

インターセプトブラッドシステムの概要

バイオワン株式会社

2008年4月1日

インターセプトブラッドシステム (IBS) はソラレン化合物の1種であるアモトサレン (S-59) を用いて血小板又は血漿中の病原体を不活化するシステムである。

1. 本システムの構成

血小板用の本システムは、プレパレーションセット、プロセッシングセット (血小板), 及びイルミネーターより構成されている。

図 1.1 プレパレーションセット

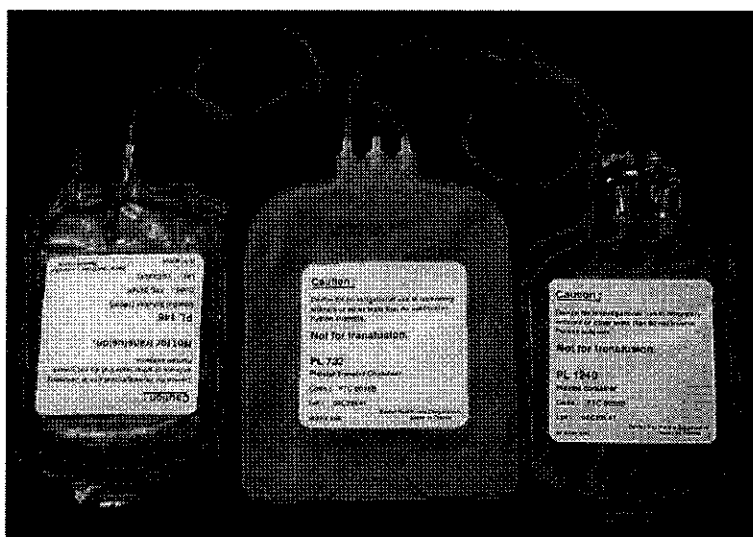


表 1.1 インターソルの組成

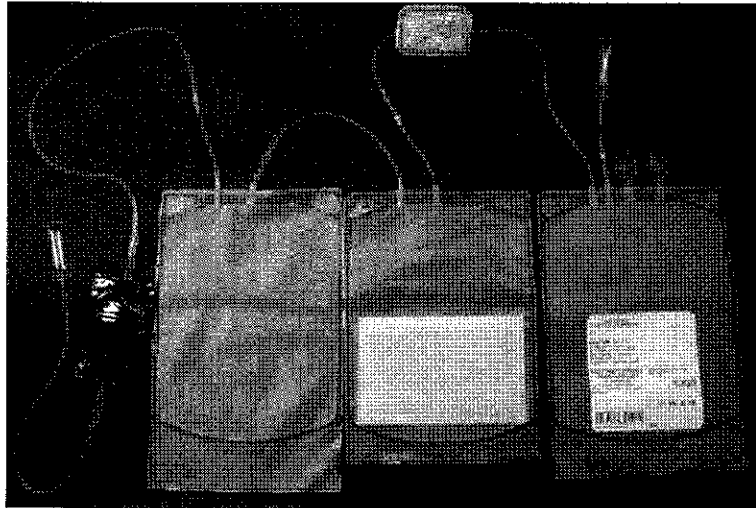
- 1): 日本薬局方収載品
- 2): CPD, MAP, 電解質輸液等の成分として既許可. EP 収載品.

成分	体内に入る量	処方量
塩化ナトリウム 1)	814 mg	4.52 g
酢酸ナトリウム・三水和物 1)	796 mg	4.42 g
無水クエン酸ナトリウム・二水和物 1)	572 mg	3.18 g
無水リン酸水素ナトリウム 1)	549 mg	3.05 g
リン酸二水素ナトリウム・二水和物 2)	189 mg	1.05 g
注射用水 1)	180 ml	1000 ml
pH	7.2	

【インターソル：プレパレーションセットに含まれている】

インターソルは本システムで効率的に不活化処理を行うために開発された緩衝液である。不活化処理を行う際に本緩衝液を用いて 35%血漿/65%インターソルに調整するため、血小板保存に使用されている血漿の量を減らすことができる。

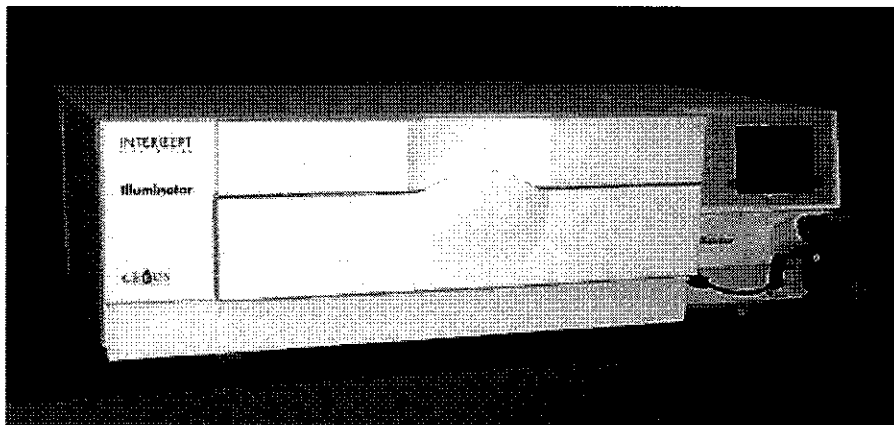
図 1.2 プロセッシングセット (血小板)



【S-59：プロセッシングセット（血小板）に含まれている】

S-59 はソラレン化合物であり，A 紫外線照射により活性化し病原因子の DNA あるいは RNA を架橋することにより病原因子を不活化する．プロセッシングセットには，3mM (1.01g/L) の S-59 溶液が 15mL 又は 17.5mL 充填されている．

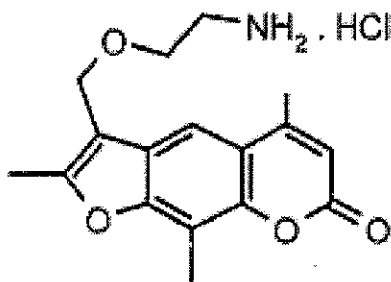
図 1.3.イルミネーター



2. S-59 の作用機序

本システムにおいて病原因子の不活化にはソラレン化合物の S-59 を用いる。

図 2.1 アモトサレン (S-59) の構造式

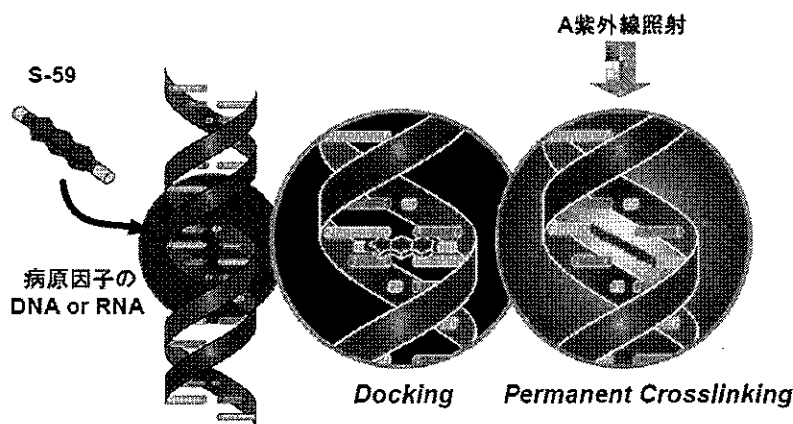


S-59 の構造式

分子式：C₁₇H₂₀ClNO₄ 分子量：337.8

ソラレン化合物は核酸を標的とする化合物の代表である(Cimino ら, 1985). ソラレン分子は光源のない状況において, 感染性の病原体及び白血球の DNA 及び RNA のらせん部分に可逆的に入り込む (インターカレート). インターカレートしたソラレン分子は, A 紫外線照射により活性化を受けるとピリミジン塩基と反応し永久的に共有結合を形成する.

図 2.2.の作用機序 (その 1)

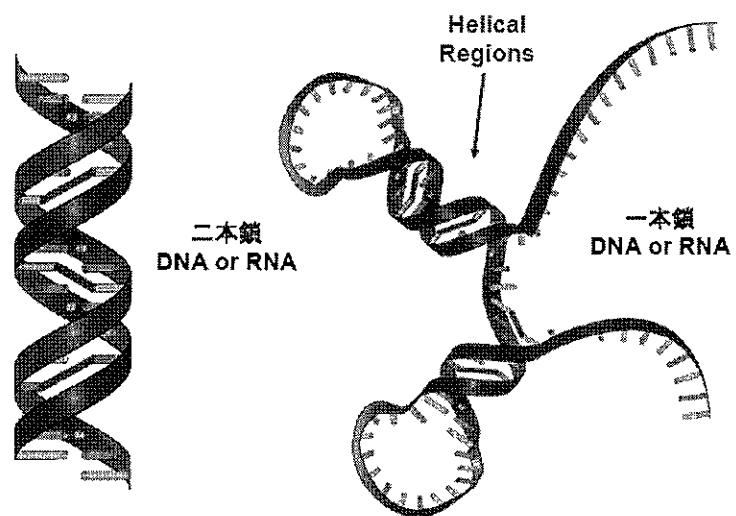


ソラレン分子は 2 箇所の反応性部位を有するので, 病原因子の遺伝子との架橋を形成することができる. ソラレンにより修飾された病原因子の遺伝子は, もはや複製することができない. 対照的に血小板はそれ以上分化することがない細胞であり, その機能を発揮するために核酸の複製を必要としない. したがって血小板機能は A 紫外線を用いるソラレン

化合物の活性化により影響されないと考えられる。

図 2.3 S-59 の作用機序 (その 2)

二本鎖にも一本鎖にも結合する



3. S-59 による病原因子の不活化能力

現在までに S-59 と A 紫外線を用いたて実施された血小板濃厚液中の病原因子の不活化能力を以下に示す。

表 3.1 S-59 の病原因子不活化能 (1)

病原体	血小板	血漿
	対数減少値 (95%CI)	対数減少値 (95%CI)
エンベロープウイルス		
HIV-1 (cell-free)	>6.2	>5.9
HIV-1 (cell-associated)	>6.1	>6.4
HIV-1 (臨床分離株, Z84 株)	>3.4	
HIV-2 (臨床分離株, CBL20 株)	>2.5	
DHBV (HBV モデル)	>6.2	>5.1
HBV (MS-2)	>5.5	>4.5
BVDV (HCV モデル, NADL 株)	>6.0	>6.0
HCV (Hutchinson 株)	>4.5	>4.5
HTLV-I	4.2	
HTLV-II	4.6	
CMV (cell-associated, AD169 株)	>5.9	
WNV (3356 株)	>5.5	
SARS-HCoV (Urbani 株)	>5.8	
Vaccinia virus (IHD-W 株)	>4.7	
ノン・エンベロープウイルス		
Human adenovirus 5	>5.2	
Parvovirus B19	3.5 – >5.0	
Bluetongue Virus (serotype 11, Station 株)	5.6 – 5.9	
Feline conjunctivitis Virus (FC 株)	1.7 – 2.4	
Simian adenovirus 15 (AP4398 株)	0.7 – 2.3	
PPV (NADL-2 株)	0	

不活化レベルは培養細胞または動物モデルの感染性試験を用いて測定し、「対数減少値」で表した。「>」は処理後の被験試料中に生存病原因子が検出されなかったことにもとづき、不活化が検出限界未満であることを示す。

HIV：ヒト免疫不全ウイルス DHBV：アヒル B 型肝炎ウイルス HBV：B 型肝炎ウイルス
 BVDV：牛ウイルス性下痢ウイルス HCV：C 型肝炎ウイルス HTLV：ヒト T 細胞好性ウイルス
 CMV：サイトメガロウイルス WNV：ウエストナイルウイルス SARS-HCoV：SARS ヒトコロナウイルス
 PPV：パラボックスウイルス

表 3.2 S-59 の病原因子不活化能 (2)

病原体	血小板	血漿
	対数減少値	対数減少値
好気性菌		
グラム陽性菌		
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	>6.6	5.7
<i>Staphylococcus aureus</i>	6.6	
<i>Streptococcus pyogenes</i>	>6.8	
<i>Listeria monocytogenes</i>	>6.3	
<i>Corynebacterium minutissimum</i>	>6.3	
<i>Bacillus cereus (vegetative)</i>	>5.5	
グラム陰性菌		
<i>Escherichia coli</i>	>6.4	
<i>Serratia marcescens</i>	>6.7	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	>5.6	5.6
<i>Enterobacter cloacae</i>	5.9	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4.5	
<i>Salmonella choleraesuis</i>	>6.2	
<i>Yersinia enterocolitica</i>	>5.9	
嫌気性菌		
グラム陽性菌		
<i>Lactobacillus sp. (99A6489)</i>	>6.4	
<i>Bifidobacterium adolescentis (00A3154)</i>	>6.0	
<i>Propionibacterium acnes (00A6608)</i>	>6.5	
<i>Clostridium perfringens (ATCC 43150)</i>	>6.5	
スピロヘータ		
<i>Treponema pallidum</i>	≥6.8 - ≥7.0	
<i>Borrelia burgdorferi</i>	>6.9	

不活化レベルは培養細胞または動物モデルの感染性試験を用いて測定し、「対数減少値」で表した。「>」は処理後の被験試料中に生存病原因子が検出されなかったことにもとづき、不活化が検出限界未満であることを示す。

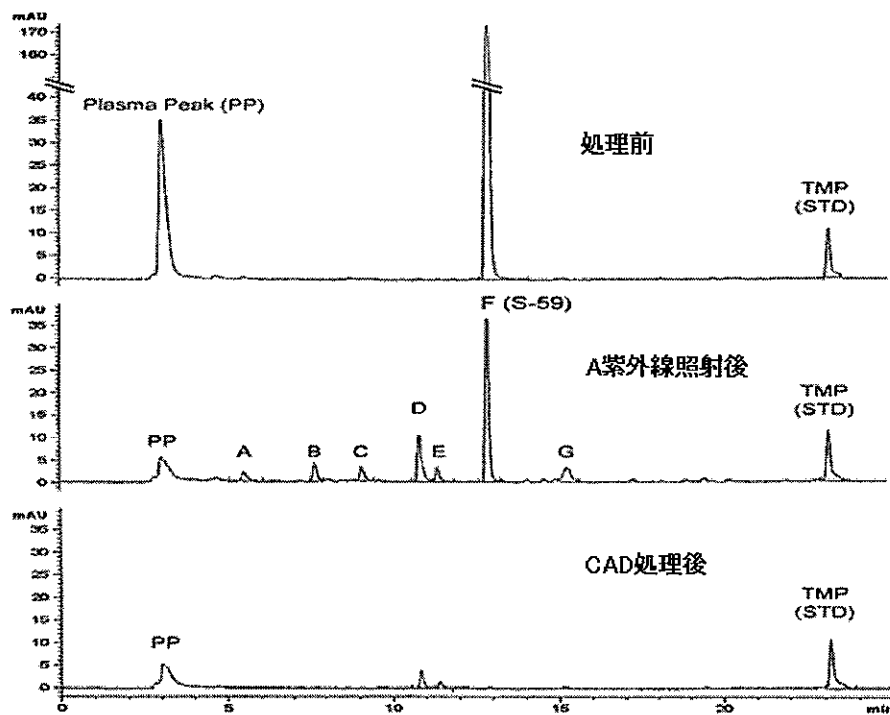
表 3.3 S-59 の病原因子不活化能 (3)

原虫	対数減少値
<i>Trypanosoma cruzi</i>	>5.3
<i>Plasmodium falciparum</i>	>7.0

4. 残留 S-59

不活化処理の A 紫外線照射の際に S-59 は光分解される。照射後、濃縮血小板は重量百分率で S-59 の約 53% の遊離光分解生成物、26% の共有結合した光分解生成物、及び 21% の残留 S-59 を含む。これらの遊離（非結合の）光分解生成物は非常に類似しているが、HPLC で 6 種類に分離できる。

図 4.1 不活化処理に伴う S-59 の変化



照射後、300mL の濃縮血小板は、約 3.1mg の残留 S-59、8.1mg の遊離光分解生成物及び 4.0mg の結合光分解生成物を含む。

臨床での使用前に、残留 S-59 及び遊離光分解生成物は化合物除去装置 (CAD) の処理により低下させる。CAD での処理後、残留 S-59 の量は約 74~84 分の 1 に低下し、主要な光分解生成物の残留量は約 3 分の 1 に低下する。CAD 処理後、300mL の人血小板濃厚液には、約 50 μ g の残留 S-59、2.7mg の遊離光分解生成物、4mg (2mg は血漿の高分子に結合、2mg は血小板に結合) の共有結合した光分解生成物が含まれる。従って、体重 60kg の人では残留 S-59 とその光分解生成物の臨床暴露量は、単位体重あたり S-59 が約 1 μ g/kg、遊離光分解生成物が約 45 μ g/kg、結合光分解生成物が約 70 μ g/kg になると考えられる。

5. S-59 の体内動態及び代謝

S-59 のヒトにおける体内動態は Phase IB において、自己血小板濃厚液を IBS 処理し被験者に戻す検討が行なわれた。残留 S-59 の平均濃度は $0.31\ \mu\text{M}$ ($25.1\ \mu\text{g}/\text{body}$)、最高血中濃度の平均値は $1113\text{pg}/\text{mL}$ 、半減期の平均値は 428.1min 、AUC の平均値は $15.1\text{ng}/\text{L}\cdot\text{min}$ であった。

非臨床試験において尿中および糞中排泄物を HPLC で検討した結果、糞中では多くのマイナーピークが検出され非常に高度代謝されていることがうかがえた。また尿サンプルにおいて S-59 の代謝を検討しているが、グルクロン酸抱合および硫酸抱合は関与していない。(8-MOP はグルクロン酸抱合および硫酸抱合の関連あり)。非臨床試験 (ラット及びイヌ) における検討では、投与後 28 日目までに約 65% が糞中、約 10% が尿中に排泄された。

非臨床試験における検討ではラット及びイヌにおいて、投与後 48 時間目までに投与された残留 S-59 (CAD 処理済) の 57%、35% が排泄された。また、投与後 28 日目までに、それぞれ 86-87%、70-84% が排出された。一方、ラットにおいて、体内に残留した S-59 は投与後 28 日目で 6% であった。

6. 血小板の機能

In vitro の試験では S-59 による不活化処理群と対象群で差がみられているがどちらも AABB の基準の範囲内であり、かつ in vivo のウサギの耳出血時間モデルでは両処理群で差が認められず、血小板止血機能に有害な影響を与えないことが判明している。

また米国の Phase III による出血の防止を End Point とした臨床試験で IBS 処理群と対象群で差がないことを実証している。

市販後の追跡調査でも IBS 処理によって血小板の登用量が増えている情報はない。

不活化処理により血小板の回収率は 7-8% 低下するが活性面での低下は市販後の調査結果では問題になっていない。

1) in vitro における血小板機能

表 6.1 アフェレーシス血小板の *in vitro* 血小板機能：

検査項目	保存 5 日目 平均±標準偏差	
	CAD 非処理群	CAD 処理群
	(N = 6)	(N = 6)
血小板数 ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	1521 ± 250	1452 ± 234
pH	6.93 ± 0.09	6.92 ± 0.06
形態 (0~400)	279 ± 20*	290 ± 20*
低張性ショック反応, HSR (%)	45 ± 5	45 ± 3
ATP (nmol/血小板 10^8 個)	0.7 ± 0.1	0.7 ± 0.2
P セレクチン (発現率%)	51 ± 3*	58 ± 5*
pCO ₂ (mmHg)	27.0 ± 3.3*	23.7 ± 3.5*
pO ₂ (mmHg)	73.4 ± 22.8*	84.8 ± 22.5*
HCO ₃ ⁻ (mM)	5.6 ± 0.7*	4.8 ± 0.5*
乳酸 (mM)	9.9 ± 2.2*	8.5 ± 1.6*
グルコース (mM)	1.6 ± 1.3*	2.1 ± 1.1*

* : 有意差あり (Student の paired t 検定, $p \leq 0.05$)

2) in vivo における止血効果

ニュージーランド白ウサギを γ 線へ暴露し、続いて抗ウサギ血小板ヒツジ血清を注入し、重度の血小板減少症を誘発した。10 対の対照と不活化処理濃厚血小板 (S-59 150 μM + 3 J/cm² A 紫外線, CAD 処理 6 時間) を評価した。ヒト血小板 (各ウサギに 2.5×10^{10} 個) の血小板減少症ウサギへの輸血により、血小板数が対照群で $6.1 \pm 2.0 \times 10^3/\mu\text{L}$ から $109 \pm 38 \times 10^3/\mu\text{L}$, 不活化処理群で $6.4 \pm 1.5 \times 10^3/\mu\text{L}$ から $111 \pm 34 \times 10^3/\mu\text{L}$ へと増加した。血小

板減少症ウサギの輸血前の毛細血管出血時間は>900秒であった。ヒト血小板の輸血後、この出血時間は対照群で 274 ± 226 秒、不活化処理群で 259 ± 112 秒に短縮した。この2群間に統計的な有意差は認められなかった。血小板数の増加は出血時間の短縮と相関した。これらの結果は *in vivo* の動物モデルにおいて不活化処理血小板の *in vivo* での止血機能が維持されていることを支持するものである。

7. 毒性試験

- 1) 毒性試験は ICH の医薬品のガイドラインに従い実施した。被験試料は S-59 単独のみならず、S-59 で不活化処理された血小板 (CAD 処理、非処理) で実施されている。

表 7.1 毒性試験

試験項目	S-59 混合液 (A 紫外線照射)		S-59 単独
	CAD 処理	CAD 非処理	
単回投与毒性試験	実施	実施	実施
≤1ヶ月毒性試験		実施	実施
3ヶ月毒性試験	実施	実施	
がん原性試験	実施	実施	実施
遺伝毒性試験		実施	実施
生殖毒性試験	実施	実施	
安全性薬理試験	実施		
局所毒性試験		実施	

2) 反復投与毒性試験

表 7.2 反復投与毒性試験の概要

試験方法	被験物質	試験結果	実施施設	資料番号
ラット 7日間連日静脈 内投与	S-59	7日間連日投与の無毒性量は、75mg/kg/day と考えられた。	Bio Research*1	(BioResearch 53777)
ラット 14日間連日静脈 内投与	S-59	S-59, 75mg/kg/day を14日間連日投与した結果、全身的な毒性は観察されなかった。	Bio Research*1	(BioResearch 54433)
ラット 28日間連日静脈 内投与	S-59	S-59, 18.8, 37.5, 75 mg/kg/day を28日間連日投与した結果、全身的な毒性は観察されなかった。	Bio Research*1	BioResearch 53779
イヌ 7日間連日静脈 内投与	S-59	S-59, 5, 15, 30mg/kg/day を7日間連日投与した結果、毒性は観察されなかった。	Bio Research*1	(BioResearch 53778)
イヌ 28日間連日静脈 内投与	S-59	S-59, 6.25, 12.5, 25 mg/kg/day を28日間連日投与した結果、全身的な毒性は観察されなかった。	Bio Research*1	BioResearch 53780
ラット 7日間連日静脈 内投与 CAD 非処理	S-59 混合 液	7日間連日投与の無毒性量は、25mL/kgday と考えられた。	Bio Research*1	(BioResearch 53777)
ラット 14日間連日静脈 内投与 CAD 非処理	S-59 混合 液	14日間連日投与の無毒性量は、25mL/kgday と考えられた。	Bio Research*1	(BioResearch 54433)
ラット 14又は28日間 連日静脈内投与	S-59 混合 液	14又は28日間連日投与の無毒性量は、25mL/kgday と考えられた。	Bio Research*1	BioResearch 53779