sia can develop, with an absence of circulating reticulocytes and giant pronormoblasts in the bone marrow, without maturing normoblasts. Hydrops fetalis from transplacental infection and usually transitory hemophagocytic syndrome are other clinical disorders caused by B19 [3].

Parvovirus B19 transmission by blood products and plasma derivates, such as albumin, clotting factor concentrates, and intravenous immunoglobulin (IVIG) has been repeatedly demonstrated [4]. Transmissibility in coagulation products has occurred among patients who received heat-treated, pasteurized, monoclonally purified and solvent-detergent–treated concentrates [5]. Infection with B19 due to transfusion with cellular blood products is a rare event, but it has been reported twice with red blood cells and once with platelets [6-8]. We report a case of a myasthenic patient with pure red cell aplasia due to a parvovirus B19 infection.

CLINICAL CASE DESCRIPTION

In 1997, a 29-year-old woman complained of intermittent speaking difficulty (dysarthria). In April 1998, 10 days before the full-term delivery of her second healthy baby, more severe symptoms appeared, such as facial nerve and oro-pharyngeal deficit and weakness of the arms and legs. Ten days after delivery, the patient was admitted to a hospital for a typical myasthenic crisis with severe weakening of respiratory muscles, requiring a respirator to assist ventilation. Treatment was started with 4 consecutive plasma exchanges and administration of corticosteroids and cholinesterase inhibitors (pyridostigmine bromide) with marked clinical improvement. In August 1998, the patient withdrew from medical therapy, which led to a worsening of symptoms and a new hospitalization in a different institution. There she was treated with 5 therapeutic plasma exchanges using albumin as replacement fluid. Medical treatment was started again. On August 31, she had a deep vein thrombosis, treated with IV heparin. On September 3, she was admitted to the Neurology Department of our hospital. At admission, the patient had normochromic-normocytic anemia (hemoglobin [Hgb], 97 g/L), with normal platelet and white blood cell counts.

Two weeks later, anemia worsened and was associated with thrombocytopenia (Hgb, 81 g/L; platelets, 57×10^9/L) (Figure 1). Schistocytes were absent. A diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia was made. Heparin tapering was started, and the platelet count improved. A few days later, since anemia was still severe (Hgb, 80 g/L) and of an aregenerative type with an absence of reticulocytes, a bone marrow aspirate was performed. This showed many moderate hypercellular marrow particles and an increased number of megakaryocytes. An erythroid series was markedly hypoplastic with complete maturative arrest. The only visible erythroid precursors were giant pronormoblasts with vacuolated deep basophilic cytoplasm, sometimes grouped in clusters simulating metastatic cells (Figures 2 and 3). Anemia with severe reticulocytopenia and morphology of bone marrow suggested a diagnosis of pure erythroblastopenia due to parvovirus B19 infection, which was confirmed by positive tests for IgM and IgG anti-B19 virus. Increased megakaryocytes tended to confirm that thrombocytopenia was heparin-induced. The patient was treated with immune globulin (0.4 g/kg for 4 days). Reticulocytosis appeared on September 30 (202×10^9/L; normal values, 30-90 $\times 10^9$/L). Anemia recovered slowly (Hgb, 92 g/L at discharge), and thrombocytopenia completely regressed. The patient was admitted again to

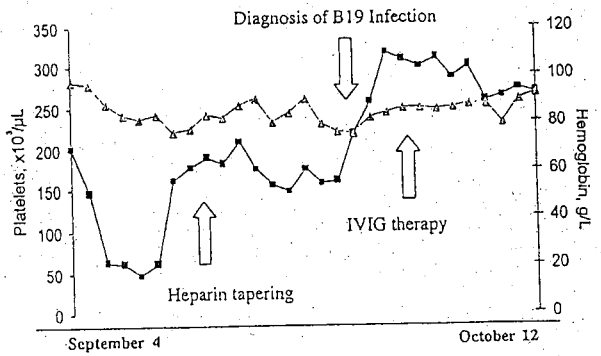

FIGURE 1. Hematological values and clinical course of the patient from admission (September 4, 1998) to discharge (October, 12 1998). Triangle indicates platelet count; square, hemoglobin concentration.

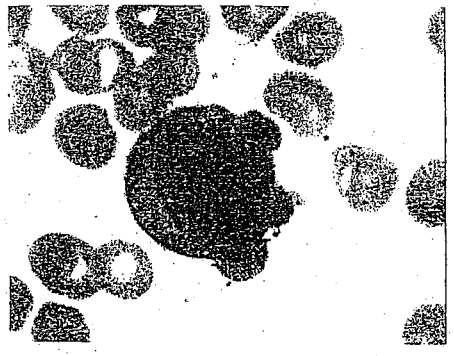

FIGURE 2. Basophilic giant pronormoblast with pseudopodia or "dog ears."

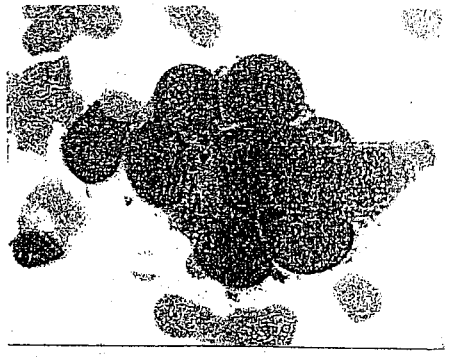

FIGURE 3. A cluster of pronormoblasts with maturative arrest.

the hospital in May 1999 for surgical resection of a thymoma. At that time, her full blood count was normal, IgM anti-B19 was negative, and IgG anti-B19 was still positive.

DISCUSSION

We described a case of pure red cell aplasia caused by parvovirus B19 in a patient with myasthenia gravis treated with plasma exchanges using albumin, corticosteroids, and cholinesterase inhibitors.

Parvovirus B19 has a particular tropism for erythroid progenitors. The cellular receptor for B19 is erythrocyte P antigen, a globoside that consists of a long-chain fatty acid on a ceramide back-bone structure with 4 sugar residues ending with terminal N-acetyl galactosamine. The P antigen is a common erythrocyte and erythroblast antigen, and it is expressed in almost all subjects. People who lack the P antigen are resistant to infection [1]. In this case, the patient had P_1 phenotype, which is the most common phenotype among Caucasians (79%) and Africans (94%). P_2 phenotype is more common among Asian people, such as Cambodians and Vietnamese. [9].

P antigen is also expressed on megakaryocytes, endothelial cells, synovium, villous trophoblast cells of placental tissues, fetal liver, and heart cells. B19 infection may also be responsible for thrombocytopenia, and megakaryocytes may be lysed by restricted expression of viral proteins in the absence of viral propagation [10]. In this case, thrombocytopenia was heparin-induced, confirmed by an increase of the peripheral platelet count when heparin tapering was started (Figure 1). Heparin-induced thrombocytopenia is more often reported after orthopedic, cardiac, or vascular surgery, but it may develop in any patient exposed to unfractionated heparin or low molecular weight heparin [11]. Furthermore, the patient's bone marrow showed increased megakaryocytes, which tended to confirm that thrombocytopenia was heparin induced.

After binding with P antigen, the virus enters the targeted cells, probably because of the VP1 phospholipase activity, and starts to synthesize viral components. It has been demonstrated that B19 is a potent inhibitor of erythroid cell differentiation, and it is cytotoxic for erythroid precursors. It acts by inducing apoptosis through the activation of the caspase pathway or direct lytic effect on erythroid cells. Apoptosis is mediated by NS1 expression, which induces activation of caspase-3, caspase-6, and caspase-8 in a cellular model [12,13].

The virus is also responsible for a cytopathic effect on cells causing a maturative arrest in the erythroid cell line. In smears from bone marrow aspirate, the pathognomonic cell for B19 infection is the giant proerythroblast, which is a large cell, from 25 to 32 µm in diameter, with a high nucleo-cytoplasmic ratio; the nucleus is round and it has a fine and uncondensed chromatin pattern with irregular, indistinct purple-colored inclusions. A giant proerythroblast has a dark blue vacuolated cytoplasm with small broad-based cytoplasmic pseudopodia, named "dog-ear" projections. Sometimes they are grouped in clusters simulating metastatic cells [14]. As shown in Figures 2 and 3, the patient's bone marrow was characterized by the presence of large numbers of these immature erythroid cells. This accounts for anemia with severe reticulocytopenia, sometimes requiring red blood cell transfusions.

In patients with chronic hemolytic disorders, such as sickle cell disease and spherocytosis, B19 may cause transient aplastic crisis characterized by aregenerative acute anemia, sometimes associated with pancytopenia. Persisting B19 infection can occur in a wide variety of conditions, including congenital immunodeficiencies, HIV infection, lymphoproliferative disorders, and transplantation. In these cases, patients may have chronic pure red cell aplasia and more

rarely pancytopenia [15]. In pregnant women, parvovirus B19 may be transmitted to the fetus and may lead to miscarriage or hydrops fetalis [16].

Although the presence of giant proerythroblasts is suggestive of B19 infection, the diagnosis should be made by serological detection of antibodies or molecular detection of viral components. Serological determination of antibodies may be performed by enzyme-linked immunosorbent assays that are able to identify IgM and IgG antibodies. IgM antibodies remain detectable for 2 or 3 months following the infection, as opposed to IgG antibodies which appear 2 weeks after the infection but persist for life. Immunocompromised patients sometimes are not able to produce IgM, and in these cases molecular tests, such as direct hybridization and gene-amplification methods, may be helpful to confirm a clinical suspicion [2].For our patient, tests gave positive results for IgG and IgM at the time of the diagnosis. Some months later, because of a further admission, her test results for IgM anti-B19 were negative, while those for IgG anti-B19 were still positive. At that time, molecular tests were not performed.

In children and immunocompetent adults, B19 infection does not require any treatment. In patients with immunodeficiencies or pure red cell aplasia, treatment with IVIG may be helpful and should be associated with discontinuing immunosuppressive drugs. Generally a 5- or 10-day course of IVIG (0.4 g/kg of body weight) causes a rapid virus elimination associated with reticulocytosis and elevation of Hgb concentration [17].

B19 may be transmitted by respiratory droplets, but secondary infection among households and nosocomial infection have been described [18,19]. B19 transmission by blood products and derivates, such as IVIG [20], solvent-detergent–treated pooled plasma [21], and clotting factor concentrates [5] has been repeatedly demonstrated, even after viral inactivation methods.

B19 is an envelope-free virus and therefore resistant to solvent-detergent treatment. This treatment is effective for clearance of HBV, HCV, and HIV, but it is not effective for HAV and B19, both of which lack the envelope. B19 resistance to heat is controversial. The virus is relatively heat stable [21], but Blümel et al [22] showed that pasteurization for 10 hours at 60°C rapidly inactivates B19. Although human B19 DNA content does not reflect infectivity, we cannot exclude the possibility that blood derivates, such as albumin, clot factors, and immune globulin may be infectious. In our patient, we could not confirm whether an albumin-derived infection combined with a concomitant immunocompromised condition due to myasthenia and immunosuppressive treatment was responsible for the disease. Blood component B19 infection is still an unresolved problem. Many strategies such as new methods for viral inactivation and discarding positive-B19 units [23-25] may help to increase blood product safety.

REFERENCES

1. Chisaka H, Morita E, Yaegashi N, Sugamura K. Parvovirus B19 and the pathogenesis of anaemia. *Rev Med Virol.* 2003;13:347-359.
2. Heegaard ED, Brown KE. Human parvovirus B19. *Clin Microbiol Rev.* 2002;15:485-505.
3. Young NS, Brown KE. Parvovirus B19. *N Engl J Med.* 2004;350:586-597.
4. Schmidt I, Blümel J, Seitz H, Willkommen H, Löwer J. Parvovirus B19 DNA in plasma pools and plasma derivatives. *Vox Sang.* 2001;81:228-235.
5. Yee TT, Cohen BJ, Pasi KS, et al. Transmission of symptomatic parvovirus B19 infection by clotting factor concentrate. *Br J Haematol.* 1996;93:457-459.
6. Jordan J, Tiangco B, Kiss J, et al. Human parvovirus B19: prevalence of viral DNA in volunteer blood donors and clinical outcomes of transfusion recipients. *Vox Sang.* 1998;75:97-102.
7. Cohen BJ, Beard S, Knowles WA, et al. Chronic anemia due to parvovirus B19 infection in a bone marrow transplant patient after platelet transfusion. *Transfusion.* 1997;37:947-952.
8. Zanella A, Rossi F, Cesana C, et al. Transfusion-transmitted human parvovirus B19 infection in a thalassemic patient. *Transfusion.* 1995;35:769-772.
9. Reid ME, Lomas-Francis C. *The Blood Group Antigen FactsBook.* 2nd ed. New York, NY: Academic Press; 2004.
10. Srivastava A, Bruno E, Briddell R, et al. Parvovirus B19-induced perturbation of human megacaryocytopoiesis in vitro. *Blood.* 1990;76:1997-2004.
11. Bartholomew JR. The incidence and clinical features of heparin-induced thrombocytopenia. *Semin Hematol.* 2005;42:S3-S8.
12. Moffat S, Yaegashi N, Tada K, et al. Human parvovirus B19 nonstructural (NS1) protein induces apoptosis in erythroid lineage cells. *J Virol.* 1998;74:3018-3028.
13. Sol N, Le Junter J, Vassias I, et al. Possible interactions between the NS-1 protein and tumor necrosis factor alpha pathways in erythroid cell apoptosis induced by human parvovirus B19. *J Virol.* 1999;73:8762-8770.
14. Koduri PR. Novel cytomorphology of the giant proerythroblasts of parvovirus B19 infection. *Am J Hematol.* 1998;58:95-99.
15. Fisch P, Handgretinger R, Schaefer HS. Pure red cell aplasia. *Br J Haematol.* 2000;111:1010-1022.
16. Xu J, Raff TC, Muallem NS, Neubert AG. Hydrops fetalis secondary to parvovirus B19 infections. *J Am Board Fam Pract.* 2003;16:63-68.
17. Mouthon L, Guillevin L, Tellier Z. Intravenous immunoglobulins in autoimmune- or parvovirus B19-mediated pure red-cell aplasia. *Autoimmun Rev.* 2005;4:264-269.
18. Chorba TL, Coccia P, Holman RC, et al. The role of parvovirus B19 in aplastic crisis and erythema infectiosum (fifth disease). *J Infect Dis.* 1986;154:383-393.
19. Bell LM, Naides SJ, Stoffman P, Hodinka RL, Plotkin SA. Human parvovirus B19 infection among hospital staff members after contact with infected patients. *N Engl J Med.* 1989;321:485-491.
20. Hayakawa F, Imada K, Towatari M, Saito H. Life-threatening

human parvovirus B19 infection transmitted by intravenous immune globulin. *Br J Haematol.* 2002;118:1187-1189.
21. Koenigbauer UF, Eastlund T, Day JW. Clinical illness due to parvovirus B19 infection after infusion of solvent detergent-treated pooled plasma. *Transfusion.* 2000;40:1203-1206.
22. Blümel J, Schmidt I, Willkommen H, Löwer J. Inactivation of parvovirus B19 during pasteurization of human serum albumin. *Transfusion.* 2002;42:1011-1018.
23. Gallinella G, Moretti E, Nardi G, et al. Analysis of B19 Virus contamination in plasma pools for manufacturing by using a competitive polymerase chain reaction assays. *Vox Sang.* 2002;83:324-331.
24. Hitzler WE, Runkel S. Prevalence of human parvovirus B19 in blood donors as determined by a haemagglutination assay and verified by the polymerase chain reaction. *Vox Sang.* 2002;82:18-23.
25. Aubin JT, Defer C, Vidaud M, Maniez Montreuil M, Flan B. Large-scale screening for human parvovirus B19 DNA by PCR: application to the quality control of plasma for fractionation. *Vox Sang.* 2000;78:7-12.

別紙様式第2-1

No. 13

医薬品 研究報告 調査報告書

識別番号・報告回数			報告日	第一報入手日	新医薬品等の区分	総合機構処理欄
				2008. 9. 18	該当なし	
一般的名称	解凍人赤血球濃厚液		研究報告の公表状況	Kantele A, Marti H, Felger I, Müller D, Jokiranta TS. Emerg Infect Dis. 2008 Sep;14(9):1434-6.	公表国 フィンランド	
販売名(企業名)	解凍赤血球濃厚液「日赤」(日本赤十字社) 照射解凍赤血球濃厚液「日赤」(日本赤十字社) 解凍赤血球-LR「日赤」(日本赤十字社) 照射解凍赤血球-LR「日赤」(日本赤十字社)					

研究報告の概要

○マレーシアから帰国したヨーロッパ人旅行者におけるサルマラリア

2007年にマレー半島でフィンランドの旅行者が*Plasmodium knowlesi*に感染した。

患者は53歳男性で、マレー半島を4週間旅行してフィンランドに帰国した3日後に高熱を発症し、翌日受診した。患者ははじめの2週間クアラルンプールに滞在し、周辺地域を数日間旅行した。その後自動車で北西の海岸部に向かい5日間イポー近くのジャングルで過ごした。この間蚊帳のない家に泊まり防虫剤は使用していなかったが、蚊に刺されたという報告はなかった。最後の週はランカウイ・ビーチの高級ホテルに滞在していた。

血液塗抹検査でマラリア原虫が陽性となり、入院後塩酸キニーネとドキシサイクリンを合計10日間投与された。回復後12ヶ月間のフォローアップ期間中に再発は見られなかった。PCR産生物のヌクレオチド配列解析を行ったところGenBankに登録されていた*P. knowlesi*と一致した。

*P. knowlesi*は通常サルにマラリアを引き起こす寄生虫であるが、ヒトマラリアを引き起こす可能性がある第5のマラリア原虫(*Plasmodium* species)とされている。当該疾患はヒトの生命を脅かす恐れがあり、臨床医や臨床検査技師は、旅行者の当該病原体についての認識を高めるべきである。

使用上の注意記載状況・その他参考事項等

解凍赤血球濃厚液「日赤」
照射解凍赤血球濃厚液「日赤」
解凍赤血球-LR「日赤」
照射解凍赤血球-LR「日赤」

血液を介するウイルス、細菌、原虫等の感染
vCJD等の伝播のリスク

報告企業の意見	今後の対応
2007年にマレー半島でフィンランドの旅行者が、通常サルにマラリアを引き起こす*Plasmodium knowlesi*に感染し、帰国後に発症したとの報告である。	日本赤十字社では、輸血感染症対策として問診時に海外渡航歴の有無を確認し、帰国(入国)後4週間は献血不適としている。また、マラリア流行地への旅行者または居住経験者の献血を一定期間延期している(1～3年の延期を行うとともに、帰国(入国)後マラリアを思わせる症状があった場合は、感染が否定されるまでの間についても献血を見合わせる)。今後も引き続き、マラリア感染に関する新たな知見及び情報の収集、対応に努める。

(2)

DISPATCHES

Monkey Malaria in a European Traveler Returning from Malaysia

Anu Kantele, Hanspeter Marti, Ingrid Felger, Danila Müller, and T. Sakari Jokiranta

In 2007, a Finnish traveler was infected in Peninsular Malaysia with *Plasmodium knowlesi*, a parasite that usually causes malaria in monkeys. *P. knowlesi* has established itself as the fifth *Plasmodium* species that can cause human malaria. The disease is potentially life-threatening in humans; clinicians and laboratory personnel should become more aware of this pathogen in travelers.

Traditionally, only 4 *Plasmodium* species have been known to cause malaria in humans: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, and *P. malariae*, although >26 *Plasmodium* species are known to circulate among primate populations (*1*). Some of these species have been implicated in symptomatic human malaria after experimental or accidental infection (*2*). Only a few reports of naturally acquired monkey malaria in humans are currently available (*1*,*3*–*9*). The lack of data may be because light microscopy has been used as the sole diagnostic method and an atypical *Plasmodium* species may have been misidentified as one of the 4 traditional *Plasmodium* species causing human malaria.

P. knowlesi was first described in 1931 in a long-tailed macaque imported from Singapore to India; in 1932, *P. knowlesi* was experimentally shown to be infectious to humans (*10*). The first natural infection of *P. knowlesi* in humans was reported in 1965 in a man returning to the United States after a visit to Peninsular Malaysia (*11*). Subsequently, in 1971, there was a report of a presumed natural infection in a citizen of Malaysia (*6*). Despite extensive studies in Malaysia in the 1960s (*2*), no other reports were published on naturally acquired *P. knowlesi* infections in humans until 2004, when Singh et al. studied PCR-negative *P. malariae* cases in the Kapit division in Sarawak, Malaysia (*3*). A different PCR analysis showed that *P. knowlesi* caused 58% of the 208 malaria cases studied. Further cases reported from China (*4*), Thailand (*5*), Philippines (*8*), and Singapore (*12*) show that *P. knowlesi* infections in humans are not found exclusively in Malaysia. Recently, Cox-Singh et al. reported that *P. knowlesi* is widely distributed among inhabitants of Malaysia (*7*).

The Study

A 53-year-old Finnish man was admitted to a local hospital in Finland in March 2007 with fever after 4 weeks of travel in Peninsular Malaysia. He had not taken any antimalarial prophylaxis. In Malaysia, he spent 2 weeks in Kuala Lumpur and made a few day trips to surrounding rural areas. Thereafter, he traveled by car to the northwestern coast and stayed for 5 days in the jungle ≈80 km south of Ipoh. While in this area, he slept in a house without mosquito screens or nets and did not use any repellents; he did not report any mosquito bites. The last week of his travel was spent in the Langkawi Beach area where he stayed at a high-quality hotel. During his trip he occasionally had some minor abdominal problems, but these symptoms subsided spontaneously after his return to Finland. High fever (38.8°C axillary temperature) occurred 3 days after his return to Finland but abated quickly. On the fourth day, the fever returned and he sought medical care at a local hospital. Laboratory tests showed the following results: C-reactive protein 2.0 mg/dL (normal range <1.0 mg/dL), hemoglobin 15.2 g/dL (normal range 13.4–16.7 g/dL), leukocyte count 2.6 × 10⁹/L (normal range 3.4–8.2 × 10⁹/L), and thrombocytes 143 × 10⁹/L (normal range 150–360 × 10⁹/L). Blood smear was positive for *Plasmodium* organisms, and the causative agent was identified as *P. falciparum* with levels of parasitemia <1.0%. The patient was admitted to the hospital and given intravenous (IV) quinine dihydrochloride and oral doxycycline.

On day 2 of the patient's hospital stay, fever returned and he was transferred to the Helsinki University Central Hospital (Department of Infectious Diseases at Aurora Hospital). Blood smears obtained there showed *Plasmodium* parasites that were considered atypical, and the laboratory reported suspicion of a co-infection (*P. falciparum* and *P. malariae*) (Figure). The IV quinine dihydrochloride was replaced with oral quinine hydrochloride, and doxycycline was continued. During treatment, the patient experienced an attack of hypoglycemia (electrocardiogram and blood pressure was normal during this attack), transient mild visual and hearing loss, and transient lymphopenia (a low of 0.46 × 10⁹/L). He received quinine hydrochloride and doxycycline for a total of 10 days.

Because identification of the *Plasmodium* species was difficult, a blood sample was drawn for PCR analysis on day 2 of hospitalization. First, a nested PCR was performed according to a standard protocol with rOval and rFLU2 primers (template DNA purified in Basel from 200 μL of erythrocytes by QIAamp DNA Mini Blood Kit (QIAGEN,

Author affiliations: Helsinki University Central Hospital, Helsinki, Finland (A. Kantele); University of Helsinki, Helsinki (A. Kantele, T.S. Jokiranta); Swiss Tropical Institute, Basel, Switzerland (H. Marti, I. Felger, D. Müller); and Helsinki University Central Hospital HUSLAB, Helsinki (T.S. Jokiranta)

DOI: 10.3201/eid1409.080170

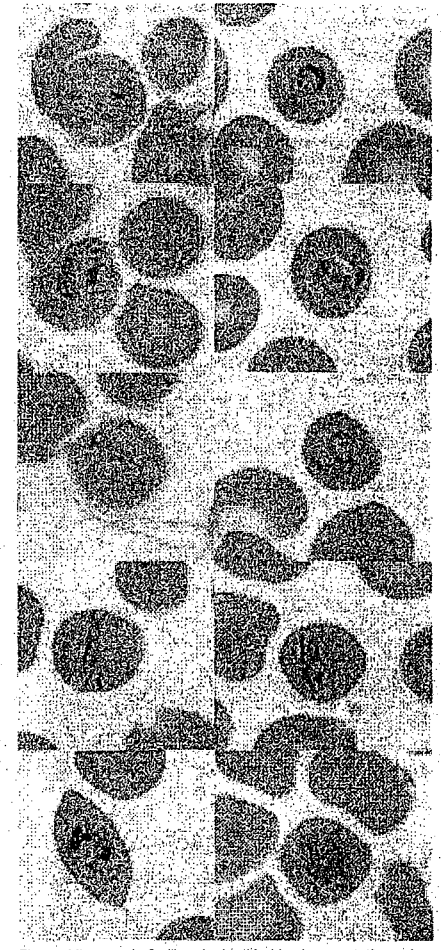

Figure. Microscopic findings in the thin blood smears of a patient with *Plasmodium knowlesi* malaria. Early ring forms are shown in the first row, later trophozoites in the second and third rows, trophozoites resembling band forms in the fourth row, and putative early gametocytes or schizonts in the fifth row. Size of the infected erythrocytes is normal. Antimalarial medications, given 8 hours before the blood shown in the smear was drawn, could have affected morphology. (Original magnification ×1,000.)

Helsinki, Finland) (*13*,*14*), but the reaction did not yield any amplification product. Nested PCR was repeated with an alternative primer pair (rPLU6 and rPLU2) (*14*) derived from a conserved region of the 18S rRNA marker gene, and an amplicon was obtained. Failure of PCR amplification has been reported for some *P. ovale* isolates (*15*); therefore, a *P. ovale* infection was suspected, and the patient was given primaquine phosphate for 14 days as an outpatient to eradicate possible liver hypnozoites. The PCR product was subjected to direct nucleotide sequencing (GenBank accession no. FJ009511) and found to be identical to 2 *P. knowlesi* sequences previously submitted to GenBank, 1 human isolate from Malaysian Borneo (AY327556) and a *Macaca mulatta* isolate from Columbia (U72542). Six other published *P. knowlesi* sequences differ from our sequence only by 1 nucleotide (99% identity). In contrast, a number of differences were seen between our sequence and the *P. ovale* sequences (*15*). The sequence from our case showed only 50% identity to the ovale primer; therefore, we concluded that our patient was infected with *P. knowlesi*. During the 12-month follow-up period, the patient showed no signs of relapse.

Conclusions

We suggest that *P. knowlesi* infection should be considered in malaria patients who have a history of a travel to forested areas in Southeast Asia, especially if *P. malariae* malaria is diagnosed or atypical plasmodia are seen with microscopy. The asexual stages of various species of *P. knowlesi* can easily be misidentified as *P. malariae* in light microscopic examination (Figure) (*3*,*7*,*10*). Because most laboratories diagnose malaria by light microscope examination only, numerous cases of *P. knowlesi* malaria may have been misdiagnosed as ordinary *P. malariae* malaria; monkey malaria may be more widespread among humans than was previously thought. As the disease is potentially dangerous, a proper identification of the malaria species is crucial. If PCR assays for malaria detection are used, PCR primers specific for *P. knowlesi* (*3*) should be included to provide valuable diagnostic information.

P. knowlesi has established itself as the fifth species of *Plasmodium* that causes human malaria (*3*,*7*,*12*). Because the disease is potentially life-threatening in humans, laboratory clinicians and physicians (especially those taking care of travelers) should become more aware of this disease; it is easily misdiagnosed as a less severe form of malaria.

Acknowledgments

We thank the patient for allowing us to publish his case, Heli Siikamäki for helpful discussions, and personnel of the Unit of Parasitology, Helsinki University Central Hospital Laboratory, for recognizing the atypical nature of *Plasmodium* parasites in the patient's thin blood smears.

The research of T.S.J. is financially supported by the Academy of Finland (projects 201506 and 202529), the Helsinki University Central Hospital Funds, and the Sigrid Juselius Foundation; the work of A.K. is supported by the Finnish Medical Foundation and the special Finnish governmental subsidy for health sciences research.

Dr Kantele is an infectious diseases specialist in the Division of Infectious Diseases, Helsinki University Central Hospital. She is also a scientist in the Department of Microbiology and Immunology, Helsinki University. Her research has focused on immune responses to infections and vaccines, and recently she has become interested in travel medicine and tropical diseases.

References

1. Rich SM, Ayala FJ. Progress in malaria research: the case for phylogenetics. Adv Parasitol. 2003;54:255–80. DOI: 10.1016/S0065-308X(03)54005-2
2. Garnham PCC. Malaria parasites and other haemosporidia. Oxford (UK): Blackwell Scientific Publications; 1966.
3. Singh B, Kim Sung L, Matusop A, Radhakrishnan A, Shamsul SS, Cox-Singh J, et al. A large focus of naturally acquired *Plasmodium knowlesi* infections in human beings. Lancet. 2004;363:1017–24. DOI: 10.1016/S0140-6736(04)15836-4
4. Zhu HM, Li J, Zheng H. Human natural infection of *Plasmodium knowlesi* [in Chinese]. Zhongguo Ji Sheng Chong Xue Yu Ji Sheng Chong Bing Za Zhi. 2006;24:70–1.
5. Jongwutiwes S, Putaporntip C, Iwasaki T, Sata T, Kanbara H. Naturally acquired *Plasmodium knowlesi* malaria in human, Thailand. Emerg Infect Dis. 2004;10:2211–3.
6. Fong YL, Cadigan FC, Coatney GR. A presumptive case of naturally occurring *Plasmodium knowlesi* malaria in man in Malaysia. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1971;65:839–40. DOI: 10.1016/0035-9203(71)90103-9
7. Cox-Singh J, Davis TM, Lee KS, Shamsul SS, Matusop A, Ratnam S, et al. *Plasmodium knowlesi* malaria in humans is widely distributed and potentially life threatening. Clin Infect Dis. 2008;46:165–71. DOI: 10.1086/524888
8. Luchavez J, Espino F, Curameng P, Espina R, Bell D, Chiodini P, et al. Human infections with *Plasmodium knowlesi*, the Philippines. Emerg Infect Dis. 2008;14:811–3.
9. Ng OT, Ooi EE, Lee CC, Lee PJ, Ng LC, Pei SW, et al. Naturally acquired human *Plasmodium knowlesi* infection, Singapore. Emerg Infect Dis. 2008;14:814–6.
10. Knowles R, Das Gupta BM. A study of monkey malaria and its experimental transmission to man (preliminary report). Ind Med Gaz. 1932;67:301–20.
11. Chin W, Contacos PG, Coatney GR, Kimball HR. A naturally acquired quotidian-type malaria in man transferable to monkeys. Science. 1965;149:865. DOI: 10.1126/science.149.3686.865
12. Fleck F. Monkey malaria could represent a new human strain. Bull World Health Organ 2004;82:392–3. DOI: 10.1590/S0042-96862004000500017
13. Snounou G, Singh B. Nested PCR analysis of *Plasmodium* parasites. Methods Mol Med. 2002;72:189–203.
14. Snounou G, Viriyakosol S, Zhu XP, Jarra W, Pinheiro L, do Rosario VE, et al. High sensitivity of detection of human malaria parasites by the use of nested polymerase chain reaction. Mol Biochem Parasitol. 1993;61:315–20. DOI: 10.1016/0166-6851(93)90077-B
15. Win TT, Jalloh A, Tantular IS, Tsuboi T, Ferreira MU, Kimura M, et al. Molecular analysis of *Plasmodium ovale* variants. Emerg Infect Dis. 2004;10:1235–40.

Address for correspondence: Anu Kantele, Helsinki University Central Hospital, Department of Medicine, Division of Infectious Diseases, Aurora Hospital, Building 5, 3rd Floor, Post Office Box 348, FIN-00029 HUS, Helsinki, Finland; email: anu.kantele@hus.fi

別紙様式第2-1

No. 22

医薬品 研究報告 調査報告書

識別番号・報告回数			報告日	第一報入手日	新医薬品等の区分	総合機構処理欄
				2008. 9. 18	該当なし	
一般的名称	解凍人赤血球濃厚液		研究報告の公表状況	野崎一朗, 浜口毅, 篠原もえ子, 中村好一, 北本哲之, 佐藤猛, 水澤英洋, 森若文雄, 志賀裕正, 三條伸夫, 黒岩義之, 西澤正豊, 武田雅俊, 葛原茂樹, 黒田重利, 村井弘之, 村山繁雄, 立石潤, 山田正仁. 2008年プリオン研究会; 2008 Aug 29-30; 新得町.	公表国 日本	
販売名(企業名)	解凍赤血球濃厚液「日赤」(日本赤十字社) 照射解凍赤血球濃厚液「日赤」(日本赤十字社) 解凍赤血球-LR「日赤」(日本赤十字社) 照射解凍赤血球-LR「日赤」(日本赤十字社)					

研究報告の概要

○わが国におけるヒトのプリオン病の発症状況:最近9年間のサーベイランスデータ

【背景・目的】わが国のプリオン病の病型は多彩であり、その発症動向を把握することは重要な課題と考えられる。

【方法】現行のサーベイランスシステムが開始された1999年4月から2008年2月までの9年間に、プリオン病の疑いとして情報収集された1339例を検討した結果、プリオン病と判定された症例について、その内訳、発症状況などを検討した。

【結果】1069例がプリオン病と判定された。プリオン病の発症数は、年間120例前後で推移していた。病型別では孤発性CJDが821例(76.8%)、遺伝性プリオン病が171例(16.0%)、硬膜移植後CJD74例(6.9%)、変異型CJD1例(0.1%)、分類不能2例(0.2%)であった。プリオン病の剖検率については、全体で19.1%と欧米諸国の平均よりも著明に低く、最も多く検索されていた硬膜移植後CJDにおいても37%と低かった。病型が判明している孤発性CJD32例では、MM1が最も多く、次にMM2が皮質型、視床型ほぼ同数で欧米と比較すると多い結果となった。MV1、VV1は1例も確認されなかった。遺伝性プリオン病の変異別頻度はV180I、P102L、E200K、M232R他の順で、欧米諸国のデータとは異なっていた。硬膜移植後CJDの発生は2002年以降減少傾向にあり、現在までに132例が確認された。変異型CJDに関しては、2001年に発症した1例のみであった。

【結論】わが国のプリオン病剖検率は欧米諸国に比較し著明に低率であった。孤発性CJDについては、わが国では欧米に比較してMM2型が多かった。硬膜移植後CJDが多発しているが、2002年以降はその発生は減少傾向であった。遺伝性プリオン病の変異別頻度は欧米諸国の割合と著しく異なっていた。

使用上の注意記載状況・その他参考事項等

解凍赤血球濃厚液「日赤」
照射解凍赤血球濃厚液「日赤」
解凍赤血球-LR「日赤」
照射解凍赤血球-LR「日赤」

血液を介するウイルス、細菌、原虫等の感染
vCJD等の伝播のリスク

報告企業の意見

CJDサーベイランス委員会による調査では過去9年間に日本国内で1069例がプリオン病と判定された。また、我が国では剖検率が欧米諸国より著明に低く、病型は欧米諸国と大きく異なっているとの報告である。

今後の対応

日本赤十字社は、vCJDの血液を介する感染防止の目的から、献血時に過去の海外渡航歴(旅行及び居住)を確認し、欧州36ヶ国に一定期間滞在したドナーを無期限に献血延期としている。また、英国滞在歴を有するvCJD患者が国内で発生したことから、平成17年6月1日より1980～96年に1日以上の英国滞在歴のある方からの献血を制限している。加えて、CJDの感染防止の目的から、プリオン病家族歴、硬膜移植歴について問診を行い、該当するドナーを無期限に献血延期としている。今後もCJD等プリオン病に関する新たな知見及び情報の収集に努める。

(13)

JRC2008T-060

Poster-33

わが国におけるヒトのプリオン病の発症状況：最近9年間のサーベイランスデータ

○野崎一朗[1]、浜口毅[1]、篠原もえ子[1]、中村好一[2,6]、北本哲之[3,6]、佐藤猛[4,6]、水澤英洋[5,6]、森若文雄[6]、志賀裕正[6]、三條伸夫[5,6]、黒岩義之[6]、西澤正豊[6]、武田雅俊[6]、葛原茂樹[6]、黒田重利[6]、村井弘之[6]、村山繁雄[6]、立石潤[6]、山田 正仁[1,6]
[1]金沢大学大学院脳老化・神経病態学（神経内科）、[2]自治医科大学公衆衛生学、[3]東北大学大学院プリオン蛋白研究部門、[4]東大和病院、[5]東京医科歯科大学大学院脳神経病態学（神経内科）、[6]「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」・CJD サーベイランス委員会

【背景・目的】わが国では、通常の孤発性 Creutzfeldt-Jakob 病（CJD）、硬膜移植後 CJD に加え、ウシ海綿状脳症からの感染が疑われる変異型 CJD も確認されている。プリオン病の病型は多彩であり、その発症動向を把握することは重要な課題と考えられる。

【方法】「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」・CJD サーベイランス委員会による現行のサーベイランスシステムは 1999 年 4 月より開始され、2008 年 2 月までの 9 年間にプリオン病の疑いとして情報収集された 1339 例が検討された。CJD サーベイランス委員会での検討の結果、プリオン病と判定された症例について、その内訳、発症状況などを検討した。

【結果】1069 例がプリオン病と判定された。プリオン病の発症数については、2007 年はまだ情報収集不足で少ないが、それ以外は年間 120 例前後で推移していた。病型別では孤発性 CJD が 821 例（76.8%）、遺伝性プリオン病が 171 例(16.0%)、硬膜移植後 CJD 74 例（6.9%）、変異型 CJD 1 例（0.1%）、分類不能 2 例(0.2%)であった。プリオン病の剖検率については、全体で 19.1%と欧米諸国の平均よりも著明に低かった。分類別では、最も多く検索されていたのは硬膜移植後 CJD であったが、それでも 37%と低い割合にとどまっていた。孤発性 CJD におけるプリオン蛋白遺伝子コドン 129 多型とプロテアーゼ抵抗性プリオン蛋白ウェスタンブロット解析パターンの組み合わせによる病型が判明しているものは 32 例であった。最も多いのは MM1 であったが、次に MM2 が皮質型、視床型ほぼ同数あり、欧米のデータと比較すると多い結果となった。MV1、VV1 は 1 例も確認されなかった。遺伝性プリオン病の変異別頻度は V180I、P102L、E200K、M232R 他の順であった。欧米諸国のデータと比較すると、日本で 4 割を占める V180I は欧米諸国ではまれで、4 番目に多い M232R については欧米では 1 例も認められなかった。一方欧米で 2 番目に多い V210I はわが国では確認されなかった。硬膜移植後 CJD の発生は 2002 年以降減少傾向にあり、現在までに 132 例が確認された。変異型 CJD に関しては、2001 年に発症した 1 例のみであった。

【結論】わが国のプリオン病剖検率は欧米諸国に比較し著明に低率であった。孤発性 CJD については、わが国では欧米に比較して MM2 型が多かったが、剖検率自体が低く非典型例が多く剖検されている可能性が考えられた。硬膜移植後 CJD が多発しているが、2002 年以降はその発生は減少傾向であった。遺伝性プリオン病の変異別頻度は V180I、P102L、E200K、M232R 他の順で、これは欧米諸国の割合と著しく異なっていた。

別紙様式第2-1

医薬品 研究報告 調査報告書

識別番号・報告回数			報告日	第一報入手日	新医薬品等の区分	総合機構処理欄
				2008. 9. 18	該当なし	
一般的名称	解凍人赤血球濃厚液		研究報告の公表状況	前野英毅, 村井活史, 武田芳於, 室塚剛志, 脇坂明美, 堀内基広. 2008年プリオン研究会; 2008 Aug 29-30; 新得町.	公表国 日本	
販売名(企業名)	解凍赤血球濃厚液「日赤」(日本赤十字社) 照射解凍赤血球濃厚液「日赤」(日本赤十字社) 解凍赤血球-LR「日赤」(日本赤十字社) 照射解凍赤血球-LR「日赤」(日本赤十字社)					

研究報告の概要

○ウイルス除去膜濾過による異常型プリオン蛋白質(PrP^{Sc})の除去

【目的と意義】血漿分画製剤の濾過工程におけるPrP^{Sc}除去効果をワーストケースとして評価するため、最も感染性があると報告されている17-27nmの小さなPrP^{Sc}を使用し、日本赤十字社血漿分画センターで製造しているウイルス除去膜濾過工程を含んでいる2つの製剤(血液凝固第VIII因子製剤[FVIII]:プラノバ20N(平均孔径19nm)濾過、抗HBs人免疫グロブリン製剤[HBIG]:プラノバ35N(平均孔径35nm)濾過)についてその除去効果を検証した。

【材料と方法】263K株に感染したハムスターの10%脳乳剤よりスパイクマテリアルを作成し、プラノバ20N(平均孔径19nm)で濾過してスパイクマテリアル中の19nmより小さいPrP^{Sc}の量を確認した。製剤の濾過前液に相当する溶液にスパイクマテリアルを添加し、30分撹拌後、製造と同じ条件にてプラノバ20N及びプラノバ35Nで濾過した。濾過前後の液をProtein Misfolding Cyclic Amplification(PMCA)でPrP^{Sc}を増幅後、プロテアーゼK抵抗性プリオン蛋白質をウェスタンブロットで検出した。各検体を3回測定し、50%の確率で検出できる希釈倍率からPrP^{Sc}濃度を算出して対数減少率(LRV)を計算した。

【結果・考察】濾過によるPrP^{Sc}の対数減少率(LRV)は、FVIIIで≧5.3、HBIGで1.5であった。濾過膜の孔径より小さな材料をスパイクマテリアルとしているにもかかわらず、PrP^{Sc}がプラノバ35Nやプラノバ20Nで除去されたのは、PrP^{Sc}が凝集や膜へ吸着したためと考えられる。

使用上の注意記載状況・その他参考事項等

解凍赤血球濃厚液「日赤」
照射解凍赤血球濃厚液「日赤」
解凍赤血球-LR「日赤」
照射解凍赤血球-LR「日赤」

血液を介するウイルス、細菌、原虫等の感染
vCJD等の伝播のリスク

報告企業の意見	今後の対応
日本赤十字社が血漿分画製剤製造に用いているウイルス除去膜濾過により、263K株に感染したハムスターより得たスパイクマテリアル中のPrP^{Sc}が除去されたとの報告である。	今後も引き続き、プリオン病に関する新たな知見及び情報の収集に努めるとともに、血漿分画製剤の製造工程における病原因子の除去・不活化技術の向上に努める。

(14)

Poster-11

演題名 ウイルス除去膜濾過による異常型プリオン蛋白質(PrP^{Sc})の除去

演者名 ○前野英毅[1)]、村井活史[1)]、武田芳於[1)]、室塚剛志[1)]、脇坂明美[1)]、
沼田芳彰[1)]、堀内基広[2)]
所属機関名 1)日本赤十字社血漿分画センター、2)北海道大学大学院獣医学研究科プリオン病学講座

【目的と意義】血漿分画製剤のvCJDに対する安全性を評価するために、プリオン病感染動物の脳乳剤を工程液に添加して、PrP^{Sc}の除去効果を検証することが一般的に行われている。しかし、血漿中のPrP^{Sc}が脳内のPrP^{Sc}と同様に凝集しているのかは不明であり、血漿中のPrP^{Sc}が小さなものであった場合には、濾過工程におけるPrP^{Sc}除去効果を過大に評価してしまう可能性がある。Silveiraらはスクレイピー263K株に感染したハムスターの脳乳剤をSodium Undecyl Sulfate(SUS)で処理し、最も感染性があるPrP^{Sc}は17-27nmであると報告したが、この様な小さなPrP^{Sc}を用いれば濾過工程のPrP^{Sc}除去効果をワーストケースとして評価できると考えた。そこで、日本赤十字社血漿分画センターで製造しているウイルス除去膜濾過工程を含んでいる2つの製剤(血液凝固第VIII因子製剤[FVIII]:プラノバ20N濾過、抗HBs人免疫グロブリン製剤[HBIG]:プラノバ35N濾過)について、SUSで処理したPrP^{Sc}を用いてその除去効果を検証した。

【材料と方法】263K株に感染したハムスターの10%脳乳剤にSarkosylを1%となるように添加し、100,000×g, 30分の超遠心により沈殿画分を得た。沈殿画分をPBSで溶解後、1%となるようSUSを加え、37℃で1時間放置した。これをプラノバ35N(平均孔径35nm)で濾過し、スパイクマテリアルとした。また、プラノバ20N(平均孔径19nm)で濾過してスパイクマテリアル中に含まれる19nmより小さいPrP^{Sc}量を確認した。スパイクマテリアル1mLをFVIII濾過前液に相当する溶液20mLに添加し、30分撹拌後、製造と同じ条件にてプラノバ20Nで濾過した。また、HBICについては、濾過前液20mLに0.2mLのスパイクマテリアルを添加し、30分撹拌後、プラノバ35Nで濾過した。濾過前後の液を10%正常ハムスターの脳乳剤で段階希釈し、Protein Misfolding Cyclic Amplification(PMCA)でPrP^{Sc}を増幅した。増幅後、プロテアーゼK抵抗性プリオン蛋白質をウェスタンブロットで検出した。各検体を3回測定し、50%の確率で検出できる希釈倍率からPrP^{Sc}濃度(このPrP^{Sc}濃度を$PMCA_{50}$/mLと定義)を算出した。

【結果・考察】スパイクマテリアルの濃度は$\geq 10^{11.3}$ $PMCA_{50}$/mLであり、この内、19nm以下のPrP^{Sc}は$10^{9.9}$ $PMCA_{50}$/mLであった。スパイクマテリアルをFVIIIに添加した濾過前液のPrP^{Sc}量は$10^{10.6}$ $PMCA_{50}$、プラノバ20N濾過後液では検出限界(≦$10^{5.3}$ $PMCA_{50}$)以下となり、対数減少率(LRV)は≧5.3であった。一方、HBICでは濾過前液のPrP^{Sc}量は$10^{10.4}$ $PMCA_{50}$、プラノバ35N濾過後液は$10^{8.9}$ $PMCA_{50}$であり、LRVは1.5であった。濾過膜の孔径より小さな材料をスパイクマテリアルとしているにもかかわらず、PrP^{Sc}がプラノバ35Nやプラノバ20Nで除去されたのは、PrP^{Sc}が凝集や膜へ吸着したためと考えられるが、現在、その除去の機構を明らかにしているところである。

別紙様式第2-1

No. 27

医薬品 研究報告 調査報告書

識別番号・報告回数			報告日	第一報入手日	新医薬品等の区分	総合機構処理欄
				2008. 9. 18	該当なし	
一般的名称	解凍人赤血球濃厚液		研究報告の公表状況	津久井和夫, 湯川眞嘉, 小野寺節. 2008年プリオン研究会; 2008 Aug 29-30; 新得町.	公表国 日本	
販売名(企業名)	解凍赤血球濃厚液「日赤」(日本赤十字社) 照射解凍赤血球濃厚液「日赤」(日本赤十字社) 解凍赤血球-LR「日赤」(日本赤十字社) 照射解凍赤血球-LR「日赤」(日本赤十字社)					

研究報告の概要

○スクレイピー実験感染による血中PrP^{res}経時的変化の追跡

背景:昨年本シンポジウムにおいて酸性SDS沈降法(仮称)により血漿中PrP^{res}と思われる蛋白の検出を報告した。この蛋白は、PK抵抗性で且つ血漿中で糖鎖を介して凝集していると思われた。

方法:263K感染ハムスター脳乳剤を脳内接種した8週齢ゴールデンハムスター5匹(感染群)と同週齢の5匹のハムスター(非感染群)から、2週に一度の割合で経時的に採血し、血漿を分離した。血漿検体はPK処理後、酸性SDS沈降法により部分精製・濃縮し、一次抗体を3F4として、イムノブロットによる反応性蛋白を化学発光で検出した。

結果:PK抵抗性3F4反応性蛋白バンドは、感染後4週から6週で認められ、10週ではほぼ消失した。PrP^{res}に特有と思われる25KDaバンドはピーク時のみで認められ、後に低分子量フラグメントに移行する様相を見せた。また、発症末期では、PrP^{res}と見られる血漿中蛋白バンドは認められなかった。

考察:血中PrP^{res}と思われる分子は、感染後定常的に蓄積するのではなく、発現と同時に暫時分解されて行くと思われた。これは他で報告されたPrP^{res}の脾臓による動態と近似しており、血中PrP^{res}が脳病変に由来するのではなく末梢組織(脾臓等)病変に由来していることを示唆している。この結果から、PrP^{res}をマーカーとした血液検査は、感染後発症前～発症中期までに限定されるという可能性が示唆された。

使用上の注意記載状況・その他参考事項等
解凍赤血球濃厚液「日赤」 照射解凍赤血球濃厚液「日赤」 解凍赤血球-LR「日赤」 照射解凍赤血球-LR「日赤」 血液を介するウイルス、 細菌、原虫等の感染 vCJD等の伝播のリスク

報告企業の意見	今後の対応
ハムスターを使用した感染実験において、血中PrP^{res}を対象とした血液検査は、感染後発症前～発症中期までに限定されるという可能性が示唆されたとの報告である。	今後も引き続き、プリオン病に関する新たな知見及び情報の収集に努めるとともに、検査法の確立に向けた基礎研究を継続していく。

(15)

Poster-18

JRC2008T-059

スクレイピー実験感染による血中 PrPres 経時的変化の追跡

津久井和夫 1) 湯川眞嘉 2) 小野寺節 3)

1) 日本赤十字社中央血液研究所
2) 日本大学生物資源学部動物医科学研究センター
3) 東京大学農学生命科学応用免疫学教室

目的:

スクレイピー263K 株実験感染による血中 PrPres の感染後発現動態の解析

背景:

vCJD の血液による二次感染が起こることがほぼ確定した現在、感染者の発病前診断をすることにより、血液を介した感染拡大を阻止することが必要である。このため、発病前キャリアー状態の感染者を検出するために、血液検査システムの確立がプリオン研究の緊急課題として強く求められている。我々は、昨年本シンポジウムにおいて酸性 SDS 沈降法 (仮称) により血漿中 PrPres と思われる蛋白の検出を報告した。この蛋白は、PK 抵抗性で且つ血漿中で糖鎖を介して凝集していると思われた。

方法:

1, 8 週齢ゴールデンハムスター5 匹に 263K 感染ハムスター脳乳剤を脳内接種により投与し感染群とした。同週齢のハムスター5 匹を非感染群として対照とした。感染群・非感染対照群各ハムスターは、眼窩静脈叢穿刺により 2 週に一度の割合で経時的に採血し、血漿を分離した。

2, 血漿検体を直ちに 37℃で 1 時間の PK 処理をし、次いでペアブロックで PK 反応を止めた後、SDS を終濃度 3%及び DTT を終濃度 50mM 加え 100℃10 分の加熱処理により不活化して−80℃に保存した。保存した血漿検体は、室温で溶解し、酸性 SDS 沈降法 (昨年本シンポジウムで報告) により部分精製・濃縮し、一次抗体を 3F4 として、イムノブロットによる反応性蛋白を化学発光で検出した。

結果:

1, PK 抵抗性 3F4 反応性蛋白バンドは、感染後 4 週から 6 週で認められ、10 週ではほぼ消失した。

2, 検出された蛋白バンドは、PrPres に特有と思われる 25KDa バンドはピーク時のみで認められ、後に低分子量フラグメントに移行する様相を見せた。

3, 発症末期では、PrPres と見られる血漿中蛋白バンドは認められなかった。

考察:

血中 PrPres と思われる分子は、感染後定常的に蓄積するのではなく、発現と同時に暫時分解されて行くと思われた。このため、血漿中 PrPres の検出は一時的な検出陽性期間 (4 週～8 週?) で可能であり、末期では検出困難となると推定された。これは、井上らの報告 (Jpn.J.Infect.Dis., 58,78-82, 2005) による PrPres の脾臓による動態と近似しており、血中 PrPres が脳病変に由来するのではなく末梢組織 (脾臓等) 病変に由来していることを示唆している。この結果から、PrPres をマーカーとした血液検査は、感染後発症前～発症中期までに限定されるという可能性が示唆された。

謝辞:

実験を行うに当たり、日本大学生物資源学部動物医科学研究センターの佐藤豊太先生及び豊島亮子・高野樹里両氏による経時的眼窩静脈叢採血と採血後の PK 処理・熱不活化処理を実行していただきました。豊島・高野両氏に深く感謝いたします。