

Fig. 4 Complement system screening strategy in aHUS (Loirat & Fremeaux-Bacchi, 2011²³⁾)

る場合、発現蛋白量は略正常である場合が多く、確定診断にはやはり遺伝子解析が必須となる。一方、2004年に Sanchez ら²⁴⁾は羊赤血球と患者血清を用いた溶血アッセイを報告したが、その適応範囲と再現性についてはやや不明なところがあった。我々は最近、CFH機能を完全阻害する抗CFHマウスモノクローナル抗体の作成に成功した。そしてこの抗体と、患者血漿、羊赤血球を用いた再現性のある「定量的溶血アッセイ」の構築に成功した。現在は、この溶血アッセイを含むaHUSの蛋白レベル解析を当輸血部で、また補体や補体調節因子の遺伝子解析を国立循環器病研究センターで行っている。Fig. 5にその診断のフローチャートを示す。これに沿って、具体的な解析内容について紹介する。

まず依頼者である各医療機関の主治医は患者の病歴とルーチン検査によってTMA疑診患者からEHEC関連の典型的HUS [Shigatoxin-producing *E. coli* (STEC)-HUS] を否定しておく (Step 1)。その後、原則的には患者とそのご家族に奈良医大輸血部のセカンドオピニオン外来を受診して頂く。ここで詳細なNatural historyの聴取と同時にインフォームドコンセントを行い、その後aHUS関連の蛋白—遺伝子検査同意書にサインして頂く (Step 2)。この後、患者及びご家族のクエン酸血液5 mlを採取し、遠心分離にて血漿と赤血球沈層に分離する。

必要に応じてこれらを -80°C で凍結保存する。被検クエン酸血漿については、まず、①ADAMTS13活性測定を行い、ADAMTS13活性著減 (<5%)を示す定型的TTPを除外する。次に②羊赤血球を用いた定量的溶血反応試験を行う。溶血試験は前記 Sanchez らの方法で実施しているが、被検血液は血清ではなく、クエン酸血漿を用いている。これは溶血反応では血清よりも血漿の方がより安定した結果が得られるためである。実施は、様々な量の患者血漿と一定量の羊赤血球を Mg^{2+} 存在下で、 37°C で30分間孵置し、その後EDTAで反応停止後、生じた溶血程度を吸光度414 nmで測定するというシンプルなものである。通常、正常人血漿では羊赤血球の溶血は殆ど起こらない。本試験によって溶血亢進が見られた場合には、③精製CFH添加による亢進溶血の補正試験を行う。溶血が補正された場合には、主としてCFH異常あるいは抗CFH自己抗体の存在を疑う。従って、必要に応じて、④CFH抗原量定量、⑤抗CFH抗体検査 (ELISA及びWestern blot法)、そして⑥CFHR1, 3抗原の半定量 (Western blot)を行う。尚、本試験において溶血亢進を認めない場合には、MCPやTHBD等の膜蛋白質である補体調節因子の異常を疑う。また、これまで解析を施行した限りではC3 missense変異 (I1157T変異)では溶血亢進がないことを確認している。この後、国立循環器病研究センターでaHUS患者において

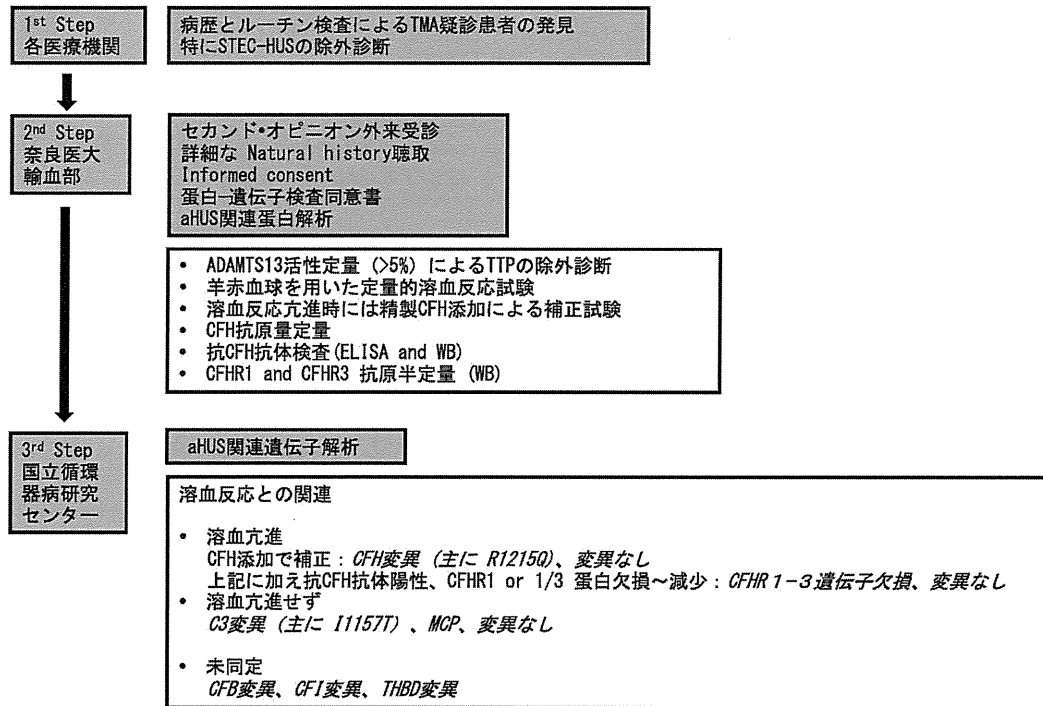


Fig. 5 奈良医大輸血部-国立循環器病研究センター連携による aHUS 診断フローチャート

aHUS 関連遺伝子解析を行う (Step 3)。これらは既知の aHUS 関連 6 因子 (CFH, CFI, MCP, CFB, C3, THBD) 全ての exon を含む部分の PCR 増幅と塩基配列解析を行い、また CFH 抗体陽性例では CFH/CFHR 領域の遺伝子欠損の有無を調べる MLPA 解析を実施している。

Fig. 6 に TMA における aHUS の位置づけと溶血試験及び遺伝子解析の関連を示す。前述したように溶血亢進が認められた患者では CFH 異常あるいは CFH 自己抗体陽性の症例が同定されている。なお、これまでに CFH に異常が同定された症例は 3 例 (1 例は信州大で解析) であり (患者家族も含めると全部で 7 例)、いずれも C 末領域の CFH-R1215Q 変異であった。溶血亢進を示さなかった症例では、C3 や MCP の異常が同定されているが、中でも C3 の異常が高頻度で同定されており、2 例の患者を除いて全て C3-I1157T 変異であった。これら患者解析の中間成績については、昨年、国立循環器病研究センターより報告を行った²⁵⁾。

現在までの成績をまとめると、約 30% の症例で溶血試験において異常を同定することができ、約 70% 強の症例で aHUS の原因と考えられる遺伝子変異が同定されている。しかしながら症例によっては、溶血試験のみが異常亢進を示した例があり、またその逆も存在していたことより、現時点では蛋白レベルと遺伝子レベルの解析は互いに補完的であると考えられる。即ち、aHUS 患者解析においては蛋白質と遺伝子の両面解析が必須である。しかし、これらを合わせても依然として aHUS 全

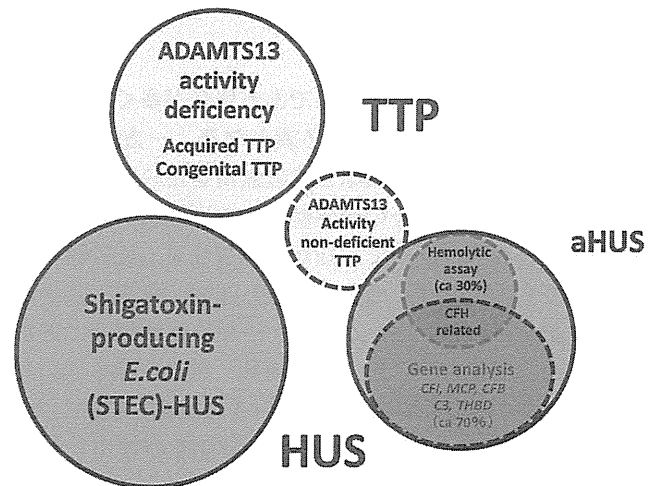


Fig. 6 Differential diagnosis of aHUS based on ADAMTS13 activity, hemolytic assay, and gene analyses on complement and its regulatory factors from STEC-HUS and TTP

体の約 30% は aHUS である事の EBM をくっきりと示す事の出来ない症例があり、今後の検討課題として残されている。

治療

1970 年代後半から aHUS に対して血漿交換や血漿輸注などの血漿療法が導入され²⁶⁾、死亡率は 50% から 25% にまで低下はしたものの、依然として予後不良の疾

患である。aHUS の治療ガイドラインによれば、ADAMTS13 活性測定を含めた鑑別診断を行い、aHUS と診断すれば 24 時間以内に血漿交換を行うべきとされている²⁷⁾。

CFH の量的異常の治療法として、血漿輸注を早期に開始することで腎機能を維持することができるとの報告がある²⁸⁾。大多数の補体系機能異常症例では、新鮮凍結血漿を用いた血漿交換が有効であるが、すべての症例で血漿交換を行う必要はない。血漿交換を継続すると不応になる場合があり²⁹⁾、その結果高度の腎不全となった場合、腎移植単独の再発率は 80~90%と予後は不良である²⁸⁾。腎臓と肝臓の同時移植では長期予後が良いとの報告もあり³⁰⁾、これは肝移植により正常な CFH の産生が行われるようになるためと考えられる。一方、aHUS における血漿療法の効果は決して満足できるものではない。これは aHUS 原因に膜蛋白由来のものが有ることも原因である。

近年 aHUS に対する血漿療法に抵抗性を示す症例に対して期待されている治療薬が補体 C5 に対するモノクローナル抗体、エクリズマブ (eculizumab) である。エクリズマブは発作性夜間ヘモグロビン尿症 (PNH) の治療薬として 2007 年に欧米で、本邦では 2010 年に承認されている。近年エクリズマブの aHUS に対する有用性が欧米の数多くの研究者により報告されるようになった³¹⁾。これを受けて、米国では大規模な臨床試験が行われ、2011 年 9 月に aHUS の治療薬として承認された³²⁾。エクリズマブの作用機序は C5 に結合することにより C5a と C5b に分解されるのを阻害し、C5b-9 による細胞膜侵襲作用を抑制すると考えられている。

おわりに

2013 年初春に本邦 aHUS の診断ガイドラインが完成した。またこれと略平行して、奈良医大輸血部と国立循環器病研究センターの共同研究体制下に aHUS 診断のアルゴリズムとその検査体制が確立された。これにて、解析例数は未だ少ないが、欧米では CFH 遺伝子変異が最も多いのに対し、本邦では C3 遺伝子変異が圧倒的に多いこと、また本邦の C3 と CFH 変異については患者の出身地に関わらずそれぞれ特定の missense 変異が多いことが判明した。現在、欧米で aHUS の特異的治療薬として認可されているエクリズマブが、本邦でも同患者に適用出来るようになれば、より適切な治療選択肢として患者の予後に大きな影響を与えるものと考えられる。

謝 辞

本研究の一部は、文部科学省科学研究費補助金、厚生

労働省難治疾患克服研究事業補助金、そして武田科学特定研究助成費を用いて行われた。ここに謝辞を記す。

著者の COI (conflicts of interest) 開示：藤村吉博；講演料 (旭化成ファーマ株式会社)、研究費・助成金 (アレクシオンファーマ)

文 献

- 1) Gasser C, Gautier E, Steck A, Siebenmann RE, Oechslin R. Hemolytic-uremic syndrome: bilateral necrosis of the renal cortex in acute acquired hemolytic anemia. *Schweiz Med Wochenschr.* 1955; **85**: 905-909.
- 2) 香美祥二, 岡田浩一, 要伸也, ほか. 非典型型溶血性尿毒症症候群 診断基準. *日腎会誌.* 2013; **55**: 91-93.
- 3) Thompson RA, Winterborn MH. Hypocomplementaemia due to a genetic deficiency of β 1H globulin. *Clin Exp Immunol.* 1981; **46**: 110-119.
- 4) Pichette V, Querin S, Schurch W, Brun G, Lehner-Netsch G, Delage JM. Familial hemolytic-uremic syndrome and homozygous factor H deficiency. *Am J Kidney Dis.* 1994; **24**: 936-941.
- 5) Roodhooft AM, McLean RH, Elst E, Van Acker KJ. Recurrent haemolytic uraemic syndrome and acquired hypomorphic variant of the third component of complement. *Pediatr Nephrol.* 1990; **4**: 597-599.
- 6) Warwicker P, Goodship TH, Donne RL, et al. Genetic studies into inherited and sporadic hemolytic uremic syndrome. *Kidney Int.* 1998; **53**: 836-844.
- 7) Lemaire M, Frémeaux-Bacchi V, Schaefer F, et al. Recessive mutations in DGKE cause atypical hemolytic-uremic syndrome. *Nat Genet.* 2013; **45**: 531-536.
- 8) 天野芳郎, 日高義彦, 伊藤有香子, ほか. 補体制御因子 factor H の遺伝子変異を持つ非典型型溶血性尿毒症症候群の 1 例. *日小児会誌.* 2011; **115**: 107-112.
- 9) Noris M, Remuzzi G. Hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol.* 2005; **16**: 1035-1050.
- 10) Stühlinger W, Kourilsky O, Kanfer A, Sraer JD. Letter: haemolytic-uraemic syndrome: evidence for intravascular C3 activation. *Lancet.* 1974; **2**: 788-789.
- 11) Noris M, Ruggenti P, Perna A, et al. Hypocomplementemia discloses genetic predisposition to hemolytic uremic syndrome and thrombotic thrombocytopenic purpura: role of factor H abnormalities. Italian registry of familial and recurrent hemolytic uremic syndrome/thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Am Soc Nephrol.* 1999; **10**: 281-293.
- 12) Kavanagh D, Goodship TH, Richards A, et al. Atypical haemolytic uraemic syndrome. *Br Med Bull.* 2006; **77**: 78-5-22.
- 13) Noris M, Remuzzi G. Atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med.* 2009; **361**: 1676-1687.
- 14) Kavanagh D, Goodship T. Genetics and complement in atypical HUS. *Pediatr Nephrol.* 2010; **25**: 2431-2442.

- 15) Józsi M, Licht C, Strobel S, et al. Factor H autoantibodies in atypical hemolytic uremic syndrome correlate with CFHR1/CFHR3 deficiency. *Blood*. 2008; **111**: 1512-1514.
- 16) Zipfel PF, Mache C, Müller D, Licht C, Wigger M, Skerka C; European DEAP-HUS Study Group. DEAP-HUS: deficiency of CFHR plasma proteins and autoantibody-positive form of hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol*. 2010; **25**: 2009-2019.
- 17) Caprioli J, Noris M, Brioschi S, et al. International Registry of Recurrent and Familial HUS/TTP. Genetics of HUS: the impact of MCP, CFH, and IF mutations on clinical presentation, response to treatment, and outcome. *Blood*. 2006; **108**: 1267-1279.
- 18) Noris M, Caprioli J, Bresin E, et al. Relative role of genetic complement abnormalities in sporadic and familial aHUS and their impact on clinical phenotype. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010; **5**: 1844-1859.
- 19) Kavanagh D, Richards A, Noris M, et al. Characterization of mutations in complement factor I (CFI) associated with hemolytic uremic syndrome. *Mol Immunol*. 2008; **45**: 95-105.
- 20) Delvaeye M, Noris M, De Vriese A, et al. Thrombomodulin mutations in atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med*. 2009; **361**: 345-357.
- 21) Goicoechea de Jorge E, Harris CL, Esparza-Gordillo J, et al. Gain-of-function mutations in complement factor B are associated with atypical hemolytic uremic syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007; **104**: 240-245.
- 22) Frémeaux-Bacchi V, Miller EC, Liszewski MK, et al. Mutations in complement C3 predispose to development of atypical hemolytic uremic syndrome. *Blood*. 2008; **112**: 4948-4952.
- 23) Loirat C, Frémeaux-Bacchi V. Atypical hemolytic uremic syndrome. *Orphanet J Rare Dis*. 2011; **6**: 60.
- 24) Sánchez-Corral P, González-Rubio C, Rodríguez de Córdoba S, López-Trascasa M. Functional analysis in serum from atypical hemolytic uremic syndrome patients reveals impaired protection of host cells associated with mutations in factor H. *Mol Immunol*. 2004; **41**: 81-84.
- 25) Fan X, Yoshida Y, Honda S, et al. Analysis of genetic and predisposing factors in Japanese patients with atypical hemolytic uremic syndrome. *Mol Immunol*. 2013; **54**: 238-246.
- 26) Remuzzi G, Misiani R, Marchesi D, et al. Treatment of the hemolytic uremic syndrome with plasma. *Clin Nephrol*. 1979; **12**: 279-284.
- 27) Ariceta G, Besbas N, Johnson S, et al. European Paediatric Study Group for HUS. Guideline for the investigation and initial therapy of diarrhea-negative hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol*. 2009; **24**: 687-696.
- 28) Licht C, Weyersberg A, Heinen S, et al. Successful plasma therapy for atypical hemolytic uremic syndrome caused by factor H deficiency owing to a novel mutation in the complement cofactor protein domain 15. *Am J Kidney Dis*. 2005; **45**: 415-421.
- 29) Nathanson S, Ulinski T, Frémeaux-Bacchi V, Deschênes G. Secondary failure of plasma therapy in factor H deficiency. *Pediatr Nephrol*. 2006; **21**: 1769-1771.
- 30) Neumann HP, Salzmann M, Bohnert-Iwan B, et al. Haemolytic uraemic syndrome and mutations of the factor H gene: a registry-based study of German speaking countries. *J Med Genet*. 2003; **40**: 676-681.
- 31) De S, Waters AM, Seegal AO, Trautmann A, Harvey EA, Licht C. Severe atypical HUS caused by CFH S1191 L—case presentation and review of treatment options. *Pediatr Nephrol*. 2010; **25**: 97-104.
- 32) Kavanagh D, Goodship TH. Atypical hemolytic uremic syndrome, genetic basis, and clinical manifestations. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2011; **2011**: 15-20.

原 著

凝固因子インヒビター測定法における血漿pHの安定化法

竹尾 映美¹⁾ 末久 悦次¹⁾ 川崎 富夫²⁾
徳 雅幸¹⁾ 林 貞夫¹⁾ 日高 洋³⁾¹⁾大阪大学医学部附属病院医療技術部²⁾大阪大学医学部附属病院心臓血管外科³⁾大阪大学医学部附属病院臨床検査部

要 旨

凝固因子に対するインヒビターの測定法は Bethesda 法が広く使用されているが、血漿中の pH 上昇による凝固因子活性の自然失活が原因で偽陽性を生じることが知られている。我々は pH 上昇の抑制方法と凝固因子の安定化について検討した。

総容積の異なる試験管に正常血漿 (NPP) 9.5 に対して 1M HEPES pH7.35 緩衝液を 0.5 混合した HEPES 緩衝化血漿 (HB-NPP) を添加し 37°C 2 時間加温後の pH 変動を観察した。この検討から回帰式 $y = 2.2766x + 7.448$ (y : 37°C 2 時間加温後の pH, x : (試験管総容積/血漿容積)/接触面積) の関係を見出し、pH 上昇の抑制を確保することに成功した。さらに、同一試験管 (試験管総容積: 6.5ml) に異なる容量 (0.5ml, 1.0ml) の NPP と HB-NPP のそれぞれを添加し、37°C 2 時間加温後の F-II, F-V, F-VII, F-VIII, F-IX, F-X, F-XI, F-XII 活性、および ADAMTS13 活性を測定した。F-II, VII, X 活性では NPP, HB-NPP とともに 0.5ml と 1.0ml 間での有意な変動は認められなかった。F-V, VIII, IX, XI, XII および ADAMTS13 活性の NPP では 1.0ml と比較して 0.5ml で低値であったが、NPP で低値を示したこれらの凝固因子活性は HB-NPP を使用することで改善した。また、検体の凍結の際にも HB-NPP を用いることで融解時における凝固因子活性の低下を軽減することができた。

HB-NPP と測定に使用する試験管を考慮し、検体量を算出することで凝固因子活性の自然失活を抑制することが可能であり、Bethesda 法による低力価領域における偽陽性や施設間差を軽減できると考えられる。

はじめに

現在、凝固因子に対するインヒビターの測定法として 1975 年に Kasper らによって提唱された Bethesda 法¹⁾が広く用いられている。しかし Bethesda 法で問題となるのが血漿中の pH 上昇により凝固因子活性レベルが自然失活しインヒビター低力価領域において偽陽性を生じることである²⁾。このことから国際血栓止血学会/学術標準化

Suehisa Etsuji

(〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 2-15)

アドレス: esuehisa@hp-lab.med.osaka-u.ac.jp

キーワード: Bethesda 法, 凝固因子の安定化, pH, 凍結融解条件

受付日: 2012 年 5 月 10 日

受理日: 2012 年 9 月 12 日

委員会 (ISTH/SSC) では Bethesda 法を改良した Nijmegen 法を推奨している²³⁾。しかし Nijmegen 法では pH の安定性、測定方法や試薬の種類など様々な要因により施設間差を生じることが知られている¹⁹⁾。また、Bethesda 法と異なる点として正常血漿をイミダゾールで pH7.4 に調整すること、検体の希釈として欠乏血漿または加熱処理正常血漿を用いることなどが挙げられるが、これらの操作は非常に煩雑であり前処理に要する時間やコストの面から未だ Bethesda 法が広く用いられる現状にある。これらの問題点を改良すべく以前我々は凝固第 VIII 因子インヒビターに関する測定法 (改良 Bethesda 法)⁹⁾を報告した。また、我が国では凝固因子定量や凝固因子に対するインヒビターの測定を外注に出す施設も少なくないことから検体管理も重要となる。この検体管理の中で凍結融解条件として Clinical and laboratory standards institute (CLSI ガイドライン)⁷⁾が推奨されているが、ここに記載されている検体量、凍結温度、融解条件はどれも表現が曖昧で正確な条件が明記されていないことから測定をする以前にすでに施設間差が生じている可能性が存在する。

本研究では実務的な pH 上昇の抑制方法と、pH 上昇を抑制することで全凝固因子の安定化を図れるかどうかを検討し、さらに凝固因子安定化のために凍結保存用の検体作製および融解条件についても検討を行った。

方 法

血漿および緩衝化血漿

3.2% クエン酸ナトリウム加血液 40 検体を 2,800g, 10 分で遠心し、それらの検体から等量ずつ集めた血漿を正常血漿 (Normal Pooled Plasma : NPP) とし、これを非緩衝化血漿とした。緩衝化血漿 (HEPES buffered Normal Pooled Plasma : HB-NPP) は、NPP9.5 容に対して 1M HEPES pH7.35 緩衝液 0.5 容を混合し作製した。イミダゾール緩衝化血漿 (Imidazole buffered Normal Pooled Plasma : IB-NPP) は Verbruggen ら²⁴⁾の方法に順じて作製した。

使用容器および pH 測定

37°C 2 時間加温後の pH と血漿容積および容器

容積の関係を検討するために 10ml チューブ、6.0 ml RIA チューブ (Eiken Chemical, Tochigi, Japan)、2.0ml reaction チューブ (Greiner bio-one, Frickenhansen, Germany)、1.5ml サンプリング チューブ、0.5ml PCR チューブ、0.2ml PCR チューブ (Eppendorf, Hamburg, Germany) の 6 種類の容器を使用した。なお、それぞれの容器にキャップをしたときの総容積は 13.5, 6.5, 2.2, 1.7, 0.65, 0.4ml であった。また、pH 測定は PHM210 および ABL800FLEX (Radiometer, Copenhagen, Denmark) にて実施した。

凝固因子および ADAMTS13 活性測定

凝固因子活性の測定はコアグレックス 800 (Sysmex, Kobe, Japan) を使用し、各凝固因子欠乏血漿 (Sysmex, Kobe, Japan) および APTT 試薬 (Actin FS : Sysmex, Kobe, Japan)、PT 試薬 (トロンボレル S, Sysmex, Kobe, Japan) を用いて凝固一段法にて測定を行った。

ADAMTS13 活性は ADAMTS13 Activity ELISA kit (Kainos Laboratories, Tokyo, Japan) を用いて測定した。

なお、スタンダードカーブは正常プール血漿を 100% とし作成した。

凝固因子インヒビターの測定

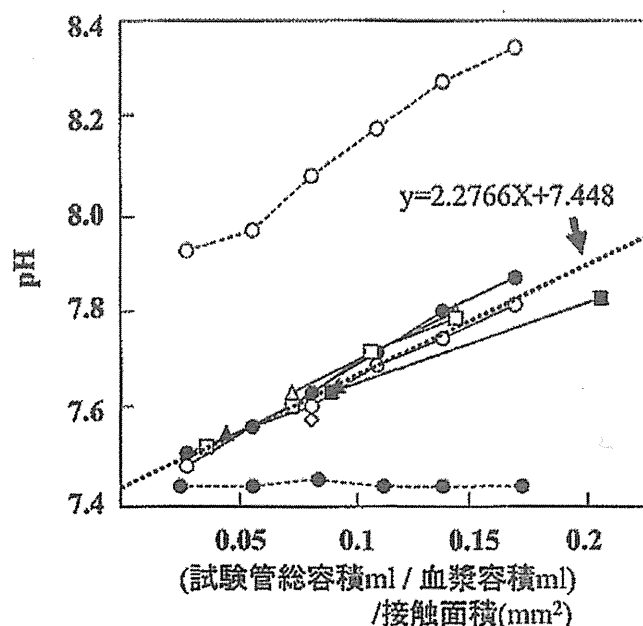
凝固因子インヒビターの測定は、以前我々が報告した改良 Bethesda 法 (Osaka modified Bethesda method)⁹⁾にて実施した。NPP と 30mM HEPES pH7.35 緩衝液を等量混合した検体を対照混合液とし、緩衝化血漿検体 (検体血漿 9 容に対して 1M HEPES pH7.35 緩衝液 1 容を混合し作製) と NPP を等量混合した検体を検体混合液とした。これらの検体を 37°C 2 時間加温後、凝固因子活性を測定した。

反応液中の凝固因子理論値 (%) は、

検体混合液中の理論値 (%) = (検体凝固因子活性 + 正常血漿凝固因子活性) / 2

対照混合液中の理論値 (%) = 正常血漿凝固因子活性 / 2

より算出し、残存凝固因子活性比 (Remaining Factor Ratio : RFR) は実測値 / 理論値より求め、凝固



試験管(総容積ml)	血漿容積(ml)	接触面積(mm ²)	(試験管総容積/血漿容積)/接触面積
	3.077		0.027
	1.539		0.055
10ml チューブ (13.5)	1.025	153.86	0.082
	0.769		0.110
	0.615		0.137
	0.5		0.169
6.0ml RIA チューブ (6.5)	1.897	94.985	0.036
	0.950		0.072
	0.633		0.108
	0.475		0.144
2.0ml reaction チューブ (2.2)	1.0	63.585	0.036
	0.5		0.072
	0.25		0.145
1.5ml サンプリング チューブ (1.7)	1.0	33.125	0.027
	0.5		0.088
0.5ml PCR チューブ (0.65)	0.25	28.260	0.046
	0.25		0.092
0.2ml PCR チューブ (0.4)	0.25	19.625	0.082

図1. NPP, HB-NPP および IB-NPP の 37°C 2 時間加温後の pH 変動

使用した容器の総容積は, ●: 13.5ml, □: 6.5ml, △: 2.2ml, ■: 1.7ml, ▲: 0.65ml, ◇: 0.4ml
 —○—: 10ml チューブに添加した IB-NPP
 —○—: 10ml チューブに添加した NPP
 —●—: 10ml チューブに HB-NPP を添加し空気を遮断した検体
 (—) は回帰式を示す。

因子残存%は (検体混合液 RFR/対照混合液 RFR) × 100 より算出した。抗体価は次式より求めた。

$$\text{抗体価 (BU/ml)} = (\log \text{凝固因子残存\%} - 2) / -\log 2$$

統計学的解析

有意差検定は Mann Whitney U test にて実施し, p < 0.05 を有意差ありとした。

結果

1. 37°C 2 時間加温後の血漿中の pH 変動

HB-NPP を総容積の異なる容器に添加し, 37°C 2 時間加温後 pH を測定した。対照として 10ml チューブに NPP を添加しキャップをした検体と, 同試験管に HB-NPP を添加した後パラフィルム

を巻いた 6.0ml RIA チューブをはめ込み空気を完全に追い出すことで空気との接触を遮断した検体を同様の条件で測定した。また, Nijmegen 法で用いられている IB-NPP の変動についても 10ml チューブに添加し, 同様の変動が起こるかどうかを検討した。各種試験管と血漿容積を用いて検討した全ての pH と, 空気と血漿との接触面積あたりの血漿容積と試験管総容積の比の関係は $y = 2.2766x + 7.448$ [y: 37°C 2 時間加温後の pH, x: (試験管総容積/血漿容積)/接触面積] となり, 相関性は $R^2 = 0.929$ となった。この関係は IB-NPP における pH 変動とはほぼ一致した結果であった。10ml チューブに添加した NPP は, 総容積の異なる容器に添加した HB-NPP から得られた pH 変動と比較すると pH 0.4 以上の上昇を認めた。また, 空気を遮断した HB-NPP においては pH 上昇

を認めなかった (図 1)。

2. 37°C 2時間加温後の凝固因子および ADAMTS13 活性の変動

6.0ml RIA チューブに 0.5ml, 1.0ml の NPP と HB-NPP および対照 (NPP と 30mM HEPES 緩衝液を等量混合した血漿検体) を添加し, 37°C 2時間加温後の pH, 凝固因子活性および ADAMTS13 活性を測定した。HB-NPP における 37°C 2時間加温後の pH は 0.5ml で 7.76, 1.0ml で 7.60 であった。凝固因子活性において F-II, VII, X 活性では NPP と B-NPP とともに検体量の違いによる有意差は認められなかった。F-IX, XI, XII および ADAMTS13 活性では NPP で検体量の違いによる有意差が認められたが, HB-NPP では認められなかった。F-V 活性については NPP では 1.0ml と比較して 0.5ml で有意な低下を認めたが HB-NPP においては血漿量の違いによる有意な変動は認められなかった。また, F-V 活性は NPP と比較して HB-NPP で活性低下の改善が認められたが, それぞれの添加量と対照を比較したとき有意な低下が認められた。F-VIII 活性については NPP では 1.0ml と比較して 0.5ml で有意な低下が認められた。HB-NPP では, 1.0ml と比較して 0.5ml で約 5% の低下が認められたが, HB-NPP と対照との間に活性値の有意差は認められなかった (図 2)。

3. 検体凍結融解における凝固因子活性の変動

6.0ml RIA チューブに 0.5ml の NPP を添加した検体を -80°C で 1 週間凍結後, 37°C 5, 10, 15 分の条件で融解し F-II, F-V, F-VII, F-VIII, F-IX, F-X, F-XI, F-XII 活性を測定したところ F-V と F-VIII において融解時間の違いによる凝固因子活性の低下を認めたことから, 検体保存条件として NPP と HB-NPP を用い血漿量および融解時間の違いによる F-V と F-VIII の変動について観察した。2.0ml 用凍結容器 (セラムチューブ: 住友ベークライト) に 0.5ml, 1.0ml, 2.0ml の NPP と HB-NPP をそれぞれ添加し -80°C で一週間凍結後, 37°C 5, 10, 15 分の条件で融解し, 凝固因子活性を測定した。NPP 0.5ml, 1.0ml 添加における F-V 活性では 5 分の融解時間と比較し, 10, 15 分で有意な低下が認められたが, 2.0ml では有意

な低下は認められなかった。HB-NPP では今回検討した条件の血漿量全てにおいて各々の 5 分の融解時間と比較した場合 10, 15 分で有意な低下は認められなかった (図 3A)。NPP 0.5ml, 1.0ml 添加における F-VIII 活性では 5 分の融解時間と比較し, 15 分でのみ有意な低下が認められたが 2.0ml では有意な低下は認められなかった。HB-NPP では F-V 活性と同様, 今回検討した条件の血漿量全てにおいて各々の 5 分の融解時間と比較し, 10, 15 分で有意な低下は認められなかった (図 3B)。

4. 凍結融解後の室温保存における F-V, F-VIII 活性の変動

凍結融解条件で凝固因子活性の変動が認められなかった NPP 2.0ml と HB-NPP 0.5ml の検体を用いて 37°C 15 分融解後の室温放置における凝固因子安定性について検討した。F-V では融解後 5 分以内で測定した NPP は HB-NPP と比較して約 2% の有意な低下が認められた。しかしながらその後の室温放置では NPP および HB-NPP とともに 5 分以内に測定した値と比較して 120 分後の放置まで有意な差を認めなかった (図 4A)。F-VIII では 5 分以内に測定した NPP は HB-NPP と比較して約 3% の有意な低下が認められたが, NPP においては融解後の時間経過とともに凝固因子活性が低下していく傾向が認められ, 120 分後では約 14% の差が認められた (図 4B)。

5. 健常成人におけるインヒビター力価

健常成人 40 名について本法によるインヒビター力価を測定した。全凝固因子インヒビターの平均値は 0.013BU/ml であり, すべて 0.150BU/ml 以下のインヒビター力価であった (表 1)。

考 察

凝固因子インヒビターの測定法として多くの場合 Bethesda 法¹⁾が用いられているが, F-VIII, F-IX に限らず他の凝固因子^{2,3)}や, 後天性血栓性血小板減少性紫斑病 (Thrombotic Thrombocytopenic Purpura: TTP) の診断基準となる ADAMTS13 活性のインヒビター測定法においてもこの方法が用いられている¹⁰⁾。現在, 凝固因子に対するインヒビター測定法として ISTH/SSC では Nijmegen 法を推奨しているが⁹⁾, Nijmegen 法の操作は非常

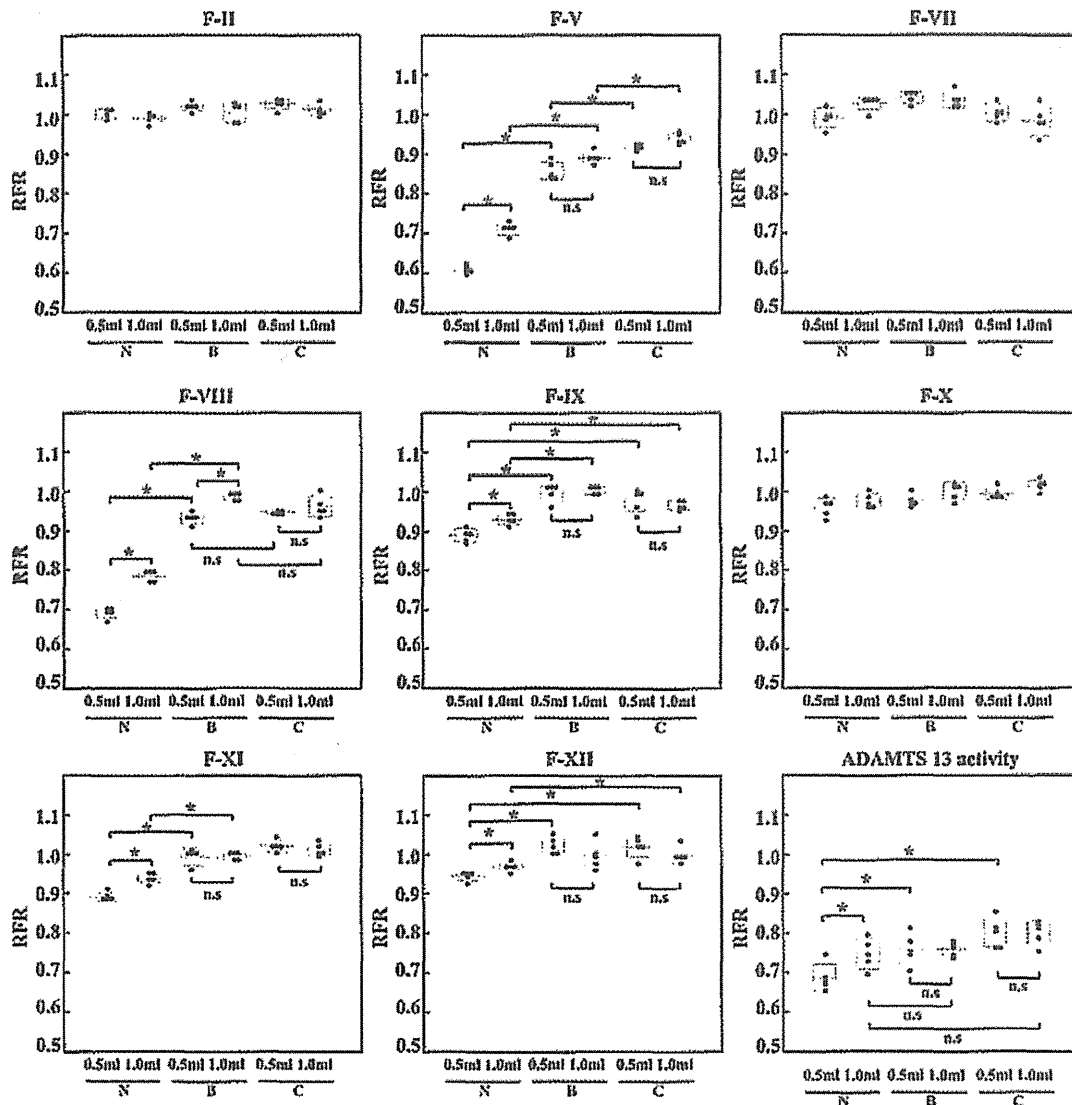


図2. 37°C 2時間加温後の凝固因子およびADAMTS13活性安定化の検討

60ml RIA チューブにNPPとHB-NPPをそれぞれ0.5ml, 1.0ml添加し, 37°Cで2時間加温後, 凝固因子活性(F-II, F-V, F-VII, F-VIII, F-IX, F-X, F-XI, F-XII)とADAMTS13活性を測定した. 各測定はそれぞれ5重測定を実施した.

また, 37°C 2時間加温後のHB-NPPのpHは7.76(0.5ml), 7.60(1.0ml)

RFR(Remaining Factor Ratio): 実測値/理論値

N: NPP B: HB-NPP C: 対照

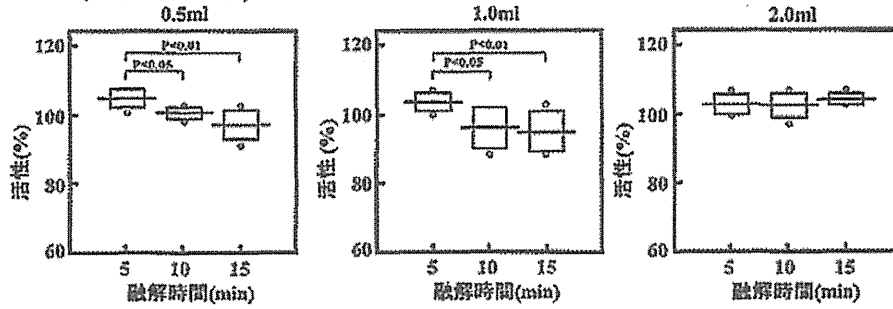
*: $p < 0.05$, n.s.: 有意差なし

に煩雑であり前処理に要する時間やコストの面から検査室での凝固因子インヒビター測定導入を障害する一因となっており, 今なおBethesda法が広く用いられている現状にある. また, Bethesda法においては低力価領域での偽陽性がよく知られており, このことから施設間差や再現性の低下¹⁾をきたしている. この偽陽性の原因としてpH上

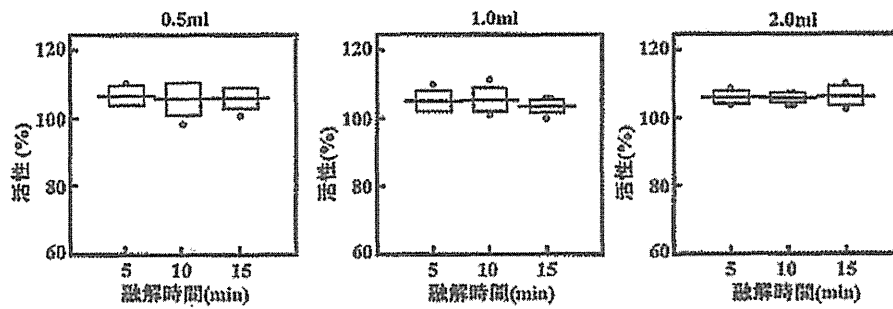
昇による凝固因子の自然失活が考えられているが, 全凝固因子に対する詳細な検討は未だ報告されていない. 本研究では以前我々が報告した凝固第VIII因子インヒビター測定における改良Bethesda法²⁾を用いて他の凝固因子に関しても血漿を緩衝化し測定することが可能かどうかを検討した.

(A) Factor V

NPP(非緩衝化血漿)

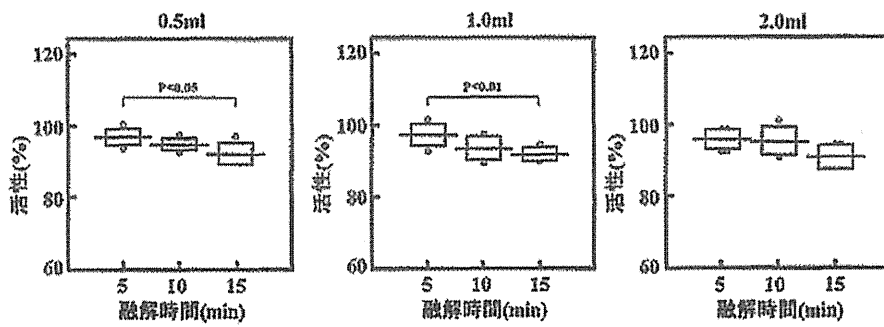


HB-NPP(HEPES緩衝化血漿)



(B) Factor VIII

NPP(非緩衝化血漿)



HB-NPP(HEPES緩衝化血漿)

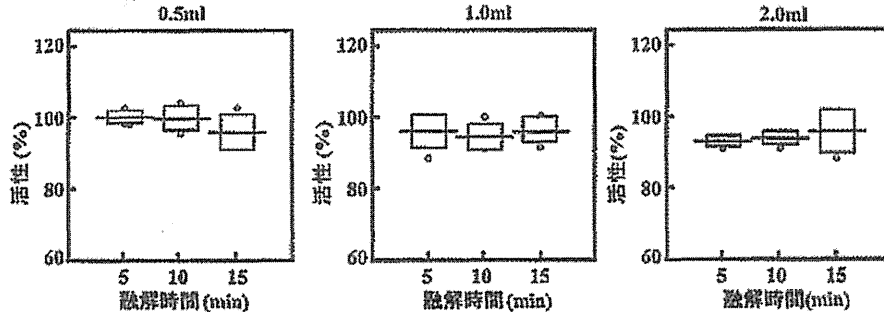


図3. 検体凍結融解条件における凝固因子活性の変動

20ml 凍結保存用チューブに0.5ml, 1.0mlおよび2.0mlのNPPとHB-NPPをそれぞれ添加し-80℃で一週間凍結後, 37℃ 5, 10, 15分の条件で融解し, F-VとF-VIII活性を測定した.

A) F-V 活性

B) F-VIII 活性

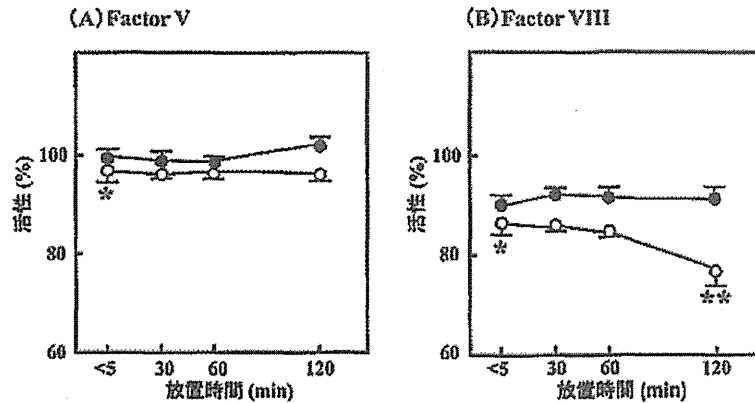


図4. 凍結融解後の室温保存におけるF-V, F-VIII活性の安定性
 NPPおよびHB-NPPを37℃15分の条件で融解後、室温にて5, 30, 60, 120分放置した検体のF-VとF-VIII活性を測定した。
 ○: NPP 2.0mlの凍結融解 ●: HB-NPP 0.5mlの凍結融解
 A) F-V活性
 B) F-VIII活性

表1. 健康成人におけるインヒビター力価

	Activity (%)			Inhibitor titer (BU/ml)		
	Mean	SD	Range	Mean	SD	Range
F-II	99.9	12.3	73.9-127.4	-0.006	0.038	-0.066-0.078
F-V	108.3	23.4	68.5-170.6	0.044	0.037	-0.044-0.125
F-VII	94.7	23.7	57.1-154.5	0.009	0.043	-0.075-0.090
F-VIII	109.9	37.1	47.6-183.3	-0.060	0.079	-0.235-0.079
F-IX	113.8	30.8	66.3-182.2	-0.031	0.062	-0.178-0.122
F-X	93.9	13.1	70.8-124.7	0.028	0.059	-0.075-0.142
F-XI	96.3	22.2	49.7-151.7	0.018	0.039	-0.051-0.102
F-XII	92.2	22.3	55.9-142.4	0.067	0.096	-0.149-0.096
ADAMTS 13	86.8	28.1	48.1-152.4	0.048	0.062	-0.035-0.134

(N=40)

Bethesda法で規定されている37℃2時間加温の条件下におけるpH変動ではNPPで著しいpH上昇が認められたのに対し、空気を遮断したHB-NPPではpH上昇が認められなかった。このことから、pH上昇の原因は血漿中のCO₂分圧の低下によるものであり、血漿と空気の接触面積、試験管総容積および血漿容積の3つが関係することが示唆され、HB-NPPにおけるこれら3つの要因とpHとの関係が $y = 2.2766x + 7.448$ (y: 37℃2時間加温後のpH, x: (試験管総容積/血漿容積)/接触面積) であることを見出した。このことは37℃2

時間加温後の変動は血漿検体を緩衝化してもなお37℃2時間加温によるpH上昇が使用容器によって左右され、残存凝固因子活性に差を有することを意味している。また、この式から各施設に適した試験管または血漿量を導き出すことでpHの安定性を確保することができることと示唆された。しかしながらNijmegen法において血漿緩衝化の記述はあるものの測定時に使用する容器(試験管)に関する記述は見当たらない。今回HEPES緩衝化血漿検体(HEPES終濃度50mM)を用いた37℃2時間加温後のpHは7.6付近であり、すべての凝

凝固因子の活性低下を改善することができたことから、Bethesda 法における 37°C 2 時間加温後の pH を 7.6 以下に設定することが有用であると考えられた。

検体凍結融解における凝固因子変動から融解時間が短時間であっても NPP では F-V, F-VIII 活性の低下が認められ、血漿量が少ないほど融解時間の延長に伴う凝固因子活性の低下が大きいことが確認された。一方、HB-NPP における F-V および F-VIII 活性は融解時間や血漿量の違いによる低下が認められなかったことから検体保存においても凍結前に緩衝化することが有用であると考えられる。さらに凍結融解後における室温放置による F-V および F-VIII 活性の変動では両者ともに HB-NPP と比較して NPP では融解直後から約 2~3% の低下が認められた。F-V では NPP 融解後の室温放置において放置時間の延長に伴う凝固因子活性の低下は認められなかったが、F-VIII においては放置時間の延長とともに低下する傾向が認められた。このことから、F-V 活性は pH 上昇と温度に影響し、F-VIII 活性では主に pH 上昇による影響が大きいと考えられた。

また、血漿検体の凍結保存に際しては、インヒビター測定検体の場合、融解後の血漿検体と正常血漿を等量混合することから、凍結前に血漿検体を HEPES pH7.35 緩衝液にて終濃度 100mM HEPES となるよう緩衝化することで融解後そのまま因子定量およびインヒビター測定ができると考えられた。

結 語

今回我々が行った検討から Bethesda 法および検体の凍結融解条件における血漿緩衝化の有用性を明らかにすることができた。血漿を緩衝化し 37°C 2 時間加温後の血漿 pH を 7.6 以下に定め、今回見出した回帰式を用いることで施設に適した血漿量または容器(試験管)を見出すことができる。このことから Bethesda 法において問題とされていたインヒビター測定値の施設間差およびインヒビター低力価領域における偽陽性を軽減できると考えられた。

本研究は厚生労働省科学研究費補助金、難治性疾患克服研究事業、血液凝固異常症に関する調査研究によってサポートを受けた。

文 献

- 1) Kasper CK, et al: A more uniform measurement of factor VIII inhibitors. *Thromb Diath Haemorrh* 34: 869—872, 1975.
- 2) Verbruggen B, et al: The Nijmegen modification of the Bethesda assay for factor VIII: C Inhibitors: improved specificity and reliability. *Thromb Haemost* 73: 247—251, 1995.
- 3) Giles AR, et al: A detailed comparison of the performance of the standard versus the Nijmegen modification of the Bethesda assay in detecting factor VIII: C inhibitors in the haemophilia. *Thromb Haemost* 79: 872—875, 1998.
- 4) 2006 Minutes and Annual Report; ISTH/SSC, Factor VIII inhibitor assays.
- 5) 山崎 哲, 瀧 正志: インヒビターの問題点. *血栓止血誌* 21: 484—488, 2010.
- 6) Torita S, et al: Development of a new modified Bethesda method for coagulation inhibitors: the Osaka modified Bethesda method. *Blood Coagul and Fibrinolysis* 22: 185—189, 2011.
- 7) Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays: Approved Guideline-Fifth Edition. H21-A5 Vol. 28 No. 5 Clinical and laboratory standards institute.
- 8) Mullighan CG, et al: Acquired isolated factor VII deficiency associated with severe bleeding and successful treatment with recombinant FVIIa (NovoSeven). *Blood Coagul Fibrinolysis* 15: 347—351, 2004.
- 9) Bern MM, et al: Treatment of factor XI inhibitor using recombinant activated factor VIIa. *Haemophilia* 11: 20—25, 2005.
- 10) Sato A, et al: A 9-month-old infant with acquired idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura caused by inhibitory IgG-autoantibody to ADAMTS13. *Pediatr Hematol Oncol* 27: 53—58, 2010.
- 11) Peerschke EI, et al: Laboratory assessment of factor VIII inhibitor titer: the North American Specialized Coagulation Laboratory Association experience. *Am J Clin Pathol* 131: 552—558, 2009.

Abstract

Stabilization of pH in the Bethesda method for coagulation factor inhibitors

Emi Takeo¹⁾, Etsuji Suehisa, Ph.D¹⁾, Tomio Kawasaki, MD, Ph.D²⁾, Masayuki Toku¹⁾,
Sadao Hayashi, Ph.D¹⁾, Yoh Hidaka, MD, Ph.D³⁾

¹⁾Division of Laboratory for Clinical Investigation, Department of Medical Technology,
Osaka University Hospital

²⁾Cardiovascular Surgery, Osaka University Hospital

³⁾Laboratory for Clinical Investigation, Osaka University Hospital,
2-15 Yamada-oka, Suita, Osaka 565-0871, Japan

The Bethesda assay for coagulation factor inhibitors lacks specificity in the lower range, resulting in false positive results due to coagulation factor activity in plasma that is compromised by a pH elevation. We studied both the stability of coagulation factors and a method to suppress pH elevation.

As test samples both HEPES buffered normal pooled plasma (HB-NPP; plasma 9.5 : 1M HEPES buffer 0.5) and non-buffered normal pooled plasma (NPP) was used. HB-NPP was added to tubes of different sizes, the tubes were capped, and the pH was measured after incubation at 37°C for 2 hr. We found that the relation between pH and sample volume was $y = 2.2766x + 7.448$, where $y = \text{pH}$ and $x = (\text{test tube volume}/\text{plasma volume})$ per contact area between plasma and air.

In the NPP samples, when 0.5ml and 1.0ml test samples were added to tubes of the same size and incubated at 37°C for 2 hr, factors II, VII, and X activities were not significantly different between the 0.5ml and 1.0ml volumes. However, factors V, VIII, IX, XI, XII, and ADAMTS13 activities had low values in the 0.5ml volume compared with those in the 1.0ml volume. However, all coagulation factors with low values in the NPP samples showed significant improvement of coagulation factor activities in the HB-NPP samples. We studied F-V and F-VIII activities concerning the freezing and thawing conditions of the coagulation activities. The freezing buffered plasma led to regression of a decrease in the activity of coagulation factors.

We recommend the use of buffered plasma and appropriate plasma volume and test tube size to suppress both false positives in the low-value range and differences between laboratories when using the Bethesda method.

Key words: Bethesda method, Stabilization of coagulation factors, pH, Freezing and thawing condition

ト結
臨床
を機
（回
誌は
所の
稿
192
高
2
た
構
を
版
ム
な
あ
開
ヒ
2
）
、
f
・
】

生体移植と医師倫理規範

Living donor transplantation and ethical standards of physicians

川崎 富夫

Tomio KAWASAKI

◎大阪大学

■KEY WORDS 生体移植 (living donor transplantation) 医師 (physician)
倫理規範 (ethical standards) 肝移植 (liver transplantation) 裁判 (judgment)

要 旨

最近、生体肝移植の存在を前提に重篤な肝硬変について検査・治療等に当たることが病院に要求される医療水準であるとする判決がなされた。健康人ドナーからの臓器採取を伴う生体移植について、医師倫理規範の観点から検討する。判決は生体肝移植を、実施例や施設が相当数に及び累積生存率も高いことから安全性と有効性が是認されたとする。そして患者へのインフォームド・コンセントの方法や内容こそが大切であるとする。しかしこの判決は、レシピエントの「安全性と有効性」ならびにインフォームド・コンセントの基準を、本来当てはめてはならない健康人のドナーに当てはめてしまったものである。健康の維持は健康人であるドナーの不可侵の権利であるため、そのようなドナーへの手術を正当化できる医学的理由がない。生体移植の是非は、広く医師の倫理規範にかかわることから、移植推進の立場の医師だけでなく、まず市井の医師を含めた医師全体での議論が必須である。

SUMMARY

Judgment was declared recently that hospitals are required, as standard medical practice, to perform examinations and medical treatment of patients with serious hepatic cirrhosis on the premise that living donor transplantation is available. We will consider the issue of living donor transplantation with organs harvested from healthy donors in terms of the ethical standards of physicians.

The judgment announced that the safety and efficacy of living donor transplantation has been recognized. It took into account the large number of surgeries that have been performed in many institutions with a high cumulative survival rate. It also pointed out the importance of obtaining informed consent from the patients and the contents of said consent. However, this judgment applied the standards of "safety and efficacy" and informed consent for the transplant recipients to the healthy donors, to whom these standards should not be applied. No medical reasons exist to justify such surgical operations on healthy donors, who have the inviolable right to sustain their health. Therefore, discussion on the appropriateness of healthy living donor transplantation should be undertaken not only among physicians who advocate the procedure but also all physicians including community clinicians, as this is related to the ethical standards of physicians in general.

はじめに

平成21年公布の改正臓器移植法は、脳死を心臓死と異なる扱いとする。脳死移植推進のため、脳死問題を実質的に先送りする。そしてその背後では、生体移植が当然のように行われている。最近、生体肝移植の存在を前提に、重篤な肝硬変について検査・治療等に当たることが病院に要求される医療水準であるとする判決がなされた（大阪地判平22・9・29、判例時報2116号97頁）。だが生体移植では、健常人であるドナーに対して侵襲度の極めて高い臓器採取を行う。ここに、いつからどのような経緯で、医師が健常人にメスを入れるようになったのかという疑問が生じる。生体移植にかかわる本件判決を中心に、司法側の意識と論理構成に注目して、医師倫理規範とのかかわりにおいて医療側の意識の変遷を検証することにより、今後の司法と医療の在り方を検討する。

事案

患者Aは、平成16年12月29日にY1が開設するB病院に肝硬変等で入院し、主治医Y2の担当の下に診療を受けていたが、平成19年9月6日、肝硬変の悪化により死亡した。そこで、Aの相続人Xらは、主治医Y2に対し、上級病院（具体的には関西医科大学病院）へ転送の上、生体肝移植の治療選択の機会を与えるべきであったとする。その上でインフォームド・コンセントの不実施等について説明義務違反があったと訴えた。また、病院の開設者Y1に対しては、診療契約上の債務不履行または不法行為に基づき、Y2に対しては、不法行為に基づき、損害賠償の支払いを求めた。これに対し、Yらは（一）Aの診療当時、生体肝移植は有効性と安全性が是認されていなかった、（二）B病院は、地域の一般病院に過ぎず、生体肝移植を実施した経験はなかったから、生体肝移植を説明することは、B病院にとっての医療水準であったとはいえない、（三）Aは、診療期間中、常時多量の飲酒をしており、生体肝移植に対する適応はなかった、などと主張した。

判旨

判決は、当時までに生体肝移植は重篤な肝臓疾患

の患者に対する根本的な治療法として専門的研究者の間で安全性と有効性を是認されていたとする。そして、B病院と関西医科大学病院との関係やY2医師の学会や関西医科大学医局の所属の状況、生体肝移植をも想定した転医の実施例を併せ考慮すると、B病院において、生体肝移植に関する知見を有することを（患者が）期待することが相当であるとする。Aについては、肝硬変が重篤な非代償性肝硬変であり、平成17年3月22日以降は、内科的治療には限界があつて早晚死を免れず、生体肝移植の実施適応があつたものと認める。その上で、Y2医師の説明義務違反を認めたが、右説明義務違反とAの死亡との間に相当因果関係は認められないと判断し、Xらに慰謝料請求と弁護士費用請求の一部を認容した（控訴和解1,600万円）。

この裁判の争点は、生体肝移植が地域の一般病院において医療水準として確立していたか否かであった。裁判所の結論は、重篤な肝硬変について検査・治療等に当たり、生体肝移植の存在を前提として説明することがB病院に要求される医療水準である、とするものである。

検討

判旨において、B病院と大学病院との関係やY2医師の学会や大学医局の所属の状況、当該病院が過去に劇症肝炎の患者を関西医科大学病院に転送したこと、生体肝移植の適応があつたことについては、司法判断の誤りを既に年報医事法学に詳述した¹⁾。また日本肝臓学会と被告医師の関係、生体移植に保険適応があつたこと、患者がアルコール性肝硬変かどうかという点についても司法判断の誤りを上記の年報医事法学に詳述したのでここでは繰り返さない。

裁判所は以下の論理に基づき判断する。「ある疾病について新規の治療法が開発された場合、その治療法の存在を前提にして検査・診断・治療等に当たることが診療契約に基づき医療機関に要求される医療水準であるには、まず、①その治療法が当該疾病の専門的研究者の間で、有効性と安全性が是認されていたことが必要である。そして、その有効性と安全性が是認されていたことを前提として、②当該医療機関の性格、その所在する地域の医療環境の特性

する。被告側は主張していないが、当時の状況については以下の点を指摘できる。京都大学作成「肝臓移植のためのガイドブック（京大ガイドブック）」は平成16年4月発行であり「京大病院の生体肝移植の適応基準」を記すのみである⁵⁾。また日本肝臓学会と日本肝移植研究会とが合同発行した「肝移植診療ガイドブック（学会ガイドブック）」は平成19年7月発行であり、序文に「EBM (evidence based medicine) としてまとめられない事情」があると記す⁶⁾。日本肝臓学会は肝臓移植が目的ではなく、作成した肝移植ガイドブックの使用を会員に対して求めているわけではない。さらに両ガイドブックは生体肝移植の正当性を述べてはいない。そもそも担当したY2医師の専門は内視鏡で肝移植と関係なく、入会は母教室が医局員全員に入会を求めたとされることから、その学会入会と肝移植の具体的知見を得ることとは無関係である。両ガイドブックは、当該病院の医師のように、生体肝移植に直接携わらない一般医師を納得させうる内容ではない。従って両ガイドブックの存在から、被告医師の説明責任を導くことはできない。そもそもガイドブック（ガイドライン）は参考にしたいと考える医師のために作成されるものであり、その使用を広く一般医師にまで求めたものではない。京大ガイドブックは京大内あるいはその関連病院内部において周知徹底を図るために作成したものである。そのような限られた領域においてのみ有効なガイドブックの存在をもって、移植専門ではない一般医師の判断領域に踏み込み、司法が独自に拡大解釈を行い医師の医療水準とすることは不適切である。さらにガイドブックについていえば、その作成過程と問題点を知ることのできない立場にある一般医師に説明を求めるべきではなく、詳細を知る立場にある作成者にこそ説明が求められるべきである。

次に、被告らは「ドナーに対する身体の侵襲、精神的負担が大きく、平成一五年にはドナーの死亡例が報告され、また、ドナーの健康面や心理面についての問題点が指摘されている」旨を主張する。しかし裁判所は「そもそも、有効性と安全性が是認されるためには、副作用や合併症が存在しないことや有効性や安全性について疑問を呈する見解が存在しなかったことまで必要とするものでもなく、前記の生

体肝移植の実施例や実施した施設が相当数に及んでおり累積生存率も相当高く、ほとんどの肝臓の疾患に対し保険診療により生体肝移植を受けられるに至っていたのであるから、被告らの上記主張は採用できない。」とする。さらに被告らは「生体肝移植が健康なドナーも医療行為の対象としてその臓器の一部の移植を受け個人の倫理観にも直結する問題を有する点や患者に比べてドナー数が著しく少ない点」を指摘する。しかし裁判所は「前者の点は、有効性と安全性の問題ではなく患者及びドナー等に対するインフォームド・コンセントの方法や内容の問題と考えられ、後者の点も、患者ごとにドナーが存在するか否かが異なり、他方では実施例や実施した施設が相当数に及び累積生存率も相当高いことから、有効性と安全性が是認されたとの判断を左右するものではない。」とする。

判決は、ドナーの「安全性と有効性」をレシピエントの尺度ではかる。裁判所が被告の主張を正確に理解しておらず、判決においてドナーとレシピエントで「安全性と有効性」のレベルや定義が異なるのにそれらを同等に扱ってしまったという誤りがある。裁判所が判断根拠とする認定事実には誤りがあるため、被告側主張に対する正当な回答となっていない。被告ならずとも医師であれば誰も、この判決のいう「安全性と有効性」の意味を理解できないであろう。生体移植のドナーは健康人である。そのため、ドナーに許容される侵襲はレシピエントに対する侵襲とは比べものにならないほど小さくなくてはならない、というのが被告側の主張の根底にあり、この点について裁判所は回答を回避するだけでなく、論点をレシピエントの安全性と有効性にすり替えているからである。そもそも生体移植では、侵襲性が高いドナー手術（移植用臓器採取術）を受けりいかなる医学的理由も、ドナーの身体に見出すことができない。それにもかかわらず「①その治療法が当該疾病の専門的研究者の間で、有効性と安全性が是認されていたこと」として、専門家医師が自らの医療を正当化させる意図で用いた言葉をそのまま引用して、これを根拠に判決に結びつけている。実際には、ドナーへの隠れた「精神的圧迫」の存在やドナーの術後QOLについて様々な問題が存在する⁷⁾。医師が健康な人（ドナー）にメスを入れる医学的根

んで
疾患
るに
採用
移植
器の
題を
ない
、有
に對
の間
が存
した
とか
右す

ピエ
羅に
エン
るの
があ
る
いな
きの
であ
りた
す
は
、な
替
襲
ると
が
が
の
引
祭
ド
良

拠がそもそもあるのか、そしてそれに対する（専門
研究者以外の）医師のコンセンサスが得られてい
るか否かを、司法は前もって確認する必要がある。だ
が司法は、（判決文）③当事者主義をとるため、専
門的な詳しい説明を経験の少ない一般医師に求め
る。これでは一般医師は裁判において極めて不利な
立場を強いられることになる。本来の説明責任は、
例えばガイドラインであれば、その使用者ではな
く、作成者に求めるべき筋合いである。

司法解釈上の混乱は、インフォームド・コンセ
ントにも及ぶ。司法は「インフォームド・コンセ
ント」があるという理由で、健常人であるドナーにメ
スを入れることを無批判に容認する。ここに、医療
側においては健常人にメスを入れるという生体移植
の根源的矛盾が放置されてきたという問題が、そし
て司法側においては医学側の言葉の定義と解釈が司
法側に伝わっていないだけでなく、インフォーム
ド・コンセントを安易に自己決定権の尊重と看做し
て実は患者の権利を歪めている点を認識していない
という問題とが露呈する。

生体移植の問題は、医師の医療倫理にかかわる。
健康の維持は健常人であるドナーの不可侵の権利で
ある。医療倫理に関してヒポクラテスの誓い（BC4c）
は医師の職業独占上の規範として「私は能力と判断
の限り患者に利益すると思ふ養生法をとり、悪くて
有害と知る方法を決してとらない」という一項があ
る⁸⁾。「患者」はもとより「健常人」にも当てはま
るのではあろうが、明確な記述ではない。最近ま
で、医師は病人を治すものであり、生体移植におけ
る健常人ドナーの存在は想定外である。世界医師会
（WMA）「医の倫理マニュアル」にも、健常人に対
する侵襲的手技の是非について記載がない⁹⁾。世界
医師会のヘルシンキ宣言（1964年）の中に、わずか
に被験者として健常人についての記述がある。戦争
における人体実験の反省から（健常人を含む）被験
者を対象に「研究被験者の生命、健康、尊厳、完全
無欠性、自己決定権、プライバシーおよび個人情報
の秘密を守ることは、医学研究に参加する医師の責
務である」とする。自己決定権よりも、生命と健康
と完全無欠性を守ることを優先する点は重要であ
る。これは医師としての行為規範であるから、本来
医師は健常人（すなわちドナー）にメスを入れるこ

とを正当化できない。その意味で、本件判決がド
ナーの「完全無欠性」よりも「自己決定」を優先す
ることを司法が是認しただけでなく、医師の行為義
務としてしまった点が問題である。

ここで医師倫理規範に関して、日本における生体
移植と医師の意識の変遷を検討する。瀉血という医
療行為は人の血液を捨てるものであり、健康のため
あるいは、蛇咬傷の手当や血腫除去を目的として、
18世紀頃には既に行われている¹⁰⁾。輸血は1919年に
子宮出血患者の救命目的で行われる¹¹⁾。血液は「流
れる臓器」とも言われており、当時医療としての瀉
血で捨てる対象であった血液を救命のために再利用
したのが「臓器」移植の始まりである。実質臓器の
移植は1956年の腎移植からで、この時、突発性腎出
血で摘出した腎臓を急性腎不全の患者に移植する¹²⁾。
輸血や最初の腎移植においては、ドナーとレシピエ
ントの関係は、医療としての廃棄と再利用という構
図の中に意識されている。あくまでも、両者にとっ
ては必要な医療であった。

世界医師会のヘルシンキ宣言は1964年である。こ
の年、慢性腎不全の夫に対して妻から生体腎移植が
行われた¹³⁾。非血縁者間での生体移植である。その
後1975年には兄弟間での骨髄移植が、1989年には親
から子へ生体肝移植が、1998年には姉と母から子へ
生体肺移植が行われた。生体移植としての骨髄移
植、肝移植、肺移植とも、最初は血縁者間に始ま
り、その後非血縁者間へと広がった。

これらの生体移植の歴史を、ドナーとレシピエ
ントの相互関係における意識の変遷という点からを
みると、初めは捨てる臓器の再利用という形での純然
たる医療に始まり、1964年ヘルシンキ宣言の頃を境
に健常人から重要臓器を取り出して他者に移植する
という関係に変化していく。そして、健常人からの
臓器摘出が、初めは血縁者間で始まり、次に非血縁
者間に広がる。健常人からの臓器摘出が、血縁者の
「情」を根拠に始まり、次に経験としての「安全性
と有効性」を根拠とするように変化する。不要臓器
の再利用という医療から「情」とその「美化」に基
づき医療として歴史的に正統化され、そして次に
「安全性と有効性」を根拠とする医療へと歴史的に
正統化されていく。ここでは歴史的な過程毎に論理の
すり替えが見られる。その結果、ヒポクラ

テスの誓いあるいはヘルシンキ宣言に照らせば医師倫理規範にそむくはずの健常人にメスを入れる生体移植のドナー手術が歴史的に正統化されるに至る。

刑法は、医療行為を違法とみなし、そのうえで正当な医療行為については違法性阻却事由にあたるとみなす。本来その臓器を不要とする状況にない健常人からの臓器摘出を伴う生体移植は「医学的加害」であり、これに対して「情」やその行為の「美化」を通して、生体移植のドナーに相応しい「安全性と有効性」が明確に定義されないまま医療として違法性が阻却されているのが現状である。本件は刑事裁判ではなく民事裁判ではあるが、生体移植の根源的な問題が変わるわけではない。2010年の改正臓器移植法では本人の意志の評価方法や意志が不明なときの扱いの変更、すなわち「生と死の定義変更」を通して、脳死移植を増やし移植臓器数を高める動きが出る。そのような脳死移植の一つである脳死肝移植の施設認定においては生体肝移植の手術経験が前提とされてきた。すでに開始されていた生体肝移植の歴史的正当性をもって脳死肝移植を進めようとするものである。確かに脳死肝移植の開始において、その手技への習熟度が高い施設に限定することは適切であると言えなくもない。しかしこの論理は、そもそも生体肝移植ありきとするものであり、生体肝移植の歴史的正当性をもってその社会的論理的正当性に無理に結び付けたものである。実際には生体肝移植の論理的正当性に関して何も示してはおらず、本末転倒の論理と言える。そしてこの点こそが、日本において未だ生体移植の議論が尽くされていないことを示している。

ところで本件裁判について、実は裁判所が勝手に判決を下したとまではいえない。移植推進の立場の医師の存在が大きく影響しているからである。生体移植については、推進派の立場と推進派以外の立場をとる医師（反対派だけでなくどちらとも言えないと考える医師を含み、被告医師もその一人であろう）が存在する。前者は、インフォームド・コンセントが存在すること、あるいはドナーの死亡が少ないことを理由として生体移植を正当化しようとする。しかし侵襲的なドナー手術は、そもそもインフォームド・コンセントの存在やドナーの死亡が少ないことが問題ではない。健常人にメスを入れるこ

と自体が問題である。これを法学的にいえば「論点相違の虚偽」に当たるであろう。また生体移植を脳死移植の前提とすることは「論点先取の虚偽」に当たるであろう。ドナーの精神的圧迫や術後の後遺症など生体移植ドナーの合併症はそもそもドナーとしなければすむ。ケアを受けられることの説明は、ドナーとなることを受け入れやすくする。しかし、生体移植はそのような形で美化されるべき対象ではない。また移植専門医・コーディネーターともに移植に消極的な立場ではない。そのため説明内容はどちらかと言えば移植推進に片寄ってしまう。さらにインフォームド・コンセントについて付言すれば、そこには患者やドナーが「専門医に依存することを患者が自己決定する」ことが存在する¹⁴⁾。インフォームド・コンセントとは、自己決定という形で単純に割り切れるようなものではない。それゆえ、前者の生体移植推進派医師においては、移植における「論理のすり替え」と「インフォームド・コンセントの限界」の問題を自ら認識し、解決することが求められる。これに対し後者の推進派以外の医師は、当然ながら医師倫理規範に従おうとする。それゆえ、患者に生体移植を勧めるとの歴史的正当性と同時に、勧めないことの論理的正当性を（説明を省略することを含めて）自明のこととして理解する。一般の医師は、その勧めないことへの考え方が、あまりにも医師として当然であることから、敢えて自ら、そのような言葉を発しようとはしない。そうであれば、移植専門家として生体移植を押し進める立場の医師は、医師倫理規範に反する内容とそれにかかわる情報発信において自らが生じさせるバイアスとについて、そこにある問題の本質をまず市井の医師を含めた医師全体で議論を行い、その上で社会に対して説明しそのコンセンサスを得る必要がある。司法はここにある医師倫理規範の問題の存在を知る必要がある。

結語

生体移植（ドナー手術）は医師の倫理規範に背く。生体移植の是非は、広く医師の倫理規範にかかわるので、移植推進派の医師だけでなく、市井の医師を含めた医師全体で議論し直す必要がある。司法側は、患者の自己決定の前提である情報の在り方

ついて「勧めるべき医療」と「勧めてはならない医療」だけがあるのではないこと、そこには「勧めに
くい（が将来の医療の発展のために行ってはならない
いとまでは言いきれない）医療」があることを知っ
ておく必要がある。ドナー手術のように「勧めては
ならない医療（医師によってはそれを“勧めにくい
医療”と表現する）」を「勧めるべき医療」と司法
が判断するならば、医療側が理解できるように（司
法が理解する）根拠だけでなく医師倫理規範の観点
からもわかりやすく説明する義務がある。このとき
司法はインフォームド・コンセント（自己決定権）
を先走りさせてはならない。

謝辞

本稿は「医療と司法の架橋研究会」（代表：甲斐克
則、早稲田大学大学院法務研究科教授）における会員
の議論から多くの着想を得ている。本研究の一部は、
厚生労働科学研究費補助金を受けている。また、いつ
も温かい助言をいただく医療法人厚生医学会理事長の
大西俊輝博士に深く感謝する。

本論文は、第24回日本生命倫理学会年次大会一
般演題X「生体移植と医師倫理規範」における発
表に、加筆したものです。

引用

- 1) 肝硬変の治療にあたり、生体肝移植について説明
すべき義務の違反があるとされた事例, 年報医事
法学27号, 143-148頁, 2012年.
- 2) 肝移植症例登録報告2004年・2006年, 日本肝移植

研究会HP <http://jlts.umin.ac.jp/>.

- 3) 未熟児網膜症姫路日赤事件における医療水準の論
考＝医学的視点から・認識統合のために＝ 川崎
富夫 L&T 46, 2010, 36-44.
- 4) 未熟児網膜症姫路日赤事件最高裁判決と医療現場
感覚との落差 ＝司法と医療の認識統合を求めて
＝ 川崎富夫 医師法講座 第3巻 医療事故と
医事法 甲斐克則編 信山社 3-27頁, 2012年.
- 5) 肝臓移植のためのガイドブック, 京都大学, 平成
16年.
<http://www.kuhp.kyoto-u.ac.jp/~transplant/Guide.pdf>.
- 6) 日本肝臓学会ガイドブック, 日本肝臓学会・日本
肝移植研究会, アークメディア, 2007年.
- 7) 生体肝移植ドナーに関する調査, 日本肝移植研究
会, ドナー調査委員会, 2005年.
- 8) 日本医師会HP
<http://www.med.or.jp/doctor/member/kiso/k3.html>.
- 9) 世界医師会 (WMA) 「医の倫理マニュアル」, 日
本医師会, 2007年.
- 10) 沖縄における民間療法の瀉血に関する調査研究
稲福盛輝 民族衛生35, 第1号33-37頁, 1969年.
- 11) 血液事業の歴史, 日本赤十字社HP
<http://wanonaka.jp/blood/history.html>.
- 12) 日本最初の急性腎不全に対する腎移植, 移植グラ
フファイター, 太田和夫
http://www.medi-net.or.jp/tcnet/history/hstr_014.html.
- 13) 日本の移植史, トランスプラント・コミュニケー
ション,
http://www.medi-net.or.jp/tcnet/tc_1/1_2.html.
- 14) 法学的意思と意志の異同と患者の自己決定権 川
崎富夫, 生命倫理 通巻23号, 42-50頁, 2012年.

【原稿受理：2013年1月15日】