

平成 28 年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
非定型 BSE（牛海綿状脳症）に対する安全対策等に関する研究
（H26-食品-一般-004）

総括研究報告書

研究代表者 堀内 基広 北海道大学大学院獣医学研究科

研究要旨

英国で発生して世界各地に広がった BSE（定型 BSE, C-BSE）は大きな社会問題となったが、飼料規制などの管理措置が機能した結果、その発生は制御下にある。しかし、能動サーベイランスの結果、C-BSE とは性質が異なる BSE（非定型 BSE, L-BSE および H-BSE）が、主に高齢牛で発見され、ヒトへの感染リスクや C-BSE の原因となる可能性が指摘されている。本研究では、食品を介する非定型 BSE の感染拡大を防ぐための安全対策等に貢献することを目標として、これまでに培った技術・経験および科学的知見を活用して、1) 非定型 BSE 感染動物における感染病態機序の解明に資する研究、2) 非定型 BSE のヒトへのリスクの推定に資する研究、3) 潜在的な非定型 BSE の存在リスクの推定、非定型 BSE が C-BSE の起源となる可能性の推定、に資する研究を進め、平成 28 年度は、以下に述べる研究成果が得られた。

C-, L-BSE 脳内接種牛の PrP^{Sc} 検出時期を調べた結果、延髄、中脳では L-BSE で 5 ヶ月早く PrP^{Sc} が検出され、嗅脚では L-BSE で 12 ヶ月早く PrP^{Sc} が検出され、C-, L-BSE 感染牛では脳内の PrP^{Sc} の蓄積動態に明瞭な差が認められた。C-, L-, H-BSE プリオン感染ウシ PrP 過発現マウス (TgBovPrP) の網羅的遺伝子発現解析により、C-, L-, H-BSE プリオン感染 TgBovPrP で共通して発現が上昇する遺伝子群には、ミクログリアで発現が上昇する自然免疫系に関連する遺伝子が多く含まれていた。一方、C-, L-, あるいは H-BSE プリオン特異的に発現が上昇する遺伝子群の存在も明らかとなり、各々の病態が異なることが示された。C-BSE の PrP^{Sc} が熱処理により PrP^{Sc} の分子サイズが変化するという、これまでに報告がない生化学的特徴を有することを見出した。

L-BSE のヒトへの感染リスクの推定のために L-BSE 感染牛脳乳剤を経口接種したカニクイザルの経過観察を継続し、昨年度投与後約 3.5 年目の唾液から PrP^{Sc} が検出されたことを報告したが、同一個体ではその後採材した唾液からは PrP^{Sc} は検出されなかった。また、本年度、投与後 3.7 年の個体の血漿から一過性に PrP^{Sc} が検出された。発症は認められていないが、L-BSE が経口的にヒトに感染する可能性を示唆する結果である。一方、H-BSE 感染牛脳乳剤を経口接種したカニクイザルは、接種後 1.4 年を経過したが、著変は認められていない。TgBovPrP を用いたバイオアッセイにより、L-BSE 感染牛の可食部（骨格筋：上腕三頭筋、半腱様筋、大腰筋、最長筋）に脳の 1/10,000 程度の感染価が存在することを明らかにした。また、H-BSE の感染価を測定するための感染価-潜伏期標準曲線を作成した。

組換えシカ PrP (rCerPrP) を基質に用いることで、C-BSE と L-BSE プリオンを一回の反応で、高感度に検出・識別できる RT-QuIC 法を確立した。ステンレススチールワイヤーに付着したプリオンの活性を 2 日間程度で評価できる Wire-QuIC 法を開発した。

研究分担者

新 竜一郎（宮崎大学 医学部 感染症学講座
教授）

柴田 宏昭(自治医科大学 先端医療技術開発センター 共同利用コーディネーター部門 講師)

飛梅 実(国立感染症研究所 感染病理部 主任研究官)

萩原 健一(国立感染症研究所 細胞生化学部 第1室室長)

長谷部 理絵(北海道大学 大学院獣医学研究科 獣医衛生学教室 講師)

福田 茂夫(北海道総合研究機構 畜産試験場 基盤研究部 畜産工学グループ 研究主任)

室井 喜景(帯広畜産大学 畜産学部 基礎獣医学研究部門 准教授)

岩丸 祥史(国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門 上級研究員)

A. 研究目的

英国で発生して世界各地に広がった BSE(定型 BSE, C-BSE) は大きな社会問題となったが、飼料規制などの管理措置が機能した結果、その発生は制御下にある。しかし、能動サーベイランスの結果、C-BSE とは性質が異なる BSE(非定型 BSE) が、主に高齢牛で発見され、ヒトへの感染リスクや C-BSE の原因となる可能性が指摘されている。非定型 BSE は自然発生する疾病の可能性があり、実験的に牛やヒト PrP 遺伝子発現マウスに伝達することから、牛を飼養する国と地域の共通の問題として、グローバルなレベルで、感染拡大リスクを考慮した長期的な対策が必要である。しかし、リスク評価および適切な管理措置の策定に必要な科学的知見が乏しいのが現状である。

先の食品の安心・安全確保推進研究事業(平成 20-22 年度、平成 23-25 年度)の実績から、サル、ウシおよび各種モデル動物を用いる感染実験によるプリオン病の病態解析手法、異常型プリオンタンパク質(PrP^{Sc})の高感度検出法などの技術が格段に向上している。本研究では、食品を介する非定型 BSE の感染拡大を防ぐための安全対策等に貢献することを目標として、これまでに培っ

た技術・経験および科学的知見を活用して、項目 1) 非定型 BSE 感染動物における感染病態機序の解明に資する研究、項目 2) 非定型 BSE のヒトへのリスクの推定に資する研究、項目 3) 潜在的な非定型 BSE の存在リスクの推定、非定型 BSE が C-BSE の起源となる可能性の推定、に資する研究を進める。

本研究で取り組む、非定型 BSE 感染牛の中樞神経系における PrP^{Sc} の出現部位と時期の解析、牛可食部位における感染価の解析(項目 1)、霊長類を用いた非定型 BSE の感染実験(項目 2)、潜在的な非定型 BSE の調査(項目 3) から得られる成果は、非定型 BSE のヒトへの感染リスクを考慮した BSE 管理措置の策定に必要な科学的知見であり、食品健康影響評価および食品衛生行政に貢献する。さらに、得られる研究リソースおよび技術は、プリオン病の診断・治療法の開発、プリオンの検出法に応用可能であり、広く保健医療に貢献する。また、非定型 BSE の病態解明は、難解かつ不明な点が多いことが最大の不安要因であるプリオン病に対する、消費者の不安・懸念の払拭にも役立つ。

B. 研究方法

- 1) 非定型 BSE 感染動物における感染病態機序の解明に資する研究
 - ・ L-および H-BSE 脳内接種牛における PrP^{Sc} の脳内出現部位を経時的に解析して、発症前に PrP^{Sc} が検出される時期や部位を明らかにする。
 - ・ 平成 27 年度までに、C-BSE の病態解析モデル系としてモルモット馴化株、L-BSE の病態解析モデルとしてハムスター馴化株を得たことから、これらの宿主を交差させて、異種間伝播による BSE 株の性状変化を解析する。
 - ・ C-, L- H-BSE プリオン感染ウシ PrP 過発現マウス(TgBovPrP)の中樞神経系組織の網羅的遺伝子発現解析により、各々の病原体により引き起こされる病態の相違を明らかにする。
- 2) 非定型 BSE のヒトへのリスクの推定に資する研究
 - ・ 先の食品の安全性確保推進研究事業(平成 23-25 年実施)で開始した、L-BSE 感染牛脳乳剤を経口接種したカニクイザル(2 頭)の採取可能な体液から、PMCA 法を用いて PrP^{Sc}

の検出を試みる。また、経過観察を継続する。

- ・ H-BSE のヒトへのリスクの推定のために開始した、H-BSE 感染牛脳乳剤を経口あるいは脳内接種したカニクイザルの経過観察を継続する。
 - ・ L-および H-BSE 実験感染牛の発症牛の可食部位にプリオン感染価が存在するか否かを、TgBovPrP を用いるバイオアッセイにより調べる。
- 3) 潜在的な非定型 BSE の存在リスクの推定、非定型 BSE が C-BSE の起源となる可能性の推定
- ・ C-BSE と非定型 BSE を一回の反応で、検出感度を損なわずに検出でき、かつ識別可能な、実用レベルの RT-QuIC 法を構築する。
 - ・ 非定型 BSE 試料の熱処理や化学処理が C-BSE を誘発する可能性を検討する。

(倫理面への配慮)

各々の研究分担者が所属する機関での動物実験委員会等で審査を受けた動物実験プロトコール等に従い、実験動物の福祉および動物実験倫理に十分配慮して動物実験を実施した。感染症病原体等の取り扱い、各々の機関の病原微生物等安全管理委員会あるいはバイオセーフティ委員会などの承認を得て実施した。

C . 研究結果

1) 非定型 BSE 感染動物における感染病態機序の解明。

1-1) C-および L-BSE 感染牛の病態解析

延髄および中脳では、L-BSE は接種後 5 か月で、C-BSE は 10 か月で PrP^{Sc} が検出され、L-BSE が 5 か月早く PrP^{Sc} が検出された。小脳皮質、大脳皮質前頭部では L-BSE で接種後 11 か月に対し C-BSE で接種後 18 か月、19 か月に検出され、それぞれ L-BSE が早く蓄積した。嗅脚では、L-BSE は接種後 7 か月、C-BSE では接種後 19 か月で検出され、線条体では、L-BSE は 9 か月、C-BSE は 16 か月で検出された。L-BSE では C-BSE よりも早くから、かつ脳の広範囲にわたり PrP^{Sc} が検出されることが判明した。

H-BSE 感染牛の解析は、平成 28 年度 8-9 月に道東で発生した台風被害により実施困難となった。研究期間外ではあるが、平成 29 年度に実施予定である。

1-2) L-BSE 接種ハムスターの解析

C-BSE モルモット馴化株 (C-BSE/gu) をハムスターに、L-BSE ハムスター馴化株 (L-BSE/ham) をモルモットに脳内接種した。C-BSE 伝達モルモットでは、顆粒細胞の減数と分子層の菲薄化による小脳皮質の萎縮が顕著であった。また、脳全体に PrP^{Sc} の沈着が認められ、ブランク状沈着が特徴的であった。L-BSE 伝達ハムスターでは脳全体にび漫性の PrP^{Sc} の沈着が認められ、微細顆粒状や血管周囲への小斑状の沈着が特徴的であった。C-BSE/gu 伝達ハムスターでは、脳全体に PrP^{Sc} の沈着が認められ、海馬、間脳、大脳へのび慢性、放射状沈着が主であった。また、C-BSE 伝達モルモットでみられる特徴的な小脳病変は形成されず、L-BSE 伝達ハムスターでみられる特徴的な沈着分布や沈着パターンの多くがみられた。従って、C-BSE/L-BSE の実験的異種間伝達における病理学的特徴は、動物種とプリオン株のいずれにも影響を受けていることが明らかとなった。

1-3) C-, L- H-BSE プリオン感染 TgBovPrP の中枢神経系組織のトランスクリプトーム

まず、宿主応答が明らかに認められる時期として、遺伝子発現パターンが、陰性対照の非感染マウスと比較して、異なるクラスターに分離できる日の評価の目安とした。そうすると、L-BSE では、接種後 167 日、C-BSE では接種後 204 日、H-BSE では接種後 253 日までは、非感染マウスと区別できなかったことから、明瞭な宿主応答が生じるのは、これらの時点より後になると考えられた。

K-mean クラスタリングにより分類されたクラスターのうち、クラスター C-1 は、C-, L-, H-BSE プリオン感染 TgBovPrP とともに病末期に遺伝子発現が上昇する遺伝子群であった (184 遺伝子)。共通して発現が上昇する遺伝子群には、ミクログリアで発現が上昇する自然免疫系に関連する遺伝子が多く含まれていた。これに対し、C-2 (212 遺伝子)、C-3 (179 遺伝子)、および C-4 (200 遺伝子) はそれぞれ、L-BSE ,

C-BSE, あるいは H-BSE プリオン感染 TgBovPrP でのみ発現が上昇する傾向にある遺伝子から構成されるグループであり、各々の病態が異なることも明らかとなった。

1-4) BSE 由来 PrP^{Sc} のタンパク質化学性状の解析

PrP^{Sc} の温度および pH 処理に対する性状変化を調べた。C-BSE 由来 PrP^{Sc} は今回調べた範囲の pH・温度ではプロテアーゼへの抵抗性を維持していたが、通常の消化条件 (37°C) と比較して、高温消化条件では、プロテアーゼ抵抗性の PrP^{Sc} 断片の分離量が大きくなることを見出した。この変化は C-BSE 感染ウシ脳組織では確認できるが、C-BSE プリオンを異種動物 (カニクイザルやマウス) へ伝播・馴化させると認められなくなることから、C-BSE プリオン株に特徴的な生化学マーカーとして使用できる可能性がある興味深い知見である。

1-5) 病態解析ツールとしての PrP^{Sc} 特異抗体 mAb8D5 と mAb132 の有用性の検討

異なるエピトープを認識する 2 種の抗 PrP 抗体、mAb8D5 と 132 を用いた PrP^{Sc} 特異的免疫染色法の応用性を検討するために、牛および TgBovPrP の脳組織における両抗体の反応性を検討した。mAb8D5 は、非感染牛脳組織でも、橋、視床および視床下部の少数の細胞の細胞質にもシグナルが検出されたことから、牛脳組織の特定の領域では PrP^C と PrP^{Sc} の区別が困難である可能性が示唆された。mAb132 は非感染牛脳組織でシグナルが検出されなかったことから、ウシ脳組織における PrP^{Sc} の検出に有用であると考えられる。mAb132 は PrP^C の局所の濃度が高いと PrP^C と反応する。そこで、ウシ PrP を過発現する TgBovPrP の解析に mAb132 が使用可能かどうかを調べた。非感染 TgBovPrP の脳では嗅球の一部に、感染マウスとは区別できない mAb132 の強いシグナルが認められたが、嗅球以外の部位では、PrP^C の過発現の影響を受けずに PrP^{Sc} の検出が可能と思われた。

2) 非定型 BSE のヒトへのリスクの推定

2-1) L-BSE プリオン感染カニクイザルの病態解析

平成 27 年度、投与後約 3.5 年目の唾液から PrP^{Sc} が検出されたことを報告したが、同一個体ではその後採材した唾液からは PrP^{Sc} は検出されなかった。また、本年度、投与後 3.7 年の個体の血漿から一過性に PrP^{Sc} を検出した。投与後 5.5 年を経過した現時点で臨床症状は認められていないが、経口投与した 2 頭のサルとともに体液から PrP^{Sc} が検出されたことから、L-BSE は経口的にヒトに感染する可能性があると考えられる。この 2 頭については、平成 28 年度末に安楽死を行い、組織・臓器からの PrP^{Sc} 検出を行い、ヒトに近い真猿類での L-BSE 経口感染リスクを評価する。

2-2) H-BSE のカニクイザルへの実験感染

H-BSE のサルへの伝播を確認するための脳内接種と食を通じてのヒトへの感染リスクを評価するための経口投与の実験を継続した。いずれも接種してから 1.4 年を経過したが、現在まで、臨床的に異常はない。潜伏期を考慮すると、平成 29 年度以降の実験継続が必要である。

2-3) L-および H-BSE 実験感染牛の発症牛の可食部位のプリオン感染価の解析

L-BSE 感染牛の可食部 (骨格筋: 上腕三頭筋、半腱様筋、大腰筋、最長筋) の乳剤を TgBovPrP に接種したところ、全ての試料でマウスの発症が認められた。平成 26 年度に作成した L-BSE の感染価-潜伏期標準曲線から、感染価を推定した結果、これらの可食部には、脳の 1/10,000 程度の感染価が存在することが判明した。また、H-BSE の感染価を測定するための感染価-潜伏期標準曲線を作成した。これにより、H-BSE 感染牛の可食部の感染価の定量解析が可能となった。

3) 潜在的な非定型 BSE の存在リスクの推定、非定型 BSE が C-BSE の起源となる可能性の推定

3-1) C-BSE と非定型 BSE を一回の反応で、検出感・識別可能な RT-QuIC 法の構築

rCerPrP を基質として用いた場合、C-BSE および L-BSE とともに、被検試料の脳乳剤濃度が最高となる 10^{-3} 希釈でも陽性となり、rCerPrP のロットを変更しても再現性があった。また、L-BSE および C-BSE とともに 10^{-7} 希釈まで再現

性良く陽性となることから、rCerPrP を用いた RT-QuIC 法は、ELISA や WB よりも 10,000 以上検出感度が高く、TgBovPrP を用いたバイオアッセイよりも 10 倍程度感度が高いことが確認できた。H-BSE プリオンも 10^{-3} ~ 10^{-8} 希釈で検出可能であった。

この反応系に、終濃度 0.1% となるように非感染牛脳乳剤を加えると、L-BSE の検出限界は 10^{-8} と 1 段階上昇したが、C-BSE の検出限界は 10^{-3} までと著しく低下した。従って、rCerPrP を用いた RT-QuIC 反応を、非感染牛脳乳剤存在/非存在下で行うことで、一回の RT-QuIC 法で、C-BSE と L-BSE の高感度検出と識別が可能となった。

rCerPrP 以外に、マウス、ハムスター、ウシ、およびハタネズミの組換え PrP を使用したが、被検試料の脳乳剤濃度が最高となる 10^{-3} 希釈でも安定して陽性となり、かつ 10^{-7} 希釈まで再現性良く陽性となるのは rCerPrP を基質とした RT-QuIC であった。

ステンレススチールワイヤーに付着したプリオンの活性を 2 日間程度で評価できる Wire-QUIC 法を開発した。この方法により、RT-QuIC 法の適用範囲の拡大が期待できる。

3-2) L-BSE が C-BSE の起源となる可能性。

10%非定型 L-BSE 感染脳乳剤を、2 規定(N) から 2 倍階段希釈 ($2 \sim 1/16N$) した等量の塩酸または水酸化ナトリウムと混合し、その後 C-BSE の PrP^{Sc} を増幅する PMCA 法を実施した。塩酸による処理では、PMCA による増幅後、1N 以下の検体でわずかな PrP^{Sc} 様のバンドを検出し、無処理でも検出された。バンドサイズから C-BSE と異なると判断した。または水酸化ナトリウム処理では、無処理検体のみ PrP^{Sc} 様のバンドが検出された。従って、酸およびアルカリ処理のいずれも C-BSE 様の PrP^{Sc} は検出されなかった。

D. 考察

1) 非定型 BSE 感染動物における感染病態機序の解明

嗅脚における PrP^{Sc} の検出時期は、L-BSE は C-BSE に比べ、12 か月早い接種後 7 か月であった。嗅脚は、線条体よりも中脳および延髄からは遠位であるが、L-BSE の PrP^{Sc} の蓄積時期が C-BSE よりも早いことから、L-BSE の PrP^{Sc} が蓄

積しやすい部位であると考えられた。原因不明の死亡牛の検査では、この部位を採材することで、確実に L-BSE を摘発できると思われる。

C-, L-, H-BSE プリオン感染 TgBovPrP の脳幹のトランスクリプトームでは、3 種の BSE プリオン感染で共通して発現が上昇するのは、主にミクログリアで発現が上昇する遺伝子群であった。つまり、ミクログリアの活性化は BSE プリオンの種類を問わず共通の現象であることが示された。一方で、C-, L- あるいは H-BSE プリオンの感染に対して特異的に発現が上昇する遺伝子群の存在を明らかにした。ミクログリアが同じように活性化する一方で、C-, L-, H-BSE プリオンの感染に対する宿主の反応の違いは、プリオン病の神経変性機構を考える上で非常に興味深い現象である。

C-BSE 由来 PrP^{Sc} の見かけ上の分子量が、高温消化条件で大きくなる現象を見出した。このメカニズムは不明であるが、本現象はウシ C-BSE プリオンの判別法として有用と思われる。ただし、新たに生じた PrP^{Sc} 断片と、通常の消化条件で得られる PrP^{Sc} 断片との感染性や病原性を検討して C-BSE の生物性状を維持しているか確認する必要はある。

非感染牛の脳組織では、特定の部位で PrP^{Sc} 特異抗体 mAb8D5 により検出されるシグナルが認められた。脳の特定の領域に存在する PrP 分子種または何らかのタンパク質に反応するものと考えられ、牛脳組織では mAb8D5 による PrP^C と PrP^{Sc} の区別が困難であることが示唆された。一方、抗 PrP 抗体 mAb132 はエピトープの密度が高くなると反応性が向上するため、PrP を過発現するマウスでは PrP^C 由来のシグナルを検出する可能性が予想されたが、嗅球を除いては TgBovPrP の脳組織における PrP^{Sc} の解析に使用可能であると思われる。

2) 非定型 BSE のヒトへのリスクの推定に資する研究

L-BSE を経口接種して 3 年を過ぎた時点で、カニクイザル 2 頭の体液から、一過性であるが PrP^{Sc} が検出されたことから、L-BSE は経口的にヒトに感染する可能性があると考えべきである。接種後 5.5 年を経た時点で、臨床症状は呈していないが、平成 28 年度末に安楽死を行い、組織・臓器からの PrP^{Sc} 検出を行い、ヒトに近い真猿類での L-BSE 経口感染リスクを最終的に判断する。

L-BSE の臨床症状期の牛の筋組織(可食部位:

上腕三頭筋、半腱様筋、大腰筋、最長筋)に BSE の感染性が分布していることが明らかとなった。筋組織は脳と比べて 1/10,000 程度の感染価を有していると推定できる。L-BSE は経口ルートでヒトへ感染する可能性があると考えられることから、感染価は低いながらも慎重な対応が必要と思われる。

3) 潜在的な非定型 BSE の存在リスクの推定、非定型 BSE が C-BSE の起源となる可能性の推定

rCerPrP を基質に用いて、RT-QuIC の反応系に非感染牛脳乳剤を添加することで、一回の RT-QuIC 反応で、検出感度を損なうことなく、C-BSE と L-BSE を識別可能となった。rMoPrP を基質とした場合は、非感染牛脳乳剤の添加により、C-BSE および L-BSE の増幅がともに阻害されることから、RT-QuIC に用いるシード (異常型プリオンタンパク質)、基質 (組換え PrP)、および脳乳剤に含まれる正常型プリオンタンパク質の組み合わせにより、結果が大きく変化する。rCerPrP 以外に、マウス、ハムスター、ウシ、およびハタネズミの組換え PrP を使用したが、被検試料の脳乳剤濃度が最高となる 10^{-3} 希釈でも安定して陽性となり、かつ 10^{-7} 希釈まで再現性良く陽性となるのは rCerPrP を基質とした RT-QuIC であり、rCerPrP のロットにも影響されなかった。これまで rCerPrP を基質とした BSE 検出系は報告されていないが、rCerPrP は BSE プリオンの増殖に有効であると考えられる。

本年度は、L-BSE プリオンが、塩酸または水酸化ナトリウム処理により C-BSE 様に変化する可能性を調べたが、直接的な結果は得られなかった。非定型 BSE が C-BSE の起源であるとの考えは推測の域をでないが、この可能性を探るためには、複雑な条件等が必要である。

E. 結論

1) 非定型 BSE 感染動物における感染病態機序の解明

- L-BSE 感染牛における PrP^{Sc} の脳内分布が改めて確認できた。原因不明の死亡牛の検査では、嗅脚などを採材することで、確実な摘発が可能になると思われる。
- C-, L-, H-BSE プリオン感染ウシ PrP 発現トランスジェニックマウスの比較から、3 種

の BSE プリオンに共通した宿主応答、およびそれぞれの BSE プリオンに特長的な宿主応答があることを明らかにした。

- C-BSE の PrP^{Sc} が熱処理により PrP^{Sc} の分子サイズが変化するという、これまでに報告がない生化学的特徴を見出した。

2) 非定型 BSE のヒトへのリスクの推定に資する研究

- L-BSE を経口接種したカニクイザルの 2 頭ともが、接種後 3 年経過した時点で、一過性ではあるが体液から PrP^{Sc} が検出された。この結果は L-BSE が経口ルートでヒトに感染する可能性を示唆する重要な結果である。
- L-BSE 感染牛の可食部 (骨格筋: 上腕三頭筋、半腱様筋、大腰筋、最長筋) に脳の 1/10,000 程度の感染価が存在する。
- H-BSE 感染価を定量するための感染価-潜伏期標準曲線を作成した。

3) 潜在的な非定型 BSE の存在リスクの推定

- C-BSE と L-BSE プリオンの高感度検出および識別を一回の反応で実施可能な RT-QuIC 法を確立した。
- L-BSE プリオンが単純な化学処理により C-BSE 様に変化する可能性は低いと考えられる。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

各研究分担者の報告書を参照

2. 学会発表

各研究分担者の報告書を参照

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし