

HLA 抗体保有患者の生体肝移植症例

山岡 学¹⁾ 大西 修司¹⁾ 有元美代子¹⁾ 市邊 明美¹⁾ 阿部 操²⁾
 館農 美香²⁾ 大谷 哲司²⁾ 森 眞一郎³⁾ 福原 資郎³⁾ 海堀 昌樹⁴⁾

肝移植において患者が HLA 抗体を保有する場合、移植片の液性拒絶の原因となり、特にリンパ球クロスマッチ (DCT) 陽性では注意を要する。今回 HLA 抗体保有の 50 歳代女性で ABO 不適合かつ DCT 陽性の生体肝移植を経験したので報告する。非代償性肝硬変症と診断され、移植目的にて当院外科へ入院、生体肝移植術が実施された。ABO 不適合移植で抗 B 抗体価を下げるため移植前に 3 回の血漿交換療法とリツキサンによる免疫抑制療法が実施された。移植当日と術後 4 週目以降の血小板減少に対し PC-HLA 輸血が有効であったが、T-Bil の段階的な上昇が見られ、8 週目の血小板減少では PC-HLA 輸血の効果は得られず、その後肝不全が原因で敗血症となり死亡退院となった。本例は ABO 不適合かつ HLA 抗体保有移植で、より強い免疫抑制療法の実施が強い拒絶を認めなかった要因の 1 つと考えられた。術後 8 週目以降の血小板輸血不応では、血栓性微小血管障害症 (TMA) が疑われ、後に血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) の診断がされたことから、輸血の適応と血小板減少などの原因について早期に究明し対応する必要があると思われた。

キーワード：HLA 抗体，リンパ球クロスマッチ，生体肝移植，血栓性微小血管障害症，ADAMTS13

第 55 回日本輸血・細胞治療学会総会推薦論文

はじめに

肝移植において HLA 抗体は、感染症や ABO 血液型などと共に生着や予後の成績に影響を与える重要な因子の 1 つと考えられ、特に移植片の液性拒絶の原因となっている¹⁾。肝移植を受ける患者が HLA 抗体を保有しドナーの HLA 抗原と反応する場合、術後の急性または慢性拒絶反応の頻度が高くなると考えられている²⁾。また、移植時の強力な免疫抑制療法により続発した血小板減少に対する輸血においても、患者の HLA 抗体と反応しない HLA 適合の濃厚血小板 (Platelet concentrate HLA : PC-HLA) が不可欠となる。今回、ドナーのリンパ球と反応する HLA 抗体 (Donor specific antibody : DSA) を保有する患者における生体肝移植症例を経験したので、今後の課題も含めて報告する。

症 例

患者は、50 歳代の女性で輸血歴は無く、妊娠歴が 3 回あった。家族歴として母親に胃癌の既往があり、姉

は 2 年前に乳癌で死亡している。現病歴は、2005 年 6 月に皮膚黄染を自覚し精査、加療目的のため他院にて、腹水中等量貯留と血液生化学検査などの結果から非代償性肝硬変症と診断されていた。原因としてアルコール性肝障害、自己免疫性肝炎が疑われ、フロセミドおよびスピロラクトン内服により内科的治療が行われた。しかし、改善傾向が認められないため、同年 8 月 16 日肝移植目的で当院の外科へ入院となり、9 月 6 日に実子 (20 歳代、男性) をドナーとした母児間の生体肝移植術が実施された。

入院時検査成績：Table 1

血液検査では RBC ($241 \times 10^4/\mu\text{l}$) と Hb (8.1g/dl) で低値を示し軽度の貧血を認め、PT (42%)、APTT (42.7 秒) と軽度延長があった。生化学検査では AST (165 U/l)、T-Bil (3.7mg/dl)、D-Bil (1.5mg/dl) が高値を示し、免疫検査の IgG (2,665mg/dl)、IgA (1,128mg/dl)、IgM (282mg/dl) は共に高値であった。肝炎ウイ

1) 関西医科大学附属滝井病院輸血部

2) 関西医科大学附属枚方病院輸血部

3) 関西医科大学第一内科

4) 関西医科大学外科

〔受付日：2008 年 5 月 1 日，受理日：2009 年 8 月 15 日〕

Table 1 Laboratory data on admission

| | | | | | |
|-----------|------------------------------|---------------|------------|--------|-------------|
| WBC | 6,300 / μ l | TP | 7.0 g/dl | PT | 42 % |
| RBC | 241×10^4 / μ l | ALB | 2.2 g/dl | PT-INR | 1.62 |
| Hb | 8.1 g/dl | ALB (%) | 39.90 % | APTT | 42.7 秒 |
| Ht | 23.5 % | A1-G (%) | 2.5 % | FBG | 146 mg/dl |
| Ret. | 3.02 % | A2-G (%) | 5.0 % | IgG | 2,665 mg/dl |
| PLT | 12.1×10^4 / μ l | B-G (%) | 14.5 % | IgA | 1,128 mg/dl |
| BLAST | 0 % | G-G1 (%) | 38.2 % | IgM | 282 mg/dl |
| BASO | 3.0 % | A/G | 0.67 | HAV-ab | (-) |
| EOSINO | 0 % | AST | 165 U/l | HBs-ag | (-) |
| N. PROMYE | 0 % | ALT | 26 U/l | HBs-ab | (-) |
| N. MYELO | 0 % | T-Bil | 3.7 mg/dl | HBe-ag | (-) |
| N. META | 0 % | D-Bil | 1.5 mg/dl | HBe-ab | (-) |
| NEUTRO | 50.0 % | LDH | 183 U/l | HBc-ab | (-) |
| LYMPHO | 44.0 % | γ -GTP | 37 U/l | HCV-ab | (-) |
| ATY. LYM | 0 % | CRP | 1.04 mg/dl | | |
| MONO | 3.0 % | RF | 38 IU/ml | | |
| EBL | 0 /W 100 | | | | |

Table 2 Laboratory data

| | Recipient | | Donor | |
|-------------------------------|-----------------------------|---------------------|----------------------|-------|
| ABO blood group system | A | | AB | |
| Rho (D) system | (+) | | (+) | |
| irregular alloantibody system | (-) | | (-) | |
| HLA type (allele) | A (*1101, *2601) | | A (*1101, *2402) | |
| | B (*6701, *4002) | | B (*6701, *5201) | |
| | DRB1 (*1602, *0901) | | DRB1 (*1602, *1502) | |
| anti HLA | (+) | | (-) | |
| | 8/13 * ¹ | 9/13 * ² | (-) | (-) |
| | A24, 33, B52, 44 + α | | | |
| anti HPA * ³ | (-) * ⁴ | | (-) * ⁵ | |
| direct cross-match test | (+) | | (-) | |

*¹) LCT: lymphocyte cytotoxicity test*²) AHG-LCT: anti-human globulin-LCT*³) MPHA: Mixed passive hemagglutination test*⁴) Chloroquine: untreated (+ +), treated (-)*⁵) Chloroquine: untreated (-), treated (-)

Transition of anti-B antibody (IAT: anti-IgG)

| | 8/29 | 9/6 | 9/21 | 10/5 | 10/17 | 10/31 | 11/7 |
|------------|------|-----|------|------|-------|-------|------|
| untreated | 128 | 32 | 256 | 128 | 128 | 64 | 64 |
| 2METreated | 32 | 4 | 128 | 128 | 128 | 128 | 32 |

ルスマーカーは HBs および Hbe の抗原抗体陰性, HBc 抗体陰性, ならびに HCV 陰性であった。

輸血関連検査: Table 2

患者 (A+), ドナー (AB+) で ABO 血液型不適合の生体肝移植となった. HLA 型は 1 ハプロタイプが一致 (Fig. 1), 患者の HLA 抗体はリンパ球細胞毒試験 (Lymphocyte cytotoxicity test: LCT) および抗グロブリン試薬を用いた LCT (Anti-human globulin-LCT:

AHG-LCT) 共に陽性で特異性は A24, A33, B52, B44 + α であり, 血小板抗体は混合受身凝集法 (Mixed passive hemagglutination test: MPHA) のクロロキシン未処理で陽性, 処理で陰性となり HPA 抗体は認められなかった. 患者の抗 B 抗体価は 2-Mercaptoethanol (2ME) 処理と未処理血清について間接抗グロブリン法 (Indirect anti-human globulin test: IAT) にて測定し, 移植直前の 9 月 6 日の抗体価が 4 倍で移植後の 9 月 21 日が 128 倍であった。

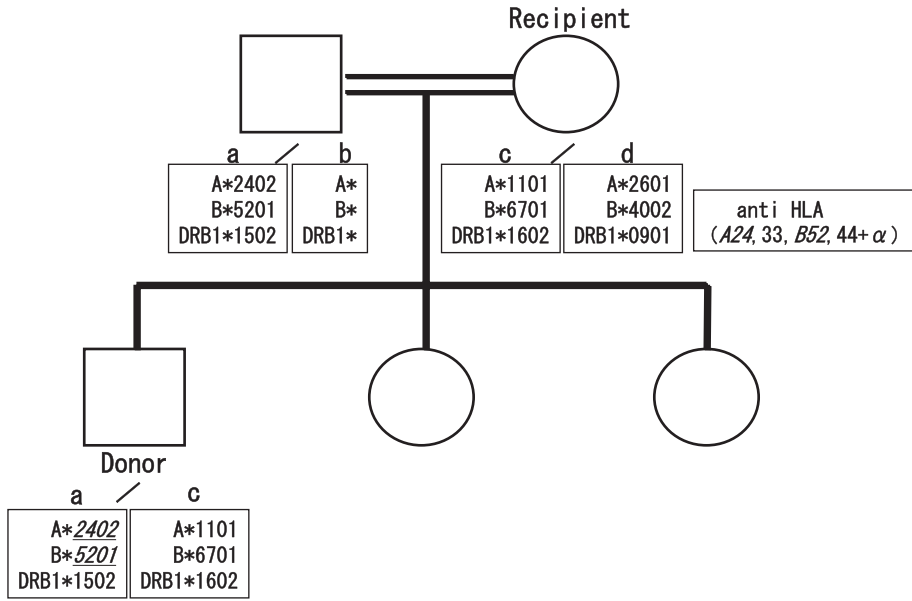


Fig. 1 Family study
 HLA: human leukocyte antigen
 Class I A: A locus
 B: B locus
 Class II DRB1: DR locus

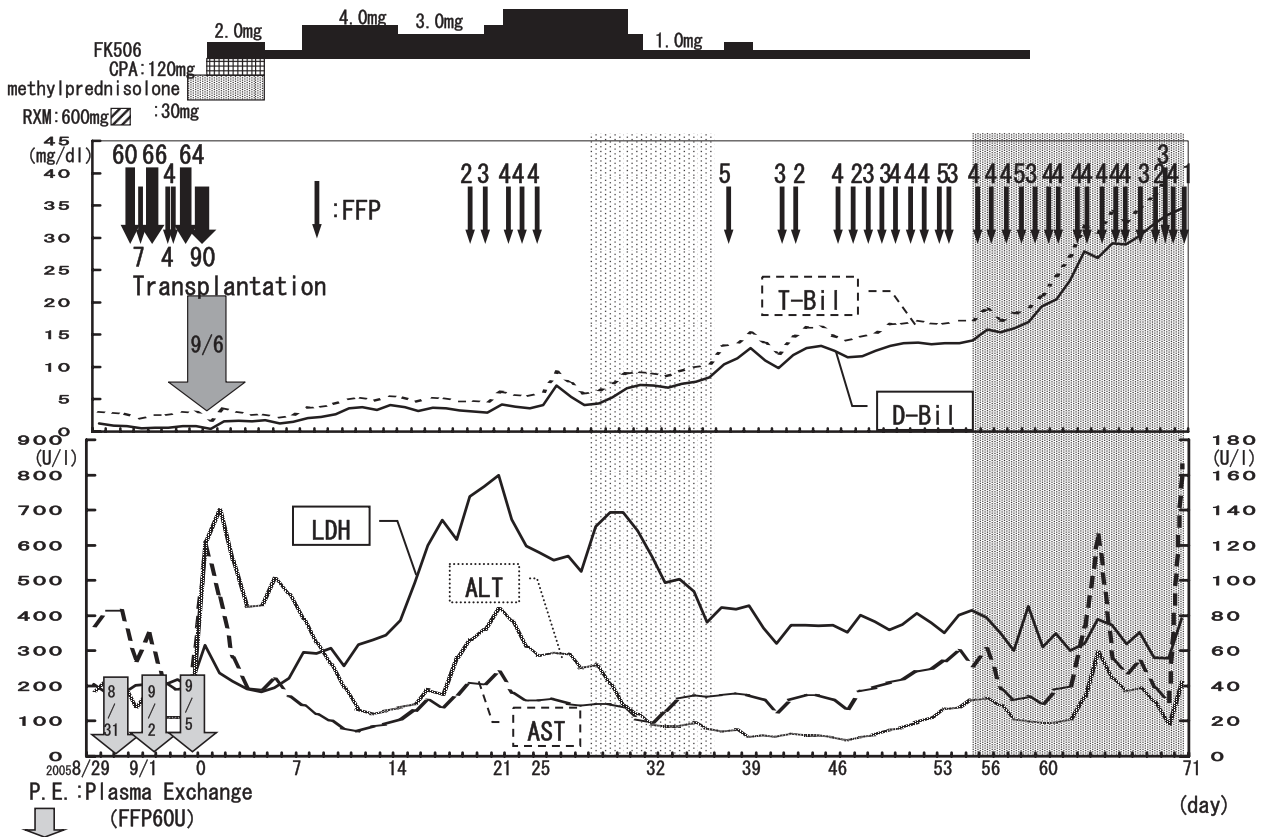


Fig. 2a Liver function

Pretransplantation immunosuppression using rituximab and three plasma exchanges, each of FFP 60 units, on 8/31, 9/2 and 9/5. Transplantation was performed 9/6. Immunosuppression using methylprednisolone, FK506, and CPA from 9/6. T-Bil gradually increased, becoming high at 4 weeks after transplantation. FK506: tacrolimus, CPA: cyclophosphamide, RXM: rituximab

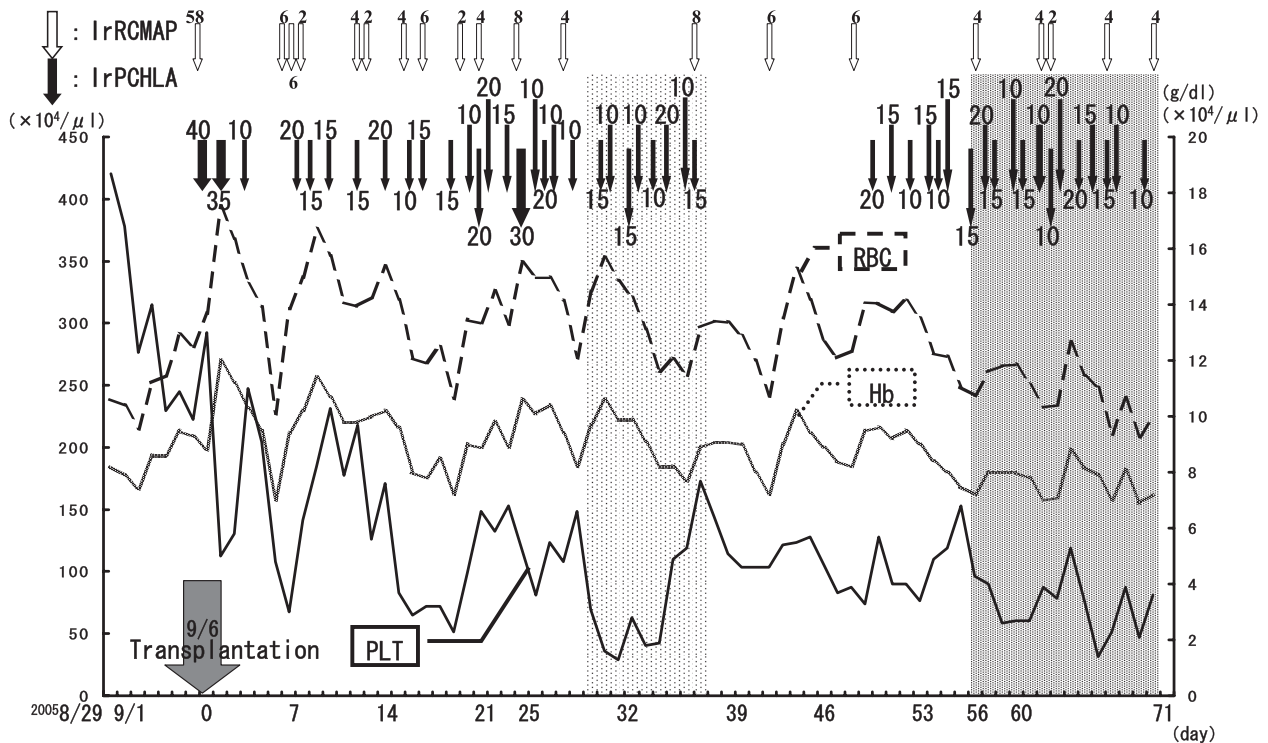


Fig. 2b Hematological data

PCHLA transfused every day from the 4th week after transplantation was effective.

PCHLA transfused every day from the 8th week after transplantation was not effective.

経過：Fig. 2

移植前に患者血漿中の抗B抗体価を下げる目的で、AB型新鮮凍結血漿（Fresh Frozen Plasma：FFP）60単位にて血漿交換療法（Plasma Exchange：PE）が3回（FFP合計180単位使用）行われた。さらに患者から主治医が明確な同意を得てリツキサン投与（600mg）による免疫抑制療法も実施された（Fig. 2a）。移植当日は、PC-HLAが40単位、FFPが90単位、赤血球M・A・P（Red Cells M・A・P：RC-MAP）が58単位輸血された（Fig. 2b）。術後は順調に経過していたが、移植後4週目頃からの急激な血小板減少に対するPC-HLAが連日8回で合計105単位投与され、24時間後の補正血小板増加数（Corrected count increment：CCI）が平均5,800と有効で、血小板減少は改善された。しかし、同時期よりT-Bilの段階的な上昇が見られ、術後8週目頃から再び血小板減少となり、PC-HLAが連日13回で合計185単位輸血されたが、24時間後のCCI平均は-1,700と改善されず、高度慢性活動性肝炎とMRSA敗血症（血液培養よりMRSA検出）により肝不全となり、11月16日死亡退院となった。その後、剖検診断より両側多発性肺化膿症と血栓性微小血管障害症（Thrombotic microangiopathy：TMA）であったと診断された。

考案

生体肝移植の患者において、HLA抗体の有無は移植

後の移植片拒絶に関与する重要な因子と考えられる。さらに移植による止血・凝固機能の低下によって、移植当日およびその後にPC輸血が実施される症例も多く³⁾。患者がHLA抗体を保有または新たに産生した場合、PC輸血の効果や移植後の患者状態に大きく影響すると考えられる⁴⁾。従って、生体肝移植ではドナー自身に臓器提供者となる意思を確認後、グラフト容積やABO血液型および肝機能が検討され、さらに患者とのリンパ球直接交差適合試験（Direct cross-match test：DCT）陰性の候補者が優先される。しかし、患者の病状やドナーの肝機能障害およびグラフト容積の不足などを考慮⁵⁾すると、DCT陽性ドナーが候補者として選択される症例もある。本例では他に候補者がなく患者およびドナーの強い要望もあり、ABO血液型不適合かつDCT陽性と悪条件での移植となったが、移植後の肝生検において高度な拒絶反応は認められなかった。これは、ABO血液型不適合の肝移植であったことから、抗体除去法として移植前に実施された3回のPEと強い免疫抑制療法としてのリツキサンの投与および移植日より行われた肝動脈注入療法⁶⁾が拒絶反応の抑制に強く影響していたと考えられた。しかし、PEによるHLA抗体価の低下および強い免疫抑制療法による抗体産生の減少でHLA抗体価の検出が困難になることも考慮して、HLA抗体検査は免疫抑制療法が開始される前に実施することがより重要であると思われた。また輸血や妊娠などによ

り前感作され HLA 抗体を保有した患者では、検出感度以下となった低力価の抗体であっても、移植や PC 輸血による 2 次免疫応答で抗体価が上昇し、移植臓器の拒絶反応の原因となる場合もある⁹⁾。そのため移植後の PC 輸血に対しても CCI などで輸血効果を評価し、適宜 HLA 抗体検査を実施することにより、新たな抗体産生や 2 次免疫応答による抗体価の上昇を早期発見でき、さらに PC-HLA への迅速な対応も可能となる。本例では、輸血ごとに CCI による効果評価が行なわれ、術後 4 週目頃の 8 回の PC-HLA 輸血は効果を認めたものの、8 週目以降に実施された 13 回の PC-HLA 輸血では 2 回で CCI が 5,000 以上で効果を認めたが 13 回の平均 CCI は -1,700 と総合的には血小板数の回復はなく、新たな抗体産生による影響も考えられたが、T-Bil の段階的な上昇から肝機能障害も考えられ 7 週目頃に確認された破碎赤血球と貧血および剖検診断より、TMA に含まれる後天性の血栓性血小板減少性紫斑病 (Thrombotic thrombocytopenic purpura : TTP) の可能性も考えられた。TTP は von Willebrand factor (VWF) を特異的に切断する酵素である ADAMTS13 (a disintegrin-like and metalloproteinase with thrombospondin type 1 motifs 13) 活性の減少により血小板血栓を形成し、血小板減少を生じる⁷⁾。ADAMTS13 の産生場所は Uemura ら⁸⁾により肝星細胞 (旧伊藤細胞) に局在していることが証明されており、肝移植後の ADAMTS13 活性の測定は、高分子量 VWF マルチマーを増加させ TMA を発症し、移植後の致命的な合併症となる⁹⁾。本例では移植前に実施された PE や当日の大量 FFP 輸血により、FFP に含まれる ADAMTS13 が補充されることで、移植後 4 週目頃までは TMA の発症が抑制されたと考えられ、PC 輸血に対しても効果が得られたと思われた。しかし、慢性肝疾患で ADAMTS13 活性が著減する¹⁰⁾という報告もあることから移植後の拒絶反応などで臓器の機能回復が遅れた場合は、ADAMTS13 活性は減少傾向となる可能性も考えられる。また、和田らは生体部分肝移植患者 81 例中 17 例に消費性血小板減少、臓器障害、溶血性貧血が認められ、生体部分肝移植に合併する TMA の報告は少ないが、比較的高頻度に合併する病態として報告している¹¹⁾ことから、移植後 8 週目頃からの血小板減少も ADAMTS13 活性が関与した可能性が示唆された。また、藤村らは ADAMTS13 活性と VWF の動態は、肝移植後早期におけるグラフト機能不全の早期診断ならびに適切な治療方針を決定する上で有用なマーカーとなり得ると提唱し⁹⁾、本例でもレトロスペクティブな結果として後日 ADAMTS13 活性が 12~13% と低下していることが判明し、肝移植後に ADAMTS13

活性の測定を適宜実施することの重要性が示唆された。特に本例のように患者が HLA 抗体を保有している場合は、その結果と臨床が連携することにより得られた患者状態を考慮し、血小板減少の原因を十分検討したうえで PC-HLA 輸血の適応ならびに FFP 輸血や血漿交換療法の選択など慎重な対応が必要であると思われた。

まとめ

ABO 血液型不適合かつ DSA 保有患者における生体肝移植を経験した。移植臓器に強い拒絶は認められなかったが、移植後の血小板減少に対して頻回の PC 輸血が必要となった。HLA 抗体保有患者に対して PC-HLA 輸血は必須であるが、血小板減少の原因究明と共にその輸血の適応を十分検討し、特に肝移植などの場合、臨床との密接な連携により ADAMTS13 活性の測定及び HLA 抗体検査を適宜実施することが重要である。

謝辞：HLA 適合血小板の供給ならびに HLA 抗体を検査して頂いた大阪府赤十字血液センターに深謝いたします。

文 献

- 1) Solange M, Manuel P: Humoral Rejection of Organ Allografts. *Am J Transplant*, 5: 2611—2618, 2005.
- 2) Sugawara Y, Makuuchi M, Kaneko J, et al: Positive T lymphocytotoxic cross-match in living donor liver transplantation. *Liver Transpl*, 9: 1062—1066, 2003.
- 3) 湯浅 健, 丹波紀実, 辻 博昭, 他: 肝移植における輸血. *外科*, 67: 555—558, 2005.
- 4) 山岡 学, 松崎龍典, 寺嶋由香利, 他: 移植後に HLA 抗体が検出された生体肝移植. *日本輸血学会雑誌*, 52: 80, 2006.
- 5) 橋倉泰彦, 中澤勇一, 小林 聡, 他: 生体肝移植におけるドナー評価. *臨床外科*, 60: 1353—1357, 2005.
- 6) 若林 剛: ABO 血液型不適合肝移植. *総合臨床*, 55: 2028—2031, 2006.
- 7) 藤村吉博: 血栓性血小板減少性紫斑病の分子機構. *今日の移植*, 19: 511—517, 2006.
- 8) Uemura M, Tatsumi K, Matsumoto M, et al: Localization of ADAMTS13 to the stellate cells of human liver. *Blood*, 106: 922—924, 2005.
- 9) 藤村吉博, 植村正人: 肝産生酵素 ADAMTS13 と血栓症. *臨床血液*, 49: 1420—1433, 2008.
- 10) Mannucci PM, Canciani MT, Forza I, et al: Changes in health and disease of the metalloproteinase that cleaves von Willebrand factor. *Blood*, 98: 2730—2735, 2001.
- 11) 和田英夫, 白井正信: 生体肝移植後の血液中の血栓止血系因子の変動. *臨床検査*, 52: 1599—1602, 2008.

A CASE OF LIVING-DONOR LIVER TRANSPLANTATION FOR A PATIENT WITH HLA ANTIBODIES

Manabu Yamaoka¹⁾, Shuji Onishi¹⁾, Miyoko Arimoto¹⁾, Akemi Ichibe¹⁾, Misao Abe²⁾, Mika Tateno²⁾, Tetuji Ohtani²⁾, Shinichirou Mori³⁾, Shirou Fukuhara³⁾ and Masaki Kaibori⁴⁾

¹⁾Blood Transfusion Unit, Kansai Medical University Takii Hospital

²⁾Blood Transfusion Unit, Kansai Medical University Hirakata Hospital

³⁾First Department of Internal Medicine, Kansai Medical University

⁴⁾Department of Surgery, Kansai Medical University

Abstract:

The presence of donor-specific HLA antibodies often causes humoral rejection in liver transplantation. When a direct cross-match test (DCT) on liver transplantation is positive, the result should be considered a particularly important clinical sign. We report a case of a female patient aged fifties with HLA antibody who was transplanted with an ABO-incompatible living-donor liver with positive DCT. Pretransplantation, she underwent immunosuppression using Rituximab and had three plasma exchanges to reduce anti B antibody titer because of the ABO-incompatible transplantation. PC-HLA-transfusions were effective in terms of thrombocytopenia on the operative day and after 4 weeks, but were refractory after 8 weeks when liver function was reduced. She later died of liver failure and sepsis. We had expected that strong immunosuppression would provide the patient with protection against strong rejection. Retrospective study showed that the platelet transfusion refractoriness (PTR) after 8 weeks was caused by thrombotic microangiopathy (TMA). This study demonstrated that prompt recognition and investigation concerning thrombocytopenia is important to allow the implementation of appropriate treatment.

Keywords:

anti HLA antibody, direct cross match test, living donor liver transplantation, TMA, ADAMTS13