

平成 27 年 6 月 8 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25861154

研究課題名(和文)小児肝移植術後急性期における抗ドナーHLA抗体検出の意義の検討

研究課題名(英文)The significance of de-novo DSA in pediatric liver transplantation

研究代表者

小川 絵里(Ogawa, Eri)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：30440506

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：小児肝移植後、長期経過患者において抗ドナーHLA抗体(Donor Specific Antibodies : DSA)が約40%の症例に認められ、移植肝の線維化に強い相関がある。本研究では、肝移植術後早期のde novo DSAについて評価を行った。

本研究では、移植後3年以内に38.6%の症例でDSAが陽性になったことがであった。DSA陽性症例では、急性細胞性拒絶反応(ACR)および慢性拒絶反応の所見が45.5%にみられ、DSA陰性症例の25%に比べ、頻度が高い傾向にあった。DSAの陽転化の因子としては、ドナー年齢、ACRの既往、感染症による免疫抑制剤の減量が有意な危険因子として検出した。

研究成果の概要(英文)：We previously reported the correlation between the existence of donor specific anti-human leukocyte antigen antibodies (DSA) and progressive fibrosis in late liver graft after pediatric living donor liver transplantation (LDLT) (>5years). The frequency of DSA was 48%. In this study, we analyzed the frequency of de-novo DSA occurrence and their impact on clinical outcome in early liver graft (<3 years).

38.6% of the recipients showed de-novo DSA at the time of liver biopsy. DSA were mainly against HLA Class II. The pathological findings of de-novo DSA-positive recipients are as follows; 45.5% of DSA+ recipients showed Acute and chronic rejection. 25% of DSA- patients showed ACR. (p=0.088)

The following factors have emerged as risk factors of positive DSA; high donor age, past history of ACR, reduction of immunosuppression due to infection.

研究分野：小児外科

キーワード：小児肝移植 移植免疫 抗体反応

1. 研究開始当初の背景

小児肝移植後、長期経過患者において抗ドナーHLA抗体(Donor Specific Antibodies: DSA)が約40%の症例に認められ、DSAと移植肝の線維化に強い相関があることが判明した。

しかし、小児肝移植後の術後早期の de novo DSA の発生のタイミングおよび危険因子については明らかにされていない。

2. 研究の目的

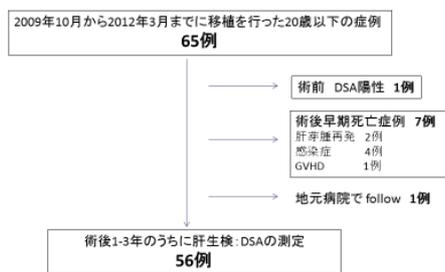
本研究では、小児肝移植後の術後経過において、どのような頻度でどのような時期に DSA が陽転化するか。DSA 陽転化の背景因子を明らかにすることで DSA の測定が免疫抑制療法の適正化の指標になるかどうか、DSA の移植肝に与える影響について明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 研究対象

本研究期間3年前から研究期間の間に小児肝移植を行った症例を対象とした。

検討症例



Patient characteristics	
Age at LTx (median,range)	3.29 (1m.o. - 19y.o.)
Gender female/male	30 / 26
Etiology of original disease	
Biliary atresia	41
Alagille syndrome	1
Acute liver failure	3
Metabolic disease	4
PSC	2
Hepatic hemangioma	1
Hepatoblastoma	1
re-transplantation	
Chronic rejection	1
Chronic cholangitis	1
Intestinal failure associated liver disease	1

(2) DSA の測定、肝生検検査

本研究期間に、保管した血清および、研究期間中に採取した血清中の抗 HLA 抗体を HLA を固相化したビーズ (Labscreen Single Antigen[®]) を用いて Luminex で測定を行った。術後 1-3 年の間に肝生検を行い、生検組織病理検査と DSA の関係について、検討を行

った。

(3) 臨床経過

臨床経過の評価として、免疫抑制剤の内服量、感染症、拒絶反応の有無について DSA 陽転化の因子について検討を行った。

4. 研究成果

(1) 血清 DSA の結果

今回、検討症例 57 例中抗 HLA 抗体陽性が 26 例に陽性、内 DSA は 22 例(38.6%)が陽性であった。DSA の対象となる抗原は HLA Class (HLA-B)のみが 2 例、蛍光強度 (mean fluorescence intensity:MFI)は 1198 と 2140 と低値であった。HLA Class (HLA-B)と HLA Class (HLA-DQ)に対して陽性であった症例が 1 例 (MFI : HLA-B:3207, HLA-DQ:23321)であった。HLA Class (HLA-DR,HLA-DQ)に対して陽性であった症例が 19 例であった。HLA-Class に対する DSA のうち、HLA-DR に対する DSA 陽性は 4 例 (MFI 中央値 899.5、1075 - 13991) HLA-DQ に対する DSA は 11 例 (MFI 中央値 11787、1769 - 235996) HLA-DR, DQ 両方に対する DSA 陽性は 4 例 (MFI 中央値 15407、9524 - 25038)であった。

(2) DSA と移植肝生検の所見

今回、移植後約 1 年におけるプロトコール肝生検の所見と DSA の関係について検討を行った。DSA 陽性症例 (n=22) のうち、抗体関連型拒絶反応 2 例、晩期急性拒絶反応が 3 例、中等度拒絶反応が 1 例、拒絶反応の疑いが 2 例、慢性拒絶反応が 2 例認め、移植肝生検の病理学的所見に免疫学的機序の関与が示唆される所見が見られた症例が 10 例 (45.5%)であった、一方 DSA 陰性症例 (n=37) では高度拒絶反応が 1 例、軽度拒絶反応が 1 例、拒絶反応の疑いが 4 例、移植後特発性肝炎が 2 例で移植肝生検の病理学的所見に免疫学的機序の関与が示唆される所見が見られた症例が 8 例 (25%)であった。(p=0.088)

DSAと病理

DSA陽性 N=22	DSA陰性 N=37
Late-onset Acute Rejection 3	ACR severe 1
ACR moderate 1	ACR mild 1
ACR (indeterminate) 2	ACR indeterminate 4
AMR 2	AMR 0
CR 2	CR 0
idiopathic posttransplant hepatitis 0	idiopathic posttransplant hepatitis 2
chronic cholangitis 1	chronic cholangitis 2
portal fibrosis 2	portal fibrosis 6
perivenular fibrosis 3	perivenular fibrosis 1
lobular/portal inflammation 2	lobular/portal inflammation 8
outflow block 2	outflow block 1
steatosis 0	steatosis 3
no remarkable findings 2	no remarkable findings 3

(3) DSA 陽転化の背景

DSA 陽転化する背景について検討を行った。DSA 陽転化の術前因子として、移植時年齢、性別、ドナー年齢、ドナー性別、

ABO 血液型適合性、HLA ミスマッチ数について検討を行った。DSA 陽性群はドナー年齢が高齢であった (p=0.033)

DSA陽転化背景～術前因子～

	DSA positive n=22	DSA negative n=35	p values
Age at LTx (year; median, range)	1.60 (1mo - 18.1)	3.07 (6mo - 19.9)	0.248
Recipient sex (Female)	41.90%	58.10%	0.572
Donor age (year; median, range)	40.5 (26 - 56)	36.0 (20 - 62)	0.033
Donor sex (Female)	40.90%	54.30%	0.325
ABO incompatibility	4.50%	22.90%	0.065
HLA mismatch (HLA A, B, C) : mean ± SD	2.52 ± 0.75	2.28 ± 0.81	0.975
HLA mismatch (HLA DR, DQ): mean ± SD	1.81 ± 0.75	1.56 ± 0.76	0.435

更に手術因子として、手術時間、出血量、グラフト-レシピエント体重比 (GRWR%)、冷阻血時間、温阻血時間について検討を行った。冷阻血時間が短い症例が DSA 陽性となった。

DSA陽転化背景～手術因子～

	DSA positive n=22	DSA negative n=35	p values
Operation time (min; median, range)	653 (458 - 7324)	726 (546 - 1217)	0.507
Blood loss (g; median, range)	748.5 (79 - 10300)	1150 (160 - 17050)	0.255
GRWR (%; median, range)	2.92 (0.67 - 5.32)	2.15 (0.65 - 5.00)	0.350
Cold ischemic time (min; median, range)	70.5 (22-196)	115.0 (39 - 579)	0.020
Warm ischemic time (min; median, range)	38.50 (26 - 82)	38.0 (19-101)	0.831

DSA 陽転化の周術期の合併症、拒絶反応および術後免疫抑制療法による危険因子について検討を行った。(図表 10) 周術期の ACR の既往のある症例や感染症などによる免疫抑制剤の減量の既往のある症例が DSA 陽性となる傾向を認めたが、有意差は認めなかった。その他、術後血液培養陽性、EBV 感染、CMV 感染などの感染症も有意な危険因子とならなかった。術後のタクロリムスの血中濃度が DSA 陽性症例では 3 か月、1 年後のトラフ値が有意に低かった。

DSA 陽性の背景～術後因子～

	DSA陽性	DSA陰性	p
ACRの既往	77.3%	55.9%	0.103
敗血症(血液培養陽性)	13.6%	22.9%	0.309
EBV感染	81.8%	62.2%	0.113
CMV感染	63.6%	40.5%	0.086
術後1週間のFKの平均	7.75±2.57	9.08±2.29	0.228
術後2週間のFKの平均	8.54±2.29	9.46±1.60	0.193
術後1か月のFKの平均	8.56±2.06	9.01±1.28	0.623
3か月後のFK	5.27±3.16	5.99±2.57	0.034
6か月後のFK	4.17±3.01	5.09±1.65	0.188
1年後のFK	3.57±3.20	4.30±1.48	0.040
免疫抑制剤の減量	45.5%	21.2%	0.054

まとめ

小児肝移植症例で 39.2%の症例が術後早期に DSA 陽性となることが明らかになった。DSA 陽転化と免疫抑制療法に密接な関係があり、免疫抑制療法の調整に有用な検査である可能性が強く示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 4 件)

1. Detection of Donor Specific Anti-Human Leukocyte Antigen Antibodies from Pediatric Liver Transplant Recipients within Three Years after Operation
第 13 回アジア移植学会議 2013 年 9 月 3 日~6 日 京都

2. 小児肝移植患者における移植後早期の de novo 抗ドナーHLA 抗体の検討

第 31 回日本肝移植研究会 2013 年 7 月 4 日~5 日 熊本

3. 小児肝移植患者における de novo 抗ドナーHLA 抗体の検討

第 49 回日本移植学会総会 2013 年 9 月 5 日~7 日 京都

4. Detection of De-novo Donor Specific Anti-Human Leukocyte Antigen Antibodies in Pediatric Liver Transplant Recipients within Three Years after Operation

World Transplant Congress 2014
2014.7.26-31 サンフランシスコ (米国)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：

発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小川 絵里 (Ogawa Eri)
京都大学医学研究科 特定助教
研究者番号：30440506

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

吉澤 淳 (Yoshizawa Atsushi)
京都大学医学研究科 特定助教
研究者番号：60457984