

シンポジウム6

病原体低減化の新たな技術の開発

阿部英樹(日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所)

はじめに

血小板製剤に混入した細菌による副作用は、致死例も報告されるなど、世界的な問題となっている。解決策の一つとして、採血後保存前に血液センターにて混入細菌を不活化する方法がある。しかし、欧米で承認されている、あるいは開発が進められている病原体低減化法は、製剤に薬剤を添加したり、血漿を保存液で希釈したりする必要がある。加えて、適応製剤サイズも欧米規格であり、本邦の製剤に容易に導入するには困難がある。

そこで、本邦の血小板製剤に適した病原体低減化法として、キセノン (Xe) フラッシュを用いた方法を検討した。

Xeフラッシュ照射による細菌不活化とPC品質(図1)

新規病原体低減化法の開発コンセプトは本邦の実情に合わせて、「PCに薬剤を加えない、PCを保存液で希釈しない」とした。それを実現化するために、殺菌作用を有する、Xeランプから発せられる閃光(フラッシュ)を応用することとした。Xeフラッシュは太陽光と同じ波長域の光であり、殺菌作用を有するUVCを含む。しかし、血小板に傷害を与えるUVA, UVB, 青色光を含むことから、これらの光を特殊なフィルターでカットして、UVCをより選択的に照射する方法を考案した。PCにUVCを当てるために、まずPCをUVC透過性のバッグに移し入れ、また、満遍なく照射するためにPCをロッキングシェークで攪拌しながら照射した。

PC10単位製剤に、黄色ブドウ球菌またはG連鎖球菌をそれぞれ平均34cfu/bag, 62cfu/bagで接種し、Xeフラッシュ照射をした。照射後3日目、6日目にPCを抜き取り培養試験を行ったところ、黄色ブドウ球菌は13例とも6日目においても菌の増殖を認めなかった。G連鎖球菌は、16例中15例で増殖を認めなかった。増殖を認めた1例は、PCが乳びがかったためにXeフラッシュが十分行

き届かなかったと考えられる。

Xeフラッシュ照射PCの血小板濃度、% HSR, pH, グルコース濃度は保存経過日数と共に低下し、MPVは増加したが、保存6日目においても未照射PCとの間に有意差は認められなかった。血小板膜タンパク質CD62Pの発現量は、Xeフラッシュ照射PC、未照射PC共に継時的に増加した。Xeフラッシュ照射PCでより発現量が多い傾向にあったが、未照射PCとの間に有意差は認められなかった。血小板膜タンパク質インテグリン α IIb β 3の活性化型に結合する抗体PAC-1の結合量は、Xeフラッシュ照射PCで有意に増加し、6日間保存期間中高値を維持した。

ADP刺激凝集能は保存期間中継時的に弱くなっていった。どの時点の測定においても、Xeフラッシュ照射PCの方が高い傾向にあった。

Xeフラッシュ照射血小板のADP応答性の変化(図2)

当日調製の全血由来PRP (PRP-PLTs), 前日採血アフエレーシス血小板 (Aph-PLTs), Aph-PLTsにXeフラッシュ照射した血小板 (fXe-PLTs) の3種類について、ADP濃度を変えて凝集反応を見た。Aph-PLTsの用量反応曲線はPRP-PLTsに比べて右側にシフトし、PRPと同じ反応性を得るのにより高濃度のADPを必要とすることが分かった。一方、fXe-PLTsでは用量反応曲線はAph-PLTsの左側にシフトしており、ADP反応性が上昇していた。ADP受容体下流の重要なシグナル分子Aktのリン酸化は、PRP-PLTsではADP未刺激状態でも一定量のリン酸化が見られ、ADP刺激(10 μ M)後は5~10分でピークとなった。Aph-PLTsでは未刺激時にはリン酸化Aktはほとんど検出されず、ADP刺激によってもリン酸化上昇はわずかであった。一方、fXe-PLTsでは未刺激時のリン酸化Aktが明瞭となり、ADP刺激によるAktリン酸化が顕著となった。

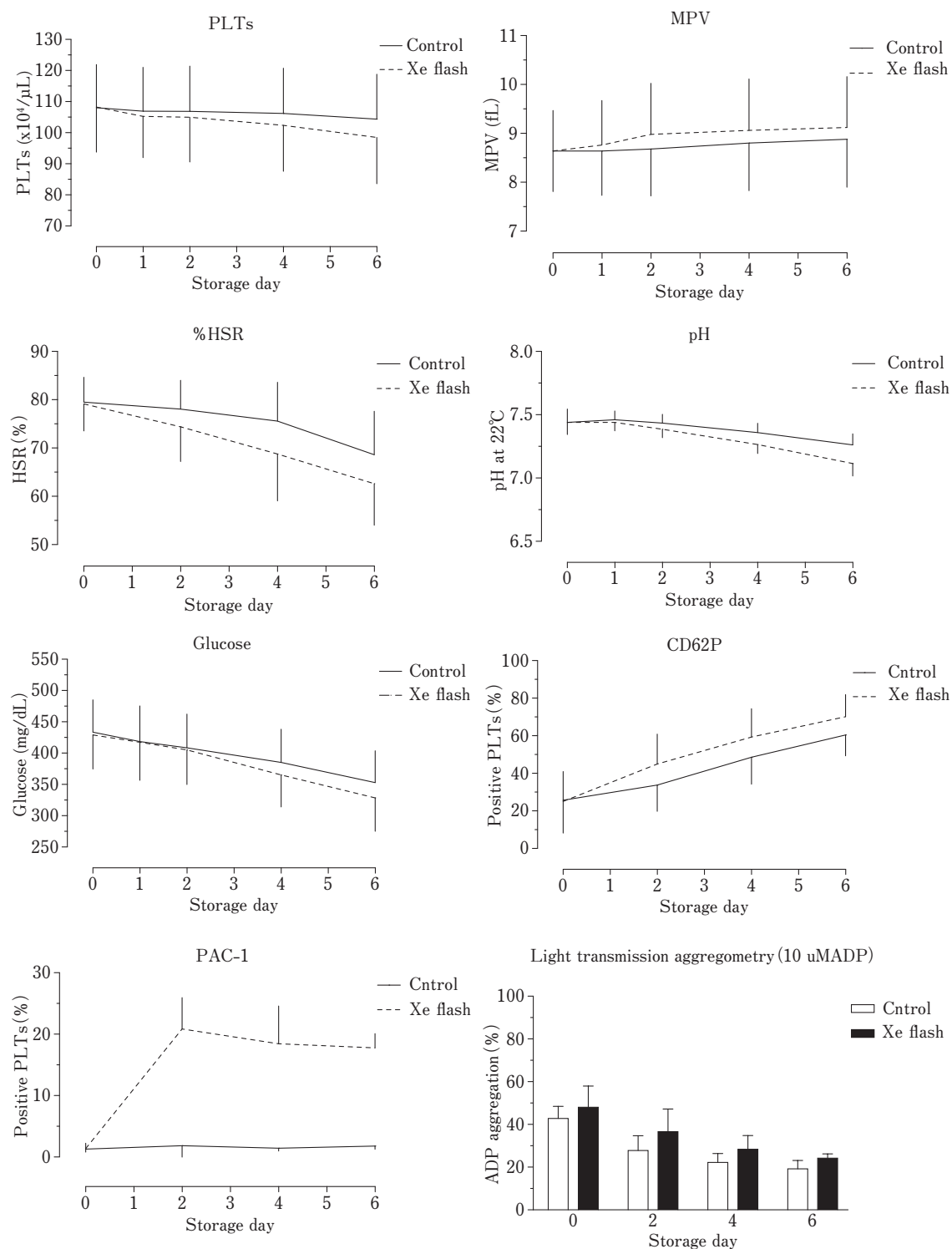


図1 Xeフラッシュ照射PCの品質

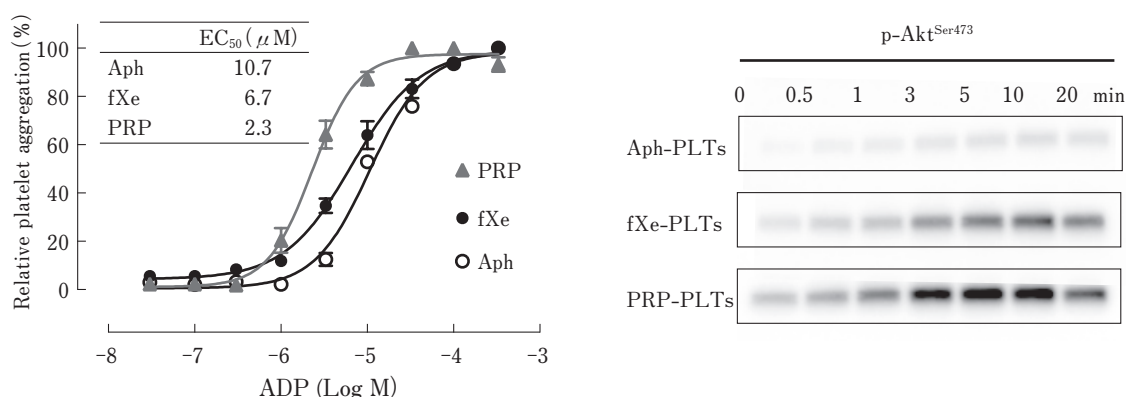


図2 Xeフラッシュ照射血小板のADP凝集用量反応曲線とADP刺激によるAktリン酸化の経時変化

おわりに

PC中細菌の低減化法として、PCに薬剤を添加せず、また血漿を置換液で希釈する必要のない、Xeフラッシュ照射による方法を開発した。Xeフラッシュ照射PCの品質は、今回測定した項目については未照射PCとの間に有意差が認められなかったことから、同等であると考えられた。一方、Xeフラッシュ照射は血小板の機能を修飾し、ADP

応答性を高めることが分かった。これらのことから、Xeフラッシュ照射による病原体低減化法は、PCの品質を損なわずに混入細菌を低減化することができ、加えて、血小板機能を改善する効果があるかもしれないことが示唆された。病原体低減化法の評価は、病原体の低減化効果はもちろんのこと、PC品質と血小板機能の両面から評価することが重要と考えられる。

参考文献

1) Abe, H., Shiba, M., Niibe, Y., Tadokoro, K. & Satake, M. (2017). Pulsed xenon flash treatment inactivates bacteria in apheresis platelet concentrates while preserving in vitro quality and functionality. *Transfusion* 57, 989-996.

2) Abe, H., Abe, T., Shiba, M. & Satake, M. (2018). Restored response to ADP downstream of purinergic P2Y₁₂ receptor in apheresis platelets after pathogen-reducing xenon flash treatment. *Transfusion* 58, 1117-1125.