

## 生体肝移植症例における血中 IL-18 変動の検討

阿不都許庫尔 米吉提<sup>1)2)</sup> 岩 堀 徹<sup>1)</sup> 今 野 理<sup>1)</sup>  
 城 島 嘉 磨<sup>1)</sup> 赤 司 勲<sup>1)</sup> 中 村 有 紀<sup>1)</sup>  
 濱 耕一郎<sup>1)</sup> 岩 本 整<sup>1)</sup> 内 山 正 美<sup>1)</sup>  
 葦 沢 龍 人<sup>1)</sup> 松 野 直 徒<sup>1)</sup> 長 尾 桓<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京医科大学八王子医療センター外科学第五講座

<sup>2)</sup> 中国新疆ウイグル自治区喀什地区人民病院外科

**【要旨】** インターロイキン 18 は、リポポリサッカライド刺激によりクッパー細胞から分泌される Th1 型サイトカインであり、インターフェロン  $\gamma$  を誘導することが特徴である。本研究では生体部分肝移植でのレシピエントとドナーにおいて術前から術後 1 ヶ月にわたり、血中 IL-18 濃度を測定し臨床経過と併せて詳細に検討を行った。

レシピエントでは術後血清 IL-18 値 (sIL-18) が著明に高値を示す 2 症例と、軽度高値を示す 2 症例が存在した。前者においては胸水や腹水の貯留、CMV 感染、拒絶、血球貪食症候群にて上昇が認められ、予後が不良である傾向を認めた。また肝細胞障害マーカーが変化する前に sIL-18 が上昇する傾向があり、術後合併症の早期診断マーカーとして有用である可能性が示唆された。

ドナーでは術後 sIL-18 が軽度高値を示す 2 症例と、全く上昇しない 2 症例が存在した。軽度上昇する症例においては、術後合併症として消化管出血や肝機能障害の遷延等が存在したが、在院日数等に影響はなく無事全例退院となった。

また、レシピエントとドナー全症例において血清 IL-12 値の上昇は見られなかったことより、本研究において認められた sIL-18 の上昇は非細胞性免疫機序によるものと考えられた。

### はじめに

当教室が現在取り組んでいる生体肝移植術において、特にレシピエントは種々の侵襲を受け様々な病態を呈する。すなわち原疾患に加え、術中の出血やグラフトの冷保存、再灌流障害、術後の感染、拒絶等である。おそらくそこでは各種サイトカインやその拮抗物質が産生され、変動していると思われる。当センターでの成人に対する生体部分肝移植は 2000 年 10 月より開始しており、現在まで 19 例を越えた。肝移植は成

功すれば患者の生存を高め生活の質を向上することは明らかであるが、何らかの原因で不成功に終わった場合、再移植の機会がなければ死を早める結果となる。したがって、その適応には慎重にならざるを得ない。施設によって適応基準は若干異なるが、成績の向上に伴い基準が緩やかになり対応疾患も拡大する傾向にある。さらに、術後の様々な病態に対して迅速かつ適正な処置を施行することが大切である。当センターにおいても症例を積み重ねるにつれて進行した肝不全患者への肝移植成績が悪く術後の合併症が多

2005 年 1 月 13 日受付、2005 年 2 月 1 日受理

キーワード：生体肝移植、IL-18、IL-12

(別冊請求先：〒 193-0998 東京都八王子市館町 1163 東京医科大学八王子医療センター外科学第五講座 阿不都許庫尔 米吉提)

いことを経験している<sup>1)</sup>。

一方、IL-18は1995年に岡村らによって発見されその遺伝子がクローニングされた<sup>2)</sup>。発見当初IL-18はIL-12の共存下で強力にIFN- $\gamma$ を誘導する因子として注目をあびた<sup>3,4)</sup>。しかしその後の研究でIL-18はIFN- $\gamma$ ばかりでなく、IL-4産生を誘導することが判明した<sup>5,6)</sup>。このように一つのサイトカインが条件の違いで二律背反のTh1反応(細胞性免疫)、あるいはTh2反応(液性免疫)を促進するようなサイトカインはIL-18において他にない<sup>7)</sup>。さらにこのサイトカインは、免疫反応とは直接因果関係のないLPS(リポポリサッカライド)で刺激したクッパー細胞から産生されるという報告もある<sup>8)</sup>。

このように近年肝侵襲マーカーや細胞性免疫調節因子である血中IL-18濃度をわれわれは今回術前から術後にかけて経時的に詳細に測定し、臨床経過と併せて検討を行ったので報告する。

### 対象と方法

対象は2000年10月から現在まで当科において生体部分肝移植を施行した症例19例のうち詳細なsIL-18値変動の検討をし得た4例のレシピエントとドナーである。

レシピエント (Table 1) は全例が男性。年齢は39-56歳で、平均年齢は50.7歳であった。原疾患は自己免疫性肝炎・肝硬変 (AIH・LC) 1例、C型肝炎・原発性肝癌 (HCV・HCC) 1例、肝硬変 (LC) 1例、C型肝炎・肝硬変・原発性肝癌 (HCV・LC・HCC) 1例で

あった。血液型はB型2例、A型2例であり、そのうちレシピエント1と4はABO血液型不一致のために術前に血漿交換を行った。術中出血量6,265-34,185mlであり、平均出血量は16,657mlであった。

ドナーは (Table 2) 男性1例、女性3例、年齢は22-57歳で、平均年齢は36.2歳であった。血液型はB型1例、A型1例、O型2例であった。摘出グラフトは全例右葉であり重量は550-880g、平均重量718gであった。残肝率31-43%であり平均残肝率は33%であった。術中出血量190-715mlであり平均出血量は475mlであった。

方法；末梢血を全血にて10ml採血し、3,000回転/分で5分間遠心して得た血清を-80°Cに冷凍保存したものをサンプルとして使用した。sIL-18の測定は、MBL社製IL-18測定キットを用いてELISA法にて行った。測定にはMolecular Devices社製吸光度計にて450nmの吸光度を計測し、波長620nmをreferenceとして差し引いた値を測定値とした。IL-18の正常人同キット測定値は126.0±44.5pg/mlであった。測定時期は術前、手術当日、術後1、2、3、5、7日目、その後は週1回づつ約1ヶ月間とした。肝機能等生化学マーカーも併せて測定検討した。

### 結 果

術後sIL-18が軽度高値を示したレシピエント1と2の経過をまとめた (Fig. 1A)。レシピエント1 (AIH・LC) では、術前sIL-18が564±21.7pg/mlであり、術後2日目から減少して6日目には144±66.7pg/

Table 1 Recipient characteristics

Case	PrimaryDisease	Age (yr.)	Sex	Blood type	Bleeding (ml)	Preoperative IL-18 level (pg/ml)	Postoperative IL-18 maximum level (pg/ml)	Outcome (day)
1	AIH・LC	55	M	B	6,265	564	582	210 alive
2	HCV・HCC	53	M	A	19,475	275	834	180 alive
3	LC	56	M	B	34,185	429	1,817	103 death
4	HCV・LC・HCC	39	M	A	6,705	784	2,386	80 death

Table 2 Donor characteristics

Case	Age (yr.)	Sex	Ratio of remnant liver (%)	Blood type	Bleeding (ml)	Preoperative IL-18 level (pg/ml)	Postoperative IL-18 maximum level (pg/ml)	Period of admission (day)
1	57	M	31	O	675	160	594	49
2	29	F	43	A	715	228	988	15
3	22	F	31	B	190	103	200	21
4	37	F	27	O	320	148	216	11

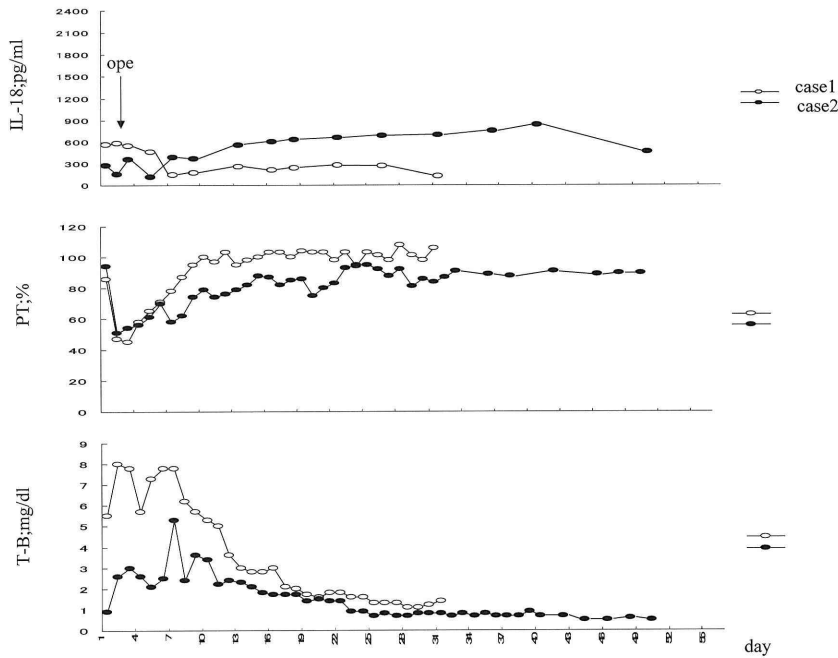


Fig. 1A Clinical course of recipients with relative elevation of IL-18

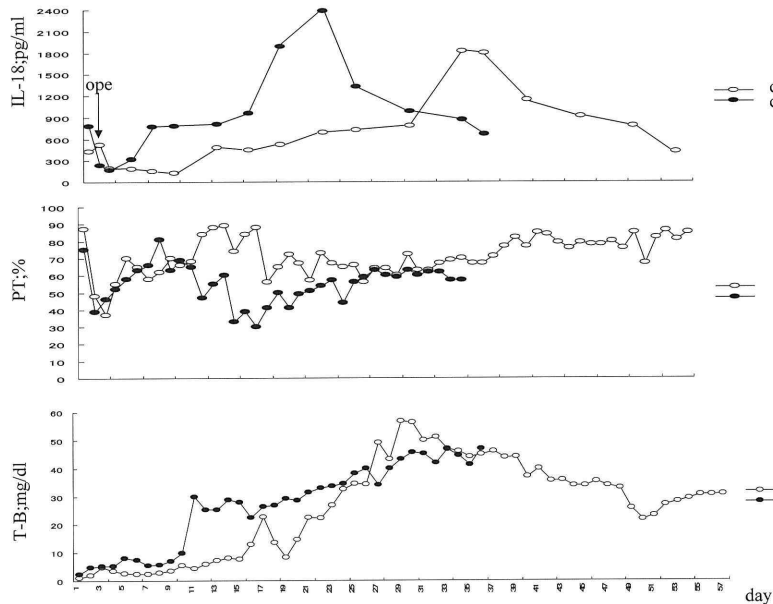


Fig. 1B Clinical course of recipients with significant elevation of IL-18

ml まで下がった。術後 10 日目腹水、胸水貯留時点で  $453 \pm 38.5$  pg/ml まで上昇したが、それ以上は上昇しなかった。%プロトロン時間 (PT%) は 8 日目から 80% 以上となり、総ビリルビン (T-B) は 22 日目から 3 mg/dl と順調な経過をたどり、術後 38 日目退院となった。レシピエント 2 (HCV・HCC) では、術前 sIL-18 が  $215 \pm 34.2$  pg/ml であり、13 日目サイトメガロウイルス (CMV) 感染と診断した時と一致して  $552 \pm 38.2$  pg/ml まで上昇したが、著明な上昇は見られなかつ

た。本症例も PT% は 8 日目から 80% 以上となり、T-B は 22 日目から 3 mg/dl と経過良好、術後 49 日目に退院した。

術後 sIL-18 が高値を示したレシピエント 3 と 4 の経過をまとめた (Fig. 1B)。レシピエント 3 (LC) では術前から sIL-18 が  $429 \pm 102.4$  pg/ml であり、術後 2 日目から一旦減少したが 13 日目から再上昇し、20 日目には汎血球減少に伴って  $1,817 \pm 183.5$  pg/ml と著明な上昇が見られ、骨髓穿刺によって血球貧食症候群

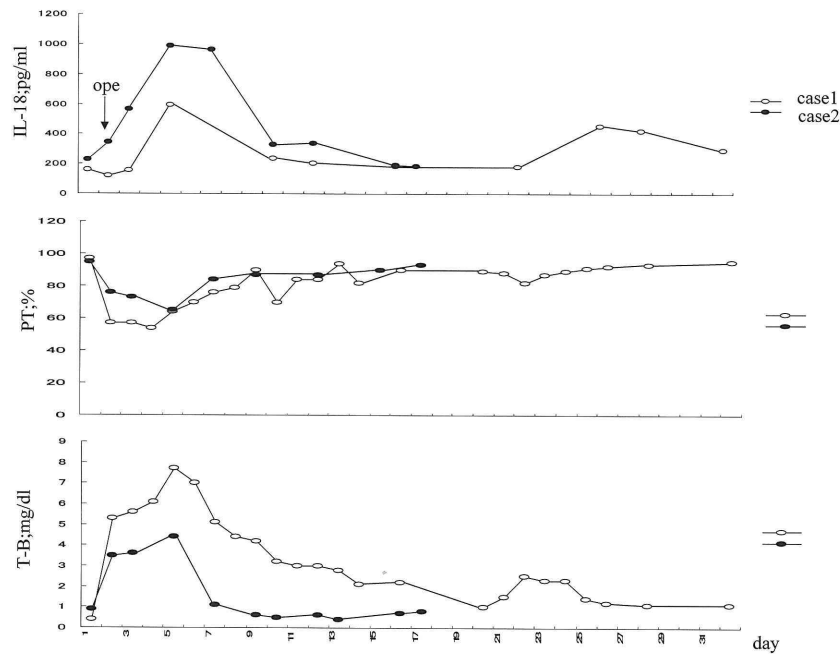


Fig. 2A Clinical course of donors with slight elevation of IL-18

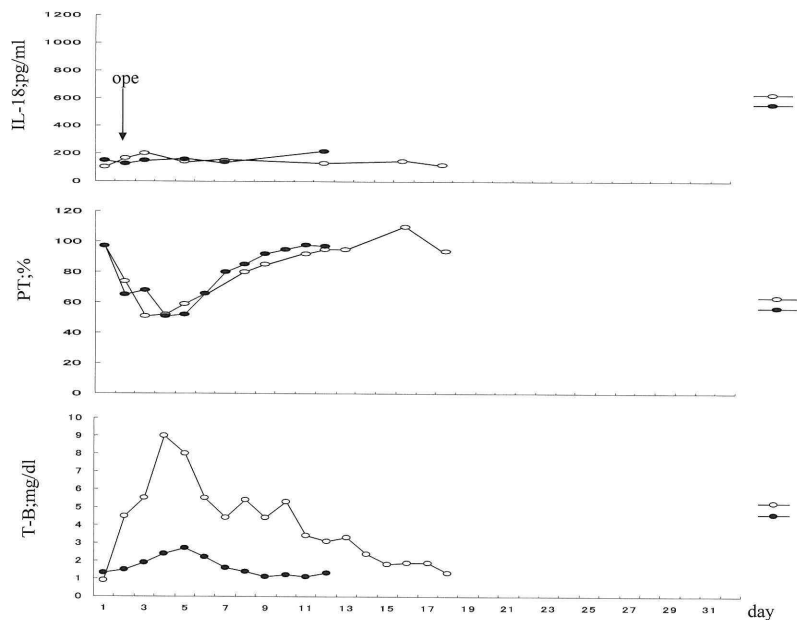


Fig. 2B Clinical course of donors with no elevation of IL-18

(Hemophagocytic syndrome ; HPS) と診断された。その後 PT% はなかなか上昇せず、T-B が高値を持続して最終的に 103 日目に死亡した。レシピエント 4 (HCV・LC・HCC) では術前 sIL-18 の値が  $784 \pm 16.8$  pg/ml であり、術直後低値であったが、術後 6 日目突然再上昇 ( $776 \pm 68.7$  pg/ml)、その 3 日後の術後 9 日目に肝生検にて急性拒絶反応と判明した、23 日目には  $2,386$  pg/ml と著明な上昇が見られ、この時期には T-B 値  $40$  mg/dl、熱発、PT% 低下が起り、全身状態不良

にて血漿交換を施行した、その後も PT% が回復せず、T-B 値が高値を持続して、術後 80 日目に死亡した。

レシピエント全症例で術前、術後を通じて血清 IL-12 レベルの上昇は観察されなかった (結果未提示)。

術後 sIL-18 が高くなった 2 例はドナー 1 と 2 であった (Fig. 2A)。ドナー 1 においては術前 sIL-18 が  $160 \pm 26.5$  pg/ml であり、術後 6 日目胸水貯留の時点で  $594 \pm 134.9$  pg/ml であった。穿刺吸引などによって胸水が減少した後 sIL-18 が  $235 \pm 26.5$  pg/ml まで減少し

た。術後 20 日目胃潰瘍出血の時 sIL-18 が  $454 \pm 128.7$  pg/ml まで上昇し、止血後  $290 \pm 86.5$  pg/ml まで低下した。ドナー 2 では術前 sIL-18 が  $228 \pm 46$  pg/ml であり、術後 6 日目上昇した ( $988 \pm 91.5$  pg/ml) 時点で PT% は 63%、T-B は 4.4 mg/dl であったが、すみやかに低下した。両症例とも sIL-18 と術後肝機能回復の間に一定の関係は見られなかった。

ドナー 3、ドナー 4 (Fig. 2B) では術前、術後を通じて sIL-18 レベルの上昇は観察されず、順調に回復した。

ドナー全症例においても術前、術後を通じて血清 IL-12 レベルの上昇は観察されなかった (結果未提示)。

## 考 察

IL-18 は最近報告された炎症性サイトカイン<sup>2)</sup>のひとつであるがその臨床的意義は未だ明らかでない部分が多い。臨床例における IL-18 の報告はこれまで、胆汁うっ滞性肝硬変および急性拒絶反応<sup>9)</sup>、胆道閉鎖症 (biliary atresia)<sup>10)</sup>、劇症肝炎 (fulminant hepatic failure)<sup>11,12)</sup>、原発性硬化性胆管炎 (primary biliary cirrhosis)<sup>13)</sup> で高値あったとの報告を認めるが、特に肝障害とりわけクッパー細胞からの放出が認められるという報告が多い。しかし、生体部分肝移植症例レシピエントとドナー両者における術前から術後長期間にわたって sIL-18 の推移を検討した報告はない。今回我々は術前、術後にわたり詳細に sIL-18 の変動を検討した結果、まずレシピエントにおいては術後腹水、胸水貯留時 sIL-18 値が上昇した症例が存在した。このメカニズムについて詳細は不明ではあるが、血管内脱水による門脈もしくは肝動脈血流の低下から肝血流障害を来し、クッパー細胞から IL-18 が放出された可能性がある。実際、腹水または胸水貯留時にはトランスアミナーゼ等の肝障害マーカーが上昇しており、支持する結果と言える。また CMV 感染と一致して sIL-18 が上昇した症例も存在したが、これまでマウスの CMV 感染実験モデルにおいてマイクロファージ刺激で IL-18 値が上昇するとの報告があり<sup>14)</sup>、本結果と一致した。栃木らは HPS で IL-18 値が上昇すると報告<sup>15)</sup>しているが、本症例においても HPS 発症に伴って上昇し、一致した結果であった。今回の検討例には示してはいないが、HPS 以外の原因による汎血球減少や白血球減少例において IL-18 値は全く変動しなかった。さらにレシピエント 4 では急性拒絶反応時血清 IL-18

値が血清総ビリルビン、PT% 低下よりも早期 (3 日前) に上昇した。この結果から特異的ではないが、他に IL-18 が上昇する要因がない場合、sIL-18 上昇が急性拒絶反応発症の予測因子として臨床応用できる可能性があると考えられた。

次にドナーの検討の結果、ドナー 1 と 2 では術後胸水貯留、胃潰瘍出血時 sIL-18 が上昇したが、すみやかに減少した。その他の症例においても sIL-18 値に経過中著明な上昇は見られなかった。

一方、レシピエントとドナー両者において術前、術後を通じて血清 IL-12 レベルの上昇は観察されなかった。この結果より、本検討に関する限り生体肝移植後の IL-18 値上昇への Th1 タイプを始めとする免疫作働型の上昇の関与は少ないと考えられた。拒絶反応時での sIL-18 値の上昇は肝細胞障害に伴うものであると推察される。ただし、今回の検討のみでは、生体肝移植の拒絶に免疫学的な機序が働いているかどうかの可能性については検討が困難であった。しかし、リンパ節等末梢免疫系臓器では、IL-12/IL-18 などが協同的に作用し、CD8+ T キラー細胞および CD4+ Th1 細胞が活性化され、拒絶反応が誘導されることが考えられる。その後肝臓が障害を受け、IL-18 が大量に分泌され、血清中の IL-18 が上昇する。これらの結果、さらにキラー細胞の活性化が増幅されるといういわゆる増幅ループが関与している可能性が考えられる。この点を証明するには、今後動物実験等詳細な検討が必要である。またドナーにおいて、sIL-18 値と術後肝機能回復の経過の間に関係が見られない点については、ドナーはもともと肝機能が正常であり術後の残存肝も正常であること、術直後の肝機能障害も軽度であることが関係すると思われる。術後 4 日を過ぎると急速に肝機能が回復に向かうが、この肝予備能が保たれていることと肝障害の程度が軽度であることが sIL-18 値が変動しない理由であると考えられる。

## 結 論

IL-18 は生体肝移植レシピエントにおいて、術後肝侵襲や一部の拒絶反応、出血、感染等の重要なマーカーとなる可能性が示唆され、sIL-18 が上記合併症の予測因子として臨床応用可能であることが示唆された。その拮抗物質のモニターが臨床上有用となることが期待される。

## 文 献

- 1) 松野直徒、長尾 桓：本学八王子医療センターにおける成人に対する生体部分肝移植の現況と展望。東医大誌 **62**：359-365, 2004
- 2) Okamura H, Tsutsui H, Komatsu H, Yutsuso T, Hakura A, Tanimoto T, Torigoe K, Okura T, Nakada Y, Hattori K : Cloning of a new cytokine that induces IFN- $\gamma$  production by T cells. *Nature* **378** : 88-91, 1995
- 3) Yoshimoto T, Takeda K, Tanaka T, Ohkusu K, Kashiwamura S, Okamura H, Akira S, Nakanishi K : IL-12 up-regulates IL-18 receptor expression on T cells, Th1 cells, and B cells : synergism with IL-18 for IFN- $\gamma$  production. *J Immunol* **161** : 3400-3407, 1998
- 4) Fukao T, Matsuda S, Koyasu S : Synergistic effects of IL-4 and IL-18 on IL-12-dependent IFN- $\gamma$  production by dendritic cells. *J Immunol* **164** : 64-71, 2000
- 5) Yoshimoto T, Mizutani H, Tsutsui H, Nancy N, Yamanaka K, Tanaka M, Izumi S, Okamura H, William E.P, Nakanishi K : IL-18 induction of IgE : dependence on CD4+T cells, IL-4 and STAT6. *Nature immunol* **1** : 132-137, 2000
- 6) Hoshino T, Yagita H, John R.O, Robert H.W, Howard A.Y : in vivo administration of IL-18 can induce IgE production through Th2 cytokine induction and up-regulation of CD40 ligand (CD154) expression on CD4+T cells. *Eur. J. immunol* **30** : 1998-2006, 2000
- 7) 善本知広、筒井ひろ子、中西憲司：IL-18によるTh1/Th2免疫応答の制御。In：奥村 康、平野俊夫、佐藤昇志、編集。Annual Review 免疫 2003。東京：中外医学社；p. 78-88, 2003
- 8) Ushio S, Namba M, Okura T, Hattori K, Nukada Y, Akita K, Tanabe F, Konishi K, Micallef M, Fujii M, Torigoe K, Tanimoto T, Fukuda S, Ikeda M, Okamura H, Kurimoto M : Cloning of the cDNA for human IFN gamma-inducing factor, expression in escherichia coli, and studies on the biologic activities of the protein. *J immunol* **156** : 4274-4279, 1996
- 9) Yagi T, Urushihara N, Kobashi K, Nakao A, Matsukawa H, Sadamori H, Inagaki M, Tanaka N : Participation of IL-18 in human Cholestatic Cirrhosis and Acute Rejection : Analysis in living donor Liver Transplantation. *Transplantation Proceedings* **33** : 421-425, 2001
- 10) Urushihara N, Iwagaki H, Yagi T, Kohka H, Kobashi K, Morimoto Y, Yoshino T, Tanimoto T, Kurimoto M, Tanaka N : Elevation of serum interleukin-18 levels and activation of kupffer cells in biliary atresia. *J Pediatr Surg* **35** : 446-449, 2000
- 11) Yumoto E, Higashi T, Nouse K, Nakatsukasa H, Fujiwara K, Hanafusa T, Yumoto Y, Tanimoto T, Kurimoto M, Tanaka N, Tsuji T : IL-18 and IL-10 in acute hepatitis Serum gamma-interferon-inducing factor(IL-18) and IL-10 levels in patients with acute hepatitis and fulminant hepatic failure. *J Gastroenterology and Hepatology* **17** : 285-294, 2002
- 12) 篠田昌宏、若林 剛、島津元秀、星野 健、田辺稔、浦上秀次朗、森川康英、北島政樹：各種病態に対する生体肝移植周術期におけるサイトカイン変動の検討。移植 **36**(3) : 159-165, 2001
- 13) Yamano T, Higashi T, Nouse K, Nakatsukasa H, Kariyama E, Yumoto E, Kobayashi Y, Yamamoto K, Iwagaki H, Yagi T, Tanimoto T, Kurimoto M, Tanaka N, Tsuji T : Serum gamma-interferon-inducing factor/IL-18 levels in primary biliary cirrhosis. *Clin Exp Immunol* **122** : 227-231, 2000
- 14) Vliegen I, Duijvestijn A, Stassen F, Bruggeman C : Murine cytomegalovirus infection directs macrophage differentiation into a pro-inflammatory immune phenotype : implications for atherogenesis. *Microbes and Infection* **6** : 1056-1062, 2004
- 15) 栃木明子、西間木江美、川口鎮司、小橋川剛、岡本完、針谷正祥、寺井千尋、原まさ子、鎌谷直之：血球貧食症群 (HPS) を繰り返し高IL-18血症を呈した全身性強皮症の1症例。リウマチ **41**(3) : 659-664, 2001

## Analysis of Serum IL-18 levels in Living Donor Liver Transplantation

Abudushukur MEJIT<sup>1)2)</sup>, Tohru IWAHORI<sup>1)</sup>, Osamu KONNO<sup>1)</sup>,  
Yoahimaro JOHJIMA<sup>1)</sup>, Isao AKASHI<sup>1)</sup>, Yuhki NAKAMURA<sup>1)</sup>,  
Kohichiro HAMA<sup>1)</sup>, Hitoshi IWAMOTO<sup>1)</sup>, Masami UCHIYAMA<sup>1)</sup>,  
Tatsuhito ASHIZAWA<sup>1)</sup>, Naoto MATSUNO<sup>1)</sup>, Takeshi NAGAO<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Division of Artificial Organs and Blood Purification, Fifth Department of Surgery,  
Hachioji Medical Center of Tokyo Medical University, Tokyo, Japan

<sup>2)</sup>Department of Surgery, Kashgar First Hospital, Xinjiang uighur autonomous region, China

### Abstract

Interleukin-18 (IL-18), which is produced in LPS-challenged Kupffer cells in vitro, is a novel T helper 1 cytokine that augments interferon-gamma production. In this study, we investigated the relationship between serum IL-18 (sIL-18) and other clinical findings of living donor liver transplantation (LDLT) before the operation and during the month following the operation. The sIL-18 levels of 2 of 4 recipients were significantly elevated and those of 2 other recipients were relatively elevated. In the former, retention of pleural and abdominal effusion, cytomegalovirus infection, rejection, and hemophagocytic syndrome accompanied elevation of sIL-18 levels, and the outcomes tended to be worse. As sIL-18 levels tended to rise before elevation of transaminase, the sIL-18 level might be useful as an early marker of complications after transplantation. Furthermore, there were 2 donors whose sIL-18 levels were slightly elevated and 2 whose sIL-18 levels were not high at all. Although the 2 donors with relatively high sIL-18 levels showed gastrointestinal bleeding and persistence of liver dysfunction as complications of the operation, all patients were discharged alive. Because no increase in serum IL-12 levels was detected in any patients, we assumed that the sIL-18 levels were increased by a non-immunological mechanism.

---

〈Key words〉 Living Donor Liver Transplantation, IL-18, IL-12

---