

# 知識天地

## 因瞭解而不再有無謂的恐慌—漫談狂牛症

陳佩燁副研究員(生物化學研究所)

狂牛症的正式名稱叫牛隻海綿樣腦病變 (Bovine Spongiform Encephalopathy, 簡稱BSE), 它是一種因錯誤摺疊的普立昂(prion)蛋白而引起的神經退化症, 這類疾病已出現在好幾種哺乳類動物上, 也有好幾種名字, 例如羊的羊搔癢症(Scrapie), 人類的庫賈氏症(Creutzfeldt Jacob Disease, 簡稱CJD), 鹿的狂鹿症(慢性消耗症(命名來自此類疾病的動物都有體重減輕的現象), Chronic Wasting Disease, 簡稱CWD), 貓科動物的狂貓症(Feline Spongiform Encephalopathy, 簡稱FSE)等等, 因與普立昂蛋白有關, 被統稱為普立昂疾病。普立昂疾病與其他神經退化症不同的是, 普立昂疾病會傳染, 且感染力不限於同種哺乳類動物, 甚至可跨種傳染, 因此亦被統稱為傳染性海綿樣腦病變(Transmissible Spongiform Encephalopathy, 簡稱TSE)。

### 很久以前

文獻中出現最早的普立昂疾病記載是18世紀羊的羊搔癢症, 得了羊搔癢症的羊會不停的磨擦樹幹、籬笆, 因此毛脫落的很厲害, 當時重挫英國的羊毛業。1920年兩位德國醫生H. G. Creutzfeldt 和A. Jacob發現了一種不同於阿滋海默症的失智症, 依兩人的姓命名為庫賈氏症, 臨床症狀有記憶喪失及混淆、人格改變、幻覺、慢性痴呆、運動神經失調、不自主動作、失明、喪失語言能力等, 病理特徵為腦組織切片會有海綿樣的空洞, 多發生在50歲與75歲間的老年人, 發生率約百萬分之一。1930年代對羊跳躍症的預防注射, 注射的樣品來源可能有羊搔癢症的腦污染, 結果2年後在1萬8,000隻參加預防注射的羊中, 造成1,500隻羊感染羊搔癢症, 讓科學家開始懷疑羊搔癢症是可以傳染的。1940年代Cuillé 和Chelle成功地將羊搔癢症從綿羊感染到山羊, 終於證明羊搔癢症的傳染性。

### 死亡盛宴.我懷念你,我吃掉你

約同一時期, 巴布亞新幾內亞東部Okapa附近山區部落傳出有奇怪的疾病, 當地人稱之為「苦魯(kuru)」, 土語的意思是「嚇得發抖」, 病發後3至9個月即死亡, 1940~1960年間帶走數千條人命, 患者多數是孩童及婦女, 當地人認為是敵對的部落巫師施行巫術的結果, 因此常互相施行報復。當地有食人的習俗, 藉以表達對死者的尊敬與懷念, 孩童及婦女正是負責處理屍體的人, 當地的生活很原始, 可能因為在處理屍體的過程中有接觸到自己身體上蚊蟲叮咬後的傷口, 且他們分食到的部位多為腦或內臟所致。澳洲政府於1954年在當地設立巡邏站, 在禁止此食人的習俗後, 苦魯症罹患者數明顯下降。現在, 科學家們懷疑當初第一個苦魯症患者(大約是在1920年)可能其實是得了庫賈氏症, 而且參考當地的口述歷史, 人吃人的習俗其實是19世紀末才開始的, 庫賈氏症原本不會傳染, 因為此習俗, 苦魯症才傳染開來, 一發不可收拾。普立昂疾病的潛伏期相當長, 在禁止食人的習俗後, 仍陸續發現苦魯症患者, 2001年發現的苦魯症患者, 是在1943年出生, 因為1956年後當地即幾乎不再吃人肉, 因此可推論苦魯症的潛伏期可達四、五十年, 這也是普立昂疾病最長的潛伏期記錄, 也因為普立昂疾病的潛伏期非常長, 即使在狂牛症已幾不可見的今天, 人們仍擔心身體中會不會有潛伏的病原。

1957年一位捷克裔的美國兒科醫師及病毒學家Carleton Gajdusek經過此處, 因喜歡當地的原始純樸及對苦魯症的好奇而留下來, 和一位澳洲籍醫師Vincent Zigas進駐當地進行研究。1959年Gajdusek將他們收集到的成果照片, 包括腦組織切片在顯微鏡下的影像, 在倫敦的醫學博物館辦了1個「苦魯展」, 當時有1位美國獸醫師William J. Hadlow正在英國研究羊搔癢症, 看了展覽以後發現了苦魯症的腦組織切片有如羊搔癢症般的海綿樣空洞, 寫了1篇論文寄到Lancet期刊, 又寄了1封信給Gajdusek, 信中詳述了羊搔癢症及苦魯症的相似性, 由於羊搔癢症已由實驗證明可傳染, Hadlow建議Gajdusek可以靈長類實驗動物試驗苦魯症是否是傳染病。Gajdusek看了信後非常震驚, 作為一個紐約市的都市男孩, 他以前從未聽說過羊搔癢症, 但因為輸人不輸陣的個性, 他在回信中暗示「接種實驗已在進行中, 但尚未成功」, 但其實4年之後才開始進行令他獲得諾貝爾獎的黑猩猩實驗。

1963年, 在NIH的Gajdusek的實驗室, Joe Gibbs對黑猩猩「黛西」和「喬治」進行顱內注射(喬治後來才被發現是母的, 更名為喬琪), 注射在喬琪腦中的樣品是來自於一個剛死於苦魯症的小男孩「埃若」, 1965年7月(接種實驗後20個月), 喬琪開始顫抖, 出現苦魯症的臨床症狀, 不久, 黛西也開始發病, 這個黑猩猩接種實驗成功地證明苦魯症是傳染病, 也讓Gajdusek獲得1976年諾貝爾生理醫學獎, 雖然當時他認為這種傳染病的病原是一種不為人知的慢性病毒。

### 病原體是蛋白質—Prion假說

1961年, R.L. Chandler成功地讓羊搔癢症的腦組織跨越種族屏障而感染老鼠, 再從老鼠感染到大頰鼠。由於有了老鼠和大頰鼠當作普立昂疾病的實驗室模式動物, 讓動物實驗的進行方便很多。科學家們試著純化病原體, 找出這個奇怪的「慢性病毒」, 1966年, T. Alper發現羊搔癢症的病原體至少小於當時所有已知病毒的十分之一, 而且不怕紫外線的照射。1976年, Millson等人發現感染力只會因 protease處理而下降, 不受到 nuclease, lipase, 及 glycosidase的影響, 可能的病原體指向蛋白質, 這種可能性令人難以置信, 蛋白質怎麼可能是病原體? 美國加州大學舊金山分校的 Stanley B. Prusiner將得病的大頰鼠的腦均質液純化再純化, 最後得到一條在SDS-PAGE電泳膠片上約27-30 kDa的蛋白質色帶, 這個結果發表在1982年 Biochemistry期刊上, 同年 Prusiner在 Science期刊上發表一篇文章, 題目就叫「引發羊搔癢症的新蛋白質感染顆粒 (Novel Proteinaceous Infectious

Particles Cause Scrapie)]]，他取「proteinaceous」及「infectious」的字首「pro」及「in」，重新排列組合成一新名詞—「prion」（讀音為 pree-on），來代表羊搔癢症的病原體是蛋白質的事實。3年之後，Prusiner和 Charles Weissmann將這27-30kDa的蛋白質以 CNBr處理後得到的片段定序，合成 DNA探針，找出 prion的基因。原來所有哺乳動物都有 prion 的基因，且相似度達百分之九十幾，表現最多是在神經系統。prion的基因可轉譯成一個蛋白質—命名為 PrP<sup>C</sup>，PrP<sup>C</sup>是一個醣蛋白，以 GPI(glycosylphosphatidyl inositol)固定在膜外，而致病的 prion則命名為 PrP<sup>Sc</sup> (Sc取自 Scrapie)。1992~1993年，在 Prusiner的實驗室，PrP<sup>C</sup>被純化出來，與 PrP<sup>Sc</sup>比較，兩者氨基酸序列相同，但結構不同，PrP<sup>C</sup>為主要含3條 $\alpha$ -螺旋的可溶性蛋白質單體，PrP<sup>Sc</sup>為主要含 $\beta$ -結構的蛋白質聚集。1993年7月，Weissmann在 Cell期刊上發表沒有表現 PrP<sup>C</sup>的老鼠就不會感染普立昂疾病，同年11月，Prusiner也發表類似結果，確立普立昂疾病的感染必需經由感染原中的 PrP<sup>Sc</sup>誘發宿主體內的 PrP<sup>C</sup>進行結構改變，形成更多 PrP<sup>Sc</sup>，證實病原體是蛋白質的 Prion 假說。1997年，在狂牛症的爆發讓全球人心惶惶之際，諾貝爾生理醫學獎頒給了 Prusiner，這是第二位科學家因為研究普立昂疾病獲得諾貝爾獎。

## 小聰明，大災難—狂牛症的爆發

故事的開始是人類的自作聰明，為了追求更大的經濟效應，1970年代，英國的畜農為了促進牛肉的成長及乳牛乳汁的蛋白質含量，將牛飼料中混入動物性蛋白，也就是「肉骨飼料」，來餵養原本草食性的牛隻。肉骨飼料是由屠宰動物剩下的內臟、骨頭殘渣脫水混合穀類粗粉而成，動物來源亦包含病死的牛羊，因此這就如同巴布亞新幾內亞山區部落的食人習俗一般，很可能當初肉骨飼料的動物來源含有患有羊搔癢症的羊，一開始也許因為跨越種族屏障不是這麼容易，只有零星的牛隻被感染，這些病牛又被作成肉骨飼料，最後一發不可收拾。1986年是英國官方報告狂牛症出現的日期，政府開始調查，1987年認為和肉骨飼料的使用有關，1988年，英國政府禁止販售、供應及使用肉骨飼料餵養反芻動物，但結果肉骨飼料的製造商將其輸出國外販售，最後造成世界好幾個國家都有牛隻被感染，變成全球的危機。雖然英國政府在1988年開始屠殺所有表現狂牛症臨床症狀的牛隻，但牛隻若被證實患有狂牛症，政府只賠償50%，可能因為如此，有些牛隻仍然進入市場，最後狂牛症的病牛越來越多，在1992~1993年達到高峰。最後造成人心惶惶的原因是狂牛症開始跨物種傳染，1990年，第一頭貓死於狂貓症，可能是吃了以患有狂牛症的牛製成的貓罐頭，1994年，英國發現第一個年輕的庫賈氏症案例，病患僅16歲，其發病年齡與病程皆與典型庫賈氏症不符，1996年被稱為「新變異型庫賈氏症」，動物實驗證明來自狂牛症的跨物種傳染。最後，英國政府全面撲殺超過30個月大及高傳染群病原區之牛隻共約5百萬頭，狂牛危機才終於告一段落。

## 狂牛症風暴結束了，我們還在擔心什麼？

在全面撲殺之後，狂牛症的病牛僅有零星出現，在禁止使用肉骨飼料餵養反芻動物之後，狂牛症再度爆發的可能性很小。老鼠實驗讓我們瞭解prion的經口傳染是經由小腸的淋巴組織Peyer's patch吞噬進入淋巴系統，然後經由周邊神經系統再抵達中樞神經系統。PrP<sup>C</sup>在神經及淋巴系統表現最多，因此PrP<sup>Sc</sup>多形成並累積在此。PrP<sup>Sc</sup>的形成需要相當長的時間，如果我們僅食用30月齡以下的牛隻、30月齡以上的牛隻一律先做檢驗、且避開食用危險部位（腦、脊髓、眼、脾臟、小腸下半部、含淋巴結的組織等），得到新變異型庫賈氏症的可能性應該很低。畢竟最大規模的人體實驗已經在英國進行了，整個狂牛症的流行期間，有18多萬頭牛被檢出感染BSE，專家估計，沒有被檢查到而進入人類食物鏈的病牛約有72萬9,000頭，英國人口有6千多萬人，到2010年10月止得到新變異型庫賈氏症的英國人僅有171人。從這35萬分之一的比例來看，食用感染率實在不高。即使考慮到人類的普立昂蛋白在第129號殘基上有多型性，可能為M/M，V/V或M/V，新變異型庫賈氏症患者全是M/M型，。英國人口中基因型為M/M者佔38%，依比例換算有近2千3百萬人，所以英國人有2千3百萬減171個M/M基因型的人沒得病，即使依隨機淋巴組織篩檢的結果(1萬2,700個檢體中有3個樣品含有結構變異的普立昂蛋白)估算潛伏的可能人數比例，亦只占M/M型人口的0.062%( $3 \times 12,700^{-1} \times 0.38^{-1}$ )。因此雖然東方人的普立昂基因型以M/M為主，臺灣占98%，我們也不必因為基因型的關係而過份緊張，因為感染率一定不只與基因型有關，再加上英國變異型庫賈氏症的患者中，同桌共食的家人朋友並沒有一起被感染，可見還有其他因子決定感染效率。

大家害怕的原因可能是普立昂疾病的潛伏期很長，可能會有下一波的變異型庫賈氏症爆發，這種可能性不是沒有，沒有人知道當初自己吃了多少被感染的牛肉或內臟，而這171人又吃了多少，以苦魯症最長的潛伏期記錄估算，如果到2040年都沒有下一波的變異型庫賈氏症爆發，那整個狂牛危機應該就過了。食用傳染所需的prion量要比一般動物實驗的顱內注射傳染所需的prion量高至少10萬倍，再加上跨物種傳染的效率更低。依動物實驗的結果評估，2005年J.-P. Deslys以5g BSE 牛腦餵食2隻彌猴，僅1隻5年後得病，雖然動物數量太少，勉強可說以食用方式牛傳猴的有效劑量為5g。再者，網路相傳的prion無敵形象是有點太誇張了，prion很難完全除盡，但僅100度C煮3分鐘，感染力會降50倍，也就是說吃煮過的BSE牛腦250g的感染機率是一半。再加上目前的BSE檢驗方式，BSE牛腦均質液以正常牛腦均質液稀釋300倍後就會檢查不出，也就是說BSE檢查為陰性的牛隻腦中prion含量最高不超過BSE牛腦的1/300，所以沒有症狀但可能有感染BSE的煮熟牛腦要吃到75公斤，或生牛腦要吃到1.5公斤，其感染猴子的機率是一半。一個牛腦約500g，脊髓約200g，一個人要吃到10隻牛的腦和脊髓也不太容易，這是一次吃的有效劑量，少量多次與一次吃的差別尚未比較。因此，在不再使用肉骨飼料餵養牛隻後，即使可能因土壤污染而有零星的狂牛出現（已證明糞便中會有微量prion），避開危險部位及熟食，一個人能吃到夠量的prion的機率不大。

但換個方向想，英國這171人當真吃了這麼多牛的腦和脊髓嗎？他們吃的可能是感染BSE的牛，所以只要

吃到5g生牛腦或250g煮熟牛腦就有可能感染，但這171人並沒有特別的共同特徵或飲食習慣，有沒有可能這些人的消化吸收能力不同，或消化道有傷口，或同時吃的其他食物可能影響prion在體內的吸收效率，仍有待更多實驗來證明。但普立昂疾病的動物實驗多以顱內注射進行，食用感染的很少，主要是因為實驗所需的時間太長，即使以老鼠做實驗也要觀察兩年以上，一般的研究計畫3年內就期待有成果，所以很少有人想做。

牛傳人的可能性低，其實現在比較令人擔心的是人傳人的問題，在知道苦魯症可以傳染給黑猩猩之後，就有人開始擔心庫賈氏症是否會傳染。從1960中期開始，人們從屍體的腦下垂體萃取生長激素，腦下垂體很小，萃取時每批樣品需要合併上千個腦下垂體，在1985年發現有3位接受生長激素注射的患者得到庫賈氏症，因此之後都改用基因工程生產的生長激素。自1988年，有超過70位曾接受硬腦膜移植的患者死於庫賈氏症，這類的庫賈氏症被歸類於醫源性庫賈氏症。一般偶發於老年人的庫賈氏症不同於變異型庫賈氏症，這類偶發性庫賈氏症的prion產生在腦，因此傳染都跟使用了受污染的腦組織有關。變異型庫賈氏症來自食用prion污染的食物，prion會進入淋巴系統，因此血液中會有prion，在英國的變異型庫賈氏症患者中，15人曾在發病前幾年捐過血，有48人曾接受過這些血，追蹤這些人的健康情形，結果有3人在6至8年後死於變異型庫賈氏症，這3人都是M/M基因型，另外有1人死於其他疾病，但其淋巴組織已有prion堆積，此人為M/V基因型。所以即使我們沒有人吃人的習俗，手術及輸血都有可能將prion在人們之間互傳。現在各國都有捐血的限制，各國標準不一，與各國血液的需求及供給量有關，我國規定1980~1996年間曾在英國接受輸血或曾至英國旅遊或居留時間合計超過3個月者，或1980年以後曾於歐洲旅遊或居留時間合計超過5年者不得捐血。沒有人能預測因手術及輸血造成的prion蔓延有多嚴重，沒有人知道有多少人現在是「帶原者」，且「帶原者」可能不限於M/M基因型，在加上這種蔓延是沒有感染屏障的，這才是恐怖的地方。最近在台灣也出現了疑似變異型庫賈氏症的死亡病歷，患者於1989~1997年間在英國留學8年，正是狂牛症流行的高峰期，回台灣10年後才發病，且發病前曾捐血，也許是在政府限制捐血前捐的，政府應該要繼續追蹤受血者是否也曾捐血，如果有血液製劑是來自多人血液混合後製造，血液最好是使用從未接受過輸血的捐血者，才能確保人的prion不會繼續在人羣中傳播。

## 結語.....

狂牛症實在是人類自作聰明而創造出來的疾病，現在全世界資源越來越匱乏，各種「人定勝天」、「資源充分利用」的「黑心食品」也越來越多。我個人認為現在的牛肉不是問題，但人們是否捨得真的拋棄牛的那些危險部位不再利用，或「好了傷疤就忘了疼」，又有其他奇怪的主意，值得觀察。至於變異型庫賈氏症，在英國有學者倡議對所有手術留下的組織樣品進行檢測，以對prion在英國「潛伏」的情形有全面性的瞭解，但反對的人覺得侵犯隱私，會不會進行還很難說。總之，普立昂疾病改變了人們對傳染病病原體的概念，對研究蛋白質化學的研究者來說也是一大挑戰，即使已經有兩位科學家因研究此疾病得到諾貝爾獎，還有好多謎團有待科學家們繼續研究。

## 參考資料

- Rhodes, R (1998) *Deadly Feasts*, Simon & Schuster Paperbacks, NY.  
 Collinge, J and Palmer, MS (1997) *Prion Disease*, Oxford University Press, NY.  
 Prusiner, SB (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 95, 13363-13383.  
 Brown, P and Bradley, R (1998) *British Med. J.*, 317, 19-26.  
 Llewelyn, CA et al. (2004) *Lancet*, 363, 417-421.  
 Gale, P (2006) *J. Applied Microbiol.* 100, 417-427.  
 Lasmezas, CI et al. (2005) *Lancet* 365, 781-783.  
 Deslye, JP et al. (2001) *Nature* 409, 476-478.