

総 説

変異型クロイツフェルト・ヤコブ病からの血液供給の保護 —Leukotrap アフィニティープリオン除去フィルターは 赤血球濃厚液から感染性プリオンを除去する—

Samuel Sowemimo-Coker • Fabiola Andrade • Susan Pesci

Pall Medical, Pall Corporation, Port Washington, New York, USA

Protecting the Blood Supply from Variant Creutzfeldt-Jakob Disease —Leukotrap Affinity Prion Reduction Filter Removes Infectious Prions from Red Cell Concentrates—

Samuel O. Sowemimo-Coker, Fabiola Andrade and Susan Pesci

Pall Medical, Pall Corporation, Port Washington, New York, USA

Summary Prion diseases are fatal neurodegenerative diseases that affect both humans and animals including scrapie in sheep, bovine spongiform encephalopathy (BSE) in cattle, and Creutzfeldt-Jakob Disease (CJD) and its variant (vCJD) in humans. Two recent probable cases of transmission of a variant of human Creutzfeldt-Jakob Disease (vCJD) through blood transfusion suggest that the disease can be transmitted through transfusion of blood products from asymptomatic blood donors. We evaluated the use of the Pall Leukotrap Affinity Prion Reduction Filter (LAPRF), a new leukocyte reduction filter for the removal of infectious prion (PrP^{Sc}) which is a marker of prion infectivity from red cell concentrates (RCC).

A pool of 500 ml of whole blood was collected into either CPD or CPDA-1 anticoagulant from 263 K-strain scrapie-infected hamsters, processed into 300 ml of non-leukoreduced red cell concentrate (NL-RCC), and then passed through the Pall LAPRF. Pre and postfiltration samples were tested for proteinase K resistant infectious prion (PrP^{res}) by Western blot and for infectivity by inoculation of healthy hamsters.

Ten milliliters (10 ml) of 10% (w/v) scrapie-infected brain homogenates containing infectious prions were added to 270 ml of human RCC and then filtered. Levels of PrP^{res} were determined by an enhanced chemiluminescent Western blot assay.

In the exogenous (spike) study, the level of PrP^{res} was significantly reduced in the postfiltration samples by about $2.9 \pm 0.7 \log_{10}$, $p < 0.05$ ($n=48$) using Western blot assay. In the endogenous infectivity study, the prefiltered RCC transmitted disease to 4 of the 187 control hamsters, whereas the postfiltered RCC did not transmit disease to any of 413 animals ($p=0.015$). A barely visible prefiltration PrP^{Sc} Western blot signal was reduced below the level of detection in the postfiltration sample. The prion filter also significantly reduced the concentration of leukocytes in the RCC by about 4 logs, $p < 0.05$.

The new Pall LAPRF was effective in significantly reducing infectivity and levels of PrP^{res} from RCC. The use of this type of filter should reduce the risk of vCJD transmission through blood transfusion.

Key words: variant Creutzfeldt-Jakob Disease, Pall Leukotrap Affinity Prion Reduction Filter, infectious prion, red cell concentrate

1. 緒 言

プリオン病（伝染性海綿状脳症，BSE）は，ヒトでも動物でもみられる致命的神経変性疾患で，プリオンと呼ばれる感染性蛋白によるものと考えられている¹⁻³⁾。Protein-only 仮説によれば，プリオン (PrP) は主として宿主由来糖蛋白の異常なアイソフ

ォームで構成されている³⁾。疾患と関連があるこのアイソフォーム (PrP^{Sc}) は，正常な細胞内前駆体 PrP^C から，コンフォメーション変化を伴う翻訳後プロセスにより生じる。PrP^{Sc} は生化学的に，プロテナーゼ消化に耐性で非変性条件の界面活性剤に不溶であることにより PrP^C と区別できる⁴⁻⁶⁾。また，PrP^{Sc} は主として凝集塊として存在するが，PrP^C はモノマ

一である⁵⁾。プリオン病としては、ヒツジのスクレイピー、ウシのBSE、ヒトのCJDとゲルストマン・シュトロイスラー・シャインカ病(GSS)およびシカの慢性消耗病がある⁷⁾。これらの疾患では、特徴的所見として脳の機能低下がみられるほか、プロテアーゼに耐性の宿主由来異常蛋白PrP^{Sc}が脳と末梢組織両方に蓄積する^{8~10)}。伝播は、感染組織や細胞成分の接種により、また場合によってはそれらを経口摂取することにより、哺乳類間で起こり得る¹¹⁾。古典型CJDでは医療用具や組織、臓器移植によるヒトからヒトへの感染が認められているが^{12,13)}、古典型CJDで血液や血液製剤の投与によるものであると確認された症例はまだない^{14~16)}。変異型CJD(vCJD)は、BSE感染ウシの組織または肉製品を摂取したことにより、1995年にイギリスで発生した。この変異型CJDでは脾臓、扁桃、虫垂などのリンパ細網系臓器(いずれも循環血との間で相互作用がある)で異常PrP^{Sc}と感染性の存在が確認されており、リンパ組織を著明に侵襲することが示されている^{17~19)}。扁桃にPrP^{Sc}と感染性が存在するのは、ヒトプリオン病の中でvCJDだけである。興味深いことに、孤発性CJD患者の脾臓と筋からも相対的に少ないもののPrP^{Sc}が検出されており²⁰⁾、この事実とマウスとハムスターの血中から、少量ではあるがCJDの感染性病原体が検出されている²¹⁾ことから、孤発性CJDも輸血によって伝播する可能性があることが示唆されている。

プリオン病の実験動物モデルを用いた研究で、感染性病原体への曝露後すぐにリンパ組織の侵襲が生じ、潜伏期間中続くと考えられることが示されている²²⁾。プリオンは株によって生物学的特性が異なることが示されているので、vCJD株も複製のための親和性が細網内皮系で高いと考えられる。古典型CJDとvCJDでリンパ臓器侵襲度と感染性プリオン分布にこのような差がみられ、vCJDの方が古典型CJDより感染性が強いことが示唆されていること¹²⁾から、輸血によるvCJD伝播が大きく懸念されるようになっている。ヒトvCJDの最初の症例が1995年に確認されて以来²³⁾、全世界で確認された症例は168例あり、そのほとんど(157例)がイギリスの症例である^{24,25)}。最近の動物データと^{26~29)}、血液製剤の投与によりvCJDに感染した疑いがある症例が報告されたことから^{30,31)}、輸血や血液製剤の投与によるvCJD病原体伝播が懸念されている。

TSEの実験的モデルを用いたいくつかの報告で、

感染性プリオンのほとんどが白血球に随伴してみられ、血漿中の非細胞成分がもつ感染性がそれより低いことが示唆されている^{28,29)}。血小板には有意な量の感染性は認められていない^{32,33)}。齧歯類を用いたこれら初期の研究から、血液がもつと予想される感染性は本症の発症前段階では約2~20 ID₅₀/mlであり、臨床症状発現時にはその約10倍の200 ID₅₀/mlに上昇する(血液を脳内投与した場合、脳内投与では、本症の伝播効果が静脈内投与の約7~10倍高い)^{34~36)}。

本症の症状がない献血候補者の血液中からPrP^{Sc}を検出するための診断検査は現時点では存在しないので、イギリスと米国では、輸血によるvCJD伝播リスクを抑えるため、数項目の予防的対策が導入されている(イギリスにおける普遍的白血球除去の実施、献血制限など)^{37,38)}。血液中に存在する感染性の一部が現在の標準的な白血球除去フィルターで除去されない可能性があることが示されている³⁹⁾。本研究では、プリオン除去性をもつ新しい白血球除去フィルターLAPRFによる、内因性、外因性にPrP^{Sc}で汚染されたRCC製剤からの感染性PrP除去について述べる。LAPRFは、標準的な白血球除去フィルターに用いられている現行のポリエステル繊維の表面を修飾することにより、白血球とPrP^{Sc}の両方が除去されるよう特に設計された製品である^{40~42)}。

2. 材料と方法

2.1 263 K プリオンを用いた外因性(スパイク)

試験—ヒトRCCからの感染性病原体除去

離乳直後のシリアンハムスター(LVG, Golden Syrian hamsters, Charles River, MA, USA)に、スクレイピー263 K株に感染したハムスターの1%(w/v)高力価脳ホモジネートを頭蓋内接種した。動物がスクレイピーを臨床的に発症した70日後、これらの動物を屠殺し、脳を取り出してリン酸緩衝生理食塩液(PBS)に10%で浮遊させ(pH 7.4)、Ultraturrax T 25 ホモジナイザーでホモジナイズした。脳ホモジネートはBeckman GPR 卓上遠心器(Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA)により3,000 g、室温で3分間遠心した。上清を採取し、以後の試験に用いた。

2.2 ヒトRCCへのSIHBHスパイク

全血(1単位450±45 ml)をAABB認定血液銀行から購入するか、または社内で健常ボランティアから採取した(Pall Medical, Blood Donor Program)。

各単位は CPD 抗凝固剤が 63 ml 入った血液バッグに採取された。これらの製剤について、Pall WBF 2 白血球除去フィルターを用い、メーカーの使用説明書 (Pall Medical, East Hills, NY, USA) に従って白血球除去操作を行った。白血球除去後の全血を、採血後 8 時間以内に処理して RCC とした。すなわち、白血球除去後の全血を 5,000 *g* で 5 分間遠心し (Sorvall RC 3 C 遠心器, Kendro Lab Products, Asheville, NC, USA), 上清 (血漿) を除去した。残った RCC を、ヘマトクリットが 55~60% となるよう血漿に再浮遊させるか、または SAG-M 添加剤溶液 100 ml に再浮遊させた。RCC 浮遊液の重量を分析天秤 (Sartorius, AG, Germany) で測定し、密度 (SAG-M 添加剤溶液に浮遊させた場合 1.07 g/ml, CPD を用いた場合 1.08 g/ml) から容量を算出した。調製した RCC は、血液銀行の冷蔵庫で 4°C で一晩保存した。試験日に RCC を冷蔵庫から取り出し、10% (w/v) スクレイピー感染ハムスター脳ホモジネート (scrapie infected hamster brain homogenate, SIHBH) の最終濃度が 0.36% (v/v) となるよう、RCC 270 ml に対して SIHBH を 10 ml 添加した。RCC と脳ホモジネートが十分混合されるよう、各単位を約 2 分間、15~20 回反転させて混合した。ろ過前の RCC 中の PrP^{res} 量を分析するため、RCC 20 ml をウエスタンブロットアッセイ用 50 ml プラスチック試験管に採取した。残りの RCC が入った血液バッグに LAPRF を接続し、室温 (22±2°C), ろ過落差 76 cm でろ過した。ろ過前後の試料中の PrP^{res} 濃度を、下記のウエスタンブロットアッセイにより測定した。

2.3 ウエスタンブロットアッセイ

PrP^{Sc} を、高速遠心法と 4% サルコシルリン酸緩衝生理食塩液溶液およびリンタンングステン酸 (PTA, 170 mM 塩化マグネシウム溶液, pH 7.4) を用いる方法で抽出、濃縮した¹⁷⁾。この方法では、RCC 2.5 ml を最初に 4% サルコシル 6 ml と混合し、37°C, 10 分間インキュベートして赤血球を溶解させ、細胞膜を可溶化して結合 PrP^{Sc} を遊離させた。インキュベート後、4% (w/v) PTA 溶液を 700 μ l 添加し、さらに 30 分間インキュベートして PrP^{Sc} を凝集させることにより、RCC 試料から回収しやすくした。この赤血球溶解液を 19,600 *g* で 60 分間または 14,300 *g* で 90 分間、室温で遠心した。上清を除去して廃棄し、PrP^{Sc} ペレットを 0.1% サルコシル添加リン酸緩衝生理食塩液 (PBS-S) に再懸濁して洗浄した後、

19,600 *g* で 60 分間遠心した。上清を除去した後のペレットを PBS-S 100 μ l に再懸濁した。各試料から 40 μ l を取り、50 μ g/ml プロテイナーゼ K (PK) で 37°C, 60 分間処理して、混在している PrP 以外の蛋白を消化した。各試料 37.5 μ l に 4×SDS-PAGE 試料緩衝液を 12.5 μ l 添加し、70°C で 10 分間加熱して消化を終了させた。SDS ゲル電気泳動とウエスタンブロットは、次の方法で行った。

すなわち、これら試料 20 μ l (試料 15 μ l + 試料緩衝液 5 μ l) を 4~12% SDS-Bis-Tris ポリアクリルアミドゲルにロードし、NuPage 泳動緩衝液 (MES, Novex-Invitrogen San Diego, CA, USA) 中で 200 V の定電圧により 35 分間泳動した。分離された蛋白を、Tris-グリシン転写緩衝液中で、125 mA または 25 V で 60 分間、Immobilon PVDF メンブレン (Millipore, Billerica, MA, USA) に転写した。転写後のメンブレンを 5% 脱脂乳リン酸緩衝生理食塩液 (0.2% Tween 20 添加) (PBST) 溶液に 60 分間浸漬した後、ハイブリダイゼーションバッグ内で、3 F4 モノクローナル抗体 (Signet Laboratories, Inc., Dedham, MA, USA) 5,000 倍希釈液 (ブロッキング緩衝液 (PBST) で最終濃度 0.2 μ g/ml に希釈) とともに、静かに攪拌しながら室温で 2.5 時間インキュベートした。このメンブレンを PBST で 5 分ずつ 4 回洗浄した後、ブロッキング溶液で 2,000 倍希釈した西洋ワサビペルオキシダーゼ結合ヤギ抗マウス IgG (Fab 特異的, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) とともに室温で 2 時間インキュベートした。このように 2 次抗体とインキュベートした後、メンブレンを PBST で 5 分ずつ 4 回洗浄し、脱イオン水で短時間洗浄した。蛋白は、化学発光基質 SuperSignal West Dura Extended Signal (使用直前に 1:1 で混合) をメーカーのマニュアル記載通りに使用して検出した。シグナルは UVP-Chemi-Doc-It ポータブル暗室 (UVP, Upland, CA, USA) 内で現像し、Hamamatsu CCD カメラ (UVP) で検出した。ウエスタンブロット画像の各バンドの密度を、1D ゲル解析用 LabWorks™ version 4.8 (UVP) デンシトメトリープログラムで解析した。

3. 内因性感染性試験：スクレイピー感染ハムスター由来赤血球濃厚液

離乳直後の正常シリアンハムスター 300 匹に、10% (w/v) 脳ホモジネートリン酸緩衝生理食塩液溶液

(力価: $9.2 \log_{10} \text{ID}_{50}/\text{ml}$) を $40 \mu\text{l}$ ずつ頭蓋内接種した。接種から約 65~80 日後の臨床症状 (不安定歩行および頭の上下動) 発現時, 血液試料を CPD または CPDA-1 抗凝固剤中に採取した。ハムスター 100 匹から全血計 $450 \pm 45 \text{ ml}$ (1 匹当たり約 4~5 ml) を CPD または CPDA-1 抗凝固剤 63 ml 中に採取し, $5,000 g$ で 25 分遠心して RCC 1 単位 (200~300 ml) を調製した。この非白血球除去 RCC を, 欧州連合理事会ガイドラインのヒト RCC 調製手順と同様の方法で上清 (血漿) によりヘマトクリット 55~60% に調整するか, または SAGM 添加剤溶液 100 ml に再浮遊させた。このスクレイピー感染非白血球除去 RCC 1 単位 (280~300 ml) が入った血液バッグに LAPRF を接続し, ろ過落差を 76 cm として室温でろ過を行った。RCC 中の白血球数をろ過前後に Cell Dyn 3,200 血液分析計 (Abbott Diagnostics) とフローサイトメトリー法で測定した⁴³⁾。ろ過前後の RCC 試料 $40 \mu\text{l}$ を, 各投与条件 (対照非ろ過 RCC 群: 183 匹, ろ過 RCC 群: 413 匹) で正常シリアンハムスター脳の両側に頭蓋内注射した。投与後の動物を飼育し, スクレイピーの臨床徴候 (頭の上下動, 不安定歩行, 歩行不能など) の有無を観察した。スクレイピーの臨床徴候を発現した動物は屠殺し, 全動物 (生存動物を含む) の脳について, PrP^{res} の有無を 3F4 モノクローナル抗体を用いたウエスタンブロットアッセイで調べた。

4. 統計学的解析

ろ過 RCC と非ろ過 RCC の PrP^{res} 量の差 (対数減少値) を, ノンパラメトリック統計量である Kruskal Wallis で検定し, $p < 0.05$ の場合に有意とした。平均値, 中央値, 標準偏差を統計学ソフトウェア Prism (GraphPad Inc., San Diego, CA, USA) で算出した。ろ過 RCC 投与群と非ろ過 RCC 投与群の臨床転帰の差およびろ過 RCC 投与後の動物がスクレイピーを発症する相対リスクを Fisher 直接法で解析し, $p < 0.05$ の場合を有意とした。

5. 結 果

5.1 外因性感染性 (スパイク) 試験—ウエスタンブロット

PrP^{Sc} 除去効率を評価し除去プロセスを標準化するため, 高力価の PrP^{Sc} を含有する脳ホモジネートをヒト RCC に添加した。ろ過前後の試料中の抽出プリオンを PK 酵素で処理した結果, 非 PrP 蛋白は完全に消化され, PrP^{33-35} は PrP^{27-30} (PK 耐性分画, 分子量 30~27 kD の PrP^{res}) に変化した。ろ過前試料では非常に強い PrP^{res} シグナルがみられたが, このシグナルは LAPRF ろ過後著明に減少した (図 1)。RCC 中の PrP^{res} 量は, RCC 1 単位中 $9.4 \pm 0.2 \log$ から $6.5 \pm 0.7 \log$ に, $2.9 \pm 0.7 \log$ 減少した ($n=48$, $p < 0.05$) (図 1)。

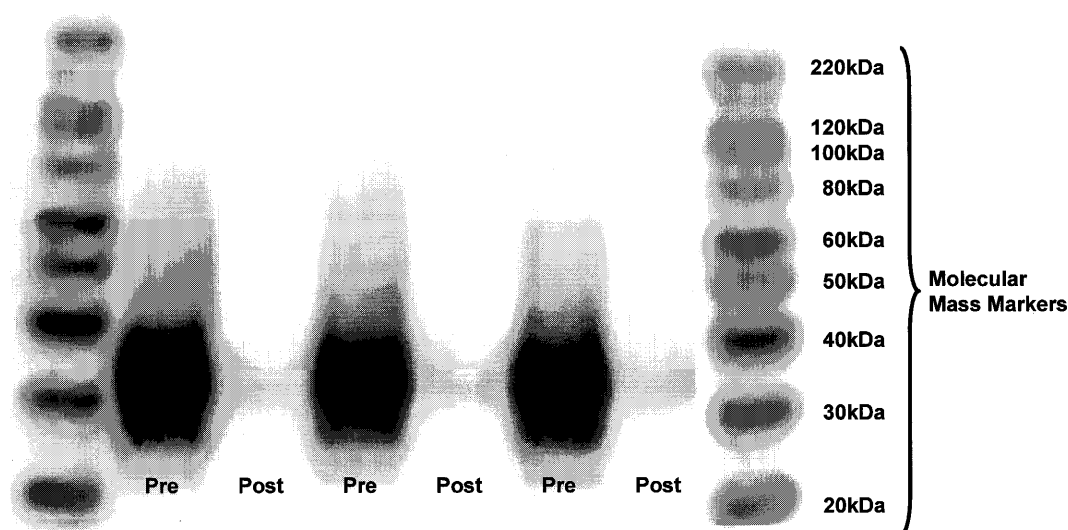


図 1 外因性 (スパイク) 試験: LAPRF によるろ過前後の RCC 中の PrP^{res} のウエスタンブロット

LAPRF ろ過後の PrP^{res} 濃度の著明な減少がみられた。全てのサンプルは非プリオン蛋白および PrP^{C} を分解し, PrP^{33-35} を, 感染性に関連する PrP^{Sc} に特異的な PrP^{27-30} に変換するために, プロテイナーゼ K 酵素で処理した。

注: Pre=ろ過前; Post=ろ過後 signal.

5.2 内因性感染性—ウエスタンブロットおよび感染性アッセイ

内因性感染性試験は、スクレイピー感染により自然に生じた白血球に随伴する感染性と可溶性の感染性両方に対するフィルターの除去効果を評価する目的でデザインした。内因性感染性試験のプリオンは感染性病原体としての適切な立体配置を示すので、この試験は脳ホモジネートを用いたスパイク試験とは異なる。

スクレイピー感染ハムスター由来 RCC のろ過前後における PrP^{res} 量は、高速遠心による濃縮操作後も非常に少なく、ウエスタンブロットでごく弱いシグナルしか認められなかった。ろ過 RCC が投与されたハムスターの中に、120 日後においてスクレイピーの臨床徴候を発現した動物はなかった。これらの動物はさらに長期の潜伏期間を考慮して 280 日間観察を続けている。非ろ過 RCC 投与群のスクレイピー発現動物数 (4/187) と LAPRF ろ過 RCC 投与群のスクレイピー発現動物数 (0/413) は統計学的有意差を示した ($p=0.015$)。

5.3 白血球除去

スクレイピー感染ハムスター血から調製した RCC を用い、プリオン除去だけでなく LAPRF の白血球除去効率も評価した。RCC 中の白血球数は、1 単位当たり $1.07 \pm 0.08 \times 10^9$ cells から、LAPRF 処理により $3.39 \pm 1.95 \times 10^5$ cells まで有意に減少した ($n=3$) ($p<0.05$)。

6. 考 察

最近、輸血による vCJD 感染が疑われた症例が 2 例報告されたことは、vCJD の病原体が血液製剤投与患者に伝播し得ることを裏付けている^{30,31}。1 例目では、献血者は献血から 3 年後まで症状を発現しなかったことから、血液は vCJD が臨床的に確認できるようになるはるか以前から感染性をもつと考えられる。2 例目の受血者では vCJD の症状が発現しなかったが (無関係の理由により死亡)、脾臓とリンパ節からプロテイナーゼ K 耐性プリオン (PrP^{res}) が検出された。この症例は PRNP (プリオン) 遺伝子のコドン 129 がヘテロ接合型 (メチオニン/バリオン) であったので、血液による vCJD 感染の感受性がメチオニンホモ接合型 PRNP 遺伝子型に限られないことを示している。イギリスではこの遺伝子型サブグループが最も多いので³¹、これらの所見は、特にイギリスにおける vCJD の今後の疫学的推定と監視に大きな意味がある。また、

この遺伝子型サブグループで BSE による 1 次感染後や輸血による 2 次感染後の潜伏期間が異なる可能性も考えられる³¹。

現在、vCJD 病原体をもっている可能性がある献血候補者を識別できる、生きた候補者に適用可能なスクリーニング検査はない。TSE の感染性に関連がある主な細胞が白血球であることが確認されているので^{28,29}、血液からの白血球除去は、vCJD 伝播リスクを最小限に抑えるための最初の対策として賢明なものであり、そのような対策が必要である (輸血による感染例 2 例の治療に用いられた RCC は白血球が除去されていなかった)。しかしながら、最近の報告で、現在の世代の白血球除去フィルターが内因性感染血の総 TSE 感染性に対して 42% の除去効果しか示さなかったとされているので³⁹、現在の標準的な白血球除去では、輸血による vCJD 伝播の阻止効果は完全ではないと考えられる。

本研究は、LAPRF について、RCC 中のスクレイピー病原体除去能を明らかにする目的でデザインした。Pall LAPRF は新世代白血球除去フィルターで、白血球除去機能と感染性プリオン濃度の著明な低下効果をあわせもっている。スクレイピーはヒツジの進行性神経変性疾患で、リンパ細網組織と中枢神経系 (CNS) で複製する感染性プリオンが原因である。スクレイピーは主としてヒツジにみられるが、ハムスターにも伝播して、脳に海綿状変性、星状細胞グリオシスおよびアミロイド斑形成を特徴とする病変を誘発する。

本研究では、病原体としてハムスター適応株 (HSc) である 263 K を用いた。スパイク試験ではほとんどの場合、ヒト由来材料、あるいはせめて vCJD 患者由来血液試料を用いた方がよいと考えられるが、vCJD 患者の脳組織を得ることは非常に難しく、ほとんど不可能であり、血液の内因性感染性は、この種のバリデーション試験に使用できるほどには明らかになっていない。従って、プリオンクリアランスに関するほとんどの研究には感染ハムスター脳ホモジネート由来スクレイピー 263 K 株が用いられており^{41~43}、本研究でもこの株を PrP^{Sc} の供給源として用いた。

RCC 中の感染性プリオン量は、ウエスタンブロットアッセイで測定した。この方法は、感染性 PrP^{Sc} と非感染性 PrP^C のプロテイナーゼ K 消化感受性の差に基づいている。PrP^{Sc} をプロテイナーゼ K 処理すると、それより小さい、アミノ酸約 142 個からなるプ

ロテアーゼ耐性分子が生じたが (PrP 27-30 と表記), 同じ条件で PrP^c は完全に加水分解された。

本研究でウェスタンブロットアッセイにより得られたデータから, スクレイピー感染脳ホモジネートにより感染性プリオンが外因性にスパイクされた RCC 中の感染性 PrP^{sc} 量が, LAPRF により約 $2.9 \pm 0.7 \log$ (平均 $\pm$ 標準偏差) (平均でほぼ 99.99%) 有意に減少したことが示された。

しかしながら, スクレイピー感染脳材料を用いることには限界があり, スパイク材料が *in vivo* における感染性プリオンの性質を真の意味で反映していない可能性, および血液製剤投与について特にどのような意義があるかが懸念されることから, このフィルターの感染性プリオン除去効果を, スクレイピー陽性ハムスター血液から調製した RCC も用いて評価した。この内因性感染性試験の結果, LAPRF は内因性に産生された感染性プリオン濃度をウェスタンブロットアッセイの検出限界を十分下回るまで減少させる効果を有することが示された。ろ過前後の RCC 中の PrP^{sc} に対するウェスタンブロットのシグナルは非常に弱く, かなりじて視認できる程度であったが, 白血球数も約 99.99%, 有意に減少することが確認できた。このフィルターは白血球と感染性プリオン (白血球に随伴するものおよび随伴しないもの) が除去されるよう設計されているので, この結果は予想外ではない。LAPRF のプリオン病伝播阻止効果をさらに実証する目的で, スクレイピー陽性ハムスターを用いた試験のろ過 RCC と非ろ過 RCC を正常ハムスターに脳内注射した。その結果, ろ過 RCC を投与したハムスター 413 匹全て (100%) で接種後 120 日間にわたりスクレイピーの臨床徴候が発現しなかったことから, RCC を LAPRF でろ過することによるスクレイピーの伝播阻止が示された。LAPRF 処理群と異なり, 非ろ過 RCC 投与群では 4 匹でスクレイピーの臨床徴候が発現した。スクレイピーは潜伏期間が長いので, 残りのハムスター (対照群と処理群両方) については, さらに 280 日間にわたり観察を続けている。本研究は以前の知見, すなわち RCC をプリオン除去フィルターでろ過することにより血中の感染性が有意に減少し, プリオン除去フィルターでろ過した RCC を投与したハムスターでスクレイピーの臨床徴候が発現しなかったという知見^{41,42)}を確認するものである。また, LAPRF で処理した RCC 中の赤血球は, 正常な *in vitro* 特性と *in vivo* 回復性を有することが示されて

いる^{42,44,45)}。

LAPRF は白血球除去効果とプリオン除去効果を単一のデバイスで両立した新世代白血球除去フィルターであり, ヒト vCJD などのプリオン病の輸血による伝播リスクを低下させ, 恐らく排除することにより, 血液供給の安全性向上に寄与すると考えられる。

文 献

- 1) Prusiner SB: Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science* **216**: 136-144, 1982
- 2) Bolton DC, McKinley MP, Prusiner SB: Molecular characteristics of the major scrapie prion protein. *Biochemistry* **23**: 5898-5906, 1984
- 3) Prusiner SB: Prions. *Proc Natl Acad Sci USA* **95**: 13363-13383, 1998
- 4) Bolton DC, McKinley MP, Prusiner SB: Identification of a protein that purifies with the scrapie prion. *Science* **218**: 1309-1311, 1982
- 5) Prusiner SB, McKinley MP, Bowman KA, et al: Scrapie prions aggregate to form amyloid-like birefringent rods. *Cell* **35**: 349-358, 1983
- 6) Riesner D: Biochemistry and structure of PrP^c and PrP^{sc}. *Brit Med Bull* **66**: 21-33, 2003
- 7) Weissmann C, Enari M, Klöhn PC, et al: Transmission of prions. *Proc Natl Acad Sci USA* **99** (Suppl 4): 16378-16383, 2002
- 8) Collins SJ, Lawson VA, Masters CL: Transmissible spongiform encephalopathies. *Lancet* **363** (9402): 51-61, 2004
- 9) Ironside JW, McCardle L, Horsburgh A, et al: Pathological diagnosis of variant Creutzfeldt-Jakob disease. *APMIS* **110**: 79-87, 2002
- 10) Hill AF, Butterworth RJ, Joiner S, et al: Investigation of variant Creutzfeldt-Jakob disease and other prion diseases with tonsil biopsy samples. *Lancet* **353**: 183-189, 1999
- 11) Collinge J: Prion diseases of humans and animals: Their causes and molecular basis. *Annu Rev Neurosci* **24**: 519-520, 2001
- 12) Ironside JW, Head MW: Variant Creutzfeldt-Jakob disease and its transmission by blood. *J Thromb Haemost* **1**: 479-486, 2003
- 13) Bernoulli C, Siegfried J, Baumgartner G, et al: Danger of accidental person-to-person transmission of Creutzfeldt Jakob disease by surgery. *Lancet* **1**: 478-479, 1977
- 14) Esmonde TF, Will RG, Slattey JM, et al: Creutzfeldt-Jakob disease and blood transfusion. *Lancet* **341**: 205-207, 1993
- 15) Wilson K, Code C, Ricketts M: Risk of acquiring Creutzfeldt-Jakob disease from blood transfusion: Systematic review of case-control studies. *Brit Med J* **321**: 17-19, 2000
- 16) Vamvakas EC: Risk of transmission of Creutzfeldt-Jakob disease by transfusion of blood, plasma, and plasma derivatives. *J Clin Apheresis* **14**: 135-143, 1999
- 17) Wadsworth JDF, Joiner S, Hill AF, et al: Tissue distribution of protease resistant prion protein in variant Creutzfeldt-Jakob disease using a highly sensitive im-

- munoblotting assay. *Lancet* **358**: 171-180, 2001
- 18) Bruce ME, McConnell I, Will RG, Ironside JW: Detection of variant Creutzfeldt-Jakob disease infectivity in extraneural tissues. *Lancet* **358**: 208-209, 2001
 - 19) Head MW, Ritchie D, Smith N, et al: Peripheral tissue involvement in sporadic, iatrogenic, and variant Creutzfeldt-Jakob disease: An immunohistochemical, quantitative, and biochemical study. *Am J Pathol* **164** (1): 143-153, 2004
 - 20) Glatzel M, Abela E, Maissen M, Aguzzi A: Extraneural pathologic prion protein in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *N Engl J Med* **349** (19): 1812-1820, 2003
 - 21) Brown P, Cervenakova L, McShane LM, et al: Further studies of blood infectivity in an experimental model of transmissible spongiform encephalopathy, with an explanation of why blood components do not transmit Creutzfeldt-Jakob disease in humans. *Transfusion* **39**: 1169-1178, 1999
 - 22) Weissmann C, Raeber AJ, Montrasio F, et al: Prions and the lymphoreticular system. *Phil Trans R Soc Lond B* **356**: 177-184, 2001
 - 23) Will RG, Ironside JW, Zeidler M, et al: A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK. *Lancet* **347**: 921-925, 1996
 - 24) The National Creutzfeldt-Jakob Disease Surveillance Unit (Updated January 11, 2005, University of Edinburgh, UK). Available from: <http://www.cjd.ed.ac.uk/>
 - 25) Australian Government-Department of Health and Ageing: What is variant Creutzfeldt-Jakob disease (updated December 2004). Available from: <http://www.health.gov.au/internet/wcms/Publishing.nsf/Content/health-pubhlth-strateg-bse-faq.htm>
 - 26) Houston F, Foster JD, Chong A, et al: Transmission of BSE by blood transfusion in sheep. *Lancet* **16**: 999-1000, 2000
 - 27) Hunter N, Foster J, Chong A, et al: Transmission of prion diseases by blood transfusion. *J Gen Virol* **83**: 2897-2905, 2002
 - 28) Brown P, Rowher RG, Dunstan BC, et al: The distribution of infectivity in blood components and plasma derivatives in experimental models of transmissible spongiform encephalopathy. *Transfusion* **38**: 810-816, 1998
 - 29) Cervenakova L, Yakovleva O, McKenzie C, et al: Similar levels of infectivity in the blood of mice infected with human-derived vCJD and GSS strains of transmissible spongiform encephalopathy. *Transfusion* **43**: 1687-1694, 2003
 - 30) Llewelyn CA, Hewitt PE, Knight RSG, et al: Possible transmission of variant Creutzfeldt-Jakob disease by blood transfusion. *Lancet* **363**: 417-421, 2004
 - 31) Peden AH, Head MW, Ritchie DL, et al: Preclinical vCJD after blood transfusion in a *PRNP* codon 129 heterozygous patient. *Lancet* **364**: 527-529, 2004
 - 32) Hermann LM, Davis WC, Knowles DP, et al: Cellular prion protein is expressed on peripheral blood mononuclear cells but not platelets of normal and scrapie infected sheep. *Haematologica* **86**: 146-153, 2001
 - 33) Holada K, Vostal JG, Patrick PW, et al: Scrapie infectivity in hamster blood is not associated with platelets. *J Virol* **76**: 4649-4650, 2002
 - 34) Agence Francaise de Securite Sanitaire des Produits de Sante: Expert group on risk of TSE transmission via blood products. Report December 11, 2000
 - 35) United Kingdom-Department of Health: Risk assessment of exposure to vCJD infectivity in blood and blood products (Updated December 10, 2004). Available from: http://www.dnv.com/binaries/vCJD_Update_Report_tcm-4-74414.pdf
 - 36) Brown P, Cervenakova L, Diringer H: Blood infectivity and the prospects for a diagnostic screening test in Creutzfeldt-Jakob disease. *J Lab Clin Med* **137**: 5-13, 2001
 - 37) United Kingdom Spongiform Encephalopathy Advisory Committee (SEAC) Annual Report 1997-1998. Department of Environment, Food and Rural Affairs, 1998, p. 10. Available from: <http://www.seac.gov.uk/publicats/seacreport.pdf>
 - 38) FDA final guidance: "Revised preventive measures to reduce the possible risk of transmission of Creutzfeldt-Jakob Disease (CJD) and Variant Creutzfeldt-Jakob Disease (vCJD) by blood and blood products." US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Biologics Evaluation and Research (CBER), January 2002
 - 39) Gregori L, McCombie N, Palmer D, et al: Effectiveness of leucoreduction for removal of infectivity of transmissible spongiform encephalopathies from blood. *Lancet* **364**: 529-531, 2004
 - 40) Sowemimo-Coker SO: A filtration technology for removing infectious prions from red cell concentrates. *Biochemist* **27** (4): 29-32, 2005
 - 41) Sowemimo-Coker SO, Kascsak R, Kim A, et al: Removal of exogenous (spiked) and endogenous prion infectivity from red cell concentrates using a new prototype of leukocyte reduction filter. *Transfusion* **45**: 1839-1844, 2005
 - 42) Sowemimo-Coker SO, Pesci S, Andrade F, Kim A: Removal of infectious prions from red cell concentrates with leukotrap affinity prion reduction filter. *Vox Sang* (Submitted)
 - 43) Sowemimo-Coker SO, Kim A, Tribble E, Wenz B: Development and validation of an accurate method for counting low levels of both normal and abnormal leukocytes in leukoreduced blood/blood components. *Transfusion* **38** (Suppl): S23, 11 S, 1998
 - 44) Taylor HL, Whitley PH, Sawyer S, et al: Excellent *in vivo* 42 day red blood cell recovery and low hemolysis using a new filter designed to remove prions. *Transfusion* **45** (Suppl): 184 Abstract S53-040 A, 2005
 - 45) Saunders C, Herbert P, Rowe G, et al: *In-vitro* evaluation of the PALL Leukotrap Affinity Prion Reduction Filter as a secondary device following primary leucoreduction. *Vox Sang* **89** (4): 220-228, 2005