生体腎移植における donor specific blood transfusion の効果

—間歇的エンドキサン併用—

北里大学泌尿器科, *同 小児科, **同 外科, ***同 移植免疫

葛西 勲 熊野 和雄 岩村 正嗣 吉田 一成
真下 節夫 遠藤 忠雄 酒井 紉 小柴 健
飯高喜久雄* 内田 久則** 渡部 浩二***

THE EFFECT OF DONOR SPECIFIC BLOOD TRANSFUSION (DST) ON GRAFT SURVIVAL —Intermittent Coverage of Cyclophosphamide—

Isao Kasai, Kazuo Kumano, Masatsugu Iwamura, Kazunari Yoshida, Setsuo Mashimo,
Tadao Endo, Tadasu Saaki, Ken Koshiba, Iidaka Kikuo*,
Hisanori Uchida** and Kozi Watanabe***

Department of Urology, *Pediatrics, **Surgery, ***Transplant Immunology,
Kitasato University School of Medicine
(Director: Prof. Ken Koshiba)

Donor specific blood transfusion (DST), given prior to living related kidney transplantation has resulted in significant improvement in graft survival. This improvement, however, has been accomplished with a high rate of adverse sensitization against the donor. In an attempt to reduce the incidence of sensitization, we have employed DST with intermittent coverage of cyclophosphamide. A comparative study was done between 2 methods of DST with or without the coverage of immunosuppressant for prospective kidney transplant recipients from living related donors. In addition, the beneficial effect of DST on graft survival was evaluated in our recent series of living related transplantation using cyclosporine A (CsA) as postoperative immunosuppression.

Twenty-nine prospective kidney transplant patients received 200 ml of fresh whole blood 3 times at 2 week intervals from HLA one-haploidentical living related donors. The first 13 patients received DST alone, while the remaining 16 were given cyclophosphamide (CPM 1.5 mg/kg/day) for 3 days prior to each DST. In patients with CPM coverage, 6.3% (1 of 16) developed positive T-warm antibody against donor and 15% of patients (2 of 13) with DST alone developed it. Like-wise 19% (3 of 16) of the former and 38% (5 of 13) of the latter became positive B-warm crossmatch. The difference in sensitization rates between these 2 groups was not statistically significant.

Nineteen patients receiving DST were compared to 21 non-DST patients in incidence of acute rejection, graft function and graft survival with the same immunosuppressive regimen, such as CsA, prednisolone, and mizoribine. One year and 2 year graft survivals were 95% and 89%, respectively, in DST group, and they were both 100% in non DST group. No statistical significance was found in graft survival, incidence of rejection episodes and graft function between the 2 groups.

In conclusion, the intermittent administration of CPM (1.5 mg/kg/day) prior to DST seems to be non-effective to reduce sensitization against the donor, and no beneficial effect by DST was seen in CsA treated living related transplant recipients.

要旨: HLA が one-haploidentical の29例に donor specific blood transfusion (DST) を施行した。その内16例に cyclophosphamide (CPM) を併用投与し, DST に起因した特異抗体の産生率について比較した。さらに, 腎移植後の免疫抑制剤として cyclosporin (CsA) を投与した生体腎移植40例の内19例に

DST を施行し、移植腎の生着に及ぼす DST の効果を検討した。DST のプロトコールは、donor より採血した200ml の新鮮全血を 2 週間隔で 3 回、計600ml 輸血し、CPM 併用群では、各 DST 施行前 3 日間のみ CPM 1.5mg/kg/day を計 9 日間経口的に投与した。DST 施行例において、抗 T 抗体の出現率は CPM 非投与群が13例中 2 例（15%）に対して CPM 投与群が16例中 1 例（6.3%）であり、抗 B-warm 抗体の出現は CPM 非投与群が13例中 5 例（38%）に対して CPM 投与群は16例中 3 例（19%）であり、抗 T 抗体及び抗 B-warm 抗体の産生率に関して CPM 投与群、非投与群で有意差は認めなかった。腎移植後に CsA を投与した40例における移植腎生着率は DST 施行群で 1 年生着率95%、2 年生着率89% で、DST 非施行群では 1 年及び 2 年生着率共に100%であったが両群間で統計学的に有意差はなかった。以上より DST における CPM の間歇的投与は前感作率の低下には有効ではなく、また腎移植後に CsA を投与した症例における DST の効果は見いだせないと思われた。

I. 緒 言

生体腎移植前の donor-specific blood transfusion (DST) の移植腎生着に対する有効性¹⁾は cyclosporin A (CsA) の登場以後議論のあるところである。事実 DST の前感作による抗リンパ球抗体産生によって腎移植を断念せざるを得ない症例も認められる。DST による前感作抗体の出現を減少させるために donor の保存血を用いたり²⁾、azathioprine 等の免疫抑制剤を併用したりする試み³⁾がある。我々は DST に、cyclophosphamide (CPM) を間歇的に併用し前感作抗体産生率を低下させることが出来るか否かを検討した。また腎移植後の免疫抑制剤として cyclosporin (CsA) を投与した症例における DST の効果も合わせて検討したので報告する。

II. 対 象

HLA が one-haploidentical の29例に DST を施行した。その内16例で CPM を併用投与し、特異抗体産生率を比較した(表 1)。さらに、昭和59年 2 月より昭和 62 年11月までに腎移植後の免疫抑制剤として CsA を投与した生体腎移植40例の内19例に DST を施行し、

移植腎に対する DST の効果を検討した。

III. 方 法

1) DST のプロトコールは Salvatierra らの方法⁴⁾、即ちドナーより採血した200ml の新鮮全血を 2 週間隔で 3 回、計600ml 輸血し最後の輸血より 4 ~12 週後に腎移植を行う方法を用いた。CPM 併用群では、各 DST 施行前 3 日間に限り CPM 1.5mg/kg/day を計 9 日間経口的に投与した(図 1)。ドナーリンパ球との direct lymphocyte crossmatch は各 DST 前にレシピエントの血清を採取して行い、抗 T 抗体、抗 B-warm 抗体及び抗 B-cold 抗体の出現の有無を検査した。

2) 腎移植後の免疫抑制剤として CsA を用いた40例の内19例に DST を施行し、DST 非施行例21例と急性拒絶反応の頻度、移植腎機能、移植腎生着率に関して比較検討した。移植後の免疫抑制剤は CsA、prednisolone、mizoribine の 3 剤を併用し、急性拒絶反応の治療として methylprednisolone によるパルス療法を施行し適時、抗リンパ球グロブリンを投与した。

IV. 結 果

1) 特異抗体産生率

DST 施行例の内 CPM 投与群、非投与群でドナーリンパ球に対するレシピエントの抗体産生率を比較すると、抗 T 抗体の出現は CPM 非投与群が13例中 2 例

表 1 Two methods of DST

DST (case)	CPM		Postoperative immunosuppressant	
			Conventional group	CsA group
29	+	16*	2	12
	-	13	6	7

CPM : Cyclophosphamide
* : Transplantation was not performed in 2 cases out of 16 cases.
Conventional group : azathioprine, prednisolone, mizoribine.
CsA group : cyclosporine A, prednisolone, mizoribine.

表2 Sensitization rate

	T-warm antibody	B-warm antibody	Period of positive crossmatch (month)	B-cold antibody
CPM (+)	6.3(1/16)	19(3/16)	5±3.6	19(3/16)
CPM (-)	15.0(2/13)	38(5/13)	5±1.4	31(4/13)

表3 Incidence of rejection episode

CsA	DST	Acute rejection (incidence)
40	+	19 29 ; 1.5/Pt (0-5)
	-	21 20 ; 1.0/Pt (0-4)

(15%) に対して CPM 投与群が16例中1例(6.3%)であり, 抗 B-warm 抗体の出現は CPM 非投与群が13例中5例(38%) に対して CPM 投与群は16例中3例(19%) であり, 抗 T 抗体及び B-warm 抗体の産生率に関して CPM 投与群, 非投与群で有意差は認めなかった。また抗 T 抗体及び抗 B 抗体の抗体消失までの期間に関しても CPM 投与群 5 ± 1.4 月, CPM 非投与群 5 ± 3.6 月で両者に有意差は認めなかった。抗 B-cold 抗体産生率も CPM 投与群, 非投与群に有意差を認めなかった(表2)。

2) 移植腎に対する DST の効果

急性拒絶反応は, DST 施行群では11症例(58%)で計29回, DST 非施行群では9症例(43%)で計20回出現し, 両者間に有意差を認めなかった(表3)。また急性拒絶反応の程度に関しても DST 施行群, 非施行群に有意差はみとめなかった。

移植腎機能に関して, 移植後1年及び2年の血清 creatinine の平均値は DST 施行群でそれぞれ 1.9 ± 1.1 mg/dl, 1.6 ± 0.67 mg/dl, DST 非施行群で 1.6 ± 0.50 mg/dl, 2.0 ± 0.69 mg/dl と両者間に有意差を認めなかった(図2)。

移植腎生着率は DST 施行群で1年生着率95%, 2年生着率89%で, graft loss は3例であった。DST 非施行群では1年及び2年生着率共に100%であった。しかし両群間で統計学的に有意差はなかった(図3)。

3) 抗リンパ球抗体陽性例の検討

DST による抗 T 抗体, 抗 B-warm 抗体陽性例で急性拒絶反応の出現回数, 移植腎生着率を検討した(表4)。抗 T 抗体陽性例は2例, 抗 B-warm 抗体陽性例は4例で, いずれも抗体消失後に移植を行った。

急性拒絶反応の出現回数を1症例あたりの平均回数

図2 Graft function

図3 Actuarial graft survival

Kidney graft survival in patients with and without DST.
All patients treated postoperatively with cyclosporineA,
prednisolone, mizoribine.

表4 Outcome of transplantation with preexisting antibody

Preexisting antibody	Incidence of acute rejection	Graft survival (%)	
		1 year	2 years
T-warm (2) antibody	2.5/Pt	50(1/2)	50(1/2)
B-warm (4) antibody	2.0/Pt	75(3/4)	75(3/4)
No antibody (36)	1.1/Pt	100(36/36)	95(19/20)

で比較すると抗リンパ球抗体陰性例では1.1回なのに対して抗 T 抗体陽性例で2.5回, 抗 B-warm 抗体陽性例では2.0回であった。

また移植腎生着率に関しては, 抗体陰性例で1年生着率100%, 2年生着率95%なのに対して抗 T 抗体陽

性例では1年及び2年生着率50%と低値を示した。また抗 B-warm 抗体陽性例でも移植腎生着率は1年及び2年生着率75%と低下傾向を示した。

V. 考 察

DST によるドナーリンパ球に対する前感作抗体の出現率は Salvatierra ら⁵⁾の報告のように30%にもおよび、これらの症例では移植の中止または延期が必要となる。この DST による感作率を低下させるためにドナーの保存血⁶⁾を用いたり、azathioprine⁷⁾や CsA⁸⁾などの免疫抑制剤を併用したりする試みがある。Anderson らは³⁾、DST 開始時から移植までの間、azathioprine (2mg/kg) を連続投与することによって前感作抗体の出現率を3%に低下させ、さらに1年生着率は97%と良好な成績を得ている。しかし、このような azathioprine の連続投与では、骨髄抑制、肝機能障害等の副作用の出現の可能性がある、白血球数、肝機能の厳重なモニタリングが必要となる。さらに Iwaki らは⁹⁾、輸血時に限り azathioprine を投与した犬の DST 実験で感作率が0で生着率も高く、この方法では移植腎に不利な抗体産生を抑え、有利な抗体産生は抑制しないのではないかと推論し、azathioprine の間歇的投与の有効性を報告している。

DST に併用投与する免疫抑制剤として何を選択するかは議論のあるところである。azathioprine に関しては、前述したように感作率の低下に有効との報告があるが、CsA に関しては報告者によって有効性は一定していない。Steinmuller らは¹⁰⁾、DST に CsA を併用投与して感作率は低下したが、1年生着率は DST 単独群よりも低く、CsA によって DST の効果も失われた可能性があるとして述べている。我々は前感作の抑制のために DST 時に CPM を併用投与した。Marque らは¹¹⁾ラットの心移植において DST に CPM を併用して良好な成績を得ている。彼らは CPM の投与時期を変えて比較した結果、DST 前日、当日あるいは2日後の CPM (1,000mg/kg) 1回投与にて100%の生着率を得ており、DST にできる限り近い時期における CPM の投与がより有効であると述べている。Takiff らは¹²⁾同様にラットの心移植の実験で DST 翌日より CPM (25mg/kg/day) を5日間連続投与し平均52日以上的心生着を得ており、DST によって活性化された特異的抗ドナーリンパ球クローンが細胞障害作用を持つ薬剤によって破壊されるという、いわゆる clonal deletion theory によって DST 施行後に免疫抑制剤を併用する妥当性を説明している。一方 Lasek らは¹³⁾マウスの心

移植の実験で CPM の輸血後投与のみでは不十分であり移植後の追加投与が必要であると述べている。更に彼らは DST 併用薬剤として CPM, CsA および cortisone を比較した結果 CPM が生着に対してより有効であったと報告している。その理由として、DST およびその直後に投与した CPM の抑制 T 細胞の抑制作用によって増殖した抗ドナー T リンパ球を移植後に追加投与した CPM が障害し、更に CPM は CsA および cortisone と比較し B リンパ球に対する影響も強いために DST による抗ドナー抗体の形成を抑制する可能性があるのではないかと推論している。我々は CPM の副作用の発現を予防し、かつ有効性を損なわない為、DST 施行前3日間に限り CPM の間歇的投与を行った。しかしながら、我々が行った CPM の投与方法では DST による感作率の低下には効果がなかったようであり、CPM の投与量、投与時期に関しては今後、更に検討を要すると思われる。

現在では、腎移植後の免疫抑制剤として CsA を投与することにより移植腎生着率は格段の向上をみせており、又 CsA 投与例においても輸血の有効性は報告されている¹⁴⁾。一方 Gardner らは¹⁵⁾、移植後の免疫抑制剤として CsA を用いた屍体腎移植157例における術前輸血の効果を検討した結果、1年生着率は非輸血群で86%であるのに対して輸血群では67%と低く、術前輸血の移植腎生着に対する効果を否定している。我々も腎移植後の免疫抑制剤として CsA を投与した群での DST の効果を検討したが、DST 施行例、非施行例での腎生着率には有意差は無く DST の効果を認めなかった。このことは他の研究者達¹⁶⁾も報告しているが、今回の検討では症例数も充分とはいえず、今後更に検討を重ねる必要があると思われる。CsA 投与が定着している今日の腎移植において何が移植成績の向上につながるか、今後、更に検討を行いたい。

VI. 結 語

1) DST 施行29例における抗 T 抗体、抗 B 抗体産生率に関して CPM 投与、非投与群で有意差はなく、DST 直前の CPM の間歇的投与は前感作抗体出現の予防に有効ではなかった。

2) CsA 投与を行なった生体腎移植40例において DST 施行例、非施行例間に、移植腎生着率、移植腎機能、急性拒絶反応の回数には有意差はなく、移植腎生着に対する DST の有効性を認めなかった。

文 献

- 1) Opelz, G.: Current relevance of the transfu-

- sion effect in renal transplantation. *Transplant. Proc.*, 17, 1015—1022, 1985.
- 2) Light, J.A., Metz, S.J. and Oddenino, K.: Donor-specific transfusion with minimal sensitization. *Transplant. Proc.*, 15, 917—923, 1983.
 - 3) Anderson, C.B., Sicard, G.A., Rodey, G.E., Anderman, C.K. and Etheredge, E.E.: Renal allograft recipient pretreatment with donorspecific blood and concomitant immunosuppression. *Transplant. Proc.*, 15, 939—942, 1983.
 - 4) Salvatiera, O., Vincenti, F., Amend, W., Potter, D., Iwaki, Y., Opeltz, G., Terasaki, P., Duca, R., Cochrum, K., Hanes, D., Sttoney, R.J. and Feduska, N.J.: Deliberate donor-specific blood transfusion prior to living related renal transplantation. *New Approach Ann. Surg.*, 192, 543—552, 1980.
 - 5) Salvatiera, O., Iwaki, Y., Vincent, F., Amend, W., Potter, D., Opeltz, G., Terasaki, P., Duka, R., Hopper, S. and Feduska, N.: Incidence characteristic and outcome of recipients sensitized after donor specific blood transfusion. *Transplantation*, 32, 528—531, 1981.
 - 6) Whelchel, J.D., Curtis, J.J., Barger, B.O., Luke, R.G. and Diethelm, A.G.: The effect of pretransplant stored donor-specific blood transfusion on renal allograft survival in one-haplotype living related transplant recipients. *Transplantation*, 38, 654—657, 1984.
 - 7) Glass, N.R., Miller, D.T., Sollinger, H.W. and Belzer, F.O.: Comparative analysis of the DST and Imuran-plus DST protocols for live donor renal transplantation. *Transplantation*, 36, 636—641, 1983.
 - 8) Martin, D.C., Dowdy, S.F., Hewitt, C.W., Black, K.S., Dominguez, D. and Gonzalez, G.A.: Comparison of renal allograft survival in rats pretreated with multiple blood transfusion combined with either cyclosporine or azathioprine. *Transplant. Proc.*, 17, 1087—1090, 1985.
 - 9) Iwaki, Y., Kinukawa, T., Terasaki, P.I., Mickey, M.R. and Ono, Y.: Donor-specific transfusion from unrelated dogs and evidence against the selection mechanism. *Transplant. Proc.*, 15, 979—984, 1983.
 - 10) Steinmuller, D.R., Novick, A.C., Stroom, S.B., Cunningham, R.J., Steinhilber, D.M. and Braun, W.K.: Donor-specific transfusion for haplo-identical living-related renal transplants using cyclosporine pretreatment. *Transplant. Proc.*, 18, 695—698, 1986.
 - 11) Marquet, R. and Heystek, G.: The induction and abolition of specific immunosuppression of heart allograft in rats by use of donor blood and cyclophosphamide. *J. Immunol.*, 115, 405—408, 1975.
 - 12) Takiff, H., Novak, M., Yin, L., Iwaki, Y. and Terasaki, P.I.: Examination of the clonal deletion hypothesis following transfusion in cardiac transplants. *Transplant. Proc.*, 19, 1452—1454, 1987.
 - 13) Lasek, W., Jakobisiak, M., Grochowska, M., Gorecki, D., Grindecki, R. and Kalinski, P.: The influence of pretransplant and posttransplant immunosuppression on cardiac graft survival in the donor-specific transfusion model in mice. *Transplantation*, 47, 913—915, 1989.
 - 14) Hills, A.N., Duguid, J., Evans, C.M., Bone, J.M. and Sells, R.A.: Three year experience of donor specific transfusion and concomitant cyclosporine A. *Transplant. Proc.*, 19, 2248—2249, 1987.
 - 15) Gardner, B., Harris, K.R., Digard, N.J., Gosling, D.C., Tate, D.G., Sharman, V.L. and Slapak, M.: Do recipients of a cadaveric renal allograft on cyclosporine require prior transfusion? Experience of a single units. *Transplant. Proc.*, 17, 1032—1033, 1985.
 - 16) Opelz, G.: The role of HLA matching and blood transfusion in the cyclosporine era. *Transplant. Proc.*, 21, 609—612, 1989.

(1989年11月8日受理)