

狂牛症與 Variant Creutzfeldt-Jacob Diseases

李明勳

林口長庚醫院 內科部感染科

前 言

近年來引起注意的 variant Creutzfeldt-Jacob disease (vCJD, 前稱 nvCJD) 為人類型狂牛症 (mad cow disease), 它屬於人類 prion diseases 的一種。人類 prion diseases 是一些少見的神經退化性疾病的總稱, 此症的特徵為 (1) 患者中樞神經系統呈現海綿狀的病變 (spongiform change), (2) 可經自然界或實驗室方式傳染。這些疾病包括 Kuru, sporadic Creutzfeldt-Jacob disease (sCJD), familial CJD (fCJD), iatrogenic CJD (iCJD), Gerstmann-Straussler-Scheinker (GSS) disease, fatal familial insomnia (FFI), 及 variant CJD。Prion diseases 早見於許多動物, 如牛 (bovine spongiform encephalopathy, 簡稱 BSE), 綿羊, 山羊 (羊搔症, scrapie), 鹿和貓。英國在 1986 年發現首例狂牛症, 1994 年 1 月英國發現首例人類 variant CJD, 兩年後英國 Dr. Will 等人證實人類 variant CJD 與 BSE 存在科學關聯[1]。狂牛症引起歐洲恐慌, 歐盟在 1996 年開始禁止英國牛肉出口, 直到 1999 年 8 月才解除禁令, 但第二次狂牛症恐慌仍在歐洲爆發。2000 年 10 月法國發現一批受污染的牛肉已在多家超級市場發售, 德國 11 月證實多宗病牛事件, 至 12 月 25 日, 德國共發現六宗病牛, 大部分源自巴伐利亞。西班牙亦於 12 月初發現首例狂牛症。迄今, 英國約計有十八萬宗證實的狂牛症病例, 歐洲其他國家的病牛個案則約一千四百例, 多數病例集中在法國、愛爾蘭、葡萄牙和瑞士。此外, 丹麥、比利時、盧森堡、荷蘭、加拿大、阿根廷和義大利都發現零散病牛, 不過大部分多為英國進口活牛[2]。因此目前的證據顯示狂牛症病源應在英國。

科學家迄今未能確定牛隻如何被傳染狂牛病? 一般相信, 狂牛病是經由有問題的飼料 (如患有羊搔症之肉類、骨頭、內臟等做成之骨粉混入飼料) 感染草食動物[2]。英國政府自 1986 至 1996 年刻意忽略 BSE 可能引起的問題, 即使在 1990 年科學家發現狂牛症的傳播跨逾了物種, 傳染給一頭貓[3], 但問題並未引起當局關注。在 1988 年, 柴契爾夫人政府發現部分有問題的病牛肉及其骨粉已被混入動物飼料, 仍繼續向海外輸出這些有問題的飼料, 這些國家包括捷克、尼日、泰國、南非、肯亞、土耳其、利比亞、黎巴嫩、波多黎各和斯里蘭卡等國。現在已無從知道有多少國家、多少牛隻吃進可能導致狂牛症的英國飼料。2000 年 12 月 22 日世界衛生組織宣布, 狂牛症的全球性潛伏危機不容忽視, 因為肉類和骨粉以及活牛的國際貿易頻繁, 狂牛病實際上早已散播全球。

狂牛症如何跨逾物種傳染人類? 人類受感染的因素是什麼? 是否人類因吃了病牛肉, 才罹患「人類的 BSE」-vCJD? 科學界目前只能大致認同, 這些具傳染性的海綿狀腦病變 (transmissible spongiform encephalopathy) 是由一種會自行複製的變性蛋白 prion 所引起[4]。目前有兩個獨立的研究證實 vCJD 的致病 prion 與 BSE 的 prion 是一樣的, BSE 與 vCJD 是相關聯的。Dr. Bruce 等人發現注射 BSE 牛腦研萃物而感染 BSE 的老鼠, 它們的組織病理、症狀及病程與老鼠感染 vCJD 者無法分別[5]。Professor John Collinge 等人亦有類似的發現, 同時他們指出從感染 BSE 的鼠腦與從感染 vCJD 的鼠腦分離出來的感染性蛋白質物質無法分別, 它們應是一樣的東西[6]。到目前為止英國有 87 例 vCJD (分布於威爾斯、蘇格蘭、及北愛爾蘭), 法國 3 例, 愛爾蘭 1 例, 90%

以上病人均已死亡[7]。這些病人中某些人曾經捐血，但到目前為止並無經由輸血引起 vCJD 的報告。全世界關切的問題之一是醫源性傳染的可能性(iatrogenic secondary transmission)？

致病機轉

Cuille 和 Chelle 於 1936 年首先經由實驗指出 prion diseases 具傳染性的特質，他們把患有 scrapie 的動物脊髓磨碎後再經眼球注入健康的山羊使山羊感染 scrapie [8]。sigurdsson 提出 slow virus 的假設以解釋具傳染力的海綿狀腦病變的傳染性特質及長潛伏期[9]。Alper 及其同事於 1967 年提出蛋白可能是 scrapie 具傳染性的物質[10]，他們觀察到以離子及紫外線照射使核酸退化(degradation)並未影響 scrapie 傳染性，而用蛋白分解酵素 protease 分解 scrapie 傳染性「蛋白」則降低 scrapie 傳染性。加州大學舊金山分校 Dr. Prusiner 深信這個觀念，倡導「蛋白」構成該傳染性物質的部分或全部，並使用 prion 或 proteinaceous infectious particle 這個名詞。他自 1980 年早期起以 20 年時間進行一連串實驗以證實他的 prion 理論[11]。他的實驗指出 scrapie 傳染性物質為一種分子量 27-30kilodalton (kDa)的蛋白，該傳染性蛋白是超越核酸不需依賴核酸的物質[11,12]。在患有傳染性海綿狀腦病變的動物及人類腦部存在的 prion 被發現對 protease 分解有抵抗力[10,11]。但令人訝異的是 prion 其實是一種宿主染色體基因正常譯碼(encode)表現(expression)而來的蛋白[13]。Dr. Prusiner 的這個 prion 理論的貢獻使他在 1997 年得到諾貝爾醫學獎。

由宿主(動物或人)基因正常表現的 prion 蛋白(PrP)存在兩種主要形態：一種是非致病型的 PrP^c(cellular form)，另一種是致病型(或稱為 scrapie 誘導型)的 PrP^{sc}，兩者胺基酸序列相同但生化性質不同，PrP^c 會被蛋白分解酵素 protease 分解，PrP^{sc} 對 protease 有抵抗力。PrP^c 為螺旋型，PrP^{sc} 則至少含有 40%的摺狀薄板(pleated-sheet)構造。PrP^c 轉變成 PrP^{sc} 才會引起臨床疾病。PrP^c 變成 PrP^{sc} 的機轉為 prion 蛋白基因(PRNP)的突變，促使 PrP^c 轉變成 PrP^{sc}，或 PrP^c 自行轉成 PrP^{sc}，然後 PrP^c 以 PrP^{sc} 為模板持續兩者的交互作用，產生不同構造型態的 PrP^{sc}，以司 prion diseases 的多樣表現[13]。PrP^c 的功能尚未完全明確，但可能與神經胞突(synaptic)的功能，及結合銅離子有關。去除 PrP^c 基因的老鼠在植入 scrapie 後不會發病[14]；但另一實驗則發現去除 PrP^c 基因的老鼠能產生輕度的徵候。這可能與臨近老鼠 PrP^c 基因有一新的 Pmp 基因，可產生與老鼠 PrP^c 雷同的蛋白 Dpl 有關[15]。高度的 PrP 表現是在神經元，較低的表現則見於週邊組織：如心、肺、腎、胰、睪丸、白血球和血小板。PrP^c 於神經肌肉接合點(neuromuscular junction)高度表現時，可引起老鼠後肢癱瘓[13]。PrP^{sc} 可能結合腦細胞成分，兩者的交互作用破壞腦組織蛋白，瑞士 Aguzzi 教授近來發現 plasminogen 為一種 PrP^{sc} 的結合蛋白，兩者的結合可被 6M 尿素或 guanidine 破壞 [16]。

臨床表現及診斷

vCJD 潛伏期估計長達 10 至 20 年，由英法的病例可發現患者年紀由 12 至 52 歲(平均為 29 歲)，比起典型的 CJD 患者平均年齡為 65 歲，vCJD 患者年輕許多。vCJD 患者最年輕者才 12 歲，因此有人認為是因為嬰兒食品內的牛肉成分源於病牛所致。vCJD 患者被描述為睡一覺後隔天就變了一個人似的，一開始先呈現嚴重的精神症(憂鬱症最常見，少數有類似精神分裂症狀)，感官異常(嗅、視、聽覺)，經過數週至數月後患者會表現肌肉的不協調、抽筋、步伐不穩、不隨意運動、意識混淆及腦波異常。病程約 14 個月，意即多數病人發病後 14 個月死亡(典型的 CJD 患者病程約 6 個月)。病人死前身體已經動彈不得、無法言語(akinetic mutism)，屍體解剖可見腦組織的變化，包括海綿狀的病變(spongiform change)、不正常的 prion 蛋白斑(fluid plaque)及 prion 蛋白聚積於腦組織 - 此點有異於典型的 CJD [17]。目前無適當的診斷工具可於患者生前得到診斷，核磁共振掃

描(MRI)、腦波、扁桃腺切片、腦脊髓液檢查等或許有幫忙。患者肝功能會呈異常，但沒有肝衰竭的病例報告；扁桃腺特異的同型 PrPsc(tonsilspecific isoform of PrPsc 存在於 vCJD 病人，Dr. Hill 以西方墨點及免疫細胞化學試驗分析了 9 個 vCJD 病例，發現這種 isoform of PrPsc 存在於扁桃腺、脾、淋巴結組織[12]；腦脊髓液的蛋白濃度會升高，但多半小於 1 g/liter，而且沒有細胞反應(即沒有白血球、紅血球等變化)[17]。目前無適當的治療方式，Aguzzi 教授的發現或許為日後的治療帶來一線希望。

防治措施與醫院的感控策略

值得注意的是，染有狂牛症的牛隻屍體經焚化後，含有 prion 蛋白的組織仍會殘留在灰燼中，而這些灰燼棄置於堆填區時，會對環境造成污染。Prion 蛋白可抗高溫、紫外線、甲醛，不被破壞。歐盟防治措施為暫時禁止使用牛骨粉飼養農場所有動物，所有超過 30 個月以上的家畜一律進行腦海綿病體測試，以及全面收購所有在市場上年齡在 30 個月以上的牛類食品，並予以銷毀。

防止從外國疫區進口的牛肉為基本策略，任何進口肉類必須附有由衛生署認可的出口地當局簽發的證明書。台灣目前進口牛肉主要是來自美國、澳洲、紐西蘭，而英法並非認可進口牛肉的國家。在血液製品方面，目前認為血液細胞成分、血漿及其製品均具潛在傳染性，英國的做法是將捐血者的血液去白血球化(leuco-depleted)，而血漿製品則是購自國外[17,18]。美國甚至規定自 1980 年至 1996 年間曾在英國待半年以上者不能捐血。疫苗目前也沒有報告會傳染 vCJD 或 BSE，但世界衛生組織(WHO)仍建議，利用牛的相關物質製成的疫苗(例如 Hemophilus influenzae b vaccine 即是一例)，若是由疫區國家製造的產品，應避免使用。

經由職業接觸(例如醫護人員)，或病人經由醫院的各種檢查過程而被傳染的機會極微，但危險性應視病人是否有得到 vCJD 的危險而定，例如病人曾接受人類腦下垂體生長激素治療，即屬於危險群，而他若是接受腦或眼的手術，則有傳染給他人的危險[17]。

英國目前為我國在歐洲第三大貿易伙伴，雙方貿易成長已達四十六億美元，我國也已成爲英國主要投資國之一；而我國現有一萬二千名學生在英國求學，中、英通航後，使雙方觀光、商務往來更加頻繁，日後是否會有 vCJD 病例在台灣出現很難預料。為減少旅遊或留學歐洲因飲食得到 vCJD，最好避免食用牛肉及其製品，如漢堡、熱狗等，但牛奶及其製品目前不認為具危險性。世界衛生組織(WHO)的 2000 年 TSE 感管準則見於以下網址：<http://www.who.int/emc-documents/>

參考文獻

1. Will RG, Ironside JW, Zeidler M, et al: A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK. *Lancet* 1996; 347: 921-5.
2. World Health Organization: Bovine spongiform encephalopathy. WHO Fact Sheets 2000; 113.
3. Aldous P: BSE: spongiform encephalopathy found in cat. *Nature* 1990; 345 (6722): 194.

4. Prusiner SB: Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science* 1982; 216: 13644.
5. Bruce ME, Will RG, Ironside JW et al: Transmissions to mice indicate that 'new variant' CJD is caused by the BSE agent. *Nature* 1997; 389: 498-501.
6. Hill AF, Desbruslais M, Joiners, et al: The same prion strain causes vCJD and BSE. *Nature* 1997; 389: 448-50.
7. World Health Organization: Bovine spongiform encephalopathy. WHO Fact Sheets 2000;180.
8. Cuille J, Chelle PL: Experimental transmission of trembling to the goat. *C R Seances Acad Sci* 1939; 208: 1058-60.
9. Rida SB: a chronic encephalitis of sheep with general remarks on infections which develop slowly and some of their special characteristics. *Br Vet J* 1954; 110: 341-4.
10. Alper T, Cramp WA, Haig DA, Clarke MC: Does the agent of scrapie replicate without nucleic acid? *Nature* 1967; 214: 764-6.
11. Prusiner SB: Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science* 1982; 216:136-144.
12. Bolton DC, McKinley MP, Prusiner SB: Identification of a protein that purifies with the scrapie prion. *Science* 1982; 218: 1309-11.
13. James A, Mastrianni M, Raymond P: The Prion Diseases. *Sem Neurol* 2000; 20: 337-52.
14. Sailer A, Bueler H, Fischer M, Aguzzi A, Weissmann C: No propagation of prions in mice devoid of PrP. *Cell* 1994; 77: 967-8.
15. Moore RC, Lee IY, Silverman GL, et al: Ataxia in prion protein (PrP) deficient mice is associated with upregulation of the novel PrP-like protein doppel. *J Mol Biol* 1999;292: 797-817.
16. Fischer MB, Roeckl C, Parizek P, Schwarz HP, Aguzzi A: Binding of disease-associated prion protein to plasminogen. *Nature* 2000;408 (6811): 479-83.
17. de Silva R, Will RG: Human prion diseases. In: *Infectious Diseases and Nervous System*, Oxford: Butterworth-Heinemann, 2000: 215-30.
18. Report of a WHO Consultation on Medicinal and other Products in Relation to Human and Animal Transmissible Spongiform Encephalopathies. With the Participation of the Office International des Epizooties (OIE), Geneva, Switzerland, 24-26 March 1997.