

致病物質普里昂(Prion)不活化方法及臺灣歷年傳播性海綿狀腦病之監測

李淑慧、蔡國榮、許偉誠、張仁杰、涂央昌

行政院農業委員會家畜衛生試驗所

傳播性海綿狀腦病 (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 (普里昂)。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 正常結構為四個螺旋結構，由於不明原因使其中兩個螺旋結構異構 (conformation) 為褶板樣結構，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。TSEs 之病原對傳統標準之消毒方法具有相當的抵抗力，完全有效的消毒方法有：132 °C 4.5 小時之高壓滅菌法、1M NaOH 浸泡合併 121 °C 90 分鐘之高壓滅菌法與濃度 20,000 ppm 次氯酸鈉溶液浸泡 1 小時。經 formalin 固定之組織需用 98 % formic acid 加以處理，可將大部分發生異構之 Prion 不活化。家畜衛生試驗所依世界動物衛生組織 (OIE) 訂定之診斷標準，建立本病之國家診斷實驗室，自 1998 年起以組織病理學、免疫組織化學染色法、西方免疫墨點法及酵素連結免疫吸附法等四種方法持續進行 BSE 之監測及診斷計畫，其監測採樣對象為 24 月齡以上出現神經症狀病死牛隻、屠宰場瀕死或老齡牛隻、結核病陽性撲殺牧場牛隻及其他原因送檢之病例。自 1998 年至 2010 年 7 月止共監測 5,805 頭 24 月齡以上牛腦檢體，結果皆無牛海綿狀腦病特異病變且未發現異常之普里昂蛋白質，檢驗結果皆為 BSE 陰性，至今台灣仍為牛海綿狀腦病之非疫區。並被 OIE 認證為 BSE 風險已控制之國家。

Prion 的定義

prion 疾病是由新病原 " PrP^{Sc} " 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 疾病的特徵。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 [8,10-13]。

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 [10]。Prusiner 認為這個有缺陷的突變 prion 蛋白可「感染」腦部內健康的 prion 蛋白，造成其結構上的改變。結構異常的 prion 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，prion 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。prion 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 prion 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。