

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 5 月 22 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08756

研究課題名(和文)小児肝移植後合併症のリスク因子の検討と慢性抗体関連拒絶の病態解明

研究課題名(英文) Risk factors of complications after transplantation and pathology of chronic antibody-mediated rejection in pediatric liver transplantation

研究代表者

入江 理恵 (Irie, Rie)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・特任講師

研究者番号：00365230

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：小児肝移植後に生じる難治性拒絶等合併症や脂肪変性等の肝組織障害と原疾患には関連性を認めた。原疾患が原因不明急性肝不全の症例では、移植後中心静脈閉塞を伴う難治性拒絶を生じる頻度が高くグラフト不全となるリスクが高かった。代謝性疾患の肝移植後にはびまん性の脂肪変性による肝障害の頻度が高いものの一過性であり、移植後拒絶を生じる頻度は低かった。肝移植後5年以上経過した症例で抗ドナー抗体陽性且つ肝生検が施行された18歳以下の小児症例において、抗ドナー抗体陽性でBanffの診断基準による慢性抗体関連拒絶の項目を満たす症例では、診断基準項目を満たさない症例と比較して線維化進行を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

原疾患と移植後合併症の関連性を明らかにすることは、移植が成功しグラフトが生着すれば、50年以上の生命予後が十分に期待出来る小児症例におけるグラフト長期予後の更なる改善につながる。グラフト不全から再移植が必要となった際の選択肢が非常に厳しく限られている本邦において、移植後急性ならびに慢性の肝障害の病因を解明することは適切な治療法の確立とグラフト不全・再移植を回避することに繋がり生体肝移植主体の我が国における移植医療の発展に寄与できる結果を得られたと考える。

研究成果の概要(英文)：We found relationship between complications after pediatric liver transplantation such as rejection, liver dysfunction and original disease. Recipients of etiology-unknown acute liver failure tended to present steroid-resistant rejection which showed veno-occlusive like change, and percentage of graft failure was high, Recipients with metabolic disorders tended to present diffuse macrovesicular steatosis soon after liver transplantation, however steatosis was transient, and frequency of rejection was low. We examined liver biopsy specimens of recipients under 18-year old who had positive results of donor-specific antibody (DSA) and were followed-up over 5 years after liver transplantation. Cases which had positive-DSA and met the diagnostic criteria of chronic antibody-mediated rejection by Banff Working Group showed progression of liver fibrosis compared with cases which did not meet the diagnostic criteria.

研究分野：人体病理

キーワード：小児肝移植 拒絶 慢性抗体関連拒絶 抗ドナー抗体

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肝移植後に生ずる拒絶反応の中で、急性細胞性拒絶と慢性拒絶については Banff の会議での決定に基づく明確な組織学的診断基準が定められている。更に、近年 Banff の会議で肝移植後の急性抗体関連拒絶と慢性抗体関連拒絶について初めての診断基準が定められ 2016 年に論文化された。但し、慢性抗体関連拒絶に関しては、腎移植後拒絶反応で定められているような明確な診断基準は未だに確立されていない状況である。また、腎移植の領域では、抗体関連拒絶が腎組織に与える障害とその影響が詳細に評価されているものの、肝移植の領域では、特に慢性抗体関連拒絶に関するまとまったデータは存在せず、組織障害や実際の肝機能に与える影響に関しても未知の点が多い。抗体関連拒絶の診断に関して、2016 年 Banff で定められた診断基準では血清抗ドナー抗体(DSA)の有無が必須となり、DSA を測定していない場合は確定診断とならないことが定められた。但し、DSA が肝組織に如何なる障害を与えるのか詳細は解明されていない。特に難治性拒絶例やグラフト不全に陥る症例において、肝組織障害の程度と DSA 値が相関するかどうかに関する詳細なデータはほぼ皆無である。また、2017 年時点では、本邦では肝移植時また肝移植後経過観察中の DSA 値測定は保険適応となっておらず、全例で移植前と移植後定期的に DSA 測定を行うには莫大な費用が掛かるという問題があった。

2. 研究の目的

肝移植後長期経過した症例では、病理組織学的には、慢性拒絶や肝線維化の進行等が問題となってくるとともに、今後は慢性抗体関連拒絶の有無の評価も必須となってくる。過去の症例において慢性拒絶の組織診断基準を満たすまでの経過で、慢性拒絶を早期に予期し得る組織学的リスク因子を検討するとともに、慢性の組織障害を来している症例の中で慢性抗体関連拒絶と診断出来る症例があるのかどうか検討を行う必要がある。また、新規肝移植例において定期的に血清抗ドナー抗体(DSA)を測定することにより、抗体関連拒絶と組織障害特に肝線維化との関連性を検討することは、グラフトの生着率を上げる為にも必要不可欠になってくると考えられる。抗体関連拒絶の診断において血清 DSA 値測定が本当に必要であるのかも含め、肝移植後に生ずる拒絶反応と肝組織障害に関する臨床・病理学的データを蓄積する必要がある。

3. 研究の方法

(1)国立成育医療研究センター臓器移植センターで施行された過去の肝移植症例の中で、難治性拒絶症例やグラフト不全で再移植となった症例を詳細に検討するとともに、新規症例において、定期的な肝生検と抗ドナー抗体(DSA)値測定を行うことにより、慢性拒絶、抗体関連拒絶を含めた肝機能障害を来す原因と、その組織学的早期検出法、リスク因子に関する検討を行う。

具体的な肝生検の組織学的検討：

- ・線維化の進行の評価 (EVG 染色、Masson-Trichrome 染色、鍍銀染色)
- ・抗体関連拒絶の評価 (抗 C4d 抗体を用いた免疫染色)
- ・急性もしくは慢性拒絶における胆管病変の評価 (抗サイトケラチン 7 抗体使用)
- ・肝星細胞の活性化の有無とそれに伴う類洞の変化の評価 (抗 SMA 抗体, 抗 CD34 抗体使用)

(2)肝移植症例の原疾患と移植後に生じる拒絶反応や肝組織障害の関連性、ドナー肝との関連性を詳細に検討する。

4. 研究成果

(1)

小児肝移植後グラフト不全に陥るリスク因子を病理学的に可能な限り早期に検出することは、

適切な免疫抑制剤使用を含めた治療法に繋がり、グラフト不全による再移植を回避し得る事から重要な課題である。2005年から2016年の間に、国立成育医療研究センターにて肝移植が施行された後に再移植となった小児肝移植症例14例の摘出肝と移植後肝生検に関して、免疫組織化学的検討と蛍光抗体法による検討を加えて詳細な組織学的検討を行った。14症例の年齢中央値は3歳8か月で、再移植までの日数の中央値は106日であった。再移植症例14例中9例の摘出肝において中心静脈閉塞様の組織学的変化を認めておりそのうち8例において再移植前の肝生検では、ステロイドパルス療法不応性の中心静脈炎・中心静脈周囲炎を伴う急性細胞性拒絶の所見を認めた。また、国立成育医療研究センターで肝移植が施行された後グラフト不全の為に逝去され、剖検もしくは肝臓のネプロプシーが施行された症例に関して、逝去前の肝生検と逝去時の肝組織に関する組織学的検討を行った。これらの症例の年齢中央値は3歳で、逝去までの日数中央値は83.5日であった。6症例中5例の逝去時肝組織において中心静脈閉塞様の組織学的変化を認め、このうち4症例では逝去前の肝生検にて中心静脈炎・中心静脈周囲炎を伴う急性細胞性拒絶の所見を認めた。中心静脈の変化を伴うステロイドパルス療法不応性の急性細胞性拒絶は、グラフト不全に陥る可能性を示唆する病理学的兆候の一つと考えられた。

(2)

国立成育医療研究センターで肝移植が施行された18歳以下の小児例454例において移植後5か月以内に中等度以上の急性細胞性拒絶反応(T cell-mediated rejection, TCMR)を起こした症例と原疾患との関連を検討した。移植後5か月以内に中等度以上の急性細胞性拒絶反応を起こした症例は454例中83例(18.3%)であったが、原疾患が急性肝不全(Acute liver failure, ALF)症例ではその割合は35.1%と高く、半数以上がステロイドパルス療法不応性であった。急性肝不全症例で移植後早期にステロイドパルス療法不応性の拒絶反応を起こした症例のうち5例は再移植となり、これらの症例ではいずれも再移植前の肝生検にて中心静脈炎・中心静脈周囲炎を認めた。原疾患が肝芽腫や代謝性疾患の症例では移植後中等度以上の拒絶を起こす頻度は低かった(表1)。

表1

	胆汁うっ滞性肝疾患	代謝性疾患	ALF	CHF/Caroli病	肝芽腫	血管奇形	腫瘍(肝芽腫除)	PSC	その他
TCMR	20.81%	7%	35.08%	22.22%	0%	16.66%	16.66%	0%	16.66%
の頻度	(46/221)	(7/100)	(20/57)	(6/27)	(0/20)	(2/12)	(1/6)	(0/5)	(1/6)

(3)

ドナー肝の脂肪変性が小児肝移植例の予後に与える影響を検討した。脳死肝移植では30%以上の大滴性脂肪変性を呈する肝臓はグラフトとして不適とされるが、当センターにおいて両親から30%以上の大滴性脂肪変性を呈する肝臓を移植された小児症例の予後は良好であった。肝移植後早期に生じる拒絶反応の頻度と重症度は原疾患により差がある事から、原疾患を考慮した治療法の選択が必要であると考えられた。グラフト肝の脂肪変性の程度は、小児の生体肝移植症例では脳死移植に比べて問題とはならない可能性が考えられた。(図1 a:ドナーの肝臓。中等度の大滴性脂肪変性を認める。b:肝移植後11日目に採取された肝生検。小滴性の脂肪変性を一部に認めるのみである。)

(4)

肝移植後5年以上経過した症例で抗ドナー抗体陽性且つ肝生検が施行された18歳以下の症例25

例において、C4d 陽性症例は 7 例であり、その中で Banff の診断基準に 基づく慢性抗体感染拒絶にあてはまる症例は 5 例(25%)であった。また、11 例においては慢性拒絶もしくは早期慢性拒絶の所見を認めた。慢性抗体感染拒絶と診断 し得た症例では中心静脈域間・類洞間の線維化を認めた。抗ドナー抗体陽性であるが慢性抗体関連拒絶の診断基準を満たさない症例と慢性抗体関連拒絶の症例の 線維化の程度を比較すると、慢性抗体関連拒絶症例において線維化進行が確認された。血清学的に肝機能が比較的安定している長期経過症例においても線維化の進行を認める例があることから、定期的な肝生検による経過観察の重要性が示唆された。

(図 2 抗ドナー抗体陽性で慢性抗体関連拒絶と診断し得た症例。門脈内皮に C4d 陽性所見を認める、門脈域と中心静脈域間の線維性架橋形成を認める。)

(5)

原疾患が代謝性疾患症例である小児症例は予後が非常に良いといわれているが、一部の症例では肝移植直後に肝機能障害が出現する。その肝機能異常の原因を組織学的に検討した。原疾患が代謝性疾患で肝移植直後に肝機能障害を認めたため肝生検が行われた小児症例 36 例中、21 例(58.3%)においてびまん性の脂肪変性を認めた (図 2 代謝性疾患に対する肝移植後 8 日目の肝生検。びまん性の脂肪変性を認めるが、急性細胞性拒絶の像は認めない。)これらの症例のドナー肝では脂肪変性は軽度もしくは認めなかった (図 3 図 2 の症例のドナー肝。局所的に軽度の脂肪変性を認めるのみである。)肝生検で拒絶が確認された症例は 8 例のみであった。代謝性疾患に対する肝移植直後に肝機能障害を認めた際には、過剰な免疫抑制剤投与を防ぐために肝機能障害の原因が脂肪変性であるか拒絶であるかどうかを確認するための肝生検の必要性が示唆された。

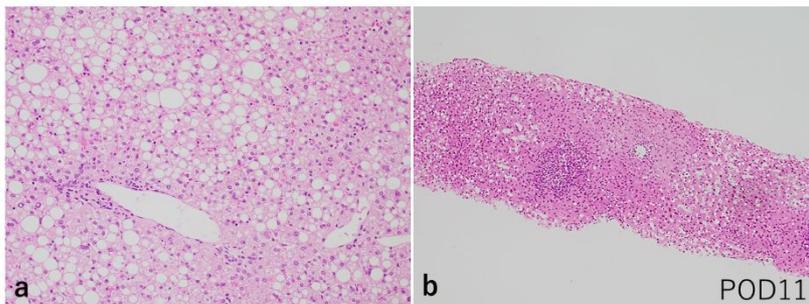
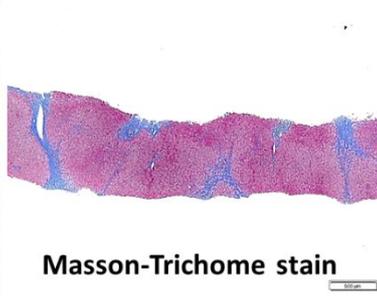
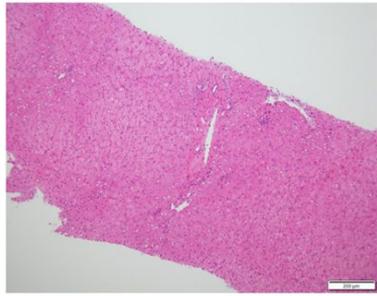
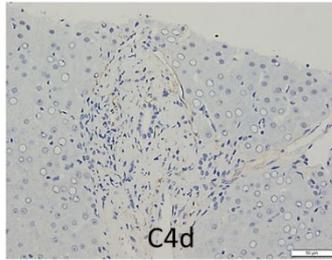


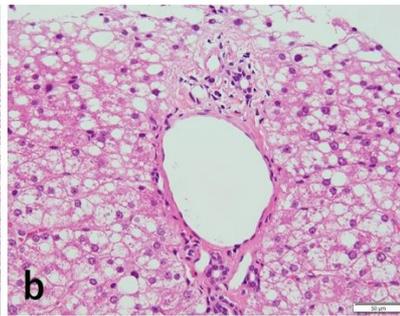
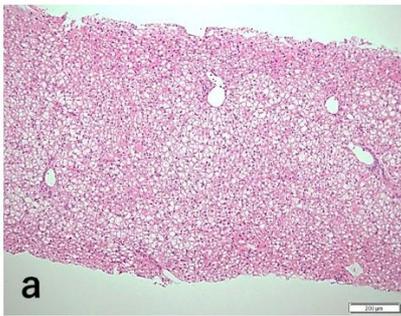
図 1



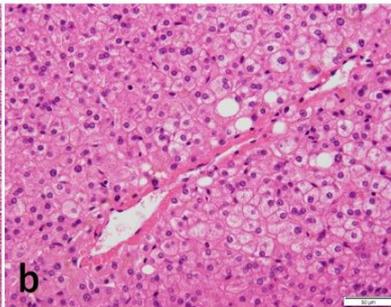
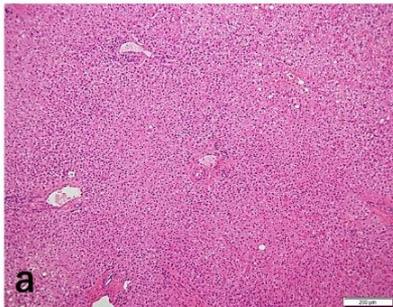
Masson-Trichrome stain



☒ 2



☒ 3



☒ 4

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Irie R, Nakazawa A, Sakamoto S, Takeda M, Yanagi Y, Shimizu S, Uchida H, Fukuda A, Miyazaki O, Nosaka S, Kasahara M.	4. 巻 70
2. 論文標題 Living donor liver transplantation for congenital hepatic fibrosis in children	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pathology International	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/pin.12917	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Irie R, Nakazawa A, Sakamoto S, Takeda M, Yanagi Y, Shimizu S, Uchida H, Fukuda A, Horikawa R, Kasahara M.	4. 巻 50
2. 論文標題 Etiology of liver dysfunction after liver transplantation in children with metabolic disorders.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Hepatology Research	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/hepr.13487	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shimizu S, Sakamoto S, Horikawa R, Fukuda A, Uchida H, Takeda M, Yanagi Y, Irie R, Yoshioka T, Kasahara M.	4. 巻 26
2. 論文標題 Longterm Outcomes of Living Donor Liver Transplantation for Glycogen Storage Disease Type 1b.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Liver Transplantation	6. 最初と最後の頁 57-67
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/lt.25649.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Stephanie M, Irie R, Sasaki K, Hirata Y, Narumoto S, Fukuda A, Sakamoto S, Arai K, Yoshioka T, Kasahara M	4. 巻 68
2. 論文標題 Histologiccal changes of the intestinal mucosa in complications following a living donor liver transplantation for progressive familial intrahepatic cholestasis type1	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Pathology International	6. 最初と最後の頁 536-537
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/pin.12686	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Uchida Hajime, Sakamoto Seisuke, Sasaki Kengo, Takeda Masahiro, Hirata Yoshihiro, Fukuda Akinari, Hishiki Tomoro, Irie Rie, Nakazawa Atsuko, Miyazaki Osamu, Nosaka Shunsuke, Kasahara Mureo	4. 巻 65
2. 論文標題 Surgical treatment strategy for advanced hepatoblastoma: Resection versus transplantation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Pediatric Blood & Cancer	6. 最初と最後の頁 e27383 ~ e27383
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1002/pbc.27383	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Narumoto Soichi, Sakamoto Seisuke, Sasaki Kengo, Hirata Yoshihiro, Fukuda Akinari, Uchiyama Toru, Irie Rie, Yoshioka Takako, Kasahara Mureo	4. 巻 23
2. 論文標題 ABO-incompatible liver transplantation for children under 2?years of age: A case report and a single-center review	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Pediatric Transplantation	6. 最初と最後の頁 e13308 ~ e13308
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1111/ptr.13308	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sakamoto Seisuke, Sasaki Kengo, Uchida Hajime, Narumoto Soichi, Kitajima Toshihiro, Irie Rie, Fukuda Akinari, Yoshioka Takako, Kasahara Mureo	4. 巻 48
2. 論文標題 A severely cholestatic liver graft can be successfully used in deceased donor liver transplantation	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Hepatology Research	6. 最初と最後の頁 E367 ~ E371
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/hepr.12968	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Narumoto Soichi, Sakamoto Seisuke, Uchida Hajime, Sasaki Kengo, Shigeta Takanobu, Fukuda Akinari, Nosaka Shunsuke, Irie Rie, Yoshioka Takako, Kasahara Mureo	4. 巻 22
2. 論文標題 Necrotizing enterocolitis in the setting of milk allergy after pediatric living donor liver transplantation	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Pediatric Transplantation	6. 最初と最後の頁 e13096 ~ e13096
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ptr.13096	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Teratani Toshiaki, Tomita Kengo, Suzuki Takahiro, Furuhashi Hirotaka, Irie Rie, Hida Shigeaki, Okada Yoshikiyo, Kurihara Chie, Ebinuma Hirotoshi, Nakamoto Nobuhiro, Saito Hidetsugu, Hibi Toshifumi, Miura Soichiro, Hokari Ryota, Kanai Takanori	4. 巻 67
2. 論文標題 Free cholesterol accumulation in liver sinusoidal endothelial cells exacerbates acetaminophen hepatotoxicity via TLR9 signaling	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Hepatology	6. 最初と最後の頁 780 ~ 790
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jhep.2017.05.020	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 Rie Irie, Atsuko Nakazawa, Akinari Fukuda, Seisuke Sakamoto, Mureo Kasahara
2. 発表標題 Etiology of liver dysfunction after transplantation in children with metabolic disorders
3. 学会等名 The 2019 Joint International Congress of ILTS, ELITA & LICAGE (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 入江理恵、中澤温子、笠原群生
2. 発表標題 乳幼児期に肝不全で発症する診断困難例における病理医の役割
3. 学会等名 第108回日本病理学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 入江理恵、中澤温子、中野雅之、笠原群生、義岡孝子
2. 発表標題 代謝性疾患に対する肝移植直後に生ずる肝機能障害の組織学的検討
3. 学会等名 第108回日本病理学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 入江理恵、中澤温子、武田昌寛、柳佑典、清水誠一、内田孟、福田晃也、阪本靖介、笠原群生
2. 発表標題 小児肝移植後長期経過症例におけるグラフト肝障害と抗ドナー抗体の関連
3. 学会等名 第55回日本移植学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 入江理恵、福田晃也、阪本靖介、笠原群生
2. 発表標題 小児肝移植後長期経過例におけるグラフト肝組織障害と抗ドナー抗体の関連の検討
3. 学会等名 第23回日本肝臓学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Rie Irie, Atsuko Nakazawa, Akinari Fukuda, Seisuke Sakamoto, Mureo Kasahara
2. 発表標題 The outcome of children receiving macrosteatotic grafts from their parents
3. 学会等名 The 2018 Joint International Congress of ILTS, ELITA & LICAGE (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Rie Irie, Atsuko Nakazawa, Akinari Fukuda, Seisuke Sakamoto, Osamu Miyzaki, Mureo Kasahara
2. 発表標題 Living donor liver transplantation for hepatorenal fibrocystic disease in children
3. 学会等名 TTS2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 入江理恵、中澤温子、義岡孝子、笠原群生
2. 発表標題 小児生体肝移植においてドナー肝の脂肪変性が予後に与える影響
3. 学会等名 第107回日本病理学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 入江理恵、福田晃也、阪本靖介、笠原群生
2. 発表標題 小児肝移植後早期の拒絶発症に関する因子の検討
3. 学会等名 第22回日本肝臓学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 入江理恵、中澤温子、福田晃也、阪本靖介、笠原群生
2. 発表標題 小児生体肝移植においてドナー肝の脂肪変性が予後に与える影響
3. 学会等名 第54回移植学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Rie Irie, Atsuko Nakazawa, Akinari Fukuda, Seisuke Sakamoto, Mureo Kasahara, Takako Yoshioka
2. 発表標題 Pathological signs of graft failure in pediatric patients after liver transplantation
3. 学会等名 The 2017 Joint International Congress of ILTS, ELITA & LICAGE (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 入江理恵, 中澤温子, 佐々木健吾, 成本壮一, 福田晃也, 阪本靖介, 義岡孝子, 笠原群生
2. 発表標題 小児肝移植後グラフト不全の原因となる病理組織学的変化の検討
3. 学会等名 第53回日本移植学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 入江理恵, 成本壮一, 福田晃也, 阪本靖介, 笠原群生
2. 発表標題 先天性肝線維症に対する生体肝移植におけるドナー肝の胆管形態と移植後予後に関する検討
3. 学会等名 第21回日本肝臓学会大会
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
研究 分 担 者	中澤 温子 (Nakazawa Atsuko) (90227736)	国立研究開発法人国立成育医療研究センター・病理診断部・ (非) 研究員 (82612)	