

成績概要書（2008 年 1 月作成）

課題分類：

研究課題：BSE 脳内感染実験牛のプリオン体内分布

担当部署：北海道立畜産試験場 基盤研究部 遺伝子工学科、感染予防科、病態生理科

担当者名：

協力分担：動物衛生研究所プリオン病研究センター、国立感染症研究所

予算区分：外部資金（厚労科研費）

研究期間：2005～2007 年度（平成 17～19 年度）

1．目的

牛海綿状脳症（BSE）は人獣共通感染症であり、畜産物の生産・流通・消費に負の影響を与えている。BSE の発症機序や病態は未だ不明で、生前診断も現在不可能である。本研究は、BSE プリオン感染脳乳剤を脳内接種した BSE 脳内感染実験牛の異常プリオン蛋白質（PrP^{Sc}）の体内分布を解析し、BSE の発症機序および病態の解明に資する。

2．方法

1）BSE 脳内感染実験牛におけるプリオン体内分布

ホルスタイン種雌牛 19 頭を用いた。接種材料として BSE 患畜（国内 2 例、英国 1 例）および対照として BSE 陰性を確認した牛脳組織より作成した 10%脳乳剤を用いた。2～4 ヶ月齢の供試牛に接種材料を脳内接種し（BSE 脳内感染実験牛 16 頭、正常脳接種牛 3 頭）、経過観察後、動物バイオセーフティ基準 3 施設で病理解剖を行った。脳組織および諸臓器を採取し、ウエスタンブロット法（WB）で PrP^{Sc} の検出を行った。

2）BSE 脳内感染実験牛の血液成分の解析

臨床症状が確認された 9 頭の BSE 脳内感染実験牛について、経時的に血液一般検査項目を分析した。また ELISA 法により血清 S-100B 濃度を測定した。

3．成果の概要

1）BSE 脳内感染実験牛におけるプリオン体内分布

（1）接種後 3 ヶ月では中枢神経のいずれの部位から PrP^{Sc} は検出されなかった。臨床症状が出現するおよそ 8 ヶ月前である接種後 10 ヶ月の牛の脳幹部で微量の PrP^{Sc} が検出された。接種後 20 ヶ月以上で解剖した発症後解剖牛においては、脳組織の全域で PrP^{Sc} が検出された（表 1）。

（2）接種からの経過期間に従い PrP^{Sc} が検出された部位も拡大し、また PrP^{Sc} の蓄積量も増加する傾向にあった。

（3）網膜を検査した 12 頭中 11 例で PrP^{Sc} が検出された。発症前に解剖した接種後 16 ヶ月の牛では中枢神経系とその近傍に PrP^{Sc} の蓄積を認めたが、発症前に解剖した接種後 19 ヶ月の牛では迷走神経や舌下神経、発症後解剖した接種後 23 ヶ月の牛では坐骨神経や副腎、迷走神経胸部など末梢組織からも PrP^{Sc} が検出された（図 1、2）。

2）BSE 脳内感染実験牛の血液成分の解析

赤血球数などで対照群と差がみられたものの BSE 特異的に変化する血液一般検査項目は無く、本手法による BSE の生前診断は困難であった。

以上のように、BSE 脳内感染実験牛のプリオン体内分布を明らかにした。また WB により脳幹部に蓄積した PrP^{Sc} を発症期の 8 ヶ月前に検出した。BSE における中枢から末梢へのプリオン伝播機序および発症機序解明のために不可欠な基礎知見となる。

表 1 脳組織におけるウエスタンブロット法による PrP^{Sc} の検出

牛剖検 No.	発症前解剖牛							発症後解剖牛								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
接種後経過月	3	10	12	12	16	18	19	20	21	22	23	23	23	24	24	24
脳 I 嗅脚	-	-	-	-	-	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
脳 II 上部	-	-	-	-	-	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
脳 II 髄質	-	-	-	++	-	-	++	++	+	++	+	+	-	±	-	+
脳 II 線条体	-	-	-	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
脳 III 頭頂部	-	-	-	-	-	-	++	++	+	++	++	++	++	++	+	++
脳 III 視床	-	-	-	++	-	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
脳 IV 頭頂部	-	-	-	-	-	-	++	++	++	++	++	++	++	++	+	++
脳 IV 髄質	-	-	-	-	-	-	++	++	-	++	+	++	++	±	+	+
脳 IV 視床	-	-	++	-	ND	++	++	ND	ND	++	++	++	ND	++	++	ND
脳 IV 海馬	-	-	-	++	-	±	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
脳 V 上部	-	-	-	++	-	-	++	++	+	++	++	++	++	++	+	++
脳 V 髄質	-	-	-	-	-	-	++	++	+	+	++	+	-	+	++	+
小脳 皮質	-	-	-	-	-	++	±	+	++	++	++	++	++	++	++	++
小脳 髄質	-	-	+	++	-	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++
小脳 脚	-	-	-	ND	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
脳幹 中脳	-	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
脳幹 橋	-	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
脳幹 延髄門	-	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

++ : PrP^{Sc} 陽性、+ : PrP^{Sc} 陽性 (<Mo Sc 1.6μg)、- : 陰性、± : 判定不能、ND : 未実施



図 1 BSE 脳内感染実験牛のプリオン体内分布の推移

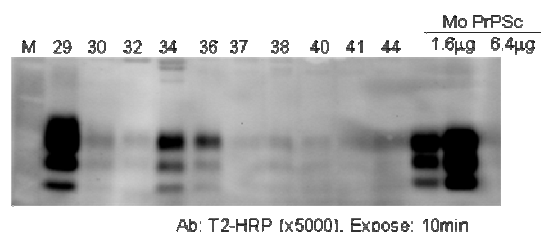


図 2 末梢神経組織に蓄積する PrP^{Sc} (接種後 23 ヶ月)

29 迷走神経 (頸部)、30 迷走神経 (胸部)、32 交感神経幹、34 星状神経節、36 馬尾、37 尾骨神経、38 横隔神経、40 肩甲上神経、41 腕神経叢、44 坐骨神経

4 . 成果の活用面と留意点

- ・ 本試験の成果および採取した組織材料は BSE の病態解析などプリオン病研究に活用される。

5 . 残された問題とその対応

- ・ プリオン感染後から PrP^{Sc} が蓄積する前までのプリオンの所在
- ・ BSE の発症機序および感染経路の解明
- ・ 非定型 BSE の病原性と感染機序の解明