

Subclinical Bovine Spongiform Encephalopathy Infection in Transgenic Mice Expressing Porcine Prion Protein

Joaquín Castilla,¹ Alfonso Gutiérrez-Adán,² Alejandro Brun,¹ Deirdre Doyle,³ Belén Pintado,² Miguel A. Ramírez,² Francisco J. Salguero,¹ Beatriz Parra,¹ Fayna Díaz San Segundo,¹ José M. Sánchez-Vizcaino,¹ Mark Rogers,³ and Juan M. Torres¹

¹Centro de Investigación en Sanidad Animal, Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, Valdeolmos, 28130 Madrid, Spain,

²Departamento de Reproducción Animal y Conservación de Recursos Zoogenéticos, 28040 Madrid, Spain, and ³Department of Zoology and Conway Institute for Biomolecular and Biomedical Research, University College Dublin, Belfield, Dublin 4, Ireland

The bovine–porcine species barrier to bovine spongiform encephalopathy (BSE) infection was explored by generating transgenic mouse lines expressing the porcine prion protein (PrP) gene. All of the porcine transgenic (poTg) mice showed clinical signs of BSE after intracerebral inoculation with a high-titer BSE inoculum. The protease-resistant PrP (PrP^{res}) was detected in 14% (3 of 22) of the BSE-infected poTg mice by immunohistochemical or immunoblot analysis. Despite being able to infect 42% (5 of 12) of control mice, a low-dose BSE inoculum failed to penetrate the species barrier in our poTg mouse model. The findings of these infectivity studies suggest that there is a strong species barrier between cows and pigs. However, after second-passage infection of poTg mice using brain homogenates of BSE-inoculated mice scoring negative for the incoming prion protein as inoculum, it was possible to detect the presence of the infectious agent. Thus, porcine-adapted BSE inocula were efficient at infecting poTg mice, giving rise to an incubation period substantially reduced from 300 to 177 d after inoculation and to the presence of PrP^{res} in 100% (21 of 21) of the mice. We were therefore able to conclude that initial exposure to the bovine prion may lead to subclinical infection such that brain homogenates from poTg mice classified as uninfected on the basis of the absence of PrP^{res} are infectious when used to reinoculate poTg mice. Collectively, our findings suggest that these poTg mice could be used as a sensitive bioassay model for prion detection in pigs.

Key words: BSE transmission; porcine prion; PrP; scrapie; transgenic mice; species barrier

豚プリオンタンパク遺伝子を発現するトランスジェニックマウスにおける潜在的 BSE 感染 (〈反訳〉)

Joaquín Castilla, Alfonso Gutiérrez-Adán, Alejandro Brun, Deirdre Doyle, Belén Pintado, Miguel A. Ramírez, Francisco J. Salguero, Beatriz Parra, Fayna Díaz San Segundo, José M. Sánchez-Vizcaino, Mark Rogers, and Juan M. Torres

豚のプリオンタンパク (PrP) 遺伝子を発現するトランスジェニックマウスを作出し、BSE の感染性を調査することにより、BSE 感染に関する牛と豚の間の種の壁を調査した。高力価の BSE 感染因子を脳内に接種すると、すべての豚トランスジェニック (poTg) マウスが臨床症状を呈した。免疫組織化学法または免疫ブロット法により、BSE 感染 poTg マウスの 14% (3/22) にプロテアーゼ耐性 PrP (PrP^{res}) が検出された。低用量の BSE 感染因子の接種では、遺伝子導入をされていないコントロール群マウスの 42% (5/12) が感染したが、poTg マウスには感染しなかった。このような感染性の実験から、牛と豚の間には強い種の壁が存在していることが示唆された。しかしながら、プリオンタンパクが陰性だった BSE 接種マウスの脳乳剤を使用して、別の poTg マウスに 2 代継代感染を行うと、感染因子を検出できた。このように豚順化 BSE 接種因子は、poTg マウスに効率的に感染し、潜伏期間が接種後 300 日から 177 日へと著しく減少し、PrP^{res} の存在が 100% (21/21) 認められた。従って、この結果から、牛プリオンへの初期暴露により潜在的感染を生じ、PrP^{res} が確認されないために感染陰性とされた poTg マウスの脳ホモジネートが再度 poTg マウスに接種された場合には、感染性を有すると結論づけることが可能である。全体として、この調査結果から、poTg マウスは、豚におけるプリオン検出の高感受性バイオアッセイ・モデルとして使用できることを示唆している。