

## 医薬品 研究報告 調査報告書

識別番号・報告回数		1	報告日	第一報入手日	新医薬品等の区分	厚生労働省処理欄
一般的名称	別紙のとおり		研究報告の公表 状況	2005/1/7	研究報告	
販売名(企業名)	別紙のとおり			Chronic Lymphocytic Inflammation Specifies the Organ Tropism of Prions	公表国	
				www.sciencemag.org SCIENCE VOL307 18 January 2005 1107-1110	スイス	
研究報告の概要	(問題点：マウスに異常プリオンを投与し、炎症状態がプリオンの病原性に作用するかどうかを試験したところ、全例で、通常はプリオンが認められない臓器においてプリオンの蓄積が確認された。慢性リンパ球炎症が、この蓄積を可能にしたと考えられた。)					使用上の注意記載状況・ その他参考事項等
	<p>プリオンは典型的に、神経およびリンパ組織に蓄積する。我々は炎症性サイトカインと免疫細胞は、リンパ組織でのプリオン複製に必要となるため、炎症状態がプリオンの病原性に作用するかどうかを調べた。腎、脾、または肝臓に5種類の炎症疾患を持つマウスにプリオンを接種した。全例で、慢性リンパ球炎症によって、通常はプリオンが認められない臓器にプリオンの蓄積が確認された。炎症局所は、一貫してリンホトキシンの増加および<math>\alpha</math>またはPrP(Sc)を発現しているFDC-M1+細胞の異所性誘導に合致していた。これに対して、リンホトキシンの<math>\alpha</math>またはその受容体を欠失したマウスの炎症臓器には、プリオンもプリオン接種に関する感染性も集積しなかった。プリオンの臓器分布を拡大させることにより、慢性炎症は自然および医原性プリオン感染の修飾因子として作用する可能性がある。</p>					使用上の注意記載状況  記載なし
報告企業の意見				今後の対応		
<p>当所のワクチン類では、日本脳炎ワクチンにおいて「マウス脳」を、血漿分画製剤では、乾燥濃縮人活性化プロテインC、乾燥濃縮人血液凝固第IX因子において「マウス由来モノクローナル抗体」を、マウス由来の原材料として使用している。</p> <p>日本脳炎ワクチンに用いるマウスはICR系統の遺伝的欠損が無い健康な幼弱マウスを使用し、飼育期間も4日間と短く、飼料、飼育管理が施されており、異常プリオンの混入は極めて低いと考える。</p> <p>また、血漿分画製剤については、モノクローナル抗体は、マウスハイブリドーマ細胞株を用いて作製され、アフィニティクロマトグラフィー及びウイルス除去膜ろ過工程を経ていることから、プリオンに対する低減効果が期待される。</p> <p>さらに、これまでに当所製品によるCJD感染の報告例はなく、プリオンに対する安全性は高いと考える。</p> <p>プリオンの感染性は種間で異なると考えられることから、他の動物種でも同様のことが言えるのかどうかは明らかではないが、慢性炎症を有するウシ等の動物種で特定危険部位以外の臓器において、プリオンが蓄積している可能性を示唆するもので、関連情報については引き続き注視していく必要があると考える。</p>				今後とも情報収集に努め、本剤の安全性の確保を図っていきたい。		

別紙

一 般 的 名 称	①乾燥日本脳炎ワクチン②日本脳炎ワクチン③乾燥日本脳炎ワクチン④日本脳炎ワクチン⑤乾燥濃縮人血液凝固第IX因子⑥乾燥濃縮人活性化プロテインC
販売名(企業名)	①乾燥日本脳炎ワクチン1mL②日本脳炎ワクチン“化血研”N③乾燥日本脳炎ワクチンN④日本脳炎“化血研”シリンジ⑤ノバクトM⑥注射用アナクトC2,500単位

## Chronic Lymphocytic Inflammation Specifies the Organ Tropism of Prions

Mathias Heikenwalder,<sup>1\*</sup> Nicolas Zeller,<sup>1\*</sup> Harald Seeger,<sup>1\*</sup> Marco Prinz,<sup>1\*†</sup> Peter-Christian Klöhn,<sup>2</sup> Petra Schwarz,<sup>1</sup> Nancy H. Ruddle,<sup>3</sup> Charles Weissmann,<sup>2</sup> Adriano Aguzzi<sup>1‡</sup>

Prions typically accumulate in nervous and lymphoid tissues. Because pro-inflammatory cytokines and immune cells are required for lymphoid prion replication, we tested whether inflammatory conditions affect prion pathogenesis. We administered prions to mice with five inflammatory diseases of the kidney, pancreas, or liver. In all cases, chronic lymphocytic inflammation enabled prion accumulation in otherwise prion-free organs. Inflammatory foci consistently correlated with lymphotoxin up-regulation and ectopic induction of FDC-M1<sup>+</sup> cells expressing the normal cellular prion protein PrP<sup>C</sup>. By contrast, inflamed organs of mice lacking lymphotoxin- $\alpha$  or its receptor did not accumulate the abnormal isoform PrP<sup>Sc</sup>, nor did they display infectivity upon prion inoculation. By expanding the tissue distribution of prions, chronic inflammatory conditions may act as modifiers of natural and iatrogenic prion transmission.

Prions, the infectious agent in transmissible spongiform encephalopathies that selectively damage the central nervous system (CNS), are detectable in lymphoid organs long before clinical symptoms appear (1). PrP<sup>Sc</sup>, a protease-resistant isoform of the host protein PrP<sup>C</sup>, accumulates mostly in the CNS and lymphoid organs of infected organisms and may represent the infectious principle (2, 3). In addition to PrP<sup>C</sup> (4), splenic prion replication requires follicular dendritic cells (FDCs) (5), whose maintenance depends on B cells expressing tumor necrosis factor (TNF) and lymphotoxins (LTs)  $\alpha$  and  $\beta$  (6–8). Accordingly, inhibition of LT and TNF antagonizes peripheral prion replication (9–11). However, most cellular requirements for peripheral prion replication remain unknown (12).

Chronic inflammatory conditions are accompanied by organized collections of B and T lymphocytes, FDCs, dendritic cells (DCs), and marginal zone and tingible body macrophages (13–15). Extranodal follicles are also prevalent in naturally occurring infections of free-ranging ruminants (16). Besides participating in chronic inflammatory conditions, FDCs, B lymphocytes, and

other components of the immune system are involved in prion replication (6–10, 17). We therefore reasoned that inflammation may affect prion pathogenesis. We studied this question in various transgenic and spontaneous mouse models of chronic inflammation, including nephritis, pancreatitis, and hepatitis.

First, we generated bitransgenic mice expressing LT $\alpha$  and LT $\beta$  in liver under the control of the albumin promoter (fig. S1A) (18, 19). C57BL/6-Tg(LTab)1222 and C57BL/6-Tg(LTab)1223 mouse lines contained one copy per haploid genome of both AlbLT $\alpha$  and AlbLT $\beta$  transgenes (fig. S1B), with expression restricted to liver and absent from spleen, thymus, mesenteric lymph nodes, pancreas, and kidney (Fig. 1A). C57BL/6-Tg(LTab)1223 mice (henceforth termed AlbLT $\alpha\beta$  mice) were identified as the highest expressors (Fig. 1B) and were selected for further experiments.

Livers from 4- to 6-month-old AlbLT $\alpha\beta$  mice displayed highly organized aggregates of B220<sup>+</sup> B lymphocytes; CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, and CD8<sup>+</sup> T cells; FDC-M1<sup>+</sup> and CD35<sup>+</sup> networks; MOMA-1<sup>+</sup> marginal zone-like festoons; CD68<sup>+</sup> tingible body macrophages; IgD<sup>+</sup> and IgG1<sup>+</sup> lymphocytes; ERTR9<sup>+</sup> cells; and NLDC-145<sup>+</sup> DCs (Fig. 2) (fig. S1C). AlbLT $\alpha\beta$  sinusoids exhibited F4/80<sup>+</sup> Kupffer cell hyperproliferation and up-regulation of the adhesion molecules I-CAM and V-CAM (fig. S1C). Occasionally, PNA<sup>+</sup> clusters indicative of germinal center B cells were found (fig. S1C, arrowheads). None of the above features were found in livers of wild-type littermates (fig. S1C), nor could we detect abnormal histopathological features in AlbLT $\alpha\beta$  kidneys, spleens, and thymuses.

Transgenic mice expressing LT $\alpha$  under the control of the rat insulin promoter (RIP) in pancreatic  $\beta$  islet cells and renal proxi-

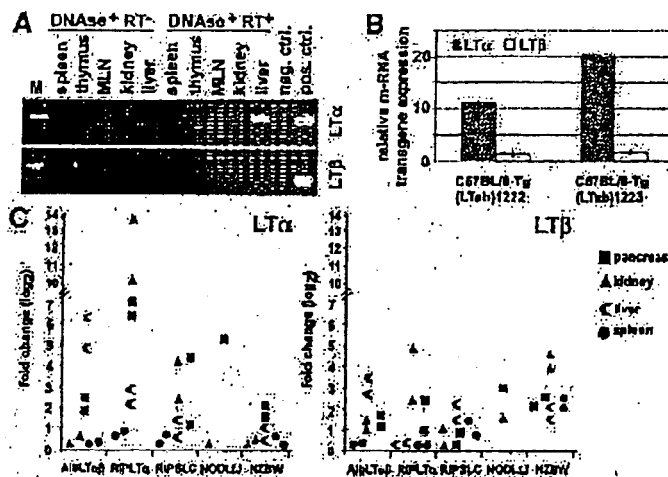


Fig. 1. Molecular and phenotypic characterization of AlbLT $\alpha\beta$  mice. (A) RT-PCR analysis, using primers 1 and 2 (450 bp), for transgenic LT $\alpha$  and primers 4 and 5 for transgenic LT $\beta$  (390 bp) (see fig. S1A), confirmed liver-specific transgene expression in AlbLT $\alpha\beta$  mice [negative control, master mix and H<sub>2</sub>O; positive control, transgenic plasmid DNA (10 ng)]. (B) Transgene-specific real-time RT-PCR analysis identifying C57BL/6-Tg(LTab)1222 as low LT $\alpha$  expressor and C57BL/6-Tg(LTab)1223 as high expressor. (C) Real-time RT-PCR identifying total LT $\alpha$  and LT $\beta$  expression in organs of mice with naturally occurring or transgenetically induced inflammatory and autoimmune diseases. Each value represents the fold change (log<sub>2</sub>) in individual organs relative to the average expression in two respective organs of control mice of the appropriate genotype. Each measurement was normalized against  $\beta$ -actin and expressed as fold change (log<sub>2</sub>) relative to the wild type. Gray and black symbols denote inflamed and noninflamed organs, respectively. LT $\alpha$  and/or LT $\beta$  were overexpressed not only in LT transgenic organs but also in inflamed organs of RIPSLC, NZBW, and NODLT $\alpha$  mice.

<sup>1</sup>Institute of Neuropathology, University Hospital of Zürich, CH-8091 Zürich, Switzerland. <sup>2</sup>Medical Research Council Prion Unit, Department of Neurodegenerative Diseases, Institute of Neurology, Queen Square, London WC1N 3BG, UK. <sup>3</sup>Department of Epidemiology and Public Health and Section of Immunobiology, Yale University School of Medicine, New Haven, CT 06520, USA.

\*These authors contributed equally to this work.

†Present address: Institute of Neuropathology, Georg-August-Universität, D-37073 Göttingen, Germany.

‡To whom correspondence should be addressed. E-mail: adriano@pathol.unizh.ch

## REPORTS

mal convoluted tubules (20–22) developed interstitial and capsular follicles in kidney and pancreatic islets with discrete B220<sup>+</sup> areas and CD35<sup>+</sup>/FDC-M1<sup>+</sup> networks (20, 21) (Fig. 2A). Renal and pancreatic inflammatory foci in RIPLT $\alpha$  and hepatic foci in AlbLT $\alpha\beta$  mice were essentially identical in their cellular composition and expressed various complement components (Fig. 2) (fig. S1D). The splenic and lymph nodal microarchitectures of RIPLT $\alpha$  ( $n = 5$ ), AlbLT $\alpha\beta$  ( $n = 3$ ), and wild-type mice ( $n = 3$ ) were indistinguishable upon immunostaining with an exhaustive panel of immunological markers (23).

We then studied mice expressing the secondary lymphoid organ chemokine (SLC), also known as TCA4/CCL21, under the control of the rat insulin promoter (27). These mice (henceforth termed RIPSCL) contain follicles in the pancreas with organized T and B cell zones, DCs, ER-TR7<sup>+</sup> and CD35<sup>+</sup> cells, and small FDC-M1<sup>+</sup> networks (Fig. 2) (23).

NZBxNZW-F<sub>1</sub> (henceforth termed NZBW) and NOD.LJ mice are considered models for systemic lupus erythematosus and autoimmune diabetes, respectively. NZBW mice develop interstitial nephritis and glomerulonephritis with distinct B and T cell areas, small FDC-M1<sup>+</sup> clusters, DCs, small PNA<sup>+</sup> clusters, and IgG1<sup>+</sup> cells (Fig. 2) (fig. S1E). Infiltrates lacked MAdCAM-1<sup>+</sup> expression but contained MOMA-1<sup>+</sup> cells (fig. S1E). Deposits of complement components C1q, C3, and C4 were identified within glomeruli of kidneys of NZBW mice, but not in parental NZW mice, which did not develop nephritis and were used as controls (Fig. 2) (fig.

S1E) (23). NOD.LJ mice develop spontaneous autoimmune insulinitis with lymphoid follicles similar to those developing in NZBW kidneys (24–26); NOD.B10.H2b mice, which do not develop insulinitis despite the presence of the NOD locus (27), were used as controls.

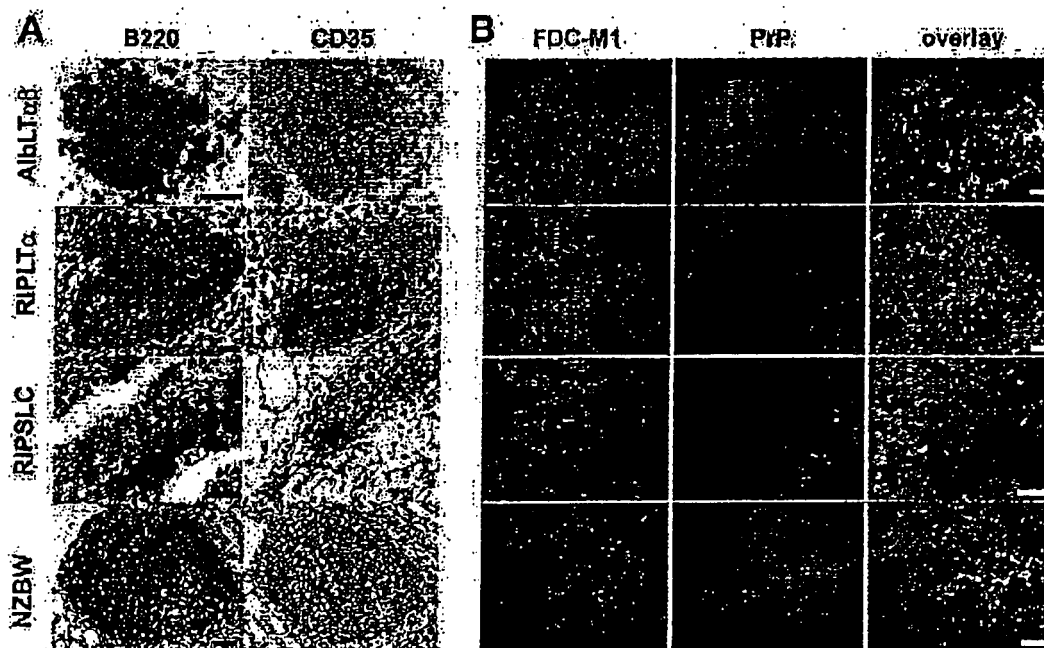
Real-time reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) analysis of LT $\alpha$  and LT $\beta$  expression in inflamed and appropriate control tissues revealed that 6- to 8-week-old AlbLT $\alpha\beta$  livers overexpressed LT $\alpha$  by a factor of ~45 and LT $\beta$  by a factor of 8 to 10 (Fig. 1C). LT expression declined in 8- to 12-month-old transgenic mice, in parallel with hepatocyte destruction. No other organs of AlbLT $\alpha\beta$  mice showed LT overexpression. RIPLT $\alpha$  mice overexpressed LT $\alpha$  and, to a lower extent, LT $\beta$  in kidney and pancreas, whereas RIPSCL mice had slightly up-regulated LT $\alpha$  expression in pancreas and kidney. LT $\alpha$  and LT $\beta$  were strongly up-regulated in NOD.LJ pancreases, and LT $\beta$  was overexpressed in NZBW kidneys and pancreases. In summary, we detected LT up-regulation in every instance of chronic inflammation.

RIPLT $\alpha$ , RIPSCL, NZBW, NOD.LJ, and isogenic or congenic control mice were inoculated with prions intraperitoneally [ $10^3$  times the median lethal dose ( $3 \log LD_{50}$ )] or intracerebrally ( $2.5 \log LD_{50}$ ). RIPLT $\alpha$ , RIPSCL, and control mice showed similar incubation times and attack rates of disease (Fig. 3A), and the extent of terminal PrP<sup>Sc</sup> deposition was similar (fig. S2, A and B). The topography and intensity of spongiosis, gliosis, and PrP deposits were found by immunohistochemistry to be similar in the

brains of all terminally sick mice (23). Thus, chronic pancreatitis or nephritis did not influence susceptibility to intracerebrally or peripherally administered prions, nor did these conditions affect prion titers or neuroinvasion speed. Scrapie incubation times of NZBW and NOD.LJ mice could not be determined because they exceeded their natural life span. The extent and morphology of inflammation in RIPLT $\alpha$  and RIPSCL kidneys and pancreases, as well as in AlbLT $\alpha\beta$  livers, were compared with age-matched mock-infected controls at several time points from 60 days post inoculation (dpi) to terminal disease. We did not detect any modulation of the inflammatory pathologies by prion infection, and intraperitoneal glucose tolerance was unaltered in prion-inoculated RIPLT $\alpha$  mice (fig. S2C).

We then sought to determine whether inflammation influences the distribution of prion infectivity during the preclinical phase of infection. AlbLT $\alpha\beta$ , RIPLT $\alpha$ , RIPSCL, NZBW, NZW (8 to 12 weeks old), NOD.LJ, NOD.B10 (6 months old), and C57BL/6 mice were inoculated intraperitoneally with scrapie prions ( $5 \log LD_{50}$ ) and killed at 60, 75, 90, or 100 dpi. Spleen homogenates were assayed for prion infectivity by mouse bioassay (MBA), consisting of intracerebral inoculation of Tga20 indicator mice (28) and comparison of scrapie incubation times to a calibration curve (29). All spleens displayed comparably high titers of prion infectivity per gram of tissue: 4.5 to 6  $\log LD_{50}/g$  (wild type), 3.5 to 5  $\log LD_{50}/g$  (RIPLT $\alpha$ ), 4.2 to 6.1  $\log LD_{50}/g$  (AlbLT $\alpha\beta$ ), and 3.9 to 5.7  $\log LD_{50}/g$  (RIPSCL). Attack rates of indicator mice were 100% at all time

Fig. 2. Inflammatory foci in AlbLT $\alpha\beta$  livers, RIPLT $\alpha$  kidneys, and NZBW and RIPSCL pancreases. Consecutive frozen sections of AlbLT $\alpha\beta$  liver, RIPSCL pancreas, and RIPLT $\alpha$  and NZBW kidneys are shown. (A) Follicular inflammatory foci displaying organized collections of B cells (B220) and complement receptor 1-expressing cells (CD35). Scale bar, 200  $\mu$ m. (B) Two-color immunofluorescence analysis. PrP (antiseraum XN, red) mainly colocalizes with FDC networks (antibody FDC-M1, green) within follicular infiltrates in all models of follicular inflammation. Scale bar, 20  $\mu$ m.



points (Fig. 3B). Nephritis and pancreatitis did not affect splenic prion replication.

Prion loads of kidneys, pancreases, and livers from prion-infected presymptomatic mice were also determined by MBA (Fig. 3B). Titers were regarded as "borderline" if attack rates were <100%. At 60 dpi, wild-type pancreas and kidney homogenates lacked measurable infectivity, whereas RIPLT $\alpha$  kidney and pancreas titers ranged between borderline and 1.4 logLD<sub>50</sub>/g. At 75 dpi, RIPLT $\alpha$  pancreas and kidney titers were 3.3 and 4 logLD<sub>50</sub>/g, respectively, whereas wild-type pancreases and kidneys were noninfectious.

At 90 dpi, all RIPSCLC and RIPLT $\alpha$  pancreases and one RIPLT $\alpha$  kidney had prion titers approaching those of spleens ( $\leq 3.7$  logLD<sub>50</sub>/g in pancreas and  $\leq 2.4$  logLD<sub>50</sub>/g in kidney), whereas wild-type organs displayed undetectable or borderline infectivity (Fig. 3B). Infectivity of wild-type livers, kidneys, and AlBLT $\alpha\beta$  kidneys was borderline or below

detectability, whereas AlBLT $\alpha\beta$  livers had titers of 3.1 to 3.4 logLD<sub>50</sub>/g (Fig. 3B). NZBW kidneys were found to contain prion titers of 2.5 to 3.5 logLD<sub>50</sub>/g ( $n = 2$ ), whereas NZW kidneys were noninfectious (Fig. 3C).

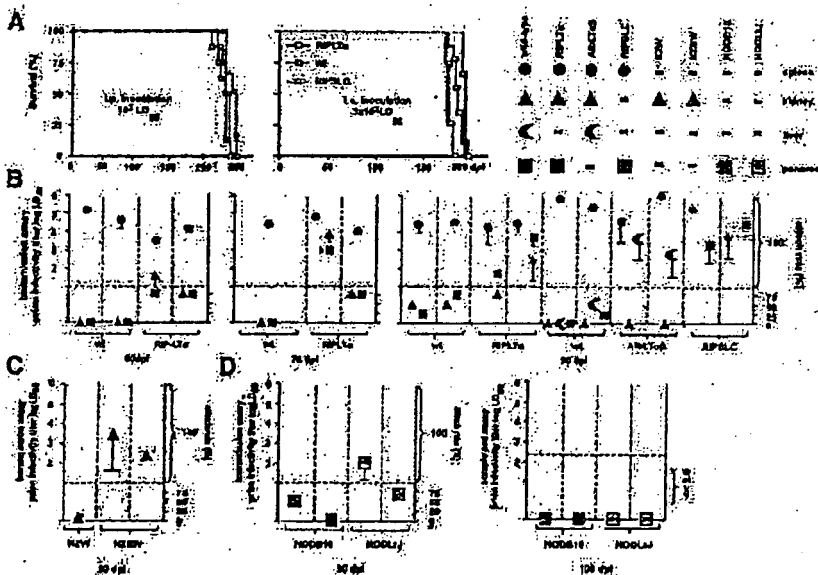
We subjected organ extracts to scrapie cell assays in end point format (SCEPA) or to conventional scrapie cell assays (SCA), which allow for quantification of prion infectivity with sensitivity similar to MBAs (30). SCEPA and MBA results with RIPLT $\alpha$  kidney and pancreas homogenates (60 and 90 dpi) were almost completely congruent (fig. S2D and table S1). Wild-type kidneys and pancreases contained no detectable infectivity ( $< 2.54$  logLD<sub>50</sub>/g), whereas prion titers in the corresponding RIPLT $\alpha$  extracts were high (table S1). AlBLT $\alpha\beta$  liver prion titers (75 dpi) were  $> 3.4$  logLD<sub>50</sub>/g in all three liver homogenates, whereas no infectivity was detected in wild-type livers ( $< 2.4$  logLD<sub>50</sub>/g) (fig. S2E).

We then administered scrapie prions (5 logLD<sub>50</sub>) intraperitoneally to 6-month-old NODLJ mice and NODB10 mice. Pancreases of hyperglycemic NODLJ mice contained prion titers of  $\leq 2$  logLD<sub>50</sub>/g at 50 dpi, whereas control NODB10 mice harbored no or borderline infectivity (Fig. 3D). All *tga20* mice ( $n = 7$ ) that had developed clinical scrapie upon exposure to pancreas homogenates (50 dpi) displayed spongiosis, gliosis, and PrP<sup>Sc</sup> in immunoblots (figs. S3 and S4), confirming transmission of scrapie infectivity. Similarly, all *tga20* mice that had developed clinical scrapie upon exposure to kidney, pancreas, and liver homogenates (AlBLT $\alpha\beta$ , RIPLT $\alpha$ , RIPSCLC, and NZBW) showed spongiosis, gliosis, and PrP<sup>Sc</sup> in immunoblots (figs. S3 and S4), confirming transmission of infectivity. However, at 100 dpi ( $\sim 10$  months of age), pancreatic infectivity was no longer detectable in either genotype, consistent with progressive islet elimination and consecutive regression of pancreatitis in NODLJ mice (Fig. 3D) (23).

We then determined PrP<sup>Sc</sup> loads in organ extracts. Samples negative by conventional immunoblotting were reanalyzed after phosphotungstate (PTA) precipitation of PrP<sup>Sc</sup> (31), enhancing sensitivity (32). At 60, 75, and 90 dpi, PrP<sup>Sc</sup> was detectable in similar amounts in all spleens of each genotype, but not in livers, kidneys, or pancreases of wild-type mice (Fig. 4, A and B). At 60 dpi, PrP<sup>Sc</sup> was undetectable in livers, kidneys, or pancreases of any genotype. At 75 dpi, we found robust PrP<sup>Sc</sup> immunoreactivity in two of three AlBLT $\alpha\beta$  livers, but not in RIPLT $\alpha$  kidneys and pancreases (Fig. 4A). At 90 dpi, PrP<sup>Sc</sup> was readily detectable in all AlBLT $\alpha\beta$  livers (Fig. 4A), RIPLT $\alpha$  kidneys, and RIPLT $\alpha$  pancreases ( $n = 6$ , Fig. 4B). Possible PrP<sup>Sc</sup> traces were found in one wild-type kidney at 90 dpi (fig. S2F).

PTA-enhanced immunoblot analysis identified PrP<sup>Sc</sup> in NZBW ( $n = 2$ ) but not in NZW ( $n = 2$ ) kidneys (90 dpi) (Fig. 4C) (23). In contrast, PTA-enhanced immunoblotting failed to reveal PrP<sup>Sc</sup> in NODLJ and NODB10 pancreases at all time points (50 and 100 dpi), consistent with the low infectivity titers of NODLJ pancreases at 50 dpi (Fig. 3D).

By what mechanism does inflammation create novel prion reservoirs? PrP<sup>C</sup> is necessary for prion replication (4), hence its expression might be rate-limiting. We thus investigated PrP<sup>C</sup> expression in wild-type and RIPLT $\alpha$  kidneys and pancreases. Quantitative immunoblot analysis revealed  $\leq 20\%$  increase in total PrP<sup>C</sup> of RIPLT $\alpha$  kidneys, and no changes were seen in transgenic pancreases (fig. S1F). In contrast, immunohistochemical analysis revealed foci of high PrP expression in all analyzed AlBLT $\alpha\beta$  livers, RIPLT $\alpha$  kidneys and pancreases, RIPSCLC pancreases, NZBW kidneys, and NODLJ pancreases (Fig. 2B), but not in



**Fig. 3.** The distribution of PrP<sup>Sc</sup> and prion infectivity is influenced by inflammatory conditions. (A) Survival plots of prion-infected RIPLT $\alpha$ , RIPSCLC, and wild-type (wt) mice, showing similar incubation times after intraperitoneal (i.p.; RIPLT $\alpha$ , 229  $\pm$  10 days; wt, 234  $\pm$  6 days; RIPSCLC, 243  $\pm$  8 days) or intracerebral inoculation (i.c.; RIPLT $\alpha$ , 192  $\pm$  2 days; wt, 185  $\pm$  6 days; RIPSCLC, 174  $\pm$  2 days). (B) Prion infectivity titers in spleens (circles), pancreases (squares), kidneys (triangles), and livers (crescents) of wild-type (wt) (blue), RIPLT $\alpha$  (red), AlBLT $\alpha\beta$  (pink), and RIPSCLC (green) mice were determined by transmission to indicator mice at 60, 75, and 90 dpi. Each column defined by vertical dashed lines represents one mouse. Data points below the dashed horizontal line indicate attack rates of <100% and were regarded as "borderline" infectivity. Error bars were drawn when standard deviation exceeded 0.75 log units. Except for one RIPLT $\alpha$  kidney that elicited an attack rate of 75%, RIPLT $\alpha$  kidneys and pancreases, RIPSCLC pancreases, and AlBLT $\alpha\beta$  livers led to an attack rate of 100% with high prion titers at 90 dpi. In contrast, wild-type kidneys, pancreases, and livers contained undetectable or at best borderline prion infectivity. (\*) One of four *tga20* mice died shortly after inoculation from prion-unrelated causes. (C and D) Prion infectivity titers in kidneys (triangles) of NZW (black) and NZBW (brown) mice and in pancreases (squares) of NODB10 (orange) and NODLJ (striped) mice were determined by transmission assay or SCEPA. At 90 dpi, NZBW kidneys harbored reasonably high infectivity titers, whereas NZW mice lacked prion infectivity (C). At 50 dpi, NODLJ mice displayed borderline or moderate prion infectivity, whereas NODB10 mice showed no or borderline infectivity. At 100 dpi, NODLJ mice were devoid of detectable prion infectivity, consistent with progressive islet elimination and consecutive regression of pancreatitis (D) (23).

## REPORTS

organs of the appropriate control mice. These foci mostly colocalized with FDC-M1<sup>+</sup> networks (Fig. 2B).

To characterize the topography of PrP<sup>Sc</sup> in inflamed prion-infected organs, we assayed (33) wild-type, RIPLT $\alpha$ , NZBW, and NZW kidneys as well as RIPSLC pancreases by histoblotting. RIPLT $\alpha$  kidneys and pancreases (90 dpi) displayed PrP<sup>Sc</sup> deposits colocalizing with inflammatory infiltrates, whereas neither feature was found in scrapie-infected wild-type kidneys or pancreases (Fig. 4D). RIPSLC pancreases and NZBW kidneys (90 dpi) also showed small PrP<sup>Sc</sup>-positive areas colocalizing with inflammatory infiltrates, whereas controls were devoid of PrP<sup>Sc</sup>-positive areas (23).

Inflammatory conditions cause immune cells to migrate into parenchymal sites of pathology. Some of these immune cells—including activated B lymphocytes—express LTs; which in turn trigger differentiation of FDCs. LT-triggered events, most likely including PrP<sup>C</sup> up-regulation in stromal FDC precursors, appear to confer prion replication competence to sites of inflammation. LT might thus represent a crucial link between inflammation and prion distribution. We tested this prediction by administering prions intraperitoneally to 6- to 8-month-old LT $\alpha^{-/-}$  and LT $\beta R^{-/-}$  mice, which suffer from spontaneous inflammatory pathologies (34), and to age-matched controls. Despite severe multifocal chronic lymphocytic hepatitis with disseminated PNA<sup>+</sup> clusters (fig. S5, A and B), livers

of prion-inoculated LT $\alpha^{-/-}$  and LT $\beta R^{-/-}$  mice were found to be consistently devoid of prion infectivity (fig. S5C) and PrP<sup>Sc</sup> (fig. S5D).

Our results indicate that chronic follicular inflammation, induced by a variety of causes, specifies prion tropism for otherwise prion-free organs. In most instances infectivity tended to rise with time, suggesting local prion replication. Organ-specific expression of one single proinflammatory cytokine (LT $\alpha$ ) or chemokine (SLC) sufficed to establish unexpected prion reservoirs, suggesting differentiation of ubiquitous stromal constituents into prion replication-competent cells. In several instances, prion concentration in individual inflamed organs approached that of spleen long before any clinical manifestation of scrapie. Inflamed nonlymphoid organs not only accumulated PrP<sup>Sc</sup> but also transmitted bona fide prion disease when inoculated into healthy recipient mice.

Knowledge of the distribution of prions within infected hosts is fundamental to consumer protection and prevention of iatrogenic accidents. On the basis of the failure to transmit bovine spongiform encephalopathy (BSE) infectivity from any tissue but central nervous system, intestinal, and lymphoid tissue (35), the risk to humans of contracting prion infection from other organs has been deemed small even in countries with endemic BSE. It may be important now to test whether superimposed viral, microbial, or autoimmune pathologies of farm animals trigger unexpected shifts in the organ tropism

of prions. Conversely, the lack of infectivity in "burned-out" postinflammatory pancreases suggests that anti-inflammatory regimens may abolish ectopic prion reservoirs.

## References and Notes

1. H. Fraser, A. G. Dickinson, *Nature* 226, 462 (1970).
2. S. B. Prusiner, *Science* 216, 136 (1982).
3. G. Legname et al., *Science* 305, 673 (2004).
4. H. R. Büeler et al., *Cell* 73, 1339 (1993).
5. M. Gonzalez, F. Mockay, J. L. Browning, M. H. Kosco-Vilbois, R. J. Noelle, *J. Exp. Med.* 187, 997 (1998).
6. T. Kitamoto, T. Muramoto, S. Mohri, K. Dohura, J. Tateishi, *J. Virol.* 65, 6292 (1991).
7. K. L. Brown et al., *Nature Med.* 5, 1308 (1999).
8. M. Prinz et al., *Nature* 425, 957 (2003).
9. F. Montrasio et al., *Science* 288, 1257 (2000).
10. N. A. Mabbott, C. McGovern, M. Jeffrey, M. E. Bruce, *J. Virol.* 76, 5131 (2002).
11. M. Prinz et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99, 919 (2002).
12. A. Aguzzi, *Nature Cell Biol.* 6, 290 (2004).
13. S. Takemura et al., *J. Immunol.* 167, 1072 (2001).
14. E. Käseling, *Lymphology* 34, 22 (2001).
15. J. C. Hogg et al., *N. Engl. J. Med.* 350, 2645 (2004).
16. W. Vennart, R. M. Jacobs, V. E. Valli, J. L. Heeney, *Vet. Pathol.* 34, 222 (1997).
17. M. A. Klein et al., *Nature Med.* 7, 488 (2001).
18. R. Maglócz, S. Columba-Cabezas, B. Serafini, F. Aloisi, *J. Neuroimmunol.* 148, 11 (2004).
19. See supporting data on Science Online.
20. D. E. Picarella, A. Kratz, C. B. U. N. H. Ruddle, R. A. Flavell, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 89, 10036 (1992).
21. A. Kratz, A. Campos-Neto, M. S. Hanson, N. H. Ruddle, *J. Exp. Med.* 183, 1461 (1996).
22. L. Fan, C. R. Reilly, Y. Luo, M. E. Dorf, D. Lo, *J. Immunol.* 164, 3955 (2000).
23. M. Helkenwelder et al., data not shown.
24. A. Hanninen et al., *J. Clin. Invest.* 92, 2509 (1993).
25. T. L. Delovitch, B. Singh, *Immunity* 7, 727 (1997).
26. C. Faveroux, M. C. Gagnerault, F. Lepault, *J. Immunol.* 152, 5969 (1994).
27. C. P. Robinson et al., *Arthritis Rheum.* 41, 150 (1998).
28. M. Fischer et al., *EMBO J.* 15, 1255 (1996).
29. S. B. Prusiner et al., *Ann. Neurol.* 11, 353 (1982).
30. P. C. Mohr, L. Stoltze, E. Flechtig, M. Erani, C. Weissmann, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100, 11666 (2003).
31. J. Safer et al., *Nature Med.* 4, 1157 (1998).
32. J. D. F. Wadsworth et al., *Lancet* 358, 171 (2001).
33. A. Taraboulos et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 89, 7620 (1992).
34. A. Fuxer, K. Mink, A. Luz, M. H. Kocso-Vilbois, K. Pfeffer, *Immunity* 9, 59 (1998).
35. G. A. Wells et al., *Vet. Rec.* 142, 103 (1998).
36. We thank S. Nedospasov and D. Kuprash for LT $\alpha/\beta$  cDNA; D. Lo for Ins-TCA4/SLC mice; C. Sigurdson, G. Miele, M. Zahel, F. Montrasio, and M. Le Hir for discussions; A. Gaspert and W. Jochum for histopathological advice; and B. Odermatt, R. Moos, and G. Dossbhard for support with immunohistochemistry and SCA. Supported by grants from the Bundesamt für Bildung und Wissenschaft, the Swiss National Science Foundation, and the National Center of Competence in Research (NCCR) on Neural Plasticity and Repair (A.A.); by the foundation for research at the Medical Faculty, University of Zürich; a generous educational grant of the Catello family, and a grant of the Verein zur Förderung des Akademischen Nachwuchses (M.H.); by the Medical Research Council, UK (P.-C.K. and C.W.); and by NIH grant NCI R01 CA 16885 (N.H.R.).

## Supporting Online Material

www.sciencemag.org/cgi/content/full/1106460/DC1

Materials and Methods

Figs. S1 to S5

Table S1

References

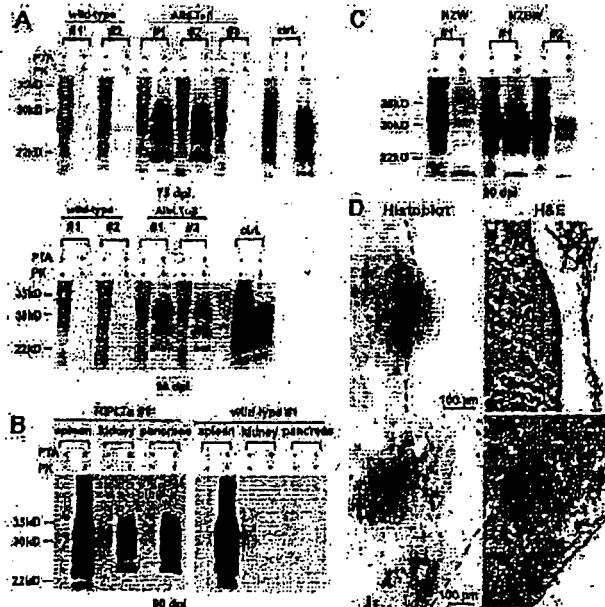
18 October 2004; accepted 6 December 2004

Published online 20 January 2005;

10.1126/science.1106460

Include this information when citing this paper.

**Fig. 4.** PrP<sup>Sc</sup> accumulates in inflamed organs of prion-infected mice. (A) Immunoblot analysis of liver homogenates after PTA precipitation at 75 dpi (upper blot) and 90 dpi (lower blot). PrP<sup>Sc</sup> was absent in all four individual wild-type livers, but clear PrP<sup>Sc</sup> signal was seen in four of five AblT $\alpha/\beta$  livers. Control samples (ctrl.) included undigested healthy brain, proteinase K (PK)-digested healthy brain, and PK-digested terminally scrapie-sick brain. (B) Immunoblot analysis showed strong PrP<sup>Sc</sup> signal in spleen, kidney, and pancreas of prion-infected RIPLT $\alpha$  mice (90 dpi), whereas PrP<sup>Sc</sup> was confined to spleen of wild-type mice. (C) Immunoblot of NZBW and NZW mice. PrP<sup>Sc</sup> was detected in kidneys of NZBW but not NZW mice. (D) Histoblot analysis of prion-infected kidneys. Capsular and subcapsular deposits of PrP<sup>Sc</sup> colocalize with follicular infiltrates in RIPLT $\alpha$  kidneys. Consecutive sections display colocalization of PrP<sup>Sc</sup> deposits with follicular infiltrates [hematoxylin and eosin (H&E) stain].



貯 法：10℃以下に凍結を避けて保存  
有効期間：自家試験合格の日から3年  
(最終有効年月日は容器及び外箱に表示)

日本標準商品分類番号
876343

### 血漿分画製剤

特定生物由来製品  
指定医薬品<sup>注1)</sup>  
要指示医薬品

注射用 **Anact<sup>®</sup>C** 2,500単位 **献血**

承認番号	21200AMZ00565000
薬価収載	2000年11月
販売開始	2001年1月
国際誕生	2000年9月

生物学的製剤基準

乾燥濃縮人活性化プロテインC

**Anact<sup>®</sup>C**

本剤は、貴重なヒト血液を原材料として製剤化したものである。有効成分及び添加物としてヒト血液由来成分を含有しており、原材料となったヒト血液を採取する際には、問診、感染症関連の検査を実施するとともに、製造工程における一定の不活化・除去処理などを実施し、感染症に対する安全対策を講じているが、ヒト血液を原材料としていることによる感染症伝播のリスクを完全に排除することはできないため、疾病の治療上の必要性を十分に検討の上、必要最小限の使用にとどめること。(「使用上の注意」の項参照)

<sup>注1)</sup>注意—医師等の処方せん・指示により使用すること

#### 【組成・性状】

##### ※※1. 組成

本剤を添付の溶剤(日局注射用水)で溶解したとき、1mL中の組成は下記のとおりである。

成 分	溶解後の1mL中の含量
有効成分	活性化プロテインC 500単位
添 加 物	人血清アルブミン 25mg
	クエン酸ナトリウム 5.9mg
	グリシン 5mg
	塩化ナトリウム 7mg

本剤の有効成分である活性化プロテインC及び添加物の人血清アルブミンは、ヒトの血液(採血国：日本、採血方法：献血)を原材料としている。

本剤は製造工程において、ヒトの血液由来成分(トロンビン、採血国：日本、採血方法：献血)及びマウスハイブリドーマ細胞株由来成分(抗プロテインCモノクローナル抗体)を使用している。

なお、抗プロテインCモノクローナル抗体産生の培養培地成分としてウシの膵臓由来成分(インスリン)を使用している。

##### 2. 製剤の性状

本剤は白色から淡黄色の凍結乾燥製剤であり、添付の溶剤で溶解したとき無色ないし淡黄色の澄明な液剤となる。

pH：6.7～7.3

浸透圧比：約1(生理食塩液に対する比)

#### 【効能・効果】

先天性プロテインC欠乏症に起因する次の疾患  
深部静脈血栓症、急性肺血栓症

#### 【用法・用量】

本剤を添付の日局注射用水で溶解し、通常1日に活性化プロテインC 200～300単位/kg体重を輸液(5%ブドウ糖液、生理食塩液、電解質液等)に加え、24時間かけて点滴静脈内投与する。

なお、6日間投与しても症状の改善が認められない場合は

投与を中止すること。年齢及び症状に応じて適宜減量する。

#### 〈用法・用量に関連する使用上の注意〉

本剤は、アミノ酸類の輸液と混合すると、添加されている抗酸化剤により活性化プロテインC活性の顕著な低下が認められるので、抗酸化剤(亜硫酸水素ナトリウム、ピロ亜硫酸ナトリウム等)が添加されている製剤と混合しないこと。

#### 【使用上の注意】

##### 1. 慎重投与(次の患者には慎重に投与すること)

- (1) 溶血性・失血性貧血の患者〔ヒトパルボウイルスB19の感染を起こす可能性を否定できない。感染した場合には、発熱と急激な貧血を伴う重篤な全身症状を起こすことがある。〕
- (2) 免疫不全患者・免疫抑制状態の患者〔ヒトパルボウイルスB19の感染を起こす可能性を否定できない。感染した場合には、持続性の貧血を起こすことがある。〕

##### ※2. 重要な基本的注意

#### 【患者への説明】

本剤の使用にあたっては、疾病の治療における本剤の必要性とともに、本剤の製造に際しては感染症の伝播を防止するための安全対策が講じられているものの、ヒトの血液を原材料としていること由来する感染症伝播のリスクを完全に排除することができないことを患者に対して説明し、その理解を得るよう努めること。

##### (1) 本剤は先天性プロテインC(PC)欠乏症の患者にのみ使用すること。

先天性PC欠乏症とは以下の項目のいずれかに該当するものである。

- 1) PC活性が60%以下であり、かつ、血液凝固第Ⅶ因子との活性比又は抗原比が0.7未満である場合。
- 2) PC活性が60%以下であり、かつ、血栓症の既往歴がある場合。
- 3) PC活性が60%以下であり、かつ、同一家系内に先天性PC欠乏症患者がいる場合。
- 4) PC活性が60%を越え80%以下の場合は、血液凝固第

VII因子の活性比又は抗原比が0.7未満で、かつ、血栓症の既往歴があるか、同一家系内に先天性PC欠乏症患者がいる場合。

- 5) 遺伝子解析により、PC欠乏症の診断がなされている場合。
- (2)先天性活性化プロテインC不応症であるホモ接合体 factor V Leiden mutationの患者に対する本剤の効果は期待できない。
- (3)本剤の原材料となる献血者の血液については、HBs抗原、抗HCV抗体、抗HIV-1抗体、抗HIV-2抗体及び抗HTLV-1抗体陰性で、かつALT (GPT) 値でスクリーニングを実施している。さらに、プールした試験血漿については、HIV、HBV及びHCVについて核酸増幅検査(NAT)を実施し、適合した血漿を本剤の製造に使用しているが、当該NATの検出限界以下のウイルスが混入している可能性が常に存在する。本剤はイムノアフィニティークロマトグラフィー処理、ウイルス除去膜処理によって原材料由来のウイルスを除去し、さらに65℃96時間の乾燥加熱処理を施した製剤であるが、投与に際しては、次の点に十分注意すること。
  - 1) 血漿分画製剤の現在の製造工程では、ヒトパルボウイルスB19等のウイルスを完全に不活化・除去することが困難であるため、本剤の投与によりその感染の可能性を否定できないので、投与後の経過を十分に観察すること。
  - 2) 肝炎ウイルス等のウイルス感染の危険性を完全に否定できないので、観察を十分に行い、症状があらわれた場合には適切な処置を行うこと。
  - 3) 現在までに本剤の投与により変異型クロイツフェルト・ヤコブ病(vCJD)等が伝播したとの報告はない。しかしながら、製造工程において異常プリオンを低減し得るとの報告があるものの、理論的なvCJD等の伝播のリスクを完全に排除できないので、投与の際には患者への説明を十分に行い、治療上の必要性を十分検討の上投与すること。
- (4)アナフィラキシー様症状を起こす可能性があるため、観察を十分に行うこと。
- (5)マウスたん白質に対して過敏症の患者に投与する場合は観察を十分に行うこと。また、同たん白質に対する抗体を産生する可能性を完全に否定できないので、観察を十分に行うこと。[本剤は、抗プロテインCマウスモノクローナル抗体をリガンドとしたイムノアフィニティークロマトグラフィーにより精製されており、マウス抗体が残存する可能性を完全に否定できない。]
- (6)汎発性血管内血液凝固症候群(DIC)に対する第III相臨床試験において電解質(ナトリウム、カリウム、クロル)の低下傾向が認められたので、観察を十分に行うこと。

3. 相互作用

他の薬剤との相互作用は、可能な全ての組み合わせについて検討されているわけではない。他剤による抗凝固療法施行中に本剤を使用する場合や、本剤の使用中に新たに他剤を併用したり、休薬したりする場合には、凝固能の変動に注意すること。

〔併用注意〕(併用に注意すること)

製 剤 名	臨床症状・措置方法	機序・危険因子
ワルファリンカリウム	本剤の作用を増強することがある。	ワルファリンカリウム服用中の患者においては、凝固因子の産生が抑制されている。
ヘパリン、低分子ヘパリン ダルテパリンナトリウム ヘパリンカルシウム ヘパリンナトリウム 等	本剤の作用を増強することがある。	ヘパリンはアンチトロンビン等を介して凝固系プロテアーゼを阻害する。
たん白分解酵素阻害剤 メシル酸ナファモスタット メシル酸ガベキサート アプロチニン	本剤の作用を減弱するおそれがある。	活性化プロテインCはたん白分解酵素であり、その阻害剤により活性を低下させる。

4. 副作用

総症例283例における副作用及び臨床検査値異常の発現率は20.5%であり、主なものはAST (GOT) 上昇7件 (2.5%)、ALT (GPT) 上昇6件 (2.1%)、頭痛5件 (1.8%)であった。(承認時)

次のような症状があらわれた場合には、減量、休薬等の適切な処置を行うこと。

	1～5%未満	1%未満
肝 臓	AST (GOT) 上昇、ALT (GPT) 上昇、ALP上昇、総ビリルビン上昇	LAP上昇、肝障害
血 液		好酸球増多、白血球減少、ヘモグロビン量低下、ヘマトクリット値減少、出血、赤血球減少
腎 臓	BUN上昇	腎機能障害、尿酸低下、クレアチニン上昇
泌尿器		血尿、尿潜血
消化器		嘔気・嘔吐
心 臓		動悸、心室性期外収縮
体 液 電解質		カリウム上昇、クロル上昇
脂 質 たん白質 代 謝		総コレステロール低下、総たん白質減少、トリグリセライド上昇
その他	頭痛	倦怠感、熱感、注射部違和感、胸内苦悶



5. 高齢者への投与

一般に高齢者では生理機能が低下しているため、患者の状態を観察しながら慎重に投与すること。

6. 妊婦、産婦、授乳婦等への投与

妊婦又は妊娠している可能性のある婦人には、治療上の有益性が危険性を上回ると判断される場合にのみ投与すること。

〔妊娠中の投与に関する安全性は確立していない。本剤の投与によりヒトパルボウイルスB19の感染の可能性を否定できない。感染した場合には胎児への障害（流産、胎児水腫、胎児死亡）が起こる可能性がある。〕

7. 小児等への投与

低出生体重児、新生児、乳児、幼児又は小児に対する安全性は確立していない。〔使用経験がない。〕

8. 適用上の注意

調製時：

(1)通常5%ブドウ糖液、生理食塩液、電解質液等と混合して点滴静脈内投与する。

(2)本剤を溶解後、輸液に加える際、汚染に注意すること。

投与時：

(1)溶解時に不溶物の認められるものは使用しないこと。

また、一度溶解したものは速やかに使用すること。

なお、使用後の残液は再使用しないこと。

(2)5%ブドウ糖液、生理食塩液、電解質液等の輸液以外の、他の製剤と混注しないこと。

9. その他の注意

経口避妊薬服用者は活性化プロテインC不応症になり易いことが報告されており、経口避妊薬服用者への本剤の投与には注意を要する。

【薬物動態】<sup>1)</sup>

健康成人男子を対象に薬物動態試験を実施した結果、静脈内投与（60単位/kg）の3例では、血漿中活性化プロテインC濃度の半減期はα相：8.8分、β相：71.5分であった。また、点滴静脈内投与（37.5単位/kg/3時間）の3例では、投与開始後1時間ではほぼ定常状態に達し、定常状態濃度は投与前に対して14.0（±1.1）ng/mL上昇した。

【臨床成績】<sup>2)</sup>

先天性プロテインC欠乏症に起因する深部静脈血栓症及び肺血栓塞栓症患者に本剤200～300単位/kgを24時間点滴静脈内投与（3～6日）した結果、本剤の有効率は次のとおりであった。

1日投与量 (単位/kg)	深部静脈血栓症	肺血栓塞栓症 <sup>注2)</sup>
200	著明改善2例 (計2例)	—
300	著明改善1例 中等度改善1例 軽度改善1例 (計3例)	中等度改善1例 軽度改善1例 (計2例)
計	中等度改善以上 4/5例 (80.0%)	中等度改善以上 1/2例 (50.0%)

注2) 全て深部静脈血栓症との合併症である

【薬効薬理】

1. 抗凝固作用<sup>3)</sup>

本剤は、トロンビンにより活性化されたヒト血被凝固第V因子（FVa）及び第VIII因子（FVIIIa）を選択的に不活化することにより、抗凝固作用を示した。両因子の不活化はリン脂質の存在下でのみ認められ、コファクターであるプロテインSで促進された（in vitro）。

本剤は活性体であるため、トロンボモジュリンに依存せず、作用を直接発現する。本剤のFVa、FVIIIa不活化による抗凝固作用は、酸性リン脂質が存在する血栓形成局所において特異的に発現することが示唆された。

2. 血小板凝集抑制作用<sup>4)</sup>

本剤は、血小板におけるトロンビン生成を抑制することにより、ヒト血小板凝集抑制作用を示した（in vitro）。

3. 線溶亢進作用<sup>5)</sup>

本剤は、PAI-1活性の阻害能を有しt-PA活性を保持することにより線溶亢進作用を示した（in vitro）。

4. 深部静脈血栓症に対する作用<sup>6)</sup>

本剤は、マウスの下大静脈結紮による深部静脈血栓モデルにおいて、用量依存的に抗凝固作用を示し血栓形成を抑制した（in vivo）。

【取扱い上の注意】

〔記録の保存〕

本剤は特定生物由来製品に該当することから、本剤を使用した場合は、医薬品名（販売名）、その製造番号又は製造記号（ロット番号）、使用年月日、使用した患者の氏名、住所等を記録し、少なくとも20年間保存すること。

【承認条件】

今回提出された臨床試験成績は、収集された症例数、評価に用いられた判定基準等の点から、必ずしも十分なものとはいえない。今後、本剤の有効性及び安全性について、提出された市販後調査計画の概要を踏まえて、十分な市販後調査を実施し、その結果を再審査の申請資料として提出すること。

【包装】

2,500単位 1バイアル

溶剤（日局注射用水）5mL添付

溶解液注入針（溶解移注針）添付

【主要文献】

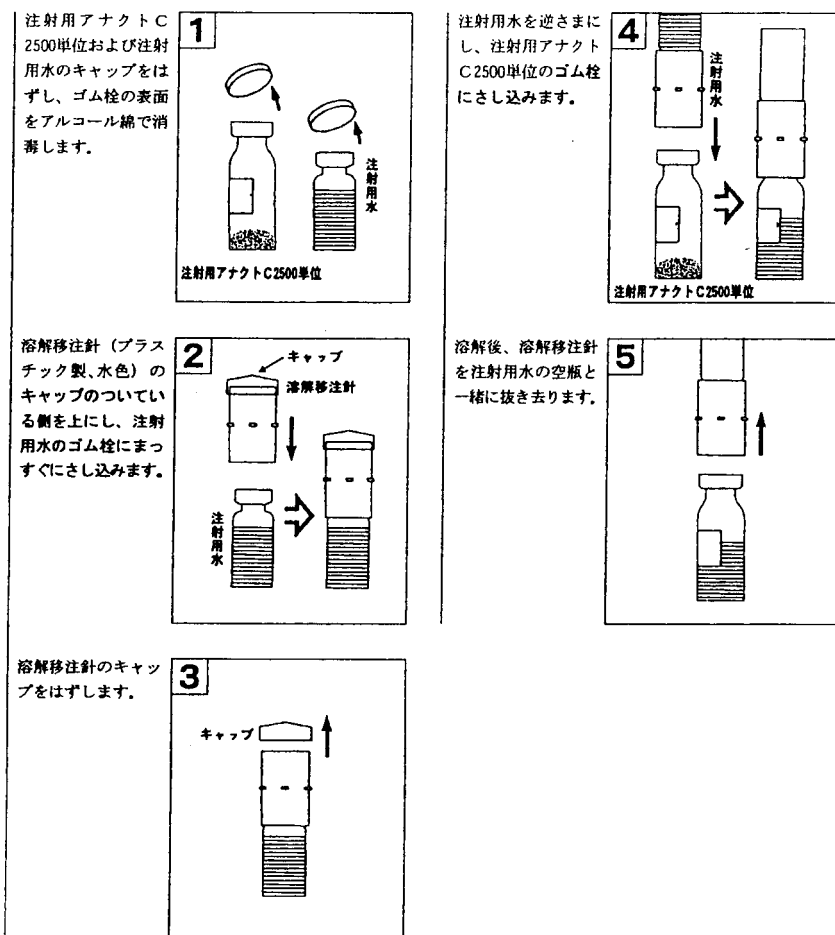
1. 天本敏昭ほか：新薬と臨床,47(4),391(1998)
2. 齋藤英彦ほか：新薬と臨床,47(5),718(1998)
3. 小林英哲ほか：医薬品研究,25(2),1081(1994)
4. Komoriya, K., et al: Thromb. Res., 67,705(1992)
5. 青木保典ほか：帝人株式会社生物医学総合研究所報告(1996)

【文献請求先】

財団法人 化学及血清療法研究所 営業管理部学術第一課  
〒860-8568 熊本市大塚一丁目6番1号  
☎096(345)6500

## 【溶解方法】

製剤バイアルは陰圧となっているため、必ず下記の順序に従って溶解すること。



この製品は献血血液から製造されています。

製造元・販売  
 **化血研** 獣化学及血清療法研究所  
 熊本市大塚一丁目6番1号

貯 法: 10℃以下に凍結を避けて保存  
 有効期間: 自家試験合格の日から2年  
 (最終有効年月日は容器及び外箱に表示)

日本標準商品分類番号
876343

承認番号	20300AMZ00763
薬価収載	1991年11月
販売開始	1992年4月
再審査結果	2002年9月

特定生物由来製品  
 指定医薬品

血漿分画製剤

# ノバクト<sup>®</sup>M

生物学的製剤基準  
 乾燥濃縮人血液凝固第Ⅸ因子

## Novact<sup>®</sup>M

献血

本剤は、貴重なヒト血液を原材料として製剤化したものである。有効成分及び添加物としてヒト血液由来成分を含有しており、原材料となったヒト血液を採取する際には、問診、感染症関連の検査を実施するとともに、製造工程における一定の不活化・除去処理などを実施し、感染症に対する安全対策を講じているが、ヒト血液を原材料としていることによる感染症伝播のリスクを完全に排除することはできないため、疾病の治療上の必要性を十分に検討の上、必要最小限の使用にとどめること。(「使用上の注意」の項参照)

【組成・性状】

※※1. 組成

※ 本剤を添付の溶剤(日本薬局方注射用水)で溶解したとき、1mL中の組成は下記のとおりである。

成 分		溶解後 1 mL中の 含 有 量
有効成分	血液凝固第Ⅸ因子	50単位
添 加 物	人血清アルブミン	20mg
	クエン酸ナトリウム	5.9mg
	グリシン	5 mg
	塩化ナトリウム	7 mg

本剤の有効成分である血液凝固第Ⅸ因子及び添加物の人血清アルブミンは、ヒトの血液(採血国: 日本、採血方法: 献血)を原材料としている。また、本剤は製造工程において、マウスハイブリドマ細胞株由来成分(抗血液凝固第Ⅸ因子モノクローナル抗体)及びブタの腸粘膜由来成分(ヘパリンナトリウム)を使用している。

なお、抗血液凝固第Ⅸ因子モノクローナル抗体産生の培養培地成分としてウシの膵臓由来成分(インスリン)を使用している。

2. 製剤の性状

本剤は白色ないし淡黄色の凍結乾燥製剤であり、添付の溶剤で溶解したとき無色ないし淡黄色のほとんど澄明な液剤となる。

pH: 6.4~7.4

浸透圧比: 約1(生理食塩液に対する比)

【効能・効果】

血液凝固第Ⅸ因子欠乏患者の出血傾向を抑制する。

【用法・用量】

本剤を日本薬局方注射用水5mL(250単位製剤)、10mL(500単位製剤)あるいは20mL(1,000単位製剤)で溶解し、通常1回血液凝固第Ⅸ因子500~1,000単位を静脈内に緩徐に注射する。用量は、年齢・症状に応じ適宜増減する。

【用法・用量に関する使用上の注意】

1分間に5mLを超えない速度でゆっくり注入すること。

【使用上の注意】

1. 慎重投与(次の患者には慎重に投与すること)

- (1) 溶血性・失血性貧血の患者〔ヒトパルボウイルスB19の感染を起こす可能性を否定できない。感染した場合には、発熱と急激な貧血を伴う重篤な全身症状を起こすことがある。〕
- (2) 免疫不全患者・免疫抑制状態の患者〔ヒトパルボウイルスB19の感染を起こす可能性を否定できない。感染した場合には、持続性の貧血を起こすことがある。〕

2. 重要な基本的注意

【患者への説明】

本剤の使用にあたっては、疾病の治療における本剤の必要性とともに、本剤の製造に際しては感染症の伝播を防止するための安全対策が講じられているものの、ヒトの血液を原材料としていることに由来する感染症伝播のリスクを完全に排除することができないことを患者又はその家族等に対して説明し、その理解を得るよう努めること。

- (1) 本剤の原材料となる献血者の血液については、HBs抗原、抗HCV抗体、抗HIV-1抗体、抗HIV-2抗体及び抗HTLV-I抗体陰性で、かつALT(GPT)値でスクリーニングを実施している。さらに、プールした試験血漿については、HIV、HBV及びHCVについて核酸増幅検査(NAT)を実施し、適合した血漿を本剤の製造に使用しているが、当該NATの検出限界以下のウイルスが混入している可能性が常に存在する。その後の製造工程であるイムノアフィニティクロマトグラフィー及びイオン交換処理ならびにウイルス除去膜処理により原材料由来のウイルスを除去し、さらに65℃96時間の乾燥加熱処理を施した製剤であるが、投与に際しては、次の点に十分注意すること。

- 1) 血漿分画製剤の現在の製造工程では、ヒトパルボウイルスB19等のウイルスを完全に不活化・除去することが困難であるため、本剤の投与によりその感染の可能性を否定できないので、投与後の経過を十分に観察す

- ること。
- 2) 肝炎ウイルス等のウイルス感染の危険性を完全には否定できないので、観察を十分に行い、症状があらわれた場合には適切な処置を行うこと。
- 3) 現在までに本剤の投与により変異型クロイツフェルト・ヤコブ病 (vCJD) 等が伝播したとの報告はない。しかしながら、製造工程において異常プリオンを低減し得るとの報告があるものの、理論的なvCJD等の伝播のリスクを完全には排除できないので、投与の際には患者への説明を十分に行い、治療上の必要性を十分検討の上投与すること。
- (2) アナフィラキシー様症状を起こすことがあるので、観察を十分に行うこと。
- (3) 頻回輸注した場合、ときに患者の血清中に血液凝固第IX因子に対するインヒビターが発生するおそれがあるので、観察を十分に行うこと。
- (4) 大量投与によりDICを起こす危険性を完全には否定できないので観察を十分に行うこと。
- (5) 本剤は「乾燥濃縮人血液凝固第IX因子」であり、「乾燥人血液凝固第IX因子複合体」ではないので、バイパス効果は期待できない。そのため血液凝固第VIII因子に対するインヒビターを有する患者の出血に対しては使用しないこと。
- (6) マウスたん白質に対して過敏症の患者に投与する場合は観察を十分に行うこと。また、同たん白質に対する抗体を産生する可能性を完全には否定できないので、観察を十分に行うこと。

3. 副作用

総症例104例中1例(0.96%)に3件副作用が認められ、その内訳は蕁麻疹、嘔吐、顔面潮紅であった。

(再審査終了時)

(1) 重大な副作用

アナフィラキシー様症状：アナフィラキシー様症状(頻度不明)を起こすことがあるので、観察を十分に行い、異常が認められた場合には投与を中止し、適切な処置を行うこと。

(2) その他の副作用

	頻 度 不 明
過 敏 症 <sup>㉞</sup>	発熱、顔面潮紅、蕁麻疹等
そ の 他	悪寒、腰痛

注) このような場合には投与を中止し、適切な処置を行うこと。

4. 高齢者への投与

一般に高齢者では生理機能が低下しているので、患者の状態を観察しながら慎重に投与すること。

5. 妊婦、産婦、授乳婦等への投与

妊婦又は妊娠している可能性のある婦人には、治療上の有益性が危険性を上回ると判断される場合にのみ投与すること。〔妊娠中の投与に関する安全性は確立していない。本剤の投与によりヒトパルボウイルスB19の感染の可能性を否定できない。感染した場合には胎児への障害(流産、胎児水腫、胎児死亡)が起こる可能性がある。〕

6. 適用上の注意

- (1) 調 製 時：溶解した液を注射器に移す場合、ろ過網のあるセットを用いること。
- (2) 投 与 時：1) 溶解時に沈殿の認められるものは投与しないこと。また、一度溶解したものは1時間以内に使用すること。  
なお、使用後の残液は再使用しないこと。  
2) 他の製剤と混注しないこと。
- (3) 家庭療法時：1) 子供の手の届かないところへ保管すること。

2) 使用済の医療用具等の処理については、主治医の指示に従うこと。

【薬物動態】

全国14施設、20症例の血友病B患者を対象とした臨床試験において、本剤の生体内回収率は84.3%、血中半減期は24.0時間であった<sup>1)</sup>。

【臨床成績】

血友病B患者を対象とした長期多回投与の臨床試験において、本剤の有効率は次のとおりであった<sup>1)</sup>。

施設数	症例数	出血回数	投与回数	有効率(%)
21	21	223	263	222/223(99.6)

【薬効薬理】

本剤をin vitroで第IX因子欠乏血漿に添加し、活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)で凝固時間を測定した。その結果から、本剤はin vitroで凝固補正効果を持つことが確認された。

【取扱い上の注意】

【記録の保存】

本剤は特定生物由来製品に該当することから、本剤を使用した場合は、医薬品名(販売名)、その製造番号又は製造記号(ロット番号)、使用年月日、使用した患者の氏名、住所等を記録し、少なくとも20年間保存すること。

【包 装】

- 1 バイアル
- 250単位 (日本薬局方注射用水5mL、溶解液注入針、フィルトレーン付シリンジ、翼状針、アルコール綿、救急絆創膏添付)
- 500単位 (日本薬局方注射用水10mL、溶解液注入針、フィルトレーン付シリンジ、翼状針、アルコール綿、救急絆創膏添付)
- 1000単位 (日本薬局方注射用水20mL、溶解液注入針、フィルトレーン付シリンジ、翼状針、アルコール綿、救急絆創膏添付)

【主要文献】

- 1. 齋藤英彦ほか：基礎と臨床 24(15)8044,1990
- 2. 安部 英ほか：厚生省血液研究事業血液凝固因子及び血液凝固阻害物質に関する研究，昭和56年度研究報告

【文献請求先】

財団法人 化学及血清療法研究所 営業管理部学術第一課  
〒860-8568 熊本市大塚一丁目6番1号  
☎096(345)6500

【参考】

血友病Bの各種出血に対する投与基準は次のとおりである<sup>2)</sup>。

血友病B患者出血時の補充療法基準

出血部位及び重症度	初回投与より止血まで			止血後の維持				
	血中因子濃度目標レベル(%)	1回投与量(U/kg)	1日投与回数(回/日)	血中因子濃度目標レベル(%)	1回投与量(U/kg)	1日投与回数(回/日)	投与期間(日)	
頭蓋内出血	60以上	60以上	2	30	30	1	7	
筋肉内出血 吐血・下血 咳血 血尿 性創・性傷 穿刺	重症	60	60	2	30	30	1	4
	軽症	30	30	1	15	15	1	2
関節内出血 歯肉出血 口腔内咬傷 鼻出血 表在性創傷 打撲	重症	30	30	1				
	軽症	15	15	1				

1. 本基準は第IX因子インヒビター保有患者には適用されない。
2. 高度の肝障害その他で血栓傾向のある患者に大量投与する場合、血栓症又はDIC発症について注意深く観察し、必要に応じて減量する。

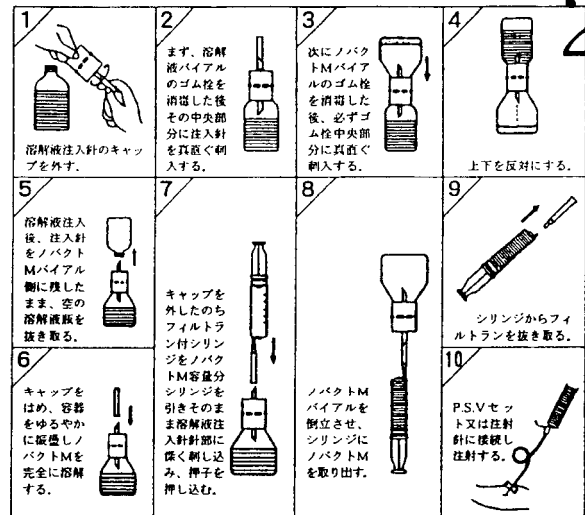
血友病B患者手術時の補充療法基準

	第1日		第2～3日	第4～7日	第8～14日	
	術前	術後12時間				
大手術	目標レベル (%)	75	75	40～75	40～75	40
	投与量 (U/kg)	75	75	50	50	40
	回数 (回/日)	1	1	2	1	1
小手術	目標レベル (%)	60	40～60	40～60	20～30	
	投与量 (U/kg)	60	40	40	20	
	回数 (回/日)	1	1	1～2	1	
抜歯	目標レベル (%)	30		20*		
	投与量 (U/kg)	30		20*		
	回数 (回/日)	1		1*		

\*抜歯後局所の出血がみられる場合補充療法を行う。

1. 手術、特に大手術の際は予め試験投与により、血中回収率を測定する。
2. 手術における補充療法の目的は術前、術後にかけて十分な血中因子レベルを維持することにある。基準投与量で目標レベルに到達しない場合は、投与量を増す。
3. 手術が長時間に及び多量の失血がある場合は、必要に応じて手術中又は手術直後に追加投与し、術前の目標レベルに達するようにする。
4. 手術侵襲の大小、術創の性状、術後の経過によって投与期間を適宜延長させる。
5. 高度肝障害その他で血栓傾向のある患者に大量投与する場合に注意を要する。

【溶解方法】



2 2

この製品は献血血液から製造されています。

製造元 販売 化血研 製薬化学及血清療法研究所 熊本市大塚一丁目6番1号