

綜說：從分子生物學觀點探討傳染性海綿狀腦病致病機轉

李淑慧、張國慧、鍾明華、林士鈺

行政院農業委員會家畜衛生試驗所

摘要 傳染性海綿狀腦病(transmissible spongiform encephalopathies; TSEs) ，因其會造成人類或動物腦組織海綿狀病變而被命名。1982 年美國神經生化學家 Prusiner S.B 於科學(Science)雜誌發表羊搔癢症 (scrapie) 之致病物質為一不含核酸，僅具蛋白質之粒子，並將其命名為 proteinaceous infection particle，此具感染力之病因簡稱 prion。正常動物及人類許多細胞表面皆含有 prion，簡稱 PrP^{C} ，c 代表細胞 (cellular)；此 PrP^{C} 正常結構為四個 α 螺旋結構，由於不明原因使其中兩個 α 螺旋結構異構 (conformation) 為 β 褶板樣結構，發生異構現象之 prion 稱 PrP^{Sc} ，Sc 代表 scrapie，以下簡稱 PrP^{Sc} ，具感染力與病原性。 PrP^{Sc} 無法被正常蛋白酵素所水解，故會堆疊於腦組織中，尤其是神經細胞，引起神經細胞凋零 (apoptosis)，繼而星狀細胞移除凋零死亡之神經細胞，形成腦組織之空洞變化。綜合近年來相關文獻可得知人類或動物感染 PrP^{Sc} ，大致可分為兩種路徑，一為經口感染受污染之食物，將 PrP^{Sc} 經口食入，在扁桃腺增殖，經由免疫系統，主要是 B 細胞，將 PrP^{Sc} 帶入周邊淋巴結與脾臟，follicular dendritic cells 會幫助 PrP^{Sc} 之複製，再經由 B 細胞將 PrP^{Sc} 帶入周圍神經，最後感染腦神經細胞；另一感染途徑為醫源性感染 (iatrogenic)，經注射荷爾蒙、輸血、外科手術等醫療行為而感染 PrP^{Sc} ，此具病原性 prion 可經由血液或淋巴液感染周圍神經，最後感染腦神經細胞，造成海綿狀腦病。

關鍵字：傳染性海綿狀腦病、分子生物學、致病機轉、普里昂

前言

1996 年英國政府發表狂牛症，又稱牛海綿狀腦病 (bovine spongiform encephalopathy，簡稱 BSE)，疑與新型變種庫賈氏病 (variant Creutzfeldt-Jakob disease，簡稱 vCJD) 有關之訊息後 (1996, BSE inquiry)，狂牛症及海綿狀腦病變是常被提到的話題 [1,2,3]。海綿狀腦病的名詞並非是整個腦子變得像

海綿般，其實患者的大腦外表看起來只是有點萎縮，主要是其大腦切片在顯微鏡下顯示神經細胞大量死亡，而存活的神經細胞之間有許多的空隙存在，因為沒被 H & E 染上色，看起來如同海綿的空洞一樣[2,6,8]。近年來 BSE 已掀起全世界之恐慌，本來英國 BSE 的疫情已獲得控制，但最近在法國、德國、西班牙、比利時等國卻陸續爆發數十件人、畜的病例，才驚覺 BSE 已悄悄地入侵歐洲，法國的「世界報」稱此事件為「歐洲危機」[3,20]。以往研

究認為 PrP^{Sc} 只會在羊品系中傳播，然近年來隨著證實人類食入含 PrP^{Sc} 病原之牛肉而感染 vCJD，陸續證實其他動物也會感染 PrP^{Sc}，包括鹿、麋鹿、貂、貓、獅、豹等[7,17,18,19]。據研究顯示，BSE 之所以會在歐洲死灰復燃，關鍵因素可能在於飼料問題，故歐盟已通過法令，自 2001 年起全面禁止使用含有動物製品的飼料供牛、豬及家禽食用，為期 6 個月，以避免畜齡 30 月以上的動物感染 BSE 進入食物鏈，造成危害。所幸臺灣迄今未有病例報告，但自英國 BSE 發病高峰期 1990-1996 年間，臺灣自英進口肉骨粉達四萬五千公噸，經調查這些肉骨粉僅用於禽類，使得臺灣發生 BSE 之風險大為降低，但為防範於未然，實有必要了解此病之致病機轉，緣此，收集數十篇文獻，嘗試從分子生物學之觀點探討其致病機轉，供防疫策略之研擬及從事本病監控及研究之基本參考資料。

TSEs 發生起源及個別簡介

一、Scrapie：山羊及綿羊的“搔癢症”，由 PrP^{Sc} 所引起，臨床上呈現搔癢狀神經症狀而命名之。其腦組織切片可見特徵性空泡病變 [4,5,12,14]。

二、BSE：BSE 是在英國 1985 年 4 月首次觀察到臨床症狀，於 1986 年診斷出並發表，至少已造成 16 萬 5 千頭牛的死亡。據研究顯示，BSE 與人類之庫賈氏症 (variant Creutzfeldt-Jakob disease, vCJD) 有關，自從英國爆發 BSE 之後，在世界上許多國家包括：阿根廷、比利時、德國、墨西哥等也陸續有病例發生，BSE 是引起牛致死性腦部疾病，臨床症狀主要是行為異常包括有行動遲緩、動作無法協調、精神沉鬱、狂躁不安、流涎、舔鼻、磨牙等，對聲音、光線或觸覺之刺激敏感。經過多年的研究認為牛隻可能是吃了感染了搔癢症（也是一種傳染性海綿樣腦病變，於 1930 年被發現）的羊隻所製成的肉骨粉飼料之故。因為狂牛症與新型的庫賈氏病的可能關連性，影響英國牛肉之消費 [3,6,11,13]。

三、CWD：狂鹿症英文名為 chronic wasting disease (CWD)，是一種可傳播的海綿狀腦病 (transmissible spongiform encephalopathies；TSEs)

[12]，主要感染鹿及美洲赤鹿（麋鹿）(elk)，最早在 1967 年於美國西部發現，特徵是體重漸漸減輕最後衰弱致死。目前為止仍無法得知 CWD 與引起其他動物及人類海綿樣腦病病原之關聯性。CWD 可感染洛磯山麋鹿、北美大角鹿 (mule deer)、白尾鹿、黑尾鹿及反芻動物，包括野生反芻獸、牛、綿羊及山羊。但若前述野生動物直接或間接與感染 CWD 之鹿或美洲赤鹿同居感染，不會有任何反芻獸出現 CWD 或 TSE 之症狀，這些發現頗值得進一步探討。CWD 大多發生在成年動物，本病是漸進性感染動物，其最終的命運大多是死亡，最明顯而始終如一的是長期體重減輕，主要行為異常包括與同欄動物間互動降低、無精打采、垂頭喪氣、面無表情、在欄舍內漫無目的來回走動，在美洲赤鹿顯現之臨床症狀，則是過度興奮與神經質。發病動物會持續吃著穀粒，但對乾草的興趣則會大大降低，會大量流涎及磨牙，大多數患病動物飲水量及排尿量會遞增。雖然有學者正進行活體動物之診斷研究，但目前唯一可使用之診斷方法還是進行剖解採材，肉眼病變及臨床症狀是可相呼應的，消瘦及吸入性肺炎可能是致死之主要原因，組織病理變化包括中樞神經系統有類似其他海綿狀腦病之病理變化。此外，也有人應用免疫組織化學，在感染 CWD 患畜腦內染出可對抗蛋白酵素消化的異常 prion。真正的傳播模式至今未明，在捕捉後養育下出生的動物及在野生生活下出生之動物都有感染 CWD 之病例，由流行病學的角度觀之，或許垂直感染及水平感染皆有可能，其感染源是否由飼料而來，則沒有直接證據，因為受感染之動物所攝食的飼料太廣泛，不易探討。美國科羅拉多州及懷俄明州之野生動物管理處，正持續投入資金致力於 CWD 之研究。此外，科羅拉多州野生動物部門，正研究發展 CWD 清淨牧場之經營管理計畫，這些委員會正設法限制 CWD 蔓延至新養殖區，同時致力降低鹿及美洲赤鹿（麋鹿）感染 CWD 之發生率[8]。

四、Kuru：克魯症，早期發生於新幾內亞食人族部落，病患全身會顫抖，最後失去行為能力，但自發病至瀕死患者之意識仍清楚，其病原亦為發生異構之 prion [12]。

五、CJD：人亞急性海綿狀腦病變(Creutzfeldt-Jakob disease)，魯茲菲爾德－雅各症或稱庫茲菲德·賈克氏症或稱人類庫賈氏病，此病在病理學上有三

個特點，即大腦皮質產生空洞狀退化，使大腦組織呈現海綿狀，又稱海綿樣腦症。若將患者的腦組織接種於實驗動物大腦中，經過一段潛伏期也會造成該實驗動物發病，醫界在早期認為此病是由慢性病毒所致，然而近年來的研究，已瞭解此病是由一種變性 prion 所引起[15,18]內，終使腦海綿樣。此病在病發初期，以記憶力衰退、行為異常及步態不穩等類似痴呆症狀。隨著病程進展，除了上述症狀會逐漸惡化外，患者的四肢與軀幹會有劇烈之抽搐(肌躍症)，此外也會發生視力模糊、肢體無力、麻木感、癲癇等症狀，在末期則以嚴重痴呆為主。此病的診斷由神經科專科醫師依患者之臨床症狀和腦脊髓液檢驗，配合腦電圖、電腦斷層攝影等檢查可知，確定診斷需靠腦部切片，但臨床醫師因擔心在切片過程中可能造成病原蛋白質經開刀器械感染給其他病患，故多在患者死亡後才做腦部病理解剖。此病病因有三個模式：(1)偶發性：根據文獻得知，偶發性的發生率約百萬分之一，國內曾有病例報告，衛生署自去年起對此病開始登錄調查。(2)遺傳性：此病有部份(約 10%—15%)為家族顯性遺傳，此乃因上述 prion 蛋白粒子之基因發生不同的突變所致，目前研究證實有數個突變基因與此種變性蛋白質有關，國內也已証明此種遺傳性之家族。(3)醫源性：由於各種醫療行為所造成的感染，從 1974 年第一例因眼角膜移植而被感染的報告後，也陸續報導因腦部手術、器械污染、腦電極植入、硬腦膜移植、性荷爾蒙刺激素注射等而感染此病之情形，其中報導最多的是在注射萃取自人類屍體之腦下垂體荷爾蒙後發病的個案。

六、vCJD：新類型庫賈氏病，英國研究者為瞭解庫賈氏症是否與 BSE 有關，分析全國通報之資料。結果顯示 1970 至 96 年間英格蘭與威爾斯地區的散發型 CJD 病例有明顯增加，曾暴露於牛隻牧場的農夫及其配偶或曾接觸罹患 BSE 牛隻者，得到 CJD 的病例數明顯多於其它未暴露者。自從 BSE 流行後，年輕病例卻陸續出現一些異常且持續性神經病理變化，另稱為新類型庫賈氏病 (vCJD)。研究者因此建議應從食品、動物或人體實驗，找出 BSE 的致病原，並確認該致病原是否會傳染給人類。實驗上，人的病亦可傳染給老鼠，目前尚無直接由動物傳染給人的報告，但卻有應用 transgenic mice 及靈長類做試驗動物而間接證實，人類 vCJD 之發生與

攝食受 BSE 病原污染之牛肉有關。vCJD 與 CJD 之差異有三：(1) vCJD 發病或死亡的年齡早，範圍自 18-41 歲，平均年齡 27.6 歲；CJD 發病或死亡的年齡為 60-70 歲。(2) vCJD 發病病程較 CJD 長，約 7.5-24 個月，平均為 13.1 個月；CJD 發病病程約 6 個月。(3) vCJD 主要表現為焦慮、憂鬱、退縮及行為逐漸改變等精神症狀。目前英國超過一百個罹患變種庫賈氏症的案例。根據 2000 年初的幾個研究的估算，實際上罹患變種庫賈氏症的人可能更多。此外，有許多關於變種庫賈氏症的問題依然沒有答案，比如說，變種庫賈氏症只感染年輕人嗎？年輕人比較容易得到變種庫賈氏症嗎？什麼食物最可能帶有變種庫賈氏症的病原？2000 年 9 月 28 日在英國的萊斯特郡 (Leicestershire)，在半徑 5 公里內已經有 4 人死於變種庫賈氏症。為什麼？專家已經開始調查居住於此區域的人是否因其基因型或其他因素而特別容易得到此病。根據變種庫賈氏症專家及倫敦 St Mary's 醫院諮詢顧問 John Colliner 表示，平均而言，異常的普里昂蛋白可潛伏在人體內 30 年或更久，換言之，下半個世紀變種庫賈氏症案例依然會出現[3,8,12]。

Prion 的定義

prion 疾病是由新病原"prion"引起的，與已知的細菌及病毒顯著不同。例如其非常耐熱、不易被生物分解。純化病原後發現其主要為 prion 蛋白，雖然對此傳染源的性質尚有爭議，但大部分的實驗支持"只有蛋白"的假說，即此病原無核酸且只有細胞蛋白 PrP^c 的不正常相似物。在宿主中樞神經系統中， PrP^c 轉變為不正常異構物 PrP^{sc} 且累積下來，是 prion 病的特徵。prion 位於細胞外表面，被 phosphatidylinositol glycolipid 所支撐，可能有訊息傳導、細胞黏著或是一些傳遞功能。 PrP^c 在許多種細胞都有表現，包括神經細胞、星狀細胞以及淋巴球。雖然 PrP^c 主要在腦組織中被發現，在心臟、骨骼肌以及腎臟中也有許多，但在肝臟中則很少被偵測到。有幾種可能與 PrP^c 結合的蛋白質被報告過。其中之一是似類澱粉先質蛋白(amyloid precursor-like protein 1, APLP1)，為類澱粉先質蛋白基因族的成員之一。這引伸了此病是否與老年癡呆症有關聯的新問題。其他可能的結合蛋白是人類薄受體先質(laminin receptor precursor，一種細胞對感染源的表

面受體) 以及未分類的 66kDa 膜蛋白。PrP^C 與 Bcl-2 (一種可以救援神經細胞的蛋白質) 的相互關係指向 prion 蛋白可能與神經細胞的存活有關, 但還未有任何生理學上明顯的證據[15,16,17,18]。

prion 是由在加州大學之 Prusiner S.B 於 1982 年發現, 並因此於 1997 年獲頒諾貝爾獎[15]。Prusiner 認為這個有缺憾的突變普里昂蛋白可「感染」腦部內健康的普里昂蛋白, 造成其結構上的改變。結構異常的普里昂蛋白會繼續聚集, 進而影響正常的腦部功能, 最後會形成像海綿體狀的結構。科學家發現這個病原不需要經過遺傳物質 (例如 DNA 與 RNA) 的複製與擴散即可造成疾病, 與其他會致病的微生物如病毒、細菌與黴菌等皆不相同。換言之, 普里昂蛋白本身即是病原體, 而不是儲存胺基酸及蛋白質結構密碼的 DNA 與 RNA。普里昂基因可能在七十年代時因某種未知原因產生突變, 合成異常的普里昂蛋白, 然後在製造肉骨粉過程時進入食物鏈。這個病原體具有抗高溫的特性, 其他一般微生物與病毒在高溫下都無法生存。在過去三十年來, 科學家從來沒見過這樣的病原體。

TSEs 之病原是一種非傳統的傳染性病原, 稱為變性 prion, 亦稱 PrP^{Sc}, Sc 代表 scrapie 意思, 該病原主要造成動物致死性神經變性的疾病, 在人引起 CJD、在牛引起牛海綿狀腦病、在山羊及綿羊引起搔癢症等, 在受感染宿主會形成腦組織的海綿狀變性、神經膠細胞增生等病變。疾病之致病機序各有所不同, 於牛海綿狀腦病的病例, 可能是食用含有 prion 病原之飼料所引起, 潛伏期平均為五年。prion 蛋白質稱為 PrP^C 是正常細胞之蛋白質存在於神經細胞膜上, C 代表 Cellular 意思, PrP^C 分子特性為全長約 254 個氨基酸, 可完全被蛋白酶所分解; 但若 PrP^C 於後轉譯過程中經修飾處理形成 209 個氨基酸的 PrP^C 或結構轉變形成異常之 PrP^{Sc}, PrP^C 具有四個 α 螺旋構造, 若其中兩個 α 螺旋構造轉變為 β 5 褶板構造就形成 PrP^{Sc}, 此結構改變之 PrP^{Sc} 無法完全被蛋白酶水解, 其與蛋白酶作用後會失去約 67 個氨基酸, 形成約 142 a.a. 分子量約為 27-30 kD 的 prion rod, 此 PrP^{Sc} 對細胞及組織有病原性, 其會插入腦神經細胞膜內且堆疊造成腦神經組織之空泡病變[4,9,10,14]。

Prion 之不活化方法

TSEs 之病原對傳統標準之消毒方法具有相當的抵抗力, 完全有效的消毒劑為高濃度次氯酸鈉溶液或 NaOH 溶液。在製做組織切片時, 經 formalin 固定後之組織, 需用 98% 之 formic acid 加以處理一小時以上, 如此可將發生異構之 Prion 不活化。

TSEs 病原之物理消毒方法:

1. 放射性照射、離子化、紫外線及微波照射對 TSEs 病原之影響很小, 並無實用效果。
2. 乾熱: 360°C, 1 小時乾熱處理 TSEs 病原, 小部份仍具感染力。但腦乳劑可以冷凍乾燥後, 在無氧條件下, 加熱處理。scrapie 感染組織經乾燥後仍對熱有抵抗力。
3. 高壓消毒: 高壓消毒對 TSEs 病原之消毒效果來自重力置換(gravity displacement, GD)及 porove-load (PL) 兩種高壓消毒方式所得之資料。GD 高壓消毒係利用蒸氣將消毒釜內之空氣逐出。PL 高壓消毒則利用抽真空方式將釜內空氣抽出。GD 與 PL 不同之處在於後者之蒸氣可快速充滿消毒釜內。GD 高壓消毒: 在 121°C、90 分鐘可使其感染力降低 6 logs, 但仍有 3.4 logs 存活。在美國, 此法後來即被採用做為 CJD 之制式消毒法。但後來又認為 132°C、4 hrs 不能完全保證可將 CJD 不活化。建議改用 132°C、4.5 hrs。PL 高壓滅菌: 136°C、4 分鐘 PL 高壓滅菌可將 50mg 濕軟腦組織中之 22A 或 139A strain 不活化。又建議 134-138°C 一個 cycle 18 分鐘或 6 個 cycles, 每 cycle 3 分鐘可不活化 CJD 病原。對罹患或疑似 CJD 病人實施精神外科或眼球外科手術中所使用之器具最好丟棄, 不要考慮給予消毒後再使用, 此一建議後又擴及罹患、疑患 CJD 病人有血緣關係之家屬, 以及曾經接受往生者腦下垂體荷爾蒙、硬膜或眼角膜移植之個人。CJD 病原出現變種以及與 BSE 之相關性, 大大提高了對外科手術器具之安全性之關心, 此乃因 PrP^{Sc} 蛋白可輕易地在 vCJD 病患之淋巴網狀組織中析出; 所以對罹患 CJD 病人一般外科手術中所使用之器械亦應丟棄[3,8]。

Prion 的致病機轉

綜合近年來相關文獻可得知人類或動物感染 PrP^{Sc}，大致可分為兩種路徑，一為經口感染受污染之食物，將 PrP^{Sc} 經口食入，在扁桃腺增殖，經由免疫系統主要是 B 細胞，將 PrP^{Sc} 帶入周邊淋巴結與脾臟，follicular dendritic cells 會幫助 PrP^{Sc} 之複製，再經由 B 細胞將 PrP^{Sc} 帶入周圍神經，最後感染腦神經細胞，另一感染途徑為醫源性感染（iatrogenic）經注射荷爾蒙、輸血、外科手術等醫療行為而感染 PrP^{Sc}，此具病原性 prion 可經由血液或淋巴液感染周圍神經，最後感染腦神經細胞，造成海綿狀腦病[3,4,6,7,9,10]。

牛海綿狀腦病與人類變性庫賈氏症之關係

1996 年是英國牛肉的恐慌年。這是因為自 1993 年以來在英國共發現了 21 位新型的庫賈氏病患者。一般的庫賈氏病大都是（約 90%）散發性的，發生於中老年人，以失智症、肌躍症及腦電波的棘波為主。而新型的庫賈氏病則發生於年輕人，平均 29 歲（16-48 歲），以精神症狀（如憂鬱，焦躁，妄想等）為最初表現，然後才是走路不穩及智力減退。其腦部病理變化除了與庫賈氏病同樣有海綿樣腦病變外，而特有許多含 prion 蛋白的類澱粉斑，此變化與發生在新幾內亞的克魯症（Kuru）非常相似。目前由流行病學及實驗室中的證據，顯示很可能與狂牛症有關[5,6,11,12,19]。

牛海綿狀腦病之診斷

目前在病原的鑑定上尚未有確定的診斷方法，僅可由嚴重感染的牛隻腦部組織做成乳劑後，人工接種感染鼠來證實 BSE 的病原是可傳播感染的；但這種接種感染的方式卻最少須 292 天的感染期才能證實有無感染成立。除此之外目前尚未有其他方法可證實是否有 BSE 的病原。以血清學檢測也無法在牛或羊隻樣品中證實出有傳染性海綿狀腦病感染的任何免疫反應，所以目前尚未有實用的檢驗方法能對顯現臨床症狀或已感染但仍處潛伏期的活體進行診斷。因此對 BSE 的診斷，在臨床上若能將其他疾病排除，再由懷疑之臨床症狀，配合組織學的檢查是最直接的診斷。現今 WHO 及 OIE 所承認的診斷方法以死後檢查為主；依臨床疫情、症

狀、顯微病理變化、免疫組織化學染色技術及西方免疫墨點轉漬法等來作為 prion disease 的診斷依據。目前已有許多 anti-prion 單株抗體供區別診斷 PrP^C 與 PrP^{Sc}。亦有許多學者致力於活體診斷法之開發，期望能早期摘出病畜或病患，以阻止疾病之蔓延，但目前皆未被 OIE 或 WHO 所接受，這些活體診斷技術仍在評估當中。權威期刊「刺絡針」最新研究指出，英國研究人員對 20 個感染 vCJD 末期患者的扁桃腺組織進行活體採樣後，開始發展這種檢驗技術，PrP^{Sc} 雖然只在腦部產生病變，造成腦部蛋白質變化，形成空洞的腦組織；但是這種變態蛋白質也會影響人體免疫系統，還會在扁桃腺中增殖。研究人員進一步針對 vCJD 死亡患者的扁桃腺組織進行檢驗，結果也證實這個技術的檢驗準確率極高。最令研究人員擔心的是，BSE 的異構蛋白質耐高溫、不怕殺菌劑，因此一旦附著在手術器具上，便無法清除乾淨；即使是小小的外科手術，也可能傳染 BSE。除非改用拋棄式手術器材，病人被傳染 BSE 的危險性變非常大[1,2,8,11,14]。

英國 BSE 發生經過及相關措施

英國狂牛病調查委員會調查報告於 2000 年 10 月 2 日公佈（The BSE Inquiry）。調查委員會自 1998 年 1 月 12 日成立，共花了 138 天公聽會、338 位證人出席接受質詢，耗費一千六百萬英鎊。調查報告由一百位工作人員整理，報告書共十六冊、厚達四千頁。此調查報告詳細說明狂牛症出現來源、傳染途徑、傳播流行、病理研究、英國經濟、社會衝擊後之因應措施。僅摘譯部分內容敘述如後：

1970 年代初期，英國為了提高畜產業的生產效率，將牛飼料中添加動物性蛋白一即所謂 MBM（Meat and bone meal），MBM 含有高量的蛋白質，可促進牛肉的成長及乳牛汁的蛋白質含量。MBM 係由屠宰動物剩下的內臟、骨頭殘渣脫水混合穀類粗粉而成。為了降低成本，製造商把病死及傷亡的動物屍體也摻入製作 MBM。1979 年，英國政府鼓勵畜農使用 MBM 飼料，以提高畜牛之生產，製造商乃大量生產 MBM 用於餵食原本草食性的牛隻。1983 年 10 月，獸醫師 Ray Williams 報告發現五隻病牛臨床上有過動、步伐不穩、飲食正常但體重不斷減輕等症狀。1985 年 9 月，英國中央獸醫實驗室（Central Veterinary Laboratory，CVL）病理學家 Carol Richardson 在檢驗病牛樣本時，發現其腦部組

織的病變和以前所見過的病例完全不同。1986 年 12 月，中央獸醫實驗所病理部正式向當時的首席獸醫官（Chief Veterinary Officer, CVO）Dr William Rees 報告此一新興疾病。1987 年初，中央獸醫實驗所懷疑狂牛症為發生在牛群之「羊搔癢症」。同年 6 月，中央獸醫實驗所被授命展開狂牛症流行病學調查。七月，Dr. Rees (CVO) 與全國畜牧聯盟 (National Farmer's Union)、英國乳牛協會 (British Friesian and Holstein Cattle Societies) 及英國牛隻獸醫協會 (British Cattle Veterinary Association) 開會，告知有關狂牛症的訊息。1987 年 10 月，神經病理研究小組 (Neuropathogenesis Unit) 檢測一受 BSE 感染的牛腦部組織切片，發現異常之普里昂，認為 BSE 屬普里昂蛋白質異常之疾病。1987 年 12 月，狂牛症之流行病學調查結果顯示反芻類動物製成的 MBM 是引發狂牛症的病原之一。1988 年 1 月，首席獸醫官 Dr. Rees 召集一場與狂牛症相關之會議，與會人員建議所有感染 BSE 的牛隻都須通報動物衛生單位，且應採取有補償的牛隻撲殺行動。1988 年 5 月，狂牛症工作小組 Southwood Working Party 正式成立，計劃主持人為 Sir Richard Southwood。同月，首席獸醫官向農、漁業及食品部部長做出以下建議：狂牛症需建立疫情通報系統、全面性撲殺牛隻、制定補償政策及禁止反芻動物飼料餵飼牛隻。1988 年 6 月，英政府頒布 1988 BSE 法案 (Bovine Spongiform Encephalopathy Order 1988)。1988 年 7 月，英政府禁止販售、供應及使用含特定食物之產品飼養反芻動物。1988 年 8 月，1988 BSE 修正案暨 1988 BSE 賠償法案出爐，宣佈屠殺所有 BSE 臨床症狀的牛隻，若被撲殺的牛隻經證實並未感染 BSE，給予市價 100% 的賠償，但若已感染 BSE 則賠償 50%。1988 年至 1996 年英 MBM 主要製造商 Prosper de Mulder 開拓市場，大量輸出 MBM 至亞洲、歐盟、中東及非洲等七十多個國家，輸出量達 200,000 噸，已知國家含歐盟及歐盟以外國家如奈及利亞、以色列、肯亞、南非、土耳其、黎巴嫩、賴比瑞亞、沙烏地阿拉伯、波多黎各、斯里蘭卡、日本、泰國、新加坡、南韓及台灣等國。1989 年 2 月，Southwood 報告建議動物內臟、碎肉不應該用於嬰兒食品。英政府正式宣布禁止在人或寵物的食品中摻有牛的內臟及碎肉。1989 年 12 月，CJD 調查單位 (CJD Surveillance Unit, CJDSU)，於 1990 年五月正式成立，主要宗旨最追蹤 CJD 之流行病學

發展變化及找出其與 BSE 之關聯。1990 年當時的農業部長 John Gummer 在年度農產品展會上公開與他六歲的女兒共食牛肉漢堡以顯示他對英國牛肉安全的支持。同年，首席醫官 (Chief Medical Officer) 宣佈牛肉很安全，可以食用。1990 年，第一例狂貓症病例被證實。1992-1993 年，為狂牛症的高峰期，一年中英國有三萬六千七百七十一頭牛罹患狂牛症，約為全英國牛隻的百分之三。1993 年，繼任之首席醫官重申食用牛肉的安全性。1993 年英國境內有十萬頭經確認感染狂牛症的病牛。1994 年，英國發現第一例僅十六歲 CJD 案例，其發病年齡與病程皆與傳統 CJD 不符。1995 年，證實是第一位死於變種庫賈氏症 (vCJD) 的病例。1996 年，CJD 調查單位 (CJDSU) 向海綿狀腦病變諮詢委員會 (Spongiform Encephalopathy Advisory Committee, SEAC) 通報發現新類型 CJD 案例，稱為變種庫賈氏症 (vCJD)。證實 vCJD 是因為 BSE 的感染而致病。1996 年 4 月，英政府宣布全面撲殺超過三十個月大的牛隻，以確保其不會進入人或動物之食物鏈。1996 年 7 月，進口或出生於英國之牛隻開始實行牛隻護照制度，此制度於 1998 年 9 月由牛隻追蹤系統 (Cattle Tracing System, CTS) 取代，此系統紀錄牛的出生證明及由出生至死亡的情形。無護照之牛隻將禁止被宰殺食用。1996 年 8 月，英政府宣佈全面禁止使用含有哺乳動物之肉骨粉 (mammalian meat and bone meal, MMBM)。1996 年 12 月，政府宣佈將於 1997 年初實施選擇性淘汰 (Selective cull) 具高傳染群病源區之牛隻的政策。1997 年，農業部長 Jack Cunningham 宣佈將於 1998 年一月成立狂牛症調查委員會展開 BSE 調查，並會於一年內完成。此調查延期兩次。同年，Jack Cunningham 宣佈禁止販售帶骨牛肉。1998 年，BSE 調查正式展開，包括 138 天聽證會，傳訊 338 位證人，共耗資一千六百萬英鎊。2000 年十月 BSE 調查報告出版。2001 年，英衛生部長宣布國家賠償，因罹患變種庫賈氏症 (vCJD) 而死亡的家庭首期將獲二萬五千英鎊賠償費，賠償金最後數額將視政府相關部門調查研究後確定。根據統計，至 2001 年 2 月止，罹患 BSE 之牛隻超過十七餘萬頭。罹患貓科動物之海綿狀腦病變 (FSE) 者，1990 至 1999 年共有 87 宗案例。超過 30 個月以上而被屠宰的牛共有 4,879,180 隻。因高危險群選擇性淘汰而宰殺之牛隻共有 77,343 隻 [3,19]。

結 論

prion 之發現顛覆傳統生命繁衍所依循之孟德爾定律，一個僅由 142 個 amino acid 組成之蛋白質小粒子，不具核酸但卻能繁衍下一代具增殖及感染力，此可怕的小東西其致病性之產生居然是緣由正常組織所擁有之細胞表面蛋白質，些微立體結構之改變所造成，此異構後之變種蛋白質 PrP^{Sc} 居然無法用一般處理傳染性病原之方法將其消滅，許多實驗直接或間接証明攝入高濃度 PrP^{Sc}，會導致人類或動物感染 TSEs，而經由醫療行為感染 TSEs 更是需正視之問題。綜論之，狂牛症的起因似乎與人類違反自然法則有關，人類為了一己之私，以動物性飼料餵食，原本只吃草的牛隻所造成的。這也引發人們對另一項科技產物基因修改（genetically modified）食品安全性的關注。往後食品安全將會成為已開發國家政府的關注的焦點。另外，從統計資料顯示，雖然感染狂牛症的牛隻數量近幾年已經減少。但其他種類的動物的感染數卻持續增加。一旦其他的食用動物也爆發類似疫情，恐會造成新的衝擊。

探討台灣狂牛病發生之風險，所幸行政院農業委員會早有警覺性，早於八十六年就禁止國內反芻動物肉骨粉回飼反芻動物，並禁止有 BSE 發生國家之畜產品輸入，但台灣畜產品走私則會增加本病發生之風險，行政院農業委員會家畜衛生試驗所依 OIE 規定進行國內牛海綿狀腦病之監測，以組織病理學、免疫酵素吸附法及西方墨點轉漬法來偵測之，結果皆無發現牛海綿狀腦病之疑似病例。值得慶幸的是，至今台灣仍為牛海綿狀腦病之非疫區。

參 考 文 獻

1. 李淑慧。牛海綿狀腦病實驗室診斷標準操作程序。行政院農業委員會家畜衛生試驗所。2001。
2. The BSE Inquiry. UK, 2000.
3. Basler K, Oesch B, Scott M, Westaway D, Walchli M, Groth DF, McKinley MP, Prusiner SB, Weissmann C. Scrapie and cellular PrP isoforms are encoded by the same chromosomal gene. Cell 46: 417-428, 1986.
4. Borchelt DR, Taraboulos A, Prusiner SB. Evidence for synthesis of Scrapie prion proteins in the endocytic pathway. J Biol Chem 267: 16188-16199, 1992.
5. Braun U, Amrein E, Estermann U, Pusterla N, Schonmann M, Schweizer T, Ehrensperger F, Vandevelde M, Kihm U. Reliability of a diagnosis of BSE made on the basis of clinical signs. Vet Rec 145:198-200, 1999.
6. Donne DG, Viles JH, Groth D, Mehlhorn I, James TL, Cohen FE, Prusiner SB, Wright PE, Dyson HJ. Structure of the recombinant full-length hamster prion protein PrP(29-31): The N terminus is highly flexible. Proc Natl Acad Sci 94: 13452-13457, 1997.
7. Bovine Spongiform Encephalopathy. In OIE Manual. Chapter 3. 2.13: 338-341, 1996.
8. Griffith JS. Self-replication and scrapie. Nature 215: 1034-1044, 1967.
9. Glatzel M, Aguzzi A. PrPC expression in the peripheral nervous system is a determinant of prion neuroinvasion. J Gen Virol 81: 2813-2821, 2000.
10. Hardt M, Baron T, Groschup MH. A comparative study of immunohistochemical methods for detecting abnormal prion protein with monoclonal and polyclonal antibodies. J Comp Path 122: 43-53, 2000.
11. Liemann S, Glockshuber R. Transmissible spongiform encephalopathies. Biochem Biophys Res Commun 250: 187-193, 1998.
12. Madec JY, Belli P, Calavas D, Baron T. Efficiency of Western blotting for the specific immunodetection of proteinase K-resistant prion protein in BSE diagnosis in France. Vet Rec 146: 74-76, 2000.
13. Oesch B, Westaway D, Walchli M, McKinley MP, Kent SB, Aebersold R, Barry RA, Tempst P, Teplow DB, Hood LE, Prusiner SB, and Weissmann C. A cellular gene encodes scrapie PrP 27-30 protein. Cell 40: 735-746, 1985.
14. Prusiner SB. Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. Science 216: 136-144, 1982.
15. Prusiner SB, McKinley MP, Bowman KA, Bolton DC, Bendheim PE, Groth DF, Glenner GG. Scrapie prions aggregate to form

amyloid-like birefringent rods. Cell 35: 349-358, 1983.

16. Prusiner SB. Prion disease and the BSE crisis. Science 278: 245-251, 1997.
17. Prusiner SB. Prions. Proc Natl Acad Sci 95: 13363-13383, 1998.
18. Wells GA, Scott AC, Johnson CT, Gunning RF, Hancock RD, Jeffrey M, Dawson M, Bradley R. A novel progressive spongiform encephalopathy in cattle. Vet Rec 121: 419-420, 1987.
19. Wilesmith JW, Ryan JB, Atkinson MJ. Bovine spongiform encephalopathy: epidemiological studies on the origin. Vet Rec 128: 199-203, 1991.

Review : Pathogenesis of Transmissible Spongiform Encephalopathies in Molecular Biology Aspects

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

National Institute for Animal Health

SUMMARY Transmissible spongiform encephalopathies (TSEs) are often propagated by extracerebral inoculation. The mechanism of spread from peripheral portals of entry to the central nervous system (neuroinvasion) is complex. While lymphatic organs show early accumulation of prions, B-cells and follicular dendritic cells are required for efficient neuroinvasion. Intact prions enter the central nervous system probably via peripheral nerves and may need a cellular counterpart of prion protein (PrP^C) for propagation. TSEs are characterized by accumulating an abnormal isoform (PrP^{Sc}) of the host-encoded PrP^C in brain. In 1982, Prusiner firstly purified the infectious agent from hamster brain and introduced the term “prion” for proteinaceous infectious particle. The PrP isoforms contain identical amino-acid sequence, yet differ in their overall secondary structure with the PrP^{Sc} isoform, possess a higher β -sheet and lower α -helix content than PrP^C. In 1967, Griffith suggested that the possible cause of scrapie may be a self-replicating protein. Consequently, by a series of experiments, Prusiner *et al.* demonstrated that the infectivity was increased when a specific protein was contained in the sample. In the other words, the infectivity correlated closely with the concentration of the protein. According to these results, Prusiner proposed and developed the “protein-only” hypothesis. Weissmann *et al.* cloned and sequenced the host PrP gene, which encodes for PrP^C. By unknown mechanisms, an autocatalytic cycle was probably initiated by introducing exogenous PrP^{Sc}, and resulted in the conversion of α -helix into β -sheet conformation. Unlike the α -helical PrP^C, the protease-resistant core of PrP^{Sc} is predominantly β -sheet and possesses a tendency to polymerize into amyloid fibrils. Nevertheless, the molecular mechanism of the conformation rearrangement of PrP^C into PrP^{Sc} is still unknown.

*Corresponding Author
National Institute for Animal Health