

輸血用血液製剤における不活化技術の導入について

1. 日本赤十字社の安全対策と不活化技術の検討

- 1) 平成 15 年に献血受付から市販後にわたる 8 項目の総合的な安全対策を掲げて、順次導入を図ってきた。その中の一つとして「不活化技術の検討」を掲げ実施可能な方法による評価及び情報収集を行ってきた。
- 2) 8 項目の安全対策として、既に導入した対策（①本人確認の実施、②遡及調査、③新鮮凍結血漿の貯留保管、④NAT の精度向上、⑤輸血後感染症の全数調査、⑥ HEV の疫学調査、⑦保存前白血球除去及び初流血除去）後の残存リスク及び感染症報告等を評価し、不活化技術を導入している諸外国の使用実績、開発中の方法についての情報と合わせて、今後の方針について国をはじめ関係者と広く協議する予定としていた。
- 3) メチレンブルー、リボフラビン及びアモトサレンについては、不活化キットを入手し代表的なウイルス及び細菌の不活化能、血液成分の品質への影響、不活化技術の操作性及び製造工程への影響及び安定供給への影響を評価してきた。
- 4) 安全性に係る情報については、開発メーカーから毒性試験結果、臨床試験結果及び市販後調査の情報収集を行い慎重に評価してきた。
- 5) 開発中の血小板製剤に対する紫外線 C 照射単独による不活化技術及び新たなリボフラビン処理についても、開発メーカー及び研究者から情報収集している。

2. 不活化技術導入に際しての留意点

- 1) 不活化技術は未だ開発途上である。
- 2) 不活化技術は一部の技術を除いて血液製剤に薬剤を添加して処理することから、不活化技術自体の安全性が問題となる。
- 3) 不活化処理により製剤の品質（凝固因子活性、血小板機能等）が多少なりとも損なわれる。
- 4) 技術の開発メーカーが承認を取得している処理製剤の容量規格に制限があり、我が国の献血状況や現行の輸血療法と合致しない点があり、安定供給するためには、現行の容量規格の整理及び開発メーカー側の容量規格変更が必要である。
- 5) 不活化キットの安定供給及び照射装置等の保守管理体制の整備を十分に勘案することが重要である。
- 6) 施設・機器の整備及び実運用に膨大なコストが掛かると考えられる。

【輸血用血液製剤と不活化技術の開発状況】

不活化技術 \ 製剤	赤血球製剤	血小板製剤		血漿製剤	
		10 単位 (200mL)	15 単位以上 (250mL)	400mL 由来 (240mL)	成分由来 (450mL)
メチレンブルー	×	×	×	○	○
リボフラビン	×	○	○	○	×
アモトサレン	×	×	○	×	○
紫外線 C	×	情報なし	情報なし	×	×

3. 病原体の不活化技術に対する評価

不活化技術の開発メーカーから情報を収集すると同時に、得られた情報の信憑性について、現時点で応用可能な不活化技術であるメチレンブルー（MB）、リボフラビン（VB2）及びアモトサレン（S59）に対して、安全性に関する試験を除いた次の事項について確認・評価した。

なお、紫外線 C 単独照射等の技術については、今後の検討予定である。

1) 病原体への不活化効果

(1) ウイルスの不活化

VSV(vesicular stomatitis virus) エンベロープがあるウイルスの代表
EMCV(encephalomyocarditis virus) エンベロープがないウイルスの代表

①メチレンブルー（MB）〔血漿製剤〕

ウイルス	検体No.	ウイルス量(pfu/mL)		不活化率 (log)
		処理前	処理後	
VSV	1	350,000	40	3.9
	2	250,000	170	3.2
	3	400,000	450	2.9
EMCV	1	190,000	230,000	-0.1
	2	550,000	600,000	0.0
	3	750,000	400,000	0.3

MBは血小板製剤には適用できない。

②リボフラビン（VB2）〔血漿製剤〕

ウイルス	検体No.	ウイルス量(pfu/mL)		不活化率 (log)
		処理前	処理後	
VSV	1	350,000	<5	>4.8
	2	500,000	<5	>5.0
	3	450,000	<5	>5.0
EMCV	1	2,000	5	2.6
	2	390,000	400	3.0
	3	800,000	400	3.3

リボフラビン（V B 2）〔血小板製剤〕

ウイルス	検体No.	ウイルス量(pfu/mL)		不活化率 (log)
		処理前	処理後	
VSV	1	1100,000	<5	>5.3
	2	800,000	<5	>5.2
	3	700,000	<5	>5.1
EMCV	1	450,000	600	2.9
	2	200,000	300	2.8
	3	600,000	850	2.8

③アモトサレン（S 5 9）〔血漿製剤〕

ウイルス	検体No.	ウイルス量(pfu/mL)		不活化率 (log)
		処理前	処理後	
VSV	1	450,000	6,500	1.8
	2	700,000	15,000	1.7
	3	550,000	3,200	2.2
EMCV	1	200,000	170,000	0.1
	2	150,000	120,000	0.1
	3	250,000	170,000	0.2

アモトサレン（S 5 9）〔血小板製剤〕

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	
VSV	1	4 倍未満	600000	0.5	6.1
	2	16 倍	850000	0	>6.2
	3	4 倍	110000	1	5.0
EMCV	1	32 倍	39000	5000	0.9
	2	16 倍	150000	160000	0
	3	4 倍未満	140000	29000	0.7

〔病原体への不活化効果について〕

不活化技術の開発メーカーからの情報通り広範囲のウイルスに有効であるが、ウイルスの種類や量などにより効果に限界があることも周知される必要がある。

- 1) エンベロープウイルスには概ね有効であるが、ウイルス濃度が最高となる時期の不活化効果は担保されていない(多くは 10^6 の減少すなわち 10^6 copies/bag = 10^4 copies/mL までしか担保されていない。なお、分画製剤は複数の不活化法により 10^9 以上の低減を担保している。)
- 2) HAV, B19 等のノンエンベロープウイルスのモデルウイルスである EMCV に対する不活化効果は、いずれの方法でも低い、リボフラビンが最も高く、次いで、メチレンブルー、アモトサレンの順であった。
- 3) アモトサレンは血漿を保存液で置換した血小板製剤に比して、血漿製剤ではウイルス不活化能が弱い結果であった。

(2) 細菌の不活化

Serratia marcescens (ATCC14756)

Staphylococcus epidermidis (ATCC14990、ATCC12228)

①メチレンブルー (MB) は血漿製剤が対象であることから細菌に対する不活化効果は評価していない。

②リボフラビン (VB2) [血小板製剤]

(低濃度添加試験) 単位 cfu/mL

細菌種類	検体	処理前	不活化処理後				
			処理直後	2日目	3日目	4日目	5日目
<i>S. marcescens</i> (ATCC14756)	①	1.3×10^2	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
	②	2.0×10^2	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
	③	6.4×10^2	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
<i>S. epidermidis</i> (ATCC14990)	①	1.1×10^2	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
	②	1.0×10^2	陰性	陰性	6.0×10^6	1.0×10^8	3.6×10^8
	③	2.2×10^2	陰性	陰性	2.6×10^7	1.0×10^8	2.3×10^8
	①*	1.2×10^2	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
	②*	1.6×10^2	陰性	陰性	1.8×10^4	3.4×10^8	6.2×10^8
	③*	1.2×10^2	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
<i>S. epidermidis</i> (ATCC12228)	①	1.0×10^2	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
	②	1.1×10^2	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
	③	1.1×10^2	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性

*再試験

(高濃度添加試験) 単位 cfu/mL

細菌種類	検体	処理前	不活化処理後				
			処理直後	2日目	3日目	4日目	5日目
<i>S. marcescens</i> (ATCC14756)	①	1.5×10^6	4.5×10^2	8.5×10^7	9.3×10^8	2.1×10^9	3.0×10^9
	②	4.0×10^6	6.9×10^2	7.9×10^8	1.5×10^9	1.8×10^9	1.2×10^9
	③	5.6×10^6	1.1×10^2	5.1×10^8	9.8×10^8	2.0×10^9	2.2×10^9
<i>S. epidermidis</i> (ATCC14990)	①	1.1×10^6	10	5.0×10^5	4.5×10^8	6.2×10^8	5.5×10^8
	②	1.1×10^6	1.5×10^3	2.1×10^7	5.2×10^8	6.9×10^8	7.1×10^8
	③	2.1×10^6	80	1.3×10^6	6.6×10^7	2.2×10^8	2.8×10^8

③アモトサレン (S59) [血小板製剤]

(低濃度添加試験) *S. marcescens* (ATCC14756)

不活化処理前			不活化処理後				
検体No.	接種後菌濃度 $\times 10^2$ cfu/mL	S-59 添加後菌濃度 $\times 10^2$ cfu/mL	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目
#10	1.05	0.95	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
#11	0.4	0.4	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
#12	0.95	0.9	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性

(高濃度添加試験) *S. marcescens* (JMC1239)

検体No.	不活化処理前		不活化処理後	
	接種後菌濃度 cfu/mL	S-59 添加後菌濃度 cfu/mL	菌数	
#4	5×10^4	4×10^3	陰性	
#5	5×10^3	5×10^3	陰性	
#6	4×10^5	1.5×10^4	陰性	

(低濃度添加試験) *S. epidermidis* (ATCC14990)

検体No.	不活化処理前		不活化処理後				
	接種後菌濃度 $\times 10^3$ cfu/mL	S-59 添加後菌濃度 $\times 10^3$ cfu/mL	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目
#7	1.455	1.42	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
#8	1.395	1.345	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
#9	1.39	1.35	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性

【追加データ】

血小板製剤による敗血症は7年間に2例で諸外国に比して少ない。これは、問診、徹底した皮膚消毒に加え、有効期間が短いことが安全対策上の効果として大きい。ただし、発症例の転帰は死亡であった。

血小板製剤を対象に初流血除去導入の効果について培養試験で評価した結果、下表のごとく細菌の混入率は半減していた。

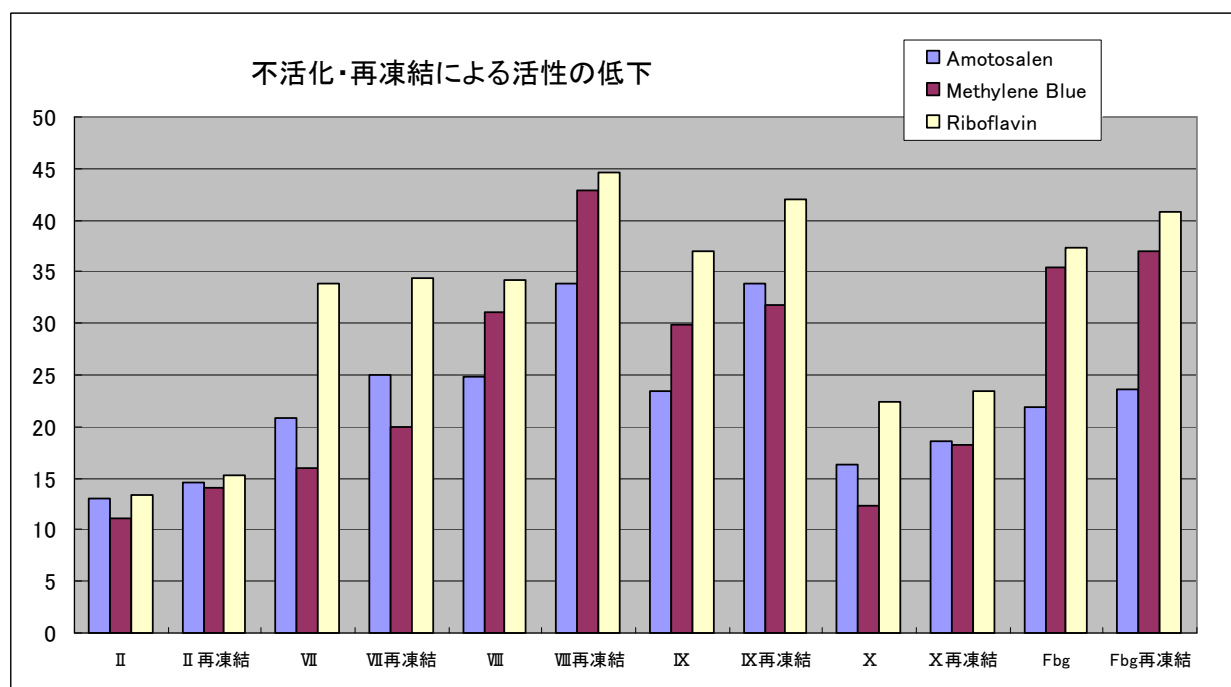
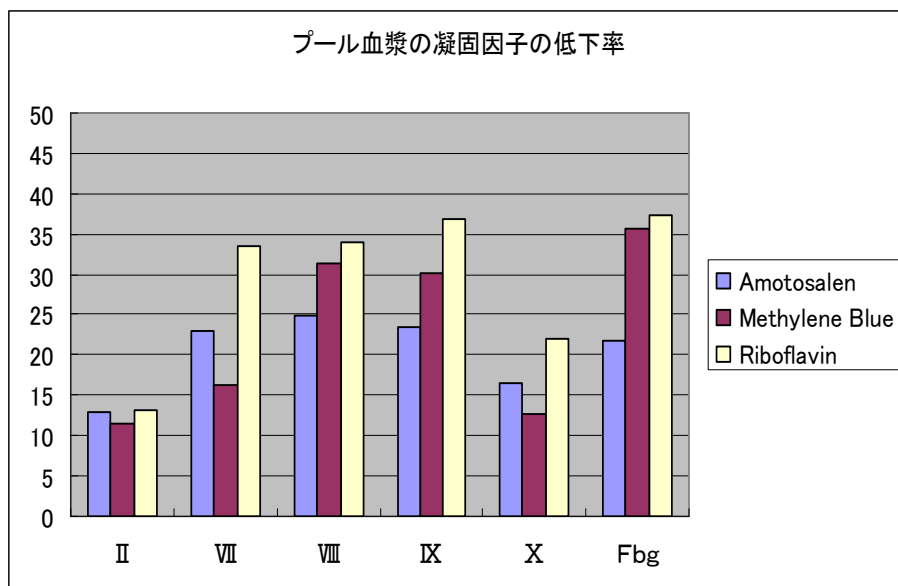
血小板製剤における細菌混入率

	初流血除去導入前	初流血除去導入後
全ての細菌	0.211%	0.095%
アクネ菌を除く細菌	0.075%	0.025%

- 1) 一般に、細菌については広範囲に不活化できるが、芽胞菌に対する不活化効果は低いといわれている。
- 2) アモトサレンは2種類の細菌への不活化ができたが、リボフラビンは特定のブドウ球菌に対しての不活化効果が低かった。
- 3) リボフラビンについては、血漿を60-70%除去した後にリボフラビンを加えて不活化し、その後に、置換液を加える第2世代の方法を開発中と言われており、その方法について評価する予定である。

2) 不活化処理した製剤への影響

(1) 血漿製剤



いずれの方法においても血液成分の品質の低下が認められる。

- 1) 不活化処理工程により血漿量は約 10%低下する。凝固因子活性については最も不安定な第 8 因子、フィブリノゲンでは 60-70%まで活性が低下する。
- 2) 唯一臨床使用されているメチレンブルー処理製剤は、未処理製剤と比較して、使用量に変化が無いという報告がある。
- 3) 大量出血時の希釈性凝固障害時には、不活化処理血漿の使用量が増加する可能性が示唆された。