



TAFS

家畜伝染病と食の安全に関する国際フォーラム
スイス非営利財団法人

(2009年1月)

小型反芻動物の BSE に関する TAFS¹ポジションペーパー

2002 年にと殺されたフランスの一頭の山羊⁽²⁵⁾ が BSE に感染していた事実が 2004 年に明らかとなり、特に消費者に与えるリスクへの関心と相まってヨーロッパにおける小型反芻動物のプリオン病に注目が集まりました。そして、実験的 BSE 感染羊を用いた小型反芻動物の BSE 研究が拡大しました。必然的に、その研究から私たちは、緬羊や山羊が BSE に感染したときどのような反応を示すかについて新たな知見を得るでしょう。一方で、ヨーロッパの小型反芻動物におけるプリオン病を対象としたサーベイランスにより、多くの国でスクレイピー症例が、少数例のみの場合もありますが、確認されました。しかし、データ分析と科学的調査の方法が発展し、小型反芻動物のプリオン感染の認識と反応に関する過去の仮説が見直されています。特に、新しい識別手段を利用し、サーベイランスで検出された陽性症例における BSE の調査が強化されました。

本文書は、最近公表された結果や近く公表予定の成績、またそれらが消費者や消費者を保護する規制当局に対してもたらす影響についてまとめたものです。

緬羊の BSE に関する調査

なぜ、緬羊での BSE 発生を心配するのですか？

- 牛の BSE はもともと緬羊のスクレイピーに由来すると考えられています。ですから、BSE が緬羊に感染することは理論的には可能でした。その後実施された実験的研究で、緬羊は経口と注射接種のどちらでも実際に感染したことが報告されています^(9, 10, 26, 29, 30, 31, 32, 33, 35)。
- 緬羊のスクレイピーに関する研究で、緬羊の遺伝子構造（遺伝子型と呼ばれる）と感染もしくは臨床症状発現のしやすさの関係が示されました^(7, 11, 27, 34)。こうした論文に記載される情報のほとんどは、緬羊のプリオン蛋白質の産生を制御する遺伝子（PrP 遺伝子）に関連しており、通常、特定の遺伝子型を示すのに文字が使用されています。1 セット 3 文字で 1 本の染色体を示し、遺伝子型は両染色体上の配列を表します。これまでの実験では、一般的な遺伝子型の緬羊のみに BSE

¹ TAFS は科学者、食品産業の専門家、動物用医薬品規制当局者、疫学者、診断医、食品製造業者、および消費者の団体によって作られた国際的プラットフォームです。家畜伝染病に関して食の安全への信頼を維持できるよう、人々に信頼できる情報を広めるための通信網を確立し、維持することを目的としています。

の経口接種を行ってきたため、BSE の感受性に関する現在のデータは、包括的なものではありません（脚注^φ参照）^(23, 32, 35)。

- 初期の研究で、ARQ/ARQ、AHQ/AHQ、ならびに AHQ/ARQ の遺伝子型を有する緬羊は経口感染しやすいことが分かりました^(9, 30, 32, 33)。他の遺伝子型の緬羊への経口接種試験はまだ進行中です。ところが、3 つのコドン（136、154、171）のみの利用では単純化しすぎであることを示すエビデンスが既に出ています。具体的に、コドン 168 のロイシンは、BSE の実験的感染に対しある程度耐性をもたらすようです⁽³⁵⁾。
- 輸血による感染も証明されています⁽⁴⁶⁾。
- 他の遺伝子型の緬羊も、脳⁽⁴⁵⁾ や脾臓⁽⁶⁰⁾ への直接接種により感染することはすでに分かっていますが、自然曝露（経口摂取がほとんど）でもこれらの緬羊に感染することを証明する必要があります^(2, 10, 45, 60)。
- 結果として、もし緬羊が BSE に感染し、もし BSE がスクレイピーのように緬羊間で伝播するのであれば、BSE 感染羊はヨーロッパの農場で生存し続けているでしょう。反対に、緬羊間で伝播が起こらないとしたら、飼料規制の導入で汚染飼料給餌による曝露を阻止したことで、BSE は国内の緬羊群から絶滅しているでしょう。生存している感染羊（または山羊）の頭数は、緬羊の寿命および該当国における飼料規制の施行日によって異なると考えられます^(39, 51, 52)。

羊における BSE の反応

緬羊は BSE に感染しますか？

- 過去 15 年間に実施された実験により、特定の遺伝子型（下記参照）の緬羊は実験的に BSE に感染することは今や明白です。しかしながら、緬羊が容易には経口感染しないこともまた明らかです。もっとも成功した実験的感染は感染脳 5 g を経口接種したときですが、そのときですら、すべての緬羊が感染したわけではありません。曝露量が低い（例 0.5 g）と成功率は低くなるので、このことはある意味、安心材料といえます。現段階ではまだ、進行中の試験を拡大解釈するには時期早尚でしょうが、結局のところ、これは、高感受性を示す遺伝子型の緬羊であっても、汚染飼料から自然に曝露する程度の摂取量であれば、感染は不可避ではないことを意味しているのかもしれない⁽³⁵⁾。
- それゆえ、感染脳 5 g の経口投与で緬羊が感染したからといって、緬羊は曝露すれば用量に関係なく常に感染すると推測するのは誤りでしょう。
- 加えて、現時点では遺伝子型が BSE 感染の感受性に及ぼす影響について十分理解できてはいないものの、いくつかの遺伝子型は経口感染に耐性を示すという確固たる証拠も得られています。
- 例えば、英国獣医学研究所（VLA）において、遺伝子型 ARQ/ARR および ARR/ARR の緬羊に、6 ヶ月齢の時点で BSE 感染脳 5 g を経口接種しても、緬羊は感染しませんでした。この曝露群の緬羊は、9 年ないし満 10 年を経ても、健康を保っています（2007 年 3 月現在）。この間に一部の曝露した緬羊をと殺し、感染の証拠を確認するため組織検査が行われました。しかし、これまでのところ結果はす

^φ 緬羊がスクレイピーに罹患するリスクの高さは緬羊の品種と遺伝子型によって異なります。緬羊の PrP 遺伝子は 256 種のアミノ酸を産生し、各アミノ酸は 3 つの DNA 塩基（1 つのコドン）によりコード化されています。スクレイピーに対する感受性は、PrP 蛋白質の遺伝子型と関連していることが分かっています。この遺伝子型は多型と呼ばれ、コドン 136、154 および 171 でコード化されるアミノ酸のバリエーションによって決まります。スクレイピー罹患リスクに関する変異型対立遺伝子としては ARQ、ARR、VRQ、AHQ および ARH の少なくとも 5 つが見つかっています。これらのコードは、例えば A₁₃₆R₁₅₄Q₁₇₁（ARQ；）A = アラニン、R = アルギニン、Q = グルタミン、他に H = ヒスチジン、V = バリン）のように各コドンにおけるアミノ酸の多型を表します。ホモ接合とヘテロ接合の 2 対の対立遺伝子を雄羊と雌羊から受け継ぐため、PrP 遺伝子型のバリエーションはかなりの数になります。感受性の低い遺伝子型（ARR）の緬羊群を生産するという国家的な育種改良プログラムが数カ国で進行中です。

べて陰性です。すなわち、感染体は検出されていません⁽⁹⁾。これらの緬羊と他の緬羊の組織で、より高感度の免疫化学検査法と高感度のバイオアッセイ用遺伝子操作マウスを用い、極めて低濃度の感染体の存在を確認するためにさらなる研究が進められています。

- 一方、フランスの遺伝子型 ARR/ARR の子羊 10 頭に緬羊の BSE を経口接種した別の試験では、若干矛盾する結果がみられています⁽²⁾。この試験では、生後 24 時間で 2.5 g、さらに生後 14 日で再度同量を経口投与しました。10 ヶ月齢で 3 頭を検査のためにと殺し、うち 1 頭の脾臓で異常な PrP が検出されましたが、他の組織では検出されませんでした。この結果は感染体の存在を示唆するとして、検証試験が継続しており、他の組織も同様に分析中です。この試験は条件が厳しく農場での状態を反映してはいませんが、すべての子羊にとって感染しやすい状況がある可能性を示しています。曝露時の年齢は感染への感受性にかなりの影響を及ぼすことや、6 ヶ月齢で曝露した緬羊の結果を用いてすべての緬羊を推定する際には注意が必要であることが一層明らかになっています。
- 他にも、遺伝子型および品種が感受性に及ぼす影響を検討するための試験が複数進行中です。さらに、何頭かの実験的感染羊に、他の未感染羊が曝露するような環境で、分娩させることにより、自然感染した緬羊群を作り出そうとする試みも行われています。この方法は、とりわけ出産時における感染体伝播の機会を最大限にすることを目指しています。この試験は、過去に飼料から感染した可能性のある緬羊が、他の緬羊に伝播させる能力を有していたかどうか、またその能力により曝露群で感染を維持できたかどうかを数値で示すのに役立つでしょう。現在公表されている予備結果によれば、雌羊から子羊へ感染する可能性はあるものの、発生頻度を決めるのは時期早尚とのことです⁽⁸⁾。しかしながら、母子感染が証明された群の未公表データから、緬羊間の水平感染（すなわち“雌羊から子羊”以外の感染）は簡単には起こらないことは明らかです。つまり、現実には BSE は曝露群での感染を自然には持続できないといえるかもしれません。
- その他、数年間継続している小規模な研究で、実験的に BSE 感染させた母羊からその子羊に伝播するかどうかを検討されています。今までのところ感染は起こっていませんが、試験の規模が比較的小さいため、母子感染は起こらないと断言することはできません⁽²⁹⁾。山羊を用いた別の試験でも、胚移植による伝播はみられていません⁽³¹⁾。

BSE が緬羊に感染したとしたら問題ですか？

- 政府もその他規制当局も、現在のところ、緬羊の BSE に対して予防的姿勢を取っており、もし BSE 感染羊が存在するなら、牛の BSE 感染と同じリスクを消費者に負わせるだろうと推測しています。これまで用いられてきたプリオン株を特徴づける数少ない基準^(13,14)では、牛と緬羊の BSE を識別はできません。例えば、どちらの BSE も容易にマウスに感染し、潜伏期間についてもマウスの脳における病理学的変化についても本質的に同一の特徴を示します。したがって、過去の牛の BSE での経験を考えれば、予防的姿勢を取ることは理にかなっています^(18, 19, 20, 21)。
- 遺伝子操作マウス (BoPrP-tg100 マウス) における最近の研究で、牛由来の BSE と実験的感染羊由来の BSE をマウスに接種し、感受性の比較が行われました。マウスはウシ PrP 遺伝子を有するにもかかわらず、牛由来の BSE よりも緬羊由来の BSE に対して高い感受性を示したため、著者は牛よりも緬羊からの BSE 曝露の方が人にとって危険が大きいかもしれないと仮説を立てました⁽²³⁾。一方、他の研究⁽¹⁶⁾では、そのような結論を出すのはまだ早いとする事実が示されています。接種材料は類似していても結果は大きく異なる場合があります。研究者がこれらの実験モデルでの結果を基に消費者へのリスクを正しく推定するには、他の要因を考慮に入れなければなりません。

- 緬羊の BSE が確認されれば、フードチェーンから除去する特定危険部位（SRM）の定義を広げる必要が生じるかもしれません（特定危険部位に関する TAFS ポジションペーパーを参照）。しかし山羊で BSE が確認されたとき（下記参照）は、そのような変更はなされませんでした。確認される時期が、国民や当局の反応に大きな影響を与えると考えられます。すなわち、それが過去の症例から遡及的調査によって発見されたのか、それとも現在の症例として確認されたのかがリスクの捉え方に影響するでしょう。
- ところが、緬羊の SRM の定義は牛よりずっと難しいと言えます。これは、スクレイピーに非常に感受性の高い緬羊では感染体が体内に広く拡散するためです。BSE に感受性のある緬羊においても、感染体は同様に広く分布します^(8, 32, 47, 65)。異なる遺伝子型でのスクレイピー感染でみられるように、BSE に対する感受性に中間段階があるのか、また感染体をもっと限局的に分布するのかについては、まだ不明です。こうなると、肉塊の中にある組織（リンパ節と神経）まで SRM リストに入れる必要があるかもしれないということになりますが、と体をバラバラにせずそれらをすべて除去するのは事実上不可能です。その上、検査方法の感受性不足により、私たちはまだ十分にこの分布を把握できていないという声があります。ある状況ではスクレイピー感染羊の筋線維までもがわずかに陽性になることも示唆されています⁽³⁾。こういうわけで、現在のところは、もっともリスクの大きい組織のみの除去に規制の焦点は絞られています。これらの組織は、市場に出せると体を残しながら、比較的容易に除去できます。

実験的感染羊において BSE 感染体の分布を検出するのにどのような検査法が使われてきましたか？

- 免疫組織化学法では、組織の採取後に迅速な評価が可能です。結果は、プリオン複製の好発部位として予想された腸、リンパ組織および神経組織を除き、すべての組織が陰性でした^(33, 48)。
- 高感度免疫ブロット法や ELISA 法といった代替手法が、いくつかの試験で採取された組織検体に現在適用されています。
- その他、実験用げっ歯類を用いた従来のバイオアッセイ法が使われてきました。この方法では必然的に、結論を出すのに時間がかかります。公表された予備結果では、ARQ/ARQ と AHQ/AHQ の緬羊では感染体の分布が広範囲に及んでいました。実は、スクレイピーに非常に高い感受性を示す遺伝子型における BSE 感染体の分布は、スクレイピーの分布に酷似しています^(9, 33)。
- 英国獣医学研究所の試験で検出された感染体の分布についての概略は以下のとおりです^(9, 33, 48)。予想通り、まず感染後数ヶ月以内ですでにリンパ組織において感染がみられます。感染後期までに脳と脊髄が陽性を示し、臨床症状の発現が近づくと感染体の分布は胃、小腸、大腸といった胃腸管に拡大します。潜伏期の初期と後期の重要な相違点として、たとえ全体的な分布は同様であっても存在する感染体の量が異なることに気をつけなければなりません。臨床徴候を呈した動物には、常にもっとも大量の感染体が存在します。BSE の実験感染羊の筋肉からは、これまでのところ感染体は見つかっていません。

緬羊の遺伝子型	感染した組織、または潜伏期初めに異常 PrP が陽性の組織	臨床的感染羊において感染が確認された組織、または異常 PrP が陽性の組織
ARQ/ARQ、 AHQ/AHQ	咽頭後リンパ節、前肩甲リンパ節、腸間膜リンパ節、脾臓、甲状腺、扁桃、小腸下部のパイエル板（回腸遠位部）、回腸遠位部（非リンパ組織）、肝臓	臨床症状発症前のリンパ節、脾臓、パイエル板、回腸遠位部、肝臓、脳、脊髄、腹腔腸間膜神経節、迷走神経
ARQ/ARR	なし	サフォーク種において曝露後 9 年（本文書作成時）、ロムニー朱においては満 10 年で臨床症状なし
ARR/ARR	なし	サフォーク種において曝露後 9 年（本文書作成時）、ロムニー朱においては満 10 年で臨床症状なし

山羊は BSE に感染しますか？

- はい。山羊については BSE 感染脳の経口曝露による実験的な感染が認められています。残念ながら、これまでの研究は主に緬羊を対象としていたため、山羊で実施されている試験はほとんどありません^(30, 31)。
- 過去には、授乳中の山羊に配合飼料を与えると、BSE 感染のリスクが生じると常に認識されてきましたが、このことは BSE への曝露がもっとも多い英国の山羊におけるスクレイピー様疾患の罹患率の高さに反映されてきませんでした。
- 山羊が経済に重要な役割を果たし飼育頭数の多い国々では、スクレイピーが原因で死亡する山羊がいます。EU 内の積極的なサーベイランスの結果、そうした症例がヨーロッパ内数カ国で記録されました。ギリシャ、スペイン、フランスでは山羊の頭数をもっとも多いため、山羊のスクレイピー症例のほとんどがこれらの国々で発生していることは驚くにあたりません。EU では、2002 年に検査を行った山羊 54,626 頭中スクレイピー症例は計 41 頭のみ、2003 年には 241 頭（検査数 6,040 頭）、2004 年には 398 頭（検査数 36,115 頭）となりました。2005 年にはサーベイランスの対象が拡大され、計 265,518 頭の山羊を検査し 989 頭が陽性でした。ここで注目すべきは、この期間（2002 年から 2005 年まで）に見つかった陽性例の 86.5%（1669 頭中 1443 頭）がキプロスの山羊であることです。キプロスでは一度も BSE は発生していませんが、山羊の群れでスクレイピーの発生を抑えられていないという大きな問題があります。一方、次に発生の多い国々はフランスの 96 頭（検査数 212,638 頭中 0.05%）とギリシャの 78 頭（検査数 24,818 頭中 0.31%）でした。特にフランスは、自国の山羊で BSE が発見されて以来、検査対象の山羊を大幅に増やしました。
- 2007 年 EU では計 277,196 頭の山羊を検査したところ、うち 1272 頭が陽性でした。最も陽性だった国はキプロスの 6781 頭中 1158 頭、続いてギリシャ（5800 頭中 53 頭）、英国（2732 頭中 26 頭）、スペイン（36,638 頭中 20 頭）、フランス（159,721 頭中 7 頭）、ルーマニア（618 頭中 2 頭）でした。英国では過去に山羊においてスクレイピーがほとんど見つかっておりませんでした。最近では数頭の山羊が複数の群れで感染しており、このような状況は稀であります。
- 緬羊のスクレイピーの限られた解析結果とは異なり、山羊における流行減少傾向の証拠はなく、キプロスのデータは全体像を覆しえます。EU にて進行中のサーベイランスの詳細な統計データは http://ec.europa.eu/food/food/biosafety/bse/monitoring_en.htm で参照できます。

- スクレイピー感染の感受性を決定する上で山羊の PrP 遺伝子が果たす役割に関する研究は、緬羊と比べはるかに少ないものです。一時はすべての山羊が高い感受性を持つと考えられましたが、近年の文献で、英国の山羊の PrP 遺伝子は予想より多様性に富むことが報告されました⁽³⁶⁾。遺伝子型とスクレイピー臨床症状の発現頻度との関係について、いくつかの仮説が立てられています。さらに研究が行われれば、遺伝子多型とスクレイピー感染の感受性とが明確に関係づけられるかもしれません⁽¹²⁾。BSE 感染の感受性に遺伝子型が及ぼす影響に関するデータはほとんどありません。

フランスの山羊では BSE は確認されたのでしょうか？

- はい⁽²⁵⁾。2002 年に小型反芻動物のスクレイピーを対象としたサーベイランス検査に陽性となった山羊で、その後、後述する識別方法の一つを用いた検査が行われました。ウェスタンブロット法と ELISA 法の結果は BSE に類似していましたが、このときはまだこれらの検査法が識別法として十分に評価される前でした。由来した群は 2002 年に殺処分されました。
- 一方、マウスに試料を接種したバイオアッセイ試験の結果について、欧州委員会 (European Commission) を代表して EU の公衆衛生研究所の遺伝子分類専門家グループ (Expert Group on Strains) が 2004 年末に評価しました。
- このときの脳組織は固定液による保存ではなく凍結保存されていたため、ウェスタンブロット法、ELISA 法ならびに免疫組織化学法の結果を完全に一致させるのは無理でした。そのため、結果の解釈には分子学的検査の結果とともに生物学的データの分析が極めて重要でした。これらの試験は山羊の BSE 感染の検出に適すると判断されました。

フランスの山羊で BSE が確認されたことにはどのような意義がありますか？

- 1 頭の感染山羊を発見したこと、もしくは 1 頭の感染羊であってもですが、それが深刻な懸念材料になるわけではありません。この発現以前、ヨーロッパ各国の規制当局が始めた予防的措置では BSE への曝露や感染の可能性を予測してはいましたが、実際に BSE 感染が確認されるまで厳格な措置には至っていませんでした。対応の規模を決定する重要な因子は BSE 感染が確認された緬羊と山羊の頭数です。この発見でサーベイランスプログラムは拡大されましたが、それ以降、山羊の BSE 症例は確認されていません。
- このように、山羊で BSE が確認されたことは、単に、ヨーロッパの小型反芻動物 (緬羊と山羊) 群が BSE に曝露し、また潜在的に感染したことを裏付けるものです。ただし、感染リスクは国によって異なるでしょう。牛の BSE 発生率が高く、また相当数の山羊が潜在的 BSE 汚染飼料を摂取している地域では、そのリスクは高くなると言えます。
- ヨーロッパで実施中のサーベイランスプログラムでは、これまでのところ、BSE が関連すると思われる小型反芻動物におけるスクレイピー様疾患の大量発生は報告されていません。また、牛の BSE の発生がもっとも多く、曝露のリスクがもっとも高い英国で実施した緬羊の BSE 調査でも、緬羊や山羊の BSE 様疾患への感染は確認されませんでした^(39, 51, 52, 62)。
- したがって、いずれの国においても、過去に牛の BSE がもたらしたような規模の公衆衛生上のリスクを、緬羊もしくは山羊群がもたらすことはほとんどあり得ないと考えられます。感染群の潜在的な数は少ないことが予想されます (「英国の試験結果の解釈」参照)。さらに、SRM をフードチェーンから予防的に除去することにより、消費される可能性のある感染性物質の量は減るでしょう。

- 小型反芻動物における SRM リストは、この BSE 感染山羊の発見後も変更されてはいません。リスク評価には初め山羊のスクレイピーに関する歴史的研究が大きな役割を担っていましたが^(41, 42, 43, 57, 58, 59)、現在は進行中の緬羊の BSE に関する試験で得られるデータも考慮に入れて評価されています。
- 欧州委員会ならびに欧州食品基準局 (European Food Standards Authority) は、感染率をより正確に測定するため対象とする山羊の頭数を増やすよう、サーベイランスの実施方法の変更を勧告し、実施しました。ところが、それ以上の症例は発見されなかったため、サーベイランスの対象は再び縮小されました。
- 言うまでもありませんが、BSE またはスクレイピーと診断された動物のと体 (牛、緬羊もしくは山羊) はすべて処分され、フードチェーンに混入しないよう取り扱われていることを忘れてはなりません。

英国の山羊では BSE は発見されていますか？

- いいえ。英国規制当局は、スクレイピー様疾患で 1990 年に死亡した 1 頭の山羊が BSE に感染していた可能性を発表しました。
- フランスの山羊での発見から、獣医学研究所の研究者たちは後述する緬羊の識別検査の一つ (免疫組織化学法) が山羊でも等しく機能することを確認しようとしました。彼らは実験的に BSE もしくはスクレイピーに感染させた山羊の脳を調べ、それを過去に提供された山羊のスクレイピーの自然発生例と比較しました。免疫組織化学法を用いたところ、ある一つの脳は山羊の BSE と識別不能と思われました。しかし、下に示す通り、この方法だけでは BSE の存在を確認するのに不十分です。
- 山羊の脳のバイオアッセイ試験をも視野にいたれた詳細な検査については 2008 年末でも決定的ではなく、上記の結果の考察を確かなものにするためには二次継代による検査が必要です。(注：二次継代の方法については後述されています。)

緬羊の BSE の調査

プリオン株同定の問題

- 微生物間の近縁関係を調べるために多くの精密な比較法が確立しています。これらの方法は微生物の核酸 (DNA や RNA) の存在を調べたり、蛋白質 (抗原) の存在を検出したりするもので、これらの分析法は時間とともにますます洗練され正確になってきました。
- 残念ながら、プリオンは核酸を必要とせず、含んでもいません。プリオンは宿主が産生する蛋白質からできています。正常動物と感染動物の唯一の違いは、感染動物ではその蛋白質が異常な形状に折りたたまれていることです。このため、身体がそれを排除できず、最終的に疾病を発症します。
- このことは、プリオンを特徴づけるために利用する抗体を宿主が産生しないことを意味します。なお、定期診断検査で感染の有無を確認する時点ではまだプリオン株の区別はできません。

緬羊でスクレイピーと BSE を識別することは可能ですか？

- BSE 流行の過程で、BSE の特性を明らかにしスクレイピーと比較するための最初の研究が実施され、プリオン株の特徴づけに生物学的方法が使用されました。すなわち、近交系マウスへの接種、接種したマウスにおける潜伏期間 (接種から死亡または臨床疾患の発現までの時間) の測定、および脳に生じた障害パターンの検査 (病変のプロファイリング) が行われました^(13, 14)。
- この手法には時間がかかります。5 年以上かかるかもしれません。最終的に、スクレイピー分離株はそれぞれ、その株の特徴と考えられる一貫した潜伏期間と病

変プロファイルをマウスで示します。これには通常、後世代のマウスに接種する感染マウス由来の脳組織が必要です（二次継代）。

- 同じ手法で BSE の検査を行ったとき、今度は、BSE に特徴的であって他の株では見られない潜伏期間と病変プロファイルが示されました。加えて、BSE は一次接種の段階（牛からマウスへ移した段階）でスクレイピーとは識別可能でした。とは言っても、この方法でもやはり 2~3 年かかるため、家畜の定期スクリーニング検査には理想的ではありません。また、高額のコストもかかります。
- しかしながら、さまざまな分子学的検査法が研究手段として開発されており、BSE とスクレイピーの識別にいくらか有効であることが示されました^(5, 6, 37, 38, 40, 47, 49, 50, 53, 54, 56, 61, 63, 64)。これらは、サーベイランスを目的とした牛と綿羊の定期検査で使用されている方法に基づいており、より数多くの試料をより迅速に検査できるうえ、必要な動物実験数を減らすことを可能にしました。

識別検査とは何ですか？

- 本文書において、識別検査とは綿羊の BSE とスクレイピーを識別する分子学的検査を言います。将来的にはプリオンのそれぞれの株を識別することが可能となるかもしれませんが、現在はまだ不可能です。

識別検査はどのくらい時間がかかりますか？

- 識別検査にかかる時間は基本的に数日のみです。ヨーロッパでは、各国の基準試験所（National Reference Laboratory）がウェスタンブロット法を用いた識別検査の第 1 段階を行います。もし試料がある特定の形で正常から外れるようであれば、さらに厳しい検査を行うことになります。
- その後、EU 公衆衛生研究所である獣医学研究所が、専門家グループとともに、すでに確立している方法を用いた追加試験を調整します。結果は専門家たちによって解釈され、発生国の規制当局に報告されます。
- 試料を試験所から試験所へ送る必要があるため、評価の実施が多少遅延することは避けられませんが、結果はバイオアッセイによる解析よりずっと迅速に入手できます。このような評価の機会 EU 全体で毎年 5 回程度生じます。BSE と判断されたものはこれまでにありません。

分子学的検査法はどのように評価されますか？

- 牛と綿羊の定期検査に用いられる検査法は他の感染症に一般的に使用される検査法に基づいており、ELISA 法またはウェスタンブロット法が使われます。BSE やスクレイピーの検査では、多くの場合プリオン蛋白質を酵素でいくらか分解します。BSE とスクレイピーでは酵素分解率が異なり、プリオン蛋白質の一部が残ります。プリオン蛋白質を検出するために使われる抗体はほとんどがその残った部分に結合します。このように、プリオン蛋白質に対する抗体結合能の差が、BSE とスクレイピーのどちらのプリオン蛋白質が存在するのかを示す指標となるというわけです。
- この検査法による、自然発生スクレイピーおよび特徴の明らかな羊スクレイピー分離株と自然感染牛もしくは実験的感染羊の BSE との比較をもとに、予備データが公表されました^(38, 40, 53, 61)。
- 例えば、ウェスタンブロット法では、酵素分解されたプリオンから通常 3 本のバンドが検出されます（下図参照）。このうち、低位置のバンドの分子量が BSE とスクレイピーで異なっています（BSE の方が低い）。BSE もスクレイピーも定期検査で検出されますが、BSE は検出せずスクレイピーを検出する第 2 抗体の導入により、綿羊の試料を検査する際にこの二者を識別できるようになりました^(56, 60, 63)。

- 他の研究所においても、ウェスタンブロット法を用いた同様の手法が開発され、手法の妥当性が確認されました。ELISA 法も同様の原理のため支持されています。その原理とはすなわち、プロテイナーゼによる分解に対する BSE とスクレイピーの感受性の違いや、分解後に残る分子からの異なる標識の検出に依存するということです⁽³⁸⁾。
- 2002 年 4 月、科学運営委員会 (Scientific Steering Committee) は欧州委員会に、分子学的検査法の評価およびサーベイランスプログラムへの導入に関する勧告を出しました⁽²⁰⁾。勧告の中で、科学運営委員会は、検査に識別力があると主張する場合、その検査をリング・トライアル (ring trial) で比較すべきであると述べています。リング・トライアルでは、脳組織試料を複数の測定者に提供し、すべての試料を並行して盲検的に検査します。つまり、試験所には試料がスクレイピー由来か BSE 感染動物由来かを知らせないということです。病原体を正確に同定できる検査法を 1 つ以上明らかにすることにより、それらを今後、野生分離株の評価に利用することができます。
- そうしたリング・トライアルは 2003 年と 2004 年に獣医学研究所 (EU 公衆衛生研究所に指定) の管理のもと実施されました。牛 BSE および羊 BSE の試料 (羊 BSE は実験的に牛 BSE を感染させた緬羊の脳)、ならびに羊スクレイピーが検査されました。牛 BSE と羊スクレイピーは自然感染動物由来の試料でした。
- このときウェスタンブロット法 3 種、ELISA 法 1 種、免疫組織化学法 1 種が比較され、比較的限定された種類の試料について、すべての方法で完全に一致する結果が得られました。リング・トライアル結果の詳細は近く公表される予定です。その他の方法も現在評価中です。データの評価を行った専門家グループは、ウェスタンブロット法、ELISA 法、免疫組織化学法の結果の一致がみられない限りは、緬羊の BSE を分子学的検査法のみに基づいて診断すべきではないと勧告しました。
- 免疫組織化学法は、確定検査にすでに使用されている方法の変法で、脳組織の固定 (保存) 切片上のプリオン蛋白質を標的として様々な抗体を用います^(22, 49, 50, 64)。この方法も、細胞中のプリオン蛋白質の切断点の違いを検出することで、緬羊が BSE とスクレイピーのどちらに感染しているかを示すため、ウェスタンブロット法に類似しているといえます。
- これらの方法は 2005 年にヨーロッパにおいて緬羊のサーベイランスプログラムに導入されました。これらの検査でわずかに異常を示し、かつ「非定型スクレイピー」に分類されない分離株はすべて、BSE 検出のための追加検査が必要です⁽¹⁾。
- これらのサーベイランス手段がどのようにスクレイピー、BSE、「非定型」スクレイピーの識別に利用されているかについての詳細は、「小型反芻動物における非定型 TSE 症例の分類」に関する EFSA の見解⁽²²⁾に記載されています。

識別検査はどのくらい正確ですか？

- 現時点では、識別検査で常に緬羊の BSE が検出できると自信をもって断言するにはまだ早過ぎます。ほんの少数の緬羊での実験的な感染が、限定した遺伝子型 (経口投与では ARQ/ARQ および AHQ/AHQ、注射接種では ARQ/ARQ; VRQ/VRQ; VRQ/ARQ; ARR/ARR; AHQ/AHQ; ARQ/AHQ) において確立されただけです。ただし、これまでのところ、BSE は全く同一の反応を示しており、またすべての実験で BSE として認識できています^(2, 8, 9, 16, 22, 49, 54, 56, 61, 62, 63, 64)。
- とは言っても、BSE が緬羊間で自然に伝播する能力があるとしたら、BSE は理論的には変化する可能性があることを、認識しておかなければいけません。数世代後、BSE はもう BSE として認識できないかもしれません^(4, 15, 60)。耐性を持つ緬羊の脾臓に直接接種を行った試験では、BSE というよりスクレイピーを強く示唆

する結果が出ました^(10,60)。このことは、サーベイランスの結果を解釈する際には注意する必要があることを示唆しています。すなわち、BSE が検出されないからといって、検査した綿羊群には BSE が全く存在しないという解釈はできないのです⁽²³⁾。

- このため、綿羊間の伝播に起因して実際にそのような変化が起こるかどうかを検討する試験が進行中です。試験は、ある経口感染羊に由来する BSE を別の綿羊に経口感染させる方法によって行われています。そのような伝播が実際に起こる場合に可能性のある自然の曝露経路を再現することが目的です。

これまでに何頭の綿羊で識別検査が行われていますか？

- 英国では、2001 年 11 月以降に報告されたすべてのスクレイピーに罹患した綿羊が、獣医学研究所で開発されたウェスタンブロット法を用いて検査されています。この検査が始まって以来、1998 年 1 月以降に採取された試料についても可能なものは回収され、同じ手法の検査が行われています。
- また、あいまいな結果について解決する必要がある場合、試料によっては免疫組織化学法による検査も行われました。
- 予備分析はプロスペクティブ（前向き）試験とレトロスペクティブ（後ろ向き）試験のデータを合わせて行われ、計 2367 個の陽性羊由来試料が対象でした。計 2316 個の試料はウェスタンブロット法による検査に陽性で、最初の再検査の結果は明確でした。綿羊の BSE 診断に適合すると考えられる綿羊はいませんでした（最新情報は以下参照）。

英国における検査結果の解釈

- これまでの結果について最初の分析結果が、現在公表されています⁽⁶²⁾。原産農場を追跡できた 2147 頭の綿羊において BSE が疑われる結果はみられず、陽性と診断された綿羊のうち BSE が原因と推測されたのは 0.14%に過ぎませんでした。
- 残念なことに、この結果は臨床発生を疑って規制当局に報告された症例に由来しています。そうした報告を行った農家は比較的少数派であろうと考えられるため、必然的に、検査を行ったサンプル集団は無作為に選択されたものではないこととなります。そのため、結果の解釈には、複合的な分析が必要でした。さらに、検査症例頭数のみに焦点を絞るかわりに、算出基準として群の数を用いることもできました。この場合には、綿羊で行われた診断の最大 0.66%が BSE によるものであったと推測されました。
- これらの結果および 2002～2003 年の英国のサーベイランスプログラムの結果を考慮に入れ、研究者たちは、毎年約 800 頭の BSE 感染羊が英国の 19～20 の綿羊群で存在すると推測しました。また、そのうち約半数は成羊で、残りは子羊であるとしています。
- この方法は EU 法に準拠しており、英国のサーベイランスで継続して使用されています。2006 年 10 月には、スクレイピー陽性かつ BSE 陰性の綿羊は計 2839 頭に達しています。未公表の計算結果では、英国における BSE 感染群の数はおそらく 0 で、その 95%信頼区間の上限は 17 綿羊群とのことです。2008 年 12 月末には、検査陽性羊は計 3057 頭に達していますが、これは感染群の予測数にはほとんど影響しないでしょう。
- 他の疫学的研究では、BSE 感染羊の頭数と感染群数を予測すること、また感染の程度を判断するのは難しいと強調しています^(39, 51, 52)。

小型反芻動物の BSE には過去に見過ごしや誤診断があった可能性がありますか？

- はい。今となっては、現在の検査法を使って、過去に綿羊の BSE を診断することはできたはずだと考えてしまいます。しかしながら、多くの感染羊がスクレイピー

一と非常に類似した臨床徴候を示したと推測され、また、BSE が感染する脳の部位は、スクレイピーの典型例における脳の感染部位と同じです。そのため、その当時の検査法では、それらはスクレイピー感染羊として扱われるほかなかったでしょう。

- さらに、現在のサーベイランスプログラムがいかに優秀であっても完璧ではなく、すべての感染羊を検出することはできないということを覚えておくことが重要です。歴史的サーベイランスは臨床徴候を示した綿羊の報告のみに完全に頼ることになるので、有効性に欠けるでしょう。したがって、このようなサーベイランスでは一部の感染羊のみを検出することになるわけです。

非定型スクレイピー症例は BSE 感染を表すのですか？

- ヨーロッパにおける迅速検査を用いたスクレイピーのサーベイランス中に、従来の診断法では確認が困難であるが、一つの検査法で陽性結果を示した綿羊が同定されたことが分かりました。こうした例は「非定型」または「未確認」スクレイピーとして一般に知られるようになりました。（「非定型スクレイピー」と「非定型 BSE」に関する TAFS ポジションペーパーを参照。）
- それらの綿羊はいずれも綿羊の BSE とは似ていません。実験的感染羊の BSE は分子学的検査法によってよく特徴づけられ、上述の識別検査に用いられています。今のところ、その方法により綿羊の BSE との類似性が確認された非定型スクレイピーはありません。また、感染性確認のために試料のいくつかを実験用マウスに接種した試験でも、結果はやはり綿羊の BSE とは大きく異なっていました。
- さらに、非定型もしくは未確認スクレイピーは、BSE の経口感染に耐性を持つことがすでに分かっている遺伝子型の綿羊で発現します。

それでは、非定型スクレイピーとはどんな症例ですか？

- 「非定型スクレイピー」に関する説明は、「非定型スクレイピーと非定型 BSE に関する TAFS ポジションペーパー」を参照してください。

BSE 以外のプリオンもヒトの健康リスクに相当しますか？

- BSE 以外の小型反芻動物に見られるプリオンも人間の健康リスクから完全に排除することはできません。それらの疾病がリスクに相当するという想定の下で予防規制を実行すべきだと論じる科学者がいる一方で、EFSA の生物災害パネルによって示された見解はそのような規制行動の礎となるものを提案していません。
- 限られた証拠しかないため、人間のプリオン病と小型反芻動物のプリオン病との間の明確な関係が見当たらない一方で、世界での人間のプリオン病の発生分布と小型反芻動物のそれとは一致していません。さらに、200 年以上もスクレイピーが知られていた国や、スクレイピーに感染していた綿羊を普通に消費していた国ですら、そのような明確な関係がないという歴史的な証拠があります。
- 継続的な研究の結果は当然ながら知識を広めますが、リスク評価方法を変えうるには十分な明確さにはしばしば欠けています。遺伝子組換えげっ歯類動物での研究、遺伝子組換えを伴う分子学的実験方法から生ずる結果を人に当てはめることには疑問があります。
- 特に予防的手段をより切迫されているフランスに促された EFSA は、この問題について二つの意見を公表しています。全ての歴史的証拠や、最近の科学的結果ばかりではなく科学運営委員会による解釈（ここには低い感染率、暴露率の低さ、人間と小型反芻動物との間の種の壁を同時に考慮する課題ではありますが）をもある程度踏まえた EFSA の立場では、最終的には BSE 以外のプリオン病は人間の

健康へのリスクに相当すると言いきれておりません。BSE は唯一の人獣共通感染症として未だ認識されております。

引用文献および関連資料

1. Acutis, P-L., Martucci, F., Mazza, M., Nodari, S., Maurella, C., Ru, G., Casalone, C., Caramelli, M. (2006). Molecular typing of transmissible spongiform encephalopathy from Italian disease outbreaks in small ruminants. *Vet. Rec.* **159**. 746-747.
2. Andréoletti, O., Morel, N., Lacroux, C., Rouillon, V., Barc, C., Tabouret, G., Sarradin, P., Berthon, P., Bernardet, P., Mathey, J., Lugan, S., Costes, P., Corbière, F., Espinosa, J-C., Torres, J-M., Grassi, G., Schelcher, F., Lantier, F. (2006). Bovine spongiform encephalopathy agent in spleen from an ARR/ARR orally exposed sheep. *J Gen Virol.* **87**. 1043-1046.
3. Andréoletti, O., Simon, S., Lacroux, C., Morel, N., Tabouret, G., Chabert, A., Lugan, S., Corbière, F., Ferré, P., Foucreas, G., Laude, H., Eychenne, F., Grassi, J. and Schelcher, F. (2004) PrP^{Sc} accumulation in myocytes from sheep incubating natural scrapie. *Nat. Med.* **10**. 591-593.
4. Asante, E.A., Linehan, J.M., Desbruslais, M., Joiner, S., Gowland, I., Wood, A.L., Welch, J., Hill, A.F., Lloyd, S.E., Wadsworth, J.D.F. and Collinge, J. (2002). BSE prions propagate as either variant CJD-like or sporadic CJD-like prion strains in transgenic mice expressing human prion protein. *The EMBO J.* **21**. 6358-6366.
5. Baron, T.G.M., Madec, J.Y., Calavas, D., Richard, Y. & Barillet, F. (2000) Comparison of French natural scrapie isolates with bovine spongiform encephalopathy and experimental scrapie infected sheep. *Neuroscience Letters.* **284**. 175-178.
6. Baron, T.G.M. & Biacabe, A.G. (2001). Molecular analysis of the abnormal prion protein during coinfection of mice by bovine spongiform encephalopathy and a scrapie agent. *J Virol.* **75**. 107-114.
7. Baylis, M & Goldmann, W. (2004). The genetics of scrapie in sheep and goats. *Current Mol Med.* **4**, 385-396.
8. Bellworthy, S.J., Dexter, G., Stack, M., Chaplin, M., Hawkins, S.A.C., Simmons, M.M., Jeffrey, M., Martin, S., González, L and Hill, P. (2005). Natural transmission of BSE between sheep within an experimental flock. *Vet Rec.* **157**. 206.
9. Bellworthy, S.J., Hawkins, S.A.C., Green, R.B., Blamire, I., Dexter, G., Dexter, I., Lockey, R., Jeffrey, M., Ryder, S., Berthelin-Baker, C. & Simmons, M.M. (2005) Tissue distribution of bovine spongiform encephalopathy infectivity in sheep following oral challenge – preliminary results. *Vet Rec.* **156**. 197-202.
10. Bencsik, A. and Baron, T. (2007). Bovine spongiform encephalopathy in a prion protein(PrP) ARR/ARR genotype sheep after peripheral challenge: Complete immunohistochemical analysis of disease-associated PrP and transmission studies to ovine-transgenic mice. *J. Inf. Dis.* **195**. 989-996.
11. Benestad, S. L., Arsaç, J. N., Goldmann, W. & Nöremark, M. (2008). Atypical-Nor98 Scrapie: properties of the agent, genetics, and epidemiology. *Vet. Res.* **39**:19. Epub ahead Jan 2008.
<http://www.vetres.org/index.php?option=article&access=standard&Itemid=129&url=/articles/vetres/pdf/2008/04/v08025.pdf>

12. Billinis, C, Panagiotidis, C., Psychas, V., Aryroudis, S., Nicolau, A., Leontidis, S., Papadopoulos, O & Sklaviadis, T. (2002). Prion protein gene polymorphisms in natural goat scrapie. *J Gen Virol.* **83**, 713-721.
13. Bruce, M.E., Boyle, A., Cousens, S., McConnell, I., Foster, J., Goldman, W. & Fraser, H. (2002). Strain characterization of natural sheep scrapie and comparison with BSE. *J Gen Virol.* **83**, 695-704.
14. Bruce, M.E., Chree, A., McConnell, I., Foster, J., Pearson, G. & Fraser, H. (1994). Transmission of bovine spongiform encephalopathy and scrapie to mice: strain variation and the species barrier. *Phil Trans R Soc Lond B.* **343**. 405-411.
15. Capobianco, R., Casalone, C., Suardi, S., Mangieri, M., Miccolo, C., Lumido, L., Catania, M., Rossi, G., Di Fede, G., Giaccone, G., Bruzzone, M.G., Minati, L., Corona, C., Acutis, P., Gelmetti, D., Lombardi, G., Groschup, M.H., Buschmann, A., Zanusso, G., Monaco, S., Caramelli, M. and Tagliavini, F. (2007). Conversion of the BASE Prion Strain into the BSE strain: The Origin of BSE?. *PLoS Pathogens.* **3**, Issue 3, e31. 1-8.
16. Cordier, C., Bencsick, A., Phillippe, S., Betemps, D., Ronzon, F., Calavas, D., Croset, C. and Baron, T. (2006) Transmission and characterization of bovine spongiform encephalopathy sources in two ovine transgenic mouse lines (TgOvPrP4 and TgOvPrP59). *J. Gen. Virol.* **87**. 3763-3771.
17. Del Rio Vilas, V.J., Böhning, D. & Kuhnert, R. (2008). A comparison of the active surveillance of scrapie in the European Union. *Vet. Res.* **39**:37.
18. E.C. (European Commission) 2001a. Opinion on pre-emptive risk assessment should BSE in small ruminants be found under domestic conditions (adopted by the Scientific Steering Committee at its meeting of 8-9 February 2001). Available at: http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/outcome_en.html
19. E.C. (European Commission) 2001b. Opinion on the safety of small ruminant products should BSE in small ruminants become probable/confirmed (adopted by the Scientific Steering Committee at its meeting of 18-19 October 2001). Available at: http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/outcome_en.html
20. E.C. (European Commission) 2002a. Suggested strategy to investigate the presence of BSE in small ruminants (Adopted by the Scientific Steering Committee at its meeting of 4-5 April 2002). Available at: http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/outcome_en.html
21. E.C. (European Commission) 2002b. Update of the opinion on TSE infectivity distribution in ruminant tissues (Initially adopted by the Scientific Steering Committee at its meeting of 10-11 January 2002 and amended at its meeting of 7-8 November 2002) following the submission of (1) a risk assessment by the German Federal Ministry of Consumer Protection, Food and Agriculture and (2) new scientific evidence regarding BSE infectivity distribution in tonsils. Available at: http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/outcome_en.html
22. EFSA (2005) Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on classification of atypical Transmissible Spongiform Encephalopathy (TSE) in Small Ruminants. 26 October 2005. *The EFSA Journal.* **276**. 1-30. Available at:- http://www.efsa.eu.int/science/biohaz/biohaz_opinions/catindex_en.html
23. EFSA (2007) Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on certain aspects related to the risk of Transmissible Spongiform Encephalopathies (TSEs) in ovine and caprine animals. 8 March 2007. *The EFSA Journal.* **466**. 1-10. Available at:- http://www.efsa.eu.int/science/biohaz/biohaz_opinions/catindex_en.html

24. EFSA (2008). Scientific and technical clarification in the interpretation and consideration of some facets of the conclusions of its Opinion of 8 March 2007 on certain aspects related to the risk of Transmissible Spongiform Encephalopathies (TSEs) in ovine and caprine animals. The EFSA Journal. **626**:1-11. Available at:-
http://www.efsa.eu.int/science/biohaz/biohaz_opinions/catindex_en.html
25. Eloit, M., Adjou, K., Culpier, M., Fontaine, J-J., Hamel, R., Lilin, T., Messiaen, S., Andreoletti, O., Baron, T., Bencsik, A., Biacabe, A-G., Beringue, V., Laude, H., Le Dur, A., Vilotte, J-L., Comoy, E., Deslys, J-P., Grassi, J., Simon, S., Lantier, J. And Sarradin, P. (2005). BSE agent signatures in a goat. *Vet. Rec.* **156**. 523-524.
26. Espinosa, J.C., Andréoletti, O., Castilla, J., Herva, M.E., Morales, M., Alamillo, E., San-Segundo, F.D., Lacroux, C., Lugan, S., Salguero, F.J., Langeveld, J. And Torres, J.M. (2007). Sheep-passaged bovine spongiform encephalopathy agent exhibits altered pathobiological properties in bovine-PrP transgenic mice. *J. Virol.* **81**. 835-843.
27. Dawson, M., Moore, R.C. & Bishop, S.C. (2008). Progress and limits of PrP gene selection policy. *Vet. Res.* **39**:25. Epub Jan 2008.
<http://www.vetres.org/index.php?option=article&access=standard&Itemid=129&url=/articles/vetres/pdf/2008/04/v08061.pdf>
28. Fediaevsky, A., Tongue, S.C., Nöremark, M., Calavas, D., Ru, G. & Hopp, P. (2008). A descriptive study of the prevalence of atypical and classical scrapie in sheep in 20 European countries. *BMC. Vet. Res.* **4**:19.
29. Foster, J. D., Godmann, W., McKenzie, C., Smith, A., Parnham, D.W. & Hunter, N. (2004). Maternal transmission studies of BSE in sheep. *J Gen Virol.* **85**, 3159-3163.
30. Foster, J. D., Hope, J. & Fraser, H. (1993). Transmission of bovine spongiform encephalopathy to sheep and goats. *Vet Rec.* **133**. 339-341.
31. Foster, J., McKelvey, W., Fraser, H., Chong, A., Ross, A., Parnham, D., Goldmann, W. & Hunter, N (1999). Experimentally induced bovine spongiform encephalopathy did not transmit via goat embryos. *J Gen Virol.* **80**. (Pt 2). 517-524.
32. Foster, J.D., Parnham, D., Chong, A., Goldmann, W. & Hunter, N. (2001). Clinical signs, histopathology and genetics of experimental transmission of BSE and natural scrapie to sheep and goats. *Vet Rec.* **148**. 165-171.
33. Foster, J., Parnham, D., Hunter, N. & Bruce, M. (2001). Distribution of the prion protein in sheep terminally affected with BSE following experimental oral transmission. *J Gen Virol.* **82**, 2319-2326.
34. Goldmann, W. (2008). PrP genetics in ruminant transmissible spongiform encephalopathies. *Vet. Res.* **39**:30. Epub Jan 2008.
<http://www.vetres.org/index.php?option=article&access=standard&Itemid=129&url=/articles/vetres/pdf/2008/04/v08009.pdf>
35. Goldman, W., Houston, F., Stewart, P., Perucchini, M., Foster, J. and Hunter, N. (2006). Ovine prion protein variant A¹³⁶R¹⁵⁴L¹⁶⁸Q¹⁷¹ increases resistance to experimental challenge with bovine spongiform encephalopathy. *J. Gen. Virol.* **87**. 3741-3745.
36. Goldmann, W., Perucchini, M., Smith, A & Hunter, N. (2004). Genetic variability of the PrP gene in a goat herd in the UK. *Vet Rec.* **155**, 177-178.

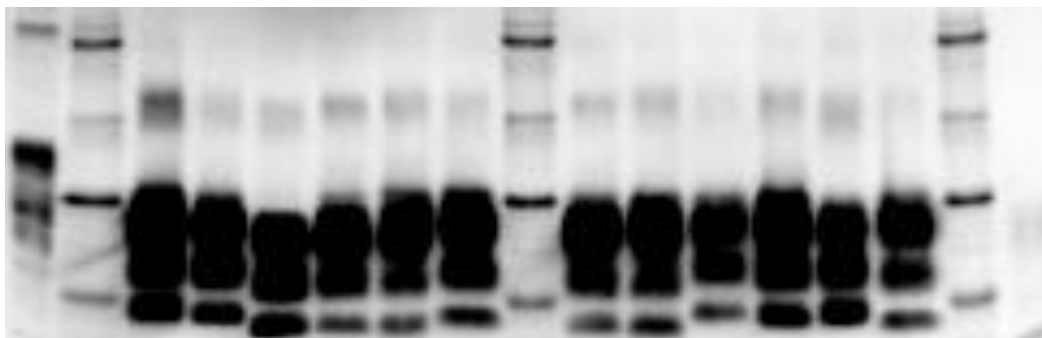
37. González, L., Martin, S. & Jeffrey, M. (2003). Distinct profiles of PrP^d immunoreactivity in the brain of scrapie- and BSE-infected sheep: implications on differential cell targeting and PrP processing. *J Gen Virol.* **84**, 1339-1350
38. Grassi J, Créminon C, Frobert Y, Frétier P, Turbica I, Rezaei H, Hunsmann G, Comoy E & Deslys JP (2000) Specific determination of the proteinase K-resistant form of the prion protein using two-site immunometric assays. Application to the post-mortem diagnosis of BSE. *Arch Virol*, [suppl]**16**: 197-205.
39. Gravenor, M.B., Cox, D.R., Hoinville, L.J., Hoek, A. and McLean. (2000) Scrapie in Britain during the BSE years. *Nature.* **406**. 584-585.
40. Groschup, M.H., Kuczuis, T., Junghans, F., Sweeney, T., Bodemer, W. & Buschmann, A. (2000). *Arch Virol. Supp.* **N16**. 217-226. Characterization of BSE and scrapie strains/isolates.
41. Hadlow, W.J. (1961). The pathology of experimental scrapie in the dairy goat. *Res Vet Sci.* **2**. 289.
42. Hadlow, W.J., Eklund, C.M., Kennedy, R.C., Jackson, T.A., Whitford, H.W. & Boyle, C.C. (1974). Course of experimental scrapie virus infection in the goat. *J Inf Dis.* **129**. 559-567.
43. Hadlow, W.J., Kennedy, R.C., Race, R.E. & Eklund, C.M. (1980). Virologic and histologic findings in dairy goats affected with natural scrapie. *Vet Path.* **17**. 187-199.
44. Houston, F & Gravenor, M B. (2003). Clinical signs in sheep experimentally infected with scrapie and BSE. *Vet Rec.* **152**. 333-334.
45. Houston, F., Goldmann, W., Chong, A., Jeffrey, M., González, L., Foster, J., Parnham, D. & Hunter, N. (2003). BSE in sheep bred for resistance to infection. *Nature*, **423**, 498
46. Hunter, N., Foster, J.D., Chong, A., McCutcheon, S., Parnham, D., Eaton, S., MacKenzie, C. & Houston, F. (2002). Transmission of prion diseases by blood transfusion. *J Gen Virol.* **83**, 2897-2905.
47. Jeffrey, M., Gonzalez, L., Chong, A., Foster, J., Goldmann, W., Hunter N. and Martin, S. (2006) Ovine infection with the agents of scrapie (CH1641 isolate) and bovine spongiform encephalopathy: immunochemical similarities are resolved by immunohistochemistry. *J. Comp. Path.* **134**. 17-29.
48. Jeffrey, M., Ryder, S., Martin, S., Hawkins, S.A.C., Terry, L., Berthelin-Baker, C. & Bellworthy, S.J. (2001). Oral inoculation of sheep with the agent of bovine spongiform encephalopathy (BSE). 1. Onset and distribution of disease-specific PrP accumulation in brain and viscera. *J Comp Path.* **124**. 280-289.
49. Jeffrey, M., Martin, S., González, L., Ryder, S.J., Bellworthy, S.J. & Jackman, R. (2001). Differential diagnosis of infections with the bovine spongiform encephalopathy (BSE) and scrapie agents in sheep. *J Comp Path.* **125**, 271-284
50. Jeffrey, M., Martin, S. & González, L. (2003). Cell-associated variants of disease-specific prion protein immunolabelling are found in different sources of sheep transmissible spongiform encephalopathy. *J Gen Virol.* **84**, 1033-1046
51. Kao, R.R., Houston, F., Baylis, M., Chihota, C.M., Goldmann, W., Gravenor, M.B., Hunter, N. and McLean, A.R. (2003). Epidemiological implications of the susceptibility to BSE of putatively resistant sheep. *J. Gen. Virol.* **84**. 3503-3512.

52. Kao, R.R., Gravenor, M.B., Baylis, M., Bostock, C.J., Chihota, C.M., Evans J.C., Goldmann, W., Smith, A.J.A. & McLean, A.R. (2002). The potential size and duration of an epidemic of bovine spongiform encephalopathy in British sheep. *Science*. **295**. 332-335.
53. Kuczius, T. & Groschup, M.H. (1999). Differences in proteinase resistance and neuronal deposition of abnormal prion proteins characterize bovine spongiform encephalopathy (BSE) and scrapie strains. *Mol Med*. **5**. 406-418.
54. Lezmi, S, Martin, S., Simon, S., Comoy, E., Bencsick, A., Deslys, J-P., Grassi, J., Jeffrey, M. and Baron, T. (2004) Comparative molecular analysis of the abnormal prion protein in field scrapie cases and experimental bovine spongiform encephalopathy in sheep by use of Western blotting and immunohistochemical methods. *J. Virol*. **78**. 3654-3662.
55. Lezmi, S, Ronzon, F., Bencsick, A., Bedin, A., Calavas, D., Richard, Y., Simon, S., Grassi, J. and Baron, T. (2006) PrPd accumulation in organs of ARQ/ARQ sheep experimentally infected with BSE by peripheral routes *Acta Biochim Pol* **53**. 399-405
56. Nonno, R., Esposito, E., Vaccari, G., Conte, M., Marcon, S., di Bari, M., Ligios, Ciriaco., di Guardo, G & Agrimi, U. (2003) Molecular analysis of cases of Italian sheep scrapie and comparison with cases of bovine spongiform encephalopathy (BSE) and experimental BSE in sheep. *J Clin Microbiol*. **41**, 4127-4133
57. Pattison, I.H. (1964). The spread of scrapie by contact between affected and healthy sheep, goats or mice. *Vet Rec*. **12**. 333.
58. Pattison, I. H., Hoare, M.N., Jebbett, J.N. & Watson, W.A. (1972). Spread of scrapie to sheep and goats by oral dosing with foetal membranes from scrapie-infected sheep. *Vet Rec*. **90**. 465-468.
59. Pattison, I.H. & Millson, G.C. (1962). Distribution of the scrapie agent in the tissues of experimentally inoculated goats. *J Comp Path*. **72**. 233-244.
60. Ronzon, F., Bencsik, A., Lezmi, S., Vulin, J., Kodjo, A., Baron, T. (2006). BSE inoculation to prion diseases-resistant sheep reveals tricky silent carriers. *Biochem Biophys Res Comm*. **350**. 872-877.
61. Stack, M.J., Chaplin, M.J., & Clark, J. (2002). Differentiation of prion protein glycoforms from naturally occurring sheep scrapie, sheep passaged scrapie strains (CH1641 and SSBP1), bovine spongiform encephalopathy (BSE) cases and Romney and Cheviot breed sheep experimentally inoculated with BSE using two monoclonal antibodies. *Acta Neuropath*. **104**, 279-286
62. Stack M, Jeffrey, M, Gubbins, S, Grimmer S, González L, Martin S, Chaplin M, Webb P, Simmons M, Spencer Y, Bellerby P, Hope J, Wilesmith J & Matthews D. (2006) Monitoring for bovine spongiform encephalopathy in sheep in Great Britain, 1998-2004. *J Gen Virol*. **87**, 2099-2107.
63. Thuring, C.M.A., Erkens, J.H.F., Jacobs, J.G., Bossers, A., van Keulen, L.J.M., Garssen, G.J., van Zijdevelde, F.G., Ryder, S.J., Groschup, M.H., Sweeney, T. & Langeveld, J.P.M. (2004) Discrimination between scrapie and bovine spongiform encephalopathy in sheep by molecular size, immunoreactivity, and glycoprofile of prion protein. *J Clin Microbiol*. **42**, 972-980.
64. Thurning, C.M.A., van Keulen, L.J.M., Langeveld, J.P.M., Vromans, M.E.W., van Zijdevelde, F.G. and Sweeney, T. (2005) Immunohistochemical differentiation of (pre)-clinical BSE and scrapie in sheep. *J.Comp.Path*. **132**. 59-69.

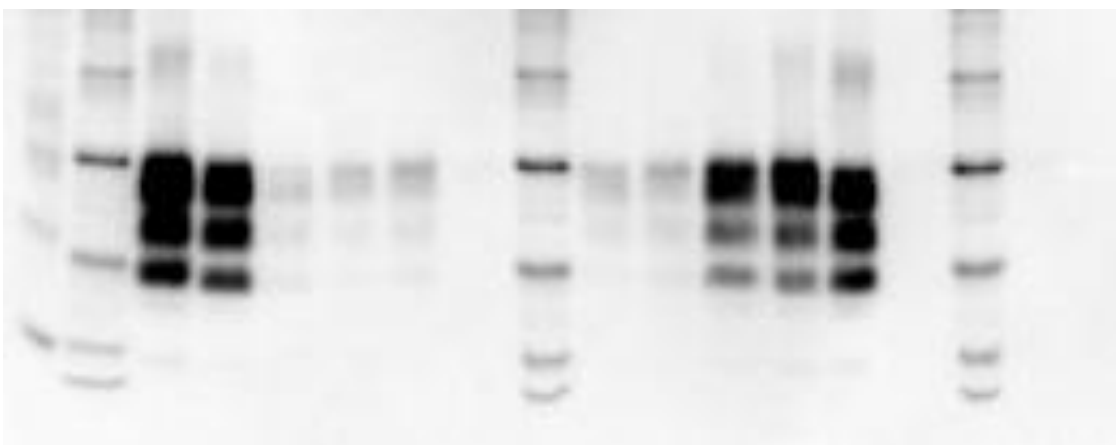
65. Van Keulen, L.J.M., Bossers, A. & van Zijderveld, F. (2008). TSE pathogenesis in cattle and sheep. *Vet. Res.* **39**:24.
<http://www.vetres.org/index.php?option=article&access=standard&Itemid=129&url=/articles/vetres/pdf/2008/04/v07233.pdf>

獣医学研究所（VLA）の BSE とスクレイピーの識別ウェスタンブロット

1 M 2 3 4 5 6 7 M 8 9 10 11 12 13 M 14



1 M 2 3 4 5 6 7 M 8 9 10 11 12 13 M 14



BSE（牛）：レーン 7、 13

緬羊の BSE：レーン 5、 6、 8、 9

スクレイピー：レーン 2、 3、 10、 11、 12

牛陰性対照：レーン 14

上の写真—モノクローナル抗体 **6H4** で染色したゲル。すべてのサンプルを検出します。

下の写真—モノクローナル抗体 **P4** で染色したゲル。スクレイピーは検出するが、**BSE** と羊の **BSE** は染色されないかわずかに染色されます。

レーン 4 の **CH1641** 株は実験的なスクレイピー株で、緬羊で維持されており、**BSE** の特徴をすべてではないがいくらか有します。抗体 **P4** でわずかに染色されます。

上のゲル上に示した水平の線は、スクレイピーの低位置にある染色バンドの分子量の指標です。**BSE** と緬羊の **BSE** については、スクレイピーより下に同じバンドがみられます。

写真およびデータは英国獣医学研究所（VLA）の M Stack 氏の提供による