

汎血球減少を来し治療に難渋した血液型不適合生体腎移植の1例

東京女子医科大学 腎臓病総合医療センター

カ	イ	コウ	タ	ロウ	コ	ヤマ	イチ	ロウ	セ	キ	ジマ	ミツ	ヒロ	ナン	モク	コウ	ジ			
甲	斐	耕	太	郎	・	小	山	一	郎	・	関	島	光	裕	・	南	木	浩	二	
トウ	ジン	バラ	タ	モツ	ナ	カ	ジマ	イチ	ロウ	フ	チ	ノ	ウ	エ	シ	ウ	ヘ	テラ	オカ	サトシ
唐	仁	原	全	・	中	島	一	郎	・	瀨	之	上	昌	平	・	寺	岡	慧		

(受理 平成 16年 12月 14日)

Pancytopenia Associated with Rituximab in ABO Incompatible Renal Transplantation: a Case Report

Kotaro KAI, Ichiro KOYAMA, Mitsuhiro SEKIJIMA, Koji NANMOKU, Tamotsu TOJIMBARA,
Ichiro NAKAJIMA, Shohei FUCHINOUE and Satoshi TERAOKA

Kidney Center, Tokyo Women's Medical University

In ABO incompatible kidney transplantation (KTx), anti-donor blood type antibody titers (ADBT) should be reduced preoperatively with plasma exchange (PE) preoperatively to avoid hyperacute rejection. Despite several sessions of PE, some recipients do not respond to the treatment, and in whom the antibody titers do not decrease enough. We have developed a new protocol using an anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab) for patients who do not respond to previous treatment. The protocol consists of 2 or 3 infusions of rituximab at a dose of 375 mg/m² weekly for 3 weeks, laparoscopic splenectomy 1 week before KTx, and 3 or 4 sessions of PE after splenectomy. The immunosuppressive regimens were initiated with an anti IL-2 receptor monoclonal antibody, basiliximab, followed by cyclosporine, mycophenolate mofetil, and methylprednisolone. Seven patients were involved in the new protocol. In all cases, the ADBT dropped to below 1: 16, and KTx could be performed as scheduled. No significant side effects associated with rituximab infusions were encountered except for one female patient, who developed pancytopenia after the preconditioning. Eventually her blood cell counts recovered to normal, and she could complete the transplant. At a mean follow-up time of 679.9 days, all renal allografts are functioning well. Although pancytopenia associated with rituximab infusion should be considered as a serious complication, this new preconditioning regimen enables patients with high level ADBTs to undergo ABO-incompatible KTx, and may extend the indications and improve the long-term outcome of KTx.

Key words: renal plantation, ABO incompatible, rituximab, CD20, pancytopenia

緒 言

わが国の腎移植は、献腎数の伸び悩みから、親族より腎臓の提供を受ける生体腎移植が主流であり、2002年の統計では全腎移植数756件のうち約85%の634件が生体腎移植である。つまり、献腎移植は年間100件程度しか行われておらず、現在のシステムでは、献腎移植を希望し登録を行っても、献腎数が少ないため、平均の待機年数は7年を超えてしまうというのが実情である。そのため、現実的には臓器提供を希望するドナーがいれば生体腎移植を選択することが多い。そして、限られた親族から腎臓が

提供される結果、血液型の一致しない、いわゆる血液型不適合の症例が多くなってしまっているのが我国の特徴である。

血液型不適合生体腎移植のほとんどは我国で行われているのが実情であり、かつ、我国のヒトの血液型物質には遺伝情報により直接決定される蛋白質を抗原とするものと、糖転写酵素の活性により決定される糖鎖抗原の2種類が存在し、前者の代表はRh式血液型物質、後者の代表はABO式血液型物質である¹⁾。蛋白質抗原は赤血球膜上および一部の血球細胞膜上に発現しているのみであるが、糖鎖抗原は

表 血液型とその抗原、抗体

血液型	血液型抗原	血清中の抗血液型抗体	日本人の割合
A	A 抗原	抗 B 抗体	40%
B	B 抗原	抗 A 抗体	20%
O	なし	抗 A 抗体, 抗 B 抗体	30%
AB	A 抗原, B 抗原	なし	10%

各血液型で血液型抗原物質と抗血液型抗体が存在する。O型には血液型抗原は存在しないが、抗Aおよび抗Bの両方の抗血液型抗体が存在する。一方AB型にはA抗原およびB抗原が存在し、抗血液型抗体は存在しない。

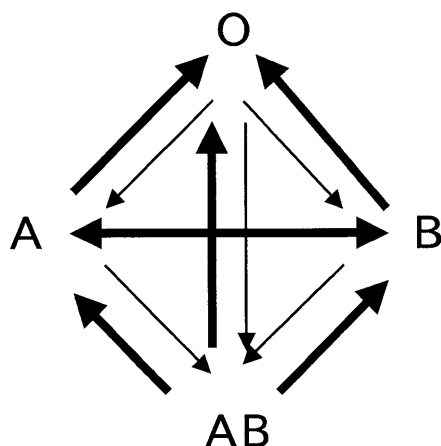


図1 移植における血液型の適合

血液型適合とは同一血液型間での移植。血液型不適合とはドナーの血液型に対する抗血液型抗体がレシピエント血清中に存在する組み合わせ。たとえばA型のドナーからB型のレシピエントへ移植を行う際、レシピエント血清中には抗B抗体が存在し、移植後この抗体が移植腎を攻撃し拒絶反応が起こってしまう(⇒)。

血液型不一致とは血液型は異なるが抗原抗体反応が起こらない組み合わせ。たとえば、O型のドナーからA型のレシピエントへ移植を行う際、O型の腎臓には血液型抗原が発現していないため、抗原抗体反応は起こらない(→)。

赤血球膜表面をはじめ血管内皮細胞、消化管組織、呼吸器系組織、尿路系組織など様々な組織上に発現していることが知られている。とくに腎動静脈、糸球体等の血管内皮細胞上に強く発現している。

血液型不適合移植においては、レシピエント血清中に元来存在する自然抗体(表, 図1)である抗血液型抗体が、移植腎の血管内皮細胞上に発現しているこれらの血液型抗原と抗原抗体反応を起こし、その結果、補体系が活性化され各種サイトカインの発現などにより、移植臓器内に血栓が形成され、数分~数時間以内に移植臓器の機能は停止してしまう。つまり、血液型不適合の臓器を生着させるためには、

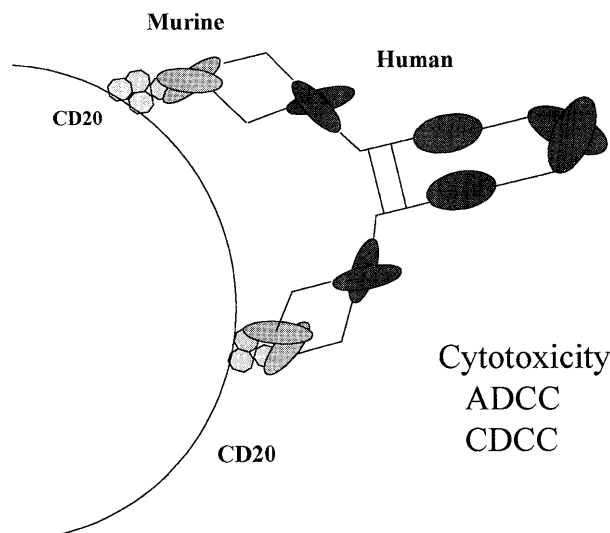


図2 Rituximabの構造

RituximabはCD20に対するマウス-ヒトキメラ型モノクローナル抗体であり、Bリンパ球等に発現しているCD20をcytotoxicity, antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC), complement-dependent cellular cytotoxicity (CDCC)により破壊する。

術前に自然抗体である抗血液型抗体を除去しなくてはならない。

血液型不適合腎移植は1952年Humeら²⁾により初めて施行され、その後、Alexanderら³⁾が全血漿交換導入した抗体除去を行うことにより成績が向上し、現在広く行われるようになった。我々の施設でも、1989年、本邦初の血液型不適合生体腎移植を成功させ、現在当科で施行される生体腎移植の実に25%を占めるまでになっている。

このように、血液型不適合腎移植では、術前の抗血液型抗体を充分除去することがもっとも肝要である。そのため、通常、術前3~4回の血漿交換(plasma exchange, PE)もしくはdouble filtration plasmapheresis (DFPP)を行っている。しかしながら、術前、血漿交換を行っても充分抗血液型抗体の抗体価が低下しない症例(non-responders)がわずかながら存在する。これらの症例は、今まで、移植を断念せざるをえないのが現状であった。

そこで、我々は、2002年2月、これらnon-responders症例に対しrituximab (anti-CD20 monoclonal antibody) (図2)を用いた新たなプロトコル(図3)を導入した⁴⁾。そして、その腎移植を8症例施行し、そのうち7症例で腎移植を成功させてきた。今回、このうち、rituximabによると考えられる汎血球減少症を認め治療に難渋した1例を報告する。

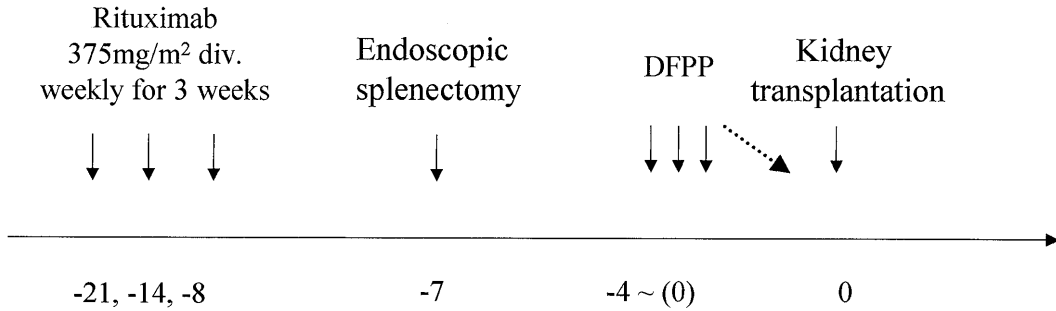


図3 当科の rituximab を用いたプロトコール

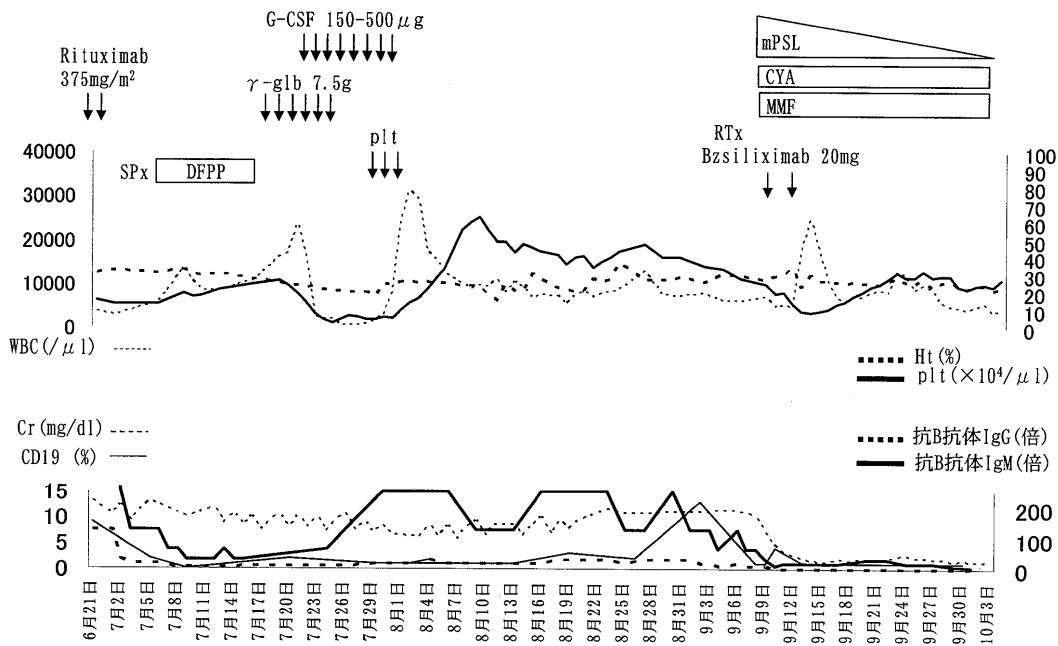


図4 患者の経過表

症 例

患者：20 歳，女性。

既往歴：特記すべき事項はない。

家族歴：母親に腎機能障害，父親は心房細動で内服治療中である。

現病歴：16 歳時，腎機能障害を指摘され，精査で間質性腎炎と診断される。17 歳時に腎機能が悪化し，血液透析を導入される。以降，維持透析を施行されていた。今回，腎移植を希望し，当科紹介受診となる。

父親，母親ともにドナー候補であり，母親は血液型適合，父親は不適合であったが，母親には腎機能障害を認め，父親には心房細動を認めた。父親の心機能を精査した結果，移植手術は充分可能と判断され，家族の強い希望もあり，父親がドナー候補とな

り，生体腎移植目的に入院となった。外来での抗血液型抗体の抗体価は生食法 128 倍，クームス法 1,024 倍と高値であった。

入院後経過 (図 4)：外来の段階で抗血液型抗体が高値であったため，血漿交換のみのプロトコールでは移植可能な範囲まで抗体価を低下させることは不可能と判断し，rituximab を用いたプロトコールを本人，家族の十分なインフォームドコンセントの下に採用した。図 4 に示すように 6 月 22 日および 28 日の 2 回，rituximab 560mg (375mg/m²) を投与した後，6 月 30 日，内視鏡下に脾臓摘出術を施行した。

術後 1 日目より DFPP を連日施行した。術後 8 日目に腎移植を行う予定であったが，末梢血中の CD19 は 2% となったものの，術直前の抗体価が生食法 4 倍，クームス法 64 倍と基準の 16 倍以下にま

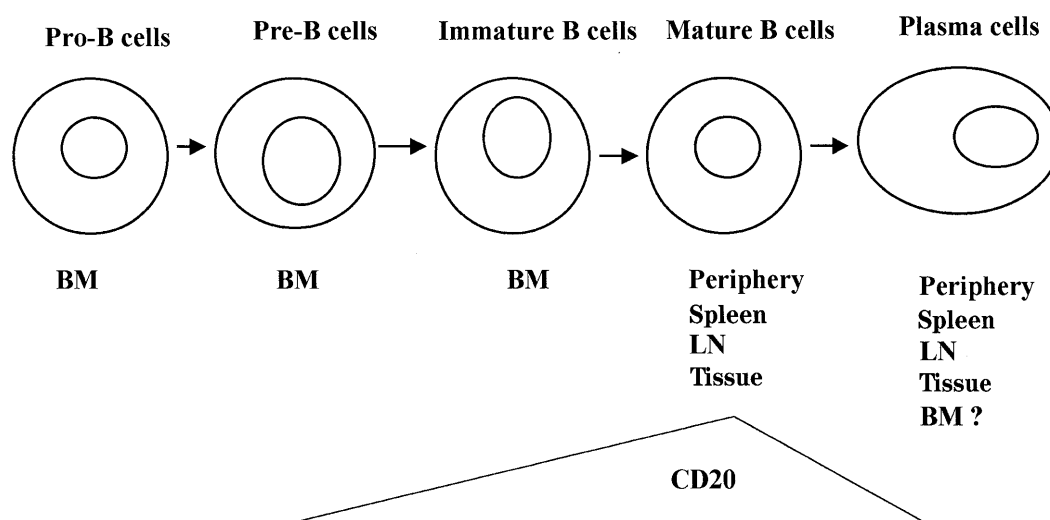


図5 Bリンパ系の分化とCD20の発現

CD20はpre-B cellsからmature B cellsの各段階に発現しているが、抗体産生能を有するplasma cellには発現していない。

で低下しなかったため、手術を1週間延期し、さらにDFPPを続けることとした。しかしその後7月12日より原因不明の発熱、CRP、尿酸値の上昇を認め、感染症を合併したと診断し抗生剤の投与を開始した。しかし、炎症所見は軽快せず、7月14日には40度台の発熱を認め、白血球数23,500/ μl 、CRP 11.9 mg/dl、尿酸24.4mg/dlとなったため、 γ グロブリンの投与を開始した。

7月15日、CRPはやや低下したが、血小板減少、FDPの上昇を認めDICを合併したと判断しメシル酸ガベキサート(FOY)の投与を開始した。7月16日、白血球数が2,420/ μl 、血小板 8.1×10^3 / μl と著明に減少した。同日夕方には白血球数1,120/ μl まで低下したため、G-CSF製剤を使用した。

その後、白血球、血小板ともに減少し、G-CSF製剤を600 $\mu\text{g/day}$ へ増量するとともに連日血小板輸血を行った。この段階で、FDPは20 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ まで上昇したもののフィブリノーゲンは全く消費されず、かつCRPは低下傾向を示しているにもかかわらず白血球、血小板は依然減少傾向を示しており、通常のDICではない可能性が高いと考えた。そこで、autologous GVHD、顆粒リンパ球増多症(granular lymphocyte-proliferative disorder)、自己免疫性疾患等の可能性も考え、抗顆粒球抗体、抗血小板抗体等の自己抗体の検索を行うとともに、フローサイトメトリーを用いてlarge granular T lymphocytes (T-LGL; CD3+, CD8+, CD57+, CD95+, CD28-)の検索も行ったが、いずれも有意な所見は得られな

かった。

明らかにT-LGLが増加している所見は得られなかったが、経過から考えて何らかの自己抗体が病態に関与している可能性が高いと判断し、 γ グロブリン大量療法の追加も行った。

その後、白血球数は7月21日の440/ μl (好中球0%)を境に徐々に増加傾向を示し、7月26日、白血球数が24,000/ μl まで上昇したためG-CSFの投与も中止した。白血球数、血小板数は正常値に回復し、全身状態も良好となったことから、9月1日抗血液型抗体の除去を行い、9月9日、腎移植術を施行、術後合併症、拒絶反応も認めず、10月3日退院となった。

考 察

血液型不適合腎移植においては、超急性拒絶反応を予防するため術前に抗血液型抗体を除去する必要がある。そして、その抗血液型抗体の除去には血漿交換が行われる。しかしながら、血漿交換を繰り返しても十分に抗血液型抗体の抗体価が低下しない症例が存在する(non-responders)。このような症例では、ドナーの変更が必要であるが、通常血液型が一致したドナーが存在しないため血液型不適合を選択した経緯があり、現実的には移植は不可能となることが多い。

当科では以前からnon-respondersに対して術前3ヵ月前から、代謝拮抗剤を投与し抗体産生能を抑制し、血漿交換に臨む方法や、血漿交換の回数を6回から7回と通常回数より増やして行う方法が採

られていた。しかしながら、どちらの方法も成績は決して芳しくなく、non-respondersでは移植を断念せざるをえない症例が多かった。そこで、そのような症例に対して我々は2002年よりrituximabを用いた新たなプロトコールを作成し、移植に取り組んできた。

Rituximabは、CD20に対するマウス-ヒトキメラ型モノクローナル抗体であり、B cell悪性リンパ腫に対する治療薬として開発された。CD20はBリンパ球のうちpre-B cellsからmature B cellsまでの各段階のBリンパ球に発現しており、rituximabはこのCD20抗原に結合し補体依存性細胞障害作用、抗体依存性細胞介在性細胞障害作用を示す(図5)。

我々は開発段階からこの抗体はB細胞を抑制することで、抗体が関与した様々な病態、つまり移植分野では血液型不適合移植の際の抗血液型抗体除去、既存抗体陽性症例における抗体除去、急性液性拒絶反応、慢性拒絶反応等の新たな治療薬となる可能性があるとして注目していた。

米国では1997年11月に承認されて以降世界中で使用されるようになり、日本でも2001年9月より使用が可能となった。症例数が増えその安全性が確認されたと判断し、学内の倫理委員会の承認を得て2002年より血液型不適合生体腎移植の、non-respondersへの投与を開始した。

そのプロトコールを図3に示す。投与量は通常のBリンパ腫への投与量に準じて決定し、末梢血中のBリンパ球がほぼ消失した後、内視鏡下に脾臓を摘出する。その後、血中に残存した抗血液型抗体を血漿交換で除去し、しかる後に移植を行うというものである。

Rituximabを用いると速やかに末梢血中のBリンパ球は消失するが脾臓中のBリンパ球は減少するものの残存してしまうことがわかっており、この残存したBリンパ球および形質細胞が抗体を産生してしまう可能性があると考え、脾臓摘出を血漿交換の前に行うこととした。

Rituximab自体も抗体であり、血漿交換で除去されてしまうが、血漿交換前にはBリンパ球をほぼ一掃することができるため、追加投与は必要ないと考えている。今後、脾臓への放射線照射などを行い、脾臓摘出を必要としないプロトコールを作成する予定である。

現在までにこのプロトコールをnon-responders 8例に対し適用したが、1症例を移植前に収縮性心内

膜炎による心不全で透析困難症となり失った以外、全例で移植は成功している。その結果、プロトコールを作成した2002年から現在に至るまで、抗血液型抗体が充分低下しなかったため移植を断念した症例はない。

7症例とも経過は順調であり、術後にも抗血液型抗体の抗体価の上昇は認めず、抗体の関与が疑われる拒絶反応を認めた症例も現在まで存在しない。

この薬剤の主たる副作用はアナフィラキシーと腫瘍崩壊症候群、そして汎血球減少である。腫瘍崩壊症候群は、Bリンパ球が大量に存在するリンパ腫において認められるものであり、Bリンパ球数が少ない場合には問題になることはないと考えられる。

汎血球減少は重大な副作用に分類されるが、その発症頻度は不明とされている。また、その発症機序も不明な点が多いが、次のような幾つかの仮説が立てられる。

① RituximabはCD20に対するモノクローナル抗体であるが、この抗体に対する抗体(anti-antiCD20mAb-Ab)も当然産生される。その際、何らかの機序で自己の骨髄前駆細胞等の造血幹細胞に対する自己抗体が産生されてしまう。

② Rituximabが患者のBリンパ球を強力に抑制したことにより、免疫学的再構築が起こり、autologous GVHDが発症する。

③ Rituximabの投与によりBリンパ球が減少し、その結果Tリンパ球のうちT-LGL(CD3+, CD8+, CD57+, CD95+, CD28-)が増加し顆粒リンパ球増多症となり汎血球減少を引き起こす^{1)~3)}。

④何らかの機序でCD20抗原がup regulateされ、通常CD20抗原が発現していない細胞にCD20抗原が発現してしまい、この細胞をrituximabが破壊してしまう⁵⁾。

⑤骨髄中でrituximabがCD20陽性細胞を破壊する際、各種サイトカイン、特にTNF- α 等が産出され、これらのサイトカインが骨髄系前駆細胞やリンパ系前駆細胞へ作用し増殖を抑制してしまう。

などである。実際、本症例では①の可能性を考え、抗顆粒球抗体をはじめ各種自己抗体の検索を行ったがいずれも陰性であった。また、③についてもT-LGLをフローサイトメトリーで計測したが増加は認められなかったため否定的であった。また、臨床的に高度な下痢が認められ、CTで結腸壁は著明に肥厚していたが、皮膚症状、肝障害は一貫して認めず、GVHDが実際に起こっていたかについても現段階

では不明である。また、③では rituximab 投与 1~3 ヶ月後に好中球減少で発症する症例の報告もあり、十分な経過観察が必要である。

本症例で最も治療に難渋した点は汎血球減少を認めた時期に敗血症や消化管出血、高度な下痢を合併したことである。発熱に引き続き白血球が減少した経緯から、この感染が汎血球減少のトリガーとなった可能性は否定できない。そして、感染症による DIC については、血小板以外の血球系もすべて著しい減少を認めたこと、FDP の上昇は認めたもののフィブリノーゲンは一貫し減少しなかったこと、CRP の低下を認めた後も汎血球減少が持続したことなどから、これのみで病態を説明することはできないと考えられた。本症例では、幸いにしてその後白血球、赤血球、血小板ともに回復したため、再度血漿交換を行い、腎移植を行うことができた。

Rituximab による好中球減少は 1998 年 McLaughlin ら⁶⁾により初めて臨床で報告され、以降報告例が散見される。しかしほとんどの報告では悪性リンパ腫に対する化学療法を併用しており、rituximab による副作用に起因するものであるか否かは定かではない。また、Maloney ら⁷⁾、Chaiwatanatorn ら⁸⁾は rituximab 投与後 1~5 ヶ月で重篤な好中球減少を認める delayed-onset neutropenia を報告している。

また、Davis ら⁵⁾は CD20 抗原が各種サイトカイン、NK 細胞、G-CSF 等様々な刺激により、up regulate される可能性があることを報告している。つまり、本症例では感染等により各種サイトカインが放出され、CD20 抗原が通常発現している細胞以外、特に造血幹細胞系などへ発現したことにより rituximab がこれらの細胞を killing した可能性が考えられる。

そして、CD19 の変動をみると、この感染を認めた時期に一致し若干の増加を示していることがわかる。また、本症例では、2 回目の rituximab 投与 2 日後に脾臓を摘出した。そのため、本来は脾臓中で

消費されるはずの rituximab が、充分脾臓内で消費されず、骨髄内へ高濃度に移行した可能性が考えられる。その結果、骨髄腔中の狭いスペースで CD20 陽性細胞が破壊され、その骨髄腔内の各種サイトカイン濃度が高まり、そのために造血幹細胞も破壊された可能性も考えられる。

しかしながら、これはあくまでも推測であり今後さらなる検討が必要である。このように、rituximab は今まで移植不可能とされてきた慢性腎不全患者に対し、極めて有用な薬剤である。しかしながら、その投与には十分な注意が必要である。

文 献

- 1) 太田和夫, 阿岸鉄三, 高橋公太ほか: ABO 血液型不適合腎移植. 日本医学館, 東京 (1991)
- 2) Hume DM, Merrill JP, Miller BF et al: Experiences with renal homotransplantation in human: Report of nine cases. *J Clin Invest* **84**: 327-382, 1955
- 3) Alexander GPJ, Squifflet JP, Bruyere M et al: Splenectomy as a prerequisite for successful human ABO-incompatible renal transplantation. *Transplant Proc* **17**: 138-143, 1985
- 4) Sawada T, Fuchinoue S, Teraoka S: Successful A1-to-O ABO-incompatible kidney transplantation after a preconditioning regimen consisting of anti-CD20 monoclonal antibody infusions, splenectomy, and double-filtration plasmapheresis. *Transplantation* **74** (9): 1207-1210, 2002
- 5) Davis TA, Grillo-López AJ, White CA et al: Rituximab anti-CD20 monoclonal antibody therapy in non-Hodgkin's lymphoma: safety and efficacy of retreatment. *J Clin Oncol* **18** (17): 3135-3143, 2000
- 6) McLaughlin P, Grillo-Lopez A, Link B et al: Rituximab chimeric anti-CD20 monoclonal antibody therapy for relapsed indolent lymphoma: half of patients respond to a four-dose treatment program. *J Clin Oncol* **16**: 2825-2833, 1998
- 7) Maloney D, Grillo-López AJ, White CA et al: IDEC-C2B2 (rituximab) anti-CD20 monoclonal antibody therapy in patients with relapsed low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* **90**: 2188-2195, 1997
- 8) Chaiwatanatorn K, Lee N, Grigg A et al: Delayed-onset neutropenia associated with rituximab therapy. *Br J Haematol* **121**: 913-918, 2003