

分担研究報告書

豚の抗酸菌症における 病変分布と抗酸菌分布の関係

分担研究者 山崎省二
(国立公衆衛生院)

厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）
分担研究報告書

豚の抗酸菌症における病変分布と抗酸菌分布の関係

分担研究者 山崎省二 国立公衆衛生院 部長

豚抗酸菌症の病変及び菌の分布を病理学的ならびに細菌検査を行うことにより、肉眼的病変と抗酸菌分布との関係について調査した。その結果、肉眼的に抗酸菌症が疑われた検体のうち、病理組織学的並びに菌検索により確定された抗酸菌症は109頭中106頭(97.2%)であった。下顎リンパ節は病変が認められない例でも菌が分離されることがあり、その場合、腸間膜リンパ節には病変形成並びに菌の存在が確認された。このことから、かなり早期に菌は腸間膜リンパ節に到達し、定着する可能性が示唆された。下顎リンパ節や腸間膜リンパ節に病変が局限している例では他のリンパ節や主要臓器における病変は認められなかった。

協力研究者
一条 悟朗 全国食肉衛生検査所
山本 茂貴 国立感染症研究所

1 目 的

病理部会では、厚生科学研究の分担研究として、平成10年度はQ熱、ヨーネ病、豚抗酸菌症、豚丹毒の文献調査を実施しました。

平成11年度は、豚抗酸菌症と豚丹毒がと畜検査においてどの程度検出されているかを調査し、その状況を把握することを目的として調査を行いました。

平成12年度は、平成11年の第35回全国食肉衛生検査所協議会全国大会において当部会から「豚の抗酸菌症の判定基準」の検討結果を報告していることから、対象疾病を豚抗酸菌症にしぼり、病変及び菌の分布を病理学的に検索するとともに細菌検査も併せて実施することにより、肉眼的病変と抗酸菌分布との関係について調査することを目的としました。

2 調査期間

平成12年12月から平成13年2月末日まで

3 調査方法

1) 調査対象

と畜検査において、抗酸菌症による病変（乾酪壊死、肉芽腫性炎）を認めた肉豚。

2) 検査頭数、検体採取部位及び採取方法
ア 検査頭数 30頭（2～3農家）

①下顎リンパ節にのみ病変を認めたもの

②腸間膜リンパ節にのみ病変を認めたもの

③全身性、下顎リンパ節と腸管膜リンパ節、下顎リンパ節と肺など様々な臓器・リンパ節での組み合わせの病変を認めたもの

以上の中から検査所の検査体制、発見状況を考慮して9～30頭を検査した。

イ 検体採取部位

1頭当たり9検体、ただし、注)に該当するものは検体として採材しなかった。

(以下のとおり)

肝臓、(肺)、脾臓、下顎リンパ節(以下Ly)、左気管気管支Ly、左内側腸骨Ly、左そ径Ly、腸間膜Ly、胃肝Ly

注) 下顎Lyは採材可能であれば採材する。肝臓に病変があるときだけ、細菌学的、病理学的検査を実施する。

肝臓に病変がないばあいは、採材せず、調査票に肉眼病変の有無のみ記入する。他のリンパ節は可能な限り採材する。肺の採材は必要に応じて行う。病変の有無のみ確認し、調査票に記入する。

ウ 採取方法

細菌検査を考慮した採取方法で実施した。

3) 検査方法

ア肉眼所見

①肉眼所見（表面、剖面）を別票『豚の抗

酸菌症調査票』により記載した。

②病変部をカメラ（できればカラープリント）で撮影した。（肉眼的判断を示す上で必要）写し込み番号は、検査所番号—調査票番号—検体番号（例：1—1—1）で表示なお、検査所番号は、協力検査所名一覧の頭に付いている数字とします。

③病変確認の後、必要量を細菌検査に、残りをホルマリン固定した。

イ細菌検査

①3の2）イで示した部位すべてについて（肉眼病変がなくても）細菌検査を実施した。

②材料表面をバーナーで焼くなどしてから分離に供した。

③菌分離のための前処理方法について別紙『豚の抗酸菌症からの抗酸菌の分離方法』を参照した。

④菌分離後は抗酸菌染色をして確認し、小川培地に培養したまま-20℃、できれば-80℃に保存した。

ウ組織検査

①3の2）イで示した部位については、肉眼的病変が確認できなくても1ブロックを作成した。

②H E染色で、病変を確認した。

③抗酸菌染色した切片（できれば数切片）については全視野を確認。

④特徴的な組織像や写真に残したいものについては写真撮影した。

エ診断基準

①肉眼病変の診断基準

リンパ節にあっては乾酪壊死を認めたもの臓器では灰白色～乳白色の肉芽腫様病変を認めたもの

②組織診断基準

リンパ球、類上皮細胞などからなる肉芽腫性炎で、多核巨細胞が認められたもの

③菌分離の診断基準

コロニーの性状と抗酸菌染色

4 豚の抗酸菌症調査票

1) 1頭毎に記載して下さい。

2) No. は1……30で記載して下さい。

3) 品種の欄は、「ランドレース」「雑種」等で記載して下さい

4) 肉眼病変の欄は、病変が認められたかどうかを「有」「無」で記載して下さい。

5) 組織所見・細菌検査の欄は、確認又は

実施したものに『○』を、それ以外は『×』をつけてください。（見本参照）

6) 備考の欄は、チェックできないもの例えばラングハンス型巨細胞が認められたときは『ラングハンス型巨細胞』と記載してください。

5 協力検査所名一覧

1 秋田県中央食肉衛生検査所

2 神奈川県食肉衛生検査所

3 静岡県西部食肉衛生検査所

4 富山県食肉検査所

5 大阪市食肉衛生検査所

6 宮崎県都城食肉衛生検査所

4 調査結果

1 調査頭数及び検体数

(1) 調査頭数：

報告のあったと畜検査頭数は2498頭で比較的抗酸菌症の発生頻度が高い農家が選ばれている。その中で下顎リンパ節や腸間膜リンパ節及び肝に抗酸菌症様病変を認めた肉豚は704頭(28.2%)であった。その中から109頭(内訳：秋田30、富山30、神奈川11、静岡17、大阪市9、宮崎12)を調査対象とした。

このうち病理組織学的診断による抗酸菌症は106頭(肉眼による抗酸菌症検出率97.2%)であった。

(2) 肉眼病変区分別頭数

ア下顎リンパ節にのみ病変を認めたもの：13頭

イ腸間膜リンパ節にのみ病変を認めたもの：58頭(内2頭は抗酸菌症ではなかった)

ウ下顎リンパ節と腸間膜リンパ節に病変を認めたもの：19頭(内1頭は抗酸菌症ではなかった)

エその他主要臓器にも病変を認めたもの：19頭

検体数：延べ945検体

2 調査担当検査所別結果

(1) 秋田県中央食肉衛生検査所

ア 調査対象農家数及び頭数

調査対象として抗酸菌症が多発する3農場を対象に選び、調査予定日に搬入された延べ384頭を調査対象豚として検査したところ病変の見られたものは190頭であった。この中から30頭を選び調査に供した。これらの行政処分はすべて一部廃棄であった。

イ 肉眼病変別頭数 (30 頭中)

- ① 下顎リンパ節のみに病変が認められたもの：0 頭
- ② 腸間膜リンパ節にのみ病変の認められたもの：25 頭
- ③ 腸間膜リンパ節と下顎リンパ節に病変を認めたもの：5 頭

ウ 組織所見及び細菌検査結果

①組織所見

腸間膜リンパ節に肉眼病変を認めた 30 頭中 27 頭に類上皮細胞、ラングハンス型巨細胞、壊死巣及びチールネルゼン染色で菌を認めた。しかし 1 頭はラングハウス型巨細胞を確認できなかった。また、1 頭は巨細胞を認めたが、壊死巣は認めなかった。残る 1 頭については肉眼病変を認めたにもかかわらず特徴的組織所見を認めなかった。

下顎リンパ節に肉眼病変認めた 5 頭すべてから類上皮細胞、壊死巣を認めたものの、ラングハンス型巨細胞は 3 頭でのみ認められた。また、チールネルゼン染色で菌を確認したのは 4 頭であった。

下顎リンパ節に肉眼病変を認めなかった 25 頭のうち 1 頭に類上皮細胞、ラングハンス型巨細胞、壊死巣及びチールネルゼン染色で菌を認めた。また 2 頭にラングハンス型巨細胞を認めた。

左気管気管支リンパ節では肉眼病変を認めない 30 頭のうち 1 頭に類上皮細胞、壊死巣及びチールネルゼン染色で菌を確認できた。また別の 1 頭から類上皮細胞と巨細胞を認めた。

2 頭(No. 6, 15)の肝門リンパ節からラングハンス型巨細胞のみを認めた。

肉眼的病理診断と組織学的病理診断の一致は 30 頭中 29 頭 (96.7%) であった。

②細菌検査

抗酸菌は腸間膜リンパ節で 29 頭 (No. 22 を除く) と下顎リンパ節で 12 頭 (肉眼病変を認める 5 頭と認めない 7 頭) に確認された。腸管膜リンパ節で抗酸菌が確認されたうち 2 頭は左気管気管支リンパ節(肉眼所見：無)にも確認された。また、それら 2 頭のうち 1 頭では下顎リンパ節に肉眼病変並びに菌の存在を確認できなかったにも

かかわらず左気管気管支リンパ節から抗酸菌が分離された。

(2) 富山県食肉検査所

ア調査対象農家数及び頭数

発生数の多い 5 農家から述べ 961 頭を検査し、293 頭に病変を認めた。その中から 30 頭を試験に供した。30 頭のうち 22 頭が一部廃棄、8 頭が全部廃棄であった。

イ 肉眼病変別頭数 (30 頭中)

- 下顎リンパ節のみに病変が認められたもの：12 頭
腸管膜リンパ節のみに病変が認められたもの：3 頭
下顎リンパ節と腸管膜リンパ節に病変が認められたもの：5 頭
主要臓器 (肝臓) にも病変が認められたもの：10 頭

腸管膜リンパ節にも病変が認められたもの：10 頭中 5 頭

腸管膜リンパ節と下顎リンパ節にも病変が認められたもの：10 頭中 3 頭

腸管膜リンパ節と肺にも病変が認められたもの：10 頭中 1 頭

腸管膜リンパ節と脾臓にも病変が認められたもの：10 頭中 1 頭

ウ 組織所見及び細菌検査結果

①組織所見

肝に病変が認められた 10 頭について組織学的に検討した。10 頭中 9 頭で腸管膜リンパ節に類上皮細胞、ラングハンス型巨細胞、壊死巣を認め、チールネルゼン染色で抗酸菌が認められた。1 頭では類上皮細胞、壊死巣、チールネルゼン染色により抗酸菌を認めたが、ラングハンス型巨細胞は認めなかった。

②細菌検査

腸間膜リンパ節で肉眼病変を認めた 30 頭のうち、下顎リンパ節において肉眼所見の有無にかかわらず菌を確認または確認・分離できたものは 18 頭であった。

肝に病変が認められた 10 頭全部の胃肝リンパ節から病変の有無にかかわらず菌が分離され、それ以外でも病変の有無にかかわらず左気管気管支リンパ節では 10 頭中 9 頭から、左内腸骨リンパ節では 10 頭中 2 頭から、左そ径リンパ節では 10 頭中 3 頭から、脾では 10 頭中 7 頭から、肺では 10 頭中 5 頭から菌が分離された。

(3) 神奈川県食肉衛生検査所

ア 調査対象農家数及び頭数

3農家175頭中32頭に病変を認めた。そのうち11頭を調査した。11頭すべてが一部廃棄であった。

イ 肉眼的病変別頭数

下顎リンパ節のみに病変を認めたもの：0頭

腸管膜リンパ節のみに病変を認めたもの：8頭

下顎リンパ節と腸管膜リンパ節に病変を認めたもの：3頭

ウ 組織所見及び細菌検査結果

① 組織所見

腸管膜リンパ節に肉眼病変を認めた11頭中9頭で類上皮細胞、ラングハンス型巨細胞及び壊死巣を認めた。1頭でラングハンス型巨細胞は確認されず、残りの1頭で肉下腫様病変は認められなかった。

顎リンパ節に病変を認めた3頭すべてに類上皮細胞、ラングハンス型巨細胞及び壊死巣を認め、下顎リンパ節に肉眼的病変を認めなかったうちの1頭で類上皮細胞と壊死巣を認めた。

胃肝リンパ節では肉眼的病変を認めなかったが、1頭で類上皮細胞、ラングハンス巨細胞及び壊死巣を認めた。

②細菌検査

組織学的に肉下腫様病変を認めなかった1頭では抗酸菌も確認・分離ができなかった。11頭中10頭の腸管膜リンパ節で直接塗抹により抗酸菌が確認されたが、そのうち5頭では菌分離ができなかった。下顎リンパ節からは肉眼病変のある3頭中2頭で菌が分離され、肉眼的病変のない8頭中3頭から菌が分離された。組織学的にも病変を認めなかった1頭の胃肝リンパ節から菌が分離された。

神奈川県調査事例ではリンパ節に限局した比較的軽度の病変が認められ、菌は高率に分離された。肉眼的病理診断と組織学的病理診断の一致は11頭中10頭(90.9%)であった。

(4) 静岡県西部食肉衛生検査所

ア 調査対象農家数及び頭数

10農家から搬入された641頭中74頭で肉眼病変が認められた。そのうち17頭を調査対象とした。17頭中2頭が全部廃棄で残りは一部廃棄であった。

イ 肉眼的病変別頭数(17頭中)

下顎リンパ節のみに病変を認めたもの：0頭
腸管膜リンパ節のみに病変を認めたもの：10頭

下顎リンパ節と腸管膜リンパ節に病変を認めたもの：2頭

主要臓器(肝)にも病変を認めたもの：5頭

腸管膜リンパ節にも病変を認めたもの：1頭

腸管膜リンパ節と下顎リンパ節にも病変を認めたもの：2頭

腸管膜リンパ節、下顎リンパ節と脾臓にも病変を認めたもの：1頭

腸管膜リンパ節、下顎リンパ節と肺にも病変を認めたもの：1頭

ウ 組織所見及び細菌学的検査

組織所見

腸管膜リンパ節のみに肉眼病変を認めた10頭中3頭で類上皮細胞、ラングハンス型巨細胞及び壊死巣を認め、10頭中6頭では類上皮細胞と壊死巣は認めたものの巨細胞は認めなかった。このうち1頭は下顎リンパ節に類上皮細胞を認めた。また、残りの1頭は抗酸菌による特異性炎とは異なる病変であった。下顎リンパ節と腸管膜リンパ節に肉眼的病変を認めた2頭には類上皮細胞、巨細胞を認めたが、そのうち1頭の腸管膜リンパ節には壊死巣を認めなかった。肝臓に病変を認めた5頭中2頭で肝に類上皮細胞を認め、うち1頭は壊死巣を伴いその他の1頭はラングハンス型巨細胞を伴っていた。しかし、2頭の肝と脾の病変は抗酸菌の特異性炎ではなかった。肺にも病変を認めたものでは、胃肝リンパ節および左気管支リンパ節にも特異的な病変を認めた。

肉眼的病理診断と組織学的病理診断の一致は17頭中16頭(94.1%)であった。ただし、肝と脾、または肺でそれぞれ1頭ずつ組織学的病変が抗酸菌性肉芽腫とは異なっていた。

② 細菌検査

下顎リンパ節と腸管膜リンパ節の両方に肉眼病変のある2頭及び腸管膜リンパ節のみに肉眼病変のある3頭では菌を確認及び分離できなかった。残り7頭中1頭のみ菌が分離され、この豚では下顎リンパ節からも菌が分離された。チールネルゼン染色のみで確認されたものが2頭で残り3頭からは

菌を確認・分離できなかった。肝臓に病変を認めた5頭のうち特異性炎のある3頭中1頭で菌が分離され、1頭でチールネルゼン染色により菌が確認されたが、残りの1頭は確認・分離できなかった。5頭中2頭の胃肝リンパ節から菌が分離された。

(5) 大阪市食肉衛生検査所

ア 調査対象農家数及び頭数

4農家から搬入された337頭中115頭に肉眼的病変を認めた。そのうち9頭を調査対象とした。9頭中2頭が全部廃棄、7頭は一部廃棄であった。

イ 肉眼的病変別頭数(9頭中)

下顎リンパ節にのみ病変を認めたもの：0頭

腸管膜リンパ節にのみ病変を認めたもの：4頭

下顎リンパ節と腸管膜リンパ節に病変を認めたもの：3頭

肝に病変を認めたもの：2頭

腸管膜リンパ節、下顎リンパ節、左気管気管支リンパ節、胃肝リンパ節、脾及び肺：1頭

腸管膜リンパ節、下顎リンパ節、左気管気管支リンパ節、胃肝リンパ節、脾及び腎：1頭

ウ 組織所見及び細菌検査結果

組織所見

腸管膜リンパ節にのみ病変を認めた4頭中すべてに抗酸菌による特異性炎を認め、うち1頭には巨細胞を認めず、他の1頭には胃肝リンパ節に肉下腫性炎を認めた。その他の病変はすべて肉下腫性炎であった。肉眼的病理診断と組織学的病理診断の一致9頭中9頭(100%)であった。

細菌学的検査

9頭中4頭の腸管膜リンパ節で抗酸菌を確認・分離できた。その他、胃肝リンパ節で9頭中2頭から、下顎リンパ節で9頭中1頭から菌が分離された。

(6) 宮崎県都城食肉衛生検査所

ア 調査対象農家数及び頭数

今年度は5農家から12頭を調査対象とした。12頭中2頭が全部廃棄、残りは一部廃棄であった。

イ 肉眼的病変別頭数(12頭中)

下顎リンパ節のみに病変を認めるもの：1頭

腸管膜リンパ節のみに病変を認めるもの：

8頭

下顎リンパ節と腸管膜リンパ節に病変を認めるもの：1頭

肝に病変を認めるもの：2頭

腸管膜リンパ節に病変を認めるもの：1頭

下顎リンパ節と腸管膜リンパ節に病変を認めるもの：1頭

ウ 組織所見及び細菌検査結果

組織所見

腸管膜リンパ節に肉眼的病変を認めた8頭中6頭に肉下腫性病変を認めた。また、8頭中1頭は抗酸菌の特異性炎を示さなかった。また、肉眼的病変のない1頭の胃肝リンパ節に肉芽腫性炎病変を認めた。

細菌検査

腸管膜リンパ節に肉眼的病変を認めた8頭中6頭で菌が分離された。

その他、肝に病変のあるもの2頭の肝から菌が分離された。

3 組織学的病変分布と抗酸菌分布

病変が最もよく認められたのは腸管膜リンパ節で87.6%に病変が認められ、74.3%の検体から菌が分離された。また、病変を認め菌が分離された検体が73.3%あった。

次に病変が多く認められたのは下顎リンパ節で、45.7%であった。下顎リンパ節では病変の有無に関わりなく菌が確認もしくは分離された検体が44.8%と約半数あった。その他のリンパ節で病変もしくは菌が分離されたのは肝や肺に病変がある場合がほとんどであった。1頭だけであったが、気管気管支リンパ節のみに病変が見られ、菌が分離された例があった。

4 考察

今回は、肉眼的に抗酸菌症が疑われた検体を調査対象としたが、病理組織学的並びに菌検索により確定された抗酸菌症は109頭中106頭(97.2%)であり、我が国のと畜検査員は肉眼的判定に高度の技術を有していることが明らかとなった。

肉眼的病変は、腸管膜リンパ節に最も多く認められ(72.6%)、ついで下顎リンパ節に多く認められた(30.2%)。

病理組織学的病変と菌分離は腸管膜リンパ節で同時に観察されることが多かった。下顎リンパ節は病変が認められない例でも菌が分離されることがあり、その場合、腸管膜リンパ節には病変形成並びに菌の存在

が確認された。このことから、かなり早期に菌は腸間膜リンパ節に到達し、定着する可能性が示唆された。

肝や肺などの実質臓器に病変が形成されているものは付属リンパ節にも病変や菌が確認できた。一方、下顎リンパ節や腸間膜リンパ節に病変が限局している例では他のリンパ節や主要臓器に病変が形成されることはなく、これらのことから平成11年に提示した抗酸菌の判断基準は正しいことが確認された。

別紙

豚の抗酸菌症からの抗酸菌の分離方法

検査材料を手動ホモジナイザーに入れる（1 g位）

+

滅菌蒸留水（4℃：冷却）1 cc 加える

|

滅菌DW を少しずつ加えながらホモジナイズする

|

遠心管（10ml）に採取する

|

3000回転×20分で上清を除く

|

(A) 4%NaOH（保存する場合は滅菌）

(B) 2.9%クエン酸（保存する場合は滅菌）

(A、B等量ずつ混合後、NALC（N-アセチル-L-シスチン）を使用時に
5mg/ml 加え、その液を検体沈査と等量から5倍量位の間で入れる）

|

ボルテックスし、室温で15分置く

|

リン酸バッファー(PBS)で洗う（遠心管の9分目位まで入れる）

|

3000回転×20分

|

沈査にスプータメントゾル（極東製薬）を沈査とほぼ等量加え、
室温で10分放置後、0.3ml 程度を小川K培地（極東製薬）に接種37℃で培養する

表 1 豚抗酸菌症における病変部位と菌の分離状況

	1)			
	病変(+)分離(+)	病変(-)分離(+)	病変(+)分離(-)	病変(-)分離(-)
下顎リンパ節(Ly)	3 1	1 6	1 7	4 1
左気管気管支 Ly	1 1	5	4	8 5
左内側腸骨 Ly	1	2	0	1 0 2
左そ径 Ly	1	3	0	1 0 1
腸間膜 Ly	7 7	1	1 5	1 2
胃肝	4	7	0	9 4
肝臓	1 5	0	2	8 8
肺	4	3	3	9 5

1) 病変(+): 病理組織学的に病変が認められたもの.

分離(+): 病変部位から抗酸菌が分離されたもの.

分担研究報告書

牛海綿状脳症（BSE）をめぐる
現在の問題（文献学的調査）

分担研究者 山内一也
（日本生物科学研究所）

厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）

分担研究報告書

牛海綿状脳症（BSE）をめぐる現在の問題

分研担当者 山内一也 日生研

1986年に見いだされた牛海綿状脳症（BSE）は、感染源となった肉骨粉を家畜の飼料に用いることを禁止する処置により減少し始め、峠を越したと期待されている。しかし、2000年秋にフランスで BSE 感染の疑いのある牛が食肉として売られたことがきっかけで、BSE はふたたび世界的に大きな波紋を引き起こしている。一方、BSE 感染により起きたとみなされる変異型クロイツフェルト・ヤコブ病（v-CJD）に関わる公衆衛生上の問題は今後も続くことが予想される。BSE をめぐるこれらの多くの問題について現在の知見をまとめてみる。

1. BSE の発生状況

2000年6月の時点での英国での発生総数は176,954頭であり、全世界では181,375頭である。英国の発生は最盛期の1992.93年の15分の1に減少した（表1）。Veterinary Laboratories Agency と Oxford 大学グループによる2000年までの発生予測は、かなり正確な値になっている。これらの予測では2001.2002年には3桁台に減少するとされている（表2）。

一方、BSE 汚染餌からの感染とみなされるネコ海綿状脳症の発生総数は87匹（表3）、そのほか外来種動物での発生状況は表4に示した。

2. BSE の起源

BSE の真の起源は不明である。これまではスクレイピー起源説が一般に受け入れられてきた。しかし、2000年秋に英国政府の BSE 調査委員会はこれを否定した。最

大の根拠は1970年代終わりにレンダリング方式の変更がスクレイピー不活化を不十分なものとした John Wilesmith の説が、表5にまとめたように David Taylor のレンダリングのスクレイピー不活化に及ぼす影響を調べた実験（Taylor, D. et al., Vet. Rec., 141, 643, 1997）で否定されたことである。

調査委員会報告では、BSE とスクレイピーの宿主域、マウスへの伝達性、病変の特徴から、牛で発生した変異病原体説の立場が述べられている。それによれば、たまたま1970年代におそらくイングランド南西部で、一頭の牛の生殖系列に起きた変異により生じた新しい病原体によるという推測である。しかし、この推測に科学的根拠はない。

スクレイピー由来、ウシ由来のいずれの説であっても、肉骨粉に混入した BSE 病原体のリサイクリングが大流行を引き起こしたことは間違いないとみなされている。

3. v-CJD の感染源

当初、v-CJD は疫学的所見から BSE 感染による可能性が否定できないとされていた。その後、近交系マウスの脳内接種による潜伏期および脳内病変の分布パターンを指標とした株のタイピング (Bruce, M. E., et al., *Nature*, 389, 498, 1997)、異常プリオン蛋白 PrP^{Sc} の糖鎖パターンを指標とした生化学的特徴 (Collinge, J., et al., *Nature*, 383, 685, 1997)、ヒトのプリオン蛋白遺伝子導入トランスジェニックマウスでの臨床症状と脳病変の類似性 (Hill, A.F., et al., *Nature*, 389, 448, 1997)、ウシのプリオン蛋白遺伝子を導入したトランスジェニック・マウスでの潜伏期と脳病変の類似性 (Scott, M.R., et al., *PNAS*, 96, 15137, 1999) が示され、BSE と v-CJD は同一の病原体によるものと結論されている。

4. v-CJD の発生状況

2000 年未までの v-CJD 患者の発生状況は表 6 に示した。毎年患者数は 20% あまり増加、死亡数は 30% あまり増加していることになる。絶対数は低いものの、増加している点に関心が寄せられている。

最近注目された点として子供での変異型 CJD と集団発生が疑われる例である。

1996 年に変異型 CJD が最初に報告された時、もっとも若い患者は 16 才であった。1997 年 5 月から進行性の知的および神経障害を示した 16 才以下の子供について v-CJD の積極的な調査が行われた。この症状が疑われた 885 名の患者の中、2 名が変異型 CJD と診断され、1 名がほぼ確実例とみなされた。確定診断例は 14 才の

女子と 15 才の男子で、いずれも死亡しており、ほぼ確実例は 12 才の女子である。

v-CJD の集団発生が疑われたのは英国 Leicestershire 州の人口 2500 人 Queniborough という小さな村である。ここでは、1998 年に 3 名が v-CJD で死亡し、2000 年にはさらに 2 名が死亡した。最近の英国政府調査結果では、食肉店でウシの脳を取り除く際に頭を開く伝統的な方式が、脳から食肉への BSE 汚染を引き起こしたものと結論した (*Nature* 410, 502, 2001)。

BSE 発生の 1980 年から変異型 CJD が初めて見つかった 1996 年までに、英国では 75 万頭の BSE 感染ウシが屠殺されたと推定されている。そこで、当初は最大 50 万人の v-CJD 患者が発生するとの予測がなされた。しかし、2000 年になって Oxford 大学の Niel Ferguson のグループが試算した結果、最大 13 万 6000 人という推定が出された。

実際には潜伏期など、いろいろな要因が不明なために、最終的な予測はできないが、平均寿命よりも潜伏期が長くなければ、6000 人以上になることはないだろうという推測になっている。

5. 診断

プリオン病の診断法は表 7 にまとめたように、形態的、異常プリオン蛋白検出、感染性、およびマーカーに分類できる。

BSE では、異常プリオン蛋白の検出キットが開発され European Commission で比較試験が行われた (表 8)。その結果、Prionics (発売元 Roche), Enfer, フランス原子力委員会 (CEA) (発売元 Bio-Rad) が一応、使用可能と判断された (表 9)。Prionics の

キットは現在、スイス、フランス、ドイツ、スペインで、フランス原子力委員会のキットはベルギーで採用されている。これらは屠畜場で採取した脳組織（Enfer は脊髄）についての検査である。欧州連合では2001年から30ヶ月令以上のウシはすべて、この検査の後に食肉として販売する方式を決定している。

スクレイピーのヒツジでは、潜伏期中の末梢リンパ組織にプリオンが検出されることから、扁桃や眼の瞬膜のリンパ組織についての生前診断が試みられている。

BSE 牛では、尿中に検出される代謝産物（マーカーT）、または髄液中の14.3.3蛋白やS-100蛋白を指標とする試験が試みられているが、実用性は不明である。最近、スクレイピー感染ヒツジの血液とBSE ウシの骨髄で、赤血球分化関連因子（Erythroid Differentiation-Related Factor: EDRF）の転写抑制が見つかり、これが分子マーカーに利用しうる可能性が示唆されている（Miele, G., et al., Nature Med., 7, 361, 2001）。

6. 潜伏期中の v-CJD 患者と公衆衛生上の問題

大きな問題を提起したのは、v-CJD 発病の8ヶ月前にたまたま虫垂摘出手術を受けた患者の虫垂にプリオンが検出されたことである（Hilton, D.A., et al., Lancet, 352, 703, 1998）。これがきっかけで潜伏期中の患者の血液中の白血球による感染の可能性が問題になってきた。これまでにCJDが血液や血液製剤を介して伝播された報告は皆無である。しかし、実験的には、モルモットとマウスでその可能性が指摘されて

いる。

さらに最近、BSE を接種された羊のうち、潜伏期中の1頭の血液の輸血でBSE が健康な羊に伝達できたという、中間報告が注目されている（Houston, F., et al., Lancet, 356, 999, 2000）。これはBSE ウシ脳を経口感染させたヒツジから318日目に採血し、健康なヒツジに輸血したところ、そのうちの1頭が610日目に典型的な伝達性海綿状脳症を発症したものである。血液ドナーとなったヒツジは経口接種後629日目に伝達性海綿状脳症を発症していることから、潜伏期中の中間の時点での輸血によるBSE 伝達とみなされる。

7. ヨーロッパで再燃したBSE 騒動

きっかけになったのは、フランスで2000年10月に、1頭のBSE 牛と同じ群の牛11頭がすでに食肉として出荷されていたことが判明して、大きな社会問題になったことである。一方、フランスでは2000年になってBSE の発生数が急増していた。その原因のひとつとして、フランスでは2000年7月から30ヶ月令以上の病死または事故死の牛についてPrionics キットによる試験法を導入したことにより検出頻度が増加したことが考えられる。これらの牛は1996年以前に英国から輸入した肉骨粉から感染し、平均5年間の潜伏期の後に発病したものと推測されている。その後、これまで発生の見られなかったスペインやイタリアでもBSE ウシが確認され、ヨーロッパ全体にBSE 騒動が起きてきた。

表 1

英国における BSE の年次別発生状況

年	例数	年	例数
1985	14	1993	34,370
1986	60	1994	23,943
1987	630	1995	14,301
1988	2,180	1996	8,013
1989	7,133	1997	4,309
1990	14,181	1998	3,178
1991	25,026	1999	2,254
1992	36,680	2000	611*

* 2000年6月30日現在

表 2

BSE 発生予測数 (英国)

機関	年	予測数	95%信頼限界
VLA*	2000	1,115	890 - 1,340
	2001	477	330 - 624
	2002	171	84 - 258
Oxford	1999	2,578	2,394 - 2,798
Univ.	2000	1,753	1,527 - 2,202
	2001	866	733 - 1,283

10%母子感染を仮定

* VLA: Veterinary Laboratories Agency

表 3

ネコ海綿状脳症の年次別発生状況

年	例数	年	例数
1990	12	1995	8
1991	12	1996	6
1992	10	1997	6
1993	11	1998	4
1994	16	1999	2
		計	87

(北アイルランドー1, ノルウェーー1, リヒテンシュタインー1を含む)

* 2000年6月30日現在

表 4

外来種動物での伝達性海綿状脳症

クーズー	6
ゲムスボック	1
ニヤラ	1
オリックス	2
エランド	6
チーター	5
ピューマ	3
虎	2
オセロット	3
バイソン	1
アンコール牛	2
ライオン	2

表 5

レンダリングのスクレイパーへの影響

David Taylor et al. (Vet. Rec., 141, 643, 1997)

-
- 試験法：スクレイパー $>10^{3.1}$ ID₅₀/g 添加
 - バッチ法
 - 連続法（10種類のプロトコール）
 - 連続法 + 溶媒処理
 - レンダリング後の感染価
 - 肉骨粉：いずれの方法でも陽性
 - 獣脂 (tallow)：陰性 (BSE 原因とは考えられない)
 - 溶媒処理の中止（1970年代終わり—80年代初め）
 - BSE 発生の原因説：否定的見解
 - 現在のレンダリング方式：BSE の完全な不活化には不十分
 - より安全な肉骨粉生産のためのレンダリング方式の検討が必要
-

表 6

変異型クロイツフェルト・ヤコブ病

1995 : 3

1996 : 10

1997 : 10

1998 : 18

1999 : 15

2000 : 32

(確認 25、解剖結果待ち 2, 生存中 5)

計 88名

表 7

プリオン病の診断法

種類	内容	備考
形態的	病理組織検査：脳 スクレイパー関連線維 (SAF) 検出	ルーチン 補助手段 (自己融解組織)
PrP ^{Sc} 検出	免疫組織染色 脳 瞬膜リンパ節 扁桃 生化学試験：各種キット (W.B., ELISA)	剖検材料 生前試験 (スクレイパー) 生前試験 (スクレイパー、v-CJD) 剖検材料 (BSE、スクレイパー)
感染性	マウスバイオアッセイ (脳内接種)	高感度、1年以上必要
マーカー	髄液中の神経蛋白 14-3-3 検出 尿中の代謝副産物のクロマトグラフィー 血液中の ERDF* 転写物の発現減少	孤発性 CJD スクレイパー スクレイパー

* ERDF: Erythroid differentiation related factor (赤血球分化関連因子)

表 8

伝達性海綿状脳症の診断法の評価

European Commission: Consumer Policy and Consumer Health Protection

(July 8, 1999)

Preparation of samples : Joint Research Centre, Geel, Belgium

Blind tests based on samples with code numbers

Parameters examined

Sensitivity : Test positive/ True positive (Natural infection confirmed by histopathology*)

Specificity : Test negative/ True negative (New Zealand cattle)

Dilution

Repeatability

* $10^{3.1}$ LD₅₀/g (ic/ip) in mice

表 9

Evaluation of BSE Tests (EC, 1999)

	Wallac (UK)	Prionics (Switzerland)	Enfer (Ireland)	CEA (France)
Sensitivity	69.8 (%)	100	100	100
Specificity	89.8	100	100	100
Dilution	10 ⁻¹	10 ⁻¹	10 ⁻¹ , 10 ^{-1.5}	10 ⁻² , 10 ^{-2.5}
	All neg.	15/20	All pos.	All pos. 18/20

Wallac: Two-site non-competitive immunometric (<24 hr)

Prionics: Immunoblotting (7-8 hr)

Enfer: Chemiluminescence ELISA (4 hr)

CEA: Sandwich immunoassay (24 hr)

プリオン病に関する最近の文献（1999—2000年）