

牛海綿状脳症 (BSE) 由来プリオン の超高感度検出法

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構
動物衛生研究所・プリオン病研究センター
上席研究員 村山裕一

共同発明者：吉岡都、舩甚賢太郎、岡田洋之、岩丸祥史、
今村守一、松浦裕一、横山隆、毛利資郎

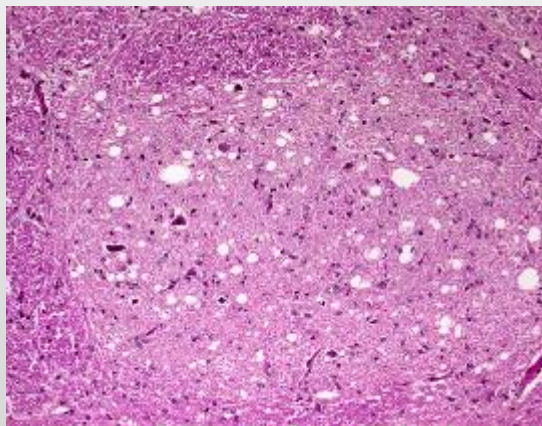
研究背景

牛海綿状脳症(BSE)とは

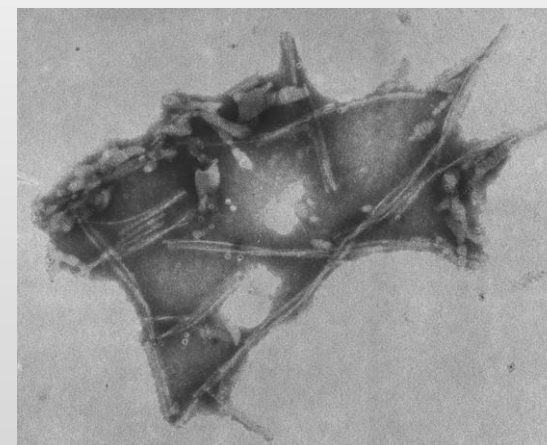
- BSEは牛の病気の一つ。プリオンと呼ばれる異常プリオン蛋白質が主に脳に蓄積し、脳組織がスポンジ状になり、異常行動、運動失調などを示し、長い潜伏期を経て死亡すると考えられている。



BSE発症牛



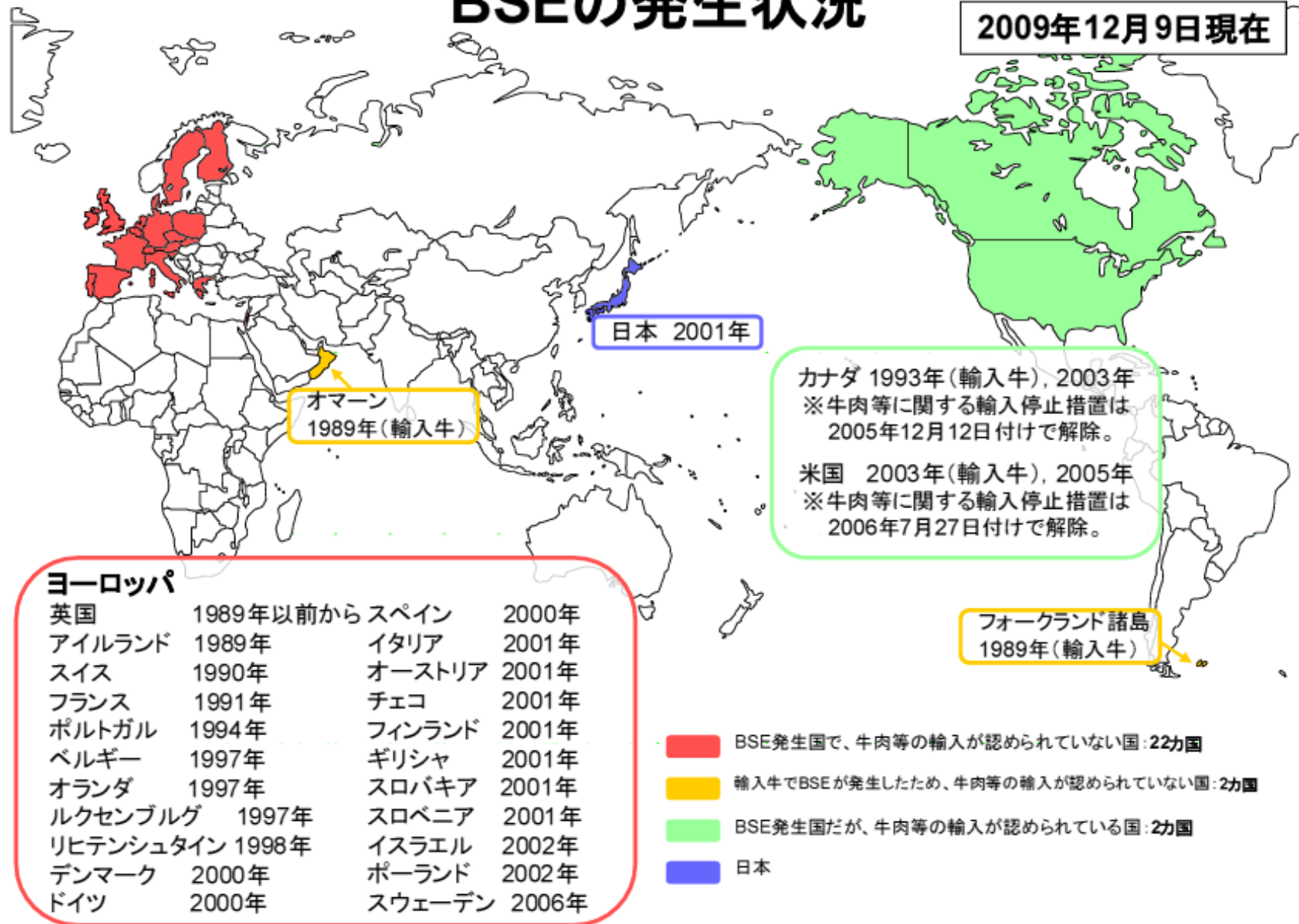
空胞変性



精製異常プリオン蛋白質

BSEの発生状況

2009年12月9日現在



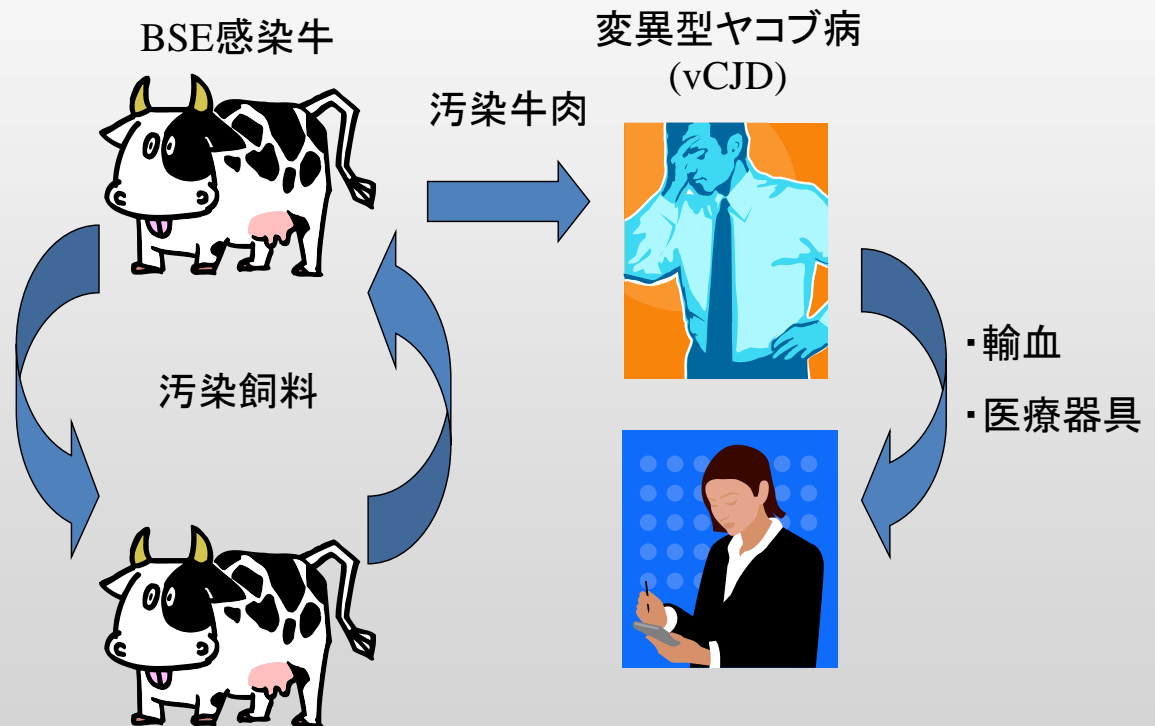
世界的なBSE流行の原因と感染の連鎖

- BSEの流行はBSE感染牛を原料とした肉骨粉を飼料として使ったことが原因
- BSE異常プリオン蛋白質は食品を介してヒトにも感染し、変異型クロイツフェルト・ヤコブ病 (vCJD)を引き起こす
- 輸血、医療器具を介してヒトからヒトへの感染も疑われている

ウシからウシへの感染



肉骨粉



プリオン病の特徴

- 有効な治療法や予防法がない
- 長い潜伏期をへて中枢神経に異常プリオン蛋白質が蓄積
- 潜伏期の末梢における異常プリオン蛋白質は極微量

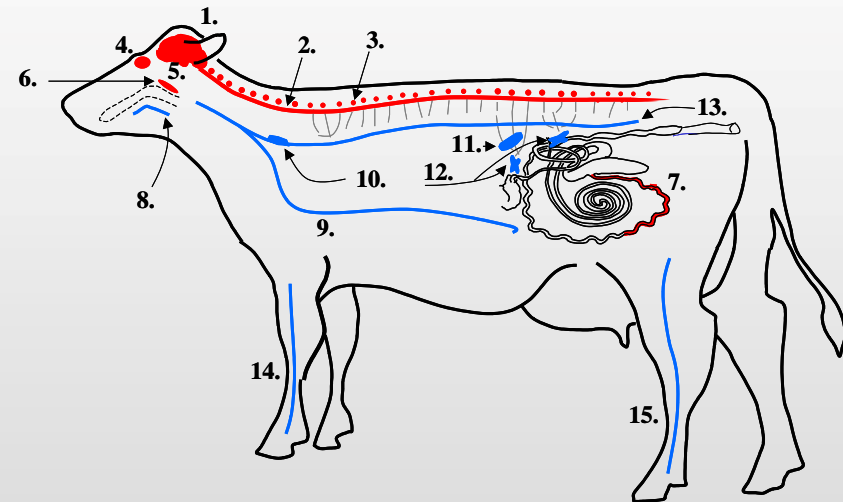


プリオン病の診断には高感度な検出技術が必要

感染末期牛におけるプリオンの分布

① 特定危険部位

- | | | | |
|-------|-----------|----------|----------|
| 1. 脳 | 3. 背根神経節 | 5. 三叉神経節 | |
| 2. 脊髄 | 4. 眼球(網膜) | 6. 扁桃 | 7. 回腸遠位部 |



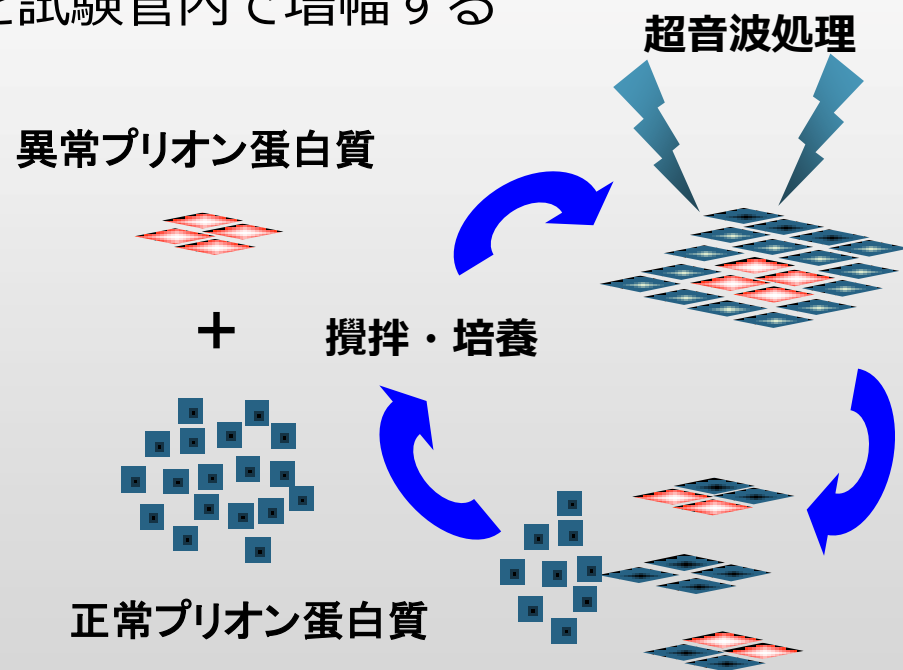
- | | | |
|-----------|----------|-------------|
| 8. 舌下神経 | 9. 迷走神経 | 10. 胸部神経節 |
| 11. 副腎 | 12. 内臓神経 | 13. 交感神経(幹) |
| 14. 腋窩神経叢 | 15. 坐骨神経 | |

② 新たに発見された危険部位

新技術の基となる研究成果・技術

Protein Misfolding Cyclic Amplification (PMCA)

超音波処理-攪拌培養を繰り返すこと
によって、異常プリオン蛋白質
を試験管内で増幅する

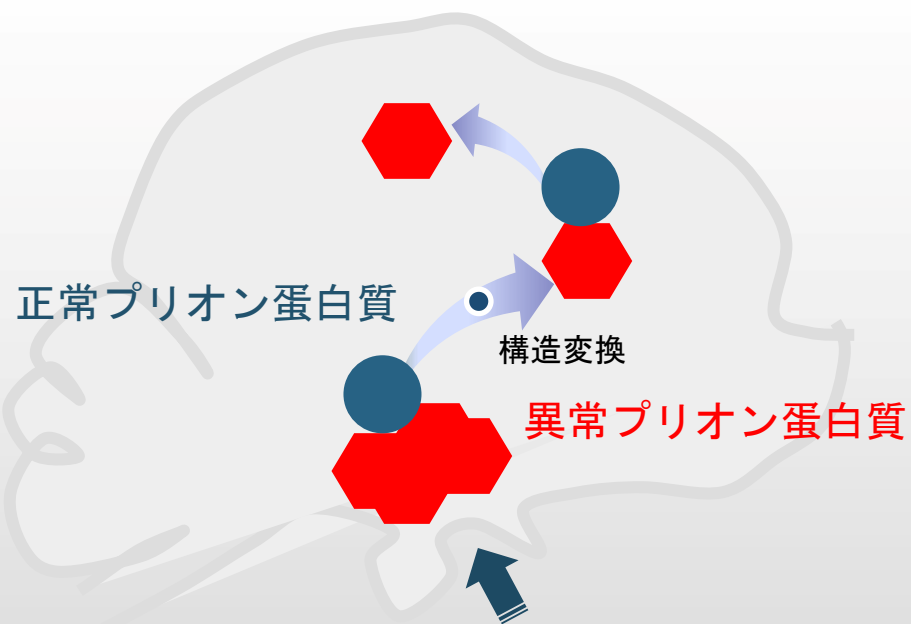


(Saborio & Soto, 2001)

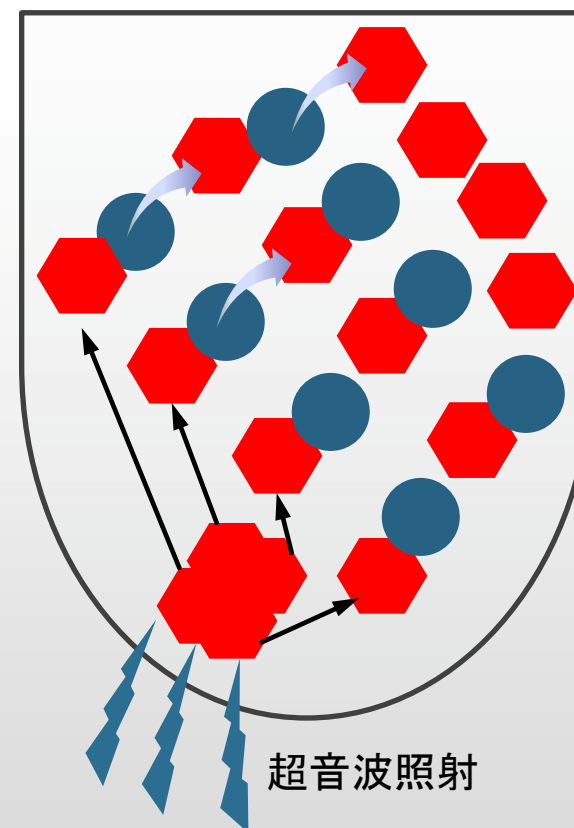


自動増幅装置
(エレコン科学社製)

異常プリオン蛋白質の試験管内増幅法



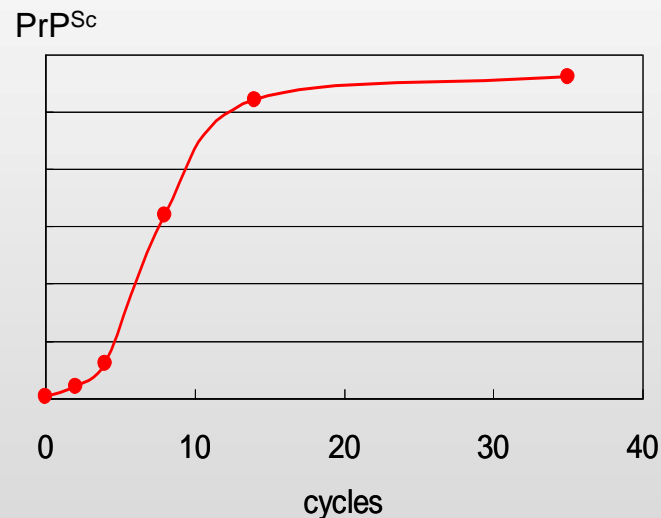
- 生体内ではプリオン蛋白質の異常化・蓄積はゆっくり進む



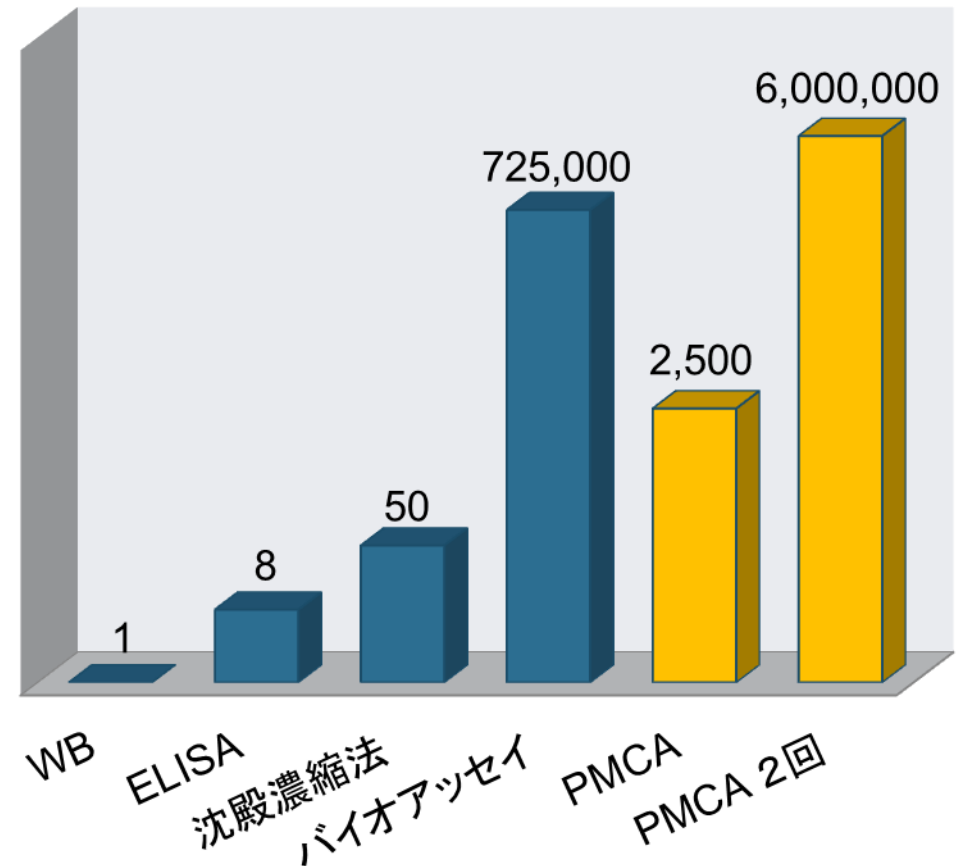
- PMCAでは超音波処理によりプリオン蛋白質が急速に異常化する

ハムスター異常プリオン蛋白質の検出感度の比較

ハムスターPrP^{Sc}の増幅



検出感度の比較倍率



従来技術とその問題点

従来のPMCA法は、ハムスターやマウス由来の異常プリオン蛋白質は効率よく増幅できるが、BSE感染牛由来の異常プリオン蛋白質の増幅には有効ではなかった。

従って、BSE異常プリオン蛋白質の超高感度検出は不可能であった。

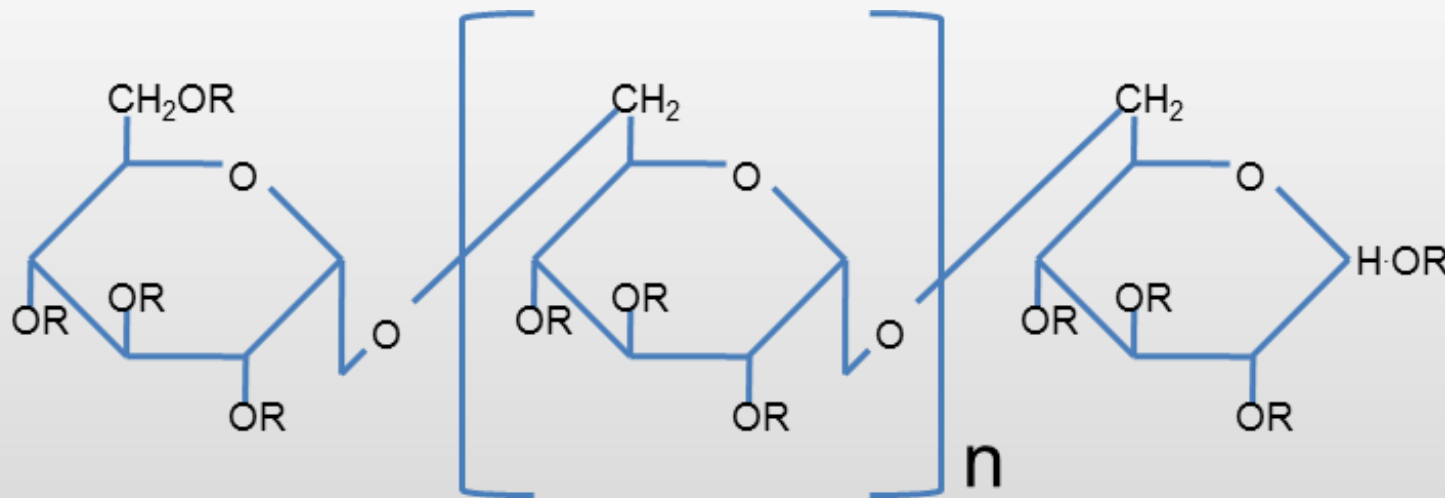
本研究の目的

PMCA法を利用し

BSE異常プリオン蛋白質の効率的増幅方法
を開発する

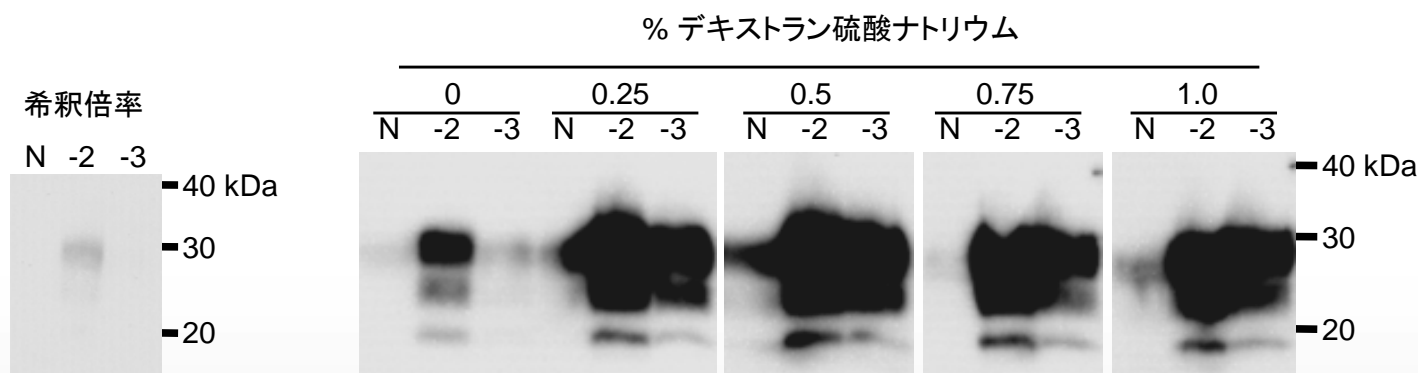
デキストラン硫酸化合物がBSE異常プリオン蛋白質の増幅を促進することを発見

R = $-\text{SO}_3\text{Na}$ or H



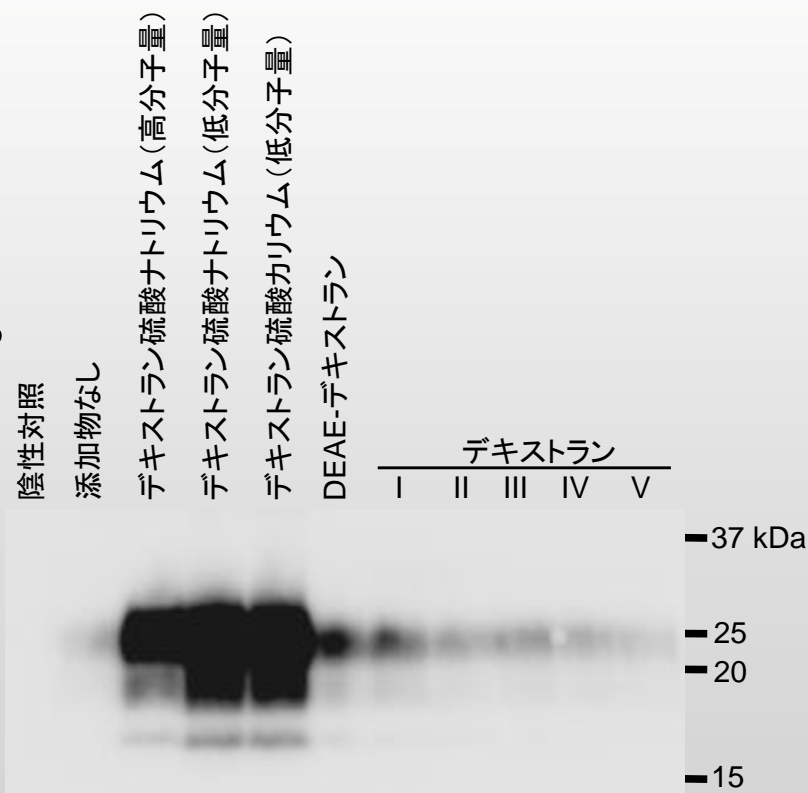
デキストラン硫酸ナトリウム

A



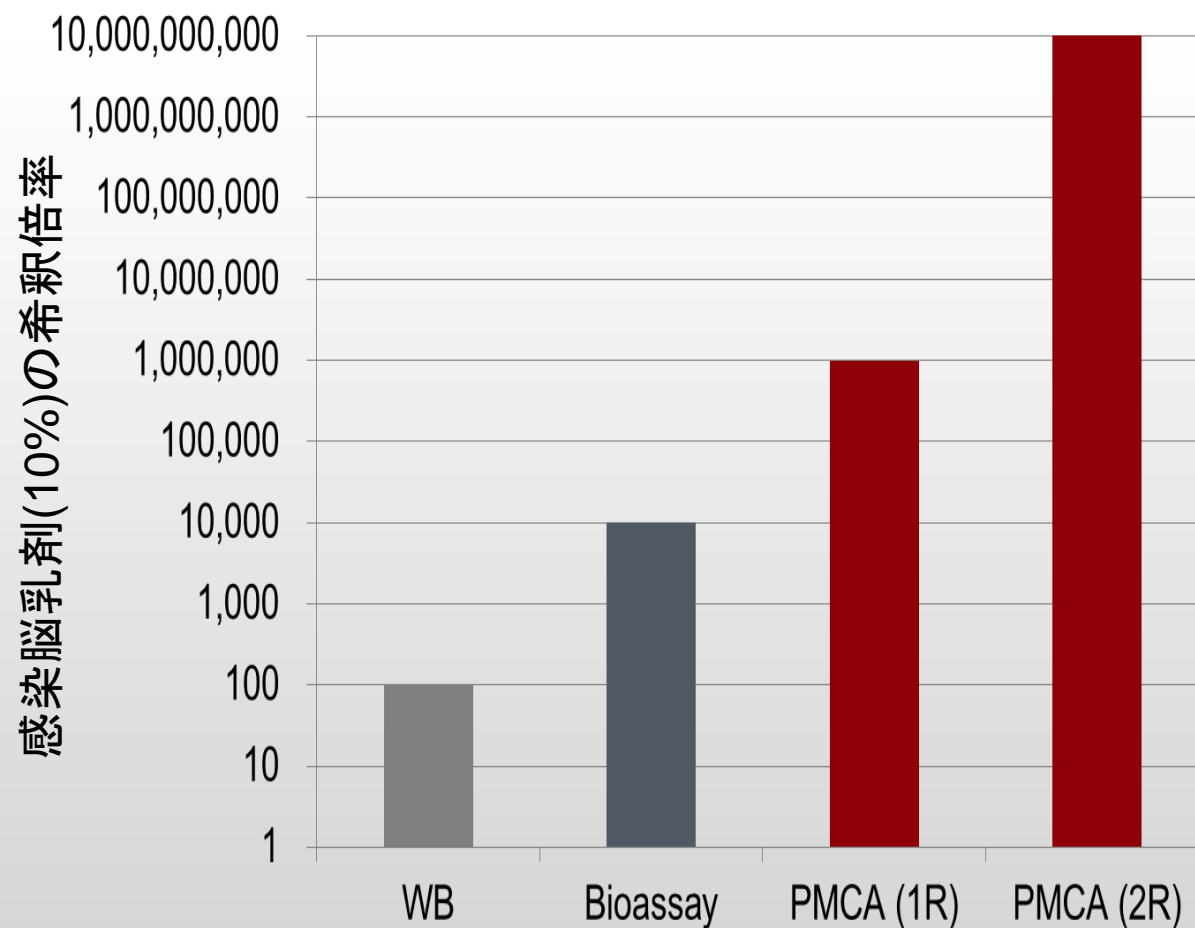
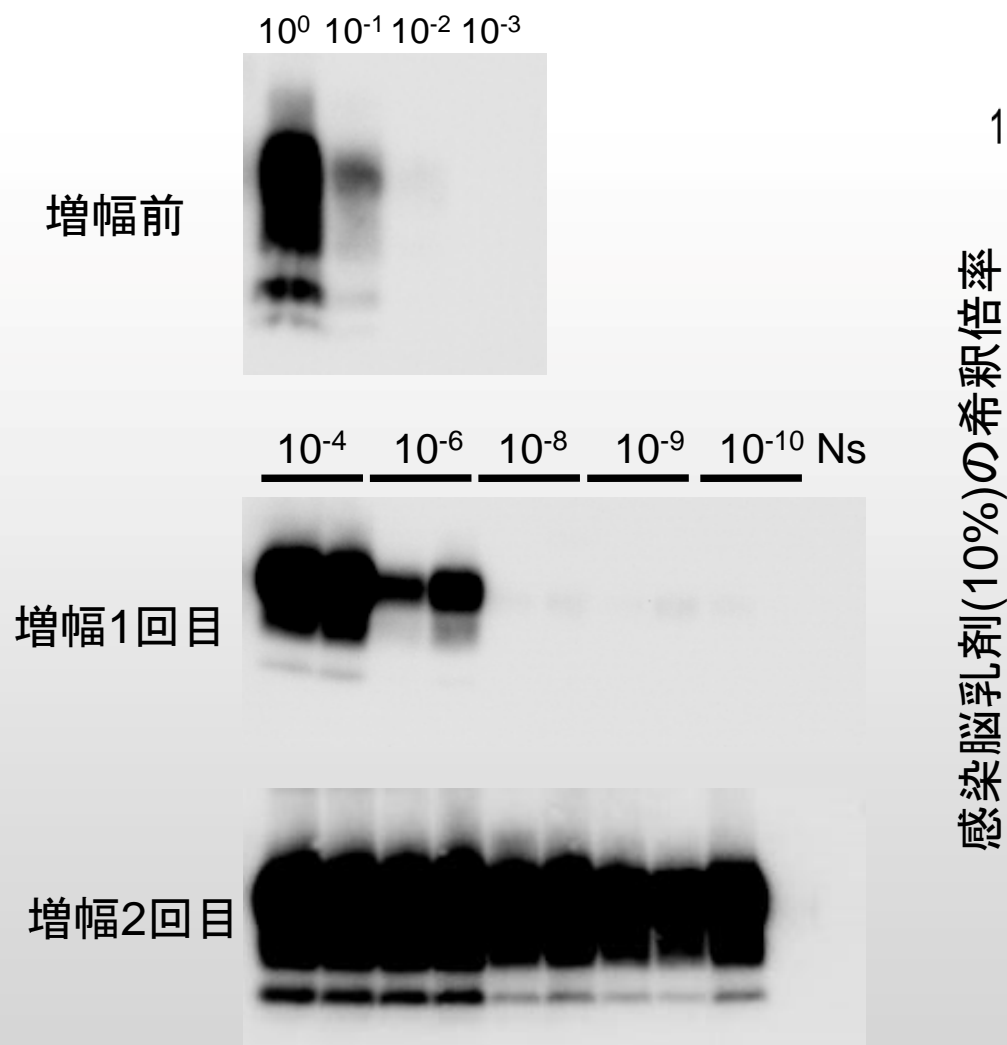
デキストラン硫酸ナトリウムを反応系に加えると増幅効率が著しく改善された

B

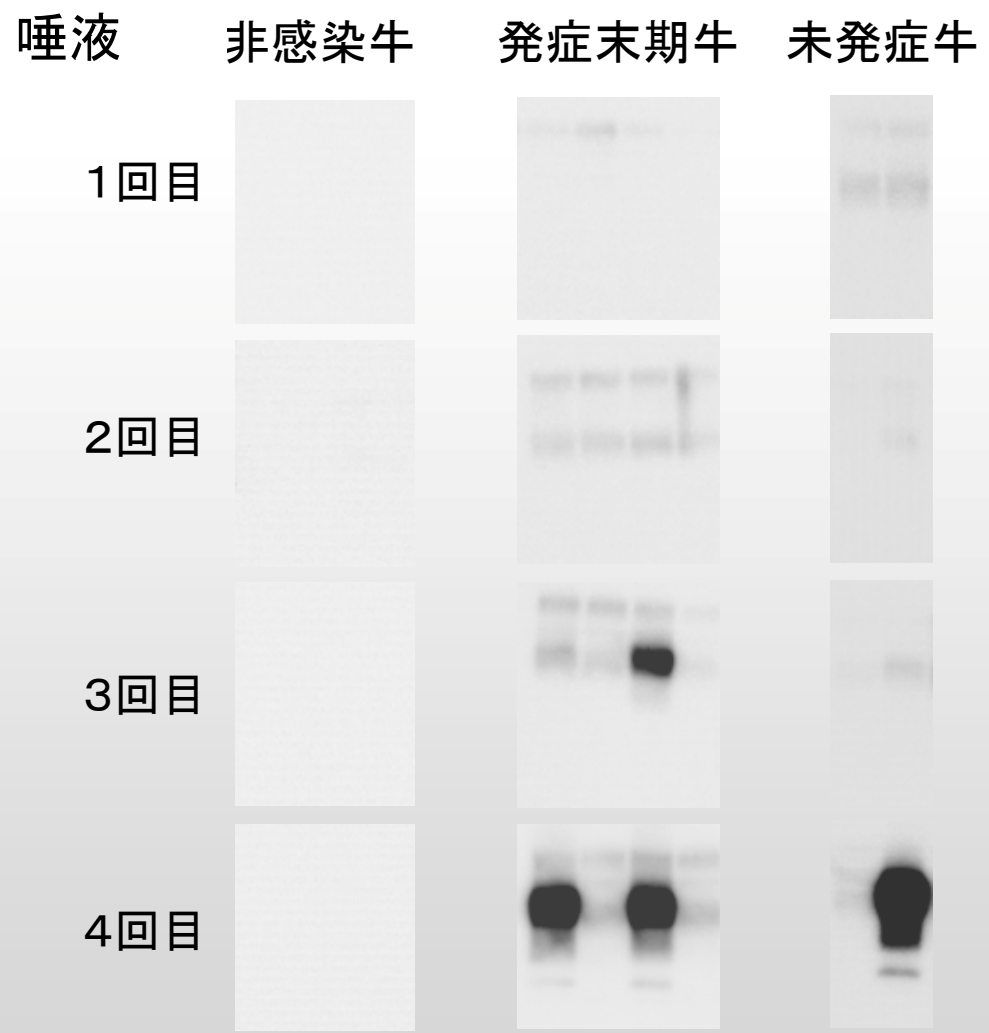
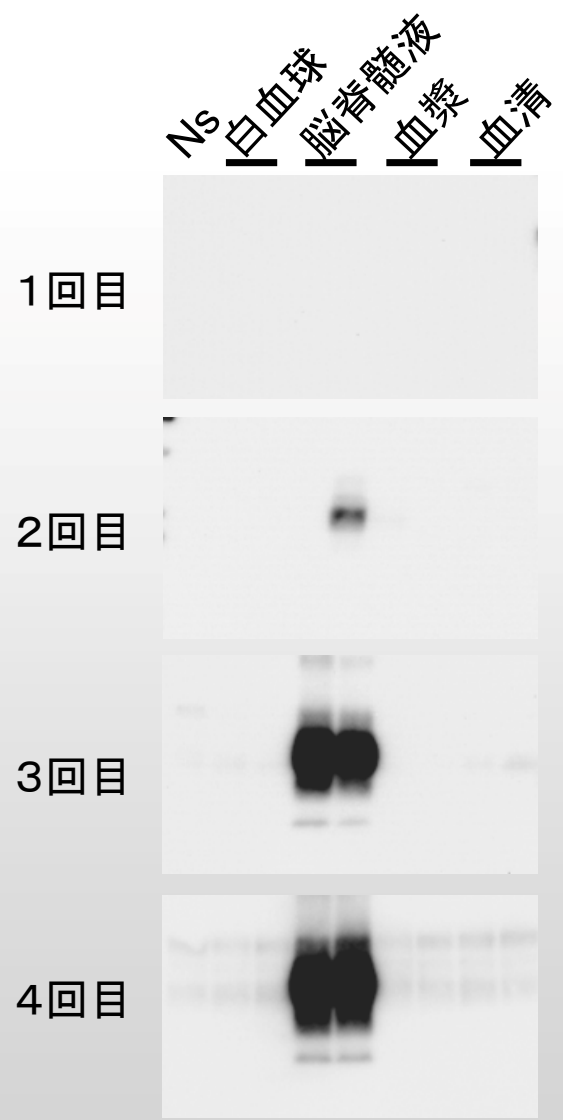


増幅促進効果があるのはデキストランに硫酸基が付加された、低分子量化合物であった

BSE異常プリオン蛋白質の超高感度検出



体液からも異常プリオン蛋白質が検出可能



唾液を用いた生前診断が可能

新技術の特徴・従来技術との比較

- 従来のPMCA法では不可能であったBSEプリオンの効率的増幅に成功した。
- ELISA法など従来の技術では検出不可能な極微量BSE異常プリオン蛋白質を高精度に検出可能である。
- 判定までに数百日を要するバイオアッセイに比べて、より迅速に評価可能である。

想定される用途

- 唾液を用いたBSE生前診断
- 畜産物や肉骨粉など畜産副産物の安全性評価
- 牛由来成分を含む医薬品・化粧品などの安全性評価
- ヒトの変異型クロイツフェルト・ヤコブ病(vCJD)はBSEに起因すると考えられることから、vCJD診断やヒト由来製剤の安全性評価といった用途に展開することも可能と思われる。

想定される業界

- 利用者・対象

畜産業界、飼料業界、肥料業界

製薬、化粧品メーカー

臨床検査業界

実用化に向けた課題

- 現在、従来型BSE由来の異常プリオン蛋白質の超高感度検出が可能なところまで開発済み。しかし、従来型とは異なるタイプの非定型BSE由来の異常プリオン蛋白質の効率的増幅には至っていない。
- 今後、非定型BSE由来異常プリオン蛋白質の効率的増幅に必要な条件を明らかにしていく。
- 現状の増幅・検出システムは煩雑であり、判定に一週間程度要するが、実用化に向けて、より簡便にかつ短時間で判定できるような技術を確立する必要もある。

企業への期待

- BSEの世界的蔓延を鑑み、世界へ進出・展開したいという意向を持つ企業との共同研究を希望。
- 畜産分野のみならず、CJDなどヒトプリオン病の診断分野への展開を考えている企業との協力・共同研究を希望。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : BSE由来異常プリオン蛋白質の効率的増幅方法
- 出願番号 : 特願2010-514498
- 出願人 : 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構
- 発明者 : 村山裕一、吉岡都、舛甚賢太郎、岡田洋之、岩丸祥史、今村守一、松浦裕一、横山隆、毛利資郎

お問い合わせ先

**(独)農業・食品産業技術総合研究機構
動物衛生研究所企画管理部業務推進室
企画チーム長 高橋雄治**

TEL : 029-838- 7895(直通)

E-mail : niah-planning@ml.affrc.go.jp