

計畫編號：DOH94-DC-1009

行政院衛生署疾病管制局九十四年度科技研究發展計畫

*NRAMP 1* 基因在台灣原住民結核病所扮演的角色及其分子機制  
The Molecular Mechanism and the Role of *NRAMP 1* Gene on  
Tuberculosis in Taiwan Aboriginal Tribes Population

## 研究報告

執行機構：財團法人國家衛生研究院

計畫主持人：蘇益仁

研究人員：周如文、李仁智、許永祥、孫孝芳

執行期間：94年1月1日至94年12月31日

\* 本研究報告僅供參考，不代表衛生署疾病管制局意見 \*

# 目 錄

	頁 碼
封面	
目錄	
一、摘要	
(一) 中文摘要	( 3 )
(二) 英文摘要	( 4 )
二、本文	
(一) 前言	( 6 )
(二) 材料與方法	( 9 )
(三) 結果	( 11 )
(四) 討論	( 12 )
(五) 結論與建議	( 13 )
(六) 參考文獻	( 14 )
(七) 圖表	( 18 )
三、半年度(期中)執行研究中所遭遇之問題與困難	( 22 )
四、半年度(期中)經費使用狀況	( 23 )
共	( 23 )頁

## 一、 摘要

### (一) 中文摘要

近年來，再浮現性感染症-結核病已成為全球公共衛生之嚴重威脅，過去的研究資料顯示，只有約 10% 受結核病分枝桿菌感染的人會發病，雖然感染與否及環境因子是結核病發生的重要因子，然而宿主自身的遺傳背景也可能是決定結核病是否發生的原因之一。過去在老鼠身上的研究顯示，巨噬細胞蛋白基因(Natural-resistance macrophage protein 1, *NRAMP 1*)的表現與宿主感染後的抗結核菌能力有關。根據疾病管制局的統計資料，台灣不同地區結核病發生率有明顯差異，而原住民的結核病流行率為一般平地人的五倍。為釐清人類遺傳背景與結核病之相關性，我們針對 *NRAMP 1* 基因的 INT4、N543D、77-385C/T、3-UTR 及 5-(CA)<sub>n</sub> 衛星標竿小體五個標誌，比較平地人與不同原住民之間的基因多型性 (polymorphism)。研究結果發現 *NRAMP 1* 的基因多型性在台灣原住民族群與漢人有顯著不同，尤其台灣原住民的 INT4 ( $p < 0.0070$ ) 及 5-(CA)<sub>n</sub> ( $p < 0.0031$ ) 標誌與結核病發生有密切相關性；而在漢人族群中並沒有發現結核病與 *NRAMP 1* 基因的這五個標誌有相關性。雖然環境因素在結核病的感染上扮演一個很重要的角色，但遺傳因素如 *NRAMP 1* 基因多型性在台灣原住民中也會影響結核病患對結核菌的易受性與抵抗能力。因此，台灣原住民的結核病高發病率部分也與原住民族群的遺傳基因有關。

關鍵詞：巨噬蛋白基因、結核病、基因多型性、台灣原住民、平地人-漢人

## (二) 英文摘要

### **Background and Purpose**

The human homologue of mice natural-resistance-associated macrophage protein 1 (*Nramp 1*) gene, *NRAMP 1*, has been reported to play a role in the susceptibility to tuberculosis in humans. The aboriginal population in Taiwan has a 5-fold higher prevalence of tuberculosis than the Han Chinese. Whether genetic factors such as *NRAMP 1* polymorphisms play a role in the prevalence of tuberculosis in Taiwanese aboriginals should be clarified.

### **Methods**

The *NRAMP 1* polymorphism was studied in a case-control design of tuberculous patients among Han Chinese and aboriginals in the eastern Taiwan-Hua-Lien area. The polymorphisms of *NARMP1* at loci of INT4, N543D, 77-385C/T, 3-UTR (CAAA) deletion and 5-(CA)<sub>n</sub> microsatellite markers was assessed by polymerase chain reaction on tissue DNAs isolated from of 105 aborigines and 110 Han Chinese with tuberculosis. Comparable numbers of ethnically matched controls were studied simultaneously.

### **Results**

Our data revealed that two *NRAMP 1* polymorphisms- INT4 and 5-(CA)<sub>n</sub> conferred significant associations with susceptibility to tuberculosis in aboriginals ( $p=0.0070$  and  $p=0.0031$ , respectively). However, no association was detected at the 5 loci of *NRAMP 1* polymorphisms among the Han Chinese ( $p>0.08$ ).

## **Conclusions**

Results from this study indicate that genetic variation in *NRAMP 1* may affects susceptibility and increase risk for tuberculosis. Although the environmental factors play an important role in the infection of tuberculosis, genetic factors such as the *NRAMP 1* polymorphisms may also contribute to the high prevalence of tuberculosis in Taiwanese aboriginals.

Key Words: *NRAMP1* gene; tuberculosis; polymorphism; Taiwan aborigines; Han Chinese

## 二、 本文

### (一) 前言

結核病 ( tuberculosis ) 是存在已久的傳染性疾病，主要是由分枝桿菌 ( mycobacterium ) 所引起(Bellamy, 2003)。最近幾年由於愛滋病的發生、用藥習慣及糖尿病等原因使結核病再度變成一個嚴重公共衛生問題。根據世界衛生組織統計：全世界約有三分之一人口感染結核菌，每年約有百分之一人口受到感染，而這些感染者中約只有百分之十的人會有臨床上的症狀發生(Bellamy, 2003;Bellamy, 1998 )。根據疾病管制局對台灣地區的流行病學調查發現，民國九十一年台灣結核病發生率為每十萬人口約 74.6 人，死亡率為每十萬人口約 5.68 人,其中以台東縣發生率最高( 14.03 人/10 萬人口 ),其次為花蓮縣、屏東縣；在全國三十個山地鄉結核病發生率為一般地區三點九倍，死亡率為五點三倍，山地鄉結核病死亡率佔總死亡率百分之三點零一，為第八死亡原因。

對於這些感染者為什麼只有百分之十會有臨床症狀發生，可能的因素可以分為兩大類，一為非遺傳因素：如糖尿病、高齡、酗酒、愛滋病、類固醇的使用及環境因素等；另一方面為遺傳因素：近十年在宿主遺傳因子( host genetic factors )的研究中已證明基因的多型性會影響結核病患者對結核菌的易感度及抵抗病原菌的能力 ( susceptibility/resistance ) (Bellamy,

2003;Greenwood, 2000;Liu, 1995)。早期在老鼠實驗上發現若老鼠感染細胞內病原菌 (intracellular pathogen), 在感染初期會因單基因的控制而產生抵抗力來對抗病原菌增生, 這個基因是與自體免疫抵抗能力相關的巨噬細胞蛋白基因 (natural resistance-associated macrophage protein 1, *Nramp1*) (Bellamy, 2003;Vidal, 1993)。 *Nramp1* 是一個穿透細胞膜的蛋白質基因, 會將細菌轉送到吞噬細胞的空泡 (phagocytic vacuoles) 中進行吞噬細胞溶解 (phagocytosis) 將病原菌殺死(Fritsche, 2003;Blackwell, 2003;Blackwell, 2001)。目前對於 *NRAMP1* 基因的主要功能並不清楚, 但有一個重要的功能與 TB 有重要的相關性, *NRAMP1* 基因會帶動二價鐵離子穿過 phagosome membrane, 離子濃度的不同會影響分枝桿菌在吞噬體 (phagosome) 的生長 (Bellamy, 1999;Blackwell, 2003)。

在人類身上有一個相似基因 *NRAMP1* 位於二號染色體長臂位置 (2q35) (Bellamy, 2003;Marquet2000;Puzyrev, 2002)。目前的研究結果顯示在不同的人種中 *NRAMP1* 基因多型性會影響結核病患感染結核菌自體對抗病源菌的易受度及抵抗能力 (susceptibility/resistance), 對結核病它是一個很強的候選基因 (candidate gene) (El Baghdadi, 2003), 是否 *NRAMP1* 基因在結核病患者上扮演有意義的角色目前尚還有爭議存在(Bellamy, 1999)。在非洲人及亞洲人的疾病相關性研究中發現 *NRAMP1* 的基因多型性在結核病患者與健

康對照組中具有特異性(Bellamy, 2003) ; 2000 年 Greenwood 等人在 1987-89 年間對加拿大地區原住民做一個大型的家族性調查 , 發現 *NRAMP1* 基因與結核病具有相關性存在(Greenwood, 2000 )。 1998 年 Bellamy 等人對非洲西部人種比較結核病患及非結核病的控制組 *NRAMP 1* 基因四個變異點 : 5-(CA)<sub>n</sub>、 INT4、 D543N 及 3-UTR , 結果發現結核病患在基因的變異上確實會對結核病產生影響(Greenwood, 2000;Bellamy, 1998 ) ; 另外在 2002 年 Soborg 等人也發現不同族群中 *NRAMP 1* 的基因多型性也會影響結核病的患病比率(Soborg, 2002)。 近幾年 , 基因多型性在不同人類族群中變異點不同是否易誘發結核病的研究也發現有 vitamin D receptor、 Interferon gamma receptor、 *IL-10*、 *TNF* 及 Major Histocompatibility Complex 等分子相關基因被發現與結核病相關(Roy, 1999;Delgado, 2002;Awomoyi, 2002;Akahoshi, 2004;Zaahl, 2004) , 因此我們想要進一步探討原住民結核病患病比率較一般地區高的因素 , 除了環境、 文化、 無按規服藥治療外 , 是否遺傳背景中基因的多型性也會對結核病造成影響(Greenwood, 2000;Bellamy, 1998;Soborg, 2002;Liaw, 2002;Abe, 2003;Searle, 1999;Takahashi, 2004 )。



## (二) 材料與方法

### 1. 檢體收集

本實驗採用 case-control 方法來進行研究，病人來源為花蓮慈濟醫院（原住民）及台南成大醫院（一般平地人）的結核病患的病理組織切片，共 215 個檢體，110 個是平地人，105 個是台灣原住民；花蓮地區漢人族群的病人及對照組主要是閩南人，另外台灣原住民則包含泰雅及阿美族。結核病的診斷確認則依其肉芽腫炎症反應(granulomatous inflammation)及乾酪化(caseous necrosis)的組織學變化及抗酸性染色確認。控制組選擇則是個案未感染 TB 且種族相符的原住民與平地人族群；92 個漢人-平地人及 95 個台灣原住民。本計劃已經國家衛生研究院人體試驗醫學倫理委員會同意。

### 2. *NRAMP 1* genotyping

#### DNA 抽取

將收集到的石蠟包埋組織切片(5  $\mu$  m/片)或是血液檢體，以 phenol/chloroform 來進行萃取 DNA，並測其 OD<sub>260</sub> 吸光值。萃取後的檢體 DNA 將集中管理保存在零下 20 度，以維持 DNA 本身的品質。每一管 DNA 並以聚合酶連鎖反應方法 (PCR) 測定其 *-actin* 基因的表現，以確保 DNA 品質。

#### Genotyping

## NRAMP1 基因

根據 NRAMP1 基因的序列 ( AF229163 ) 及先前的文獻報告 , 我們選擇了 NRAMP1 基因上的五個多型性變異點來進行分析 : (1) 衛星標竿小體 (microsatellite) : 位於基因啟動區域的 (CA) 片段重複 、 (2) 單一核酸多形性 ( Single Nucleotide Polymorphism, SNP ) : 位於基因啟動區域 -385 , 核苷酸 C 改變為 T、 (3) SNP : exon15 codon 543 胺基酸 D 改變成 N 、 (4) 位於 intron 4 的變異點 , 核苷酸 G 改變為 C (5) 3`-UTR 的 (CAA)n insertion/deletion。在單一核酸多形性部分 , 使用美商應用生物科技 ( ABI ) 的 Assay by Design 佐以 ABI 7900 即時偵測聚合酶連鎖反應系統來分析其結果 , 所用之引子序列請參照表一 ; 另外衛星標竿小體部分則以聚合酶連鎖反應為基礎佐以 ABI 310 系統來分析結果 ( 所使用之引子序列如下 ) (Soborg, 2002; Buu, 1995)。 3`-UTR : 3-UTR-F  
5-Tet-CTTTAACACAGTGTCTGGCAC-3 , 3-UTR-R  
5-TCAAGCTCCAGTTTGGAGCCT-3 ; 5-micorsatellite : 5-(CA)n-F  
5-Fam-ACTCGCATTAGGCCAACGAG-3 , 5-(CA)n-R  
5-TTCTGTGCCTGGCAAGTTAGC-3

### 3. 結果分析

將母群體分成原住民與平地人後再細分成結核病患與非結核病患之控制組 , 基因型結果統計再以 SAS ( version 8; SAS Cary, NC, USA )

來做統計分析。

### (三) 結果

我們利用 *NRAMP 1* 已被發表的基因多型性五個變異 INT4、5-(CA)<sub>n</sub>、3-UTR、77-385C/T 及 D543N，分別對 105 個花蓮原住民及 110 個平地人的結核病患做基因多型性研究。在對照組部分包含 92 個平地人及 95 個花蓮當地原住民，其健康狀況無疑似結核病，及種族相似度上與實驗組相符合。關於實驗組與對照組的人口學相關資料整理於表二。

表三為分析原住民結核病患與健康對照組 *NRAMP 1* 基因多型性的分布情形及結果總括。我們發現 INT4 ( $P=0.0070$ )及 5-(CA)<sub>n</sub> ( $P=0.0031$ ) 在原住民族群中實驗組與對照組上有統計上的意義；而且 5-(CA)<sub>n</sub> 在 allele distribution 也具有統計上的意義 ( $p=0.041$ ) (表三)。關於 5-(CA)<sub>n</sub> 衛星標竿小體，198/198 基因型在實驗組佔有 81.2%，對照組有 95.5%；而 195/200 基因型分別是 14.9%及 1.1%。除此之外，INT4 的 G/G 基因型在實驗組及對照組中分別為 87.6%及 97.8%，而 G/C 基因型為 12.4%及 2.2%；在原住民族群中並沒有發現任何人帶有 INT4 C/C 基因型。而另外三個 *NRAMP 1* 基因多型性 3-UTR、D543N 及 77-385C/T，經由統計分析後發現，在原住民族群上並沒有任何具有意義的差別性存在。另

外在地人的族群中，*NRAMP 1* 的五個基因多型性並無發現任何具有意義的統計差異性（表四）。

#### （四）討論

在這個研究當中，我們證明 *NRAMP 1* 基因多型性在台灣原住民族群容易誘發結核病，而在漢人-平地人族群中並沒有發現同樣的結果。而這樣的結果可能可以解釋，為什麼結核病在台灣原住民族群中有較高的盛行率。在遺傳聯結（genetic linkage）的研究中，證明痛風及酗酒的疾病在種族差異上有扮演重要的角色（Wang, 2004）。*NRAMP 1* 基因的變異點曾被證明與結核病臨床上表徵有相關性（Abe, 2003; Soborg, 2002; Zhang, 2005）。然而在不同族群中都有不同的結果報告，最早的報告是 Bellamy 等人對 West Africans 族群做的研究，發現 *NRAMP 1* 基因對並有較高的誘發性（Bellamy, 1998）。而在韓國、日本、丹麥的研究報告中發現 *NRAMP 1* 基因與結核病之間並無相關性（Soborg, 2002; Kim, 2003; Ryu, 2000）。我們的結果當中也發現 *NRAMP 1* 基因在漢人-平地人族群中對結核病患並沒有關聯性。另外在 2002 年，台大賴等人也發現 *NRAMP1* 基因，在台灣族群中與結核病患並無相關性（Liaw, 2002）。在我們的初步研究中，我們發現原住民及平地人族群中 *NRAMP 1* 在結核病患 granulomatous lesions 的 macrophage 或 Langerhans' giant cells 中的

表現，原住民族群的表現量很弱或完全沒有（尚未發表），*Nramp1* 是一個穿透細胞膜的蛋白質基因，會將細菌轉送到吞噬細胞的空泡（phagocytic vacuoles）中進行吞噬細胞溶解（phagocytosis）將病原菌殺死（Fritsche, 2003;Blackwell, 2003;Blackwell, 2001）。目前對於 *NRAMP1* 基因的主要功能並不清楚，但有一個重要的功能與 TB 有重要的相關性，*NRAMP1* 基因會帶動二價鐵離子穿過 phagosome membrane，離子濃度的不同會影響分枝桿菌在吞噬體（phagosome）的生長（Bellamy, 1999;Blackwell, 2003）。

#### （五）結論與建議

研究結果發現 *NRAMP 1* 的基因多型性在台灣原住民族群與漢人有顯著不同，尤其台灣原住民的 INT4 ( $p < 0.0070$ ) 及 5-(CA)<sub>n</sub> ( $p < 0.0031$ ) 標誌與結核病發生有密切相關性；而在漢人族群中並沒有發現結核病與 *NRAMP 1* 基因的這五個標誌有相關性。雖然環境因素在結核病的感染上扮演一個很重要的角色，但遺傳因素如 *NRAMP 1* 基因多型性在台灣原住民中也會影響結核病患對結核菌的易受性與抵抗能力。因此，台灣原住民的結核病高發病率部分也與原住民族群的遺傳基因有關。

## (六) 參考文獻

1. Abe T, Inuma Y, Ando M, et al: NRAMP1 polymorphisms, susceptibility and clinical features of tuberculosis. *J Infect* 2003;**46**:215-20.
2. Bellamy R: Susceptibility to mycobacterial infections: the importance of host genetics. *Genes Immun* 2003;**4**:4-11.
3. Bellamy R, Ruwende C, Corrah T, McAdam KP, Whittle HC, Hill AV: Variations in the NRAMP1 gene and susceptibility to tuberculosis in West Africans. *N Engl J Med* 1998;**338**:640-4.
4. Greenwood CM, Fujiwara TM, Boothroyd LJ, et al: Linkage of tuberculosis to chromosome 2q35 loci, including NRAMP1, in a large aboriginal Canadian family. *Am J Hum Genet* 2000;**67**:405-16.
5. Liu J, Fujiwara TM, Buu NT, et al: Identification of polymorphisms and sequence variants in the human homologue of the mouse natural resistance-associated macrophage protein gene. *Am J Hum Genet* 1995;**56**:845-53.
6. Vidal S, Tremblay ML, Govoni G, et al: The Ity/Lsh/Bcg locus: natural resistance to infection with intracellular parasites is abrogated by disruption of the Nramp1 gene. *J Exp Med* 1995;**182**:655-66.
7. El Baghdadi J, Remus N, Benslimane A, et al: Variants of the human NRAMP1 gene and susceptibility to tuberculosis in Morocco. *Int J Tuberc Lung Dis* 2003;**7**:599-602.
8. Bellamy R: The natural resistance-associated macrophage protein and susceptibility to intracellular pathogens. *Microbes Infect* 1999;**1**:23-7.
9. Buu N, Sanchez F, Schurr E: The Bcg host-resistance gene. *Clin Infect*

- Dis* 2000;**31 Suppl 3**:S81-5.
10. Soborg C, Andersen AB, Madsen HO, Kok-Jensen A, Skinhoj P, Garred P: Natural resistance-associated macrophage protein 1 polymorphisms are associated with microscopy-positive tuberculosis. *J Infect Dis* 2002;**186**:517-21.
  11. Liaw YS, Tsai-Wu JJ, Wu CH, et al: Variations in the NRAMP1 gene and susceptibility of tuberculosis in Taiwanese. *Int J Tuberc Lung Dis* 2002;**6**:454-60.
  12. Takahashi K, Satoh J, Kojima Y, et al: Promoter polymorphism of SLC11A1 (formerly NRAMP1) confers susceptibility to autoimmune type 1 diabetes mellitus in Japanese. *Tissue Antigens* 2004;**63**:231-6.
  13. 2004 Annual Report: Highlights of activities in 2003 and future prospects. *Center for Disease Control, Taiwan* 2004;47-51.
  14. Wang WH, Chang SJ, Wang TN, et al: Complex segregation and linkage analysis of familial gout in Taiwanese aborigines. *Arthritis Rheum* 2004;**50**:242-6.
  15. Yang J, Jaramillo A, Shi R, Kwok WW, Mohanakumar T: In vivo biotinylation of the major histocompatibility complex (MHC) class II/peptide complex by coexpression of BirA enzyme for the generation of MHC class II/tetramers. *Hum Immunol* 2004;**65**:692-9.
  16. De La Vega FM, Isaac H, Collins A, et al: The linkage disequilibrium maps of three human chromosomes across four populations reflect their demographic history and a common underlying recombination pattern. *Genome Res* 2005;**15**:454-62.
  17. De la Vega FM, Lazaruk KD, Rhodes MD, Wenz MH: Assessment of two

- flexible and compatible SNP genotyping platforms: TaqMan SNP Genotyping Assays and the SNPLex Genotyping System. *Mutat Res* 2005;**573**:111-35.
18. Buu NT, Cellier M, Gros P, Schurr E: Identification of a highly polymorphic length variant in the 3'UTR of NRAMP1. *Immunogenetics* 1995;**42**:428-9.
  19. Zhang W, Shao L, Weng X, et al: Variants of the natural resistance-associated macrophage protein 1 gene (NRAMP1) are associated with severe forms of pulmonary tuberculosis. *Clin Infect Dis* 2005;**40**:1232-6.
  20. Kim JH, Lee SY, Lee SH, et al: NRAMP1 genetic polymorphisms as a risk factor of tuberculous pleurisy. *Int J Tuberc Lung Dis* 2003;**7**:370-5.
  21. Ryu S, Park YK, Bai GH, Kim SJ, Park SN, Kang S: 3'UTR polymorphisms in the NRAMP1 gene are associated with susceptibility to tuberculosis in Koreans. *Int J Tuberc Lung Dis* 2000;**4**:577-80.
  22. Lin M, Chu CC, Chang SL, et al: The origin of Minnan and Hakka, the so-called "Taiwanese", inferred by HLA study. *Tissue Antigens* 2001;**57**:192-9.
  23. Blackwell JM, Goswami T, Evans CA, et al: SLC11A1 (formerly NRAMP1) and disease resistance. *Cell Microbiol* 2001;**3**:773-84.
  24. Vidal SM, Malo D, Vogan K, Skamene E, Gros P: Natural resistance to infection with intracellular parasites: isolation of a candidate for Bcg. *Cell* 1993;**73**:469-85.
  25. Govoni G, Vidal S, Gauthier S, Skamene E, Malo D, Gros P: The Bcg/Ity/Lsh locus: genetic transfer of resistance to infections in C57BL/6J



mice transgenic for the Nramp1 Gly169 allele. *Infect Immun* 1996;**64**:2923-9.

26. Lewis LA, Victor TC, Helden EG, et al: Identification of C to T mutation at position -236 bp in the human NRAMP1 gene promoter. *Immunogenetics* 1996;**44**:309-11.

(七) 圖表

表一、 The primers and probes sequences list of Assay-by-Design<sup>SM</sup>

Service-SNP Genotyping.

Name	Primers and Probes	Reference
D543N	*F:5'-CCA CCA CCA CTT CCT GTA TGG-3' R:5'-AGC CAG AGG TCT CCC CTT T-3' VIC-5'-TCC TTG AAG AG <u>G</u> ACC AG-3' FAM-5'-CCT TGA AGA G <u>A</u> CCA G-3'	[3, 4]
77-385 C/T	F:5'-ACG TGT GTG TGT GTG TGT GT-3' R:5'-CCT CCC AAG TTA GCT CTG ATT TCA G-3' VIC-5'-CCC TTG C <u>G</u> T ATT CAT-3' FAM-5'-CCC TTG C <u>A</u> T ATT CAT-3'	[4, 26]
INT4	F:5'-CTG CCA TCT CTA CTA CCC TAA GGT-3' R:5'-GGA AGC TGA AAA TGG CTG TTT GG-3' VIC-5'-TCC AGG C <u>CC</u> CCC AAG-3' FAM-5'-CCA G <u>GG</u> CCC CCA AG-3'	[3, 4]

\*F: forward primer R: reverse primer; VIC and FAM indicate the different fluorescent labels in probes.

The nucleotide substitution is indicated in bold and underlined.

表二、 Demographic data for 215 patients with tuberculosis and 187 control subjects among Han Chinese and aboriginals in Taiwan.

Demographic variable	Ethnic/racial group of subjects			
	Taiwanese aboriginals		Han Chinese	
	control (n=95)	TB (n=105)	control (n=92)	TB (n=110)
Age at diagnosis, mean±SD	45.9±13.7	50.1±22.9	48.3±13.1	35.14±22.2
Ratio of women to men	1.40	0.95	1.33	0.81

Abbreviation: TB: tuberculosis.

表三、NRAMP 1 不同基因型在原住民 TB 與非 TB 患者的基因多型性

<b>NRAMP1 locus</b>		<b>Aboriginal population</b>		<b>P value</b>
		<b>TB patients</b>	<b>Control subjects</b>	
<b>3UTR-(CAA)n, insertion/deletion</b>				
Polymorphism, no.(%) of subjects		85	95	
	157/157	50 (58.8%)	63 (66.3%)	0.4674
	157/161	29 (34.1%)	24 (25.3%)	
	161/161	6 ( 7.1%)	8 ( 8.4%)	
Allelic frequency				
	157	129 (0.76)	150 (0.79)	0.5283
	161	41 (0.24)	40 (0.21)	
<b>Microsatellite 5-(CA)n</b>				
Polymorphism, no.(%) of subjects		101	88	
	198/198	82 (81.2%)	84 (95.5%)	
	198/200	15 (14.9%)	1 (1.1%)	*0.0031
	198/202	4 (3.9%)	3 (3.4%)	
Allelic frequency				
	198	183 (0.91)	172 (0.98)	
	200	15 (0.07)	1 (0.005)	*0.0041
	202	4 (0.02)	3 (0.017)	
<b>D543N missense mutation</b>				
Polymorphism, no.(%) of subjects		88	90	
AAC(Asn)	G/G	62 (70.5%)	63 (70%)	1.0000
GAC(Asp)	G/A	21(23.9%)	22 (24.4%)	
	A/A	5 (5.7%)	5 (5.6%)	
Allelic frequency				
	G	145 (0.82)	158 (0.82)	0.8902
	A	31 (0.18)	32 (0.18)	
<b>77-385 C/T</b>				
Polymorphism, no.(%) of subjects		88	93	
	C/C	85 (96.6%)	87(93.5%)	0.4982
	C/T	3 (3.4%)	6 (6.5%)	
	T/T	0 (0%)	0 (0%)	
Allelic frequency				
	C	173 (0.98)	180 (0.97)	0.5038
	T	3 (0.02)	6 (0.03)	
<b>INT4</b>				
Polymorphism, no.(%) of subjects		105	92	
	G/G	92 (87.6%)	91 (97.8%)	*0.0070
	G/C	13 (12.4%)	2 (2.2%)	
	C/C	0 (0%)	0 (0%)	
Allelic frequency				
	G	197 (0.94)	184 (0.99)	0.0308
	C	13 (0.06)	2 (0.01)	

\*Significant differences in the distribution between the patients and control subjects after Bonferroni correction.

表四、NRAMP 1 不同基因型在漢人 TB 與非 TB 患者的基因多型性

<b>NRAMP1 locus</b>	<b>Han`s population</b>		<b>P value</b>
	<b>TB patients</b>	<b>Control subjects</b>	
<b>3UTR-(CAAA)n, insertion/deletion</b>			
Polymorphism, no.(%) of subjects	85	79	
157/157	44 (51.7%)	46 (58.2%)	0.4313
157/161	38 (44.7%)	28 (35.4%)	
161/161	3 (3.5%)	5 (6.3%)	
Allelic frequency			
157	126 (0.74)	120 (0.76)	0.8289
161	44 (0.26)	38 (0.24)	
<b>Microsatellite 5-(CA)n</b>			
Polymorphism, no.(%) of subjects	110	78	
198/198	82 (74.6%)	60 (76.9%)	0.9100
198/200	22 (20.0%)	16 (20.5%)	
198/202	4 (3.6%)	2 (2.6%)	
200/200	2 (1.8%)	0 (0%)	
Allelic frequency			
198	190 (0.86)	138 (0.88)	0.8147
200	26 (0.12)	16 (0.1)	
202	4 (0.02)	2 (0.01)	
<b>D543N missense mutation</b>			
Polymorphism, no.(%) of subjects	83	86	
AAC(Asn) G/G	56 (67.5%)	64 (74.45)	0.5518
GAC(Asp) G/A	25 (30.1%)	19 (22.1%)	
A/A	2 (2.4%)	3 (3.5%)	
Allelic frequency			
G	137 (0.84)	147 (0.85)	0.5529
A	29 (0.16)	25 (0.15)	
<b>77-385 C/T</b>			
Polymorphism, no.(%) of subjects	83	85	
C/C	75 (90.4%)	68 (80%)	0.0820
C/T	8 (9.6%)	17 (20%)	
T/T	0 (0%)	0 (0%)	
Allelic frequency			
C	158 (0.95)	153 (0.9)	0.0952
T	8 (0.05)	17 (0.1)	
<b>INT4</b>			
Polymorphism, no.(%) of subjects	108	92	
G/G	85 (78.7%)	73 (79.3%)	0.2626
G/C	20 (18.5%)	19 (20.7%)	
C/C	3 (2.8%)	0 (0%)	
Allelic frequency			
G	190 (0.88)	165 (0.9)	0.6361
C	26 (0.12)	19 (0.1)	

三、半年（期中）研究中所遭遇之問題與困難，並請自評是否符合進度。

進度超前

符合進度

落後（        ）月

所遭遇之問題與困難

無

四、半年(期中)經費使用狀況		
項 目	本年度核定金額	消 耗 狀 況
人事費	498,288	執行 16.76 %
業務費	761,712	執行 0 %
管理費	140,000	執行 0 %
總計	1,400,000	執行 5.97 %