<症例報告>

急性リンパ性白血病の同種末梢血幹細胞移植後に
肝 GVHD によるヘモジデローシスを呈した 1 例

定免 渉^{1)*} 黒田 裕行¹⁾ 在原 洋平¹⁾ 山田 充子¹⁾ 平子 匡¹⁾
 安部 智之¹⁾ 櫻井 環¹⁾ 藤井 重之¹⁾ 前田 征洋¹⁾ 藤田 美惻²⁾
 長嶋 和郎²⁾ 井山 諭³⁾ 宮西 浩嗣³⁾ 小船 雅義³⁾ 加藤 淳二³⁾

要旨：症例は 57 歳，女性．2009 年 7 月に急性リンパ性白血病を発症し，完全寛解後の 2010 年 2 月に血縁間末梢血幹細胞移植を施行した．2011 年 2 月より肝機能障害と高フェリチン血症を認めた．デフェラシロクスとウルソデオキシコール酸およびベザフィブラートを投与するも，肝機能障害が遷延した．肝生検で移植片対宿主病 (GVHD) とヘモジデリン沈着，酸化的 DNA 損傷の指標となる 8-OHdG (8-hydroxydeoxyguanosine) 染色で陽染した．このため同年 4 月よりシクロスポリンを投与したところ，肝機能障害と高フェリチン血症はともに改善した．肝機能障害改善後の肝生検では GVHD を示唆する所見およびヘモジデリン沈着は消失した．本症例は肝 GVHD の所見が改善するとともに肝ヘモジデリン沈着と高フェリチン血症も改善したことから，肝 GVHD を契機に肝細胞への鉄沈着が惹起されたものと考えられた．

索引用語： 鉄過剰症 肝GVHD ヘモジデリン 高フェリチン血症
8-OHdG

はじめに

造血幹細胞移植 (hematopoietic stem cell transplantation, HSCT) 後の血清フェリチン値と肝機能には相関があり¹⁾，肝への鉄沈着は HSCT 後の肝 GVHD (graft-versus-host disease) の増悪因子とされているが²⁾，その詳細な機序は不明である．われわれは，急性リンパ性白血病 (acute lymphocytic leukemia, ALL) に対する同種 HSCT 後の肝 GVHD に伴い肝実質細胞へのヘモジデリン沈着を認め，酸化ストレスマーカーの染色により肝細胞の酸化傷害を確認した症例を経験したので報告する．

症 例

患者：57 歳，女性．

主訴：全身倦怠感．

既往歴：股関節人工関節術後，乳癌 (2009 年に乳房切除術)．

家族歴：特記事項なし．

現病歴：2009 年 7 月に前医で ALL と診断され，hyperCVAD-high dose methotrexate (MTX)/cytarabine 療法にて完全寛解が得られた．2010 年 2 月に fludarabine/busulfan/TBI (total body irradiation) を前処置として HLA 完全一致の血縁ドナーより骨髓非破壊的末梢血幹細胞移植 (reduced intensity stem cell transplantation, RIST) を施行した．GVHD 予防は cyclosporine (CsA) と短期 MTX を行い良好な生着が得られ，皮膚に grade I の急性 GVHD を認めたのみで同年 5 月に当院を退院した．同年 7 月に grade I の皮膚・肝・消化管におよぶ全身型慢性 GVHD を認めたが，prednisolone 内服により速やかに改善し，同年 12 月には CsA 内服を終了した．2011 年 2 月より全身倦怠感を自覚して再診し，肝機能障害を認めたため入院となった．なお，ALL 初診時より赤血球総輸血量は 4 単位であり，RIST 後に最終の赤血球輸血を行ってから約 1 年が経過していた．

1) 製鉄記念室蘭病院消化器内科・血液腫瘍内科

2) 製鉄記念室蘭病院病理・臨床検査室

3) 札幌医大腫瘍・血液内科

*Corresponding author: wjomen@hotmail.co.jp

<受付日2012年12月21日><採択日2013年9月3日>

Table 1 Laboratory data on admission

<CBC>				<Immunochemistry>	
WBC	5.850 / μ L	AST	85 IU/L	ANA	(-)
Neutro	51.5 %	ALT	160 IU/L	AMA	(-)
Lymph	32.5 %	ChE	292 IU/L	ASMA	(-)
Mono	8.0 %	LDH	245 IU/L	IgG	1119 mg/dL
Eosino	7.0 %	ALP	342 IU/L	IgA	61 mg/dL
Baso	1.0 %	γ -GTP	48 IU/L	IgM	42 mg/dL
RBC	3.13×10^6 / μ L	BUN	15.0 mg/dL	<Viral marker>	
Hb	10.8 g/dL	Cre	0.7 mg/dL	IgM HAV-Ab	(-)
Hct	32.3 %	Na	139 mEq/L	HBs-Ag	(-)
MCV	103.2	K	4.2 mEq/L	HBs-Ab	(-)
MCH	34.5	Ca	9.7 mg/dL	HBc-Ab	(-)
MCHC	33.4	Fe	218 μ g/dL	CMV-Ab	(-)
Plt	17.6×10^4 / μ L	Ferritin	1270 ng/ml	CMV-IgG (EIA)	(+)
<Biochemistry>		TIBC	272 μ g/dL	CMV-IgM (EIA)	(-)
TP	7.1 g/dL	HbA1c	4.7 %	EB 抗 VCA IgG (FA)	80
Alb	4.5 g/dL	CRP	0.04 mg/dL	EB 抗 VCA IgM (FA)	<10
T-bil	0.4 mg/dL			EB 抗 EBNA (FA)	40

入院時現症：身長 155.0 cm, 体重 46.7 kg, 体温 36.5°C. 眼瞼結膜に軽度の貧血を認めたが, 腹部所見で肝脾を触知しなかった.

入院時検査所見 (Table 1)：血液検査ではトランスアミナーゼおよび胆道系酵素の上昇と高フェリチン血症 (1270 ng/dl) を認めた.

腹部 CT：脾腫なし, ヘモジデローシスに特徴的な肝の high density は認めなかった.

肝生検 (Fig. 1)：門脈域および肝小葉内にリンパ球主体の細胞浸潤を認めた. 門脈域においては膠原線維の増加を伴いリンパ球が小葉間の胆管周囲と胆管上皮内に浸潤し, 胆管上皮の変性および胆管配列の不整や内腔の不明瞭化などの胆管障害を認めた. また, 門脈末梢枝の血管内皮細胞直下にリンパ球が浸潤する内皮炎, 小葉に piecemeal necrosis も認めた (Fig. 1a, 1b). リンパ球マーカーによる検討では, 門脈域と小葉に浸潤するリンパ球は, ほとんどが CD3, CD8 陽性の cytotoxic T-cells で, CD20 や CD79a 陽性の B-cells や CD56 陽性の NK cells はごく少数であった. 以上の所見は肝移植における拒絶反応に類似した組織像であり, 慢性 GVHD 重複型の hepatitic variant type³⁴⁾ と判断した. 鉄染色では門脈域周囲の肝細胞に高度のヘモジデリン沈着を認めた (Fig. 1c). また生体内酸化ストレスマーカーである 8-OHdG (8-hydroxydeoxyguanosine)

染色では, 肝細胞と胆管上皮細胞の核に陽染した (Fig. 1d).

臨床経過 (Fig. 2)：入院時に deferasirox (DFX) を 10 mg/日で内服を開始した. さらに ursodeoxycholic acid (UDCA) と bezafibrate (BF) を追加するも, 肝機能障害が遷延した. このため薬剤性肝障害を考慮して同年 3 月に DFX を中止した. 4 月の肝生検で GVHD と診断されたため, 同年 4 月より CsA 内服を再開したところ肝機能障害は速やかに改善し, それと平行してフェリチン値も低下した. 同年 8 月には CsA を終了したが, 以後トランスアミナーゼは正常範囲内を推移した. 2012 年 2 月に 2 回目の肝生検を施行したところ, GVHD を示唆する所見は消失しヘモジデリン沈着も改善していた (Fig. 3a, 3b). また 8-OHdG 染色では陽性細胞は著明に減少していた (病理図未掲載).

考 察

HSCT 後の高フェリチン血症の原因として, 移植前処置による腫瘍細胞や骨髓の破壊⁵⁾・GVHD⁶⁾・感染症⁷⁾・赤血球輸血⁸⁾などが報告されている. 本例は ALL の完全寛解期に RIST を施行しており, 経過を通じて感染症の併発はなかった. また総赤血球輸血量は 4 単位のみで, 最終の輸血後 1 年が経過していた. さらに移植前までの血清フェリチン値は 100~300 ng/dl 程度, 血清鉄も

Fig. 1 Histological findings of the liver. (a) Moderate lymphocyte infiltration in both portal tracts and liver parenchyma. There are bile duct injury, venous endothelial inflammation, piecemeal necrosis and spotty parenchymal inflammation (Hematoxylin/Eosin stain, $\times 100$). (b) Bile duct injury. Peri-ductal and intraepithelial lymphocytic infiltration of the bile duct, showing halos around infiltrating lymphocytes within duct epithelium. Disordered polarity of the bile duct epithelium, piecemeal necrosis and dense collagen fibers are also observed ($\times 400$). (c) There was hemosiderin deposition mainly in the portal areas and hepatocytes (Prussian blue stain, $\times 100$). (d) 8-OHdG stain is strongly stained on the nuclei of hepatocytes and bile duct epithelium (Arrows show destroyed bile ducts) (8-hydroxydeoxyguanosine stain, $\times 200$).

正常範囲で経過しており、先天性の鉄代謝異常も否定的であった。本例では肝 GVHD 以外に高フェリチン血症をきたす要因はなく、肝生検で GVHD とヘモジデリン沈着の所見を呈したことから、GVHD を契機に高フェリチン血症と肝実質細胞への鉄沈着を呈したと判断される。なお CsA 内服を再開する前、AST 118 IU/L、ALT 199 IU/L まで上昇したが、T-bil・ALP・ γ -GTP は正常範囲上限を超える程度までしか上昇しておらず、血液検査上は肝 GVHD の診断基準を満たしていないが、病理組織学的所見では GVHD に矛盾せず、本例は慢性 GVHD 重複型の hepatic variant type^{3,4)}と考えられた。

8-OHdG は鉄から産生されたフリーラジカルで傷害を受けた酸化的 DNA 損傷の指標となる⁹⁾。本例は肝 GVHD と同時に胆管上皮・肝細胞に鉄沈着と 8-OHdG の陽染

を認めた。また肝 GVHD の消退とともにフェリチン値とヘモジデリン沈着は減少した。以上から本例の肝機能障害の原因は GVHD による T リンパ球の胆管上皮・肝細胞への傷害に加えて鉄沈着による酸化傷害の関与が考えられた。なお、本例で提示した病理組織像で、鉄染色陽性ではない細胞も 8-OHdG が陽性となっている箇所が多数認められた (Fig. 1c, 1d)。このことから胆管上皮・肝細胞が鉄染色陽性を示す前に、NTBI (non-transferrin-bound iron) を介した微量の遊離鉄量が細胞内で増加し、直接的に酸化的 DNA 損傷を惹起した可能性が示唆された。本例では NTBI を直接測定していないが、Sahlstedt らはトランスフェリン飽和度高値例では、NTBI が増加することを示している^{10,11)}。本例ではトランスフェリン飽和度が 80.1% と高値を示していた

Fig. 2 The clinical course of laboratory data and medication

Fig. 3 Histological findings of the liver (after improvement of liver function and serum ferritin level). (a), (b) The findings of GVHD and hemosiderin deposition improved (Prussian blue stain, $\times 40$, 100).

ことから、NTBI も増加していたと推定される。

HSCT 前の高フェリチン血症と急性 GVHD 合併についてはこれまで多くの検討が行われてきたが、相関するという報告¹²⁾¹³⁾と有意差がないとする報告⁵⁾¹⁴⁾¹⁵⁾もあり、一定した見解が得られていない。Pullarkat ら¹²⁾は血液疾患患者 190 例に対する検討で、HSCT 前に血清フェリチンが 1000 ng/dl 以上の群で有意に急性 GVHD の発症頻度が高かったと報告している。一方で、Kataoka ら¹⁴⁾は血液疾患患者 264 例に対する検討において、HSCT

前の血清フェリチン値 599 ng/dl 以上の群と未満の群で急性 GVHD の発症頻度に有意差がなかったと報告している。これらの報告例^{5)12)~15)}では移植前に既に輸血後鉄過剰症を呈していたが、本例では HSCT 前には高フェリチン血症を認めず、肝 GVHD を発症後に肝細胞の鉄沈着を合併した点で異なる。

自験例では、逆に肝 GVHD が先行してもともと存在していなかった肝細胞への鉄沈着を合併している。ヒトでは証明されていないが、実際マウスでは mismatch

移植に合併した肝 GVHD において続発性ヘモジデロシスが認められている⁶⁾¹⁶⁾. GVHD ではドナー由来の T リンパ球が, IL (interleukin)-6 や TNF (tumor necrosis factor)- α などの炎症性サイトカインを放出する. これらの炎症性サイトカインは, 肝細胞において hepcidin の発現を亢進させ, さらに細胞内鉄輸送作用を持つ ferroportin の発現を抑制することで, 肝臓での鉄の囲い込みを生じさせている⁶⁾¹⁷⁾. 自験例では血清 IL-6, TNF- α および hepcidin の測定を行っていないが, 同様の機序が働いていた可能性がある. 一方で GVHD に働く T リンパ球依存性シグナルにより小腸上皮細胞での ferroportin の発現上昇により鉄吸収が亢進して, その結果として肝への鉄沈着を引き起こす機序も示唆されている¹⁶⁾. 自験例は高フェリチン血症を併発した際に消化管 GVHD を認めず, 後者の関与は考えにくい.

本症例は肝 GVHD において胆管上皮・肝細胞のヘモジデリン沈着による酸化傷害を初めて証明した報告である. 当初 DFX を投与して血清フェリチン値は低下したが, 肝機能障害が進行したため薬剤性肝傷害を疑い DFX を中止した. CsA で GVHD が抑制され, T リンパ球が放出する炎症性サイトカインによって引き起こされていた鉄代謝異常が解除されることで, 肝ヘモジデリン沈着と肝機能障害は消褪したと考えられる. 一方で, 仮に DFX を継続していた場合も鉄がキレートされ酸化傷害が軽減されることにより, 遅れて肝機能障害が改善した可能性もある. 事実, 肝 GVHD と鉄過剰症を併発した症例において, 鉄キレート剤や瀉血療法のみ, もしくは免疫抑制剤の併用により, 肝機能障害が改善することが報告されている²⁾.

一方, 同種 HSCT 後に肝機能障害を呈する症例において, GVHD・類洞閉塞症候群・敗血症など原因の如何に関わらず肝生検で鉄沈着が証明されている¹⁸⁾. しかしこれまで 8-OHdG 染色がなされた報告はなく, 本例に認められた 8-OHdG 染色陽性所見が肝 GVHD に特異的な現象であるかについては不明である. 今後, HSCT 後肝機能障害を呈する例で肝ヘモジデリン沈着と 8-OHdG 染色を検討する必要がある.

結 語

同種 HSCT の 1 年後に肝 GVHD とヘモジデリン沈着を呈した ALL 症例を経験した. 本症例は免疫抑制療法により肝 GVHD と肝ヘモジデリン沈着が改善したことから, 肝 GVHD により肝細胞への鉄沈着が惹起されたものと考えられた. また, 本症例では肝の酸化傷害マ

ーカーが陽性であったことから, 肝 GVHD による鉄沈着が肝機能障害を助長させた可能性がある.

文 献

- 1) McKay PJ, Murphy JA, Cameron S, et al. Iron overload and liver dysfunction after allogeneic or autologous bone marrow transplantation. *Bone Marrow transplant* 1996; 17: 63—66
- 2) Kamble RT, Selby GB, Mims M, et al. Iron overload manifesting as apparent exacerbation of hepatic graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2006; 12: 506—510
- 3) Fujii N, Takenaka K, Shinagawa K, et al. Hepatic graft-versus-host disease presenting as an acute hepatitis after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow transplant* 2001; 27: 1007—1010
- 4) Strasser SI, Shulman HM, Flowers ME, et al. Chronic graft-versus-host disease of the liver: presentation as an acute hepatitis. *Hepatology* 2000; 32: 1265—1271
- 5) Lim ZY, Fiaccadori V, Gandhi S, et al. Impact of pre-transplant serum ferritin on outcomes of patients with myelodysplastic syndrome or secondary acute leukaemia receiving reduced intensity conditioning allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Leuk Res* 2010; 34: 723—727
- 6) Deeg HJ, Spaulding E, Shulman HM. Iron overload, hematopoietic cell transplantation and graft-versus-host disease. *Leuk Lymph* 2009; 50: 1566—1572
- 7) Visser A, van de Vyver A. Sever Hyperferritinemia in Mycobacteria tuberculosis Infection. *CID* 2011; 52: 273—274
- 8) Christian R, Olivier E, Bernard H, et al. Quantification by magnetic resonance imaging and liver consequences of post-transfusional iron overload alone in long-term survivors after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica* 2007; 92: 850—853
- 9) Kikuchi S, Kobune M, Iyama S, et al. Improvement of iron-mediated oxidative DNA damage in patients with transfusion-dependent myelodysplastic syndrome by treatment with deferasirox. *Free Radic Biol Med* 2012; 53: 643—648

- 10) Sahlstedt L, Ebeling F, Von Bonsdorff L, et al. Non-transferrin-bound iron during allogeneic stem cell transplantation. *Br J Haematol* 2001; 113: 836—838
- 11) Pootrakul P, Breuer W, Sametband M, et al. Labile plasma iron (LPI) as an indicator of chelatable plasma redox activity in iron-overloaded β -thalassemia/HbE patients treated with an oral chelator. *Blood* 2004; 104: 1504—1510
- 12) Pullarkat V, Blanchard S, Tegtmeier B, et al. Iron overload adversely affects outcome of allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow transplant* 2008; 42: 799—805
- 13) Platzbecker U, Bornhauser M, Germing U, et al. Red blood cell transfusion dependence and outcome after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation in patients with de novo MDS. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008; 14: 1217—1225
- 14) Kataoka K, Nannya Y, Hangaishi A, et al. Influence of pretransplantation serum ferritin on nonrelapse mortality after myeloablative and nonmyeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009; 15: 195—204
- 15) Sivgin S, Baidane S, Kaynar L, et al. Pre-transplant serum ferritin level may be a predictive marker for outcomes in patients having undergone allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Neoplasia* 2012; 59: 183—190
- 16) Bair S, Spaulding E, Parkkinen J, et al. Transplantation of allogeneic T cells alters iron homeostasis in NOD/SCID mice. *Blood* 2009; 113: 1841—1844
- 17) Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, et al. IL-6 mediates hypoferremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J Clin Invest* 2004; 113: 1271—1276
- 18) Ho GT, Parker A, MacKenzie JF, et al. Abnormal liver function tests following bone marrow transplantation; aetiology and role of liver biopsy. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004; 16: 157—162

本論文内容に関連する著者の利益相反：なし

A case of hemosiderin deposition associated with hepatic graft-versus-host disease after peripheral blood stem cell transplantation for acute lymphocytic leukemia

Wataru Jomen^{1)*}, Hiroyuki Kuroda¹⁾, Yohei Arihara¹⁾, Michiko Yamada¹⁾, Tasuku Hirako¹⁾,
Tomoyuki Abe¹⁾, Tamaki Sakurai¹⁾, Shigeyuki Fujii¹⁾, Masahiro Maeda¹⁾, Miri Fujita²⁾,
Kazuo Nagashima²⁾, Satoshi Iyama³⁾, Koji Miyanishi³⁾, Masayoshi Kobune³⁾, Junji Kato³⁾

A 57-year-old woman was diagnosed with acute lymphocytic leukemia (ALL) in July 2009. After complete remission, she received allogeneic peripheral blood stem cell transplantation (allo-PBSCT).

She had had hepatic dysfunction and high serum ferritin level since February 2011. The hepatic dysfunction had continued even after administration of ursodeoxycholic acid and bezafibrate. The findings of liver biopsy suggested Graft-versus-Host Disease (GVHD) associated with hemosiderin deposition and also 8-OHdG was strongly stained on the nuclei of hepatocytes and bile duct epithelium. The hepatic dysfunction and serum ferritin level normalized after administration of cyclosporine (CsA). The second liver biopsy showed the significant improvement of the findings of GVHD and hemosiderin deposition.

These findings might suggest that hemosiderin deposition was associated with hepatic GVHD.

Key words: Iron Overload hepatic GVHD hemosiderin high serum ferritin 8-OHdG

Kanzo 2013; 54: 741—747

1) Department of Gastroenterology and Hematology/Clinical Oncology, Internal Medicine, Steel Memorial Muroran Hospital

2) Department of Pathology and Clinical Laboratory, Steel Memorial Muroran Hospital

3) Fourth Department of Internal Medicine, Sapporo Medical University

*Corresponding author: jomen-wataru@nshp-muroran.or.jp