

EUのBSE専門家からの情報（仮訳）

2003年4月25日

事務局→ Dr. Wells（英国中央獣医学研究所）

BSEの感染性の研究に関する幾つかの詳細な情報の提供をお願いいたします。

日本のBSEの専門家であります東京大学名誉教授の山内先生からご紹介いただきました。

わが国では、伝達性海綿状脳症に関する食品等の安全確保に万全を期す観点から、牛のせき柱の除去等に関する措置の必要性について、専門家による検討会を設けております。

先日の検討会において、牛のせき柱のリスクを評価するため、EU科学運営委員会で公表しております報告書を資料として使わせていただきましたが、その際、複数の委員から、今後の検討に当たり、当該報告書の科学的根拠になっているBSE感染牛の部位別の感染性についてのさらに詳細なデータが必要であるとの指摘がなされたところです。

また、報告書中の牛の部位別の感染性の定量的な値について、どこまでが実測値で、どこまでが理論値なのかといった指摘がありました。さらに、理論値については、どのような計算方法により求めたのかという疑問が示されました。

当方では、検討会での検討資料として、以下の資料・データをぜひとも入手したいと考えております。つきましては、先生がEU科学運営委員会の方に提出されている資料の中で以下に3つの資料に関係する情報について、当方にご提供いただけないでしょうか。

なお、資料の取り扱いにつきまして先生の方から何か条件があるようでしたら、当方の方でも検討したいと思っておりますのでおっしゃってください。

文献の要求

- ・以下のそれぞれの表の基になっている研究論文、又は論文になっていないのであればその実験に関する資料(具体的な実験方法や実験結果がわかるもの)
- ・2については、レポートが公表されて以降、継続中の実験に関して得られたその後の新しい実験データ
- ・3については、牛の各部位の感染性に関する先生の研究論文(1996年、1998年、1999年)に記載されていない感染性の定量的な分析の部分についての資料・データ。

1 欧州委員会科学運営委員会 1999年12月報告書

「OPINION OF THE SCIENTIFIC STEERING COMMITTEE ON THE HUMAN EXPOSURE RISK (HER) VIA FOOD WITH RESPECT TO BSE」
の中の「Table 1 : Total Infectivity in a BSE Case」

2 欧州委員会科学運営委員会 2002年1月報告書

「TSE INFECTIVITY DISTRIBUTION IN RUMINANT TISSUES (STATE OF KNOWLEDGE, DECEMBER 2001)」
の中の「Table 5 : Bioassay of tissues from cattle exposed orally to BSE agent (Pathogenesis Study) by intracerebral inoculation of cattle (5 per inoculum group): details of inocula, according to sequential kill point of source cattle, inocula and inoculation dates (continued)」

3 欧州委員会科学運営委員会 2002年5月報告書

「OPINION AND REPORT ASSESMENT OF THE HUMAN BSE RISK POSED BY BOVINE VERTEBRAL COLUMN INCLUDING DORSAL ROOT GANGLIA」
の中の「Table1 : Tentative summary of preliminary estimations on classification of tissues of cattle according to infectivity after experimental oral or natural exposure to the agent of BSE」

Dear Dr Wells,

This is to ask you to provide us with some detailed information on studies for BSE infectivity. I have learned your name from Dr. Kazuya YAMANOCHI, emeritus professor of Tokyo University and BSE expert in Japan.

The Government of Japan has an expert advisory committee on TSEs to discuss necessary measures for removal of bovine vertebral column, from viewpoint of food safety assurance by protecting foods from contamination with TSEs. During a recent session, the expert committee referred to some reports adopted by the Science Steering Committee (SSC) in the European Commission. Some experts pointed out in the session that detailed information on the infectivity of tissues from cattle with BSE, which underlay scientific evidence of the reports, was necessary for future discussion. The committee also indicated that it was necessary to know that the quantitative values of infectivity given in the tables of these reports are theoretical values or actual measurements. Furthermore, if the values were theoretical, what calculating formula was used to obtain the values the committee questioned.

The pieces of information given below are necessary in future discussion by the committee. We would appreciate it if you could provide us with information related to the following three documents that have been submitted to the SSC. If there are specific conditions for data you want us to observe, for example, use limited within the committee, please let us know.

Request for documents

- Publications or documents (if there are no documents in published form) that underlay the each of the tables below, including detailed analytical methods and results.
- In the case of No. 2, the latest data of the on-going studies obtained after the publication of the report.
- In the case of No. 3, results and related data of quantitative analyses of infectivity that are not mentioned in your papers of 1996, 1998, and 1999 on the infectivity of each tissue. We have your papers of 1996, 1998 and 1999.

1. *OPINION OF THE SCIENTIFIC STEERING COMMITTEE ON HUMAN EXPOSURE RISK (HER) VIA FOOD WITH RESPECT TO BSE*, adopted on 10 December 1999

Table 1: Total Infectivity in a BSE Case

2. *REPORT ON TSE INFECTIVITY DISTRIBUTION IN RUMINANT TISSUES (STATE OF KNOWLEDGE, DECEMBER 2001)*, prepared by the TSE/BSE *Ad Hoc* Group and finalized at its meeting of 13 December 2001.

Table 5: Bioassay of tissues from cattle exposed orally to BSE agent (Pathogenesis Study) by intracerebral inoculation of cattle (5 per inoculation group): details of inocula, according to sequential kill point of source cattle, inocula and inoculation dates.

3. *OPINION AND REPORT ON THE ASSESSMENT OF THE HUMAN BSE RISK POSED BY BOVINE VERTEBRAL COLUMN INCLUDING DORSAL ROOT GANGLIA*, adopted by the Scientific Steering Committee at its meeting of 16 May 2002.

Table 1: Tentative summary of preliminary estimations on classification of tissues of cattle according to infectivity after experimental oral or natural exposure to the agent of BSE.

I am looking forward to hearing from you.

Sincerely yours,

Toshiro NAKAGAKI

2003年4月28日

Dr.Wells →事務局

VLA（英国中央獣医学研究所）における BSE の病原性についての継続中の研究に関して連絡を頂き感謝します。

私は、貴殿の具体的な質問に、今回できるだけ回答できると思われる、回答文書を添付しました。BSE 感染牛の部位別の感染性の定量化に関しては、脳組織の力価測定を除いては、さまざまな文献の値は何れも、バイオアッセイによる直接測定の結果ではありません。それらは、2つの一般的な推計に基づいています。

1) 1998年のVLAのAttack Rate study（感染価決定試験）における予備的データ（牛に用量300g～1gの範囲で経口的に投与）と主として他の組織（羊のスクレーピを用いた類推）との比較に於ける中枢神経系の特異的感染分布に基づくTSEの生物学上の一般的知識から判断した”最悪のモデル”とに基づく。

2)末梢組織についてバイオアッセイを行った場合の平均潜伏期間を読みとり、BSEに感染した（マウスまたは牛の）脳の力価測定から得られた投与量－潜伏期相関曲線（非公表）に基づく。

これが、あなたの一助になれば幸いです。さらに説明が必要であれば、ご連絡ください。

(別添文書)

日本の伝達性海綿状脳症対策部会事務局からの質問に対する返答

文献の要求

- ・以下のそれぞれの表の基になっている研究論文、又は論文になっていないのであればその実験に関する資料（具体的な実験方法や実験結果がわかるもの）

引用されているもの以外には、公表され審査済みの関連追加文献はありません。

- ・2については、レポートが公表されて以降、継続中の実験に関して得られたその後の新しい実験データ

最新レポートのウェブサイトを、下記に記します。

- ・3については、牛の各部位の感染性に関する先生の研究論文（1996年、1998年、1999年）に記載されていない感染性の定量的な分析の部分についての資料・データ。

力価測定（滴定）によって、直接感染性を測定したデータはありません。

1 欧州委員会科学運営委員会 1999年12月報告書

「OPINION OF THE SCIENTIFIC STEERING COMMITTEE ON THE HUMAN EXPOSURE RISK (HER) VIA FOOD WITH RESPECT TO BSE」

の中の「Table 1 : Total Infectivity in a BSE Case」

1999年12月採択のBSEに関する食品を介したヒト暴露リスクに関する提言中のTable 1は、1998年2月のUK SEAC報告書から採用された。BSEに感染した中枢神経系0.1gを1 cattle oral ID50であると仮定している。これは、VLAのAttack

Rate Study の暫定的な結果（および第 2 段階の試験が進行中のため未発表の結果）に基づいており、 $10^{3.5}$ mouse i.c+i.p ID50/g の感染価の接種材料を用いた結果から、cattle oral ID50 は 1g 未満であることは明らかであるが、我々は、これについて最終的な値は得ていない。定量的リスクアセスメントレポートは、現在、科学運営委員会の作業部会で修正作業中であり、まだ入手出来ない。CoID50 は 10 ID50/g にかわって、2.5 ID50/g と上向きに修正される模様である。

2 欧州委員会科学運営委員会 2002年1月報告書

「TSE INFECTIVITY DISTRIBUTION IN RUMINANT TISSUES (STATE OF KNOWLEDGE, DECEMBER 2001)」

の中の「Table 5 : Bioassay of tissues from cattle exposed orally to BSE agent (Pathogenesis Study) by intracerebral inoculation of cattle (5 per inoculum group) : details of inocula, according to sequential kill point of source cattle, inocula and inoculation dates (continued)」

最新レポートは、the E Commission Website (discussion の結果) を参照下さい。

「Update of the Opinion on TSE Infectivity distribution in ruminant tissues (Initially adopted by the Scientific Steering Committee at its meeting of 10-11 January 2002 and amended at its meeting of 7-8 November 2002) following the submission of (1) a risk assessment by the German Federal Ministry of Consumer Protection, food and Agriculture and (2) new scientific evidence regarding BSE infectivity distribution in tonsils」

このデータ以降は、新しいデータはありません。

3 欧州委員会科学運営委員会 2002年5月報告書

「OPINION AND REPORT ASSESMENT OF THE HUMAN BSE RISK POSED BY BOVINE VERTEBRAL COLUMN INCLUDING DORSAL ROOT GANGLIA」

の中の「Table1 : Tentative summary of preliminary estimations on classification of tissues

of cattle according to infectivity after experimental oral or natural exposure to the agent of BSE」

この表のタイトルで強調されているように、その評価は、BSEに感染したマウス及び／又は牛の脳組織の滴定から得られた投与用量－潜伏期間相関曲線（標準的な手順は、下記の参考文献を参照のこと。データは未公表である。）のみに基づく概算である。文書中で提示されているように、それらの値には不一致があり、選択された範囲は恣意的である。この表の目的は、単に、用量反応データに基づいた異なる組織間における大きさの差の順列に関する考えを示すことであって、それがバイオアッセイ力価測定データよりも精度が低いことは認識している。その背景として以下の報告書の Section II.2 pp18-20 を参照願いたい。

「Update of the Opinion on TSE Infectivity distribution in ruminant tissues (Initially adopted by the Scientific Steering Committee at its meeting of 10-11 January 2002 and amended at its meeting of 7-8 November 2002) following the submission of (1) a risk assessment by the German Federal Ministry of Consumer Protection, food and Agriculture and (2) new scientific evidence regarding BSE infectivity distribution in tonsils」

参考文献：

Prusiner S. B. et al. Bioassay of Prions. In: Prion Biology and Diseases, (1999) Ed. Stanley Prusiner. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York

Dear Dr Toshiro NAKAGAKI

Thank you for your communication regarding the ongoing studies into the pathogenesis of BSE at the VLA.

I have attached a document which I hope answers your specific questions as far as is possible at this time. With regard to the quantitation of infectivity in tissues of cattle with BSE, none of the values stated in various documents are, with the exception of titrations of brain tissue, the result of direct measurement by bioassay titrations. They are based on two generic types of estimations: 1) from preliminary data (in 1998) on the VLA Attack Rate study, in which a range of doses 300g-1g were administered orally to cattle and "worst scenarios" from the general knowledge of TSE biology, i.e based mainly on the differential infectivity distribution in CNS, versus other tissues (analogies drawn with sheep scrapie). 2) By reading off the mean incubation period of the bioassay of a given peripheral tissue from dose/incubation period curves (not published) of titrations of BSE affected brain, either in mice or cattle.

I hope this helps, but please come back to me if you require any clarification.

Best Wishes

Yours sincerely

Gerald Wells

RESPONSE TO ENQUIRY FROM GOVERNMENT OF JAPAN EXPERT ADVISORY COMMITTEE ON TSES

Request for documents

- Publications or documents (if there are no documents in published form) that underlay the each of the tables below, including detailed analytical methods and results. There are no additional relevant peer reviewed published papers other than the ones cited.
- In the case of No. 2, the latest data of the on-going studies obtained after the publication of the report. Updated report website given below.
- In the case of No. 3, results and related data of quantitative analyses of infectivity that are not mentioned in your papers of 1996, 1998, and 1999 on the infectivity of each tissue. We have your papers of 1996, 1998 and 1999. No data on direct measurement of infectivity by titration

1. OPINION OF THE SCIENTIFIC STEERING COMMITTEE ON HUMAN EXPOSURE RISK

(HER) VIA FOOD WITH RESPECT TO BSE, adopted on 10 December 1999

Table 1: Total Infectivity in a BSE Case

In: Opinion on the Human Exposure Risk (HER) via food with respect to BSE - Adopted on 10 December 1999. Table 1 is adopted from a UK SEAC report of February 1998. The assumption made is that 0.1g of BSE infected CNS = 1 Cattle oral ID50. This was based on interim results of the VLA Attack Rate study (also as yet unpublished, because the second phase is still in progress) and while it is clear that the cattle oral ID50, using an inoculum containing $10^{3.5}$ mouse i.c+i.p ID50/g is less than 1g we do not have a final value for this. A Quantitative Risk Assessment Report is currently being revised by a Working Group of the SSC but is not yet available. It is likely that the CoID50 will be revise upwards e.g. 2.5 ID50/g instead of 10 ID50/g

2. REPORT ON TSE INFECTIVITY DISTRIBUTION IN RUMINANT TISSUES (STATE OF KNOWLEDGE, DECEMBER 2001), prepared by the TSE/BSE Ad Hoc Group and finalized at its meeting of 13 December 2001.

Table 5: Bioassay of tissues from cattle exposed orally to BSE agent (Pathogenesis Study) by intracerebral inoculation of cattle (5 per inoculation group): details of inocula, according to sequential kill point of source cattle, inocula and inoculation dates.

For updated report see the E Commission Website – outcome of discussions: Update of the Opinion on TSE Infectivity distribution in ruminant tissues (Initially adopted by the Scientific Steering Committee at its meeting of 10-11 January 2002 and amended at its meeting of 7-8 November 2002) following the submission of (1) a risk assessment by the German Federal Ministry of Consumer Protection, food and Agriculture and (2) new scientific evidence regarding BSE infectivity distribution in tonsils

There are no new data after this date

3. OPINION AND REPORT ON THE ASSESSMENT OF THE HUMAN BSE RISK POSED BY

BOVINE VERTEBRAL COLUMN INCLUDING DORSAL ROOT GANGLIA, adopted by the Scientific Steering Committee at its meeting of 16 May 2002.

Table 1: **Tentative** summary of **preliminary estimations** on classification of tissues of cattle according to infectivity after experimental oral or natural exposure to the agent of BSE.

As emphasised in the title of this table, the values given are approximations based only upon dose/incubation period curves (standard procedure, see reference below, but data not

published) of mice and/or cattle titrations of BSE affected brain. As explained in the text there are inconsistencies and the ranges selected are arbitrary. The purpose of this table was simply to give some idea of order of magnitude differences between different tissues based on dose response data, which we know to be less accurate than bioassay titration data. For background see also Section II.2 pp18-20 of: Update of the Opinion on TSE Infectivity distribution in ruminant tissues (Initially adopted by the Scientific Steering Committee at its meeting of 10-11 January 2002 and amended at its meeting of 7-8 November 2002) following the submission of (1) a risk assessment by the German Federal Ministry of Consumer Protection, food and Agriculture and (2) new scientific evidence regarding BSE infectivity distribution in tonsils

Reference:

Prusiner S. B. et al. Bioassay of Prions. In: Prion Biology and Diseases. (1999) Ed. Stanley Prusiner. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York

2003年4月29日

山内先生→ Dr.Wells

早々にお返事を頂きありがとうございます。我々の疑問点の大部分は明らかになりました。

2つ質問があります。初期の 10ID50 の値は、Prusiner の方法を用いて潜伏期間に基づいて推定されたものですか。2つ目の質問は、もし私の記憶が正しければ、あなたは筑波のセミナーで、100g では 10 頭中 10 頭すべてが、10g では 10 頭中 7 頭が、1g では 10 頭中 7 頭が発症したと発表されました。この結果を基に、0.4g から計算されたものですか。

2003年4月30日

Dr.Wells →山内先生

実際のデータ（中間および最終データ）とヒトのリスクアセスメント担当者による推定値の両方がミックスされているため、説明は困難です。

10ID50/g という評価（値）は、Attack Rate studyにおける初期の暫定結果に基づいて”最悪なケース”を想定したものです。その算定には、標準 Karber 法の一つである ID50 を用いています。ID50 とは牛の感受性のある集団の 50%に感染／疾患をもたらす接種量を表します。潜伏期間に基づく推定ではありません。私が発表した結果は、用量 300 g ～ 1g を用いたAttack Rateの、第一段階における最終結果です。これにより、ID50の値は修正されて、0.4（実際は0.38）になり、その結果2.5ID50/gとなりました。先に私が言及したように、この結果はAttack Rate study の第2段階で変更されるでしょう。また、リスクアセスメント目的では、このID50の算定の信頼限界はとても広く（0.03～5.3）、従って、実際的な値をあまり正確に示すものではありません。

Dear Dr. Wells,

Thank you for the prompt reply. Most of our points are now clear.

I have two questions. Was early estimation of 10 ID₅₀ based on incubation period using Prusiner's method? Regarding to the second question, you showed that all 10 calves out of 10 at 100 g, 7 calves out of 10 at 10g, and 7 calves out of 10 at 1 g developed disease at Tsukuba seminar, if I remember correctly. Is 0.4 g calculated based on this result?

May be I am confusing. I will appreciate very much for your comment.

Best wishes.

Kazuya Yamanouchi

Dear Dr Yamanouchi

It is not easy to explain because of the mixture of use of actual data (interim and final) and assumed values by risk assessment people. The value of 10 ID₅₀ per gram is a "worst case" assumption based on interim results earlier in the Attack Rate study. The calculation is one of the standard Karber titre, the ID₅₀ expressing the amount of the inoculum which will result in 50% infection/disease in a susceptible population of cattle. It does not have anything to do with incubation period assays. The Attack rate results I presented were the final results of the first phase, using doses 300g-1g. This gives the revised value for ID₅₀ and the resultant 0.4 (actually 0.38) for the ID₅₀ then gives 2.5 ID₅₀ per g. As I mentioned earlier, this will change with results of the second phase of the Attack rate study. Also for risk assessment purposes the confidence limits on this ID₅₀ calculation are very wide (0.03-5.3) so one should not be too precise in suggesting a working value.

Best Wishes

Gerald Wells