

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号  
特許第4473508号  
(P4473508)

(45) 発行日 平成22年6月2日(2010.6.2)

(24) 登録日 平成22年3月12日(2010.3.12)

(51) Int.Cl.

F I

AO 1 N 1/02 (2006.01)

AO 1 N 1/02

A 6 1 K 35/14 (2006.01)

A 6 1 K 35/14 A

A 6 1 M 1/36 (2006.01)

A 6 1 M 1/36 5 3 5

請求項の数 2 (全 40 頁)

(21) 出願番号	特願2002-545475 (P2002-545475)	(73) 特許権者	506313866
(86) (22) 出願日	平成13年11月21日 (2001.11.21)		カリディアンピーシーティ バイオテクノ
(65) 公表番号	特表2004-514680 (P2004-514680A)		ロジーズ, エルエルシー
(43) 公表日	平成16年5月20日 (2004.5.20)		アメリカ合衆国、コロラド州 80215
(86) 国際出願番号	PCT/US2001/043591		、レイクウッド、クウェイル・ストリート
(87) 国際公開番号	W02002/043485		1 2 1 5
(87) 国際公開日	平成14年6月6日 (2002.6.6)	(74) 代理人	100109726
審査請求日	平成16年11月22日 (2004.11.22)		弁理士 園田 吉隆
(31) 優先権主張番号	09/725, 426	(74) 代理人	100101199
(32) 優先日	平成12年11月28日 (2000.11.28)		弁理士 小林 義敦
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(72) 発明者	マクバーニー, ローラ
			アメリカ合衆国 コロラド州 80227
			、レイクウッド, サウス パーフेट
			ドライブ 2 1 3 2
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 生物的汚染物質を不活性化するための光増感物質を含む保存溶液

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

血液又は血液成分の、汚染除去及び保存に用いられる流体であって、  
栄養素、8 ないし 50  $\mu$ M の 7 , 8 - ジメチル - 10 - リピチルイソアロキサジン、バッ  
ファー及び抗凝血剤を含み、該栄養素が33 ないし 52 mM のグルコースを含み、該バッ  
ファーが63 ないし 95 mM の炭酸水素塩を含み、該抗凝血剤が5 . 1 ないし 8 . 8 mM  
のクエン酸塩を含む、流体。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の流体であって、  
該栄養素と該 7 , 8 - ジメチル - 10 - リピチルイソアロキサジンは、第 1 の水溶性混合  
液を形成するために混合され、  
該バッファー及び該抗凝血剤は第 2 の水溶性混合液を形成するために混合され、  
第 1 と第 2 の混合体は該流体を形成するために混合される、流体。

【発明の詳細な説明】

【0001】

(発明の分野)

本発明は血液成分保存方法に関し、より詳細にはウイルス不活性化のための光増感物質を  
含む血液成分保存溶液に関する。

【0002】

血液の汚染は、HIV、肝炎及び他のウイルス等の感染性微生物の原因となり、ウイルス

は、全血の輸血あるいは血小板、赤血球、血漿、第ⅤⅠⅠⅠ因子、プラスミノーゲン、フィブロンectin、アンチトロンビンⅠⅠⅠ、寒冷沈降物、加熱ヒト血漿蛋白(human plasma protein fraction)、アルブミン、免疫血清グロブリン、プロトロンビン複合血漿成長ホルモン、及び血液から単離される他の成分といった種々の血液成分の投与を受けなければならない者に重大な健康障害をきたすおそれがある。血液スクリーニング手法は汚染物質を見逃してしまう可能性があり、細胞の血液成分を損傷せず感染性ウィルス及び他の微生物を全て有効に不活性化する滅菌手法はこれまで利用できなかった。

#### 【0003】

血液成分汚染除去のための洗剤溶剤法は、HIVのようなウィルスを被膜するリン脂質膜を溶解することによって行い、これは血液のタンパク質成分を損傷しない。しかしながら、血液細胞が存在する場合、この手法は細胞膜へ損傷を与えるので使用できない。

#### 【0004】

光増感剤は、特定の波長の光を吸収し、吸収したエネルギーをエネルギー受容体に伝達する複合体であり、その使用が血液成分の滅菌に提案されてきた。例えば1986年10月8日公開の欧州特許出願公開第196515号では、血液添加剤として、ポルフィリン、ソラレン、アクリジン、トルイジン、フラビン(アクリフラビン塩酸塩)、フェノチアジン、及び、ニュートラルレッド、メチレンブルーなどの色素といった非内因性光増感剤を使用することが提案されている。体内で自然発生するプロトポルフィリンは、代謝されると、光増感剤を形成する。しかしながら、それはタンパク質の望ましい生理活性を低下させるため、その有用性には限界がある。又クロルプロマジンも光増感剤の一つとして実証されているが、鎮静効果を有するため、汚染除去処理後に、患者に投与する流体から除去しなければならないため、その有用性には限界がある。

#### 【0005】

Goodrich, R.P., et al. (1997), "The Design and Development of Selective, Photoactivated Drugs for Sterilization of Blood Products," *Drugs of the Future* 22:159-171ではソラレンを含むいくつかの光増感剤が検討されており、又血液産物の汚染除去のための光増感剤の選択の重要性の問題もいくつか開示されている。DNA光分割のためのテクサフィリン(texaphyrins)の使用は、マグダ等(Magda et al.)の1997年3月4日公開の米国特許第5607924号、1998年2月3日公開の米国特許第5714328号に記載されている。ウィルスの非活性化のためのサフィリン(sapphyrins)の使用は、マシュー等(Matthews, et al.)による1991年8月20日公開の米国特許第5041078号に記載されている。光を加えたフェントラミン-5-イウム色素による、血液内及び血液成分内の細胞外被膜ウィルスの非活性化は、ワグナー(Wagner)等による1996年8月13日公開の米国特許第5545516号に記載されている。体液などの体内組織からウィルス及び原生動物などの感染性汚染物質を除去するための光増感剤としての、ポルフィリン、ヘマトポルフィリン、及び部分分泌色素の使用が、ジーバー等(Sieber et al.)による1990年4月10日公開の米国特許第4915683号、及びこれに関連した1994年4月19日公開の米国特許第5304113号に記載されている。こういった光増感剤の作用のメカニズムは、例えば被膜ウィルスやウィルスに感染した細胞の脂質二重層の領域への優先的な結合に関与するものであることが記述されている。膜結合物質分子の光励起は、脂質過酸化反応を引き起こす一重項酸素のような活性酸素種を形成する原因である。このような光増感剤の使用に伴う問題は、それらが、赤血球細胞のような汚染除去すべき流体の望ましい成分の細胞膜を攻撃し、そして一重項酸素も又処置すべき流体の望ましいタンパク質成分を攻撃する点である。ヴィーゼアーン, G. P. 等(Wiesehahn, G.P., et al.)による1988年2月23日公開の米国特許第4727027号は、血液及び血液製剤の汚染除去のためにソラレン及び誘導体を含むフロクマリンの使用を開示しているが、生理活性タンパク質の変性を抑制するために、溶存酸素や他の活性種の利用可能性を減少する措置を取らなければならないことを教示している。ハロゲン化クマリンを用いた、ウィルス性及び細菌性血液汚染物質の光不活性化が、パーク等

10

20

30

40

50

(Park, et al.) による 1996 年 5 月 14 日公開の米国特許第 5516629 号に記載されている。グッドリッチ ジュニア R. P. 等 (Goodrich Jr., R.P., et al.) による 1996 年 12 月 24 日公開の米国特許第 5587490 号及びプラッツ等 (Platz, et al.) の米国特許第 5418130 号には、ウィルス性及び細菌性血液汚染物質の不活性化のためにソラレンの代用物質の使用が記載されている。後者の特許は他の血液成分へのフリーラジカル損傷を制御することの必要性も教示している。ウォロウィッツ等 (Wollowitz et al.) による 1997 年 8 月 5 日公開の米国特許第 5654443 号は、血液の光学汚染除去に使用する新規のソラレン成分を教示している。リン等 (Lin et al.) による 1998 年 1 月 20 日公開の米国特許第 5709991 号は、血小板製剤の光汚染除去のためにソラレンを用い、後でソラレンを除去するとしている。ホロウィッツ等 (Horowitz et al.) による 1992 年 6 月 9 日公開の米国特許第 5120649 号、及びこれに関連する 1993 年 8 月 3 日公開の米国特許第 5232844 号でも、脂質膜を攻撃する光増感剤と共に「失活剤」を使用することの必要性が開示されており、チャップマン等 (Chapman et al.) による 1994 年 11 月 1 日公開の米国特許第 5360734 号も、他の血液成分への損傷を防止する課題に取り組んでいる。

10

#### 【0006】

核酸を攻撃する光増感剤は、当該技術分野で周知である。プラッツ等 (Platz et al.) による 1994 年 8 月 30 日公開の米国特許第 5342752 号は、赤血球細胞、血小板、及び血漿蛋白分画を有する血液物質内の寄生汚染を減少するために、アクリジン色素に基づく化合物を使用することを開示している。これらの物質は、極めて低いが僅かの毒性、例えば赤血球細胞に対する毒性を持っている。グッドリッチ ジュニア等 (Goodrich Jr., et al.) による米国特許第 5798238 号には、ウィルス性及び細菌性汚染物質の不活性化のためにキノロン及びキノロン化合物を使用することが開示されている。

20

#### 【0007】

DNA の光活性物質との結合は、血液中のリンパ球集団を減少させるために利用されてきた。これに関しては、エデルソン (Edelson) による 1986 年 9 月 16 日公開の米国特許第 4612007 号、及びこれに関連する 1987 年 8 月 4 日公開の米国特許第 4683889 号に記載されている。

#### 【0008】

リボフラビン (7, 8 - ジメチル - 10 - リビチルイソアロキサジン) は核酸を攻撃することが報告されている。リボフラビンの存在下での核酸の光変性は、Tsugita, A, et al. (1965), "Photosensitized inactivation of ribonucleic acids in the presence of riboflavin," *Biochimica et Biophysica Acta* 103:360-363、及び Speck, W.T. et al. (1976), "Further Observations on the Photooxidation of DNA in the Presence of Riboflavin," *Biochimica et Biophysica Acta* 435:39-44 で論じられている。ルミフラビン (7, 8, 10 - トリメチルイソアロキサジン) の DNA との結合は、Kuratom, K. et al. (1977), "Studies on the Interactions between DNA and Flavins," *Biochimica et Biophysica Acta* 476:207-217 に記載されている。又、Hoffmann, M, E., et al. (1979), "DNA Strand Breaks in Mammalian Cells Exposed to Light in the Presence of Riboflavin and Tryptophan," *Photochemistry and Photobiology* 29:299-303 には、可視蛍光又は近紫外光を照射した後のほ乳類細胞で DNA 切断を誘発するために、リボフラビン及びトリプトファンを使用することが記載されている。該論文は、リボフラビン又はト

30

40

50

リプトファンの何れかが媒体から除外されると前述の現象は起こらなくなると記述している。プロフラビン及び光を照射した際のDNAストランドの切断は、Piette, J. et al. (1981) "Production of Breaks in Single- and Double-Stranded Forms of Bacteriophage X174 DNA by Proflavine and Light Treatment," Photochemistry and Photobiology 30: 369 - 378に報告されており、プロフラビンを介したDNAの光増感時におけるグアニン残基の変性が、Piette, J. et al. (1981), "Alteration of Guanine Residues during Proflavine Mediated Photosensitization of DNA" Photochemistry and Photobiology 33: 325 - 333で論じられている。

10

**【0009】**

J. Cadet, et al. (1983), "Mechanisms and Products of Photosensitized Degradation of Nucleic Acids and Related Model Compounds," Israel J. Chem. 23: 420 - 429では、ローズベンガル、メチレンブルー、チオニン、及び他の色素の一重項酸素の生成による作用のメカニズムが、フラビン又はプテロン誘導体による核酸攻撃を進行させる一重項酸素の生成に関与しないメカニズムと比較して論じられている。該文献の中で、リボフラビンは核酸を分解する能力を有していることが実証されている。Korycka-Dahl, M., et al. (1980), "Photodegradation of DNA with Fluorescent Light in the Presence of Riboflavin, and Photoprotection by Flavin Triplet-State Quenchers," Biochimica et Biophysica Acta 610: 229 - 234も又、活性酸素種はリボフラビンによるDNA切断に直接関与しないことを開示している。Peak, J. G., et al. (1984), "DNA Breakage Caused by 334-nm Ultraviolet Light is Enhanced by Naturally Occurring Nucleic Acid Components and Nucleotide Coenzymes," Photochemistry and Photobiology 39: 713 - 716ではさらに、リボフラビンと他の光増感剤の作用が研究されている。しかしながら、そういった光増感剤が薬液の汚染除去に用いられるべきであるといった提案はなされていない。

20

30

**【0010】**

血液の汚染除去のための装置が、ウォルフェ、ジュニア等(Wolfe, Jr., et al.)による1994年3月1日公開の米国特許第5290221号、及びビスコフ(Bischhof)による1996年7月16日公開の米国特許第5536238号に記載されている。米国特許第5290221号には、相対的に狭いアーチ型の空隙内の流体に光照射することが開示されている。米国特許第5536238号には光ファイバーを濾過媒体内へ延ばして利用する装置が開示されている。いずれの特許も、細胞壁に対して親和性のあるベンゾポルフィリン誘導体を光増感剤として推奨している。参照によってここに取り込む、1998年7月21日出願の米国特許第09/119666号、及び1999年7月20日出願の米国特許第09/357188号に優先権を主張する、国際特許出願WO80/04930は、光増感剤としてリボフラビンの使用を開示している。ここで参照した全ての文献を、それによって矛盾しない限り、参照によってここに取り込む。

40

**【0011】**

(要旨)

本発明は、流体又は他の物質を取り扱うために、それらに存在し得る微生物や白血球の少

50

なくともいくつかを不活性化するための光増感剤の添加に関する。

【0012】

これら光増感剤が微生物を不活性化し得るメカニズムは、核酸の複製を抑制するために拡散に干渉することによる。

【0013】

ここで用いられたように、「微生物の不活性化」という表現は、微生物を殺すか、又はその複製能力に干渉することによって、全体的に又は部分的に微生物の複製を防ぐことを意味する。

【0014】

微生物は、ウイルス（細胞外、細胞内ともに）、細菌、バクテリオファージ、菌類、血液感染寄生動物、及び原生動物を含む。ウイルスは例えば、後天性免疫不全（HIV）ウイルス、A、B及びC型肝炎ウイルス、シンビスウイルス、サイトメガロウイルス、水泡性口内炎ウイルス、単純ヘルペスウイルス、例えばI及びII型、ヒトT-リンパ球レトロウイルス、HTLV-III、リンパ節傷害ウイルスLAV/IDAV、パルボウイルス、輸血伝播ウイルス（Transfusion-Transmitted:TT Virus）、EBウイルス（Epstein-Barr Virus）及び他の従来知られているウイルスを含む。バクテリオファージはX174、6、R17、T<sub>4</sub>及びT<sub>2</sub>を含む。細菌は例えば、緑膿菌（*P. aeruginosa*）、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）、表皮ブドウ球菌（*S. epidermidis*）、リステリア菌（*L. monocytogenes*）、腸管出血性大腸菌（*E. coli*）、肺炎桿菌（*K. pneumoniae*）、セラチア菌（*S. marcescens*）を含む。

【0015】

白血球細胞の不活性化が必要なのは、例えば赤血球、血小板又は血漿の輸血を伴う処置においてドナーの白血球が存在している場合に免疫抑制又は自己免疫反応の抑制が望まれるときである。

【0016】

内因性光増感剤及び内因的誘導光増感剤を有する血小板添加溶液をここで準備する。従来技術として既知である血小板添加溶液を本目的に使用してもよく、それらは米国特許第5908742号、5482828号、5569579号、5236716号5089146号及び5459030号に開示のものを含む。このような血小板添加溶液は、生理食塩水、バッファー、及びマグネシウム塩化物及びナトリウム塩化物を含む他の成分を含有する。このような溶液のpHは好ましくは約7.0ないし8.0の間である。これらの溶液は濃縮血小板のキャリアとして有用であり、保存中の細胞の質及び代謝を維持し、血漿を減少させ、保存寿命を長くすることができる。光増感剤は、約1 µMから、光増感剤の溶液への溶解度までの所望の濃度、好ましくは約8 µMないし約50 µMの間、より好ましくは約10 µMの濃度で上記のような溶液中に存在してよい。一つの血小板添加溶液は、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウム、グルコン酸ナトリウム、1.5 mM塩化マグネシウム、1 mMリン酸ナトリウム、14 µM 7,8-ジメチル-10-リビチル-イソアロキサジン及び好ましくはこれらに加えて6 mMアスコルビン酸塩からなる。

【0017】

好ましい実施例では、既知の血小板溶液より新規な溶液が使用され、そのような新規な血小板添加溶液はpHが約7.0ないし8.0の間であり、63-95 mMの炭酸水素塩、33-52 mMのグルコース、5.1-8.8 mMのクエン酸塩、及び以下に定義する好ましい内因性光増感剤からなる。

【0018】

本発明の溶液を使用することにより、取り扱い及び保存する物質は、ウイルスの不活性化を行うために十分な光を供給できるように光照射を適度に透過できる物質、又はこのような光照射に対する透過性を有する流体に保留できる又は溶解することができる物質であれば何れであってもよい。そのような物質は例えば、全血、及び血液又は血液成分から得られた生理活性タンパク質を有する水性組成物である。赤血球、血小板及び血漿（新鮮な血

10

20

30

40

50

漿又は新鮮な冷凍血漿)の固まりが前記血液成分の例である。好ましい実施例では、血小板を、好ましい本発明の溶液を用いて取り扱い、保存する。さらに、内科的疾患の治療に有用な生理活性タンパク質を含む流体などの、血液から得られるタンパク質を含む治療タンパク質組成、例えば、第ⅤⅠⅠⅠ因子、フォンヴィレブランド因子(Von Willebrand factor)第ⅠⅩ因子、第Ⅹ因子、第ⅩⅠ因子、ハーゲマン因子(Hageman factor)、プロトロンビン、アンチトロンビンⅠⅠⅠ、フィブロンクチン、プラスミノゲン、加熱ヒト血漿蛋白、免疫血清グロブリン、改良免疫グロブリン、アルブミン、血漿成長ホルモン、ソマトメジン、プラスミノゲンストレプトキナーゼ複合体、セルロプラスミン、トランスフェリン、ハプトグロビン、抗トリプシン、及びプリカリクレインを、本発明の汚染除去法で取り扱うことができる。本発明による取り扱いが有用な他の流体は、機器の接続の際汚染されることがあり、腹膜感染の原因となる腹膜透析で用いる腹膜液である。

10

#### 【0019】

用語「生理活性」は生体又はその成分に変化をもたらすことができることを意味する。ここで参照する「生理活性タンパク質」の「生理活性」とは、不活性化される微生物の一部であるタンパク質についてではない。同様に、光増感剤についての「非毒性」とは、ヒト及び他のほ乳類に対して低毒性又は非毒性であることを意味し、不活性化される微生物に対して非毒性であるという意味ではない。生理活性の「実質破壊」とは、生理活性タンパク質への、及びヒト又はほ乳類の細胞への損傷効果を有することが知られているポルフィリン及びポルフィリン誘導体、代謝物質、及び前駆体による破壊と少なくとも同等の破壊を意味する。同様に「実質非毒性」は、血液滅菌で知られるポルフィリン、ポルフィリン誘導体、代謝物質、及び前駆体より毒性が低いことを意味する。

20

#### 【0020】

ここで使用する語「血液産物」は、血液成分及び、上で定義した血液から得られるタンパク質を含有する治療タンパク質組成を含む。血液から得られるタンパク質以外の生理活性タンパク質を含む流体も、本発明の方法によって取り扱うことができる。

#### 【0021】

本発明で用いられる内因性光増感剤及び内因性に基づく光増感剤誘導体は、微生物以外の流体成分の生理活性を実質的に破壊しない。これら成分の生理活性は、最大限保たれるが、例えば方法を最適化したときは、効果的な流体の汚染除去に対してバランスを取るために何らかの生理活性の喪失、例えばタンパク質成分の変性が必要となる。流体成分が生理活性を十分に保ち、それが意図的な又は自然な目的に有用である限りは、それらの生理活性は「実質破壊された」とはみなされない

30

#### 【0022】

本発明で使用する光増感剤は、微生物の不活性化に有用な当業者には既知のあらゆる光増感剤を含む。「光増感剤」は、一つ以上の確定した波長の光を吸収し、化学処理を実行するためにその吸収されたエネルギーを利用するあらゆる複合体と定義される。このような光増感剤は例えば、ポルフィリン、ソラレン、例えばニュートラルレッド、メチレンブルー、アクリジン、トルイジン、フラビン(アクリフラビンハイドロクロライド)及びフェノチアジン誘導体などの色素、クマリン、キノロン、キノン、及びアントロキノンを含む。本発明の光増感剤は、優先的に核酸に吸着し、よって付随する細胞やタンパク質に影響を殆ど又は全く及ぼさずに光力学的効果を微生物やウイルスに集中させる複合体を含んでいてもよい。一重項酸素依存性メカニズムを用いるような他の光増感剤も本発明で有用である。最も好ましいのは、内因性光増感剤である。語「内因性」は、体内での合成の結果として、又は栄養素(例えばビタミン)として摂取するか又は代謝及び/又は副産物としてインビボ(in vivo)で生成されることにより、人又はほ乳類の体内で自然に見出されることを意味する。このような内因性の光増感剤の例は、7, 8 - ジメチル - 10 - リピチルイソアロキサジン(リボフラビン)、7, 8, 10 - トリメチルイソアロキサジン(ルミフラビン)、7, 8 - ジメチルアロキサジン(ルミクローム)、イソアロキサジン - アデニン ジヌクレオチド(フラビン アデニン ジヌクレオチド[FAD])、

40

50

アロキサジンモノヌクレオチド（フラビン モノヌクレオチド〔FMN〕及びリボフラビン - 5 - リン酸塩としても知られている）、ビタミンKs、ビタミンL、それらの代謝物質及び前駆体、及びナフトキノン、ナフタリン、ナフトール、及び平坦な分子構造を有するそれらの誘導体である。語「アロキサジン」はイソアロキサジンを含む。内因性に基づく前駆体光増感剤は、内因性光増感剤の合成的に生成された類似体及び同族体を含み、これは元となった光増感剤の低（1 - 5）アルキル又はハロゲン置換基を有している又は欠いており、機能を保ち実質非毒性である。内因性光増感剤を用いるとき、特にその光増感剤が本質的に非毒性で、光照射後も毒性の生成物を生み出さない場合、汚染除去後の除去又は浄化工程は必要とされず、処理した生成物は直接患者の体内に戻すことができ、又は治療のために患者に投与することができる。好ましい内因性光増感剤は：



7, 8-ジメチル-10リピチルイソアロキサジン



### 7. 8-ジメチルアロキサジン

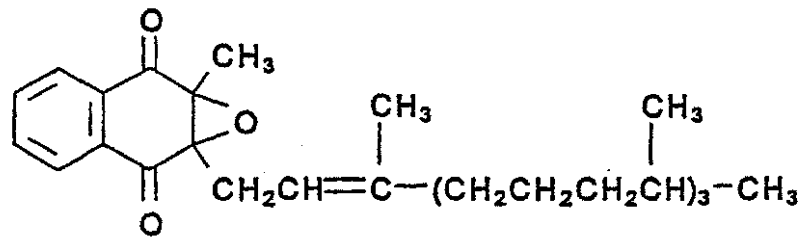


7, 8, 10-トリメチルイソアロキサジン



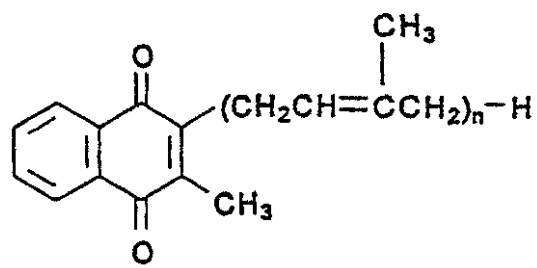
**ビタミンK1**





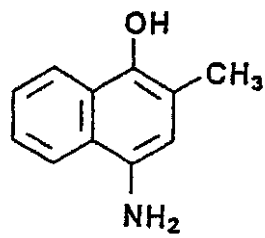
ビタミンK1酸化物

10



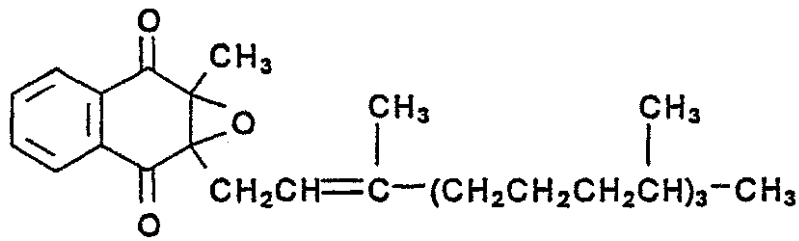
20

ビタミンK2



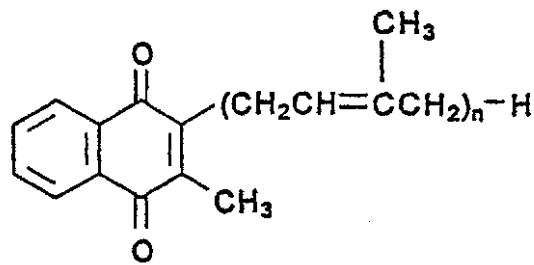
30

ビタミンK5



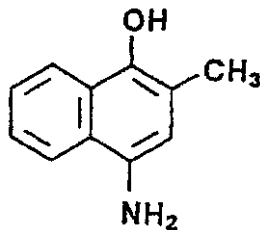
**ビタミンK1酸化物**

10



**ビタミンK2**

20



**ビタミンK5**

30

である。

【 0 0 2 3 】

本発明の光増感剤は、汚染除去する物質と混合される。混合は、汚染除去すべき流体に、乾いた状態又は液体状の光増感剤、又は光増感剤を含む本発明の溶液を添加するだけで達成できる。汚染除去すべき物質は光増感剤が添加されると、光源を通過して流れ、一般的には該物質の流れにより、汚染除去すべき流体に光増感剤を行き渡らせるのに十分な乱流が生み出される。代替案としては、流体及び光増感剤を一つの光透過性の容器に入れ、好ましくは光増感剤が十分行き渡り、流体全体が光照射されるように容器を攪拌しながら、バッチモードで光照射することもできる。

40

【 0 0 2 4 】

流体と混合させる光増感剤の量は、その微生物を十分不活性化するに足る量であるが、（人や他のほ乳類に対して）毒性となる量又は溶解できない量よりは少ない。ここで述べたように、要求される光増感剤の最適な濃度は、当業者ならば必要以上の実験をすることなく直ちに決定することができる。好ましくは光増感剤は、少なくとも約  $1 \mu\text{M}$  から光

50

増感剤の溶液への溶解度までの濃度、好ましくは $10\text{ }\mu\text{M}$ の濃度で使用される。7, 8ジメチル-10-リピチルイソアロキサジンについては、その濃度は約 $1\text{ }\mu\text{M}$ から約 $160\text{ }\mu\text{M}$ の間であり、好ましくは $8\text{ }\mu\text{M}$ - $50\text{ }\mu\text{M}$ である。

#### 【0025】

光増感剤を含む流体は、上記のような光増感剤を活性化するのに十分な光照射量であるが、生物学的成分に非特異的損傷を与えない量、又は流体中に存在するタンパク質の生理活性を実質的に妨害しない量の、該光増感剤を活性化するのに適切な波長の光照射に曝される。しかし必要な波長は、選択する光増感剤によって異なるが、当業者ならば周知であるか又はこれに関する説明に従い必要以上の実験を行うことなく直ちに決定できる。好ましくは光源は、約 $300\text{ nm}$ ないし約 $700\text{ nm}$ の光、より好ましくは約 $340\text{ nm}$ ないし約 $650\text{ nm}$ の照射を提供する蛍光又は発光光源である。本発明では紫外から可視範囲の波長が有用である。光源は、可視光線、紫外線、又はこれらの光線が混合した光を提供するものである。

10

#### 【0026】

活性化された光増感剤は、存在する微生物の複製を妨げるように干渉することによって、その微生物を不活性化することができる。光増感剤の特異性は、微生物の核酸に対する光増感剤の近似性によって決定され、これは核酸に対する光増感剤の結合力に起因してもよい。「核酸」はリボ核酸(RNA)及びデオキシリボ核酸(DNA)を含む。他の光増感剤は、細胞膜に結合することによって、又は他のメカニズムによって作用する。光増感剤は、抗体、好ましくは微生物に対する特異的なモノクローナル抗体と共有結合することによって微生物を不活性化させることを目的としてもよい。

20

#### 【0027】

光増感剤を含む流体は光透過性の容器内で光照射される。語「容器」は閉じられた又は開口した空間であり、硬質又は軟質の物質でできていてよく、例えば袋、箱、ボールであり得る。上部で開閉してもよく、流体のフロースルーを可能にするために例えば管のように両端が開口していてもよい。フロースルーシステムに関連する本発明の一実施例の実証には、キュベットを用いた。流体の回分式処理に関連するその他の実施例の実証には、Cobe Laboratories, IncのTrima(商標)、Spectra(商標)血液成分分離装置で用いられるような集塵バッグ、及び流体の収容に適した透過性バッグを用いた。

30

#### 【0028】

語「光透過性」は、容器の材質が光増感剤の活性化に適した波長の光照射に十分透過することを意味する。フロースルーシステムでは、容器の深さ(光源からの照射方向に測定した寸法)は、光源からあらゆる距離の光増感剤分子と接触し、汚染除去すべき液体中の微生物を確実に不活性化するように光照射が容器を透過するのに十分な深さであり、長さ(流体が流れるの方向の寸法)は、流体を十分な時間、光照射に曝すのに十分な長さである。このような容器の材質、容器の深さ及び長さは、当業者ならば周知であるか又はこれに関する説明に従い必要以上の実験を行うことなく容易に決定でき、容器内を流れる流体の流速とともに、光照射の強さ、及び流体成分、例えば血漿、血小板、赤血球の吸光率が、流体を光照射に曝すべき時間を決定する。7, 8-ジメチル-10-リピチルイソアロキサジンについて、好ましい照射量は約 $1\text{ J/cm}^2$ ないし $200\text{ J/cm}^2$ である。

40

#### 【0029】

処理すべき流体は、光透過性容器に入れてもよく、該容器を、微生物を不活性化させるのに十分な時間攪拌し光照射する。光透過性容器は好ましくは、透明又は半透明のプラスチックでできた血液バッグであり、攪拌手段は好ましくは振動台である。光増感剤は粉末、錠剤、カプセル、丸薬のような乾燥状態で、もしくは液体状で容器内に加えられ、該容器は光増感剤と流体が混合し、確実に微生物を不活性化させるために該流体全体が光照射に十分に曝されるように振動される。好ましい実施例では、光増感剤を添加溶液の他の成分と結合させ、光増感剤を含むそのような添加溶液を処理すべき流体に加える。光透過性容器を振動することなく流体を光照射に曝すこと、又は照射に曝す前にこのように振動させ

50

ることも検討できる。

【 0 0 3 0 】

光増感剤を光透過性容器に入れるのは容器の滅菌前でも滅菌後でもよい。光増感剤を含む好ましい添加溶液を使用するとき、グルコースと光増感剤が分解しないように、滅菌の間、グルコースと光増感剤の混合物をクエン酸と炭酸水素塩の混合物から分離しておくことが好ましい。より詳細には、グルコース / 光増感剤混合物は、クエン酸 / 炭酸水素塩混合物より低い pH で滅菌するべきである。

【 0 0 3 1 】

本発明は又、生理活性タンパク質、血液、又は血液成分からなり、加えて内因性光増感剤又は内因性に基づく誘導体光増感剤、及び添加溶液を含有する流体からなる。流体は不活性化された微生物も含んでいてよい。

10

【 0 0 3 2 】

光増感剤又は光増感剤を含む添加溶液を汚染除去すべき流体に加えるための、及び流体を光透過性容器に収容するための、当業者には既知のあらゆる手段を用いることができ、そのような手段には典型的には、流路、引き込み口、リザーバ、バルブ、及びその他同種のものが含まれる。システムは、汚染除去すべき流体へ光増感剤の流入を制御するためのポンプ又は可調整バルブのような手段を含み、それにより流体の濃度が上述のように効果的な水準に制御されることが望ましい。光増感剤は、例えば水、保存緩衝溶液のような事前に混合された水溶液内で、汚染除去すべき流体に加えることができる。光増感剤は、液体状で汚染除去すべき流体に加えるのが好ましいが、粉末、丸薬、錠剤、又はカプセルといった形態の乾燥体として加えることもできる。

20

【 0 0 3 3 】

ある実施例では、流体は、例えば米国特許第 5 6 5 3 8 8 7 号に記載されている血液成分分離装置で用いられる血液バッグのような光透過性容器に入れられ、光照射の間攪拌される。適切なバッグには、ここで記載したような集塵バッグが含まれる。C o b e L a b o r a t o r i s . I n c の S p e c t r a ( 商 標 ) システム又は T r i m a ( 商 標 ) 血液成分分離装置の集塵バッグが特に適している。振動台は例えば米国特許第 4 8 8 0 7 8 8 号に記載されているように当業者には既知である。バッグには、流体を入れるための開口部が少なくとも一つ備わっている。ある実施例では、光増感剤、好ましくは 7 , 8 - ジメチル - 1 0 - リピチルイソアロキサジンを含む添加溶液は、液体状で流体の入ったバッグに加えられる。バッグはこのとき振動台に設置され、流体全体に十分光が照射されるまで、照射された状態で攪拌される。もしくは、バッグには、粉末状の光増感剤及び / 又はそこに含まれる粉末状の添加溶液が入れられていてもよい。汚染除去をする流体は、次いで適当な開口部から加えられる。

30

【 0 0 3 4 】

上述の汚染除去システムは独立の装置としてもよく、又は、患者から採取した又は患者に投与する血液を分離する又は処理するために、当該技術分野では周知の既存の装置に簡単に組み込むものとしてもよい。例えば、そのような血液を操作する装置は、Cobe Laboratoris, Inc, Lakewood, CO で入手可能な COBE Spectra ( 商 標 ) 又は TRIMA ( 商 標 ) 血液成分分離装置、又は Cobe Laboratoris, Inc の米国特許第 5 6 5 3 8 8 7 号、1997 年 9 月 5 日提出の第 0 8 / 9 2 4 5 1 9 号 ( 国際出願 WO 9 9 / 1 1 3 0 5 号 )、同様に、他の会社で製造される血液成分分離装置も含む。汚染除去システムは、血液産物を注入する直前に血液を分離及び採取する点の下流、又は血液成分分離後に任意の点に挿入される。光増感剤は、好適には、保存又は添加溶液と一緒に血液成分へ加えられる。さらに分離光源とキュベットは、血小板、血漿、及び赤血球の集積点の下流に設置することも検討できる。三つの分離血液汚染除去システムの使用が、分離した成分の流れは低速であるため光照射が極めて容易であることから、アフエレーシスシステムの血液分離容器の上流側に、単一の血液汚染除去システムを設置する。他の実施例では本発明の汚染除去システムは前もって集積及び保存された血液製剤の処理に用いられる。

40

【 0 0 3 5 】

50

内因性光増感剤及び内因性に基づく誘導体光増感剤は、ここで開示した汚染除去システムと同様な既存の血液成分汚染除去システム内でも用いることができる。例えば本発明の内因性光増感剤及び内因性に基づく誘導体光増感剤は米国特許第5290221号及び536238号に記載の汚染除去システム内で用いられる。

【0036】

(詳細な記載)

内因性光増感物質及び内因性に基づく誘導体光増感剤を用いた本発明の汚染除去及び保存/添加溶液は、ここでは光増感物質として7, 8-ジメチル-10リビチル-リビチルイソアロキサジン为例示するが、光照射によって微生物の不活性化能力が活性化されるあらゆる光増感物質を使用することが使用できる。該光増感物質は汚染除去をする流体の必要な成分を破壊せず、光照射によって分解されて必要な成分を破壊し又は顕著な毒性を有する物質を生じることが無いのが好ましい。

10

【0037】

本発明によると、汚染除去をする流体は光増感物質及び添加保存溶液と混合し、十分な量の光を照射して、光増感物質を活性化させて、溶液内の微生物と反応して微生物を不活性化させる。流体内の微生物に到達する光の量は、適切な光源の選択、汚染除去をする流体からの適切な光源の距離、流体を収容するための適切な光透過性容器、容器内に完全に光が侵入することができる適切な深さ、一つ以上の付加光源のような光照射を強める装置、好ましくは容器に対して第1の光源の反対側に該装置が位置し、又は容器の後方から反射器によって光を容器内に反射させることによって制御する。流動型システムを用いる場合、微生物の不活性化に十分な時間光を照射できるように容器内での適切な流速及び容器の適切な長さを選択する。温度モニタと制御装置は流体を最適な温度に保つために必要である。

20

【0038】

バッチシステムの場合には、光透過性又は少なくとも光増感物質を活性化させるために十分な光が容器内に到達する程度に光を透過するバッグ内に、添加溶液を含む光増感物質と共に汚染除去の対象となる流体を設置するのが好ましい。保存又は添加溶液と共に十分な光増感物質を、不活性化のために各バッグに加える。光増感物質の濃度は、好ましくは少なくとも約10  $\mu\text{M}$  であり、該バッグは光照射の間攪拌され、照射は、好ましくは流体全体に光を照射するために約6ないし約60分の時間にわたって、1ないし200  $\text{J}/\text{cm}^2$  である。可視光、紫外光、又はその混合光が用いられる。他の実施例では、光増感剤は、粉末又は丸薬、錠剤又はカプセルのような乾燥状態で加えられる。汚染除去される流体は添加剤又は抗凝血溶液を含み、血液産物又は血液成分はこのような溶液中に保存される。

30

【0039】

この方法は、好ましくは核酸の複製を妨げる機能を有する内因性光増感剤を含む内因性光増感剤を使用する。7, 8-ジメチル-10リビチル-リビチルイソアロキサジンは本発明で使用する好ましい光増感物質である。7, 8-ジメチル-10リビチル-リビチルイソアロキサジンと核酸との間の反応は、一重項酸素に依存する反応(すなわちII型機構)ではなく、増感剤と基材との間の相互作用(I型機構)である。カデット(Cadet et al. 1983) J.Chem. 23:420-429は、明確に7, 8-ジメチル-10-リビチルイソアロキサジンの効果はグアノシン残基の非一重項酸素によるものであることを示した。さらにアデノシン基は7, 8-ジメチル-10-リビチルイソアロキサジンとUV光に敏感に反応する。これはアデノシン残基は一重項酸素に反応しないため重要である。7, 8-ジメチル-10-リビチルイソアロキサジンはUV光を照射されても大量の一重項酸素を生成しないが、励起状態の増感物質の種との電子遷移反応を通して基材(例えば核酸)と直接相互作用によって効果を発揮する。細胞やタンパク質への無差別的な損傷が基本的に一重項酸素によって生じるので、この7, 8-ジメチル-10-リビチルイソアロキサジンの機構は、主としてII型化学反応であるソラレン化合物より反応の選択性が極めて大きい。

40

50

## 【 0 0 4 0 】

図 1 は本発明の光増感物質保存溶液と共に用いるための、血液成分収集のための血液装置及びアフエーシスシステムを示した。全成分血液はドナー / 患者 4 から回収され、アフエーシスシステム又は血液成分分離装置 8 に供給される。ここで血液は様々な型の成分に分離され、少なくとも一つの型の血液成分が装置 8 から除かれる。これらの血液要素は他の用途又は治療のために処理されドナー / 患者 4 に戻される。

## 【 0 0 4 1 】

血液成分分離装置 8 では、血液はドナー / 患者 4 から取り出され、完全に閉じた無菌の系として定義される体外管回路 1 0 及び血液処理容器 1 2 を通過する。該血液成分分離装置 8 はポンプ ( 図示しない ) に接続されている。ドナー / 患者 4 からの血液の流れは体外管回路 1 0 を通り回転している血液処理容器 1 2 を流れる。該血液処理容器 1 2 内の血液は様々な血液成分型に分離され、これらの成分 ( 血漿、血小板、赤血球細胞 ) は血液処理管 1 2 から絶えず取り出しされる。収集又は治療のために保管しない血液成分 ( 例えば赤血球、白血球、もし血小板が収集されるときは血漿 ) は血液処理容器 1 2 から除去され、体外管回路 1 0 を通ってドナー / 患者 4 に戻る。

## 【 0 0 4 2 】

血液成分分離装置の動作は、内蔵された 1 つ以上のコンピュータによって制御されることが好ましい。

## 【 0 0 4 3 】

体外管回路 1 0 は、互いに接続されたカセットアセンブリ 1 4 及び多数の管アセンブリ 2 0、5 0、6 0、7 0、8 0、9 0、1 0 0 を有している。血液取り出し / 返還管アセンブリ 2 0 はドナー / 患者 4 とカセットアセンブリ 1 4 との間に単一の針インターフェースを提供しており、血液注入 / 血液成分管アセンブリ 6 0 はカセットアセンブリ 1 4 と血液処理管 1 2 との間にインターフェースを提供している。抗凝血剤管アセンブリ 5 0、血小板収集管アセンブリ 8 0、血漿収集管アセンブリ 9 0 とベントバッグ管サブアセンブリはカセットアセンブリ 1 4 と相互に接続されている。

## 【 0 0 4 4 】

該血液取り出し / 返還管アセンブリ 2 0 はニードルサブアセンブリ 3 0 と接続されており、抗凝血剤管 2 6 はカセットアセンブリ 1 4 を通って抗凝血管アセンブリ 5 0 と接続されている。

## 【 0 0 4 5 】

カセットアセンブリ 1 4 は前面及び後面モールド形成プラスチック板を有し、これらは互いに溶着されて、内部に流体流路を有する角形カセットメンバーを構成している。該セットアセンブリ 1 4 はさらに様々な集積流路と接続された外に延長された環状の管を有している。該集積流路は様々な管アセンブリと接続されている。

## 【 0 0 4 6 】

特に、カセットアセンブリ 1 4 は、血液取り出し / 返還管アセンブリ 2 0 の抗凝血管 2 6、及び抗凝血管アセンブリ 5 0 と接続されている。該抗凝血管アセンブリ 5 0 は抗凝血材及び光増感剤源 5 3 と、殺菌フィルタ 5 6 と接続可能な点滴チャンバ 5 2 を有している。又、使用中は体外管回路 1 0 内でのいかなる凝血も減少又は防止するために、ドナー / 患者 4 から取り出した血液に抗凝血剤を供給する。多くの抗凝血剤は当業者には既知であり、例えば A C D - A、A C D - B、C P D、C P - 2 D、C P D A - 1、及びヘパリンである。これらおよび細胞保存溶液、A S - 1、A S - 3、A S - 5、S A G M、M A P、P A S、P A S I I、P l a s m a l y t e A、P A S I I I、S e t a S o l、T - S o l、及び P S M - 1 H は、ここで記載した内因性光増感剤及び内因性に基づく誘導体光増感剤と互換性がある。

## 【 0 0 4 7 】

カセットアセンブリ 1 4 は又血液取り出し / 返還アセンブリ 2 0 の血液取り出し管との接続部を有する。血液は圧力センサ、カセットアセンブリ 1 4 の注入口フィルタ 6 2 及び血液注入管 6 2 を通過する。血液注入管 6 2 は又、処理のために全ての血液を供給するため

に血液処理容器 12 に接続されている。

【0048】

分離された血液成分をカセットアセンブリ 14 に戻すために、血液注入 / 血液成分管アセンブリ 60 は、血液処理容器 12 の対応する排出口に接続されている赤血球細胞 (RBC) / 血漿排出口、血小板排出口、及び血漿排出管を有している。該赤血球細胞 (RBC) / 血漿排出管は分離された赤血球細胞 (RBC) / 血漿成分を分岐させて、カセットアセンブリ 14、赤血球細胞収集管アセンブリ 70 を通って RBC 収集バッグ 74 へ流通させる。血小板排出管は分離された血小板を分岐させて、カセットアセンブリ 14 から血小板収集管アセンブリ 80 を通って血小板収集バッグ 84 へ流通させる。血漿排出管は分離された血漿を分岐させて、カセットアセンブリ 14、血漿収集管アセンブリ 90 を通って血漿収集バッグ 94 へ流通させる。ベントバッグ 104 はシステム内のガスを排出するために用いられる。

10

【0049】

図 2 及び 3 は、血液を保存するのに用いられる血液バッグ又は光透過性容器には、乾燥又は水溶液状の光増感物質が予め収容された本発明の実施例を示すものである。これらの図で示した実施例は、図 1 で示したシステムの収集された血液成分に対して用いられる。血液成分の保存に必要な添加物質は分離した状態か又は光増感物質と一緒に予め収容されている。バッグに予め収容されている光増感物質と血液成分添加物質は、乾燥粉末状態、丸薬、カプセル、錠剤、液体状又はこれらの混合状態である。本発明において「乾燥固体」又は「乾燥状態」という用語は、当該成分がばらばらの粉末状態又はピルのような固形の状態、カプセル、錠剤、又は当業者には既知のこれらに等価な他の状態を意味する。

20

【0050】

あるいは、図 2 では、第 1 のバッグ 1 及び第 2 のバッグ 2 が柔軟な管 3 によって接続されている。該第 1 及び第 2 のバッグは、図 3 に示したように、柔軟な管 3 を経由して 2 つのバッグ管にある小容器 5 を有していてもよい。該容器 5 は、他のバッグ、フラスコ、リザーバ、小シリンダ、又は当業者には既知の他の容器でも良い。図 3 の小容器 5 又は図 2 の管 3 は、2 つの血液バッグ 1 と 2 と同様に、あらかじめ収容された所定の状態の成分を有していてもよい。

【0051】

他の実施例では、光増感物質及び血液添加物質か又は生理食塩水を事前に第 1 のバッグに収容する。グルコース又は他の栄養素が光増感物質とともにバッグ 1 に収容される添加物質である。血液添加物質及び光増感物質は乾燥した固体状態か又は好ましくは液状である。もし乾燥状態で使用する場合は、溶液又は好ましくは生理食塩水溶液が注入口からバッグへ加えられる。第 2 のバッグ 2 は好ましくは炭酸水素塩及びクエン酸を予め収容する。注入口を通して第 1 のバッグへ分離した血液成分を加えると、結果的に得られた、血液成分、光増感物質、グルコース、及び添加溶液を含む媒質が、柔軟な管 3 を通って第 2 のバッグに移動する。そこで、該第 2 のバッグ 2 を第 1 のバッグから切り離し、混合し光を照射する。しかしながら、光増感物質を加えた後であれば、第 1 のバッグ又は第 2 のバッグの何れにたいして光を照射しても良いことに留意する必要がある。

30

【0052】

図 3 に示した他の実施例では、第 1 のバッグ 1 は固体又は液体状の添加溶液を収容している。血液成分を付加した後、血液成分を含む媒体は管 3 又は小容器 5 を通って第 2 のバッグ 2 に入る。この実施例では、炭酸水素塩又はリン酸塩のような固体又は液状の他のバッファは、管 3 又は小容器 5 内に位置している。混合物が管 3 又は小容器 5 を通ると、炭酸水素塩又はクエン酸は混合物と接触して溶解する。第 2 のバッグ 2 に到達すると、媒体及び溶解した炭酸水素塩又はクエン酸の混合体は、固体又は液体状の、バッグ 2 内にあるグルコース又は光増感物質に接触する。次に第 2 のバッグ 2 をバッグ 1 から切り離し、混合し、光を照射する。

40

【0053】

本発明のさらに他の実施例では、第 1 のバッグは添加溶液及びグルコースと一緒に、又

50

は添加溶液及びグルコースなしに光増感物質を収容し、管 3 又は小容器 5 は炭酸水素塩又はクエン酸を収容している。他の実施例では、添加溶液を収容する第 1 のバッグは、光増感物質は管 3 又は容器 5 内にあり、炭酸水素塩又はクエン酸および / 又はグルコースは第 2 のバッグ内にある。光増感剤が第 1 のバッグ内にあり、炭酸水素塩又はクエン酸そして / 又はグルコースが管 3 又は容器 5 内にあることも考えられる。第 1 のバッグと容器 5 の接続に折れやすい接続部（図示しない）を使用することも本発明に含まれる。折れやすい接続部は、流体又は媒体が管 3 又は容器 5 内の内容物に達するように手動ではめ込む。

#### 【 0 0 5 4 】

好ましい実施例では、グルコース及び光増感物質は、第 1 の水溶性混合液として第 1 のバッグに予め収容されており、炭酸水素塩とクエン酸は第 2 の水溶性混合液として第 2 のバッグ内に収容されている。バ光増感物質とグルコースが炭酸水素塩とクエン酸から分離したバッグ内で殺菌される点においてこの構成は好ましい。光増感物質及びグルコースを含むバッグ 1 は通常 pH が 6 程度であり、クエン酸及び炭酸水素塩を含むバッグ 2 は pH の範囲が 7 . 0 - 8 . 0 である。この例ではバッファーとしてリン酸塩もバッファーとして使用することができるが、人体により自然な炭酸水素塩の方が好ましい。

#### 【 0 0 5 5 】

使用前及び殺菌後のバッグ 1 及び 2 の内容物はバッグ 1 内で混合して例えば第 3 の流体混合体を形成する（もちろん、該内容物はクエン酸 / 炭酸水素塩のバッグ 2 内で混合することもできる）。該光増感物質、グルコース / クエン酸 / 炭酸水素塩混合体は、例えば図 1 のアフエーシス装置を用いて収集した血小板のような収集された血液成分と結合する。例えば、一つの血小板収集バッグ 8 4 の内容物をバッグ 1 内の光増感物質添加溶液混合体に加える。血液又は血液成分に対して、以下に記載するように光を照射する。光増感物質 / 添加溶液混合体をバッグ 8 4 に加え、流体又は血液成分に対して収集バッグ 8 4 内で光を照射することができることは当然である。必要なことは、グルコース及び光増感物質を炭酸水素塩バッファーから分離して殺菌したあと、汚染除去をする流体又は血液成分を光増感物質と添加物質と混合することと、該光照射工程に使用するバッグが光透過性であることだけである。

#### 【 0 0 5 6 】

本発明には多数の変形例が考えられる。添加溶液又は他の内容物は、小容器 5 内と同様に流体又は乾燥した固体状態でどのバッグ内に収容されてもよい。血液中の汚染物質を光不活性化する本システムにおいて、炭酸水素塩又はリン酸塩、及びグルコースのような栄養素を既知の付加炭酸水素塩又はリン酸塩及びグルコースを含まない添加溶液に加えることが考えられる。又、バッグシステムを殺菌する間は、炭酸水素塩又はリン酸塩を光増感物質から分離しておくこと、及び炭酸水素塩又はリン酸塩をグルコースから分離しておくことが望ましい。既知の添加溶液が炭酸水素塩又はリン酸塩および / 又はグルコースを含む場合、同じ成分を添加する必要はないことは当然である。これらの実施例は僅かな例示に過ぎないものであり、これらに限定されるものではない。内容物の他の組み合わせも可能なことは当然である。

#### 【 0 0 5 7 】

本発明の方法は、「抑制剤」又は酸素スカベンジャーのような促進因子を必要としないが、これらは非特異細胞、タンパク質損傷物質を減少させ、病原体不活性化率を向上させることで反応を促進するために用いることもできる。非毒性内因性光増感物質及び内因性に基づく誘導体光増感剤を用いる好ましい方法は、光照射後に流体から光増感剤を除去する必要がない。試験の結果他の血液成分に損傷はほとんど無いが全く無く、例えば血小板は後処理の後生理活性を 5 日間保った。

#### 【 0 0 5 8 】

図 4 は光増感物質と添加溶液と汚染除去をする流体を収容した例えばバッグ 1 が光照射される本発明の実施例である。光源 2 6 0 がバッグ 1 内の流体及び光増感物質を照射している間、振動台 2 8 0 は光増感物質 / 添加溶液を分散させるために該バッグ 1 を攪拌する。

#### 【 0 0 5 9 】



図5は、本発明に基づく、流れる状態を利用した独立型の汚染除去アセンブリを示した。血液製剤180（収集したばかりの血液、血液成分、保存血液、例えばバッグ84内の又はバッグ84から収集された血小板）は、ポンプ184を通して汚染除去キュベット164へ到達する血液製剤ライン186に接続している。光増感物質及び添加溶液リザーバ166は、注入ポンプ170を搭載した光増感物質注入ライン168に接続されており、汚染除去キュベット164から上流の血液製剤ライン186へ到達する。好ましい実施例では、光増感物質リザーバは、上で記載したように、バッグ1及び2の内容物を混合したあと光増感剤／グルコース／炭酸水素塩／クエン酸混合体で満たされる。汚染除去キュベット164は、汚染除去が確実にできるように選択された深さ（d）長さ（l）の光透過性キュベットである。温度モニタ192に接続された冷却システムが、流体の温度を制御するために汚染除去キュベット164に接続されている。汚染除去キュベット164は、光源ガイド162を通して光照射光源160に接続されている。光照射促進装置163はキュベット内の血液製剤に到達する光の量を増加させるために汚染除去キュベット164に隣接（接触させるか離間して）して設置されている。汚染除去された血液製剤ライン188は汚染除去キュベット164から汚染除去血液製剤収集装置182に導かれている。

#### 【0060】

作動時は、血液製剤180は血液製剤ライン186へ導かれ、該ラインは光増感物質注入ライン168内の光増感物質注入ポンプ170によって流量を制御されている光増感物質リザーバ166から流れる光増感物質及び添加溶液と接触する。血液製剤ライン186内の流量は、汚染除去キュベット164内の汚染除去を確実にするような流量となるようにポンプ184によって制御される。温度モニタ192はキュベット164内の流体の温度を測定し、冷却システム190を制御してキュベット内の温度を最適な操作のために必要な範囲に保つ。汚染除去キュベット164内の血液製剤は、光源ガイド162によって導入される光源160によって光を照射される。光源は2つ以上の光源を有しても良い。図中の矢印は光源ガイド162から、透過性汚染除去キュベット164内にある血液製剤に向けて伝搬する光を示している。汚染除去キュベット164に隣接して光照射促進装置163があり、該装置は他の光源又は反射面でも良い。光照射促進装置163から汚染除去キュベット164の方向を指している矢印は、キュベット164内の血液製剤を照らしている光照射促進装置163からの光を示している。汚染除去された血液製剤は、汚染除去血液製剤ライン188を通して汚染除去キュベット164を出て、汚染除去血液製剤収集器182に収集される。

#### 【0061】

光増感物質としてシグマケミカル社（Sigma Chemical）の7，8 - ジメチル - 10 - リピチルイソアロキサジンを用いる実施例において、光源ガイドとして光ファイバ、EFOS社、ウィリアムビル、ニューヨーク（Williamsville, N, Y）を用いた。該システムは波長範囲355 - 380 nm、強度6200 mW / cm<sup>2</sup>の集中的な光を照射できる。又、このシステムに交換可能なフィルタを使用して、スペクトル範囲400 - 450 nmでの出力4700 mW / cm<sup>2</sup>を達成することができる。いずれの場合にも、波長範囲320 nm以下の光は無視できる。このシステムでは、様々な寸法の光源ガイド（3、5、及び8 mm）を使用することができる。光は光源ガイドの先端から21度の角度で拡散する。8 mmの光源ガイドは、オレゴン州フォーレストグローブのインダストリアルプラスチック社（Industrial Plastics, Inc., Forest Grove, OR）のコーブ（登録商標）スペクトラと共に使用する、好ましい使い捨て標準キュベットの表面を照射するのに適切で、正しく設置して、適切な照射を行うことができる。

#### 【0062】

該流量は可変であり、試料に照射する光エネルギーの量に基づいて決定する。該流量はイリノイ州のコールパーマー装置社（Cole - Parmer Instrument Company, Vernon Hills, IL.）のペリスタリックポンプによって制御した。流量及び注入流の型は当業者には既知であるようにコンピュータ処理によって制

御した。

【 0 0 6 3 】

( 例 1 )

7 , 8 - ジメチル - 1 0 - リピチルイソアロキサジンの吸光特性

7 , 8 - ジメチル - 1 0 - リピチルイソアロキサジン ( 純度 9 8 % ) の試料をシグマケミカル社 ( S i g m a C h e m i c a l ) から得た。この試料の一部を走査 UV スペクトロメータにかけた。実験した波長範囲は 2 0 0 から 9 0 0 n m である。解析のために試料を蒸留水に溶解させた。この解析による試料のスペクトラムを図 6 に示す。

【 0 0 6 4 】

7 , 8 - ジメチル - 1 0 - リピチルイソアロキサジンに関して文献に報告されている最大吸収係数と吸光係数は一定しており、

文献のλ最大 (ε)	測定されたλ最大 (ε)
2 6 7 ( 3 2 3 5 9 )	2 2 2 ( 3 0 9 6 5 )
	2 6 5 ( 3 3 1 5 9 )
3 7 3 ( 1 0 4 7 1 )	3 7 3 ( 1 0 5 6 8 )
4 4 7 ( 1 2 3 0 3 )	4 4 5 ( 1 2 4 6 6 )

である。

【 0 0 6 5 】

照射のための適切な波長は 3 7 3 及び 4 4 5 n m である。これら最大吸収係数で観察された吸光係数は溶液内の増感剤が適切に活性化していることを保証するのに十分である。

【 0 0 6 6 】

( 例 2 ) 7 , 8 - ジメチル - 1 0 - リピチルイソアロキサジンの溶解性

I s o l y t e S . p H 7 . 4 媒体中の溶解性

7 , 8 - ジメチル - 1 0 - リピチルイソアロキサジンの I s o l y t e S . p H 7 . 4 媒体中の最大溶解性を以下のように測定した。

【 0 0 6 7 】

7 , 8 - ジメチル - 1 0 - リピチルイソアロキサジンを沈殿物が形成されるまで I s o l y t e S に混合した。混合物を室温で 1 時間攪拌し、遊離物を完全に溶解させるためにうずを発生させた。さらにうずを発生させても固形遊離物が残留するまで、さらに 7 , 8 - ジメチル - 1 0 - リピチルイソアロキサジンを加えた。その後、この懸濁液を遠心分離機にかけ、溶解しなかった物質を除去した。この調整液の上澄みを除去し、分光光度計を使って分析した。この溶液の吸光度の値は 4 4 7 n m 及び 3 7 3 n m と測定された。以前に測定した吸光係数から、飽和溶液の濃度を推定できる。

濃度 ( 3 7 3 ) = 1 1 0 μ M = 4 2 μ g / m L

濃度 ( 4 4 7 ) = 1 0 9 μ M = 4 0 . 9 μ g / m L

抗凝血剤 A C D - A 中の溶解度

抗凝血剤 A C D - A を用いて上述の工程を繰り返した。これらの測定から得られた値は以下のものである。

濃度 ( 3 7 3 ) = 1 6 6 μ M = 6 3 μ g / m L

濃度 ( 4 4 7 ) = 1 6 0 μ M = 6 0 . 3 μ g / m L

これらの研究から得られた値は、材料の溶解度の予想上限を示している。

【 0 0 6 8 】

( 例 3 ) 水溶液中の 7 , 8 - ジメチル - 1 0 - リピチルイソアロキサジンの光分解

シグマ A C D - A 中の 7 , 8 - ジメチル - 1 0 - リピチルイソアロキサジン溶液を 6 3 μ g / m L の濃度で調整した。この調整液をガラスピペットに取り、UV 光源 ( 3 2 0 n m 以下の光をフィルタで除去し、最大 3 6 5 n m ) に当てた。分光分析のため、アリコート除去して懸濁液を特定の間隔で光照射した。溶解した 7 , 8 - ジメチル - 1 0 - リピチルイソアロキサジンの吸光度は各時間で 3 7 3 n m と 4 4 7 n m の波長で計測した。結果を図 7 及び表 1 に示す。

【 表 1 】

酸性溶液中でUV光（365 nm）を照射したときの7，8-ジメチル-10-  
-リビチルイソアロキサジンの光分解

照射時間	% 照射光 373 nm	% 照射光 447 nm
0	100	100
5	87.3	61.6
10	90.5	76.6
15	100	70

10

## 【0069】

373 nmにおける溶液の光吸収特性は、光照射時間全体に渡って試薬の有意な分解が無いことを示している。この波長での光の吸収度はn - \*電子遷移に相当する。測定時間全体に渡ってこのピークの強度に減少が無いことは、これら条件で長時間照射を行っても分子の環状構造が損なわれていないことを示す。

## 【0070】

波長447 nmでの分子の吸光度は - \*電子状態遷移によるものである。光照射時間の増加に伴うこの波長における分子の吸光度の減少は、分子の共鳴構造に殆ど変化が無いことを示している。この変化特性は、7，8-ジメチルイソアロキサジンのバックボーン  
の環状構造からリボースが欠損していることと、その結果として7，8-ジメチルアロキサジンが生成したと考えることが最も妥当である。これらの変化特性は、文献に報告されているUV光を照射したときの分子行動と矛盾しない。

20

## 【0071】

分子の環状構造の分解の明白な欠如は、同様の条件下におけるソラレンを基材とする化合物の観察結果と明らかに反対である。光照射の間、溶液中に有意な分子の蛍光が観測された。この分子行動は環状構造の共鳴特性と一致しており、非破壊的な励起状態における分子のエネルギー損失のための手段を提供する。

## 【0072】

## (例4) フローシステムの評価

フローシステムを実現可能にするために、試料は十分に光照射されていなければならない。提供されたスペクトラキュベットがこの目的を果たすものであるならば、以下に示すようにキュベットを通過する流速の関数として光束の必要値を推定できる。キュベットの光照射区域にある溶液の体積は約0.375 mlである。キュベットのこの領域内の細胞の移動時間は以下の方程式から決定できる。

30

$T = \text{キュベットの体積 (ml)} / \text{流速 (ml/min)}$

1分間100 mlでは、移動時間(T)は0.00375分 = 0.225秒である。

## 【0073】

この試料に対する光照射エネルギーは以下の方程式による光束に基づく。

エネルギー(E, ジュール/cm<sup>2</sup>) = 光束( , mW/cm<sup>2</sup>) × 時間(T, 秒) / 1  
000

40

## 【0074】

適切に増感剤を活性化させるのに1ジュール/cm<sup>2</sup>が必要で、移動時間(T)が0.22秒である(すなわち100 ml/分の流速でキュベットを通過する)とすると、試料がキュベットを通過する間に必要な光束は4545 mW/cm<sup>2</sup>である。光源から必要な光束とキュベットを通過する流速の関係を図8に示す。

## 【0075】

これらの結果は、フローシステムを適切に操作するためには、照射域にW/cm<sup>2</sup>の出力を有するUV源が必要であることを示している。

## 【0076】

50

(例5) 生体外血小板パラメータでのウィルス不活性化処理の効果

生体外血小板パラメータでウィルス不活性化処理の効果の評価した。濃縮血小板を7, 8 - ジメチル - 10 - リピチルイソアロキサジンとUV光で処理した。さまざまな生体外パラメータを血小板の機能の指標に使用して、処理条件より誘起される変化の範囲を決定した。UV光照射のエネルギーレベル、使用した7, 8 - ジメチル - 10 - リピチルイソアロキサジンの投与量、試料処理条件などの要因について、血小板の質の後処理への影響を検査した。この研究結果は血小板の機能を損なうことなくHIV-1を不活性化するための適切な取り扱い方法を決定するために用いた。

【0077】

3つの異なる7, 8 - ジメチル - 10 - リピチルイソアロキサジン濃度の試料を調整した。標準スペクトラルRSコレクションから得た血小板をこの研究に使用した。

10

【0078】

試料は最初に血小板小球を濃縮するために遠心分離機にかけた。該小球は70:30 (Isolyte S, pH 7.4; McGraw, Inc. 媒体: 血漿) で溶液中に再懸濁した。特定の濃度の7, 8 - ジメチル - 10 - リピチルイソアロキサジンが血漿: 媒体混合物中に得られた。該血小板懸濁液を3種類の流速のうちの1つでUV照射チャンバ内を通過させた。流速は照射チャンバを通過する細胞/媒体混合体の照射エネルギーレベルに直接関連した。照射チャンバを通過した後、後の解析のためにクエン酸採集バッグに保存された。

照射後、ハイポトニックショック反応(HSR)、GMP-140圧出、pH、pCO<sub>2</sub>、pO<sub>2</sub>、血小板渦、及び細胞数を含む血小板機能の生体外測定値を評価し、細胞品質に対する処理条件の影響を決定した。

20

血小板の品質を光照射条件の関数(増感剤濃度及び流速/エネルギーレベル)として監視した。血小板品質はHSR反応、GMP-140活性化、その他のパラメータを含む。流速は以下のような照射のエネルギーレベルに関連している。

移動時間(T, 秒) = 照射時間 = 0.375 ml (F<sub>r</sub> / 60)

F<sub>r</sub> = 流速 (ml / 分)

0.375 ml = キュベット体積 (ml)

ゆえに T (秒) = 22 / F<sub>r</sub>

エネルギー (ジュール / cm<sup>2</sup>) = 光束 ( , mW / cm<sup>2</sup>) × T (秒) / 1000

30

E = × 0.022 / F<sub>r</sub>

【0079】

処理する血小板が安定状態にあり生存度を有する状態ある場合の7, 8 - ジメチル - 10 - リピチルイソアロキサジンの濃度、及びUV光照射の効果の評価した。3つのエネルギーレベルと3つの濃度を以下のように評価した。

エネルギーレベル: 1, 5, 9ジュール / cm<sup>2</sup> \*

7, 8 - ジメチル - 10 - リピチルイソアロキサジンの濃度: 1, 50, 100 µM \*

\* 全体の照射エネルギーレベルは表2の変換表に従って照射チャンバを通る懸濁液の流速から決定した。

40

\*\* 媒体は70:30 (媒体: 血小板) に薄められ、血小板混合前の媒体中の7, 8 - ジメチル - 10 - リピチルイソアロキサジンの濃度は適切に調整された。これにより、Isolyte S中の初期濃度は1.43、71.4、及び143 µMにする必要があった。

【表2】

照射チャンバを通る流速の関数としてのエネルギー照射レベル

照射エネルギー (J/cm <sup>2</sup> )	流 速 (mls/分)	20mlの処理時間 (分)
1	16.90	1.18
2	8.45	2.37
3	5.83	3.55
4	4.22	4.73
5	3.38	5.92
6	2.82	7.10
7	2.41	8.29
8	2.11	9.47
9	1.88	10.65
10	1.69	11.84

光束 = 3640 mW / cm<sup>2</sup> ; チャンバ体積 = 0.117 ml。

処理した試料の値を制御パラメータ群と比較した。制御試料は以下を含んだ：

血漿中の非処理試料（実績制御）

+ フロー - UV - 7, 8 - ジメチル - 10 - リピチルイソアロキサジン

【0080】

（処理）

通常のドナーの血小板アフェレーシス製剤を認可された血液バンクであるAABBから得た。試料は標準のスペクトラルRS（商標）処理を用いて得た。以下に記載した全ての処置又は手順は通常の実験の安全性と測定法を用いて行われた。又ユニット番号及び血液型が記録された。全ての試料は収集から24時間以内に使用した。試料の移動、処理の段階はすべて衛生的に行われた。

【0081】

試料は500 mlのPVCパックに移し、5000 gの遠心分離器に5分間かけて血小板をパックした。血漿は通常の血漿絞り器を用いて血小板ペレットから除去した。該血漿は他の用途のために保存した。細胞ペレットから除去された血漿はIsolyte S, pH 7.4; McGraw, Incの保存溶液と混合した。該媒体の保存溶液は、所定の量の7, 8 - ジメチル - 10 - リピチルイソアロキサジンをIsolyte Isolyte Sに加えて最終濃度を1.43、71.4、及び143 μMにして用意した。7, 8 - ジメチル - 10 - リピチルイソアロキサジンを付加した後で、保存溶液0.22 μMを殺菌フィルターに通した。保存溶液に最終的に1、50、及び100 μMの7, 8 - ジメチル - 10 - リピチルイソアロキサジン濃度になるように70:30 (v:v)の比で自家血漿を混合した。7, 8 - ジメチル - 10 - リピチルイソアロキサジン保存溶液を準備する間、光が当たらないように注意した。試料は以下のように準備した。

1 μM                      2 試料

100 μM                   2 試料

50 μM                    1 試料

【0082】

血小板ペレットは血漿内で再懸濁させ、すなわち初期試料の固有の体積で媒体を混合した。試料を細胞の容器及び光増感剤、媒体の容器、ポンプを搭載した混合細胞/増感剤及び媒体の単一のラインにバルブを経由して接続する容器を有する流れ装置に接続した。混合細胞/増感剤及び媒体を、光照射を受ける鏡面壁に支持されたキュベット内を流した。この照射チャンバは温度探針を搭載している。キュベットを通過した後、流体を製剤バッグ

に収集した。

#### 【0083】

管一式は最初に I s o l y t e S 媒体で湿潤させた。試験試料を流す5分前に光源を動作させた。この間温度を監視し、照射チャンバ内の温度が32以下になるように保った。

#### 【0084】

照射チャンバを通る試料の流量は表2のチャートから決定した。全体の光照射エネルギーレベルが1、5、9 J / c m <sup>2</sup> になるような流量を以下の一連の試験で用いた。

#### 【0085】

試料#1: 7, 8 - ジメチル - 10 - リピチルイソアロキサジン濃度 = 1 μ M

A . + 7, 8 - ジメチル - 10 - リピチルイソアロキサジン + 1 J / c m <sup>2</sup>

B . + 7, 8 - ジメチル - 10 - リピチルイソアロキサジン + 9 J / c m <sup>2</sup>

試料#2: 7, 8 - ジメチル - 10 - リピチルイソアロキサジン濃度 = 100 μ M

A . + 7, 8 - ジメチル - 10 - リピチルイソアロキサジン + 1 J / c m <sup>2</sup>

B . + 7, 8 - ジメチル - 10 - リピチルイソアロキサジン + 9 J / c m <sup>2</sup>

試料#3: 7, 8 - ジメチル - 10 - リピチルイソアロキサジン濃度 = 50 μ M

A . + 7, 8 - ジメチル - 10 - リピチルイソアロキサジン + 5 J / c m <sup>2</sup>

試料#4: 標準試料 7, 8 - ジメチル - 10 - リピチルイソアロキサジン濃度 = 0 μ M

A . + F l o w - U V - 7, 8 - ジメチル - 10 - リピチルイソアロキサジン

#### 【0086】

全ての試料は試験番号によって識別され試料表示符号は処理条件(すなわち1A)に対応している。各資料は全体で2回同じ実験を行った。試料を扱う順序は乱数発生器を用いて決定した。

#### 【0087】

1回の試験条件で20mlの体積を各試料で収集した。これらの試料はクエン酸収集バッグに収集して(全体で53ml)解析のために保存した。試料と照射チャンバの温度は開始時、中間点、終了時で記録した。

#### 【0088】

各準備液の初期標本は処理後に解析のために除去した。解析のパラメータは細胞数、pH、pCO<sub>2</sub>、pO<sub>2</sub>、血小板渦、HSR及びGMP-140解析を含む。試料の残留部分は+22培養器内の結晶板攪拌器に残し、後処理後5日間保存した。5日目に第2の標本を除去し、同じin vitroパラメータを解析した。

#### 【0089】

実験には以下の装置を使用した。Nikon Labophot microscope; Sero - Baker System 9000 Hematology Analyzer; analytical 3000i Centrifuge; Corning Blood Gas Analyzer; Becton - Dickinson FAC SCLALIBUR Flow Cytometer; UV照射チャンバ; UV放射計(UVX放射計, UVP, Inc); EFOS Ultracure 100SS Plus(最大出力365 nm及びバンドパスフィルタ340 nm); 及び温度探針(thermocouple)。

#### 【0090】

実験に用いた各変数は、エネルギー照射と7, 8 - ジメチル - 10 - リピチルイソアロキサジンの濃度の条件毎に比較した。処理しなかった標準試料と直接比較し、paired、one-tailedステューデントt検定による約p>0.05で定義された顕著な相違を観測した。これらの研究を以下にまとめる。

1. 10 μ M以上の増感剤の濃度及び1.5 E + 06 / μ L以上の血小板濃度では、2日で試料のpHは低下した。該pHは2日以降下がり続け、保存3日で許容できないレベル(<6.5)到達する。他の全てのin vitroパラメータは試料に関してpH同様の傾向が観測された。

10

20

30

40

50

2. この試料のpHの減少は試料に対するUV光の照射の有無にかかわらず現われた。
3. 血小板濃度  $5.4 \times 10^5 / \mu\text{L}$  では、 $100 \mu\text{M}$  下のどんな増感剤濃度でも、試料の保存を続けてもpHが低下しなかった。
4. 増感剤濃度が  $10 \mu\text{M}$  以下では、 $1.5 \times 10^6 / \mu\text{L}$  以上の血小板濃度及び  $10 \text{ J} / \text{cm}^2$  以下のレベルのUVAでは、測定した血小板特性は処理しない標準細胞と同等であった。これらは後処理後5日以上たっても、標準レベルと同等の値に留まっていた。

## 【0091】

後処理後の血小板の機能の研究によって、細胞の特性が処理しない細胞と同等なレベルで維持される領域を明瞭に示すものであった。この結果はさらに、細胞の保存又は取り扱いの条件を変化させることによって保存期間を拡大できることを示していた。試料にUV光を照射する又はしないときの7, 8 - ジメチル - 10 - リピチルイソアロキサジンが資料のpHに与える効果を観測した結果は、当該添加物の代謝作用が、試料の保存又は処理条件によって緩和することができることを示している。

## 【0092】

(例6)

濃縮血小板は血小板添加溶液 *IsoLyte S* と20:80の比で混合された。濃縮血小板と血小板添加溶液の混合体をここでは「媒体」と呼ぶことにする。付加溶液のない濃縮血小板はここでは「血漿」と呼ぶ。両者にリステリア菌 (*Listeria monocytogenes*) をスパイクする。ビタミンK5を  $300 \mu\text{g} / \text{mL}$  加える。それぞれは図5のキュベット装置内でUV、可視光、室内光を照射し、表3に示す結果を得た。

【表3】

	Log不活性化 (cfu/mL)	
	媒体内のK5	血漿内のK5
UV, $40 \text{ J} / \text{cm}^2$	4.2 Logs	0.1 Logs
VIS, $40 \text{ J} / \text{cm}^2$	4.2 Logs	0.1 Logs
室内光	0 Logs	0 Logs

UV光 =  $365 \text{ nm}$

VIS光 =  $419 \text{ nm}$

病原体 = リステリア菌 (*Listeria monocytogenes*)

ビタミンK5の濃度 =  $300 \mu\text{g} / \text{mL}$

## 【0093】

(例7)

例6で記載した濃縮血小板と例10で記載する70:30の媒体を  $10 \mu\text{M}$  の7, 8 - ジメチル - 10 - リピチルイソアロキサジンに加えた。該濃縮血小板と媒体に黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) 又は表皮ブドウ球菌 (*S. epidermidis*) をスパイクする。光照射は  $80 \text{ J} / \text{cm}^2$ 、 $30 \text{ cm}^2$  であり不活性化を上述のように測定した。結果を図9に示す。

## 【0094】

(例8)

例6で記載した濃縮血小板へ7, 8 - ジメチル - 10 - リピチルイソアロキサジン、アロキサジンモノヌクレオチド、又は7, 8 - ジメチルアロキサジンを加え、その後黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) 又は表皮ブドウ球菌 (*S. epidermidis*) で固定し、 $80 \text{ J} / \text{cm}^2$  の光を照射した。表4に不活性化の結果を示した。

【表4】

	Log不活性化 (cfu/mL)	
	黄色ブドウ球菌	表皮ブドウ球菌
7, 8-ジメチル-10-リビチルイソアロキサジン, 10 $\mu$ M	1.9 Logs	4.1 Logs
アロキサジンモノヌクレオチド, 10 $\mu$ M	1.6 Logs	5.6 Logs
7-8-ジメチルアロキサジン, 10 $\mu$ M	1.6 Logs	2.9 Logs

【 0 0 9 5 】

10

(例 9)

例 6 の濃縮血小板に 10 M の 7, 8 - ジメチル - 10 - リビチルイソアロキサジンを加えた。標本は添加剤を含まず、「失活剤」又は坑酸化剤として 10 mM のアスコルビン酸又は 10 mM の KI を含む。溶液を HSV - 2、X174、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) 又は表皮ブドウ球菌 (*S. epidermidis*) でスパイクし、80 J/cm<sup>2</sup> で光照射した。結果を図 10 に示した。

【 0 0 9 6 】

(例 10)

例 6 の濃縮血小板に様々な濃度の 7, 8 - ジメチル - 10 - リビチルイソアロキサジンを加えた。これらの溶液を単純ヘルペスウイルス II 型 (HSV - II)、2 重らせん皮膚ウイルスでスパイクした。照射は 80 J/cm<sup>2</sup> で行った。実験は 3 回繰り返した。3 回の実験すべてにおいて完全な不活性化が達成された。結果を図 11 に示す。

20

【 0 0 9 7 】

(例 11)

HSV - II の代わりに表皮ブドウ球菌 (*S. epidermidis*) を用い、照射エネルギー 40、80、及び 120 J/cm<sup>2</sup> で例 10 の実験手順を行った。不活性化の結果を図 12 に示す。

【 0 0 9 8 】

(例 12)

X174、1 重らせん DNA バクテリオファージを用い、7, 8 - ジメチル - 10 - リビチルイソアロキサジンの濃度及び照射エネルギーを様々な値に変化させて例 10 の実験手順を行った。不活性化の結果を図 13 に示す。

30

【 0 0 9 9 】

(例 13)

例 6 の濃縮血小板に 10 M の 7, 8 - ジメチル - 10 - リビチルイソアロキサジンを加えた。これらを黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) 又は X174 でスパイクし、可視光と紫外光を 50 : 50 で混合した照射をエネルギーを様々な大きさに変化させて行った。不活性化の結果を図 14 に示す。

【 0 1 0 0 】

(例 14)

表皮ブドウ球菌 (*S. epidermidis*) 及び HSV - II を微生物として用い、例 13 の実験手順を行った。紫外光と可視光を 50 : 50 で混合した光を D Y M X 光源を用いて照射した。不活性化の結果を図 15 に示す。

40

【 0 1 0 1 】

(例 15)

例 6 の濃縮血小板に 10 M の 7, 8 - ジメチル - 10 - リビチルイソアロキサジンを粉末状に加えた。実験はアスコルビン酸を加えて又は加えずに実施した。150 ml の試験溶液をスペクトラ (商標) 血液バッグに入れ、攪拌し、50 : 50 の可視光 : 紫外光を用いて様々なエネルギーで照射した。40 J/cm<sup>2</sup> の光を照射した後、各バッグのスパイク部に残留微生物が残らないようにして新しいバッグに移し替えた。不活性化の結果を図 1

50



6に示す。図中下向きの矢印は検出可能なレベルの不活性化を示している(2.5 log titre)。

【0102】

(例16)

図6の濃縮血小板及び濃縮血小板をIsolyte Sに30:70の比で混合したものに、20Mの7,8-ジメチル-10-リビチルイソアロキサジンを加えた。これらをワクシニア菌、2重らせんDNA皮膜ウィルスでスパイクし、60 J/cm<sup>2</sup>の可視光又はDYMAX 2000 UV光源を用いた可視光と紫外光の混合光(50:50)を30分照射した。検出限界は1.5 logであった。不活性化の結果を図17に示す。光増感剤を用いない場合、Isolyte S媒体単体に光増感剤を混合したもの、Isolyte S媒体に血小板を混合したもの、7,8-ジメチル-10-リビチルイソアロキサジンの代わりに8-メトキシソラレンを用いた濃縮血小板混合Isolyte S媒体、及び濃縮血小板混合Isolyte S媒体(30:70)を用いた場合を比較した。

10

【0103】

(例17)

濃縮血小板とIsolyte S媒体を30:70の比で混合した試料に10Mの7,8-ジメチル-10-リビチルイソアロキサジンを加えたもの及び加えないものを、ワクシニア菌でスパイクし、60 J/cm<sup>2</sup>の50:50の可視光:紫外光混合光で、照射時間をさまざまに変えて照射した。不活性化の結果の比較を図18に示す。

【0104】

(例18)

図6で記載した濃縮血小板の試料に5M又は50Mの7,8-ジメチル-10-リビチルイソアロキサジンを加え、該試料をHIV1でスパイクした。図5に示したキュベットフローセルを用い、試料を可視光:紫外光50:50の混合光で、エネルギーをさまざまに変え、EFOS光システムを用いて照射した。不活性化の結果を図19に示す。

20

【0105】

(例19)

HIV汚染のACH-2細胞を例8で記載した濃縮血小板の試料に加えた。5又は50 µMの7,8-ジメチル-10-リビチルイソアロキサジンを経験細胞に加えた。その後例18の実験手順を行った。不活性化の結果を図20に示す。HIVの存在は試験細胞の細胞変性効果により検定した。

30

【0106】

(例20)

例19の実験手順を行い、HIVをP24抗原産生のレベルを定量化して検定した。不活性化の結果を図21に示す。

【0107】

(例21)

実施例6に記載した濃縮血小板の試料及び30%の濃縮血小板を70%のPASIIITM媒体に混合したものに6mMのアスコルビン酸及び14 µMの7,8-ジメチル-10-リビチルイソアロキサジンを加えた。試料はHSV-Iでスパイクした。不活性化の結果を図22及び表5に示す。

40

【表5】

時 間 (分)	エネルギー (UV+VIS) J/cm <sup>2</sup>	30:70 PC: 媒 体 Logウイルス滴定量	エネルギー (UV+VIS) J/cm <sup>2</sup>	90:10 PC: 媒 体 Logウイルス滴定量
0.0	0	5.6	0	5.6
1.5	5	2.5	40	3.3
3.0	10	2.5	80	1.5 ウイルス非検出
4.5	15	2.3	120	1.5 ウイルス非検出
6.0	20	1.8		
9.0	30	1.6		
12.0	40			
24.0	80			
36.0	120			

10

20

【 0 1 0 8 】

( 例 2 2 )

この例では全決から分離された血小板に加えるための新規な血液成分添加溶液を比較する。6種類の商業的に流通している溶液を用いた。すなわち、PASII、PSMI-pH血漿Lyte A、SetoSol、PASIII、及びPASである。各既知の溶液に内因性光増感剤7, 8-ジメチル-10-リピチルイソアロキサジンに有効な量加えた。該光増感剤の含有量は、いずれの溶液においても、流体又は乾燥媒体中において光約1μMから光増感剤の溶解度までの間で所望の量にすることができ、好ましくは約10μMである。7, 8-ジメチル-10-リピチルイソアロキサジンについては、濃度範囲は1μMから160μMの間が好ましく、好適には10μMである。各溶液の成分は表6を示すように、血液成分添加物の含有量が異なる。該血液添加成分は生理溶液でもよく、錠剤、丸薬、カプセルのなどの形状の乾燥媒体を溶媒と混合したものでよい。

30

【 表 6 】

血液成分付加溶液	血小板貯蔵溶液					
	PSS 1	PSS 2	PSS 3	PSS 4	PSS 5	PSS 6
KCl (mM)		5.0	5.0	5.0	5.1	
CaCl <sub>2</sub> (mM)					1.7	
MgCl <sub>2</sub> (mM)			3.0	3.0		
MgSO <sub>4</sub> (mM)					0.8	
クエン酸ナトリウム (mM)	10.0	23.0	23.0	17.0	15.2	12.3
クエン酸 (mM)					2.7	
NaHCO <sub>3</sub> (mM)					35.0	
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (mM)		25.0		25.0	2.1	28.0
酢酸ナトリウム (mM)	30.0		27.0	23.0		42.0
グルコン酸ナトリウム(mM)			23.0			
グルコース (mM)				23.5	38.5	
マルトース (mM)				28.8		
7,8-ジメチル-10- リビチルイソアロキサジン (mM)	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0

## 【 0 1 0 9 】

例 2 2 の血小板保存溶液 P S S 2 は、生理食塩水、約 1 0 m M の濃度のクエン酸 3 ナトリウム、約 3 0 m M の濃度のナトリウム酢酸塩、及び約 1 0 μ M の 7 , 8 - ジメチル - 1 0 - リビチルイソアロキサジンを含む。

## 【 0 1 1 0 】

例 2 2 の血小板保存溶液 P S S 2 は、生理食塩水、約 5 m M の濃度の塩化カリウム、約 2 3 m M の濃度のクエン酸 3 ナトリウム、約 2 5 m M の濃度の 1 リン酸ナトリウム及び 2 リン酸ナトリウムの混合及び約 1 0 μ M の 7 , 8 - ジメチル - 1 0 - リビチルイソアロキサジンを含む。

## 【 0 1 1 1 】

例 2 2 の結晶板保存溶液 P S S 3 は、生理食塩水、約 5 m M の濃度の塩化カリウム、約 3 m M の濃度の塩化マグネシウム、約 2 3 m M の濃度のクエン酸 3 ナトリウム、約 2 7 m M の酢酸ナトリウム、約 2 3 m M の濃度のグルコン酸ナトリウム、及び約 1 0 μ M の濃度の 7 , 8 - ジメチル - 1 0 - リビチルイソアロキサジンを含む。

## 【 0 1 1 2 】

例 2 2 の血小板保存溶液 P S S 4 は、生理食塩水、約 5 m M の濃度の塩化カリウム、約 3 m M の濃度の塩化マグネシウム、約 1 7 m M の濃度のクエン酸 3 ナトリウム、約 2 5 m M の濃度のリン酸ナトリウム、約 2 3 m M の濃度の酢酸ナトリウム、約 2 3 . 5 m M の濃度のグルコース、約 2 8 . 8 m M の濃度のマルトース及び約 1 0 μ M の濃度の 7 , 8 - ジメチル - 1 0 - リビチルイソアロキサジンを含む。

## 【 0 1 1 3 】

例 2 2 の血小板保存溶液 P S S 5 は、生理食塩水、約 5 . 1 m M の濃度の塩化カリウム、約 1 . 7 m M の濃度の塩化カルシウム、約 0 . 8 m M の濃度の硫酸マグネシウム、約 1 5 . 2 m M の濃度のクエン酸 3 ナトリウム、約 2 . 7 m M の濃度のクエン酸、約 3 5 m M の濃度の炭酸水素ナトリウム、約 2 . 1 m M の濃度のリン酸ナトリウム、約 3 8 . 5 m M の濃度のグルコース、及び約 1 0 μ M の濃度の 7 , 8 - ジメチル - 1 0 - リビチルイソアロキサジンを含む。

## 【 0 1 1 4 】

10

20

30

40

50

例 2 2 の血小板保存溶液 P S S 6 は、生理食塩水、約 1 2 . 3 m M の濃度のクエン酸 3 ナトリウム、約 2 8 m M の濃度のリン酸ナトリウム、約 4 2 m M の濃度の酢酸ナトリウム、及び約 1 0  $\mu$  M の濃度の 7 , 8 - ジメチル - 1 0 - リピチルイソアロキサジンを含む。

【 0 1 1 5 】

他の実施例では、本実施例の生理食塩水を水及び塩化ナトリウムの有効量からなる溶媒に置換できる。

【 0 1 1 6 】

本実施例の血液添加成分は P A S I I 又は T - S o l ( P A S I I と同一の成分を含む ) などの商業的に流通している製品と、グルコースなどの栄養素と、リン酸塩などのエンハンサーと、錠剤又は乾燥媒体状の 7 , 8 - ジメチル - 1 0 - リピチルイソアロキサジンの有効量を含む。

【 0 1 1 7 】

( 例 2 3 )

この実施例は、流体、錠剤、又は乾燥媒体状の 7 , 8 - ジメチル - 1 0 - リピチルイソアロキサジンの有効量を含む新規な血液添加溶液を比較する。表 7 に示す P S S 7 、 P S S 8 及び P S S 9 はそのような血液添加溶液の試料である。

【 表 7 】

血液成分付加溶液	血小板貯蔵溶液		
	PSS 7	PSS 8	PSS 9
NaCl (mM)	115.0	78.3	68.5
塩化カリウム (mM)		5.7	5.0
MgCl <sub>2</sub> (mM)		1.7	1.5
クエン酸ナトリウム (mM)	10.0		
リン酸ナトリウム (単一基)	6.2	5.4	8.5
リン酸ナトリウム (2重基)	19.8	24.6	21.5
酢酸ナトリウム (mM)	30.0	34.3	30.0
7-8-ジメチル-10-リピチルイソアロキサジン (mM)	14.0	変 化	14.0

【 0 1 1 8 】

表 7 に示したように、P S S 7 は R D O I 水中に調整され、約 1 1 5 m M の濃度の塩化ナトリウム、約 1 0 . 0 m M の濃度のクエン酸ナトリウム、約 6 . 2 m M の濃度のリン酸ナトリウム ( 1 塩基 ) 、約 1 9 . 8 m M の濃度のリン酸ナトリウム ( 2 塩基 ) 、約 3 0 . 0 m M の濃度の酢酸ナトリウム、及び約 1 4  $\mu$  M の濃度の 7 , 8 - ジメチル - 1 0 - リピチルイソアロキサジンを含む。これは p H 7 . 2 である。

【 0 1 1 9 】

P S S 8 は R D O I 水中に調整され、約 7 8 . 3 m M の濃度の塩化ナトリウム、約 5 . 7 m M の濃度の塩化カリウム、約 1 . 7 m M の濃度の塩化マグネシウム、約 5 . 4 m M の濃度のリン酸ナトリウム ( 1 塩基 ) 、約 2 4 . 6 m M の濃度のリン酸ナトリウム ( 2 塩基 ) 、約 3 4 . 3 m M の濃度の酢酸ナトリウム、及び様々な濃度の 7 , 8 - ジメチル - 1 0 - リピチルイソアロキサジンを含む。この p H は 7 . 4 であり、モル浸透圧濃度は 2 9 7 m m o l / k g である。

【 0 1 2 0 】

P S S 9 は R D O I 水中に調整され、約 6 8 . 5 m M の濃度の塩化ナトリウム、約 5 . 0 m M の濃度の塩化カリウム、約 1 . 5 m M の濃度の塩化マグネシウム、約 8 . 5 m M の濃度のリン酸ナトリウム ( 1 塩基 ) 、約 2 1 . 5 m M の濃度のリン酸ナトリウム ( 2 塩基 ) 、約 3 0 . 0 m M の濃度の酢酸ナトリウム、及び約 1 4 . 0  $\mu$  M の濃度の 7 , 8 - ジメチ

ル - 10 - リピチルイソアロキサジンを含む。この pH は 7.2 であり、モル浸透圧濃度は 305 mmol / kg である。

【0121】

PSS 7、PSS 8、PSS 9 中の RDOI 水及び塩化ナトリウムは生理食塩水と置換できる。

【0122】

本発明の血小板添加溶液は 7, 8 - ジメチル - 10 - リピチルイソアロキサジン及びアスコルビン酸塩を有することができる。

【0123】

(例 24)

この例では、7 日間保存した血小板を比較検討する。血小板は図 1 の装置を用いて収集された。該血小板は約 40 % の保存血漿を有した。7, 8 - ジメチル - 10 - リピチルイソアロキサジンと共にクエン酸、炭酸水素塩、及びグルコースの添加成分を上述のように混合し、図 4 による装置で光照射する前に収集した血小板を加えた。以下の表 8 - 14 に記載した本実施例の成分濃度は 8  $\mu$ M の 7, 8 - ジメチル - 10 - リピチルイソアロキサジン、約 65 mM の炭酸水素塩、5.1 - 8.2 mM の濃度のクエン酸である。例えば 5B 及び 7B では、グルコースが 36 mM の濃度で含まれている。例えば 6B 及び 8B では、グルコースは 52 mM の濃度で含まれる。試料 5B 及び 6B に 25 J / cm<sup>2</sup> の強度の紫外光領域の光を照射した。試料 7B 及び 8B には 25 J / cm<sup>2</sup> の強度で、紫外光と可視光の混合光を照射した。

【0124】

表 8 は保存時間 (0、1、3、6、及び 7 日間) の関数としてグルコース消費量を示す。このデータにより、時間の経過に伴いグルコースは減少するが、保存期間 7 日を経過した後も残量があることがわかる。

【表 8】

	グルコース (mmol/L)				
	0	1	3	6	7
5B	41.9	34.3	27.4	18.8	17.4
6B	51.1	45.9	39.1	28.3	29.9
7B	39.9	36.6	31.3	20.8	19.9
8B	51.3	49.7	43.0	32.6	33.7
平均	46.1	41.6	35.2	25.1	25.2
SD	6.0	7.4	7.1	6.4	7.8
最小	39.9	34.3	27.4	18.8	17.4
最大	51.3	49.7	43.0	32.6	33.7

表 9 は時間 (0、1、3、6、及び 7 日) の関数として、保存血小板の pH を示したものである。データから、pH はほとんど変わらないことがわかる。

【表 9】

	pH				
	0	1	3	6	7
5B	7.6	7.5	7.4	7.4	7.4
6B	7.6	7.5	7.4	7.3	7.3
7B	7.7	7.6	7.6	7.6	7.5
8B	7.7	7.6	7.6	7.6	7.6
平 均	7.6	7.5	7.5	7.5	7.4
SD	0.0	0.1	0.1	0.1	0.1
最 小	7.6	7.5	7.4	7.3	7.3
最 大	7.7	7.6	7.6	7.6	7.6

10

表 10 は各期間（0，1，3，6，及び7日）経過後の酸素産生量を示す。データから、酸素産生量ははじめ増加した後は安定することがわかる。

【表 10】

	pO <sub>2</sub> (mmHg)				
	0	1	3	6	7
5B	109	140	132	141	134
6B	109	140	132	141	133
7B	113	136	125	135	128
8B	113	132	126	141	126
平 均	111.0	137.0	128.8	139.5	130.3
SD	2.3	3.8	3.8	3.0	3.9
最 小	109	132	125	135	126
最 大	113	140	132	141	134

20

30

表 11 は各期間（0，1，3，6，及び7日）経過後の二酸化炭素産生量を示す。データは二酸化炭素量は時間の経過と共に減少することを示している。

【表 11】

	pCO <sub>2</sub> (mmHg)				
	0	1	3	6	7
5B	63	74	47	22	16
6B	69	74	49	22	16
7B	58	61	44	26	21
8B	58	61	42	23	19
平均	62.0	67.5	45.5	23.3	18.0
SD	5.2	7.5	3.1	1.9	2.4
最小	58	61	42	22	16
最大	69	74	49	26	21

表 1 2 は時間 ( 0 , 1 , 3 , 6 , 及び 7 日 ) の関数として、保存血小板の細胞数を示したものである。

【表 1 2】

	細胞数 10 <sup>6</sup> /ml				
	0	1	3	6	7
5B	761	624	668	598	557
6B	729	645	648	624	610
7B	786	703	664	601	568
8B	762	667	628	586	554
平均	759.5	659.8	652.0	602.3	572.3
SD	23.4	33.8	18.2	15.9	25.9
最小	729	624	628	586	554
最大	786	703	668	624	610

表 1 3 は各期間 ( 0 , 1 , 3 , 6 , 及び 7 日 ) 経過時の保存血小板の浸透圧ショック ( H S R ) 応答を示したものである。

【表 1 3】

	HSR - % Reversal				
	0	1	3	6	7
5B	33.3	24.0	25.0	32.1	13.3
6B	41.2	31.8	23.7	36.0	15.4
7B	52.6	34.8	34.3	72.2	30.8
8B	55.0	40.0	34.3	61.9	26.3
平 均	45.5	32.7	29.3	50.6	21.5
SD	10.1	6.7	5.8	19.6	8.4
最 小	33.3	24.0	23.7	32.1	13.3
最 大	55.0	40.0	34.3	72.2	30.8

表 1 4 は各経過期間（0，1，3，6，及び7日）の関数として炭酸水素塩濃度を示す。データより、炭酸水素塩は時間の経過と共に減少し、保存期間の7日目には残存濃度が低くなっていることがわかる。

【表 1 4】

	重ソウ mmol/L			
	0	1	3	7
5B	65.8	52.2	29.6	9.2
6B	65.7	51.0	28.8	7.3
7B	64.9	56.7	37.3	16.6
8B	63.4	55.4	37.3	18.1
平 均	64.9	53.9	33.2	12.8
SD	1.1	2.7	4.7	5.4
最 小	63.4	51.0	28.8	7.3
最 大	65.8	56.7	37.3	18.1

好適には、20 - 45 %の残留血小板を有する収集された血小板の添加／保存溶液は、バッファーとして炭酸水素塩、栄養素としてグルコース、及び付加的抗凝血剤としてクエン酸を有する。1リットル当たりの濃度で表される好ましい添加保存溶液を表 1 5 に示す。

【表 1 5】

成 分	濃 度
グルコース	33 - 52 mM
重炭酸ナトリウム	63 - 95 mM
クエン酸塩	5.1 - 8.8 mM

上記の保存溶液は、汚染除去工程が不要な場合でも、保存溶液として使用することができる。

【 0 1 2 5 】



光増感剤を用いて血液産物の汚染除去をする場合、上述のように内因性アロキサジンを加えることができる。表 1 6 に示した溶液は血小板保存だけでなくウィルス汚染除去にも適している。濃度は 1 リットルあたりの概算値で示す。

【表 1 6】

成 分	濃 度
グルコース	33 - 52 mM
重炭酸ナトリウム	63 - 95 mM
クエン酸ナトリウム	5.1 - 8.8 mM
7,8-ジメチル-10-リビシルイソアロキサジン	8 - 50 $\mu$ M

10

【 0 1 2 6 】

上記全ての溶液について、記載した濃度が概算値であること、及び可変であることは当業者に明らかである。又上記に示す濃度から、光増感剤又は添加溶液が乾燥状態で与えられた場合のグラム重量が用意に決定できる。

【 0 1 2 7 】

以上の記載は例示のみを目的としており、本発明の思想から逸脱することなく多数の変形例が可能であることは当業者には自明である。例えば、ここで述べたもの以外の光増感剤、好ましくは核酸と結合することによりその複製を妨げる光増感剤、より好ましくは非毒性及び毒性の分解産物を含まない光増感剤を使用しても良い。さらに、光増感剤を用いて汚染除去をするためのフロースルーシステムを構築するために本明細書に記載したものと同様の構造は、当業者ならばその分野の知識に従い不要な実験をすることなく考えることができる。

20

【図面の簡単な説明】

【図 1】 図 1 は本発明の添加溶液で使用するための血液成分の分離装置を示した。

【図 2】 図 2 は血液バッグを用いた本発明の実施例であり、該バッグは血液又は他の体内の流体内の汚染の不活性化に必要な光増感剤が入っている。

【図 3】 図 3 は図 2 に示したバッグ間を管で接続した容器を用いた血液バッグの実施例である。

30

【図 4】 図 4 は取り扱う流体及び光増感剤を収容した血液バッグ、及び抗原から光照射する間攪拌する振動台を用いた本発明の実施例である。

【図 5】 図 5 は本発明の汚染除去部である。

【図 6】 図 6 はリボフラビンの光吸収スペクトラムである。

【図 7】 図 7 は坑凝結酸クエン酸デキストロース ( A C D ) 溶液内のリボフラビンの光分解の経時変化である。図の実線は波長 3 7 3 nm での残留初期リボフラビンである。点線は波長 4 7 7 nm での残留初期リボフラビンである。

【図 8】 図 8 は必要な光束 (  $mW / cm^2$  ) を流速の関数として示した。すなわちキュベット内の試料に 1 ジュール /  $cm^2$  を与えるのに必要な光束。

40

【図 9】 図 9 は血小板製剤と照射エネルギーの関数としての微生物の不活性化を示しており、血小板 9 0 %、血小板添加溶液 1 0 % ( 9 0 : 1 0 ) 及び血小板 3 0 %、添加溶液 7 0 % ( 3 0 : 7 0 ) を用いた。

【図 1 0】 図 1 0 はウィルス、バクテリオファージ、及び血小板凝固体に坑酸化剤を加えた微生物の不活性化の効果を示した。

【図 1 1】 図 1 1 は半紫外線及び半可視光線を用いて 2 0  $J / cm^2$  の照射エネルギーでの光増感剤の濃度の関数として単純ヘルペス I I 型ウィルスの不活性化を示した図である。

【図 1 2】 図 1 2 は光増感剤の濃度と照射エネルギーを変化させたときの表皮ブドウ球菌 ( S . e p i d e r m i d i s ) の不活性化を示した。

50

【図 1 3】 図 1 3 は光増感剤の濃度と照射エネルギーを変化させたときの X 1 7 4 の不活性化を示した。

【図 1 4】 図 1 4 は照射エネルギーを紫外光と可視光を 5 0 : 5 0 で混合したときの黄色ブドウ球菌 ( *S . a r u r e u s* ) と X 1 7 4 の不活性化を示した。

【図 1 5】 図 1 5 は照射エネルギーを紫外光と可視光を 5 0 : 5 0 で混合したときの表皮ブドウ球菌 ( *S . e p i d e r m i d i s* ) と H S V - I I の不活性化を示した。

【図 1 6】 図 1 6 は血液バッグの中の H S V 2 の不活性化を様々なエネルギーレベルで照射し攪拌したときの図である。

【図 1 7】 図 1 7 は紫外線を単独で用いたとき、又は紫外光と可視光を 5 0 : 5 0 で混合したときの様々な流体内でのワクシニアウィルス不活性化の結果を比較したものである

10

【図 1 8】 図 1 8 はワクシニアウィルスの増感剤を用いずに様々な光照射時間で不活性化を比較した図である。

【図 1 9】 図 1 9 は 5 及び 5 0  $\mu$  M の光増感剤と様々な照射エネルギーでの細胞外の H I V - I の不活性化を比較した図である。

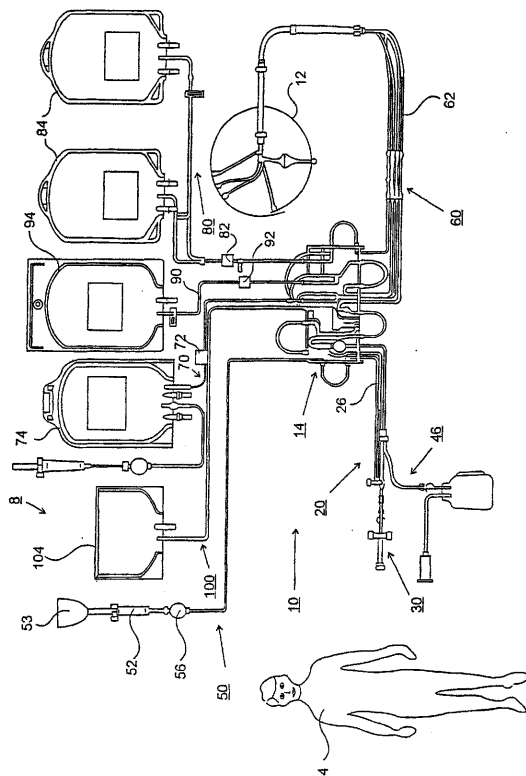
【図 2 0】 図 2 0 は 5 及び 5 0  $\mu$  M の光増感剤と様々な照射エネルギーでの細胞内の H I V - I の不活性化を比較した図である。

【図 2 1】 図 2 1 は前記抗原レベルを用いた 5 及び 5 0  $\mu$  M の光増感剤と様々な照射エネルギーでの細胞内の H I V - I の不活性化を比較した図である。

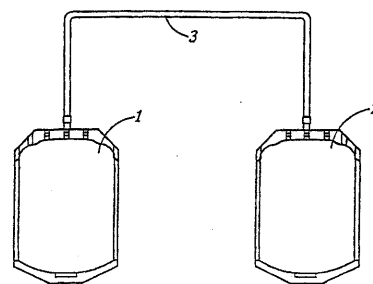
【図 2 2】 図 2 2 は血小板濃度及びアスコルビン酸塩を用いた血小板添加溶液を含む媒体内の血小板濃度を用いた様々な照射レベルでの H S V - I I の不活性化を示した。

20

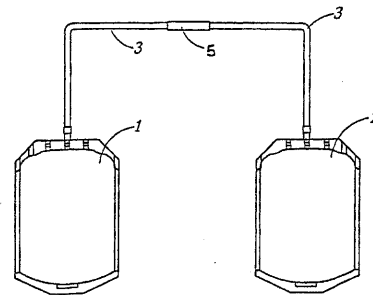
【図 1】



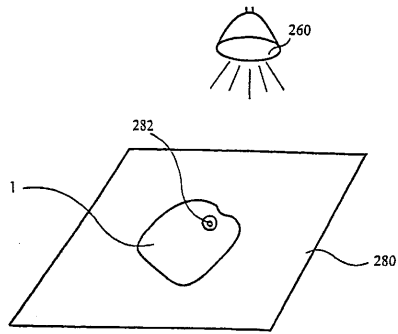
【図 2】



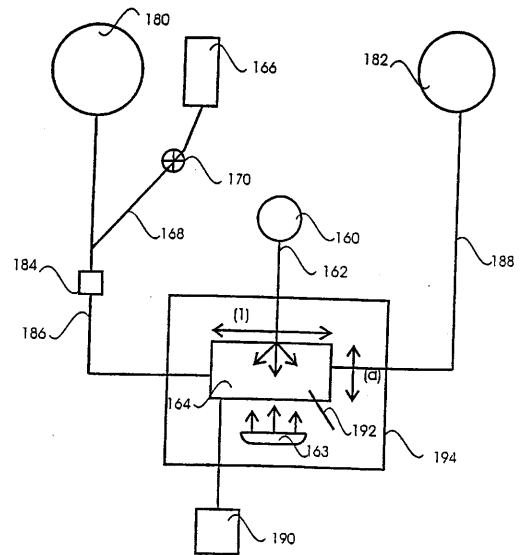
【図 3】



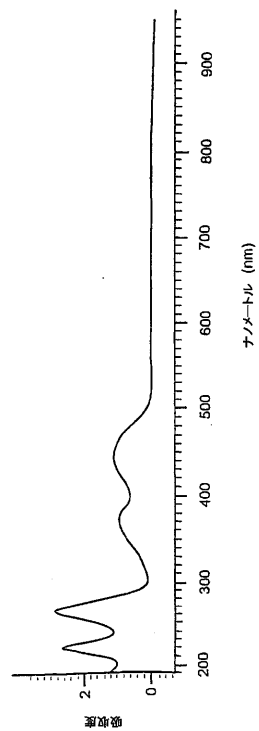
【図 4】



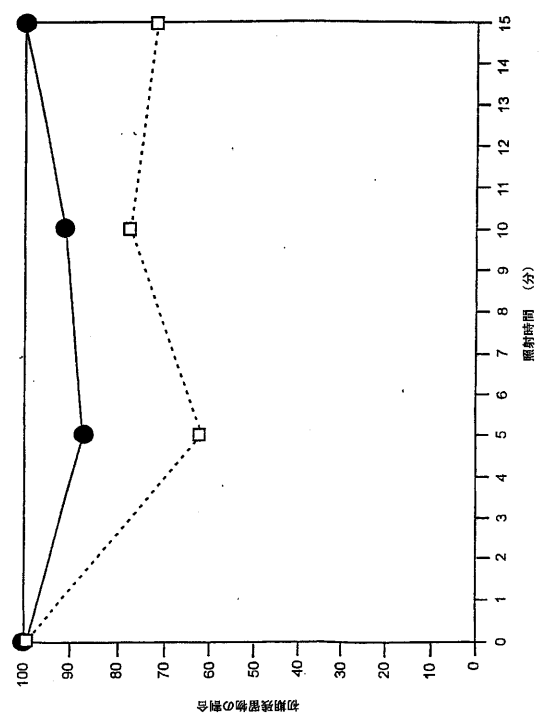
【図 5】



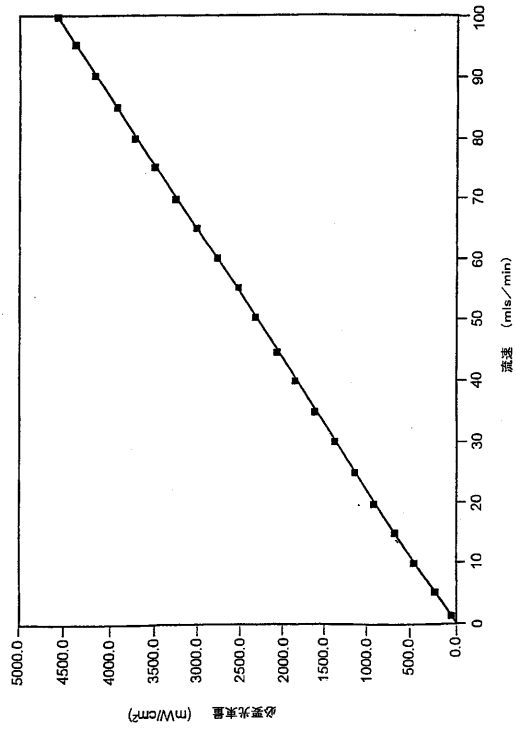
【図 6】



【図 7】



【図 8】



【図 9】

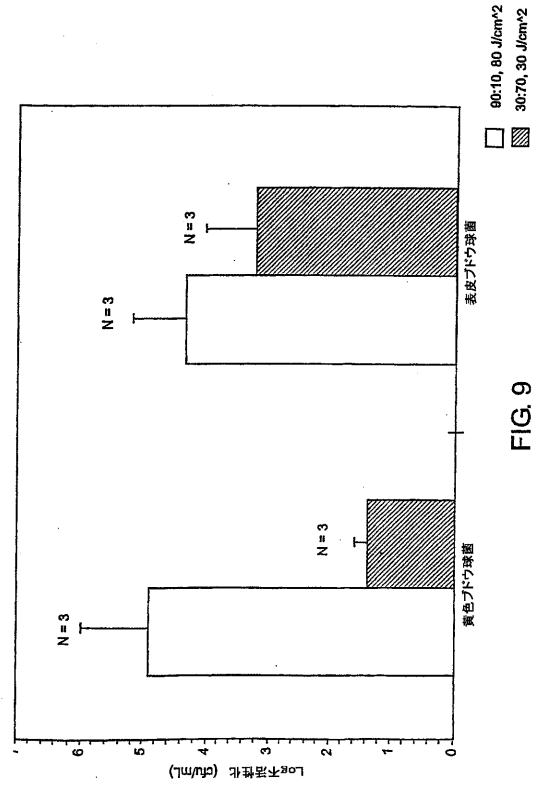
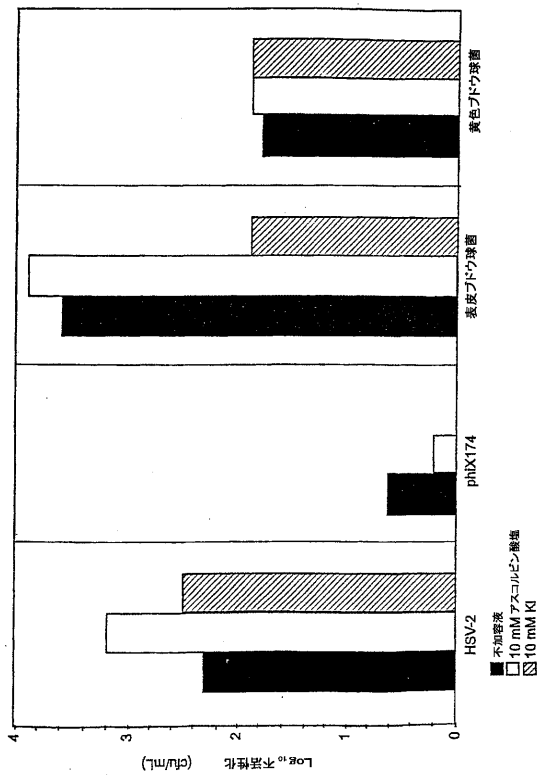
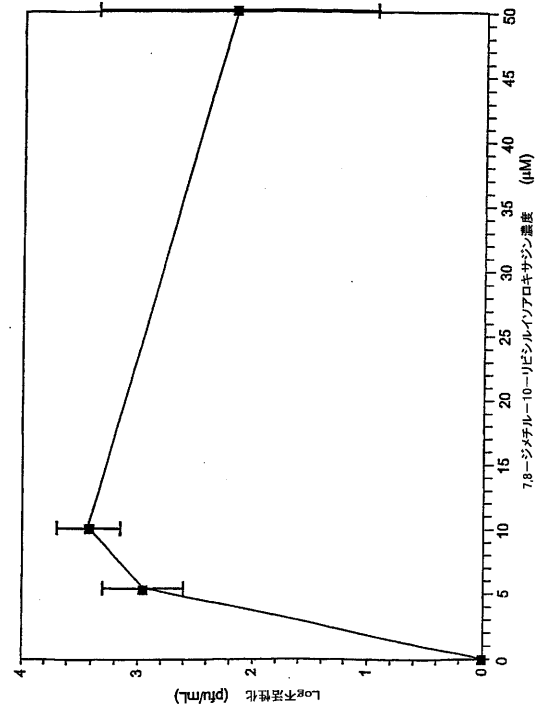


FIG. 9

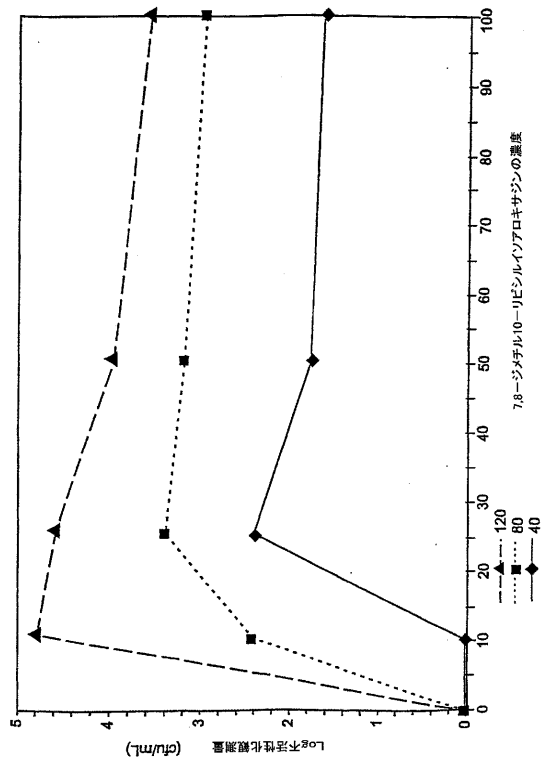
【図 10】



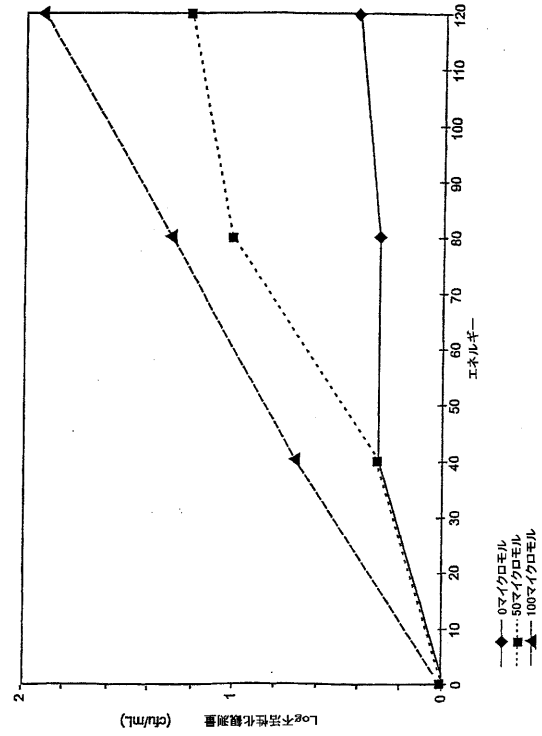
【図 11】



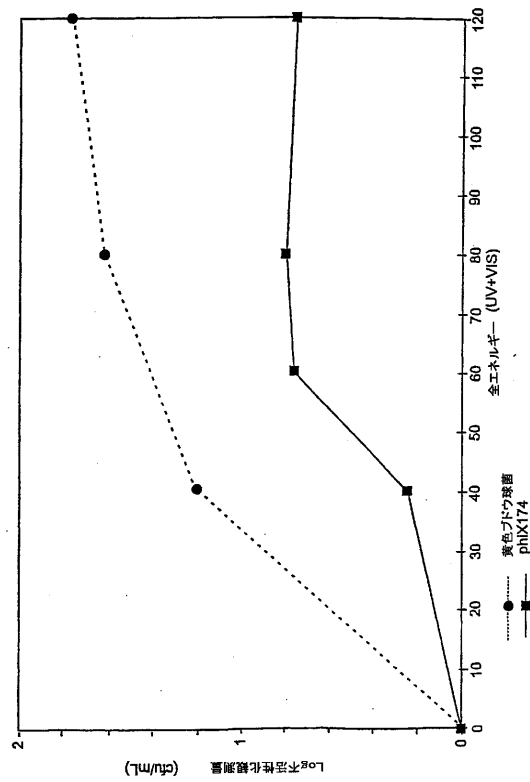
【図 12】



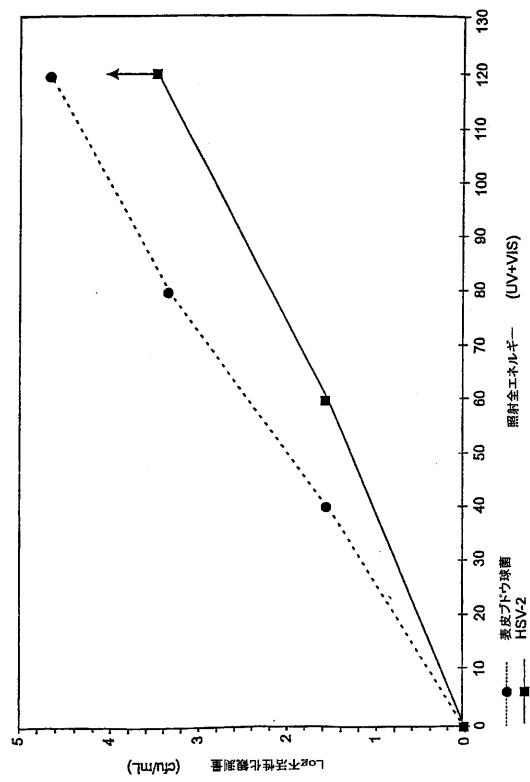
【図 13】



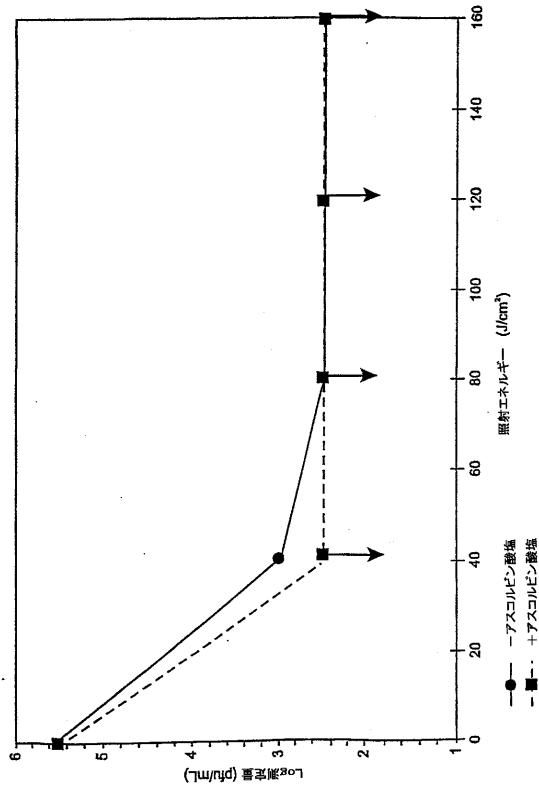
【図 14】



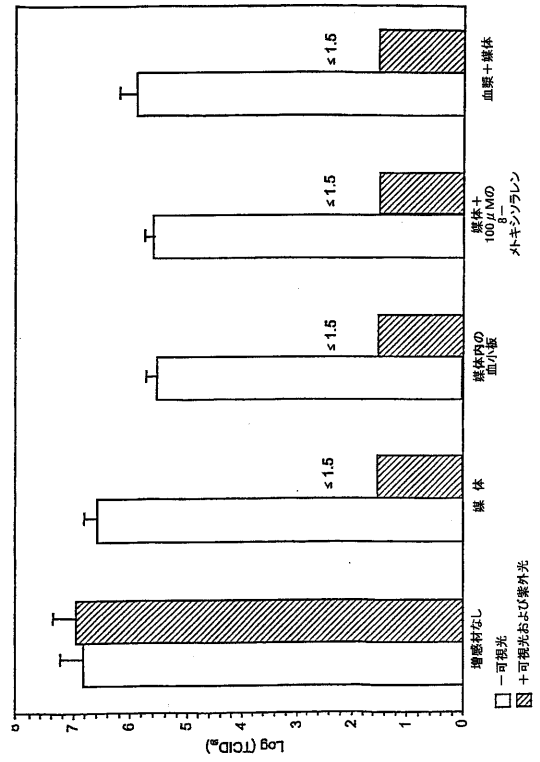
【図 15】



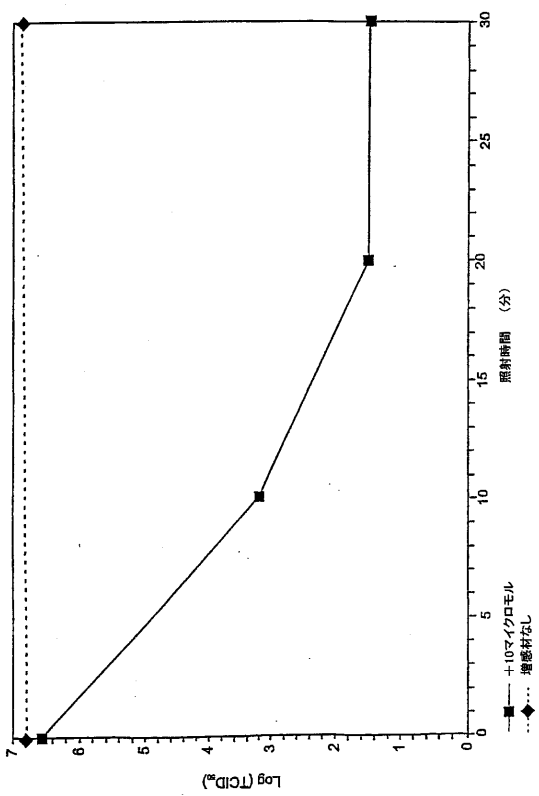
【図16】



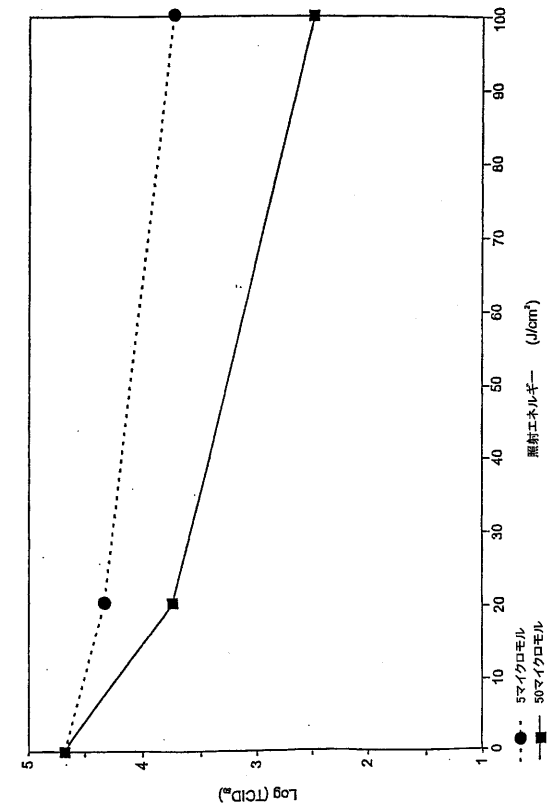
【図17】



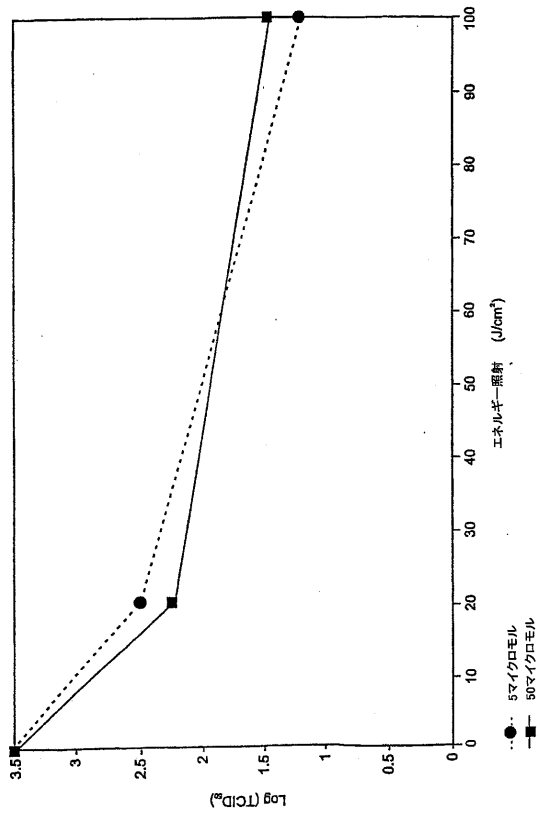
【図18】



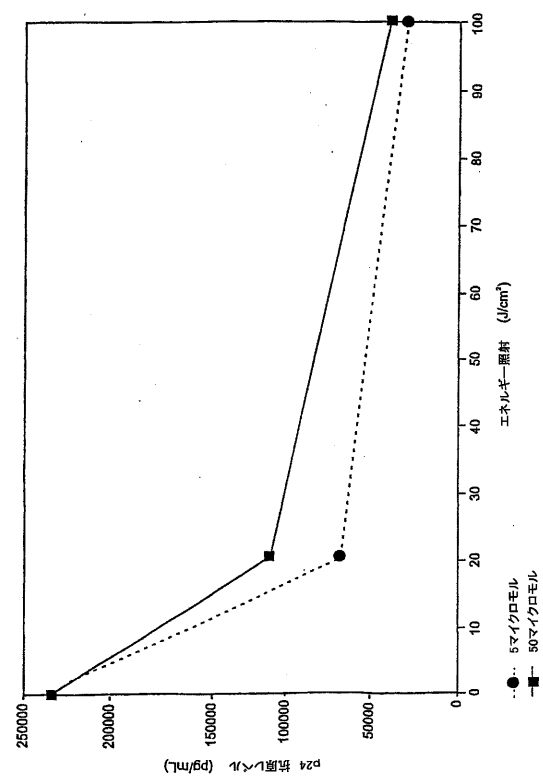
【図19】



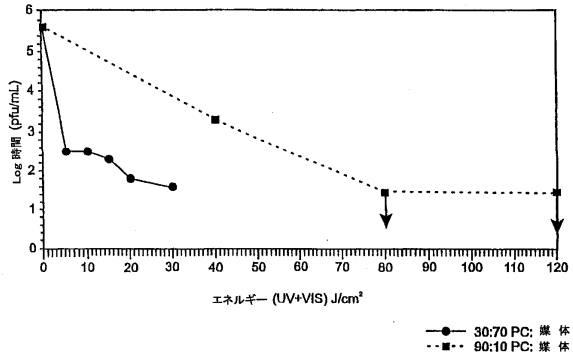
【図 20】



【図 21】



【図 22】



---

フロントページの続き

(72)発明者 グッドリッチ, レイモンド, ピー, ジュニア  
アメリカ合衆国 コロラド州 80227, レイクウッド, サウス パーフェクト ドライブ 2  
132

審査官 富永 保

(56)参考文献 特開平06-023016(JP, A)  
特開平08-165245(JP, A)  
特表平05-503944(JP, A)  
特表昭63-503381(JP, A)  
国際公開第00/004930(WO, A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)  
A01N 1/02