ウイルス除去膜としての多孔性再生セルロース 中空糸を用いた血漿濾過特性

伊藤 敬三 関口 定美 小林 正友
長谷川秀弥 池田 久實

北海道赤十字血液センター

石川 元 深田 誠司 鶴見 隆
真鍋 征一 佐谷満州夫

旭化成工業株式会社

(昭和64年1月4日受付)

CHARACTERISTICS OF PLASMA FILTRATION BY MICROPOROUS REGENERATED CELLULOSE HOLLOW FIBER AS VIRUS-REMOVAL MEMBRANE

Keizo Ito*, Sadayoshi Sekiguchi*, Masatomo Kobayashi*, Hideya Hasegawa*, Hisami Ikeda*,
Gen Ishikawa**, Seiji Fukada**, Takashi Tsurumi**,
Sei-ichi Manabe** and Masuo Satani**

*Hokkaido Red Cross Blood Center

**Asahi Chemical Industry Co., Ltd.

The Bemberg Microporous Membrane (BMM) is composed of microporous regenerated cellulose hollow fiber and has been developed for virus removal from plasma. When fresh plasma was applied on the BMM-30 (average pore size 30 nm), 93 percent of albumin was passed through. However, more than 50 percent of IgM and Factor VIII were trapped in the hollow fiber. On the other hand with the BMM-50 filtration, 70 percent of IgM and Factor VIII were recovered in the filtrate. The double filtration by BMM-50 modules was carried out for HB virus positive fresh frozen plasma. Trapping of plasma components occurred only at the first BMM filtration and there was virtually no trapping at the second BMM filtration. HBV-DNA in Dane particles could be effectively removed by the double BMM-50 filtration. The residual amount of HBV-DNA in the first filtrate became under the detectable level after the second filtration. Thus, HBV-free plasma with sufficient amounts of plasma components could be obtained by the double filtration with the BMM-50 modules.

はじめに

輸血に起因するウイルス感染症は、近年大きな社会問題となっている。輸血によって感染するウイルスとしては、B型肝炎ウイルス(HBV)、非A非B型肝炎ウイルス(NANBV)、HTLV-I、HIVなどがあるが、これらのウイルス感染者の大部分は、発症のないいわゆる無症候性キャリアであり、これらのキャリアからの献血血液中にウイルス陽性血が含まれることになる。ウイルス陽性血を除外するため、わが国では、HBVマーカーや

HTLV-I、HIV-Iに対する抗体スクリーニングを実施している。しかし、これら検査を実施しても、検査試薬の感度や非特異的反応、人為的ミスなどにより、ウイルス陽性血の除外が不可能な場合がある。HTLV-IやHIV-Iでは、ウイルスに対する抗体検出法であるため、感染直後の抗体陰性時期には、ウイルスの検出ができないなど、完全にウイルス陽性血を除外することができない。さらに、NANBVのようにそのウイルス本体がつかめぬため、スクリーニングの方法が確立していないも

もあり、現在行なわれている各種スクリーニング方法では、ウイルス感染防止が完全に行なわれているとは言えないのが現状である。

血液製剤からのウイルス感染を防ぐ目的で、血漿分画製剤では有用タンパク質の活性の低下を最小限におさえつつ、種々のウイルス不活化方法が試みられており、活性の低下をある程度犠牲にすれば、感染を阻止できるものもある^{1)~4)}。しかしながら、濃厚赤血球、濃縮血小板、新鮮凍結血漿や新鮮血漿などの血液成分製剤では、積極的なウイルス除去および不活化方法は、全く試みられていない。

そこでわれわれは、輸血に使われる新鮮凍結血漿あるいは分画製剤の原料となる血漿の各種タンパクの活性をできるだけ保持しつつ、ウイルス除去する方法として、銅アンモニア法再生セルロース中空糸 (Bemberg Microporous Membrane, BMM) を用いた血漿からのウイルス除去を試みた。また同時に、血漿タンパクの透過率を含めた BMM 中空糸の性能評価を行なったので報告する。

材料と方法

本実験に使用した銅アンモニア法再生セルロース多孔性中空糸 (BMM) は、マイクロ相分離法により製造し⁵⁾、外径 $300\mu\text{m}$ 、内径 $250\mu\text{m}$ で膜厚 $25\mu\text{m}$ の中空糸である。その平均孔径は、水の濾過速度法により測定し、 30nm と 50nm の平均孔径を有するものを使用した。この BMM を長さ 10cm にカットして 500 本の中空糸から成る BMM モジュール (有効濾過面積 0.03m^2) を作製し、以下の実験に用いた。

対象としたウイルスは HB ウイルスで、濾過に用いた HB ウイルス陰性の新鮮血漿 (Fresh Plasma, FP) は、ボランティアから CPD 加採血バックで 200ml 採血後、 $4,000\text{rpm}$ 、 5 分、 5°C 下で遠心して、その上清約 80ml を集めた。HB ウイルス陽性血漿は、同条件下で集めた血漿を -80°C で凍結した新鮮凍結血漿 (Fresh Frozen Plasma, FFP) より、HBs 抗原価の高かった検体 (R-PHA 法: $>2^{12}$) を 37°C で解凍後使用した。

BMM モジュールによる血漿の濾過は、圧力ポ

ンプなど動力を全く使用せず、血漿を静水状態として静水圧による濾過、いわゆる垂直濾過で (図 1)、ヘッド差として、HB ウイルス陰性 FP の場合 65cm 水柱で、HB ウイルス陽性 FFP の場合 200cm 水柱で行った。すなわち、毎回血漿約 80ml を濾過し、上のバックの血漿がまったくなくなるまでの時間を濾過時間とした。

HBs 抗原の定量は R-PHA 法で、HBV-DNA の定量は ^{32}P を用いたスポットハイブリダイゼーション法により行ない、プローブ、参照 HBV-DNA は国立予防衛生研究所より分与を受けた。総蛋白、アルブミン、コレステロール量は、オリンパス自動分析装置 ACA6008N で測定した。IgA, IgG, IgM は免疫比濁法 (ペーリンガーマンハイム山之内, BMY), アンチトロンビン III は合

図1 BMM モジュールによる血漿の濾過方法

成基質法 (BMY), フィブリノーゲンはトロンビン時間法 (ヘキスト), PT, APTT はそれぞれプロトロンビン時間法 (ヘキスト), 活性化部分トロンボプラスチン時間法 (ヘキスト) で測定した。第V因子はプロトロンビン時間法による凝固一段法 (ヘキスト), 第VIII因子 (活性), 第IX因子, 第XII因子は活性化部分トロンボプラスチン時間法による凝固一段法 (ヘキスト), 第VIII因子 (量) はEIA法 (BMY) で測定した。グルコース, 遊離脂肪酸, トリグリセリド, ホスホリピッドは酵素法 (ヤトロ), β -リポタンパクは免疫比濁法 (ヤトロ) で測定した。

結 果

1. BMM モジュールによる血漿タンパクの濾過特性

正常FP約80mlをヘッド差65cm水柱で平均孔径30nmおよび50nmのBMMモジュール (それぞれBMM-30, BMM-50と略) で濾過した時の総蛋白, アルブミン, 免疫グロブリンの回収率 (濾過前に対する濾過後の%) $\pm$ 標準偏差を図2に示した。

総蛋白は, BMM-30, BMM-50でそれぞれ $85 \pm 5.6\%$, $96 \pm 7.5\%$ 回収された。アルブミンは濾過されやすく, BMM-30で $93 \pm 1.7\%$, BMM-50で $97 \pm 2.8\%$ と高い回収率であった。これに対し, 免疫グロブリンは濾過されにくく, 特にIgMでは

図2 新鮮血漿のBMM濾過による血漿タンパクの回収率

BMM-30で $41 \pm 2.3\%$, BMM-50で $67 \pm 34\%$ と回収率が低かった。これにともない, アルブミンと γ -グロブリン比 (A/G) は, BMM-30で $122 \pm 10.8\%$, BMM-50で $108 \pm 7.74\%$ となり, IgGはアルブミンに比べて濾過されにくい傾向にあるものの, BMM-50を用いれば, その濾液の組成は元液の組成に比較し, 顕著な差はなくなった。また, BMM-30とBMM-50を比べた場合, すべての項目にわたり, 平均孔径の大きなBMM-50の方が濾過率が良好であった。

図3には, 同条件下でFPを濾過した後の凝固系タンパクの回収率を示した。BMM-30による濾過では, フィブリノーゲン, 第VIII因子 (活性および量)とも30~40%しか回収されず, 第V, 第IX, 第XII因子で約70~80%濾過されたにすぎなかった。一方BMM-50で濾過した時は, 第VIII因子 (活性および量)は70%回収され, フィブリノーゲン, 第V, 第IX, 第XII因子もそれぞれ $77 \pm 25\%$, $87 \pm 20\%$, $98 \pm 24\%$, $89 \pm 5.0\%$ 回収された。また, 図には示していないが, アンチトロンビンIIIは, BMM-30で $96 \pm 3.5\%$, BMM-50で $99 \pm 1.7\%$ とほぼ完全に濾過された。

表1には, BMM濾過前後における内因性凝固

図3 新鮮血漿のBMM濾過による凝固系タンパクの回収率

表1 新鮮血漿のBMM濾過によるAPTTとPTの変化

	APTT(sec)		PT(sec)	
	Pre	Post	Pre	Post
BMM-30 (n=4)	45.4±11.1	71.9±17.8	10.2±0.45	13.4±1.90
BMM-50 (n=3)	45.1±7.90	50.8±6.60	10.1±0.44	11.2±0.93

Mean±S.D.

図4 新鮮血漿のBMM濾過による血漿成分の回収率

機序に関連する活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) と外因性凝固機序に関連するプロトロンビン時間 (PT) を示した。BMM-30の濾過では, APTT, PT とも大幅な凝固時間の遅延が認められたが, BMM-50の濾過ではその凝固時間は, わずかに延長したにすぎなかった。

図4には, FPをBMMで濾過後の糖と脂質の回収率を示した。グルコースの回収率は, BMM-30, BMM-50とも100%で完全に濾過された。脂質では, 遊離脂肪酸がBMM濾過で完全に回収されたが, コレステロール, トリグリセリド, β -リポタンパク, ホスホリピッドの回収率は悪く, 特にトリグリセリド, β -リポタンパクは, BMM-30で約40%, BMM-50で約65%しか濾過されなかった。

2. 新鮮血漿をBMMモジュールで濾過した時

(A)

(B)

図5 新鮮血漿をBMMで濾過した時の血漿成分の濾過率の変化。(A) BMM-30, (B) BMM-50による濾過

の血漿成分の濾過率の変化

FPをBMMモジュールで濾過する時, 濾液を経時的に分画し, その画分の血漿成分の濾過率を図5に示した。図には, 濾過率が良かった総蛋白とアルブミンおよび濾過率が悪かったトリグリセリド, β -リポタンパク, IgM, 第VIII因子(活性)を示した。

総蛋白, アルブミンはほぼ同一の挙動を示し, BMM-30の濾過中多少濾過率が減少したが, ほかは一定して, 90%以上の高い回収率で濾過された。これに対し, 他の4成分は, 濾過直後より徐々に濾過率が低下した。この傾向はBMM-50よりBMM-30の方が顕著であり, 特にBMM-30では濾過終了時点で, 第VIII因子の回収率は50%以下となった。

3. 新鮮血漿のBMM濾過による濾過時間

全血200ml由来FP約80mlをBMMモジュール(有効濾過面積0.03m²)を用い, ヘッド差65cm水柱にして濾過した時の平均濾過時間は, BMM-30で144±84.3分(n=5), BMM-50で46.5±30.7分であり, BMM-30より平均孔径が大きいBMM-50の方が, 約3倍濾過時間が速かったが, おおのFP間でのバラツキが大きかった。

そこで, 濾過時間を規定する因子を考慮したところ, 図6に示したように, 原液中に含まれているトリグリセリド量とBMM-30およびBMM-50

図6 新鮮血漿中に含まれるトリグリセリド量とBMM 濾過時間の関係

での濾過時間がそれぞれ正の相関を示した。また、図に示していないが、原液の β -リボタンパク量と濾過時間についても同様の関係が認められた。

4. BMM モジュールによる HB ウイルスの除去

BMM モジュールを用いた HB ウイルスの除去能について検討した。HB ウイルス陽性の FFP 80ml を解凍後、ヘッド差200cm 水柱で有効濾過面積0.03m²の BMM-50モジュールにアプライした。さらに濾過液をもう一度別の BMM-50モジュールで濾過する二重濾過を実施した。

表2に示すように、総蛋白およびアルブミンは、BMM-50モジュール濾過により十分量回収され、かつ2段目の濾過によるロスは全く認められなかった。 β -リボタンパク、コレステロールは、1段目の濾過で約50~70%しか濾過されなかったが、2段目の濾過ではほぼ100%回収された。これに対し、HB ウイルス内に存在する HBV-DNA 量は、1段目の濾過で原液の0.62%、2段目の濾過で0.16% (検出限界) 以下に減少した。

このことより、同一平均孔径を持つ BMM モ

ジュールによる二重濾過は、血漿タンパク成分の濾過率を下げることなく、HBV-DNA (Dane 粒子)のみを選択的に除去できることが確認された。

考 察

血漿分画製剤におけるウイルス不活化方法は、乾燥加熱法¹⁾⁶⁾、液状加熱法⁷⁾⁸⁾、紫外線照射法⁹⁾や有機溶媒などの化学薬品によるディタージェント処理法^{10)~12)}が報告され、HIV ではほぼ完全に不活化条件が確立された。しかし、HBV や NANBV を完全に不活化するためには、さらに厳しい条件を用いなければならない。これにともない血漿中の有用タンパクの失活や変性が生じるおそれがでてきた。そこで、これらウイルスの不活化法と除去法を組み合わせることが考えられ、すでに血漿分画製剤の製造工程では、熱処理やディタージェント処理以外にも、Cohn のアルコール分画法、PEG 分画法、イオン交換クロマトグラフィー分離法などの過程で、ウイルスの不活化を含めた除去法が行なわれているが、これらの方法は積極的な意味でのウイルス除去法とはなっていない。

一方、近年ウイルスの分離、濃縮、除去を目的とした膜が開発されつつある。血漿からのウイルス除去のために必要な膜の条件としては

① 血漿タンパク成分の吸着が少ない素材である。

② 血漿タンパクの各成分が十分濾過されて同時にウイルス粒子が完全に捕捉される

③ 濾過条件が簡単である (常温、常圧)

④ 濾過後、濾過された血漿タンパクに変性が生じない。

などが考慮されねばならない。

本実験で用いた多孔性銅アンモニア法再生セルロース中空糸 (BMM) はポリマーの中でも親水性

表2 HB ウイルス陽性新鮮凍結血漿の BMM-50モジュールによる二重濾過

	Total protein (mg/ml)	Albumin (mg/ml)	β -lipoprotein (mg/dl)	Cholesterol (mg/dl)	HBV-DNA (pg/25 μ l)
Plasma	64.0	35.0	317	167	250
First filtration	58.0 (90.6%)	33.0 (94.3%)	165 (52.1%)	115 (68.9%)	1.56 (0.62%)
Second filtration	58.0 (90.6%)	33.0 (94.3%)	165 (52.1%)	111 (66.5%)	<0.39 (<0.16%)

の高い再生セルロースを素材に用いているのでタンパクの吸着は少なく¹³⁾、比較的シャープな孔径分布をした層が無秩序に積層した100層から成る多層構造膜であるので¹⁴⁾、粒子の目づまりが少なく、目づまりに起因した濾過速度の低下も少ない。また、BMM モジュールによる濾過は室温で行なえ、血漿の入ったバックを上方からつりさげて静水圧差だけで血漿を落下させる非常に簡単なシステムで行なえる。

実験に用いた BMM の有効濾過面積は0.03m²であり、これは200ml 採血由来の FP 約80ml を濾過するために十分な面積であるが、400ml 採血やプラズマフェレーシスから得られた血漿を濾過するためには、濾過する血漿量に合せて有効濾過面積を大きくするだけで対応が可能である。これらの理由のため、ウイルス除去を目的とした BMM 濾過システムは、ベットサイドで簡単に実施できる。

今回測定したすべての項目にわたり、平均孔径の大きい BMM-50の方が平均孔径の小さな BMM-30より、濾過率が良好であった。また、分子量の大きな IgM (MW 90~100万)、第Ⅷ因子 (MW 110万、フォンビルブラント因子を含めた分子量) や脂質系成分 (特にトリグリセリドと β -リポタンパク) の回収率は、BMM-30では25~40%、BMM-50では60~70%であったが、その他の成分では、十分に濾液に回収された。

IgM や第Ⅷ因子の濾過率が良好でなかった原因は、分子量の大きなこれらタンパクが、目づまりに原因して、脂質による吸着あるいは脂質近傍での目づまりに起因しているためと思われる。一方、疎水性の脂質成分の濾過率が悪かった原因は、この膜自体への吸着による影響も無視できないが、主として脂質成分が0.1 μ m以上の粒子として存在する成分が多く、これが膜に捕捉されるためと思われる。もし脂質が BMM に吸着されるのなら、濾過の初期時点で、脂質の濾過率が急激におち、その後膜表面が脂質で飽和になった時点で回復してくるはずであるが、図5に示したように、IgM や第Ⅷ因子の濾過率と同様徐々に減少したため、吸着機構が支配的とは考えにくい。またト

リグリセリドは、血中では単一物質として存在するのではなく、カイロミクロンや低比重リポタンパクとして他の脂質成分と会合して、リポタンパクとして存在するため、マクロなミセル状をしており、これが BMM の多層構造膜に捕捉されるのではないかと考えられる。

一般に、トリグリセリドの正常値は、成人空腹時で35~130mg/dl である。しかし、食後では外因性 (食事性) トリグリセリドが増加し、これがカイロミクロン中に取りこまれ、乳び血漿の原因の一つとなる。献血者からの採血は空腹時に行なわれるとは限らず、正常値をはるかに超えた乳び血漿も含まれることもある。この膜を用いれば、乳び血漿中の脂質成分を捕捉することが可能なため、乳びのため外観落ちと判定され、製品とならなかった FP も製品化できることも考えられる。事実、乳び血漿のため外観落ちとなった FFP (トリグリセリド量462mg/dl) を BMM-50で濾過したところ、濾液は外観的には透明で乳びは全く検出できなくなり、トリグリセリド量も56.0mg/dl と正常レベルまで減少した。しかし、図6に示したように、濾過時間は血漿中のトリグリセリド量により規定されるため、このような乳び FFP では、必然的に濾過時間が延びることとなる。

また、室温での濾過時間の延長にともない、凝固系因子の失活が問題となってくる。FP を BMM モジュールで濾過すると、BMM-30では内因性凝固因子活性の指標となる APTT、外因性凝固因子に関連する PT とも大きく延長したが、BMM-50では顕著な遅延は認められなかった。APTT での遅延の主な原因は、BMM による第Ⅷ因子の捕捉によるものと考えられる。また APTT の BMM 濾過の前値 (45.4秒) は、血漿分離直後に測定した値 (33.6 $\pm$ 4.5秒) より遅延しており、検体の活性測定をするまで室温で放置したことによる内因性凝固系因子の低下が予想された。一方、PT の正常値は10~12秒であり、BMM-50で濾過する限り、濾過液の PT 値も正常範囲内であった。いずれにしても、凝固系因子の失活を考慮するならば、濾過時間は可能な限り短縮すべきである。

この BMM モジュールの濾過システムの濾過

時間を決定する因子は、FPの濾過容量、FP中の脂質量(特にトリグリセリド量)、原液から濾液までのヘッド差、BMMモジュールの平均孔径や有効濾過面積などが考えられる。したがって、今後これらの要素をかえながら、多段濾過も考慮した濾過時間の短縮をめざす必要があろう。

奥山ら¹⁵⁾は、平均孔径10~50nmのBMMモジュールを用いたFPまたはFFPをポンプを用いた濾過を行ない、第Ⅷ因子、第Ⅸ因子、アンチトロンビンⅢ、フィブロンネクチン量の透過率を測定した結果、平均孔径10nmのBMMモジュールではそれらの因子の透過率は悪かったが、20nmおよび50nmのBMMモジュールを用いれば、概ね回収率は良好であると報告している。われわれの結果との大きな違いは、第Ⅷ因子の濾過性である。彼らは、平均孔径20nm以上のBMMモジュールで86~99%の第Ⅷ因子が回収されると報告したが、われわれの結果では、BMM-30で約30~40%、BMM-50で約70%と低値であった。この結果の相違は、図3からも明らかなように、凝固因子系の回収率では標準偏差値が大きいことから、実験に用いたFPの違いや、実験条件、濾過液量などが一因と考えられる。原因が明らかとなれば、BMMモジュールの凝固系因子の回収率を高めることが可能である。

すでにわれわれは、BMM-20モジュールによるFFPからのHBウイルスの選択的除去を報告したが¹⁶⁾、各血漿成分の濾過性を考慮すると可能な限り大きい平均孔径のBMM中空糸を使用することが望ましい。そこで平均孔径50nmのBMMの二重濾過によるFFPからのHBウイルスの除去を行なってみた。表2に示したように、1段目の濾過でわずかに漏出されたDane粒子中のHBV-DNAは、2段目の濾過で検出限界以下になった。これに対して、血漿タンパクの各成分は、1段目の濾過だけで捕捉され、2段目ではほぼ100%回収された。今回データには示していないが、HBウイルス陰性のFFPをBMM-50で二重濾過した場合、凝固因子や免疫グロブリンを含めたすべての血漿タンパク成分は、二段目の濾過ではほとんど捕捉されず、短時間で濾過された。ま

た、HBウイルス陽性FFPのBMM-50による二重濾過でタンパク透過率とHBV-DNA阻止率と同時に測定したデータは、これ1例であるが、HBウイルス陽性FFPをBMM-50で二重濾過した場合、HBV-DNAは検出限界以下となっていた(データは示さず)。

奥山ら¹⁷⁾によると、第Ⅷ因子を含めた凝固系因子を二重濾過すると、凝固因子は1段目のみ多少膜に捕捉されるが、2段目ではほとんど損失なく濾液に回収されたという。また、濾過時間は、2段目では数分で終了するため、このBMM-50による二重濾過は、HBウイルスを阻止しかつ血漿タンパクの各有用成分を比較的良好に濾過しうる手段と考えられる。現在、さらにこのウイルスの阻止係数を上げるために、孔径分布幅の狭い中空糸の製造方法や二重濾過する時、BMMの平均孔径を1段目と2段目でかえながら、最適なBMMの孔径の組み合わせを検討中である。

一方、浜本ら¹⁸⁾は、同じ製法の平均孔径105nmのBMMモジュールで、HIV溶液を濾過することにより、その感染性を完全に除去できると報告した。膜法によるウイルスの除去は、主としてウイルスの平均粒子径によってその除去能が規定されと考えられる。そのため、目標としたウイルスの粒子径がわかれば、それに適合する平均孔径のBMMモジュールを用いることにより、容易にウイルスの分離・濃縮・除去が可能である¹⁹⁾。したがって、適当な大きさの平均孔径をもつBMMモジュールを用いれば、その粒子径が30~60nmと推定される²⁰⁾NANBVを除去することも可能であらう。

従来、血漿分画工程では、各種のウイルス不活化・除去法が試みられているが、血漿製剤からのウイルス除去は、このBMMモジュールによる濾過が始めてであり、ウイルス除去効果を他法とは直接比較することはできない。しかし、一般に血漿分画工程でのウイルス除去、不活化法は、初濃度の 10^{-4} に減少させることが一つの目安となっており²¹⁾、本データと比較すると、HBV-DNAを少なくとも $10^{-2.8}$ 以下にすることが可能であった。精製Dane粒子を用いた予備的なBMM濾過実験

の結果では、BMM 濾過により 10^{-4} レベルへの除去は達成されているので²²⁾、この BMM 濾過法は、ウイルス除去法として有効であると考えられる。

結 語

血漿からのウイルス除去を目的として開発された銅アンモニア法再生セルロース中空糸 (BMM) を用いることにより、血漿成分の濾過効率が比較的良好でかつ HB ウイルスを含まない血漿を得ることができた。この方法は、非常に簡便であり、現在のところ FP や FFP から HB ウイルスを除去できる唯一の手段である。また HIV, HTLV-I, NANBV を含めた感染性ウイルスの除去も可能と思われることから、その実用化が期待される。

文 献

- Harada, S., Yoshiyama, H. and Yamamoto, N.: Effect of heat and fresh human serum on the infectivity of human T-cell lymphotropic virus type III evaluated with new bioassay system. *J. Clin. Microbiol.*, 22: 908—911, 1985.
- Spire, B., Barré-Sinoussi, F., Montagnier, L. and Chermann, L.C.: Inactivation of lymphadenopathy associated virus by chemical disinfectants. *Lancet*, ii: 898—901, 1984.
- Piszkiewicz, D., Kingdom, H., Apfelzweig, R., McDougal, J.S., Cort, S.P., Andrews, J., Hope, J. and Cabridilla, C.D.: Inactivation of HTLV-III/LAV during plasma fractionation. *Lancet*, ii: 1188—1189, 1985.
- 上村八尋, 後藤 節, 須山忠和, 浜本嘉昭, 原田信志, 山本直樹: 免疫グロブリン製造工程中での AIDS ウイルス (HIV) の不活化. *日本輸血学会雑誌*, 33(6): 750—754, 1987.
- Kamide, K. and Manabe, S.: Role of Micro-phase separation phenomena in the formation of porous polymeric membranes. *Materials Science of Synthetic Membranes* (ed. by Lloyd, D.R.). American Chemical Society, Washington D.C., 1985, pp. 197—228.
- Smith, J.K., Winkelman, L. and Feldman, P.A.: Interim results of surveillance for NANBH in patients receiving heated concentrates produced in England. *Dev. Biol. Stand.*, 67: 323—325, 1987.
- Auerswald, G. and Popp, M.: Long-term surveillance study on a new pasteurized factor IX concentrate. *Ric. Clin. Lab.*, 16: 216, 1986.
- Schimpf, K., Mannucci, P.M., Kreutz, W., Brackmann, H.H., Auerswald, G., Ciavarella, N., Mössler, J., DeRosa, V., Kraus, B., Brueckmann, CH., Mancuso, G., Mittler, U., Haschke, F. and Morfini, M.: Absence of hepatitis after treatment with a pasteurized factor VIII concentrate in patients with hemophilia and no previous transfusions. *N. Eng. J. Med.*, 316: 918—922, 1987.
- Quinnan, G.V., Wells, M.A., Wittek, A.E., Phelan, M.A., Mayner, R.E., Feinstone, S., Purcell, R.H. and Epstein, J. S.: Inactivation of human T-cell lymphotropic virus, type III by heat, chemicals, and irradiation. *Transfusion*, 26(5): 481—483, 1986.
- Prince, A.M., Stephan, W. and Brotman, B.: β -propiolactone/ultraviolet irradiation: a review of its effectiveness for inactivation of viruses in blood derivatives. *Rev. Infect. Dis.*, 5: 92—107, 1983.
- Horowitz, B., Wiebe, M.E., Lippin, A. and Stryker, M.H.: Inactivation of viruses in labile blood derivatives: I. Disruption of lipid-enveloped viruses by tri (n-butyl)-phosphate detergent combinations. *Transfusion*, 25: 516—522, 1985.
- Horowitz, M.S., Rooks, C., Horowitz, B. and Hilgartner, M.W.: Virus safety of solvent/detergent-treated antihemophilic factor concentrate. *Lancet*, ii: 186—188, 1988.
- Andrade, J.D. and Hlady, V.: Protein adsorption and materials biocompatibility; a tutorial review and suggested hypotheses. *Advances in Polymer Science*, 79: 1—63, 1986.
- Manabe, S., Kamata-Shigemoto, Y., Iijima, H. and Kamide, K.: Some morphological characteristics of porous polymeric membranes prepared by "micro-phase separation method". *Polymer J.*, 19(4): 391—404, 1987.
- 奥山堅司, 福島譽子, 三浦泰裕, 本間玲子, 真鍋征一, 石川 元, 佐谷満州夫, 小室勝利: 多孔性再生セルロース膜 (BMM) 中空糸による血漿蛋白質の濾過. *臨床血液*, 29(5): 662—665, 1988.
- 伊藤敬三, 小林正友, 池田久實, 関口定美, 飯島秀樹, 鶴見 隆, 石川 元, 真鍋征一, 相沢 秀: BMM 中空糸による血漿中ウイルス除去の可能性. *医学のあゆみ*, 142(1): 53—54, 1987.
- 奥山堅司, 福島譽子, 三浦泰裕, 真鍋征一, 石川元, 鶴見 隆, 大沢直樹, 平崎智子, 佐谷満州夫, 小室勝利: 多孔性再生セルロース BMM 中空糸の血漿分画製剤安全性向上への応用. *医学のあゆみ*, 148(5): 361—362, 1989.
- 浜本嘉昭, 小林 進, 原田信志, 山口和人, 真鍋

- 征一, 飯島秀樹, 鶴見 隆, 山本直樹: 再生セルロース多孔膜による HIV の除去. 第35回日本ウイルス学会抄録, 1987, p. 132.
- 19) 前野 貢, 江角真理子, 石川 元, 真鍋征一, 志方俊夫: 再生セルロース多孔膜による肝炎ウイルスの濃縮と精製. 第24回日本肝臓学会総会講演要旨集, 29. Supply: 1988, p. 207.
- 20) He, L., Alling, D., Popkin, T., Shapiro, M., Alter, H.J. and Purcell, R.H.: Determination the size of non-A, non-B hepatitis virus by filtration. *J. Infect. Dis.*, 156(4): 636—640, 1987.
- 21) Prince, A.M.: Reliability of chimpanzee model for non-A, non-B hepatitis. *Lancet*, ii: 1134, 1985.
- 22) Ito, K., Kobayashi, M., Ikeda, H., Sekiguchi, S., Tsurumi, T., Ishikawa, G., Manabe, S., Satani, M. and Yamashiki, T.: Possibility of hepatitis B virus (HBV) removal from human plasma using regenerated cellulose hollow fiber (BMM). Membrane, to be submitted.
-