

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 30 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25861667

研究課題名(和文)小児肝移植後グラフト線維化における液性拒絶に関する研究

研究課題名(英文) Study of graft fibrosis after pediatric living donor liver transplantation for biliary atresia in association with humoral rejection

研究代表者

銭谷 昌弘 (Zenitani, Masahiro)

大阪大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：40643531

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：小児肝移植患者では移植間が長期に生存する必要があるが、肝グラフト機能の長期的維持については明らかになっていない。本研究では小児肝移植患者の長期フォローにより、グラフト肝の線維化の発生率を調査する。また、最近グラフト肝の傷害にドナー特異的抗体が注目されており、線維化とドナー特異的抗体の関連について検討した。

胆道閉鎖後肝硬変に対し生体肝移植を施行した23人のうち17人(74%)にグラフト肝の線維化を認め、ドナー特異的抗体陽性患者に線維化が進行する傾向を認めた。これらの関連についてはさらなる検討が必要であるが、本研究が線維化を予防して小児肝移植患者の長期生存につながることを期待する。

研究成果の概要(英文)：Pediatric living donor liver transplant (LDLT) patients sometimes develops graft fibrosis. Therefore, we have performed serial protocol biopsies. They showed graft fibrosis even if their liver function tests were within normal range. Recently donor specific antibody (DSA) may have a role in graft damage after liver transplantation. We investigated rate of graft fibrosis in pediatric patients after LDLT and the mechanism of fibrosis focusing the DSA.

Twenty three patients who were received the liver during childhood due to biliary atresia enrolled in this study. Graft fibrosis was observed in 17 patients (74%). Positive DSA patients tend to develop graft fibrosis. Further follow up is required to determine the relationship between fibrosis progression and DSA; however, our findings are expected to lead long term alive of pediatric patients after LDLT preventing graft fibrosis.

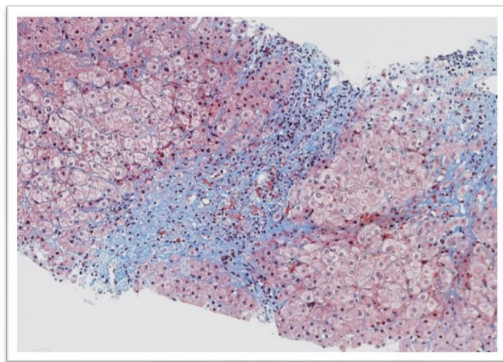
研究分野：小児肝移植

キーワード：小児 肝移植 線維化 液性免疫 ドナー特異的抗体

1. 研究開始当初の背景

小児の慢性肝疾患、肝硬変、肝不全に対する標準治療として肝移植が普遍的に行われるようになってきた。しかしながら肝移植後の移植肝にも肝臓の線維化や自己免疫性肝炎が起こり長期的には再移植が余儀なくされることが危惧される。このことは当教室の研究で示されている。(Pediatr Transplant. 2011 Aug;15(5):470-5)。また、移植肝の線維化には液性拒絶反応が関与されていることが、当教室との共同研究によって示唆されている。(Pediatr Transplant. 2012 Aug 29) また、液性免疫とくに血清中の DSA (Donor Specific Antigen) が肝臓の線維化に関与していることが示唆されている (Liver Transpl. 2012 Aug 10) のみではなく、移植後自己免疫性肝炎などにも関与していることが言われている。液性免疫については C4d の組織沈着が認められ補体系が関与していることが示唆されているが、現状ではその作用機序はわかっていない。

本研究においては肝移植後の肝の線維化を、液性拒絶と自然免疫特に補体に着目してその作用原理を明らかにするものである。



2. 研究の目的

小児の慢性肝疾患、肝硬変、肝不全に対する標準治療として肝移植が普遍的に行われるようになってきた。小児においては、移植肝が長期に生存する必要があるが、肝グラフト機能の長期的維持については明らかになっていない。近年、小児肝移植後にグラフトの線維化が進むことが明らかになっており、その作用機序と予防をすることが求められている。当該研究ではグラフトの線維化の分子生物学的メカニズムを明らかにすることにより、線維化を予防し肝移植患者の長期生存を目指す。

3. 研究の方法

当院における小児肝移植後は、肝機能が正常だとしても2,3年ごとに定期検査として肝生検を施行する。全身麻酔下または局所麻酔下に経皮的針生検と血液検査を行うが、患者の同意を得て、肝生検と血液検査で得られた余剰検体を用いて試料を収集した。胆道閉鎖に対して葛西手術を施行するも肝

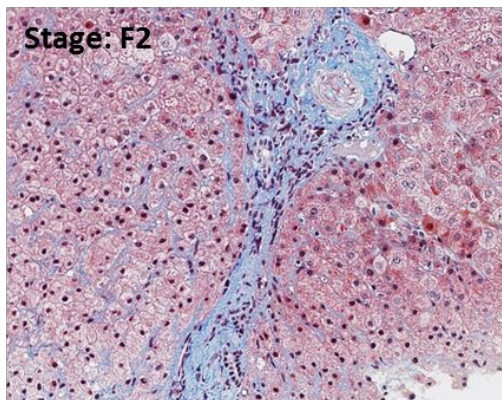
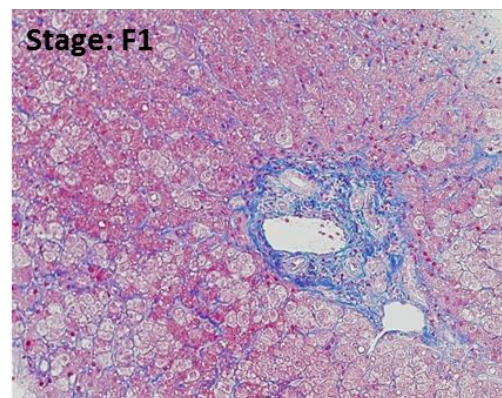
硬変が進行し、当科で生体肝移植を受けた18歳以下の患者で、5年以上フォローした23人の患者を対象として検討した。

血液検体から分離した血清を用いて、抗HLA抗体シングル抗原同定検査(Luminex assay)によりドナー特異的抗体を測定し、患者をこのドナー特異的抗体陽性群と陰性群に分けた。

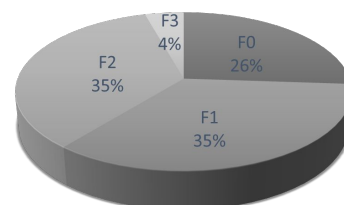
なお、線維化の評価に関しては、Metavir Score Systemを用い、肝線維化に関わる分子生物学的メカニズムをドナー特異的抗体に着目して検討した。

4. 研究成果

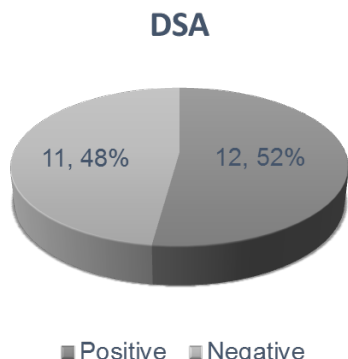
典型的なグラフトの線維化像を下記に示す。



胆道閉鎖根治術後肝硬変に対して生体部分肝移植を施行した23人の患者(女児:18人、男児:5人)のうち、6人(26%)はグラフト肝の線維化を認めなかったが、8人(35%)はF1、8人(35%)はF2、1人はF3の線



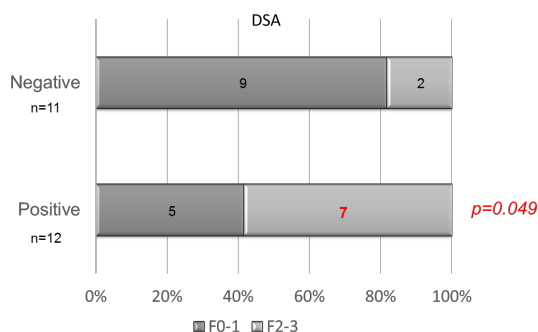
維化を認めた。
またドナー特異的抗 HLA 抗体は 12 人(52%)
の患者で陽性を示した。



ドナー特異的抗体陽性群と陰性群の患者背景では、移植時年齢、ドナーの年齢、ドナーの性別に差は見られなかったが、患者の性別では陰性群で女兒を多く認めた。

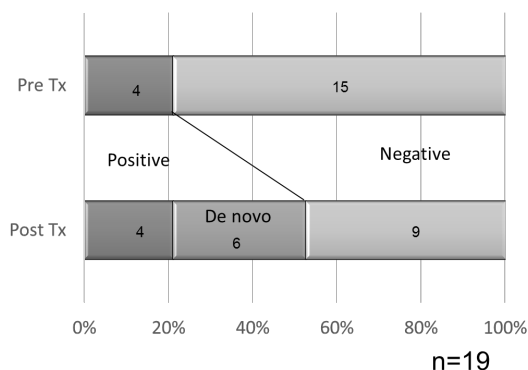
	positive(n=12)	negative(n=11)	p
Age at transplant	2.67 year old	2.56 year old	NS
Sex (Female: Male)	7:5	11:0	NS
Age of donor	36.3 year old	32.9 year old	NS
Donor (Mother: Father)	3:9	7:4	NS

さらに、ドナー特異的抗体とグラフト肝の線維化の相関を検討したところ、ドナー特異的抗 HLA 抗体陽性患者のうち 7 人(58%)で F2 もしくは F3 の線維化を認めており、陰性患者で線維化を認めたのは 2 人(18%)だけであった。この線維化とドナー特異的抗 HLA 抗体はカイ 2 乗検定により有意差な相関を認め、ドナー特異的抗 HLA 抗体陽性患者ではグラフト肝の線維化が進行する傾向を認めた。



さらに移植前のクロスマッチを施行した 19 例に対して、移植前クロスマッチ検査と移植後抗ドナー抗体の関係性についても検討を行った。

移植前クロスマッチ陽性であった 4 例は、移植後の抗ドナー抗体も陽性であった (preformed DSA)。クロスマッチ陰性であった 6 例は移植後に抗ドナー抗体が陽性 (de novo DSA) となっていた。なお preformed DSA 患者と de novo DSA 患者をグラフト線維化に関して検討したところ、関連性は認められなかった。



最後に、ドナー性別とグラフト線維化について検討した。母親ドナーの 8 例のうち 5 例 (62.5%) に、また父親ドナーの 15 例のうち 4 例 (26.6%) に F2,3 の線維化を認めた。以上より、母親ドナーのグラフトの方が線維化をきたしやすい傾向であった。(オッズ比 4.58)

本研究の成果をまとめると、胆道閉鎖に対する生体部分肝移植後の長期フォローアップで、グラフトの線維化を認めた。移植後にドナー特異的抗体が陽性の患者では F2,3 のグラフト線維化を多く認め、これらの関連性が示唆された。

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 2 件)

Masahiro Zenitani, Takehisa Ueno, Keigo Nara, et al. A case of pediatric live-donor liver transplantation with a left lateral segment reduction by a linear stapler after reperfusion, *Pediatric Transplantation* 18: 197-199, 2014

Masahiro Zenitani, Shuichiro Uehara, Emiko Miyashita, et al. Primary renal neuroblastoma with multiple lung and liver metastases: A case report with an immunohistochemical study of matrix metalloproteinase-9 and -14, *Pediatrics International*. 58(2):161-4, 2016

[学会発表](計 8 件)

Masahiro Zenitani, Noriaki Usui, Keigo

Nara, et al. A CASE OF CONGENITAL LARYNGEAL ATRESIA SUCCESSFULLY TREATED WITH EX-UTERO INTRAPARTUM TREATMENT, The 46th Annual Meeting of Pacific Association of Pediatric Surgeons, April 13, 2013, Hunter Valley, Australia

Masahiro Zenitani, Takehisa Ueno, Keigo Nara, et al. A case of a left segment graft reduction using linear stapler after reperfusion in pediatric living-donor liver transplantation, The 13th Congress of the Asian Society of Transplantation, September 4, 2013, Kyoto, Japan

銭谷昌弘、曹 英樹、中島賢吾、他 当科における小児経皮内視鏡的胃瘻造設術(PEG)の臨床的検討 第50回日本小児外科学会、2013年5月31日、東京

銭谷昌弘、上野豪久、中島賢吾、他 小児生体部分肝移植において、再灌流後に自動縫合器を用いて縮小外側区域グラフトを作成した2例 第49回日本移植学会、2013年9月6日、京都

Masahiro Zenitani, Shuichiro Uehara, Takaharu Oue, et al. A Case of Neuroblastoma derived from his Left Kidney with recurrences of multiple lung and liver metastases, 第56回日本小児血液・がん学会、2014年11月29日、岡山

Masahiro Zenitani, Takashi Nojiri, Shuichiro Uehara, et al. CNP in combination with sildenafil attenuates proliferation of rhabdomyosarcoma cells. 7th International Conference on cGMP, July 20, 2015, Trier, Germany

Takehisa Ueno, Masahiro Zenitani, Hiroaki Yamanaka, et al. Impact of Donor Specific Antibody to graft fibrosis after Pediatric Living Donor Liver Transplantation for Biliary Atresia. 14th Congress of the Asian Society of Transplantation (CAST), August 25, 2015, Singapore, Singapore

銭谷昌弘、上原秀一郎、中島賢吾、他 C型ナトリウム利尿ペプチド(CNP)がシルデナフィルとの併用により横紋筋肉腫の増殖を抑制する 第57回日本小児血液・がん学会、2015年11月27日、甲府

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 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 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
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

銭谷 昌弘 (Zenitani, MASAHIRO)

大阪大学 医学系研究科 医員

研究者番号：40643531

(2)研究分担者

(3)連携研究者

()

研究者番号：