

## 論文の内容の要旨

論文題目 : Blood and histologic eosinophilia as an aid to diagnose acute cellular rejection  
after living donor liver transplantation

和訳 : 生体肝移植後急性拒絶反応の補助診断としての血液中及び組織中好酸球增多

指導教員 : 幕内雅敏 教授  
東京大学大学院医学系研究科  
平成 15 年 4 月入学  
医学博士課程  
外科学専攻  
氏名 : 岸 庸二

### 研究の背景及び目的

肝移植後の急性拒絶反応 (A C R) は、グラフトの組織所見、具体的には門脈周囲のリンパ球浸潤、胆管上皮の変性、中心静脈内皮炎の程度で評価される。C型肝炎をはじめとし、A C R の組織像と鑑別が難しい病態の存在もあり、これは必ずしも絶対基準ではない。A C R 鑑別のための指標として、血液中及び、グラフト組織中の好酸球増加が有効であるとの報告があるが、散発的で評価が定まっていない。今回、生体肝移植症例にて、血液中、グラフト組織中の好酸球增多が A C R の診断に有用であるかを検討した。

### 研究 1 (血中好酸球增多と急性拒絶反応の関連)

#### 【方法】

東京大学人工臓器移植外科で 1996 年 1 月～2004 年 10 月に生体肝移植を施行し、術後 6 ヶ月以内に肝生検を施行した 167 例を対象とした。計 314 回の生検を施行し、病理医による組織所見から、拒絶の程度により、G 0、拒絶所見なし；G 1、軽度：G 2、中等度；G 3、重度と分類した。生検 3 日前 (A E C b) と当日 (A E C o) の末梢血液中の好酸球数と、拒絶の程度との関係を、一元配置分散分析にて分析した。また、好酸球增多が ACR を予測する感度、特異度を評価した。さらに、ステロイドによる拒絶の治療後、治療反応例と不応例で、好酸球数の変化に差があるかを比較した。なお、好酸球增多は、過去の報告に準じ、 $400 \text{ 個}/\text{mm}^3$  以上と定義した。

#### 【結果】

AEC<sub>b</sub>、AEC<sub>o</sub>とも、拒絶重症度が高いほど、高値を示した（ $p < 0.0001$ ）。AEC<sub>b</sub>、AEC<sub>o</sub>  $\geq 400$  個/mm<sup>3</sup> が ACR を予測する感度は、それぞれ 26%、33%、特異度は、94%、93% であった。ステロイド治療前後で好酸球数が減少する症例数は、ステロイド反応群（40/80）と不応群（34/60）との間で、有意差は無かった。

## 研究2（組織中好酸球增多と急性拒絶反応の関連）

### 【方法】

東京大学人工臓器移植外科で1996年1月～2005年6月に生体肝移植を施行し、術後6ヶ月以内に肝生検を施行したのは181例398検体であった。うち検討できたものは139例263検体で、さらに、ACRの診断に必要な5個以上のグリソンを含んでいない78検体を除外し、計185検体を対象とした。すべての肝生検は、術後、血清肝機能データの悪化を認め、超音波にてグラフトの血流異常や胆管などを認めず、ACRが疑われる際に施行した。対象となった検体で、グリソン内に浸潤している好酸球数をすべて計測した。好酸球增多は、E<sub>m</sub>: 1グリソン領域内に含まれる最多好酸球数、及び、E<sub>r</sub>: 好酸球を1個以上浸潤しているグリソン数/検体内の総グリソン数（%）にて定量化した。上記同様、各検体を拒絶の程度（G0-G3）により分類し、以下の項目について検定を行った。

1. 血中及び組織中好酸球增多が ACR を予測する感度、特異度を評価し、receiver operating characteristic curve (ROC 曲線) より、E<sub>m</sub>、E<sub>r</sub> のカットオフ値を算出。さらに、生検施行日を早期（術後30日以内）と晚期（術後30日以降）にわけ、各感度、特異度に差がないかを Wilcoxon signed rank test にて評価した。
2. AEC<sub>b</sub>、AEC<sub>o</sub> について、同様に、感度特異度分析を行った。
3. E<sub>m</sub>、E<sub>r</sub> がそれぞれ ACR の重症度、また、ステロイドに対する反応の有無により差があるかを、それぞれ一元配置分散分析、Wilcoxon signed rank test にて比較した。
4. AEC と、E<sub>m</sub>、E<sub>r</sub> 間の相関を、Spearman 順位相関係数を用いて評価した。
5. ACR 診断に用いられる、P（門脈周囲のリンパ球浸潤の程度）、B（胆管上皮の変性の程度）、V（中心静脈内皮炎の程度）の各スコアに加え、E<sub>m</sub>、E<sub>r</sub> が ACR を予測する因子になるか、単変量及び多変量解析（Logistic regression test）にて評価した。

### 【結果】

1. ROC 曲線から算出された E<sub>m</sub>、E<sub>r</sub> のカットオフ値はそれぞれ 2、8 % であった。E<sub>m</sub>  $\geq 2$ 、E<sub>r</sub>  $\geq 8$  % が ACR を予測する感度/特異度はそれぞれ、54% / 84%、72% / 65% で、早期対晚期の比較では、E<sub>r</sub>  $\geq 8$  % の感度のみ、81% 対 53% で早期の方が有意に高感度であった。
2. ROC 曲線から算出された AEC<sub>b</sub>、AEC<sub>o</sub> のカットオフ値はそれぞれ 68 個/mm<sup>3</sup>（感度 53%、特異度 77%）、82 個/mm<sup>3</sup>（感度 64%、特異度 79%）であった。早期対晚期の比較では、AEC<sub>o</sub>  $\geq 82$  個/mm<sup>3</sup> の感度のみ、73%、43% で早期の方が高

感度であった。カットオフ値を400個/mm<sup>3</sup>とすると、AECbの感度、特異度はそれぞれ16%、97%、AECoの感度、特異度は21%、97%となった。

3. G0-G3の標本数はそれぞれ95、76、13、1であったため、G3はG2に含めて比較した。Em、Erとも、重症度が高いほど有意に高値であった( $p < 0.0001$ )。G2、G3群の方が、G1群に比べて、有意にステロイド不応性ACRが多かった( $p = 0.04$ )が、ステロイド治療反応例対不応例でのEm、Erの比較では、いずれも有意差を認めなかった( $p = 0.63, p = 0.38$ )。

4. AECb/AECo対Em/Er間での $\rho$ 値は、0.35-0.45にとどまった。

5. ACR(+)対ACR(-)の比較で、P、B、V、Em、Erすべて、有意に前者で高値を示した(いずれも $p < 0.0001$ )。しかし、多変量解析では、各5因子の $p$ 値は、0.002、0.0003、<0.0001、0.94、0.74で、Em、Erは有意な予測因子とはならなかった。

### 【考察】

ACRを早期に正確に診断するには、簡便で高感度の指標で拾い上げをし、特異度の高い検査で確定するのが理想である。血清肝機能異常だけでは、41%(164/398)のACR診断率にとどまっている。AECbがACRを予測する感度も低く、生検前のスクリーニングに適していない。しかし、AECのカットオフ値を高値に設定すれば、特異度は90%以上と高くなり、ACR診断の特定には有用と考えられた。組織中好酸球增多の評価では、AECとの相関は高くなかったが、Em、Erとも、ACRを予測する感度は低く、術後1ヶ月以内の生検でのEr $\geq 8\%$ が80%以上の感度でACRを予測するにとどまった。一方で、EmのACRを予測する特異度は84%と比較的高く、Em、ErともACR重症度とは有意に相関する結果が得られた。多変量解析では、P、B、Vスコアに比べ、Em、ErのACR予測因子としての役割は否定的な結果が得られたが、本後ろ向き研究では、ACRの診断をP、B、Vスコアに基づいて行っているという前提があるため、P、B、Vスコアが有意な予想因子となるという結果が得られるのは当然で、むしろ過大評価されている可能性も考えられる。

Royal Free Hospitalグループが提唱したACR診断法では、P、B、Vスコアに加え、本研究のEmに相当する数値を、0→1点、1~4→1点、5~9→2点、 $\geq 10 \rightarrow 3$ 点とスコア化し、ACR診断基準に取り入れている。他に、一グリソン領域あたりに浸潤している好酸球数の平均値が、拒絶の重症度と相関するという報告もある。現在のP、B、Vスコアによる拒絶診断は完璧なものではなく、特にC型肝炎再燃との組織像との鑑別は困難であると言われている。従って、血液中、組織中好酸球增多は、ACR診断において、偽陰性は多いものの、ACRの確定診断には有用で、拒絶以外に肝機能以上を示す病態との鑑別に役立つ可能性がある。さらに症例を重ね、より的確な好酸球增多の定量化を行うことが今後の課題である。