

## —最新の家畜疾病情報 (XV)—

## 牛 海 綿 状 脳 症

岩丸祥史<sup>†</sup> (国研農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所  
インフルエンザ・プリオン病研究センター主任研究員)

## 1 はじめに

牛海綿状脳症 (Bovine Spongiform Encephalopathy : BSE) は、“BSE プリオン”の感染によって引き起こされる疾病で、伝達性海綿状脳症 (Transmissible Spongiform Encephalopathy : TSE) の一つである。病名は、病理組織学的に感染個体の脳の神経細胞や神経網に、微細な空胞変性が観察されることに由来する。わが国では、動物のTSEは家畜伝染病予防法において、牛、水牛、鹿、めん羊、山羊の法定伝染病に指定されている。他のTSEと同様に、BSEは発症までに数年を要し、罹患牛は進行性の神経症状を呈し死に至る。BSEは1986年に英国で初めて報告され、わが国では2001年に初発例が確認された。初発例摘発後に策定されたBSE対策 (飼料規制、食用に供する牛のBSEスクリーニング検査、死亡牛BSEサーベイランス) が有効に機能した結果、2009年1月の36例目を最後に国内での発生は確認されていない。過去11年間に生まれた牛にBSEが発生していなかったことなどから、2013年わが国は、OIE (国際獣疫事務局) から国際的なBSE安全性格付けの最上位である「無視できるBSEリスク」の国と認定された。

## 2 病因と症状

TSEの原因となる感染因子“プリオン”の主要構成成分は、宿主に発現する正常プリオン蛋白質が立体構造変換した異常プリオン蛋白質である。プリオンは核酸を持たず、蛋白質のみで構成された病原体であると考えられている。めん羊・山羊のTSEであるスクレイピーには、生物学的性状の異なる“株”が約20存在することが知られ、これは異常プリオン蛋白質の立体構造の違いに起因していると推察されている。BSEには英国から各国へと拡散した定型BSEと、2003年以降に発見された2種類の非定型BSE (H型、L型BSE) の3株が存在する。定型BSEプリオンは人のプリオン病である変異型クロイツフェルト・ヤコブ病 (vCJD) との関連性

が指摘され [1]、またL型BSEプリオンも人への感染リスクが懸念されていることから [2]、BSEは人獣共通感染症として公衆衛生上も重要である。

定型BSEの野外例では4～6歳での発生が多い。発症初期は行動の変化がみられ、中期以降に運動失調や知覚過敏が顕著となり興奮状態を呈し、末期には起立不能となる [3]。定型BSEは空気や接触及び排泄物を介して水平伝播することはなく、定型BSEの主要な感染経路は、定型BSEプリオンに汚染された飼料の給餌による経口感染である。

一方、非定型H型及びL型BSEは、主として8歳以上の高齢牛で摘発される。野外例での非定型BSEの臨床症状はほとんど不明である。非定型BSEを脳内接種した実験感染牛では、両型とも病気の進行に伴い運動失調を呈し沈うつとなるが、定型BSEと異なり興奮状態を示す個体の報告は少ない [4-7]。また、潜伏期は定型BSE実験感染牛が約23カ月であったのに対し、H型BSE実験感染牛で約19カ月、L型BSE実験感染牛で約16カ月と短く、非定型BSEは定型BSEと比較し牛に対して病原性が強いと考えられる。非定型BSEは高齢牛を中心として発生していることや、スイスにおける飼料規制後の非定型BSE摘発例 [8]、定型BSE発生のないブラジル、スウェーデン、ノルウェー、米国 (カナダからの輸入牛は除く) での非定型BSE発生の報告等から、非定型BSEは感染性ではなく老化に伴い孤発性に自然発生している可能性が示唆されている。

## 3 世界と日本におけるBSE発生状況

BSEは英国で1985年頃から発生していたと思われる、1986年に初めて報告された。BSEは英国全土に広まり、疫学調査の結果、感染原因として病原体に汚染された肉骨粉が示唆され、英国政府は1988年に肉骨粉の飼料規制を導入した。BSE発生頭数は、飼料規制導入4年後である1992年の37,280頭をピークに減少に転じた。一方欧州では、英国からの汚染飼料の輸出に伴い1990

<sup>†</sup> 連絡責任者：岩丸祥史 (国研農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所 インフルエンザ・プリオン病研究センター)  
〒305-0856 つくば市観音台3-1-5 ☎・FAX 029-838-8333 E-mail : gan@affrc.go.jp

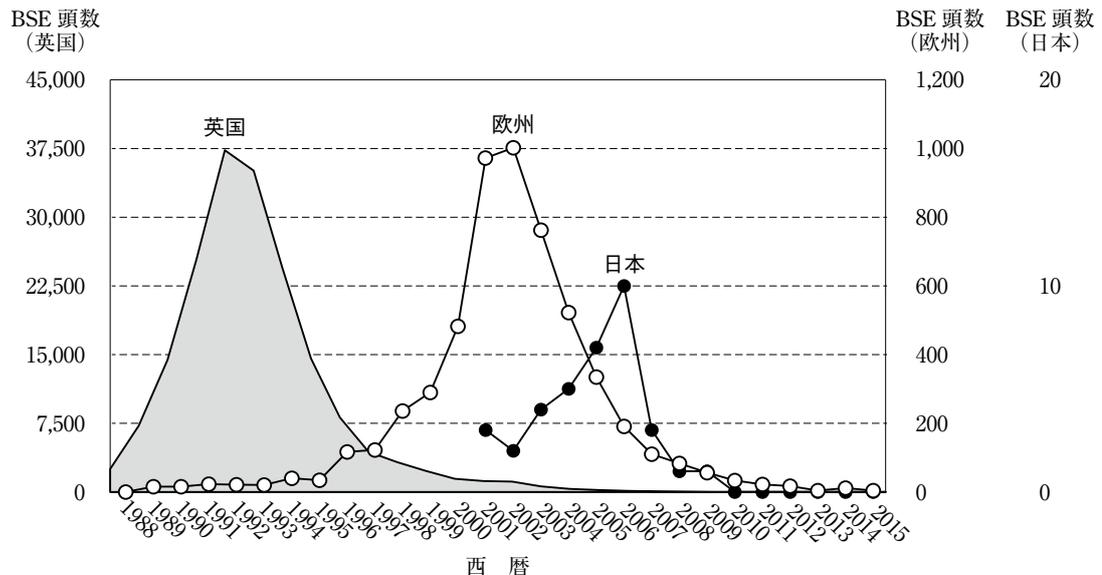


図 英国、欧州及び日本における BSE 年間発生頭数  
 面グラフは英国の BSE 発生頭数、○は欧州における BSE 発生頭数、  
 ●は日本における BSE 発生頭数を示す。

年以降スイスを皮切りに自国産の牛に BSE が発生するようになった。欧州以外では、日本、イスラエル、カナダ、米国、ブラジルなどで BSE が確認されている。飼料規制を中心とした BSE 対策が功を奏した結果、世界での BSE 発生例は 2002 年から減少を続け、2015 年の発生は 6 例にまで減じた (図)。この 6 例中の 3 例は前述した非定型 BSE であった。非定型 BSE は、2004 年にイタリアで最初に報告されたが [9]、その後日本も含め BSE サーベイランスを実施しているほとんどの国で発見されており [10]、2015 年までに世界で約 100 頭報告されている [11]。

わが国では 2001 年 9 月に BSE 初発例が確認された。その 1 カ月後から食用に供される牛の BSE 検査が開始され、2003 年 4 月からは 24 カ月齢以上の死亡牛の BSE 検査が開始された。わが国では、現在まで 36 頭の BSE が摘発された。2009 年以降わが国では BSE の発生はなく、また 2002 年 1 月以降に生まれた牛での BSE の発生はない。このことは、飼料規制を含む BSE 対策が有効に機能していることを示している。

#### 4 診 断

上述の臨床症状は BSE に特異的ではなく、他の疾病との類症鑑別が必要となる。また BSE に罹患した牛は、BSE プリオンに対し特異的な免疫反応を示さない。これは、BSE プリオンの主要構成要素である異常プリオン蛋白質 (PrP<sup>BSE</sup>) が正常プリオン蛋白質 (PrP) の構造異性体であり、一次構造が同じことから宿主が PrP<sup>BSE</sup> を非自己と認識できないためである。BSE の確定診断は、死亡個体の延髄門部を用いた、病理学的検査

と生化学的検査で行われる。病理学的検査では、空胞変性と抗 PrP 抗体を用いて PrP<sup>BSE</sup> 検出を行う。生化学的検査方法では、PrP<sup>BSE</sup> が正常 PrP と異なり蛋白質分解酵素に部分抵抗性を示すことを利用する。検体を蛋白質分解酵素処理し正常 PrP を分解した後、PrP<sup>BSE</sup> を抗 PrP 抗体により検出する。検出には固相酵素免疫測定法及びウエスタンブロット法が用いられる。

#### 5 新たなプリオン検出法

現行の診断法と異なる原理で、ごく微量のプリオンを検出可能な 2 種類の超高感度検出法が報告されている。蛋白質ミスフォールディング循環増幅 (PMCA) 法は、PrP<sup>BSE</sup> が存在する検体と牛正常 PrP (通常牛 PrP 発現遺伝子改変マウスの脳乳剤を使用する) を混合し、超音波処理と振とうによって正常 PrP から PrP<sup>BSE</sup> への構造変換を誘導し、蛋白質分解酵素処理後にウエスタンブロット法で増幅された PrP<sup>BSE</sup> の検出を行う。いまひとつは RT-QuIC (real-time quaking-induced conversion) 法で、PrP<sup>BSE</sup> が存在する検体と大腸菌で発現させた組み換えプリオン蛋白質を混合・振とうし、生成されたアミロイドをアミロイドと結合する蛍光指示薬で検出する。

両手法とも、検体中の PrP<sup>BSE</sup> を直接検出するのではなく、基質のプリオン蛋白質をそれぞれ PrP<sup>BSE</sup> あるいはアミロイドとして試験管内で増幅し、増幅産物を検出することで高感度化を達成している。PMCAでは定型・非定型 BSE の超高感度検出法が確立され [12, 13]、BSE 発症前の実験感染牛の唾液から PrP<sup>BSE</sup> を検出し、BSE 生前診断の可能性を報告した [14]。

## 6 お わ り に

わが国で BSE 初発例が確認されてから 14 年が経過した。vCJD の原因が BSE プリオンと考えられ、BSE は大きな社会問題となった。BSE の発生を契機に、わが国では食品安全基本法の制定など、食の安全・安心に関する新たな取り組みがなされた。BSE 発生後、短期間で「無視できる BSE リスク」国になったのは、わが国の BSE 対策が有効に機能した証しである。現在、定型 BSE の発生は終息したと考えられるが、非定型 BSE の存在やめん羊・山羊が定型 BSE のみならず非定型 L 型 BSE に感受性があることを考慮すると、非定型 BSE の性状が明らかになるまでは肉骨粉の飼料規制、適切な BSE サーベイランスとめん羊・山羊の TSE サーベイランスの継続が望まれる。

## 参 考 文 献

- [1] Bruce ME, Will RG, Ironside JW, McConnell I, Drummond D, Suttie A, McCardle L, Chree A, Hope J, Birkett C, Cousens S, Fraser H, Bostock CJ : Transmissions to mice indicate that 'new variant' CJD is caused by the BSE agent, *Nature*, 389, 498-501 (1997)
- [2] Kong Q, Zheng M, Casalone C, Qing L, Huang S, Chakraborty B, Wang P, Chen F, Cali I, Corona C, Martucci F, Iulini B, Acutis P, Wang L, Liang J, Wang M, Li X, Monaco S, Zanusso G, Zou W, Caramelli M, Gambetti P : Evaluation of the human transmission risk of an atypical bovine spongiform encephalopathy prion strain, *J Virol*, 82, 3697-3701 (2008)
- [3] Wilesmith JW, Hoinville LJ, Ryan JB, Sayers AR : Bovine spongiform encephalopathy: aspects of the clinical picture and analyses of possible changes 1986-1990, *Vet Rec*, 130, 197-201 (1992)
- [4] Lombardi G, Casalone C, D'Angelo A, Gelmetti D, Torcoli G, Barbieri I, Corona C, Fasoli E, Farinazzo A, Fiorini M, Gelati M, Iulini B, Tagliavini F, Ferrari S, Caramelli M, Monaco S, Capucci L, Zanusso G : Intraspecies transmission of BASE induces clinical dullness and amyotrophic changes, *PLoS Pathog*, 4, e1000075 (2008)
- [5] Fukuda S, Iwamaru Y, Imamura M, Masujin K, Shimizu Y, Matsuura Y, Shu Y, Kurachi M, Kasai K, Murayama Y, Onoe S, Hagiwara K, Sata T, Mohri S, Yokoyama T, Okada H : Intraspecies transmission of L-type-like Bovine Spongiform Encephalopathy detected in Japan, *Microbiol Immunol* 53, 704-707 (2009)
- [6] Okada H, Iwamaru Y, Imamura M, Masujin K, Matsuura Y, Shimizu Y, Kasai K, Mohri S, Yokoyama T, Czub S : Experimental H-type bovine spongiform encephalopathy characterized by plaques and glial- and stellate-type prion protein deposits, *Vet Res*, 42, 79 (2011)
- [7] Konold T, Bone GE, Clifford D, Chaplin MJ, Cawthraw S, Stack MJ, Simmons MM : Experimental H-type and L-type bovine spongiform encephalopathy in cattle: observation of two clinical syndromes and diagnostic challenges, *BMC Vet Res*, 8, 22 (2012)
- [8] Seuberlich T, Heim D, Zurbriggen A : Atypical transmissible spongiform encephalopathies in ruminants: a challenge for disease surveillance and control, *J Vet Diagn Invest*, 22, 823-842 (2010)
- [9] Casalone C, Zanusso G, Acutis P, Ferrari S, Capucci L, Tagliavini F, Monaco S, Caramelli M : Identification of a second bovine amyloidotic spongiform encephalopathy: molecular similarities with sporadic Creutzfeldt-Jakob disease, *Proc Natl Acad Sci U.S.A.*, 101, 3065-3070 (2004)
- [10] Ducrot C, Arnold M, de Koeijer A, Heim D, Calavas D : Review on the epidemiology and dynamics of BSE epidemics, *Vet Res*, 39, 15 (2008)
- [11] 福田茂夫 : 道総研畜産試験場における非定型 BSE に関する研究, *北獣会誌*, 59, 260-265 (2015)
- [12] Murayama Y, Yoshioka M, Masujin K, Okada H, Iwamaru Y, Imamura M, Matsuura Y, Fukuda S, Onoe S, Yokoyama T, Mohri S : Sulfated dextrans enhance in vitro amplification of bovine spongiform encephalopathy PrP (Sc) and enable ultrasensitive detection of bovine PrP (Sc), *PLoS One* 5 (2010)
- [13] Murayama Y, Ono F, Shimozaki N, Shibata H : l-Arginine ethylester enhances in vitro amplification of PrP (Sc) in macaques with atypical L-type bovine spongiform encephalopathy and enables presymptomatic detection of PrP (Sc) in the bodily fluids, *Biochem Biophys Res Commun*, 470, 563-568 (2016)
- [14] Okada H, Murayama Y, Shimozaki N, Yoshioka M, Masujin K, Imamura M, Iwamaru Y, Matsuura Y, Miyazawa K, Fukuda S, Yokoyama T, Mohri S : Prion in saliva of bovine spongiform encephalopathy-infected cattle, *Emerg Infect Dis*, 18, 2091-2092 (2012)