

- 不活化を期待する対象病原体は細菌、新興・再興感染症の病原体、HBV、HCV及びHIVであるが、主たる病原体は輸血後感染症が極めて重篤な細菌、次に献血制限だけでは防ぐことができない新興・再興感染症であると考えている。
- 不活化技術を適用する輸血用血液製剤としては、輸血後感染症が発生した場合に重篤となりうる血小板製剤を優先的に考える必要がある。
- 不活化技術によっては製剤に薬剤を添加し、処理後に除去してもごく微量に残留する可能性が否定できないことから、不活化剤の安全性情報の収集及び日本赤十字社としての評価を継続的に実施する。
- 日本赤十字社では、これまで全国一律の安全対策を行ってきたが、不活化技術を導入した場合の対応については、地域及び医療機関を限定し、市販後調査及び安定供給の影響を評価する必要がある。そのうえで、全国展開について検討する。

その後、委員より、下記のような意見や質問が出された。

- 日赤では、いつから不活化技術について検討を行ってきたのか、という質問に対し、日本赤十字社より、1998年、NAT(核酸増幅検査)と不活化技術の導入が検討され始めた。ただし、当時の不活化技術は血漿製剤に対するSD剤(有機溶剤・界面活性剤)とメチレンブルーのみであった。その後、安全対策として先にNATを導入することとなったが、不活化技術については、海外の情報や血小板製剤及び血漿製剤に対する新技術の情報も入手しつつ、検討を行ってきたとの回答があった。
- 臨床応用する際に、どのように施設と患者を選択するかが大きな問題になるが、不活化技術を導入した製剤と導入していない製剤を臨床現場で選択することはできるのか、という質問に対し、日本赤十字社より、採血した直後の製剤を製造する段階で需要の予測を行わなければならない、製造現場の立場からは極めて困難である。世界的にも実施している国はないが、臨床からの要望も考慮していきたいとの回答があった。
- 当面は、地域や医療機関を限定して検討されるべきではないかとの質問に対し、日本赤十字社より、承認を得た後は、通常のヘモビジュランスよりももう少し詳細な、登録医療機関で患者をフォローする体制を組む必要があると考えている。リコ

ンビナントアルブミンと似たような市販後全数調査をモデルとして考えられるのではないかとの回答があった。

- 医薬品として承認を取ると供給する義務が生じるので、血液製剤に関しては、現行の枠組みを変える必要があるのではないか。

最後に、高松委員長より、「日本赤十字社に対しては不活化技術の導入に向けて準備を開始していただくとともに、詳細も含めて更に検討していただき、今年末ぐらいまでに報告していただきたいがよろしいか」との発言があり、委員より了承された。

以上

血小板製剤に対する感染性因子低減化（不活化）技術の導入準備について

1. はじめに

これまで、血小板製剤に対する感染性因子低減化技術であるアモトサレン法とリボフラビン法（第一世代、第二世代）について、各メーカーの公表しているデータを検証するための評価試験を実施してきた。今般、当該評価試験結果に加え、低減化技術を導入した場合の血液事業への影響及び海外における使用の状況等を総合的に評価したので報告する。

2. 感染性因子低減化（不活化）技術の評価結果について

各低減化技術の評価結果を総括し、表1に示した。

1) 低減化（不活化）効果について

エンベロップウイルスについては、いずれの方法も著明な低減化効果を示したが、ノンエンベロップウイルスに対する効果はやや低値であった。特に日本赤十字社（以下、日赤）の試験では EMCV (encephalomyocarditis virus: 脳心筋炎ウイルス) に対するアモトサレン法の効果が低かったが（表 2）、その他については概ね開発メーカーの公表している数値と一致した。この結果から、低濃度のウイルスが製剤中に混入した場合については十分な効果が期待できるが、高濃度のウイルス、特に高濃度のノンエンベロップウイルスが混入した場合の低減化効果については不明である。

一方、細菌についても開発メーカーの公表値とほぼ同等の低減化効果が確認されたが、リボフラビン法では一部の菌株 (*Staphylococcus* 等) に対する低減化効果がメーカーの公表データと同様に低い場合があった（表 3）。ただし、血小板製剤中に混入する細菌量は多くの場合およそ 60CFU/bag 以下 (Vox Sanguinis 2008; 95:13-9) と推定されており、この程度の細菌量であれば十分に低減化できるものと考えられる。さらに、初流血除去等の安全対策の実施により、皮膚常在菌等が血小板製剤中に混入する頻度が大きく減少したことを確認している（表 4）。

なお、ウイルスや細菌の低減化効果にリボフラビン法第一世代と第二世代で差は認められなかった。また、白血球に対する増殖抑制効果はいずれも十分であり、GVHD 予防のための γ 線照射の必要はないと報告されている (Seminars in Hematology 2001;38:34-45, Photochemistry and Photobiology 2008;84:1195-200)。日赤においてリボフラビン法第一世代について白血球の増殖をブロモデオキシウリジン (BrdU) の取り込みで評価した結果、 γ 線照射と同等以上に白血球の増殖が抑制されていることが確認された（図 1）。

2) 低減化処理された製剤品質への影響について

アモトサレン法は、特に、低減化薬剤であるアモトサレンを除去する工程で血小板数が10%程度減少するため、一人の献血者から現状より多くの血小板を採取する必要がある。一方、リボフラビン法処理による血小板数の減少は、3%程度であった。

低減化処理した血小板は、血小板クリアランスと相関するといわれている p-セレクトインが増加を示し、特にリボフラビン法で顕著であった。また、血小板代謝の指標となるグルコース消費、乳酸産生も、リボフラビン法で処理した血小板でやや活性化傾向を示したが、血小板保存における重要な因子である pH の大きな低下は認められなかった。これらの結果も、開発メーカーのデータと一致した。なお、リボフラビン法第一世代と第二世代で製剤の品質に差は認められなかった。

リボフラビン法の実製造への導入について評価するため、リボフラビン法第一世代で採血から低減化処理までの時間が製剤の品質に及ぼす影響を検討したが(表 5)、採血翌日に低減化処理しても品質に影響は無かった。また、白血球不活化のために、リボフラビン法で処理したうえに γ 線を照射して品質を検討したが(表 6)、 γ 線照射の有無、時期による品質への影響は認められなかった。なお、リボフラビン処理血小板を3日間以上保存した場合、検体によっては1mm前後の凝集塊(2~3個以下)の発生が認められたが(図 2)、輸血時に使用する輸血セットのフィルターで除去可能と考えられた。また、10単位製剤において血小板の活性化がやや高い傾向が認められたが(表 7)、その他の試験項目に単位数による差は認められなかった。なお、臨床における血小板の活性化や凝集塊の影響は不明であるが、少なくとも、これまでに欧州で報告された臨床結果では特に問題とされていない。

血小板用添加液(PAS)を使用するアモトサレン法とリボフラビン法第二世代の CE-マーク(EU 域内での医療機器の販売承認)取得時の有効期間は、7日間(欧米では採血当日を0日としているため、日本式では8日間)である。ただし、ドイツ、フランスの製造販売承認におけるアモトサレン法処理製剤の有効期間は5日間(同 6日間)である。また、スイスでは製造販売承認上有効期間は7日間(同 8日間)まで認められているが、通常は5日間で運用しているとのことである(表 8)。一方、PASを使用しないリボフラビン法第一世代の CE マーク取得時の有効期間は、欧米の未処理製剤と同じ5日間(同 6日間)である。

なお、日本では細菌増殖による重篤な副作用の発生頻度を低下させるため、有効期間を3日間(同 4日間)と欧米よりも短く設定し、広域的な需給調整など効率的な運用により期限切れの削減を図ってきた(表 9)。初流血除去の導入の際、有効期間を3日目(同 4日目)の24時までとしたが、これにより医療機関・血液センターとも余裕を持った輸血の実施や業務の運用が可能となっている。有効期間延長の可否については、医療機関、供給部門における必要性や血小板の品質への影響等を十分に検討した上で判断したいと考えている。

3) 低減化薬剤の安全性について

アモトサレンはレモン、オレンジ、パセリなどに含まれるソラレンと同じ骨格を持ち、この目的のために合成された新規の化合物である。臨床使用の 5,000 倍以上の高濃度において遺伝毒性があると報告されている(Transfusion 2003;43: 1481-92)こともあり、製造方法にアモトサレンおよびその光分解物の除去工程が組み込まれている。

一方、リボフラビンはビタミン B₂ そのものであり、古くから医薬品や食品添加物として利用されてきた。リボフラビンは、その光分解物を含め、毒性を有するとの報告はなく、米国の食品添加物基準では GRAS(Generally Recognized As Safe)と評価されている。そのため、製造工程にリボフラビン除去工程は組み込まれていない。

4) 血液事業への影響について

アモトサレン法は採血時に血漿の一部を PAS で置換した血小板を原料とする。現在、PAS 置換に対応した採血装置は日本国内で使用されていないため、新たな採血装置の整備が必要となる。また、アモトサレン法が欧州で CE マークを取得した規格は、血小板数が $2.5\text{--}6.0 \times 10^{11}$ 個、容量が 255-325mL であり、現時点において日本国内の供給本数の 8 割強を占める 10 単位製剤 (2×10^{11} 個以上、 $200 \pm 40\text{mL}$) に適用することができない。したがって、10 単位製剤を供給するためには高単位製剤を分割するしかないが、高単位を採血できる血小板値の高い献血者の確保が困難である。また、10 単位と比較して採血時間が 1.5 倍程度長くなることから献血者の負担増大も懸念される。さらに、低減化処理後に添加薬剤を吸着除去する工程に 4 時間以上必要であることから、供給を開始できるのは多くの場合採血翌日の夕刻になる。

リボフラビン法第二世代は高濃縮した血小板を原料として使用するため、特定の採血装置を用いた濃縮採血、もしくは、製造工程における血小板濃縮のための血漿除去が必要となる。また、低減化処理後に PAS を加える必要がある。

一方、リボフラビン法第一世代は、通常どおり採取した血小板にリボフラビンを添加し紫外線を照射すればそのまま製剤として供給することが可能であり、供給開始可能時間が大きく遅れることはないと考える。10 単位製剤も直接製造可能であることから、献血者確保を含め血液事業への影響はもっとも少ない。

なお、アモトサレン法およびリボフラビン法第二世代では、血小板と同時に採取される原料血漿の確保量を、献血者一人当たり 100-150mL 程度増加させることが可能となるが、リボフラビン法第一世代は現状と同じである。

また、リボフラビン法第一世代を導入すると仮定して事業費用を概算すると(表 10)、製造販売承認取得までに 10~16 億円、後述する使用成績調査に 2~3 億円、全国展開のための初期投資に 3~5 億円、全国展開後のランニングコストとして 55~85 億円/年が必要になるものと推計される。ただし、治験症例数の多寡、低減化処理キットの単価等により、これらの金額は大きく変動する。

3. 欧米における臨床試験、承認等の状況について

表 8 に欧米主要国における両製剤の臨床試験、承認等の状況を示した。

アモトサレン法は 2002 年に CE マークを取得して臨床使用も進んでおり、製剤の製造販売承認もドイツ、フランス、スイスで取得している。特に、フランスの海外県では Chikungunya virus の蔓延に対処するためアモトサレン法で処理された血小板製剤が使用された(Transfusion 2009;49:1083-91)。現在、フランス本土では一部の血液センターでアモトサレン法で処理した血小板が出荷されている。また、ベルギーでは国土の南半分の地域において血小板がアモトサレン法で処理されており、2010 年 8 月までには全血小板製剤を何らかの方法で低減化处理する旨の王室令が發布されている。

一方、オランダではアモトサレン処理製剤投与後の補正血小板増加数(CCI)が低いとの理由で臨床試験が中止となっており、イギリスはオランダの当該試験の最終結果を評価した上で導入を判断するとの方針が示されている(SaBTO Meeting 14/15 July 2009)。また、米国では第三相試験における肺関連副作用の問題で承認作業が長期にわたり中断していたが、新たな臨床試験の追加実施について本年 11 月 16 日の血液製剤諮問委員会(BPAC)で検討されている。

リボフラビン法第一世代は、2007 年に CE マークを取得し、フランスで第三相試験が実施され、製造販売承認の申請中である。また、オランダでも新たな臨床試験が計画されている。

アモトサレン法とリボフラビン法第一世代で処理した製剤は、製剤としての製造販売承認の必要がない欧州数カ国において既にルーチンで使用されており、その一部については安全性等を確認するため市販後調査が行われている。さらに、イタリアでは、国立衛生研究所(National Institute of Health, Rome)主導の下、リボフラビン法とアモトサレン法で低減化处理された血小板製剤の HLA 同種抗体の発現率、コスト、ヘモビジランスプログラムの有効性を確認するための臨床試験が予定されている。

なお、リボフラビン法第二世代は 2008 年に CE マークを取得しているが、現時点において臨床使用の情報はない。また、採血時に PAS 置換した血小板にリボフラビン溶液を添加して低減化处理するリボフラビン法第三世代の開発が進められている。

4. 各低減化技術の総合評価について

スクリーニングでは検出できない極めて低濃度のウイルス、保存中に増殖して重篤な副作用の原因となりうる細菌、さらには将来蔓延する可能性のある新興再興病原体等への対策として、輸血用血液製剤への感染性因子低減化技術の導入は有用と考えられる。しかし、今日、輸血用血液製剤の感染症に対する安全性は、検査感度の向上や初流血除去など種々の安全対策により著しく向上したと評価されており、輸血用血液製剤中に塩や糖以外の化学物質、特に核酸に障害を与える物質を添加するこ

とに対する医療機関側の不安は大きい。一方、血小板については、体重等の制限により 10 単位しか採血できない献血者にも多大な協力をいただいているところである。感染性因子低減化技術の導入により、血小板の採血単位数が高単位側に大きくシフトすると、血小板を採血できない献血者が増加するため、血小板製剤の安定供給に支障をきたす恐れがある。

このような状況を考慮するとき、導入する感染性因子低減化技術の決定に際しては、感染性因子の低減化能や製剤の品質、臨床試験結果など医薬品としての特性に加え、①低減化薬剤の安全性、②高単位血小板採血が可能な献血者確保や安定供給など血液事業への影響についても十分に配慮する必要がある。

アモトサレン法処理血小板製剤は、2002 年に CE マークを取得したこともあり、既にヨーロッパを中心に 35 万例以上が臨床で使用されているが、これまでにヨーロッパにおいてはアモトサレン法に由来する重篤な副作用は報告されていない。また、PAS 置換した血小板を用いることから、軽微な非溶血性副作用の抑制、原料血漿の確保が期待できる。しかし、日本国内の供給本数の 8 割以上を占める 10 単位製剤の規格(血小板数、容量)に対応できていない。さらに、高濃度アモトサレンの遺伝毒性や米国で再試験される予定である肺障害の問題等も考慮すると、現時点においてアモトサレン法を第一選択肢とするには至らなかった。

また、リボフラビン法第二世代は、感染性因子の低減化能や製剤の品質は第一世代と同等であり、アモトサレンと同様に軽微な非溶血性副作用の抑制、原料血漿の確保が期待できる。しかし、臨床試験の情報がまだないこと、アモトサレン法の場合と同様に濃縮した血小板採血が可能な成分装置への切り替えが必要なことなどから、第一選択肢とすることはできない。

一方、リボフラビン法第一世代は CE マーク取得が 2007 年のため、現時点において臨床実績が十分とは言い難いが、これまでに有用性、安全性等についての大きな問題は報告されていない。また、低減化剤であるリボフラビン(ビタミン B₂)の安全性については、医薬品として少なくとも数十年の使用実績があり、低減効果の低かった細菌についても、実際に混入し得る細菌量を踏まえれば、初流血除去など他の安全対策との相乗効果により十分な効果が期待できる。また、現状の採血装置をそのまま使用し、献血者に今まで以上の負担をかけずに低減化製剤を安定的に供給することが可能である点は、他の方法にはない大きな優位点である。低減化処理後の血小板の活性化、保存中の凝集塊の発生などの問題については、今後、臨床や血液事業への影響の有無について検討する必要があるが、現状の血液事業に導入する低減化技術としては、リボフラビン法第一世代が最も適しているものと考えられた。

5. 今後の進め方について

これまではメーカーの報告した *in vitro* データの検証を中心に評価してきたが、採用する感染性因子低減化技術について了解が得られれば、上記評価試験で明らかとなった問題等を詳細に検討するとともに、薬事申請のために必要な海外での承認状況や使用状況の収集、規格、安定性データの採取等、臨床試験実施のための準備を開始する。

なお、製造販売承認取得後においても、低減化技術はいまだ開発途上の技術であることを考慮し、低減化製剤の供給開始当初は地域及び医療機関を限定し、市販後の副作用情報の収集、安定供給並びに献血者への影響等を使用成績調査により評価した上で、全国展開について検討していくべきと考えている。ただし、新興再興感染症の蔓延など、他の安全対策では対応できない事態が発生した場合には、速やかな全国展開も考慮する。

さらに、血小板輸血による軽微な副作用の抑制、少子高齢化を見据えた血漿分画製剤用原料血漿の確保等も、感染性因子の低減化と同様、血液事業の重要な課題である。これらへの対応も考慮し、今後、技術の進展により新たな知見が得られた際は、導入する低減化技術の追加や見直し等について、再度ご審議願いたいと考えている。

表1 血小板製剤に対する感染性因子低減化(不活化)技術の評価

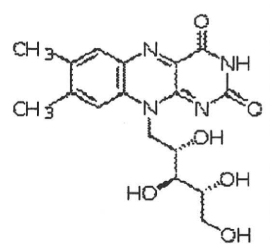
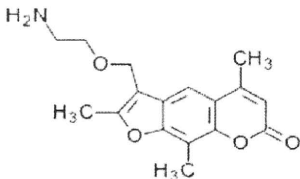
項 目		リボフラビン法第一世代	リボフラビン法第二世代	アモトサレン法	
低減化効果	エンベロープウイルス	十分期待できる		十分期待できる	
	ノンエンベロープウイルス	期待できる		期待できる	
	細菌	十分期待できる		十分期待できる	
	※	日赤の評価で、リボフラビン法では一部のブドウ球菌、アモトサレン法ではノンエンベロープウイルスに対する低減可能がやや低値であったが、全体としてはメーカーの発表している低減化能を確認することができた。ただし、高濃度の感染性因子が混入した場合の低減化効果については不明である。			
	白血球	十分期待できる (文献的には白血球不活化のための放射線照射の必要はない)		十分期待できる (文献的には白血球不活化のための放射線照射の必要はない)	
血小板製剤の品質への影響	血小板回収率	約97%		約90%	
	血小板代謝	やや活性化されている		未処理製剤と同等	
	pH (採血後120時間目)	>6.8		>6.9	
	CEマーク取得時の有効期間	5日間(日本式では6日間)	7日間(同 8日間)	7日間(同 8日間) ※独・仏の製造販売承認は5日間	
低減化薬剤	名称	リボフラビン(ビタミンB ₂)		アモトサレン(ソラレン誘導体)	
	構造式				
	安全性試験	毒性を有するとの報告はない		極めて高濃度(臨床使用の5,000倍以上)で遺伝毒性の報告がある。	
	使用実績	リボフラビンは日本においても医薬品、食品添加物等として少なくとも1950年代から広範に使用されている。また、FDAはGRAS (Generally Recognized As Safe: 一般に安全とみなされる物質)として安全性を評価している。		本法のために新たに合成された物質であり、投与後長期間の安全性は不明	
血液事業への影響	採血部門	原料血小板の採血方法	現状どおり	高濃縮採血	血小板用添加液(PAS)による置換
		適応血小板単位数	10、15、20単位:(170mL/bag以上) 製造本数の約97.8%(平成20年実績)に対応。		15、20単位:(255mL/bag以上) 製造本数の約16.4%(平成20年実績)に対応。
		ドナーへの影響	現状どおり	現状どおり	高単位ドナーの確保が必要 採血時間延長によるドナーの負担増
		同時に採血される原料血漿量	現状どおり	献血者一人当たり 100-150mL増加	献血者一人当たり 100-150mL増加
		更新が必要な採血装置の台数	0/1,860	1,631/1,860	1,860/1,860
	製剤部門	機器等の整備	光照射装置とその設置スペース	光照射装置とその設置スペース	光照射装置、振とう機(吸着工程用)とその設置スペース
		低減化処理後の追加作業	無し	PASの添加	低減化薬剤の吸着(4時間以上) 10単位製剤を製造するための、高単位製剤の小分け
	供給部門	市場出荷	翌日11時		翌日18時

表2 アモトサレン法による血小板製剤中のEMCVの不活化

ウイルス	検体No.	Adeno5 抗体価	ウイルス量 (pfu/mL)		不活化率 (log)
			処理前	処理後	
EMCV	1	32倍	39000	5000	0.9
	2	16倍	150000	160000	0
	3	4倍未満	140000	29000	0.7

(平成20年7月23日開催合同委員会提出用資料 再掲)

表3 リボフラビン法第一世代による *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) の低減化能

血漿容量 (mL)	処理前 cfu/ bag	処理直後	1日目 (24hr)	2日目 (48hr)	3日目 (72hr)	4日目	5日目	6日目
196	8,600	未検出	未検出	未検出	未検出	未検出	未検出	未検出
195	8,600	未検出	未検出	未検出	未検出	未検出	未検出	未検出
199	4,150	未検出	未検出	7.43×10^2	1.56×10^7	—	—	—
202	4,150	未検出	未検出	4.65×10^2	7.15×10^6	—	—	—
225	3,300	未検出	未検出	3.28×10^3	—	—	—	—
250	1,175	未検出	未検出	未検出	未検出	未検出	未検出	未検出

(平成21年3月10日開催薬事・食品衛生審議会血液事業部会提出用資料 再掲)

表4 初流血除去導入前後における血小板製剤中の細菌混入率

	初流血除去導入前 2005年5月～2006年4月	初流血除去導入後 2006年12月～2008年3月
培養実施数	21,786	21,783
陽性数(陽性率)	36 (0.17%)	11 (0.05%)
P.acnes	24 (0.11%)	7 (0.03%)
P.acnes以外の細菌	13 (0.06%)	4 (0.02%)

(日本赤十字社輸血情報 0903-118)

図1 リボフラビン法第一世代で処理した白血球の増殖性試験 (n=4)

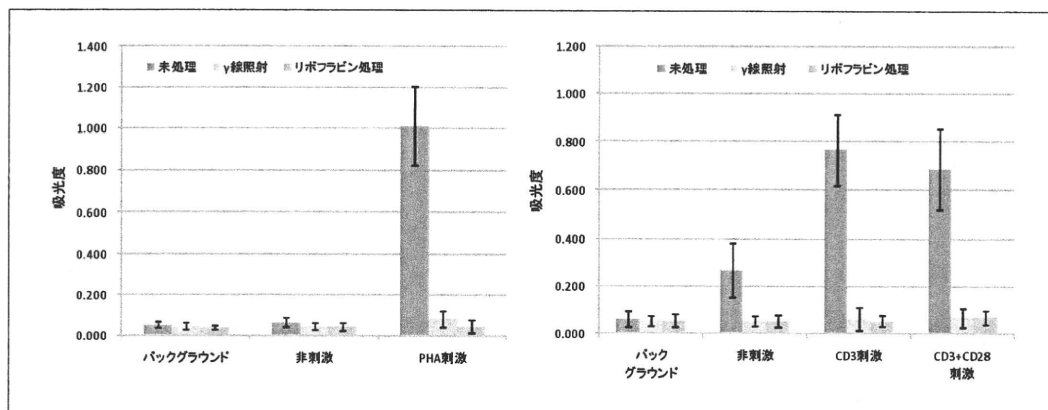


表 5 リボフラビン法第一世代の処理時期による血小板品質への影響

1. 採血翌日に低減化处理*
2. 採血翌日に低減化处理*
3. 採血当日に低減化处理(2005年データ)
4. 未処理(2005年データ)

pH (37°C)

検体	低減化处理前	低減化处理後	採血後3日目	採血後5日目
1	7.35	7.29	7.22	6.97
2	7.28	7.22	7.08	6.75
3	7.05	7.10	7.11	6.85
4	7.05	7.05	7.38	7.33

乳酸濃度 (mM)

検体	低減化处理前	低減化处理後	採血後3日目	採血後5日目
1	2.2	1.9	7.1	13
2	4.2	3.8	10.8	13.4
3	0.9	0.8	6.4	11.8
4	1.2	1.2	3.8	6.6

p-セレクトチン(CD62P)発現率 (%)

検体	低減化处理前	低減化处理後	採血後3日目	採血後5日目
1	9.7	14.4	65.7	79.8
2	15.3	17.0	51.5	66.4
3	5.2	10.6	36.0	58.4
4	6.0	6.0	8.5	16.5

※:ミラソル法第一世代で規定されている採血後22時間以内に処理した。

表 6 リボフラビン法第一世代処理血小板の品質に対するγ線照射の影響

pH (37°C)

γ線照射	低減化处理前	低減化处理後	採血後3日目	採血後5日目
未照射	7.1	7.1	7.1	6.9
採血当日	7.0	7.1	7.1	6.8
採血後3日目	7.0	7.1	7.1	6.7

乳酸濃度 (mM)

γ線照射	低減化处理前	低減化处理後	採血後3日目	採血後5日目
未照射	2.2	1.9	7.1	13.0
採血当日	2.1	2.0	10.0	14.0
採血後3日目	2.1	2.1	9.6	14.0

p-セレクトチン(CD62P)発現率 (%)

γ線照射	低減化处理前	低減化处理後	採血後3日目	採血後5日目
未照射	9.7	14.4	65.7	79.8
採血当日	4.3	5.5	39.6	53.9
採血後3日目	4.3	4.7	39.2	51.7

活性化 GPIIb/IIIa(PAC1 binding) (%)

γ線照射	低減化处理前	低減化处理後	採血後3日目	採血後5日目
未照射	NT	NT	NT	NT
採血当日	8.3	88.8	24.6	23.6
採血後3日目	8.3	86.9	30.9	17.4

NT: not tested

未照射: 採血当日に低減化处理(2005年データ)

採血当日: 採血当日に低減化处理したのちγ線を照射

採血3日目: 採血当日に低減化处理し、採血後3日目にγ線を照射

表 7 リボフラビン法第一世代処理における血小板単位数の影響 (各単位とも n=2)

p-セレクチン (CD62P) 発現率 (%)

単位数	低減化処理前	低減化処理後	採血後3日目	採血後5日目
10	13	16	59	73
15	9	12	49	74
20	4	6	33	56

活性化 GPIIb/IIIa (PAC1 binding) (%)

単位数	低減化処理前	低減化処理後	採血後3日目	採血後5日目
10	6	60	75	60
15	2	55	24	20
20	1	52	33	20

乳酸産生量 mmol / 10^{11} platelets

単位数	
10	1.20
15	0.79
20	0.41

図 2 リボフラビン法処理後に発生した凝集塊

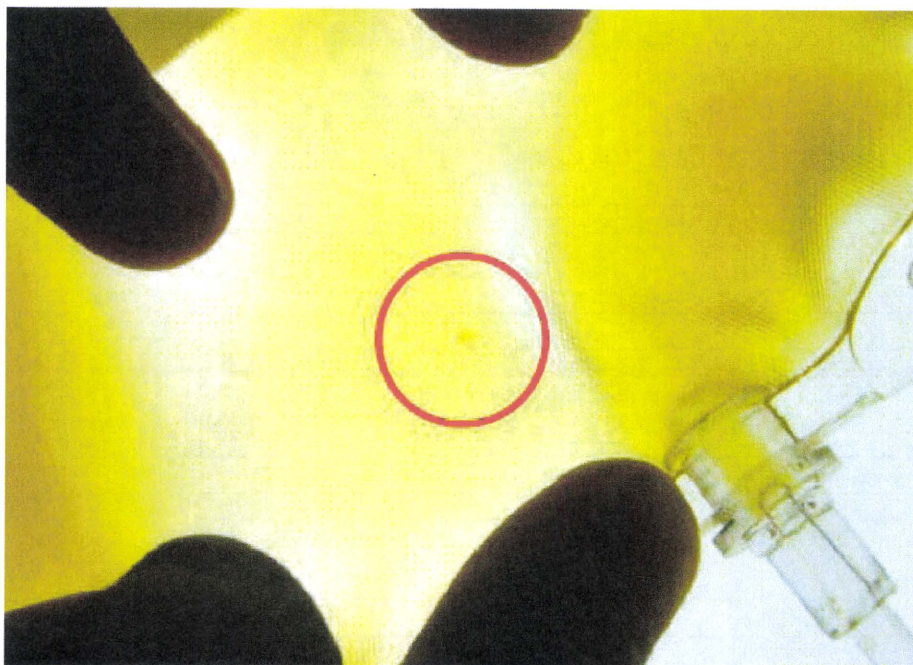


表8 欧米諸国における病原体低減下技術を用いた血小板製剤の状況

平成21年12月

国名	システム(機器)の認可/承認		血小板製剤の製造販売承認	製造販売承認上の有効期間	低減化処理製剤の使用割合	臨床試験・承認等の状況	
	アモトサレン法	リポフラビン法				アモトサレン法	リポフラビン法
英国	○(GEMマーク) 2002年	○(GEMマーク) 2007年	x	-	-	アモトサレン法 SaBTO(血液、組織、臓器の安全性諮問委員会)は、オランダで実施された臨床試験の結果を見るまでは最終的な勧告を出さないと表明。(SaBTO: Summary of the Seventh Meeting, 14/15 July 2009)	リポフラビン法 情報収集中
ドイツ	○(GEMマーク) 2002年	○(GEMマーク) 2007年	○(アモトサレン法処理製剤)	5日間	不明	ドイツ赤十字社傘下血液センターなど7施設は製造ライセンズを取得(PEI.H.03610.01.1) 当国は500例程度の市販後調査の目的のみ供給フランス本土ではEFSALサスのみで試験的に使用。今般のH1N1インフルエンザウイルスの毒性又は血液を通じての感染リスクが増加した場合、製造センターを2センター追加する。(Agence Presse Medical 2009年8月14日)。(そのほか、海外の一部で使用。)	情報収集中
フランス	○(GEMマーク) 2002年	○(GEMマーク) 2007年	○(アモトサレン法処理製剤)	5日間	不明	臨床試験において、7日間保存したアモトサレン法処理血小板製剤を輸注した群は、補正血小板増加数(CGI)が低いとの理由で、治験が中止された。(CERUS社プレスリリース February, 2009)	リポフラビン法処理血小板製剤の第三相臨床試験結果を評価中。(EDQM: Table 2008)
オランダ	○(GEMマーク) 2002年	○(GEMマーク) 2007年	不要	-	-	速くとも2010年8月までに、全ての血小板製剤に病原体低減化技術を用いることを要求する旨の王室令が、2009年7月16日に発布された。	リポフラビン法処理血小板製剤の臨床試験(250症例以上)を実施予定
ベルギー	○(GEMマーク) 2002年	○(GEMマーク) 2007年	不要	7日間	50%	全てのセンターで、ルーチン使用又は評価のいずれかを要する。(EDQM: Table 2008)	情報収集中
イタリア	○(GEMマーク) 2002年	○(GEMマーク) 2007年	不要	-	-	国立衛生研究所(National Institute of Health, Rome)主導の下、リポフラビン法とアモトサレン法で低減化処理された血小板製剤のHLA同種抗体の発現率、コスト、ヘモジタンスプログラムの有効性を確認するための臨床試験が予定されている。	情報収集中
スペイン	○(GEMマーク) 2002年	○(GEMマーク) 2007年	不要	-	-	一部の血液センターでルーチンで製造されている。	一部の血液センターでルーチンで製造されており、安全性等を確認するため市販後調査が行われている。
ポルトガル	○(GEMマーク) 2002年	○(GEMマーク) 2007年	不要	-	-	一部の血液センターでルーチンで製造されている。	一部の血液センターでルーチンで製造されており、安全性等を確認するため市販後調査が行われている。
スイス	○	x	○(アモトサレン法処理製剤)	7日間 (実運用上は5日間)	6-9か月後には100%とする予定	SWISSMEDICは、2009年8月11日付でアモトサレン法処理血小板製剤を承認した。	情報収集中
米国	x	x	x	-	-	アモトサレン法処理血小板製剤の第三相臨床試験終了。当該試験においてARD S等の肺間質性作用が対象群に比較して多く認められたとの指摘あり。(Transfusion 2009 Sup.2) 11月16日に開催されたFDA諮問委員会での新たな第三相試験の実施について議論された。	リポフラビン法処理血小板製剤血小板製剤の第一相臨床試験終了。(Transfusion 2005) ※第二相以降は欧州で実施

表9 日本及び米国における血小板製剤の期限切れ率

採血方法	日本*2	米国*3	
	成分採血	全血採血	成分採血
有効期間*1	3日間(4日間)	5日間(6日間)	5日間(6日間)
期限切れ率	2.3%	22.2%	10.9%

*1:採血当日を0日として表示(採血当日を1日として表示)

*2:日本赤十字社;平成20年度血液事業年度報

*3:DHHS; THE 2007 NATIONAL BLOOD COLLECTION AND UTILIZATION SURVEY REPORT

表10 血小板製剤に対する低減化技術導入に係る費用概算

項目	主な費用	費用概算
製造販売承認取得のための費用	医療機関謝礼 CRO委託費 製剤費 総合機構相談費用 人件費	10-16億円
使用成績調査のための費用	医療機関謝礼 CRO委託費 製剤費 人件費	2-3億円
初期投資のための費用	専用紫外線照射装置	3-5億円
全国展開後のランニングコスト	低減化キット費 人件費	55-85億円/年

血小板製剤に対する感染性因子低減化（不活化）技術の導入準備について

-① 10 単位血小板製剤の品質に及ぼすリボフラビン法処理の影響-

1. 目的

前回、リボフラビン法で処理した血小板の活性化による品質の低下について報告したが、我が国においては血小板製剤出荷本数の 8 割以上を 10 単位血小板製剤が占めていることから、感染性因子低減化血小板製剤を実用化するためには、低減化処理した 10 単位製剤の品質低下を出来る限り抑制する必要がある。そこで、リボフラビン法処理に最適な 10 単位製剤の条件について確認試験を実施した。

2. 実験方法

製剤容量、血小板濃度、血小板総数を 10 単位製剤の規格(血小板数: 2×10^{11} 個以上、製剤容量: 200 ± 40 mL)の範囲内で様々に変化させた検体 ($n=15$) を調製し、リボフラビン法処理直後から 5 日目まで試験した。ただし、下限容量はリボフラビン法の下限である 170 mL とした。

なお、リボフラビン法処理は、実際の製造を考慮して、採血の翌日(ただし、採血後 22 時間以内)に実施した。

3. 測定項目

pH(22°C)、二酸化炭素分圧(pCO_2)、酸素分圧(pO_2)、グルコース濃度、乳酸濃度、平均血小板容積(MPV)、低張液ショック応答(%HSR)、PAC1 結合率、スワリングスコア

4. 結果及び考察

結果を図 1、図 2 に示す。

処理後 3 日目(採血後 4 日目)までは多くの測定項目で良好な値を示した。それ以降は品質が低下する傾向を示したが、処理後 5 日目(採血後 6 日目)の検体でも、血小板保存の指標とされる pH6.4 より高い pH が保持されていた(図 1)。

一方、低減化した血小板製剤の容量、血小板濃度、血小板総数を指標として品質の変化を比較したところ、血漿量の少ない検体ほど品質が低下する傾向がいくつかの測定項目で認められた(図 2)。この傾向は、血小板濃度や総血小板数では認められなかった。

以上より、リボフラビン法を 10 単位製剤に導入する際は、血漿量を多めに設定することにより品質の低下が抑制され、現状の製剤と同じ有効期間(採血後 4 日間)を十分に確保できるものと考えられた。

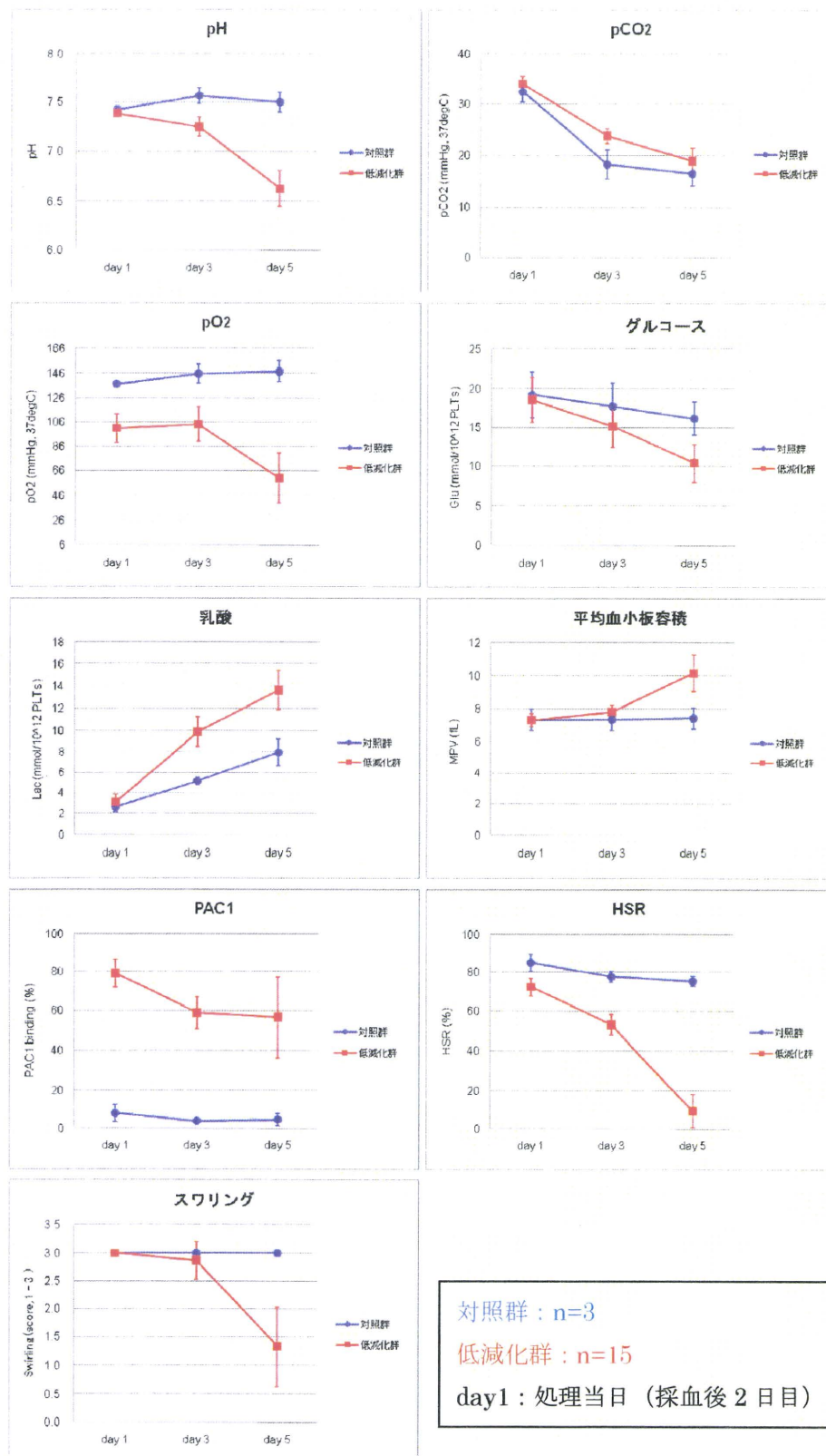
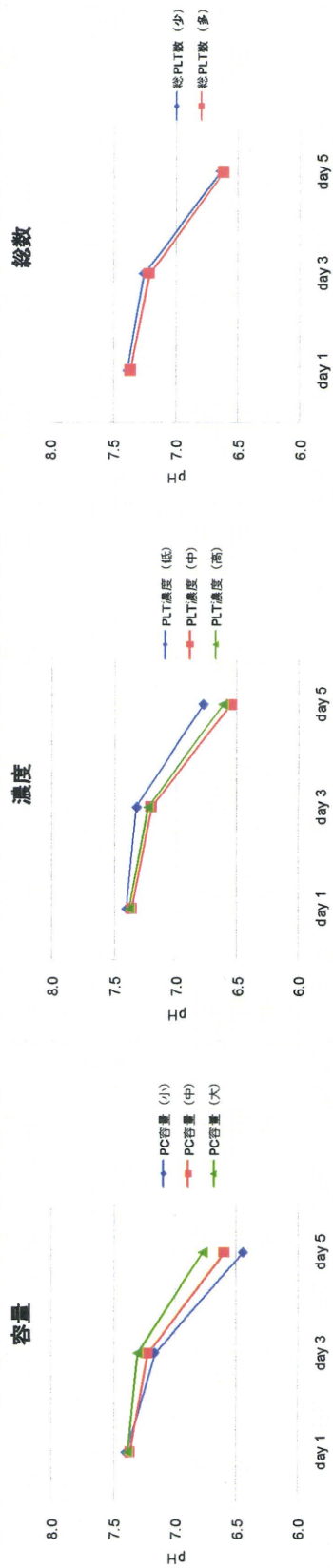


図1 低減化処理後の血小板の品質

①pH



②平均血小板容積 (MPV)

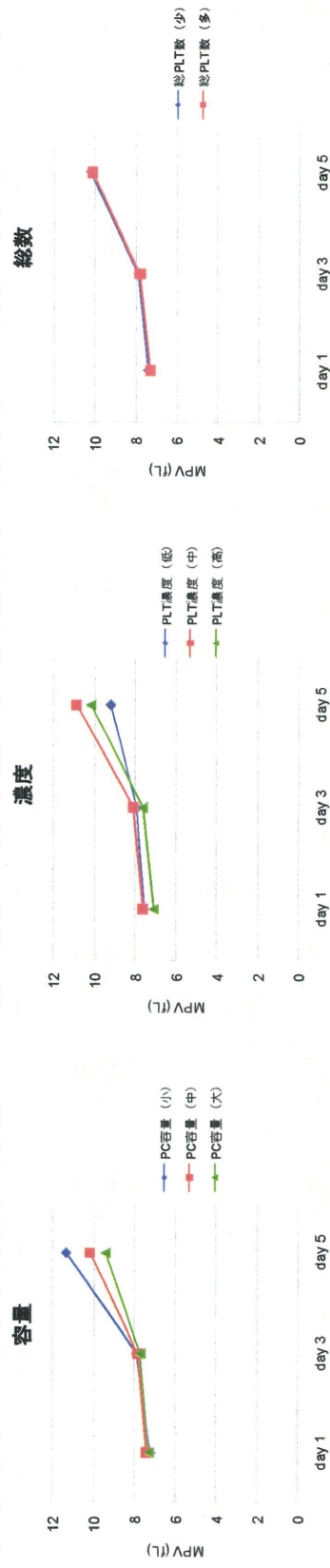


図2 低減化処理後の血小板の品質に及ぼす製剤容量、血小板濃度、血小板容積、血小板濃度、血小板総数の影響 (図1の低減化群 (n=15) を製剤容量、血小板濃度、血小板容積により2-3群に分けてプロット)

-② リボフラビン法処理後の白血球の増殖-

1. 目的

前回、リボフラビン法処理後の白血球の増殖について、PHA 及び抗 CD 抗体を用いて検討した結果を報告したところ、MLR (混合リンパ球培養反応) 法でも検討すべきとの意見があった。そこで、PHA 及び抗 CD 抗体に加え MLR によりリボフラビン法処理後の白血球の増殖について検討した。

2. 実験方法

PHA、抗 CD 抗体及び同種白血球により刺激した白血球の増殖を、ブロモデオキシウリジン (BrdU) の取り込みで評価した。

3. 結果及び考察

結果を図 3-1~3 に示す。

いずれの系においても、リボフラビン法で処理 (Mirasol 処理) した検体の BrdU の取り込みは、コントロールの X 線照射と同等以上に抑制されており、増殖能も同様に消失しているものと推察された。

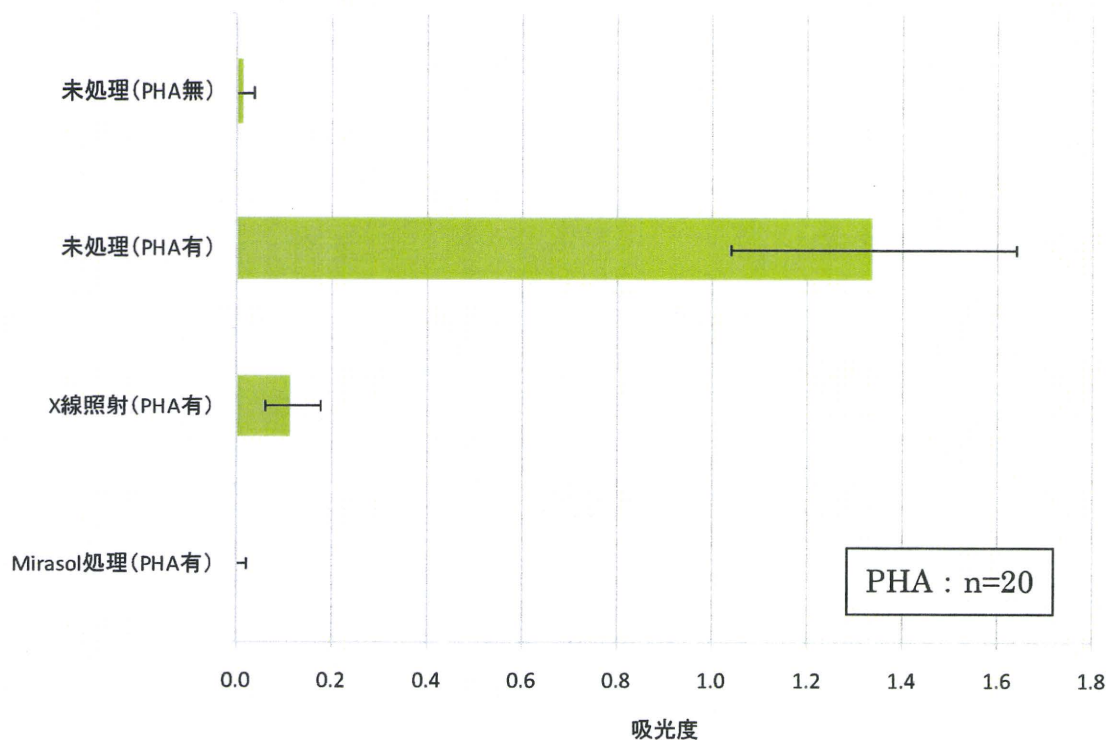


図 3-1 PHA 刺激による白血球の増殖

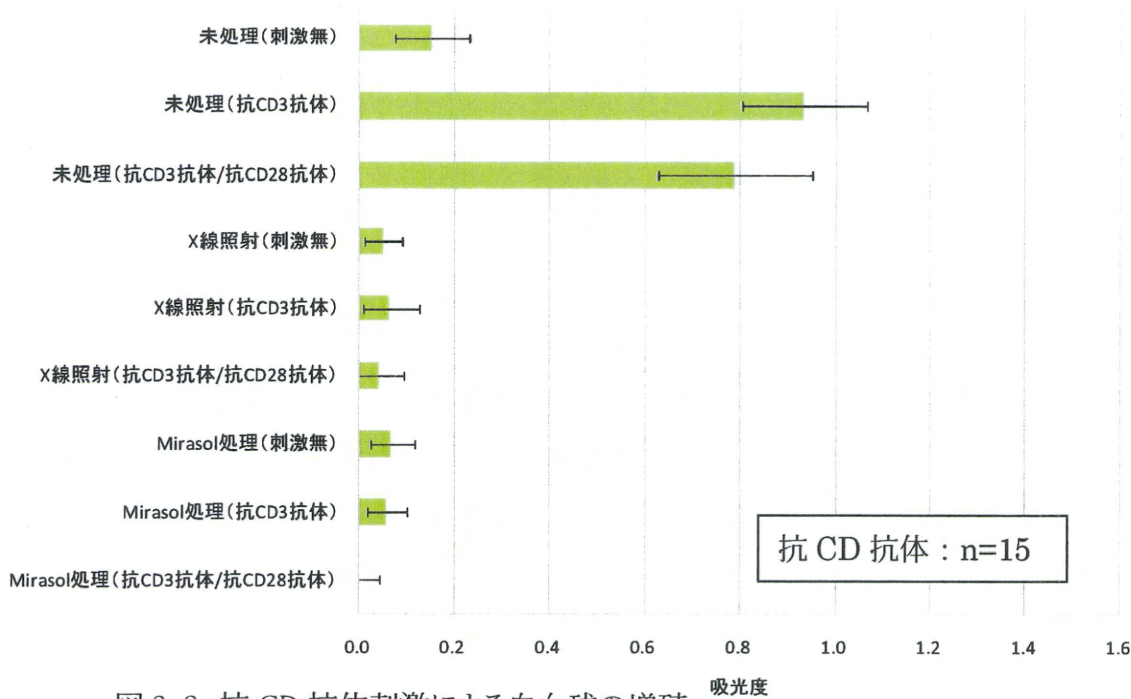


図 3-2 抗 CD 抗体刺激による白血球の増殖

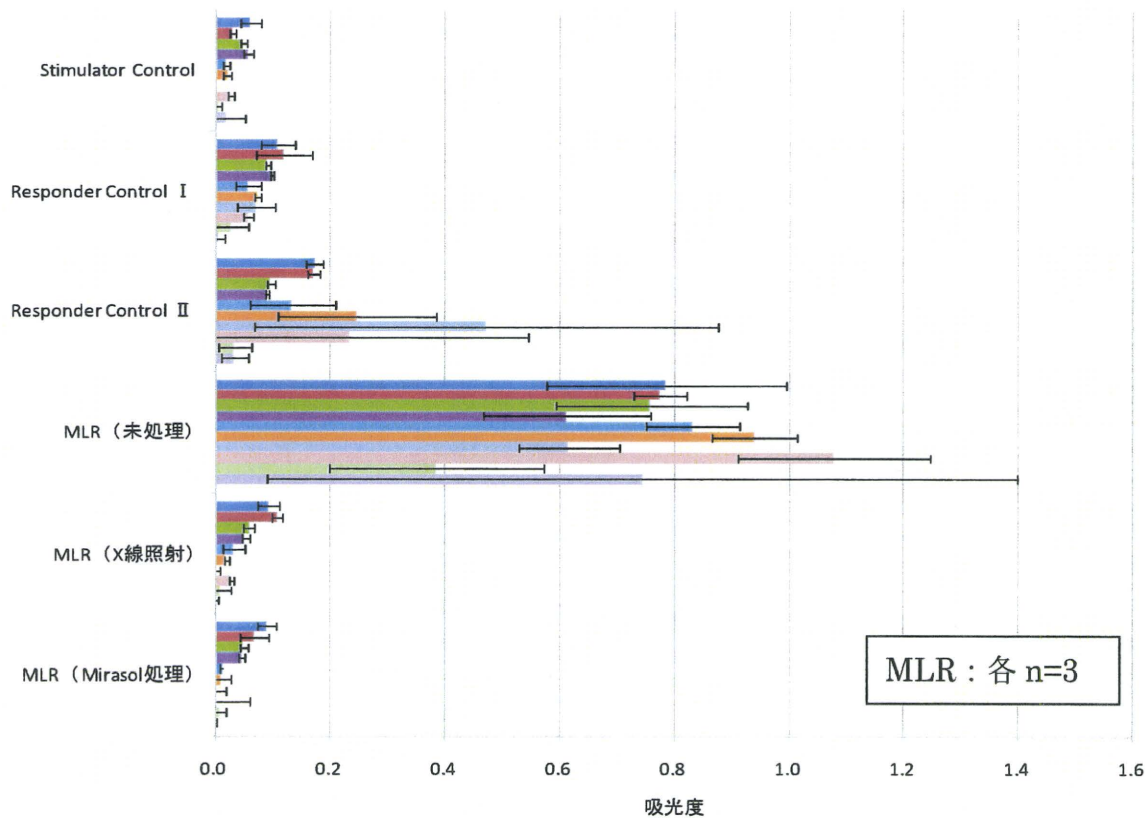


図 3-3 同種白血球刺激による白血球の増殖(MLR)

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)
(分担) 研究報告

ウイルス不活化・不活化能の評価法の開発

研究分担者 遊佐 敬介 (国立医薬品食品衛生研究所生物薬品部室長)

研究要旨

輸血用血液製剤におけるウイルス安全性を確保していくためにはウイルス特異的な不活化技術の開発が必要である。本年度はヒトレトロウイルスをモデルウイルスとして、その感染侵入に関与するエンベロープタンパク質に多様な変異を導入したウイルスポピュレーションを作製し、ウイルス不活化に必要な条件について検討する。そのために多様な組み合わせのアミノ酸変異をエンベロープタンパク質の特定のアミノ酸部位に導入したウイルスライブラリーを作製した。今後はこのウイルスを用いて不活化に必要な条件を明らかにし、ウイルス不活化・不活化能の評価法の開発につなげる。

A. 研究目的

輸血用血液製剤のウイルス安全性に影響をおよぼすウイルスとしてHIV, HTLV, HCV, HBV, B19があげられ、実際に核酸増幅検査が行われている。最近ではマウスレトロウイルスに近縁の新規ウイルスXMRV(異種指向性マウス白血病ウイルス関連ウイルス)が、慢性疲労症候群と前立腺癌の患者で高率に見つかったという米国で報告され、こうした新たなレトロウイルスが輸血用血液製剤のウイルス安全性に及ぼす影響についても議論されてい

る。現在のところこの新規のウイルスの真偽については不明な点も多い。血液製剤の原料となる血液へのウイルス混入を確実に避けることができない以上、HIV, HTLVなどを含むレトロウイルスの不活化には今後も取り組むべき重要な課題のひとつである。本研究においては、ヒトのレトロウイルスの一種であるHIVのエンベロープタンパク質であるgp120を取り上げる。gp120はウイルス感染時に標的細胞のレセプターであるCD4とコレセプターCCR5 (R5ウイルス)ないしCXCR4