

References

1. Brookmeyer R, Goedert JJ. Censoring in an epidemic with an application to hemophilia-associated AIDS. *Biometrics*. 1989;45:325–335.
2. Janatpour KA, Holland PV: A brief history of blood transfusion. In: Hillyer CD, Silberstein LE, Ness PM, et al., eds. *Blood Banking and Transfusion Medicine Basic Principles and Practice*. 2nd ed, Philadelphia, PA: Churchill Livingstone Elsevier, 2007:3–11.
3. Hervig T. Where will pathogen inactivation have the greatest impact? *ISBT Science Series*. 2007;2:25–29.
4. Chamberland ME. Emerging infectious agents: do they pose a risk to the safety of transfused blood and blood products? *Clin Infect Dis*. 2002;34:797–805.
5. Soldan K, Barbara J. The risks of infection transmission by blood transfusions in England. *J Clin Pathol*. 1999;52:405–408.
6. Blajchman MA, Beckers EA, Dickmeiss E, et al. Bacterial detection of platelets: current problems and possible resolutions. *Transfus Med Rev*. 2005;19:259–272.
7. Chiu ERW, Yuen KY, Lie AKW, et al. A prospective study of symptomatic bacteremia following platelet transfusion and of its management. *Transfusion*. 1994;34:960–964.
8. Sullivan MT, McCullough J, Schreiber GB, Wallace EL. Blood collection and transfusion in the United States in 1997. *Transfusion*. 2002;42:1253–1260.
9. Andreu G, Morel P, Forestier F, et al. Haemovigilance network in France: organization and analysis of immediate transfusion incident reports from 1984 to 1998. *Transfusion*. 2002;42:1358–1364.
10. The Trial to Reduce Alloimmunization to Platelets Study Group. Leukocyte reduction and ultraviolet B irradiation of platelets to prevent alloimmunization and refractoriness to platelet transfusions. *N Engl J Med*. 1997;357:1861–1869.
11. Andreu G, Dewailly J. Prevention of HLA alloimmunization by using leukocyte-depleted components. *Curr Stud Hematol Blood Transfus*. 1994;60:29–40.
12. Anderson NA, Gray S, Copplesstone JA, et al. A prospective randomized study of three types of platelet concentrates in patients with haematological malignancy: corrected platelet increments and frequency of non haemolytic febrile transfusion reactions. *Transfus Med*. 1997;7:33–39.
13. Enright H, Davis K, Gernsheimer T, et al. Factors influencing moderate to severe reactions to PLT transfusions: experience of the TRAP multicenter clinical trial. *Transfusion*. 2003;43:1545–1552.
14. Thaler M, Shamiss A, Orgad S, et al. The role of the blood from HLA-homozygous donors in fatal transfusion associated graft-versus-host disease after open heart surgery. *N Engl J Med*. 1989;321:25–28.
15. Wagner FF, Flegel WA. Transfusion-associated graft-versus host disease: risk due to homozygous HLA haplotypes. *Transfusion*. 1995;35:284–291.
16. Seghalthian J, de Sousa G. Pathogen-reduction systems for blood components: the current position and future trends. *Transfus Apher Sci*. 2006;35:189–196.
17. Pelletier JPR, Transue S, Snyder EL. Pathogen inactivation techniques. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2006;19:205–242.
18. Moeremans K, Warie H, Annemans L. Assessment of the economic value of the INTERCEPT blood system in Belgium. *Transfus Med*. 2006;16:17–30.
19. Weusten JJ, Van Drimmelen HA, Lelie PN. Mathematic modeling of the risk of HBV, HCV, and HIV transmission by window-phase donations not detected by NAT. *Transfusion*. 2002;42:537–548.
20. Alter HJ, Stramer SL, Dodd RY. Emerging infectious diseases that threaten the blood supply. *Semin Hematol*. 2007;44:32–41.
21. Watson R. Europe witnesses first local transmission of chikungunya fever in Italy. *BMJ*. 2007;335:532–533.
22. Eder AF, Kennedy JM, Dy BA, et al. American Red Cross Regional Blood Centers. Bacterial screening of apheresis platelets and the residual risk of septic transfusion reactions: the American Red Cross experience (2004–2006). *Transfusion*. 2007;47:1134–1142.
23. Akahoshi M, Takahashi M, Masuda M, et al. A case of transfusion-associated graft-versus-host disease not prevented by white cell-reduction filters. *Transfusion*. 1992;32:169–172.
24. Visconti MR, Pennington J, Garner SF, et al. Assessment of removal of human cytomegalovirus from blood components by leukocyte depletion filters using real-time quantitative PCR. *Blood*. 2004;103:1137–1139.
25. Pennington J, Taylor GP, Sutherland J, et al. Persistence of HTLV-I in blood components after leukocyte depletion. *Blood*. 2002;100:677–681.
26. Roberts P. Resistance of vaccinia virus to inactivation by solvent detergent treatment of blood products. *Biologicals*. 2000;28:29–32.

第 2 章

Mirasol : プロセス

MIRASOL®

病原体不活化技術

Mirasol : プロセス

Mirasol 病原体不活化技術 (PRT) は、光と自然界に存在するリボフラビン (ビタミン B2) を用いて血液製剤中の病原体を除去し、白血球を不活化する技術である。リボフラビンは紫外線下で核酸と反応し、不可逆的な変化を引き起こす光増感剤として用いられる。なお、リボフラビンは薬剤ではなく、薬用効果を意図して導入される訳ではない。本技術は 40 年以上もの研究を経て開発されたものであり、化学、毒物学、体外および体内でのリボフラビンの核酸への光増感反応に関する膨大なデータ蓄積に基づいている。

リボフラビン

人体における役割

リボフラビンは人体に不可欠な栄養素で、牛乳、卵、パン、葉野菜など、多くの食材に含まれている (図 1)。平均的な成人の 1 日当たり推奨摂取量は 1.3 mg [男性] / 1.1 mg [女性] (授乳中の女性は最大で 1.6 mg)。そうした栄養価と毒性に関する網羅的データの蓄積も、血液製剤への利用にとって好都合である。

リボフラビンは、数多くの生化学反応に係る重要なコエンザイムの前駆体となっている。遺伝毒性が無いことは体外で実証済みで、米国食品医薬品局 (FDA) により「一般に安全と認められる物質 (GRAS 物質)」に分類されている。

リボフラビンは人体の生化学プロセスにおいて重要な役割を果たす、必須ビタミンである。

リボフラビンの光化学反応

リボフラビンの光増感性が最初に発見されたのは 1932 年、Warburg 博士と Christian 博士による。リボフラビンによる核酸の光増感反応は 1976 年、Speck 博士らにより提唱された。可視光・紫外線下でのリボフラビン使用によるウィルスと細菌の不活化は、1960 年代と 1970 年代の研究により有効性が示唆されたが、さらに 1980 年代の研究によって、病原体除去、光増感剤反応、光活性化時の核酸融合・分解におけるリボフラビンの可能性が実証された。

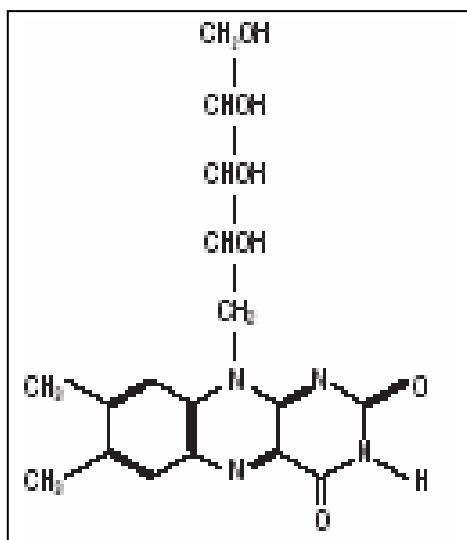


図 1. リボフラビン(ビタミン B2) 必須栄養素

リボフラビンの中性水溶液に自然光を当てると、リボフラビンはルミクロム (LC) に変化する。LC は人体におけるリボフラビン代謝分解物としても知られている。フラビン体の光分解生成物はすべて特定済みで、自然界におけるリボフラビン酵素分解の代謝産物の特色も特定されている。さらに、リボフラビンの光分解生成物 (主に 2'-キトフラビン、4'-キトフラビン、フォルミルメチルフラビン、LC の 4 つ) はすべて通常の代謝産物であり、未処理のアフェレーシス血小板にも含まれている。リボフラビンの代謝産物となり得るルミフラビン等は人体における通常の pH 環境では発生しない。

Mirasol PRT は 40 年以上もの研究成果に基づいて開発された技術である。

リボフラビンは 30 年以上も前から新生児黄疸の光線療法に用いられてきた。新生児に光を当てることで、黄疸の原因となるビリルビンを分解するだけでなく、新生児の血中に元から存在するリボフラビンを分解する療法であるが、臨床時における副作用の報告はこれまでもなく、治療後 9 年の経過を見たレトロスペクティブ分析でも問題は報告されていない。

現時点で商品化されている不活化システムの幾つかは、有害の可能性のある光増感物質を除去するための吸収装置 (CAD) を必要とする。それに対し、安全性が確立されたリボフラビンの場合、その光分解生成物も未処理の血液サンプル中に通常に存在するようなものであるため、処理後の血液製剤からこれらを除去・吸収することなく、そのまま投与することができる。

Mirasol 処理後の血液製剤は、リボフラビンとその光分解生成物を除去せずに投与できる。

反応メカニズム

Mirasol PRT システムは照射器 (および付属部品) とディスポーザブルの照射/保存キットから成る。ディスポーザブルキットは 35 ミリリットルのリボフラビン溶液と照射/保存用袋が付いている (図 2)。いずれも滅菌処理済である。

Mirasol プロセスでは、まず血液製剤にリボフラビンを混合した後に、265~370 nm 波長域の紫外線に短時間 (通常 10 分未満) さらす。紫外線照射により、DNA と RNA の複製を妨げる化学反応が起き、そうしてウィルス、バクテリア、その他真核細胞 (例えば、白血球) が不活化される。ゲノム核酸を持たない赤血球、血小板、血漿は影響を受けない。

リボフラビンと紫外線による核酸分解は、2 つの異なるメカニズムを通じて起きる (図 3)。

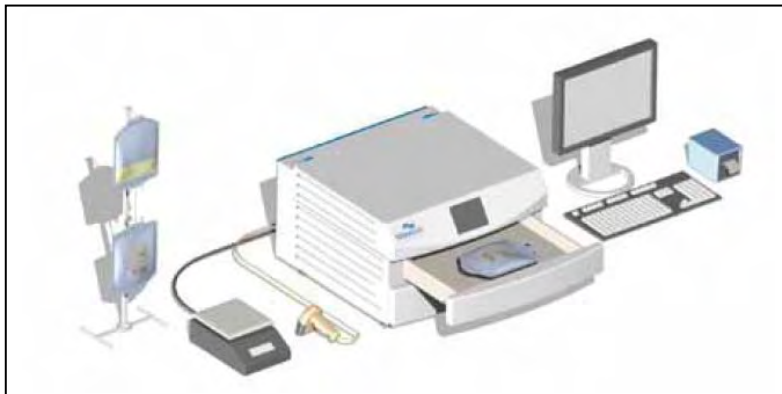


図 2. Mirasol PRT システム

主要部品:(A) 照射器、(B) 照射／保存用袋、リボフラビン溶液

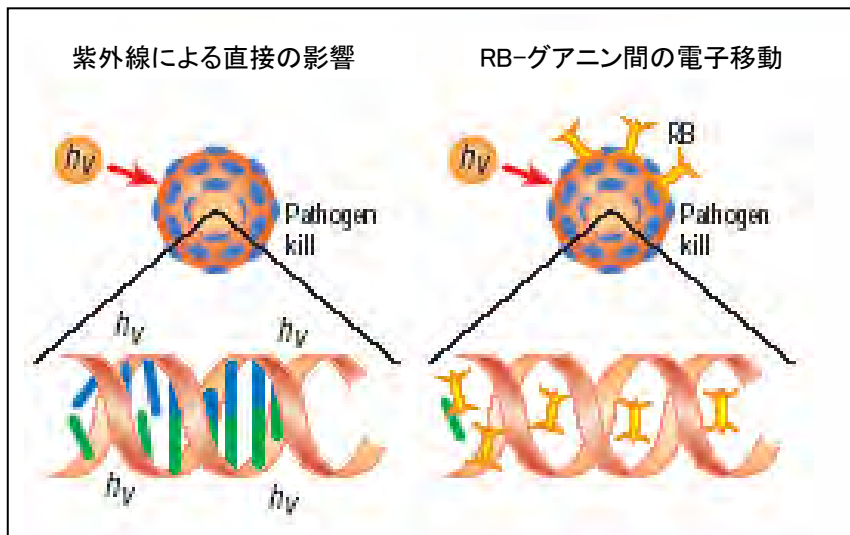
付属部品:(C) バーコード・リーダー、(D) 計り、(E) Mirasol システム管理用 PC、
(F) ラベル・プリンター

2つのメカニズムとは、

- ・ 紫外線独自の DNA 損傷効果
- ・ 光励起リボフラビンと核酸塩基対との接触による電子移動反応

Mirasol RPT は 2つの異なるメカニズムによって病原体を不活化する。

図 3. Mirasol PRT システムの 2つの主な反応



低波長光線の吸収によって、血液製剤中のウイルス、バクテリア、寄生物、白血球の核核酸が損傷する。

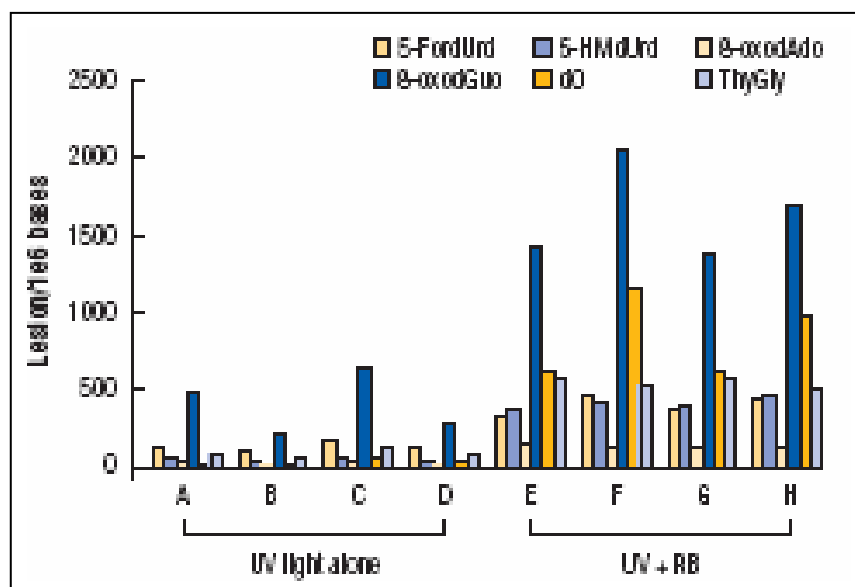
さらにリボフラビンと核酸との化学反応では、リボフラビン-グアニン間の電子移動反応によって、不可逆的な損傷が引き起こされる。

RB: リボフラビン UV: 紫外線

リボフラビン（ビタミンB2）は光照射によって活性酸素種が発生する可能性もあるが、それは非特異的反応であるため望ましくない。Mirasol システムでは、処理前に袋を真空状態にし、未結合ではなく結合した状態でリボフラビンを活性化させる波長の光を選択することでこれを防ぐことができる。

リボフラビンは、塩基対（主にグアニン塩基対）の不可逆的な変形を引き起こすことで病原体の複製を阻止する。また、インターカレーション（挿入）等によって核酸と結合することも知られている。さらに、I型、II型の光化学反応のいずれでもDNA連鎖を切断することが実証されている。

図 4. 紫外線のみを使った場合とリボフラビンを併用した場合の塩基損傷



各棒グラフは個別実験の数値。損傷のパターンは似ているが、リボフラビンを併用することで損傷数が大幅に増えていることがわかる。
RB:リボフラビン UV:紫外線

つまり、本システムにおけるリボフラビン使用は、紫外線独自の滅菌効果を増強するだけでなく、病原体が紫外線の影響をより受けるような素地を作る効果（光増感効果）をもたらす。それによって、紫外線のみを使用した場合より多くの塩基損傷を引き起こし、またその損傷を不可逆的なものにする。紫外線のみの場合、損傷の一部はDNAの修復メカニズムにより無効化される。それに対し、2つのメカニズムを組み合わせたMirasol PRTシステムは、広範的かつ徹底的な病原体除去を可能にする（図4）。

さらに、リボフラビンの光増感反応による微生物核酸の変性度合いについて検証を重ね、23リボフラビンと光線への暴露がウイルス、細菌、寄生生物、白血球に及ぼす影響を評価した（第4章と第5章を参照）。