

## 感染実験等に関する科学的知見(案)

## 異常プリオンたん白質への経口感染実験による知見

牛への異常プリオンたん白質(PrP<sup>Sc</sup>)経口感染実験に基づいて、生体牛における PrP<sup>Sc</sup> の組織分布、各組織の感染性<sup>1)</sup>、及び用量依存的な発症率と潜伏期間の関係等が報告されている。2004 年までの英国における経口感染実験の結果は、「日本における牛海綿状脳症(BSE)対策について—中間とりまとめ—」(参照 1 食品安全委員会(2004)#209)及び「我が国における牛海綿状脳症(BSE)対策に係る食品健康影響評価」(参照 2 食品安全委員会(2005)#210)にまとめられている。以下では、主にその後の新しい知見を基に整理した。

1. PrP<sup>Sc</sup> の牛生体内における組織分布及び感染性

## (1) 英国の研究グループの研究

英国獣医学研究所(Veterinary Laboratories Agency ; VLA)における研究では、BSE 感染牛脳幹に経口暴露された牛の各組織の感染性を調べる目的で、野生型マウス (RⅢマウス及び C57bl マウス) を用いてバイオアッセイ試験が実施された。BSE 感染牛脳幹 (RⅢマウスを用いて測定された感染力価 :  $10^{3.5}$  i.c./i.p.ID<sub>50</sub>/g<sup>2</sup>) 100 g を子牛 30 頭(4 か月齢)に経口投与後、2 か月後より 40 か月後まで、経時的にと殺して採取した各組織をマウスに脳内 (0.02mL) 及び腹腔内接種 (0.1ml) した。(参照 3 Wells, et al.(1996)#196)

Arnold らは同研究から、中枢神経系(Central Nervous System: CNS)、背根神経節 (Dorsal Root Ganglion:DRG)、回腸遠位部等の潜伏期段階ごとの感染力を推定した。DRG は CNS より感染率が低く、胸部 DRG 及び頸部 DRG の平均力価は CNS の感染性に比べてそれぞれ約  $10$  i.c./i.p.ID<sub>50</sub>/g 及び  $10^{1.5}$  i.c./i.p.ID<sub>50</sub>/g 低かった。回腸遠位部の感染性は、 $6$  mpi<sup>3)</sup>から認められ、 $14\sim 18$  mpi に高くなり、その後減少し、 $40$  mpi に再び若干高くなった(参照 4 Arnold, et al.(2009)#149)。回腸遠位部の感染性は、個体によって差が大きく、RⅢマウスを用いて測定された感染力価の 95%信頼区間は、 $10^{-1.12}\sim 10^{1.94}$  i.c./i.p.ID<sub>50</sub>/g と

1) 牛の各組織に沈着した PrP<sup>Sc</sup> をマウスに脳内及び腹腔内投与後、マウスが発症又は死亡して、マウス脳内に PrP<sup>Sc</sup> が検出できるまでの潜伏期間を指標にして調べた、各組織由来 PrP<sup>Sc</sup> の感染性。

2) 牛の各組織に沈着した PrP<sup>Sc</sup> をマウスに脳内又は腹腔内投与後、マウスが発症して、マウス脳内に PrP<sup>Sc</sup> が検出できるまでの潜伏期間を指標にして調べた、各組織由来 PrP<sup>Sc</sup> の感染性。

3) mpi…months post infection (感染後月数)

推定された(参照 4 Arnold, et al.(2009)#149)。

Arnold らの別の研究では、生後 4~6 か月齢の子牛 100 頭ずつに、100 g 又は 1 g の BSE 感染牛脳幹 (RIIIマウスを用いて測定された感染力価：約  $10^{3.1}$  i.c./i.p.ID<sub>50</sub>/g)を経口投与し、投与後 89 か月目まで観察する感染実験が実施された。投与後経時的に牛をと殺し、投与量と CNS 及び関連する末梢神経組織に PrP<sup>Sc</sup>が検出される時期を推察している(詳細は「2. 牛への PrP<sup>Sc</sup>投与量と潜伏期間」参照)。(参照 5 Arnold, et al.(2007)#107, 6 Stack, et al.(2011)#154)

Stack らの研究では、Arnold らの感染実験によって採材された十二指腸、空腸及び回腸遠位部を用いて、これら臓器における PrP<sup>Sc</sup>の分布及びマウスバイオアッセイを用いた各組織の感染性が調べられた。100 g 投与群の延髄門部に PrP<sup>Sc</sup>が検出されたのは 33 mpi からであった。100 g 投与群においては、回腸で PrP<sup>Sc</sup>が検出され、また、空腸の一部にも PrP<sup>Sc</sup>が認められた。PrP<sup>Sc</sup>は回腸では CNS よりも早い時期に認められ、観察期間中継続的に検出された。その後 36~42 mpi にわずかに増加がみられたが、43 mpi 以降、PrP<sup>Sc</sup>は検出されなかった。全期間における PrP<sup>Sc</sup>検出率(陽性頭数/検査頭数)は、100 g 投与群の空腸及び回腸において、それぞれ 8/58 (13.8%)及び 45/99 (45.5%)であった。

1 g 投与群の回腸リンパ系組織においても PrP<sup>Sc</sup>が検出されたが、検出率(陽性頭数/検査頭数)は 1/98 (1.0%)であった。腸神経組織中には PrP<sup>Sc</sup>はほとんど検出されなかった。BSE 感染牛脳幹 1 g 投与群の空腸、並びに 100 g 投与群及び 1 g 投与群の十二指腸からは、PrP<sup>Sc</sup>は検出されなかった。これらの結果から、BSE 感染牛の回腸以外の小腸における感染性は、暴露用量にかかわらず、回腸における感染性よりも低いと考えられた。

PrP<sup>Sc</sup>が検出された陽性リンパろ胞の頻度は、症例あたり 1.5%未満であった。加齢に伴い回腸でのリンパろ胞の検出頻度は減少し、100 g 投与群の PrP<sup>Sc</sup>陽性牛では、リンパろ胞総数に対する PrP<sup>Sc</sup>陽性ろ胞の比率は増加した。一方、PrP<sup>Sc</sup>陽性のろ胞を有する牛の割合が、加齢に伴い減少したことも報告されている。(参照 6 Stack, et al.(2011)#154)

## (2) ドイツの研究グループの研究

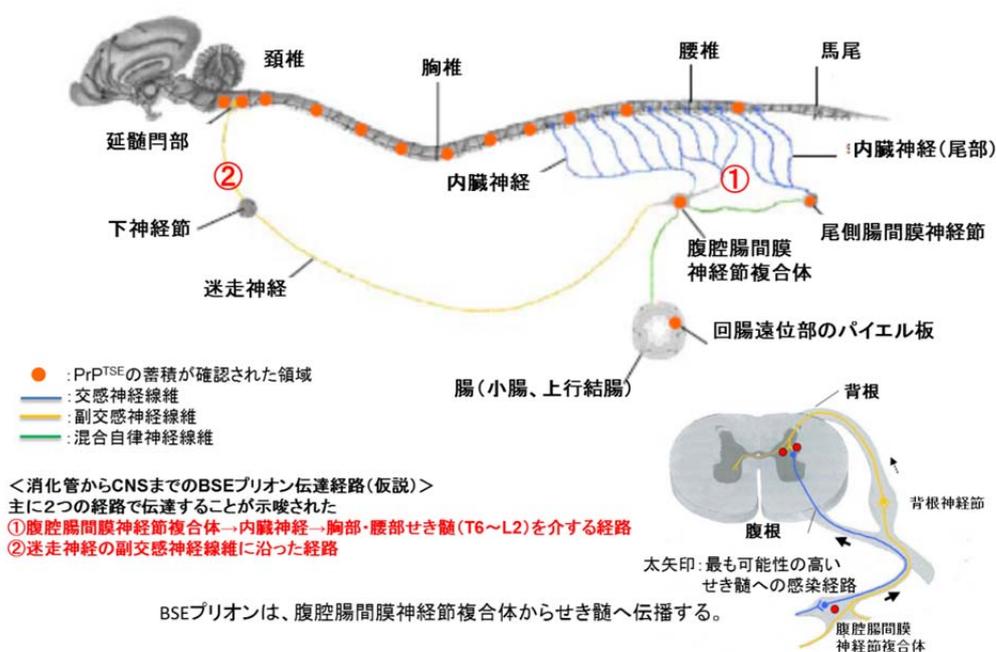
ドイツのフリードリッヒ・レフラー研究所 (Friedrich-Loeffler-Institut) における研究では、BSE の潜伏期間が極めて短い、ウシ型 PrP を発現する遺伝子改変マウス(TgbovXV)が用いられた。マウスの PrP<sup>Sc</sup>に対する感度を調べたところ、TgbovXV は PrP<sup>Sc</sup>に対する感受性が高く、RIIIマウスの 10,000 倍、牛の約 10 倍であった。(参照 7 Buschmann, et al.(2005)#45)

Hoffmann らは、生体牛における感染経路、特に牛における BSE 感染の時間

経過を解明する目的で、子牛 56 頭(4~6 か月齢)に 100 g の BSE 感染牛脳幹 (TgbovXV マウスを用いて測定された感染力価 :  $10^{6.1}$  i.c./i.p.ID<sub>50</sub>/g) を経口投与した。投与後 4 か月ごとに 4~5 頭をと殺し、各牛から 150 以上の組織及び体液が採取された。24 mpi 及び 28 mpi でと殺した牛のうち、各 1 頭の牛において、臨床症状は見られなかったが、肛門での PrP<sup>Sc</sup> 沈着が経口暴露後最も早い時点で検出された。これらの牛では、腸管及び関連リンパ節、扁桃、咽頭後リンパ節、脾臓、交感神経系及び副交感神経系の大部分、神経線維、神経節、脳幹等の組織が調べられ、24 mpi の牛の延髄門部、橋、せき髄、腹腔神経節、尾側腸間膜神経節、回腸のパイエル板で PrP<sup>Sc</sup> が検出された。一方、28 mpi の牛では延髄門部のみで PrP<sup>Sc</sup> が検出され、その他の部位は陰性であった。

これらの結果から、PrP<sup>Sc</sup> は、経口暴露後小腸から侵入し、その後、リンパ細胞系ではなく、神経を経由して CNS へ到達すると推測された。その経路の一つは、腹腔腸間膜神経節複合体から内臓神経及び腰部/尾側胸部せき髄(消化管交感神経支配)を介する経路、もう一つは迷走神経(消化管副交感神経支配)を介する経路であると推察された(図 1)。DRG への移行は CNS の後であると考えられた。(参照 8 Hoffmann, et al.(2007)#145)

図 1 腸から脳への BSE プリオンの可能性の高い移動経路



(参照 8 Hoffmann, et al.(2007)#145)より作成

また、Hoffmann らは、感染後未発症（潜伏期間）の牛における PrP<sup>Sc</sup> の腸管組織内分布及び感染性を調べている。各牛の空腸、回腸及び回盲部からは、いずれの部位もパイエル板を含むように試料が採取され、免疫組織化学的検査 (IHC)、ELISA 法による迅速検査及び PTA-ウェスタンブロット<sup>4)</sup>検査により PrP<sup>Sc</sup> の分布が調べられるとともに、8～20 mpi の腸管の各部位について TgbovXV マウスを用いたバイオアッセイが実施された。

投与群において臨床症状は 32 mpi 以降にみられた。8 mpi の比較的若い牛、及び特に 12 mpi の牛では、潜伏期間(32 か月)の後期の牛に比べて、PrP<sup>Sc</sup> の分布及び感染性が空腸、回腸、回盲部に広範囲に渡って見られた。4 mpi から 44 mpi にかけてと殺された 43 頭のうち、40 頭の回腸に PrP<sup>Sc</sup> の蓄積や感染性が認められた。1 mpi でと殺された 3 頭はいずれも陰性であった。

IHC では、主に回腸に PrP<sup>Sc</sup> 陽性ろ胞が認められた。マウスを用いたバイオアッセイの結果、8～20 mpi の牛 16 頭の回腸では感染率が高く (11/16)、回腸以外の部分よりもマウスでの潜伏期間が短いことが示された。空腸においても、主に 12 mpi の牛に感染性が認められた(7/16)が、マウスの感染率は 8～30%と低く、IHC では空腸に PrP<sup>Sc</sup> は検出されなかった。IHC により、PrP<sup>Sc</sup> 陽性細胞の経時的な移行が認められた。4 mpi では、核片貪食マクロファージ<sup>5)</sup>に PrP<sup>Sc</sup> が認められた。(参照 9 Hoffmann, et al.(2011)#109)

### (3) 日本の研究グループの研究

我が国では、(独)動物衛生研究所において BSE の感染実験が実施されている。岡田らは、28 頭の牛(3～11 か月齢)に 5g の BSE 感染牛脳幹(TgBoPrP マウスを用いて測定された感染力価：約  $10^{6.7}$  i.c. ID<sub>50</sub>/g)を投与し、IHC 及びウェスタンブロット法によって回腸及び後部空腸のパイエル板における PrP<sup>Sc</sup> の分布を調べた。投与後、経時的にと殺し、脳、DRG を含む頸部・胸部・腰部せき髄、仙髄、腸管等の組織が採取された。

接種後 34 mpi 以降にと殺された牛 14 頭中 7 頭の CNS に PrP<sup>Sc</sup> が認められ、そのうちの 5 頭は臨床徴候を示し、それぞれ 34 mpi、42 mpi、58 mpi 及び 66 mpi(2 頭)にと殺された。36 mpi 及び 48 mpi にと殺された 2 頭の牛に、臨床症状は認められなかったが、迷走神経背側運動核、延髄門部の三叉せき髄核及びせき髄の第 13 胸節の中間外側核にわずかな PrP<sup>Sc</sup> 沈着が見られた。

<sup>4)</sup> PTA-ウェスタンブロット：リンタングステン酸(PTA)処理により PrP<sup>Sc</sup> を選択的に沈殿させてからウェスタンブロットで検出する検査。感度が増加する。

<sup>5)</sup> 核片貪食マクロファージ：胸腺、脾臓及びリンパ節等において、濾胞のはい中心に特異的に認められるマクロファージ。多数の核片が原形質内に認められるため、可染性のマクロファージである。

腸管は、回盲部から空腸前部に向けて 50 cm 間隔で 3 m まで、連続パイエル板を含む部位を採取し、残りの空腸からも不連続パイエル板を含む部位をおよそ 2m 間隔で採取した。延髄門部を含めた CNS 中に PrP<sup>Sc</sup> が検出されたのは、34 mpi. 以降であった。腸管では、回腸全体と、空腸後部を含む小腸後部から採取された連続パイエル板中にあるろ胞の一部から PrP<sup>Sc</sup> が検出された。ろ胞の PrP<sup>Sc</sup> 陽性細胞は、核片貪食マクロファージであることが確認された。20 mpi の牛 3 頭、30 mpi の牛 1 頭及び 46 mpi の牛 1 頭、計 5 頭の未発症牛において、小腸後部（回盲部から 3m までの位置）の連続パイエル板中から PrP<sup>Sc</sup> が検出されたが、不連続パイエル板からは検出されなかった。それらの 5 頭において検査されたろ胞のうち、PrP<sup>Sc</sup> の認められた割合は、各々 2.18%(9/413)、0.07%(1/1447)、0.26%(2/762)、0.23%(3/1282) 及び 0.5%(1/200) であった。TgBoPrP マウスを用いたバイオアッセイで 20 mpi の牛から採取された PrP<sup>Sc</sup> 陽性ろ胞を含む連続パイエル板の感染性を調べた結果、マウスが発症するまでの期間は平均 248.9±14.4 日であり、感染性が認められた。一方、不連続パイエル板を接種したマウスは 650 日以上生存し、感染性は認められなかった。(参照 10 Okada, et al.(2011)#101)

#### (4) その他の実験

Espinosa らの研究では、100 g の BSE 感染牛脳幹を経口投与した 13 頭の子牛(4~6 か月齢)から、経時的に組織を採取し、感染性が調べられた。投与材料として、臨床症状が認められた 150 頭の牛由来の脳幹の混合物が用いられた。20、24、27、30 及び 33 mpi にと殺された牛から各組織、血液及び尿が採取された。採取された組織等は、牛のプリオンたん白質 (PrP) を発現する遺伝子改変マウス (BoPrP-Tg110 マウス) の脳内に接種され、マウスの発症率及び接種から発症/死亡までの期間が調べられた。

100 g の BSE 感染牛脳幹を経口投与された牛はいずれも 33 mpi まで無症状であり、33 mpi の脳幹で初めて PrP<sup>Sc</sup> が認められたが、その他の組織では検出できなかった。採取された牛組織の感染性は、脳幹、坐骨神経、回腸パイエル板及び扁桃に認められたが、脾臓、筋肉 (部位記載なし)、血液及び尿には認められなかった。

牛脳幹を接種したマウスでは、27 mpi の牛ではじめて感染性が確認された。感染率 (PrP<sup>Sc</sup> が検出されたマウス数/接種マウス数) は、27、30 及び 33 mpi の牛でそれぞれ 2/6、2/6 及び 6/6 であり、33 mpi に急増した。坐骨神経を接種したマウスでは、感染率は、30 及び 33 mpi にそれぞれ 1/5 であった。パイエル板及び扁桃を接種したマウスでは、いずれのと畜月齢の牛群にも感染性が認め

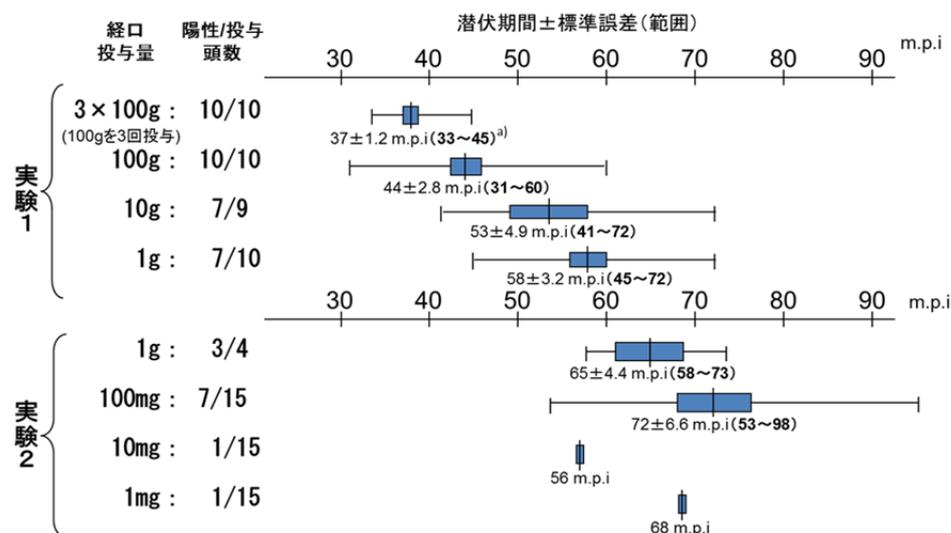
られ、感染率（発症マウス数/接種マウス数）はパイエル板で 1/5～3/5、扁桃で 1/6～1/5 であった。（参照 11 Espinosa, et al.(2007)#65）

## 2. 牛への PrP<sup>Sc</sup> 投与量と潜伏期間

英国 VLA において、実験 1 として、各群 10 頭の子牛(4~6 か月齢)に BSE 感染牛脳幹(RIII マウスを用いて測定された感染力価： $10^{3.5}$  i.c./i.p.ID<sub>50</sub>/g)を 100、10 及び 1 g の用量で単回投与、並びに 100 g の用量で 3 日間連続投与する経口感染試験が実施された。

また、実験 2 として、各群 15 頭の子牛(4~6 か月齢)に 1、0.1、0.01 及び 0.001 g 並びに 5 頭に 1 g を投与する経口感染試験が実施された(参照 12 Wells, et al.(2007)#67)。用量依存的な発症率及び潜伏期間<sup>6)</sup>の推定を行う目的で、各投与群における BSE 発症率及び潜伏期間が調べられた。各投与群における潜伏期間に BSE 発症が確定した牛はと殺され、臨床症状が認められない牛は 110 mpi まで観察された。100 g 及び 1 g 投与群の牛で臨床症状が認められたのは、それぞれ 31 mpi 及び 45 mpi からであった。投与量と発症率及び潜伏期間の結果概要を図 2 に示した。

図 2 投与量と発症率及び潜伏期間の結果概要



Wells らの文献(参照 12 Wells, et al.(2007)#67)より作成

a) 図中 (○～○)：臨床症状により発症が明確であると認められた投与後月数

<sup>6)</sup>投与から発症までの期間

投与量と発症率の関係を対数正規分布で近似した結果、1 CoID<sub>50</sub><sup>7)</sup>は、マウス 10<sup>2.8</sup> i.c./i.p.ID<sub>50</sub> にほぼ等しいと算出され、50%の牛に臨床症状が認められる用量に換算すると、0.20 g (95% の信頼区間：0.04～1.00 g)であった。また、各投与量における潜伏期間は広範囲にわたっているが、投与量の増加とともに潜伏期間の短縮が対数正規分布で近似できることが認められた。本実験における最少用量(BSE 感染牛脳幹 0.001 g)で発症が認められたため、経口投与における BSE 感染牛脳幹の閾値設定はできなかった(参照 12 Wells, et al.(2007)#67)。これまでの英国における疫学的研究より、牛が PrP<sup>Sc</sup>を摂取してから発症するまでの期間は、およそ 5～5.5 年と考えられている(参照 13 Arnold, et al.(2004)#213, 14 Wilesmith, et al.(1988)#214)。著者らは、今回の研究結果より、牛が野外で PrP<sup>Sc</sup>に単回暴露したと仮定すると、発症までの期間(5～5.5 年)に相当する摂取量は 100 mg～1 g と推察した(参照 12 Wells, et al.(2007)#67)。

Arnold らは、この実験の投与量と、CNS 及び関連する末梢神経組織に PrP<sup>Sc</sup>が検出される時期を推察する目的で、投与量と CNS に PrP<sup>Sc</sup>が検出される投与後月数を用いたロジスティック回帰分析を実施した。その結果、各投与量における延髄門部の PrP<sup>Sc</sup> 検出率と投与後月数に相関が認められた。50%の牛で PrP<sup>Sc</sup>が検出される時点は、100g 投与群で発症前 9.6 か月(95%信頼区間：4.6～15.7 か月)、1 g 投与群で発症前 1.7 か月(95%信頼区間：0.2～4.0 か月)と推測された。

この結果、著者らは、自然感染した牛においては、臨床症状が認められる 1.5 か月ほど前に(延髄門部で)PrP<sup>Sc</sup>の検出が可能かもしれないと考察している。また、著者らは、1g 投与の場合の潜伏期間が、野外症例で報告される平均潜伏期間(約 5 年)と一致することから、1 g 投与群の実験結果が野外の状況に最も適合していると考えた。

100 g 投与群及び 1 g 投与群において、投与後発症するまでの潜伏期間に対する PrP<sup>Sc</sup>が検出されるまでの期間の割合を比べた結果、統計的に違いが認められた。100 g 又は 1 g 投与群で 50%の牛の延髄門部に PrP<sup>Sc</sup>が検出される時点は、各々、潜伏期間の 79%又は 97%が経過した時点であった。100 g 投与群では、PrP<sup>Sc</sup>が延髄門部に検出されてから約 1 か月後に頸部及び胸部せき髄に、約 1.3 か月後に中脳及び腰部せき髄に PrP<sup>Sc</sup>が検出されると推測された(参照 5 Arnold, et al.(2007)#107)。

---

<sup>7)</sup>病原体が含まれるもの(BSE 感染牛の脳幹)を牛に経口(oral)投与後、投与された牛の集団の 50%に感染をもたらす量

舛甚らは、1 g 又は 100 g の BSE 感染牛脳幹(RIIIマウスを用いて測定された感染力価: 約  $10^{3.1}$  i.c./i.p. ID<sub>50</sub>/g)が投与された牛の組織<sup>8)</sup>を用いて、高感度のウェスタンブロット法により PrP<sup>Sc</sup>の蓄積時期を調べた。100 g 投与群は 27~42 mpi.及び 1 g 投与群は 36~51 mpi.の牛について、それぞれ脳幹、せき髄、DRG、横隔神経、橈骨神経、坐骨神経、星状神経節及び副腎における PrP<sup>Sc</sup>の蓄積を検査した。

100 g 投与群では、35 mpi. から臨床症状を呈する牛が認められ、32 mpi. から脳幹、頸部・胸部せき髄及び頸部 DRG に、並びに 35 mpi. から胸部 DRG に PrP<sup>Sc</sup>が検出された。横隔膜神経及び副腎では、35~36 mpi.に、星状神経節及び坐骨神経では 36 mpi.に PrP<sup>Sc</sup>が認められた。1 g 投与群では、44 mpi.より臨床症状がみられ、この時期に中脳、頸部・胸部せき髄、胸部 DRG 及び坐骨神経に PrP<sup>Sc</sup>が検出された。脳に PrP<sup>Sc</sup>が認められなかった牛の末梢神経及び副腎には、PrP<sup>Sc</sup>は検出されなかった。末梢神経及び副腎における PrP<sup>Sc</sup>の蓄積に規則性はみられなかったが、時期的には、脳幹に PrP<sup>Sc</sup>が認められるのと同時期又はその後であった。(参照 15 Masujin, et al.(2007)#66)

## 自然感染牛における知見

Buschmann らは、ドイツで終末期の臨床症状が認められた BSE 自然感染牛 3 頭について、組織感染性を調べる目的で、RIIIマウス、Tga20 マウス及び Tgbov XV マウスに牛組織を接種し、それぞれ 700 日観察するバイオアッセイを実施した。脳幹、胸部・腰部せき髄、網膜、視神経、顔面神経、坐骨神経、橈骨神経、回腸遠位部、脳せき髄液、脾臓、扁桃、腸間膜リンパ節、半腱様筋、背最長筋(Musculus longissimus dorsi)、心臓、涙腺丘(Caruncle)、羊水及び初乳について感染性を調べた結果、RIIIマウスで感染性が認められたのは、脳幹、胸部・腰部せき髄及び網膜であった。

RIIIマウスより感度の高い Tgbov XV マウスでは、脳、せき髄、網膜に加え、視神経、回腸遠位部、顔面神経、坐骨神経及び半腱様筋に感染性が認められた。Tgbov XV マウスにおいては、脳、胸部・腰部せき髄の感染率は 100%で、TgbovXV マウスにおける接種から死亡までの期間はそれぞれ平均 208 日、262 日及び 236 日であった。網膜、視神経、顔面神経及び坐骨神経の感染率(発症マウス数/接種マウス数)はそれぞれ 10/13、13/14、11/14 及び 9/13 で、死亡までの期間はそれぞれ平均 331 日、407 日、526 日及び 438 日と CNS に比べて長かった。以上の結果から、これらの末梢神経における PrP<sup>Sc</sup>蓄積は脳幹の PrP<sup>Sc</sup>

<sup>8)</sup>100 頭に 1 g 又は 100 g 投与された VLA にて実施された感染実験の牛の組織。

蓄積より少ないと推計された。

回腸遠位部の感染率は 3/13 で、死亡までの期間は平均 574 日であった。BSE 感染牛由来の半腱様筋については、組織を接種した 10 匹のうち 1 匹が接種後 520 日目に死亡し感染性が確認された。著者らは、感染性を有する牛の組織は限られており、半腱様筋の感染性については、坐骨神経の分布によると考えられるが、脳の感染性の  $1/10^6$  であると推察している。(参照 7 Buschmann, et al.(2005)#45)

同じグループは、発症前及び英国で見つかった末期臨床症状を呈する BSE 自然感染牛 2 頭の脳幹、視神経、顔面神経、三叉神経節、頭蓋頸部神経節、中下頸神経節、鼻粘膜、舌における PrP<sup>Sc</sup> の蓄積及び各組織の感染性をそれぞれ調べた。SAF-イムノブロット法及び PMCA 法を用いて PrP<sup>Sc</sup> の蓄積が強く認められたのは脳幹のみで、視神経及び三叉神経節に弱い蓄積が観察された。TgbovXV マウスを用いたバイオアッセイの結果、舌及び鼻粘膜に感染性が認められたが、それらの感染性は  $10^{2.5}ID_{50}/g$  以下であり、これらの器官に PrP<sup>Sc</sup> は検出できなかった。(参照 16 Balkema-Buschmann, et al.(2010)#36)

岩田らは、我が国のと畜場における BSE 検査で陽性となった 80 から 90 か月齢の牛 3 頭について、肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺、舌、胃、十二指腸、回腸遠位部、回腸（遠位部末端より 2 及び 6 m の部位）、盲腸、直腸、結腸、網膜、すい臓、副腎皮質、リンパ節、喉頭、筋肉、前頭葉、尾状核、視床、線条体、海馬、後頭葉、小脳皮質、脳幹、頸部延髄、胸部延髄、腰部延髄、DRG 及び末梢神経における PrP<sup>Sc</sup> 分布を IHC 及びウェスタンブロット法により調べた。

いずれの牛にも臨床症状は認められなかった。検査された牛すべてで PrP<sup>Sc</sup> が認められたのは、小脳皮質、脳幹、頸部・胸部・腰部せき髄及び背根神経節であった。腰神経及び大腿神経（DRG から約 30cm）に微量の PrP<sup>Sc</sup> が認められたが、その量はせき髄の 1/1,000-1/4,000 と推定された。パイエル板を含む回腸遠位部、扁桃を含む各リンパ節及び脾臓等の各臓器に PrP<sup>Sc</sup> は認められなかった。(参照 17 Iwata, et al.(2006)#44)

岡田らは、日本の死亡牛サーベイランスで見つかった 54、64、69 及び 102 か月齢の計 4 頭の BSE 自然感染牛の消化管組織の PrP<sup>Sc</sup> を、アルカリ処理を組み込んだ高感度の IHC 及び PTA-ウェスタンブロット法で調べた。回盲部から 1 m 又は 30 cm の、どちらも連続したパイエル板を含む空腸及び回腸に PrP<sup>Sc</sup> が認められた。また、54 か月齢の牛の結腸にも PrP<sup>Sc</sup> が認められた。十二指腸、孤立パイエル板を含む空腸、パイエル板を含まない空腸、回盲部、盲腸及び直腸には PrP<sup>Sc</sup> は認められなかった。54 か月齢の牛の回腸遠位部及び結腸を

Tg(BoPrP)マウス<sup>9)</sup>に脳内接種した結果、これらの組織に感染性がみられたが、接種してから死亡するまでの期間はそれぞれ  $528 \pm 10.2$  日及び  $421 \pm 48.2$  日であった。著者らは、その感染性は脳に比べて低いと考えた。(参照 18 Okada, et al.(153))

同じグループは、日本の死亡牛サーベイランスで PrP<sup>Sc</sup>が確認された 54～89 か月齢の計 7 頭の BSE 自然感染牛について、CNS、脳及びせき髄の PrP<sup>Sc</sup>の免疫組織化学的パターン及びその分布を調べている。7 頭の牛に臨床症状は認められなかった。脳及びせき髄の全域において PrP<sup>Sc</sup>の沈着が広く観察された。PrP<sup>Sc</sup>は、大脳新皮質よりも灰白質の視床、脳幹及びせき髄に多く集中していた。PrP<sup>Sc</sup>蓄積の局所的分布パターン及び沈着は、脳幹から大脳に至る、異なる脳領域に認められた。(参照 19 Okada, et al.(2011)#148)

---

<sup>9)</sup>Tg(BoPrP)マウス：牛 PrP 遺伝子過剰発現系マウス。PrP<sup>Sc</sup>に感受性が強く、BSE、感染牛脳幹を接種後約 250 日以下で死亡する。

< 参考文献 >

- 1 食品安全委員会. 日本における牛海綿状脳症(BSE)対策について中間とりまとめ.  
2004; #209
- 2 食品安全委員会. 我が国における牛海綿状脳症(BSE)対策に係る食品健康影響評価.  
2005; #210
- 3 G. A. Wells, M. Dawson, S. A. Hawkins, A. R. Austin, R. B. Green, I. Dexter, M. W.  
Horigan and M. M. Simmons. Preliminary Observations on the Pathogenesis of  
Experimental Bovine Spongiform Encephalopathy. BOVINE SPONGIFORM  
ENCEPHALOPATHY. The BSE Dilemma. Springer-Verlag, New York. 1996; 28-44;  
#196
- 4 M. E. Arnold, S. A. Hawkins, R. Green, I. Dexter and G. A. Wells. Pathogenesis of  
experimental bovine spongiform encephalopathy (BSE): estimation of tissue  
infectivity according to incubation period. Vet Res. 2009; 40: 8; #149
- 5 M. E. Arnold, J. B. Ryan, T. Konold, M. M. Simmons, Y. I. Spencer, A. Wear, M.  
Chaplin, M. Stack, S. Czub, R. Mueller, P. R. Webb, A. Davis, J. Spiropoulos, J.  
Holdaway, S. A. Hawkins, A. R. Austin and G. A. Wells. Estimating the temporal  
relationship between PrPSc detection and incubation period in experimental  
bovine spongiform encephalopathy of cattle. J Gen Virol. 2007; 88: 3198-208; #107
- 6 M. J. Stack, S. J. Moore, A. Vidal-Diez, M. E. Arnold, E. M. Jones, Y. I. Spencer, P.  
Webb, J. Spiropoulos, L. Powell, P. Bellerby, L. Thurston, J. Cooper, M. J. Chaplin,  
L. A. Davis, S. Everitt, R. Focosi-Snyman, S. A. Hawkins, M. M. Simmons and G. A.  
Wells. Experimental bovine spongiform encephalopathy: detection of PrP(Sc) in the  
small intestine relative to exposure dose and age. J Comp Pathol. 2011; 145:  
289-301; #154
- 7 A. Buschmann and M. H. Groschup. Highly bovine spongiform  
encephalopathy-sensitive transgenic mice confirm the essential restriction of  
infectivity to the nervous system in clinically diseased cattle. J Infect Dis. 2005;  
192: 934-42; #45
- 8 C. Hoffmann, U. Ziegler, A. Buschmann, A. Weber, L. Kupfer, A. Oelschlegel, B.  
Hammerschmidt and M. H. Groschup. Prions spread via the autonomic nervous  
system from the gut to the central nervous system in cattle incubating bovine  
spongiform encephalopathy. J Gen Virol. 2007; 88: 1048-55; #145
- 9 C. Hoffmann, M. Eiden, M. Kaatz, M. Keller, U. Ziegler, R. Rogers, B. Hills, A.  
Balkema-Buschmann, L. van Keulen, J. G. Jacobs and M. H. Groschup. BSE  
infectivity in jejunum, ileum and ileocaecal junction of incubating cattle. Vet Res.  
2011; 42: 21; #109

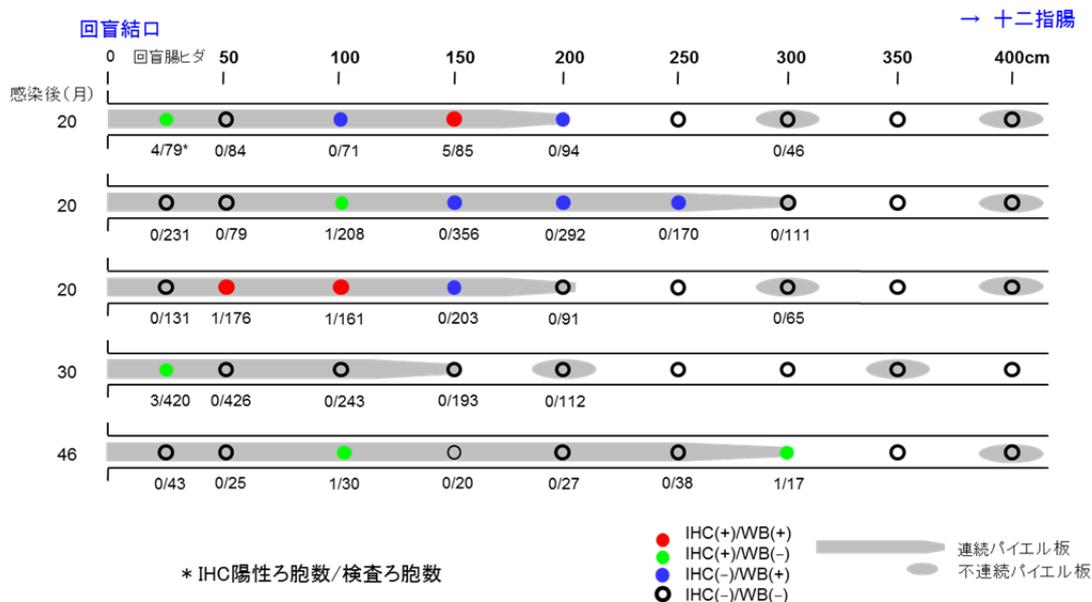
- 10 H. Okada, Y. Iwamaru, M. Imamura, K. Masujin, Y. Matsuura, Y. Murayama, S. Mohri and T. Yokoyama. Detection of disease-associated prion protein in the posterior portion of the small intestine involving the continuous Peyer's patch in cattle orally infected with bovine spongiform encephalopathy agent. *Transbound Emerg Dis.* 2011; 58: 333-43; #101
- 11 J. C. Espinosa, M. Morales, J. Castilla, M. Rogers and J. M. Torres. Progression of prion infectivity in asymptomatic cattle after oral bovine spongiform encephalopathy challenge. *J Gen Virol.* 2007; 88: 1379-83; #65
- 12 G. A. Wells, T. Konold, M. E. Arnold, A. R. Austin, S. A. Hawkins, M. Stack, M. M. Simmons, Y. H. Lee, D. Gavier-Widen, M. Dawson and J. W. Wilesmith. Bovine spongiform encephalopathy: the effect of oral exposure dose on attack rate and incubation period in cattle. *J Gen Virol.* 2007; 88: 1363-73; #67
- 13 M. E. Arnold and J. W. Wilesmith. Estimation of the age-dependent risk of infection to BSE of dairy cattle in Great Britain. *Prev Vet Med.* 2004; 66: 35-47; #213
- 14 J. W. Wilesmith, G. A. Wells, M. P. Cranwell and J. B. Ryan. Bovine spongiform encephalopathy: epidemiological studies. *Vet Rec.* 1988; 123: 638-44; #214
- 15 K. Masujin, D. Matthews, G. A. Wells, S. Mohri and T. Yokoyama. Prions in the peripheral nerves of bovine spongiform encephalopathy-affected cattle. *J Gen Virol.* 2007; 88: 1850-8; #66
- 16 A. Balkema-Buschmann, M. Eiden, C. Hoffmann, M. Kaatz, U. Ziegler, M. Keller and M. H. Groschup. BSE infectivity in the absence of detectable PrP(Sc) accumulation in the tongue and nasal mucosa of terminally diseased cattle. *J Gen Virol.* 2010; 92: 467-76; #36
- 17 N. Iwata, Y. Sato, Y. Higuchi, K. Nohtomi, N. Nagata, H. Hasegawa, M. Tobiume, Y. Nakamura, K. Hagiwara, H. Furuoka, M. Horiuchi, Y. Yamakawa and T. Sata. Distribution of PrP(Sc) in cattle with bovine spongiform encephalopathy slaughtered at abattoirs in Japan. *Jpn J Infect Dis.* 2006; 59: 100-7; #44
- 18 H. Okada, Y. Iwamaru, M. Imamura, K. Masujin, T. Yokoyama and S. Mohri. Immunohistochemical detection of disease-associated prion protein in the intestine of cattle naturally affected with bovine spongiform encephalopathy by using an alkaline-based chemical antigen retrieval method. *J Vet Med Sci.* 72: 1423-9; #153
- 19 H. Okada, Y. Iwamaru, M. Imamura, K. Masujin, Y. Matsuura, Y. Shimizu, K. Kasai, M. Takata, S. Fukuda, S. Nikaido, K. Fujii, S. Onoe, S. Mohri and T. Yokoyama. Neuroanatomical distribution of disease-associated prion protein in cases of bovine spongiform encephalopathy detected by fallen stock surveillance in Japan. *J Vet Med Sci.* 2011; 73: 1465-71; #148

< 参考 1 > BSE 感染牛脳幹 (5g) を経口投与された牛の検査結果概要

牛番号	接種後月数	IHCによるPrP <sup>Sc</sup> の検出				臨床症状
		連続 バイエル板	扁桃	脳	脊髓	
1	18	-	-	-	-	-
2	20	+	-	-	-	-
3	20	-	-	-	-	-
4	20	+	-	-	-	-
5	20	+	-	-	-	-
6	24	-	-	-	-	-
7	24	-	-	-	-	-
8	24	-	-	-	-	-
9	24	-	-	-	-	-
10	30	-	-	-	-	-
11	30	-	-	-	-	-
12	30	-	-	-	-	-
13	30	+	-	-	-	-
14	34	-	-	+	+	+
15	36	-	-	-	-	-
16	36	-	-	-	-	-
17	36	-	-	+	+	-
18	42	-	-	+	+	+
19	46	+	+	-	-	-
20	48	-	-	-	-	-
21	48	-	-	-	-	-
22	48	-	-	-	+	-
23	48	-	-	-	-	-
24	58	-	-	+	+	+
25	60	-	-	-	-	-
26	66	-	-	+	+	+
27	66	-	-	+	+	+
28	84	-	-	+	+	+

(参照 10 Okada, et al.(2011)#101)より

< 参考 2 > BSE 感染牛脳幹 (5g) を経口投与された牛の  
 小腸後部の PrP<sup>Sc</sup> 陽性ろ胞の存在と比率



(参照 10 Okada, et al.(2011)#101)より