

1 感染実験等に関する科学的知見(案)

2 異常プリオンたん白質への経口感染実験による知見

3 牛への異常プリオンたん白質(PrP^{Sc})経口感染実験に基づいて、生体牛におけ
4 る PrP^{Sc} の組織分布、各組織の感染性¹⁾、及び用量依存的な発症率と潜伏期間の
5 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、
6 「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
7 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
8 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。
9 以下では、主にその後の新しい知見を基に整理した。

10
11 1. PrP^{Sc} の牛生体内における組織分布及び感染性

12 (1) 英国の研究グループの研究

13 英国獣医学研究所(Veterinary Laboratories Agency ; VLA)における研究では、
14 BSE 感染牛脳幹に経口暴露された牛の各組織の感染性(伝達性)を調べる目的で、
15 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
16 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}
17 i.c./i.p.ID₅₀/g²⁾ 100 g を子牛 30 頭(4 か月齢)に経口投与後、2 か月後(2 mpi)³⁾
18 より 40 か月後(40 mpi)まで、経時的にと殺して採取した各組織をマウスに脳内
19 (0.02mL/0.02 ml) 及び腹腔内接種 (0.1 ml) した。(参照 3 Wells, et al.(1996)#196)

20 Arnold らは同研究から、中枢神経系(Central Nervous System: CNS)、背根
21 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
22 を推定した。この推定に基づくと、RⅢマウスを用いて感染性の認められなかつ
23 た組織における値は、10^{-1.3} i.c./i.p.ID₅₀/g であり、この値が検出限界と考えられ
24 た。 DRG は CNS より感染力率が低く、胸部 DRG 及び頸部 DRG の平均力価は
25 CNS の感染性に比べてそれぞれ約 10 i.c./i.p.ID₅₀/g 及び 10^{1.5} i.c./i.p.ID₅₀/g 低い
26 と考えられたかった。回腸遠位部の感染性は、6 mpi から認められ、14~18 mpi
27 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

1) 牛の各組織に沈着した PrP^{Sc} 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^{Sc} 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^{Sc} の感染性。

2) 牛の各組織に沈着した PrP^{Sc} 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^{Sc} 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^{Sc} の感染性。

3) mpi…months post infection (感染後月数)

1 | [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
2 | 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.ID₅₀/g と推
3 | 定された。(参照 4 [Arnold, et al.\(2009\)#149](#))。—

4 | Wells 等は、PrP^{Sc}が確認された組織を 4～6 週齢の子牛(5 頭/群)に脳内接種
5 | する感染実験を実施した。脳内接種に用いられた組織サンプルは、BSE 感染牛
6 | 脳幹 100 g を経口投与した感染実験において、6 mpi から 36 mpi の間にと殺さ
7 | れ、各々の牛から採取された CNS、腸管、肝臓等の臓器、腸間膜リンパ節、扁
8 | 桃等である(参照 3 [Wells, et al.\(1996\)#196](#))。組織サンプルとして 10 mpi の口蓋
9 | 扁桃組織を脳内接種した子牛 5 頭のうち、1 頭に 45 mpi で BSE の臨床症状が
10 | 認められ、この牛の脳幹に PrP^{Sc}が確認された(参照 5 [Wells, et al.\(2005\)#77, 6](#)
11 | [Veterinary-Laboratories-Agency\(2008\)#242](#))。—

12 |
13 | Arnold らの VLA における別の研究では、生後 4～6 か月齢の子牛 100 頭ず
14 | 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
15 | 価：約 $10^{3.1}$ i.c./i.p.ID₅₀/g) を経口投与し、投与後 各々 60 カ月目又は 89 カ月目ま
16 | 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
17 | 及び関連する末梢神経組織に PrP^{Sc} が検出される時期を推察している (詳細は
18 | 「2. 牛への PrP^{Sc} 投与量と潜伏期間」参照)。(参照 7 [Arnold, et al.\(2007\)#107,](#)
19 | [8 \[Stack, et al.\\(2011\\)#154\]\(#\)](#))

20 | Stack らの研究では、Arnold らこの感染実験によって採材された十二指腸、
21 | 空腸及び回腸遠位部を用いて、これら臓器における PrP^{Sc} の分布 及びマウスバイ
22 | 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
23 | PrP^{Sc} 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
24 | で PrP^{Sc} が検出され、また、空腸の一部にも PrP^{Sc} が認められた。PrP^{Sc} は回腸
25 | 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
26 | 36～42 mpi にわずかに増加がみられたが、43 mpi 以降、PrP^{Sc} は検出されな
27 | かった。全期間における PrP^{Sc} 検出率 (陽性頭数/検査頭数) は、100 g 投与群の空
28 | 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。

29 | BSE 感染牛脳幹 1 g 投与群の回腸リンパ系組織においても PrP^{Sc} が検出され
30 | 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
31 | PrP^{Sc} 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
32 | 100 g 投与群及び 1 g 投与群の十二指腸からは、PrP^{Sc} は検出されなかった。こ
33 | 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
34 | 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。

35 | PrP^{Sc} 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。
36 | 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^{Sc} 陽性

1 牛では、リンパ細胞総数に対する PrP^{Sc} 陽性細胞の比率は増加した。一方、PrP^{Sc}
2 陽性の細胞を有する牛の割合がは、加齢に伴い減少した。ことも報告されてい
3 る。1 g 投与群では、100 g 投与群と比較して PrP^{Sc} の検出される細胞の割合は
4 低かった。(参照 8 Stack, et al.(2011)#154)

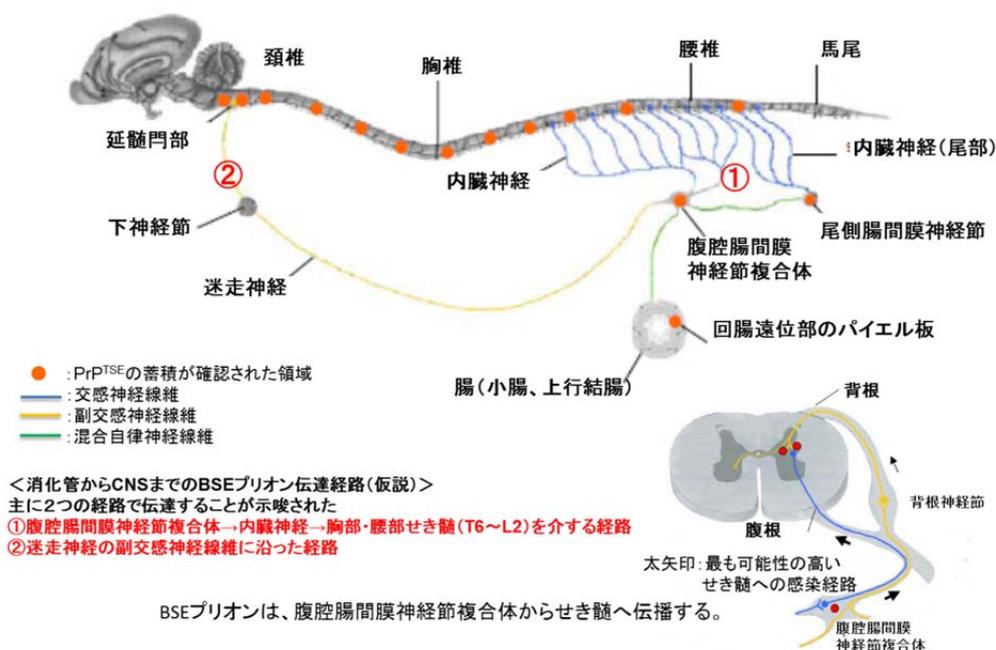
5
6 (2) ドイツの研究グループの研究

7 ドイツのフリードリッヒ・レフラー研究所 (Friedrich-Loeffler-Institut) に
8 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
9 改変マウス(TgbovXV)が用いられた。マウスの PrP^{Sc} に対する感度を調べたところ、
10 TgbovXV は PrP^{Sc} に対する感受性が高く、RIIIマウスの 10,000 倍、牛の約
11 10 倍であった。(参照 9 Buschmann, et al.(2005)#45)

12 Hoffmann らは、~~生体牛における感染経路、特に牛における~~ PrP^{Sc} 経口摂取後
13 の体内分布 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
14 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：
15 10⁶ i.c./i.p.ID₅₀/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
16 から 150 以上の組織及び体液が採取された。この牛群のうち 24 mpi 及び 28 mpi
17 でと殺した臨床症状のみられない牛のうち、各 1 頭の牛において、臨床症状は
18 見られなかったが、門部にでの PrP^{Sc} 沈着が経口暴露後最も早い時点で検出され
19 た。これらの牛のでは、腸管及び関連リンパ節、扁桃、咽頭後リンパ節、脾臓、
20 交感神経系及び副交感神経系の大部分、神経線維、神経節、脳幹等の組織の PrP^{Sc}
21 が HIC で調べられ、た。 24 mpi の牛の延髄門部、橋、せき髄、腹腔神経節、
22 尾側腸間膜神経節、回腸のパイエル板(PP)で PrP^{Sc} が検出された。一方、28 mpi
23 の牛では延髄門部のみで PrP^{Sc} が検出され、その他の部位は陰性であった。PrP^{Sc}
24 を大量に投与すると、投与後 24 か月で PrP^{Sc} は、脳に達する可能性があると考え
25 えられた。

26 これらの結果から、PrP^{Sc} は、経口暴露後小腸から侵入し、その後、リンパ細
27 網系ではなく、神経を經由して CNS へ到達すると推測された。その経路の一つ
28 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
29 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
30 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
31 れた。(参照 10 Hoffmann, et al.(2007)#145)

1 図 1 腸から脳への BSE プリオンの可能性の高い移動経路



2

3 | (参照 10 Hoffmann, et al.(2007)#145)より作成

4

5 | また、Hoffmann らは、同じ牛群について、感染後未発症(潜伏期間)の牛に
 6 | おける PrP^{Sc} 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
 7 | 回盲部からは、いずれの部位も PP パイエル板を含むように試料が採取され、免
 8 | 疫組織化学的検査(IHC)、ELISA 法による迅速検査及び PTA-WB ウェスタンブ
 9 | ロット⁴⁾検査により PrP^{Sc} の分布が調べられるとともに、8~20 mpi の腸管の各
 10 | 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。

11 | 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、
 12 | 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^{Sc} の分
 13 | 布及びマウスへの感染性が空腸、回腸、回盲部に広範囲に渡って見られた。4 mpi
 14 | 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^{Sc} の蓄積や感
 15 | 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。

16 | IHC では、主に回腸に PrP^{Sc} 陽性ろ胞が認められ、空腸には検出されなかつ
 17 | た。マウスを用いたバイオアッセイの結果、回腸では、8~20 mpi の牛 16 頭中

4) PTA-WB 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^{Sc} を選択的に沈殿させてから WB ウェスタンブロット で検出する検査。感度が増加する。

11 頭の回腸 PP には感染性が認められ率が高く、(11/16)、接種したマウスの感染性は 23～87%であった。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、12 mpi の牛を中心に、16 頭中 7 頭の空腸 PP に感染性が認められたが、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 12 mpi においても平均 13%であった。8～30%と低く、IHC では空腸に PrP^{Sc} は検出されなかった。IHC により、PrP^{Sc} 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 (Tingible body macrophages:TBM) ⁵⁾ に PrP^{Sc} が認められた。(参照 11 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(野生型マウスより感度の高い TgBoPrP マウス⁶⁾(参照 12 Safar, et al.(2002)#234) を用いて測定された感染力価：約 10^{6.7}i.c. ID₅₀(g)を投与し、IHC 及びウェスタンブロット WB 法によって回腸及び後部空腸のパイエル板 PP における PrP^{Sc} 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^{Sc} 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^{Sc} 沈着が見られた。

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(CPP)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(DPP)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^{Sc} 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^{Sc} が検出された。ろ胞の PrP^{Sc} 陽性細胞は、核片貪食マクロファージ TBM 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 頭の感染後未発症牛において、小腸後部(回盲部から 3m までの位置)の連続パイエル

⁵⁾ 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。

⁶⁾ 牛型 PrP 過剰発現マウス。牛の約 10 倍、RIII マウスの 10,000 倍の感度を示すことが報告されている。

1 ル板 CPP 中から PrP^{Sc} が検出されたが、不連続パイエル板 DPP からは検出さ
2 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^{Sc} の認められた
3 割合は、各々 2.18%(9/413)、0.07% (1/1447)、0.26%(2/762)、0.23%(3/1282) 及
4 び 0.5%(1/200)であった。TgBoPrP マウスを用いたバイオアッセイ により 20
5 mpi の牛から採取された PrP^{Sc} 陽性ろ胞を含む 連続パイエル板 CPP の感染性を
6 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
7 性が認められた。一方、不連続パイエル板 DPP を接種したマウスは 650 日以上
8 生存し、感染性は認められなかった。 (参照 13 Okada, et al.(2011)#101)

9 10 (4) その他の実験

11 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
12 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
13 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。
14 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
15 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
16 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
17 から発症/死亡までの期間が調べられた。

18 100 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
19 であり、33 mpi の脳幹で初めて PrP^{Sc} が認められたが、その他の組織では検出
20 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
21 板 PP 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
22 認められなかった。

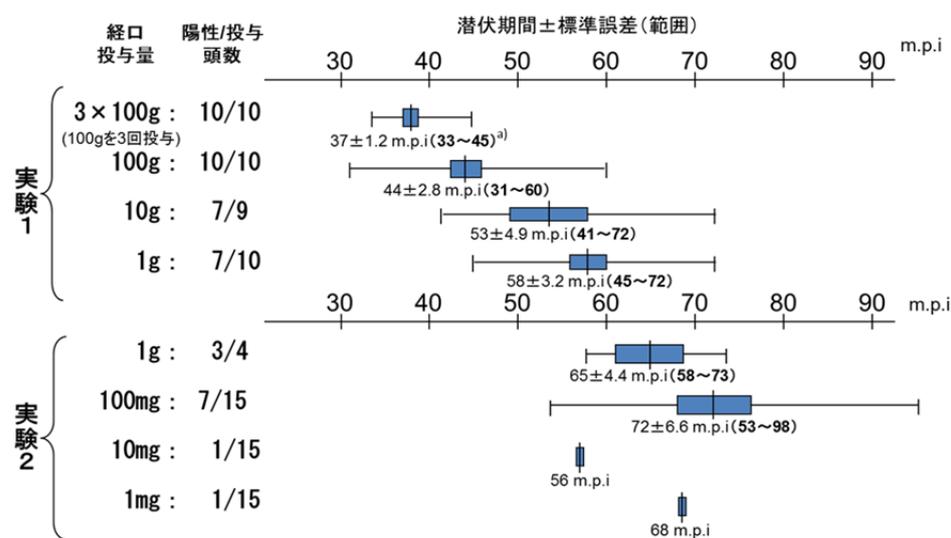
23 牛脳幹を接種したマウスのバイオアッセイでは、27 mpi の 脳幹牛で はじめて
24 最も早く 感染性が確認された。感染率 (PrP^{Sc} が検出されたマウス数/接種マウ
25 ス数) は、27、30 及び 33 mpi の牛でそれぞれ 2/6、2/6 及び 6/6 であり、33 mpi
26 に急増した。坐骨神経を接種したマウスでは、感染率は、30 及び 33 mpi にそ
27 れぞれ 1/5 であった。パイエル板 PP 及び扁桃を接種したマウスでは、いずれの
28 と畜月齢の牛群にも感染性が認められ、感染率 (発症マウス数/接種マウス数)
29 は パイエル板 PP で 1/5~3/5、扁桃で 1/6~1/5 であった。著者らは、これらの
30 結果から、PrP^{Sc} の経口投与後、臨床症状がみられない牛において、BSE の感
31 染性は主に脳幹に認められると考察している。 (参照 14 Espinosa, et
32 al.(2007)#65)

2. 牛への PrP^{Sc} 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.ID₅₀/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 15 Wells, et al.(2007)#67)。用量依存的な発症率及び潜伏期間⁷⁾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 15 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

⁷⁾投与から発症までの期間。

1 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 CoID₅₀⁸⁾は、マウス
2 10^{2.8} i.c./i.p.ID₅₀ 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
3 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
4 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
5 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。また、投与量の減
6 少と共に牛の発症率(陽性頭数/投与頭数)が減少した。

7 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、
8 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 15 Wells,
9 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^{Sc} を摂取し
10 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 16
11 Arnold, et al.(2004)#213, 17 Wilesmith, et al.(1988)#214, 18 Ferguson, et
12 al.(1997)#215)。著者らは、今回の研究結果より、牛が野外で PrP^{Sc} に単回暴露し
13 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
14 と推察した(参照 15 Wells, et al.(2007)#67)。

15 Arnord 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^{Sc}
16 が検出される時期を推察する目的で、投与量と CNS に PrP^{Sc} が検出される投与
17 後月数を用いたロジスティック回帰分析を実施した(参照 7 Arnold, et
18 al.(2007)#107)。分析には、VLA において実施された牛を用いた感染実験のデー
19 タが用いられた(参照 3 Wells, et al.(1996)#196, 7 Arnold, et al.(2007)#107, 15
20 Wells, et al.(2007)#67)。各群 100 頭の子牛に 100 g 又は 1 g の PrP^{Sc} が投与され
21 た実験では、投与後に定期的に牛がと殺され、各々 60 mpi 又は 89 mpi まで観
22 察された。牛の脳に PrP^{Sc} が最も早く検出されたのは、100 g 投与群では臨床症
23 状がみられる前にと殺された 30 mpi の牛 6 頭中の 1 頭であり、10 g 投与群で
24 は、臨床症状が認められてと殺された 44 mpi の牛であった(参照 19
25 Veterinary-Laboratories-Agency(2006)#245)。その結果、各投与量における延髄門
26 部の PrP^{Sc} 検出率と投与後月数に相関が認められた。50%の牛で PrP^{Sc} が検出さ
27 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
28 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、信頼区間の
29 幅があった。が、各投与量における延髄門部の PrP^{Sc} 検出率と投与後月数に相関
30 が認められた。~~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
31 認められる 1.5 か月ほど前に(延髄門部で)PrP^{Sc} の検出が可能かもしれないと考
32 察している。また、著者らは、1g 投与の場合の潜伏期間が、英国の野外症例で
33 報告される平均潜伏期間 (約 5 年) (参照 16 Arnold, et al.(2004)#213, 17

⁸⁾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。

1 [Wilesmith, et al.\(1988\)#214, 18](#) [Ferguson, et al.\(1997\)#215](#)と一致することから、1
2 g 投与群の実験結果が野外における自然感染の状況に最も適合していると考え
3 た。

4 100 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
5 る PrP^{Sc}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
6 た。[100 g 又は1 g 投与群で50%の牛の延髄門部に PrP^{Sc}が検出される時点は、](#)
7 [各々、潜伏期間の79%又は97%が経過した時点であつると推察された。](#)100 g
8 投与群では、PrP^{Sc}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
9 髄に、約1.3か月後に中脳及び腰部せき髄に PrP^{Sc}が検出されると推測された([参](#)
10 [照 7 Arnold, et al.\(2007\)#107](#))。

11 [Simmons](#)らは、これらの投与実験より得られた、中脳、吻側延髄、門部、頸
12 部せき椎、胸部せき椎、腹部せき椎、頸部 DRG、胸部 DRG、頭頸部神経節、
13 星状神経節及び三叉神経節に、組織学的観察及び IHC を用いて PrP^{Sc}が検出で
14 きる時期を比較した。脳幹に空胞が認められたのは、100 g 投与群で32 mpi 以
15 降であり、1 g 投与群では66 mpi 以降であった。PrP^{Sc}が認められたのは、100
16 g 投与群で30 mpi 以降及び1 g 投与群では44 mpi 以降であり、その以前では、
17 いずれの組織にも検出されなかった。頭頸部神経節、星状神経節に PrP^{Sc}は認め
18 られなかった。(参照 [20 Simmons, et al.\(2010\)#125](#))

19 舂甚らは、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
20 感染力価: 約 $10^{3.1}$ i.c./i.p. ID₅₀/g)が投与された牛の組織⁹⁾を用いて、高感度の~~ウ~~
21 ~~エスタンブロット法~~ WB により PrP^{Sc}の蓄積時期を調べた。100 g 投与群は27
22 ~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、
23 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^{Sc}の
24 蓄積を検査した。

25 100 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-
26 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
27 に PrP^{Sc}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
28 及び坐骨神経では36 mpi-に PrP^{Sc}が認められた。1 g 投与群では、44 mpi-より
29 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
30 経に PrP^{Sc}が検出された。脳に PrP^{Sc}が認められなかった牛の末梢神経及び副腎
31 には、PrP^{Sc}は検出されなかった。末梢神経及び副腎における PrP^{Sc}の蓄積に規
32 則性はみられなかったが、時期的には、脳幹に PrP^{Sc}が認められるのと同時期又
33 はその後であった。(参照 [21 Masujin, et al.\(2007\)#66](#))

⁹⁾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。

1 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^{Sc} 蓄積は脳幹の PrP^{Sc} 蓄積より少なく、感染性も低いと考えられたいと推計された。

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あると考えられた。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 9 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^{Sc} 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¹⁰⁾及び PMCA 法¹¹⁾を用いて PrP^{Sc} 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^{Sc} は

¹⁰⁾ Scrapie Associated Fibril イムノブロット(WB)：組織を遠心した後、プロテアーゼ処理により正常プリオンを分解し、分解されない PrP^{Sc} を WB により解析する方法。

¹¹⁾ Protein Misfolding Cycle Amplification: 組織と正常プリオンを試験管内で混合し、超音波処理により PrP^{Sc} を増幅させる方法。

1 検出できなかった。(参照 22 [Balkema-Buschmann, et al.\(2010\)#36](#))

2 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
 3 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
 4 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、
 5 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、
 6 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
 7 梢神経における PrP^{Sc}分布を IHC 及び ~~ウェスタンブロット法~~ WB により調べた。

8 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^{Sc}
 9 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
 10 であった。腰神経及び大腿神経（DRG から約 30cm）に微量の PrP^{Sc}が認めら
 11 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~~ PP を含
 12 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^{Sc}は認められな
 13 かった。(参照 23 [Iwata, et al.\(2006\)#44](#))

14 横山らは、我が国で確認された若齢牛の BSE 症例 2 例について、TgBoPrP
 15 マウスに脳内接種することによりその感染性を調べた。我が国 8 例目の 23 か月
 16 齢の非定型 BSE 症例(BSE/JP8)及び 9 例目の 21 か月齢 BSE 症例(BSE/JP9)に
 17 おいて、臨床症状は認められなかった。WB の結果、若齢牛 2 例の脳における
 18 PrP^{Sc}蓄積はごくわずかで、定型 BSE 症例である 6 例目の牛(BSE/JP6)の脳に
 19 おける PrP^{Sc}の蓄積の 1/1000 位であった(表 1)。BSE/JP8 及び BSE/JP9 の牛
 20 の脳を TgBoPrP マウスに脳内接種し、TgBoPrP マウスの脳を更に TgBoPrP マ
 21 ウスに脳内接種して二世代を観察した結果、感染性は認められなかった。
 22 TgBoPrP マウスにおける脳内接種試験の PrP^{Sc}の検出感度は、10^{2.7} i.c. ID₅₀/g
 23 であったことより、著者らは、BSE/JP8 及び BSE/JP9 に感染性があつたとし
 24 てもごくわずかであるとしている。(参照 24 [Yokoyama, et al.\(2007\)#69](#))

25
26 表 1 BSE 検査結果概要

27

<u>症例</u>	<u>牛の月齢及 び生年月日</u>	<u>ELISA 結果*) (カットオフ値)</u>	<u>WB</u>	<u>IHC</u>	<u>組織学的 変化</u>
<u>BSE/JP8</u>	<u>23 か月齢 2001/10/13</u>	<u>0.20、0.21 (0.23)</u>	<u>±</u>	<u>—</u>	<u>—</u>
<u>BSE/JP9</u>	<u>21 か月齢 2002/1/13</u>	<u>0.29、0.29 (0.24)</u>	<u>±</u>	<u>—</u>	<u>—</u>
<u>BSE/JP6</u>	<u>83 か月齢 1996/2/10</u>	<u>3.1、3.3 (0.23)</u>	<u>±</u>	<u>±</u>	<u>±</u>

28 *)BioRad 社の ELISA キットを用いて測定した吸光度。カットオフ値より大きい値は陽性と

1 る。カットオフ値より 10%以内の低い値を示したサンプルは、再検査の対照となる。

2 (参照 24 Yokoyama, et al.(2007)#69)より作成

3
4 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
5 か月齢の計 4 頭の BSE 自然感染牛の消化管組織の PrP^{Sc}を、アルカリ処理を組
6 み込んだ高感度の IHC 及び PTA-~~ウェスタンブロット~~ WB 法で調べた。回盲部か
7 ら 1 m 又は 30 cm の、どちらも連続した パイエル板 PP を含む空腸及び回腸に
8 PrP^{Sc}が認められた。また、54 か月齢の牛の結腸にも PrP^{Sc}が認められた。十二
9 指腸、孤立 パイエル板 PP を含む空腸、パイエル板 PP を含まない空腸、回盲部、
10 盲腸及び直腸には PrP^{Sc}は認められなかった。54 か月齢の牛の回腸遠位部及び
11 結腸を Tg(BoPrP)マウス¹²⁾に脳内接種した結果、これらの組織に感染性がみら
12 れたが、接種してから死亡するまでの期間はそれぞれ 528±10.2 日及び 421±
13 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 25
14 Okada, et al.(2010)#153)

15 同じグループは、日本の死亡牛サーベイランスで PrP^{Sc}が確認された 54～89
16 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^{Sc}の免
17 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
18 れなかった。脳及びせき髄の全域において PrP^{Sc}の沈着が広く観察された。PrP^{Sc}
19 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^{Sc}
20 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
21 認められた。(参照 26 Okada, et al.(2011)#148)

12) ~~Tg(BoPrP)マウス：牛 PrP 遺伝子過剰発現系マウス。PrP^{Sc}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。~~

1 <参考文献>

- 2 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.
3 2004; #209
- 4 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.
5 2005; #210
- 6 3 G. A. Wells, M. Dawson, S. A. Hawkins, A. R. Austin, R. B. Green, I. Dexter, M. W.
7 Horigan and M. M. Simmons. Preliminary Observations on the Pathogenesis of
8 Experimental Bovine Spongiform Encephalopathy. BOVINE SPONGIFORM
9 ENCEPHALOPATHY. The BSE Dilemma. Springer-Verlag, New York. 1996; 28-44;
10 #196
- 11 4 M. E. Arnold, S. A. Hawkins, R. Green, I. Dexter and G. A. Wells. Pathogenesis of
12 experimental bovine spongiform encephalopathy (BSE): estimation of tissue
13 infectivity according to incubation period. Vet Res. 2009; 40: 8; #149
- 14 5 G. A. Wells, J. Spiropoulos, S. A. Hawkins and S. J. Ryder. Pathogenesis of
15 experimental bovine spongiform encephalopathy: preclinical infectivity in tonsil
16 and observations on the distribution of lingual tonsil in slaughtered cattle. Vet Rec.
17 2005; 156: 401-7; #77
- 18 6 Veterinary-Laboratories-Agency. Bioassay of BSE infectivity in neural and
19 non-neural tissues by intracerebral inoculation of cattle. Defra. 2008; #242
- 20 7 M. E. Arnold, J. B. Ryan, T. Konold, M. M. Simmons, Y. I. Spencer, A. Wear, M.
21 Chaplin, M. Stack, S. Czub, R. Mueller, P. R. Webb, A. Davis, J. Spiropoulos, J.
22 Holdaway, S. A. Hawkins, A. R. Austin and G. A. Wells. Estimating the temporal
23 relationship between PrPSc detection and incubation period in experimental
24 bovine spongiform encephalopathy of cattle. J Gen Virol. 2007; 88: 3198-208; #107
- 25 8 M. J. Stack, S. J. Moore, A. Vidal-Diez, M. E. Arnold, E. M. Jones, Y. I. Spencer, P.
26 Webb, J. Spiropoulos, L. Powell, P. Bellerby, L. Thurston, J. Cooper, M. J. Chaplin,
27 L. A. Davis, S. Everitt, R. Focosi-Snyman, S. A. Hawkins, M. M. Simmons and G. A.
28 Wells. Experimental bovine spongiform encephalopathy: detection of PrP(Sc) in the
29 small intestine relative to exposure dose and age. J Comp Pathol. 2011; 145:
30 289-301; #154
- 31 9 A. Buschmann and M. H. Groschup. Highly bovine spongiform
32 encephalopathy-sensitive transgenic mice confirm the essential restriction of
33 infectivity to the nervous system in clinically diseased cattle. J Infect Dis. 2005;
34 192: 934-42; #45
- 35 10 C. Hoffmann, U. Ziegler, A. Buschmann, A. Weber, L. Kupfer, A. Oelschlegel, B.
36 Hammerschmidt and M. H. Groschup. Prions spread via the autonomic nervous

- 1 system from the gut to the central nervous system in cattle incubating bovine
2 spongiform encephalopathy. *J Gen Virol.* 2007; 88: 1048-55; #145
- 3 11 C. Hoffmann, M. Eiden, M. Kaatz, M. Keller, U. Ziegler, R. Rogers, B. Hills, A.
4 Balkema-Buschmann, L. van Keulen, J. G. Jacobs and M. H. Groschup. BSE
5 infectivity in jejunum, ileum and ileocaecal junction of incubating cattle. *Vet Res.*
6 2011; 42: 21; #109
- 7 12 J. G. Safar, M. Scott, J. Monaghan, C. Deering, S. Didorenko, J. Vergara, H. Ball, G.
8 Legname, E. Leclerc, L. Solfrosi, H. Serban, D. Groth, D. R. Burton, S. B. Prusiner
9 and R. A. Williamson. Measuring prions causing bovine spongiform encephalopathy
10 or chronic wasting disease by immunoassays and transgenic mice. *Nat Biotechnol.*
11 2002; 20: 1147-50; #234
- 12 13 H. Okada, Y. Iwamaru, M. Imamura, K. Masujin, Y. Matsuura, Y. Murayama, S.
13 Mohri and T. Yokoyama. Detection of disease-associated prion protein in the
14 posterior portion of the small intestine involving the continuous Peyer's patch in
15 cattle orally infected with bovine spongiform encephalopathy agent. *Transbound*
16 *Emerg Dis.* 2011; 58: 333-43; #101
- 17 14 J. C. Espinosa, M. Morales, J. Castilla, M. Rogers and J. M. Torres. Progression of
18 prion infectivity in asymptomatic cattle after oral bovine spongiform
19 encephalopathy challenge. *J Gen Virol.* 2007; 88: 1379-83; #65
- 20 15 G. A. Wells, T. Konold, M. E. Arnold, A. R. Austin, S. A. Hawkins, M. Stack, M. M.
21 Simmons, Y. H. Lee, D. Gavier-Widen, M. Dawson and J. W. Wilesmith. Bovine
22 spongiform encephalopathy: the effect of oral exposure dose on attack rate and
23 incubation period in cattle. *J Gen Virol.* 2007; 88: 1363-73; #67
- 24 16 M. E. Arnold and J. W. Wilesmith. Estimation of the age-dependent risk of infection
25 to BSE of dairy cattle in Great Britain. *Prev Vet Med.* 2004; 66: 35-47; #213
- 26 17 J. W. Wilesmith, G. A. Wells, M. P. Cranwell and J. B. Ryan. Bovine spongiform
27 encephalopathy: epidemiological studies. *Vet Rec.* 1988; 123: 638-44; #214
- 28 18 N. M. Ferguson, C. A. Donnelly, M. E. Woolhouse and R. M. Anderson. The
29 epidemiology of BSE in cattle herds in Great Britain. II. Model construction and
30 analysis of transmission dynamics. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 1997; 352:
31 803-38; #215
- 32 19 Veterinary-Laboratories-Agency. Experimental production of bovine tissues for
33 validation of BSE diagnostic tests(SE1736). Defra. 2006; #245
- 34 20 M. M. Simmons, J. Spiropoulos, P. R. Webb, Y. I. Spencer, S. Czub, R. Mueller, A.
35 Davis, M. E. Arnold, S. Marsh, S. A. Hawkins, J. A. Cooper, T. Konold and G. A.
36 Wells. Experimental classical bovine spongiform encephalopathy: definition and

- 1 progression of neural PrP immunolabeling in relation to diagnosis and disease
2 controls. *Vet Pathol.* 2010; 48: 948-63; #125
- 3 21 K. Masujin, D. Matthews, G. A. Wells, S. Mohri and T. Yokoyama. Prions in the
4 peripheral nerves of bovine spongiform encephalopathy-affected cattle. *J Gen Virol.*
5 2007; 88: 1850-8; #66
- 6 22 A. Balkema-Buschmann, M. Eiden, C. Hoffmann, M. Kaatz, U. Ziegler, M. Keller
7 and M. H. Groschup. BSE infectivity in the absence of detectable PrP(Sc)
8 accumulation in the tongue and nasal mucosa of terminally diseased cattle. *J Gen*
9 *Virol.* 2010; 92: 467-76; #36
- 10 23 N. Iwata, Y. Sato, Y. Higuchi, K. Nohtomi, N. Nagata, H. Hasegawa, M. Tobiume, Y.
11 Nakamura, K. Hagiwara, H. Furuoka, M. Horiuchi, Y. Yamakawa and T. Sata.
12 Distribution of PrP(Sc) in cattle with bovine spongiform encephalopathy
13 slaughtered at abattoirs in Japan. *Jpn J Infect Dis.* 2006; 59: 100-7; #44
- 14 24 T. Yokoyama, K. Masujin, Y. Yamakawa, T. Sata, Y. Murayama, Y. Shu, H. Okada, S.
15 Mohri and M. Shinagawa. Experimental transmission of two young and one
16 suspended bovine spongiform encephalopathy (BSE) cases to bovinized transgenic
17 mice. *Jpn J Infect Dis.* 2007; 60: 317-20; #69
- 18 25 H. Okada, Y. Iwamaru, M. Imamura, K. Masujin, T. Yokoyama and S. Mohri.
19 Immunohistochemical detection of disease-associated prion protein in the intestine
20 of cattle naturally affected with bovine spongiform encephalopathy by using an
21 alkaline-based chemical antigen retrieval method. *J Vet Med Sci.* 2010; 72: 1423-9;
22 #153
- 23 26 H. Okada, Y. Iwamaru, M. Imamura, K. Masujin, Y. Matsuura, Y. Shimizu, K. Kasai,
24 M. Takata, S. Fukuda, S. Nikaido, K. Fujii, S. Onoe, S. Mohri and T. Yokoyama.
25 Neuroanatomical distribution of disease-associated prion protein in cases of bovine
26 spongiform encephalopathy detected by fallen stock surveillance in Japan. *J Vet*
27 *Med Sci.* 2011; 73: 1465-71; #148
28
29

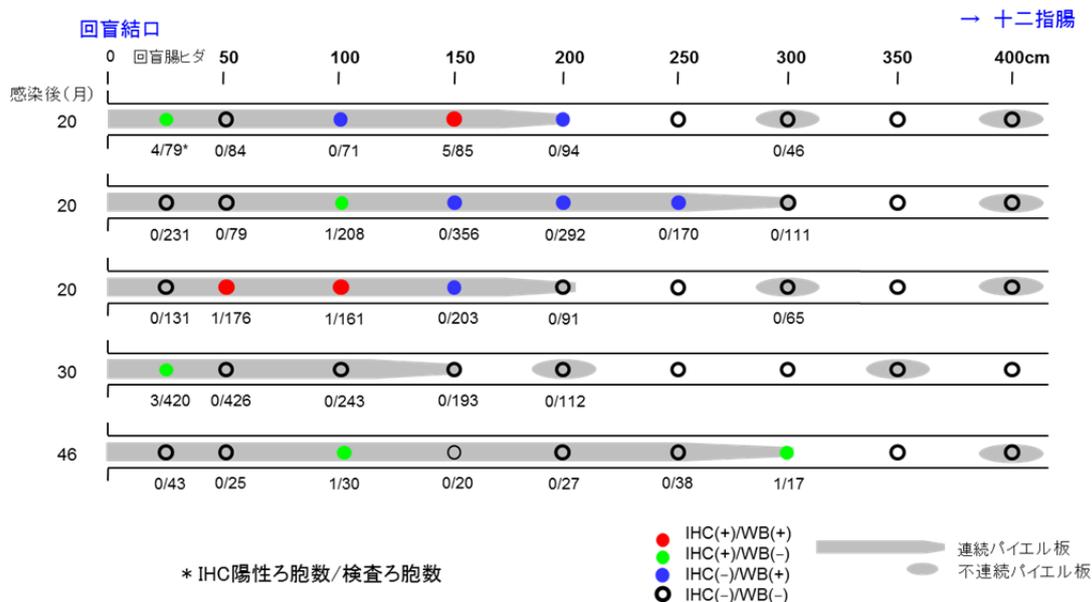
1 <参考1> BSE 感染牛脳幹 (5g) を経口投与された牛の検査結果概要

牛番号	接種後月数	IHCによるPrP ^{Sc} 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 13 Okada, et al.(2011)#101)より

2
3
4
5
6

<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^{Sc} 陽性ろ胞の存在と比率



(参照 13 Okada, et al.(2011)#101)(参照 10)

7
8
9

Okada, et al.(2011)#101)より

BSE 実験感染牛および BSE 自然例における BSE 病原体の体内分布のまとめ

1. プリオンの経口投与量と潜伏期および発症率の関係

Wells ら (2007) によると、BSE 感染実験牛 (経口感染) では、投与量の減少とともに、平均潜伏期が長くなり、投与量と潜伏期は逆比例する (用量-潜伏期標準曲線が描ける)。また、投与量の減少とともに発症率 (attack rate) が低下する。投与後、臨床症状が認められるまでの期間 (潜伏期) は、100g 投与で投与後 31 ヶ月から、10g 投与で投与後 41 ヶ月から、1g 投与で投与後 45 ヶ月から、100mg 投与で投与後 53 ヶ月からであり、これより少ない投与量では、attack rate が著しく低くなり、潜伏期も標準曲線から外れる。

牛を用いた限られた実験条件下での成績であり、脳乳剤の経口投与と加熱処理により産生される肉骨粉の摂食との同等性は不明であるが、それでもなお、この結果は、野外におけるプリオンの摂取量と潜伏期の関係性を推測する貴重な情報である。

2. プリオンの経口投与量と中枢神経系で PrP^{Sc} が検出されるようになる時期の関係

BSE 感染実験牛 (経口感染) で、中枢神経系で PrP^{Sc} が検出されるようになる時期は、BSE 感染牛脳 100g 相当の投与で投与後 24 ヶ月以降、5g 相当の投与で投与後 34 ヶ月以降であった。中枢神経系で PrP^{Sc} が検出されるようになるまでの期間は、投与量の減少に伴い長くなる。また、我が国で実施されている 24 ヶ月齢以上の死亡牛の BSE サーベイランスで BSE と判定された最も若い個体は 48 ヶ月齢 (平成 12 年 10 月生) であり、食用に供される牛の BSE 検査で BSE と判定された個体のうち、21,23 ヶ月齢の若齢牛症例を除いた最も若い個体は 57 ヶ月齢である (平成 12 年 8 月生)。

3. BSE 感染牛の SRM 以外の組織におけるプリオンの存在

実験感染牛および BSE 野外例ともに、SRM 以外(※)に、副腎、末梢神経などにプリオン感染性、もしくは PrP^{Sc} が検出される。ただし、その単位組織重量当たりの量は脳と比較して、1/1,000 以下の微量である。また、副腎、末梢神経などで PrP^{Sc} が検出されるようになるのは、中枢神経系で PrP^{Sc} が検出される時期と同時期あるいはそれ以降であるので、末梢神経に存在する PrP^{Sc} あるいはプリオン感染性の大部分は、中枢神経系組織から遠心性に広がったものと考えられる。

※消化管については 4. を参照

4. BSE 感染牛の消化管におけるプリオンの存在

消化管における PrP^{Sc} あるいはプリオン感染性の分布は、報告により PrP^{Sc} の蓄積

が認められる細胞に差異はあるものの、BSE 実験感染牛（経口投与）および BSE 野外例ともに、主に回腸遠位部に分布する。BSE 感染牛脳 100g 相当の投与では、早い例では投与後 4 ヶ月から回腸で PrP^{Sc} が検出されている。また、空腸でもプリオン感染性および PrP^{Sc} が検出されているが、マウスバイオアッセイの結果は attack rate が非常に低いことから、感染価は非常に低いと考えられる。BSE 感染牛脳 5 g 相当の投与でも、回腸遠位部よりも上部の回腸（回盲口から 2m 以上離れた部位）で PrP^{Sc} が僅かに検出されているが、感染価はマウスバイオアッセイの検出限界以下であるので、その量は非常に低いと考えられる。

また、BSE 野外例でも回腸遠位部から PrP^{Sc} が検出され、また感染価は低いながらもプリオン感染性が検出されることから、プリオンは感染後長期間にわたり回腸遠位部に存在すると考えられる。また、1 例であるが結腸からプリオン感染性が検出され、結腸の腸管神経叢で PrP^{Sc} が検出されている。

**BSE確定検査
若齢牛と判定保留例のウシ脳の感染試験**

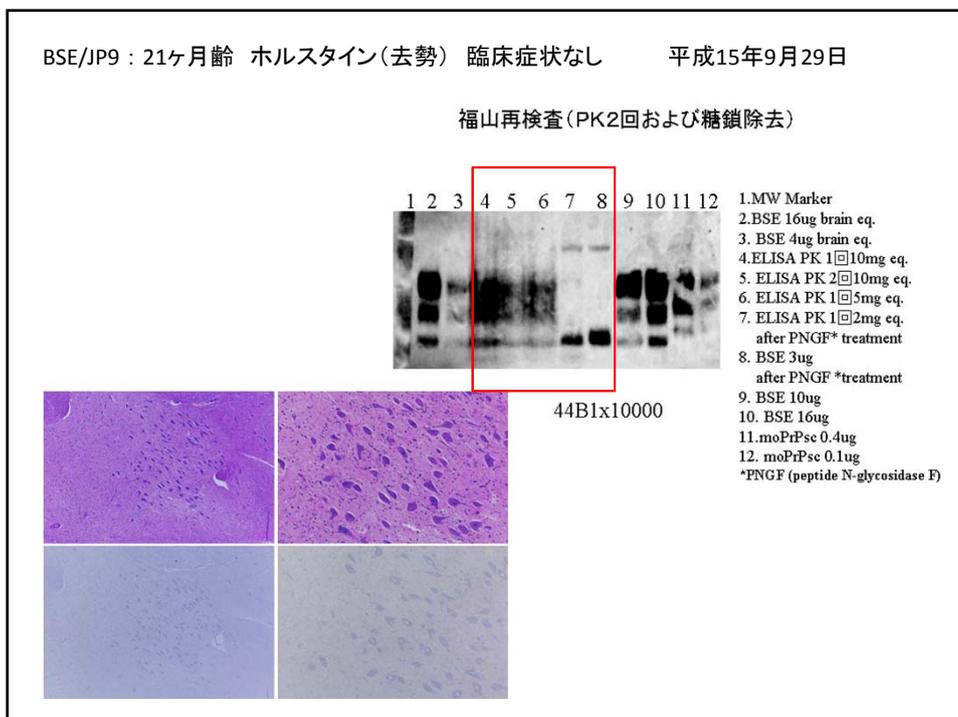
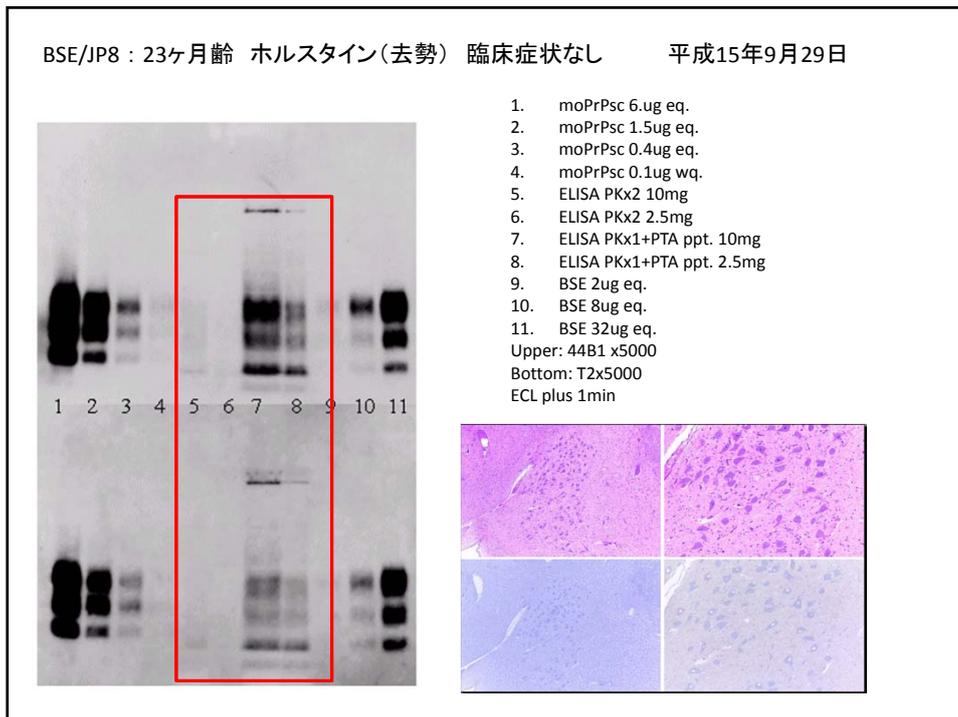
Experimental transmission of two young and one suspended bovine spongiform encephalopathy (BSE) cases to bovinized transgenic mice.
Jpn J Infect Dis. 2007; 60: 317-20 . T. Yokoyama, K. Masujin, Y. Yamakawa, T. Sata, Y. Murayama, Y. Shu, H. Okada, S. Mohri and M. Shinagawa.

(独)農業・食品産業技術総合研究機構
動物衛生研究所 プリオン病研究センター

表1 BSE検査確定検査概要

症例	牛の齢及び 生年月日	ELISA結果 (カットオフ値)*	WB	IHC	組織学的 変化
BSE/JP8	23か月齢 2001/10/13	0.20、0.21 (0.23)	+	-	-
BSE/JP9	21か月齢 2002/1/13	0.29、0.29 (0.24)	+	-	-
Suspende d-1	(20才) 1983/ /	0.43、0.44 (0.23)	±	-	-
BSE/JP6	83か月齢 1996/2/10	3.1、3.3 (0.23)	+	+	+

確定検査は
原則としてウエスタンブロット法および免疫組織化学検査により確定検査を実施する
どちらかが陽性であれば陽性と判定する



Suspendid-1b: 240ヶ月齢(20才) 黒毛和種 臨床症状なし 平成15年3月27日

1. MWmaker
 2. MoPrPsc 6ug eq.
 3. MoPrPsc 1.5ug eq.
 4. MoPrPsc 0.4ug eq.
 5. MoPrPsc 0.1ug eq.
 6. BSE 15ug eq
 7. BSE 4ug eq
 8. BSE 1ug eq
 9. ELISA 1. 10mg.eq
 10. NIID-1 10mg. Eq
 11. NIID-2 10mg. Eq
 抗体 44B1
 NIID-1 ELISA切り出し口の脊髄側
 NIID-2 ELISA切り出し口の脳側

結論 1) 神奈川検体の門部および視床試料に異常型プリオンタンパク様のバンドが検出された。2) このバンドの分子量はBSEのそれとほぼ一致しているが、glycoformの濃度分布はBSEのそれとは異なる様におもわれる。3) このバンドを作る物質がBSEのPrPscか否かについて、量が非常に少ないために結論できない。

スクリーニング検査陽性牛の確認検査結果 (免疫組織化学検査、病理組織)

BSE/JP6: 83ヶ月齢 ホルスタイン(雌) 起立障害 平成15年1月17日

品種:ホルスタイン
 年齢:83ヶ月齢
 性別:雌
 1. MoPrPsc 6ug eq.
 2. MoPrPsc 1.5ug eq.
 3. MoPrPsc 0.4ug eq.
 4. ELISA 1. 10mg.eq
 5. ELISA 1. 2.5mg.eq
 6. ELISA 1. 625ug.eq
 7. ELISA 2. 625ug.eq
 8. ELISA 2. 156ug.eq
 9. ELISA 2. 40ug.eq
 10. NIID 62.5ug eq.
 11. NIID 250ug eq.
 12. NIID 1mg eq.
 抗体 44B1, 10sec
 検査機関: 国立感染症研究所

表2 BSEの感染価とTgBoPrPの潜伏期の関係

接種材料 ¹	発症数/ 接種数	潜伏期 平均 ± 標準偏差 (日)
ori (10 ⁻¹)	6/6	217.8 ± 3.8
10 ⁻¹	6/6	257 ± 2.6
10 ⁻²	6/6	309 ± 53.4
10 ⁻³	6/6	386 ± 13.9
10 ⁻⁴	3/6	479 ± 131.0
10 ⁻⁵	0/6	>495

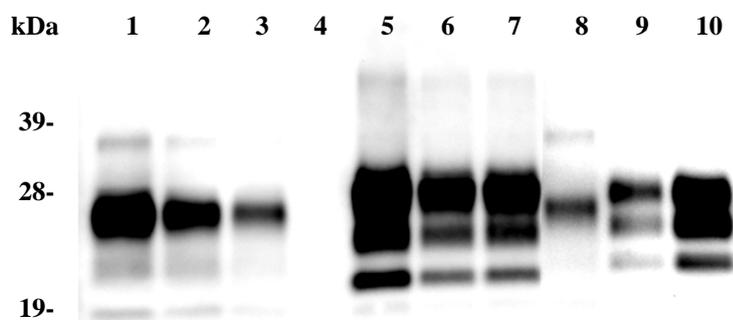
¹ 英国より輸入したBSE試料を用いて測定
 プリオン感染価は10^{0.7} LD₅₀/g
 各試料をマウスの脳内にそれぞれ20μl接種

表2-2 BSEの牛型Tgマウスへの伝達試験成績

接種材料 マウス	発症数 / 接種頭数	平均潜伏期間 (接種後安楽死までの日数)
BSE/JP8(非定型)*		
初代:TgBoPrP	0/5	(600, 786, 788, 788, 860)
2代:TgBoPrP	0/6	623~847
2代:ICR	0/7	589~853
BSE/JP9/(若齢型)*		
初代:TgBoPrP	0/6	(505, 577, 704, 881, 927, 927)
2代:TgBoPrP	0/6	714~748
2代:ICR	0/7	407~659
Suspend-1*		
TgBoPrP	0/7	717~927
PBS		
TgBoPrP	0/5	432~717
BSE/JP6(定型)		
TgBoPrP	5/5	272.2 ± 12.2

* ELISA乳剤の残りを希釈(最終5%脳乳剤)して実験に使用

図1 BSE接種TgBoPrPマウス脳のエスタンプロッキング解析



レーン 1-3: 非定型BSE(BSE/JP8)接種後860日のマウス脳 (125 μ g, 50 μ g, 25 μ g)
 レーン 4 : PBS接種後180日のマウス脳 (250 μ g)
 レーン 5-7: 従来型BSE(BSE/JP6)接種マウス脳 (125 μ g, 50 μ g, 25 μ g)
 レーン 8 : 生後800日のマウス脳 (250 μ g)
 レーン 9-10: スクレイビー接種マウス脳 (0.4 μ g, 1.6 μ g)

老齢TgBoPrPからは25kDaのバンドが検出されたが、PrP^{Sc}のシグナルは認められなかった(lanes 1-3, and 8)

BSE若齢牛等の感染実験の成績

症例	牛の齢及び 生年月日	ELISA結果 (カットオフ値)	WB	IHC	組織学的 変化	感染実験 TgBoPrP
BSE/JP8*	23か月齢 2001/10/13	0.20、0.21 (0.23)	+	-	-	-
BSE/JP9*	21か月齢 2002/1/13	0.29、0.29 (0.24)	+	-	-	-
Suspended -1*	(20才) 1983/ /	0.43、0.44 (0.23)	±	-	-	-
BSE/JP6	83か月齢 1996/2/10	3.1、3.3 (0.23)	+	+	+	+

* ELISA乳剤の残りを希釈(最終5%脳乳剤)して実験に使用

結論:
 牛型遺伝子改変マウス(TgBoPrP)を用いた感染実験で感染性は認められなかった