

References

1. AuBuchon JP, Herschel L, Roger J, et al. Efficacy of apheresis platelets treated with riboflavin and ultraviolet light for pathogen reduction. *Transfusion*. 2005;45:1335-1341.
2. Goodrich RP, Edrich RA, Li J, et al. The Mirasol™ PRT system for pathogen reduction of platelets and plasma: an overview of current status and future trends. *Transfus Apher Sci*. 2006;35:5-17.
3. Li J, Goodrich L, Hansen E, et al. Platelet glycolytic flux increases stimulated by ultraviolet-induced stress is not the direct cause of platelet morphology and activation changes: possible implications for the role of glucose in platelet storage. *Transfusion*. 2005;45:1750-1758.
4. Holme S, Moroff G, Murphy S. A multi-laboratory evaluation of in vitro platelet assays: the tests for extent of shape change and response to hypotonic shock. *Transfusion*. 1998;38:31-40.
5. Pieterz RNI, Engelfriet CP, Reesink HW. Evaluation of stored platelets. *Vox Sang*. 2004;86:203-223.
6. Goodrich RP, Li J, Pieters H, et al. Correlation of in vitro platelet quality measurements with in vivo platelet viability in human subjects. *Vox Sang*. 2006;90:279-285.
7. Li J, De Korte D, Woolum MD, et al. Pathogen reduction of buffy coat platelet concentrates using riboflavin and light: comparisons with pathogen-reduction technology-treated apheresis platelet products. *Vox Sang*. 2004;87:82-90.
8. Perez-Pujol S, Tonda R, Lozano M, et al. Effects of a new pathogen-reduction technology (Mirasol PRT) on functional aspects of platelet concentrates. *Transfusion*. 2006;45:911-919.
9. Verhoeven AJ, Verhaar R, Gouwerok EG, et al. The mitochondrial membrane potential in human platelets: a sensitive parameter for platelet quality. *Transfusion*. 2006;45:82-89.
10. Li J, Lookerbie O, de Korte D, et al. Evaluation of platelet mitochondria integrity after treatment with Mirasol pathogen reduction technology. *Transfusion*. 2006;45:920-926.
11. Data on file. Navigant Biotechnologies LLC.

第7章

Mirasol 処理した血漿の品質

MIRASOL®

病原体不活化技術

Mirasol 処理した血漿の品質

血漿は全血の遠心分離または単一ドナーの血漿アフエレーシスによって得られ、凍結成分として配送および保存される。全血またはアフエレーシス採取から調製され、8時間以内に凍結保存された血漿は新鮮凍結血漿（FFP）と呼ばれる。

血漿の使用法

血漿は治療的価値の高い多様な有機および無機成分を含有し、FFP は多くの後天性凝固障害、特に複数の抗凝固タンパク質を低下させる凝固障害に最適な第一選択治療となる。FFP はまた、適当な濃厚液が存在しない単一凝固因子（たとえば第 V または第 XI 因子）欠乏症、急性播種性血管内凝固、血栓性血小板減少性紫斑病（TTP）における血漿交換、ならびにワルファリン作用の打ち消し、肝疾患、心肺バイパス、および大量輸血の一部の症例にも適応となる。しかし、第 VIII 因子、アルブミンおよび免疫グロブリンといった特定血漿成分を注射または輸血するためには分離、精製および調製が必要であるため、臨床診療における FFP の使用は制限されている。

新鮮凍結血漿に関連して起こり得る有害反応

血漿タンパク質の複雑さ、免疫グロブリン含量の不均一性、および処理と保存に関する要因により、FFP は広範な病態生理学的反応を引き起こす可能性がある（表 1 を参照）。

FFP は多様な重大病理学的反応を引き起こす可能性がある。これを避けるためには、FFP は感染性病原体や白血球汚染物質を含んでいてはならない。

表 1. 新鮮凍結血漿に対する有害反応

免疫介在性
同種免疫：Rh 1 (D) およびその他の赤血球抗原に対する抗体
アレルギー反応：IgA 欠乏症を除いて通常は原因アレルゲンが特定されない
TRALI：白血球凝集素および BRM
免疫修飾/免疫抑制
血漿汚染物質関連
ドナー特異的：投薬、感染
処理/保存特異的：サイトカイン類（FNHTR）、アナフィラトキシン
感染性汚染物質関連
非白血球関連：HIV、HBV、HCV、HAV、EBV、HHV-8、プリオン
物理化学的特徴および臨床使用関連
容量過負荷

BRM: 生物反応修飾物質; EBV: エプスタイン-バーウイルス; FNHTR: 熱性非溶血性輸血反応; HAV: A

型肝炎ウイルス:HBV:B型肝炎ウイルス;HCV:C型肝炎ウイルス;HHV:ヒトヘルペスウイルス;HIV:ヒト免疫不全ウイルス;Ig:免疫グロブリン;Rh:アカゲザル;TRALI:輸血関連急性肺障害。

血漿成分の品質要件

治療用血漿は安全である（すなわちウイルス、細菌および寄生虫を含んでいない）だけでなく、臨床的に有効であるためには、できるだけ新鮮血漿に近いレベルの凝固因子およびプロテアーゼ阻害物質を含有していなければならない。

血漿および血漿成分の品質にはいくつかの要因が影響し得る。FFPの品質は血漿の採取と保存の迅速性によって決まる。全血献血から分離され、採取から24時間以内に -18°C 以下に凍結された血漿（FP24）は、関連凝固活性を良好に保持している。しかし、8時間以内に凍結されたFFPに関する過去の記録と比較すると、FP24に含まれるフィブリノーゲン、第V因子、第VIII因子および第XI因子のレベルはそれぞれ12%、15%、23%および7%低下していることが示されている。

血漿の品質要件は各種ガイドラインに記されているが、それはかなり限定的なもので、主として第VIII因子と総タンパク質に関するものである。FFPが処方される患者の大部分は第VIII因子のレベルが正常または高いという事実にもかかわらず、これが現実である。

現在のFFPの品質管理は第VIII因子の測定値に基づいて行われており、欧州評議会（CE）のガイドラインはこれが 0.70 IU/mL を超えていることを要求し、英国のガイドラインはユニットの75%がこの第VIII因子レベルを満たしていなければならないと規定している。

ただ、これらはガイドラインであって明確な規則ではない点に注意が必要である。欧州のガイドラインを図1にまとめている。ほとんどの国はこのガイドラインに従っているが、多くは各地に特有の輸血サービスのための独自の特定ガイドラインまたは勧告の参考として利用しているに過ぎない。たとえば英国の国立血液サービスは、血漿成分について完全に別個の要件リストを確立している。

さらに、市販の病原体不活化FFP成分にはそれぞれ特有のガイドラインが存在する（表2を参照）。たとえば溶剤-洗浄剤（SD）処理FFPとメチレンブルー（MB）処理FFPとでは性能規格が異なっている。FFPに関するCEガイドラインは、毎月のルーチンの品質管理において第VIII因子の濃度が新鮮血漿成分の70%（ 0.70 IU/mL と解される）であることを求めている。英国のガイドラインは、SD処理FFPについては第VIII因子のレベルが 0.5 IU/mL 超であることを要求するのに対し、MB処理FFPについてはユニットの75%の第VIII因子レベルが 0.5 IU/mL 超であることが必要とされている。

図 1. 新鮮凍結血漿に関する欧州のガイドライン

- ・ 血漿は解凍後ただちに使用する。
- ・ 血漿は -25°C 以下に保持するなら最大 36 カ月間保存できる。
- ・ 第 VIIIc 因子の平均活性は 0.70 IU/mL 超でなければならない。
- ・ 総タンパク質は 50 g/L 超でなければならない。
- ・ 適応となるのは、凝固障害における使用、血栓性血小板減少性紫斑病の治療、および血漿分画の原料としての使用である。

表 2. 新鮮凍結血漿の規格ガイドラインの比較

	EU評議会 第 13 版 FFP ⁴	Paul Ehrlich Institut FFP ⁸	EC指令 ⁶	UK FFP ⁵	UK SD-FFP ⁵	UK MB-FFP ⁵	欧州薬局方 SD-FFP ⁹	Mirasol -FFP ⁷
第 VIIIc 因子	0.7 IU/mL 以上または 新鮮血漿の 70% 以上	新鮮血漿の 70% 超	新鮮血漿の 70% 以上	75% $>0.7\text{ IU/mL}$	$>0.5\text{ IU/mL}$	75% $>0.5\text{ IU/mL}$	$\geq 0.5\text{ IU/mL}$	75% $>0.5\text{ IU/mL}$
第 V 因子	NA	$>70\%$	NA	NA	$\geq 0.5\text{ IU/mL}$	$\geq 0.5\text{ IU/mL}$	$\geq 0.5\text{ IU/mL}$	$\geq 0.5\text{ IU/mL}$
活性化凝固 因子	NA	NA	NA	NA	NA	NA	150 秒以上	NA
赤血球	$<6.0 \times 10^9 / \text{L}$	$<6.0 \times 10^9 / \text{L}$	$<6.0 \times 10^9 / \text{L}$	NA	NA	NA	NA	$<15 \times 10^9 / \text{L}$
白血球	$<0.1 \times 10^9 / \text{L}$	$<0.5 \times 10^9 / \text{L}$	$<0.1 \times 10^9 / \text{L}$	NA	NA	NA	NA	$<1.0 \times 10^9 / \text{L}$
血小板	$<50 \times 10^9 / \text{L}$	$<20 \times 10^9 / \text{L}$	$<50 \times 10^9 / \text{L}$	NA	NA	NA	NA	$<1.2 \times 10^9 / \text{L}$
タンパク質	$\geq 50\text{ g/L}$	NA	$\geq 50\text{ g/L}$	$\geq 50\text{ g/L}$	NA	NA	$\geq 45\text{ g/L}$	$\geq 50\text{ g/L}$

FFP: 新鮮凍結血漿; IU: 国際単位; NA: 該当なし; 赤血球。

Mirasol 処理 FFP について私たちは、SD-FFP や MB-FFP について行われてきたのと同じように、最終的に（第 VIIIc 因子、フィブリノーゲンおよび総タンパク質について）血液バンク標準品に組み込まれる成分性能に規格制限を設けている。社内品質管理で Mirasol 処理 FFP に用いている規格は以下のとおりである。

- 血漿ユニットの 75% の第 VIIIc 因子の活性が 0.5 IU/mL 超であること。
- 他のすべての因子の活性が 0.5 IU/mL 超であること。
- 抗トロンビン III、プロテイン C およびプロテイン S に有意な低下がないこと。
- フィブリノーゲン活性が 140 mg/dL 超であること。

- 総タンパク質が 50 g/L 超であること。

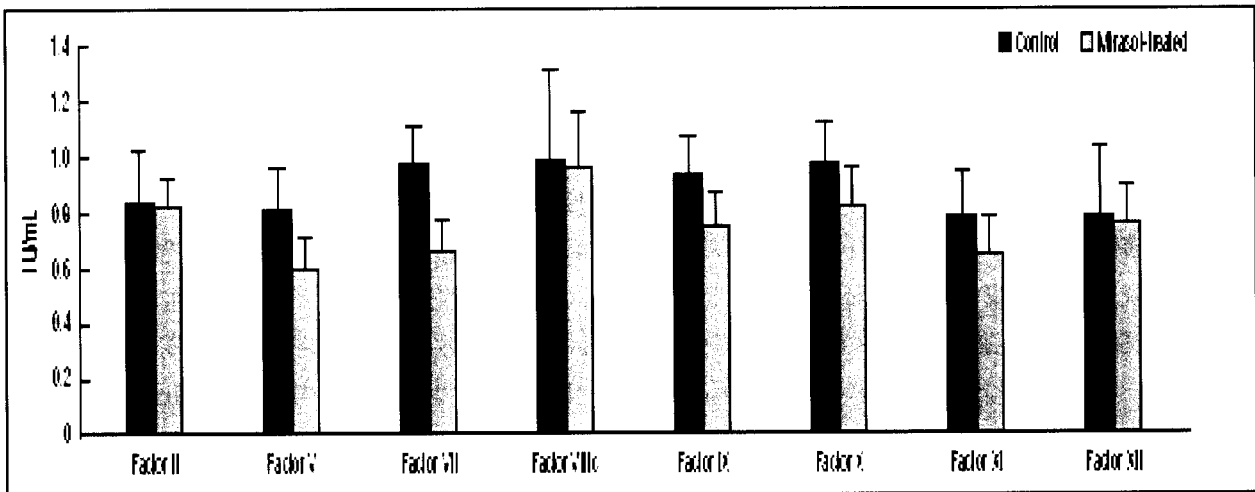
Mirasol 処理 FFP の規格は、他の病原体不活化血漿成分および未処理 FFP に用いられるものと同等である。

表 3. Mirasol 処理 FFP の保存 52 週目のタンパク質パラメータ

IU/mL	全血対照	全血処理	アフエレーシス対照	アフエレーシス処理	基準範囲
第 II 因子	0.8 ± 0.1	0.8 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.8 ± 0.1	0.65–1.54
第 V 因子	0.8 ± 0.1	0.6 ± 0.1	0.8 ± 0.1	0.6 ± 0.1	0.54–1.45
第 VII 因子	1.0 ± 0.2	0.7 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.6 ± 0.2	0.62–1.65
第 VIIIc 因子	1.1 ± 0.4	1.1 ± 0.2	0.8 ± 0.2	0.8 ± 0.1	0.45–1.68 (1 段)
第 IX 因子	0.9 ± 0.2	0.7 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.8 ± 0.1	0.45–1.48
第 X 因子	0.9 ± 0.1	0.8 ± 0.1	1.0 ± 0.2	0.9 ± 0.2	0.68–1.48
第 XI 因子	0.7 ± 0.2	0.6 ± 0.1	0.8 ± 0.2	0.7 ± 0.1	0.42–1.44
第 XII 因子	0.7 ± 0.3	0.7 ± 0.2	0.9 ± 0.2	0.8 ± 0.1	0.40–1.52

IU : 国際単位。

図 2. Mirasol 処理新鮮凍結血漿の保存 52 週目のタンパク質パラメータ



IU : 国際単位。

Mirasol 処理した血漿の品質

In vitro 試験

In vitro 試験では、Mirasol 処理 FFP が欧州の FFP 基準に適合したレベルで in vitro タンパク質品質を維持していることが示されている。追加的に、Mirasol 処理したアフエーシスおよび全血由来血漿成分の保存1年後の in vitro 血漿タンパク質活性を評価する試験も実施された（表 3、図 2 を参照）。

認定血液銀行施設でアフエーシスおよび全血から新鮮血漿を採取し、採取後 8 時間にわたり室温で保持した。使用したのは合計 14 ユニットの処理成分であった（容量範囲は 231 ~ 327 mL）。処理成分については、リボフラビンの最終濃度が約 50 μM となるよう、500 μM のリボフラビン溶液 35 mL と合わせて血漿を照射バックに入れた。このバッグを Mirasol 照射器に入れ、UV 光に曝露した (6.2 J/mL)。その後、血漿成分を -30°C にまで急速冷凍し、 -30°C のフリーザーに 52 週間保存した。この血漿を解凍し、標準的な凝固アッセイを用いて分析した。

In vitro の血漿タンパク質品質は、次の合格基準を満たしていた。すなわち、フィブリノーゲンは平均が 140 mg/dL 以上、第 II、第 V、第 VII、第 IX、第 X、第 XI 因子は平均が 0.6 IU/mL 以上、第 VIIIc 因子は平均が 0.8 IU/mL 以上、および総タンパク質は平均が 50 g/L 以上であった。69 週目には、プロテイン S の回収率（初期値の 100%超）、プロテイン C（初期値の 90%）、抗プラスミン（初期値の 94%）、抗トロンビン（初期値の 100%）の追加アッセイを指示した。処理サンプルは補体および免疫学的活性化の徴候を示さなかった。この試験で観察された結果は、Mirasol 処理 FFP が欧州のガイドラインに記されている未処理 FFP 成分の要件を満たすか、むしろ上回っていることを示唆している（表 4 および 5 を参照）。プロテイン C、プロテイン S、抗プラスミンおよび抗トロンビンの保持レベルは、他の不活化方法で認められるものを上回っていた。Mirasol 処理 FFP を -30°C で 1 年間保存した後のフォン・ヴィレブランド因子（vWF）抗原：活性比は 1.0 ± 0.3 であった。vWF 抗原：活性比が 1.4 未満であれば vWF の多量体分布は正常であるが、この比が 3.7 を超えると高分子量の多量体が損失していることになる（図 3 を参照）。現在進行中の試験では、vWF を切断する亜鉛含有メタロプロテアーゼである ADAMTS13（トロンボスポンジン 1 型モチーフ第 13 番を備えたメタロプロテイナーゼ・ディスインテグリン）の活性が Mirasol 処理によって有意に変化しないことが確認されている。この結果は、 -30°C での 1 年間の保存後にもフィブリノーゲンと第 VIIIc 因子が良好に維持されていることを示している。総合すると、以上のデータは Mirasol 処理 FFP が 1 年間の保存後にも欧州の FFP 基準を満たすレベルで in vitro タンパク質品質を維持していることを実証している。

Mirasol 処理 FFP は未処理 FFP 成分に関する欧州の現行タンパク質品質基準を満たしてい

る。

表 4. Mirasol 処理 FFP の保存 69 週目のタンパク質パラメータ

活性	全血対照 [†]	全血処理	アフエレーシ ス対照	アフエレーシ ス処理	基準範囲
プロテイン C	93.4 ± 10.6	83.0 ± 7.7	105.7 ± 27.6	96.0 ± 23.4	58-164
プロテイン S	65.0 ± 9.8	85.7 ± 18.6	92.3 ± 6.0	106.0 ± 15.1	56-168
抗トロンビン	83.0 ± 5.5	82.8 ± 6.9	87.0 ± 9.8	87.2 ± 8.4	72-145
プラスミノ ーゲン	80.8 ± 10.5	75.4 ± 10.3	79.7 ± 7.2	74.8 ± 6.9	68-144
抗プラスミン	99.6 ± 6.2	98.3 ± 6.2	101.3 ± 4.0	94.8 ± 6.3	72-132
プレカリクレ イン	111.1 ± 16.9	62.7 ± 9.6	124 ± 17.2	52.2 ± 22.7	65-135
高分子量キニ ノーゲン	89.5 ± 24.6	69.0 ± 12.8	99.2 ± 7.2	69.9 ± 21.0	65-135
フォン・ヴィレ ブランド因子 活性	125.6 ± 36.3	110.4 ± 52.4	99.2 ± 59.7	81.3 ± 39.6	50-150
フォン・ヴィレ ブランド因子 抗原	123.8 ± 31.4	91.2 ± 47.0	141.6 ± 41.7	108.3 ± 47.3	50-150

[†]対照データは保存 52 および 69 週目の未処理成分のものである。

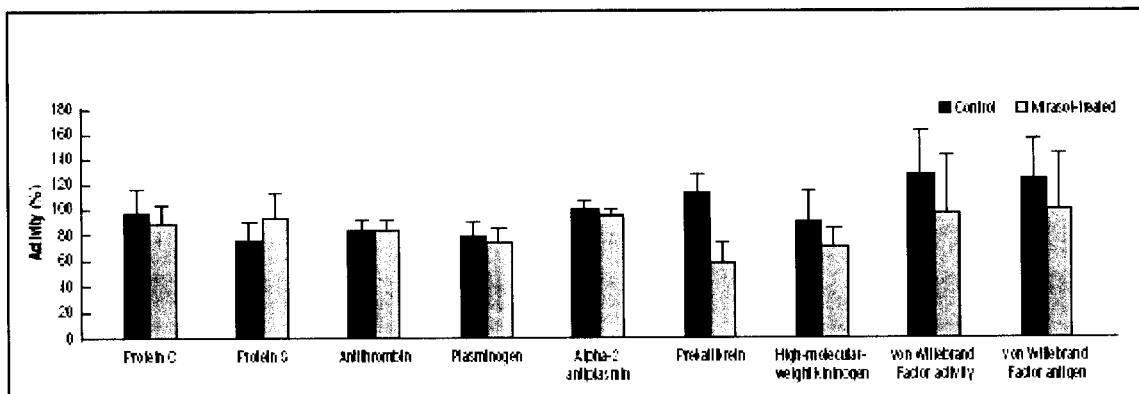


図 3. Mirasol 処理 FFP の保存 69 週目のタンパク質パラメータ

表 5. Mirasol 処理 FFP の保存 69 週目のタンパク質パラメータ

パラメータ	全血対照 [†]	全血処理	アフエレー シス対照	アフエレー ス処理	基準範囲
フィブリノーゲン (mg/dL) [§]	288.8 ± 59.6	219.9 ± 33.3	290.7 ± 4.7	211.0 ± 33.5	145–385
総タンパク質 (g/L) [§]	47.6 ± 2.9	51.3 ± 3.1	51.9 ± 4.8	53.6 ± 3.6	48–364
PAI-1 (IU/mL)	18.8 ± 12.5	7.8 ± 3.5	12.6 ± 11.4	18.8 ± 10.5	<31.1
D-二量体 (ng/mL)	158.4 ± 115.3	89.0 ± 0.0	103.3 ± 24.8	132.8 ± 87.5	<256
プロトロンビン断片 1 + 2 (pmol/L)	178.4 ± 61.0	161.1 ± 35.9	241.6 ± 79.9	265.8 ± 218.0	87–3325
トロンビン-抗トロンビン 複合体 (ng/mL)	2.0 ± 0.1	2.0 ± 0.0	2.0 ± 0.0	2.0 ± 0.0	<5.1
アルファ ₁ 抗トリプシン (mg/dL)	100.7 ± 14.7	97.5 ± 15.2	147.5 ± 9.1	110.4 ± 22.8	90–3200

[†]対照データは保存 52 および 69 週目の未処理成分のものである。

[§]処理データは保存 52 週目の処理成分のものである。

PAI: プラスミノゲン活性化因子阻害物質。

Mirasol 処理 FFP の機能面

さらなる研究により、Mirasol 処理 FFP が天然の抗凝固タンパク質として最も多い 3 種、すなわちプロテイン C、プロテイン S および抗トロンビンの活性を維持していることが示されている (表 6 を参照)。Mirasol 処理 FFP は抗凝固機能だけでなく免疫グロブリン (IgG と IgM) の量的および機能的活性も満足できるほどに保持しており、凝固亢進性障害のある患者の治療にも使用可能である。

Mirasol 処理 FFP は免疫グロブリンの機能的活性を保持していることも示されている (表 7 を参照)。この試験では、新鮮血漿を照射バッグに移して最終濃度が 50 μM となるようリボフラビンを添加し、この溶液に 10 J/cm² の UV 光を照射した。ここから照射の前後にサンプルを採取し、これをバッチ検査の前に冷凍した。このサンプルのジフテリア、破傷風および肺炎球菌の力価は基準範囲内に保持されていた (表 7 を参照)。破傷風、肺炎球菌およびジフテリアの力価の照射前: 照射後の比の平均はそれぞれ 0.66、0.72 および 1 以上であり、これは Mirasol 処理 FFP がジフテリア、破傷風および肺炎球菌の多糖体抗体の機能的活性を保持していることを示している。

Mirasol 処理には、献血時に残存していた白血球と関連病原体を不活化させる作用もある。これにより Mirasol 処理は、機能のある白血球の伝達、蓄積している炎症メディエーターへの曝露、および細胞内ウイルスによる感染を防ぐことができる (これに関する詳細は第 5 章を参照)。

Mirasol 処理 FFP は正常な抗凝固能と免疫能を保持している。

表 6. Mirasol 処理 FFP に含まれる抗凝固タンパク質の機能的活性(平均±標準偏差)

パラメータ	対照	処理	回収率 (%)
抗トロンビン III (IU/mL)	1.01 ± 0.07	0.99 ± 0.06	98
プロテイン C (IU/mL)	1.07 ± 0.10	1.04 ± 0.15	98
プロテイン S (IU/mL)	1.04 ± 0.13	1.01 ± 0.12	97

表 7. Mirasol 処理 FFP に含まれる免疫グロブリンの機能的活性(平均±標準偏差)

抗体	処理前	処理後	正常基準範囲
ジフテリア (IU/mL)	0.46 ± 0.35	0.53 ± 0.34	>0.01
破傷風 (IU/mL)	6.4 ± 6.0	4.2 ± 2.6	0.1–13.1
肺炎球菌 (IU/mL)	819 ± 707	587 ± 460	>200

要約

- FFP は多様な重大病理学的反応を引き起こす可能性がある。これを避けるためには、FFP は感染性病原体や白血球汚染物質を含んでいてはならない。
- Mirasol 処理 FFP の規格は、他の病原体不活化血漿成分および未処理 FFP に用いられるものと同等である。
- Mirasol 処理 FFP は欧州の現行のタンパク質品質基準を満たしている。
- Mirasol 処理 FFP は欧州の現行の抗凝固能および免疫能基準を満たしている。

References

1. Crookes RL, Hillyer CD. Fresh frozen plasma and related products. In: Hillyer CD, Silliterstein LE, Ness PM, et al., eds. *Blood Banking and Transfusion Medicine: Basic Principles and Practice*, 2nd ed. Philadelphia, PA: Churchill Livingstone/Elsevier; 2007:259–269.
2. Cardigan R, Lawrie AS, Mackie IJ, Williamson LM. The quality of fresh-frozen plasma produced from whole blood stored at 4°C overnight. *Transfusion*. 2005;45:1342–1349.
3. Solheim BG, Seghatchian J. Update on pathogen reduction technology for therapeutic plasma: an overview. *Transfus Apher Sci*. 2006;35:83–90.
4. Council of Europe. Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components - 13th edition (2007). ISBN 978-92-871-6157-6. Available at: http://book.coe.int/EN/tichestorage.php?PAGEID=36&lang=EN&product_id=2151 Accessed November 2007.
5. UK Blood Transfusion and Tissue Transplantation Services. Guidelines for the Blood Transfusion Service, 7th ed. Norwich, England: TSO (The Stationery Office); 2005.
6. EU Directive. Commission Directive 2004/33/EC of 22 March 2004 implementing Directive 2002/98/EC of the European Parliament and of the Council as regards certain technical requirements for blood and blood components.
7. Data on File. Navigant Biotechnologies LLC.
8. Heiden M, Seitz R. Quality of therapeutic plasma – requirements for marketing authorization. *Thromb Res*. 2000;107:547–551.
9. European Pharmacopoeia 5th Edition. 01:2007:1646 Human Plasma.
10. Buytaert-Hoelen KA, Hendrix BK, Gamp D, et al. Protein quality in Mirasol-treated fresh frozen plasma after one year in storage. Presented at the AABB Annual Meeting, Anaheim, USA, 20–23 October 2007.
11. Ramasamy I, Farrugia A, Tran E, et al. Biological activity of von Willebrand Factor during the manufacture of therapeutic factor VIII concentrates as determined by the collagen binding assay. *Biologicals*. 1998;26:155–166.
12. Larrea L, Calabuig M, Rivera J, et al. Influence of riboflavin photoinactivation treatment on coagulation factors from fresh frozen plasma. Presented at the ISBT XVIIIth Regional Congress Asia, Hanoi, Vietnam, 10–13 November 2007.
13. Kumar V, Motheral T, Luzniak G, et al. Mirasol™ Pathogen Reduction Technology: Riboflavin-based process retains functional activities of immunoglobulins. *Transfusion*. 2003;43(Suppl):90A.
14. Fast LD, DiLeone G, Li J, et al. Functional inactivation of white blood cells by Mirasol treatment. *Transfusion*. 2006;46:642–648.

第 8 章

臨床経験と将来における製品開発

MIRASOL®

病原体不活化技術

初期の臨床業務

初期の臨床研究は、処理済み血液製剤に関する体外のパラメータと体内におけるリカバリーならびに生存の相互関係を確立することを目的として設計されたものである。P-セレクチン発現量など、体内における血小板性能の測定値、循環における回復や生存など、体外の特徴を変更させるため、光エネルギーの放射ならびに添加剤の効果について測定を行った処理プロセスは、この研究結果に基づいて決定されたものである。

第2回の臨床試験は、初回の研究によって確定したMirasol処理の最善のパラメータを採用することにより、血小板の回復と生存を調査することを目的として設計された。体外における測定値にはいくらかの変更が加えられたものの、この臨床試験の結果、Mirasol処理済みの血小板は临床上において、標準濃厚血小板製剤と同様の特徴を持つことが結論づけられた。治験責任医師はこれらの2回にわたる研究に基づき、Mirasol処理済みの血小板は、患者を対象としてさらに研究を行うのが正当であると考えするのに十分なだけの実行可能性と機能性を維持していると結論づけた。Mirasol PRTシステムに関する臨床研究のうち、すでに完了したもの、ならびに現行の研究の結果を表1にまとめた。

表1. Mirasol PRTシステムに関する初期ならびに現行の臨床研究

プロトコル	被験者	被験者	場所	報告
CTS-0001/BCT02-09PET 血小板の自己回復と活着に関する評価 リボフラビン・ベースの光不活性化処理を実施	予備調査 体外における血小板パラメータと体内における血小板の回復ならびに生存率の相互関係を比較するため、血小板をTrima®アフェレーシス装置で収集し、リボフラビンを補充した光不活性化システムで加工した。その後、これに活性化抑制物質を加えたものと加えないものに分け、加工を行わない血小板とともにそれぞれ5日間保存した。	被験者 11名 サンプル 18	南アフリカ (2002年) ヨハネスブルグ	CTF-0002ならびに発行物1
CTS-0011 放射性標識血小板の回復と生存に対するMirasol処理の効果	設計検証研究 気温22°Cで5日間保存した後、放射性標識管理し、Mirasol処理を行った血小板の回復と生存を評価するため、無作為化クロスオーバー単盲検を実施した。	参加者 29名 評価実施 24名	アメリカ合衆国 (2003-2004年) 1) ニューハンプシャー州、レバノン	CFR-0003ならびに発行物2

			2) バージニア州、ノーフォーク	
CTS-0028 Mirasol処理を行った血小板輸血製剤の安全性と性能に関する評価 血小板減少性疾患の患者に関する研究	MIRACLEに関する臨床研究 多施設共同無作為オープン結果遮蔽試験の臨床設定において、Mirasol PRTシステムが安全に作動し、適切な血小板の動作を維持するか否かに関して判断するための対照研究を実施した。	CEマーケ ティング 向け：† 被験者 54名 参加者総 数： 被験者 118名 (Mirasol 部門に60 名、コント ロール部 門に58名)	フランス (2005-2007 年) 1) ストラス ブール 2) ブザンソ ン 3) ボルドー 4) グルノー ブル 5) リヨン 6) ナント	2007年9月10日 登録終了 データは2008 中に発表の予 定

MIRACLE (MIRAsol臨床評価)：

血小板減少症患者を対象とした臨床研究

MIRACLE (Mirasol®病原体不活性化技術による処理済み血小板輸血製剤の安全性、ならびに性能についての評価：血小板減少性疾患患者を対象とする) は現在、その最終段階にある。この多施設共同無作為オープン結果遮蔽試験の臨床設定の対照研究では、血小板輸血を必要とする二つの血小板減少症患者のグループの比較を行っている。

この研究の目的は、臨床設定においてMirasol処理済み血小板が安全に作用し、十分な動作を維持するか否かを判断することである。血小板輸血を必要とする血小板減少症患者を調査対象とし、輸血から1時間後に測定した補正血小板増加数(CCI_{時間})と、反応として発現した重篤有害事象 (SAEs) を比較することによって、これに関する評価を実施した。なお、輸血については処理済み (検査コンポーネント) ならびに未処理 (参考コンポーネント) の濃厚血小板製剤を比較の対象とした。輸血から4週間後までの期間、輸血関連の感染、輸血の回数や輸血の間隔などのほか、血小板輸血に関連した有害事象 (AEs) によって輸血が中止されたケースを監視し、比較することによって、Mirasol処理の動作、安全性、耐性に関するさらなる評価を行った。Gambro BCT, Inc.は、CEマークの取得申請に際して本研究の中間結果を報告している。†完全なデータセットは、2008年中に発表する予定である。

将来における臨床研究

Mirasol処理済みの不活性化病原体と白血球。

Mirasol処理は、病原体と白血球細胞（白血球）を不活性化する。Mirasol処理済みの血液製剤においては、血小板の機能性ならびに代謝活性、白血球活性の実質的な不活性化（単核細胞の増殖の抑制、サイトカイン生成の抑制、および抗原提示細胞としての活動の抑制）が維持される。体外検査、臨床前研究、ならびに患者を対象とした検査データによって、これらの効果が確認されている。これらのデータが示唆するのは、Mirasol処理を行った血液製剤は臨床上において、患者に対して適切、かつ有益な結果をもたらすと解釈し得る性能特性を示していることである。こうした結果は、臨床設定においては定量化することが難しい病原体の不活性化（病気感染ならびに感染性合併症の削減に対する潜在性など）がもたらす全般的な効果に加えて、さらに有益なものになるといえるだろう。また、これらの潜在的利点の正当性を確認するためには、具体的な結果判定法と対象患者数を定めたいうえで、臨床設定においてMirasol処理済み血液製剤の性能を評価する必要があるだろう。このため、複数の研究設計を行い、患者グループを設定し、詳細な調査を実施することとする。

Mirasol処理を行った血液製剤は臨床上において、病原体除去における利益のみならず、患者に適切、かつ有益な結果をもたらすと解釈し得る性能特性を示している。

臨床設定 におけるさらなる研究には、以下を含める可能性がある

1. 白血球の不活性化による潜在的利点についての評価
 - a) 標準濃厚血小板製剤と比べた場合の抗HLA 抗体の生成ならびに血小板不応の抑制
 - b) 発熱性非溶血輸血反応（FNHTR）など、その他の輸血に関連のある疾病率、ならびに死亡率の低減、輸血後のTRIM感染性合併症の抑制
2. アレルギー反応ならびに輸血関連急性肺障害（TRALI）に関する評価
3. 血小板代謝作用、ミトコンドリア活性の維持、血小板の機能性に関するさらなる研究には、以下を含むものとする：
 - a) 活動性の出血を起こす血小板減少症の患者、もしくは血小板病症の患者における出血リスクの軽減、ならびに赤血球またはその他の血液製剤輸血の必要性の削減。

b) 大量の失血があり、血小板の使用によって血液の凝固が増進し、血小板の活性化により失血が減少するとみられ、血液製剤の輸血が必要とみられる外科的処理中の患者に関する研究。また、当該の患者の手術後の合併症に関する研究。

Mirasol PRTシステム：現在ならびに将来のアプリケーション

アフエレーシス処理と血漿の中にある血小板に関するバフィーコート処理を目的とした初期のMirasol PRT システムは、現在はヨーロッパの大半の国、ならびに中東、アフリカで利用可能となっている[‡]。システムの拡充が進行中であり、利用が可能になれば、この技術を用いることによって処理可能な血液製剤の種類が大幅に増加することになる。

新たなアプリケーションによって、以下の処理が可能となる：

- 血小板添加剤溶液（PAS）における保存が可能な血漿の濃縮された（高濃度）濃厚血小板製剤：血小板の第二世代アプリケーション
- アフエレーシスによって採取した血漿、または全血に由来する血漿

血小板添加剤に含まれる血小板

Mirasol PRTシステムへのアップグレードによって、血漿に含まれる血小板製剤と、処理後にPASに保存される高濃度血小板ユニットの双方を処理できる設備が提供されることになる。ヨーロッパとアメリカにおいて現在、市販されているPASのうち複数のタイプに関する体外研究を通じた評価が実施されている。製品が発売されれば、PASに保存される製剤のうち認証を受けたもののいずれについても、このシステムを利用することが可能になる。

血漿

既存のMirasolシステムをさらに拡充することによって、血漿ユニットを凍結保存向けに処理することも可能になる。予備データによれば、Mirasol処理を施した血漿製剤は、タンパク質の品質ならびに抗凝固剤、免疫グロブリン機能活性に関するヨーロッパの現行基準を満たすものである（第6章参照）。

全血

現在、実施している研究は、全血の処理におけるMirasolシステムの効果を調査するためのものである。この研究には、Mirasol処理を行った全血から分離されるすべての製剤の品質、ならびに有効性の評価が含まれている。

新たなアプリケーションによって、血小板製剤をPAS、血漿、ならびに全血製剤において保

存するための処理が可能になるだろう。

要旨

- Mirasol処理を行った血液製剤は、臨床において、病原体除去における利益のみならず、患者に適切かつ有益な結果をもたらすと解釈し得る性能特性を示している。
- 新たなアプリケーションによって、PAS、血漿、ならびに全血製剤における保存に向けた血小板製剤の処理を可能にするだろう

‡初期の血小板 Mirasol PRT システムは CE マークを取得済みであり、利用可能なものである。CE マークを承認している国々では、最終血液製剤についてその他の国家認証を取得する必要がない

‡アメリカでの販売は行われていない。

References

1. Goodrich RP, Li J, Pieters H, et al. Correlation of in vitro platelet quality measurements with in vivo platelet viability in human subjects. *Vir Sang.* 2006;90:279-285.
2. AuBuchon JP, Herschel L, Roger J, et al. Efficacy of apheresis platelets treated with riboflavin and ultraviolet light for pathogen reduction. *Transfusion.* 2005;45:1335-1341.
3. Li J, Lockertie O, de Korte D, et al. Evaluation of platelet mitochondria integrity after treatment with Mirasol pathogen reduction technology. *Transfusion.* 2005;45:920-926.
4. Fast LD, DiLeone G, Li J, Goodrich RP. Functional inactivation of white blood cells by Mirasol treatment. *Transfusion.* 2006;46:642-648.

* The Mirasol PRT System for Platelets is not available for sale in the United States.

第9章

血液の安全性維持にかかるコスト

MIRASOL®

病原体不活化技術

血液の安全性維持にかかるコスト

輸血によって、多数の患者の命が救われ、寿命が延長される。輸血という行為そのものが患者の健康に悪影響を与えないことを確実にものにするためには、血液供給の安全性を保証することが不可欠である。供給される血液の中からは間違いなく、病原体やドナーの白血球が発見されており、病気感染や副作用のケースに関する数多くの報告がなされている。これまでも、血液供給の安全性を向上させるための多数の措置が導入されてきた。これらは確実に血液の安全性を高めてきたものの、一方でコストを大幅に増大させ、プロセスを煩雑化させたのである。

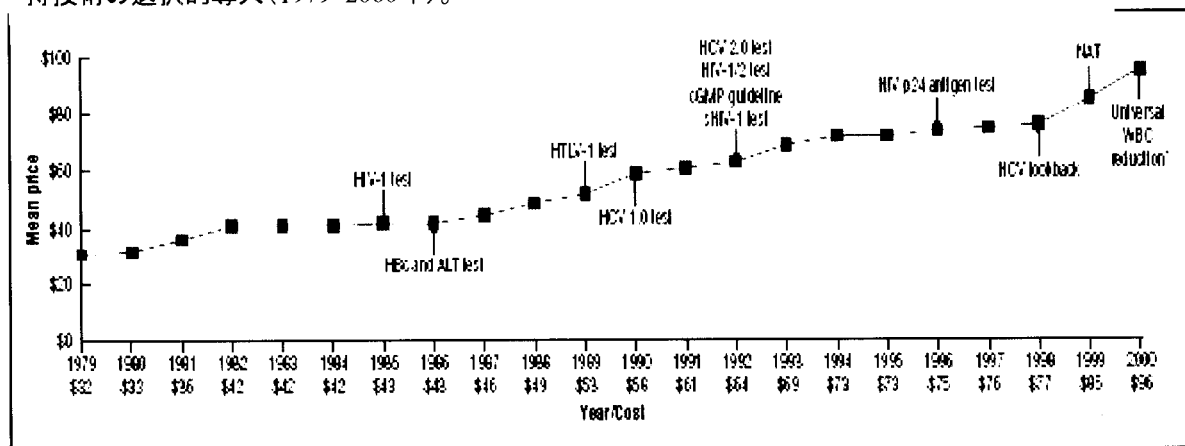
血液安全性の維持にかかる最終コスト

血液安全性の維持にかかるコスト—ならびに輸血を行う病院において血液1ユニットあたりにかかるコスト—は、ここ数十年で大幅に増加している。これは、主として新たな血液安全性メカニズムの導入によって増幅されたものである（図1を参照）。

新技術の導入によって発生したコストの評価は、クオリティオブライフを調整した生存年数（QALY：完全に健康な年を1.0 QALYとし、—輸血関連感染などで—健康を損なった年の数値を低く評価する）の評価で判断される場合が多い。共通のユニットに関して達成された平均的な健康への利点を明確にすることによって、新技術を直接に、また客観的に評価し、比較することができる。

なお、行われた比較が有効なものであり、また典型例を示すものであることを確認することが不可欠である。たとえば：

図1. ABC加盟センターの病院向け輸血用血液1ユニットあたりの販売価格と、血液安全性維持技術の選択的導入(1979-2000年)。



†2000年12月以降、75あるABCの加盟センターのうち12施設では、白血球不活性化製剤のみが配布されている。平均価格は、これらのセンターが白血球不活性化赤血球の料金として徴収している金額から算出した。

ALT: アラニン・アミノトランスフェラーゼ、GMP: 医薬品製造管理および品質管理基準、Hbc: ヘモグロビンC、HCV: C型肝炎ウイルス、HIV: ヒト免疫不全ウイルス、HTLV: ヒトT細胞性白血病ウイルス、NAT: 核酸増幅テスト(NAT)、白血球: 白血球

- コストの比較は、関連性のあるコストを比較対象としたものでなくてはならない。血液の安全性に関する対策についていえば、コンパレータに医薬品—コスト効率において計測基準が異なる—を含んではならないが、核酸増幅テスト (NAT) やガンマ線照射、白血球除去など、その他の血液の安全性維持技術はこれに含むものとする。
- 潜在的なコスト、ならびにコスト削減に関連するすべてのものを考慮する必要がある。残存している白血球の不活性化も同時に行う病原体除去技術のコストの算出は、輸血関連の感染の削減という面のみに基づいたものであってはならない。安全性維持のための措置がもたらす利点を過小評価してしまうためである。また、同種免疫とそれに関連する反応の防止の可能性、および血小板不応も考慮すべき要因である。
- また、コスト対利益について考慮する際においては、安全対策によって将来に生じ得る好影響（または悪影響）を考慮しなければならない。たとえば、特定の病原体を検出するために設計された血液安全性維持のための技術は、新たに出現する新興病原体に対して血液の供給を保証するものではない；すべての病原体を不活性化する潜在力を持った技術であれば、こうした新興病原体に対する新規の検査を開発し、導入しなくてはならないという要件をあらかじめ回避するものとなるだろう。

輸血の安全性維持のための措置については、QALYあたりの最終コストが高くなるものと認識されているが、コスト効率性に関する議論においては、上記の点などすべてを考慮する必要がある。

病原体不活性化システムの実質的な価値を正確に評価するためには、そのシステムがクオリティオブライフ、ならびに社会におけるコスト削減の面においてどれだけの救済となるかという点に対してのコストを算出することが不可欠である。

直接経費と間接費、病原体不活性化技術の導入によるコスト削減

新たな血液安全性維持システムの導入を検討する際には、すべての関連コスト—直接コストおよび間接コスト—、ならびにコスト削減の可能性—直接コストと間接コスト—に関する完全な理解が不可欠である（表1参照）。

表1. 潜在的な直接費用ならびに間接費、新たな病原体不活性化技術の導入によるコスト削減の可能性

直接費用	間接費
<ul style="list-style-type: none"> 新規設備にかかる設備投資 各ユニットにかかる増分費用 加工にかかる時間の延長 その他（職員研修など） 	<ul style="list-style-type: none"> 処理によって血小板収量や機能性に悪影響が生じ、追加ユニットが必要となる可能性
直接費用の削減	間接費の削減
<ul style="list-style-type: none"> 血液の安全性維持のための対策としての要件（ガンマ線照射、新規の血清学的検査など）を事前に満たし得る 輸血感染や輸血関連敗血症に関連したコストの排除 廃棄血液の削減（細菌汚染により使用不可能となるユニットの減少など） 	<p>間接費の削減</p> <ul style="list-style-type: none"> 輸血による感染の減少を通じた入院長期化の防止 輸血感染の結果として起きる賠償請求件数の削減 FNHTRや輸血関連急性肺障害（TRALI）など、白血球関連の合併症の防止 現在、据え置きとなっているドナーの療養> ドナー・プールの拡大> ドナー募集費用の削減 輸血が中断されるケースの減少 同種免疫の減少を原因とする不応が抑制できる可能性

FNHTR: 発熱性非溶血輸血反応、TRALI: 輸血関連急性肺障害、白血球: 白血球

たとえば、新技術は初期投資を必要とする一方で、既存のコスト（現行の措置などにかかるもの）を免除対象とすることができるほか、コスト効率の低いプロセスに取って代わることができる。アメリカにおいては、白血球除去（白血球除去）の場合、加工された1ユニットあたり\$35-45（€24-31）の追加コストがかかり、国全体としての血液関連のコストが\$5億（€3億4,000万）が上乘せされると推定されている。一方、病原体検出には加工された1ユニットあたり€20-30のコストが必要であり、ガンマ線放射には同€5-12、ウェスト・ナイル・ウイルス（WNV）血清検査には同€1-6、抗ヘモグロビンCには同€2.50、梅毒には同€4、サイトメガロ・ウイルス血清検査には同€4.4がかかると見積もられている。

これらの—そしてその他の—一部に必要とされるコストを回避できる潜在性を持った血液安全性維持のための技術は、単に追加コストを生じるものと考えられるべきものではないのである。

基準値

医薬品においては、コスト効率はQALYあたり\$50,000 (€34,000)が一般的な許容範囲とされている。しかしながら、血液の安全性においてはこの基準は不適切であり、不当である。実際に、QALYあたりで推定されるヒト免疫不全ウイルス (HIV) のp24 抗原検査、Hbc抗体検査、有機溶媒／界面活性処理 (SD) 法、新鮮凍結血漿 (FFP) のコストは\$500,000–\$1,000万 (€339,000–u6,700,000) であり、また、これらの措置のすべてが標準的な血液プールの一部として恒常的に実施されているわけではないのである。明らかに、コスト効率に関する決定を下す際においては、血液の安全性について各項目に異なる基準を適用することが不適切であるとはいえないのである。

輸血関連の感染性合併症

コスト効率に関する推計の大半においては、病原体除去プロセスによって削減できる可能性のあるアレルギー反応やTRALIなど、非感染性輸血関連合併症が考慮されていない。実際、病原体除去技術 (PRT) で処理した血漿のQALYあたりのコストは、これらの合併症を考慮した場合には大幅に減少する。例を挙げれば、SD処理済み血漿に関連したコストの分析によれば、QALYあたりのコストはUS\$215万6,000 (146万1,000ユーロ) - US\$974万3,000 (660万1,000ユーロ) である。こうした結果は、輸血伝搬性ウイルスの感染リスクが低いこと、ならびに血漿のレシピエントの大半が高齢であり、その予後診断が短期間で終わっているため不十分なものになっていることに起因したものである。しかしながら、分析において非感染性の輸血関連合併症を考慮すると、推定されるQALY値は大幅に低下することになる——TRALIの発現の減少におけるSD処理済み血漿のコストを考慮したモデルの場合、21歳以下の患者の生存年数のうち一年あたりのコストは£30,000 (€42,000) 未満であり、48歳以下の患者の場合は同£50,000 (€70,000) である。

将来の血液提供における危機に向けた保護措置

血液供給に新たな脅威が発生する頻度についての歴史的データをみると、新たな血液の安全性維持に関する技術のコスト効率を検証するモデルはいずれも、チクングンヤなどの新興病原体やその他の未確認の有機体など、新たに発現した新興病原体を特定し、血液供給から排除するための検査方法の開発コストとして予測されるコストを考慮する必要があることがわかる。

血小板輸血における病原体不活性化のコスト

病原体除去技術 (PRT) システムを通じた病原体不活性化が血小板輸血コストに与える経済的影響を評価するための研究によると、そのコスト効率はNATなどその他の安全性維持のための措置と同程度であるか、あるいはそれ以上となり得ることがわかった。PRT技術のコスト効率に関するその他の調査において本論の著者は、輸血による感染が起こり得る“[PRT]

のない世界”と感染が防がれている“[PRT]のある世界”の比較を実施した。輸血伝搬性ウイルスへの感染によって生じる年間コストは、無症候性HIVの場合で€2,231、AIDSの場合で€25,736と見積もられている——さらに、急性と慢性の肝炎の場合は、それぞれ€2,300と€125とされる。また、敗血症の症状発現ごとのコストの総額は、€17,988と算出されている。一方、これらのすでに認識されているものに加えて、新興病原体（既知、または未知の）感染患者の看護にかかると見込まれる費用も考慮に入れられている。本論の著者は、輸血1回あたりの新興病原体への感染リスクが1/1000から1/2300以上であるとすれば、増分のコスト効率はQALYあたり€195,364であり、PRTは全体として、措置としてはコスト効率が高いものと考えられると結論づけた。

上記を考慮すると、Mirasol PRT システムの付加価値はその潜在的利点に大きく依存するものとなる：

- その他のシステムが残存している光線感作物質の副生成物や代謝産物の除去を必要とする場合についても、Mirasol PRT システムはこのステップを必要としない。‡広範な毒物学的評価と長期にわたる臨床経験によって、リボフラビンとその光分解生成物は安全であることが証明されている（第2章参照）。

このステップを排除することで技術者の作業負荷が軽減され、プロセスの処理能力が向上することから、コストと時間が削減できるのである。

- Mirasol PRTシステムは、白血球に由来する輸血副作用の発生を抑制し、追加の処理コストの回避を通じてコスト効率を上昇させる。

- Mirasol PRTシステムにより、同種免疫と血小板不応を低減できる可能性がある。

血小板輸血コストにおける病原体不活性化の経済的影響を評価するための調査によると、そのコスト効率はNATなどその他の血液安全性の維持のための措置と同程度であるか、あるいは潜在的にはより高いことが分かった。

Mirasol PRTシステムのコスト効率を確保するための新たなモデル

既存の処理方法に加え、さらなる利点を提供する新たな安全性維持のための技術が開発されていることから、コスト対利点のプロフィールを正確に評価するための新規モデルが必要となるだろう。

病原体不活性化技術に関する既存のモデルは、Mirasol PRTシステムのコストとこのシステムによって実現し得るコスト削減の側面の全般を考慮したものではないことから、Mirasol

データのみに基づく新たな、そしてより適切なモデルを開発する必要性が生じたのである。

現在、より効率の高い評価モデルを開発中である。このモデルによって、Mirasol処理とその他の病原体不活性化技術、ならびに細菌類のスクリーニングや新たな核酸増幅テストなど、その他の血液安全性の維持のための措置との包括的な比較が可能になる。

Mirasol PRTシステムのさらなる強み

血液の安全性維持のための新たな技術を導入するか否かについては、導入にかかるとされているコストのみに基づいて決定を下すべきではない。その他の多くの要因についても検討する必要がある。

たとえば、細菌検査の結果が得られる前にすでに血液製剤が販売されている場合が多く、さらにその多くがすでに輸血されてしまっている場合が多い。実際、陽性であるとわかったユニットの約40%が回収されておらず、回収された血小板ユニットもその90%以上がすでに輸血に使用されたものとなっている。

血液の安全性維持のための技術の大半は本来、対処するためのものであり、そのため新しい検査を実施するには時間がかかる。一例を挙げれば、1999年にWNVが初めて検知されてから、2002年11月にその血液スクリーニングのためにNATが定期的実施されるようになるまでには、3年の期間があった。

血液製剤の全保存期間中を通じて細菌の増殖を抑制するための技術、ならびに将来において発現し得る未知の新興病原体に対する保護機能を持つのに十分なだけの確固とした技術は、現在の血液供給の安全性向上に大きく貢献するだろう。

要旨

- 病原体不活性化システムの実質的な価値を正確に評価するためには、そのシステムがクオリティオブライフ、ならびに社会におけるコスト削減の面においてどれだけの救済となるかという点に対してのコストを算出することが不可欠である。
- 血小板輸血コストにおける病原体不活性化の経済的影響を評価するための調査によると、そのコスト効率はNATなどその他の血液安全性の維持のための措置と同程度であるか、あるいは潜在的にはより高いことが分かった。
- 現在、より効率の高い評価モデルが開発中である。このモデルにより、Mirasolとその他の病原体不活性化技術、ならびに細菌類のスクリーニングや新しい核酸増幅テストの実施などといった、その他の血液の安全性維持のための対策の包括的な比較が可能になる。

References

1. Goodman C, Chan S, Collins P, et al. Ensuring blood safety and availability in the US: technological advances, costs, and challenges to payment—final report. *Transfusion*. 2003;43:35–465.
2. AuBuchon JP, Birkmeyer JD, Busch MP. Safety of the blood supply in the United States: opportunities and controversies. *Ann Intern Med*. 1997;127:904–909.
3. Postma MJ, van Hulst M, De Wolf JT, et al. Cost-effectiveness of pathogen inactivation for platelet transfusions in the Netherlands. *Transfus Med*. 2005;15:379–387.
4. Pathogen inactivation: making decisions about new technologies: consensus conference. Toronto, Canada, 29–30 March 2007.
5. Owens DK. Interpretation of cost-effectiveness analyses. *J Gen Intern Med*. 1998;13:716–717.
6. Jackson BR, Busch MP, Stramer SL, AuBuchon JP. The cost-effectiveness of NAT for HIV, HCV, and HBV in whole-blood donations. *Transfusion*. 2003;43:721–729.
7. Pereira A. Cost-effectiveness of transfusing virus-inactivated plasma instead of standard plasma. *Transfusion*. 1999;39:479–487.
8. Jackson BR, AuBuchon JP, Birkmeyer JD. Update of cost-effectiveness analysis for solvent-detergent-treated plasma. *JAMA*. 1999;282:329.
9. Friedler GF, Haycox AR, Duggan AK, Dakin HA. Cost-effectiveness of solvent/detergent-treated fresh-frozen plasma. *Vox Sang*. 2003;85:88–95.
10. Bell CE, Botteman MF, Gao X, et al. Cost-effectiveness of transfusion of platelet components prepared with pathogen inactivation treatment in the United States. *Clin Ther*. 2003;25:2464–2486.
11. Moeremans K, Warie H, Annemans L. Assessment of the economic value of the INTERCEPT blood system in Belgium. *Transfus Med*. 2006;16:17–30.