

狂牛症的兇手～普里昂蛋白質

普里昂 (Prion) 的相關疾病

普里昂，Prion，這是 1997 年的諾貝爾生理醫學獎得主 Stanley Prusiner 所致力研究的主題。Prion 這一個名詞也是由 Prusiner 所創，意指感染性蛋白顆粒（proteinaceous infectious particle）。Prusiner 致力於闡明 prion 在人類及其他動物身上發現的傳染性海綿狀腦病變（transmissible spongiform encephalopathy）中扮演的角色。例如曾一度在歐洲流行的狂牛症（Bovine Spongiform Encephalopathy，BSE）、羊的搔癢病（scrapie）、人類的古茲菲德-雅各氏症（Creutzfeldt-Jacob disease，CJD）及 GSS 症（Gerstmann-Straussler-Scheinker disease）等等，這些腦性病變的病原體就是由 prion 扮演主要角色。各種由 prion 所引起的人類疾病列於表一。

其實在 1957 年 Carleton Gajdusek (1976 年諾貝爾生理醫學獎得主) 就已經在新幾內亞高地的原住民發現一種奇異傳染性致死病，起先運動失調，之後變成痴呆然後死亡，此疾病稱為古魯症（Kuru），這是因為當地居民有吃食去世親人屍腦的習俗，造成此種疾病的傳染。這也與 prion 有關。

疾病	一般症狀	感染途徑	疾病分布	發病期間
古魯症 (Kuru)	失去協調然後痴呆	可是經過分食屍腦感染	新幾內亞高地 1957 年來共有 2600 案件	三個月至一年
古茲菲德·雅各氏病 (CJD)	痴呆然後失去運動協調，或者兩者順序相對調	(1)通常原因不明(由其是那些散失性的) (2)由於基因突變造成 (3)醫療手術引起	(1)百萬分之一的發生率 (2)已超過一百個家族被證實 (3)屬感染型的有八十案例	通常一年，但也有一個月或十年以後才發病
GSS 病	失去協調然後變成痴呆	遺傳性 PrP 基因突變	五十多個家族被證實	通常二至六年
致命家族失眠症 (Fatal familial insomnia)	無法睡眠自主神經失調然後嚴重性失眠而痴呆	遺傳的性 PrP 基因突變	六個家族被證實	通常將近一年

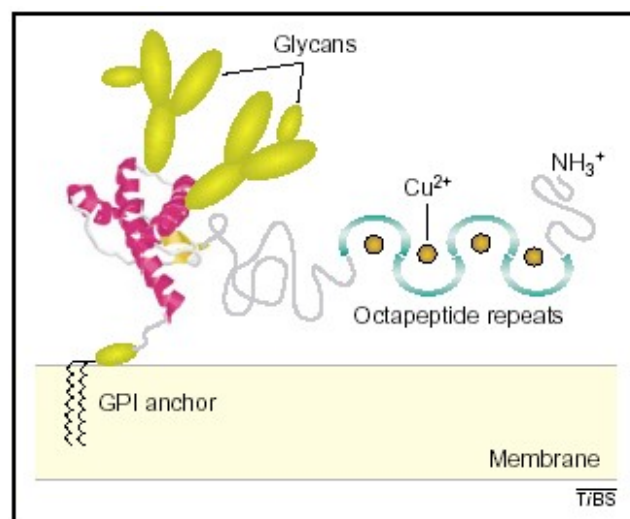
表一. 各種由 prion 所引起的人類疾病

雖然現在關於 CJD 的病原體研究還尚未徹底，也有人懷疑不只是只有單純的蛋白質 prion 參與，可能還有核酸或其他病毒等因子共同參與。所以此諾貝爾獎似乎頒得早了些。不過 Prusiner 的貢獻確是有其及價值存在。以前我們所認知的疾病病原體最簡單的形式不外乎是由核酸和蛋白質所構成的病毒，如今卻發現在蛋白質層次的病原體。而且 prion 看起來似乎也有違生命科學的中心法則 prion 此蛋白質不必藉由核酸為藍本而可大量複製增殖本身蛋白質。種種現象都開啟了科學界的許多大門，故 Prusiner 的貢獻的確不可忽視。

Prion 的功能與構造

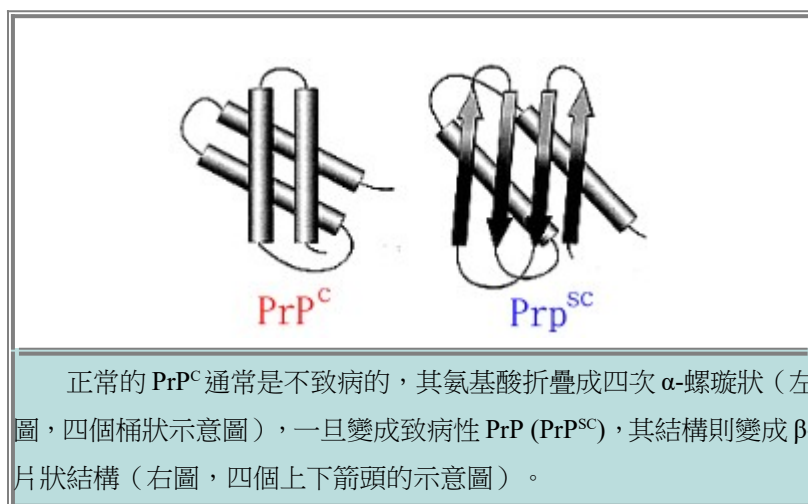
Prion 原意指的其實是傳染性海綿狀腦病變(TSE)的病原體，因為不排除有其他因子例如核酸的參與，所以文獻討論其蛋白質部分則都以 PrP(Prion Protein)稱之。製造 PrP 的基因僅含單一的 exon，且在正常細胞中僅含一個 PrP 基因；PrP 主要位於神經細胞的表面，是一種糖蛋白，以 glycosylphosphatidylinositol(GPI)與細胞膜連結；對蛋白質水解酶 K(Protease K , PK)有高度敏感性；推測其生理作用與突觸(synapse)的功能相關。

PrP 有兩種 isoform，一種是正常的，另一者為不正常或突變性。正常的稱為 PrP^c (cellular PrP)，此為切除 N 端及 C 端訊息序列後的成熟型態，包含了約 210 氨基酸，兩個 Asn-linked 糖基化位置，及至少四個結合銅離子的 Octapeptide repeat 還有連結細胞膜的 GPI 部分。PrP^c 對於 Protease K 有高度敏感性，故又稱 PrP^{sen} (protease-sensitive PrP)，其大致結構示於圖一。不正常的 PrP 則稱為 PrP^{sc}(PrP scrapie，羊搔癢病 PrP)，此形式會有自動聚集的傾向，並且對於 Protease K 有抵抗性，故又稱為 PrP^{res}(protease-resistant PrP)。



圖一、PrP^c 結構示意圖

PrP^c 與 PrP^{sc} 兩者最大的差異就是在結構上而不是在共價鍵的修飾上。PrP^c 主要以 α -螺旋結構為主，幾乎沒有 β -片狀結構，而 PrP^{sc} 則是以 β -片狀結構為主，如圖二。也因為以 β -片狀結構為主，所以它會有結合其他 β -片狀向外延伸的趨勢，進而造成聚合現象。這就是此不正常 PrP 致病的原因。



圖二、PrP 兩種 isoform 結構的比較

Prion 致病的機制

Prion 致病的機制是由於 PrP^c 轉形成 PrP^{sc}，之後造成 PrP^{sc} 的自動聚合現象，因為形成的 PrP^{sc} 本身或其聚合體會再去誘導 PrP^c 轉形成 PrP^{sc}。所以一旦感染了不正常的 PrP 就會引發正常的 PrP^c 也轉成致病性的形式。這就是 Prion 之所以具有傳染性的原因，而這也就是這種蛋白質為什麼看起來像是具有自我複製的能力所在。

一般，PrP^c 受 protease K 調控而維持一定的量。PrP^{sc} 則因為結構上的不穩定而只有少量存在。但是一旦有足夠的 PrP^{sc}，例如之前所述的疾病中有些是由於 PrP 基因遺傳上的突變，亦或是接觸到具有 PrP^{sc} 感染源如食物等，就會因此而引導細胞中正常的 PrP^c 漸漸轉變成 PrP^{sc}。一般像 TSE 這類的疾病感染途徑有兩種：

1. 後天感染：接受了已感染的物質，如食物、注射、移植等。

(此為大多數患者的感染途徑)

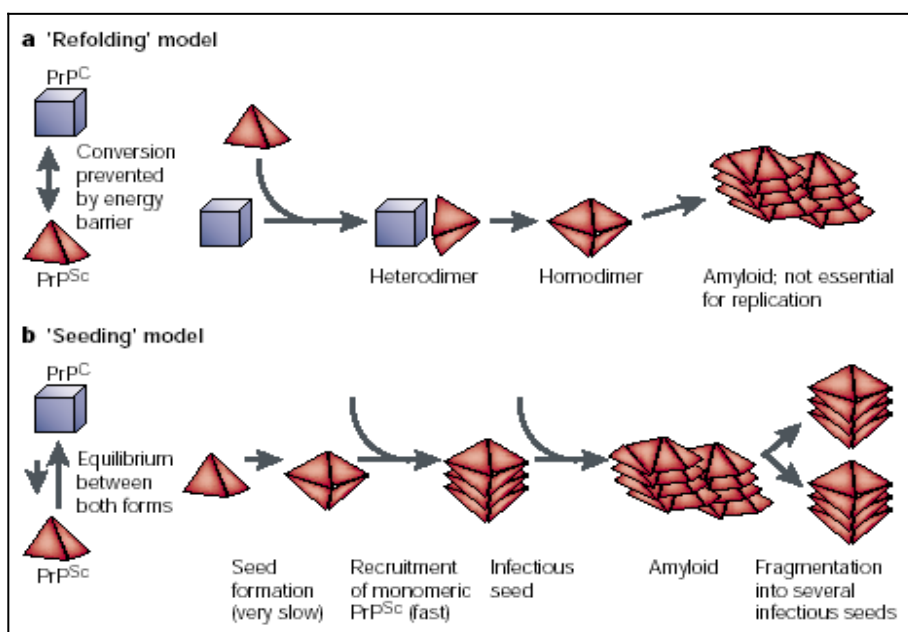
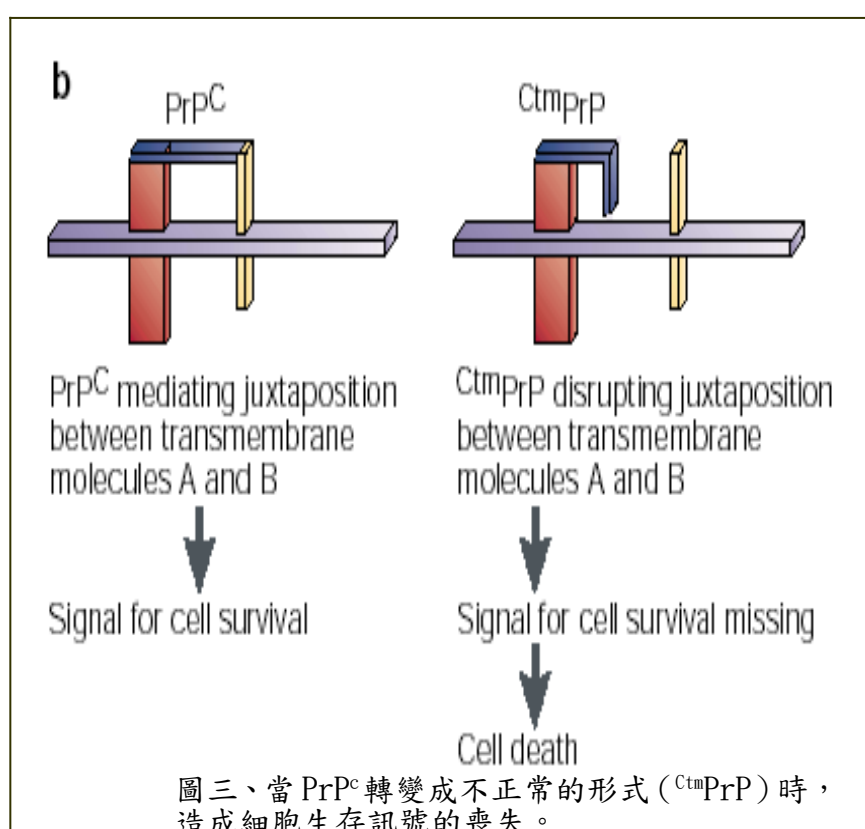
2. 遺傳：是體染色體遺傳(autosomal)，且為顯性(dominant)遺傳。

(並不常見)

當受到感染之後，PrP^{sc} 誘導正常 PrP^c 轉型並會進行聚合反應，此聚合體對 protease K 具抵抗力，所以不會被分解，並且水溶性低，所以最後會形成像是纖維體

或是澱粉塊 (amyloid) 的物質沈澱下來，故在腦細胞中由於這種不正常的凝聚，所以造成了海綿狀空洞。這種結果造成了腦細胞功能的喪失，甚至無法接收生存的訊號而死亡，如圖三。

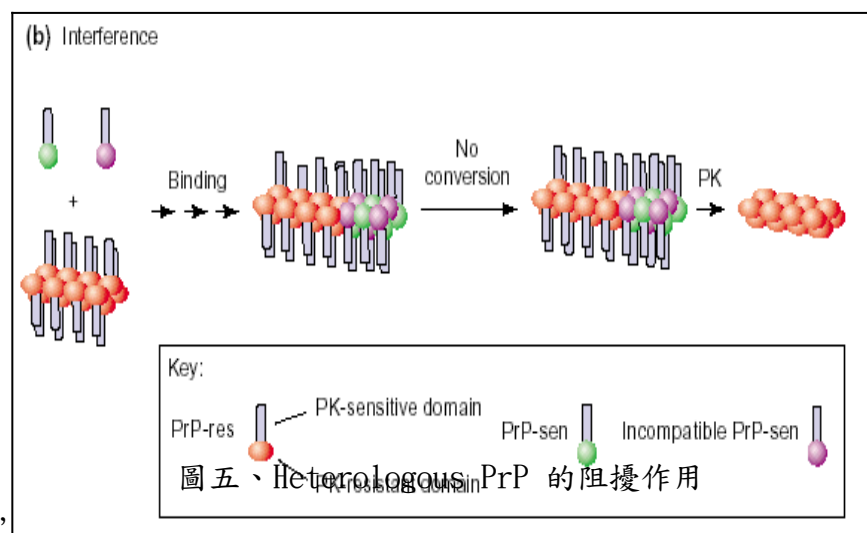
目前關於 PrP^c 如何轉形成 PrP^{Sc} 並聚合的機制主要有兩種假說：（目前還為完全清楚）如圖四所示，一種是說 PrP^c 無法直接轉變成 PrP^{Sc} ，必須靠著外來的 PrP^{Sc} 誘導其 "refolding" 成 PrP^{Sc} ，經由 heterodimer 變成 homodimer，進而再誘導其他正常的 PrP^c 轉形。而第二種則是平時的平衡狀態已經有少許 PrP^{Sc} 存在，當少數幾個 PrP^{Sc} 互相結合形成一個 oligomer 時，便可以當成如結晶時的晶種，或像是種子一樣，如此一來會召集更多的 PrP^{Sc} 並且把正常的 PrP^c 也轉形成 PrP^{Sc} ，進而成長為澱粉體 (amyloid)。



圖四、PrP^c轉形成 PrP^{sc} 並聚合的假說

狂牛症（BSE）真的會傳染給人類嗎？

一般來說跨物種的 TSE 傳染是非常沒有效率的。已經有倉鼠與老鼠的實驗證實跨物種的 TSE 很難傳染。在轉殖的酵母菌上也顯示了不同種的酵母無法以已經轉形的 PrP^{sc} 進行感染。這是因為不同物種間的 prion 有著不同的專一性序列，或說是結構上的差異。例如倉鼠和小白鼠在 254 個氨基酸中就有 16 個不同。此種差異造成了不相容的 PrP (incompatible PrP)，此種 PrP 會造成原來致病性的 PrP^{sc} 的誘導轉形作用或聚集作用中斷，使得 PrP^{sc} 無法發揮作用而阻止了發病的機制。概略機制如圖五所示。

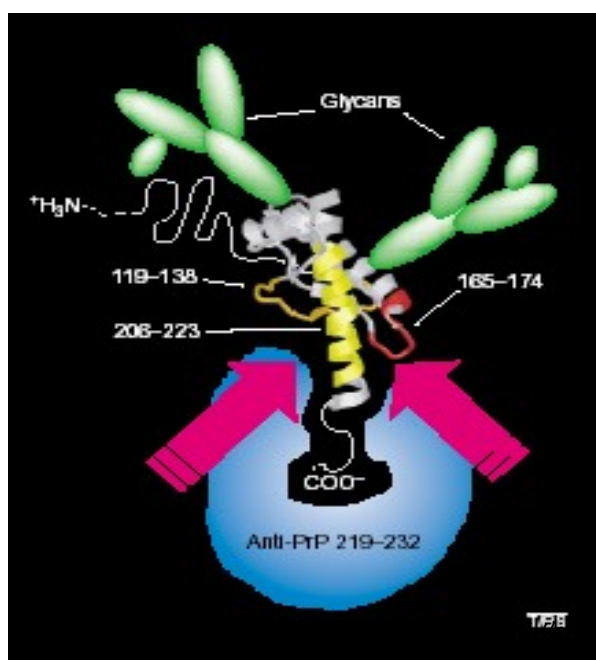


不幸地，許多研究顯示發生於牛身上的狂牛症(BSE)及人類的 CJD 有許多的共通點。例如在腦中發病的部位相同，而且糖基化的比率（ glyco type ration： diglycosylated PrP / monoglycosylated PrP）也相似。通常在不同物種間都可由這些差異區分出來，但人類與牛卻是非常相似。另外也有統計指出人類患了與 CJD 相似的 TSE 疾病的人口分佈

位置與狂牛症分佈也大致相同。種種的研究不難排除狂牛症 (BSE) 會傳染給人類的可能性。所以瞭解了 prion 的傳染途徑與致病機制的我們，就知道要如何小心一點了。

希望之光？

由於人類中有許多腦病變的疾病，故解開 Prion 作用機制以及如何去抑制其作用已經成為大家研究的目標了。目前已有許多研究方向，其中有人利用 PrP 的抗體去結合其造成致病機制的作用區域，使這個致病性 PrP^{Sc} 之間的互動區域喪失功能而抑制發病。如圖六所示 Anti-PrP 219-232 的抗體結合在 PrP 的 C 端位置。在加州大學舊金山分校 (UCSF)，Prion 研究先趨普西納 (Stanley Prusiner) 的實驗室中領導計劃的 David Peretz 表示：“我們研究的其中一株抗體可和正常普恩蛋白中，被認為會和病態普恩蛋白產生互動的區域結合。而其他的抗體則和普恩蛋白將會改變型狀的位置結合，以將之穩定。如果抗體能夠經過血液到達腦部，最終就可能將這些抗體發展成為疫苗甚至是療法。”



傳統藥物方面，目前研究的對象為奎那克林(quinacrine，即 quinacrine hydrochloride, 中文又稱虐滌平)和氯普馬乙(chlorpromazine, 抗精神病藥物，有鎮靜作用。)，可阻礙惡性 prion 團塊在受感染的老鼠細胞中的形成。而且已知這兩種藥品可以經過血流進入腦中。UCSF 的團隊被允許對兩名疑似感染庫賈氏症的病人使用這些藥品，其發言人珍妮佛歐布萊恩表示，一名病人對這些療法沒有反應。至於另一位病人，現在一切都還言之過早。

無論如何，這些研究已經為人類開啟了一道看見希望之光的門，相信再過不久，人類的這相疾病都能得到治療，甚至能因此免疫！

參考資料：

1. Byron Caughey, Interaction between prion protein isoforms : the kiss of death. *TiBS* Vol.26, No.4, 235-242 (2001)
2. Adriano Aguzzi *et al.* Prions: Health scare and biological challenge. *Nature in molecular cell biology* Vol.2, 118-126 (2001)
3. 諾貝爾的榮耀~生理醫學桂冠，科學月刊著，1999
4. Sciscape 網站：<http://leos.bu.edu/index.html>
5. 清蔚園科教館 網站：<http://vm.nthu.edu.tw/science/>