

EFSA 評価書におけるコラーゲン及びゼラチンの製造工程における プリオン不活化 (EFSA, 2020¹) に関する概要

3.5. Inactivation of prions during the processing of raw materials for the production of C&G

様々な研究結果から、コラーゲン/ゼラチン (C&G) の製造工程が、原材料中に存在する可能性のある TSE 感染性を低減する能力を有しているとされている。

また、酸性又はアルカリ性処理、及び C&G 製造において用いられる可能性のあるその他の処理 (脱脂、熱処理等) が TSE 力価に及ぼす影響に関する入手可能な研究データは、全て、発症動物から直接得られた材料ではなく、自然発生スクレイピー由来の ME7 や 263K、あるいはマウス馴化 C-BSE (301V 株) といった実験室でげっ歯類に適応させたプリオン株を用いている。これらの研究には、産業段階のベンチスケールのプロトコルを適用する前後のサンプルにおける生物学的検定法を用いた感染力価の比較滴定が含まれている。

C&G の製造工程におけるプリオン感染性の低下に関する知見の概要は以下の通り (詳細は EFSA, 2020 Table 1 参照) 。

1. 脱脂

脱脂処理による脳特異的たん白質量の減少や最終的な乾燥骨片における脂肪含有量を考慮すると、本処理によって、生の骨材料の中樞神経系又は背根神経節 (DRG) 汚染に関連する可能性のある感染性レベルが最大 $2 \log_{10}$ (1/100) まで低下する可能性がある。

2. アルカリ/酸性処理

ゼラチン抽出に用いられる強アルカリ性、強酸性、および酸性/アルカリ性処理の併用は、いずれも脳乳剤または脳乳剤を添加した骨材料における TSE 感染性を低下させることが報告されている。

げっ歯類に適応したプリオンを使用して得られたデータによると、強酸性処理で $1.17 \log_{10}$ ~ $3.7 \log_{10}$ 、強アルカリ処理は個体で $2.1 \log_{10}$ ~ $5.25 \log_{10}$ までの範囲の減少率となることが示されている (未公表のデータ含む)。

3. 生ゼラチンのろ過

限外ろ過及びナノろ過は、TSE 感染性を有意に (1/100 ~ 1/1,000 以上) 低減するこ

¹ SCIENTIFIC OPINION; Potential BSE risk posed by the use of ruminant collagen and gelatine in feed for non-ruminant farmed animals (EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ), 2020) . <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6267>

とが示されており、生物由来物質の安全性を高めるために一般的に用いられている。

一方、520 nm を超える細孔径の装置を用いた脳乳剤のろ過は、TSE 感染性に全く影響を与えないか、ほとんど影響を与えないと報告されている。珪藻土ろ過が 0.5 μm 未満の粒子に対する効果は限定的であることから、珪藻土を用いた生ゼラチンろ過では、大きな固体粒子を除去し、それによって関連する TSE の感染性を除去できる可能性があるが、組織乳剤中に存在する TSE 感染性粒子を除去する可能性はほとんどない。

4. アニオン性／カチオン性アンバーライト樹脂による塩の除去

アニオン性及びカチオン性の両方のセファロース交換カラムは、添加血漿製剤又は生理食塩水から、感染性及び PrP^{Sc} 含有量の両方に基づいて、3 log₁₀ を超えるプリオンを除去できることが実証されているが、これらのクロマトグラフィーカラムによる除去は、イオン交換基との相互作用ではなく、プリオンがセファロースマトリックスに直接結合した結果であることが示されている。また、アニオン性／カチオン性アンバーライト樹脂処理によるゼラチンの脱塩によって BSE 感染性が低下する可能性は低い。

5. ゼラチンの UHT 滅菌

ゼラチン抽出物の最終殺菌工程として適用される UHT 処理(138~140°C、4 秒以上)を施すと、酸性処理後の 301V 株では 137°C、3.3 秒間の実験で 2.2 log₁₀ (1/170) を超える減少率が得られ、アルカリ処理後の 301V 株では 1.2 log₁₀ (1/17) を超える減少率が得られると推定された。様々な文献から、オートクレーブ処理が 301V 株の減少に有効である可能性を示唆している。しかし、酸性下で得られた熱不活化プロファイルは、C-BSE と 301V 株／Sc237 ハムスタースクレイピー株で異なることが示されており、ゼラチンの最終殺菌工程である UHT 処理は、基質中に存在する可能性のある C-BSE 感染性に対して限定的な影響しか及ぼさない可能性がある。

(参考) EU 規則に基づくコラーゲン及びゼラチンの製造工程

○コラーゲン：動物の皮、骨、腱由来のたん白質ベースの製品

1. EU 規則に基づき BSE リスクが管理されている、又は未確定と判断される国又は地域由来の反すう動物由来骨原料

- ・細かく粉砕し、熱湯で脱脂
- ・希塩酸（最低濃度 4%、pH < 1.5）で 2 日間以上処理
- ・酸又はアルカリを用いて pH を調整
- ・1 回以上のすすぎ洗いをし、ろ過、粉砕、押出成形、または承認された同等の工程のうち少なくとも 1 つを実施

2. 1. 以外の原材料

- ・洗浄を含む処理
- ・酸又はアルカリを用いた pH 調整
- ・1 回以上のすすぎ洗い
- ・及びろ過、粉砕、押出成形、または承認された同等の工程のうち少なくとも 1 つ

※製造されたコラーゲンは乾燥工程を経る場合がある。

○ゼラチン：ゼラチンを、動物の骨、皮、腱、筋由来のコラーゲンの部分加水分解によって得られるゲル化性又は非ゲル化性の天然可溶性たん白質

1. EU 規則に基づき BSE リスクが管理されている、又は未確定と判断される国又は地域由来の反すう動物由来骨原料

- ・細かく粉砕し、熱湯で脱脂
- ・希塩酸（最低濃度 4%、pH < 1.5）で 2 日間以上処理
- ・以下の処理を施すこと：
 - 20 日間以上の飽和石灰溶液（pH > 12.5）によるアルカリ処理（138℃、4 秒以上の熱処理を含む）又は
 - 最低 10 時間の酸処理（pH < 3.5）（138℃、4 秒以上の熱処理を含む）又は
 - 133℃、3bar 以上の飽和蒸気による 20 分以上の加熱加圧処理、又は
 - 承認された同等の処理

2. 1. 以外の全ての原材料

- ・酸又はアルカリによる処理
- ・1 回以上のすすぎ
- ・その後、酸又はアルカリを用いた pH 調整
- ・1 回以上の加熱抽出
- ・ろ過及び熱処理による精製