平成２９～３０年度　食品健康影響評価技術研究　研究成果報告書（終了時）
（※研究全体の期間（初年度及び２年目以降）について記載する。）

研究課題名 （研究項目名）	試験管内プリオン増幅系を用いた「種の壁」の定量的評価のための研究（課題番号：１７０２） （（４　その他（１）研究者からの提案に基づく研究））
主任研究者	研究者名：岩丸祥史 所属機関：国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門

Ⅰ　研究期間及び研究目的等

１　研究期間

平成２９年４月１日～平成３１年３月３１日

２　研究目的

プリオンの食品健康影響評価において、霊長類またはヒト型遺伝子改変動物への伝達試験の結果が評価の論拠となるが、プリオンの長い潜伏期のため、結果を得るには長期間の観察が必要である。プリオンの異種・同種伝達の際に新しいプリオン病が出現することが危惧されている。新たなプリオン病が出現した際、ヒトに対するリスクの有無を速やかに評価するためには、より迅速なヒトへのリスク評価法が必要である。 近年、遺伝子改変マウスを用いたバイオアッセイを上回る感度をもつ試験管内のプリオン増幅法（PMCA 法）が開発されている。本課題では、PMCA 法を用いたプリオンのヒトへの伝播リスク評価法の開発に取り組む。

ヒトのプリオンを増幅可能な PMCA 法（PMCA/Hu 法）を確立する。この PMCA/Hu 法を用い、ウシのプリオンである BSE が異種間増幅可能かどうかを調べる。異種間増幅可能な場合、その効率の数値化を試み種の壁の定量化を行う。この結果と、これまでに行われたバイオアッセイの成績との異同を検証する。この手法を用い、ヒツジのスクレイピー、ヒツジ伝達 L-BSE、実験的に H 型 BSE から新たに生じた BSE である BSE-SW のヒトへのリスクを評価する。この際、バイオアッセイでの評価を同時に進行させ、PMCA による評価との整合性を確認する。

３　研究体制　（※研究項目ごと個別課題ごとに研究担当者及び所属機関名を記入すること。）

研究項目名	個別課題名	研究担当者名（所属機関名）
試験管内プリオン増幅系を用いた「種の壁」の定量的評価	ヒト由来プリオンを試験管内増幅可能なPMCA法（PMCA/Hu法）の確立	岩丸祥史（農業・食品産業技術総合研究機構）
試験管内プリオン増幅系を用いた「種の壁」の	PMCA/Hu法を用いた、ウシ由来BSEプリオンのヒトへの伝播リスク評価の試み	岩丸祥史（農業・食品産業技術総合研究機構）

定量的評価		
試験管内プリオン増幅系を用いた「種の壁」の定量的評価	PMCA/Hu法を用いたヒツジ由来プリオン、新しいBSEプリオンのヒトへの伝播リスク評価	岩丸祥史（農業・食品産業技術総合研究機構）
ヒト型トランスジェニックマウスを用いた感染性の解析	ヒト型トランスジェニックマウスを用いたヒツジ・ウシ由来プリオンのヒトへの伝播リスク評価の試み	松浦裕一（農業・食品産業技術総合研究機構）

4　倫理面への配慮について

動物実験を行う際には、動物衛生研究部門動物実験委員会に申請し承認を得る。また、『遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性確保に関する法律』及び、『研究開発等に係る遺伝子組換え生物等の第二種使用等に当たって執るべき拡散防止措置等を定める省令』等の関連法令を遵守し、適切に実験を行う。病原体“プリオン”の取扱いについては、動物衛生研究部門微生物等管理要領ならびに、農林水産技術会議事務局より出されている「動物の伝達性海綿状脳症の実験指針について」に準拠して実施する。

Ⅱ　研究内容及び成果等

（1）研究項目名：試験管内プリオン増幅系を用いた「種の壁」の定量的評価

1）個別課題名：ヒト由来プリオンを試験管内増幅可能な PMCA 法（PMCA/Hu 法）の確立（研究担当者名：岩丸祥史（所属機関名：農業・食品産業技術総合研究機構）

ヒト由来プリオンを試験管内で増幅する PMCA/Hu 法は、ヒトプリオン蛋白質コドン 129 多型が 129Met であるトランスジェニックマウス TgHu（TgHu129M）の脳乳剤を基質とした。TgHu129M に C-BSE プリオンを伝達させた、ヒト変異型クロイツフェルト・ヤコブ病（CJD）モデルプリオン（TgHu129M/C-BSE プリオン）をシードとして用い、最適化を行った。その結果、TgHu129M/C-BSE プリオンを PMCA/Hu 法により試験管内で増幅可能となった(図 1)。

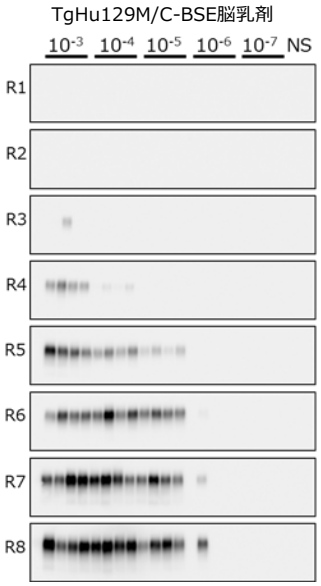


図１：最適化したPMCA/Hu法によるヒト変異型CJDモデルプリオンの同種間試験管内増幅

TgHu129M/C-BSEの10%(w/v)脳乳剤を10倍階段希釈し(10^{-3}～10^{-7})、PMCA/Hu法で増幅を行った。各希釈脳乳剤は4つ組でPMCA/Hu法を行った。PMCA法では、およそ24時間ごとに継代し再増幅を行うが、カラム左に継代（R）数が示されている。R3からTgHu129M/C-BSEプリオンの増幅が認められ始め、R8において、10^{-6}希釈の4検体中1検体が増幅されている。NSはシードのない陰性対照である。

２）個別課題名：PMCA/Hu 法を用いた、ウシ由来 BSE プリオンのヒトへの伝播リスク評価の試み（研究担当者名：岩丸祥史（所属機関名：所属機関名：農業・食品産業技術総合研究機構））

使用する BSE 感染ウシ脳乳剤中のプリオンを定量化するため、ウシ由来プリオンを試験管内で増幅する PMCA/Bo 法を用いた。BSE（L-BSE, H-BSE, C-BSE）感染ウシ脳乳剤を 10 倍階段希釈し、PMCA/Bo 法で増幅を行った(図 2)。8 回の再増幅を行い、半数の使用した試験管が異常型プリオン蛋白質陽性となる濃度、50%PMCA 陽性量（$PMCA_{50}$-Bo）を Spearman Kärber 計算式に従い計算した。各脳乳剤につき 5 回以上の実験を繰り返し、平均値±標準偏差でデータを表示した(表 1)。

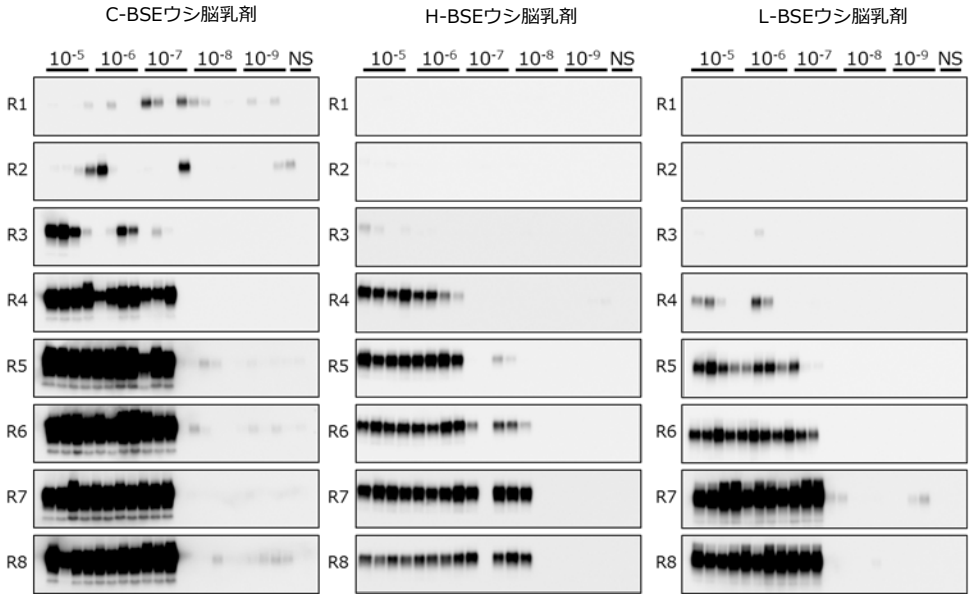


図2： PMCA/Bo法によるC-BSE、H-BSE、L-BSEプリオンの同種間試験管内増幅

C-BSE、H-BSE,L-BSEの10%(w/v)脳乳剤を10倍階段希釈(10^{-5}～10^{-9})し、PMCA/Bo法で同種間試験管内増幅を行った。各希釈脳乳剤は4つ組でPMCA/Bo法を行った。PMCA法では、およそ24時間ごとに継代し再増幅を行うが、カラム左に継代（R）数が示されている。R3からC-BSEプリオン、R4からH-BSEとL-BSEプリオンの増幅が認められ始める。NSはシードのない陰性対照である。

表1： C-BSE、H-BSE、L-BSEプリオンの感染価と50%PMCA陽性量の比較

	C-BSE	H-BSE	L-BSE
log LD_{50}/g	6.69	7.2	6.94
log $PMCA_{50}$/g	10.84 ± 0.35	11.45 ± 0.13	10.25 ± 0.33

使用した C-BSE、H-BSE、L-BSE の脳組織 1 g 当たりの感染価は、TgBo を用いたマウスバイオアッセイにより既に測定されており、各々6.69、7.20、6.94 log LD_{50} であった。$PMCA_{50}$ と LD_{50} の値の差異は、PMCA がバイオアッセイと比較し約 10,000 倍の感度を持つことを示す。脳組織 1 g 当たりの感染価と 50%PMCA 陽性量に関し、H-BSE

がどちらも最高値を示した。このことは、50%PMCA 陽性量は感染価をよく反映することを示唆する。しかしながら、L-BSE と C-BSE を比較すると、50%PMCA 陽性量は C-BSE の方が高値であるのに対し、感染価は L-BSE の方が高値という結果となり、50%PMCA 陽性量は感染価を厳密には反映しなかった。この結果は、感染価測定のばらつきにより生じている可能性がある。マウスバイオアッセイは結果が出るまで 2 年以上かかり、複数回の実験が行うことは現実的ではないため、算出された各感染価間に有意差があるかは不明である。同時に、現行の PMCA/Bo 法の条件が、L-BSE 増幅に対して最適化が不十分であるために、50%PMCA 陽性量が低く算出された可能性も考えられた。

次に、$PMCA_{50}$ が求められた BSE（C-BSE, H-BSE, L-BSE）感染ウシ脳乳剤を、前項で確立した PMCA/Hu(129M)法で異種間試験管内増幅を行い、種の壁を評価した。すると、感染ウシ由来 C-BSE プリオン、H-BSE プリオンでは、異種間試験管内増幅が可能であったのに対し、感染ウシ由来 L-BSE プリオンは異種間試験管内増幅が認められなかった（図 3）。これまでに実施した、TgHu マウスを用いバイオアッセイでは、C-BSE プリオンならびに L-BSE プリオンは TgHu129M に伝達し、H-BSE プリオンは TgHu129M へ伝達しない結果が得られている(表 2)。Tg129M を使用した場合、バイオアッセイと PMCA/Hu(129M)法による結果が一致しないことが明らかとなった。一方、ヒトプリオン蛋白質コドン 129 多型が 129Val である TgHu(TgHu129V)の脳乳剤を基質とした PMCA/Hu(129V)法では、L-BSE, H-BSE, C-BSE プリオンは異種間増幅されず、TgHu129V に BSE プリオンは伝達しないという、バイオアッセイの結果と一致した。

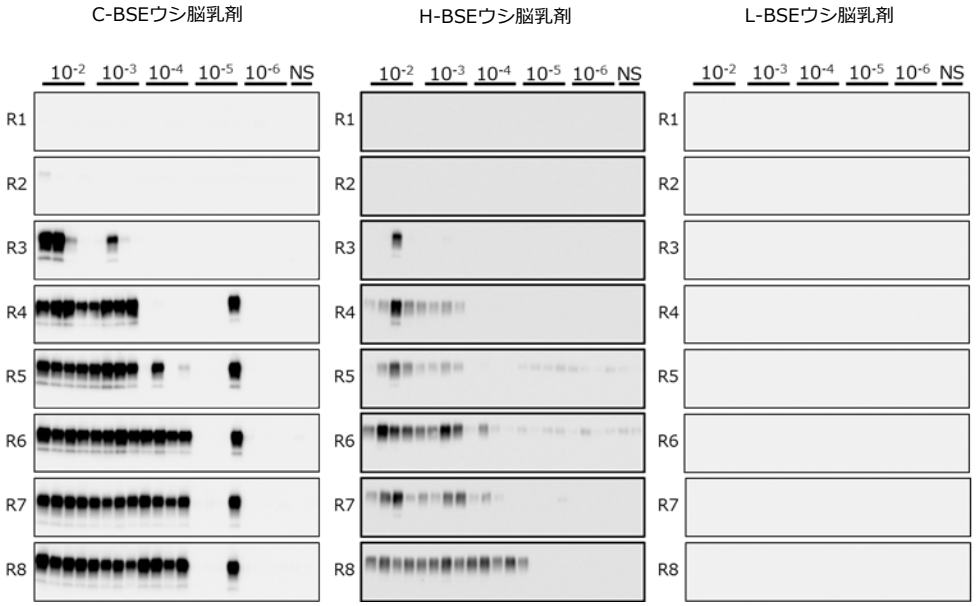


図3： PMCA/Hu(129M)法によるBSEプリオンの異種間試験管内増幅

C-BSE、H-BSE、L-BSE感染牛の10%(w/v)脳乳剤を10倍階段希釈(10^{-2}～10^{-6})し、PMCA/Hu(129M)法で増幅を行った。各希釈脳乳剤は4つ組でPMCA/Hu(129M)法を行った。PMCA法では、およそ24時間ごとに継代し再増幅を行うが、カラム左に継代（R）数が示されている。NSはシードのない陰性対照である。

表2：TgHuを用いた各プリオンのバイオアッセイの結果

	C-BSE	H-BSE	L－BSE
潜伏期(日)	714, 857	NA	758 ± 60
(感染数/接種数)	(2/10)	(0/16)	(11/11)

非定型 BSE プリオンにおいて、TgHu129M マウスを用いたバイオアッセイによる種の壁の評価と、PMCA/Hu(129M)法による種の壁の評価と整合性が取れていないことが明らかとなった。これは、PMCA/Hu(129M)法の条件が最適化されていない可能性が考えられた。この可能性を確かめるために、TgHu129M に L-BSE プリオンを伝達させたマウス脳乳剤（TgHu129M/L-BSE プリオン）をシードに、PMCA/Hu(129M)法により試験管内増幅を試みたところ、プリオン増幅反応が認められなかった。この結果を受け PMCA/Hu(129M)法の条件を再検索することとした。

PMCA 法では、試験管内増幅を促進する目的で、脳乳剤に Triton X100、ヘパリン、ジギトニン、アルギニンエチルエステルが添加されている。アルギニンエチルエステルは、L-BSE プリオンを PMCA/Bov 法で同種間増幅させるのに必須であることから、アルギニンエチルエステルの添加量を増減（25%～400%）させたが、PMCA/Hu(129M)法で L-BSE プリオンの増幅は認められなかった。また、1)テフロンビーズの使用、2)反応温度の 37℃から 50℃への変更、3)超音波照射時間の短縮、等を試みたがいずれも PMCA/Hu(129M)法での L-BSE プリオン増幅を改善しなかった。条件検討を継続していたところ、超音波照射時間を約 3 倍に延長することで、感染ウシ由来 L-BSE プリオンが PMCA/Hu(129M)法で異種間増幅可能であることを発見した(図 4)。しかし、この条件を用いても、感染ヒト型マウス由来の L-BSE プリオンの PMCA/Hu(129M)法による同種間増幅は認められなかった。

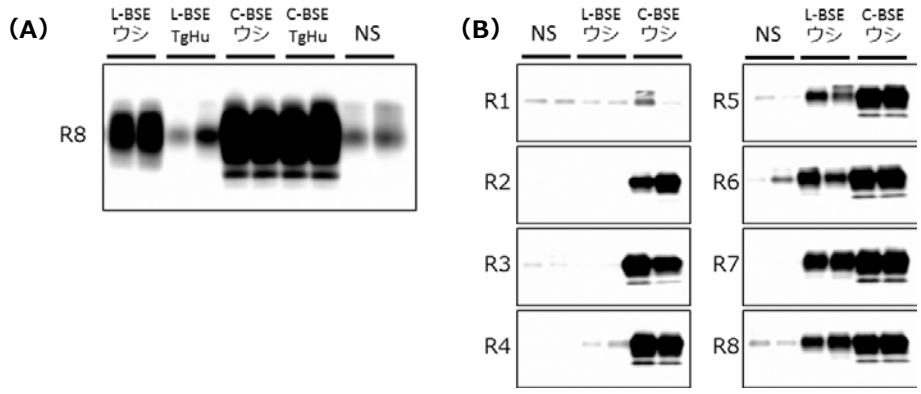


図4： PMCA/Hu(129M)法によるL-BSEプリオンの同種間・異種間試験管内増幅条件検索

（A）C-BSE、L-BSE感染ウシと、C-BSE、L-BSE感染ヒト型マウス（TgHu129M）の10%(w/v)脳乳剤を100倍希釈し、PMCA/Hu(129M)法で試験管内増幅を行った。PMCA/Hu(129M)法の超音波照射時間を約3倍に延長することで、感染ウシ由来のL-BSEプリオン(L-BSE ウシ)の異種間増幅が認められたが、TgHu129M由来のL-BSEプリオン（L-BSE TgHu）の同種間増幅は認められない。PMCA法では、およそ24時間ごとに継代し再増幅を行うが、カラム左に継代（R）数が示されている。NSはシードのない陰性対照である。（B）感染ウシ由来C-BSE、L-BSEプリオンのPMCA/Hu(129M)法での異種間試験管内増幅の継代数ごとの変化。

３）個別課題名：PMCA/Hu法を用いたヒツジ由来プリオン、新しいBSEプリオンのヒトへの伝播リスク評価（研究担当者名：岩丸祥史（所属機関名：農業・食品産業技術総合研究機構））

スクレイピー感染ならびに L-BSE 感染ヒツジ脳乳剤中のプリオンを定量化するため、ヒツジ由来プリオンを試験管内で増幅する PMCA/Ov 法を確立した。スクレイピー感染ヒツジ脳乳剤と L-BSE プリオン感染ヒツジ脳乳剤を 10 倍階段希釈し、PMCA/Ov 法で増幅を行った。また H-BSE から派生した BSE-SW に感染したウシ脳乳剤中のプリオンを定量化するため、脳乳剤を 10 倍階段希釈し、PMCA/Bov 法で増幅を行った(図5)。8 回の再増幅を行い、半数の使用した試験管が異常型プリオン蛋白質陽性となる濃度、50%PMCA 陽性量 （PMCA50-Bo）を計算した。各脳乳剤につき 3 回以上の実験を繰り返し、平均値±標準偏差でデータを表示した。

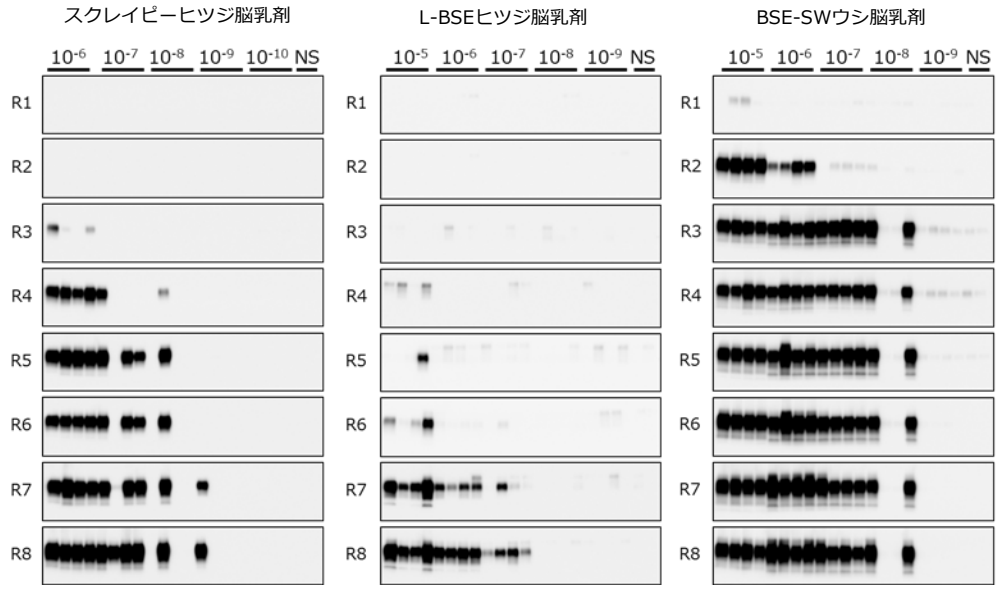


図5： PMCA/Ov法によるスクレイピー、L-BSEプリオンの同種間試験管内増幅と、PMCA/Bov法によるBSE-SWプリオンの同種間試験管内増幅

スクレイピー感染ヒツジ10%(w/v)脳乳剤を10倍階段希釈(10^{-6}～10^{-10})し、PMCA/Ov法で増幅を行った。各希釈脳乳剤は4つ組でPMCA/Ov法を行った。カラム左に継代（R）数が示されている。R2からBSE-SWプリオン、R4からH-BSEとL-BSEプリオンの増幅が認められ始める。

スクレイピー感染ならびに L-BSE 感染ヒツジ脳乳剤の50%PMCA 陽性量は、各々11.45 ± 0.25、10.12 ± 0.14 log $PMCA_{50}$であった。また、BSE-SW プリオンウシ脳乳剤の50%PMCA 陽性量は11.86 ± 0.29 log $PMCA_{50}$であった。当初の計画では、これらのプリオンの50%PMCA 陽性量を求めた後、PMCA/Hu 法において異種間試験管内増幅が生じるか検討する予定であった。しかし前述したように、バイオアッセイでの異種間伝達評価と整合性が取れた PMCA/Hu 法の条件を設定する必要が明らかとなったため、異種間試験管内増幅の検討は保留とした。

（２）研究項目名：ヒト型トランスジェニックマウス（Tg）を用いた感染性の解析
１）個別課題名：ヒト型 Tg マウスを用いたヒツジ・ウシ由来プリオンのヒトへの伝播リスク評価の試み（研究担当者名：松浦裕一（所属機関名：農業・食品産業技術総合研究機構））

本研究項目では、PMCA/Hu 法と同じ TgHu129M を用いた動物実験により、動物由来プリオンのヒトへの感染リスクを評価することを目的とする。スクレイピー感染（国内野外症例 4 検体）、L-BSE 感染のヒツジ、H-BSE 変異体である BSE-SW の感染ウシの 10%脳乳剤を TgHu129M の脳内に投与するプリオン感染実験を行った。

いずれの感染脳乳剤を脳内投与した TgHu129M は投与後 800 日を経過したが、神経症状を呈さなかった。安楽死させたのち、ウエスタンブロット法や免疫組織化学染色でマウス脳から異常プリオン蛋白質は検出されなかった（表 3）。このことから、スクレイピープリオンやヒツジ L-BSE プリオン、BSE-SW プリオンはいずれも TgHu129M マウスに感染しないことが判明した。

ヒツジ L-BSE プリオンもしくは BSE-SW プリオンに高い感受性を示すトランスジェニックマウス[TgOvARQ: ヒツジ ARQ 型プリオン蛋白質の過剰発現マウス、TgBov: ウシプリオン蛋白質の過剰発現マウス]を用いて、検出限界希釈法によりそれぞれの感染価の算出を試みた。BSE-SW 感染牛脳では、TgBov の潜伏期間が 10%脳乳剤で 149 ± 23 日、10^{-1} 希釈列で 166 ± 19 日と短期間であった。しかしながら、10^{-2} 希釈列で BSE 陽性マウスが確認できなかったことは、BSE-SW の特性以外にも希釈系列が正確でないことも考えられた。この試験は再現性を調べる必要がある。一方、L-BSE 感染ヒツジ脳の試験では、投与後 400 日の経過で、L-BSE 感染ヒツジ 10%脳乳剤の 10^{-3} 希釈列まで L-BSE に感染した TgOvARQ が認められた（表 4）。10^{-4} 希釈列で感染した個体がいなかったことから、ヒツジ L-BSE プリオンの TgHu129M への感染性は TgOvARQ と比べて 1/1,000 より低いことが考えられた。

表3　動物由来プリオン病のTgHu129Mへの感染実験

	PrP^{Sc}陽性数/投与数*	投与後最長観察期間
定型スクレイピー羊		
症例1_福岡	0/12	802日
症例2_大分	0/11	802日
症例3_神奈川	0/9	800日
症例4_北海道	0/9	804日
L-BSE実験感染羊	0/7	798日
BSE-SW実験感染牛	0/9	800日

＊ウエスタンブロット法と免疫組織化学染色で異常プリオン蛋白質(PrP^{Sc})の有無を調べた結果を示す

表４　ヒツジ L-BSE プリオンの TgOvARQ への感染実験

L-BSE実験感染羊脳	PrP^{Sc}陽性数/投与数*	潜伏期間
10%乳剤	9/9	207 ± 12
10^{-1}	5/5	223 ± 11
10^{-2}	6/6	238 ± 19
10^{-3}	5/6	280 ± 26
10^{-4}	0/5	
10^{-5}	0/5	

＊ウエスタンブロット法と免疫組織化学染色で異常プリオン蛋白質(PrP^{Sc})の有無を調べた結果を示す

（３）研究全体の成果、考察及び結論

研究全体の成果として、試験管内のプリオン増幅法（PMCA 法）を用いて、同種間のプリオンを効率よく増幅可能となった。①PMCA/Hu 法ではヒト変異型クロイツフェルト・ヤコブ病（CJD）モデルプリオン（TgHu129M/C-BSE プリオン）を、②PMCA/Bov 法では定型・非定型・新規 BSE プリオンを、③PMCA/Ov 法ではスクレイピープリオンとヒツジ L-BSE プリオンを、各々試験管内で増幅可能となった。限界希釈法を用いた増幅終末点の詳細な解析により、PMCA/Bov 法による各 BSE プリオンの検出感度は、遺伝子改変マウスを用いたバイオアッセイの検出感度を約 10,000 倍上回ることが明らかとなった。

次に、PMCA 法を用いたプリオンのヒトへの伝播リスク評価が可能か検証するため、PMCA/Hu 法を用いて非定型 BSE プリオンを異種間増幅させた。しかし PMCA/Hu 法の結果は、ヒト型マウスを用いたバイオアッセイの結果と整合性が取れなかった。更に、PMCA/Hu 法ではヒト型マウスに伝達した L-BSE プリオン（TgHu129M/L-BSE プリオン）を、同種間にも拘わらず増幅できないことが明らかとなった。

ヒツジに伝達した L-BSE プリオンは、PMCA/Ov 法で増幅可能であったことから、PMCA/Hu 法で L-BSE プリオンが増幅できない理由として、現行の PMCA/Hu 法が L-BSE プリオン増幅に適していないことが考えられた。条件検討を継続した結果、超音波の照射時間延長により、PMCA/Hu 法で感染ウシ由来 L-BSE プリオンを異種間増幅可能となったものの、増幅効率は依然として低いままであった。また、ヒト型マウス由来 L-BSE プリオンの同種間増幅には至らなかった。PMCA/Hu 法の最適化が研究期間内に達成されなかったため、スクレイピープリオン、ヒツジ L-BSE プリオン、新規 BSE である BSE-SW プリオンのヒトへの伝播リスク評価は、ヒト型トランスジェニックマウスを用いたバイオアッセイでのみ評価された。

本研究で開発に取り組んだ、PMCA 法を用いたプリオンのヒトへの伝播リスク評価法であるが、PMCA 法の条件設定に課題が残り、開発に至らなかった。しかし、本研究で行われたバイオアッセイの結果、スクレイピープリオンやヒツジ L-BSE プリオン、BSE-SW ウシプリオンは TgHu129M マウスに感染しないことが判明し、これらのプリオンの人への伝達リスクは、C-BSE や L-BSE と比較して低いことが予想された。

Ⅲ　本研究を基に発表した論文等

１　本研究を基に発表した論文と掲載された雑誌名のリスト（※別添として別刷（投稿中のものは、受理証明書の写し）を提出すること。）

該当なし

２　本研究を基にした学会発表の実績

Iwamaru Y et al., In vitro approach to estimate the human transmission risk of prions., Prion2018, Santiago de Compostela, Spain

３　特許及び特許出願の数と概要

該当なし

４　その他（各種受賞、プレスリリース、開発ソフト・データベースの構築等）

該当なし

Ⅳ　主任研究者による申請時に申告した達成目標及び研究全体の自己評価

１　申請時に申告した達成目標

達成目標	評価結果	自己評価コメント
（１）ヒト由来プリオンを試験管内増幅可能な PMCA 法（PMCA/Hu 法）の確立	5	C-BSE を感染させたヒト変異型 CJD モデルプリオン（TgHu129M/C-BSE プリオン）をシードとして用い、TgHu129M の脳乳剤を基質として用いて最適化を行った結果、ヒト由来プリオンを試験管内増幅可能な PMCA 法（PMCA/Hu 法）の確立に成功した。
（２）PMCA/Hu 法を用いた、ウシ由来 BSE プリオンのヒトへの伝播リスク評価	3	L-、H-または C-BSE 感染ウシ脳乳剤中のプリオンを定量化するため、ウシ由来プリオンを試験管内で増幅する PMCA/Bo 法を用い、50%PMCA 陽性量（$PMCA_{50}$-Bo）を算出した。各 BSE プリオンを、PMCA/Hu(129M)法で試験管内増幅を行ったところ、非定型 BSE プリオンにおいて、TgHu129M マウスを用いたバイオアッセイによる種の壁の評価と、PMCA/Hu（129M）法による種の壁の評価の整合性が取れていないことが明らかとなった。これは、PMCA/Hu 法の条件設定が最適化されていないことが原因であった。研究期間内に PMCA/Hu 法の最適化は叶わなかった。
（３）ヒト型 Tg マウスを用いたヒツジ・ウシ由来プリオンのヒトへの伝播リスク評価	5	本研究課題に供したプリオン（6 種類）がヒトに対して低い感染リスクを示すことを明らかにした。

（4）PMCA/Hu 法を用いたヒツジ由来プリオン、新しい BSE プリオンのヒトへの伝播リスク評価	3	スクレイピー感染ならびに L-BSE 感染ヒツジ脳乳剤中のプリオンを定量化するため、ヒツジ由来プリオンを試験管内で増幅する PMCA/Ov 法を確立した。ヒツジ由来プリオンと新規に発見された BSE プリオンの 50%PMCA 陽性量を算出した。しかし、(2)で述べたように、研究期間内に PMCA/Hu 法の最適化は叶わなかったため、これらのプリオンの PMCA/Hu 法による種の壁の評価は保留となっている。

注）評価結果欄は「５」を最高点、「１」を最低点として５段階で自己採点すること。

２　研究全体の自己評価

項　目	評価結果	自己評価コメント
（1）研究目標の達成度	3	研究遂行過程で、当初計画から変更しなければならない点が生じた。
（2）研究成果の有用性	4	試験管内プリオン増幅系を用いた、プリオン伝達の「種の壁」の迅速な評価には更なる検討が必要。バイオアッセイにより、スクレイピープリオン、ヒツジ L-BSE プリオン、新規の BSE-SW プリオンのヒトへの伝達リスクが評価された。

総合コメント

試験管内のプリオン増幅法（PMCA 法）を用いて、同種間のプリオンを効率よく増幅可能となった。限界希釈法を用いた増幅終末点の詳細な解析により、PMCA/Bov 法による各 BSE プリオンの検出感度は、遺伝子改変マウスを用いたバイオアッセイの検出感度を約 10,000 倍上回ることが明らかとなった。

PMCA 法を用いたプリオンのヒトへの伝播リスク評価が可能か検証するため、PMCA/Hu 法を用いて非定型 BSE プリオンを異種間増幅させた。しかし PMCA/Hu 法の結果は、ヒト型マウスを用いたバイオアッセイの結果と整合性が取れなかった。更に、PMCA/Hu 法ではヒト型マウスに伝達した L-BSE プリオン（TgHu129M/L-BSE プリオン）を、同種間にも拘わらず増幅できないことが明らかとなった。

その後の最適化により、PMCA/Hu 法でのプリオン増幅に一部改善が見られたが、依然として課題が残り、PMCA 法を用いたヒトへのプリオン伝播リスク評価法の開発には至らなかった。しかしながら、本研究で行われた TgHu マウスを用いたバイオアッセイの結果から、スクレイピープリオン、ヒツジ L-BSE プリオン、新規の BSE-SW プリオンの人への伝達リスクは、C-BSE や L-BSE と比較して低いことが明かとなった。

この報告書は、食品安全委員会の委託研究事業の成果について取りまとめたものです。本報告書で述べられている見解及び結論は研究者個人のものであり、食品安全委員会としての見解を示すものではありません。全ての権利は、食品安全委員会に帰属します。