

牛海綿状脳症 (BSE) の現状と問題点 (その5)

国際獣疫事務局 (OIE) 名誉顧問 小澤義博*

1. 牛海綿状脳症 (BSE) の近況

今日までに BSE の存在を認めた国は欧州ではイギリス, オーストリア, ベルギー, チェコ, デンマーク, フィンランド, フランス, ドイツ, ギリシャ, アイルランド, イタリア, ルクセンブルグ, オランダ, ポーランド, ポルトガル, スロバキア, スロベニア, スペイン (カナリー島も含む), スイスの 19 カ国及び, 中近東のイスラエル, アジアの日本と北米のカナダの計 22 カ国である。

カナダでは 1993 年に欧州より輸入した牛 1 頭が BSE に感染していたことがあったが, 今回はカナダ在来の牛に BSE が発見されたものである。この BSE 陽性牛は 2003 年 1 月末に肺炎と診断されていた為, BSE 検査が遅れてしまったが, 本年 5 月の検査で BSE 陽性であることが分かった。その後の DNA 鑑定を含めた追跡調査の結果, 陽性牛は 1 頭のみであったが, BSE の病原体が何処から来たのか未だに解明されておらず, 大きな貿易問題となっている。

欧州での BSE の発生状況は, スペインとポルトガル以外は次第に減少の傾向がみられるが, 未だに高率の発生が続いている国が多い。百万頭当たりの陽性頭数 (年間) のトップ 10 は表 1 に示してある。上位 2 国のイギリスとポルトガルは高汚染国として他の国とは区別されているが, イギリスは OTM スキームと称して 30 ヶ月齢以上の牛を順次殺処分を続けてきた。これまでに 600 万頭余りの牛を殺処分したので, 他の欧州諸国と同等に低汚染国として扱って貰うよう EU に働きかけているが, 未だに欧州で最高の発生率を示しているので, 承認されるまでには未だ時間がかかるものと考えられる。

中近東における BSE の発見は 2002 年にイスラエルで 1 頭発見されただけで, その他の国々では発生が報告されていない。アジアでは大量の肉骨粉が輸入された国もあるが, 監視体制の不十分な国も多いので, 日本以外の実情はよく分からない⁽¹⁾。

EU が行なって来た各地域別/国別の BSE の感染リス

ク (GBR) の評価を表 2 に示してある。この表から分かる事は, GBR-レベル III に属する国が圧倒的に多く, 日本やカナダなどを含めるとこのグループに含まれる国は今後も増えてゆくものと思われる。

EU は各国のリスク水準を次の 4 段階に分けている。

- レベル I : BSE 感染の可能性*は考えられない
- レベル II : BSE 感染の可能性は完全には否定出来ない。
- レベル III : BSE 感染の可能性はあるが, 未だ確認されていないか, 確認されても低レベルである。
- レベル IV : BSE 感染が高いレベルで確認されている。

(* : BSE 感染牛が 1 頭もしくはそれ以上存在する可能性)

EU は食肉処理を行なう場合, それぞれのレベル別に破棄される部位 (特定危険部位) を分けている (表 3)。しかし小反芻動物の危険部位については, 今日まで自然界における羊や山羊の BSE 感染例が発見されていないため, 比較的緩い対策となっているが, 自然界で感染例

表 1. 欧州に於ける 24 ヶ月齢以上の牛 100 万頭当たりの BSE 発生率の上位 10 カ国

国名	発生率 (100 万頭当たり)
イギリス	228.2
ポルトガル	107.8
アイルランド	88.4
スペイン	38.0
スイス	28.0
ベルギー	25.8
フランス	21.0
スロバキア	18.7
ドイツ	17.0
ルクセンブルグ	14.5

*横浜市青葉区美しが丘 2-30-3

表2. EUによる国別・地域別のBSEのリスク水準

GBR-I *	GBR-II	GBR-III	GBR-IV **
アルゼンチン	カナダ	アンドラ、 イタリア	ポルトガル
オーストラリア	コロンビア	アルバニア、 ラトビア	イギリス
ボツワナ	インド	オーストリア、 リトアニア	
ブラジル	ケニア	ベラルス、 ルクセンブルグ	
チリー	モーリシャス	ベルギー、 マルタ	
コスタリカ	ナイジェリア	ブルガリア、 オランダ	
エルサルバドル	パキスタン	クロアチア、 ポーランド	
アイスランド	スウェーデン	キプロス、 ルーマニア	
ナミビア	アメリカ	チェコ、 サンマリノ	
ニューカレドニア		デンマーク、 スロバキア	
ニュージーランド		エストニア、 スロバニア	
ニカラグア		フィンランド、 スペイン	
ノルウェー		マケドニア、 スイス	
パナマ		フランス、 トルコ	
パラグアイ		ドイツ	
シンガポール		ギリシャ	
スワージーランド		ハンガリー	
ウルグアイ		アイルランド	
バヌアツ		イスラエル	

* : BSE 清浄国

** : BSE 高度汚染国

表3. BSE リスク水準の異なる国もしくは地域における特定危険部位の違い
(EU Report,2003年6月)⁽²²⁾

レベル	特定危険部位 (消費可能な動物)
レベル I	牛、羊、山羊とも危険部位なし
レベル II と III	牛：眼および脳を含む頭、扁桃、脊椎骨（尾部を除く）腰部脊椎骨の横突起、胸椎骨、仙骨、脊髄神経節、及び脊髄（12ヶ月以上の牛） 小反齧獣：眼及び脳を含む頭、扁桃、12ヶ月齢以上もしくは永久門歯の出ている羊、山羊の脊髄、全ての年齢の脾臓
レベル IV	牛：レベルII及びIIIの部位の他に舌を除く頭部全体（脳、眼、三叉神経節、扁桃腺を含む）及び胸腺、脾臓、脊髄（6ヶ月齢以上の牛） 小反芻獣：レベルII、IIIと同じ

が見つかった場合には再検討される事となるであろう。

2. BSE の人への感染

BSE の人への感染は、イギリス政府が変異型クロイツフェルトヤコブ病（vCJD）を正式に認め1996年にWHOが警告を出して以来、発生数は2000年まで年々増加する傾向が続いたため、一時はvCJDの患者数は約5万人に達するであろうと予測されたが2001年以降その発生数は減少する傾向が見られるようになり、2000年が発生のピークと考えると2003年から2080年までのイギリスの患者数は約540人から多くて2600人と予測する説も出ている⁽²⁾。イギリスにおけるvCJDの発生数は図1に示してあるが、イギリス北部の患者が南部より多いことが認められている。2003年7月の時点で、イギリスにおけるvCJDの報告例は132人となっている。

イギリスに次いでvCJDの発生の多いのはフランスの6人で、その理由として考えられるのは、フランスでは臓物を好んで食べる人が多いことと、イギリスからの輸出が禁止される迄、危険部位を含む屑肉がフランスに輸入されていた時代があったためと考えられている。

その他の国の発生で、アイルランド（1人）、イタリア（1人）、チェコ（1人）はそれぞれの国の汚染物を食して感染したものと考えられているが、カナダ（1人）、アメリカ（1人）と香港（1人）の3人はイギリスに滞在した事があり、その間に感染したものと考えられている。今日までにイギリスの131人とあわせ合計144人の患者が報告されている。これらの多くはプリオン蛋白の遺伝子がメチオニン/メチオニン同型遺伝子型（homozyotes）を有する事が分かっている。その他の遺伝子型を有する人には感染を起ささないのか、更に長い潜伏期を経て発生するのか、現時点では不明である。

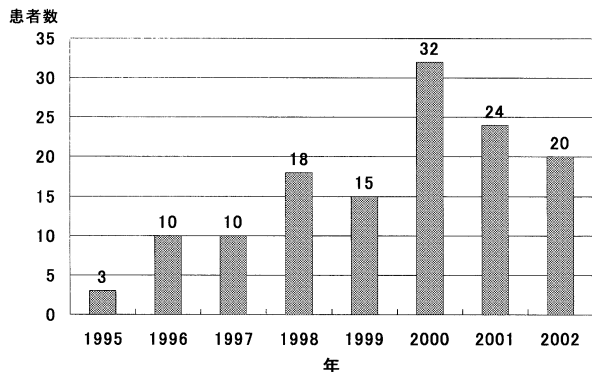


図1. 英国におけるvCJD患者の発生数

3. BSE の牛と羊への感染実験

BSEに感染し発病した牛の脳乳剤100グラムずつを合計30頭の4ヶ月齢の子牛に経口的に投与し、4ヶ月間隔で3頭ずつの子牛を安楽死させて、病原プリオンの分布状態をマウスを使って検査した結果、次の部位にその存在が認められた。まず回腸末端部に投与後6ヶ月から18ヶ月の間及び36ヶ月後から死亡するまでの間、中枢神経系（脳、脊髄）に32ヶ月後から、脊髄神経節に32ヶ月後から、三叉神経節に36ヶ月以後から、胸骨骨髄に38ヶ月後から病原体の存在が認められた^(3, 4)。この実験で最初にBSEの症状が見られたのは感染後35ヶ月後で、40ヶ月後に全ての牛は安楽死された。

一方BSEの羊における実験は、1993年にCheviot羊の脳内に接種した実験では殆どの羊に感染が見られたが、0.5グラムの感染牛の脳乳剤を経口的に投与した場合は、一部の羊にのみ感染が起こったと云う報告がある⁽⁵⁾。その後の羊における経口感染実験でARQ/ARQ及びAHQ/AHQ遺伝子型の羊で最も短時間で発症した⁽⁶⁾。更にARQ/ARQ遺伝子型を有するRomney羊にBSE感染牛の脳乳剤5グラムを経口的に与えた場合は、550日から1,130日迄に全ての羊が感染したが、ARQ/ARR型やARR/ARR型では40ヶ月後も全く感染した証拠は見つからなかった⁽⁷⁾。またオランダのARQ/ARQ遺伝子型のTexel羊6頭の経口感染実験でも感受性が認められ、約2年後に発症した⁽⁸⁾。EU委員会は、ヨーロッパ諸国におけるこれらの羊を使ってのBSEの感染実験の結果をまとめて報告を出している（表4）⁽⁹⁾。

これらの実験結果⁽⁷⁾から云える事は、BSEに経口的に感染させた羊の体内におけるBSEプリオンの分布状態は、BSEに感染した牛の体内の分布とはかなり異なり、むしろスクレイピーに感染した羊の体内の病原体の分布に似ている事が分かった。BSEに感染した牛と特に違う点は、羊のBSEではリンパ節、リンパ組織システムの明らかな感染が認められたことである。また、BSEに実験的に感染した羊では、その血液中にBSE病原体が出現する事が判明したため^(10,11)、vCJDに感染した人の輸血による感染の可能性が心配されている一方、感染した羊や山羊の肉や乳汁の安全性についても、その信憑性が問われている。目下、英国ではこれらの問題に答えるべく、EUの支援を受けて大規模の羊の感染実験を行なっている最中である。また、EU諸国では昨年からは野外の小反芻動物のサーベイランスを強化して、各国の検査頭数を増やしている。

表4. 遺伝子型の異なる羊体内におけるBSEプリオンの分布状態
(European Commissionのレポート)(9)

プリオン濃度 (titer)	潜伏期		発症時	
	ARR/ARR* ARR/ARQ*	ARQ/ARQ*	ARR/ARR* ARR/ARQ*	ARQ/ARQ*
高い				脳、脊髄、脾臓
中度		脾臓、扁桃、リンパ節		リンパ節、扁桃
低い				
プリオンは検出されたが濃度が分からない		脾臓、腸管リンパ節、前胃、第四胃		
プリオンの検出なし	脳、脊髄、脾臓 リンパ節、扁桃			

* 羊のプリオン蛋白遺伝子型

4. BSEの新しい迅速診断法

1998年にEUが実施したBSEの迅速診断方法の比較検査により、次の3つの方法⁽¹²⁾が1999年に認可された。

1. Prionics社(スイス)・・・Western Blot法
2. Enfer社(アイルランド)・・・Chemiluminescent ELISA法
3. Bio Rad社(アメリカ)・・・サンドウィッチELISA法

これらの感度及び特異性は、いずれも100%であった。

2000年にEUは新たに開発された迅速診断方法を検討することを決め、2001年から実験室内での検査が開始された。実験室内での検査法に合格した5つの新しい方法は、更に野外のサンプルを使って上記の3方法と比較検査が行なわれ、2003年6月迄に下記の2つの迅速診断法がEUにより正式に認可された⁽¹³⁾。

4. Prionics社/Roche社: Microplate based immunoassay (ELISA法)(通称Prionics-Check LIAテスト)
5. UCSF/InPro Biotech社: Conformation-dependent

immunoassay(通称CDI-5テスト)

この二つの迅速診断法は既存の迅速診断法と比較して特異性も感度も100%同等であることをEUは認めている⁽¹³⁾。前者(Prionics-Check LIA法)はスイスのPrionics社で開発された方法で基本的にはELISA方式であるが、通常のELISA法では判定を色の濃度によって決めるので陽性と陰性の境界の差が小さく疑陽性が出る可能性が高いが、Prionics-Check LIA法の場合は抗原抗体反応の有無を光の量によって判定し、陽性と陰性の間の光量の差の幅が広いので、疑陽性が出る率は低いといわれている。一方、後者(CDI-5テスト)は米国カリフォルニア大学で開発された方法で、特定の抗プリオン抗体は正常プリオン蛋白のみしかキャッチ出来ないが、サンプルを加熱すると正常プリオン蛋白も異常プリオン蛋白も形状が変化し両者とも抗プリオン抗体でキャッチ出来るようになる。この性状を利用して加熱前のサンプルと加熱後のサンプルのプリオン蛋白質の量を比較する事により異常プリオン蛋白質の量が測定できる。また、これら二つの新しい方法は羊のプリオン病診断にも利用できる事がEUにより認められた。

従ってEU諸国では上記5つの検査法を自由に選択する事が出来るようになった。しかし上記の検査過程で明らかになった事は、脳幹部（Obex）のサンプルの取り方が重要で取り方を誤ると結果が大きく左右されることと、サンプルの乳剤の作り方が、すべての診断結果に大きく影響する事、特に凍結時に乳液表面が乾燥すると酵素の分解を受けにくくなり、疑陽性の結果が出る事などが明らかになった。

現在イギリス及びポルトガル以外の欧州諸国では、EUの原則として30ヶ月齢以上の食肉用の健康牛の全頭と、24ヶ月齢以上の転倒牛（fallen stock）を各国に割り当てられた数だけ検査するよう定められている。

近い将来、EUは上記の診断法より更に感度の高い方法や、生体の急速診断方法の公募を行なうことを考えているようである。これにより野外に於けるBSE感染動物の早期発見と淘汰が可能となり、また扁桃腺やリンパ組織の検査により羊のBSEの発見も可能になるかも知れないが、実現するまでには、まだかなりの年月を要するであろう。

5. 小反芻動物のBSEとスクレイピーとの関係

自然界における羊や山羊のBSEの発見はまだ報告されていないが、実験的に羊にBSE病原体を経口的に投与すれば感染を起し、スクレイピーに似た症状を示す事は分かっている⁽⁵⁾。しかし羊におけるBSEとスクレイピーの症状には多少の違いがあるので、羊のBSEが多数発生していれば、今日までにその存在は感知されていたと考える人も多い。2002年に開かれたOIEの専門家会議のレポート⁽¹⁴⁾によると、BSEが自然界の羊や山羊に発生した可能性は理論的には考えられるが、それらはスクレイピーとして報告された可能性が高い。又、羊の感染実験では発病期間が1—5日と短く、死亡するので見逃す可能性も考えられる。動物園内の小反芻野生動物（かもしか等）でBSEに感染した動物の報告はあるが、自然界の羊や山羊がBSEに感染した例は未だに1頭も報告されていない。

しかし、もし野外で羊や山羊がBSEに感染していたとするならば、スクレイピーと同様に親から子への感染（垂直感染）や水平感染も起こった可能性が考えられる事から、汚染飼料の使用が禁止された今日でもBSEに感染した羊や山羊が残っている可能性が考えられる。しかし欧州諸国におけるスクレイピーの発生件数の明らかな増加が見られないことや、反芻獣由来の飼料の禁止されている現状では、そのリスクは極めて低いものとEUは考えている。しかし、牛のBSEと異なる感染ルー

トで拡がる可能性のある小反芻動物のBSEのリスク評価に、牛のBSEのリスク評価方法をそのまま当てはめる訳にはゆかない。羊や山羊のBSEのリスク評価方法の基準作りと必要なデータの蓄積が必要となる。

一方、スクレイピーに耐性を有する羊を増殖する事により、BSEに対する耐性も高まるものと想定し、欧州の羊をスクレイピーやBSEに耐性を有する種に変えようとする動きがEU諸国で進行している。しかしこの方法で全ての羊や山羊のプリオン病が防止出来るものとは考えられないし、またそれだけで人へのBSEの感染のリスクは完全に防止できると思えない。従って、これからも耐性の異なる小反芻動物の危険部位の特定や、ミルクの安全性に関する更なる研究も続けていく必要がある。

すでに欧州の幾つかの国では、野外の羊や山羊にBSEが発見された事を想定して、小反芻動物のBSEのリスクの可能性に関するリスクコミュニケーションの会合を開き消費者、特に回教徒の注意を喚起している。

またイギリスでは、未だに、スクレイピー・プリオンの1つの株がBSEプリオンとして牛に拡がったと考えている人が多く⁽¹⁵⁾、選択したスクレイピー株を牛に接種して反応を調べているが、未だに牛にBSEと同じ症状を示すスクレイピー株は見つかっていない。

6. BSEとスクレイピーの鑑別診断法

BSEプリオンとスクレイピー・プリオンの鑑別診断方法の開発には幾つかのグループが取り組んできた。古くから用いられてきた方法は、色々な純系マウス（R/III,C57BL,VM,IMなど）に検体を接種して観察し、それぞれのマウスにおける潜伏期間や脳内のスポンジ様病変の分布状態や発現度合いを比較すると、すべてのBSE株では、マウス継代をしなくても、初代からそれぞれのマウスに特異的な潜伏期間や発病パターンが見られる^(16,17)。しかしスクレイピー株の多くは、マウス継代をしてからでないと、マウスに感染を起しにくいものが多い。いずれにせよ、この診断方法では日時がかかり過ぎるので多くのサンプルの検査を短期間で実施するには適していない。

Jeffrey等は免疫組織化学（IHC）法を使って、BSE及びスクレイピーに実験的に感染させた羊の扁桃腺の組織検査を行なった⁽¹⁹⁾。その結果、顆粒球（マクロファージ）のプリオン蛋白質の顆粒の形態はBSEの場合とスクレイピーの場合で違いのあることが分かった。つまりBSEに感染した羊ではマクロファージの細胞質内に見られる顆粒が1個の大きな塊として見られるが、スクレイピー

の場合には沢山の小さな顆粒が細胞質内に散在して見られる事が分かった。しかしこの現象は特別な抗体(89-111 エピトープに対する抗体)によってのみ観察され、他の抗体では見られなかった。

また、迅速診断法により、BSEとスクレイピーを区別する試みも続いている。脳幹部の乳剤を蛋白分解酵素で分解して出来たグリコシルの大きさを比較して、両者を区別できるという報告がある。プリオニックス社のウェスタンブロット法によって最終的に出来たバンドを比較すると、BSEの非グリコシル・プリオン蛋白の分子量は、スクレイピーのものより小さく、またBSEの場合は二価グリコシル化蛋白の割合がスクレイピーの場合より多いことなどが認められている⁽¹⁸⁾。しかし限られた数のサンプルを比較してみた結果なので、今後更に多くの比較実験を続ける必要がある。その他幾つかの実験が目下進行中である。

7. BSEの最近の疫学的研究成果

先に本誌に発表した記事⁽¹⁷⁾にBSEの疫学について述べたが、この章では最近明らかになった新しい実験結果についてまとめて見る。

以前イギリスで行なわれた牛を使つての感染実験では感染牛の脳1グラムで子牛に感染を起こし得ると云われていたが、最近の牛の感染実験では0.1グラムの脳でも感染を起こす事が判明した⁽²⁰⁾。この事実は、ごく微量の汚染飼料でも、牛に感染を起こし得ることを示唆している。

一方、EUは1994年以来イギリスその他のEU諸国で全ての反芻獣由来の飼料を反芻獣に与える事を禁止したので、その後生まれた牛にはBSE陽性の牛は完全になくなるものと考えていた。しかしEUの最近の厳密な調査では、1996年8月以後に生まれた牛にも、未だに散発的にBSE陽性牛が存在する事が分かった(表5)。これらはすべて母子感染とは関係のない牛なので、この原因が何にあるのか調査検討が行なわれたが明らかな原因は解明されていない。疑われているのは、スペインやポルトガルでは破棄されるべき肉骨粉が一部破棄されずに使用されているのではないかと、また、犬の飼料に使われている反芻獣由来の肉骨粉が、牛の飼料に混入して交差汚染を起こしているのではないかと、或いは欧州内にある正式に登録されていない小さな化成工場で作られた肉骨粉などが、闇で流通しているのではないかと等の疑いが持たれている。いずれにせよ欧州には1996～97年頃には、まだかなりの汚染飼料が残っていたことがわかる。

イギリスではBSEの牛での母子感染の可能性は1987

年の時点では約10%以下と考えられていたが、2002年の推測では、0.5%以下と考えられている⁽²⁰⁾。母子感染のリスクは、母牛に高度汚染の飼料が大量に与えられた時期に生まれた子牛、及び母牛が発病する間近になって生まれた子牛の場合にリスクが高くなることがわかっているが、牛の遺伝子型との関係は未だ解明されていない⁽²¹⁾。いずれにせよBSE感染牛から生まれた子牛(発病2年前から発病までの間に生まれた子牛)は全て淘汰されているので、垂直感染によるBSEの拡がりは考えられない。また人工授精による感染の可能性を調べるため感染牛から取り出した587個の卵子を体外受精させ、ニュージーランドから輸入した雌牛の子宮に着床させて産まれた合計266頭の子牛には陽性牛は一頭も見られなかった(使用された精子の54%はBSE感染牛からのもので46%は陰性牛からの精子であった)⁽²⁰⁾。この事実は、人工授精や体外受精によるBSEの感染の可能性は考えられない事を示している。

一般に、BSE陽性として報告されている牛の頭数は氷山の一角であつて、実際には遥かに多数の牛がBSEに感染しているものと考えられている。潜在的に感染している牛の多くは健康牛として屠畜場に送られ、陰性牛として処理されている中に含まれており、現在使われている迅速診断法の感度では感染していても発見出来ない牛が含まれていたり、野外で発病しても他の病気と診断

表5. 欧州における1996年8月以後生まれの牛に発見されたBSE陽性頭数
(2001年7月1日から2002年9月27日までの期間)

国名	陽性頭数
スペイン	34
フランス	28
イタリア	20
ポルトガル	20
ドイツ	20
イギリス	19
ベルギー	12
オランダ	8
アイルランド	6
デンマーク	3
北アイルランド	3
ルクセンブルグ	1
ギリシャ	1
合計	175

資料：イギリス(DEFRA)2002年10月

され処理されるもの等が沢山あるものと思われる。2002年にイギリス全体でBSEに感染していた牛の実際の数、報告された頭数の約15倍はあったものと考えられている⁽²⁰⁾。

EUの農業委員会の報告書⁽²²⁾によると、2003年の最初の3ヶ月間に合計250万頭の牛が迅速診断法で検査され、その結果387頭が陽性であった。その中の87頭(25%)は受動的サーベランスで見つかったもので、300頭(75%)は能動的サーベランスによるものであったが、その殆どのケースは、いわゆる危険患者と呼ばれる牛(起立不能牛、または緊急屠殺牛)であった。これらの危険患者35万頭を検査した結果では、237等が陽性(1:1,400の比率)であった。それに対し健康牛210万頭の検査では58頭が陽性(1:35,000の比率)であった。これにより、危険患者に含まれるBSE感染牛は健康牛に含まれるBSE感染牛の約25倍平均となる事が判明した。

以上の欧州の経験から言えることは、屠畜場に来る健康牛(24ヶ月齢以上)の検査を続けるだけでなく、徹底した野外の危険患者の厳重な監視と検査を少なくとも数年間は続ける事がBSEの淘汰には必要不可欠である。また、反芻獣用飼料の物理的もしくは人為的な汚染を100%排除するための監視組織と検査体制を確立し維持することが重要であることを示唆している。

参考文献

- (1) Ozawa, Y. : Risk management of transmissible spongiform encephalopathies in Asia. OIE Sci. Tech. Rev. 22(1), 237-249, 2003.
- (2) Ghani, A.C., Ferguson, N.M., Donnelly, C.A. and Anderson, R.M. : Factors determining the pattern of the variant Creutzfeldt-Jakob disease (vCJD) epidemic in the UK., Proc. Royal Soc. Lond., B., 270, 689-698, 2003.
- (3) Wells, G.A.H. and Kretzschmar, H.A.: Pathogenesis, tissue infectivity distribution and specified risk materials. Overview of the European Commission's Scientific and Steering Committee and its TSE/BSE Ad hoc Group. (Prepared by the EU Scientific Secretariat) pp75-84 2003.
- (4) Wells, G.A.H. : BSE の感染発病機序 (病理発生) J. Vet. Med. Sci., 65(1), J5-J7, 2003.
- (5) Foster, J.D., Hope, J. and Fraser H.: Transmission of bovine spongiform encephalopathy to sheep and goats, Vet. Rec., 133, 339-341, 1993.
- (6) Foster J.D., Hope J. and Fraser H.: Transmission of BSE to sheep and goats, Vet. Rec., 133, 339-341, 1993.
- (7) Jeffrey M., Ryder S., Martin S., Hawkins S.A.C., Terry L., Berthelin-Bbaker C. and Bellworthy S.J.: Oral inoculation of sheep with the agent of BSE. -1. Onset and distribution of disease specific PrP accumulation in brain and viscera., J. Comp. Pathol., 124(4), 280-289, 1993.
- (8) Thuring C.M.A.: Pre-clinical detection of PrP^{sc} in sheep. Ph.D. Thesis. University College, Dublin, pp 174, 2002.
- (9) European Commission.: Pre-emptive risk assessment should BSE in small ruminants be found under domestic conditions, Report of the EU dated 8-9 Feb. 2001.
- (10) Houston F., Foster J.D., Chong A., Hunter N. and Bostock C.D., Transmission of BSE by blood transmission in sheep, Lancet, 356, 999-1000, 2000.
- (11) Hunter N., Foster J.D., Chong A., McCutcheon S., Parnham D., Eaton S., MacKenzie C. and Huston F.: Transmission of prion diseases by blood transfusion. J. gen. Virol., 83, 2897-2905, 2002.
- (12) European Commission: Evaluation of tests for diagnosis of transmissible spongiform encephalopathy in bivines, Report of the EU dated 8 July 1999.
- (13) European Commission: Opinion of the Scientific Steering Committee on the field trial evaluation of two new rapid BSE post mortem tests, Report of the EU, dated 6 March, 2003.
- (14) Office International des Epizooties (OIE) : Report of the Ad hoc Group on the hypothetical presence of BSE in sheep and goats, Paris, 14-16 January, 2002.
- (15) Wilesmith J.W.: Personal communication 2002.
- (16) Bruce M.: Philosophical transeaction of the Royal Society of London.-Series B., Biological Sciences, 343, 405-411, 1994.
- (17) 小澤義博：牛海綿状脳症 (BSE) の現状と問題点, J. Vet. Med. Sci., 63(4), J5-J13, 2001.
- (18) Stack M., Chaplin M. and Clark J.: Differentiation of prion protein glycoforms from naturally occurring sheep scrapie, sheep-passaged scrapie strains, BSE cases and Romney and Cheviot breed sheep experimentally inoculated with BSE using two monoclonal antibodies, Acta neuropathol., 104, 279-

- 286, 2002.
- (19) Jeffrey M., Martin S., Gonzalez L., Ryder S.J., Bellworthy S.J. and Jackman R.: Differential diagnosis of infections with BSE and scrapie agents in sheep, *J. Comp. Pathol.*, 125(4), 271-284, 2001.
- (20) Matthews D.: 英国における牛海綿状脳症 (BSE) の疫学, *獣医疫学雑誌*, 6(2), 67-69, 2002.
- (21) Prince M.J., Bailey J.A., Barrowman P.R., Bishop K.J., Campbell G.R. and Wood J.M.: Bovine spongiform encephalopathy, *OIE Sci. Tech.Rev.*, 22(1), 37-60, 2003.
- (22) Vossen P., Kreysa J. and Goll M.: Overview of the BSE risk assessments of the European Commission's Scientific Steering Committee and its TSE/BSE ad hoc Group, pp 153, Report of the EU, 5 June, 2003.