

表7. 種々のライセート試薬の測定結果とβ-グルカン量

製剤名	EU/mL				pg/mL	Ratio*4	発熱試験
	ES-Ⅲ	エンドスペシー	トキシカラー*1	K-QCL*2	β-グルカン*3		
免疫グロブリン製剤							
ポリエチレングリコール処理人免疫グロブリン	0.06	0.01	0.03	0.05	162.5	2.3	陰性
ポリエチレングリコール処理抗HBs人免疫グロブリン	0.02	0.01	0.02	0.02	79.0	1.5	陰性
ポリエチレングリコール処理抗破傷風人免疫グロブリン	0.03	0.01	0.20	0.02	43.2	15.1	陰性
pH4処理酸性人免疫グロブリン	0.06	0.02	0.05	0.09	114.9	2.6	陰性
乾燥イオン交換樹脂処理人免疫グロブリン	0.02	0.01	0.01	0.02	4.0	1.0	陰性
乾燥pH4処理人免疫グロブリン	0.04	0.02	0.13	0.17	168.8	7.5	陰性
乾燥スルホ化人免疫グロブリン	0.03	0.01	0.01	0.02	2.5	0.9	陰性
人免疫グロブリン	0.06	0.05	0.19	38.52	153.8	3.9	陰性
抗HBs人免疫グロブリン	0.05	0.02	0.08	0.20	82.3	5.0	陰性
抗破傷風人免疫グロブリン	0.05	0.07	2.66	336.85	3936.0	36.8	陰性
乾燥抗HBs人免疫グロブリン	0.03	0.01	0.09	0.10	308.1	6.5	陰性
乾燥抗破傷風人免疫グロブリン	0.03	0.03	0.04	195.31	56.2	1.3	陰性
乾燥抗D (Rho) 人免疫グロブリン	0.05	0.01	0.11	0.08	334.4	8.2	陰性
凝固因子製剤およびその他製剤							
人ハプトグロビン	0.01	0.01	0.01	0.18	6.2	1.1	陰性
乾燥濃縮人血液凝固第Ⅷ因子	0.01	0.01	0.01	0.02	12.7	0.8	陰性
乾燥濃縮人血液凝固第Ⅸ因子	0.01	0.02	0.11	0.02	907.6	5.9	陰性
乾燥人フィブリノゲン	0.02	0.04	0.05	0.23	26.6	1.2	陰性

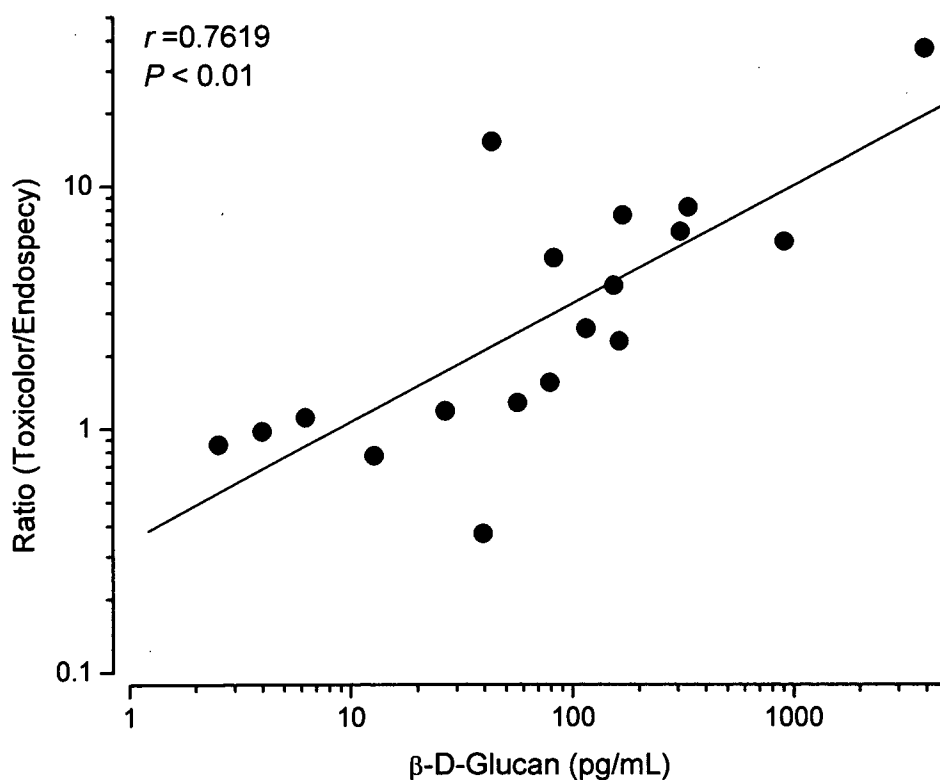
*1:トキシカラー(生化学バイオビジネス), カイネティック比色法(C+G因子)

*1: Kinetic-QCL(第一化学薬品), カイネティック比色法(C+G因子)

*3: ファンゲテック GテストMK(生化学バイオビジネス), カイネティック比色法(G因子)

*4: トキシカラー/エンドスペシー(EU/mL)の比

図1. ライセート活性比(C+G因子系/C因子系)とβ-グルカン量の関係



エンドトキシン試験（反応干渉因子試験）プロトコール

ES-III

・エンドトキシン標準液の希釈方法（氷上にて行う）

○ エンドトキシン標準品

- 100 (10,000 EU/mL) — 900 (エンドトキシン試験用水) : 1,000 EU/mL
- 100 (1,000 EU/mL) — 900 (エンドトキシン試験用水) : 100 EU/mL
- 100 (100 EU/mL) — 900 (エンドトキシン試験用水) : 10 EU/mL
- 500 (10 EU/mL) — 2000 (エンドトキシン試験用水) : 2 EU/mL (添加用)

☆ 標準品測定濃度（6濃度、EU/mL）：

- 500 (2 EU/mL) — 500 (エンドトキシン試験用水) : 1 EU/mL
- 500 (1 EU/mL) — 500 (エンドトキシン試験用水) : 0.5 EU/mL
- 500 (0.5 EU/mL) — 500 (エンドトキシン試験用水) : 0.25 EU/mL
- 500 (0.25 EU/mL) — 500 (エンドトキシン試験用水) : 0.125 EU/mL
- 500 (0.125 EU/mL) — 500 (エンドトキシン試験用水) : 0.0625 EU/mL
- 500 (0.0625 EU/mL) — 500 (エンドトキシン試験用水) : 0.03125 EU/mL

・製剤の希釈方法（氷上にて行う）

試料溶液（4濃度）単位 μ L

- 500 (製剤) — 500 (エンドトキシン試験用水) : 2倍希釈液
- 500 (2倍希釈液) — 500 (エンドトキシン試験用水) : 4倍希釈液
- 500 (4倍希釈液) — 500 (エンドトキシン試験用水) : 8倍希釈液
- 500 (8倍希釈液) — 500 (エンドトキシン試験用水) : 16倍希釈液

エンドトキシン添加試料溶液（4濃度）単位 μ L

- 500 (製剤) — 250 (2 EU/mL*) — 250 (エンドトキシン試験用水) : 2倍希釈液
- 500 (2倍希釈液) — 500 (エンドトキシン試験用水) : 4倍希釈液
- 500 (4倍希釈液) — 500 (エンドトキシン試験用水) : 8倍希釈液
- 500 (8倍希釈液) — 500 (エンドトキシン試験用水) : 16倍希釈液

*：エンドトキシン標準液で調製した添加用エンドトキシン希釈液を用いる。

エンドトキシン試験（反応干渉因子試験）プロトコール

Endospecy

・エンドトキシン標準液の希釈方法（氷上にて行う）

○ エンドトキシン標準品

- 100 (10,000 EU/mL) — 900 (エンドトキシン試験用水) : 1,000 EU/mL
- 100 (1,000 EU/mL) — 900 (エンドトキシン試験用水) : 100 EU/mL
- 100 (100 EU/mL) — 900 (エンドトキシン試験用水) : 10 EU/mL
- 250 (10 EU/mL) — 2250 (エンドトキシン試験用水) : 1 EU/mL (添加用)

☆ 標準品測定濃度（6濃度、EU/mL）：

- 250 (1 EU/mL) — 750 (エンドトキシン試験用水) : 0.25 EU/mL
- 500 (0.25 EU/mL) — 500 (エンドトキシン試験用水) : 0.125 EU/mL
- 500 (0.125 EU/mL) — 500 (エンドトキシン試験用水) : 0.0625 EU/mL
- 500 (0.0625 EU/mL) — 500 (エンドトキシン試験用水) : 0.03125 EU/mL
- 500 (0.03125 EU/mL) — 500 (エンドトキシン試験用水) : 0.015625 EU/mL
- 500 (0.015625 EU/mL) — 500 (エンドトキシン試験用水) : 0.0078125 EU/mL

・製剤の希釈方法（氷上にて行う）

試料溶液（4濃度）単位 μ L

- 250 (製剤) — 750 (エンドトキシン試験用水) : 4倍希釈液
- 500 (4倍希釈液) — 500 (エンドトキシン試験用水) : 8倍希釈液
- 500 (8倍希釈液) — 500 (エンドトキシン試験用水) : 16倍希釈液
- 500 (16倍希釈液) — 500 (エンドトキシン試験用水) : 32倍希釈液

エンドトキシン添加試料溶液（4濃度）単位 μ L

- 250 (製剤) — 250 (1 EU/mL*) — 500 (エンドトキシン試験用水) : 4倍希釈液
- 500 (4倍希釈液) — 500 (エンドトキシン試験用水) : 8倍希釈液
- 500 (8倍希釈液) — 500 (エンドトキシン試験用水) : 16倍希釈液
- 500 (16倍希釈液) — 500 (エンドトキシン試験用水) : 32倍希釈液

* : エンドトキシン標準液で調製した添加用エンドトキシン希釈液を用いる。

別紙 3

反応干渉作用が認められた製剤のプロトコール

ES-III

- ・ エンドトキシン標準溶液の調製方法（氷上にて行う）

- エンドトキシン標準品

10,000 EU/mL ⇒ 1,000 ⇒ 100 ⇒ 10 ⇒ 1.25* (ES-III添加用)
⇒ 1

- ☆ 各ライセート試薬の標準品測定濃度（6濃度、EU/mL）：

Wako ES-III

1 → 0.5 → 0.25 → 0.125 → 0.0625 → 0.03125

- ・ 試料溶液の調製方法（氷上にて行う）

試料溶液 単位 μL

500 (製剤) — 1500 (エンドトキシン試験用水) : 4倍希釈液 (希釈用)
1000 (4倍希釈液) — 1000 (エンドトキシン試験用水) : 8倍希釈液
1000 (8倍希釈液) — 1000 (エンドトキシン試験用水) : 16倍希釈液
1000 (16倍希釈液) — 1000 (エンドトキシン試験用水) : 32倍希釈液
1000 (32倍希釈液) — 1000 (エンドトキシン試験用水) : 64倍希釈液

エンドトキシン添加試料溶液 (最終濃度 0.125 EU/mL) 単位 μL

500 (4倍) — 100 (1.25 EU/mL*) — 400 (エンドトキシン試験用水) : 8倍
500 (8倍) — 100 (1.25 EU/mL*) — 400 (エンドトキシン試験用水) : 16倍
500 (16倍) — 100 (1.25 EU/mL*) — 400 (エンドトキシン試験用水) : 32倍
500 (32倍) — 100 (1.25 EU/mL*) — 400 (エンドトキシン試験用水) : 64倍

* エンドトキシン標準液で調製した添加用エンドトキシン希釈液を用いる。

反応干渉作用が認められた製剤のプロトコール

Endospecky

- ・ エンドトキシン標準溶液の調製方法（氷上にて行う）

○ エンドトキシン標準品

10,000 EU/mL ⇒ 1,000 ⇒ 100 ⇒ 25 ⇒ 6.25 ⇒ 0.625* (Endospecky 添加用)
⇒ 10 ⇒ 1 ⇒

- ☆ 各ライセート試薬の標準品測定濃度（6濃度、EU/mL）：

Endospecky

0.25 → 0.125 → 0.0625 → 0.03125 → 0.015625 → 0.0078125

- ・ 試料溶液の調製方法（氷上にて行う）

試料溶液 単位 μL

250 (製剤) — 1750 (エンドトキシン試験用水) : 8倍希釈液 (希釈用)
1000 (8倍希釈液) — 1000 (エンドトキシン試験用水) : 16倍希釈液
1000 (16倍希釈液) — 1000 (エンドトキシン試験用水) : 32倍希釈液
1000 (32倍希釈液) — 1000 (エンドトキシン試験用水) : 64倍希釈液
1000 (64倍希釈液) — 1000 (エンドトキシン試験用水) : 128倍希釈液

エンドトキシン添加試料溶液 (最終濃度 0.0625 EU/mL) 単位 μL

500 (8倍) — 100 (0.625 EU/mL*) — 400 (エンドトキシン試験用水) : 16倍
500 (16倍) — 100 (0.625 EU/mL*) — 400 (エンドトキシン試験用水) : 32倍
500 (32倍) — 100 (0.625 EU/mL*) — 400 (エンドトキシン試験用水) : 64倍
500 (64倍) — 100 (0.625 EU/mL*) — 400 (エンドトキシン試験用水) : 128倍

* エンドトキシン標準液で調製した添加用エンドトキシン希釈液を用いる。

厚生労働科学研究費補助金

医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業

血液製剤に対するエンドトキシン試験法の適用と基準化に関する研究

分担研究報告書

研究課題：血液製剤によるエンドトキシン発熱反応の増強

分担研究者：浜口 功

国立感染症研究所 血液・安全性研究部 第4室長

研究協力者：古山和弘¹⁾、竹内繁美¹⁾、池田清貴²⁾、因幡正代²⁾、山本栄二³⁾、
外山幸司³⁾、秋本芳則⁴⁾、徳永英治⁴⁾、宮崎陽子⁴⁾、有野義郎⁵⁾、
宮村真澄⁵⁾、児玉敏昭⁵⁾、小林幸子⁵⁾、赤石暁弘⁶⁾

1) (株) ベネシス、2) CSL ベーリング (株)、3) 日本赤十字社、4) (財) 化血研、5) バクスター (株)、6) 日本製薬 (株)

研究要旨：

エンドトキシン規格値を適正に設定するために、血液製剤によるエンドトキシン発熱活性に対する増強作用を検討した。21 品目の血液製剤について検討し、乾燥濃縮人血液凝固第 VIII 因子製剤、乾燥濃縮人血液凝固第 IX 因子製剤、乾燥人フィブリノゲン製剤、乾燥濃縮人アンチトロンビン III 製剤および乾燥濃縮人活性化プロテイン C 製剤において、3.6 倍から 8.9 倍の有意な発熱増強活性を認めた。これらの製剤のエンドトキシン規格値は、増強率に応じて補正すべきであると考えられた。人免疫グロブリン製剤 15 品目については、逆に発熱を抑制する傾向を認めた。人ハプトグロビン製剤では、エンドトキシン発熱活性に対する有意な影響は認められなかった。

A. 研究目的

製剤への発熱性物質の混入を防止する方法としてエンドトキシン試験法を導入するにあたっては、エンドトキシン規格値（製剤への混入を許容するエンドトキ

シン量の上限值）を適正に設定することが重要である。エンドトキシン規格値は、一般に、次式にしたがって個々の製剤ごとに算定するように規定されたい（日本薬局方参考情報）。

エンドトキシン規格値 = K/M

ただし

K: 発熱を誘起する体重 1kg あたりのエンドトキシン量 (EU/kg)

M: 体重 1kg あたり 1 時間以内に投与する注射剤の最大量

静脈注射薬については、K の値として、5.0EU/kg という数値が示されている。

一方、薬剤によっては、エンドトキシンの発熱活性を増強するものがある。血液製剤では、人血清アルブミン製剤がエンドトキシンの発熱活性を増強することが示されている。このような活性がある製剤では、より微量のエンドトキシンの混入によって発熱が惹起されると考えられるので、増強の程度に応じてエンドトキシン規格値を低めに補正する必要があると考えられる。

そこで、適切なエンドトキシン規格値を設定するために、血液製剤について、網羅的にエンドトキシン発熱活性に対する影響を検討した。今年度は、前年度に引き続き、データの集積を行ない、製剤種別、メーカー別、ロット別のデータ解析を行なった。

B. 研究方法

1) 動物

生物学的製剤基準に準じて、体重 1.5kg 以上の健康なウサギを用いた。過去にエンドトキシンを投与されたウサギ、発熱を示したウサギおよび実験に用いる血液製剤と共通の抗原物質を含む検体を投与されたことがあるウサギは使用しなかつ

た。国立感染症研究所（以下、感染研）で行なわれた実験では、北山ラベス（株）または日本医科学資材（株）から購入したメスの日本白色種のウサギ（体重 2kg から 3kg）を用いた。

2) 試薬

エンドトキシンは、日本薬局方標準品であるエンドトキシン 10000 標準品を（財）日本公定書協会から購入した。エンドトキシンの溶解と希釈には、局方注射用水、局方生理食塩液を使用した。

3) 血液製剤

製造者においては、自社製造の検定合格品を検体として実験を行なった。感染研においては、各製造者から検定合格品の供与を受けて、実験に使用した。

4) エンドトキシンの希釈と検体への添加

エンドトキシン 10000 標準品に注射用水を加え、vortex ミキサーで 5 分間攪拌して、10,000EU/ml のエンドトキシン溶液（標準原液）を調製した。標準原液は、4℃で保存して 14 日以内に使用した。標準原液を生理食塩液で適当に段階希釈した後、検体に添加した。検体へのエンドトキシン希釈液の添加は、1:100 の希釈倍率で行なった。

5) 発熱試験

生物学的製剤基準に準じて試験を行なった。検体をおのおの 3 匹のウサギの耳静脈内に投与した。ウサギの体重あたりの検体の投与量は、血液製剤ごとに生物学的製剤基準の規定にしたがった。検体の注射直前および注射後 3 時間ないし 5

時間、30分ごとにウサギの直腸体温を測定した。注射前の体温と注射後の体温の差を差体温とし、差体温の最大値をその試験動物の発熱反応とした。

6) 発熱増強の有無の判定

等量のエンドトキシンを添加した血液製剤および生理食塩液を、おのおのウサギに投与して、両者の発熱反応の平均値の差を、student の t-分布検定（両側）により検定した。血液製剤による発熱反応の平均値の方が生理食塩液による発熱反応の平均値よりも、有意 ($p \leq 0.05$) に高かった場合に、その血液製剤にはエンドトキシンによる発熱を増強する活性があると判定した。

7) 発熱増強率の算出

ウサギに種々の濃度のエンドトキシン（溶媒は生理食塩液）を投与して、発熱反応を測定した。得られたデータを、横軸に投与したエンドトキシン量 (E) の自然対数値、縦軸に発熱反応 (ΔT) をとってプロットし、最小二乗法により用量-反応直線

$$\Delta T = a \ln(E) + b \quad \dots (1)$$

ただし、a, b は定数

を得た。エンドトキシンを添加した生理食塩液をウサギに投与した時に観察される発熱反応の平均値 ΔT_{sal} を (1) 式にあてはめ、次式によりエンドトキシン当量 E_{sal} に変換した。

$$E_{sal} = \exp((\Delta T_{sal} - b) / a)$$

生理食塩液に添加したのと等量のエンドトキシンを添加した血液製剤をウサギに

投与した時に観察される発熱反応の平均値 ΔT_{drug} についても、同様にエンドトキシン当量 E_{drug} に変換した。

$$E_{drug} = \exp((\Delta T_{drug} - b) / a)$$

次式により、個々の血液製剤について発熱増強率 γ_{drug} を算出した。

$$\gamma_{drug} = E_{drug} / E_{sal}$$

8) 倫理面への配慮

ウサギを使用した発熱実験は、国立感染症研究所動物実験指針にしたがって実施した。実験内容について、国立感染症研究所動物実験委員会の審査を受け、承認を得た（承認番号：207073）。

C. 結果と考察

1) 血液製剤によるエンドトキシン発熱活性の増強

前年に引き続き、種々の血液製剤に、投与量が体重 1kg あたり 10EU となるようにエンドトキシンを添加して、すみやかにウサギの静脈内に注射して発熱試験を行なった。コントロールとして、同量のエンドトキシンを添加した生理食塩液（生食）を用い、発熱反応を比較した。

① 静注用人免疫グロブリン製剤

国内で販売されている主な静注用人免疫グロブリン製剤 6 品目（ポリエチレングリコール処理、スルホ化、pH4 処理、pH4 処理酸性、イオン交換樹脂処理、ペプシン処理）について検討した。体温上昇度のヒストグラムでは、生食投与群が、 $0.4^{\circ}\text{C} - 0.6^{\circ}\text{C}$ の発熱区間をピークとする釣鐘状の分布を示したのに対して、静注用

人免疫グロブリン製剤投与群では、6品目とも左方向にシフトした分布を示した（図1）。体温上昇度の平均値は生食投与群が0.50℃だったのに対して、製剤投与群では0.18℃から0.35℃で、いずれも生食投与群を下回った（図2）。静注用人免疫グロブリン製剤投与群全体の平均は0.27℃で、生食投与群と有意差（ $p<0.01$ ）が認められた。以上より、静注用人免疫グロブリン製剤は、製造所、製法に関わらず、エンドトキシンによるウサギの発熱を抑制することが明らかになった。

② 静注用特殊人免疫グロブリン製剤

国内で販売されている静注用特殊人免疫グロブリン製剤2品目（抗HBs、抗破傷風）について検討した。体温上昇度のヒストグラムでは、どちらの製剤でも生食投与群に比べて分布が左方向にシフトしていた（図3-a、-b）。体温上昇度の平均値は抗HBsが0.28℃、抗破傷風が0.29℃で、いずれも生食投与群と有意差（ $p<0.01$ ）が認められた（図3-c）。以上より、静注用特殊人免疫グロブリン製剤は、エンドトキシンによるウサギの発熱を抑制することが明らかになった。

③ 筋注用人免疫グロブリン製剤

国内で販売されている主な筋注用人免疫グロブリン製剤7品目（一般、抗HBs、乾燥抗HBs、抗破傷風、乾燥抗破傷風、乾燥抗D、乾燥ヒスタミン加）について検討した。体温上昇度のヒストグラムでは、7品目すべてで、生食投与群に比べて分布が左方向にシフトしていた（図4）。

体温上昇度の平均値は、0.11℃から0.41℃の範囲で、いずれも生食投与群を下回った。筋注用人免疫グロブリン製剤全体の平均は0.26℃で、有意（ $p<0.01$ ）に生食投与群よりも低かった（図5）。以上より、筋注用人免疫グロブリン製剤は、エンドトキシンによるウサギの発熱を抑制することが明らかになった。

④ 乾燥濃縮人血液凝固第VIII因子製剤

3製造所9ロットの乾燥濃縮人血液凝固第VIII因子製剤（第VIII因子製剤）について検討した。第VIII因子製剤投与群の発熱反応のヒストグラムは、生食投与群に比べて右方向にシフトしていた（図6-a）。製造所別の発熱反応の平均値は、いずれも生食投与群を有意（ $p\leq 0.05$ ）に上回った（図6-b）。また、ロットごとの平均値もすべて、生食投与群を上回っていた（図6-c）。以上より、製造所、ロットの別に関わりなく第VIII因子製剤は、エンドトキシンによるウサギの発熱を増強することが明らかになった。

⑤ 乾燥濃縮人血液凝固第IX因子製剤

2製造所6ロットの乾燥濃縮人血液凝固第IX因子製剤（第IX因子製剤）について検討した。第IX因子製剤投与群の発熱反応のヒストグラムは、生食投与群に比べて右方向にシフトしていた（図7-a）。製造所別の発熱反応の平均値は、いずれも生食投与群を有意（ $p\leq 0.05$ ）に上回った（図7-b）。また、ロットごとの平均値もすべて、生食投与群を上回っていた（図7-c）。以上より、製造所、ロットの別に関

わりなく第 IX 因子製剤は、エンドトキシンによるウサギの発熱を増強することが明らかになった。

⑥ 乾燥人フィブリノゲン製剤

3 ロットの乾燥人フィブリノゲン製剤（フィブリノゲン製剤）について検討した。フィブリノゲン製剤投与群の発熱反応のヒストグラムは、生食投与群に比べて右方向にシフトしていた（図 8-a）。発熱反応の平均値は、検討した 3 ロットすべてで、有意 ($p \leq 0.05$) に生食投与群を上回った（図 8-b）。以上より、フィブリノゲン製剤は、エンドトキシンによるウサギの発熱を増強することが明らかになった。

⑦ 乾燥濃縮人アンチトロンビン III 製剤

3 製造所 7 ロットの乾燥濃縮人アンチトロンビン III 製剤（アンチトロンビン III 製剤）について検討した。アンチトロンビン III 製剤投与群の発熱反応のヒストグラムは、生食投与群に比べて右方向にシフトしていた（図 9-a）。製造所別の発熱反応の平均値は、いずれも生食投与群を有意 ($p \leq 0.05$) に上回った（図 9-b）。また、ロットごとの平均値もすべて、生食投与群を上回っていた（図 9-c）。以上より、製造所、ロットの別に関わりなくアンチトロンビン III 製剤は、エンドトキシンによるウサギの発熱を増強することが明らかになった。

⑧ 乾燥濃縮人活性化プロテイン C 製剤

3 ロットの乾燥濃縮人活性化プロテイン C 製剤（活性化プロテイン C 製剤）に

ついて検討した。活性化プロテイン C 製剤投与群の発熱反応のヒストグラムは、生食投与群に比べて右方向にシフトしていた（図 10-a）。発熱反応の平均値は、検討した 3 ロットすべてで生食投与群を上回っていた（図 10-b）。以上より、活性化プロテイン C 製剤は、エンドトキシンによるウサギの発熱を増強することが明らかになった。

⑨ 人ハプトグロビン製剤

3 ロットの人ハプトグロビン製剤（ハプトグロビン製剤）について検討した。ハプトグロビン製剤投与群の発熱反応のヒストグラムは、生食投与群と比べて明らかな違いは認められなかった（図 11-a）。発熱反応の平均値は、検討した 3 ロットのうち 1 ロットを除いて有意差 ($p \leq 0.05$) はなく、全体でも生食投与群との間に有意差は認められなかった ($p = 0.09$)（図 11-b）。以上より、ハプトグロビン製剤は、エンドトキシンによるウサギの発熱を増強しないか、するとしても軽微であることが示唆された。

2) 発熱増強率の算定

前項で測定した生理食塩液および各種の血液製剤によるエンドトキシン発熱反応の平均値を、「B. 研究方法」に記載した方法により、それぞれエンドトキシン当量に換算し、さらにそれぞれの血液製剤の発熱増強率を算出した。結果を、表 1 に示す。

有意な発熱増強を示した第 VIII 因子製剤、第 IX 因子製剤、フィブリノゲン製剤

アンチトロンビン III 製剤および活性化プロテイン C 製剤の発熱増強率は、それぞれ 3.6 倍、5.7 倍、5.1 倍、8.9 倍、4.7 倍と算定された。これらの製剤については、エンドトキシン試験法を適用するにあたり、発熱増強率に応じてエンドトキシン規格値を補正することが必要と考える。一方、人免疫グロブリン製剤（静注用、静注用特殊、筋注用）は、いずれもエンドトキシンによるウサギの発熱を抑制した。これらの製剤については、通常発熱を引き起こすと考えられる量のエンドトキシンが混入しても発熱が抑制されることが予想される。しかし、ヒトにおいても同様な発熱抑制が起こるかは不明であり、安全性を重視する立場から、規格値の補正は行なわないことが妥当と考える。ハプトグロビン製剤は、1.4 倍の発熱増強と算定されたが、生食投与群との間で 5% の危険率で有意差は認められなかった。たとえ増強作用があったとしても軽微であり、特に規格値の補正は必要ないと考えられた。

D. 結論

- 1) 等量のエンドトキシン（ウサギの体重 1kg あたり 10EU）を添加した各種の血液製剤または生理食塩液をウサギに投与して発熱反応を比較し、血液製剤によるエンドトキシンの発熱反応への影響を評価した。
- 2) 乾燥濃縮人血液凝固第 VIII 因子製剤、乾燥濃縮人血液凝固第 IX 因子製剤、

人フィブリノゲン製剤、人アンチトロンビン III 製剤および乾燥濃縮人活性化プロテイン C 製剤は、エンドトキシンによるウサギの発熱を有意に増強した。増強率は、それぞれ、3.6 倍、5.7 倍、5.1 倍、8.9 倍、4.7 倍と算定された。これらの製剤にエンドトキシン試験法を適用する場合には、エンドトキシン規格値を発熱増強率に応じて低めに補正する必要があると考える。

- 3) 人免疫グロブリン製剤は、静注用、静注用特殊、筋注用の別なく、エンドトキシンによる発熱を有意に抑制した。これらの製剤にエンドトキシン試験法を適用する場合には、安全性重視の立場からエンドトキシン規格値の補正を行なわないのが妥当と考える。
- 4) 人ハプトグロビン製剤では、エンドトキシンによる発熱に有意 ($p \leq 0.05$) な影響を認めなかった。したがって、この製剤にエンドトキシン試験法を適用する場合には、規格値の補正は必要ないと考える。

E. 研究発表

- 1) 誌上発表
 1. 浜口 功. 加熱人血漿たん白. 図説：生物学的製剤基準解説 2007 年版（株）じほう. 2007 年 12 月.
 2. 浜口 功. 人血清アルブミン. 図説：生物学的製剤基準解説 2007 年版（株）じほう. 2007 年 12 月.
- 2) 学会発表

I. Naito S, Ochiai, M, Yamamoto A, Maeyama J, Masumi A, Hamaguchi I., Yamaguchi K and Horiuchi Y. Application of the Limulus Amebocyte Lysate Test to Various Blood Products as an Alternative Method to the Rabbit Pyrogen Test. 6th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, August 2007, Tokyo.

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

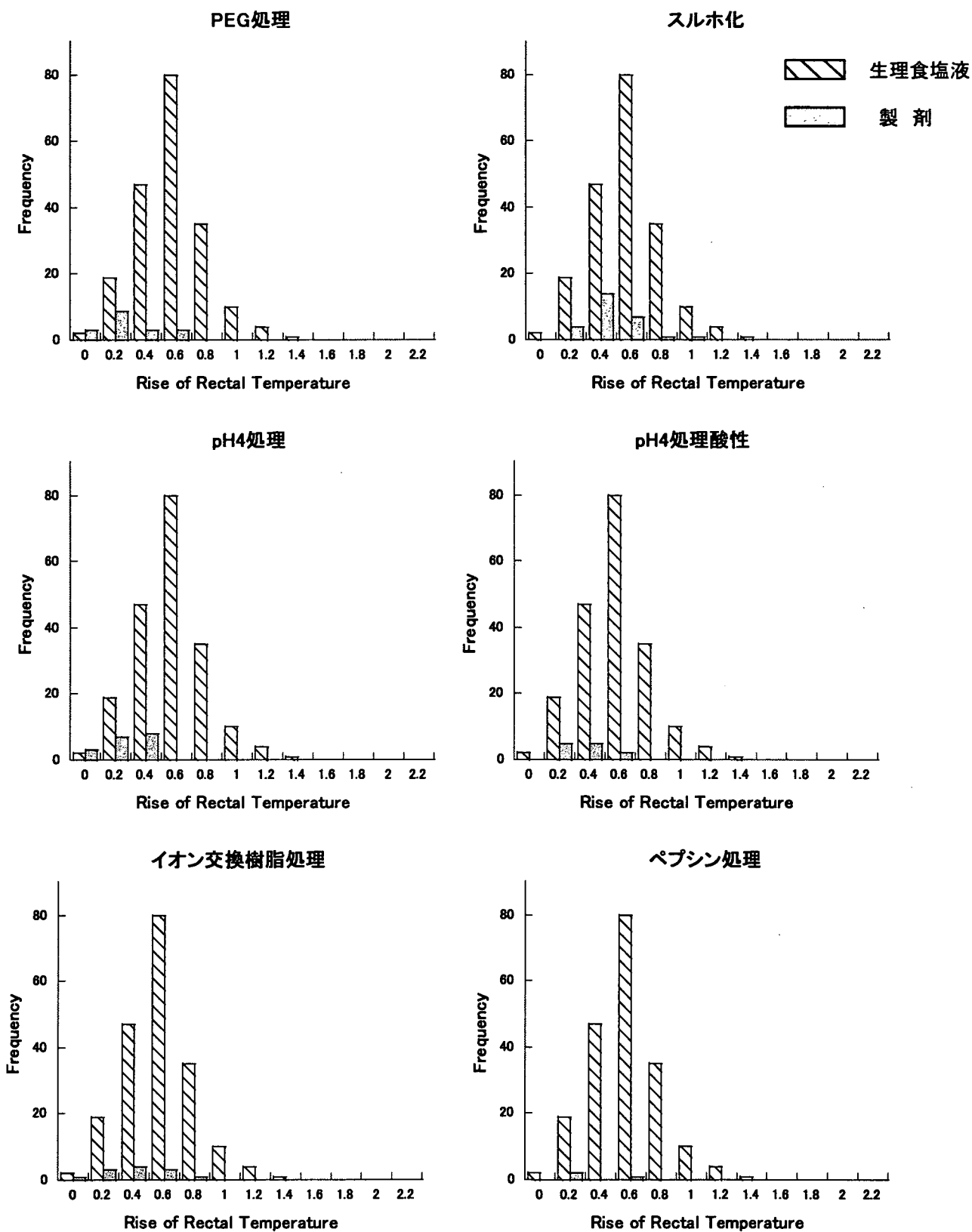
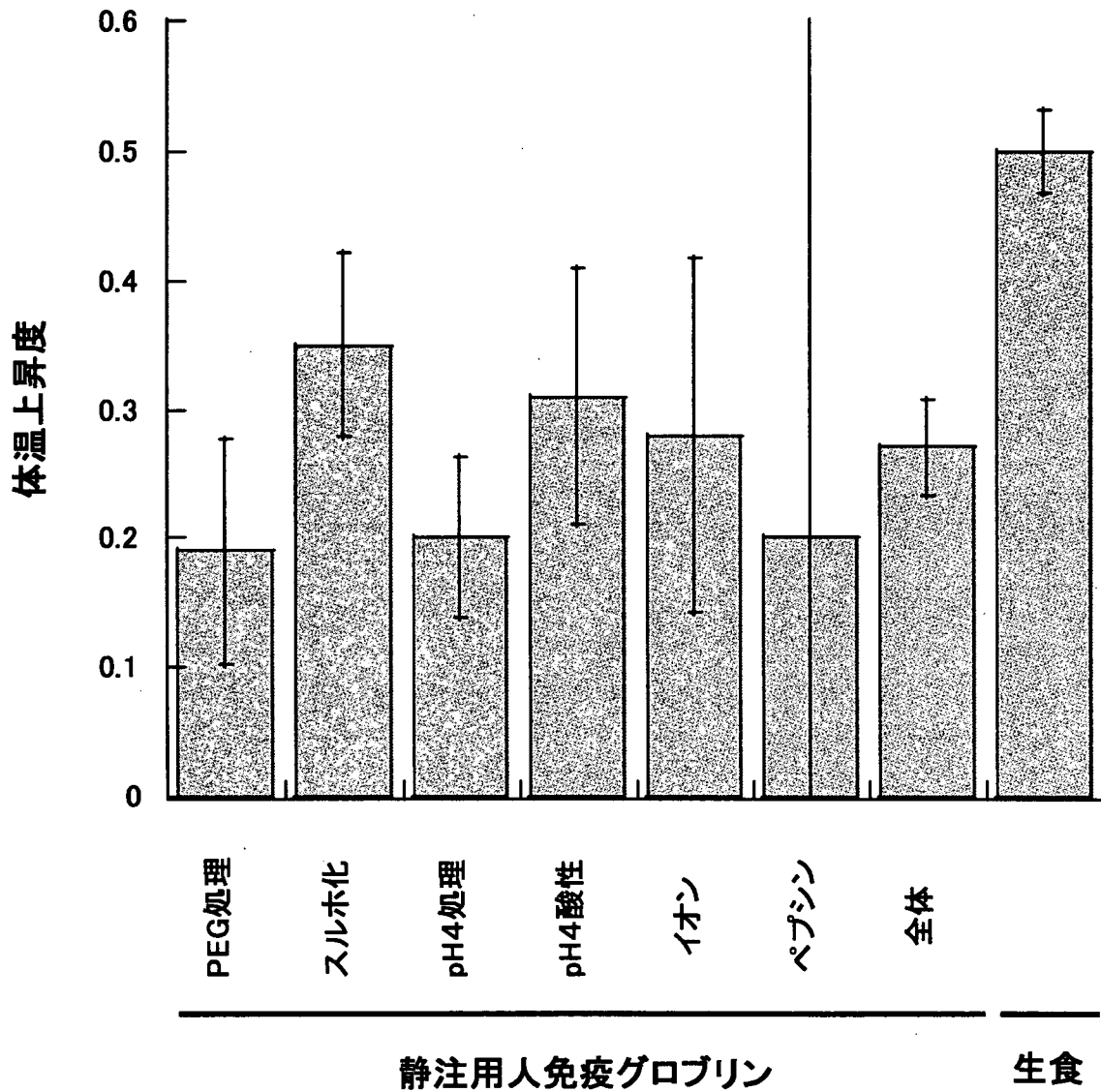
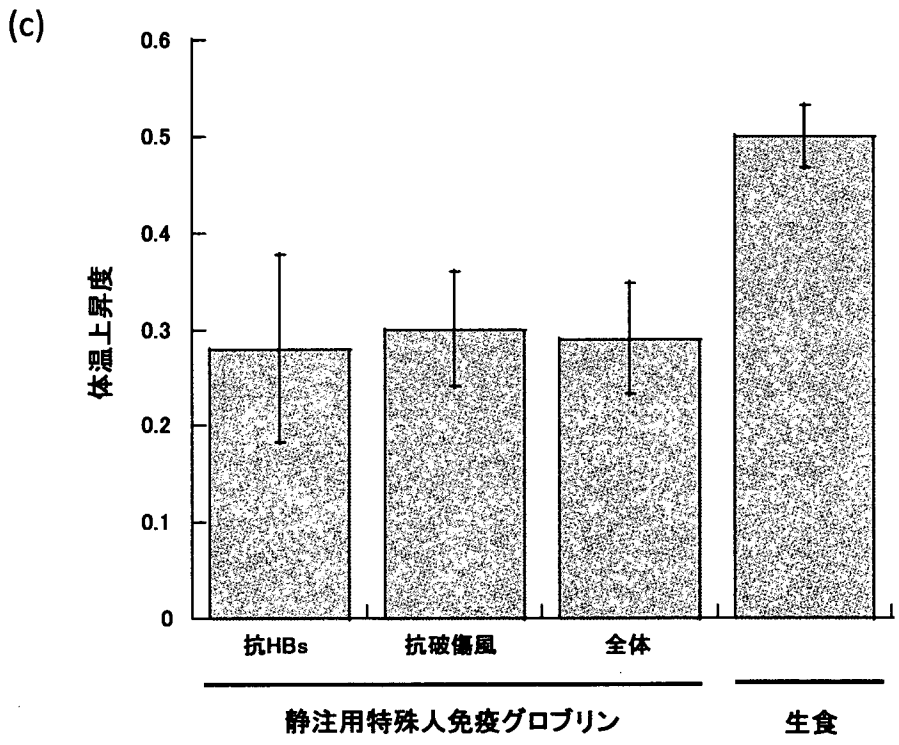
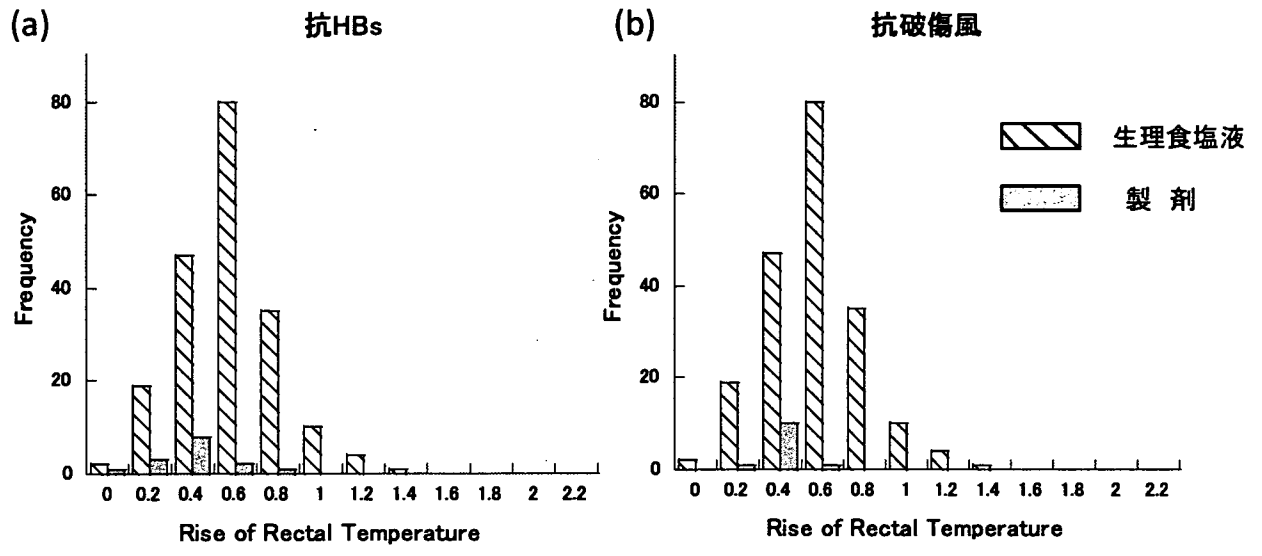


図1. エンドキシン添加静注用免疫グロブリン製剤に対するウサギの発熱反応の分布



(平均±95%信頼区間)

図2. エンドトキシンを添加した静注用人免疫グロブリン製剤によるウサギの発熱反応



(平均±95%信頼区間)

図3. エンドトキシンを添加した静注用特殊人免疫グロブリン製剤によるウサギの発熱反応

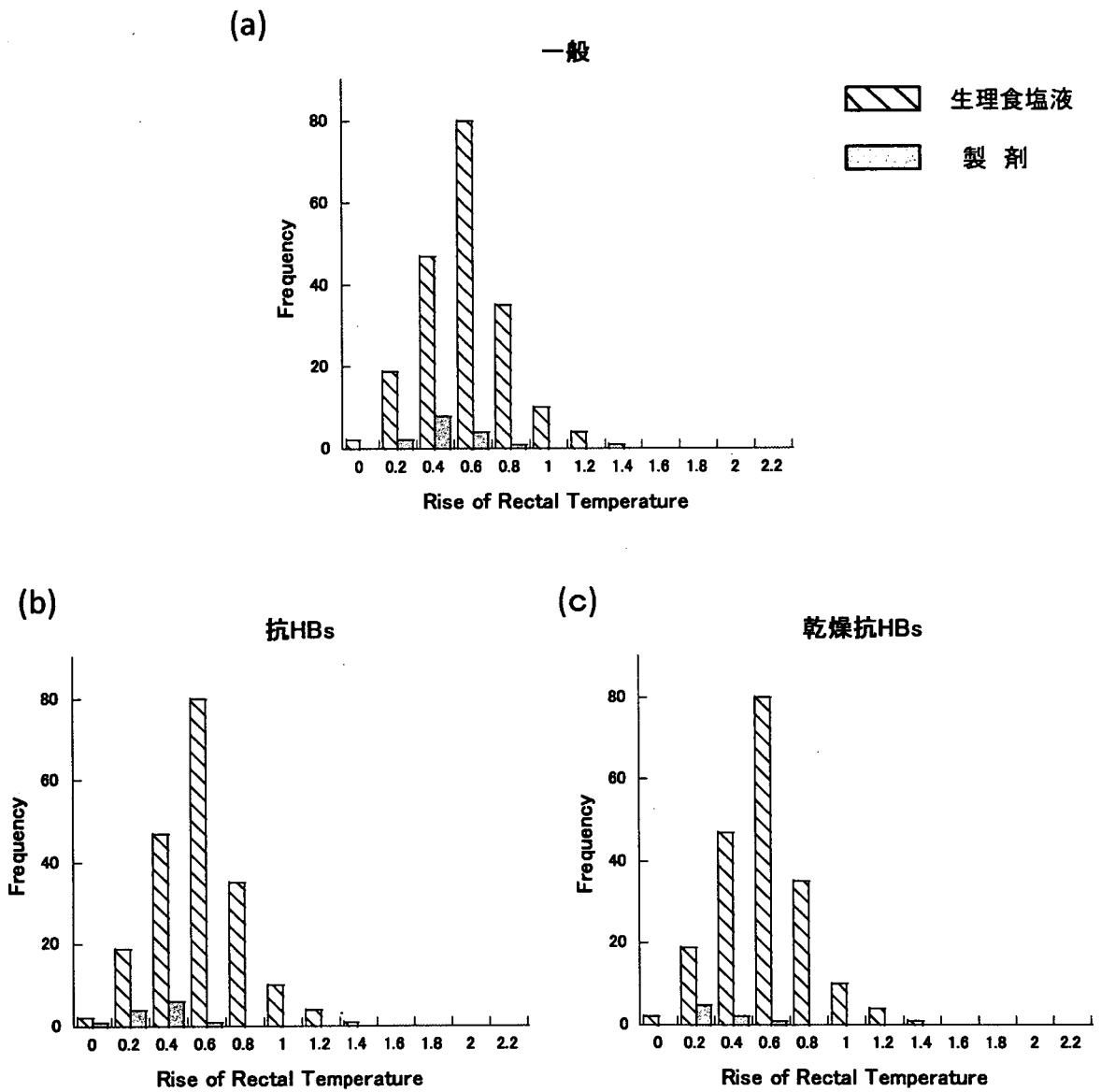


図4. エンドトキシン添加筋注用人免疫グロブリン製剤に対するウサギの発熱反応の分布

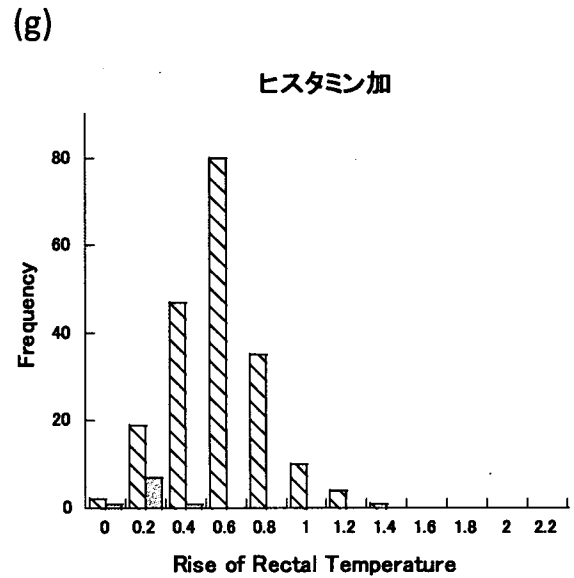
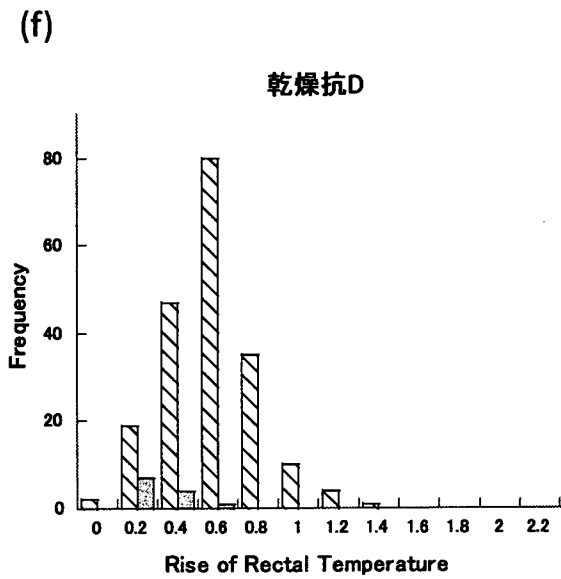
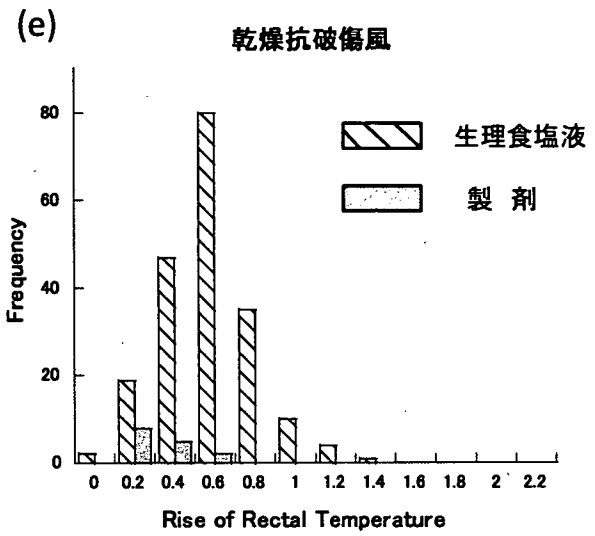
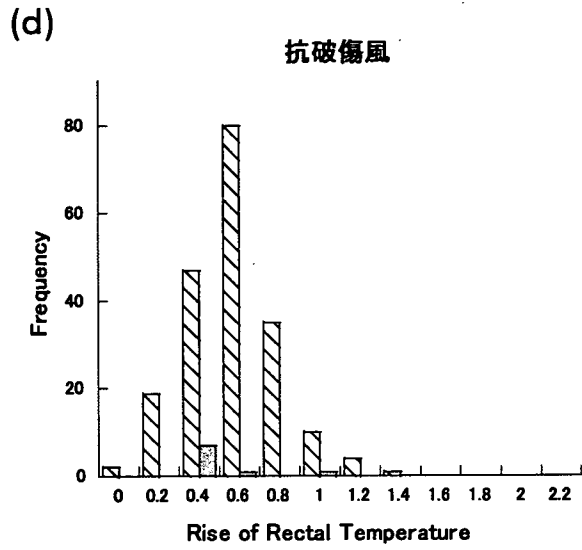
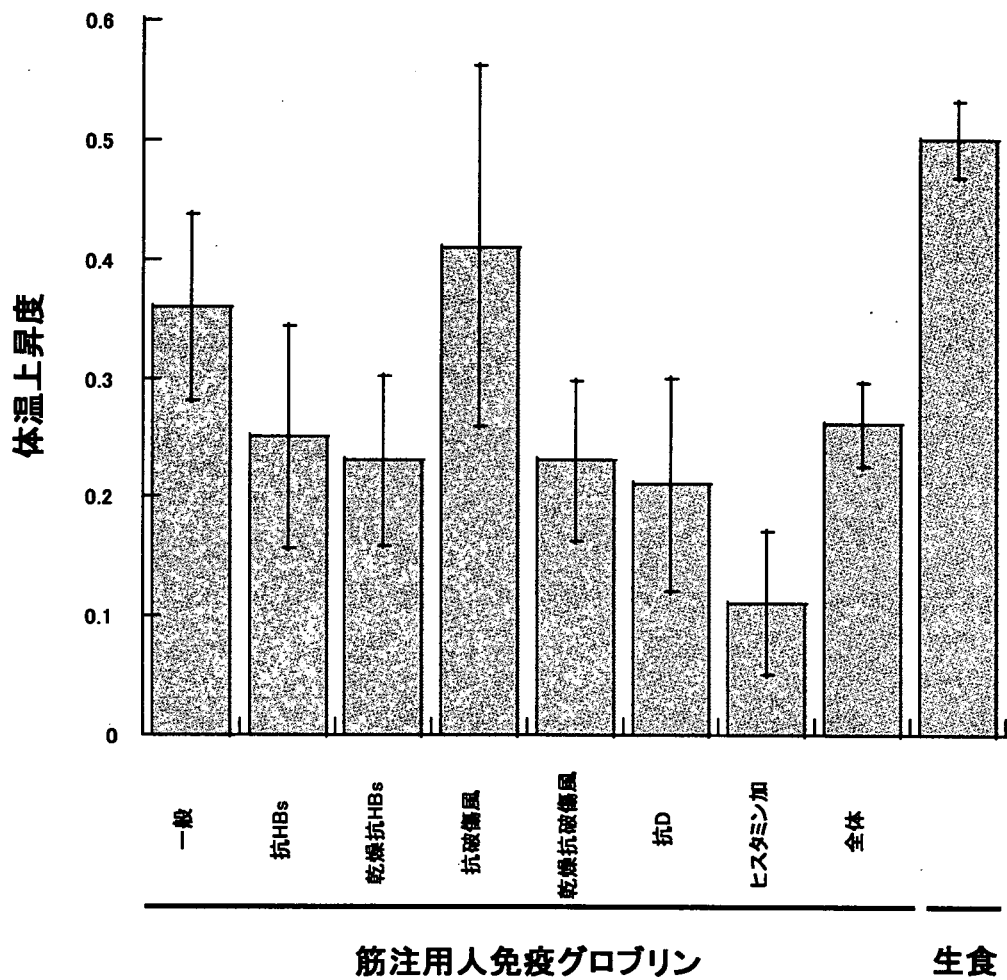
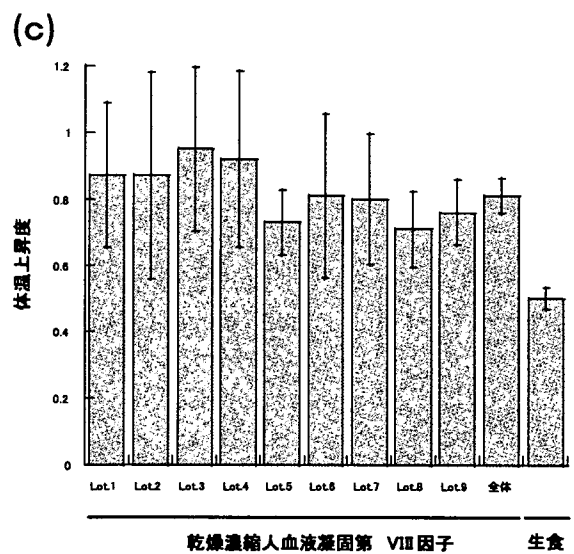
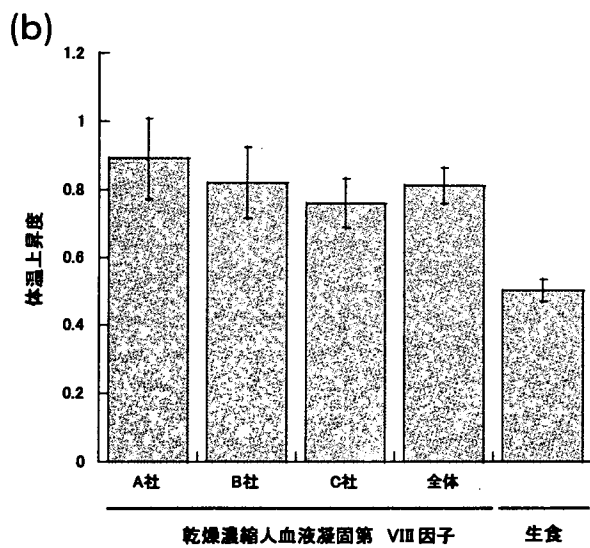
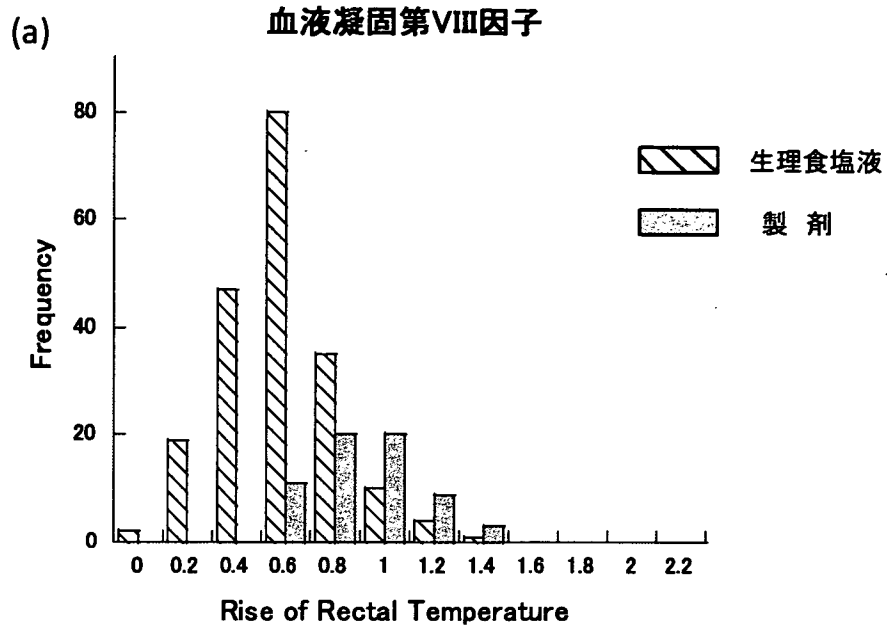


図4. エンドトキシン添加筋注用人免疫グロブリン製剤に対するウサギの発熱反応の分布(続き)



(平均±95%信頼区間)

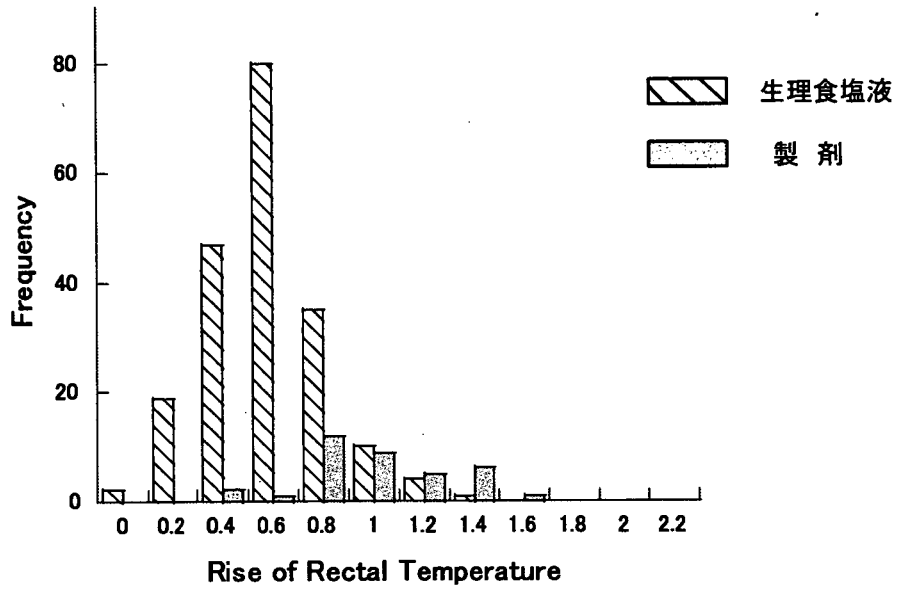
図5. エンドトキシンを添加した筋注用人免疫グロブリン製剤によるウサギの発熱反応



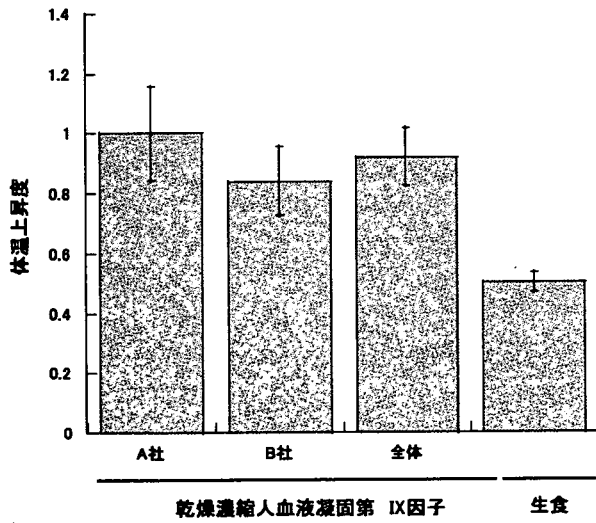
(平均±95%信頼区間)

図6. エンドキシンを添加した乾燥濃縮人血液凝固第VIII因子製剤によるウサギの発熱反応

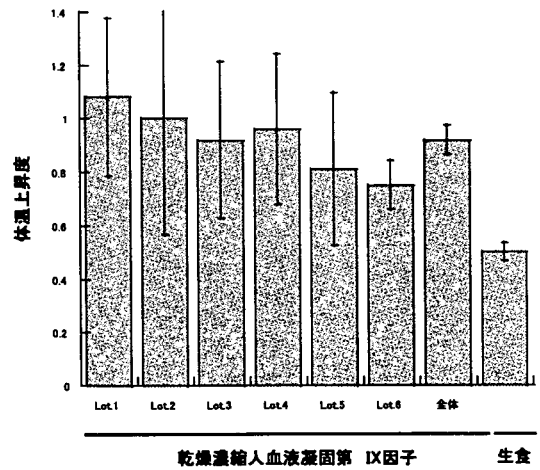
(a) 血液凝固第IX因子



(b)



(c)



(平均 ± 95%信頼区間)

図7. エンドトキシンを添加した乾燥濃縮人血液凝固第IX因子製剤によるウサギの発熱反応