
PT-INR	1.43↓	HIV	(-)	フェリチン	562↑
APTT	67.4↑	TPLA	(-)	S-Cu	50↓
D-dimer	3.84↑			U-Cu	4
AT-III	44↓	CMV IgG	47.2↑	セロプラスミン	9.7↓
Fibrinogen	21↓	CMV IgM	<1.0	α1-アンチトリプシン	169
FDP	6.9	EBV IgG	5.0↑		
TP	4.9↓	EBV IgM	<1.0	抗核抗体	40
ALB	2.4↓	VZV IgG	11.7↑	抗ミトコンドリア抗体	(-)
T-Bil	4.5↑	VZV IgM	<1.0	PSA	<3.25
D-Bil	1.1↑	HSV IgG	4.6↑	RF	3
TTT	10.9	HSV IgM	<0.8	ASO	122
ZIT	1.9	トキソIgG	(-)	CRP	2.85
GOT	27	トキソIgM	(-)	QIF	(-)
GPT	27	カンジダ抗原	(-)	IgG	1015
LDH	238	β-D グルカン	8.1	IgM	112
γ-GTP	19	FT3	1.51	IgA	506
ALP	288	FT4	1.07	IgE	14.2
LAP	76	TSH	1.41	CH-50	36.5
Ch-E	57↓	FBS	122	C3	46↓
T-Cho	66↓	HbA1c	4.2	C4	10↓
TG	39	prealbumin	6.0↓	尿糖	(-)
HDL-Cho	39	RBP	0.6↓	尿蛋白	(-)
CPK	54↓	transferrin	116↓	尿沈査	
NH ₄	169↑			尿比重	1.011
BUN	44↑	B2mg	5.22↑	尿中WBC/視野	5~9
Cr	1.18↑	B2mg/U	1.244↑	尿中RBC/視野	5~9
Ccr	83.9			尿中NTx	377.4
UA	4.8	NAG/U	30.8↑	レニン	21.0↑
Na	128↓			アルドステロン	2120↑
K	4.3	s-PTH	9	25(OH)-VitD	12
Cl	105	オステオカルシン	4.2	抗TPO抗体	6.37
Ca	8.6			抗サイログロブリン抗体	6.42
Mg	1.7			TSHRAb	<1.0
P	3.3			便潜血	(-)
T-Amy	110				
U-Amy	337				
胆汁酸	159.2↑				

ら前後区域枝が分岐している。前区域は萎縮している。左枝は UP を形成している。門脈径は 14.3 mm、本幹の長さは 5.2 cm。左枝径は 10.0 mm、右枝径は 12.5 mm。

静脈：左・中が共通管を呈し、右肝静脈は独立して IVC に流入する 3 分岐パターン。左肝静脈径 5.7 mm 中肝静脈径 5.7 mm 共通管 10.2 mm 右肝静脈径 4.5 mm と狭小化を認める。

上部消化管内視鏡：

食道静脈瘤 Li, F1, Cb, RC(-), TE(+)

下部消化管内視鏡：

異常所見無し

胸部 CT：

腫瘍性病変無し。肺門・縦隔リンパ節腫大無し。

頭部 MRI：

脳室・脳溝はほぼ正常大。両側大脳白質に T2 強調像や FLAIR 像で高信号を認め、加齢性変化。T1 で両側淡蒼球の信号がわずかに上昇し、慢性肝機能障害の所見。

腹部 MRI：

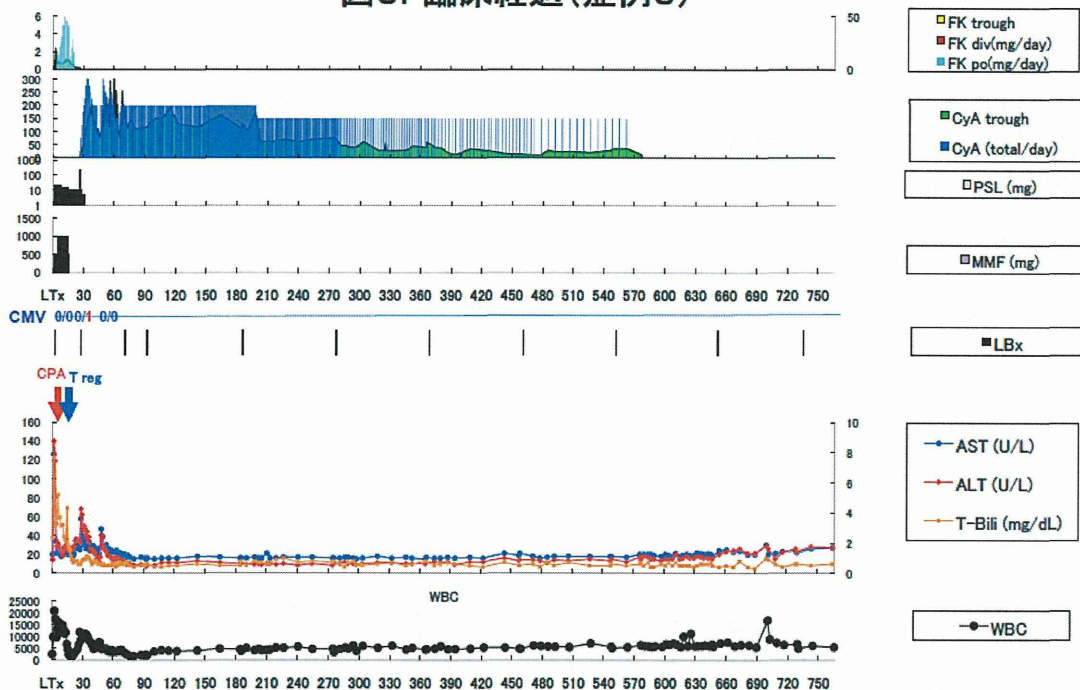
肝内に腫瘍性病変は認めない。

移植手術：息子の肝左葉グラフトを用いた生体肝移植術 (GV 444g、GV/SV = 34.4%)

術後経過：(図 3)

術後は ICU にて人工呼吸器下に全身管理を施行。呼吸・循環動態は安定しており、グラフト機能は順調に回復。プロトコール通りにプログラフ、ステロイド、セルセプトの 3 剤で免疫抑制を

図3. 臨床経過(症例3)



開始した。術翌日と術後4日目に、肝動脈屈曲およびR-Y脚吻合部再出血のため再手術を行った。症例1および症例2においてエンドキサンによるWBC減少が著しく、過量投与と考えられ、本症例では術後7日目に、30 mg/kgを1回投与とした。エンドキサン投与によりWBCは1700 mm³まで低下した。13日目に予定通り、培養リンパ球を輸注した。細胞輸注に伴う明らかな副作用は認められなかった。術後15日目にセルセプトを中止した。プログラフィは5-6 mg/day、trough 6-9 ng/mlで維持していたが、錐体外路症状を主体とする神経症状が出現したため、術後20日目にプログラフィ投与を中止し、ステロイド単独での免疫抑制を行った。26日目よりAST/ALT値が軽度上昇し、ネオオーラル投与を開始した。翌日、肝生検を施行するも拒絶反応を認めず、脂肪肝と診断された。ステロイドを漸減し、術後30日目に投与を中止した。その後、AST/ALT値は漸減し、神経症状も改善していった。術後74日目に右

横隔膜下膿瘍に対し、開胸開腹下に膿瘍ドレナージ術を施行。その後は肝機能も安定したまま順調に経過し、術後107日目に退院した。免疫抑制はネオオーラル単剤、200 mg/dayで外来フォローとなった。術後6ヶ月目よりネオオーラル減量を開始するも拒絶反応を認めず、術後19ヶ月目にネオオーラルを中止した。免疫抑制剤中止後、3ヶ月および6ヶ月経過した時点において肝生検も施行しているが、拒絶反応の兆候を認めていない。移植後716日目にCTにてSMV血栓を併発し、ワーファリン投与による血栓融解治療を行っている。現在、免疫抑制中止から7ヶ月目に入ったが、血液検査にて肝機能も安定している (T-Bil/AST/ALT/γ-GTP: 0.5/22/22/64)。

症例 4

59 歳、男性

疾患名：B 型肝硬変・肝細胞癌

血液型：A (+)

術前状態：UNOS2B

Liver damage: Child-Turcotte-Pugh : 10
 点=C、MELD : 15
 理想肝重量 1351mL (168 cm, 81 kg.)
 Lymphocyte Cross Match: TW(5), BW(5),
 BC(5), FACS-120.6%
 HLA typing: A02/11, B55/56, Cw01/-,
 DR04/12, DQ03/04
 *DONOR A02/24, B15/54, Cw03/12,
 DR04/13, DQ04/06
 身体所見：
 意識：概ね清明だが肝性脳症あり（入
 院後も意識もうろうとなる時がある）
 眼球結膜黄染なし，眼瞼結膜貧血なし
 体表表面：Vascular spider (-), Pulmar

erythema (-)
 胸部：呼吸音異常無し，心音異常なし。
 女性化乳房あり。
 腹部：平坦で軟。正中・左季肋部に肝
 外側部切除時の切開痕あり。
 四肢：両下腿に浮腫あり。
 術前検査：
 血液生化学検査：（表4）
 ECG:
 HR 60 bpm、NSR
 呼吸機能検査：
 FEV_{1.0}% : 71.4(%), %VC : 83.9(%),
 DLCO 77.5%(<80)
 血液ガス：

表4

WBC	3800	HBs Ag	827.4↑	AFP	207↑
RBC	309↓	HBs Ab	0.16	AFP-L3	43.7↑
Hb	10.8↓	HBe Ag	0.3	CEA	6.1
HCT	31.6↓	HBe Ab	99.5↑	CA19-9	21.3
PLT	6.2↓	HBcAb	13.32↑	PIVKA-II	49↑
不規則抗体		HB-DNA	<-2.1	DUPAN-II	42
PMN/Lymph		HCV Ab	0.05	PSA	1.10
PT	14.3↑	HTLV-I	(-)	Fe	107
PT-INR	1.24	HIV	0.12	フェリチン	126
APTT	49.3	TPHA	(-)	S-Cu	90
HPT		CMV IgG	45.4	セルロプラスミン	21.5
AT-III	51↓	CMV IgM	<-1.0	Zn	57↓
Fibrinogen	175↓	EBV IgG	8.9↑	α-1アンチトリプシン	139
FDP	<-2.6	EBV IgM	<-1.0	抗核抗体	40↑
TP	6.3↓	VZV IgG	15.1↑	AMA	(-)
ALB	3.2↓	VZV IgM	<-1.0	RF	50.0↑
T-Bil	2.5↑	HSV IgG	113.1↑	ASO	772↑
D-Bil	0.3	HSV IgM	<-0.80	CRP	0.07
TTT	12.7↑	トキソIgG	<5	QF	
ZTT	4.9↑	トキソIgM	<-0.7	IgG	1552
GOT	23	カンジダ抗原	(-)	IgM	77
GPT	20	β-Dグルカン	<-6.0	IgA	476↑
LDH	352↑	FT3	2.05↓	IgE	45.3
g-GTP	40	FT4	1.29	CH-50	40.3
ALP	293	TSH	2.05	C3	48↓
LAP	77↑	TgAb	<-0.12	C4	10↓
Ch-E	94↓	TPOAb	<-0.05	便潜血	
T-Chol	110↓	TRAb	<-1.0	オステオカルシン	11
TG	21↓	FBS	118↑	s-PTH	28
HDL-Chol	57	HbA1c	4.8		
CPK	768↑	prealbumin	10.1↓		
NH ₃	253↑	RBP	1.7↓		
BUN	50↑	transferrin	221		
Cr	1.49↑	renin	4.2↑		
UA	4.2	aldosterone	677↑		
Na	140				
K	3.4↓				
Cl	112↑				
Ca	8.1↓				
Mg	2.4				
P	2.5				
T-Amv	88				
総胆汁酸	81.3↑				

(RA) PO₂:72.5, PCO₂: 35.6, pH : 7.43, BE : -0.1 H₂CO₃⁻ : 23.4
(FiO₂=1.0) PO₂:445, PCO₂ : 34.5, pH : 7.441, BE : -0.2, SpO₂ : 100, H₂CO₃:23.1, シャント率 : 11.3

胸部XP:

骨軟部陰影に異常なし、左側CPAはdull、両下肺野網状影あり、CTR : 59.5%

腹部XP:

骨軟部陰影に異常なし。異常腸管ガスなし。

心エコー:

FS : 38%、MR mild・TR mild・PH mild

腹部エコー:

肝表面-凹凸不整、辺縁は鈍化、肝硬変の所見。肝S8に3.2 x 2.5 cmの境界明瞭な低エコー腫瘤ありHCCを疑う。肝内胆管拡張無し。Ascites : 肝・脾周囲、両側腹部・下腹部に少量あり。Spleen-15.7 x 5.2 cm, 脾腫あり、脾腎シャントあり。Main Portal Trunk-0.65 cm, 血流は遠肝もある, 求肝Flow: 0.38 L/minと低下。

腹部CT:

肝表面は凹凸不整、辺縁は鈍であり肝硬変の所見。脾腫有り。左腎-脾静脈シャントの著明な発達や胃静脈瘤を認める。肝脾周囲に軽度の腹水有り。総胆管に拡張を認めるが胆摘後変化と思われる。膵体尾部に分枝型IPMNあり。右副腎に20 mm大の腺腫あり、皮質腺腫を疑う。肝S8に22 x 14 mm大にHCCを示唆する所見あり。S3に7 mmの各相で低濃度を呈する結節が存在し境界病変疑い。肝S6・S5に各々2箇所早期濃染域が平衡相で不明瞭化しAPシ

ャントの可能性。

動脈 : Celiacから左胃動脈、脾動脈を分岐し総肝動脈となり、肝門部で右肝動脈・GDAを分岐する。RHA:3.5 mm。左肝動脈は左胃動脈より分岐する。LHA:3.43 mm中肝動脈は左肝動脈から分岐。

門脈 : IMVがSMVに流入しその頭側で脾静脈に合流し門脈本幹を形成。おそらく肝門部で左右に分岐だが、分岐直前に門脈が狭小化している。左枝ははっきりしない。門脈本径は10 mm。IMV径は5 mm。太いspleno renal shuntを形成している。太い食道・胃静脈瘤はCT上同定できない。

静脈 : 中・左肝静脈が共通幹を呈し、共通幹径は14 mm。6 mmの右下肝静脈あり。右外腸骨静脈は60 mm。腹水なし。そのほか、骨盤内に腫瘤性病変なし。

上部消化管内視鏡:

食道静脈瘤 Li, F1, Cb, RC0、胃静脈瘤 Lg-c, F3, Cb, RC0

下部内視鏡所見:

盲腸に2 mm大、S状~直腸に3 mm大の腺腫あり。

胸部CT:

肺野内に結節、明らかな活動性炎症性変化を認めない。縦隔リンパ節腫大無し。軽度の左胸水あり。圧排性無気肺あり。

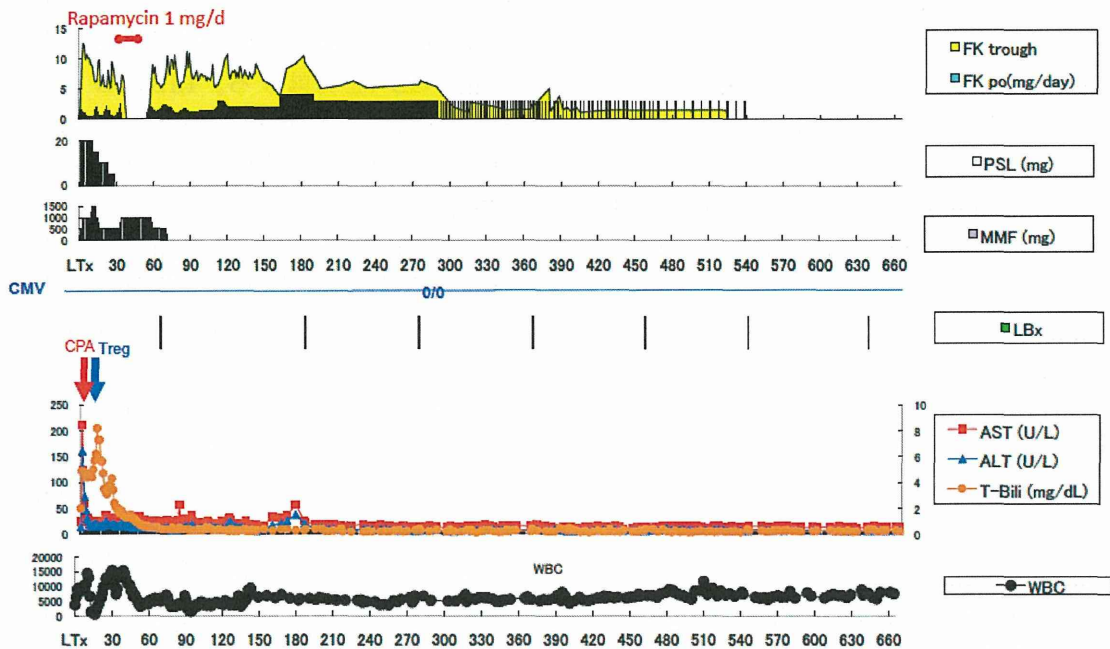
頭部MRI:

脳実質内に異常なし。慢性肝機能障害に伴う所見あり。

移植手術 : 義息子の肝左葉グラフトを用いた生体肝移植術 (GV 440g、GV/SV=32.6%)

術後経過 : (図4)

図4. 臨床経過(症例4)



術後は ICU にて人工呼吸器下に全身管理を施行。呼吸・循環動態は安定しており、グラフト機能は順調に回復。プロトコール通りにプログラフ、ステロイド、セルセプトの3剤で免疫抑制を開始し、術後5日目に、エンドキサン 40 mg/kg を投与した。プログラフは trough 値で 7-10 ng/ml で維持し、セルセプトは 1500 mg/day まで増量した。血清肝逸脱酵素値は順調に低下し、この時点でほぼ正常化したが、糖尿病性腎症を基礎とする腎不全を併発したため透析を導入した。エンドキサン投与により WBC は 1400 mm³ まで低下し、術後 13 日目に予定通り、培養リンパ球を輸注した。細胞輸注に伴う明らかな副作用は認められなかった。全身状態も改善したため、術後 23 日目に ICU を退室し、一般病棟に転棟するも、急性心不全による肺水腫を併発し、25 日目に ICU 再入室となった。この間、プログラフは trough 値 5-8 ng/ml、セルセプトは 500 mg/day で維持し、ステロイドはプロトコールに従いテーパードした。肝機能は一貫して安定してい

たが、プログラフによる心毒性を危惧し、術後 34 日目に off、セルセプトを 1000 mg/day に増量し、37 日目からラパマイシン 1 mg を併用し、免疫抑制療法を行った。心機能改善し安定したため、術後 53 日目よりラパマイシンを中止し、55 日目から再度プログラフへ切り替えた。術後 71 日目からセルセプトを中止し、プログラフ単剤 (trough level: 6-8 ng/ml) で免疫抑制を維持し、術後は拒絶反応を来すことなく経過し、術後 112 日目に退院となった。術後 6 ヶ月目よりプロトコールに従いプログラフ減量を開始し、術後 19 ヶ月目に免疫抑制剤を中止した。免疫抑制剤減量中および中止後 3 ヶ月目に肝生検を施行しているが、拒絶反応の兆候は認められてない。現在、免疫抑制中止から約 4 ヶ月経過しているが、拒絶反応の兆候なく肝機能は良好 (T-Bil/AST/ALT/ γ -GTP: 0.2/13/7/7) である。

症例 5

59 歳、男性
疾患名：PBC