

胆汁鬱滞性疾患の肝移植予後と移植免疫の関連性の検討

東京大学大学院 医学系研究科 健康空間情報学講座
脇 嘉代

1. はじめに

免疫抑制剤の進歩により臓器移植後の拒絶反応は抑えられるようになったが、長期にわたる免疫抑制剤の投与は感染症、糖尿病、腎機能障害、悪性腫瘍の発症のリスクを高めている。従って、移植後の患者を対象にoperational tolerance（免疫抑制剤を中止しても長期にわたって拒絶反応が起こらず生着が続く状態）の導入が進められている。動物モデルでは免疫寛容の機序が明らかにされつつあるが、通常、移植後の患者にoperational toleranceを導入することは極めて困難である。しかしながら、肝移植後の患者では他の臓器移植の患者に比べてoperational toleranceを導入しやすいと考えられており、20%程度の患者で可能であったと報告されている。

これまでにoperational toleranceに関連する因子として、制御性T細胞の増加などが指摘されているが、operational toleranceの病態やそれに関わる因子は明らかになっていない。一方で、抗HLA抗体が高値の患者では抗HLA抗体が低値の患者に比較してステロイド抵抗性の拒絶反応を起こしやすいという報告や、抗HLA抗体陰性の患者では免疫抑制剤を中止できた、という報告がある。更に、移植後に出現した抗HLA抗体や、移植前から認められる抗HLA抗体と移植後1年以内の発症した拒絶反応には関連があるという報告や、慢性拒絶反応によりグラフト不全に陥った患者はグラフトが生着していた患者に比較して有意に抗HLA抗体の陽性率が高かったという報告があり、肝移植における抗HLA抗体と拒絶反応、operational toleranceの関連性を示唆している。

本研究では、生体肝移植後の患者のうち小児患者を対象に、移植後早期の抗HLA抗体と、その後のoperational toleranceの導入の有無に関連性があるかを検討した。更に、それぞれの抗HLA抗体(HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DR、HLA-DQ、HLA-DP抗体)とoperational tolerance導入の関連性を個別に検討した。

2. 方法

対象者

1996年4月から2000年12月までに生体肝移植を受けた52名の小児患者を2011年7月まで追跡し、その結果を後ろ向きに検討した。この間に1例のグラフト不全が認められた。グラフトが生着している51名のうち、40名について抗HLA抗体の有無を調査した。30名については移植前後の両時期の抗HLA抗体が測定された。本研究は倫理委員会の承認を得て行われた。

免疫抑制剤の投与と離脱のプロトコール

タクロリムスとステロイド剤を中心とした免疫抑制療法が行われた。血中トラフ値は移植後1週間では15-20 ng/mlを目標にし、6か月後までに5-8 ng/mlに減量された。ステロイド剤は20 mg/kgを移植前から投与し、徐々に維持量まで減量された。移植後2年以上経過した症例で、カルシニューリン阻害薬（タクロリムス）単剤で管理され、過去1年間の肝機能（ALT）が正常であることを条件に免疫抑制剤の離脱が開始された。免疫抑制剤（タクロリムス）の減量は、7段階に分け、前半のステージ1~3までは4か月、後半のステージ4~7までは3か月の期間として、肝機能とその他の臨床所見の変化をモニタリングしながら徐々に行われた。トライアル中に、原因不明の肝障害が出現した場合は、肝比護剤（ウルソデオキシコール酸、グリチルリチン酸）の投与や免疫抑制剤の一時的増量（メチルプレドニゾン1週間）が行われた。1ヶ月以上続く肝障害や中等度以上の肝障害（ALT \geq 100）がみられた場合、離脱は中止された。ヒアルロン酸の持続的な上昇（ \geq 25ng/ml）が認められた場合は肝生検が行われ、活動性の炎症反応や進行性の線維化の所見があればトライアルを中止し免疫抑制剤が強化された。免疫抑制剤を中止後も1年以上にわたって肝機能が正常であった場合をoperational toleranceと定義した。更に、肝生検を行い、組織学的にも拒絶反応が認められないことが確認された。

抗HLA抗体の測定

LABScreen mixed beads (One Lambda)を用いて抗HLA抗体の有無をスクリーニングした後、LabScreen single antigen class I beadsとLabScreen single antigen class II beadsを用いて抗HLA抗体の種類を特定した。MFIのトリム平均値（normalized MFI）を算出し、1000以上を陽性と判定した。ドナーとレシピエント間でのHLAミスマッチを基にドナー特異的抗HLA抗体の有無も判定した。この際、殆どの抗HLA抗体陽性の患者で複数の抗HLA抗体が認められたためそれぞれの抗HLA抗体のMFI値を比較し、最も高いMFI値を最高MFI値と定義した。

統計解析

生体肝移植を受けた小児患者を、移植後にoperational toleranceに導入となった群（OT群）と導入に至らなかった群（非OT群）の2群に分類した。両群の患者の特徴は、カテゴリー変数についてはカイ二乗検定、連続変数についてはウィルコクソンの符号順位検定を用いて検討した。MFI値は、対数変換した値を検討した。全ての解析はStata version 10（Stata, College Station, TX）を用いて行われた。

3. 結果 研究成果

40名のうち17名がOT群であり、23名が非OT群であった。レシピエントの年齢、基礎疾患、急性拒絶反応の既往歴、HLAミスマッチの数、追跡期間など、レシピエント、ドナー、移植の条件に関して、OT群と非OT群の2群間であまり大きな差は無かったが、非OT群に比べてOT群は女性の割合が有意に高かった（88.2% vs. 47.8%; $p=0.008$ ）。また、有意差は認められなかったものの、OT群は非OT群に

比べて移植後の急性拒絶反応を発症した割合が低かった（33.3% vs. 50.0%; p=NS）。

移植前の血清では、OT群と非OT群の両群とも抗HLA抗体の保有率は高かった。一方、移植後の血清では、OT群に比較して非OT群は抗HLA抗体の保有率が有意に高かった（73.3% vs. 95.2%; p<0.001）。また、移植前後の血清を比較すると、移植前ではOT群では非OT群に比較して、抗HLA抗体クラスI及びクラスIIの両方の保有率がずっと低く（12.5% vs. 52.6%）、その違いは移植後に更に広がっていた（0.0% vs. 66.7%）。ドナー特異的抗体は術前、術後とも両群で陰性であった。

次に、殆どの抗HLA抗体陽性患者で、複数の抗HLA抗体が認められたため、最高MFI値をOT群と非OT群の2群間で比較した。その結果、移植後の血清では、抗HLA抗体クラスI及びクラスII共に、OT群に比較して非OT群では有意に最高MFI値が高かった。

また、OT群と非OT群の2群間で各種抗HLA抗体(HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DR、HLA-DQ、HLA-DP抗体)の保有率を比較した結果、非OT群ではOT群に比較して、HLA-B抗体、HLA-C抗体、HLA-DQ抗体、HLA-DR抗体の保有率が有意に高く、HLA-A抗体とHLA-DP抗体は両群で有意差が認められなかった。

4. 考察

本研究では移植後早期の抗HLA抗体と、その後のoperational tolerance導入の関連性が明らかになり、特に、抗HLA抗体の種類とそのMFI値もoperational tolerance導入に影響していることが分かった。

これまでの報告と同様に、他の臓器移植後の患者と比較すると、本コホートでもoperational tolerance導入が可能であった患者でも、抗HLA抗体の陽性率は極めて高かった。その理由の一つとして生体肝移植の患者は術前や術後に血液製剤を投与されることが多いことが考えられた。一方で、抗HLA抗体の有無のみならず、その種類やMFI値もoperational toleranceと関連があることが示され、他の臓器移植と同様に、生体肝移植においても抗HLA抗体とrejectionの因果関係が示唆された。

本コホートでは殆どの抗HLA抗体がドナー非特異的抗体であり、ドナー特異的抗体を保有するのは移植前で2名、移植後でも3名と極めて少数であった。本コホートでは移植時にHLA-A、HLA-B、HLA-DRのタイピングしか行っておらず、特に本コホートで陽性率が高かったHLA-DQ抗体についてはドナー特異的か非特異的かの判定が出来なかった。従って、HLA-DQ抗体の中にはドナー特異的抗体が含まれていると考えられ、本研究ではドナー特異的抗体のoperational toleranceへの影響を過小評価している可能性がある。また、腎移植ではドナー非特異的抗HLA抗体も拒絶反応と関連があり生着予後の悪化を引き起こすという報告もあり、生体肝移植でも非特異的抗HLA抗体がrejectionを引き起こし、operational toleranceに影響していると推測される。

従来の報告では急性拒絶反応があるとoperational toleranceが導入しにくいとされていたが、本研究では明らかではなかった。恐らく、本研究のコホートが小児であり、殆どの患者において基礎疾患が胆道閉鎖症であったことが、これまでの報告との結果の違いに影響していると考えられるが、患者数が少ないこともあり、今後、更に患者数を増やして検討する必要があると考えられた。

肝移植のみならず、腎移植など他の臓器移植でも、抗HLA抗体が陽性であるにも関わらず長期間にわたって拒絶反応を引き起こすことなく経過する症例があることが分かっている。抗HLA抗体の有無だけでなく、抗HLA抗体の免疫系における反応の強さ（MFI値など）や他の自己抗体（anti-angiotensin type 1 受容体抗体など）の存在、患者の年齢や性別など様々な因子が影響し合って最終的に拒絶反応を発症させると考えられており、特に腎移植後の患者を対象に研究が進められている。本研究でもMFI値はoperational toleranceと関連していることが明らかになっており、肝移植後の患者でも自己抗体などの影響についても検討する必要があると考えられる。

後ろ向きデザインに基づく研究であったため、全ての患者に対して移植前後の抗HLA抗体の有無を調べることが出来ず、また、抗HLA抗体の測定時期も移植前と移植後早期の2時点に限られていた。免疫抑制剤の種類や量によって抗HLA抗体が変化することも分かっており、今後は定期的な抗HLA抗体のモニタリングによる抗体の推移、肝生検による病理所見の変化、その結果としても拒絶反応とoperational toleranceについて詳細に検討することが望まれる。

本研究から小児生体肝移植後における移植免疫寛容と抗HLA抗体の関連性が示唆された。早期の抗HLA抗体の存在は移植免疫寛容の導入の可能性の予測に役立つ可能性があると考えられ、更に症例数を増やして検討する予定である。

5. 発表論文、参考文献

Waki K, Sugawara Y, Mizuta K, Taniguchi M, Ozawa M, Hirata M, Nozawa M, Kaneko J, Takahashi K, Kadowaki T, Terasaki PI, Kokudo N. Predicting operational tolerance in pediatric living-donor liver transplantation by absence of HLA antibodies. *Transplantation*. 2013 Jan 15;95(1):177-83.