

## 2. 人獣共通感染症としてのプリオン病

堀内 基広

北海道大学・大学院獣医学研究科・プリオン病学講座

1996年に変異型クロイツフェルト・ヤコブ病(vCJD)の存在が報告されてから、プリオン病は人獣共通感染症と認識されるようになった。2001年には我が国でもBSE感染牛が見つかり、大きな社会問題となった。欧州におけるBSE発生は減少傾向にあり、英国におけるvCJDの発生も減少傾向が認められるが、欧州以外の国でのBSEの発生、輸血によるvCJDの伝播、日本におけるvCJD患者の発生など、危惧していたことが次々に現実となった。BSEの感染拡大防止と撲滅には、BSEスクリーニング/サーベイランス、特定危険部位の除去、飼料規制の継続が必要である。また、輸血用血液、医薬品原料などのプリオン汚染を摘発して排除するためには、高感度プリオン検出技術の開発が望まれる。さらに、人プリオン病の治療法確立も重要な課題である。

### vCJDの発生状況

vCJDの発生数を図1に示した。英国では2004年から減少傾向が認められる。これまでにvCJDを発症した患者はPrPコドン129のアミノ酸多型がM/Mであるので、M/Mタイプの人における発生はこのまま減少していくかもしれない。一方、英国で虫垂あるいは扁桃除去手術の試料を免疫組織化学により調べた結果、3/12,674がPrP<sup>Sc</sup>陽性であった。この結果を英国の人口に外挿すると、3,800名程度の感染者が存在するという試算も報告されている<sup>1)</sup>。

英国以外では、フランスで11例、イタリア2例、アイルランド、カナダ、アメリカ各1例、2005年に入り、オランダ、日本でvCJD患者が報告された。日本のvCJD症例は、短期間の英国滞在中に感染を受けたと考えられている。食肉等を介する場合、感染成立は、摂取量や摂取形態のみならず、侵入門戸への到達などの確率論にも依存する。短期間の滞在中に感染を受ける可能性も十分に考えられる。あるいは、PrP以外にvCJDの感受性に関与する遺伝背景や

環境要因があるかもしれない。英国の虫垂の検索結果と合わせて、潜在的なvCJD感染の可能性を軽視できる状況ではないと思われる。

BSE実験感染羊の血液の輸血により病気が伝達されたことから、輸血によるvCJDの伝播が危惧されていたが、現実のものとなった。一例(PrPコドン129:M/M)は、献血の3年半後にvCJDを発症した人由来の赤血球を輸血された6年半後にvCJDを発症した<sup>2)</sup>。もう一例(PrPコド

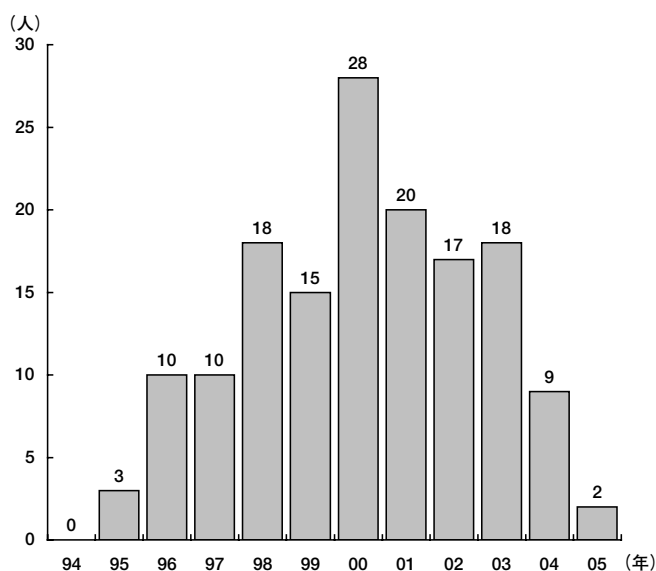


図1 英国におけるvCJD患者数の推移

### 連絡先

〒060-0818 札幌市北区北18条西9丁目

TEL : 011-706-5293

FAX : 011-706-5293

E-mail : horiuchi@vetmed.hokudai.ac.jp

ン129：M/V)は、献血の18ヶ月後にvCJDを発症した人由来の赤血球を輸血された人で、5年後に腹大動脈瘤破裂により死亡した。この患者の脾臓からPrP<sup>Sc</sup>が検出されたが、脳からは検出されなかった<sup>3)</sup>。この患者が将来vCJDを発症したかは知ることができない。しかしこの事例から、PrP コドン M/VあるいはV/Vの人がvCJDに感染する可能性は否定できなくなった。

### BSEの発生状況

英国では1992年をピークにBSEの発生が減少していたが、2004年について年間の発生が1,000頭を割った。また、EU諸国でも発生数は減少傾向にある<sup>4)</sup>。一方、カナダ、イスラエル、日本、アメリカ、とEU以外の国でもBSE感染牛が摘発されており、EU以外にも感染は拡大している。汚染状況が低いと考えられる地域では、BSEのサーベイランスを強化しない限り、真の汚染状況は判らない。

日本では2001年9月に一例目が確認された。翌10月には、食肉に供される牛全頭と対象とした検査が開始され、2004年4月から、24ヶ月齢以上の死亡牛全頭を対象とした検査が完全に実施された。BSE発生頻度が高い死亡牛の検査の開始が遅れたことが、我が国のBSE汚染状況を把握する上で障害となったのは残念である。これまで、約450万頭以上が検査され、17頭のBSE感染牛が摘発された<sup>5)</sup>。

当初摘発されていた牛は1995～96年にかけて生まれた

個体であったことから、この時期にリスクが一時的にあったとも考えられた。しかし、2004～2005年の検査では、1999～2000年に生まれた牛3頭が摘発されたことから、その後も感染源が国内に存在したことが明らかとなった(図2)。1999～2000年生まれの子牛の感染源が、国内のBSEがレンダリングを経てリサイクルされた結果なのか、海外からの飼料などの輸入によるものかは判らない。BSEの潜伏期は4～6年であり、汚染度が低ければ潜伏期は長くなることから、2000年以降に生まれた牛がBSE好発年齢に入るのは今後である。また、2001年の肉骨粉等動物由来飼料使用の法規制後に生まれた牛でのBSE発生頻度により、規制の実効性と規制後のBSE汚染状況が明確になると思われる。従って2001年以降に生まれた牛がBSE好発年齢に達するまでは、対象となる牛のBSEサーベイランスは継続する必要がある。BSEの感染源は飼料と考えられる。肉骨粉の使用は2001年に法的に規制された。国内で使用している飼料に占める輸入配合飼料の割合は0.5%程度と低いが、輸入配合飼料の規制は殆どない。仮に国内での動物由来飼料の規制が効果を発揮していると考えれば、海外からの汚染源の侵入を断つことに一層の注意を払う必要がある。

日本ではBSE被疑牛からBSE感染牛が摘発された例はない。これまで摘発された24ヶ月齢以上のBSE感染牛は、健康牛としてと畜場で処理されたものが5頭、と畜場で病

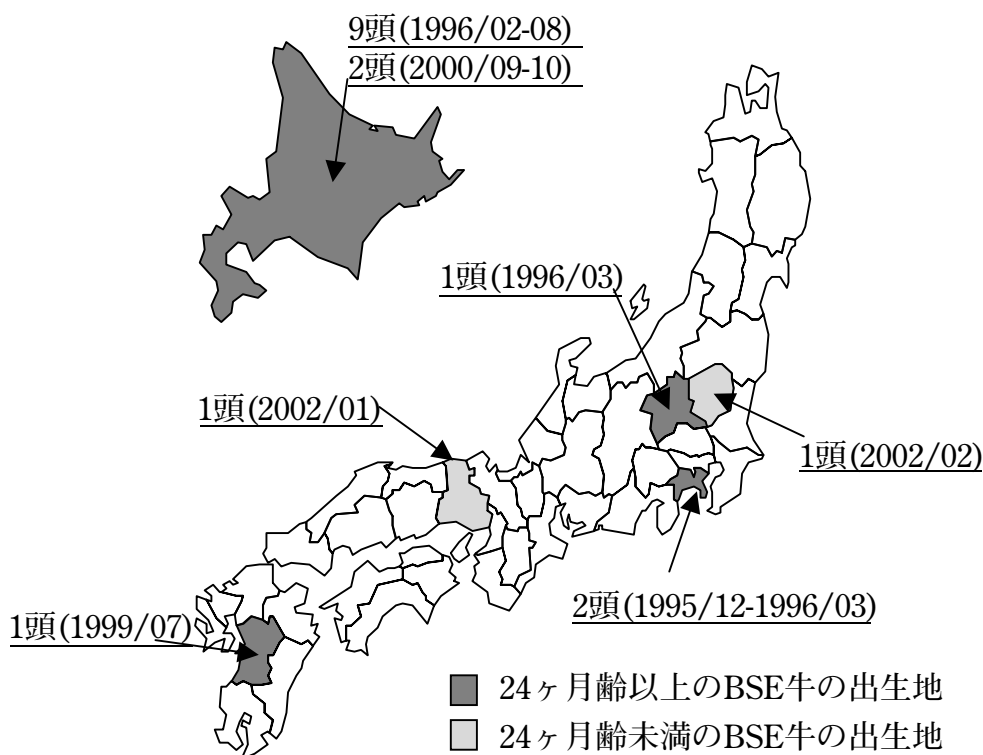


図2 日本のBSE牛の出生地と出生時期

畜として処理された個体が5頭、死亡牛などの検査で摘発された個体が5頭である。と畜場で病畜として処理された牛および死亡牛は、EUではリスク牛に分類される。EUの分類に拠って日本のBSEの発生頻度を計算すると、リスク牛で20倍ほど高いことがわかる(表1)。

### BSE 迅速検査用キットとその評価

1998年にプリオニクス社が、世界初のBSE検査キット“Prionics-Check”を販売した。その後、Bio-Rad社、Enfer社が、BSE検査キットを発売し、2000年から2001年にかけてEU諸国でBSE検査が実施されるようになった。ECでは3度BSEの迅速検査法の評価を実施し、これまでに19キットが評価を受けた(表2)<sup>6,8)</sup>。そのうち12キットがフィールド試験を終了して、EC(現在はEuropean Food Safety Authority, EFSA)の承認を受けている。

BSE迅速検査キットは、ウエスタンブロット(Prionics-Check WB)、2種の抗体を使用するsandwich-ELISA(Platelia BSE Kit, FRELISA BSE, Prionics-Check LIA, aCDIなど)、PrP<sup>Sc</sup>を選択的に結合するポリマーを使用した直接ELISA(Enfer BSE Kit, IDEXX HerdCheck BSE Atigen Test Kit)、filter-ELISA(CediTect BSE test)、イムノクロマト法(Prionics-Check PrioSTRIP)に大別される(表2)。各々のキットにはそれぞれ特徴がある。Platelia BSE Kitは試料調整の簡便化に成功した一例である。Enfer BSE KitやIDEXX HerdCheck BSEはPrP<sup>Sc</sup>を選択的に結合する化学物質をコートしたプレートを使用している点が特徴である。IDEXX社のキットではMicrosens Biotechnology社がライセンスを有するSeprionと呼ばれる化学ポリマーを使用している。この化学ポリマーはPrP<sup>Sc</sup>に対する選択性が高いらしく、IDEXX社のキットでは試料

表1 我が国のBSE陽性率

区分	A 農水 死亡牛など (24ヶ月齢以上)	B 厚労 病牛としてと畜 (24ヶ月齢以上)	A+B EUのリスク牛に 相当する集団 (24ヶ月齢以上)	C 厚労 健康牛としてと畜 (30ヶ月齢以上)
検査頭数	145,373	19,879	165,252	1,740,937
BSE陽性牛数	5	5	10	5
陽性率(100万頭当たり)	34.4	251.5	60.5	2.9

表2 ECによるBSE迅速検査キットの評価

	会社など	キット名	原理/特徴	検出法	検出限界
第一回 (1999年) 4社	Prionics, Switzerland	Prionics-Check WB	WB	化学発光	10 <sup>-1</sup> (15/20)
	Enfer Technology, Ireland	Enfer TSE Kit	直接ELISA	化学発光	10 <sup>-1.5</sup> (20/20)
	CEA (Bio-Rad), France	Platelia BSE detection Kit	Sandwich-ELISA	発色	10 <sup>-2.5</sup> (18/20)
第二回 (2002年) 5社	ID Lelystad, Netherlands	NA	Filter-assay / 変性・未変性測定	化学発光	1: 81 (4/4)
	Prionics, Switzerland	Prionics-Check LIA	Sandwich-ELISA	化学発光	1: 243 (2/4)
	USDA (InPro), USA	aCDI	Sandwich-assay / 変性・未変性測定/PTA沈殿	時間分解蛍光	10 <sup>-2.0</sup> (2/4)
	MRC prion unit, Imperial College, UK	NA	Sandwich-assay	電子化学発光	1: 270 (10/12)
第三回 (2004年) 10社	CEDI Diagnostic, Netherlands	CediTect BSE test	Filter-assay / 変性・未変性測定	化学発光	>1: 200 (5/6)
	Fujirebio, Japan	FRELISA BSE	Sandwich-ELISA	発色	>1: 200 (6/6)
	IDEXX Laboratories, USA	IDEXX HerdCheck BSE Antigen Test Kit, EIA	直接ELISA / PK処理無	発色	1: 800 (5/6)
	Institut Pourquier, France	Institut Pourquier Speed'it BSE	Sandwich-ELISA	化学発光	1: 64 (4/5)
	Labor Diagnostik Leipzig GmbH, Germany	Priontype post mortem	Sandwich-ELISA / PK処理無	発色	1: 25 (4/4)
	Prionics, Switzerland	Prionics-Check PrioSTRIP	Lateral flow	目視	1: 100 (16/16)
	Roboscreen GmbH, Germany	Roboscreen Beta Prion BSE EIA Test Kit	Sandwich-ELISA	発色	>1: 200 (6/6)
	Roche Diagnostics GmbH, Germany	Roche Applied Science PrionScreen	Sandwich-ELISA	発色	1: 100 (10/12)
Enfer Scientific, Ireland	Enfer TSE Kit v2.0 (autom. Sample prep.)	直接ELISA	化学発光	>1: 200 (10/12)	

第一回から第三回まで、エントリーしたキットの中で、感度と特異性をクリアしたキットのみ表に示した

調整にPKを使用していない。aCDIとCediTect BSE testでは、PrP<sup>Sc</sup>を変性および未変性の条件で抗体との反応性を解析する。PrP<sup>Sc</sup>は未変性条件下では抗PrP抗体のエピトープをあまり露出していないが、変性に伴いエピトープが露出し、抗体の反応性が上昇する。変性・未変性条件下で構造の変化に伴う抗体の反応性の差を測定することでS/N比の向上が見込まれる。InPro社はこの特徴から“CDI (conformation dependent immunoassay)”と呼んでいる。PrP<sup>Sc</sup>の濃縮にリンタンゲステン酸(PTA)を使用した点もaCDIの特徴の一つである<sup>9)</sup>。

現在の技術水準では、感度および特異性は100%一致す

ることは最低条件であり、検出限界がキットの性能を見極める判断材料となる。三回の評価報告を総合的に判断すると、良好な検出限界を示すキットは1:200以上の希釈でも陽性の反応を呈している。つまり、BSE発症牛の延髄に蓄積しているPrP<sup>Sc</sup>の1/200程度の量のPrP<sup>Sc</sup>が蓄積している感染牛を摘発可能な感度を有している。

### PrP<sup>Sc</sup>の検出感度

図3に国内4例目と7例目のBSEの検査結果を示した。4例目はELISAの吸光度が3.0以上であり、確認検査でもWBおよびIHCでPrP<sup>Sc</sup>の蓄積が確認でき、HE標本でも

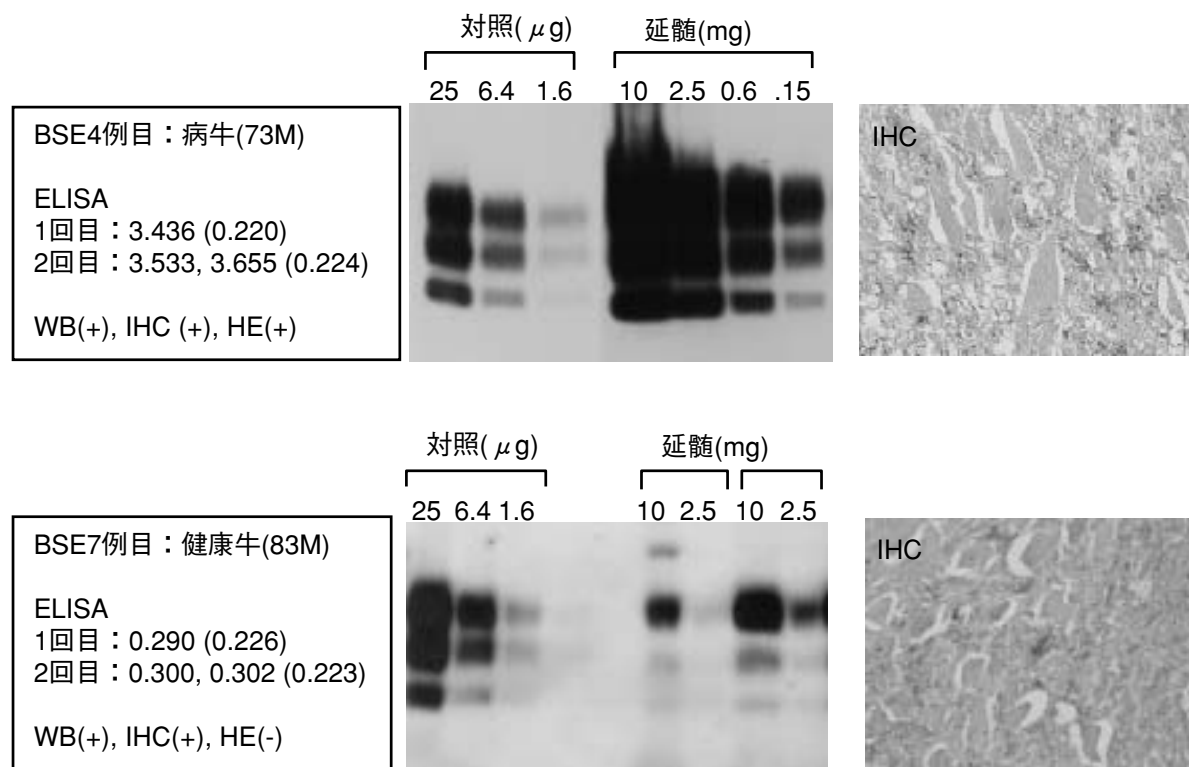


図3 BSE検査結果

上段(国内4例目)、下段(国内7例目)。ELISAのカッコ内の値はカットオフ値。迷走神経背側核の免疫組織化学(IHC)を示した。7例目はELISAの値はカットオフ値よりも僅かに高い程度であるが、WB、IHCとも明らかに陽性像を呈した。

表3 PrP<sup>Sc</sup>の検出限界

		OB-ELISA			WB
		発色 (TMB)	化学発光 (CSPD)	化学発光 (CSPD) + PTA 沈殿	
マウス スクレイパー	脳希釈	4 <sup>-7</sup>	4 <sup>-8</sup>	4 <sup>-9</sup>	NT
	組織当量 (ng)	920	230	125 ~ 50	NT
	感染価 (LD <sup>50</sup> )	400	100	25	NT
BSE牛	延髄希釈	2 <sup>-9</sup>	2 <sup>-11</sup> (=10 <sup>-3.3</sup> )	NT	NA
	組織当量 (μg)	33	8	NT	2 ~ 8

神経細胞および神経網の空胞変性が認められた。一方、7例目はELISAの吸光度が0.3とカットオフ値よりも僅かに高いだけであった。確認検査ではWBおよびIHCで明らかな陽性所見が認められたが、HE標本では空胞変性は認められなかった。この例から、WBおよびIHCが確認検査として十分な感度を有していること、また、予想通りHE標本による検索は感度が低いことも確認できた。

PrP<sup>Sc</sup>の免疫生化学的検出法の感度は、プリオン感染価にするとどの程度であろうか？一例として、表3にOB-ELISA (FRELISA BSEのプロトタイプ)によるPrP<sup>Sc</sup>検出とバイオアッセイから得られたプリオン感染価を比較した結果を示した。OB-ELISA (発色法)ではスクレイパー感染マウス脳の4<sup>-7</sup>希釈 (920 ng 組織相当)、OB-ELISA (化学発光)では4<sup>-8</sup>希釈 (230 ng 組織相当)まで検出できた。バイオアッセイから得られた感染価に換算すると発色法で約400 LD<sub>50</sub>、発光法で100 LD<sub>50</sub>が検出限界である。試料調整にリンタングステン酸 (PTA) 沈殿法を導入すると<sup>9)</sup>、さらに4倍感度が上昇した。つまり、現時点でELISAをベースにしたPrP<sup>Sc</sup>の検出感度は、25 LD<sub>50</sub>程度ということになる。また、OB-ELISA (化学発光)でBSE感染牛脳からPrP<sup>Sc</sup>を検出した場合、10<sup>-3.3</sup> (8 μg 組織相当)希釈まで検出可能であった。計算上、BSE牛の脳に蓄積するPrP<sup>Sc</sup>量の1/2000が検出限界となる。また、確認検査用WBでは検出限界はBSE発症牛脳2~8 μg 組織相当であった。試料調整法にPTA沈殿法などを導入してさらに濃縮すると、一レーンあたりにアプライできる組織当量が増すので、WBの感度がさらに上昇する。このように高感度化したWBを用いて、日本で発生したBSE牛の末梢神経、副腎などでもPrP<sup>Sc</sup>が僅かに検出されている<sup>10)</sup>。

Platelia BSE Kitの牛PrP<sup>Sc</sup>検出限界は1/300~1/1,000希釈で、RIIIマウスにおけるバイオアッセイと比較した場合、同キットでのBSEプリオン検出限界は1LD<sub>50</sub>程度と報告されている<sup>11)</sup>。RIIIマウスは野生型マウスの中ではBSEに感受性が高い系統であるが、ウシPrP<sup>Sc</sup>発現トランスジェニック (Tg) マウスを用いたバイオアッセイのほうが1000倍程度感度が高いと考えられている<sup>12)</sup>。SafarらはCDIでBSE牛の脳を10<sup>-4</sup>希釈してもPrP<sup>Sc</sup>を検出可能であり、CDIによるPrP<sup>Sc</sup>検出感度はウシPrP-Tgマウスを用いたバイオアッセイの検出感度と同程度であると報告している<sup>12)</sup>。

### PrP<sup>Sc</sup>の増殖抑制とプリオン病治療薬の候補

PrP<sup>Sc</sup>の蓄積を阻害する物質は、プリオンの増殖を抑えると考えられることから、プリオン病の治療薬の候補となり得る。これまでに、プリオン持続感染神経芽細胞 (Sc<sup>+</sup>MNB)を用いて、多くの候補が得られている。硫酸デキストランや硫酸ペントサンなどの硫酸多糖体<sup>13)</sup>、ポリエー系抗生物質<sup>14)</sup>、ポルフィリン誘導体<sup>15)</sup>、キナクリンなどのアクリジン誘導体<sup>16,17)</sup>、クロロプロマジンなどのフェノチアジン誘導体<sup>17)</sup>、分枝ポリアミン<sup>18)</sup>、システインプロテアーゼインヒビター<sup>16)</sup>、タンニン酸などのポリフェノール類<sup>19)</sup>、アミロイド結合性色素<sup>20)</sup>、PrPペプチド<sup>21)</sup>、β-breaker peptide<sup>22)</sup>、変異PrP<sup>23)</sup>、siRNA<sup>24)</sup>、抗PrP抗体など、数多くの例が挙げられる。これらの一部は、in vivoでも試験されているが、予防という観点からは効果が期待できるものがあるが、治療という観点からは、現状では効果が期待できるものは多くない。今後、候補物質の作用機序の解析、投与方法や薬物動態の検討などを進めるこ

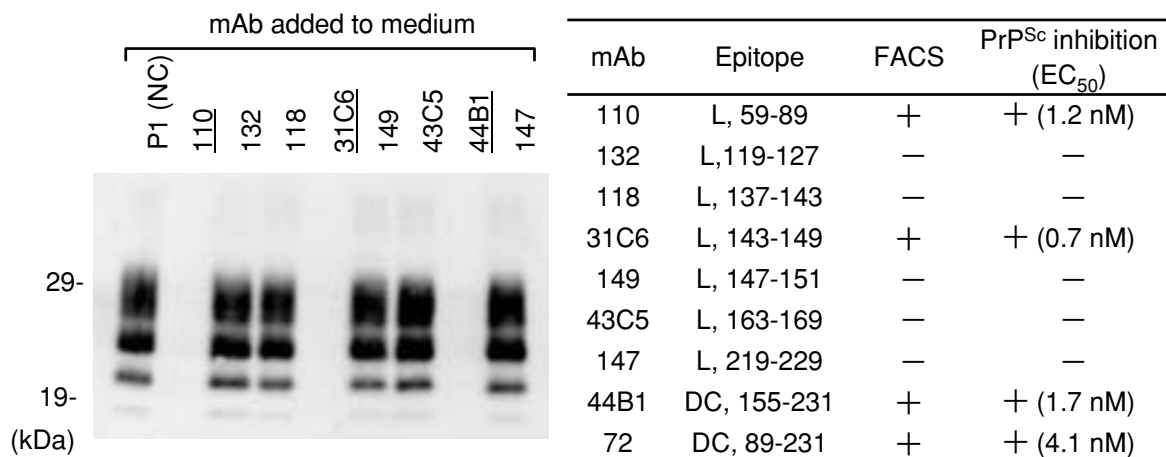


図4 抗PrP抗体によるPrP<sup>Sc</sup>産生抑制

プリオン持続感染マウス神経芽細胞を抗PrP抗体で処理後にPrP<sup>Sc</sup>をWBにより検出した (左)。表には、抗体が認識するエピトープ、細胞膜上PrP<sup>C</sup>との反応性 (FACS)、およびPrP<sup>Sc</sup>産生抑制のED<sub>50</sub>を示した。Lは連続エピトープ、DCは非連続エピトープ。

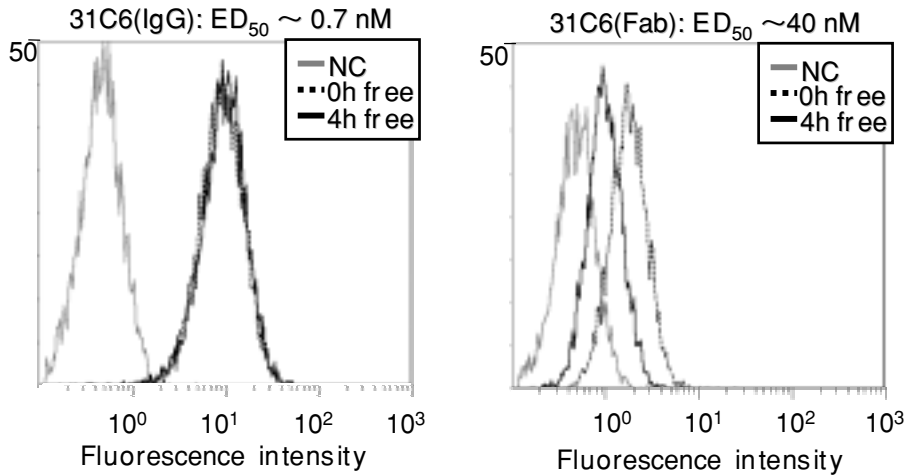


図5 PrP<sup>C</sup>-抗体複合体の動態

マウス神経芽細胞を mAb31C6 (IgG), およびその Fab'フラグメント存在下で1時間培養後直ちに (0 hr), あるいは抗体除去後に抗体非存在下で細胞を4時間培養し (4 hr), PrP<sup>C</sup>-抗体複合体を FACS により検出した。

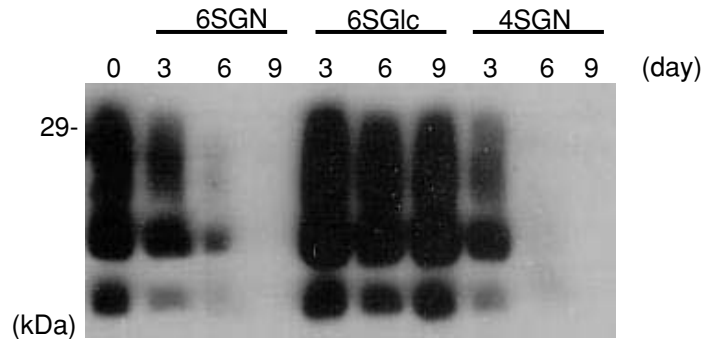


図6 人工合成硫酸化糖による PrP<sup>Sc</sup> 産生抑制

プリオン持続感染マウス神経芽細胞を合成硫酸化糖存在下で培養後に, PrP<sup>Sc</sup> を WB により検出した. 6SGN: 6-sulfo-GlcNAc; 4SGN: 4-sulfo-GlcNAc; 6SGlc: 6-sulfo-Glc.

とで, 効果的な治療法が見つかることが期待される. 本稿では抗 PrP 抗体と硫酸多糖体の PrP<sup>Sc</sup> 産生抑制について述べる.

#### 1) 抗 PrP 抗体の抗プリオン活性

PrP の第一  $\alpha$ ヘリックスと反応する抗体を Sc<sup>+</sup>NMB 培養液に添加して培養すると, PrP<sup>Sc</sup> が消失することが報告された<sup>25,26)</sup>. 筆者らは9種の異なるエピトープを認識する抗 PrPmAb パネルを用いて同様の実験を行なったところ, mAb が認識するエピトープとは関係なく, 細胞膜上の PrP<sup>C</sup> と強く反応する mAb に PrP<sup>Sc</sup> 増殖抑制効果が認められた (図4)<sup>27)</sup>. 抗体が PrP<sup>C</sup> と結合すると抗体-PrP<sup>C</sup> 複合体が細胞膜上に停留する. 抗体を Fab'にすると, Fab-PrP<sup>C</sup> 複合体の細胞膜上の停留は IgG に比べると弱く, PrP<sup>Sc</sup> 産生抑制効果も減少する (図5). これらの結果は, 抗体が結合すると PrP<sup>C</sup> が通常の分解経路に移行せず, PrP<sup>Sc</sup> 産生の基質と

なる PrP<sup>C</sup> が供給されなくなることが, 抗 PrP 抗体の PrP<sup>Sc</sup> 増殖抑制の機構の一つであることを示唆している. 勿論, 抗体が PrP<sup>C</sup> 上の特定のエピトープに結合することで, PrP<sup>C</sup> 上にある PrP<sup>Sc</sup> への結合ドメインをブロックする結果, PrP<sup>C</sup> が PrP<sup>Sc</sup> に結合できなくなる可能性もある. 細胞内において PrP<sup>Sc</sup> は生成と分解が行われており, 基質 (PrP<sup>C</sup>) の供給が不十分になると PrP<sup>Sc</sup> は分解されて消失すると考えられる.

抗 PrP 抗体がプリオン感染を防御することも報告されている. mAb6H4 を B 細胞上に IgM として発現する Tg マウスは, プリオンの腹腔内接種に抵抗性となる<sup>28)</sup>. この Tg マウスでは脾臓に PrP<sup>Sc</sup> の蓄積が認められないので, 末梢組織におけるプリオンの感染成立を阻害していると考えられる. また, 抗 PrP 抗体の受動免疫が末梢からのプリオン感染を病御できる<sup>29)</sup>. プリオンを腹腔内接種後, 7~30日

後に受動免疫を開始しても防御効果がある。受動免疫を開始した時点では既に脾臓で PrP<sup>Sc</sup> が検出されることから、末梢のリンパ系組織では感染が成立している。しかし発病を阻止できることから、抗 PrP 抗体の受動免疫は、プリオンが末梢組織から中枢神経系組織へ侵入する過程を阻止すると思われる。この受動免疫ではプリオンの脳内接種に対する防御効果ない。プリオンを末梢から感染させる以前に組換え PrP 免疫した場合には防御効果はあるが、プリオン接種後に免疫しても防御効果は殆ど認められない<sup>30)</sup>。従ってこれらの結果は、抗 PrP 抗体がプリオン感染初期の段階を標的とした予防法開発に応用可能であることを示唆している。

## 2) 硫酸化糖の抗プリオン活性

硫酸デキストランや硫酸ペントサン (PPS) などの硫酸化糖は、プリオン接種と同時に投与すると、プリオン感染を防御することが古くから報告されていた<sup>31,32)</sup>。その後、硫酸化糖が Sc<sup>+</sup>MNB の PrP<sup>Sc</sup> 増殖を阻害することも報告された<sup>13)</sup>。硫酸化糖の PrP<sup>Sc</sup> 増殖抑制機構として、PrP<sup>C</sup> のエンドサイトーシスを促進して PrP<sup>C</sup> の分解を促進するなど、PrP<sup>C</sup> の代謝経路に影響をおよぼす可能性が示唆されている<sup>27,33)</sup>。しかしポリアニオンという性質から、末梢から投与しても血液脳関門の通過は期待できない。堂浦らは、PPS の脳室内投与が、プリオン感染マウスで有意な延命効果があることを報告した<sup>34)</sup>。この発見をもとに、英国で人プリオン病患者の PPS 投与が開始されている。GAG のような天然型の硫酸化糖は硫酸化部位がランダムに硫酸化されているので、構造活性相関を解析することが困難である。硫酸化糖の抗プリオン活性に重要な基本構造が判るならば、より高い抗プリオン活性を持つ硫酸化糖の開発につながる事が期待できる。筆者らは、部位特異的に硫酸基やアセチル基が配座する人工合成硫酸化糖とそのポリマーの PrP<sup>Sc</sup> 産生抑制効果について検討しているが、4 位または 6 位の硫酸基と 2 位の N-アセチル基を有するグルコース配糖体が PrP<sup>Sc</sup> 産生抑制活性があることを見出している (図 6, 未発表)。

## おわりに

“プリオン” の概念が提唱されてから 20 年以上が経過した。難解な感染症の病原体の謎も徐々に紐解かれつつある。しかし、プリオンおよびプリオン病に対峙するためには、プリオン増殖の分子機構解明、神経変性機序の解明など、一層の基盤研究の進展が不可欠である。我が国では、今後数年間は BSE 感染牛が散発的に摘発されることが予想される。BSE の感染拡大防止には、BSE スクリーニング/サーベイランス、特定危険部位の除去、飼料規制を継続する必要である。BSE は牛から人へ感染が拡大し、さらに輸血により人から人へ感染が広がることも明らかとなった。医薬品原料などのプリオン汚染の評価、その他の汚染源の摘発

のためには、高感度プリオン検出技術の開発が望まれる。

脳内の PrP<sup>Sc</sup> 増殖を抑えることで、病気の進行を抑制できるかもしれない。培養細胞レベルの実験系では PrP<sup>Sc</sup> 増殖抑制活性を有する物質が数多く報告されている。しかし、血液-脳関門の通過、あるいは毒性の問題など、治療法開発には多くの課題が残されている。今後は、in vivo の試験により、これらの問題を解決し、実用的かつ効果的な治療法の模索に力を注ぐ必要がある。PrP<sup>Sc</sup> の増殖阻害により病気の進行は抑えられるかもしれないが、回復を考えた場合、変性した神経組織の再生も考慮する必要があるであろう。PrP<sup>Sc</sup> の増殖抑制効果と神経再生効果を併せ持つ治療法は、効果的な治療法を提供するかもしれない。

## 謝 辞

研究材料および情報を提供いただいた、動物衛生研究所・プリオン病研究センター・品川森一、横山隆、国立感染症研究所・佐多徹太郎、山河芳男、の諸先生に感謝致します。また、ここに示した結果の一部は、帯広畜産大学・古岡秀文、名古屋大学・西田芳弘、産業技術総合研究所・鶴沢浩隆、の諸先生との共同研究によるものです。

## 文 献

- 1) Hilton DA, Ghani AC, Conyers L, Edwards P, McCardle L, Ritchie D, Penney M, Hegazy D, Ironside JW. : Prevalence of lymphoreticular prion protein accumulation in UK tissue samples. *J Pathol* 203: 733-739, 2004.
- 2) Llewelyn CA, Hewitt PE, Knight RS, Amar K, Cousens S, Mackenzie J, Will RG. : Possible transmission of variant Creutzfeldt-Jakob disease by blood transfusion. *Lancet* 363: 417-421, 2004.
- 3) Peden AH, Head MW, Ritchie DL, Bell JE, Ironside JW. : Preclinical vCJD after blood transfusion in a PRNP codon 129 heterozygous patient. *Lancet* 364: 527-529, 2004.
- 4) OIE : Number of reported cases of bovine spongiform encephalopathy (BSE) in farmed cattle worldwide. [http://www.oie.int/eng/info/en\\_esbmonde.htm](http://www.oie.int/eng/info/en_esbmonde.htm)
- 5) 牛海綿状脳症 (BSE) 関係」ホームページ (Q & A など) <http://www.mhlw.go.jp/kinkyu/bse.html>
- 6) The evaluation of tests for the diagnosis of transmissible spongiform encephalopathy in bovines. European Commission, 1999.
- 7) The evaluation of five rapid tests for the diagnosis of transmissible spongiform encephalopathy in bovines (2ND study), European Commission, 2002.
- 8) The evaluation of 10 rapid post mortem tests for the diagnosis of transmissible spongiform encephalopathy in bovines, European Commission, 2004.
- 9) Safar J, Wille H, Itri V, Groth D, Serban H, Torchia M, Cohen FE, Prusiner SB. : Eight prion strains have PrP<sup>Sc</sup> molecules with different conformations. *Nat*

- Med 4: 1157-1165, 1998.
- 10) Iwamaru Y, Okubo Y, Ikeda T, Hayashi H, Imamura M, Yokoyama T, Shinagawa M. : PrPSc distribution of a natural case of bovine spongiform encephalopathy. International Symposium Prion Disease Food and Drug Safety, Sendai, Japan 2004.
  - 11) Deslys JP, Comoy E, Hawkins S, Simon S, Schimmel H, Wells G, Grassi J, Moynagh J. : Screening slaughtered cattle for BSE. *Nature* 409: 476-478, 2001.
  - 12) Safar JG, Scott M, Monaghan J, Deering C, Didorenko S, Vergara J, Ball H, Legname G, Leclerc E, Solfrosi L, Serban H, Groth D, Burton DR, Prusiner SB, Williamson RA. : Measuring prions causing bovine spongiform encephalopathy or chronic wasting disease by immunoassays and transgenic mice. *Nat Biotechnol* 20: 1147-1150, 2002.
  - 13) Caughey B, Raymond GJ. : Sulfated polyanion inhibition of scrapie-associated PrP accumulation in cultured cells. *J Virol* 67: 643-50, 1993.
  - 14) Mange A, Nishida N, Milhavet O, McMahon HE, Casanova D, Lehmann S. : Amphotericin B inhibits the generation of the scrapie isoform of the prion protein in infected cultures. *J Virol* 74: 3135-3140, 2000.
  - 15) Caughey B, Horiuchi M, Demaimay R, Raymond GJ. : Inhibition of protease-resistant prion protein formation by porphyrins and phthalocyanines. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 12117-17122, 1998.
  - 16) Doh-Ura K, Iwaki T, Caughey B. : Lysosomotropic agents and cysteine protease inhibitors inhibit scrapie-associated prion protein accumulation. *J Virol* 74: 4894-4897, 2000.
  - 17) Korth C, May BC, Cohen FE, Prusiner SB. : Acridine and phenothiazine derivatives as pharmacotherapeutics for prion disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 9836-9841, 2001.
  - 18) Supattapone S, Wille H, Uyechi L, Safar J, Tremblay P, Szoka FC, Cohen FE, Prusiner SB, Scott MR. : Branched polyamines cure prion-infected neuroblastoma cells. *J Virol* 75: 3453-3461, 2001.
  - 19) Kocisko DA, Baron GS, Rubenstein R, Chen J, Kuizon S, Caughey B. : New inhibitors of scrapie-associated prion protein formation in a library of 2000 drugs and natural products. *J Virol* 77: 10288-12094, 2003.
  - 20) Ishikawa K, Doh-ura K, Kudo Y, Nishida N, Murakami-Kubo I, Ando Y, Sawada T, Iwaki T. : Amyloid imaging probes are useful for detection of prion plaques and treatment of transmissible spongiform encephalopathies. *J Gen Virol* 85: 1785-1790, 2004.
  - 21) Chabry J, Caughey B, Chesebro B. : Specific inhibition of in vitro formation of protease-resistant prion protein by synthetic peptides. *J Biol Chem* 273: 13203-13207, 1998.
  - 22) Soto C, Kacsak RJ, Saborio GP, Aucouturier P, Wisniewski T, Prelli F, Kacsak R, Mendez E, Harris DA, Ironside J, Tagliavini F, Carp RI, Frangione B. : Reversion of prion protein conformational changes by synthetic beta-sheet breaker peptides. *Lancet* 355: 192-197, 2000.
  - 23) Kaneko K, Zulianello L, Scott M, Cooper CM, Wallace AC, James TL, Cohen FE, Prusiner SB. : Evidence for protein X binding to a discontinuous epitope on the cellular prion protein during scrapie prion propagation. *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 10069-10074, 1997.
  - 24) Daude N, Marella M, Chabry J. : Specific inhibition of pathological prion protein accumulation by small interfering RNAs. *J Cell Sci* 116: 2775-2779, 2003.
  - 25) Enari M, Flechsig E, Weissmann C. : Scrapie prion protein accumulation by scrapie-infected neuroblastoma cells abrogated by exposure to a prion protein antibody. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 9295-9299, 2001.
  - 26) Peretz D, Williamson RA, Kaneko K, Vergara J, Leclerc E, Schmitt-Ulms G, Mehlhorn IR, Legname G, Wormald MR, Rudd PM, Dwek RA, Burton DR, Prusiner SB. : Antibodies inhibit prion propagation and clear cell cultures of prion infectivity. *Nature* 412: 739-743, 2001.
  - 27) Kim CL, Karino A, Ishiguro N, Shinagawa M, Sato M, Horiuchi M. : Cell-surface retention of PrPC by anti-PrP antibody prevents protease-resistant PrP formation. *J Gen Virol* 85: 3473-3482, 2004.
  - 28) Heppner FL, Musahl C, Arrighi I, Klein MA, Rulicke T, Oesch B, Zinkernagel RM, Kalinke U, Aguzzi A. : Prevention of scrapie pathogenesis by transgenic expression of anti-prion protein antibodies. *Science* 294: 178-182, 2001.
  - 29) White AR, Enever P, Tayebi M, Mushens R, Linehan J, Brandner S, Anstee D, Collinge J, Hawke S. : Monoclonal antibodies inhibit prion replication and delay the development of prion disease. *Nature* 422: 80-83, 2003.
  - 30) Sigurdsson EM, Brown DR, Daniels M, Kacsak RJ, Kacsak R, Carp R, Meeker HC, Frangione B, Wisniewski T. : Immunization delays the onset of prion disease in mice. *Am J Pathol* 161: 13-17, 2002.
  - 31) Ehlers B, Diring H. : Dextran sulphate 500 delays and prevents mouse scrapie by impairment of agent replication in spleen. *J Gen Virol* 65: 1325-1330, 1984.
  - 32) Diring H, Ehlers B. : Chemoprophylaxis of scrapie in mice. *J Gen Virol* 72: 457-460, 1991.
  - 33) Shyng SL, Lehmann S, Moulder KL, Harris DA. Sulfated glycans stimulate endocytosis of the cellular isoform of the prion protein, PrPC, in cultured cells. *J Biol Chem* 270: 30221-30229, 1995.
  - 34) Doh-ura K, Ishikawa K, Murakami-Kubo I, Sasaki K, Mohri S, Race R, Iwaki T. : Treatment of transmissible spongiform encephalopathy by intraventricular drug infusion in animal models. *J Virol* 78: 4999-5006, 2004.



## **Prion diseases as zoonosis**

**Motohiro HORIUCHI**

Laboratory of Prion Diseases, Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University

Kita 18, Nishi 9, Kita-ku, Sapporo 060-0818, JAPAN

E-mail : horiuchi@vetmed.hokudai.ac.jp

Prion diseases such as bovine spongiform encephalopathy (BSE) have been recognized as zoonosis since the existence of variant Creutzfeldt-Jakob disease (vCJD) was reported in 1996. BSE became a serious social problem even in Japan after the first BSE case was found in 2001. The incidence of BSE in EU and UK appears declining, and the vCJD incidence also shows a tendency to decrease. On the contrary, fears for the spread of BSE became actual problems: BSE occurrence outside of EU, transmission of vCJD by blood transfusion, and the first vCJD case in Japan. To prevent further spread and to reduce the risk of BSE, it is important to continue BSE screening/surveillance, removal of specified risk materials from food and feed chains, and effective feed regulation. For the disclosure and elimination of prion-contaminated blood, materials for medical and pharmaceutical products and so on, it is required to improve the sensitivity of prion detection methods. Furthermore, it is also important to establish therapeutics of human prion diseases.

