

## References

1. AuBuchon JP, Herschel L, Roger J, et al. Efficacy of apheresis platelets treated with riboflavin and ultraviolet light for pathogen reduction. *Transfusion*. 2005;45:1335–1341.
2. Goodrich RP, Edrich PA, Li J, et al. The Mirasol™ PRT system for pathogen reduction of platelets and plasma: an overview of current status and future trends. *Transfus Apher Sci*. 2006;35:5–17.
3. Li J, Goodrich L, Hansen E, et al. Platelet glycolytic flux increases stimulated by ultraviolet-induced stress is not the direct cause of platelet morphology and activation changes: possible implications for the role of glucose in platelet storage. *Transfusion*. 2005;45:1750–1758.
4. Holme S, Moroff G, Murphy S. A multi-laboratory evaluation of in vitro platelet assays: the tests for extent of shape change and response to hypotonic shock. *Transfusion*. 1998;38:31–40.
5. Pieterz RNI, Engellriet CP, Reesink HW. Evaluation of stored platelets. *Vox Sang*. 2004;86:203–223.
6. Goodrich RP, Li J, Pieters H, et al. Correlation of in vitro platelet quality measurements with in vivo platelet viability in human subjects. *Vox Sang*. 2006;90:279–286.
7. Li J, De Korte D, Woolum MD, et al. Pathogen reduction of buffy coat platelet concentrates using riboflavin and light: comparisons with pathogen-reduction technology-treated apheresis platelet products. *Vox Sang*. 2004;87:82–90.
8. Perez-Pujol S, Tonda R, Lozano M, et al. Effects of a new pathogen-reduction technology (Mirasol PRT) on functional aspects of platelet concentrates. *Transfusion*. 2006;45:911–919.
9. Verhoeven AJ, Verhaar R, Gouwerok EG, et al. The mitochondrial membrane potential in human platelets: a sensitive parameter for platelet quality. *Transfusion*. 2005;45:82–89.
10. Li J, Lockerbie D, de Korte D, et al. Evaluation of platelet mitochondria integrity after treatment with Mirasol pathogen reduction technology. *Transfusion*. 2006;45:920–926.
11. Data on file. Navigant Biotechnologies LLC.

## 第 7 章

Mirasol 処理した血漿の品質

**MIRASOL®**

病原体不活化技術

## Mirasol 処理した血漿の品質

血漿は全血の遠心分離または単一ドナーの血漿アフェレーシスによって得られ、凍結成分として配送および保存される。全血またはアフェレーシス採取から調製され、8時間以内に凍結保存された血漿は新鮮凍結血漿（FFP）と呼ばれる。

## 血漿の使用法

血漿は治療的価値の高い多様な有機および無機成分を含有し、FFP は多くの後天性凝固障害、特に複数の抗凝固タンパク質を低下させる凝固障害に最適な第一選択治療となる。FFP はまた、適当な濃厚液が存在しない単一凝固因子（たとえば第 V または第 XI 因子）欠乏症、急性播種性血管内凝固、血栓性血小板減少性紫斑病（TTP）における血漿交換、ならびにワルファリン作用の打ち消し、肝疾患、心肺バイパス、および大量輸血の一部の症例にも適応となる。しかし、第 VIII 因子、アルブミンおよび免疫グロブリンといった特定血漿成分を注射または輸血するためには分離、精製および調製が必要であるため、臨床診療における FFP の使用は制限されている。

## 新鮮凍結血漿に関連して起こり得る有害反応

血漿タンパク質の複雑さ、免疫グロブリン含量の不均一性、および処理と保存に関する要因により、FFP は広範な病態生理学的反応を引き起こす可能性がある（表 1 を参照）。

*FFP は多様な重大病学的反応を引き起こす可能性がある。これを避けるためには、FFP は感染性病原体や白血球汚染物質を含んでいてはならない。*

表 1. 新鮮凍結血漿に対する有害反応

免疫介在性
同種免疫：Rh 1 (D) およびその他の赤血球抗原に対する抗体
アレルギー反応：IgA 欠乏症を除いて通常は原因アレルゲンが特定されない
TRALI：白血球凝集素および BRM
免疫修飾/免疫抑制
血漿汚染物質関連
ドナー特異的：投薬、感染
処理/保存特異的：サイトカイン類（FNHTR）、アナフィラトキシン
感染性汚染物質関連
非白血球関連：HIV、HBV、HCV、HAV、EBV、HHV-8、プリオン
物理化学的特徴および臨床使用関連
容量過負荷

BRM: 生物反応修飾物質; EBV: エプスタイン-バーウイルス; FNHTR: 熱性非溶血性輸血反応; HAV: A

型肝炎ウイルス;HBV:B型肝炎ウイルス;HCV:C型肝炎ウイルス;HHV:ヒト・ヘルペス・ウイルス;HIV:ヒト免疫不全ウイルス;Ig:免疫グロブリン;Rh:アカゲザル;TRALI:輸血関連急性肺障害。

### 血漿成分の品質要件

治療用血漿は安全である（すなわちウイルス、細菌および寄生虫を含んでいない）だけでなく、臨床的に有効であるためには、できるだけ新鮮血漿に近いレベルの凝固因子およびプロテアーゼ阻害物質を含有していなければならない。

血漿および血漿成分の品質にはいくつかの要因が影響し得る。FFPの品質は血漿の採取と保存の迅速性によって決まる。全血献血から分離され、採取から24時間以内に $-18^{\circ}\text{C}$ 以下に凍結された血漿（FP24）は、関連凝固活性を良好に保持している。しかし、8時間以内に凍結されたFFPに関する過去の記録と比較すると、FP24に含まれるフィブリノーゲン、第V因子、第VIII因子および第XI因子のレベルはそれぞれ12%、15%、23%および7%低下していることが示されている。

血漿の品質要件は各種ガイドラインに記されているが、それはかなり限定的なもので、主として第VIIIc因子と総タンパク質に関するものである。FFPが処方される患者の大部分は第VIII因子のレベルが正常または高いという事実にもかかわらず、これが現実である。

現在のFFPの品質管理は第VIII因子の測定値に基づいて行われており、欧州評議会（CE）のガイドラインはこれが $0.70\text{ IU/mL}$ を超えていることを要求し、英国のガイドラインはユニットの75%がこの第VIII因子レベルを満たしていなければならないと規定している。

ただ、これらはガイドラインであって明確な規則ではない点に注意が必要である。欧州のガイドラインを図1にまとめている。ほとんどの国はこのガイドラインに従っているが、多くは各地に特有の輸血サービスのための独自の特定ガイドラインまたは勧告の参考として利用しているに過ぎない。たとえば英国の国立血液サービスは、血漿成分について完全に別個の要件リストを確立している。

さらに、市販の病原体不活化FFP成分にはそれぞれ特有のガイドラインが存在する（表2を参照）。たとえば溶剤-洗浄剤（SD）処理FFPとメチレンブルー（MB）処理FFPとでは性能規格が異なっている。FFPに関するCEガイドラインは、毎月のルーチンの品質管理において第VIIIc因子の濃度が新鮮血漿成分の70%（ $0.70\text{ IU/mL}$ と解される）であることを求めている。英国のガイドラインは、SD処理FFPについては第VIIIc因子のレベルが $0.5\text{ IU/mL}$ 超であることを要求するのに対し、MB処理FFPについてはユニットの75%の第VIIIc因子レベルが $0.5\text{ IU/mL}$ 超であることが必要とされている。

### 図 1. 新鮮凍結血漿に関する欧州のガイドライン

- ・ 血漿は解凍後ただちに使用する。
- ・ 血漿は-25°C 以下に保持するなら最大 36 カ月間保存できる。
- ・ 第 VIIIc 因子の平均活性は 0.70 IU/mL 超でなければならない。
- ・ 総タンパク質は 50 g/L 超でなければならない。
- ・ 適応となるのは、凝固障害における使用、血栓性血小板減少性紫斑病の治療、および血漿分画の原料としての使用である。

表 2. 新鮮凍結血漿の規格ガイドラインの比較

	EU評議会 第 13 版 FFP <sup>4</sup>	Paul Ehrlich Institut FFP <sup>8</sup>	EC指令 <sup>6</sup>	UK FFP <sup>5</sup>	UK SD-FFP <sup>5</sup>	UK MB-FFP <sup>5</sup>	欧州薬局方 SD-FFP <sup>9</sup>	Mirasol -FFP <sup>7</sup>
第 VIIIc 因子	0.7 IU/mL 以上または 新鮮血漿の 70%以上	新鮮血漿の 70%超	新鮮血漿の 70%以上	75% >0.7 IU/mL	>0.5 IU/mL	75% >0.5 IU/mL	≥0.5 IU/mL	75% >0.5 IU/mL
第 V 因子	NA	>70%	NA	NA	≥0.5 IU/mL	≥0.5 IU/mL	≥0.5 IU/mL	≥0.5 IU/mL
活性化凝固 因子	NA	NA	NA	NA	NA	NA	150 秒以上	NA
赤血球	<6.0×10 <sup>9</sup> /L	<6.0×10 <sup>9</sup> /L	<6.0×10 <sup>9</sup> /L	NA	NA	NA	NA	<15×10 <sup>9</sup> /L
白血球	<0.1×10 <sup>9</sup> /L	<0.5×10 <sup>9</sup> /L	<0.1×10 <sup>9</sup> /L	NA	NA	NA	NA	<1.0×10 <sup>9</sup> /L
血小板	<50×10 <sup>9</sup> /L	<20×10 <sup>9</sup> /L	<50×10 <sup>9</sup> /L	NA	NA	NA	NA	<1.2×10 <sup>9</sup> /L
タンパク質	≥50 g/L	NA	≥50 g/L	≥50g/L	NA	NA	≥45 g/L	≥50 g/L

FFP: 新鮮凍結血漿; IU: 国際単位; NA: 該当なし; 赤血球。

Mirasol 処理 FFP について私たちは、SD-FFP や MB-FFP について行われてきたのと同じように、最終的に（第 VIIIc 因子、フィブリノーゲンおよび総タンパク質について）血液バンク標準品に組み込まれる成分性能に規格制限を設けている。社内品質管理で Mirasol 処理 FFP に用いている規格は以下のとおりである。

- 血漿ユニットの 75%の第 VIIIc 因子の活性が 0.5 IU/mL 超であること。
- 他のすべての因子の活性が 0.5 IU/mL 超であること。
- 抗トロンビン III、プロテイン C およびプロテイン S に有意な低下がないこと。
- フィブリノーゲン活性が 140 mg/dL 超であること。

- 総タンパク質が 50 g/L 超であること。

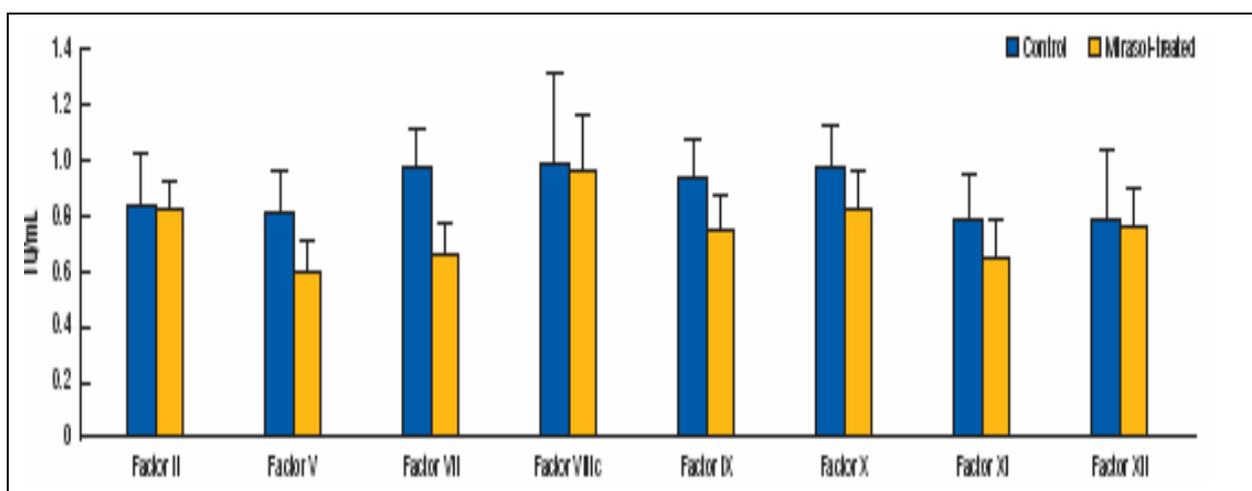
Mirasol 処理 FFP の規格は、他の病原体不活化血漿成分および未処理 FFP に用いられるものと同等である。

表 3. Mirasol 処理 FFP の保存 52 週目のタンパク質パラメータ

IU/mL	全血対照	全血処理	アフェレーシス対照	アフェレーシス処理	基準範囲
第 II 因子	0.8 ± 0.1	0.8 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.8 ± 0.1	0.65–1.54
第 V 因子	0.8 ± 0.1	0.6 ± 0.1	0.8 ± 0.1	0.6 ± 0.1	0.54–1.45
第 VII 因子	1.0 ± 0.2	0.7 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.6 ± 0.2	0.62–1.65
第 VIIIc 因子	1.1 ± 0.4	1.1 ± 0.2	0.8 ± 0.2	0.8 ± 0.1	0.45–1.68 (1 段)
第 IX 因子	0.9 ± 0.2	0.7 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.8 ± 0.1	0.45–1.48
第 X 因子	0.9 ± 0.1	0.8 ± 0.1	1.0 ± 0.2	0.9 ± 0.2	0.68–1.48
第 XI 因子	0.7 ± 0.2	0.6 ± 0.1	0.8 ± 0.2	0.7 ± 0.1	0.42–1.44
第 XII 因子	0.7 ± 0.3	0.7 ± 0.2	0.9 ± 0.2	0.8 ± 0.1	0.40–1.52

IU：国際単位。

図 2. Mirasol 処理新鮮凍結血漿の保存 52 週目のタンパク質パラメータ



IU：国際単位。

## Mirasol 処理した血漿の品質

### In vitro 試験

In vitro 試験では、Mirasol 処理 FFP が欧州の FFP 基準に適合したレベルで in vitro タンパク質品質を維持していることが示されている。追加的に、Mirasol 処理したアフエーシスおよび全血由来血漿成分の保存 1 年後の in vitro 血漿タンパク質活性を評価する試験も実施された（表 3、図 2 を参照）。

認定血液銀行施設でアフエーシスおよび全血から新鮮血漿を採取し、採取後 8 時間にわたり室温で保持した。使用したのは合計 14 ユニットの処理成分であった（容量範囲は 231 ~ 327 mL）。処理成分については、リボフラビンの最終濃度が約 50  $\mu\text{M}$  となるよう、500  $\mu\text{M}$  のリボフラビン溶液 35 mL と合わせて血漿を照射バックに入れた。このバッグを Mirasol 照射器に入れ、UV 光に曝露した（6.2 J/mL）。その後、血漿成分を  $-30^{\circ}\text{C}$  にまで急速冷凍し、 $-30^{\circ}\text{C}$  のフリーザーに 52 週間保存した。この血漿を解凍し、標準的な凝固アッセイを用いて分析した。

In vitro の血漿タンパク質品質は、次の合格基準を満たしていた。すなわち、フィブリノーゲンは平均が 140 mg/dL 以上、第 II、第 V、第 VII、第 IX、第 X、第 XI 因子は平均が 0.6 IU/mL 以上、第 VIIIc 因子は平均が 0.8 IU/mL 以上、および総タンパク質は平均が 50 g/L 以上であった。69 週目には、プロテイン S の回収率（初期値の 100% 超）、プロテイン C（初期値の 90%）、抗プラスミン（初期値の 94%）、抗トロンビン（初期値の 100%）の追加アッセイを指示した。処理サンプルは補体および免疫学的活性化の徴候を示さなかった。この試験で観察された結果は、Mirasol 処理 FFP が欧州のガイドラインに記されている未処理 FFP 成分の要件を満たすか、むしろ上回っていることを示唆している（表 4 および 5 を参照）。プロテイン C、プロテイン S、抗プラスミンおよび抗トロンビンの保持レベルは、他の不活化方法で認められるものを上回っていた。Mirasol 処理 FFP を  $-30^{\circ}\text{C}$  で 1 年間保存した後のフォン・ヴィレブランド因子（vWF）抗原：活性比は  $1.0 \pm 0.3$  であった。vWF 抗原：活性比が 1.4 未満であれば vWF の多量体分布は正常であるが、この比が 3.7 を超えると高分子量の多量体が損失していることになる（図 3 を参照）。現在進行中の試験では、vWF を切断する亜鉛含有メタロプロテアーゼである ADAMTS13（トロンボスポンジン 1 型モチーフ第 13 番を備えたメタロプロテイナーゼ・ディスインテグリン）の活性が Mirasol 処理によって有意に変化しないことが確認されている。この結果は、 $-30^{\circ}\text{C}$  での 1 年間の保存後にもフィブリノーゲンと第 VIIIc 因子が良好に維持されていることを示している。総合すると、以上のデータは Mirasol 処理 FFP が 1 年間の保存後にも欧州の FFP 基準を満たすレベルで in vitro タンパク質品質を維持していることを実証している。

*Mirasol 処理 FFP は未処理 FFP 成分に関する欧州の現行タンパク質品質基準を満たしてい*

る。

表 4. Mirasol 処理 FFP の保存 69 週目のタンパク質パラメータ

活性	全血対照 <sup>†</sup>	全血処理	アフェレーシ ス対照	アフェレーシ ス処理	基準範囲
プロテイン C	93.4 ± 10.6	83.0 ± 7.7	105.7 ± 27.6	96.0 ± 23.4	58-164
プロテイン S	65.0 ± 9.8	85.7 ± 18.6	92.3 ± 6.0	106.0 ± 15.1	56-168
抗トロンビン	83.0 ± 5.5	82.8 ± 6.9	87.0 ± 9.8	87.2 ± 8.4	72-145
プラスミノ ーゲン	80.8 ± 10.5	75.4 ± 10.3	79.7 ± 7.2	74.8 ± 6.9	68-144
抗プラスミン	99.6 ± 6.2	98.3 ± 6.2	101.3 ± 4.0	94.8 ± 6.3	72-132
プレカリクレ イン	111.1 ± 16.9	62.7 ± 9.6	124 ± 17.2	52.2 ± 22.7	65-135
高分子量キニ ノーゲン	89.5 ± 24.6	69.0 ± 12.8	99.2 ± 7.2	69.9 ± 21.0	65-135
フォン・ヴィレ ブランド因子 活性	125.6 ± 36.3	110.4 ± 52.4	99.2 ± 59.7	81.3 ± 39.6	50-150
フォン・ヴィレ ブランド因子 抗原	123.8 ± 31.4	91.2 ± 47.0	141.6 ± 41.7	108.3 ± 47.3	50-150

<sup>†</sup>対照データは保存 52 および 69 週目の未処理成分のものである。

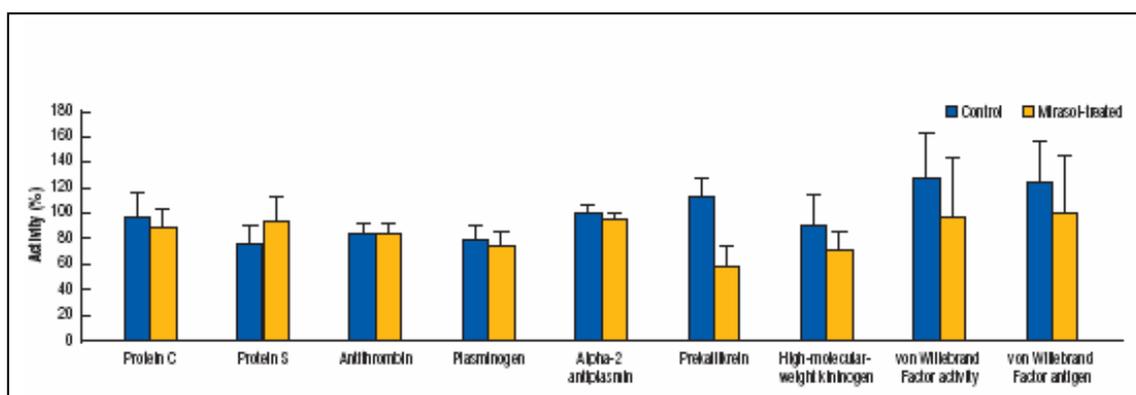


図 3. Mirasol 処理 FFP の保存 69 週目のタンパク質パラメータ

表 5. Mirasol 処理 FFP の保存 69 週目のタンパク質パラメータ

パラメータ	全血対照 <sup>‡</sup>	全血処理	アフェレーシス対照	アフェレーシス処理	基準範囲
フィブリノーゲン (mg/dL) <sup>§</sup>	288.8 ± 59.6	219.9 ± 33.3	290.7 ± 4.7	211.0 ± 33.5	145–385
総タンパク質 (g/L) <sup>§</sup>	47.6 ± 2.9	51.3 ± 3.1	51.9 ± 4.8	53.6 ± 3.6	48–364
PAI-1 (IU/mL)	18.8 ± 12.5	7.8 ± 3.5	12.6 ± 11.4	18.8 ± 10.5	<31.1
D-二量体 (ng/mL)	158.4 ± 115.3	89.0 ± 0.0	103.3 ± 24.8	132.8 ± 87.5	<256
プロトロンビン断片 1 + 2 (pmol/L)	178.4 ± 61.0	161.1 ± 35.9	241.6 ± 79.9	265.8 ± 218.0	87–3325
トロンビン-抗トロンビン複合体 (ng/mL)	2.0 ± 0.1	2.0 ± 0.0	2.0 ± 0.0	2.0 ± 0.0	<5.1
アルファ-1 抗トリプシン (mg/dL)	100.7 ± 14.7	97.5 ± 15.2	147.5 ± 9.1	110.4 ± 22.8	90–3200

<sup>‡</sup>対照データは保存 52 および 69 週目の未処理成分のものである。

<sup>§</sup>処理データは保存 52 週目の処理成分のものである。

PAI: プラスミノーゲン活性化因子阻害物質。

### Mirasol 処理 FFP の機能面

さらなる研究により、Mirasol 処理 FFP が天然の抗凝固タンパク質として最も多い 3 種、すなわちプロテイン C、プロテイン S および抗トロンビンの活性を維持していることが示されている (表 6 を参照)。Mirasol 処理 FFP は抗凝固機能だけでなく免疫グロブリン (IgG と IgM) の量的および機能的活性も満足できるほどに保持しており、凝固亢進性障害のある患者の治療にも使用可能である。

Mirasol 処理 FFP は免疫グロブリンの機能的活性を保持していることも示されている (表 7 を参照)。この試験では、新鮮血漿を照射バッグに移して最終濃度が 50 μM となるようリボフラビンを添加し、この溶液に 10 J/cm<sup>2</sup> の UV 光を照射した。ここから照射の前後にサンプルを採取し、これをバッチ検査の前に冷凍した。このサンプルのジフテリア、破傷風および肺炎球菌の力価は基準範囲内に保持されていた (表 7 を参照)。破傷風、肺炎球菌およびジフテリアの力価の照射前: 照射後の比の平均はそれぞれ 0.66、0.72 および 1 以上であり、これは Mirasol 処理 FFP がジフテリア、破傷風および肺炎球菌の多糖体抗体の機能的活性を保持していることを示している。

Mirasol 処理には、献血時に残存していた白血球と関連病原体を不活化させる作用もある。これにより Mirasol 処理は、機能のある白血球の伝達、蓄積している炎症メディエーターへの曝露、および細胞内ウイルスによる感染を防ぐことができる (これに関する詳細は第 5 章を参照)。