

講座

ウシの海綿状脳症（狂牛病）とプリオン病

谷山 弘行

酪農学園大学, 江別市 069

Bovine spongiform encephalopathy (mad cow disease) and prion disease

Hiroyuki TANIYAMA

School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University, Ebetsu 069

キーワード: ウシ, 海綿状脳症, 狂牛病, スクレイピー, プリオン

Key words: Cattle, Spongiform Encephalopathy, Mad Cow Disease, Scrapie, Prion

1. はじめに

狂牛病, スクレイピー, クロイツフェルト・ヤコブ病などの病名が, 新聞やテレビなどのマスメディアをにぎわせたことは記憶に新しい. にわかに世界中がこの狂牛病なる病名に震撼させられ, 一般家庭の食卓の話題としても多に貢献した. それでは一体, 狂牛病とは何か. なぜ我々はこの病気に関心を向けざるを得なかったか.

伝達性海綿状脳症と呼ばれる一群の疾患があり, 長い潜伏期間を経たのちに発症する. ひとたび発症すると急速に進行し, 中枢神経系を中心とした神経系の異常を呈し, 致死性的転機をとる伝達性の疾患である. 家畜におけるこれらの疾患はヒツジ, ヤギ, ミンク, シカ, レイヨウ, ネコそしてウシなどで知られており, それぞれに異なる病名が与えられている(表1). ヒツジおよびヤギにおける本症(Patison, 1964; Harcourt, 1974)は, スクレイピーと呼ばれ, その発生はすでに18世紀初頭から西ヨーロッパ諸国で記録されており, もっとも研究が進められた疾患である(Kimberlin, 1981). 一方, ヒトにおいてもCreutzfeldt-Jakob disease (CJD), Gerstmann-Straussler-Scheinker syndrome (GSS), Kuru, Fatal familial insomnia (FFI) と呼ばれる疾患(表1)が知られており(Lampert et al., 1972), イギリスにおける狂牛病の大発生とともに, 動物とヒトの海綿状脳症との関連性がにわかに注目される様になった. 1985年以降, イギリスにおいて多数の狂牛病(mad cow diseaseの日本語訳)が報告されたが(Wilesmith et al., 1988),

現在ではウシの海綿状脳症(bovine spongiform encephalopathy; BSE)と統一して呼ばれている. このBSEの発生は, スクレイピーに感染していたヒツジから作製された飼料添加物(meat and bone meal)を給餌したことによってウシへの感染が成立したことにあった. さらにこれらの感染牛がレンダリング(肉・骨などの畜産廃棄物の再利用を目的とした処理法)材料として活用されたために大流行の素地ができて上がった. これら廃棄物に含まれた感染因子はレンダリング処理過程でも失活せず, 添加物中に感染因子が残留し, 新たな感染因子として広がったと考えられている(立石潤, 1996). ヒツジの病気が飼料を介してウシに伝播したこと, この他にもミンクやネコにも同様の伝播が認められていることから, BSE牛由来の乳肉や加工食品摂取によってヒトにも伝播する可能性が指摘されるに及んで, 医学, 獣医学, 畜産学などの研究者はもとより一般家庭にまで及ぶ世界的な関心を招いた.

2. ヒツジのスクレイピー

伝達性海綿状脳症の中で最も研究の進んだ疾患で, 現在のところ他の動物の海綿状脳症の元凶とされている. この疾患を知ることはBSEを理解する意味で最も重要と考えられる. スクレイピーは古くから知られており, 世界的な分布を示す病気であるが, わが国においては1981年において初めてその発生が確認された(Taniyama et al., 1984). その後, 散発ながらも発生の報告はあるが, 本疾患の特性を示す様に流行などの伝播様式は認められていない. また, BSEの発生も報告されていないが, その発生要因となりうるスクレイピーが存在することは家畜衛生学にとどまらず公衆衛生学上も重要な問題として捉えなければならな

表1 ヒトおよび動物における海綿状脳症

Scrapie (スクレイピー)	ヒツジ, ヤギ	ヨーロッパ, 北米, 南米, 日本, インド
Bovine spongiform encephalopathy (BSE)	ウシ	イギリス, アイルランド, スイス, フランス
Transmissible mink encephalopathy (TME)	ミンク	米国
Spongiform encephalopathy in antelops	レイヨウ	イギリス
Clonic wasting disease (CWD)	大鹿, ミュール	米国
Feline spongiform encephalopathy	ネコ	イギリス
Creutzfeldt-Jakob disease (CJD)	ヒト	全世界
Gerstmann-Straussler-Scheinker syndrome (GSS)	ヒト	全世界
Fatal familial insomnia (FFI)	ヒト	
Kuru	ヒト (ファオ族)	ニューギニア

い。しかし、わが国においてはヒツジは主な畜産動物ではないため一般の関心はいま一つ薄いようである(谷山, 1993)。

臨床事項

特徴的所見として羊毛の脱落(脱毛)が挙げられている。すなわち、強い搔痒感から罹患ヒツジは牧柵や羊舎壁に体をこすりつけることによって体毛の脱落を来すとされている(scrape; こする, これが病名の由来になったとされている)。しかし、搔痒感や脱毛の明確に認められない症例も多くあり、他の臨床所見も含め総合的な診断基準を設定する必要がある(一条ら, 1984; 1985)。

好発年齢は2.5~5歳(ピークは3歳)で、それ以前も以後も急激に減少する(図1)。伝播は垂直、水平の両方式が考えられているが、多くの場合、分娩時もしくは分娩直後の水平感染が重要視されており、垂直感染については明らかにされていない(Dickinson et al, 1968; 1974)。

初期症状は、これといった特徴は無くきわめて不鮮明なので、注意深い詳細な観察が必要である。群れをなす動物に見られる一般的な異常行動として群れからの分離がある。罹患ヒツジは孤立し単独に行動するようになる。すなわち群れの動きに共調することができなくなる。詳細に観察すると動きも緩慢で歩様異常を示したり、採食行為や注意力も散漫になる。進行した症例では、搔痒症状、運動失調、削瘦、脱毛(体壁、頭部、鼻梁)などが鮮明に認められるようになる。共同運動不能を主徴とした運動失調が明瞭で、駐立時全身的に左右に軽度に動揺し、歩行時の四肢の挙上不良や平衡の異常、腰萎症状などが認められる。強制的に歩行させると後軀または前軀から転倒する。また、神経症状として全身の振戦をとまなう興奮症状も不定期に観察される。興奮は約1分以内の持続時間を示すことが多い。興奮時にはしばしば流涎も見られる。瞳孔反射には異常は認められないが、皮膚反射はしばしば減退することがある。この他、搔痒によると思われる

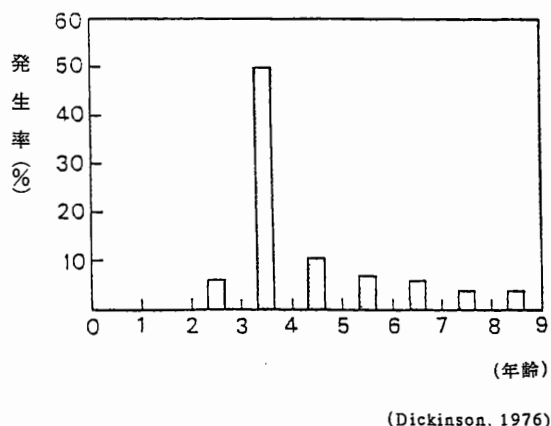


図1 ヒツジスクレイピーの発生率 (%)

噛み傷が四肢末端の皮膚に観察される。当然のことではあるが、これらの症状は症例によっても異なり、またヒツジの種によっても異なるとされている。これらの臨床症状は感染後2~3年にわたる長期間の潜伏期を経た後に発症し、多くは発症後数週ないし数カ月の経過で致死の転帰をとる(一条ら, 1984; 1985)。発生は3~5歳の繁殖用雌羊に多いとされる。

診断法

これまで、ヒツジスクレイピーの診断は唯一病理組織学的になされていた。これは感染因子に対する免疫応答が無いことから、血清免疫学的診断が不可能なことが理由として挙げられる。しかし、何よりもまして感染因子が未だに特定されていないことが、診断法確立の大きな妨げとなっている。現在行われている確定診断法について簡単に触れておく(表2)。現在利用可能な診断法として、1) 病理組織学的診断。2) 免疫組織化学的診断。3) イムノプロット法。4) 電子顕微鏡的診断。5) 実験動物への伝達試験などがある(堀内・品川, 1995)。

1) 病理組織学的診断法では、スクレイピーに認められる特徴的病変の確認が目的である。スクレイピーの診断を困難にしている理由のひとつに斃死例の病

表2 スクレイピーの診断法

- | |
|---|
| 1 ; 病理組織学的検査. 中枢神経系(延髄, 橋, 脊髓, 中脳)を用いる |
| 所見 |
| ・神経細胞の細胞質空胞変性 |
| ・神経網の空胞化(海綿状態) |
| ・グリオシス |
| ・非炎症性病変 |
| 2 ; 免疫組織化学的検査. 抗 PrPsc 抗体を用いた神経組織内 PrPsc の検出 |
| 3 ; イムノプロット法による人工膜上での PrPsc の検出 |
| 中枢神経系組織, リンパ節, 脾臓からの抽出物を用いる. 高感度の検出法 |
| 4 ; 電子顕微鏡的検査. 病変組織の抽出物内の SAF の検出. 長時間固定された材料や死後変化の進んだ材料でも有効 |
| 5 ; 実験動物への伝達試験. 被検動物の組織乳剤を実験動物に接種(主に脳内接種)発病を確認する |

理解剖時に特徴的所見が得られないことが挙げられる。それゆえ、すべて組織学的検査を待たなくてはならない。病理組織学的に病変は中枢神経系に限局しており、大きく分けて2つの変化からなる。ひとつは神経細胞の細胞質内空胞の形成(図2)で、他は神経網の海綿状態の形成(この変化に由来し海綿状脳症の呼称が与えられた)である。これらの病変は脳全域に分布することは無く、脳幹部すなわち間脳、中脳、橋、延髄、脊髓に好発する。特に橋、延髄においては必発所見であり、病理組織学的検査では橋、延髄の検査は欠かせない。延髄では迷走神経背側核、副楔状束核および外側網様核、橋では巨大神経網様核、台形体背・腹束核、橋核に顕著に現れる。神経細胞における空胞変性の著しいものでは、同部神経核の神経網は海綿状を呈し、かつ神経細胞の壊死、崩壊、脱落を伴う(図3)。灰白質の神経網(neuropil)は広範囲にわたって海綿状を呈し、病期の進行とともに拡大し大脳皮質におよぶ症例も報告されている。また、病変部においては初期より星状膠細胞の増数が観察され、重度病変部においては線維性神経膠症(fibrous gliosis)が認められる。しかし、好中球、リンパ球、大食細胞などの炎症性細胞の浸潤は認められず免疫応答の欠如をうかがわせる(Zolnik, 1958)。

2) 免疫組織化学的診断法. 近年、本病の感染因子と深い関係があると考えられているプリオン蛋白(PrP, prion protein; 後述)に対する抗体を用いた免疫組織染色法が開発され、診断の補助手段として用いられている。スクレイピーヒツジの脳病変部の切片を染色すると、病変部に一致してこの抗 PrP 抗体陽性の所見が得られる。陽性所見は神経細胞の細胞質、神経網あるいは星状膠細胞に認められる。また、病変部にアミロイド斑が観察されることがあり、

これも抗 PrP 抗体によって染色される。このように免疫組織化学的に組織内においてスクレイピー感染因子と関連する蛋白質の検出が可能になった。しかし、この診断法には信頼のおける特異抗体と熟練した染色技術が必要である。

3) イムノプロット法. 免疫組織化学的診断法が組織内での PrP 検出法であるのに対し、本法は、組織から抽出した PrP を人工的に作製した膜上に移したり、この膜上で抗 PrP 抗体を用いて免疫染色を行う

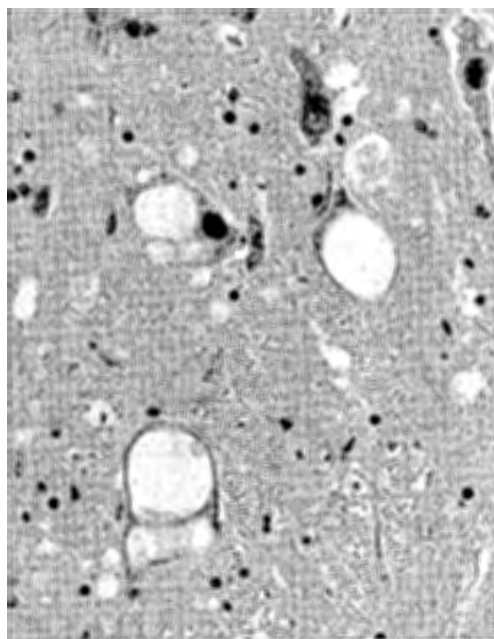


図2 ヒツジの延髄に認められる神経細胞の細胞質空胞の形成 HE 染色標本. x 400

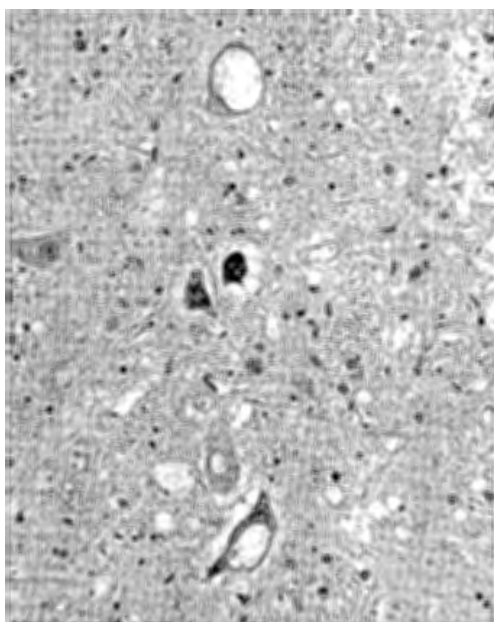


図3 ヒツジの延髄に認められた神経細胞の空胞変性と神経網の海綿状態 中央に萎縮、死滅する神経細胞が認められる HE 染色標本. x 200

方法である（ウエスタンブロット法）。この方法は脳、脾臓、リンパ節などの乳剤を界面活性剤や蛋白質分解酵素で前処理し、SDS-ポリアクリルアミドゲル中で電気泳動後、PVDF膜にブロットし免疫染色を行いPrPを検出する。この方法は比較的簡便で感度も高いことから、また罹患ヒツジ由来のPrPと正常ヒツジ由来のPrPとの区別が可能であることから診断に高い信頼性を得ることができる。罹患ヒツジ由来のPrPは蛋白質分解酵素に抵抗性を示すのに対し、正常ヒツジ由来のPrPは容易に分解されることから、この性質の差を利用した診断法である。

4) 電子顕微鏡の診断。電子顕微鏡を用いて抽出画分における幅4～6 nm、長さが50～200 nmの線維状構造物の検出を行う。この構造物は2本平行に並ぶアミロイド線維様の構造物で、SAF (Scrapie associated fibrils, 後述) と呼ばれる。

5) 実験動物への伝達試験。罹患動物の組織（脳、脾臓、リンパ節など）乳剤をマウス、ハムスターなどの実験動物に接種し、感染因子の伝達を確認することができるが (Fraser and Dickinson, 1968; Shinagawa et al, 1984), 発症までに長時間を要するため実用性にかける。

以上スクレイピーの診断法について説明したが、いずれも一長一短が有り発生状況や材料の保存状態によって、これらの診断法の適切な選択と組み合わせを行い、より信頼度の高い診断を行うように心がけなければならない。

感染因子

狂牛病の大発生とともに、ヒツジスクレイピーを含む海綿状脳症の病原体解明に対する関心が急速に高まり、分子生物学的手法を用いた研究報告が多数発表されるようになった。しかし、現在に至ってもその正体は依然して明らかにされていない。ここではこれまで報告された知見を簡単に紹介するに止め、詳細についてはそれらの論文を参考にされたい。

動物を使った伝達試験などから得られた感染因子に関する研究から、病原体は非通常性伝達因子と呼ばれるようになり、既知のウイルスやウイロイド、細菌などとは異なった性状を示すとされる。病原体は核酸に対し傷害性に働く紫外線照射処理に抵抗性を示し、また高熱滅菌（通常のオートクレーブ）処理でも不活化されない。また、ホルマリン、エタノールなどの化学処理剤などに対しても不活化されないなど理化学的感作に強い抵抗性を示す。さらに病原体を含むと考えられる抽出画分には核酸は含まれず蛋白質のみからなるという。これらの性状は、この病原体が現代科学の一般常識に当てはまらないことを意味し、ますますもって病原体の確定に混乱を招いていると言える。この非

通常性伝達因子は、プリオン (Prion, proteinaceous infectious particle) と名づけられ (Prusiner, 1985), 人および動物における海綿状脳症から次々とこのプリオン蛋白 (PrP) が見つかるに及んで、これらの疾患をプリオン病と呼ぶことが多くなった。

はじめPrPは海綿状脳症の動物から分離されたため本疾患に特異的蛋白で病原体と考えられていたが、のちにこのPrPをコードしている遺伝子は感染によるものでは無く、人を含むすべての動物が本来持っている遺伝子であることが明らかにされPrP病原体説に大きな疑問が提唱された。しかし、その後の研究で正常の動物に発現している正常PrPc (C, cellular) と海綿状脳症にみられる異常型PrPsc (Sc, Scrapie) とはその蛋白質の二次構造が異なることが解った (Kitamoto et al, 1992)。このことから、PrPscに感染した細胞は、細胞自信が生産しているPrPcをPrPscの触媒作用によって異常型のPrPscに変換させてしまうと説明され、その結果見かけ上PrPscが増殖して周囲の細胞へと感染を繰り返すとされている。PrPcは糖蛋白質でヒツジでは分子量33～35 kDaである。一方PrPscによって高次構造を変換させられた異常型のPrPはPrPsc (分子量33～35 kDa) と変わり、さらに蛋白質分解酵素の処理を受けて分子量27～35 kDaの感染性PrPscとなるという (畑中 正一, 1996)。正常PrPは動物種によって型があり、また品種によっても“株”があることが知られている。この他、スクレイピーヒツジではスクレイピー随伴線維 (SAF, scrapie associated fibrils) と呼ばれる蛋白質線維が認められることがあるが、この線維はPrPscを含むアミロイド線維とされている。

PrPcの産生をコードする遺伝子を破壊されたマウス (ノックアウトマウス) では、PrPscを感染させてもPrPscは増殖せず発病することも無い。一方のPrPscを作るトランスジェニックマウスではすべて発病し、このマウスから得られたプリオンは正常マウスに対して発病させることができる。このようにPrPscの感染、増殖にはPrPcを発現する遺伝子の存在が深く関与していることから、海綿状脳症は感染症と遺伝子病の2面性を持った疾患であると考えられている。

以上、病原体と考えられているプリオンについて述べてきたが、PrPcからPrPscへの変移機構やPrPscの増殖機構が明らかにされていないなど、依然として不明の点は多数残されている。また、このプリオン説に疑問を投げかける研究者もいまだ大勢いることから、定説として認められたわけでは無く、病原体の本体は依然として不明であると考えられるべきであろう。

疫学

古くから知られていたスクレイピーも、世界的分布

を示すようになったのは第2次世界大戦後である。世界経済の成長とともに家畜の移動も世界的となり、本症も各地に広がった。汚染国であったオーストラリア、ニュージーランドの2カ国が徹底した浄化策をこうじて、本症の撲滅をはかり清浄化に成功したことは有名である。日本におけるスクレイピーの発生の報告は1984年 (Taniyama et al, 1984., 一条ら, 1974., Shinagawa et al, 1984) になされたが、これらの発症ヒツジは1981年~1982年の間に続発して見つげられた。このヒツジは1974年カナダから輸入されたヒツジの子孫であった。また本症の発見より先に幾例かのヒツジが同一牧場において、先に述べた臨床症状を示し斃死していたが、病理組織学的検査がなされていなかったために発見に至らなかった。したがって、本症発見までの期間の不顕性感染ヒツジの移動が、今日の全国的広がりをもたらしたと思われる。しかし、全国各地の屠畜場に搬入されるヒツジの脳、脾臓、リンパ節を用い PrPsc の検出を試みた疫学的調査の結果、全国的蔓延の可能性は低いとの報告もされており、またこれまで報告された発生例は北海道からの移入ヒツジに限られていたことから、今後ヒツジの移動や管理に細心の注意を払えば汚染が全国的に拡大する可能性は低いと思われる。

3. 狂牛病の発生

1985年、世界を震撼させる報告がイギリスでなされた。ウシにおける海綿状脳症の発生である。もともとイギリスはスクレイピー汚染国であり、その発生は長く知られていた。しかし、それまでウシにおける本症の報告は無く、ヒツジに限られた疾患と理解されていた。イギリスでは家畜の飼養効果をあげるため、動物性蛋白質を飼料添加物として数十年前から給餌していた。このような背景から先に述べたように BSE はスクレイピー汚染動物由来の PrPsc が経済効果の上昇をねらった不適切な処置によって、人間の手で動物に伝達させられたものとして捉えることができる。1985年の報告以来、増加の一途をたどり1993年には100,000頭を超えるに至った。1988年、飼料添加物から反芻由来の動物性蛋白質を除外し、飼料として給餌することを禁止したが、その後も発生は増加は認められた。しかし、1993年をピークに減少を見せている(表3)。イギリス以外ではアイルランド、スイス、フランス、オマーン、デンマーク、ドイツ、カナダなどで発生が報告されているが、オマーン、デンマーク、ドイツ、カナダの報告例はイギリスからの輸入牛に発生したものである。日本において BSE の発生は認められていない。しかし、ヒツジスクレイピーの発生が少数とは言え、認められる事実は看過されるものではない。この様な危険因子を有する感染症の存在を許している現実には厳に正さなければならないし、オースト

表3 1995年~1996年までの BSE の発生数 (イギリス)

1995~1987	136
1988	1,954
1989	6,955
1990	13,042
1991	22,939
1992	35,269
1993	37,020
1994	26,087
1995	14,869
1996	1,230

ラリアやニュージーランドの浄化策を参考にすれば、飼育頭数の極めて少ないわが国においては容易にその目的を達成できると思われる。

BSE がヒツジスクレイピー由来のプリオン病であることが明らかにされるに及んで、ヒトの CJD, GSS, FFI との関係、中でも CJD との関係が重要視されるようになった。CJD と BSE の関係には疑問視する研究者も多くいたが、1996年従来 CJD と異なる若年性 CJD (new variant of CJD, v-CJD) の報告が相次いだことによって BSE との関連性が強く主張されるようになった。しかし、現在でも BSE と v-CJD の関連性は直接的には証明されていない。CJD の発病はヒト固有の正常型 PrP が感染型 PrP に変わることにより起こると言われるが、蓄積される PrP はすべてヒト型の PrP でウシ型のもの証明されていない。しかし、この v-CJD の発生はイギリスのみで発生し、かつ BSE の大発生と時期を一致させていることから疫学的には強い関連性が示唆されている。

4. 結 語

BSE, TME, ネコ、海綿状脳症などの疾患は、人間が経済効果を追及するあまり、作りだした疾患である。特に BSE は本来草食獣であるウシに動物由来の飼料添加物を長期わたって与えた結果、新しい病気として生み出されたものである。酪農、畜産の技術革新は増加する地球人口をまかなう食料増産のためには必要不可欠ではあるが、一方ではこうした新しい病気を作り出す元凶にも成り得ることを肝に銘じておかなければならない。エボラ、ハンタウイルス、マルブルグ、ラッサなどこれまで知られていなかった感染症が、人間の経済活動の拡大に伴う地球環境の変化にあわせて次々と報告されるようになり、文明が生み出した新種の疾患 emerging disease が続々と知られるようになった。こうした意味から今回取り扱った BSE も emerging disease の一つとして捉えなければ、この疾患が発生した本当の意味は理解されないと考える。

文 献

- Dickinson, A. G., Stamp, J. T., and Renwick, C. C., (1974) Maternal and lateral transmission of scrapie in sheep. *J. Comp. Pathol.*, **84**: 19-25
- Dickinson, A. G., Stamp, J. T., Renwick, C. C., and Rennie, J. C., (1968) Some factors controlling the incidence of scrapie in Cheviot sheep injected with a Cheviot-passaged scrapie agent. *J. Comp. Pathol.*, **78**: 313-321
- Fraser, H., and Dickinson, A. G., (1968) The sequential development of the brain lesions of scrapie in the three strains of mice. *J. Comp. Pathol.*, **78**: 301-311
- Harcourt, R. A., (1974) Naturally-occurring scrapie in goats. *Vet. Rec.*, **94**: 504
- 畑中正一, (1996) プリオンと狂牛病. *科学*, **66**: 397-400
- 堀内基広, 品川森一, (1995) 家畜の伝達性海綿状脳症, —羊のスクレイピーを中心に—. *北獣会誌*, **39**: 10-16
- 一条 茂, 稲田一郎, 更科孝夫, 小野 威, 谷山弘行, (1984) 日本における羊スクレイピーの発生例. *日獣会誌*, **37**: 720-725
- 一条 茂, 納 敏, 谷山弘行, 小野 威, 更科孝夫, (1985) 日本における羊スクレイピーの追加発生例. *日獣会誌*, **38**: 571-575
- Kimberlin, R. H., (1981) Scrapie. *Br. Vet. J.*, **137**: 105-112
- Kitamoto, T., Shin. R.W., Doh-ura, K., Tomokane, N., Miyazono, M., Muramoto, T., and Tateishi, J., (1992) Abnormal isoform of prion protein accumulates in the synaptic structures of the central nervous system in patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *Am. J. Pathol.*, **140**: 1285-1294
- Lampert, P. W., Gajdusek, D. C. and Gibbs, C. J. Jr., (1972) Subacute spogiform virus encephalopathies, Scrapie, Kuru and Creutzfeldt-Jakob disease; A review. *Am. J. Pathol.*, **68**: 626-646
- Patison, J. H., (1964) The spread of scrapie by contact between affected and healthy sheep, goats or mice., *Vet. Rec.*, **76**: 333-336
- Prusiner, S. B., (1982) Novel proinaceous infections particles cause scrapie. *Science* **216**: 136-144
- Shinagawa, M., Matsuda, A., Sato, G., Takeuchi, M., Ichijo, S., and Ono, T., (1984) Occurrence of ovine scrapie in Japan: clinical and histological findings in mice inoculated with brain homogenates of an affected sheep. *Jpn. J. Vet. Sci.*, **46**: 913-916
- Taniyama, H., Ichijo, S. and Ono, T., (1984) The occurrence of scrapie of sheep in Japan. *Jpn. J. Vet. Sci.*, **46**: 741-744
- 谷山弘行, (1990) 狂牛病 (牛の海綿状脳症) とはどんな病気か. *酪農ジャーナル*, **43**: 58
- 立石 潤, (1996) ウシ海綿状脳症と Creutzfeldt-Jakob 病. *医学のあゆみ*, **179**: 140-141
- Wilesmith, J. W., Wells, G. A. H., Cranwell, M. P., and Ryan, J. B. M., (1988) Bovine spongiform encephalopathy: Epidemiological studies. *Vet. Rec.*, **123**: 638-644.
- Will, R. G., Ironside, J. W., Zeidler, M., Cousens, S. N., Estibeiro, K., and Alperovitch, A., (1996) A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK. *Lancet*, **347**: 921-925
- Zlotnik, I., (1958) The histopathology of the brain stem of sheep affected with natural scrapie. *J. Comp. Pathol.*, **68**: 148-166