

# 綜說：炭疽桿菌之分子致病機轉

李淑慧、鍾明華、張國慧、林士鈺

行政院農業委員會家畜衛生試驗所

**摘要** 自從美國報告數個人的炭疽病例後，炭疽已成為全球矚目之焦點。其致病原為一種會產生芽孢的炭疽桿菌，溫血動物對本菌有感受性，尤其是牛與羊。一般認為本菌來源自土壤，並不會藉由動物互相傳染。炭疽依感染途徑的不同可分為皮膚型、吸入型及腸胃型。主要致病因子有二，菌體抗原及外毒素，菌體抗原包括細胞壁及莢膜。外毒素分三種，包括保護性抗原 (protective antigen, PA)、致死因子 (lethal factor, LF) 及水腫因子 (edema factor, EF)。炭疽致死的原因在於炭疽桿菌產生 PA，LF 及 EF 三種外毒素，寄主細胞表面蛋白酵素 (Furin) 將 PA 切割為 PA20 及 PA63。PA63 表面含有 LF 或 EF 之接受體，當 PA 與 EF 或 LF 結合，PA 在寄主細胞膜上形成七個分子，排列成「甜甜圈」狀的柒元體 (heptamer) 通道，可讓 LF 及 EF 由通道進入細胞內破壞正常細胞的機能而致病。若動物出現全身瀰漫性水腫及血液不凝固的情形，則需視為疑似病例，本所於 1999 年 11 月曾解剖一匹馬的炭疽病例。

**關鍵字：**炭疽桿菌、致病機轉、保護性抗原、致死因子、水腫因子

## 前言

炭疽 (anthrax) 是由一種會產生芽孢 (spore) 的炭疽桿菌 (*Bacillus anthracis*) 引起的急性感染病，多發生於野生或飼養的牛、綿羊、山羊、羚羊、駱駝及其他草食動物。本病是一種很古老的疾病，遠在 13 世紀就有此菌造成動物死亡的報告，17 世紀曾引起人類和動物大流行和死亡。人類的感染經常是因職業的關係，接觸感染動物或畜產製品如皮毛、皮革等而感染，故此病又稱為羊毛工人病 (wool sorter's disease)。本病屬人畜共同傳染病，在人類之法定傳染病中被列為第二類甲種傳染病；在動物法定傳染病中被列為乙類疾病。草食獸感受性較高，羊、牛、馬、豬最常被感染，但豬較有抵抗力，易成為本病保菌者。台灣於 1900-1952 年有少

數炭疽病例，史實記錄病牛及病羊共計 667 頭，1952 年最後一個牛隻病例於桃園發生。迄至 1999 年 11 月底方又於台北北投馬場發現一例馬匹病例。人之病例早於 1929 年撲殺炭疽病牛之工作人員經皮膚感染而發病，最後一例人的病例係 1972 年於馬祖經吸入途徑而感染本病。本病發生地區包括美國中、南部，東、南歐，亞洲，非洲，加勒比海地區及中東等地 [4,5]。炭疽菌又稱為窮人核武 (nuclear weapon of the poor)，是最便宜的生物戰劑。美國國防部也開始對可能上戰場的現役軍人進行強制注射疫苗措施。繼美國 911 恐怖攻擊後，炭疽桿菌之恐怖威脅籠罩著全球，臺灣於 1999 年亦曾有一馬匹感染炭疽桿菌之病例。緣此，筆者等收集近年來數篇炭疽桿菌之相關文獻，與 1999 年於北投發生之馬炭疽症之病例，嘗試將其整理歸納，概分為綜說 *Bacillus anthracis*、*Bacillus anthracis* 分子致病機

轉、馬炭疽菌病例報告及結論等四單元，以文獻整理方式撰寫成報告，期望對往後研究本病或研擬防疫方法有所幫助。

## 綜說 *Bacillus anthracis*

### 一、*Bacillus anthracis* 病原特性

炭疽桿菌是一種專性嗜氧產孢菌，該菌大多具有莢膜和毒性因子，此二毒性因子均由質體攜帶，但部分弱毒菌株則不具這些質體。1877 年 Robert Koch [2,3,6] 證實本病之病原為 *Bacillus anthracis* 是一種無運動性具芽孢之棒狀桿菌，大小約 1-1.5  $\mu\text{m} \times 4-8 \mu\text{m}$ 、呈短鏈狀排列、Gram's 陽性桿菌、具莢膜在不適生長之環境下很容易呈芽孢形態發育。一旦形成芽孢，在土壤及動物皮毛中可存活 36 年之久。在活體組織中為增殖型不會有芽孢形成，其形態呈長方形，具有厚且明顯之莢膜但無鞭毛。在血液及實質臟器中，常兩兩排列呈鏈狀有如竹節。所有溫體動物皆有可能感染本菌，特徵是引發敗血症後迅速死亡，以草食獸感受性較高，羊、牛、馬及豬最常被感染，其他動物則較少見。在有氧或高溫環境中 (21°C) 菌體中心即形成球狀芽孢，此芽孢對冷、熱、乾燥、化學藥品、酸性液體有極強之抵抗性，本菌一旦離開活體 (感染動物排泄分泌物或打開體腔)，暴露在缺氧的環境中，會形成芽孢，此期稱為芽孢期。若本菌存於高溫，多濕弱鹼之土壤環境中，在十幾小時內會大量分裂增殖而形成可怕之感染原。故死於本病之動物不應剖解，以儘速焚燬為原則。

### 二、Anthrax toxins 的組成分子

1. PA：保護性抗原 (protective antigen)，由 735 個胺基酸所組成，因其可引起宿主免疫力而命名之。其由 *pag* 基因碼譯為 83 kDa 蛋白質，由 pXO1 質體所攜帶，本身雖不具毒性卻是決定 LF 及 EF 是否具備毒性之重要因子。PA 必需經細胞表面之蛋白酵素切割成 PA63，PA63 在宿主細胞膜上形成柒元體 (heptamer) 通道，排列成甜甜圈狀，才能與 LF 或 EF 結合。
2. LF：致死因子 (lethal factor)，由 776 個胺基酸所組成，由 *lef* 基因碼譯為 90.2 kDa 蛋白質，由 pXO1 質體所攜帶，當 PA+LF 時，經由胞飲作用進入

細胞形成內質體 (endosome)，遇  $\text{H}^+$  酸性環境，此內質體破裂而將 LF 釋放於細胞質內，活化 mitogen-activated protein kinase kinase kinases (MAPKKK) 生化路徑，抑制細胞增殖與導致細胞突然死亡。

3. EF：水腫因子 (edema factor)，由 767 個胺基酸所組成，由 *cya* 基因碼譯為 88 kDa 蛋白質，由 pXO1 質體所攜帶。當 PA+EF 時，經由胞飲作用進入細胞形成內質體，EF 釋放於細胞質內會活化 cAMP，導致細胞病變。

### 三、Anthrax toxins 基因圖示

Petosa et al., 於 1997 年提出 PA、LF 及 EF 之基因 map，PA 由 735 個胺基酸所組成，自 N 端起，其基因可區分為四個區段，包括 PA20 (與 EF 或 LF 結合之處)、Translocation 區 (形成 endosome 將 EF 或 LF 帶入細胞質) 及細胞受體結合處。LF 由 776 個胺基酸所組成。EF 由 767 個胺基酸所組成，自 N 端起 1-250 胺基酸序列與 LF 具有極高的相似性，此區域是負責與 PA63 結合之處。

### 四、Anthrax toxins 在細胞內之作用型式

依據 2000 年 Trends in cell biology 發表之細菌毒素分類，anthrax toxins 屬 Type II- A/B toxins 之作用模式。EF 釋放於細胞質內與 calmodulin 作用，cAMP 會導致細胞水腫而死亡。若 LF 釋放於細胞質內，則活化 MAPKKK 生化路徑，抑制細胞增殖與導致細胞突然死亡。

### 五、人炭疽的類型

炭疽依傳播途徑不同而分為以下三種型式：皮膚型、吸入型及腸胃型，炭疽桿菌孢子可在土壤中存活數十年，人類可能因處理感染動物的皮毛及臟器組織，或從遭汙染動物產品吸入炭疽孢子而感染，炭疽亦可能藉食入未煮熟感染動物的肉類而傳播。皮膚型炭疽：LD<sub>50</sub> (10-50 個 spores)，死亡率為 1-5%，約 95% 病例是經由皮膚傷口處而感染處理受汙染的毛皮、皮革、獸皮或感染動物之毛製品 (特別是羊毛製品)。皮膚感染開始時呈小腫塊如蟲咬般病灶，但 1-2 天後發展成水泡，然後轉變為無痛性潰瘍灶，通常直徑為 1-3 公分，中央形成一黑色焦痂；鄰近區域淋巴結可能腫大，如患者適當使用抗生素治療，大都能治癒。吸入型炭疽病：LD<sub>50</sub>

(10,000-20,000 個 spores)，早期症狀如感冒，數天後可能發展至嚴重呼吸問題及休克，死亡率幾達 100%。腸胃型炭疽病：LD<sub>50</sub> (250,000-1000,000 個 spores) 可能因食入受汙染的肉類而感染，腸道急性腫脹，初期症狀為噁心、嘔吐、食慾喪失、發燒伴隨腹痛，吐血及嚴重腹瀉；死亡率達 25-60% [6]。

## 分子致病機轉

### 一、進入動物體內之流程

動物吸入 *Bacillus anthracis* 之芽孢菌→進入肺泡上皮經發芽增殖後→進入支氣管淋巴結，此時 *Bacillus anthracis* 形成增殖型→再進入血流及淋巴液，入淋巴結增殖→增殖之桿菌入網狀內皮系統→最後入脾臟（二次增殖中心）形成菌血症及急性敗血症→最終宿主因休克死亡。由皮膚傷口感染會在皮膚形成無痛性潰瘍膿瘡，若不幸形成菌血症，則命運與前述同 [6]。

### 二、Anthrax toxins 之分子致病機轉

Duesbery 及 Brossier F [1,2,3]等詳細描述 anthrax toxins (PA、LF 及 EF) 互相作用造成細胞死亡之作用機轉。PA 與宿主細胞膜表面之蛋白酵素如 Furin 相互作用→切割為 PA20 與 PA63 → PA63 結合於細胞膜上，此時裸露出 EF 或 LF 的 binding domain → PA+LF 或 PA+EF，形成柒元體甜甜圈狀通道→藉由胞飲作用 (endocytosis) 將此內質體轉置入細胞質中→ LF 釋放於細胞質內，活化 MAPKKK 生化路徑，抑制細胞增殖與導致細胞突然死亡。EF 釋放於細胞質內會活化 cAMP，導致細胞病變。

### 三、Anthrax septic shock 之致病機轉

*Bacillus anthracis* 大量增殖形成菌血症，釋放出大量 anthrax toxins，趨化炎症細胞，如巨噬球、中性球等釋放大量 cytokine (如 TNF-alpha，

IL-1beta, IL-8) 及 C3a, C5a 等補體複合物，導致小動脈收縮，引起局部貧血終致形成缺氧性休克 [1,2,3]。

## 馬炭疽病例報告

台北市梅花騎馬俱樂部，一匹十歲競速用純種熱血馬 (thoroughbred)，俗名為黑玫瑰，88 年 11 月 23 日凌晨 5 點多，突然死亡，畜主以為是毒蛇咬傷致死，於當日下午 1:00 送至本所剖檢。其剖檢病變包括：鼻頭部浮腫、左側眼瞼腫脹、鼻腔潮紅，流出暗褐色未凝固血水 (圖 1、2)。血液不凝固，呈暗黑色 (圖 3)。鼻粘膜：潮紅、出血、壞死。脾臟腫大，內含大量未凝固血液，切面似草莓果醬狀。血液抹片經 Wright's stain 可見大量齊頭短桿菌呈串狀，兩兩成對，或三、四個串聯呈竹節狀排列 (圖 4)，Gram's stain 呈陽性反應。氣管粘膜潮紅、漿膜面水腫、氣管腔內佈滿帶血泡沫狀液體 (圖 5)。兩側肺葉濕重潮紅，切面含大量呈暗黑色未凝固血液，膈葉肋膜面有白色纖維素物附著。組織病變包括脾、肺、腎、腸漿膜、肝及心肌：皆可見出血、水腫，實質有竹節樣排列具莢膜之齊頭桿菌浸潤，但皆無明顯之炎症反應。微生物學檢查：血液及肝、心、脾、肺鈎菌培養於血液培養基，置於二氧化碳培養箱中，36 小時後，有少數不溶血、邊緣不整、表面粗糙之菌落形成。分離的菌株具有莢膜，Anthrax 螢光抗體染色為陽性。肝、肺、腎、脾等檢體的 Ascoli precipitin test 均為 (+)。PCR 結果顯示 Cap (capsule)，PA (protective antigen) 及 EF (edema factor) 的 Primer 皆為 (+)。動物接種測試：以血液檢體腹腔注射兩隻 BALB /c mice (25 g) 約 24 小時後，兩隻均死亡，其解剖病變和死亡馬的病理解剖結果相似。由形態學及細菌學檢測結果，綜合判定為馬炭疽。

圖 1. 馬炭疽症：病馬鼻頭部浮腫、左側眼瞼腫脹、  
鼻腔潮紅，流出暗褐色未凝固血水。

圖 2. 馬炭疽症：鼻部皮下組織腫脹浮腫，大量黃  
褐色膠樣物浸潤於壞死區內。

圖 3. 馬炭疽症：血液不凝固，呈藍莓色。

圖 4. 血液抹片經 Wright's stain 可見大量齊頭短桿  
菌呈串狀，兩兩成對，或三、四個串聯呈竹  
節狀排列，

## 結 論

臺灣目前尚未受炭疽菌之危害，但對岸中國大陸卻常有動物感染炭疽的消息傳出，兩岸往來頻繁，加上生物戰劑恐怖主義橫行，若要避免本病之危害，了解本病之致病機轉為當前之要。哈佛醫學院的 Collier 研究團隊，針對本病之分子致病機轉，於 2001 年 Science 期刊 [7] 報導了利用炭疽毒素 (anthrax toxin) 的突變體，預防及治療本病，此炭疽毒素的突變體不但具有相當於炭疽病疫苗的效果，亦可取代如塞普洛等抗生素，是一種有效、快速的保護療法。這個研究團隊已鑑定出三種具有治療潛力的保護性抗原突變體，以大鼠進行動物模式試驗。這些突變的保護性抗原與正常具致命性的毒素及炭疽桿菌混合注入大鼠體內，大鼠仍健康如昔；然而對照組則在 90 分鐘內生命垂危。此炭疽毒素的突變體疫苗，若能通過人體試驗，相信可取代傳統治療及預防本病方法的缺點。

## 參 考 文 獻

1. Brossier F, Mock M. Toxins of *Bacillus anthracis*. Toxicon 39: 1747-1755, 2001.

圖 5. 馬炭疽症：氣管粘膜潮紅、漿膜面水腫、氣管腔內佈滿帶血泡沫狀液體。

2. Brossier F, Martine WL, Mock M, Sirard JC. Role of toxin functional domains in anthrax pathogenesis. Infection and Immunity 68: 1781-1786, 2000.
3. Duesbery NS, Vande Woudeb GF. Review Anthrax toxins. Cell Mol Life Sci 55: 1599–1609, 1999.
4. Forshaw DA, Higgs DC, Moir TM, Ellis, Links LJ. Anthrax in cattle in southern Western Australia. Aust Vet J 74: 391-393, 1996.
5. Patra G, Vaissaire J, Weber-Levy M, Doujet CL, Mock M. Molecular characterization of *Bacillus* strains involved in outbreaks of anthrax in France in 1997. J Clin Microbiol 36: 3412-3414, 1998.
6. Sellman BR, Mourez M, Collier RJ. Dominant-negative mutants of a toxin subunit: an approach to therapy of anthrax. Science 292: 695-697, 2001.
7. WHO (World Health Organization, Geneva). Guidelines for the Surveillance and Control of Anthrax in Humans and Animals. (unpublished document: WHO/EMC/ZDI/98.6), 1990.

# Review : Molecular Pathogenesis of *Bacillus anthracis* Infection

Shu-Hwae LEE, Ming-Hwa JONG, Kuo-Hui CHANG, Shih-Yuh LIN

National Institute for Animal Health

**SUMMARY** Anthrax, the worldwide disease caused by the spore-forming *Bacillus anthracis*, now has become the focus again since several fatal cases of human were identified in America. Warm-blooded animals are generally susceptible to the agent. Sheep and cattle are particularly sensitive. Anthrax is generally considered a soilborne infection and does not commonly spread by animal to animal. Anthrax is usually classified as inhalation, gastrointestinal and cutaneous forms by the entry portals of infection and recognized as pharyngeal, intestinal and septicemic types by the clinical signs. *Bacillus anthracis* secretes two toxins, that are composed of protective antigen (PA), lethal factor (LF) and edema factor (EF). The PA plus LF elicit death of animal, whereas PA plus EF produce edema in the skin. Anthrax should be suspected when the carcass is necropsied and patients show extensive edema and unclotting blood. Similar signs were noticed in a dead racing horse, which was submitted to the National Institute for Animal Health for necropsy from a horse park in November 1999. Dark-brown nasal discharge and extensive edematous swelling in body surface were observed.

---

\*Corresponding Author  
National Institute for Animal Health