

委員からの質問に対する各社からの回答

- 平成20年4月8日開催 血液事業部会運営委員会・安全技術調査会 合同委員会
質問事項等まとめ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・2
 - ・ マコファルマ社回答・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・5
 - ・ BCT Japan 株式会社回答・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・6
((4)の質問について、4月8日合同委員会後の追加説明あり)
 - ・ バイオワン株式会社回答・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・16

- 平成20年4月8日開催 血液事業部会運営委員会・安全技術調査会 合同委員会後
追加質問事項1(バイオワン社のみ)・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・27
 - ・ バイオワン株式会社回答・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・28

- 平成20年4月8日開催 血液事業部会運営委員会・安全技術調査会 合同委員会後
追加質問事項2・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・31
 - ・ マコファルマ社回答・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・32
 - ・ (参考)マコファルマ社回答(英語)・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・34
 - ・ BCT Japan 株式会社回答・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・37
 - ・ (参考)BCT Japan 株式会社回答(英語)、参考資料(文献2報)・・・・40
 - ・ バイオワン株式会社回答・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・57

平成20年4月8日開催 血液事業部会運営委員会・安全技術調

査会合同委員会 質問事項等まとめ

1. 質問事項及び議論に必要なデータ等(全ての技術に対する質問)

○不活化剤の体内動態、安全性について

- (1) 不活化剤の代謝(薬剤の排泄経路)。反復投与した場合の排泄、分解、蓄積の詳細。腎臓あるいは肝障害患者の場合の配慮。代謝(排泄完了)に要する時間。
- (2) 不活化剤の体内分布、特にレンズ等への蓄積など。不活化処理血液製剤を大量に使った場合の安全性は。
- (3) 不活化剤を除去した後、一定濃度以下であれば安全という科学的根拠は。
- (4) 他の薬剤との反応と、その問題点。
- (5) (薬剤としての)不活化剤の用法、用量、使用上の注意など(取り扱い説明書)
- (6) reduction ratio が主で、安全性試験の情報がない。

○不活化効果について

- (7) 不活化効果(log をどの様にして求めたのか:使用したモデルウイルス・培養細胞など)
- (8) (3剤)不活化強度の比較。
- (9) 不活化効果の評価法の妥当性(モデルウイルスのデータのみでよいか)。
- (10) 不活化の対象病原体。ウイルス(HBV、HCV、HIV、その他未知のウイルスも含む?細菌?原虫?)
- (11) 不活化法の導入で、現在の輸血用血液製剤の感染リスクのそれぞれがどれだけ減少できると考えられるか?(それぞれの病原体に対する推定値とその根拠)また、外国の導入例において、どのような輸血後感染リスクがどれだけ減少したかを比較検証(あるいは推測)できるデータがあればその提示もお願いしたい。

○不活化剤除去について

- (12) (除去後の)不活化剤の製剤中の残存率は。不活化剤を添加した後の回収をどのように計算しているのか。
- (13) (除去に伴う)製剤自体の減損率
- (14) (除去に伴う)製剤の生物活性の低下率

○その他(日本、海外の状況等)

- (15) 国内、国外における治験研究の現状は。

- (16) 海外で治験(トライアル)ではなく、正式に導入している実績はどれほどか。
- (17) 危機管理体制確保の一環としての基礎的研究(治験研究)チーム設定の可能性は。
- (18) 不活化技術により現在の感染症検査のうち、何を省略できるのか。できないとしたら現在のわが国のような感染症検査が行われている国では屋上屋を架すこととならないか。また、海外で省略できている項目はあるのか。
- (19) コストベネフィットの問題だけでなく、日本では放射線照射をしているが、不活化との相乗で製剤が使い物にならないのではないか？その治験を行えるのか。HLAの近い日本人で輸血後GVHD予防のために照射をやめられるか。
- (20) 薬物添加以外の方法による不活化法の検討は。γ線照射による細菌滅菌の現状は。

2. 質問事項及び議論に必要なデータ等(各技術に対する質問)

1. MB

- 1) 処理後 C5a が 3 倍に増加している。これは処理によって補体が活性化した結果であり、血管透過性の亢進などアレルギー反応が増加する可能性がある。また、大量に投与することがあるので、投与可能な血漿量の検討はされているのか？
- 2) MB と結合する血漿タンパクはないのか？もし、血漿タンパクのなかで結合する因子があった場合、体内での沈着部位は確認されているのでしょうか？例えば、皮膚などにMBと結合したタンパクが存在した場合、日光によって再度、1重項酸素が産生され、組織が破壊される可能性はないのか？
- 3) MBと結合した血漿タンパクが処理によって発生する1重項酸素のために構造等が変化してネオアンチゲンとなって、血漿タンパクに対する自己抗体が産生されないのか？特に、自己免疫疾患やアトピーの患者に投与する場合は自己抗体が作られやすくなる可能性はないのか？
- 4) 導入した地域・国で導入後感染症が減少したとのデータがあれば提示していただきたい。また、導入後に感染症が発生した症例があれば、その理由(例えば、処理能力以上にウイルス量が多かった等)も示していただきたい。
- 5) 今までの投与実績と報告された重篤な副作用例があれば示していただきたい。

2 アモトサレン

- 6) 各種毒性試験の具体的な記載がなく、例えば、単回投与での毒性なし、といっても何頭使用して、どういう毒性を検討したのか全く不明。他の毒性試験も同様である。具体的な記載と、毒性の専門家の意見を聞きたい。
- 7) 不活化処理後のアモトサレン除去によっても 2mg のアモトサレンが血漿と結合して残存する。血漿タンパクと結合したアモトサレンはどのように代謝されるのか？

また、体内に結合したまま沈着する可能性を検討したことがあるか？例えば、皮膚などにMBと結合したタンパクが存在した場合、日光によって組織が破壊される可能性はないのか？

- 8) アモトサレンと血漿タンパクが結合して構造等が変化してネオアンチゲンとならないか？そのため、血漿タンパクに対する自己抗体が産生されないのか？特に、自己免疫疾患やアトピーの患者に投与する場合は自己抗体が作られやすくなる可能性はないのか？反復投与後の副作用として自己抗体産生の症例はないのか？
- 9) 導入した地域・国で導入後感染症が減少したとのデータがあれば提示していただきたい。また、導入後に感染症が発生した症例があれば、その理由（例えば、処理能力以上にウイルス量が多かった等）も示していただきたい。
- 10) 今までの投与実績と報告された重篤な副作用例があれば示していただきたい。
- 11) 血小板において2mgのアモトサレンが血漿と結合して残存するが、新鮮凍結血漿ではさらに多くのアモトサレンが血漿に結合して残存する可能性がある。血漿のデータがないので用意していただきたい。

3. リボフラビン

- 12) 結合する血漿タンパクはないのか？もし、血漿タンパクのなかで結合する因子があった場合、体内での沈着部位は確認されているのか。例えば、皮膚・眼球などに結合したタンパクが存在した場合、日光によって再度、活性化され組織が破壊される可能性はないのか？
- 13) 導入した地域・国で導入後感染症が減少したとのデータがあれば提示していただきたい。また、導入後に感染症が発生した症例があれば、その理由（例えば、処理能力以上にウイルス量が多かった等）も示していただきたい。
- 14) 今までの投与実績と報告された重篤な副作用例があれば示していただきたい。

3. 主な意見

- (1) 議論の時間が『時間切れ』になることは好ましくなく、時間を十分確保して行うべき。
- (2) 毒性学の専門家の意見を聞きたい。テルモ等、機器の滅菌を行っている人達は、病原性因子の不活化について（ γ 線照射など）むしろ医学関係者よりも詳しい。いずれ不活化の毒性の検討が必要。
- (3) 導入にあたっては、日赤などで不活化をきちんと評価する体制が必要。
- (4) 危機管理体制として不活化技術を利用するというのが現在の最も有効な利用対象ではないか。

マコファルマ社回答

回答は非公開。

BCT Japan 株式会社回答

平成20年4月8日開催 血液事業部会運営委員会・安全技術調査会合同委員会
不活化技術を有する事業者に対する質問事項等まとめ(配布用)

1. 質問事項及び議論に必要なデータ等(全ての技術に対する質問)

○不活化剤の体内動態、安全性について

Mirasol PRT 製品の安全性および毒性プロファイルに関する詳細は、“MIRASOL Monograph”, 第三章「MIRASOL 処置の安全性プロファイル」にその大半が記載されている。

- (1) 不活化剤の代謝(薬剤の排泄経路)。反復投与した場合の排泄、分解、蓄積の詳細。腎臓あるいは肝障害患者の場合の配慮。代謝(排泄完了)に要する時間。

Mirasol PRT System は、軽質の合成リボフラビン(ビタミン B2)を使用して、ドナーから採取した血小板内の病原体数を低減させる。リボフラビンを濃縮血小板に補助的な方法で使用し、混入病原体数を減らすことで、リボフラビンそのものの効果が人体外で発揮される。なお、リボフラビンには人体への代謝的もしくは生物学的作用が皆無のため、本システムにおいてリボフラビンが医薬品として作用することはない。

リボフラビンの薬物動態調査では、血漿からのリボフラビンの除去は主として尿中排泄によって行われるが、これによるリボフラビンの半減時間はおよそ 9.9 時間であると報告されている。また、病因や治療方法がさまざまに異なる肝硬変患者間の追加調査では、リボフラビンの代謝回転数になんら変動は見られなかった。一方、光分解リボフラビンの消失半減観測時間は、対人体の約 3.8 倍の Mirasol 処置血漿を投与したラットの実験において、約 55 時間であると判定された。

亜慢性毒性試験は、対人体と同量の Mirasol 処置血漿を週 6 日、13 週間投与したビーグル犬を用いて行われ、その結果、被験犬のいずれにも被験物質毒性が認められなかった。実験群と対照群からそれぞれ採取した肝臓を顕微鏡で観察したところ、後者群の肝臓にやや強めの炎症が認められ、それ以外に特筆すべき点は何もなかった。

(2) 不活化剤の体内分布、特にレンズ等への蓄積など。不活化処理血液製剤を大量に使った場合の安全性は。

リボフラビンの LD₅₀ (50%致死量) を判定するための調査がいくつか実施済みで、これらは“Reddy ら”に要約されている。LD₅₀ は、一部の調査で判定できたが、その他においては、最大 10,000vmg/kg と、相当量のリボフラビンを投与しても判定が不可能であった。Mirasol 処置血小板/血漿 (輸液単位) の曝露レベル値 0.077mg/kg をマウスの静脈リボフラビンの LD₅₀ 報告値 50 – 100 mg/kg と比較した場合、少なくとも 649 (50/0,077) という安全係数が得られる。現時点では、リボフラビンの最大無有害性影響量は明らかではないが、かといって、MIRASOL 処置血液成分の輸血におけるリボフラビンおよびその光分解生成物への曝露レベルが有毒に作用する、との予見にはつながらない。

対 MIRASOL 処置血液成分曝露を最大可能レベルで繰り返し行ったが、主な生理機能になんら悪影響はなく、また標的臓器の毒性も検出されなかった。

Navigant による亜慢性毒性生体試験では、ビーグル犬に Mirasol 処置血漿を週 6 日 13 週間連続して投与したわけだが、検眼テストにおいても何ら異常は認められなかった。

(3) 不活化剤を除去した後、一定濃度以下であれば安全という科学的根拠は。

リボフラビンおよびその光分解生成物は、いずれも人体内で自然発生するものであり、除去する必要はない。

(4) 他の薬剤との反応と、その問題点。

テトラサイクリンとトリメトプリム・スルファメトキサゾール配合剤 (抗生物質) : リボフラビンはこれらの吸収/効果を阻害するため、同時摂取してはならない。

クロロキンおよびメフロキン : リボフラビンは、これら抗マラリア医薬治療剤の効果を低減する可能性がある。

(4 月 8 日合同委員会における質問に対する追加説明)
Updated response to Question (4) from initial Q&A document:

(4) 他の薬剤との相互作用とその問題について

Mirasol PRT 処理の使用に関連して、懸念を惹起するような薬物相互作用が一切ないと結論づける in-vivo の最終報告はありません。

当初、厚生労働省に提供させていただいた Tetracycline(テトラサイクリン)及びトリメトプリム・スルファメトキサゾール配合剤 (Trimethoprim - sulfamethoxazole) とリボフラビン (Riboflavin) の相互作用の可能性に関する情報は、主に in-vitro 研究文献報告にもとづくものでした。それらの研究ではリボフラビン溶液が若干の潜在的影響を示唆するものでした。

とりわけ Mirasol アプリケーションに特有なこの件に関する詳細報告は、弊社とは一切関係のない毒性研究の専門家により現在準備されており、ご請求によりいつでも入手可能となります。

(5) (薬剤としての)不活化剤の用法、用量、使用上の注意など(取り扱い説明書)

リボフラビン (ビタミン B2) は 13 種の必須ビタミンのひとつで、栄養補助食品として幅広く用いられ、この認可着色剤は薬物とはみなされない。リボフラビンは、「欧州委員会科学評議会」でも認められており、またアメリカの「食品医薬品局」では、“一般に安全と認められる食品” に分類されている。リボフラビンの推奨日常摂取量は、平均的成人男子で最大約 1,3 mg、同女性で最大 1.1mg、授乳中の女性で最大 1.6mg である。また、リボフラビン欠乏症のための推奨治療量は、成人で 1 日 ≤ 30 mg である。なお、リボフラビンの安全性は、経口・皮下・腹腔・静脈等の投与経路で実証済みである。

マルチビタミン投与の一環であるリボフラビン補給は、早産児の経静脈栄養摂取法とよく併用される。この患者集団のリボフラビンの投与レベルは次のとおりで、一般的に日常推奨摂取量 (0.15 ~ 0.2 mg/kg) を超過しているが、リボフラビンによる副作用は報告されていない : 0.62 mg/kg、0.66 mg/kg、0.43~0.72 mg/kg

(6) Reduction ratio が主で、安全性試験の情報がない。

以下は、下記出版物からの抜粋である :

“Toxicity Testing of a Novel Riboflavin-Based Technology for Pathogen Reduction and White Blood Cell Inactivation; Reddy, H. et al. (2008) *Transfusion Medicine Reviews*, 22(2): 133-153

人体におけるリボフラビンおよびその光分解生成物への可能曝露レベルは0.077 mg/kg (ただし輸液単位) である。臨床条件下において受血者へのリボフラビンおよび光分解生成物への可能曝露値は、平均体重70kg、公称リボフラビン溶液濃度500 μ mol/L、平均リボフラビン光変換率18%であり、公称リボフラビン溶液量35mLを前提として計算した。この曝露レベルは、生物集団の50%が生存した致死量報告地と比較するに値し、具体的には次のとおりである：マウスにリボフラビン (50-100 mg/kg)³⁰を点滴投与、最低安全係数 $50/0.077 = 649$

ただし、この安全係数計算は、人体内でのリボフラビンの中毒量について、臨床資料やしかるべき動物実験の確かなデータが存在しないため、最大無有害性影響量がいまだ不明であり、いくぶん疑似的である。

明らかに高いレベルの曝露が血小板または血漿輸血により起こらない限り、MirasolPRT 処置製剤中のリボフラビン及び光生成物の非経口曝露による人体への有毒性を予見すべき根拠は何もない。

同様の理由により、血小板にMirasol PRT処理を施した後の曝露値とリボフラビンの一日の摂取許容量(ADI) $0 \sim 0.54 \text{ mg} \times \text{kg}^{-1} \times \text{d}^{-1}$ を比較した場合もまた誤解を招きかねない；ADIは生涯的かつ日常的な食物中物質への曝露値を示すものであり、仮にADI摂取を週に数回、数ヶ月間続けたとしても、短期的経口曝露の適正な比較子にはならない。

生理的必須物質にとっては正常といえない状況下、リボフラビンとその光分解生成物の生体内における毒性試験値は低い、という毒物学者の最適アドバイスがある。

Mirasol PRTシステムは、広範囲に及ぶ臨床前評価プログラムによって評価が行われており、人体における安全プロファイルを取り扱った本評価試験の結果に加え、リボフラビンとその光分解生成物の履歴資料も提供できる状況にある。本評価試験で取得・報告されたデータは、資料中のデータと整合性がとれており、かつ、輸血時の本システムの使用による毒性リスクは低いとされている。

○不活化効果について

(7) 不活化効果(log をどの様にして求めたのか:使用したモデルウイルス・培養細胞など)

“MIRASOL Monograph” 第四章を参照のこと。

(8) (3剤)不活化強度の比較。

“MIRASOL Monograph” 第四章を参照のこと。

(9) 不活化効果の評価法の妥当性(モデルウイルスのデータのみでよいか)。

“MIRASOL Monograph” 第四章を参照のこと。

(10) 不活化の対象病原体。ウイルス(HBV、HCV、HIV、その他未知のウイルスも含む?細菌?原虫?)

“MIRASOL Monograph” 第四章および第五章を参照のこと。

(11) 不活化法の導入で、現在の輸血用血液製剤の感染リスクのそれぞれがどれだけ減少できると考えられるか?(それぞれの病原体に対する推定値とその根拠)また、外国の導入例において、どのような輸血後感染リスクがどれだけ減少したかを比較検証(あるいは推測)できるデータがあればその提示もお願いしたい。

本件について、Mirasol 製品関連データはいまだ取得されていない。現時点で取得している限定情報をもとにモデル化を行うことはできない。

○不活化剤除去について

(12) (除去後の)不活化剤の製剤中の残存率は、不活化剤を添加した後の回収をどのように計算しているのか。

MIRASOL システムでは、リボフラビンおよびその光分解生成物の残渣を除去する必要はない。本システムで使用する光感作化学物質は、全光分解生成物と共に人血中で認識されており、除去手段を必要としない。実際にリスクを解析した結果、本システムで化合物除去作業を行うと对患者リスク率が増加するであろうということがわかった。(当然のことだが、本除去作業は、未知もしくは被疑毒性プロファイルをもつ合成化合物支援システムにおいては適切なリスクの軽減手段である。)

(13) (除去に伴う)製剤自体の減損率

リボフラビンの吸収半減時間は 1.1 時間で、これは血液から組織またはその他の流体への吸収による半減時間をさす。この他、処置済み濃縮血小板輸血一時間後に採取した患者の血液サンプルを使った HPLC テストでは、血中のリボフラビンレベルは基準値に迅速に戻ることが示された。前述のとおり、リボフラビンの血漿からの除去は主に尿中排泄によって行われるが、これによるリボフラビンの半減時間は 9.9 時間であると実証されている。

血小板の減損率は約 2% (PLT Loss)。

血小板の品質に関する詳細については“MIRASOL Monograph”第六章を参照のこと。

(14) (除去に伴う)製剤の生物活性の低下率

Mirasol 処置血小板は、フランスにおける血小板減少疾患患者の臨床試験でその有効性が証明されている。血漿中の血小板の生存期間は5日間、血小板添加溶液中の血小板のそれは7日であると実証された。

詳細については“MIRASOL Monograph”第六章を参照のこと。

○その他(日本、海外の状況等)

(15) 国内、国外における治験研究の現状は。

Navigant Biotechnologies, LLC では、日本においては臨床試験を実施していないが、フランスでは大規模な治験を最近執り行い、そのデータを解析中である。スペイン、イタリア、リトアニアでは、MIRASOL 処置血小板が輸血用として継続的に使用されている。また FDA からは、MIRASOL 処置済全血について、この全血からの赤血球分離および長期保存処置の実施許可を受領した。

(16) 海外で治験(トライアル)ではなく、正式に導入している実績はどれほどか。

血小板向けとして、CE マーキング認識 MIRASOL システムの販売が各国で開始されている。当社では、本システムの販売許可を2007年10月後半に取得した。スペイン、イタリア、リビア、リトアニア各国の多数の血液センターでは、本システムを継続的に使用し始めている。なお、要請があり次第マニュアルを支給する予定である。

(17) 危機管理体制確保の一環としての基礎的研究(治験研究)チーム設定の可能性は。

Gambro BCT および Navigant 間では、潜在的装置関連事故に関する情報を受領・調査する制度が確立している。この管理制度には、医師、医療従事者、科学者、技師の専門知識が必要である。Gambro BCT は、将来的に科学調査グループを設立し、PRT を専門とする品質部門を強化する予定であり、日本国内の大学や日本赤十字社と提携し、あらゆる基本臨床研究が可能になるはずである。

(18) 不活化技術により現在の感染症検査のうち、何を省略できるのか。できないとしたら現在のわが国のような感染症検査が行われている国では屋上屋を架すこととならないか。また、海外で省略できている項目はあるのか。

当社の目的は、病原体および残余白血球を不活化する手段を提供し、最も安全な血液製剤の供給をサポートすることにある。この最終目的を達成するため、当社は、特異的試験の排除を特定の政府機関や見込み客だけに提言しない方針をとっている。Mirasol システム導入時に排除すべき試験があれば、どれを排除すべきかを決断するための支援データを顧客に提供する。また、地理情報変数（感染率、新興病原体の危険率等）をとり入れることにより、余分な試験を排除するための適正かつ各顧客に即した決定がなされることになる。

- (19) コストベネフィットの問題だけでなく、日本では放射線照射をしているが、不活化との相乗で製剤が使い物にならないのではないのか？その治験を行えるのか。HLAの近い日本人で輸血後GVHD予防のために照射をやめられるか。

Navigant は、これまで広範囲に及ぶ生体内実験や動物実験を実施し、白血球細胞を不活化して γ 線照射レベルと同程度、もしくはそれ以上にするための技術を実証してきた。フランスでとり行われた臨床試験では、白血球細胞レベルを落とすか、もしくは γ 線照射レベルでキープするか否かの決断が治験医師にゆだねられた。一方 90%以上の症例において、Mirasol システム処理製剤の場合 γ 線照射を行わないという決断がなされている。ただし、臨床試験で規制対象とされている場合、大多数の患者に γ 照射製剤が使用されている。

- (20) 薬物添加以外の方法による不活化法の検討は。 γ 線照射による細菌滅菌の現状は。

Navigant で開発中の MIRASOL システムは、現段階では薬剤を必要とせず、光線感作化学物質として自然発生ビタミンであるリボフラビンを使用している。現に、Mirasol 処置でリボフラビンが使用されていることからわかるように、リボフラビンを薬剤とみなす規制制度が存在しないことは周知のとおりである。

リボフラビンを光感作化学物質として使用すると、病原体の核酸に回復不能なダメージが生じる。一方、リボフラビンを使用せず紫外線のみ単独で照射した場合、これらの核酸ダメージが回復可能となる、という問題が生じるため、紫外線のみ依存する前計算放射輝度伝達方法は、その効果が弱いと確信する。

γ 線照射により不安定な血液製剤内の細菌を不活化する最近の技術について、弊社は詳細な知識を持ち得ない。

2. 質問事項及び議論に必要なデータ等(各技術に対する質問)

1. MB

- 1) 処理後 C5a が 3 倍に増加している。これは処理によって補体が活性化した結果であり、血管透過性の亢進などアレルギー反応が増加する可能性がある。また、大量に投与することがあるので、投与可能な血漿量の検討はされているのか？
- 2) MB と結合する血漿タンパクはないのか？もし、血漿タンパクのなかで結合する因子があった場合、体内での沈着部位は確認されているのでしょうか？例えば、皮膚などにMBと結合したタンパクが存在した場合、日光によって再度、1重項酸素が産生され、組織が破壊される可能性はないのか？
- 3) MBと結合した血漿タンパクが処理によって発生する1重項酸素のために構造等が変化してネオアンチゲンとなって、血漿タンパクに対する自己抗体が産生されないのか？特に、自己免疫疾患やアトピーの患者に投与する場合は自己抗体が作られやすくなる可能性はないのか？
- 4) 導入した地域・国で導入後感染症が減少したとのデータがあれば提示していただきたい。また、導入後に感染症が発生した症例があれば、その理由(例えば、処理能力以上にウイルス量が多かった等)も示していただきたい。
- 5) 今までの投与実績と報告された重篤な副作用例があれば示していただきたい。

2 アモトサレン

- 6) 各種毒性試験の具体的な記載がなく、例えば、単回投与での毒性なし、といっても何頭使用して、どういう毒性を検討したのか全く不明。他の毒性試験も同様である。具体的な記載と、毒性の専門家の意見を聞きたい。
- 7) 不活化処理後のアモトサレン除去によっても 2mg のアモトサレンが血漿と結合して残存する。血漿タンパクと結合したアモトサレンはどのように代謝されるのか？また、体内に結合したまま沈着する可能性を検討したことがあるか？例えば、皮膚などにMBと結合したタンパクが存在した場合、日光によって組織が破壊される可能性はないのか？
- 8) アモトサレンと血漿タンパクが結合して構造等が変化してネオアンチゲンとならないか？そのため、血漿タンパクに対する自己抗体が産生されないのか？特に、自己免疫疾患やアトピーの患者に投与する場合は自己抗体が作られやすくなる可能性はないのか？反復投与後の副作用として自己抗体産生の症例はないのか？
- 9) 導入した地域・国で導入後感染症が減少したとのデータがあれば提示していただきたい。また、導入後に感染症が発生した症例があれば、その理由(例えば、処理能力以上にウイルス量が多かった等)も示していただきたい。

- 10) 今までの投与実績と報告された重篤な副作用例があれば示していただきたい。
- 11) 血小板において2mgのアモトサレンが血漿と結合して残存するが、新鮮凍結血漿ではさらに多くのアモトサレンが血漿に結合して残存する可能性がある。血漿のデータがないので用意していただきたい。

3.リボフラビン

- 12) 結合する血漿タンパクはないのか？もし、血漿タンパクのなかで結合する因子があった場合、体内での沈着部位は確認されているのか。例えば、皮膚・眼球などに結合したタンパクが存在した場合、日光によって再度、活性化され組織が破壊される可能性はないのか？

当社が執り行った調査では、リボフラビンが血漿タンパク質、赤血球表面タンパク質、もしくはその他の表面タンパク質のいずれにも結合しないことが示された。リボフラビンは、電子転送中に電子を取得して作用するが、たとえばソラレンを使用するような競合技術では、実際のところタンパク質の二重結合や核酸に結合する。

リボフラビンは Mirasol 処置後のタンパク質とは共有結合しないため、リボフラビンの高濃度領域もしくは自然タンパク質／細胞との結合が患者への安全性に悪影響を及ぼすものとは考えられない。前述のとおり、リボフラビンには水溶性があり、人体から迅速に排出される。

赤血球は、当然ある種のタンパク質と結合しているが、皮膚や眼球への局部集中はありえない。次の出版物を参照されたい： Rao P, et al. Elevation of serum riboflavin carrier protein in breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1999 Nov;8(11):985-90, Watson CD, Ford HC) . High-affinity binding of riboflavin and FAD by immunoglobulins from normal human serum. *Biochem Int.* 1988 Jun;16(6):1067-74. High-affinity binding of riboflavin and FAD by immunoglobulins from normal human serum.

- 13) 導入した地域・国で導入後感染症が減少したとのデータがあれば提示していただきたい。また、導入後に感染症が発生した症例があれば、その理由（例えば、処理能力以上にウイルス量が多かった等）も示していただきたい。

本件についてはデータはない。

- 14) 今までの投与実績と報告された重篤な副作用例があれば示していただきたい。

現時点までの臨床データには、装置関連の有害事象は一切含まれていない。とりわけ、血小板の不適応性や赤血球の同種免疫性を著しく高めるような事象は確認されていない。

3. 主な意見

- (1) 議論の時間が『時間切れ』になることは好ましくなく、時間を十分確保して行うべき。
- (2) 毒性学の専門家の意見を聞きたい。テルモ等、機器の滅菌を行っている人達は、病原性因子の不活化について(γ線照射など)むしろ医学関係者よりも詳しい。いずれ不活化の毒性の検討が必要。
- (3) 導入にあたっては、日赤などで不活化をきちんと評価する体制が必要。
- (4) 危機管理体制として不活化技術を利用するというのが現在の最も有効な利用対象ではないか。

バイオワン株式会社回答

平成20年4月8日開催 血液事業部会運営委員会・安全技術調査会合同委員会
不活化技術を有する事業者に対する質問事項等まとめ(配布用)

1. 質問事項及び議論に必要なデータ等(全ての技術に対する質問)

IBS : InterCept Blood System の略。S-59 による不活化技術をさす。

IBS 処理 : S-59 による不活化処理をさす。

○不活化剤の体内動態、安全性について

(1) 不活化剤の代謝(薬剤の排泄経路)。反復投与した場合の排泄、分解、蓄積の詳細。腎臓あるいは肝障害患者の場合の配慮。代謝(排泄完了)に要する時間。

*S-59 の体内動態・代謝・蓄積性。

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 $0.31 \mu\text{M}$ ($25.1 \mu\text{g/body}$)、最高血中濃度の平均値は 1113pg/mL 、半減期の平均値は 428.1min 、AUC の平均値は $15.1\text{ng/L}\cdot\text{min}$ 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。

*肝機能障害又は腎機能障害に対する場合の代謝。

血漿用 IBS の臨床試験において、肝障害患者を対象にしたランダム化比較試験が実施されているが、有害事象の発現に有意差は認められなかった。血漿用 IBS の臨床試験において、肝障害患者を対象にしたランダム化比較試験が実施されているが、有害事象の発現に有意差は認められなかった。

腎不全の患者では血小板と血漿で臨床試験をしたが蓄積性など問題はなかった。血小板の1ユニットの輸血では血中のピークレベルは 1ng/ml 程度ですぐに消失した。血漿1Litter 輸血後でもピークレベルは 10ng/ml ですぐに消失した。

(2) 不活化剤の体内分布、特にレンズ等への蓄積など。不活化処理血液製剤を大

量に使った場合の安全性は。

S-59 単体での代謝をラット、マウスを用いて試験したところ、半減期は 0.8 時間であり、一方血小板と一緒に投与した場合 ヒトで 6.5 時間、イヌで 7.2 時間と代謝は早い。また 28 日間の連続投与でも蓄積性は見られず、臓器蓄積性(特別な臓器のみ蓄積する)は認められていない。

C14-S-59 によりラットにおける体内分布を確認したところ、表のように脳、眼の濃度は非常に低い。in vivo 試験では臨床使用量の x40000 をマウスに投与しても毒性は認められず、安全域は非常に広い。

臨床的には血漿交換などの治療においてほぼ同時に 100 処理分相当量以上の血漿を輸血しているが、副作用は報告されていない(17 例で 3185 血漿を輸血:平均 187 血漿/ヒト)

(3) 不活化剤を除去した後、一定濃度以下であれば安全という科学的根拠は。

欧州において 2 本の Phase III B スタディが実施されている。これらの試験において、残留 S-59 量が測定されている。設定された目標値は $0.5 \mu\text{M}$ ($50 \mu\text{g}/300\text{ml}$) であり、結果として平均値はそれぞれ $0.4 \mu\text{M}$ 及び $0.46 \mu\text{M}$ であった。

一方、イヌにおいて $25\text{mg}/\text{kg}$ 、28 日間連続投与しても毒性所見は報告されていない。この量は、臨床で血小板がヒトに輸血された場合の S-59 体内混入量 ($0.4 \mu\text{g}/\text{kg}$) と比較した場合、60000 倍と非常に高く、安全域が大きいことを示している。

また、本設定における安全性は、同じく欧州及び米国において実施された Phase III Study において、IBS 処理済み血小板濃厚液と通常の血小板濃厚液の間に有意差を示した有害事象は観察されなかった。また、Phase III B、10000 輸血以上を集積した Hemovigilance Study、小児を対象とした Study、約 120000 輸血以上の実績において特異的な有害事象は観察されていないことから、上記の残留 S-59 量の設定が適切あるいは許容できると考えられる。

(4) 他の薬剤との反応と、その問題点。

薬剤相互作用についての試験、解析は実施されていない。しかし、臨床試験で一般的に使用されている薬剤と併用されているが、特別な問題は生じていない。

(5) (薬剤としての)不活化剤の用法、用量、使用上の注意など(取り扱い説明書)

S-59 は人体に対する直接的な治療効果を目的とした化学物質ではないので医薬品として取り扱われることはない。

本医療機器には S-59 溶液 ($1.01 \text{g}/\text{L}$) が 15mL 又は 17.5mL 含まれており、これを血小板と混合し紫外線 A ($320-400\text{nm}$ でエネルギーが低く最も可視光に近い紫外線) を照射することにより病原体を不活化することが可能となる。

万一 S-59 溶液を皮膚等に付着させてしまった場合は、MSDS (Material Safety Data Sheet) の指針に従い速やかに大量の水で洗浄する。

(6) reduction ratio が主で、安全性試験の情報がない。

前臨床試験において多くの毒性試験が ICH の医薬品のガイドラインに従って実施されている。その結果、臨床使用量の 40000 倍で遺伝毒性は認められておらず、安全性は高い。また、安全性のデータは

米国FDAでは審査が終了し、EUのCEマーク、フランス AFFSAP、ドイツPEIで承認されている。

一方、本設定における安全性は、同じく欧州及び米国において実施された Phase III Study において、IBS 処理済み血小板濃厚液と通常の血小板濃厚液の間に有意差を示した有害事象は観察されなかった。また、Phase III B、10000 輸血以上を集積した Hemovigilance Study、小児を対象とした Study、約 120000 輸血以上の実績において特異的な有害事象は観察されていないことから、上記の残留 S-59 量の設定が適切あるいは許容できると考えられる。

毒性試験の結果については 080401 概要の 7. 毒性試験 参照。

○不活化効果について

(7) 不活化効果(log をどの様にして求めたのか:使用したモデルウイルス・培養細胞など)

(8) (3剤)不活化強度の比較。

(9) 不活化効果の評価法の妥当性(モデルウイルスのデータのみでよいか)。

(10) 不活化の対象病原体。ウイルス(HBV、HCV、HIV、その他未知のウイルスも含む?細菌?原虫?)

(7)(9)(10)に関して

不活化効果については 080401 概要の 3. S-59 による病原因子の不活化能力 及び 不活化効果試験の Assay Method 参照。

インターセプト(S-59)はウイルス、細菌、原虫のみならず白血球(T細胞)をも不活化可能である。

不活化効果を確認したウイルスの多くはモデルウイルスであるが、HIVについてはモデルウイルス以外にエイズ患者から分離したウイルスを用いて試験を行っており、不活化効果を認めている。B型肝炎、C型肝炎ウイルスは in vivo で評価試験を行っている。

実験において表の数字までしか病原体を増殖することができなく、その病原体をすべて不活化できたので、もし病原体をもっと増殖させることが可能であれば、もっと数字が大きくなるかもしれないという可能性を含めて“>”で表している。

(8)に関して

3剤を直接比較した試験結果は2005年に実施した日本赤十字社の試験以外にはまだない。

(11) 不活化法の導入で、現在の輸血用血液製剤の感染リスクのそれぞれがどれだけ減少できると考えられるか?(それぞれの病原体に対する推定値とその根拠)
また、外国の導入例において、どのような輸血後感染リスクがどれだけ減少したかを比較検証(あるいは推測)できるデータがあればその提示もお願いしたい。

臨床試験の結果、既に導入している国での使用実績ではこれまでに細菌による敗血症、GVHD、或いは他の病原による感染症の発生は報告されていない。

すでに12万回を越える輸血実績があるが、細菌検査を実施しても11,000回(ドイツ赤十字)から59,000回(米国赤十字)の輸血に1回の頻度で発生があると報告されている敗血症がIBSの使用例では細菌検査を実施していないにもかかわらず報告されていない。

フランスのLa Union島ではChikungunyaの流行により島内での採血を中止せざるを得なくなって赤血球、血漿はフランス本土からの空輸により供給しているが、血小板は保存期間が短いためフランス本土からの供給では間に合わなくなっている。すでに導入していたストラスブールからSOPとともにIBSを

導入し2006年年初より血小板のみ成分採血により採取を開始しIBSで処理して供給している。IBS処理により新たな病原の流行があっても血液製剤の供給が確保できることが証明されている。その後北イタリアでもChikungunyaが侵入したがIBSが導入されていたため血小板の供給には支障がなかった。輸血の副作用について米国のPhase IIIにおいてIBS処理群で副作用が少なくなる傾向が示唆された。

さらにベルギー、フランスアルサス地方、La Union島でもHemovigilanceの調査結果からIBSで処理した血小板輸血では通常の血小板輸血に比較して副作用の発生率が1000回輸血当たり1/3に減少することが報告されている。

副作用は血小板に含まれる血漿成分の減少(100%→35%)だけでも改善され IBS により不活化することでさらに改善することが示唆されている。

12万回を超える血小板輸血で1例 TRALI の発生が報告されているこの例は3回出産を経験した女性から成分採血した血小板の輸血により発生した。

海外のヘモビジランス情報はスライド 参考資料2参照。

○不活化剤除去について

(12) (除去後の)不活化剤の製剤中の残存率は、不活化剤を添加した後の回収をどのように計算しているのか。

欧州において2本のPhase III B スタディが実施されている。これらの試験において、残留 S-59 量が HPLC で測定されている。設定された目標値は $0.5 \mu\text{M}$ ($50 \mu\text{g}/300\text{ml}$) であり、結果として平均値はそれぞれ $0.4 \mu\text{M}$ 及び $0.46 \mu\text{M}$ であった。

一方、イヌにおいて $25\text{mg}/\text{kg}$ 、28日間連続投与しても毒性所見は報告されていない。この量は、臨床で血小板がヒトに輸血された場合の S-59 体内混入量 ($0.4 \mu\text{g}/\text{kg}$) と比較した場合、60000倍と非常に高く、安全域が大きいことを示している。

また、一方、本設定における安全性は、同じく欧州及び米国において実施された Phase III Study において、IBS 処理済み血小板濃厚液と通常の血小板濃厚液の間に有意差を示した有害事象は観察されなかった。また、Phase III B、10000 輸血以上を集積した Hemovigilance Study、小児を対象とした Study、約 120000 輸血以上の実績において特異的な有害事象は観察されていないことから、上記の残留 S-59 量の設定が適切あるいは許容できると考えられる。

(13) (除去に伴う)製剤自体の減損率

ベルギー、フランスの実績において、不活化処理による減損率は約7-8%である。

(14) (除去に伴う)製剤の生物活性の低下率

In vitro の試験ではIBS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。

その原因の一部は血小板輸血にあたって医療の現場では厳密には血小板数を管理していないこともあると思われる。

詳細は 080401 概要の6. 血小板の機能 参照

○その他(日本、海外の状況等)

(15) 国内、国外における治験研究の現状は。

(16) 海外で治験(トライアル)ではなく、正式に導入している実績はどれほどか。

導入実績は添付の資料参照:080401 導入実績

輸血に使われた血小板は 12 万バッグ 以上。

* 世界中のインターセプト導入国(ルーチンユース-12 カ国)

ベルギー、フランス、ドイツ、イタリア、ノルウェー、スペイン、スウェーデン、ロシア、チェコ、スロベニア、クエート、マレーシア

* 主な既承認国での承認年月日

フランス Afssaps:2005 年 7 月 19 日

ドイツ:2007 年 1 月 29 日

イタリア:2002 年 3 月 31 日

スペイン:2002 年 3 月 31 日

* アメリカの現状:FDA 申請中

米国では出血防止を End Point にした約600人規模の Double Blind Phase III まで終了。申請書のうち前臨床の部分は既に審査が終わり問題がないとされています。Phase I, Phase II においても問題はなく Phase III の試験結果で IBS 処理した血小板を輸血した群に対象群比較して有意に肺障害の発生頻度が高いことがわかりました。この原因について追加調査が行われ追跡調査の結果 S-59 処理による障害の発生ではないと判断された。原因として考えられるのは血小板輸血が繰り返し必要になる例は白血病の治療を受けた患者、或いは骨髄移植を受けた患者が多く治療には放射線治療が入っていることが多くなります。放射線治療は肺障害が副作用として発生することが知られています。放射線の照射量を調べたところ S-59 処理群の方が前治療でより多くの放射線照射を受けていました。しかし FDA は実施した Phase III は肺障害の頻度を検出することを目的とした試験ではないので大規模な試験を実施して発生の頻度を比較すべきということで1万人規模以上の試験の提案をしました。それは S-59 開発当時は骨髄移植の前治療に放射線治療が多く使われていて副作用としての肺障害の発生も10%以上ありましたが現在は治療方法が改善されて肺障害の発生頻度は5%以下になっています。また前治療も放射線を含まない治療に変わっているため改めて同じような試験をしても結果は確認できないので FDA の担当官と協議を続けてきました。一方同じ臨床試験の報告を審査した EU, AFSAP(フランス)、PEI(ドイツ)の担当官はすべて審査の上問題はないということで承認している。この問題についてはトロントの会議、および Ministry of Health and Human Service の公開の席上でも取り上げられ FDA の担当官の誤解であることが PEI の Dr. Heiden から指摘されトロント会議でも、HSS の会議でも勧告となりました。なって病原不活化は安全であることを示す十分な情報がある、一方では温暖化などにより予期していない病原の侵入がありことが起きてからではなく先取りして対応すべきということで勧告になっています。米国では欧州の Hemovigilance の情報も合わせて審査して承認する方向で動き出しています。

(17) 危機管理体制確保の一環としての基礎的研究(治験研究)チーム設定の可能性は。

血小板を製造する施設に協力して研究チームを編成することに協力できます。しかしこの試験の実施者は血小板を製造する側にあるので臨床試験のための治験申請も製造者(日本赤十字社)になりま

す。治験申請に必要な資料については既に整っていると考えています。

- (18) 不活化技術により現在の感染症検査のうち、何を省略できるのか。できないとしたら現在のわが国のような感染症検査が行われている国では屋上屋を架すこととならないか。また、海外で省略できている項目はあるのか。

現時点では直接のコスト比較は行われていない。ただし、IBS の導入によって、新たな病原体検査の追加が不要になる可能性がある。白血球除去に関しては、IBS 処理を行えば、理論的にはなくてもかまわないが、各血液センターの判断に従う。又、不活化処理をするため処理費用はプラスとなるが、次のような費用削減効果がフランス、ベルギーで報告されている。しかし詳細は各国の状況によって異なるであろう。フランスは導入の結果 Single NAT の導入は不要と判断している。

費用削減効果(フランス・ベルギー)

細菌試験、ガンマ線照射が不要となる。追加の病原の試験が不要になる(CMV)など。
保存期間を7日まで延長可能により廃棄率が減少する
血漿量を減少できるので節約した血漿を血漿製剤などに有効に利用できる。

- (19) コストベネフィットの問題だけでなく、日本では放射線照射をしているが、不活化との相乗で製剤が使い物にならないのではないか？その治験を行えるのか。HLAの近い日本人で輸血後GVHD予防のために照射をやめられるか。

* GVHD の予防に関して。

γ線照射と同等あるいはそれより有効というデータに関して、臨床試験でのγ線照射との比較データがあり、サイトカイン産生能(IL-8、IL-1β)をγ線照射処理と IBS 処理で比較した試験ではγ線照射血小板より有意に抑制する結果が得られた。

またS-59は83塩基対毎に結合するのに対しγ線照射は3万7千塩基対毎であることよりIBS処理はγ線照射と同等あるいはそれ以上にGVHDの発症を抑制すると考えられる。したがってIBS処理とガンマ線処理を併用することは考えていない。(IBS処理:S-59による不活化処理)

一方臨床試験でS-59による不活化処理した血小板をガンマ線照射した例があるが、特別な問題は生じていない。

- (20) 薬物添加以外の方法による不活化法の検討は。γ線照射による細菌滅菌の現状は。

参考: スライド(080401UVC)あり。白血球不活化程度のガンマ線照射量ではVirusの不活化ができない。

UVCについてはマコファルマ社の公表試験成績がありHIVの不活化が1.36ログであるとされています。またUVCについては血小板の活性低下が報告されています。

2. 質問事項及び議論に必要なデータ等(各技術に対する質問)

1. MB

- 1) 処理後 C5a が 3 倍に増加している。これは処理によって補体が活性化した結果で

あり、血管透過性の亢進などアレルギー反応が増加する可能性がある。また、大量に投与することがあるので、投与可能な血漿量の検討はされているのか？

- 2) MB と結合する血漿タンパクはないのか？もし、血漿タンパクのなかで結合する因子があった場合、体内での沈着部位は確認されているのでしょうか？例えば、皮膚などにMBと結合したタンパクが存在した場合、日光によって再度、1重項酸素が産生され、組織が破壊される可能性はないのか？
- 3) MBと結合した血漿タンパクが処理によって発生する1重項酸素のために構造等が変化してネオアンチゲンとなって、血漿タンパクに対する自己抗体が産生されないのか？特に、自己免疫疾患やアトピーの患者に投与する場合は自己抗体が作られやすくなる可能性はないのか？
- 4) 導入した地域・国で導入後感染症が減少したとのデータがあれば提示していただきたい。また、導入後に感染症が発生した症例があれば、その理由(例えば、処理能力以上にウイルス量が多かった等)も示していただきたい。
- 5) 今までの投与実績と報告された重篤な副作用例があれば示していただきたい。

2 アモトサレン

- 6) 各種毒性試験の具体的な記載がなく、例えば、単回投与での毒性なし、といても何頭使用して、どういう毒性を検討したのか全く不明。他の毒性試験も同様である。具体的な記載と、毒性の専門家の意見を聞きたい。

080401 概要の7. 毒性試験結果を参照。

- 7) 不活化処理後のアモトサレン除去によっても 2mg のアモトサレンが血漿と結合して残存する。血漿タンパクと結合したアモトサレンはどのように代謝されるのか？また、体内に結合したまま沈着する可能性を検討したことがあるか？例えば、皮膚などにMBと結合したタンパクが存在した場合、日光によって組織が破壊される可能性はないのか？

排泄物に中間代謝物は確認されず、すべて低分子になっている。半減期、S-59 の代謝及び排泄物から推察して中間代謝物にとどまる時間は非常に短いと思われる。S-59 で処理した血小板の 28 日間連続投与の毒性試験で毒性が認められておらず蓄積性はないと考える。

- 8) アモトサレンと血漿タンパクが結合して構造等が変化してネオアンチゲンとならないか？そのため、血漿タンパクに対する自己抗体が産生されないのか？特に、自己免疫疾患やアトピーの患者に投与する場合は自己抗体が作られやすくなる可能性はないのか？反復投与後の副作用として自己抗体産生の症例はないのか？

免疫処理したニュージーランド白ウサギの抗体を用いて in vitro でネオアンチゲンが産生されるか

どうかの試験を実施したが、ネオアンチゲンは確認されていない。さらに、臨床試験、市販後の調査を通じて抗体産生の報告はない。

- 9) 導入した地域・国で導入後感染症が減少したとのデータがあれば提示していただきたい。また、導入後に感染症が発生した症例があれば、その理由(例えば、処理能力以上にウイルス量が多かった等)も示していただきたい。

既に導入している国での使用実績ではこれまでに細菌による敗血症、GVHD、或いは他の病原による感染症の発生は報告されていない。

すでに12万回を越える輸血実績があるが、細菌検査を実施しても11,000回(ドイツ赤十字)から59,000回(米国赤十字)の輸血に1回の頻度で発生があると報告されている敗血症がIBSの使用例では細菌検査を実施していないにもかかわらず報告されていない。

ベルギー、フランスアルサス地方、La Union島でもHemovigilanceの調査結果からIBSで処理した血小板輸血では通常の血小板輸血に比較して副作用の発生率が1000回輸血当たり1/3に減少することが報告されている。

副作用は血小板に含まれる血漿成分の減少(100%→35%)だけでも改善され IBS により不活化することでさらに改善することが示唆されている。

12万回を超える血小板輸血で1例 TRALI の発生が報告されているこの例は3回出産を経験した女性から成分採血した血小板の輸血により発生した。

海外のヘモビジランス情報はスライド 参考資料2参照。

- 10) 今までの投与実績と報告された重篤な副作用例があれば示していただきたい。

120000例以上の実績があるが、重篤な副作用報告はない。

- 11) 血小板において2mgのアモトサレンが血漿と結合して残存するが、新鮮凍結血漿ではさらに多くのアモトサレンが血漿に結合して残存する可能性がある。血漿のデータがないので用意していただきたい。

後日追加。

3.リボフラビン

- 12) 結合する血漿タンパクはないのか？もし、血漿タンパクのなかで結合する因子があった場合、体内での沈着部位は確認されているのか。例えば、皮膚・眼球などに結合したタンパクが存在した場合、日光によって再度、活性化され組織が破壊される可能性はないのか？

- 13) 導入した地域・国で導入後感染症が減少したとのデータがあれば提示していただきたい。また、導入後に感染症が発生した症例があれば、その理由(例えば、処理能力以上にウイルス量が多かった等)も示していただきたい。

14) 今までの投与実績と報告された重篤な副作用例があれば示していただきたい。

3. 主な意見

- (1) 議論の時間が『時間切れ』になることは好ましくなく、時間を十分確保して行うべき。
- (2) 毒性学の専門家の意見を聞きたい。テルモ等、機器の滅菌を行っている人達は、病原性因子の不活化について(γ線照射など)むしろ医学関係者よりも詳しい。いずれ不活化の毒性の検討が必要。
- (3) 導入にあたっては、日赤などで不活化をきちんと評価する体制が必要。
- (4) 危機管理体制として不活化技術を利用するというのが現在の最も有効な利用対象ではないか。

バイオワン追加資料

1) 質問(2)---参考の表 (弊社回答中、表の指定明記が無かった)

表 ラットにおける ^{14}C -S-59 又は ^{14}C -S-59 混合物投与後の組織分布

	放射能活性の最高あるいは最低であった組織		
	S-59 混合液		
	S-59	CAD 非処理	CAD 処理
最高	副腎	副腎, 卵巣	副腎, 卵巣
高度	肝臓, 腎臓, 肺, 消化管, 皮膚	肝臓, 腎臓, 肺, 脾臓, 小消化管	肝臓, 腎臓, 脾臓
最低	脳, 眼, 脂肪組織	脳, 脂肪組織	脳, 眼, 脂肪組織 (雄) 筋肉, 胸腺

2) 質問(1 3) 回答の訂正 (減損率の言葉の意味の取り違えのための訂正)

製剤の回収率は約 7-8% 低下するが、減損率 (血小板製造工程での血小板パックの廃棄率) は発表されていないためわからない。

3) (各技術に対する質問) -----アモトサレンに関する質問番号 11) 未回答だったため回答追加

血漿を IBS で不活化して健常人、および患者で血中の S-59 のレベルを検討している。

1. 健常人での試験

IBSで不活化処理した血漿1リットルを投与したとき投与直後にピークレベルに達しその濃度は10 ng/mlであった。S-59は速やかに血中から消失し16-24時間後にはほぼ投与前のレベルに戻っている。

2. 患者での検討

患者では血漿交換の必要な血栓性血小板減少性紫斑病（TTP）の患者でも検討している。

S-59単独でのT_{1/2}は41分であり血漿或いは血小板に含まれた状態では6.5時間であった。

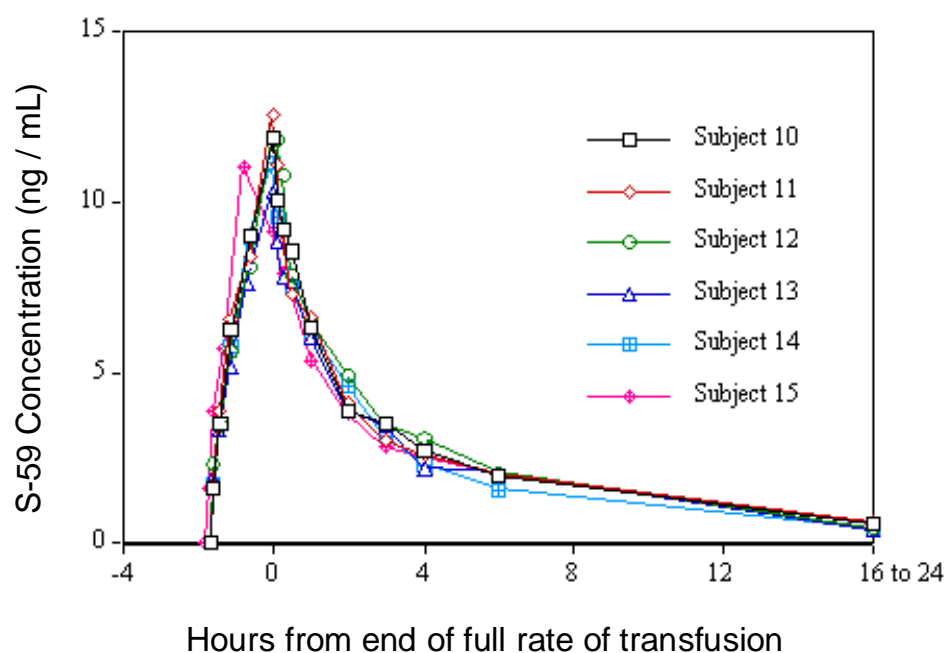
血漿蛋白がS-59の体内での分解作用から保護的に働いていると思われる。

しかし添付したようにいずれの試験においても繰り返し輸血しても蓄積作用はみられていない。

4時間後のS-59は1.7-8.5 ng/mlで24時間後には0.1-2.0 ng/mlであった。

参考資料

Plasma Amotosalen Levels In Healthy Subjects After 1 L FFP



Amotosalen Levels (ng/mL) In Patients

Patient Group	N	1- 4 Hr Post Transfusion	24 Hr Post Transfusion
Congenital	28	8.4 ± 2.7	0.9 ± 0.6
Acquired	57	5.4 ± 3.4	2.0 ± 2.0
Plasma Exchange	16	1.7 ± 0.6	0.1 ± 0.1

平成20年4月8日開催 血液事業部会運営委員会・安全技術調査会合同委員会後 追加質問事項1(バイオワン社のみ)

1: 追加資料として送られてきた transfusionの論文では、血小板に添加したS-59の15%が血小板に、血漿に添加したS-59の15~22%は血漿成分に結合すると記載されています。その多くは脂肪に associateしているとあります。血小板の膜は脂質を含むことから、膜にS-59が結合し、S-59がハプテンになってS-59が結合した血小板にのみ反応する抗体が産生される危険性はないのか？同様に、S-59が結合した血漿成分に対しても抗体ができる可能性があるのでは？

S-59処理したヒト血小板, 又はヒト血漿をウサギに免疫した試験では明らかな 抗体の産生は認められていない、と報告されているが、試験法をよく見ると、ヒトに対する抗体を吸収するなどの前処理をおこなっており、本当に、否定して良いのか疑問が残る。適切な実験系なのか自信はないが、例えば、ウサギの血小板や血漿をS-59で処理し、ウサギに反復投与した場合にS-59処理した血小板等への抗体の有無が明らかになるのではないか？

2: S-59による新鮮凍結血漿の処理の場合、S-59を添加するだけで凝固因子のいくつかは活性が低下するが、UV 照射後にS-59を吸着させるために5時間以上(?)処理時間が必要となるが、凝固因子の活性は新鮮凍結血漿として使用できる程度に保つことは可能なのか？

バイオワン株式会社回答

平成20年4月8日開催 血液事業部会運営委員会・安全技術調査会合同委員会後
追加質問事項1(バイオワン社のみ)

1: 追加資料として送られてきた transfusionの論文では、血小板に添加したS-59の15%が血小板に、血漿に添加したS-59の15~22%は血漿成分に結合すると記載されています。その多くは脂肪に associateしているとあります。血小板の膜は脂質を含むことから、膜にS-59が結合し、S-59がハプテンになってS-59が結合した血小板にのみ反応する抗体が産生される危険性はないのか？同様に、S-59が結合した血漿成分に対しても抗体ができる可能性があるのでは？

S-59処理したヒト血小板、又はヒト血漿をウサギに免疫した試験では明らかな 抗体の産生は認められていない、と報告されているが、試験法をよく見ると、ヒトに対する抗体を吸収するなどの前処理をおこなっており、本当に、否定して良いのか疑問が残る。適切な実験系なのか自信はないが、例えば、ウサギの血小板や血漿をS-59で処理し、ウサギに反復投与した場合にS-59処理した血小板等への抗体の有無が明らかになるのではないか？

1) 動物による Neo antigenicity の検討について

S-59 の前臨床開発に当たり Baxter, Cerus は FDA と協議の上動物実験を実施しました。

ご指摘のようにウサギを用いた試験には人血小板、および血漿を用いています。S-59 で処理した血小板、或いは血漿を用いて免疫したウサギは抗体を作りました。この抗体はいずれも Polyclonal でした。ここで得られたウサギの抗ヒト血小板抗体を S-59 で処理していない血小板と反応させた後 S-59 処理した血小板と反応させましたが反応しませんでした。推察するとウサギに生じた抗体は血小板に対する抗体で S-59 或いはその分解産物に対する抗体ではありませんでした。

同様にウサギの抗ヒト血漿抗体は血漿を認識するもので S-59 或いはその分解産物を認識するものではありませんでした。

一方内部標準として加えていたトリのアルブミンについてはウサギの抗体を血小板、或いは血漿で処理したあとでも認識しました。

この実験では人の血小板、或いは血漿を S-59 で処理した後ウサギに免疫しましたがそこで生じた Poly Clonal 抗体はいずれも S-59 処理をしていない人の血小板、或いは血漿を認識しており特別に S-59 で処理した血小板、或いは血漿を認識するものではありませんでした。

この結果から S-59 で処理した血小板、或いは血漿には新たに抗原となる変化は起きていないと推察されました。また S-59 或いは S-59 の分解産物に対する抗体の生成も認められませんでした。

ウサギの血小板、血漿を用いなかった理由は免疫を繰り返すのに十分な量の血漿、或いは血小板を

同じ固体からは採取できないことです。

S-59 に対する抗体の生成の可能性を完全に否定することはできませんがこれまでの前臨床試験、臨床試験、市販後調査の結果からは S-59 に対する抗体生成の報告はありません。

参考までに EPO, G-CSF のような遺伝子工学で製造したヒト血液ホルモンの前臨床試験、臨床試験でも抗体生成の可能性について注意深く検討していますが臨床試験の終了までに600例程度の症例を検討し抗体の生成が認められなかったため市販後には抗体の検査は行っていません。

S-59 についても臨床試験で約700例の症例について抗体生成の有無を検討していますが抗体の生成はありませんでした。

これまでのところ12万回を越える輸血に使われていますが抗体の生成は報告されていません。

2) S-59 に対する抗体の生成の可能性について

ご指摘のようにS-59は血漿の脂質に多く結合します。この結合した状態でのS-59の半減期は約6.5時間です。(血小板中も血漿中も同じ)S-59 単独に比べると長いですが蓄積性がないことは確かめられています。血漿、或いは血小板に結合した状態でも分解は早いです。

抗体生成の可能性を完全に否定することは困難ですがこれまでのところ抗体生成を示す情報は前臨床試験、臨床試験、市販後調査を通じてありません。

8-MOP など治療に広く使われているソラレン化合物についても抗体産生の報告は現時点ではありません。

2: S-59による新鮮凍結血漿の処理の場合、S-59を添加するだけで凝固因子のいくつかは活性が低下するが、UV 照射後にS-59を吸着させるために5時間以上(?)処理時間が必要となるが、凝固因子の活性は新鮮凍結血漿として使用できる程度に保つことは可能なのか?

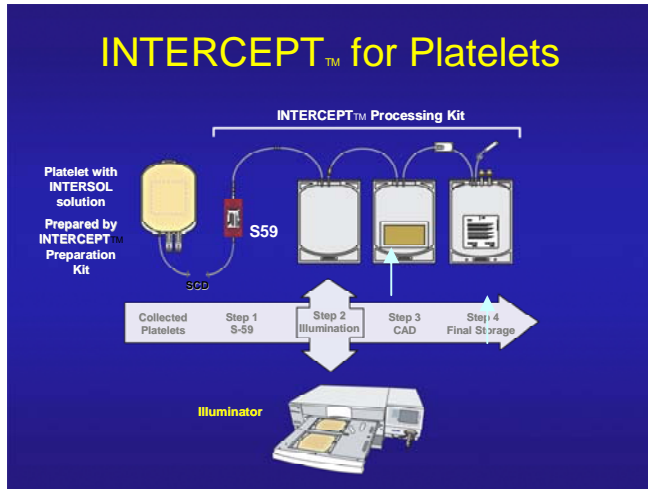
血小板用不活化処理キットと血漿用不活化処理キットではS59吸着装置(CAD)の形状が異なり、CAD処理時間が異なります。血漿を処理する場合、長時間振盪する必要はなく、血漿全量が円形のCAD内を自然落下する時間(15~30分)のみ必要となります。(下図1参照)

前臨床試験で不活化処理前後の血漿の凝固因子活性を比較しています。目標とする凝固因子保持率はフィブリノーゲン及びファクターⅧは65%以上、ファクターⅤ、Ⅶ、Ⅸ及びⅪは70%以上、他の因子については基準を設定していません。この実験では不活化処理によりいくつかの凝固因子にわずかに活性低下が認められますが、すべて目標とした基準に合致しており、不活化処理血漿は新鮮凍結血漿と同様に使用可能であります(下表2参照)。

また、すでにルーチンで使用している欧州のセンターで使用量が変化していないとの報告があります。

図1 血小板用及び血漿用不活化処理キット

血小板用不活化処理キット



血漿用不活化処理キット

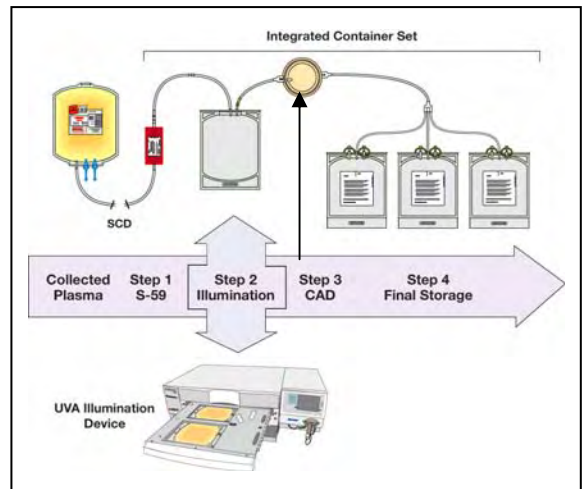


表2 in vitro インターセプトの処理前後の凝固因子の保持率

凝固因子	数	不活化処理前の活性 (IU/mL) ^a	不活化処理後の活性 ^b (IU/mL)	保持率
ファクター I (フィブリノーゲン)	91	290±48	209±36	72±5
ファクター II	59	96±11	85±11	88±4
ファクター V	91	130±21	119±19	92±7
ファクター VII	91	123±26	95±20	78±6
ファクター VIII	91	157±36	115±28	73±7
ファクター IX	91	108±19	88±16	82±4
ファクター X	59	100±13	86±11	86±3
ファクター XI	91	103±22	87±18	85±4

スクリーニング試験	数	不活化処理前 (秒)	不活化処理後 (秒)	延長時間 (秒)
PT ^c	14	11.2±0.3	11.6±0.3	0.5±0.1
aPTT ^d	13	26.9±1.4	31.6±2.1	4.7±0.8

a:フィブリノーゲンはmg/mL

b: 600mL血漿に150 μM S-59を添加し3.0J/cm² UVA照射後CAD処理

c: Prothrombin time

d: Activated partial thromboplastin time

平成20年4月8日開催 血液事業部会運営委員会・安全技術調

査会合同委員会後 追加質問事項2(各社共通)

1. EU主要国等、各社の不活化技術を導入しているそれぞれの国における供給の実態。輸血用血液製剤の全供給数(不活化技術を適用している製剤と適用していない製剤の合計)、そのうち不活化技術を適用している製剤の割合は何%か。また、供給はどのように行われているか(供給先、医師の希望により供給できるのか等)。
2. 各社の不活化技術を適用する前の製剤に白血球除去を行った場合と、不活化技術を適用した製剤に白血球除去を行わなかった場合を比較して、GVHD等の副作用の推移はどのようになっているか。
3. EU主要国における不活化技術導入後不要になった技術(白除、NAT等)
4. EU主要国における不活化技術を適用している製剤の市販後調査の実態(調査数)

マコファルマ社回答

平成20年4月8日開催 血液事業部会運営委員会・安全技術調査会合同委員会後
追加質問事項2(各社共通)

1. EU主要国等、各社の不活化技術を導入しているそれぞれの国における供給の実態。輸血用血液製剤の全供給数(不活化技術を適用している製剤と適用していない製剤の合計)、そのうち不活化技術を適用している製剤の割合は何%か。また、供給はどのように行われているか(供給先、医師の希望により供給できるのか等)。

回答

国	血漿製剤不活化の義務化	マコファルマ製品により処理された血漿製剤(本数)	マコファルマ製品により処理された血漿製剤(%)	不活化処理された血漿製剤(%)
アルゼンチン	×	2,000	—	—
ベルギー	○	70,000	100	100
ブラジル	×	2,000	—	—
フランス	○(将来的に)	150,000(2008年予測)	60(2008年予測)	100(2008年予測)
ギリシャ	×	8,000	5	—
イタリア	×	34,000	5	25
マレーシア	×	300	—	—
ロシア	×	17,000	1	1
シンガポール	×	1,000	—	—
スペイン	×	105,000	44	69
イギリス	×	9,000	2	2

ベルギー及びフランスにおいては国立輸血サービス(National Transfusion Service)が血漿のみの不活化製剤を提供している(ベルギーでは2004年から、フランスでは2009年までの移行が予定されている)。その他の全ての国においては、医師並びに病院が使用する血漿製剤(不活化製剤及び検疫製剤)を自由に選択することが可能である。しかしながら欧州においては、血漿製剤並びに血小板製剤の不活化傾向が顕著である。

2. 各社の不活化技術を適用する前の製剤に白血球除去を行った場合と、不活化技術を適用した製剤に白血球除去を行わなかった場合を比較して、GVHD等の副作用の推

移はどのようになっているか。

回答

欧州全ての国において赤血球製剤並びに血小板製剤の白血球除去は、長年に亘り義務化されている。白血球除去の導入後、輸血由来による熱発例数は著しく減少した(M. M. Mueller et al., “Clinical impact of leucocyte depletion – what is the evidence?”参照)。GVHD の予防に関して、輸血製剤は依然としてガンマ線照射されている。しかしながらマコファルマ社製 THERAFLEX UVC を含む血小板製剤不活化技術は、ガンマ線照射の代替になり得ると期待されている。

3. EU主要国における不活化技術導入後不要になった技術(白除、NAT等)

回答

不活化技術が採用されたいくつかの国においては、検疫保管期間が省略された。その結果、より良好な流通、保管スペースの節約及び迅速な血漿製剤供給につながった。メチレンブルー処理の導入に伴い白血球除去並びに既存の検査を省略した国は無い。一方でメチレンブルー処理の導入により新たな検査の追加及び既存の検査感度を向上させる措置(シングル NAT 等)は行われていない。

血漿製剤 :

欧州において、キットに採用されている 0.65µm のフィルターは血漿製剤用白血球除去フィルターより効率が良いため、THERAFLEX MB-Plasma 処理は血漿製剤の白血球除去の代替となる。

血小板製剤 :

THERAFLEX UVC-Platelet 処理により、将来的にガンマ線照射並びに細菌スクリーニング検査の省略が期待される。現在の段階では、ウイルス NAT 検査の省略は推奨しない。

4. EU主要国における不活化技術を適用している製剤の市販後調査の実態(調査数)

回答

市販後調査は、欧州各国に導入されているヘモビジランス及び輸血サービス機関(Blood Transfusion Services)により実施されており、イギリス並びにフランスが多くの経験を有している。全ての欧州諸国がメチレンブルー処理された血漿製剤を含む全ての血液製剤に対するヘモビジランスプログラムを実施している。更に、既報の通り追跡評価の実施(フランスにおけるメチレンブルー処理血漿製剤の四相臨床治験、等)あるいは Politis 等による臨床使用経験(Vox Sanguinis, [2007];Volume 92, Issue 4, Pages: 319-326)が発表されている。