

話題の感染症

血液製剤の安全対策 — プリオン除去の現状 —

Current Situation of Prion Risks on Blood Products

かとう もり¹⁾ 加藤(森)ゆうこ¹⁾ ゆの き みき ひろ^{1,2,3)} 柚木 幹 弘^{1,2,3)} いく た かず よし²⁾ 生田 和 良²⁾ はぎ わら かつ ろう¹⁾ 萩原 克 郎¹⁾
Yuko KATO-MORI Mikihiro YUNOKI Kazuyoshi IKUTA Katsuro HAGIWARA

はじめに

新たなプリオン病である変異型クロイツフェルトヤコブ病 (Variant Creutzfeldt-Jakob Disease, vCJD) の発生は 1996 年に報告された。そして、二次・三次感染による感染者の増加や全世界への蔓延が危惧され、大きな社会問題となった。また、その原因がウシ海綿状脳症 (Bovine Spongiform Encephalopathy, BSE) に罹患したウシの危険部位の摂取によることが疑われ、畜産、食品衛生、ならびに医療分野において安全対策が講じられるとともに、ヒトにおける疾患モニタリングが実施された。幸いな事に、vCJD 患者数は予測を大きく下回り、当時危惧されたような数万人規模の発生には至らなかった。これは危険因子とされたウシおよびウシ由来の食肉やゼラチン等の原材料におけるリスク低減措置が効果的に機能した結果、ヒトへのプリオン伝播リスク低減に功を奏したものと考えられた。一方、食肉以外の感染ルートとして、手術、輸血、血漿分画製剤、生体成分由来製剤、バイオ医薬品などが理論的に考えられるが、これらについてもさまざまなリスク低減策が各分野で施されており、プリオン伝播の可能性は低い。しかしながら、プリオンは不活化や除去が極めて困難であること、その性状については不明な点が多いこと、輸血によるプリオン伝播事例が報告されていること等から、今後も警戒すべき感染症として認識しておく必要がある。ヒト由来の医薬品等については、さまざまな課題が存在し、今後も研究と対策が必要であろう。そこで本稿では、プリオン

病のこれまでの状況とともに、ヒト血液から製造される血漿分画製剤を中心とした現状について紹介する。

I. 家畜におけるプリオン病

1986 年、英国でこれまでに確認されていない神経症状を呈するウシの疾患の流行が報告された。その後、この疾患は狂牛病 (Mad Cow Disease) と一般的に報道されたが、学術的には伝染性海綿状脳症 (Transmissible Spongiform Encephalopathy, TSE) のひとつであり、ウシ海綿状脳症 (BSE) と名付けられた。この BSE 発生の原因が、ヒツジの TSE であるスクレイピー (PrP^{sc}) に感染した個体を含む肉骨粉の摂取によることが指摘され、BSE は羊の TSE の原因物質による感染によって生じることが疑われた。英国の公衆衛生当局は、英国内の家畜飼料からこの肉骨粉を排除する決定と、ウシ全頭モニタリング制度を導入することにより、更なる流行の拡大防止策を講じた。その結果、全世界的に流行する事が懸念された BSE は、そのほとんどが英国内での発生にとどまり、1992 年をピーク (年間発生頭数約 37,000 頭) にその発生は減少した (図 1)^{1), 2)}。近年の評価対象国における BSE 発生頭数は、2011 年および 2012 年で 29 例と 21 例となっており、ピーク時の 1992 年の 37,000 頭余り (ほとんどが英国で発生) と比べてその数は劇的に減少している。日本においては 2001 年に BSE の発生が初めて確認され、その後、英国と同様の全頭モニタリング制度の導入と全頭検査が導入された。日本では 2008 年の 1 例

1) 酪農学園大学 獣医学群
〒069-0836 北海道江別市文京台緑町582
2) 大阪大学微生物病研究所 ウイルス免疫分野
〒565-0871 大阪府吹田市山田丘3-1
3) 日本血液製剤機構 研究開発本部
〒105-6107 東京都港区浜松町2-4-1
世界貿易センタービル7階

1) School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University.
(582 Midorimachi, Bunkyo-dai, Ebetsu-shi, Hokkaido)
2) Department of Virology, Research Institute for Microbial Diseases,
Osaka University.
(3-1 Yamadaoka, Suita-shi, Osaka)
3) Research and Development Division, Japan Blood Products Organization.
(7th Fl. WTC building, 2-4-1 Hamamatsu-cho, Minato-ku Tokyo)

を最後にそれ以降の発生はなく(総計 36 例の発生)、2013 年 5 月に国際獣疫事務局により日本は国際的な安全性格付け (BSE status) の最上位である「無視できる BSE リスク国」の認定を受けた³⁾。

Ⅱ. プリオン蛋白

プリオン (Prion) とは蛋白性の感染性粒子という意味である Proteinaceous Infectious Particle の短縮形造語であり、この感染性病原体はウイルス等と異なり遺伝情報を持たない蛋白質そのものである。ヒトの正常型プリオン蛋白 (Celler Prion protein, PrP^c) は CD230 と同義で、第 20 番染色体に PRNP 遺伝子としてコードされている⁴⁾。病原体としての感染性プリオン蛋白質は、ウイルス等の外来性物質ではなく、もともと宿主に存在する α ヘリックス構造に富んだプロテアーゼ感受性の PrP^c が、 β シートリッチな構造に変換した異常型プリオン蛋白質であり、プロテアーゼ抵抗性である (Proteinase resistance prion protein, PrP^{res})。この構造変換した PrP^{res} の存在により正常の PrP^c が次々に PrP^{res} に構造変換して細胞内で結合・集積する。しかしながら、プロテアーゼ感受性の PrP^{sc} にも感染性を有する事が報告され、プロテアーゼ感受性は病原性有無の指標にはならない事が示唆された⁵⁾。また、感染性プリオン蛋白は単量体ではなく重合体として存在していると考えられ、その感染性については粒子径 10nm 以下の重合体は感染性がなく、粒子径 20 ~ 25nm が最

も感染性が高いとの報告がある⁶⁾。一方で、15nm の孔径を有するウイルスろ過膜のろ過液の超遠心上清に感染性が認められるとの報告がある事から⁷⁾、異常型プリオン蛋白は非常に小さな分子でも感染性を有し、感染因子としてさまざまな存在様式があることが明らかになりつつある。

Ⅲ. ヒトにおけるプリオン病

1996 年、英国においてこれまでに確認されていない病態を呈するクロイツフェルトヤコブ病 (Creutzfeldt-Jakob Disease, CJD) が報告された。この新しいヒトの疾患はこれまでの CJD とは違い若年性であることが特徴であるとされ、変異型 CJD (Variant CJD, vCJD) と命名された。この vCJD 発症例は、BSE 同様主として英国で確認され、その発症パターンが BSE のそれと相関関係にあることから、vCJD の原因が BSE 発症ウシ由来の原料の摂取によるものと疑われた。この vCJD は BSE 同様に世界的に流行・拡大することが懸念されたが大流行には至らず、2012 年 6 月時点における総発生数は 227 名 (全世界) となっている⁸⁾。発症患者数の最も多い国は英国であり、現時点までの総計は 176 名、次いでフランスの総計 27 名であった。vCJD の二次感染と考えられる輸血による感染事例は英国で 3 例報告されているが、2008 年以降報告はない^{8~10)}。

CJD は主に、弧発性 CJD (Sporadic CJD, sCJD)、家族 (遺伝) 性 CJD (Familial CJD, fCJD)、医源性

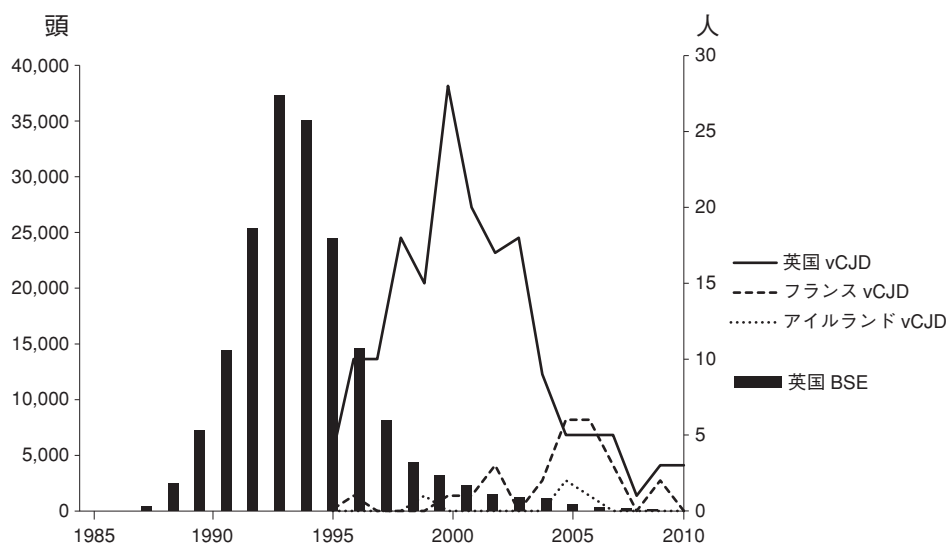


図 1 BSE と vCJD の流行経過

CJD (iatrogenic CJD, iCJD)、そして vCJD の 4 種類に分類される。sCJD は 55 歳以上のヒトに約 100 万人に 1 人の割合で発症する CJD であるが、輸血などを通じてのヒト-ヒト間における感染の報告はない。医薬品への感染性プリオン蛋白の混入リスクが高いもののひとつに、血液を原料とする血液製剤がある。感染事例については、献血後に vCJD に感染していることが判明したドナー由来の血液製剤を輸血された事例が英国で確認され、現時点で受血者 3 名が vCJD に感染したと認識されている¹¹⁾。2010 年の WHO 見解では、ヒト血液は低感染性のカテゴリーに分類されているが、vCJD は感染性あり、一方で CJD は感染性なしと位置付けられている¹²⁾。また、血友病患者は欠損している凝固因子を補うために血漿や血漿分画製剤の投与を定期的に受けていることから、英国では血友病患者に対してモニタリングが実施され、2009 年には生前に神経症状を発症していない血友病患者の脾臓から異常型プリオン蛋白が発見された¹³⁾。この事例は、輸血製剤だけではなく血漿分画製剤でも感染リスクが残存することを示すことになった。また、他の医原性感染として硬膜移植、ヒト脳下垂体由来製剤(成長ホルモンなど)、角膜移植や手術器具を介しての感染も確認されている^{14, 15)}。

日本では CJD のサーベイランスが実施されており、1999 年から 2010 年までの間に確認された 1421 例の CJD は、sCJD が 1088 例(76.6%)、fCJD が 245 例(17.2%)、iCJD(全例硬膜移植)が 80 例(5.6%)、vCJD が 1 例(0.1%)、分類できない CJD が 7 例(0.5%)であった¹⁶⁾。この中で実際に輸血による感染リスクとなり得るドナーは iCJD と vCJD 患者であるが、手術歴などの確認により iCJD 患者が献血する機会を排除する事は可能である。日本における vCJD 発症例は、これまでに 1 例であるが、日本人の感染リスクは、英国渡航して vCJD に感染するリスクと、vCJD 感染者が献血し、輸血を通して国内で感染が拡大するリスクが想定されている¹⁷⁾。輸血による感染モデル予測では、感染者数は 2003 年ごろにピークを迎え、発症者の増加は 2010 年代の前半ではほぼ横ばいとなり、累積発症者は 0.563 人になるという結果が報告されている¹⁷⁾。このことは、現在の BSE/vCJD の疫学状況が大きく変化しない限り、2010 年以降の日本における輸血を介した vCJD 感染者の発

生可能性が極めて低いことを示している。

一方、英国での vCJD 発生については 2000 年の 28 例をピークとして減少し、2008 年は 2 例となったが、その後、2009 年、2010 年、ならびに 2011 年の発生はそれぞれ 3 例、3 例、5 例となっている(図 1)¹⁸⁾。これらの発症が示す明確な要因は現時点では不明であるため、今後も vCJD の動向については慎重に見極める必要があるものと思われる。

IV. 社会と行政の対応

BSE と vCJD の関連性が指摘された問題は、畜産分野を中心とした食品安全における BSE 問題を再考する事となった。日本では 1996 年からウシ飼料の動物性成分使用制限を開始した。また、ウシ由来のヒトに対する vCJD 伝播リスクを低減する目的で 2001 年から、と畜牛全頭検査、陽性牛の焼却処分、特定危険部位(Specified Risk Materials ; SRMs、頭部、脊髓、扁桃遠位部)の除去を開始(2004 年から脊柱を追加指定)、さらに臨床症状のモニタリング、個体番号による全頭管理、と畜場での解体処理方法や交差汚染の管理など、多くの対策を組み合わせることによって高い安全性を確保してきた。その結果 BSE 対策は見直され、2013 年 7 月以降、国内と畜場におけるウシの BSE 全頭検査を廃止し、48 カ月齢超を検査対象とすることになった¹⁹⁾。この対策措置法の改正については内閣府食品安全委員会にてその妥当性が評価されている²⁰⁾。現在日本では 30 カ月齢以下のウシは扁桃・回腸遠位部、30 カ月齢以上のウシは舌と頬肉を除く頭部・脊髓・脊柱・回腸遠位部が特定危険部位に指定されている^{21, 22)}。

さらに、感染性プリオン蛋白は、プロテアーゼ抵抗性のみならず、121℃のオートクレーブ滅菌にも耐性があるなど不活化が困難であることから、動物由来の医薬品領域においても大きな問題を惹起した。医薬品の中には、ゼラチンカプセルなどウシ由来の原材料が数多く使用されていることから、日欧米の規制当局はプリオンに関するガイダンスの制定や行政指導を実施した。厚生労働省も、1996 年に製薬メーカーに対してウシ由来原材料の使用実態と原産国の把握を求め²³⁾、2000 年にはプリオンに対するリスク評価を求めた²⁴⁾。各メーカーはこの BSE 問題に対応するとともに、可能なものについてはウ

シ以外の原料への切り替え対策を実施した。ヒトや動物組織を原料とする蛋白医薬製剤は、その製剤化工程で強力な蛋白変性操作は導入されていない。そこで、ヨーロッパの規制当局は1998年、2003年、2004年、2009年ならびに2010年にプリオンのリスク評価に関する見解を発出した²⁵⁻²⁷⁾。また米国規制当局もメーカーが実施する製剤のリスクアセスメントに関するガイダンスを2010年に発表した²⁸⁾。日本においても2003年に厚生労働省よりプリオン対策強化が通知された²⁹⁾。これを受け、各製薬メーカーはウシ組織抽出物由来の医薬品や血液製剤等、蛋白医薬製剤の製造工程におけるプリオン除去能力の評価を行うとともに、感染性プリオンに対する感染リスク低減を目的として、原材料の原産国の変更やプリオン除去膜の導入や製造条件の変更などを試みている。

V. 血液成分のリスク

血液は主に赤血球、血小板、白血球、血漿の画分に分けることができる。プリオン蛋白は細胞膜上に存在するので、血液細胞が輸血製剤における主なプリオン伝播リスクであると考えられる。マウスを用いた血液成分のvCJD感染性を調べた知見では、buffy coatや血漿、血小板は感染性が認められたが、赤血球には感染性は認められなかった³⁰⁾。これらの事から輸血は感染リスクを伴い、輸血によるvCJD感染リスクの低減策を講じる必要がある。効果的なリスク低減策は、問診によるドナー選抜と原料血液のスクリーニング検査により感染源を排除することである。日本の献血基準には問診項目として英国などの滞在歴などを設定し、ドナーの適格性を確保している³¹⁾。また、採血後の血液中の白血球除去フィルターにプリオン除去効果が確認されているものもある³²⁾。日本では血漿分画製剤の原料となる血漿については、6カ月の貯留保管を行った後に日本赤十字社から製薬メーカーに出荷されることにより、採血と製造に時間差を設定して感染リスク低減対策が講じられている。さらに、血漿分画製剤の製造工程においてプリオン除去能を有する工程が導入されている。

VI. プリオン蛋白除去の対策

上述の様に、原料血漿に異常型プリオン蛋白が混入する可能性は極めてまれであるが、医薬品の安全性を担保する上で感染性プリオン蛋白除去に対する対策は必要であり、製薬メーカーにおいていくつかの研究とそれに基づく対策が応用実施されている。実際、これまでの多くの研究成果から異常型プリオン蛋白を除去可能な工程や手法が明らかになってきている³³⁾。その中で今後の除去効果が期待されているのは15nmの平均膜孔径を有するウイルス除去膜による除去である。ヒツジのスクレイピー株(Hamster adopted scrapie ハムスター 263K)に感染したハムスター脳由来の超音波処理したマイクロソマル画分(膜画分)をプリオン材料として、試験的に血漿分画製剤の製造工程に添加してウイルス除去膜(平均膜孔径15nm)によるプリオン蛋白の除去性能を評価した。この15nmのろ過膜はバイオ医薬品分野に産業応用可能な世界で最も公称膜孔径の小さなウイルス除去膜である。この膜処理により、ろ液中の異常型プリオン蛋白はウエスタンブロッティング(WB)法の検出限界以下にまで除去され、3.5Log以上の除去指数を示した。同処理プリオン蛋白の動物への接種実験では、ろ液中の感染性プリオン蛋白は4.0Log以上の除去指数を示したが、一部のサンプルで感染性を認めた(表1)^{7, 34)}。さらにvCJD感染マウス脳由来の超音波処理プリオン材料を用いて15nmろ過膜による除去効果をWB法で評価した結果、2.8Logの除去指数を示したが、ろ液中に異常型プリオン蛋白を認めた(表2)。この結果は、15nmろ過膜は微粒子となった異常型プリオン蛋白分子に

表1 15nmろ過による異常型プリオン蛋白(Scrapie 263K)の除去

	定量試験		定性試験	
	WB	BA	WB	BA
ろ過前	6.1/6.1	7.97/8.30	3.6	発症
ろ過後	<2.6/<2.6	<3.25/4.30	<0.8	発症
除去係数	≥3.5/3.5	≥4.72/4.00	≥2.8	NA
超遠心沈殿	NA	NA	<1.0	発症
超遠心上清	NA	NA	<1.0	発症

WB: ウエスタンブロッティングによる評価。

数値はNon-detectable endpoint法によって求めた総Log₁₀値。

BA: 動物接種試験(n=6頭/群)による定量又は定性評価。

定量評価は階段希釈サンプルを用いた結果から、Karberの式により求めた総ID₅₀(Log₁₀)。

NA: Not applicable

表2 15nm ウイルス除去膜による 263K
および vCJD 除去の比較

Sample solution	Scrapie 263K	mo-vCJD
PBS	$\geq 3.2/\geq 3.2$	2.8
	$\geq 2.5/\geq 3.2$	NT
Antithrombin	≥ 2.8	$\geq 3.5/\geq 3.5$
	$\geq 3.5/\geq 3.5$	NT

数値はウェスタンブロットによる Non-detectable endpoint法によって求めた総Log₁₀値。

NT: Not tested

対して、一定の除去効果を発揮し、感染性リスク低減に有用である事を示している。その一方で、微小な異常型プリオン蛋白が多く存在すると除去工程からリークする可能性も示唆された。

ウイルス除去膜の原理は、膜の孔径とウイルス粒子の大きさの差を利用して、目的の蛋白質を通過させ膜層で捕捉する事により除去することであり、プリオン蛋白に対しても同じ原理が適応される。一方、異なるプリオン蛋白除去方法として静電相互作用による吸着作用を応用したプリオン蛋白除去が考えられる。その候補として、溶液中の不純物を吸着させる目的で使用されるデプスフィルターがある。実際に、平均膜孔径 100 – 500nm のデプスフィルター (Depth filter ZP 90LA) を用いて上述のウイルス除去膜と同様の評価を実施した結果、効果的にプリオンを除去できるが、動物実験や一部の製剤ではろ液にプリオン蛋白が検出されるという結果を得た。膜孔径 220nm のエンドトキシン除去フィルター (Mustang E) も条件により除去能力に差が認められた (表3)³⁵⁾。陰イオン交換能を有するフィルター (Qyu speed D) を用いたプリオン蛋白吸着能 (除去能) 評価では、条件によりろ液にプリオン蛋白が検出されるものの、効果的な除去能力を示した (表3)³⁶⁾。アフィニティーカラムを用いてプリオン蛋白を吸着するカラムも評価されており、3.9Log 以上の効

果的な除去能力を有する事が確認されている³⁷⁾。

これらの結果から、サイズ依存的もしくは静電相相互作用でプリオン蛋白を除去するフィルターはその除去効果を示すものの、条件によっては感染性プリオン蛋白を完全に除去できないことが明らかとなった。したがって、血漿分画製剤のプリオン蛋白に対する安全性を堅牢にするためには、これら機作の異なる除去ステップを複数組み合わせたセーフティーネットを構成することにより、より高い除去効果が期待されるであろう³⁸⁾。

VII. プリオン蛋白除去の問題点と今後の対策

血漿分画製剤の製造工程に導入可能と思われるデバイスは、採血時の白血球除去フィルターの他に、ウイルス除去フィルター、荷電された除菌・清澄ろ過フィルター等があり、蛋白質の精製工程としては、エタノール分画、硫酸分画、ポリエチレングリコール分画、クロマトグラフィー等が考えられる。

プリオン蛋白除去に関する血液製剤の製造工程におけるプリオン除去能力を評価する場合、感染動物の脳を材料としたマイクロソーム画分が用いられている。これは血漿中に異常型プリオン蛋白が十分に得られない事から脳を使用しているのであるが、現在ではできるだけ血中に存在し得る状態に近づけるために、超音波や有機溶媒、界面活性剤処理などにより、プリオン蛋白の粒子径を極力小さくする処理が加えられている。この事は逆に、同じ工程やデバイスを評価する時にプリオン蛋白材料の調製法の違いにより評価結果が異なるという問題を有する。また、評価は一般的にヒツジのスクレイパーをハムスターに馴化した 263K 株が使用されるが、血液製剤

表3 静電相互作用を持つフィルターによる溶媒組成の異なる蛋白液中のプリオン除去

Sample Solution	Depth filter ZP 90LA	Mustang E	Qyu speed D
PBS	≥ 2.8	Effective (定性)	3.5
IVIG	$\geq 2.8/\geq 3.5$	NT	NT
Albumin 25%	$\geq 3.1/\geq 3.1/\geq 3.6$ 3.8 (Animal study)	NT	NT
Albumin 5%	$\geq 2.8/\geq 2.8$	NT	NT
Fibrinogen	2.1	Ineffective (定性)	≥ 3.5

数値はウェスタンブロットによる Non-detectable endpoint法によって求めた総Log₁₀値。

NT: Not tested

領域で考慮すべきはvCJDであり、スクレイピーとvCJDではその原因プリオン蛋白の性状が異なる。したがって、製造工程評価で使用したプリオン蛋白の由来とその性状の違い、評価手法も注意が必要である。プリオン蛋白除去能力の評価はWB法が一般的に採用されるが、WB法は蛋白を検出する手法であって感染性を検出するものではない。また、動物実験に比べて検出感度も低い。実際に、WB法で検出限界以下のサンプルにおいて動物実験では感染性が認められる知見をこれまでに得ている⁷⁾。このことから、プリオンを対象とした評価において、目標とする数値の妥当性やとるべき安全係数について慎重な議論が必要であり、得られた数値(除去指数)だけで安全性を判断するのは適切ではないと考えられる。

今後、私たちを取り巻く食料・医療はさまざまな形で変化・多様化して行く事が予想される。日本におけるプリオン問題は、行政を始め多くの関係機関の努力により、食品由来の感染リスクは、極めて低いレベルにまで到達した。今後の医療分野の発展を踏まえて次に検討すべき課題は、バイオ医薬品における安全対策であり、その研究が求められるであろう。バイオ医薬品は安全であることは当然のことであるが、その安全を担保するためには複合的で地道な研究を継続する以外にないといえる。

謝 辞

本研究の一部は大阪大学微生物病研究所、酪農学園大学獣医学群、米国赤十字、日本血液製剤機構(旧ベネシス)間の共同研究として実施された。また、本研究の一部は厚生労働省科学研究として実施された。柚木幹弘は日本血液製剤機構の職員である。

文 献

- 1) BSEに関する情報.[cited 29 th June 2013]; Available from : http://www.fsc.go.jp/sonota/bse/bse_kiso_1305.pdf
- 2) BSE situation in the world and annual incidence rate. . [cited 29th June 2013]; Available from : <http://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/bse-specific-data/cases-in-imported-animals-only/>
- 3) 我が国のBSEステータス認定について.[cited 29th June 2013]; Available from : http://www.maff.go.jp/j/syuan/douei/bse/b_status/
- 4) Robakis N, Devine-Gage EA, Jenkins EC, Kascsak RJ, Brown WT, Krawczun MS, Silverman WP. Localization of a human gene homologous to the PrP gene on the p ARM of chromosome 20 and detection of PrP-related antigens in normal human brain. BBRC, 1986. **140**(2): p. 758-765.
- 5) Sajani G, Silva CJ, Ramos A, Pastrana MA, Onisko BC, Erickson ML, Antaki EM, Dynin I, Vázquez-Fernández E, Sigurdson CJ, Carter JM, Requena JR. PK-sensitive PrP^{Sc} Is Infectious and Shares Basic Structural Features with PK-resistant PrP^{Sc}. PLoSOne Pathogens, 2012. **8**(3): p. e1002547.
- 6) Silveira JR, Raymond GJ, Hughson AG, Race RE, Sim VL, Hayes SF, Caughey B. The most infectious prion protein particles. Nature, 2005. **437**: p. 257-261.
- 7) Yunoki M, Tanaka H, Urayama T, Kanai Y, Nishida A, Yoshikawa M, Ohkubo Y, Kawabata Y, Hagiwara K, Ikuta K. Infectious prion protein in the filtrate even after 15nm filtration. Biologicals, 2010. **38**: p. 311-313.
- 8) vCJD cases Worldwide.[cited 29h June 2013]; Available from : <http://www.eurocjd.ed.ac.uk/surveillance%20data%204.htm>
- 9) VARIANT CREUTZFELDT-JAKOB DISEASE CURRENT DATA (JUNE 2013).[cited 29th June 2013]; Available from : <http://www.cjd.ed.ac.uk/documents/worldfigs.pdf>
- 10) First case of vCJD reported in a Japanese patient. Euro-surveillance. 10 February 2005 ; **10**(6).[cited 29th June 2013]; Available from : <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=2640>
- 11) TRANSFUSION MEDICINE EPIDEMIOLOGY REVIEW (TMER).[cited 29th June 2013]; Available from : <http://www.cjd.ed.ac.uk/TMER/TMER.htm>
- 12) Tables on Tissue Infectivity Distribution in Transmissible Spongiform Encephalopathies Updated 2010, WHO/EMP/QSM/2010.1.[cited 29th June 2013]; Available from : <http://www.who.int/bloodproducts/tablestissueinfectivity.pdf>
- 13) Peden A, McCordle L, Head MW, Love S, Ward HJ, Cousens SN, Keeling DM, Millar CM, Hill FG, Ironside JW. Variant CJD infection in the spleen of a neurologically asymptomatic UK adult patient with haemophilia. Haemophilia, 2010. **16**(2): p. 296-304.
- 14) 萩原健一、山河芳夫、花田賢太郎、ヒト・プリオン病—感染症としての変遷と新たな課題. ウイルス. **59**(2): p.155-166.
- 15) 厚生労働省科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業「プリオン病及び遅発性ウイルス感染症に関する調査研究班」, ed. プリオン病と遅発性ウイルス感染症. 医原性クロイツフェルト・ヤコブ病, ed. 児玉南海雄、齋藤延人、秋野公造、太組一朗. 金原出版. 150-159, 2010.
- 16) 厚生労働省科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業「プリオン病及び遅発性ウイルス感染症に関する調査研究班」, ed. プリオン病と遅発性ウイルス感染症. 日本におけるヒト・プリオン病のサーベイランスと疫学的実態, ed. 山田正仁、篠原もえ子、浜口毅、野崎一朗、坂井

- 健二. 金原出版. 16-21, 2010.
- 17) 英国渡航に由来するvCJD感染リスクの評価と献血制限のあり方について.[cited 29th June 2013]; Available from : <http://www.mhlw.go.jp/shingi/2009/12/dl/s1210-8o.pdf>
 - 18) vCJD cases Worldwide.[cited 29th June 2013]; Available from : <http://www.eurocjd.ed.ac.uk/surveillance%20data%204.htm>.
 - 19) 厚生労働省関係牛海綿状脳症対策特別措置法施行規則の一部を改正する省令について(平成25年6月3日付け食安発0603第5号食品安全部長通知).[cited 1st July, 2013]; Available from : http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/syoku-anzen/gyousei/dl/130603_1.pdf.
 - 20) ブリオン評価書牛海綿状脳症(BSE)対策の見直しに係る食品健康影響評価②.[cited 29th June 2013]; Available from : http://www.fsc.go.jp/sonota/bse/bse_hyoka_1305.pdf
 - 21) BSEに関する情報.[cited 29th June 2013]; Available from : <http://www.fsc.go.jp/sonota/bse1601.html>
 - 22) 政策について－健康・医療、牛海綿状脳症(BSE)について.[cited 29th June 2013]; Available from : http://www.mhlw.go.jp/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/bse/index.html
 - 23) ウシ由来物を用いた医薬品等に関する調査依頼について, 厚生省薬務局審査課・薬務局医療機器開発課.
 - 24) ウシ等由来物を原料として製造される医薬品等の品質及び安全性確保について, 厚生省医薬安全課長.
 - 25) CHMP position statement on Creutzfeldt-Jakob disease and plasma-derived and urine-derived medicinal products. EMEA/CPMP/BWP/2879/02/rev 2.[cited 29th June 2013]; Available from : http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Position_statement/2011/06/WC500108071.pdf.
 - 26) Concept Paper on the Need To Update the CHMP Position Statement on CJD and Plasma-Derived and Urine-Derived Medicinal Products. EMEA/CHMP/BWP/253246/2009. 23 July 2009.[cited 29th June 2013]; Available from : http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003742.pdf
 - 27) CHMP/CAT position statement on Creutzfeldt-Jakob disease and advanced therapy medicinal products. Draft, EMEA/CHMP/CAT/BWP/353632/2010.[cited 29th June 2013]; Available from : http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2010/07/WC500095069.pdf
 - 28) A 2010 Update of the Draft Quantitative Risk Assessment of vCJD Risk Potentially Associated with the Use of Human Plasma-Derived Factor VIII Manufactured Under United States(US) License From Plasma Collected in the US. October 6, 2010. Center for Biologics Evaluation and Research US Food and Drug Administration. [cited 29th June 2013]; Available from : <http://www.fda.gov/downloads/AdvisoryCommittees/CommitteesMeetingMaterials/BloodVaccinesandOtherBiologics/TransmissibleSpongiformEncephalopathiesAdvisoryCommittee/UCM231018.pdf>
 - 29) ウシ等由来物及び人由来物を原料として製造される医薬品、医療器具等の品質及び安全性確保の強化について, 厚生労働省医薬局長.
 - 30) Cervenakova L, Yakovleva O, McKenzie C, Kolchinsky S, McShane L, Drohan WN, Brown P. Similar levels of infectivity in the blood of mice infected with human-derived vCJD and GSS strains of transmissible spongiform encephalopathy. *Transfusion*, 2003. **43** : p. 1687-1694.
 - 31) 献血をご遠慮いただく場合.[cited 29th June 2013]; Available from : <http://www.jrc.or.jp/donation/refrain/detail/detail09.html>
 - 32) Informational Issue Summary, FDA's Currently-Recommended Policies to Reduce the Possible Risk of Transmission of Creutzfeldt-Jakob Disease (CJD) and Variant Creutzfeldt-Jakob Disease (vCJD) by Blood and Blood Products Transmissible Spongiform Encephalopathies Advisory Committee 22nd Meeting October 28-29, 2010. [cited 29th June 2013]; Available from : <http://www.fda.gov/downloads/AdvisoryCommittees/CommitteesMeetingMaterials/BloodVaccinesandOtherBiologics/TransmissibleSpongiformEncephalopathiesAdvisoryCommittee/UCM231179.pdf>
 - 33) Yunoki M, Urayama T, Ikuta K. Possible removal of prion agents from blood products during the manufacturing process. *Future Virol*, 2006. **1** (5): p. 659-674. Corrigenda in : *Future Virol*. 2007 ; **2** (1): 117.
 - 34) Yunoki M, Tanaka H, Urayama T, Hattori S, Ohtani M, Narita Y, Kawabata Y, Miyatake Y, Nanjo A, Iwao E, Morita M, Wilson E, MacLean C, Ikuta K. Prion removal by nanofiltration under different experimental conditions. *Biologicals*, 2008. **36** : p. 27-36.
 - 35) Yunoki M, Hagiwara K, Ikuta K. TSE removal by filtration. 2011 PDA European Virus & TSE Safety Forum. 2011. Barcelona, Spain., 2011.
 - 36) 久保純、上平崇、大久保祐士、坂井薫、ラリサセルベナコバ、柚木幹弘、萩原克郎、生田和良、バイオ医薬品の製造工程におけるマウス馴化型vCJD株とハムスター馴化型Scrapie株の挙動 第60回日本ウイルス学会学術集会プログラム・抄録集, p. 457, 2012.
 - 37) Heger A. Optimization studies for the removal of prion infectivity by affinity ligand chromatography during octaplasLG manufacturing. 2013 PDA European Virus & TSE Safety Forum. 2013. Berlin, Germany., 2013.
 - 38) 柚木幹弘、萩原克郎、生田和良、バイオ医薬品におけるブリオンの問題－ヒト赤血球を原料とする人工酸素運搬体をめぐる問題－. *人工血液*, **8** : p. 142-150, 2010.