

羅秀容

國家衛生研究院 臨床研究組

近年由於伺機型病原菌感染患者的人數增加、各種侵入性醫療器材的療程及抗生素的不當使用，導致黴菌感染在院內感染中已成爲不可被漠視的問題。另外黴菌感染不但因住院天數增加而加重醫療負擔、亦因病人失去工作能力、降低社會生產力、甚至導致死亡。抗黴菌藥物的強副作用及缺乏選擇性一直是治療黴菌感染的瓶頸。抗黴菌藥物因黴菌感染個例的增加而被頻繁使用，進而導致抗藥性的問題。因此，如何控制黴菌感染已是全球所面臨的挑戰。

在國家衛生研究院臨床組蘇益仁主任的鼓勵下，其組員羅秀容博士及台灣疾病管制局李淑英博士合力在 2002 年成立台灣黴菌研究團隊(Taiwan Mycology Group)，進行相關的研究及推廣工作。由國家衛生研究院與台灣疾病管制局主辦及謝維詮基金會協辦的 2005 年的年度致病性黴菌研討會，於 11 月 18 日假國家衛生研究院竹南院區順利完成。首先由蘇格蘭 University of Aberdeen 來的 Dr.Frank Odds 開啓一天的學術交流，接著由台灣疾病管制局的李淑英博士、成功大學的張長泉博士介紹分子快速鑑定致病性黴菌的方法，再來由台大醫院陳宜君醫師介紹黴菌感染在院內感染中所扮演的角色，然後由國家衛生研究院羅秀容博士報告兩期的台灣黴菌抗藥性監測計畫(Taiwan Surveillance of Antimicrobial Resistance of Yeasts)的結果、最後由成功大學張珍琦博士及交通大學楊昀良博士以基礎研究的豐碩成果爲此研討會畫下句點。

以下是針對這些演講分別作較整體性的介紹：

首先我們很高興能邀請到世界知名大師 Dr. Frank Odds。他遠從蘇格蘭來到台灣，帶給這研討會一個精湛的演講。他強調一個黴菌能造成感染必須有幾個步驟，首先病原菌必須附著在表皮上，然後侵入表皮，再衝破血管壁，進入血液，接著病原菌還必須突破血管壁及組織壁的層層關卡，才能導致全身性感染，最重甚至造成死亡。因爲有那麼複雜的步驟，若只靠單一個致病因子，恐怕是很難完成的，因此，他強調了一個概念，那就是黴菌應有不只一個重要致病因子，在它們入侵過程中的不同階段，應有不同相對應的主要致病因子。他對一種白色念珠菌不但可引起表皮感染也可引起全身性感染現象做深入的研究，探討這其中是否有一些內在因子影響白色念珠菌的致病力。他的實驗室藉由 7 個不同基因的序列相似性來將由各地所收集約 500 株白色念珠菌加以分類，再針對不同族群的菌(Clade)在動物試驗中檢測它們的致病力，初步結果顯示不同族群有不同因子來調控它們的致病力，他希望能由此法找出一個能預測各種不同因子在造成不同疾病所扮演的角色。最後他也發現帶有不同 mannans 合成酉每突變的白色念珠菌(*Candida albicans*)有不同的致病能力，進一步研究這些突變發現人體免疫細胞對白色念珠菌中不同型態的 mannans 有不同的受體(receptor)。

李淑英博士介紹她近年來所發展的各式分子快速鑑定方法，如 PCR、PCR-EIA、real-time PCR，這些方法的敏感度可達 10 CFU。她的實驗室也同時發展了 random amplified polymorphic DNA(RAPD)、pulsed field gel

electrophoresis(PFGE)、repetitive sequence-based PCR(rep-PCR)、amplified fragment length polymorphism(AFLP)及 multilocus sequence typing (MLST)的方法來探討念珠菌感染的分子流行病學。她實驗室以 PFGE 研究結果顯示若菌株由不同的 HIV 感染病患分離而得，它們的親緣性低，相反的，由同一病患所得的菌株，無論這些菌株對抗黴菌藥物感受性如何，它們的親緣性很高。最近她實驗室以 MLST 方法比較台灣白色念珠菌和 Dr. Frank Odds 收集的菌株，結果顯示台灣有屬於台灣專有的菌株，下一步即是探討台灣菌株和世界其它地區所分離的菌株在致病力上的分析。

張長泉博士的研究是利用 rRNA 的 internal transcribed spacer(ITS)在演化上高度保留的特徵，將之應用於黴菌的快速鑑定。目前他實驗室已發展出一個 DNA chip 來鑑定 32 屬共 64 種致病性菌絲型黴菌(Mold)，希望能藉此 DNA chip 來解決菌絲型黴菌培養不易與生長緩慢的限制，而縮短鑑定時間。藉由測試 397 不同病株證實此 DNA chip 的敏感性及專一性分別高達 98.3%及 98.1%。目前他實驗室正積極的設計酵母菌型黴菌(yeast)的 DNA chip。

陳宜君醫師指出在醫院治療黴菌可分幾個不同階段，第一是對高危險群進行的預防性的治療(prophylaxis)，另外是對可能(possible)因黴菌感染的病患進行經驗性的治療，若經分子快速鑑定(如 PCR)為疑似(probable)因黴菌感染的病患，則進行先發性(pre-emptive)的治療，若經培養或病理切片證實，則對病菌進行專一性(specific)的治療。由於在臨床上若能把握治療的黃金時間，是有可能提高治療效果的，因此，將來若能與李淑英及張長泉博士所正在發展的快速分子鑑定法配合，將可提升醫療品質。另外陳醫師也分析台大醫院約 340 位加護病房的病患資料，共有約 46%、20%、14.5%及 3.8%的病患可分別偵測到 *Candida albicans*、*Candida glabrata*、*Candida tropicalis* 與 *Candida parapsilosis*，而其中有 7.2%、3.5%、3.8%及 0.6%的病患遭到這些菌的感染。因此她的結論是高危險群病患是需要預防性治療，但絕非所有加護病房內的病患都需要接受預防性治療。重要的是醫師需要有病患可能是被黴菌感染的危機意識，提高警覺，及早治療，即可挽救不少因黴菌感染而喪失生命的病患。

羅秀容博士實驗室分別在 1999 與 2002 年進行台灣黴菌抗藥性的監測計畫(TSARY)，這是一個針對致病性酵母菌所做的研究，也是一個靠許多國內感染醫師及護士與醫院實驗室醫檢師大力協助才能完成的計畫。整體而言，念珠菌的分佈及其好發部位在此兩次監測期間並沒有明顯的改變。由檢體來源區分，菌株分離率依序分別為尿液、痰液、血液、與傷口。不同菌種好發的部位有所不同，大部分的白色念珠菌與 *C. tropicalis* 不是來自尿液就是痰液，*C. glabrata* 則來自尿液為主，*C. parapsilosis* 則來自血液及傷口為主。對 amphotericin B 有抗藥性的菌株由 1999 年的 0.5% 升為 2002 年的 2.5%，對 itraconazole 有抗藥性的菌株由 1999 年的 8.4% 則明顯地降為 2002 年的 1.9%。不過，我們也不可因此而掉以輕心，因為，*C. glabrata* 對 fluconazole 有感受性的菌株由 1999 年的 77.6%顯著地降為 2002 年的 49.7%。同時念珠菌對 amphotericin B 與 fluconazole 有共同抗藥性(co-resistance)的趨勢更是需要密切關注。持續定期進行台灣黴菌抗藥性的監測計畫不但可充分掌握本土黴菌抗藥性的變遷，亦可早日偵測新興黴菌抗藥性的問題。

張珍琦博士的研究項目是造成皮癬的 *Trichophyton violaceum* 的一個奇特現象，稱之為 NTS heterogeneity。這現象首先被發現是當她想用 restriction fragment length polymorphism southern blotting hybridization 的方法來鑑定 *T. violaceum*。當她以 ITS I 當探針(probe)時，觀察到同一檢體可以有不同 bands，有趣的是，而這些 bands 的相對距離是固定的，最後她發現這是因為一個 171 bp 的重複序列，以

不同套數(copy number)出現而產生。至於造成這種現象的原因，及這 NTS heterogeneity 在此菌扮演的角色是未來研究方向。

最後由楊昀良博士報告他實驗室以比較基因轉錄組(transcriptome)的方找出在有致病力及無致病力的 cph1/cph1 efg1/efg1 雙突變白色念珠菌中表現不同的基因，希望藉由基礎研究所得的資訊來協助新抗黴菌藥的研發。他的研究證實白色念珠菌和啤酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*)產生 enolase 上有所不同，啤酒酵母菌有兩個基因序列產生 enolase，彼此有互補的功能。而白色念珠菌卻只有一個基因序列產生 enolase，更有趣的是 CaENO1 也和白色念珠菌型態變化有關。另一個基因是 ERG3，它的表現在非致病性菌株比在有致病的菌株中高，最後實驗證明 ERG3 是受到 EFG1 的負向調控(repression)，有趣的是 ERG1 突變後，菌株對抗黴菌藥物的感受性會隨之增加。因此，楊博士結論 EFG1 不但與致病力有關，它也負向調控 ERG3 而與抗藥性有關。一個因子同時調節致病力與抗藥性訊息傳遞的現象將為新藥的研發開展一個新研究方向。

很高興這幾年來台灣對致病性黴菌研究有興趣的醫師及研究員的人數有增加的趨勢，由台灣大學主辦及許多單位協辦的 2006 黴菌研討會將在明年五月登場，希望藉由大家的共同努力，提供更多的資訊，使我們更有信心的預防與治療黴菌感染。