

平成23年度 成績概要書

課題番号（研究区分）： 6102-684501 （公募型（厚労科研費））

1. 研究成果

- 1) 研究成果名：非定型 BSE 感染牛におけるプリオンの病原性と体内分布
（定型および非定型 BSE 感染牛のプリオン体内分布と病態の解析）
- 2) キーワード：牛、非定型 BSE、プリオン、体内分布、黒毛和種
- 3) 成果の要約：脳内接種による非定型 BSE 感染牛は定型 BSE 感染牛と比較して、脳組織および末梢組織のプリオン分布に差はなかったが、臨床症状が不明瞭で、飼育困難となるまでの期間が短く、脳組織のプリオン蓄積も早期であったことから、非定型プリオンは病原性が強いと考えられた。黒毛和種とホルスタイン種で臨床症状や脳組織の分布に差はなかった。

2. 研究機関名

- 1) 担当機関・部・グループ・担当者名：畜産試験場・基盤研究部・畜産工学G 福田茂夫、家畜衛生G
- 2) 共同研究機関（協力機関）：（動物衛生研究所プリオン病研究センター）

3. 研究期間：平成 20～22 年度 （2008～2010 年度）

4. 研究概要

1) 研究の背景

近年、従来型（定型）の牛海綿状脳症（BSE）と性状の異なる非定型 BSE が欧米諸国で多数報告され、国内でも 2 例が確認された。これまで、われわれは定型 BSE について、臨床症状やプリオンの体内分布等を明らかにしてきたが、非定型 BSE については不明な点が多い。食肉の安全性を確保する上で非定型プリオンの病原性等を明らかにする必要がある。また、国内の BSE 患者には黒毛和種が 4 例含まれ、黒毛和種についてホルスタイン種との差異を明らかにする必要がある。

2) 研究の目的

非定型 BSE 感染牛における接種から臨床症状の発現までの期間、接種から飼育困難になるまでの期間、臨床症状およびプリオンの体内分布を定型 BSE 感染牛と比較し、非定型プリオンの病原性等を明らかにする。

5. 研究方法

1) 非定型 BSE 感染牛の臨床症状

ねらい：非定型 BSE 感染牛を、定型 BSE 感染牛と同様の臨床症状の検査項目および方法で検査し、非定型プリオンの接種から臨床症状の発現までの期間、接種から起立不能等のため飼育困難になる（病理解剖を行う）までの期間および臨床症状について定型 BSE 感染牛と比較する。

試験項目等：ホルスタイン種 7 頭および黒毛和種 3 頭に非定型プリオン、黒毛和種 3 頭に定型プリオンの 10%脳液剤 1ml をそれぞれ脳内接種し、臨床症状（姿勢・行動、歩様・走行姿勢、聴覚、視覚）を定期的に観察する。

2) 非定型 BSE 感染牛のプリオン体内分布

ねらい：非定型 BSE 感染牛におけるプリオンの脳組織および末梢組織における蓄積時期と分布を明らかにする。

試験項目等：非定型 BSE 感染牛 2 頭および定型 BSE 感染牛 1 頭は発症前に、それ以外の感染牛は飼育困難となった時点で病理解剖を行う。ウエスタンブロット法により、脳組織および末梢組織におけるプリオンの蓄積および分布を解析し、これまでに作出した定型 BSE 感染牛と比較する。

6. 研究の成果

- 1) -(1) 非定型 BSE 感染牛の脳内接種から臨床症状の発現までの期間（11～16 ヶ月）および飼育困難になるまでの期間（11～16 ヶ月）は、定型 BSE 感染牛と比較して短かった（表 1）。
- 1) -(2) 非定型 BSE 感染牛では、臨床症状の検査項目で異常が認められない個体（A3、A7）がいるなど、定型 BSE 感染牛と比較して臨床症状が不明瞭であった（表 1）。
- 2) -(1) 脳組織のほぼ全域にプリオンが蓄積するのは、非定型 BSE 感染牛では 12 ヶ月であり、定型 BSE 感染牛の 19 ヶ月と比較して、早期であることが確認された（表 2）。飼育困難になるまでの期間、プリオンの蓄積時期から、非定型プリオンは、定型プリオンと比較して病原性が強いと考えられた。
- 2) -(2) 脳組織におけるプリオンの蓄積部位には、非定型 BSE と定型 BSE に差は見られず、飼育困難により病理解剖を行った時点では脳組織のほぼ全域に蓄積が見られた（表 2）。
- 2) -(3) 末梢組織におけるプリオンの蓄積部位には、非定型 BSE と定型 BSE に差は見られず、経過に伴い、頭部から体幹、四肢へと遠心性にプリオンが伝播することが示唆された（データ未掲載）。
- 2) -(4) 非定型 BSE 感染牛のリンパ系組織等からプリオンが検出されなかったことから、定型と同様に非定型 BSE においてもプリオンが神経系組織以外へ伝播する可能性は低いと考えられた（データ未掲載）。
- 2) -(5) 接種から臨床症状の発現までの期間、飼育困難になるまでの期間、臨床症状、脳組織におけるプリオンの蓄積部位には、黒毛和種とホルスタイン種の間に差は見られなかった（表 1、2）。非定型 BSE と定型 BSE の比較を表 3 にまとめた。

< 具体的なデータ >

表1. 非定型および定型BSE感染牛の臨床症状の経過

牛 No.	品種	初発の 臨床症状	接種後の月数												解剖前の 状態				
			10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21		22	23	24	
非 定 型 B S E	A3 ¹⁾	H (起立困難)	—	■														起立不能	
	A4	H 歩様の変化	—	■	+													運動失調	
	A5	H 歩様の変化	—	■	+	+												運動失調	
	A6	H 音に過剰反応	—	+	+	+												運動失調	
	A7 ¹⁾	H (起立困難)	—	■	■	■	■	■	■									起立不能	
	A8	B 歩様の変化	—	■	■	■	■	+										運動失調	
	A9	B 音に過剰反応	—	+	+	+	+	+	+									運動失調	
	A10	B 音に過剰反応	—	■	■	■	+	+	+									運動失調	
	定 型 B S E	C5 ²⁾	H 起立姿勢・歩様の変化	—	■	■	■	■	■	■	■	■	+	+	+				姿勢異常
		C6	H 起立姿勢・歩様の変化	—	■	■	■	■	■	■	■	■	+	+	+	+	+	+	起立不能
C7		H 歩様の変化	—	■	■	■	■	■	■	■	■	■	+	+	+	+	+	起立不能	
C8		B 音に過剰反応	—	■	■	■	■	■	■	■	■	■	+					運動失調	
C9		B 音に過剰反応	—	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	+	+	運動失調	

定型BSE感染牛C5～C7は、2007年度成績書「脳内接種によるBSE感染牛の臨床症状」のデータを用いた。

H:ホルスタイン種、B:黒毛和種

—:臨床症状無し、+:臨床症状有り、□:病理解剖(症状なし)、■:白抜き:病理解剖(症状あり)

1)臨床症状検査に対する反応が無く、突然起立困難となった。

2)臨床症状確認後、接種後20ヶ月にて計画的に病理解剖した。

表2. 非定型および定型BSE感染牛の脳組織におけるプリオンの検出

牛No.	品種	接種 後の 月数	脳Ⅰ 1	脳Ⅱ 2	脳Ⅱ 3	脳Ⅱ 4	脳Ⅲ 5	脳Ⅲ 6	脳Ⅳ 7	脳Ⅳ 8	脳Ⅳ 9	脳Ⅳ 10	脳Ⅴ 11	脳Ⅴ 12	小脳 13	小脳 14	小脳 15	脳幹 16	脳幹 17	脳幹 18
			嗅脚	上部	髄質	線条体	頭頂部	視床	頭頂部	髄質	視床	海馬	後頭部 上部	後頭部 髄質	皮質	髄質	小脳脚	中脳	橋	延髄門
非 定 型 B S E	A1 ¹⁾	H	9	++	—	—	+	++	—	—	++	—	—	—	—	++	—	++	++	++
	A2 ¹⁾	H	9	++	—	—	+	—	—	—	++	+	—	—	+	++	+	++	++	++
	A3	H	11	++	—	—	—	+	—	—	++	—	—	—	+	++	+	++	++	++
	A4	H	12	++	++	++	++	+	++	+	++	+	+	—	++	++	++	++	++	++
	A5	H	13	++	+	+	++	+	++	+	++	—	—	—	—	++	++	++	++	++
	A6	H	13	++	++	—	++	++	++	+	++	++	++	—	++	++	++	++	++	++
	A7	H	16	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	A8	B	15	++	++	—	++	++	++	++	—	++	++	++	—	++	++	++	++	++
	A9	B	16	++	++	++	++	++	++	++	—	++	++	++	—	++	++	++	++	++
	A10	B	16	++	++	—	++	++	++	++	—	++	++	++	—	++	++	++	++	++
定 型 B S E	C1 ¹⁾	H	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+
	C2 ¹⁾	H	12	—	—	—	—	—	—	—	++	—	—	—	—	+	—	+	+	+
	C3 ¹⁾	H	16	—	—	—	++	—	—	—	ND	—	—	—	—	—	+	++	++	++
	C4 ¹⁾	H	18	—	—	—	+	—	+	—	++	+	—	—	++	++	++	++	++	++
	C5	H	20	++	++	++	++	++	++	++	ND	++	++	++	+	+	++	++	++	++
	C6	H	23	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++	++
	C7	H	24	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++	++
	C8	B	19	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++	++
	C9	B	22	++	++	+	++	++	++	+	++	++	+	+	+	++	+	++	++	++
	C10	B	22	++	++	+	++	++	++	++	+	++	+	—	+	++	+	++	++	++

1)発症前に解剖した牛

H:ホルスタイン種、B:黒毛和種

++:プリオン陽性(>マウススクレイパー陽性対照 1.6mg)、+:プリオン陽性、—:陰性、ND:未実施

表3. 非定型BSEと定型BSEの比較

プリオンの蓄積							プリオンの病原性 ³⁾
発現時期(月)		臨床症状	時期(月)	部位			
臨床症状	飼育困難		脳組織全域	脳組織 ¹⁾	末梢組織 ²⁾		
非定型BSE	11～16	11～16	不明瞭	12	全域	遠心性	強
定型BSE	18～21	19～24	明瞭	19	全域	遠心性	—

1)全域:飼育困難になった時点では非定型および定型ともに脳組織のほぼ全域にプリオンが蓄積した。

2)遠心性:非定型および定型ともに頭部から体幹、四肢へと遠心性にプリオンが伝播した。

3)定型プリオンとの比較

7. 成果の活用策

1) 成果の活用面と留意点

- ・本研究の成果は、家畜保健衛生所等の BSE 検査における参考資料として活用できる。
- ・本研究の結果は、プリオン (BSE/JP24) の脳内接種によるものである。

2) 残された問題とその対応

- ・非定型 BSE の臨床症状検査方法の確立。