

我が国における牛海綿状脳症 (B S E) 診断法の標準化に関する 緊急調査研究

(研究期間 : 平成 1 3 年度)

研究代表者 : 清水 実嗣 (農業技術研究機構動物衛生研究所)

研究課題の概要

牛海綿状脳症 (Bovine Spongiform Encephalopathy; B S E) の診断法としては、脳材料を用いた病理学的診断法および異常プリオンタンパク質 (PrP^{Sc}) の検出を目的とした生化学的診断法が主体となっているため、日本における検査試料の採取・スクリーニング・輸送・保存時の取り扱いから始まる、一連の BSE 検査における病理学的並びに生化学的診断法の実施条件を検討する。

(1) 総 評

本課題は BSE 診断法の標準化に伴い必要な、各試験手法の最適化を目的としている。材料前処理、生化学的診断法、病理学的診断法、スクリーニング法の 4 項目に絞った目標設定は適切であり、それは十分達成されたものと考えられる。

本研究の科学的価値に関しては、プロトコルの整備による判定の迅速化等、概ね高いものと考えられるが、技術的新しさについては説明不足であり、研究目的の性質上、BSE に関しての科学的に新しい知見が得られたものではないことに留意する必要がある。また、他国の BSE 診断体制 / プロトコルとの比較を実施することにより、より実りのある研究となっただろう。ただし、達成された内容の、科学的・技術的波及効果及び社会的波及効果については、十分期待できると考えられる。

本研究の情報発信については、概ね行われたものと考えられるが、対象が実務者に限定されており、課題の国民的な関心を勧奨すると、広く国民に対して本研究のベネフィットを説明していない点が残念である。さらに、本研究の国際的な位置づけや価値についても言及が足りず評価しがたい。なお、研究における実施機関の連携については、科学技術振興調整費を用いた他の研究と比較すると十分とは言えないが、研究期間について制約があることを考えるとやむを得ない部分もあり、指導性、連携・整合性については、研究期間を考慮に入れた上では、十分なものであったと考える。

研究のさらなる発展のために、疫学者、統計学者神経内科等からの参加があると良いとも考えられたが、本研究課題については、我が国における食肉の安全性を担保するために実施されることとなった B S E 診断の、標準化・効率化に資するものであり、研究目標の範囲で考えれば、非常に優れた研究であった。

B S E については現在、実験室的な手法を用いて全頭検査が実施されているが、特異度、感度が高く、より単純化された手法を標準化し、将来的に新たなスクリーニング法が確立させ、ひいては生体での調査及び感染経路の追跡調査が可能な手法等を開発することにより、効率的な調査及び感染経路の追及が実現化することを望みたい。

< 総合評価 : a >

(2) 各テーマにおける評価結果

牛海綿状脳症 (B S E) 脳材料の分析前処理条件の検討

B S E の病理組織学的診断に適した採材部位及び保存条件を明らかにするために、

健康牛の延髄門領域における神経核の分布の検査、脳の固定前の保存の病理組織学的検査に及ぼす影響の検査、BSE感染牛の延髄の各領域におけるPrP^{Sc}の蓄積量の検討を行った。これら検討された問題は、BSE診断法の標準化に重要ではあるものの、他国でのBSE診断法の問題点の指摘が明確にされていなかった。

牛海綿状脳症（BSE）の生化学的確定診断法の標準化

複数の市販のBSE診断キットについて検出感度及び操作性の検討を行った。また、BSE確定診断に用いるウェスタンブロット法を、簡便、迅速かつ検出感度の高い方法に改良し、標準化プロトコルを策定した。さらに、各種プリオンタンパク質を抗原に用いて、モノクローナル抗体の作出を試み、免疫組織化学的検査における反応性を検討し、認識するエピトープが異なる3種類の抗体が得られた。

牛海綿状脳症（BSE）の免疫病理学的確定診断法の標準化

農林水産省BSEサーベイランス事業等で収集された国内飼養牛の延髄について、病理組織学的検討を行うと共に、検討期間中である2001年9月に千葉県で発生したBSEの確定診断を行った。また、組み換えマウスプリオンタンパク質に対するマウスモノクローナル抗体の作出を試み、これまで用いられていたウサギのポリクローナル抗体との反応性の比較を行い、同様の反応性を示す抗体が得られた。また、作出されたモノクローナル抗体について、スイス製の市販モノクローナル抗体(6H4)と同様の性能が示された。

抗体を得たことそのものは目新しいものではなく、今後どのように発展させるかが重要である。

牛海綿状脳症（BSE）のと畜場におけるスクリーニング法

2001年10月より全国で開始された、BSE検査のスクリーニング法で用いられているELISA法における疑陽性例の抑制のため、異常型プリオンタンパク質の簡便な特異的濃縮方法について検討し、リンタングステン法が有効であることが判明した。また、2日弱で実施できる迅速な病理・免疫組織化学的検査法を確立した。

異常型プリオンタンパク質の濃縮を実施するにあたり、検査実施者に対する安全性の考慮について十分な説明がなく、配慮不足の懸念がある。

BSEの病理・免疫組織化学的検査法の既存プロトコルの所要時間がOIE（国際獣疫事務局）マニュアルでは3日であったところを、2日弱に短縮した点においては、新たな進歩であるものと考えられる。

また、ウェスタンブロット法及び病理・免疫組織化学的検査法を用いた確定診断法については、今後、国際的にも通用するプロトコルとなるよう、海外への発信を行うことが重要であると考えられる。

(3) 評価結果

総合評価	1.目標達成度	2.目標設定	3.研究成果				4.研究体制	
			(1)科学価値	(2)科学的波及効果	(2)社会的波及効果	(3)情報発信	(1)代表者	(2)連携等
a	a	a	b	a	a	b	a	a