

传染性海绵状脑病的诊断进展和存在的问题^{*}

吴长德^{1,2} 赵德明¹ 杨建民¹ 周向梅¹

(1 中国农业大学动物医学院国家动物海绵状脑病实验室 北京 100094 2 沈阳农业大学畜牧兽医学院 沈阳 110161)

摘要: 传染性海绵状脑病是由朊病毒引起的人和多种哺乳动物以神经退行性变化为主要特征的一种慢性致死性传染病。引起这类疾病的病原因子是一种编码宿主蛋白的 PrPC 转变为异常的 PrP^{Sc} 沉积在大脑, 导致传染性海绵状脑病的发生。本文从临床症状识别、组织病理学诊断、致病性朊蛋白检测、生物学测定以及毒株鉴定等几个方面作一回顾和总结, 为揭示朊病毒疾病致病机理和诊断研究提供借鉴。

关键词: 传染性海绵状脑病; 诊断; 进展

中图分类号: S855 **文献标识码:** A

Progress and problems in the diagnostics of transmissible spongiform encephalopathy

WU Chang-de^{1,2}, ZHAO De-ming¹, YANG Jian-min¹, ZHOU Xiang-mei¹

1 National Animal Transmissible Spongiform Encephalopathy Laboratory, College of Veterinary Medicine,

China Agricultural University, Beijing 100094, China

2 College of Animal Science and Veterinary Medicine, Shenyang Agricultural University, Liaoning 110161, China

ABSTRACT: The transmissible spongiform encephalopathies (TSEs), are a group of chronic fatal neurodegenerative diseases in humans and in a variety of mammalian animals. These prion diseases are associated with the deposition of PrP^{Sc}, a disease-specific isoform of the host-encoded cellular prion protein (PrP^C), which accumulates in the brain affected with most forms of TSE. This article reviews and summarizes recent progress in the areas of the recognition of characteristic clinical signs, the diagnoses of histopathology, the detection of diseases-associated prion protein and the characteristic in biology, distinguish the strain of TSE, and expected it can use for reference of prion pathogenesis and diagnostics.

Key word: Transmissible spongiform encephalopathy; diagnosis; progress

1 引言

传染性海绵状脑病(TSE)又叫做朊病毒病,是由朊病毒(Prion)引起的人和多种哺乳动物发生的以神经退行性变化为主要症状的疾病。包括人的库鲁病(Kuru)、克-雅氏病(CJD)、吉斯特曼综合征(GSS)、致死性家族失眠症(FFI)和变异克-雅氏病(v-CJD)以及动物的羊痒病(Scrapie)、牛海绵状脑病(BSE)、鹿的慢性消耗性疾病(CWD)、传染性貂脑病(TME)和猫科动物海绵状脑病(FSE)等。引起这类疾病的病原因子是一种编码宿主蛋白的 PrP^C 的空间结构发生变化后由正常的以 α 螺旋为主的结构(PrP^C)转变为异常的具有致病性的以 β 折叠为主的结构(PrP^{Sc}),二者具有相同的氨基酸序列,仅在三维结构上不同。自从1982年,由Prusiner首次以Prion来描述这种具有感染性的非典型病原后,在过去的二十多年里,人们对Prion一直进行着深入地研究和探索。

作为海绵状脑病中的痒病已有270多年的发病历史了,但一直未引起人的重视,自从英国1986年爆发疯牛病之后,疯牛病曾引起了世界性的恐慌,可谓“谈牛色变”。当研究证明疯

牛病是因为饲喂了含有羊痒病的肉骨粉而感染的,并且人的v-CJD和疯牛病具有相同病原因子之后,TSE曾再次引起人们的恐慌,Prion疾病也因此引起人们的高度重视。虽然目前对Prion疾病已有了比较深刻的了解,但对它的致病机理还不十分清楚,还没有有效的治疗措施,快速、敏感、特异性的诊断方法还有待于进一步研发和探讨。本文针对目前TSE诊断的研究进展和存在的问题作一评述。

2 诊断方法研究进展和存在的问题

2.1 临床症状识别

人和动物的Prion疾病都具有一定的临床症状,对于人类的Prion疾病来说,根据多年来累计的临床经验已经制定了散发性、医源性和遗传性CJD的临床症状诊断标准^[1],但是这些临床诊断标准不适合v-CJD。v-CJD病人的早期临床症状是具有明显的神经病特征,随后是共济失调、不愿意运动和认知障碍等^[2],核磁共振检查时脑部具有特征性的信号^[4],但并不呈现独特的脑电图特征,也没有散发性CJD那样的脑脊液内14-3-3蛋白量的变化^[3],而在进行扁桃体活检时却可以

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No. 30400325; 30571399)

作者简介: 吴长德(1971-),男,副教授,在读博士生,主要从事动物传染性海绵状脑病研究。E-mail: wucd@cau.edu.cn

通讯作者: 赵德明(1958-),国家动物传染性海绵状脑病实验室主任;

E-mail: zhaodm@cau.edu.cn; 电话: 010-62732980; 传真: 010-62732975。

(收稿日期: 2006-03-18 接受日期: 2006-04-15)

检测到 PrP^{Sc}[5]。瘙痒是痒病自然感染病例的主要临床表现,但实验性感染 BSE 的羊多呈现出一过性的共济失调,缺乏瘙痒症状[6]。对于患疯牛病的牛来说,具有诊断意义的临床症状是病牛对外部刺激的过度反应。

2.2 组织病理学诊断

组织病理学诊断是 TSE 传统的诊断方法。动物和人的 TSE 都具有三个显著的非炎症性病理变化:一是在神经系统特殊解剖部位出现空泡(即海绵状变性),这一点具有重要的诊断价值;二是星状胶质细胞增生;三是大脑淀粉样病变。虽然人和不同动物的 TSE 病变不完全一样,但基本上都具有这三方面的变化。另外,不同动物的 TSE 还有各自不同的特点。例如,CJD 病人脑质量显著减少、神经毡内呈海绵状变性、神经元缺失,部分病例老年斑形成;v- CJD 病人脑和小脑海绵状变性、广泛性的 PrP 蛋白沉积、H. E. 染色有鲜红色斑块;疯牛病表现为双边对称性神经元空泡化、星形胶质细胞过度肥大、脑组织中存在淀粉样变;羊痒病除了脑组织具有海绵状变性、神经元缺失外,金浸染技术常见星形胶质细胞增多[7]。

2.3 PrP^{Sc}的检测

一般的病毒或细菌感染性疾病可以通过检测它们与宿主不同的特异性的蛋白或核酸来确诊,也可以通过检测机体针对细菌或病毒特异性抗体反应来确诊。但是对于 TSE 来说,既检测不到病原特异性的蛋白也检测不到机体对这种病原的免疫学反应。因此,直到今天所有 TSE 的检测方法都是以检测到特征性的 PrP^{Sc}作为疾病发生的标志[8,9],目前所有的商业性检测系统都是建立在此基础之上,大约全世界有 50 多家公司声称已建立了 Prions 的诊断检测方法[10]。由于健康的动物或人自身表达大量的 PrP^C,因此,检测 PrP^{Sc}的检测方法必须能够区别疾病性的 PrP^{Sc}和 PrP 蛋白的各种中间体。这也是 PrP^{Sc}检测方法所固有的缺点。但是到目前为止没有一种商品化抗体只能识别致病性的 PrP^{Sc}而不识别正常的 PrP^C,因此欧盟认定的所有商业检测试剂盒都依赖于应用蛋白水解的方法以去除内在的正常的 PrP^C而检测异常的 PrP^{Sc}。如果能够找到能区别 PrP^C和 PrP^{Sc}这种抗体的话,检测的方法将会得到长足的发展。目前,对于 PrP^{Sc}和 PrP^C的区别主要依赖于生物化学方法,例如处理后的溶解性、蛋白酶敏感性、构象的稳定性或者是利用抗体进行免疫组化的方法。最近发现了可以特异性识别 PrP^{Sc}的抗体[11],这对 TSE 诊断具有突破性的进展,有待成为 TSE 新的诊断方法。动物活体诊断是有效预防和控制 TSE 传播、发展和流行的关键。扁桃体、咽淋巴结等活组织中的 PrP^{Sc}检测解决了这一难题,Safar 等利用此方法进行痒病检测,结果,在病羊表现出明显临床症状前的 18 个月就检测出了 PrP^{Sc}阳性[12],由于处于 TSE 潜伏期病例的活组织中可以检测出 PrP^{Sc},因此更适合进行痒病的流行病学调查和早期诊断。Andreoletti 等利用 ELISA、免疫组织化学、免疫印迹等方法可以在病羊出现临床症状前几个月的肌肉中就可以检测到微量的 PrP^{Sc}沉积[8]。研究发现,v- CJD 病人的淋巴组织内有可以检测到的 PrP^{Sc},而散发性和遗传性 CJD 病人的淋巴组织内检测不到 PrP^{Sc}[5],因此,淋巴组织活检是进行 v- CJD 确诊的有效的方法之一,还不适合散发性和遗传性 CJD 病人 PrP^{Sc}的检测。Wadsworth 和同事用磷酸钠沉淀异常朊蛋白,用增强化学发光法检测 v- CJD 病人组织中沉积的异常朊蛋白,结果在扁桃

体、脾和淋巴结中等周围组织中都检测到了异常朊蛋白的沉积,比脑组织中含量低 $10^4 \sim 10^5$,大大提高了敏感度[13]。

2.4 生物学测定

利用特异性的标识物进行 TSE 的诊断时,只有在 TSE 潜伏期达到临界点后,这种标识物才会发生相应的变化,因此这种借助于外来标识物的方法不适合进行定量的检测,并且有时也会出现假阳性。例如,虽然 PrP^{Sc}是 TSE 感染的良好标识,但并不是所有具有蛋白酶 K 抗性的 PrP 都具有感染性,PrP^{Sc}的各种中间体在传染性上具有很大的差异[14-16]。因此,利用生物学鉴定的方法检测 Prion 的感染性才是诊断 Prion 疾病真正的黄金标准。

2.5 毒株鉴定

我们除了要知道动物和人是否感染了 TSE,最好还要知道究竟感染了什么毒株,这对于追踪疫源、控制和扑灭疫情以及研究 Prion 不同毒株的生物学特性具有重要意义。TSE 不同毒株所产生的 PrP^{Sc}在生物化学和生物物理学特性上存在明显的差别;TSE 不同毒株所产生的 PrP^{Sc}在分子量、糖基化位点以及糖基化的程度上有所不同;由于蛋白酶 K 的酶切位点的不同,酶切后的片断在分子量上也有所差异。目前毒株的鉴别是在特定品系的鼠上进行 TSE 传染性的检测[17],虽然该方法实施起来费时、费力,但这种方法仍然是目前进行毒株鉴定的最重要的方法。例如毒株的这些特性首先被用来鉴别与 BSE 有关的 v- CJD 和普通的 CJD。v- CJD 以及其他的与 BSE 相关的 TSE 都表现出 BSE 病原的特征,并且可以传播给老鼠,在多个物种中可以传播实验动物的多个世代[18]。来自于不同实验动物的不同 BSE 毒株在晶体结构上表现出相同的特性,因此可以证明 BSE 只有一个毒株[19]。尽管对于 TSE 毒株的精确分类仍然有所争论,但 PrP^{Sc}的晶体结构、基因型信息以及与散发性 CJD 毒株的比较信息是进行毒株鉴别的重要条件[20,21]。

3 综合性评价和展望

临床症状识别、组织病理学检查是 TSE 传统的诊断方法,但是由于不同的动物以及不同的个体表现出来的临床症状和组织学变化并不一致,并且某些非 Prion 疾病也具有类似的临床症状和病理组织学变化,因此要注意和这些疾病相区别。虽然 PrP^{Sc}检测是目前诊断 Prion 疾病的可靠方法,但是对于某些 Prion 疾病来说 PrP^{Sc}并不是总能检测到的[22-24],因此往往造成假阴性结果。生物学测定应该是 TSE 诊断的金标准,但是由于 TSE 具有种间屏障,老鼠对于 TSE 感染的敏感性差异很大,而且费时费力。目前生前诊断已经取得了一定的突破,例如,扁桃体活组织的 PrP^{Sc}检测,容易取材的淋巴组织“第三眼睑”的 PrP^{Sc}检测[25,26],散发性 CJD 病人的淋巴组织和肌肉内痕量 PrP^{Sc}的沉积等。Markus 和他的同事利用磷酸钠沉淀异常朊蛋白,通过增强化学发光法检测散发性 CJD 病人的周围组织,结果三分之一的病人的肌肉和脾脏中有异常朊蛋白(PrP^{Sc})沉积[27]。毛细电泳的方法已用于血液或尿液中的 PrP^{Sc}的检测[28-31],样本采集方便,更适合活体检查,因此这些方法对于诊断和有效的控制人和动物的 TSE 具有更重要的意义。Shiga 等人用 Western Blot 的方法检测了 15 例 CJD 病人,结果其中 11 例尿中 PrP^{Sc}呈现阳性[34]。N2a 成神经瘤细胞系对痒病

鼠适应株 RML 株的感染性鉴定已经得到了证实^[35],它建立了采用已知的细胞进行生物学鉴定的基础,该技术省时,费用低,并易于自动化,提高了效率,是今后生物学研究和发展的方向。核磁共振技术(MRI)已应由于人的 prion 疾病的诊断,有望成为评估人类临床 Prion 疾病的有效方法,甚至可以区分散发性 CJD 和 v- CJD。^[35]诊断试剂如 S- 100、神经元特异性烯醇化酶(NSE)、14- 3- 3 蛋白等作为生物性标识物具有很大的发展潜力,已被建议用于 Prion 疾病体液诊断^[37, 38]。值得注意的是,用这些诊断试剂作神经退行性疾病诊断的时候,有时候会出现假阳性^[39]。OCD4、V5B2 等是一种 DNA 结合蛋白,能特异性地与异常朊蛋白相结合,只与 PrP^{Sc}反应,而不与正常的 PrP^C结合,敏感性是普通诊断用的单克隆抗体的 10 倍以上,并且不需要经过蛋白酶 K 消化处理,避免了假阴性,有望成为新的诊断试剂^[40, 41]。

总之,寻找快速、方便、灵敏度高、特异性强的诊断方法特别是生前诊断和诊断试剂将是今后 TSE 诊断研究的方向和热点。

参考文献

- [1] WHO Report of the WHO consultation on the global surveillance, diagnosis and therapy of human transmissible spongiform encephalopathies. WHO, Geneva. 1998
- [2] Will R G, Zeidler M, Stewart G E, et al. Diagnosis of new variant Creutzfeldt- Jakob disease [J]. *Ann Neurol*, 2000, 47: 575- 582
- [3] Zeer I, Pocchiarri M, Collins S, et al. Analysis of EEG and CSF 14- 3- 3 proteins as aids to the diagnosis of Creutzfeldt- Jakob disease [J]. *Neurology*, 2000, 55: 811- 815
- [4] Ziedler M, Sellar R J, Collie D A, et al. The pulvinar sign on magnetic resonance imaging in variant Creutzfeldt- Jakob disease [J]. *Lancet*, 2000, 355: 1412- 1418
- [5] Hill A F, Butterworth R J, Joiner S, et al. Investigation of variant Creutzfeldt- Jakob disease and other human prion diseases with tonsil biopsy samples [J]. *Lancet*, 1999, 353: 183- 189
- [6] Houston E F, Gravenor M B. Clinical signs in sheep experimentally infected with scrapie and BSE [J]. *Vet Record*, 2003, 152: 333- 334
- [7] 马文丽, 郑文玲. 疯牛病的分子基础与临床[M]. 第一版. 北京: 科学出版社, 2003
- [8] Robert B, Siedlak P S, Lee H, Kim Y S, et al. Redox metals and oxidative abnormalities in human prion diseases [J]. *Acta Neuropathol*, 2005, 110: 232- 238
- [9] Michael R, Scott M R, Peretz D, Nguyen H B, et al. Transmission Barriers for Bovine, Ovine, and Human Prions in Transgenic Mice [J]. *Journal of virology*, 2005, 79(9): 5259- 5271
- [10] Andreoletti O, Simon S, Lacroix C, et al. PrP^{Sc} accumulation in myocytes from sheep in natural scrapie [J]. *Nature*, 2004, 10(6): 591- 593
- [11] Kang S C, Li R, Wang C, et al. Guanidine hydrochloride extraction and detection of prion proteins in mouse and hamster prion diseases by ELISA [J]. *Pathol*, 2003, 199: 534- 541
- [12] Safar J, Wille H, Itri V, et al. Eight prion strains have PrP (Sc) molecules with different conformations [J]. *Nat Medicine*, 1998, 4: 1157- 1165
- [13] Wadsworth J D F, Joiner S, Hill A F, et al. Tissue distribution of prion protein in variant Creutzfeldt - Jakob disease using a highly sensitive immunoblotting assay [J]. *Lancet*, 2001, 358: 171- 180
- [14] Somerville R A, Dunn A J. The association between PrP and infectivity in scrapie and BSE infected mouse brain [J]. *Arch Virol*, 1996, 141: 275- 289
- [15] Wille H, Zhang G F, Baldwin M A, et al. Separation of scrapie prion infectivity from amyloid polymers [J]. *J Mol Biol*, 1996, 259: 608- 621
- [16] Shaked G M, Fridlander G, Meiner Z, et al. Protease- resistant and detergent- insoluble prion protein is not necessarily associated with prion infectivity [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274: 17981- 17986
- [17] Bruce M E, Will R G, Ironside J W, et al. Transmissions to mice indicate that in new variant CJD is caused by the BSE agent [J]. *Nature*, 1997, 389: 498- 501
- [18] Collinge J, Sidle K C, Meads J, Ironside J, et al. Molecular analysis of prion strain variation and the aetiology of if new variant CJD [J]. *Nature*, 1996, 383: 685- 690
- [19] Somerville R A, Chong A, Mulqueen O U, et al. Biochemical typing of scrapie strains [J]. *Nature*, 1997, 386: 564
- [20] Parchi P, Giese A, Capellari S, et al. Classification of sporadic Creutzfeldt- Jakob disease based on molecular and phenotypic analysis of 300 subjects [J]. *Ann Neurol*, 1999, 46: 224- 233
- [21] Hill A F, Joiner S, Wadsworth J D F, et al. Molecular classification of sporadic Creutzfeldt- Jakob disease [J]. *Brain*, 2003, 126: 1333- 1346
- [22] Hsiao K K. Serial transmission in rodents of neurodegeneration from transgenic mice expressing mutant prion protein [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91: 9126- 9130
- [23] Lasmezas C I. Transmission of the BSE agent to mice in the absence of detectable abnormal prion protein [J]. *Science*, 1997, 275: 402- 405
- [24] Tagliavini F, Amyloid fibrils in Gerst- mann- Straussler- Scheinker disease (Indiana and Swedish kindreds) express only PrP peptides encoded by the mutant allele [J]. *Cell*, 1994, 79: 695- 703
- [25] Schreuder B E, van Keulen L J, Vromans M E, et al. Tonsillar biopsy and PrP^{Sc} detection in the preclinical diagnosis of Scrapie [J]. *Vet Rec*, 1998, 142: 564- 568
- [26] Hermann L M, Baszler T V, Knowles D P, et al. PrP (Sc) is not detected in peripheral blood leukocytes of scrapie- infected sheep: determining the limit of sensitivity by immunohistochemistry [J]. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2002, 9(2): 499- 502
- [27] Glatzel M, Abela E, Maissen M, et al. Extraneural pathologic prion protein in sporadic Creutzfeldt - Jakob disease [J]. *N Engl J Med*, 2003, 349: 1812- 1820
- [28] Ó Rourke K I, Duncan J V, Logan J R, et al. Active surveillance for scrapie by third eyelid biopsy and genetic susceptibility testing of flocks of sheep in Wyoming [J]. *Immunol*, 2002, 9: 966- 971
- [29] Glatzel M, Abela E, Maissen M, et al. Extraneural pathologic prion protein in sporadic Creutzfeldt- Jakob disease [J]. *N Engl J Med*, 2003, 349: 1812- 1820
- [30] Zanusso G, Ferrari S, Cardone F, et al. Detection of pathologic prion protein in the olfactory epithelium in sporadic Creutzfeldt- Jakob disease [J]. *N Engl J Med*, 2003, 348: 711- 719

(下转第 56 页)

白脱离囊泡,囊泡上的 v-SNARE(VAMP2/3)和细胞膜上的 t-SNARE(syntaxin4, SNAP-23)结合形成复合物。SNAP和NSF与复合物结合,NSF起到ATP酶的作用,促进囊泡膜与细胞膜的融合^[6]。现概述一下部分调节蛋白的在这一过程中可能的作用:VAMP2钝抑后,对GLUT4的转运无明显影响,而导入毒素破坏VAMP2大部分实验又表现为减少GLUT4的转位,这似有矛盾之处,这可能是VAMP2钝抑有其它蛋白代偿的原因。Syntaxin4无论是敲除还是将抗体导入细胞,都表现为使GLUT4转位减少,而过表达则增加GLUT4转位,这在转基因鼠中也得到了证实。SNAP23是SNAP25的异构体,促进Syntaxin4和VAMP2的相互作用,SNAP23的特定序列突变后丧失了这种促进能力,而且过表达这种突变体会抑制GLUT4的转位。NSF和SNAP使SNARE复合物解离和再循环。VAP-33和Pantophysin调节VAMP2功能。Synip通过从复合物上解离下来来促进syntaxin4与VAMP2的结合。Munc18c本身结构改变后调节syntaxin4与SNARE复合物间的作用。总之,GLUT4转位的远端过程是t-SNARE和v-SNARE相互作用,多种蛋白次序参与的一个可调节的复杂的过程。

总之,GLUT4转位的信号途径是个复杂的过程,关于它的研究也不是一日能就的。但毫无疑问,信号系统和GLUT4的膜转运系统的结合已越来越成为研究的兴奋点,也将是未来理解GLUT4调控的关键点。

参考文献

- [1] Zisman A, Peroni OD, Abel ED, et al. Targeted disruption of the glucose transporter 4 selectively in muscle causes insulin resistance and glucose intolerance. *Nat. Med.* 2000, 6(8): 924- 928
- [2] Watson RT, Khan AH, Furukawa M, et. al. Entry of newly synthesized GLUT4 into the insulin- responsive storage compartment is GGA dependent. *EMBO J.* 2004 May 19; 23(10): 2059- 70. Epub 2004 Apr 29
- [3] Khan AH, Capilla E, Hou JC, et. al. Entry of Newly Synthesized GLUT4 into the Insulin- responsive Storage Compartment is Dependent upon Both the Amino Termin and the Large Cytoplasmic Loop. *J Biol Chem.* 2004 Sep 3; 279(36): 37505- 11
- [4] Asheshiva A. Regulating Glut4 vesicle dynamics by phosphoinositide kinases and phosphoinositide phosphatases. *Front Biosci.* , 2003, 8 s945- 6
- [5] Ueki K, Fuman DA, Brachmann SM, et. al. Molecular balance between the regulatory and catalytic subunits of phosphoinositide 3- kinase regulates cell signaling and survival. *Mol Cell Biol.* , 2002, 22: 965- 977
- [6] Watson RT, Karzaki M, Pessin JE. At. al. Regulated membrane trafficking of the insulin- responsive glucose transporter 4 in adipocytes. *Endocr Rev.* 2004, 25(2): 177- 204
- [7] Mitra P, Zheng X, Czech MP. et al. RNAi- based analysis of CAP, Cbl, and CrkII function in the regulation of GLUT4 by insulin. *J Biol Chem.* 2004, 279(36): 37431- 5
- [8] Summers SA, Whiteman EL, Cho H et al. Differentiation- dependent suppression of platelet- derived growth factor signaling in cultured adipocytes. *J Biol Chem.* , 1999, 274(34): 23858- 67
- [9] Watson RT, Shigematsu S, Chiang SH. et al. Lipid raft microdomain compartmentalization of TC10 is required for insulin signaling and GLUT4 translocation. *J Cell Biol.* 2001, 154(4): 829- 40
- [10] Ahmed Z, Pillay TS. Adapter protein with a pleckstrin homology (PH) and an Src homology 2 (SH2) domain (APS) and SH2- B enhance insulin- receptor autophosphorylation, extracellular- signal- regulated kinase and phosphoinositide 3- kinase- dependent signalling. *Biochem J.* 2003, 371: 405- 12
- [11] Lorenzo M, Teruel T, Hernandez R. et al. PLCgamma participates in insulin stimulation of glucose uptake through activation of PKCzeta in brown adipocytes. *Exp Cell Res.* 2002, 278(2): 146- 57
- [12] Richter EA, Nielsen JN, Jorgensen SB. et al. Exercise signalling to glucose transport in skeletal muscle. *Proc Nutr Soc.* 2004, 63(2): 211- 6
- [31] Schmeer M J, Jenny A L, Bulgin M S, et al. The use of capillary electrophoresis and fluorescent labelled peptides to detect the abnormal prion protein in the blood of animals that are infected with a transmissible spongiform encephalopathy [J]. *J Chromatography A*, 1999, 853: 207- 214
- [32] Jackman R, Schmeer M J. Analysis of the performance of antibody capture methods using fluorescent peptides with capillary zone electrophoresis with laser- induced fluorescence [J]. *Electrophoresis*, 2003, 24: 892- 896
- [33] Zerr I. Detection of 14- 3- 3 protein in the cerebrospinal fluid supports the diagnosis of Creutzfeldt- Jakob disease [J]. *Ann Neurol*, 1998, 43: 32- 40
- [34] Shaked G M, Shaked Y, Kariv I Z, et al. A protease- resistant prion protein isoform is present in urine of animals and humans affected with prion diseases [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276: 31479
- [35] Shiga Y, Miyazawa K, Takada A, et al. Laboratory and imaging studies for the diagnosis of prion disease [J]. *Rinsho Shinkeigaku*, 2003, 43(11): 810
- [36] Kohn P C, Stoltze L, Flechsig E, et al. A quantitative, highly sensitive cell- based infectivity assay for mouse scrapie prions [J]. *Proc Nat Acad Sci USA*, 2003, 100: 11666- 11671
- [37] Tibl G G. Sequential MRI in a case of Creutzfeldt- Jakob disease [J]. *Neuroradiology*, 2002, 44: 223- 226
- [38] Hsieh G, Kinney K, Gibbs C J, et al. The 14- 3- 3 brain protein in cerebrospinal fluid as a marker for transmissible spongiform encephalopathies [J]. *N Engl J Med*, 1996, 335: 924- 930
- [39] Beaudry P. 14- 3- 3 protein, neuron- specific enolase, and S- 100 protein in cerebrospinal fluid of patients with Creutzfeldt- Jakob disease [J]. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 1999, 10: 40- 46
- [40] Zou W Q, Zheng J, Gray D M, Gambetti P, et al. Antibody to DNA detects scrapie but not normal prion protein [J]. *Proc Nat Acad Sci USA*, 2004, 101: 1380- 1385
- [41] Gurin Serbec V, Bresjanac M, Popovic M, et al. Monoclonal antibody against peptide of human prion protein discriminates between Creutzfeldt- Jakob's disease affected and normal brain tissue [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(5): 3694

(上接第 59 页)