

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 22 日現在

機関番号：32645

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592011

研究課題名(和文)肝移植後のドナー特異的抗体検出による液性拒絶反応の制御

研究課題名(英文)The control of humoral rejection after liver transplantation by modulation of donor specific antibodies.

研究代表者

河地 茂行(Kawachi, Shigeyuki)

東京医科大学・医学部・教授

研究者番号：80234079

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：液性拒絶反応(HR)は移植後の致命的な合併症でその制御が重要な課題である。腎移植前後にDSAを測定してHRのリスク判定や診断の一助とする試みはあるが、肝移植でのDSAの役割は不明である。我々は肝・腎移植前後のDSAを測定し、従来のリンパ球クロスマッチとの整合性を検討するとともに、臨床経過との関連を検討した。

術前DSA陽性症例のみに、移植後のHRを認めた。術前クロスマッチ検査ではDSAは検出できず、DSA検出にはPRA法によるDSAスクリーニングが必要であった。de novo DSAは全症例で検出されず、de novo DSAとHRとの関連は不明であった。術前DSA検出の有用性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Humoral rejection (HR) is one of the most important complications in liver or renal transplantation. Detection of donor specific antigen (DSA) is thought to be the clue for finding high risk patients for HR, however, only lymphocyte crossmatch test was performed preoperatively and detection of DSA had never done before liver transplantation. We examined perioperative DSA and discuss the clinical significance of preoperative and de novo DSA in liver or renal transplantation.

Our results revealed that only preoperative DSA might be the predictor for HR and lymphocyte crossmatch tests had never linked to preoperative DSA. Our results also demonstrated that de novo DSA had never detected in our series of liver or renal transplantation and clinical significance of de novo DSA had been unclear. We concluded that detection of preoperative DSA might be one of the important prophylaxis for HR after liver or renal transplantation.

研究分野：消化器外科・移植外科

キーワード：肝移植 腎移植 生体肝移植 液性拒絶反応 ドナー特異的抗体 7th day syndrome 術前クロスマッチ検査 Luminex法

1. 研究開始当初の背景

我々は慶應義塾大学医学部外科学教室における肝胆膵・移植班として、これまで一貫して生体肝移植の臨床及び研究を担ってきた。1997年～2011年までに180例を超える生体肝移植を遂行し、成人症例も100例を超えたが、急性期の液性拒絶反応(HR)で最近の2症例を失った。どちらの症例も移植後7日目前後で経過が急変し、激烈なグラフト機能不全に陥った(7th day syndrome)。

この2症例の興味深い特徴は、いずれも血液型がドナーと一致し術前のリンパ球クロスマッチテスト(Complement dependent crossmatch: CDC)が陰性で、HR発症のリスクの少ない症例であった点である。我々は生体肝移植においてABO血液型不適合肝移植を積極的に導入し、腎移植で従来から施行されている移植前血漿交換、脾摘に加え、門脈カテーテルから移植肝に直接PGE1やsteroid等の薬物投与を行う門注療法を考案し、さらにB-cell depletionに有用なCD20に対するモノクローナル抗体であるrituximabを併用して、HR発症を防ぎ、極めて良好な成績を収めている。また、腎移植では禁忌であるリンパ球クロスマッチ陽性の症例に対しても門注療法を含めた免疫抑制治療を工夫することによりクロスマッチ陰性の症例と同等の成績を収めてきた。

しかし、術前クロスマッチ陰性、すなわちHRのリスクが少ない症例に対しては、通常の周術期管理を施行してきた。

2008年に51歳女性のPSC症例が7PODより急変し、結果的に32PODで失ったが、27PODの肝生検でHRが強く疑われた。この時点でCDCは陽転し、さらにpanel reactive antigen(PRA)検査は81%で、抗HLA抗体の存在も確かめられた。2010年には47歳女性のPBC症例が6PODに急変。前症例の経験からHRを疑い、血漿交換、グロブリン大量投与等を施行したが12POD

に失った。この症例も術前陰性だったCDCは肝機能悪化時点で強陽性へと変化しており肝生検でもHRが強く疑われた³⁾。

我々の経験は、このような症例において肝機能悪化や肝血流低下などの臨床症状が出た時点で治療を開始しても救命できない可能性を示唆しており、臨床症状の出る前に治療できるパラメーターが強く求められた。

我々は、自験例のHRに、de novo Donor Specific Antibody(DSA)が強く関わっている可能性があると考える一方で、我々が施行しているCDCクロスマッチテストが術前のDSAをきちんと検出できない可能性も考慮せざるを得ない。この二つの可能性を確かめる必要性から本研究を企画立案した。

2. 研究の目的

肝移植医療において液性拒絶反応(HR)の克服は重要な課題である。術前にドナー特異的抗体: Donor specific antibody(DSA)を認めないlow riskのレシピエントに発症する移植後急性期のHRは、経過が激烈で治療抵抗性であり、ほとんどの症例でgraft lossに繋がっているのが現状である。今回我々は、肝移植後の急性期に発症する致命的なHRの背景に、移植後de novoに形成されるDSAが密接に関わっていると考え、移植周術期のDSAを経時的に測定し、術前DSAやde novoDSAと臨床経過との関連を検討し、致命的なHRの治療に繋げることを目的に本研究を立案計画した。

3. 研究の方法

研究代表者が2012年4月より東京医科大学八王子医療センターに異動となったため、慶應義塾大学一般・消化器外科と東京医科大学八王子医療センター消化器外科・移植外科との多施設共同研究となった。

両施設において、研究計画遂行に先立って、倫理委員会の承認を得た。

肝移植症例は主に慶應義塾大学外科で、腎

移植症例は主に東京医科大学八王子医療センター消化器外科・移植外科の症例を対象とした。

肝移植では移植前、移植後第5病日、退院前、腎移植では肝移植のような移植後早期の激的な液性拒絶を経験する事がないため、移植前、移植後3~6ヶ月のタイムポイントに、レシピエント血液中の抗ドナー抗体(DSA)の測定を外注(SRL)により施行した。

DSAの測定には、まず抗HLA抗体のスクリーニング検査(PRA)を施行し、抗HLA抗体を認めた場合、シングル抗原同定検査を施行し、DSAか否かを確定した。

対象となる症例の臨床経過を詳細に検討してDSAとの関連を考察した。

4. 研究成果

研究代表者が2012年4月より慶大外科より東京医科大学八王子医療センター(以下センターと略す)へ移動したため、研究体制の抜本的な変更が生じた。すなわち、センター消化器外科・移植外科と慶應義塾大学外科の共同研究体制が必要となった。さらに、センターでは腎移植は行っているものの、肝移植は2007年に移植成績について患者遺族・一部メディアより問題提起がなされて以来肝移植プログラムを中止しており、新体制のもとで生体肝移植を再開することが当面の最大の課題となった。東京医科大学により外部委員を加えた「生体肝移植実施検討委員会」が組織され、生体肝移植手術実施の可否が検討された結果、新体制による生体肝移植実施が承認された。さらに、センター内での生体肝移植に関する啓蒙活動(八王子肝臓FORUM、センター生体肝移植勉強会など)を積極的に行なった。その中で非代償性アルコール性肝硬変の患者が再開第一例目であることを承知のうえで、生体肝移植を希望され、センター生体肝移植適応決定委員会に図り正式に承認された。2012年12月14日に患者の従姉をドナー(右葉

グラフト)とする生体肝移植手術を行った。研究期間初年度の大部分を生体肝移植再開のための様々な手続きに費やす事になったが、センターでの生体肝移植再開に併せて「肝・腎移植における液性拒絶反応制御を目指したドナー特異的抗体の検出と役割の解明」という慶應義塾大学病院とセンターによる多施設共同研究を東京医科大学倫理委員会に提出し承認を得た。

慶應義塾大学外科では3例の生体肝移植症例でDSAの経時的測定が可能であった。センターでは9例の生体腎移植症例で移植前後のDSAの測定を行なった。また、過去の腎移植症例75例について術前のクロスマッチ(CDC)とDSA検出との整合性を検討した。

生体肝移植症例の1例で、移植後5日目に術前に検出されていなかった抗HLA抗体を検出しており、de novo DSAが移植後早期に出現する可能性を示唆する結果を得た。生体腎移植症例9例の検討では、術前・術後を通して抗HLA抗体は検出されなかった。

術前クロスマッチとDSAの整合性に関する検討では、CDCクロスマッチでのTW陽性症例3例すべてがPRA検査陰性(抗HLA抗体スクリーニング検査陰性)であり、DSAが検出された症例はなかった。3例中2例は、フローサイトメトリーによるクロスマッチは陰性であり、臨床上也問題なく経過した。CDCクロスマッチの精度についてさらなる検討が必要と思われた。一方、クロスマッチ陰性症例の中にDSA陽性が証明された症例が3例あり、うち2例はリツキサン、DFPP、血漿交換などの前処置を施すことにより臨床経過は良好であった。脳死ドナーからの献腎移植症例のみ前処置なしで移植を施行したが、現在まで抗体関連拒絶を認めていない。我々の結果からは、DSA陽性症例をCDCクロスマッチから拾い上げるこ

とは困難で、術前のDSA検査が肝・腎移植前には必須であることが示唆された。

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5件)

Muhetaer G, Takeuchi H, Unezaki S, Kawachi S, Iwamoto H, Nakamura Y, Shimazu M, Sugiyama K, Hirano T. Clinical significance of peripheral blood lymphocyte sensitivity to glucocorticoids for the differentiation of high-risk patients with decreased allograft function after glucocorticoid withdrawal in renal transplantation. Clin Ther, 査読有, 36 (8), 2014, pp 1264-1272

Shinoda M, Tanabe M, Itano O, Obara H, Kitago M, Abe Y, Hibi T, Yagi H, Fujino A, Kawachi S, Hoshino K, Kuroda T, Kitagawa Y. Left-side hepatectomy in living donors: through a reduced upper-midline incision for liver transplantation. Transplant Proc, 査読有, 46 (5), 2014, 1400-1406

Iwamoto H, Nakamura Y, Konno O, Hama K, Yokoyama T, Kihara Y, Kawachi S, Shimazu M. Correlation between post kidney transplant anemia and kidney graft function. Transplant Proc, 査読有, 46 (2), 2014, 496-498

河地茂行、佐野 達、沖原正章、高野公德、千葉斉一、阿部雄太、島津元秀、術前画像診断のポイントと術中解剖認識肝胆膵脾疾患、臨床外科、査読無、68巻11号、2013、pp 235-240

河地茂行、島津元秀、術後の門脈血栓・閉塞 治療のコツ、臨床外科、査読無、68巻、2013、pp 172-176

[学会発表](計8件)

Kawachi S, Tanabe M, Obara H, et al, Pathogenesis and clinical features of seventh-day syndrome after living donor liver transplantation. World Transplant Congress 2014, 7/26-31/2014, San Francisco, USA

Kawachi S, Tanabe M, Obara H, et al, Clinical feature and etiology of seventh-day syndrome following living donor liver transplantation. IHPBA Seoul, 3/21-27/2014, Seoul, Korea

高野公德、河地茂行、千葉斉一、他3名、脳死肝移植待機中に生体肝移植を施行した急性肝不全の一例、第50回日本

腹部救急医学会総会、2014年3月6日～7日、東京

河地茂行、千葉斉一、高野公德、他8名、予期せぬ液性拒絶反応で失った生体肝移植を施行した一例、第40回日本臓器保存生物医学会学術集会、2013年11月9日～10日、東京

河地茂行、田邊 稔、尾原秀明、篠田昌宏、他6名、成人生体肝移植後約1週間で発症する急激なグラフト肝障害の病因、第49回日本移植学会総会、2013年9月5日～7日、京都

河地茂行、田邊 稔、篠田昌宏、他8名、予期できない液性拒絶反応によってグラフト不全が疑われた2例、第30回日本肝移植研究会、2012年6月14日～15日、福岡

河地茂行、田邊 稔、島津元秀、他7名、生体肝移植ドナー手術における胆管断端縫合閉鎖法の改良とその有用性、第48回日本移植学会総会、2012年9月20日～22日、名古屋

田中真之、河地茂行、田邊 稔、他12名、成人生体肝移植において血液型一致かつリンパ球クロスマッチ陰性にもかかわらず液性拒絶反応で死亡した2症例の検討、第112回日本外科学会定期学術集会、2012年4月12日～14日、幕張

[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

河地 茂行 (KAWACHI, Shigeyuki)
東京医科大学・医学部・教授

研究者番号：80234079

(2)研究分担者

田中 真之 (TANAKA, Masayuki)

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号：30573414

淵本 康史 (FUCHIMOTO, Yasushi)

独立行政法人国立成育医療研究センター

・その他部局等・小児外科科長

研究者番号：40219077

田邊 稔 (TANABE, Minoru)

慶應義塾大学・医学部・講師

研究者番号：50197513

(削除：平成25年8月23日)

篠田 昌宏 (SHINODA, Masahiro)

慶應義塾大学・医学部・講師

研究者番号：50286499

(3)連携研究者

()

研究者番号：