

令和 2 年 7 月 15 日現在

機関番号：82412

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10523

研究課題名(和文)小児肝移植におけるoperational toleranceの解明と誘導

研究課題名(英文) Induction and elucidation of operational tolerance in pediatric liver transplantation

研究代表者

水田 耕一 (Mizuta, Koichi)

埼玉県立小児医療センター (臨床研究部)・移植外科・センター長

研究者番号：00313148

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、免疫抑制薬から離脱し臨床的免疫寛容(OT)となった小児肝移植患者を対象に、免疫寛容のメカニズム解明を追求し、OTに関連するパラメーターを特定することを目的とした。これまでのOT患者32例中、免疫寛容が維持できた群(n=27)と免疫抑制薬が再開となった群(n=5)との比較では、自己抗体陽性率、血清ヒアルロン酸値、病理組織学的所見において有意差を認めた。抗HLA抗体の陽性率や最高MFI値では有意差を認めなかった。小児肝移植患者においては、適切な患者を選択し適切なモニタリング下で免疫抑制薬の減量を行えばOTの可能性があることが示唆された。自己抗体の出現はOTの危険因子の可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、免疫寛容を獲得した小児肝移植後患者においては、長期間免疫寛容の状態を維持できることが証明された。肝移植後の長期フォローアップには、自己抗体や線維化マーカーの測定、肝生検による病理学的評価が重要であり、移植後管理の標準化に有用な情報である。安全に免疫抑制剤の減量・離脱ができれば、免疫抑制剤の長期投与によって生じる患者の肉体的・精神的・経済的負担を軽減させるだけでなく、本邦における医療費削減にも大きく貢献するものと期待される。また、本研究成果は、今後日本でも展開されるであろう免疫寛容誘導の多施設共同のランダム化比較試験や、免疫抑制剤減量のガイドラインの作成に寄与できる結果である。

研究成果の概要(英文)：The objective of this study was to evaluate the possibility of immunosuppression (IS) withdrawal and to identify parameters associated with IS withdrawal in pediatric living donor liver transplantation (LDLT). IS withdrawal trial was attempted in 46 patients who met entry criteria. Twenty-eight of the patients (61%) achieved a complete IS withdrawal. Eleven patients (24%) discontinued CNI weaning due to the appearance of liver dysfunction. The rate of serum antinuclear antibody (ANA) positivity in patients who discontinued CNI weaning was significantly higher than that in the other patients. Although 5 of 28 IS-free patients restarted IS based on pathological findings, these findings were improved following the resumption of IS therapy. In pediatric LDLT, if patients are appropriately selected and a IS withdrawal protocol is attempted under appropriate monitoring, there is a possibility of inducing operational tolerance. ANA is considered to be a risk factor for CNI weaning.

研究分野：臓器移植学

キーワード：小児肝移植 Operational tolerance 免疫抑制薬離脱 免疫寛容 キメリズム

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

臓器移植により救命された患者における新たな問題は、生涯免疫抑制薬を服用し続けなければならないという精神的・肉体的・経済的負担である。それらを回避すべく、臓器移植後の臨床的免疫寛容 (Operational tolerance: OT) における幾つかの基礎的・臨床的研究が行われているが、そのメカニズムや有用性の解明には至っていない。

免疫寛容とは、免疫抑制薬を使用せずに移植臓器機能が維持される一方で、自己とドナー以外に対する免疫反応は正常に保たれている状態である。しかし、幸運にも免疫抑制薬から離脱ができ、免疫寛容として扱われている患者においても、肝生検にて重篤な線維化や胆管障害がみられ、後に慢性拒絶の出現から、再移植を施行した報告例もある (Girlanda R. *Transplant Proc.* 2005)。同様に、小児肝移植長期例へのプロトコル肝生検によって、肝機能が正常な患者においても、軽度以上の線維化などの異常所見を実に 69~97% に認めたと報告されている (Evans HM. *Hepatology.* 2006)。OT 患者において、病理組織学的検査なくして免疫寛容獲得と判断するのは極めてリスクが高く、移植肝の国際基準化を研究する Banff Working Group も OT 患者における肝生検を含むモニタリングのアルゴリズムを提唱している (Adeyi O. *Liver Transpl.* 2012)。

我々は、これまでに小児生体肝移植の手術と術後外来管理に携わり、免疫抑制薬の血中濃度が極めて低く管理できている患者を多く経験したことから、経過良好な長期移植患者に免疫抑制薬の計画的減量を試み、80%以上で免疫抑制薬の減量・離脱が可能であることを報告した (2006年国際肝移植学会)。また非 OT 群 (免疫抑制薬減量困難群) の抗 HLA 抗体の平均蛍光強度 (MFI: Mean fluorescence Intensity) は OT 群 (免疫抑制薬離脱群) よりも有意に高く、抗 HLA 抗体量は OT 誘導のリスクファクターとなり得る可能性を示した (Waki K. *Transplantation.* 2013)。更に、OT 患者において、グラフト肝のテロメア長が長い傾向があること (Kawano Y. *PLoS One.* 2014)、プロトコル肝生検が潜在する移植後特発性肝炎の発見に極めて重要であること (Sanada Y. *World J Gastroenterol.* 2014) を確認した。しかしながら、免疫抑制薬の減量・離脱が可能な患者と減量困難な患者の違いを明確にする簡便なマーカーの同定は未だできていない。

2. 研究の目的

本研究では、我々が考案した免疫抑制薬減量プロトコルに基づき、小児肝移植後長期患者における免疫抑制薬減量・離脱例を蓄積する (免疫抑制薬離脱トライアル)。また、免疫抑制薬から離脱し臨床的免疫寛容となった小児肝移植患者らを対象に、血清学的検査、免疫学的検査、病理組織学的検査を prospective に行い、免疫抑制薬離脱可能な患者と困難な患者の鑑別を示す簡便なマーカーを同定し、安全な免疫抑制薬離脱法を考案・確立することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 小児肝移植患者における臨床的免疫寛容例の蓄積

免疫抑制薬離脱トライアル: 外来管理中の肝移植患者において、1) 肝移植後 2 年以上経過、2) 過去 1 年間の肝機能が安定、3) ステロイド非服用例、4) 免疫抑制薬タクロリムスの血中濃度が基準値 (2.0ng/ml) 以下、5) タクロリムスの投与量が基準値 (0.05mg/kg/day) 以下、を満たす患者のうち、患者および家族に参考資料を提示してインフォームドコンセントを行い、同意が得られた患者に対し、免疫抑制薬離脱トライアルを行った。プロトコルの全過程は 7 段階で、1 日 1 回投与、週に 3 回投与、週に 2 回投与、週に 1 回投与、2 週に 1 回投与、月に 1 回投与と徐々に減量し、各段階には 3 ヶ月以上の期間をおいた。経過中に 2 ヶ月以上続く肝障害が出現した場合や、肝生検による病理所見で F2 以上の線維化あるいは A2 以上活動性炎症を認めた場合はトライアルを中止し、免疫抑制薬の増量や再開を行った。

(2) 離脱可能例と離脱不能例の鑑別を示すトレランスマーカーの検索

対象の IS 減量中から離脱後の臨床経過を追跡し、血液生化学検査、血清学的検査 (抗核抗体、

抗平滑筋抗体、抗 HLA 抗体、ヒアルロン酸、M2BPGi) 病理組織学的検査を継続的に行い検討した。抗 HLA 抗体検査では、クラス I、クラス II スクリーニング検査で、陽性例および疑陽性例に対して、シングル抗原同定検査で MFI を算出し、MFI 1,000 以上を陽性、10,000 以上を強陽性と判定した。免疫抑制薬完全中止後、1 年以上肝機能や病理組織学的所見が正常であった場合を OT と定義した。OT 患者の中で、免疫寛容が維持できている群と、その後免疫抑制薬が再開となった群において統計学的検討を行った。

4. 研究成果

(1) 小児肝移植患者における臨床的免疫寛容例の蓄積

研究期間中、免疫抑制薬離脱トライアルのエントリークライテリアを満たす患者はおらず、新規エントリーは行わなかった。免疫抑制薬離脱トライアル継続中の 7 名の患者において、更なる減量が可能で、その内の 3 名に免疫抑制薬の離脱 (免疫寛容の誘導) が可能であった。

(2) 離脱可能例と離脱不能例の鑑別を示すトレランスマーカーの検索

過去 46 例での免疫抑制薬離脱トライアルの結果、28 例 (61%) が離脱に成功し、11 例 (24%) がトライアル中止となった。トライアル中止例においては自己抗体の陽性率が有意に高かった。また、EBV の治療により偶発的に免疫抑制薬を中止できた 4 例を加えた OT 患者 32 例のうち、5 例においては、後のプロトコール肝生検の炎症や線維化の所見などから免疫抑制薬の再開を余儀なくされた。再開時期は免疫抑制薬中止から 4.3 ± 3.2 年であった。免疫抑制薬離脱が維持できた群 (n=27) と免疫抑制薬が再開となった群 (n=5) との比較では、移植時年齢、免疫抑制薬離脱開始年齢、ALT 値などでは有意差は認めなかったが、自己抗体陽性率、血清ヒアルロン酸値、病理組織学的所見において有意差を認めた (表 1)。2 群間における抗 HLA 抗体の検討では、抗 HLA 抗体の陽性率は離脱群 63.6%、再開群 57.1% と共に高く有意差は認めなかった。また、ほとんどの抗 HLA 抗体陽性者で複数の抗 HLA 抗体が認められた。陽性者の最高 MFI 値を 2 群間で比較すると、再開群のクラス II で最高 MFI が高い傾向にあったが (5,118 vs. 13,464)、クラス II は両群ともに高値で (17,118 vs. 17,223)、クラス I、クラス III とともに有意差は認めなかった。

(3) 可逆性病理所見と今後の展望

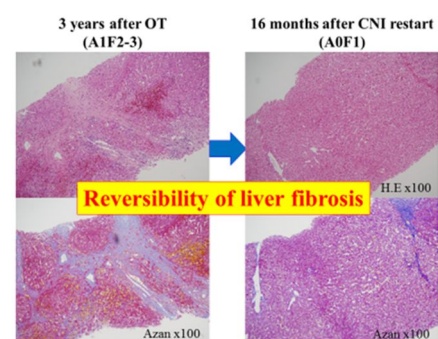
OT 後に病理組織学的異常所見で免疫抑制薬を再開した 5 例は、いずれの症例も免疫抑制薬の再開によって炎症や線維化は改善し (図 1)、その後の QOL に大きな影響を与えなかった。このことは、OT 患者における炎症や線維化は、適切な治療が行われれば可逆的であるという新しい知見が証明された。

以上より、小児肝移植患者においては、適切な患者を選択し適切なモニタリング下で免疫抑制薬の減量を行えば OT の可能性があることが示唆された。自己抗体の出現は OT の危険因子の可能性があった。本研究により、免疫寛容を獲得した小児肝移植後患者においては、長期間免疫寛容の状態を維持できることが証明された。本研究成果は、今後日本でも展開されるであろう免疫寛容誘導の多施設共同のランダム化比較試験に寄与できる十分な結果となった。

(表 1)

	CNI free	CNI restart	p value
Patient (n)	27 (84%)	5 (16%)	-
Age at LDLT (y)	2.5 ± 3.1	1.5 ± 0.7	N.S
Age at the start of weaning (y)	7.3 ± 5.2	6.9 ± 3.0	N.S
Postoperative period at the start of weaning (y)	4.7 ± 2.6	5.4 ± 2.6	N.S
Postoperative period at the withdrawal of CNI (y)	6.7 ± 3.3	7.4 ± 1.6	N.S
ALT (mU/ml)	16.4 ± 4.5	15.0 ± 4.1	N.S
Number of serum antinuclear antibody (ANA) positive patient (n)	3 (11%)	3 (60%)	0.010
Hyaluronic acid (ng/ml)	19.3 ± 8.1	31.8 ± 17.5	0.018
Metavir Activity score	0.3 ± 0.4	1.6 ± 0.4	<0.001
Metavir Fibrosis score	0.6 ± 0.6	2.1 ± 0.4	<0.001

(図 1)



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 水田耕一
2. 発表標題 小児肝移植後長期例における免疫抑制療法
3. 学会等名 第15回日本移植・再生医療看護学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mizuta K, Onishi Y, Sanada Y, Okada N, Ihara Y, Yamada N, Hirata Y, Katano K, Sakuma Y
2. 発表標題 Single-center experience of clinical immune tolerance after pediatric living donor liver transplantation
3. 学会等名 Asian Transplant Week 2019（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水田耕一、浦橋泰然、井原欣幸、眞田幸弘、岡田憲樹、山田直也、平田雄大、片野 匠
2. 発表標題 小児肝移植における臨床的免疫寛容の検討
3. 学会等名 第53回日本移植学会総会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----