

1 Serology of "reference" sera (human, horse and rabbit)

	Lab1	Lab2	Lab3			Lab4	Lab5		Lab6			Lab7	
	IFA	IFA	ECLIA	WB p24	WB p40	rsELISA p40+GST	WB p24+GST	WB p40+GST	WB p10+GST	WB p24+GST	WB p40+GST	WB p24	WB p40
Human001	n.d.	n.sp	pos(p40)	neg	pos	neg	neg	pos	neg	neg	neg	neg	pos
Human005	n.d.	n.sp	neg	pos	neg	neg	neg	neg	(pos?)	(pos?)	(pos?)	neg	pos
Human006	n.d.	neg	pos(p24)	pos	neg	neg	pos	neg	neg	neg	neg	pos	neg
Human007	n.d.	neg	pos(p24)	pos	neg	neg	pos	neg	neg	neg	neg	neg	neg
Human008	n.d.	post: 20	pos(p24)	pos	neg	neg	pos	pos	neg	neg	neg	pos?	neg
Human005-2	n.d.	n.sp	neg	n.d.	n.d.	neg	n.d.	n.d.	neg	neg	neg	neg	pos
Human006-2	n.d.	neg	pos(p24)	n.d.	n.d.	neg	n.d.	n.d.	neg	neg	neg	pos	neg
Human023	post: 160	post: 40	neg	n.d.	n.d.	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg
Human030	n.d.	neg	pos(p24)	n.d.	n.d.	neg	pos	neg	neg	neg	neg	pos	pos
Human031	n.d.	post: 10	pos(p40)	n.d.	n.d.	neg	neg	neg	(pos?)	neg	(pos?)	neg	pos
Horse021	post: 160	post: 80	neg	n.d.	n.d.	neg	pos	neg	pos	pos	pos	(pos?)	pos
Horse022	post: 320	post: 160	pos(p24)	n.d.	n.d.	neg	pos	pos	pos	pos	pos	neg	pos
Rabbit1	n.d.	6400	pos(p24)	n.d.	n.d.	post: 1600	pos	neg	pos	pos	pos	pos	neg
Rabbit2	n.d.	6400	pos(p40)	n.d.	n.d.	post: >64000	neg	pos	pos	pos	pos	neg	pos

Human: Japan, Germany (023)

Horse: Germany

Rabbit: hyperimmune, Rab1; α p24, Rab2; α p40

2 BDV Serology of 200 blood samples of blood donors (human)

	Lab1		Lab2		Lab3				Lab4		Lab5		Lab6			Lab7	
	IFA		IFA		ECLIA p24	ECLIA p40	WB p24	WB p40	rsELISA p40+GST	WB p24+GST	WB p40+GST	WB p10+GST	WB p24+GST	WB p40+GST	WB p24	WB p40	
92	pos1:80		pos1:20		neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg
111	neg		neg		neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	pos	pos	pos	neg	neg	neg
119	neg		pos1:10		neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	pos	neg	neg	neg	neg	neg
126	pos1:40		pos1:40		neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	pos?	neg	neg
130	pos1:80		pos1:40		neg	neg	pos?	neg	neg	pos	neg	neg	pos	neg	pos	neg	neg
138	n.sp		n.sp		neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	pos	n.d.	n.d.	neg	neg	neg
151	neg		neg		neg	neg	neg	neg	pos1:20	neg	neg	n.d.	n.d.	n.d.	neg	neg	neg
169	neg		pos1:40		pos	neg	pos	neg	neg	pos	neg	neg	n.d.	n.d.	pos	neg	neg
187	neg		n.sp		neg	neg	neg	neg	neg	pos	neg	neg	n.d.	n.d.	neg	neg	neg
227	neg		n.sp		neg	neg	pos?	neg	neg	neg	neg	neg	n.d.	n.d.	neg	neg	neg
232	pos1:5		neg		neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	n.d.	n.d.	neg	neg	neg
247	pos1:80		pos1:40		neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	n.d.	n.d.	neg	neg	neg
254	n.sp		neg		pos	neg	pos?	neg	neg	neg	neg	neg	n.d.	n.d.	pos	neg	neg
256	neg		neg		neg	neg	neg	neg	neg	pos	neg	neg	n.d.	n.d.	neg	neg	neg
266	n.sp		n.d.		neg	neg	neg	neg	neg	pos	neg	neg	n.d.	n.d.	neg	neg	neg
281	neg		n.d.		neg	neg	pos?	neg	neg	neg	neg	neg	n.d.	n.d.	pos?	neg	neg
290	pos1:160		n.d.		neg	neg	pos?	neg	neg	pos	neg	neg	n.d.	n.d.	neg	neg	neg
306	neg		n.d.		neg	neg	pos?	neg	neg	neg	neg	neg	n.d.	n.d.	neg	neg	neg

Among 200 samples, the samples that were positive by at least one lab are shown here

第6回ボルナ病ウイルス研究会

平成11年度厚生省・新興再興感染症研究事業
ボルナ病ウイルス感染の実態に関する疫学的ウイルス学的
研究

平成12年2月15日(火)

13:00~17:00

国立感染症研究所 共用第一会議室

世話人:

国立感染症研究所ウイルス製剤部:	田代 真人
国立感染症研究所ウイルス第一部:	倉根 一郎
大阪大学微生物病研究所ウイルス免疫分野:	生田 和良
東京都精神医学総合研究所超微形態研究部門:	池田 和彦

プログラム

13:00 挨拶 田代 真人 (国立感染研・ウイルス製剤部)

座長： 倉根 一郎 (国立感染研・ウイルス一部)

13:05

1) ボルナ病ウイルス G 蛋白の培養細胞での発現

○大槻貴博、松山州徳 (国立精神神経センター、日大生物資源科学部)、
大内敦夫、岸 雅彦 (共立商事中央研)、田口文広 (国立精神神経センター)

13:25

2) 感染スナネズミ脳におけるボルナ病ウイルスの主要抗原の発現様式

○渡辺真紀子、神谷 亘、小林 剛 (阪大・微研)、谷山弘行 (酪農大・獣医病理)、
朝長啓造、生田和良 (阪大・微研)

13:45

3) ボルナ病ウイルス 0.8kb (X/P) mRNA の翻訳様式

○小林 剛、渡辺真紀子、朝長啓造、生田和良 (阪大・微研)

14:05

4) ボルナ病ウイルスの選択的遺伝子発現とその調節機構

○朝長啓造、小林 剛、渡辺真紀子、生田和良 (阪大・微研)

休憩

特別講演 14:30

Genetic diversity and pathogenic potential of Borna disease virus

Prof. Peter Staeheli (Department of Virology, University of Freiburg, Germany)

座長：生田 和良 (阪大・微研)

15:40

5) ヒト、動物におけるボルナ病ウイルスの血清疫学と今後の課題

○山口一成 (熊本大・医)、沢田高志、榎木 徹 (エーザイ筑波研)、井形るり子 (熊本市保健所)、堀井洋一郎 (宮崎大・農)

16:00

6) ネコ及びヒトにおける抗BDV p10抗体の検出

○大内敦夫、望月雅美、岸 雅彦 (共立商事・中央研究所)

16:20

7) 神経症状を呈するネコにおけるボルナ病ウイルス感染の診断と病態

○西野佳以、吉田倫子、田所真弓 (麻布大・生物研)、栗田吾郎 (栗田動物病院)、辻本元 (東大・獣医内科)、奥村正裕 (北大・獣医外科)、木村享史 (北大・獣医比較病理)、水谷哲也 (北大・獣医公衆衛生)

16:40

多施設・盲検研究

献血者血漿200検体を対象としたボルナ病ウイルス感染血清診断法の評価

○池田和彦、田代真人、西藤岳彦、生田和良、西野佳以、風祭 元、園田俊郎、山口一成、沢田高志、倉根一郎、田所憲治、光永滋樹、岸 雅彦、堀本泰介、ジビレ・ヘアツォーク (ギーセン大学・委託研究)

挨拶

加藤 四郎 (大阪大学名誉教授)

特別講演

Summary of guest lecture:

Genetic diversity and pathogenic potential of Borna disease virus

Dr. Peter Staeheli, Dept. Virology, University of Freiburg, Germany

Borna disease virus (BDV) is a neurotropic negative-strand RNA virus that can infect a large number of warm-blooded animals under experimental conditions. In horses, sheep and other natural hosts, it sporadically induces Borna disease (BD) which is a complex neurological syndrome accompanied by meningoencephalitis and behavioral disorder. BDV isolates from endemic regions in central Europe show little genetic variability (less than 5% at nucleotide level). We recently identified a new genotype of BDV (about 15% difference at nucleotide level) from a diseased horse in Eastern Austria where no BD cases had previously been noticed. This virus is difficult to detect with PCR primers frequently used for diagnostic work, indicating that certain variant forms of BDV might escape detection by standard assays.

Analysis of laboratory strains showed that several virus stocks which were believed to contain prototype strain He/80 contained a related but distinct virus which most likely overgrew the original strain during passage in rat brains. Since this previously uncharacterized laboratory strain is almost identical to a BDV isolate reported to originate from blood of a psychiatric patient, it seems likely that the human sample was contaminated in the laboratory. Other human BDV isolates are also strongly related to virus strains frequently used for experiments in the various laboratories reporting human BDV, questioning a human origin of all isolates known to date. By performing bottleneck experiments in which virus populations from single persistently infected cells were allowed to spread through cultures of uninfected cells, we were able to select a minor BDV variant. Such variants can usually not outgrow the resident parental virus in persistently infected cultures because infected cells are highly resistant to superinfection.

MRL mice are highly susceptible to BDV-induced neurological disease. CD8⁺ T cells from brains of diseased mice exhibit cytotoxic activity toward target cells expressing the BDV nucleoprotein. Infected MRL mice lacking CD8⁺ T cells do not develop neurological disorder, although BDV is abundantly present in their brains. MRL mice devoid of perforin develop disease after infection, indicating that brain pathology mediated by antiviral CD8⁺ T cells does not result from perforin-dependent destruction of infected cells.

1)

ボルナ病ウイルス G 蛋白の培養細胞での発現

○大槻貴博 1、2、松山州徳 1、2、大内敦夫 3、岸雅彦 3、田口文広 1
(国立精神神経センター 1、日本大学生物資源科学部 2、共立商事中央研 3)

ボルナ病ウイルス(BDV)は馬、羊に脳炎を起こす non-segmented, negative-strand RNA ウイルスで、実験的にはマウス、ラットの中枢神経系に感染し、神経疾患を引き起こすことが報告されている。また、近年人の神経、精神疾患に関与する可能性が示唆され、人に対する病原性の解明は急務である。我々は、BDV が種を超えた多くの動物の神経系に感染する分子機構を解明する手段として、その受容体(リセプター)に注目している。BDV のリセプターの同定を最終目標とし、まずそのリセプターに結合すると考えられる、ウイルス粒子表面のスパイクを構成する G 蛋白の発現精製を目的に実験を行った。BDV 持続感染細胞から得た RNA を鋳型とし RT-PCR で G 遺伝子を分離した。推測されるアミノ酸配列は、これまで報告されているものと比べ 97%以上の相同性を有していた。この G 蛋白の c 末端側に HA, myc, His のエピトープを付加した蛋白を発現し、BDV 耐過血清と付加エピトープに対する抗体を用いて Western blot で解析したところ、約 100 kDa、58 kDa のバンドが検出された。更に、G 蛋白持続発現細胞を分離し、通常の培地で培養後、細胞を pH5.0 で処理することにより、多核巨細胞の出現が認められた。これらの結果から、我々が分離した G 遺伝子から発現される G 蛋白は、既に報告された G 蛋白とほぼ同様の生物活性を示すことが明かとなった。今後、この G 蛋白を用いて、BDV リセプターを発現している細胞から cDNA ライブラリーを作成し、リセプター遺伝子の分離同定を行いたい。

2)

スナネズミ脳におけるボルナ病ウイルスの主要抗原の発現様式

渡辺真紀子¹、神谷亘¹、小林剛¹、谷山弘行²、朝長啓造¹、生田和良¹

(¹ 阪大微研・ウイルス免疫、² 酪農大・獣医病理)

【背景】ボルナ病ウイルス (BDV) の病態モデル動物としては、主にラットが用いられているが、我々は以前、スナネズミの新生仔がBDVに感受性であり、BDV接種により致死的な神経症状を示すことを報告した。

【目的】感染個体内におけるBDV動態については、まだ不明な点が多い。そこで、スナネズミへのBDV感染を行い、特に脳におけるBDV主要抗原であるp40、p24の発現について、解析を行った。

【方法】新生仔スナネズミに0.2、2、20、200 FFUのウイルスを接種した。接種後20、25、30日目に脳および各組織を採材し、抗体の産生および脳における抗原発現について解析を行った。

【結果】ウイルスを接種したスナネズミは、接種量に比例して後躯麻痺を主徴とする神経症状を示した。得られた血清中の抗BDV抗体の検出を行ったところ、感染後25日前後から抗p24抗体が検出された。発症と抗p24抗体の産生には相関性が認められた。感染ラットとは異なり、抗p40抗体は、解析を行った30日までにおいては検出限界以下であった。感染スナネズミ脳でのBDV抗原の発現量は、p40とp24で顕著な相違は認められなかったが、in situ hybridizationによるBDV RNAの検出においてはp24およびp40のmRNA発現細胞の分布に相違があり、p24のmRNAの発現はp40に比べ、より広範囲に認められた。

【考察】抗p24抗体の上昇と発症の一致から、p24への免疫反応あるいはそれに関与する要因の病態への関与が推測される。また、脳の部位によるp24およびp40のmRNA陽性細胞数の相違は、ウイルスの感染状態による発現量の差を示していると思われる。このようなスナネズミにおけるBDVの抗原発現の解析は、BDVの性状や病態の解析に重要であると考えられる。

3)

ボルナ病ウイルス0.8 kb (X/P) mRNAの翻訳様式

小林剛、渡辺真紀子、朝長啓造、生田和良

(阪大微研・ウイルス免疫)

【目的と意義】ボルナ病ウイルス (BDV) は、向神経性のマイナス鎖、一本鎖のモノネガ RNA ウイルスである。BDV は、他の動物モノネガ RNA ウイルスと異なり、感染細胞核内で複製することが知られているがその複製機構については依然不明な点が多い。本研究は、BDV の複製機構を明らかにするために、BDV p10 (X) および p24 (P) タンパク質をコードしている 0.8 kb (X/P) の bicistronic mRNA の翻訳様式について解析を行った。

【材料と方法】BDV 持続感染 MDCK 細胞由来の cDNA より PCR 法を用い、X/P mRNA を含む領域を増幅し発現ベクターを作成した (X/Pwt)。さらに、この X/Pwt を鑄型に変異体の作成を行い、これらクローンの COS-7 細胞におけるウイルスタンパク質発現能を、ウェスタンブロット、免疫沈降および蛍光抗体法を用いて解析を行った。

【結果と考察】BDV X/P mRNA は、予想された X (14.5 kDa) および P (24 kDa) タンパク質に加えて、新たに 16 kDa のタンパク質を発現していることが明らかとなった。この 16 kDa のタンパク質 (P') は、抗 P 抗体で検出され、各種変異体を用いた解析により、P タンパク質内に存在する 2 番目の開始コドンより翻訳されていることが判明した。また、P' タンパク質は BDV 感染細胞にも存在し、P タンパク質と同様に核内に局在すること、さらに、p40 (N) および X タンパク質との結合能を有することも明らかとなった。一方、P' タンパク質は、BDV 複製において重要とされる P タンパク質上のリン酸化部位を欠損しているため、BDV P タンパク質とは異なる機能を持つ可能性も示唆された。また、この X/P mRNA の下流より翻訳される P タンパク質の翻訳機構を解析した結果、X/P mRNA の 5' 末に存在する非翻訳領域および X タンパク質の開始コドン付近の配列が X/P mRNA の翻訳効率に影響を与えることが示唆された。

4)

ボルナ病ウイルスの選択的遺伝子発現とその調節機構

朝長啓造、小林剛、渡辺真紀子、生田和良

(阪大微研・ウイルス免疫)

【背景】ボルナ病ウイルス (BDV) は、マイナス鎖、一本鎖の RNA をゲノムに持つ向神経性のモノネガウイルスである。BDV は、ウマ、ヒツジなどの動物を自然宿主としているが、最近の研究により、ヒトにおける BDV の感染が明らかとなった。

【目的】脳内における BDV の感染を把握するためには、感染細胞内での BDV の動態を解明する必要がある。しかし、培養細胞ならびに感染脳内における BDV の極めて低い複製効率のため、その詳細な複製機序は明らかにされていない。この研究の目的は、BDV の転写機構を解析し、その複製ならびに持続感染状態を明らかにすることにある。

【方法】BDV 持続感染細胞 (MDCK、C6、OL 細胞) および BDV 感染ラット脳より RNA を抽出し、RT-PCR 法、RNase プロテクション法、ならびに 3'-RACE 法を用いて、BDV に特異的な転写産物の解析を行った。また、BDV の M、G および L 遺伝子の一部を含む cDNA を合成し、発現ベクターに挿入後、そのスプライシング様式の解析を行った。

【結果】BDV の L 遺伝子上に新たな 3'-スプライスサイト (SA3) を同定した。しかし、SA3 の使用頻度は、持続感染細胞および感染脳において非常に低く、転写過程における SA3 の使用に選択的抑制が働いていることが予想された。そこで、BDV の cDNA を含む発現ベクターを COS-7 細胞に導入し、詳細なスプライシングの観察を行った。その結果、SA3 サイトの下流約 350 bp 付近の配列が、SA3 の使用に抑制的に働いていることが判明した。このスプライシング抑制配列 (ESS) には 現在までに判明しているウイルスもしくは細胞の ESS 配列と相同な配列が認められた。また、BDV ESS の直ぐ上流には、転写終結シグナル (t6) が存在しており、SA3 を用いたスプライシングが、この t6 で終結する転写産物では効率的に発現されている可能性が示唆された。

【考察】BDV の遺伝子発現には、選択的スプライシング機構が働いていることが明らかにされた。また、その選択的スプライシングには、スプライシングの効率を調節する機序が存在し、それにより BDV が効率的な転写・増殖を行っていることが示唆された。

5)

ヒト、動物におけるボルナ病ウイルスの血清疫学と今後の課題

山口一成（熊本大・医）、沢田高志、榎木 徹（エーザイ筑波研）、井形るり子（熊本市保健所）、堀井洋一郎（宮崎大・農）

[目的]

BDV はヒトの精神疾患の病因ウイルスの候補のひとつとなっているが、動物では自然感染でも実験的に感染させた場合でも抗 BDV 抗体価は極めて低い。特異性と感度に優れた BDV 抗体検出系を確立し、ヒトでの感染の有無、疾患との関係、輸血による感染の可能性などが検討されなければならない。昨年度に引き続きヒト、動物における BDV 抗体陽性率を検討した。

[方法と結果]

BDV リコンビナント蛋白（p40,p24）を electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA) 法に組みこんだ assay 系を作成し、ヒト、ラット、ネコ、イヌ、ウシ、ウマ、サル血清中の抗 BDV 抗体を測定した。陽性血清は soluble p40,p24 リコンビナント蛋白での吸収試験を行い、50%以上阻害したものを陽性と判定した。ヒト血清は成人、小児精神疾患、脳炎、神経変性疾患、HIV、慢性疲労症候群、献血者、頻回輸血、眼科受診者、レプラなど約 5,000 例。一部の精神疾患（感情障害、分裂病）の患者（1,400 例）で高い陽性率を示した（2.8-6.5%）。HIV 感染者、慢性疲労症候群、自己免疫疾患ではすべて陰性であった。精神疾患でない小児血清（99 例）も全て陰性であった。動物における BDV 感染状況はウマでは高い BDV 抗体陽性率を示したが、これまで報告されているネコは低い陽性率と抗体価しか示さず再検討が必要と思われた。今回野生サル（京大ウイルス研速水先生との共同研究）での初めての抗体検索も行った。ヒト、動物で抗体陽性を示したものは大部分が p24 のみ陽性であったが、一部の精神疾患で p40 単独陽性例が見られた。

[考察]

ECLIA 法を用いて、高感度で特異性の高い BDV 抗体 assay 系を確立した。

1) 精神疾患患者の一部で献血者よりも高い BDV 抗体陽性率を示した。BDV 抗体陽性精神疾患患者の詳細な臨床検討は今後の課題であり、多くの精神科医の参入を得て、BDV 感染の全国調査、case-control study が期待される。

2) 血友病を含む HIV 感染者に陽性がみられないことから血漿成分での感染は低いものと考えられるが、献血者の 1%に抗体陽性者が見つかり、また頻回輸血者に陽性率が比較的高いことより末梢血における BDV の有無はさらに検討される必要がある。

3) BDV 抗体のような微量抗体の検出について種々のアッセイ系の問題点を議論したい。

4) HIV 感染者、CFS では first screening で cut off を上回る検体が多いが、inhibition 試験で陰性と判定されたことより、元々非特異反応を起こしやすい特性を有するこのような検体では特異的確認試験が必要である。

6)

ネコ及びヒトにおける抗BDV p10抗体の検出

○大内敦夫、望月雅美、岸雅彦 (共立商事・中央研究所)

【目的】

ネコにおけるBDV 感染については、非化膿性脳脊髄膜炎(staggering disease)に加え脳炎を伴わない四肢の運動機能障害との関連が疑われている。我々は、先の本会で、ウエスタンブロットによる抗BDV p10抗体検出法を確立したこと、並びに、飼いネコでの抗p10抗体保有率について報告した。本研究では、四肢に原因不明の運動機能障害がある飼いネコについて、抗p10抗体検査を実施した。さらに、抗BDV p10抗体検査法がヒトへも適用できるかについて検討した。

【方法】

原因不明の四肢運動機能障害を呈するネコ(23頭)、正常な飼いネコ(69頭)、SPFネコ(30頭)、および感情障害入院患者(50名)と献血者(184名)の血清/血漿について、ウエスタンブロット法による抗BDV p10抗体検査を行った。

【結果】

SPFネコは全て抗BDV抗体陰性であった。それに比べ、一見正常な飼いネコは約10%、さらに四肢の運動機能障害を呈するネコは20%以上が抗p10抗体陽性であった。一方、抗p10抗体検査法をヒト血清に適用した結果、感情障害患者は4%、献血者は1.6%で、感情障害患者で若干抗体陽性率が高い傾向が認められた。

【考察】以上、本研究においても、ネコ四肢運動機能障害の一因としてBDV感染が関連しているという既報の結果を支持する傾向が認められた。また、抗BDV p10抗体検出法は、ヒトにおけるBDV抗体検査に適用できることが明らかになった。現在、抗BDV p10抗体検出ELISAの確立を急ぐと共に、検体数を増加しBDVと四肢運動機能障害との関連を継続して検討している。

7)

神経症状を呈するネコにおけるボルナ病ウイルス感染の診断と病態

○西野佳以、吉田倫子、田所真弓（麻布大・生物研）、栗田吾郎（栗田動物病院）、辻本 元（東大・獣医内科）、奥村正裕（北大・獣医外科）、木村享史（北大・獣医比較病理）、水谷哲也（北大・獣医公衆衛生）

【目的】ボルナ病ウイルス（BDV）は、近年の疫学的調査によりヒトを含む多くの動物種に自然感染することが示されている。感染宿主のうち伴侶動物として我々に身近な動物であるネコでは、BDV感染がstaggering diseaseと呼ばれる神経疾患の一因になることが強く示唆されている。今回我々は、神経症状を呈していないネコに加え神経症状を呈しているネコにおいてもBDV感染病態を探ることを目的として調査を行った。

【材料と方法】動物病院に来院した神経症状を呈するネコを対象に、血中の抗BDV抗体とBDV遺伝子を検索した。血漿中の抗BDV抗体は、BDV-p24あるいは-p40蛋白質とGSTとの融合蛋白質（阪大、生田和良博士より分与）を抗原としたウエスタンブロット法により検出した。BDV遺伝子は、末梢血単核球画分から抽出したRNA 1 μgを用いてBDV-p24領域をnested RT-PCR法により増幅し、サザンブロット法によりBDV遺伝子であることを確認した。また、逆転写酵素非存在下でRNA増幅反応を行うことにより、被検RNA内にBDV由来DNAがコンタミネーションしている検体を調査対象から除外した。

【結果と考察】調査した神経症状を呈するイエネコ27検体中、10検体がBDV遺伝子あるいは抗BDV抗体を血液中に保有していた。そのうち7検体は抗BDV抗体が陽性であり、遺伝子を検索できた20検体中4検体がBDV遺伝子陽性だった。遺伝子と抗体の両方が陽性の検体は1例であった。また、2検体について約2ヶ月間にわたり7回検査を行ったところ、抗体あるいは遺伝子はそれぞれ断続的に検出された。しかし、この2検体において抗体と遺伝子の両方が検出されることはなかった。以上より、血液中のBDV特異抗体と遺伝子は、短期間においても必ずしも恒常的に検出されない場合があること、また、神経症状を呈さないネコのみならず神経症状を呈するネコにおいても両者が同一個体から検出されない傾向が示唆された。