

國內外新知

探討台北地區肺結核 流行現況與其基因演化過程

編輯部

世界衛生組織(WHO)早已認定肺結核是一個全球都須留意的醫療保健議題。根據研究顯示，全球約有1/3的人口感染肺結核分支桿菌，而以流行病學研究估算，從今年到2010年每年約會有三百萬人死於該疾病。目前發現，在全球不同地點所發生肺結核桿菌菌株，其毒力狀況與抗藥性皆有所不同，會有這樣的差異主要是因為地理環境與宿主因素不同所導致的。雖然，台灣地區就1950年後肺結核疫情的發生率和死亡率都有明顯的趨緩現象，但至今肺結核在台灣還是個主要的傳染病之一。2001年台灣就有14,486例肺結核傳染病通報；這也代表著在台灣每十萬人口中會有64.9人是肺結核感染患者[1]。因此，針對台灣地區肺結核流行的監控與研究是刻不容緩的。

依目前分子生物學的研究結果顯示，全球各地所導致結核病流行的結核分支桿菌在其基因體上是不盡相同的。這樣的差異可藉由一些重複序列的在其基因體出現位置與數量來做區

分。常使用來判別的基因序列有：IS6110 transposable element (IS6110 轉位子) 和 direct repeat region (DR 區) 等 [2]。在所有結核分支桿菌分型中，北京株(Beijing strain)是具有基因高度保留的獨特基因特性[3,4]。而這些獨特的基因特性使得結核分支桿菌北京株廣泛的流行於很多不同國家裡，特別是：在亞洲部份區域和俄羅斯就有很多的北京株病例。據近來的流行病學研究結果顯示；越南與俄羅斯是結核分支桿菌北京株感染的新興區域。同時，研究也指出應該把北京株視為需要高度防範的結核分支桿菌基因型[5]。

近年來，國際上有許多醫學相關研究都在探討北京株基因型與其抗藥性之間關係[3,4]。若以區域變異的角度來探討結核菌基因體與抗藥性之間的關係[4]。最好的研究例子就是；近來發生在俄羅斯監獄內的多抗藥性結核菌，其主要形成的原因是因為菌株在封閉環境內抗藥性基因經過一連串的變異所致。這樣的區域性的流病

證據也正好呼應了部份結核分支桿菌北京株可以經由類似抗藥性基因收集方式進而演變成多抗藥性菌株[6]。另外，研究也發現結核桿菌荷蘭株(Haarlem strain)也有類似的特性，這樣的快速抗藥基因演化方式也使其傳染力大大提升，更有助於其傳播在人群之中。由於，肺結核桿菌某些菌株型具有上述的特性。所以，當我們在進行結核病疾病控管時，若發現某區域發生了大規模的且相似的多抗藥性結核病感染，我們就必須進一步探討；在該區域的感染源是否多為易演變成多抗藥性的菌株型。

就以台北為例子，它是一個位在台灣北部具有272平方公里的盆地地形的都市區，約有230萬居住人口。其中的人口分布；包含有16世紀前原本就居住於此的台灣原住民、16世紀時境外移入的漢族和1940年代因中國內戰撤退到此的榮民[7]。像這樣一個人口稠密且有許多不同外移人口的都會區，結核病的傳播關係是極為複雜的。因此也正值得我們細細來探討疾病與人口之間的關係。有鑒於此，本實驗主要就是針對現今在台北流行的結核病株基因分型、群落分布與抗藥性狀況等細項加以分析。希望能得到一個完整的分子流行病學資訊，進而提供防治肺結核傳播與擬定有效管控肺結核疾病的政策參考。

針對台北地區356個檢體研究分析結果，我們發現近來肺結核病患檢體中分離出多數。如Beijing、Haar-

lem、EAT、T基因分群，這些都是造成流行病最主要的病源分型。而以台北地區而言，最主要的肺結核感染源屬於北京株分群；其發生率高達52.5%，這結果和目前其他研究報告來看是相似的[8]。我們相信大多數北京株分型應該源自於中國大陸，而這樣的北京株分群在其鄰近的周邊國家一樣具有感染上的優勢，其感染率大致為；印尼(44%)，韓國(72%)，泰國(44%)和越南(53%)[3,5]。不過也有例外的，像是北京株分群的高感染力，在印度卻只有3%的感染率。歐洲、非洲以及美國等也有北京株感染發生。曾經在紐約以及美國其他城市爆發嚴重的結核桿菌多發性抗藥性的W型菌株經分析也是屬於北京株分群。而就台灣和其他較遠的國家相比，感染北京株的比例是偏高的，我們懷疑這是因為台灣的地理位置鄰近中國大陸所致。根據一些流行病學研究分析，北京株的感染力的確明顯優於其他結核桿菌基因分群，這樣也使得北京株分群可以很順利的在族群中擴散傳染。此外，我們的研究裡也證實了北京株分群和多發性抗藥性基因型間是有所關聯的($P=0.08$)，這結果也呼應了其他相關的研究報告。這樣同時也可以結合了北京株和世界各地不同的多發性抗藥性的關係。雖然類似的報告在美國，愛沙尼亞，越南都曾發表過其關係，但在北京株感染率較高的地區，像是中國，印尼卻尚未發表過。

本研究的北京株分群中有 187 株菌可利用 spoligotype (space oligonucleotide typing) 確認，甚至更進一步利用 MIRU-VNTR (Mycobacterial interspersed repetitive unit variable number tandem repeat) 的方法加以區分。187 個菌株中的 155 株菌可細分為 15 組，每一組包含 2 到 95 個菌株，而另外的 32 個菌株有不同的分析結果。這個研究中還進一步的發現，利用 spoligotyping 的方式將結核分枝桿菌分組歸類於北京株分群這和利用其他基因標記法像是 MIRU-VNTR 所得到的分組模式是相同的。這也證明一件事實，利用 MIRU-VNTR 模式分出的北京株分群具有高度的相似性，不同的只在於基因位 (loci) 的重複數目不同。另外，在研究中發現 Haarlem 株的比例佔為 13.5%。就先前的研究顯示，在台灣的花蓮地區其人口組成比例大多數為原住民，而其分離出結核桿菌的品系以 Haarlem 株為優勢比例更高達 45%。主要原因猜測應該與 17 世紀時，荷蘭人侵略台灣有關。當時，荷蘭人與台灣原住民有過接觸。這也使得 Haarlem 株分群會在台灣的原住民中佔有較高的比例。除了 Beijing 株和 Haarlem 株之外，我們也鑑定了台北族群中結核桿菌菌株品系裡的 EAI 分群、T 分群、拉丁美洲-地中海株分群 (LAM)、U 分群、MANU 分群。除了鑑定出優勢的分群之外，我們也能鑑定出較少見的分群或是列在 SpolDB4.0 中的 STs 位置，

這些型先前曾出現在美國、澳洲和歐洲，也越來越常見於鄰近台灣的國家，像是越南、馬來西亞、菲律賓和中國。

造成結核病的發生部份是為原發性病 (primary disease) (一般典型的定義為 5 年內發生感染) 而另外一部分是伺機發病 (endogenous reactivation) 或是結核再感染 (exogenous reinfection) (發生感染的時間大於 5 年)。隨著年齡的增加，發生原發性結核病的案例比例越減。就本實驗結果分析；我們發現北京株很可能在最近台北的年輕人口中造成感染擴散。Dr. Anh 等人的研究報告中指出 [5]，接種 BCG 疫苗並沒有辦法有效的抑制北京株分型的感染。同時針對越南的感染監控也發現北京株可感染較年輕年齡層。而 Lopez 等人利用小鼠模型進行肺結核感染試驗，研究 BCG 對於其他不同品系菌株的保護效力，發現 BCG 對於防護北京株的攻擊有些微的效果。另外，Dr. Chen 等人在香港的研究中則並未發現北京株和年輕年齡層間的關係，但是卻可看出 isoniazid (INH) 間抗藥的一些薄弱關係。雖然台灣實行施打 BCG 疫苗已經超過四十餘年，但就本研究看來在年輕族群中北京株分群的高比例感染 (25 歲以下，85%) 可以猜測 BCG 已經無法充分的保護年輕族群感染結核分支桿菌中的北京株分群。

北京株分群可進一步利用 NTF locus 和 RD deletion 的分析方式分成

原始菌株分型和現代菌株分型，猜測可能是這些品系經過長時間的演化或是因為遷徙族群而傳播。根據我們先前的研究，分類中的北京株亞群有完整的 NTF region (原始菌株分型)，感染台灣區一般普遍人口比例為 19%，榮民比例 24%，而原住民比例為 50%。我們推測從第一分型演變成第三分型需要 500 年的時間，而從第四分型到第七分型只需要 50 年的時間，顯然這種現代菌株分型的基因是不穩定的，而可能因為這個不穩定的因素有利於其快速傳播。根據我們對演化的觀察，RD181 的存在與否，是分辨原始菌株分型和現代菌株分型的界線，推測 RD181(包含 Rv2262c, Rv2263) 的基因可能包含著維護基因穩定的關係。假設蛋白質 RV2262c 可能關係著蛋白質的修飾和修復，也假設蛋白質 RV2263 關係著氧化還原反應。這些基因的不穩定可能是因為基因缺失而造成的。

[譯者評] 此篇研究報告是目前第一篇針對台北地區所發生的結核分支桿菌基因型分析；並做全面性探討的流行病學研究報告。在研究中我們同時使用 spoligotyping 與 MIRU-VNTR 兩種基因分型系統，進行結核分支桿菌基因型的判定。研究結果顯示，在台北地區結核桿菌北京株具有很高的發生率，同時我們也發現未來若能利用 MIRU-VNTR 其中的 24 基因位分析，即可達到很好的基因分型效果。在台北地區結核桿菌北京株；除了是

一個很高盛行率的菌株外，它同時也是最好發於年輕人的結核桿菌菌株。這一系列的研究發現是可用來當作制定疾病管控策略與疫苗施打、研發方向的參考。本研究數據也讓我們了解在台北結核病疫情並非完全受到控制。所以在結核病防治上仍需要多加努力。根據結核菌株基因型分析合併菌株毒力測試結果，我們也可以釐清不同菌株是否也有不同的發生率和死亡率，而整個研究探討的最終目的也希望能夠遏止限制台灣地區肺結核病疫情的傳播。[國家衛生研究院 杜鴻運 摘評]

參考文獻

1. Center for Disease Control, Department of Health: Tuberculosis Annual Report. Taipei, Taiwan 2002.
2. Warren RM, Streicher EM, Sampson SL, et al: Microevolution of the direct repeat region of *Mycobacterium tuberculosis*: implications for interpretation of spoligotyping data. *J Clin Microbiol* 2002;40:4457-65.
3. Glynn JR, Whiteley J, Bifani PJ, et al: Worldwide occurrence of Beijing/W strains of *Mycobacterium tuberculosis*: a systematic review. *Emerg Infect Dis* 2002;8:843-9.
4. Tsolaki AG, Gagneux S, Pym AS, et al: Genomic deletions classify the Beijing/W strains as a distinct genetic lineage of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol* 2005;43:3185-91.
5. Anh DD, Borgdorff MW, Van LN, et al: *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype emerging in Vietnam. *Emerg Infect Dis* 2000;6:302-5.
6. Toungoussova OS, Caugant DA, Sandven P, et al: Impact of drug resistance on fitness of *Mycobacterium tuberculosis* strains of the W-Beijing genotype. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2004;42:281-90.
7. A Brief History of Taiwan - A Sparrow Trans-

formed into a Phoenix [<http://www.gio.gov.tw/taiwan-Website/5-gp/history/>]
8. Jou R, Chiang CY, Huang WL: Distribution of

the Beijing family genotypes of *Mycobacterium tuberculosis* in Taiwan. *J Clin Microbiol* 2005;43:95-100.