

# 1 序章

1.1 英国の牛における新種の致死的な疾患が認知された直後、この疾病は神経変性疾患の極めて珍しいグループに属する海綿状脳症と認識された。海綿状脳症はヒトや動物を侵すもので、ヒトではクロイツフェルト・ヤコブ病(CJD)、羊ではスクレイピーとして知られている。牛に生じたこの新しい疾患は牛海綿状脳症 (BSE)と呼ばれるようになった。実験的に伝達性が確かめられた海綿状脳症は、伝達性海綿状脳症(TSEs)として称されている。TSEs の原因は感染症に通常関与する微生物ではなく、従来とは異なる病原因子である。この事実が BSE の診断、管理および予防の面で大きな困難をもたらした。特に、この疾患は一般血液検査や血清検査で診断できなかった。それは作用因子が、牛における病原因子に対する抗体の産出をもたらさず様子が見られなかったからである。疾患の臨床的な疑いは死後、脳の顕微鏡的検査でのみ確認することができた。

1.2 1986年12月、この新奇な牛の疾患が初めて確認された時、TSEs の原因に関する様々な推測がなされた。TSEs という疾患は、蓄積しない通常の蛋白質が神経細胞で異常蓄積するものとして知られていた。また蛋白質の構造が可溶性状から不溶性に変化することも分かっていた。これは通常の分解作用に対して抵抗性があるということの意味していた(下記 1.32 節で説明)。

1.3 しかし異常蛋白が生成される方法について複数の異なる見解があった。1960年代初期の研究で、核酸(DNA、RNA など)がなくてもスクレイピーの病原因子は複製されるという報告がなされた。この研究を受けてグリフィスにより蛋白の自己複製構造が報告された。これに対し、1982年プルシナーは TSEs の感染因子の構成物質は蛋白以外の何者でもないと発表した。彼は「蛋白様感染粒子」を仮定し、これに「プリオン」という用語を充てた。当初は異説であると考えられていたこの仮説だが、1986年には支持を得るようになっていた。のちにプルシナー等は、プリオン病は伝達性かつ遺伝性の疾患であると示唆した。彼らはプリオンが(プルシナーの言葉をそのまま引用すると)「信じ難い方法」で増殖すると結論づけた。つまり、プリオンは正常分子の形状変化を誘引するだけで正常蛋白分子を危険な蛋白分子に転換させるということだった。

1.4 1986年、プルシナーによる初期の仮説は十分に立証されず、科学者の中には伝染病の伝播には、宿主への感染を確実にする核酸を持つ遺伝物質が必要だと主張し

続ける者もいた。彼らは微生物の中で最も単純なウィルスが核酸を利用して、存続と複製に必要な蛋白の合成を行っていると強調した。これは隔離が難しい比較的小さなウィルスの一種が病原因子であるという可能性を示した。免疫学的に中性の蛋白質に包まれたウィルスの粒子である「ビリノ(複数)」という新しい種類の因子の仮説も立てられた。議論は非常に激しく戦わされた。その後プリオンの分子生物学、およびプリオンと TSEs 病原との関連性が明かになってきた。現在も十分に解明されてはいないが、TSEs を理解するための基盤がプリオン仮説に定着した理由については後述する。

1.5 TSEs の科学的知識の複雑さが BSE 流行の経過、またこの疾患がヒトの健康に及ぼすリスクをあいまいにしたことは、疑いようがない。本巻では着手した調査とそれにより得られた結果について説明する。

1.6 第 2 章は 1986 年当時の TSEs の科学的知識について説明する。のちに BSE と識別された疾患の初期の症例を調査した科学者たちは、この科学知識に反し、この疾病が過去にも存在したのか、存在したのであればどのような種類に属するのかという疑問に達さざるを得なかった。初期の誤解や理解不十分であった点を明確にするため、また必要に応じてこの疾病の理解の鍵となるような研究の発展や最新知識に導くため、1986 年以降に得た TSEs の新たな重要な発見にも触れる。これらの調査資料は文中に明記する。

1.7 第 3 章は BSE の知識および理解の進展について、それを目的として始められた研究に基づき説明する。最近の研究から得られた新しい知識と同様に、その当時の知識から見て過去の研究からどのような結論が得られていたかを説明する。この章は次のように項目別になっている：初期の疫学的研究、この流行病に対して示唆されていた、他に可能性のある経緯、この流行病が持続するためのメカニズム、治療薬投与量の重要性、疾病の感染性と伝達性。また羊への BSE 伝達の可能性と同時にヨーロッパにおける BSE の発生率についても述べる。

1.8 第 4 章では BSE と若者に出現する CJD の新しい変異型(vCJD)と関連する証拠を検証する。CJD サーベイランスユニットが行なった調査、およびこの疑問に対して 1996 年 3 月 20 日以前に海綿状脳症諮問委員会(SEAC)が出した結論を第 8 巻と第 11 巻にそれぞれ記述する。しかし 1996 年 3 月 20 日以降に重要な相当量のデータ(特に実験データ)が得られた。これらのデータを利用してこの関連性の疑惑が

払拭された理由を説明する。この章では今後の vCJD 発生率についても考える。

1.9 TSEs の効果的な治療法発見への試みと共に TSEs の診断試験の開発を第 5 章で説明する。この章にも 1996 年 3 月 20 日以降に得た資料があるので、それ以前に行なわれた試験および治療法を開発するための成果については順序を追って説明する。

1.10 第 6 章は始めに、英国政府が行なった研究への委託と資金提供について述べる。年次公共支出調査の下における研究組織の設立について、また BSE に関わる研究会議、神経病因学ユニット (NPU) および政府局の役割の要点をまとめる。さらに、農漁業食糧省 (MAFF) が TSEs に関する研究プログラムを設置、開発した方法を説明し、農業食品研究会議 (AFRC) が設置した海綿状脳症生物学プログラム (BSEP) も含むこの他の TSE 調査研究プログラムについても簡単に触れる。

1.11 最後に、第 7 章では BSE の科学的調査から得られた結果を検討する。また BSE 研究プログラムおよび新たに現れたこの疾患を対処するための体制の中で、現在になって認識された欠点についても説明する。この章は、今後の研究の運用と調整、動物疾患サーベイランス、潜在的な人畜共通伝染病調査のための、未来への教訓で締めくくる。

1.12 また、本巻には科学的用語集、報告書の他の巻に登場する BSE に関連する人物解説がある。

## **BSE 科学の基礎知識**

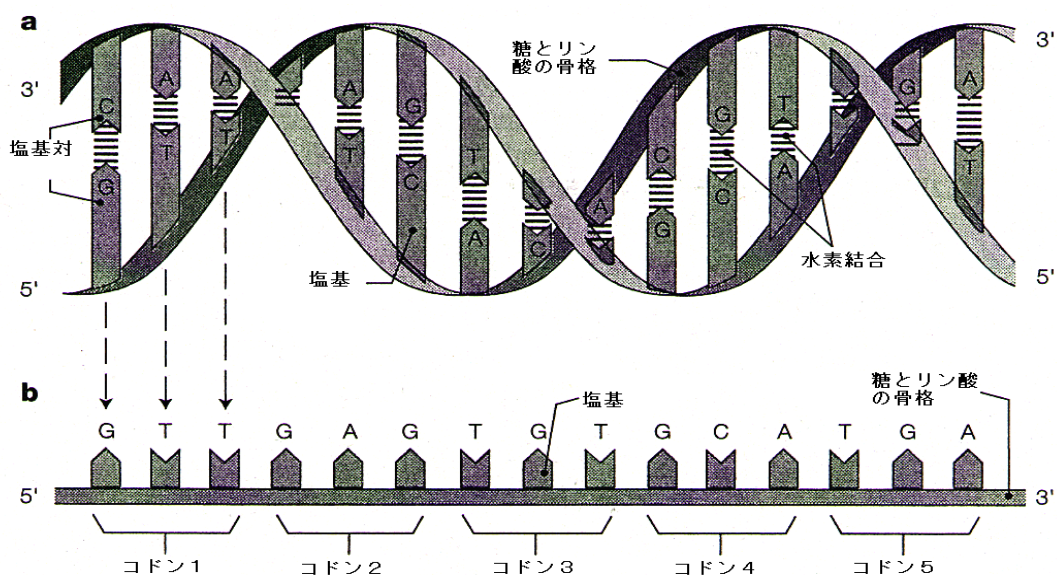
1.13 生物学に精通していない読者は、本巻で取り上げる科学的用語を理解するために以下の説明を参考にすると良いだろう。一般の読者にも理解できるように本書を作成したが、海綿状脳症は複雑な疾患であるため科学用語の使用は必至である。登場する科学用語の大半は巻末の用語集に定義されているので、ここでは科学的知識の基礎というべき初歩的な原理および科学技術の説明のみにとどめた。既にこの分野に精通している読者は第 2 章から読み始めてほしい。

## **DNA、遺伝子、染色体**

1.14 命ある生物は細胞で作られている。細胞壁(細胞表面の膜)が細胞を出入りする

物を制御している。細胞壁と細胞の中身は分子という化学成分でできている。細胞の分子の大部分は蛋白質、炭水化物(糖など)、脂肪、無機物、水で構成されている。いかなる生物も、すべての細胞に全部の細胞と分子を作り出す方法を明記した一連の指示を持っている。この指示は各細胞内の DNA(デオキシリボ核酸)の分子によって暗号化されている。ヒトの場合、ほぼすべての DNA は細胞核という構造の内部にあり染色体で包まれている。染色体はそれぞれ非常に長く重要な DNA の分子であり、DNA はらせん状に 2 本の鎖が絡み合う二重らせん構造をしている (図 1.1)。縄梯子のようなこの二本鎖を結合させているのは、反対側の鎖の塩基と対になる塩基(分子の一部を形成する化合物)である。アデニンはチミン(A - T)と、グアニンはシトシン(G - C)と対になる。塩基が 3 個 1 組になったものをコドンという。DNA のらせんに沿った塩基の配列は遺伝暗号を構成し、細胞が作るすべての蛋白質の構造を決定する。

図 1.1 : a- DNA 二重らせん構造の断面図 ; b- 1 本鎖の DNA の図解説明



Source: *Molecular Biology of the Cell*, Garland Publishing, Inc., New York, 1994

図 1.1 : a- DNA 二重らせん構造の断面図

DNA は糖分子(デオキシリボース)、リン酸、そして 4 つの塩基のアデニン(A)、チミン(T)、シトシン(C)、グアニン(G)による組み合わせで構成されている。糖とリン酸は分子の骨格を作り、塩基は塩基対の形成をする。塩基対間の相互作用は水素結合によって発生する。正電荷を持った分子と負電荷を持った分子の静電的相互作用であるため水素結合は弱い。

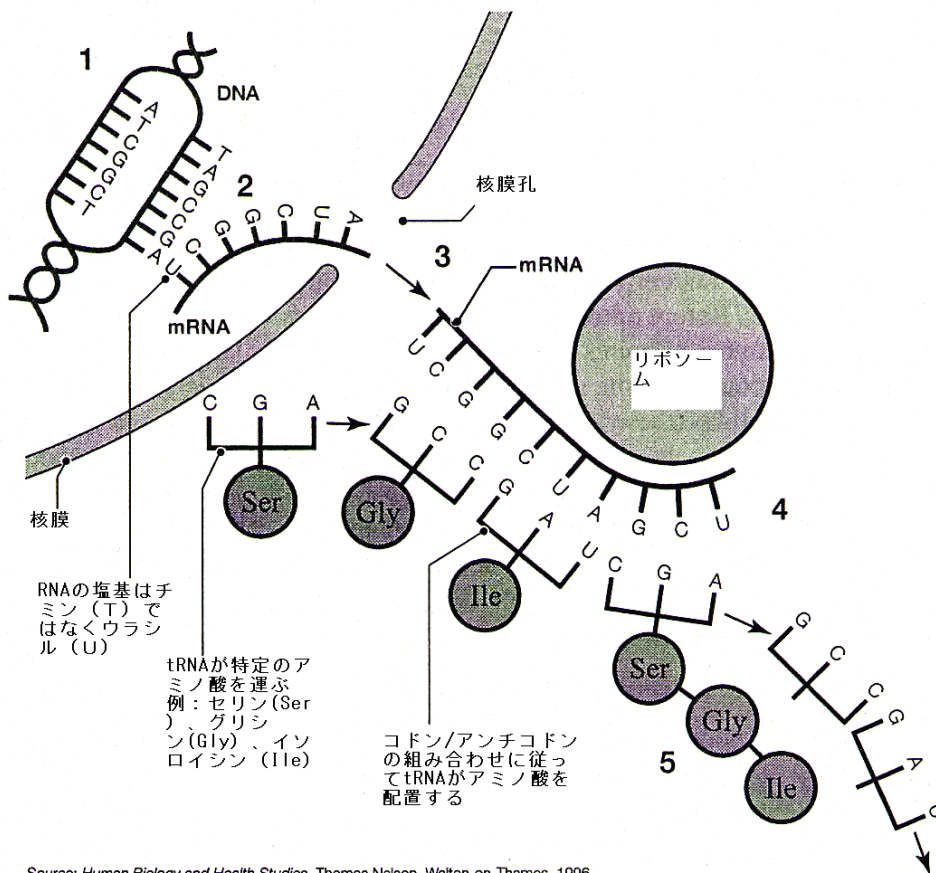
### 図 1.1 : b-1 本鎖の DNA の図解説明

DNA の長さに沿った塩基配列は遺伝子コードを構成して蛋白質形成の指示を与える。3 個 1 組の塩基 (コドン) はそれぞれ固有のアミノ酸を指定する。アミノ酸が蛋白質の基本要素である。

1.15 蛋白質は細胞の内外で多くの重要な機能を果たしている。蛋白質は日常の食品としても大切なものである。通常、蛋白質は消化の段階で分解される。構成部分を利用して細胞は必要な蛋白質を作る。我々の細胞が作る蛋白質にはケラチン(毛髪や皮膚の成分)、コラーゲン(筋肉、腱、器官の補助組織の成分)がある。この他にも酵素、ホルモン、抗体などの蛋白質がある。体内に存在する蛋白質は、その働きや存在のしかたによって表現型に大きく影響する。表現型とは個体にそれぞれ特有の外面的形質である(目で見える、見えないを問わない)。表現型は生物の遺伝子型 (下記 1.30 項参照) とその環境の両方により決まる。

1.16 蛋白質はその蛋白質固有の姿をした 3 次元構造を持つアミノ酸の長い鎖である。これらの鎖は DNA の指示に従って作られ、蛋白質形成の指示が出ると各コドンは特定のアミノ酸と対応して蛋白質の分子を作る。コドンの 3 個 1 組の塩基は 4 種類(A、T、G、C)のいずれかなのでコドン(複数)は  $4^3(64)$  通りである。このうち 3 通りのコドンは形成停止を指示するため、特定のアミノ酸に対する暗号化を行うものは残りの 61 通りである。アミノ酸は 20 種類しかないため複数のコドンが 1 種類のアミノ酸を暗号化する。アミノ酸の一つ、メチオニンのコドンは開始シグナルも暗号化する。ほぼすべての生物のコードは同一である。つまり人間も細菌も、4 つの塩基のうち特定のトリプレットが同一のアミノ酸を暗号化する。多種多様な蛋白質を作り出すアミノ酸の組み合わせは十分にある。蛋白質は核の外側の細胞質基質で作られるため(図 1.2)、同じ DNA コードを持つセグメントがメッセンジャーリボ核酸 (mRNA) によって核から蛋白質生産場所へと運ばれる。メッセンジャー RNA は 1 つの蛋白質に必要な DNA コードを転写したものである。

図 1.2 蛋白質の合成



Source: Human Biology and Health Studies, Thomas Nelson, Walton-on-Thames, 1996

1. DNA の二本鎖がほどけて塩基の配列が出てくる
2. 転写により片方の鎖の複製が 1 本作られる。この複製は mRNA で、転写されると核から蛋白質合成を行なう細胞質基質へ移動する
3. mRNA は蛋白質を合成する小器官(リボソーム)と結合する。もう一つのタイプの RNA である転移 RNA (tRNA) は情報に合ったアミノ酸をリボソームへ運ぶ
4. tRNA のアンチコドンが mRNA のコドン認識すると、リボソームがアミノ酸の結合により伸長する鎖(ポリペプチド)に tRNA から離れたアミノ酸を加えていく。このプロセスを翻訳という。
5. ポリペプチドの鎖が長くなると、蛋白質の姿に折り畳まれていく

1.17 1 千塩基対以上からなる DNA の各セグメントにはそれぞれ蛋白質のコードがある。このセグメントが遺伝子である。実際、遺伝子には遺伝子発現の制御に関与する DNA の暗号化されていないセグメントや伸張が複数あり、遺伝子はコード領域をはるかに超える傾向がある。

1.18 遺伝子は染色体の極めて重要な部分である。通常、染色体は約 5 万から 8 万の遺伝子の遺伝情報を記憶している(最近の研究でこれより少ない数値の可能性が示された)。遺伝子のように、染色体にも転写を行わず機能も不明な繰り返しの塩基配列がある。

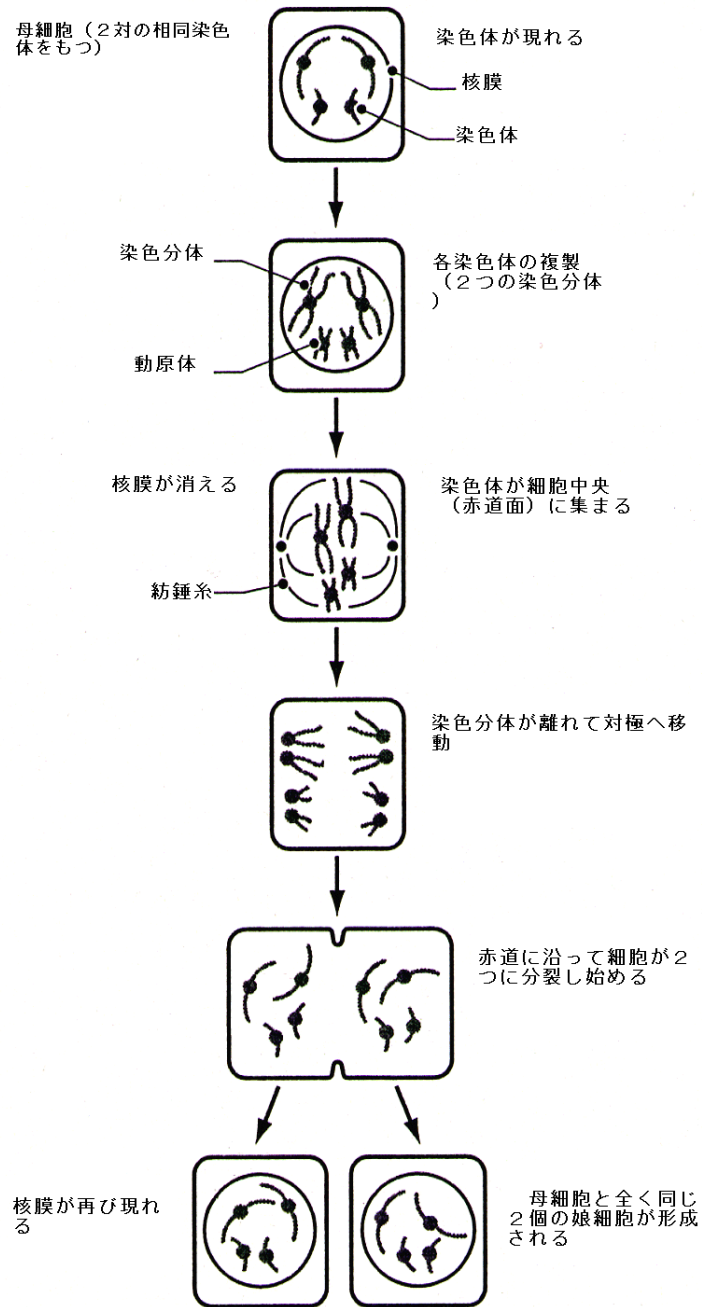
1.19 すべての生物は細胞が 2 つに分裂して増殖していく。体細胞ではこれを有糸分裂という。有糸分裂が始まる前に細胞内の DNA は自己の複製をつくる。間違ふことなく有糸分裂が行なわれると正確な DNA が複製される。この過程は複雑だがここでは簡単に説明する。有糸分裂が発生する前に、DNA の 2 本の鎖が多数の起点 (1 染色体につき最大 100 カ所) で離れる。1 本になったそれぞれの鎖が鋳型となりヌクレオチドの塩基対を作り、今までと同じ鎖を新しく形成する (ヌクレオチドは細胞内の糖とリン酸基と結合した塩基)。複製は各起点から両方向に始まり新しい 2 本の DNA の二本鎖が完成するまで行なわれる。この時点で、各染色体は紡錘糸に付着する場所につながり 2 つの「染色分体」として対極に分離する(図 1.3)。ここで有糸分裂が起こる。核膜が消えて各染色体の 2 つの染色分体が離れる。細胞膜で形づけられると 2 つの新しい「娘」細胞ができる。

1.20 DNA の合成中、間違った塩基が新しい DNA 鎖と結合すると偶発的に異常が発生することがある。これが突然変異(遺伝物質における変化)発生の最も単純な経緯である。このような変異を点突然変異という。これ以外にも DNA 鎖に 1 種類以上の塩基や長めの配列が挿入した場合(挿入変異)もしくは塩基が欠失した場合(欠失変異)の突然変異が起こる。

1.21 各遺伝子には定められた位置(遺伝子座)があり、他の遺伝子と関係しながら染色体の長さに応じて配列される(図 1.4)。同じ遺伝子座にある遺伝子に対立遺伝子と呼ぶ。正常かつ疾患と関連性がない代替的な対立遺伝子の対も多くある。染色体のペアで特定の遺伝子座で対立遺伝子が同じの場合、その個体は遺伝子座で同型接合体であるという。対立遺伝子が異なる場合、その個体は異型接合体であるという。

### 図 1.3 有糸分裂

有糸分裂の流れの図式 (2 対の相同染色体の場合)

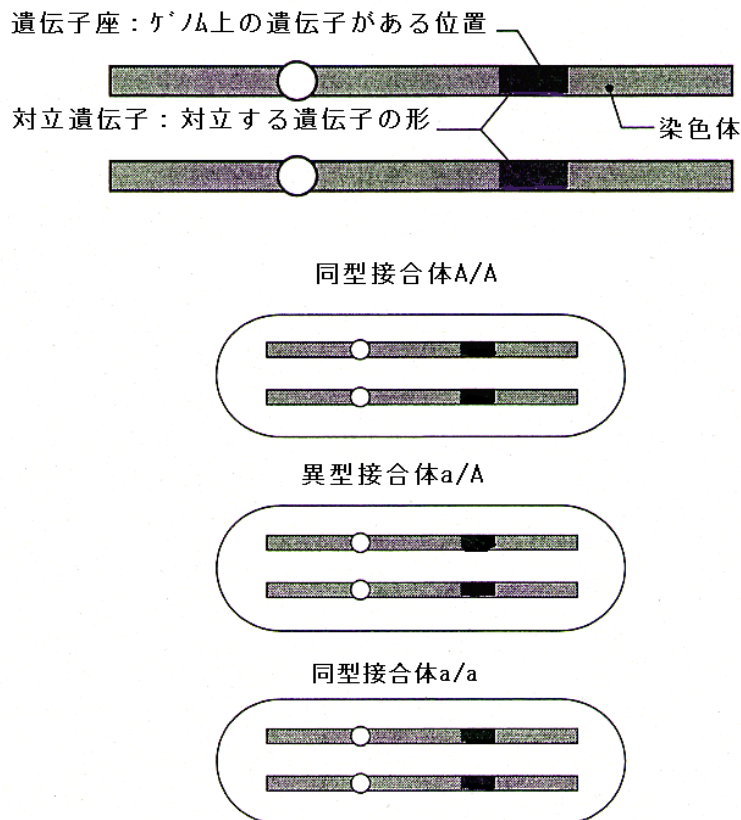


Source: *Human Biology and Health Studies*, Thomas Nelson, Walton-on-Thames, 1996



### 図 1.4: 遺伝子座と対立遺伝子の図解説明

特定の染色体上で遺伝子のある位置を遺伝子座という。染色体のペアは両方の染色体の同じ遺伝子座に特定の遺伝子がある。対立する形の遺伝子に対立遺伝子と呼ぶ。この例の場合、遺伝子 A は、'A'または 'a'として存在する。染色体のペアで両方の対立遺伝子と同じ場合(例：AA、aa)、その個体は同型接合体であるという。



Source: *Molecular Biology of the Cell*, Garland Publishing, Inc., New York, 1994

Molecular Biology of the Cell, Garland Publishing, Inc., New York, 1994 より引用

1.22 遺伝情報は卵と精子形成を経て次の世代へと引き継がれていく。通常ヒトの細胞には 23 対の染色体があり、染色体のペアはそれぞれの両方の親に由来する(父方由来は精子から、母方由来は卵から)。同じ種類の染色体の対を 2 つずつ持つこのような細胞を「二倍体」細胞といい、精子や卵は対になる染色体を 1 組だけ持つ細胞である(染色体は合計で 23 本)。これらの細胞は各染色体の複製を 1 つしか持たないため「一倍体」細胞という。精子が卵と受精すると通常数の 46 本の染色体を持つ 1 個の二倍体細胞が作られる。類似の染色体が 2 本ずつあるので、両方の親に由来する類似の遺伝子が 2 つずつ存在する。各精子もしくは卵に存在する染色体のペ

アの片方によって変化が決定する。

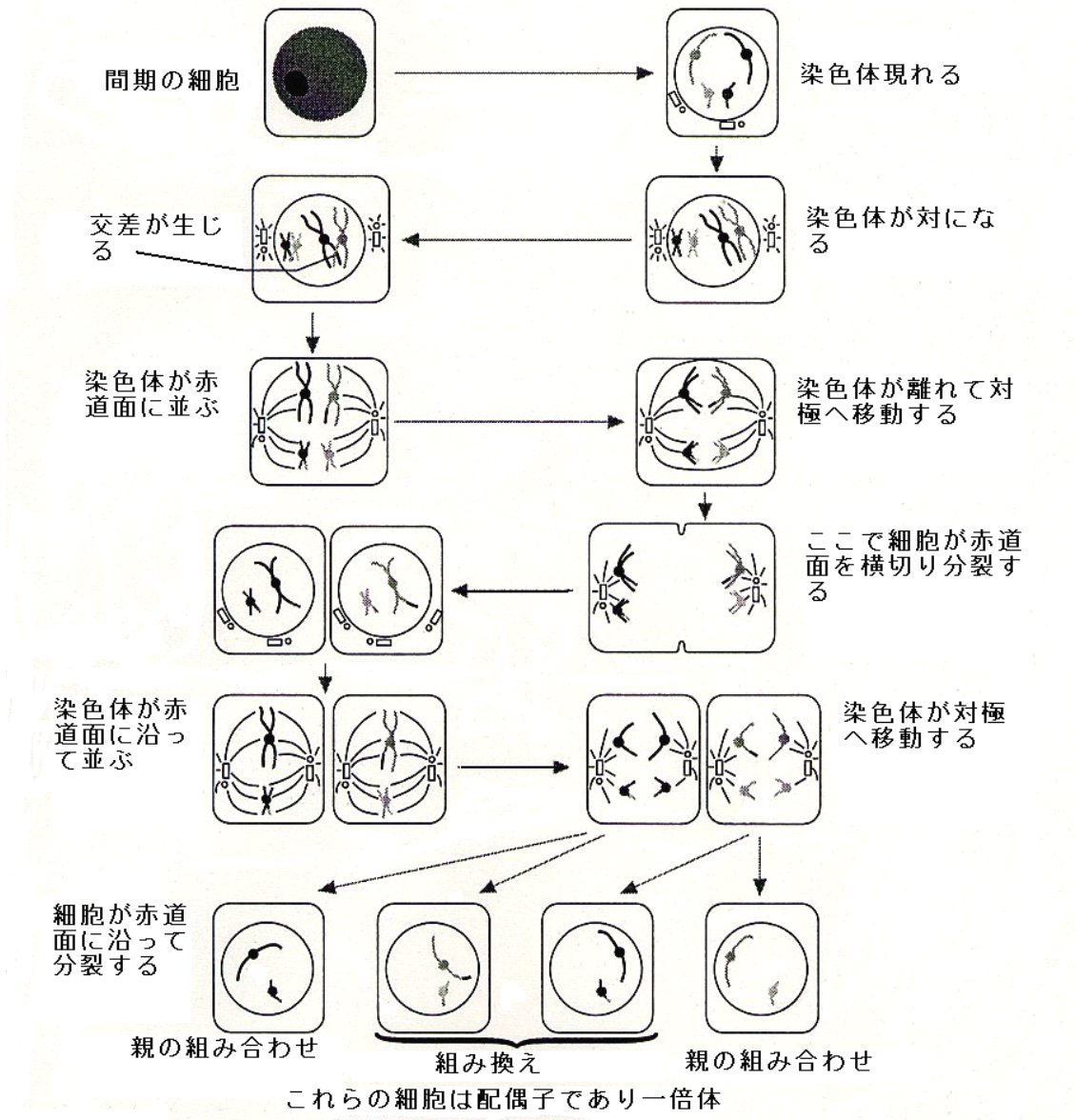
1.23 母方と父方の染色体が無作為に分かれて各配偶子(精子または卵)に入るため遺伝的に全く同じ精子や卵がなくなる。この特異性は母方と父方の染色体間で起こる交差(染色体が部分的に相互交換される)によってさらに確実になる。結果として対立遺伝子が「シャッフル」されるため配偶子中の各染色体に新しい親の対立遺伝子の組み合わせができる。これを減数分裂という。配偶子を作るときに行なわれ、染色体の数を二倍体(46)から一倍体(23)に減少させる特殊な細胞分裂である。減数分裂(図1.5)は細胞分裂が2度あるがDNAの合成は1回目の細胞分裂の前に1度だけ行なわれる。1回目の分裂は、母方と父方の染色体が交差の間に融合して二価染色体を形成する。その後2つの融合した染色体が分離して2つの娘細胞になる。娘細胞はそれぞれ2つの染色分体で構成された23本の染色体を持つが、交差の結果により異なる。2回目の減数分裂は有糸分裂のように染色分体が互いに離れて2つの細胞となる。このようにして減数分裂は4つの細胞を形成するが、染色体が無作為に分けられて母方と父方の対立遺伝子の組み換えが起こるため、細胞の対立遺伝子の組み合わせは、それぞれ異なる。減数分裂の過程で突然変異を引き起こす可能性が生ずるのはDNA合成時と交差発生時の2つである。

1.24 第1.21項で先述したように対立遺伝子が異なる場合がある。それはなぜか。第1.20項で説明したように細胞分裂の際に突然変異が発生することがある。突然変異がどのように子供、孫やその次の世代へと受け継がれているかを下記に説明する。昔、突然変異はある程度の割合で遺伝し、人口の1パーセント以上に対立遺伝子の突然変異が存在していた。従来の集団遺伝学でこのような変異を「多形性」と呼び、その遺伝子がある染色体上の遺伝子座を「多形性である」と言っていた。近年この「多形性」という言葉はその表現型に影響しないと思われるDNAにおける変化に当てはめて用いられる。

1.25 対立遺伝子間の変異は、1塩基対の欠落、付加、置換(点変異)、もしくはDNA分子中の多くの隣り合った塩基対の欠失または挿入と関連している。その大きさに関わらず、DNAコードに起こる突然変異は蛋白質の構造や機能を変えることがある(特に細胞中の蛋白質構造の指示を変えてしまうため)。このため次には個体の表現型に特異な形質を導くことがある。多くの形質は無害(目の色など)であり、なかには有益なものもある。しかしその形質が疾患であると個体に害を与える可能性がある。これ以外のDNAの突然変異は中立的で蛋白質の機能を変えることはない。

**図 1.5 減数分裂**

減数分裂の流れ(2 対の相同染色体の場合) 減数分裂は分裂が 2 度ある。第 1 減数分裂では対合する染色体が分離する。第 2 減数分裂では染色单体が分離する。



Human Biology and Health Studies, Thomas Nelson, Walton-on-Thames, 1996  
より引用

1.26 子孫の持つ染色体のペアの片方に突然変異遺伝子があれば、あるタイプの遺伝形質(疾患も含む)が発現するには充分である。染色体のペアの片方だけに突然変異遺伝子がある場合、その個体は自分の持つすべての細胞の遺伝子突然変異に対して異型接合体となり、精子や卵で異常遺伝子の形質が子孫の半数に移る危険性が生じる。このような形の遺伝は常染色体優性遺伝として知られている。性染色体ではな

い染色体が突然変異を運ぶために「常染色体」と呼ばれ、染色体のペアの片方または両方が突然変異遺伝子を運ぶ場合に形質が生じるので「優性」と呼ばれる。染色体のペアの両方が突然変異遺伝子を運ぶ場合にのみ生じる形質を劣性という。

1.27 前節の内容を受けて性染色体の性格付けをする。雄の性染色体は完全な対になっていない。性染色体の場合、雌は同じ2本のX染色体のペアを持つ。雌はX染色体の突然変異に対して同型接合体もしくは異型接合体となる。しかし雄は異なる「ペア」(X染色体とY染色体を各1本ずつ)を持つ。Y染色体はX染色体に比べて非常に小型である。X染色体の突然変異は、その変異を打ち消す正常なX染色体とペアでないと特異な形質(疾病など)を発生することがある。これを伴性劣性形質という。色盲や血友病がこれにあたる。突然変異のX染色体を母方から受け継いだすべての雄には関連性のある形質が現れる。突然変異のX染色体を母方から受け継いだ雌には、父方に突然変異のX染色体がある場合に形質が現れる。

1.28 遺伝子の突然変異は体内細胞で自然発生し、細胞の複製により組織中に広がる可能性がある。精子や卵の細胞で突然変異が発生すると変異した細胞から子孫に遺伝する場合がある。自然発生の場合も前項で述べた遺伝の場合も共にこれを「生殖細胞系列変異」という。これは突然変異が次の世代を産出する「生殖細胞(配偶子)」(雌は卵細胞、雄は精子細胞)に存在しているからである。生殖細胞系列変異は家族内で継承されるので「家族性突然変異」と呼ばれることもある。

1.29 生殖細胞以外の細胞を「体」細胞と呼ぶ。体細胞での自然発生の突然変異を「体細胞変異」という。突然変異と関連した形質(疾病を含むこともある)が影響を受けた細胞で家族性突然変異と同様に現れる。これは突然変異した遺伝子に同じ作用があるからである。(したがって、突然変異した遺伝子による体中の異常蛋白質の拡散は、体細胞変異と家族性突然変異の両方により引き起こされる。) しかし、体細胞変異は精子や卵で発生しないため、子孫に伝わることはない。

1.30 生物の遺伝子の構造を遺伝子型という。遺伝子型の発現が生物の表現型となる(上記 1.15 節参照)。「遺伝子型」は特定の形質や蛋白質を特定する対になった遺伝子を意味することもある。単一細胞にあるDNAの全体を「ゲノム」という。体細胞(2組の染色体を持つ生殖細胞ではない細胞)のDNAを「二倍体ゲノム」と呼ぶのに対し、生殖細胞(1組の各染色体だけを持つ)のDNAの中身全体を「一倍体ゲノム」と呼ぶこともある。

## 蛋白質の折り畳み、分解

1.31 蛋白質の機能はアミノ酸の内容のみならずその 3 次元構造によって決定される。各蛋白質はアミノ酸の長い鎖として産生されるが、構成アミノ酸の間で起こる化学結合の形式によって迅速に特定の立体配座になる。それぞれの蛋白質の最終的な姿がその蛋白質の特性となり、その上で他の蛋白質や分子との相互作用力を築く。例えばグロビンという蛋白質はその姿であるがために鉄の分子と結合して赤血球の酸素を運ぶ色素を形成する。突然変異によって蛋白質のアミノ酸の内容が変わると蛋白質の姿も変わり、他の蛋白質との相互作用力が妨げられてしまうため、結果として機能が低下する。

1.32 動物の細胞と植物の細胞は絶えず蛋白質を作っている。また絶えず蛋白質を破壊(「分解」)している。蛋白質が生成されてから分解されるまでの期間は一般的に数週間、また数分の場合もある。再生周期が短いという利点により細胞の環境変化に素早く反応できる。蛋白質が分解される一般的な方法は「酵素分解」である。これは酵素(これ自体が蛋白質)が水を利用して蛋白質をアミノ酸もしくはペプチドというアミノ酸基に分解するものである。この分解を行なう酵素を「プロテイナーゼ」または「プロテアーゼ」という。

1.33 酵素による蛋白分解は蛋白質のその正常な 3 次元構造にも影響する。姿が変わると蛋白質は分解に対し耐性を持つことがある。TSEs の病原体関連の項目でも分かるように、プリオン蛋白の 3 次元構造の変換は分解に対する耐性と関連性がある。不溶性の凝集体を蓄積することになり、結果的にこの種の疾患の特徴である神経細胞の破壊が発生する。

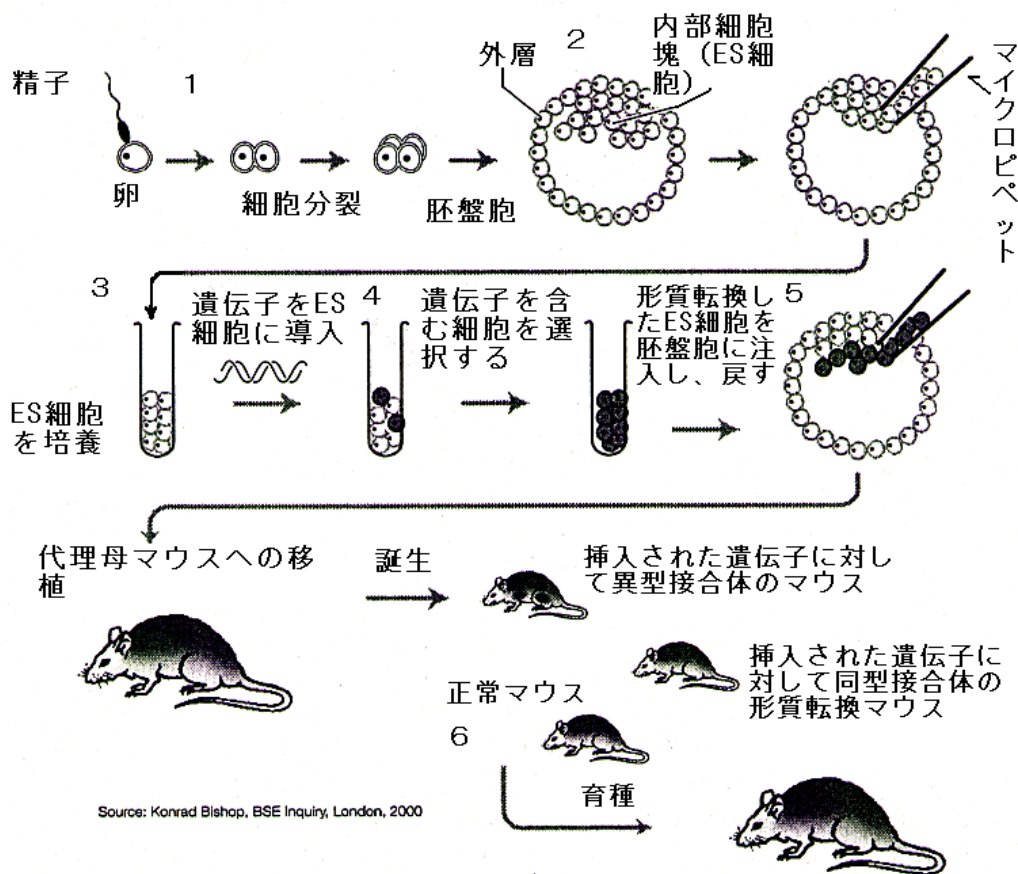
1.34 蛋白質の遺伝子が存在しない、または欠損している場合、蛋白質の機能を決定する方法の 1 つは表現型への影響の調査である。例えば 1 つの突然変異した遺伝子を持つ患者の遺伝病を調べるときにこれが使われる。遺伝子組換えという技術において、問題となる遺伝子を除去、変更、置換する調査が実験用マウスで行なわれ始めた。合成遺伝子または別の生物の遺伝子と自分の遺伝子を交換したマウスをトランスジェニック(形質転換)マウスという(図 1.6)。遺伝子学的に修飾されたマウス、すなわちマウスの遺伝子が除去されたマウス(ノックアウトマウス)はヒトの疾患の研究において、遺伝子でコードされた蛋白質の機能に関する重要な証拠を提供

してきた。突然変異のヒト遺伝子を含む構成を使用したトランスジェニック（形質転換）マウスの他の実験もまた、突然変異の影響の研究に役立っている。

#### 図 1.6: トランスジェニック（形質転換）マウスの作出

1. 卵が精子と受精して完全な生物を形成し得る 1 つの細胞が形成されると、マウスの発育が始まる。1 つ細胞がすぐ 2 つに分裂し、分裂したその 2 つの各細胞が再度 2 つに分裂する。この過程が繰り返され、全く同じ細胞が多数形成される。各細胞は胎児を形成する可能性がある。
2. 最終的に分裂した多数の細胞が分化し始め、細胞は胚盤胞（中空の球体の形をした内部細胞塊を含む細胞）を形成する。内部細胞塊が各種類の体細胞を形成し続ける一方、外層は胎盤および他の補助的な組織を形成する。内部細胞を胚性幹（ES）細胞という。
3. 胚性幹(ES)細胞は *In vitro*(試験管内)で複製および分裂を無限に行なう、したがって、マイクロピペットを用いて胚盤胞から細胞を取り出し、適当な培養基に移すと ES 細胞株が確立される。
4. トランスジェニックマウス生成のため、形質転換という方法で遺伝子配列を ES 細胞のゲノムへ導入する。多様な専門技術により遺伝子が特定の位置に導入される。すべての細胞に新しい配列がある訳ではなく、また配列が正しい場所にあるとも限らない。そのため正確な位置に遺伝子のある細胞だけを選び育て、他の細胞は取り除かれる。特殊な遺伝子の突然変異もこのように ES 細胞へ導入することができる。
5. 新しい遺伝子配列を持つ形質転換した ES 細胞を胚盤胞に注入し、胚盤胞を代理母マウスに移植する
6. 代理母マウスからの子孫は新しい遺伝子や突然変異の有無を検査され、新しい遺伝子に対して異型接合体であるマウスを、同型接合体のマウスを生成するためのつがいにする。





Konard Bishop, BSE Inquiry, London, 2000 より引用

## 感染、免疫

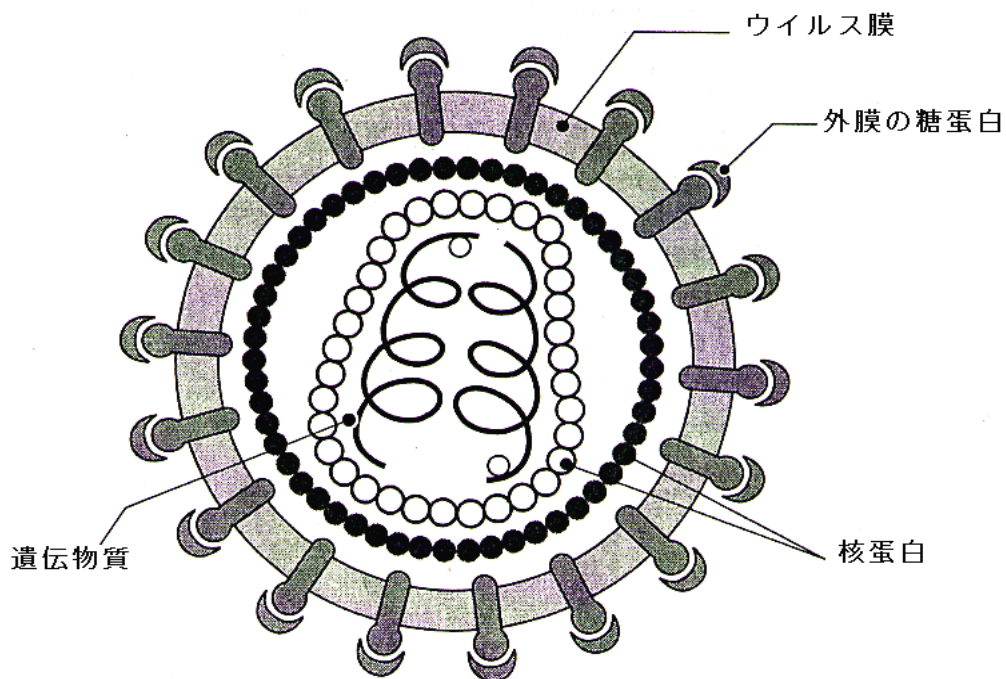
1.35 疾患の根源および発生過程のことを「病因」という。微生物(人間の目には見えない)や疾患の原因となる特定の物質を「病原体」といい、疾患を起こすこの種のものすべて「病原性の」と表現する。感染症の原因は病原体の中でもとりわけ細菌、ウイルス、真菌である。病原体は吸入(例：肺炎)、食物摂取(例：食中毒)および特殊な直接的な方法での接触(例：AIDS の前駆体の HIV)により感染することがある。また子宮中での伝染(例：先天的な風疹)もある。

1.36 T S E 病原体の可能性としてウイルスがこれまで考えられていたことを先に述べた。ウイルスは核酸(DNA または RNA)とウイルスの蛋白で構成されている(図 1.7)。ウイルスは宿主の生きている細胞でのみ繁殖する。例えば HIV などのスローウイルスは、宿主の防御機構から攻撃を受けるまでに増殖する時間があるため、宿主の細胞内で結びつきが徐々に現れる。免疫系を利用した試験でスローウイルスを

確認することができる (次の節で説明)。

### 図 1.7 ヒト免疫不全ウイルス(HIV)を例にしたウイルス構造図解

ウイルスの遺伝物質は RNA から作られており、また異なる 2 種類の核蛋白に包まれたウイルスの核に存在している。これが糖蛋白の埋め込まれているウイルス膜、別名ウイルスエンベロップ(蛋白質ではなく脂質からなる)で覆われている。ウイルス蛋白はすべてウイルスの RNA でコードされている。



Source: *The Encyclopedia of Molecular Biology*, Blackwell Science Ltd, Oxford, 1994

The Encyclopedia of Molecular Biology, Blackwell Science Ltd, Oxford, 1994 より引用

1.37 病原体に感染すると宿主は自分の免疫系を通じて防御反応を起こす。免疫系発達の初期段階でヒトは異物の蛋白質への攻撃手段を確立する。しかし異物の蛋白質だけ攻撃するように、免疫系はヒトの蛋白質に対する耐性を確立しなければならない。この菌株は侵入した病原体の異物の蛋白質に反応するもので、血液の白血球(マクロファージ)を集結して侵入者を飲み込み破壊する。これは感染時に血液供給が増加するための体温の上昇や腫れが起こる炎症(発赤、圧痛など)と関係している。リンパ節の別の白血球(プラズマ細胞)、およびリンパ節細網系 (LRS)の別の組織(脾臓、胸腺、扁桃腺、虫垂など)は異物の蛋白質(抗原)に対する抗体を生成して反応する。



抗体反応は早期の感染に対する二次反応であるため、発生までに日数を要することがある。プラズマ細胞は適切な抗体を生産するようあらかじめプログラムされているので、同じ病原体による再感染を素早く阻止する。抗体反応の基本となるものは感染症予防のワクチン接種である。

1.38 例外的な条件下で、個体が自分の体内組織に対して免疫反応を起こすことがある。これは宿主の蛋白質を模倣した部分を持つ異物が体内の蛋白質に入ると起こる。通常、模倣した蛋白質のベクターは微生物である。宿主が生成した異物の蛋白質に対する抗体が宿主の蛋白質と交差反応するため、炎症や他の免疫反応の兆候が発生する原因となる。このような疾患を自己免疫疾患という。ヒトに発生する一例として最も有名なのはリウマチ性心臓炎で、宿主が細菌（A 群連鎖球菌）に対して作った抗体と、内側の心臓壁および心臓弁の蛋白質の交差反応により慢性の心臓疾患が発生する。

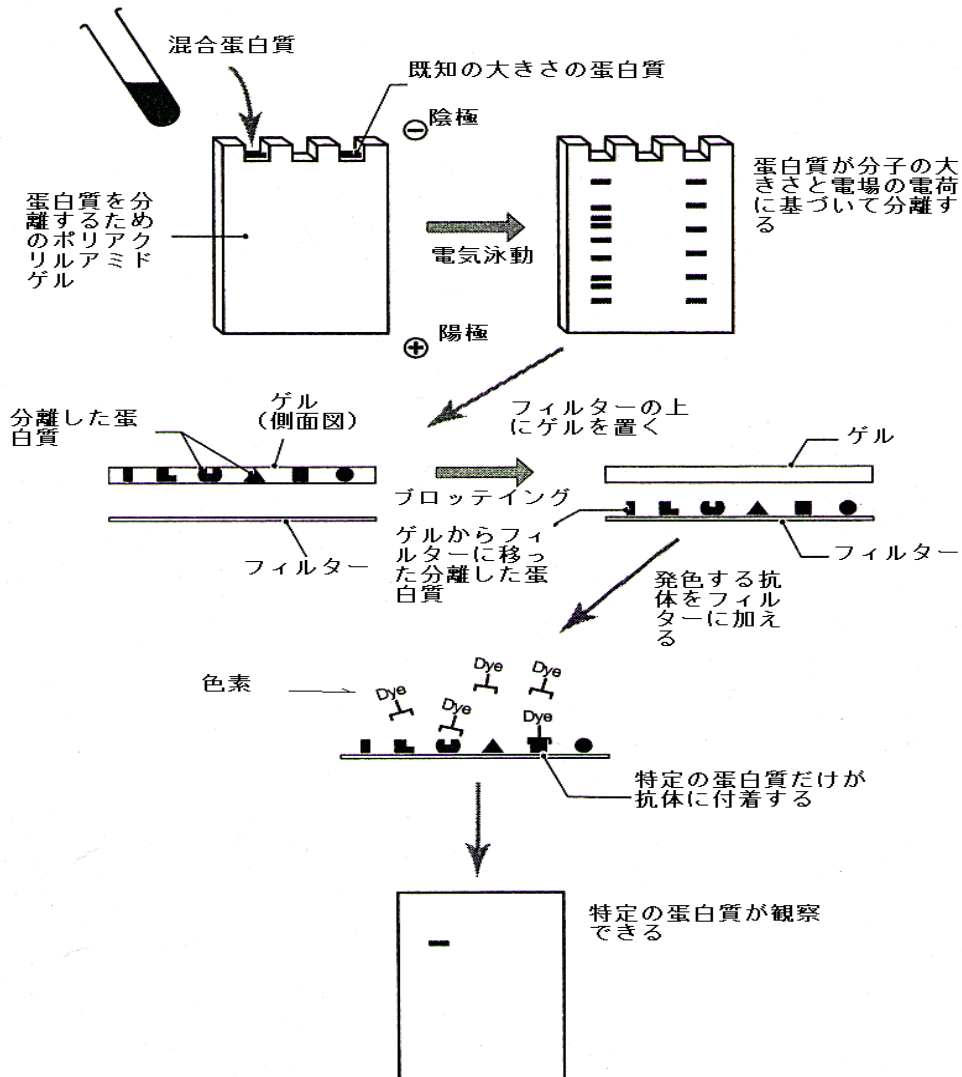
## 株のタイピング、ウェスタン・ブロットィング法、滴定（力価測定）

1.39 個々の微生物の本質は一回または複数回におよぶ多様な臨床実験により決定される。細菌の形態(形式と構造)は光学顕微鏡で精査することができるが、ウィルスを観察するためには電子顕微鏡が必要となる。さらに細胞の特徴づけは、特別に定義された培養基で成長する能力、または抗菌性の病原因子に対する感受性や抵抗性に基いて行なわれる。多くの診断検査では、微生物を殺すために実験用動物に発生させた特定の抗体を使用している。ごく最近、微生物の核酸配列の分析が開発され、特定のタイプを決定する最も高精度な方法が提供された。この分析は大腸菌 O157 感染のような突発的な疾患の発生源を調査する際に役立つ。この場合、「O157」は遺伝学的にまれな大腸菌の細菌、大腸菌の「菌株」として示される。

1.40 以前は実験用動物への接種により病原体を識別していた。つまり結核の病原菌をモルモットに移して認識していた。現在は先述した方法に代替されたので、この方法は使わなくなった。しかし TSEs は例外で、現在も実験用宿主動物(特にマウス)のバイオアッセイが TSE 感染病原因子を検出するための主要な方法となっている。近交系の異なるマウス(TSE 病原体に対して多様な感受性や抵抗性を持つ)を使用するとスクレイピーや CJD のさまざまな菌株が見分けられる。TSE の病原因子のタイプは、潜伏期間(接種から発症までの時間)と実験用宿主動物の脳で作られ出される疾患の種類により決定される。この方法を菌株<sup>strains</sup>タイピングという。紛らわしいが、

実験用宿主動物の系列も「系統<sup>strains</sup>」と呼ばれる。しかし菌株タイピングの目的は感染した病原因子の菌株を識別することである。

図 1.8 ウェスタン・ブロッティング法 詳細は第 1.41 節～第 1.42 節を参照



Source: Konrad Bishop, BSE Inquiry, London, 2000

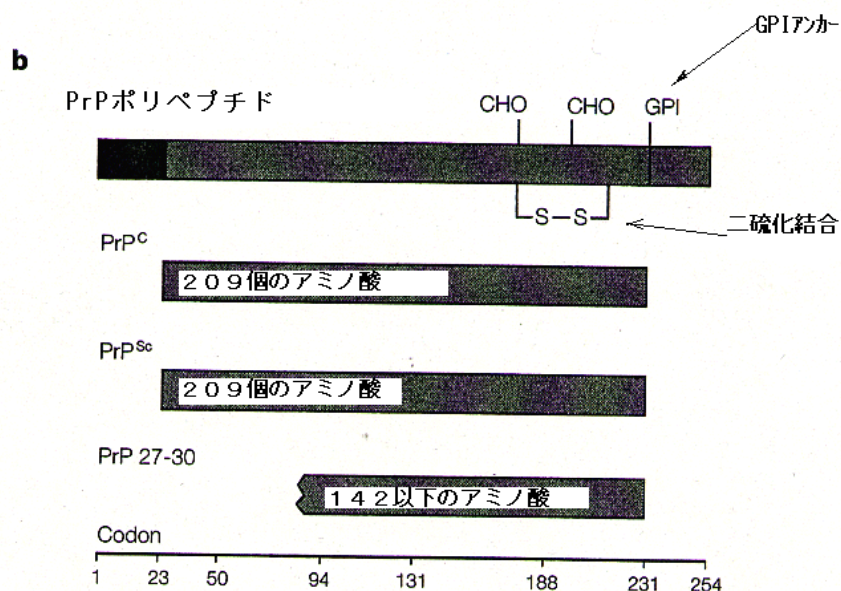
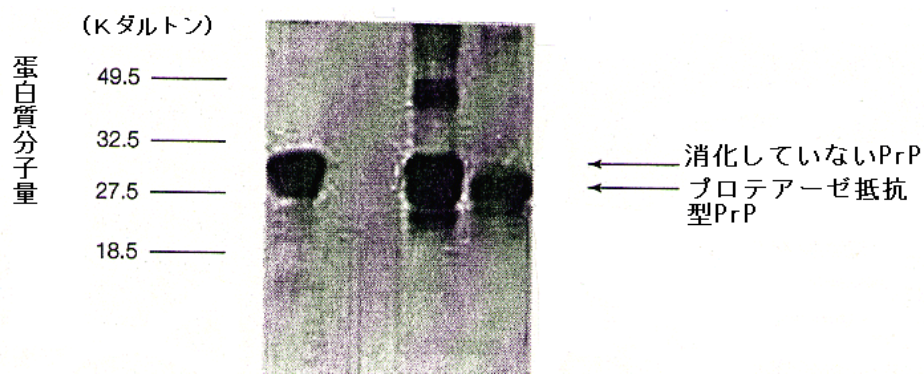
(Konard Bishop, BSE Inquiry, London, 2000 より引用)

1.41 病原体の特定の抗原、特に T S E 病原体を識別するために用いる一般的な方法はウェスタン・ブロッティング法である(図 1.8)。この技術はその大きさに基づいて蛋白質を識別し、所定の蛋白質に対する抗体の有効性を利用する。大きさの異なる蛋白が、電場(電気泳動法)の影響下、ゲルの中で進む割合にしたがって、互いに分離する。小さい蛋白質ほど大きな蛋白質より速く進む。色素で標識された蛋白質に

対する抗体を持つので、蛋白質のそれぞれの位置はゲル中で検出できる。所定の蛋白質の位置を既知の大きさの、蛋白質の位置と比較する場合、調べた蛋白質の大きさから測定値が出せる。抗体検出の前に蛋白質をゲルからフィルターへ移すと簡単に検出できる。この部分の作業はブロッティング法として知られている。

1.42 個々の抗原蛋白質は同じ病原体の別の種では大きさが異なるため、ウェスタン・ブロッティング法は菌株タイピングに役立つ。

図 1.9 ウェスタン・ブロッティング法の例



Source: *Prion Biology and Diseases*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1999

a. プリオン感染していないハムスター(1 および 2 系統)とプリオンに感染したハムスター(3 および 4 系統)から採った脳ホモジネートのウェスタンブロット。2 および 4 系統のサンプルはたんぱく質分解酵素(プロテイナーゼ K)で消化された。

1 および 3 系統のサンプルは処理されなかった。この状況下で、2 および 4 系統の PrP<sup>C</sup> が完全に分解された一方、約 67 個のアミノ酸は PrP<sup>S<sup>c</sup></sup> 分子から消化されて小さなプロテアーゼ抵抗型 PrP 分子(PrP27-30)を生成した。

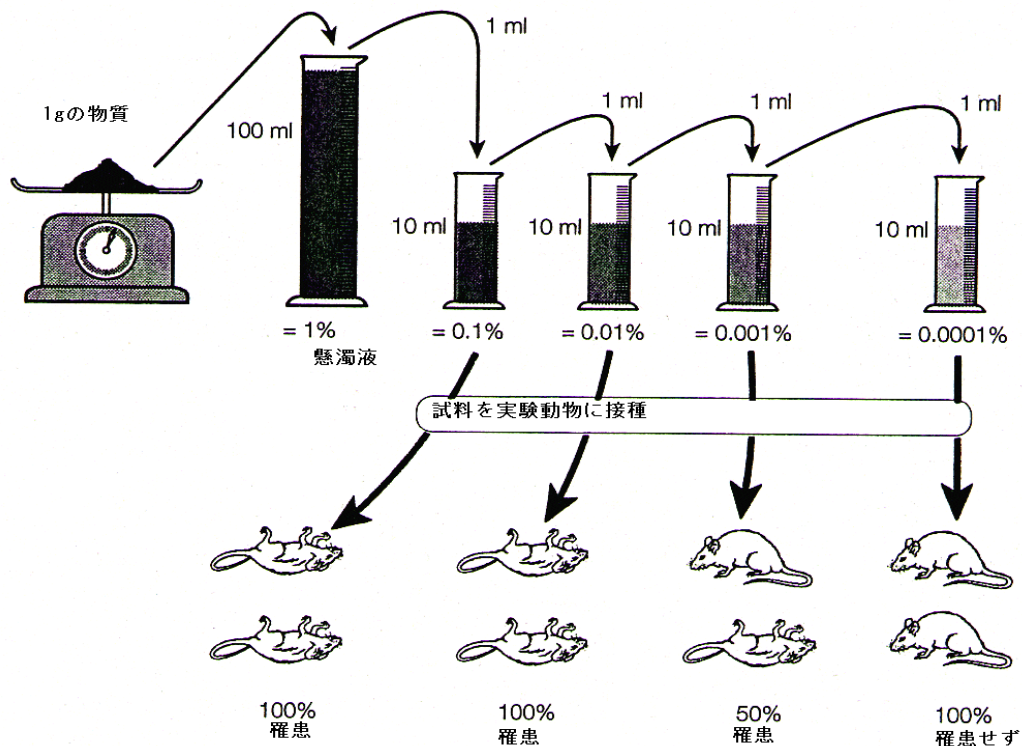
- b. ゴールデンハムスターの PrP 棒グラフ (図 1.9a で示した蛋白の基本形として 254 アミノ酸の断片を例示)。ポリペプチド末端が処理されると PrP<sup>C</sup> と PrP<sup>S<sup>c</sup></sup> は共に 142 アミノ酸になる。蛋白分解ができなくなると PrP<sup>S<sup>c</sup></sup> から先端が切り取られ PrP27-30(約 142 アミノ酸)が形成される。

(Prion Biology and Disease, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1999 より引用)

1.43 滴定 (力価測定) は溶液中の物質量を、その物質と反応するために必要な標準試薬の量を測定して確かめる化学的方法である。TSE 病原体を識別する方法が他にない状況では、力価測定は実験用動物(通常はマウス)を用いた技術を通してのみ行なわれる(図 1.10)。分析する既知の量の組織を食塩水中で砕き、濃度 1% の高純度の懸濁液を作る。0.1%、0.01% というように希釈して一連の懸濁液を作り、それぞれ標準量をグループ別のマウスに注射する。希釈率が極めて高いと病気になる動物はいない。希釈率が極めて低い(つまり高濃度)とすべての動物が病気になる。50% の動物が疾患にかかる希釈度が感染可能量 (ID<sub>50</sub>) の単位である。致死量(LD<sub>50</sub>)の単位は 50% の動物が死亡する量をさす。元のサンプルの感染度はその希釈(滴定量)から 1 グラム当たり LD<sub>50</sub> 単位と表わすことができる。したがって、例えば希釈 0.001% の感染性物質により 50% の動物が死んだ場合、希釈前の元の物質は 1 グラム当たり 1,000ID<sub>50</sub> 単位 (訳注: LD<sub>50</sub> の間違い?) を含んでいたことが分かる。

### 図 1.10 力価測定

既知量の物質を食塩水中で均等化して濃度 1% の懸濁液にする。混ぜた後、試料を 10 倍に希釈して濃度 0.1% の溶液を作る。必要な希釈を作るまで作業を繰り返す。必要な希釈の試料を実験用動物に接種する。実験用動物の 50% が罹患した希釈(力価)は ID<sub>50</sub>、つまり 1 感染単位である。これは元の物質と等しい重量と表現することもできる。



Source: Konrad Bishop, BSE Inquiry, London, 2000

## 2. 海綿状脳症 1986年当時の知識

### 序文

2.1 後に BSE として認知される疾患が、初めて牛に発見された 1986 年当時、伝達性海綿状脳症 (TSE) として知られる疾患群に関し、英国や他の国々でも既に相当の知識が蓄積されていた。英国のヒツジに頻発した TSE の 1 疾患であるスクレイピーを始め、他の動物やヒトに発病する類似疾患についても広範な研究が行われていた。1959 年には既に、スクレイピーとヒト TSE の類似点が指摘されている。このような知見は新しい疾患の研究に役立てられた。

2.2 本章では BSE 研究関連を中心に、1986 年当時の科学的知識について述べる。ただし、1986 年以前の推論のなかには後に誤りであることが判明したものもある。後年の研究で是正された、そうした誤った概念についても本文中で言及する。